

DOI: 10.15825/1995-1191-2019-2-92-103

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ: БИОФАБРИКАЦИЯ ПОЛЫХ ОРГАНОВ

Е.С. Евстратова¹, П.В. Шегай^{1, 4}, С.В. Попов⁴, Н.В. Воробьев², С.А. Иванов^{3, 4}, А.Д. Каприн^{1, 2, 4}

¹ ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Российская Федерация

² Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

³ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба –

филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Российская Федерация

⁴ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Российская Федерация

Для лечения пациентов с поврежденными или удаленными по медицинским показаниям органами в настоящее время применяют трансплантацию от доноров. Высокие риски летального исхода, проведение пожизненной иммуносупрессии и острая нехватка донорских органов ухудшают перспективу их применения. Недавние достижения в области биофабрикации свидетельствуют о скорой возможности появления реальных альтернатив методам, применяемым в настоящее время. Используемые биоматериалы создают трехмерное пространство, в котором клетки могут прикрепляться, расти и формировать новые ткани с соответствующей структурой и функцией. Современные исследования уделяют особое внимание выбору материала и технологий для обеспечения механических и физиологических свойств заново созданной ткани. В обзоре рассмотрены современные технологии регенеративной медицины, а также результаты экспериментальных исследований в области биофабрикации по созданию скаффолдов, тканеинженерных конструкций, а также полых и фрагментов сложносоставных органов, которые уже имеют практическую реализацию.

Ключевые слова: регенеративная медицина, стволовые клетки, мочевого пузырь, матка, полые органы, биотехнологии, тканевая инженерия, биофабрикация.

MODERN OPPORTUNITIES OF REGENERATIVE MEDICINE: BIOFABRICATION OF HOLLOW ORGANS

E.S. Evstratova¹, P.V. Shegay^{1, 4}, S.V. Popov⁴, N.V. Vorobyev², S.A. Ivanov^{3, 4}, A.D. Kaprin^{1, 2, 4}

¹ National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

² P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

³ A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

⁴ Peoples' Friendship University of Russia of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

For the treatment of patients with organs damaged or removed by medical indications, transplantation from donors is currently used. High risks of death, lifelong immunosuppression and an acute shortage of donor organs worsen the prospect of their use. Recent advances in the field of biofabrication indicate the imminent possibility of the emergence of real alternatives to the methods currently used. The biomaterials used create a three-dimensional space in which cells can attach, grow and form new tissues with an appropriate structure and function. Modern research pays special attention to the choice of materials and technologies to ensure the

Для корреспонденции: Попов Сергей Витальевич. Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, дом 6. Тел. (910) 477-95-65. E-mail: servit77@yandex.ru

For correspondence: Popov Sergey Vitalievich. Address: 6, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russian Federation. Tel. (910) 477-95-65. E-mail: servit77@yandex.ru

mechanical and physiological properties of the newly created tissue. The review examines modern technologies of regenerative medicine, as well as the results of experimental studies in the field of biofabrication for creating scaffolds, tissue-engineering structures, as well as hollow and fragments of complex organs that already have practical implementation.

Key words: regenerative medicine, stem cells, bladder, uterus, hollow organs, biotechnology, tissue engineering, biofabrication.

ВВЕДЕНИЕ

Количество пациентов, нуждающихся в трансплантации, уже давно превышает число предлагаемых органов и этот дефицит будет только увеличиваться по мере роста населения [1]. Перспективу использования донорских органов омрачают также высокие риски летального исхода и необходимость проведения пожизненной иммуносупрессии. Однако недавние достижения в области регенеративной медицины свидетельствуют о том, что существует возможность реальных альтернатив донорским органам.

Биофабрикация – это процесс искусственного конструирования и выращивания вне организма человека живых, функциональных тканей или органов для последующей трансплантации пациенту с целью замены или стимуляции регенерации поврежденных органов или тканей, чаще всего с использованием технологии биопечати. Биопечать органов – это роботическое послойное создание органных конструкций из тканевых сфероидов или клеток согласно цифровой модели. В нее входит три стадии: предпроцессинг, процессинг, постпроцессинг. Предпроцессинг включает подготовку к печати, а именно: создание компьютерной трехмерной модели, выбор и приготовление необходимых материалов биопечати, формирование программы, расчет и настройку процесса печати. Процессинг представляет собой процесс печати скаффолдов, клеточных компонентов и биоактивных веществ в единую структуру. После завершения биопечати созданный органный конструктор помещается в биореактор или инкубатор. Далее оборудование поддерживает необходимые условия для жизнедеятельности клеток и окончательного «созревания» ткани или органа (постпроцессинг) [2, 3].

В последние десятилетия ученые всего мира пытались выращивать клетки и разрабатывать методы регенеративной медицины практически для каждой ткани человеческого тела [4–18]. Различают четыре уровня сложности изготавливаемых искусственно органов [6, 19]:

- 1) плоские структуры, которые состоят из одного вида клеток (кожа, хрящевые органы);
- 2) трубчатые структуры (трахея, мочеточник, кровеносные сосуды);
- 3) полые органы (мочевой пузырь, органы ЖКТ);
- 4) сложносоставные органы (печень, почки, легкие, сердце).

Органы из первой группы уже активно создаются и используются [20]. В данном обзоре рассмотрены современные успехи в создании более сложных органов.

Тканевые инженерные стратегии обычно разделяются на два направления: использование бесклеточных матриц и использование матриц с клетками. Бесклеточные тканевые матрицы могут быть получены путем изготовления искусственных каркасов или удалением клеточных компонентов из тканей с помощью механических и химических манипуляций [21]. При другом варианте на каркасе до имплантации выращивают слои клеток в питательной среде. После пересадки материала в организм матрицы медленно деградируют, и как правило, заменяются белками внеклеточного матрикса, секретлируемыми клетками [22].

Регенеративная медицина трубчатых и полых органов динамично развивается, объединяя ряд дисциплин, включая материаловедение, инженерные, биомедицинские и клинические исследования [14, 23].

ПРИМЕНЯЕМЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Клетки. Одним из ограничений применения методов регенеративной медицины была трудность выращивания конкретных типов клеток в больших количествах. Даже когда некоторые органы обладают высокой регенерационной способностью *in vivo*, рост и размножение клеток этих органов в искусственной среде бывает затруднен. Одним из примеров является уротелиальная клетка. Уротелиальные клетки уже выращивались в лабораторных условиях, однако с ограниченным успехом. Считалось, что уротелиальные клетки обладают способностью естественного старения, которое трудно преодолеть. Однако за последние два десятилетия было разработано несколько протоколов, которые способствовали лучшему росту и размножению этих клеток [24]. Дополнительным преимуществом использования нативных клеток является то, что они могут быть получены из специфического органа, который будет регенерироваться, и такие клетки могут использоваться у одного и того же пациента без реакций отторжения [25–27].

Идеальный тип клеток для тканевой инженерии должен обладать несколькими важными характеристиками, такими как способность к пролиферации и дифференциации в несколько типов клеток, об-

наруженных в ткани или органе, представляющем интерес. Они также должны быть легкодоступными, хорошо изученными и способными размножиться до большого количества, чтобы повторно заполнить каркас всего органа. Взрослые стволовые клетки довольно широко использовались для клеточной терапии и могут быть идеальными источниками аутологических клеток для тканевой инженерии [28].

