

Богдана РУЖИЦЬКА, студентка,

Олена ГОЛЕМБІОВСЬКА, канд. фарм. наук, доц.

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,
м. Київ, Україна, e-mail: ruzhitskab@gmail.com, golembiowska-fbmi@iit.kpi.ua

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ ОРГАНІВ НА ЧИПІ

Анотація. Органи на чипах є новітнім методом для *in vitro* культивування клітин, що покликаний наблизити умови культивування до фізіологічних умов організму для покращення репрезентативності результатів дослідів. У даному дослідженні були розглянуті матеріали, що використовуються для виготовлення органів на чипах, деякі їхні переваги та недоліки, шляхи вирішення проблем. Підсумовуючи, для органів на чипах можуть засовуватись як синтетичні, так і природні матеріали. Матеріали можуть бути підібрані та модифіковані для отримання характеристик, необхідних для моделювання певної тканини.

Ключові слова: орган на чипі, матеріали.

Актуальність дослідження. *In vitro* методи дослідження є надзвичайно важливими для біомедичних досліджень. Вони дають можливість працювати з окремим типом клітин, тканиною або невеликими моделями органів (органоїдами). Оскільки людський організм є надзвичайно складною системою, таке спрощення значно полегшує роботу, виключаючи впливи багатьох факторів.

Основною проблемою *in vitro* методів є те, що клітини знаходяться у нетиповому середовищі, що негативно впливає на репрезентативність результатів досліджень, тому одним з головних напрямків розвитку даних методів є наближення умов культивування клітин до умов живого організму. Органи на чипах є новітнім *in vitro* методом, покликаним наближувати умови культивування клітин до умов *in vivo*. Вже сьогодні ці моделі застосовуються для пошуку та тестування нових лікарських засобів, моделювання захворювань, а в майбутньому можливе їх масове застосування для персоналізованої медицини, оскільки є можливість дослідження клітин кожного окремого пацієнта, високопродуктивного скринінгу, що є одним із способів пошуку нових ліків та відслідковування різних біологічних процесів (рис. 1).