Биоматериалы для скаффолдов. В тканевой инженерии биоматериалы обеспечивают трехмерное пространство, в котором клетки могут прикрепляться, расти и формировать новые ткани с соответствующей структурой и функцией. Также биоматериалы способствуют доставке клеток и соответствующих биоактивных факторов (например, пептидов адгезии клеток, факторов роста) в нужные места в организме.

Идеальный биоматериал должен быть биodeградируемым, чтобы обеспечивать замену нормальной ткани, не вызывая воспаления и не препятствуя дальнейшему самостоятельному росту ткани.

Для инженерных тканей и органов используются три класса биоматериалов: биополимерные материалы (коллаген, альгинат, хитозан, желатин, фибрин и др.), децеллюляризированные тканевые матрицы (подслизистая оболочка поджелудочной железы, ткани печени, почек, клапанов сердца, хрящевой ткани, перикарда и др.) и синтетические полимеры, например, полигликолевая кислота (PGA), полимолочная кислота (PLA) и поли(лактико)гликолевая кислота (PLGA). Каждый материал, используемый для создания скаффолда, имеет свои характерные преимущества и недостатки. Биополимерные материалы и

Таблица

Технологии создания скаффолдов
Scaffold creation technologies

Название	Описание
Стереолитография	Техника прототипирования, в которой используется фотополимеризация для формирования 3D-клеточных матриц с послойной детализацией специализированного дизайна, что достигается с помощью компьютерной графики. Этот метод позволяет формировать матрицы с контролируемой пористостью, размерами пор, внутренними коммуникациями и механическими свойствами.
Метод фазового разделения (фазовая сепарация)	Метод, основанный на принципе резкого охлаждения до низкой температуры однородной смеси из двух растворителей. В результате этого жидкость превращается в твердые частицы определенной формы и размера. Не требует высоких температур и отдельной стадии выщелачивания, позволяет в процессе приготовления вводить внутрь скаффолда белки, которые остаются в нем после испарения воды. Поры у полученных скаффолдов обладают низкой проницаемостью, что ограничивает миграцию клеток внутрь скаффолда, а также транспорт питательных веществ через весь его объем. Ограничения в выборе материала и проблемы недостаточного разрешения по-прежнему существенны.
Метод выщелачивания	Метод выщелачивания заключается в том, что в раствор полимера вводят кристаллы солей (хлорид натрия, цитрат натрия и др.) или кристаллы органических частиц (сахарозы). Затем данную смесь заливают в сосуд требуемой формы и после удаления растворителя выпариванием или лиофилизацией получают пористую структуру. Формируя частицы определенного размера и формы, а также контролируя их концентрацию, можно получить структуру с определенным размером пор, их распределением по всему объему скаффолда, а также его требуемую общую пористость.
Метод электроспиннинга (электроформование)	Процесс получения нановолокон из раствора различных полимеров под действием электростатических сил. При наличии высоковольтного потенциала из раствора, подаваемого в иглу-капилляр, происходит вытягивание тонкого волокна. При этом происходит испарение растворителя и формируется тонкая полимерная нить, которая, укладываясь на подложку, формирует покрытие из нанонитей – скаффолд. Толщина нитей может меняться в зависимости от изменения вязкости, электропроводности и поверхностного натяжения раствора, а также технологических условий.
Самосборка	Процесс самосборки – автономная организация компонентов в модели или сложные структуры без вмешательства человека. Механизмы самосборки основаны на нековалентных и слабых взаимодействиях – электростатических, ван-дер-ваальсовых, гидрофобных и тому подобных связях. Аналогичным образом наноразмерные волокна пептидов могут быть собраны в нановолокна с более высоким соотношением сторон. Это инициируется путем изменения pH и ионной силы раствора. Скаффолды из таких пептидов способны к повышению адгезии клеток млекопитающих, их пролиферации и дифференцировки. По-прежнему нерешенным остается вопрос о конструировании таким путем прочных и стабильных трехмерных структур.
Сублимационная сушка	Является составной частью технологии по преобразованию растворимых лабильных материалов в достаточно твердые стабильные структуры. Лиофилизация включает в себя три основных этапа: замораживание раствора при достаточно низкой температуре (порядка -70 °C); перенос замороженных образцов в камеру, где давление снижается до нескольких миллибар. Часть воды удаляется на этом этапе (прямая сублимация), но большая ее часть удаляется при десорбции на третьем этапе окончательной сушки. Хотя у метода лиофильной сушки существует ряд преимуществ, например использование воды вместо органических растворителей в процессе производства скаффолда, до сих пор не решена проблема создания сложно упорядоченных структур.

матрицы децеллюляризованных тканей обладают преимуществом биологического распознавания, но синтетические полимеры могут быть получены в больших масштабах с контролируемыми свойствами микроструктуры, прочности и скорости деградации.

Коллаген является наиболее распространенным структурным белком в организме. Этот материал можно перерабатывать в самые разнообразные структуры, такие как губки, волокна и пленки [29]. Коллаген широко используется в качестве биомассы для скаффолдов трубчатых органов благодаря своей широкой доступности, отличной биосовместимости и простым методам обработки [30]. Однако коллагеновые конструкции часто имеют ограниченную прочность [31] и не обладают необходимой гибкостью и эластичностью [32].

Альгинат является полисахаридом, используемым в качестве носителя для инъекции клеток благодаря своим гелеобразующим свойствам [33]. Альгинат и коллаген начали активно использовать в разработанном методе биопринтинга на основе технологии струйной печати [34, 35], при которой эти материалы могут быть «напечатаны» в желаемую форму. Этот метод можно модифицировать для печати трехмерной конструкции, содержащей точное расположение клеток, факторов роста и внеклеточного матричного материала [36, 37]. Такие конструкции в конечном итоге могут быть имплантированы в организм, чтобы служить основой для новой ткани или органа.

Рассмотрим основные технологии создания скаффолдов [38–40].

Децеллюляризованные (бесклеточные) тканевые матрицы представляют собой богатые коллагеном матрицы, полученные путем полного удаления всего клеточного материала из ткани, при сохранении ее внеклеточного матрикса [41–43]. Это обычно достигается при помощи детергентов и ферментов в сочетании с физическим стрессом. Матрицы медленно деградируют после имплантации и заменяются белками, синтезированными трансплантированными или проникающими клетками. На тканях мочеполовой системы было показано, что клеточные тканевые матрицы поддерживают клеточный рост и регенерацию без признаков иммуногенного отторжения [44].

Большинство полых органов организовано аналогичным образом: эпителиальный внутренний слой окружен богатой коллагеном соединительной тканью и мышечным слоем снаружи. Биоматериалы в данном случае должны служить барьером при одновременном размещении клеток разных типов и функций [45], обеспечивать структурную поддержку отдельных слоев клеток, включая адекватную поверхность для стабильного прикрепления клеток. Клетки, составляющие эти слои, взаимодействуют друг с другом для регулирования клеточной диффе-

ренцировки [46]. Таким образом, идеальный биоматериал должен обеспечивать среду, в которой соответствующие типы клеток могут взаимодействовать друг с другом, обеспечивая адгезию, пролиферацию, миграцию и дифференцировку. Поэтому для создания полого органа с соответствующей «слоистой» структурой требуется несколько типов клеток и биоматериалов.

ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ОРГАНОВ

Исследователи во всем мире активно работают над созданием тканей и органов для клинического применения.

1. Мочевой пузырь

Восстановление тканей мочевого пузыря нередко является единственной возможностью при потере ткани вследствие рака, травмы или врожденных аномалий. Использование для этих целей тканей кишечника до сих пор является золотым стандартом в урологической практике, однако это приводит к новым проблемам: продукции слизи, образованию камней и злокачественным опухолям. Поэтому использование искусственно полученных материалов может стать многообещающим шагом на пути к регенерации этой специализированной ткани. Было проведено множество исследований на мелких и крупных животных, касающихся замещения части или целого мочевого пузыря с использованием различных биоматериалов [26, 27, 44, 47–52]. За последние десятилетия было найдено несколько наиболее подходящих заменителей стенок мочевого пузыря, как синтетических, так и натуральных. Синтетические материалы, которые были испытаны в экспериментальных и клинических условиях, включают поливинильную губку, тефлон и силикон. Большинство попыток потерпели неудачу из-за механических, структурных, функциональных и биологических проблем.

В одном из исследований аллогенные бесклеточные матрицы мочевого пузыря использовали для увеличения размеров этого органа у собак [26]. Регенерировавшие ткани имели нормальную организацию, состоящую из клеток уротелия и гладкой мускулатуры. Биоматрицы, предварительно засеянные клетками до имплантации, продемонстрировали лучшую регенерацию тканей по сравнению с имплантированными без клеток биоматрицами, в которых регенерация зависела только от врастания окружающей ткани. Биополимеры, засеянные клетками, сохранили большую часть имплантированного фрагмента в отличие от имплантированных без клеток, в которых произошло сжатие и усадка трансплантата. Гистоморфологические тесты продемонстрировали заметную нехватку мышечных клеток и более агрессивную воспалительную реакцию в бесклеточных матрицах в другом аналогичном исследовании [52].

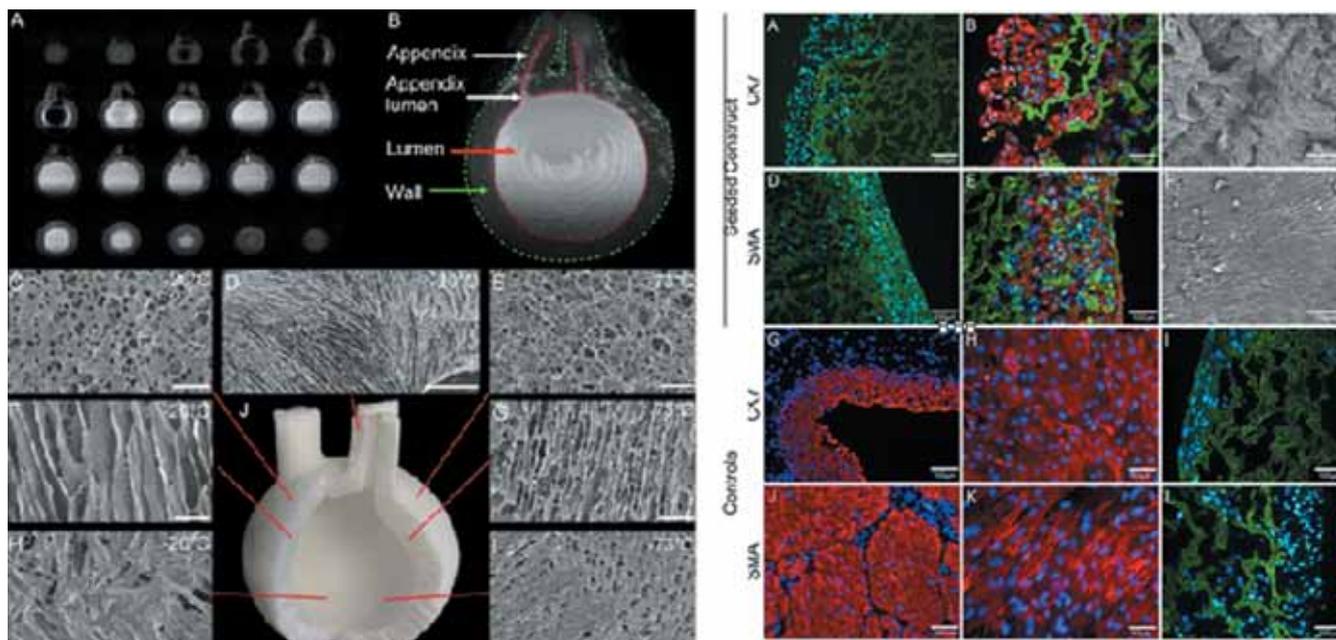


Рис. 1. Левая панель – скаффолд мочевого пузыря и его структурные характеристики. Правая панель – скаффолд мочевого пузыря после 7 дней культивирования с уротелиальными и гладкомышечными клетками свиньи [54]

Fig. 1. Left panel – bladder scaffold and its structural characteristics. Right panel – bladder scaffold after 7 days of cultivation with pig urothelial and smooth muscle cells [54]

Leonhäuser et al. исследовали восстановление стенки мочевого пузыря двумя прототипами коллагеновых структур OptiMaix 2D и 3D, без клеток и засеянных аутологичными клетками, на модели геттингенских мини-пиггов [53]. Для демонстрации структурной целостности и герметичности зон имплантации были выполнены цистография и ультразвуковое исследование мочевого пузыря. Мочевые пути также исследовали с помощью различных иммуногистохимических процедур окрашивания и использования двухфотонной лазерной сканирующей микроскопии. Оба прототипа коллагеновых каркасов *in vivo* способствовали высокой скорости роста уротелиальных клеток. Исследованные коллагеновые структуры являются потенциальным материалом для замены стенки мочевого пузыря, так как обладают выраженными биосовместимыми свойствами, демонстрируют хороший рост аутологичных клеток *in vitro* и интеграцию в ткань мочевого пузыря *in vivo*.

Поддерживающие конструкции, изготовленные из определенных биоматериалов, способствуют регенерации тканей, но обычно исследователи ограничиваются формированием небольших заплаток, а не заменяют весь орган. Hoogenkamp et al. разработали простой одноступенчатый метод литья для создания бесшовных крупных полых коллагеновых скаффолдов, имитирующих форму всего мочевого пузыря со встроенными физиологически идентичными сайтами для мочеточников и уретры [54]. Полый каркас мо-

чевого пузыря был стандартизирован с однородной толщиной стенки и однонаправленной структурой пор для облегчения проникновения клеток *in vivo*. Специфическое строение и пористая внешняя поверхность скаффолда способствовали формированию уротелиальной подкладки и инфильтрации клеток гладкой мускулатуры.

В работе Atala et al. представлены результаты исследования семи пациентов с использованием коллагеновых каркасов, засеянных клетками [55]. Показано, что результаты ряда физиологических тестов оказались адекватными для социальной активности пациентов. Из рассмотренных исследований становится ясно, что качество инженерно сконструированных мочевых пузырей постепенно улучшается. Однако ограниченный клинический опыт их применения и несовершенство технологии определяют необходимость дополнительных экспериментальных и клинических исследований [56].

2. Сердечно-сосудистая система

2.1. Проблемы васкуляризации

В настоящее время ведутся исследования различных стратегий повышения неоваскуляризации искусственно созданных органов. Эти исследования включают специфический дизайн скаффолдов, добавление ангиогенных факторов *in vivo* и *in vitro*, предваскуляризацию [57].

Кровеносные сосуды могут быть получены различными методами, включая трехмерную печать, трехмерные рисунки на гидрогелях [58] и композитные скаффолды [59–61]. Тканевые сосудистые трансплантаты, сконструированные с использованием аутологичных клеток и биodeградируемых каркасов, были применены в исследованиях на моделях ягнят и собак [62].

2.2. Сердце

К сожалению, доноров сердца не хватает для всех пациентов с различными заболеваниями этого жизненно важного органа. На сегодняшний день не вызывает сомнений необходимость поиска альтернативных методов лечения данной категории пациентов и разработки новых методов регенерации. Перспективным вариантом в данной ситуации может оказаться замена поврежденной сердечной мышцы с использованием методов тканевой инженерии и регенеративной медицины.

Следует отметить, что клеточная терапия пораженных областей сердца представляет интерес в связи с ее простотой (инъекция в поврежденную область сердца пациента, а не хирургическая процедура). Для клеточной терапии пораженных областей сердца рядом исследователей были использованы клетки скелетных мышц, стволовые клетки костного мозга, амниотической жидкости и эмбриональные стволовые клетки. Однако инъекционная терапия оказалась относительно неэффективной и сопровождалась довольно значительной потерей клеток [5]. Новые методы тканевой инженерии заключаются в разработке «заплаток», состоящих из клеток, прикрепленных к биоматериалу. Такие методы являются многообещающими, но они могут использоваться только в случаях повреждения относительно небольшого участка сердечной мышцы. В случаях, когда большая площадь или даже все сердце становится нефункциональным, может потребоваться более радикальный подход – замена целого органа.

С этой целью Ott et al. в 2008 году разработали метод децеллюляризации целых органов для создания биоинженерного сердца, содержащего интактное сосудистое дерево, клапаны, а также предсердную и желудочковую структуры [63]. Сердца крыс децеллюляризировали с помощью методов перфузии детергентами, затем их «заселяли» сердечными и эндотелиальными клетками новорожденных крыс. После 8 дней культивирования в биореакторе, который имитировал физиологические свойства потока, рецеллюляризированное новое сердце продемонстрировало сократительную функцию и реакции на электрические стимуляции. Впоследствии другие исследователи продемонстрировали похожие результаты на сердцах свиней [64] и участках человеческой

миокардиальной ткани [65]. Несмотря на то что тканевая инженерия миокардиальной мышцы успешно используется для улучшения функции в инфарктных сердцах крыс [66], сердечная ткань человека имеет более толстые слои, а значит, может представлять проблему из-за высоких метаболических потребностей кардиомиоцитов.

3. Желудочно-кишечный тракт

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) представляет собой сложную систему полых органов с различными функциями и структурами. Каждый орган характеризуется множеством типов клеток с определенным архитектурным расположением. Гладкая мускулатура органов делится на два слоя: клетки, проходящие параллельно тракту, и клетки, выравненные по окружности вокруг просвета. Слизистый слой состоит из разных типов клеток, необходимых для защиты, секреции и абсорбции.

Выбор клеток для тканевой инженерии ЖКТ является серьезной проблемой из-за ограниченной доступности источников аутологичных клеток. В последнее время исследуются альтернативные источники клеток для их использования в тканевой инженерии, в том числе и мезенхимальные стволовые клетки [18, 67, 68].

Тканевая инженерия ЖКТ часто применяет пористые скаффолды. Степень пористости опосредует выравнивание, сокращение и расслабление гладких мышц. Кроме того, скаффолды должны поддерживать дифференциацию нейронов, которые являются ключевыми факторами регулирования перистальтики. Проводятся исследования по тестированию различных биоматериалов, подходящих по всем параметрам для тканевой инженерии пищеварительной системы [69, 70].

3.1. Пищевод

Тканеинженерная конструкция пищевода должна иметь полую трубчатую форму, а просвет вдоль всей поверхности – содержать эпителиальные клетки. Также при восстановлении поврежденного пищевода важным моментом является воссоздание его скоординированной ритмической активности. Для обеспечения процесса глотания и перистальтики гладкие мышцы пищевода имеют нервную регуляцию. Любое расстройство одного или нескольких компонентов будет влиять на прохождение пищи через пищевод.

На моделях собак была исследована замена пищевода каркасом из PGA, засеянным смесью кератиноцитов и фибробластов. Эта конструкция вызвала регенерацию структуры гладкой мускулатуры, аналогичную нативной, в течение 3 недель после имплантации. В то же время бесклеточные PGA-конструк-

ции пищевода привели к почти полной обструкции в течение этого же времени [71].

Проведены также исследования на грызунах для оценки способности конструкций, состоящих из покрытых клетками децеллюляризованных матриц, а также структур из PLGA и PGA, регенерировать пищевод. В этих исследованиях у животных были удалены части стенки пищевода. Восстановление тканей в зоне дефекта впоследствии осуществляли с помощью тканевых «заплаток». Доказательства раннего регенеративного прогресса наблюдали уже через 8 дней после имплантации в виде развивающихся пучков гладкой мускулатуры. Полная регенерация продольной и круговой мускулатуры, а также просвета эпителия наблюдалась через 10 недель после имплантации конструкции. Эти данные свидетельствуют о возможности применения исследованных биоматериалов для тканевой инженерии и регенерации пищевода [72, 73].

В исследовании Saxena et al. было изучено использование скаффолдов из коллагена для реконструкции

пищевода [74]. Гладкая мышечная ткань была успешно сконструирована на коллагеновых каркасах, которые имели пористые структуры, обеспечивающие направленный рост гладких мышц. В других исследованиях были разработаны бесклеточные матрицы из стенок мочевого пузыря и имплантированы в пищеводы собак для восстановления его функций [75]. Имплантированные биокаркасы, которые находились в непосредственном контакте с частью нативной мышечной ткани, приводили к функциональному восстановлению механических свойств пищевода. Гистологический анализ показал появление организованных слоев в участке имплантации.

Tan et al. изолировали мезенхимальные стволовые клетки костного мозга собак и высеивали их на децеллюляризованную подслизистую тонкой кишки (SIS). Фрагмент пищевода удаляли у тех же собак и заменяли на SIS, содержащую аутологичные клетки. Засеянные клетками матрицы способствовали повторной эпителизации, реваскуляризации и мышечной регенерации [76].

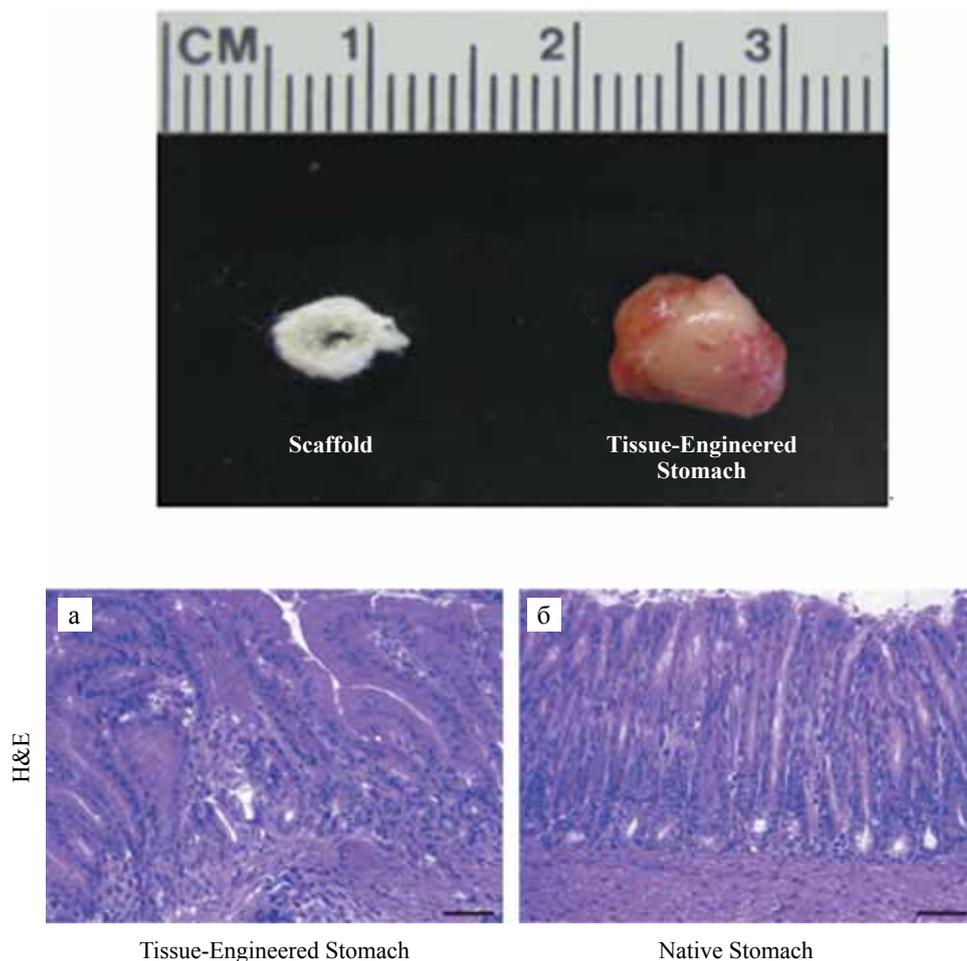


Рис. 2. Верхняя панель – тканеинженерный желудок расположен рядом со скаффолдом. Нижние панели: гистология желудка с помощью тканевой инженерии через 4 недели (а) аналогична нативному железистому желудку (б) [78]

Fig. 2. Top panel – tissue-engineering stomach is located next to the scaffold. Bottom panels – histology of the stomach using tissue engineering 4 weeks after (a) is similar to the native glandular stomach (b) [78]

3.2. Желудок

Желудок достаточно трудно спроектировать из-за его формы и размеров, поэтому основное внимание в исследованиях уделяется созданию трубчатых конструкций и заплаток. Othman et al. культивировали клетки на листах коллагена и полиэтилентерефталата (ПЭТ), которые были созданы автоматическим изготовителем труб в 3D-каркасах. Используя этот метод, они смогли изготовить крупные конструкции с соответствующей толщиной, длиной и диаметром просвета для применения в тканях желудочно-кишечного тракта [77].

Проведено несколько исследований, в которых использовались PGA и PLA, засеянные эндотелиальными клетками желудка. Для посева органоидных единиц были использованы биоинженерные полимерные каркасы, состоящие из PGA, покрытые PLA и коллагеном типа I. Органоидные единицы были выделены из желудка и состояли из эпителия и мезенхимы. Засеянные клетками каркасы имплантировались в брюшную полость. Гистологические исследования продемонстрировали дифференцированные эпителий и слой мышечной оболочки, сходные с нативным желудком [78].

Maemura et al. имплантировали такие же конструкции в модель крысы *in vivo*. Они обнаружили, что клетки на скаффолдах имеют секреторные функции, сопоставимые с клетками нативного желудка [10]. Другая группа ученых успешно имплантировала желудок и тонкую кишку, созданные при помощи тканевой инженерии (PGA и PLLA, засеянные аутологичными желудочно-образованными органоидами) в модель свиньи *in vivo* [11]. Гистологический анализ показал, что все типы кишечных клеток, а также клетки слизистого эпителия в желудке присутствовали через 7 недель на каркасе.

В работе Nakatsu et al. исследовано применение трансплантатов децеллюляризированной подслизистой тонкой кишки (SIS) в сочетании с мезенхимальными стволовыми клетками (MSC) из костного мозга трансгенных крыс для регенерации дефекта желудка [79]. SIS индуцировала фармакологическую и электрофизиологическую регенерацию пищеварительного тракта, а MSC обеспечивали обогащенную среду, поддерживающую регенерацию тканей в сконструированном желудке.

3.3. Тонкая кишка

Тонкая кишка является основным местом поглощения питательных веществ. Абсорбцию обеспечивает эпителий микроворсинок, выстилающих кишечник. Сокращения и расслабления гладких мышц способствуют транспортировке пищи и увеличивают площадь поверхности, способствуя поглощению питательных веществ. Тканевая инженерия кишечника предусматривает использование трубчатых каркасов

с перестраиваемыми механическими свойствами. Определено, что регенерация слоя мышц с определенной ориентацией имеет первостепенное значение. В связи с этим необходимо учитывать эту сложную архитектуру для правильной функциональности.

В ранних исследованиях использовали мезенхимальные стволовые клетки для изучения возможности регенерации мышц [80]. Листы гладкой мускулатуры демонстрировали скоординированное сокращение, которое можно использовать для тканевой инженерии физиологически функционального кишечника.

В ряде исследований особое внимание уделено использованию органоидных единиц, выделенных при биопсии кишки. Эти органоидные единицы были высеяны на полимерные каркасы и проверены на способность регенерировать имплантированный участок кишечника. При этом наблюдали развитие мышц и нервов в новообразованных кишечниках, а их архитектура напоминала нативную ткань [81, 82]. В недавних исследованиях органоидные единицы кишечника мышцей высевали на каркасы из PGA, покрытые PLLA и коллагеном типа I [83]. Полученные конструкции были имплантированы мышам. Гистологический анализ показал хорошую эпителиальную регенерацию.

Также были исследованы децеллюляризированные матрицы для их потенциального использования в тканевой инженерии кишечника. Участки кишечной подслизистой были засеяны гладкомышечными клетками и имплантированы в кишку крысы. Через восемь недель произошла частичная эпителизация и неоваскуляризация в месте имплантации [84].

Многочисленные исследования *in vivo* проводились на крупных моделях животных с использованием коллагеновых губчатых скаффолдов, засеянных гладкими мышцами кишечника, для восстановления разрывов кишечной ткани. Несмотря на некоторый успех в образовании эпителиальных слоев, в этих исследованиях было затруднено восстановление сократительной функции клеток гладких мышц *in vivo*, которая жизненно необходима для достаточного поглощения питательных веществ [12, 85, 86].

3.4. Толстая кишка

Для толстой кишки необходимо образование продольных и кольцевых гладких мышечных слоев, обеспечивающих перистальтику. В исследовании Lee et al. был разработан тканевый функциональный сегмент толстой кишки [87]. Биоинженерные ткани гладких мышц кольцевой формы напоминали архитектуру кольцевого мышечного слоя натуральной толстой кишки. Эти тканевые конструкции были помещены вокруг трубчатых каркасов из коллагена. Конструкции демонстрировали сокращение и

расслабление, указывающие на поддержание ими функциональности [88]. Биоинженерия продольного мышечного слоя кишки в данном исследовании также оказалась успешной. Гладкие мышечные клетки высевали на формы с продольными канавками, где они выравнивались поперечно. Биоинженерные ткани реагировали на сократительные и релаксантные реагенты [89]. Были проведены также исследования для оценки регенеративного потенциала трубчатых конструкций, засеянных клетками эпителия. Как и во всех других трубчатых органах, наличие клеточного компонента на искусственной конструкции имеет большое значение для успешного регенеративного исхода [17]. Эти доклинические исследования демонстрируют возможность создания успешных тканеинженерных конструкций у людей, нуждающихся в трансплантации органов ЖКТ [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время исследования в области регенеративной медицины проводятся практически для каждого типа ткани и органа в организме человека. Основные направления регенеративной медицины включают в себя тканевую инженерию, клеточную биологию и материаловедение. Искусственно созданные ткани в настоящее время находятся на разных стадиях применения: некоторые из них уже используются в клинике, часть проходит доклинические и экспериментальные исследования. Современный прогресс регенеративных технологий свидетельствует о том, что искусственные ткани могут в будущем широко применяться в лечении пациентов, нуждающихся в замене тканей и органов.

Органная инженерия является инновационной областью исследований, потенциально способной преодолеть некоторые проблемы трансплантации, а также обеспечить доступность трансплантируемых органов. Большинство исследований, проводимых в области цельноорганной тканевой инженерии, используют в качестве основы децеллюляризованные органы, обеспечивающие каркас, на котором может быть построен сложный многоклеточный орган. Это неудивительно, поскольку на сегодняшний день ни один другой метод изготовления не может предоставить скаффолд, который повторяет сложную структуру и анатомию человеческого органа. Он позволяет воссоздать сосудистую сеть, аналогичную сосудистой сети в натуральном первичном органе. Можно предположить, что в ближайшем будущем инновации в технологиях производства, такие как 3D-печать или стереолитография, смогут создавать сложные структуры с использованием биоактивных материалов.

Из-за некоторых ограничений, таких как неоднозначное решение этических проблем, искусственные органы до сих пор окончательно не готовы

к активному внедрению в клиническую практику [90, 91]. Тем не менее уже существует множество возможностей применения нынешнего поколения биоинженерных органов в аспектах изучения физиологии органов и тканей, а также исследования дифференцировки стволовых клеток.

Авторы заявляют об отсутствии

конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ, Хомяков СМ. Оценка потребности населения в трансплантации органов, донорского ресурса и планирование эффективной сети медицинских организаций (центров трансплантации). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2013; XV (3): 11–24. Got'e SV, Hom'yakov SM. Ocenka potrebnosti naseleniya v transplantacii organov, donorskogo resursa i planirovanie effektivnoj seti medicinskih organizacij (centrov transplantacii). *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2013; XV (3): 11–24.
2. Миронов ВА. 3D-биопечать: любые органы на заказ. *Инициативы XXI века*. 2013; 4: 94–100. Mironov VA. 3D-biopechat': lyubye organy na zakaz. *Inicijativy XXI veka*. 2013; 4: 94–100.
3. Горбатов РО, Романов АД. Создание органов и тканей с помощью биопечати. *Вестник ВолгГМУ*. 2017; 3 (63): 3–9. Gorbatov RO, Romanov AD. Sozdanie organov i tkanej s pomoshch'yu biopechat'i. *Vestnik VolgG-MU*. 2017; 3 (63): 3–9.
4. Faris RA, Konkin T, Halpert G. Liver stem cells: a potential source of hepatocytes for the treatment of human liver disease. *Artif. Organs*. 2001; 25: 513–521.
5. Shinoka T, Shum-Tim D, Ma PX et al. Tissue-engineered heart valve leaflets: does cell origin affect outcome? *Circulation*. 1997; 96: II-102-07.
6. Atala A. Engineering organs. *Current Opinion in Biotechnology*. 2009; 20: 575–592.
7. Baptista PM, Siddiqui MM, Lozier G et al. The use of whole organ decellularization for the generation of a vascularized liver organoid. *Hepatology*. 2011; 53: 604–617.
8. Song JJ, Guyette JP, Gilpin SE et al. Regeneration and experimental orthotopic transplantation of a bioengineered kidney. *Nat. Med*. 2013; 19: 646–651.
9. Hamilton NJ, Kanani M, Roebuck DJ et al. Tissue-engineered tracheal replacement in a child: a 4-year follow-up study. *Am. J. Transplant*. 2015; 15 (10): 2750–2757.
10. Maemura T, Shin M, Kinoshita M et al. A tissue-engineered stomach shows presence of proton pump and G-cells in a rat model, resulting in improved anemia following total gastrectomy. *Artif. Organs*. 2008; 32 (3): 234–239.
11. Sala FG, Kumisaki SM, Ochoa ER et al. Tissue-engineered small intestine and stomach form from autologous tissue in a preclinical large animal model. *J. Surg. Res*. 2009; 156 (2): 205–212.
12. Bitar KN, Raghavan S. Intestinal tissue engineering: current concepts and future vision of regenerative medicine in the gut. *Neurogastroenterol Motil*. 2012; 24 (1): 7–9.

13. Bitar KN, Zakhem E. Tissue engineering and regenerative medicine as applied to the gastrointestinal tract. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2013; 24 (5): 909–915.
14. Hendow EK, Guhmann P, Wright B et al. Biomaterials for hollow organ tissue engineering. *Fibrogenesis & Tissue Repair.* 2016; 9: 3.
15. Bonandrini B, Figliuzzi M, Papadimou E et al. Recellularization of well-preserved acellular kidney scaffold using embryonic stem cells. *Tissue Eng. Part A.* 2014; 20: 1486–1498.
16. Elliott MJ, De Coppi P, Speggin S et al. Stem-cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child: a 2-year follow-up study. *Lancet.* 2012; 380: 994–1000.
17. Basu J, Bertram TA. Regenerative Medicine of the Gastrointestinal Tract. *Toxicologic Pathology.* 2014; 42: 82–90.
18. Wang A, Tang Z, Park IH et al. Induced pluripotent stem cells for neural tissue engineering. *Biomaterials.* 2011; 32: 5023–5032.
19. Atala A, Lanza RP. Preface. *Methods of Tissue Engineering.* San Diego, CA: Academic Press; 2001.
20. Kang H-W, Lee SJ, Ko IK et al. A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity. *Nature Biotechnology.* 2016; 34: 312–319.
21. Chen F, Yoo JJ, Atala A. Acellular collagen matrix as a possible ‘off the shelf’ biomaterial for urethral repair. *Urology.* 1999; 54 (3): 407–410.
22. Atala A. Engineering tissues, organs and cells. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2007; 1: 83–96.
23. Versteegden LR, van Kampen KA, Janke HP et al. Tubular collagen scaffolds with radial elasticity for hollow organ regeneration. *Acta Biomaterialia.* 2017; 52: 1–8.
24. Liebert M, Hubbel A, Chung M et al. Expression of mal is associated with urothelial differentiation *in vitro*: identification by differential display reversetranscriptase polymerase chain reaction. *Differentiation.* 1997; 61: 177–185.
25. Atala A. Autologous cell transplantation for urologic reconstruction. *J. Urol.* 1998; 159: 2–3.
26. Yoo JJ, Meng J, Oberpenning F, Atala A. Bladder augmentation using allogenic bladder submucosa seeded with cells. *Urology.* 1998; 51: 221–225.
27. Oberpenning F, Meng J, Yoo JJ et al. De novo reconstitution of a functional mammalian urinary bladder by tissue engineering. *Nat. Biotechnol.* 1999; 17: 149–155.
28. Koh CJ, Atala A. Tissue engineering, stem cells, and cloning: opportunities for regenerative medicine. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004; 15: 1113–1125.
29. Li ST. Biologic biomaterials: tissue derived biomaterials (collagen). *The Biomedical Engineering Handbook.* FL: CRS Press; 1995: 627–647.
30. Chattopadhyay S, Raines RT. Review collagen-based biomaterials for wound healing. *Biopolymers.* 2014; 101: 821–833.
31. Dong C, Lv Y. Application of collagen scaffold in tissue engineering: recent advances and new perspectives. *Polymers.* 2016; 8: 42.
32. Versteegden LR, Hoogenkamp HR, Lomme RM et al. Design of an elasticized collagen scaffold: a method to induce elasticity in a rigid protein. *Acta Biomater.* 2016; 15: 277–85.
33. Rowley JA, Madlambayan G, Mooney DJ. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. *Biomaterials.* 1999; 20: 45–53.
34. Campbell PG, Weiss LE. Tissue engineering with the aid of inkjet printers. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2007; 7: 1123–1127.
35. Boland T, Xu T, Damon B et al. Application of inkjet printing to tissue engineering. *Biotechnol. J.* 2006; 1: 910–917.
36. Xu T, Rohozinski J, Zhao W et al. Inkjet-mediated gene transfection into living cells combined with targeted delivery. *Tissue Eng. Part A.* 2009; 15: 95–101.
37. Ilkhanizadeh S, Teixeira AI, Hermanson O. Inkjet printing of macromolecules on hydrogels to steer neural stem cell differentiation. *Biomaterials.* 2007; 28: 3936–3943.
38. Садовой МА, Ларионов ПМ, Самохин АГ, Рожнова ОМ. Клеточные матрицы для целей регенерации кости: современное состояние проблемы. 2014; 2: 79–86. Sadovoj MA, Larionov PM, Samohin AG, Rozhnova OM. Kletochnye matricy dlya celej regeneracii kosti: sovremennoe sostoyanie problemy. 2014; 2: 79–86.
39. Новочадов ВВ, Семенов ПС, Лябин МП. Инновационные подходы к оптимизации скаффолд-технологий на основе хитозана в тканевой инженерии суставного хряща. *Вестн. Волгогр. гос. ун-та. Сер. 10, Иннов. деят.* 2013; 2 (9): 135–143. Novochadov VV, Semenov PS, Lyabin MP. Innovacionnye podhody k optimizacii skaffold-tehnologij na osnove hitozana v tkanevoj inzhenerii sustavnogo hryashcha. *Vestn. Volgogr. gos. un-ta.* Ser. 10, Innov. deyat. 2013; 2 (9): 135–143.
40. Новочадов ВВ. Проблема управления клеточным заселением и ремоделированием тканеинженерных матриц для восстановления суставного хряща (обзор литературы). *Вестн. Волгогр. гос. ун-та. Сер. 11, Естеств. науки.* 2013; 1 (5): 19–28. Novochadov VV. Problema upravleniya kletochnym zaseleniem i remodelirovaniem tkaneinzhenernyh matric dlya vosstanovleniya sustavnogo hryashcha (obzor literatury). *Vestn. Volgogr. gos. un-ta.* Ser. 11, Estestv. nauki. 2013; 1 (5): 19–28.
41. Gilpin A, Yang Y. Decellularization strategies for regenerative medicine: from processing techniques to applications. *Biomed. Res. Int.* 2017; 983–1534.
42. Maghsoudlou P, Georgiades F, Smith H et al. Optimization of liver decellularization maintains extracellular matrix micro-architecture and composition predisposing to effective cell seeding. *PLoS ONE.* 2016; 11: e0155324.
43. Maghsoudlou P, Georgiades F, Tyraskis A et al. Preservation of micro-architecture and angiogenic potential in a pulmonary acellular matrix obtained using intermittent intratracheal flow of detergent enzymatic treatment. *Biomaterials.* 2013; 34: 6638–6648.
44. Chen F, Yoo JJ, Atala A. Acellular collagen matrix as a possible “off the shelf” biomaterial for urethral repair. *Urology.* 1999; 54: 407–410.
45. Reed AM, Gilding DK. Biodegradable polymers for use in surgery – poly(glycolic)/poly(lactic acid) homo and

- copolymers: 2. *In vitro* degradation. *Polymer*. 1981; 22 (4): 494–498.
46. Eberli D, Filho LF, Atala A et al. Composite scaffolds for the engineering of hollow organs and tissues. *Methods*. 2009; 47: 109–115.
 47. Bacakova L, Filova E, Rypacek F et al. Cell adhesion on artificial materials for tissue engineering. *Physiol. Res*. 2004; 53 (Suppl 1): S35–45.
 48. le Roux PJ. Endoscopic urethroplasty with unseeded small intestinal submucosa collagen matrix grafts: a pilot study. *J. Urol*. 2005; 173: 140–143.
 49. Fu Q, Deng CL, Liu W et al. Urethral replacement using epidermal cell-seeded tubular acellular bladder collagen matrix. *BJU Int*. 2007; 99: 1162–1165.
 50. Li C, Xu Y, Song L et al. Preliminary experimental study of tissue-engineered urethral reconstruction using oral keratinocytes seeded on BAMG. *Urol. Int*. 2008; 81: 290–295.
 51. Guan Y, Ou L, Hu G et al. Tissue engineering of urethra using human vascular endothelial growth factor gene-modified bladder urothelial cells. *Artif. Organs*. 2008; 32: 91–99.
 52. Master VA, Wei G, Liu W et al. Urothelium facilitates the recruitment and trans-differentiation of fibroblasts into smooth muscle in acellular matrix. *J. Urol*. 2003; 170: 1628–1632.
 53. Leonhäuser D, Stollenwerk K, Seifarth V et al. Two differentially structured collagen scaffolds for potential urinary bladder augmentation: proof of concept study in a Göttingen minipig model. *J Transl Med*. 2017; 15: 3.
 54. Hoogenkamp HR, Pot MW, Hafmans TG et al. Scaffolds for whole organ tissue engineering: Construction and *in vitro* evaluation of a seamless, spherical and hollow collagen bladder construct with appendices. *Acta Biomaterial*. 2016; 43: 112–121.
 55. Atala A, Bauer SB, Soker S et al. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *Lancet*. 2006; 367 (9518): 1241–1246.
 56. Atala A. Tissue engineering of human bladder. *British Medical Bulletin*. 2011; 97: 81–104.
 57. Rouwkema J, Rivron NC, van Blitterswijk CA. Vascularization in tissue engineering. *Trends Biotechnol*. 2008; 26: 434–441.
 58. Zhao X, Irvine SA, Agrawal A et al. 3D patterned substrates for bioartificial blood vessels – the effect of hydrogels on aligned cells on a biomaterial surface. *Acta Biomater*. 2015; 26: 159–168.
 59. Yao L, Liu J, Andreadis ST. Composite fibrin scaffolds increase mechanical strength and preserve contractility of tissue engineered blood vessels. *Pharm. Res.-Dordr*. 2008; 25 (5): 1212–1221.
 60. Singh RK, Seliktar D, Putnam AJ. Capillary morphogenesis in PEG-collagen hydrogels. *Biomaterials*. 2013; 34 (37): 9331–9340.
 61. Moon JJ, Saik JE, Poche RA. Biomimetic hydrogels with pro-angiogenic properties. *Biomaterials*. 2010; 31 (14): 3840–3847.
 62. Watanabe M, Shin'oka T, Tohyama S et al. Tissue engineered vascular autograft: inferior vena cava replacement in a dog model. *Tissue Eng*. 2001; 7 (4): 429–439.
 63. Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK et al. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nat. Med*. 2008; 14: 213–221.
 64. Wainwright JM, Czajka CA, Patel UB et al. Preparation of cardiac extracellular matrix from an intact porcine heart. *Tissue Eng. Part. C. Methods*. 2010; 16: 525–532.
 65. Oberwallner B, Brodarac A, Choi YH et al. Preparation of cardiac extracellular matrix scaffolds by decellularization of human myocardium. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2014; 102 (9): 3263–3272.
 66. Zimmermann WH, Melnychenko I, Wasmeier G et al. Engineered heart tissue grafts improve systolic and diastolic function in infarcted rat hearts. *Nat. Med*. 2006; 12: 452–458.
 67. Rodrigues MT, Lee SJ, Gomes ME et al. Amniotic fluid-derived stem cells as a cell source for bone tissue engineering. *Tissue Eng. A*. 2012; 18: 2518–2527.
 68. Williams C, Xie AW, Emami S et al. A comparison of human smooth muscle and mesenchymal stem cells as potential cell sources for tissue-engineered vascular patches. *Tissue Eng. A*. 2012; 18: 986–998.
 69. Ladd MR, Lee SJ, Stitzel JD et al. Co-electrospun dual scaffolding system with potential for muscle–tendon junction tissue engineering. *Biomaterials*. 2011; 32: 1549–1559.
 70. Liu H, Li X, Zhou G et al. Electrospun sulfated silk fibroin nanofibrous scaffolds for vascular tissue engineering. *Biomaterials*. 2011; 32: 3784–3793.
 71. Nakase Y, Nakamura T, Kin S et al. Intra-thoracic esophageal replacement by *in situ* tissue-engineered esophagus. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. 2008; 136: 850–859.
 72. Basu J, Mihalko KL, Payne R et al. Extension of bladder based organ regeneration platform for tissue engineering of esophagus. *Med. Hypotheses*. 2012; 78: 231–234.
 73. Basu J, Mihalko KL, Rivera EA et al. Tissue engineering of esophagus and small intestine in rodent injury models. *Methods Mol. Biol*. 2013; 1001: 311–324.
 74. Saxena AK, Kofler K, Ainodhofer H et al. Esophagus tissue engineering: hybrid approach with esophageal epithelium and unidirectional smooth muscle tissue component generation *in vitro*. *J. Gastrointest. Surg*. 2009; 13: 1037–1043.
 75. Badylak SF, Vorp DA, Spievack AR et al. Esophageal reconstruction with ECM and muscle tissue in a dog model. *J. Surg. Res*. 2005; 128: 87–97.
 76. Tan B, Wei RQ, Tan MY et al. Tissue engineered esophagus by mesenchymal stem cell seeding for esophageal repair in a canine model. *J. Surg. Res*. 2013; 182 (1): 40–48.
 77. Othman R, Morris GE, Shah DA et al. An automated fabrication strategy to create patterned tubular architectures at cell and tissue scales. *Biofabrication*. 2015; 7 (2): 025003.
 78. Speer AL, Sala FG, Matthews JA et al. Murine tissue-engineered stomach demonstrates epithelial differentiation. *J. Surg. Res*. 2011; 171: 6–14.
 79. Nakatsu H, Ueno T, Oga A et al. Influence of mesenchymal stem cells on stomach tissue engineering using small intestinal submucosa. *J. Tissue Eng. Regen. Med*. 2015; 9: 296–304.

80. Hori Y, Nakamura T, Kimura D et al. Experimental study on tissue engineering of the small intestine by mesenchymal stem cell seeding. *J. Surg. Res.* 2002; 102: 156–160.
81. Grikscheit TC, Siddique A, Ochoa ER et al. Tissue-engineered small intestine improves recovery after massive small bowel resection. *Ann. Surg.* 2004; 240: 748–754.
82. Grikscheit TC, Ochoa ER, Ramsanahie A et al. Tissue-engineered large intestine resembles native colon with appropriate *in vitro* physiology and architecture. *Ann. Surg.* 2003; 238: 35–41.
83. Sala FG, Matthews JA, Speer AL et al. A multicellular approach forms a significant amount of tissue-engineered small intestine in the mouse. *Tissue Eng. A.* 2011; 17: 1841–1850.
84. Qin HH, Dunn JC. Small intestinal submucosa seeded with intestinal smooth muscle cells in a rodent jejunal interposition model. *J. Surg. Res.* 2011; 171: e21–26.
85. Nakase Y, Hagiwara A, Nakamura T et al. Tissue engineering of small intestinal tissue using collagen sponge scaffolds seeded with smooth muscle cells. *Tissue Eng.* 2006; 12 (2): 403–412.
86. Lee M, Wu BM, Stelzner M et al. Intestinal smooth muscle cell maintenance by basic fibroblast growth factor. *Tissue Eng. Part A.* 2008; 14 (8): 1395–1402.
87. Bitar KN, Zakhem E. Tissue engineering and regenerative medicine as applied to the gastrointestinal tract. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2013; 24 (5): 909–915.
88. Zakhem E, Raghavan S, Gilmont RR et al. Chitosan-based scaffolds for the support of smooth muscle constructs in intestinal tissue engineering. *Biomaterials.* 2012; 33: 4810–4817.
89. Raghavan S, Lam MT, Foster LL et al. Bioengineered three-dimensional physiological model of colonic longitudinal smooth muscle *in vitro*. *Tissue Eng. C. Methods.* 2010; 16: 999–1009.
90. Vermeulen N, Haddow G, Seymour T et al. 3D bioprint me: a socioethical view of bioprinting human organs and tissues. *J. Med. Ethics.* 2017; 43: 618–624.
91. Gilbert F, O'Connell CD, Mladenovska T et al. Print Me an Organ? Ethical and Regulatory Issues Emerging from 3D Bioprinting in Medicine. *Sci. Eng. Ethics.* 2018; 24: 73–91.

*Статья поступила в редакцию 28.02.2019 г.
The article was submitted to the journal on 28.02.2019*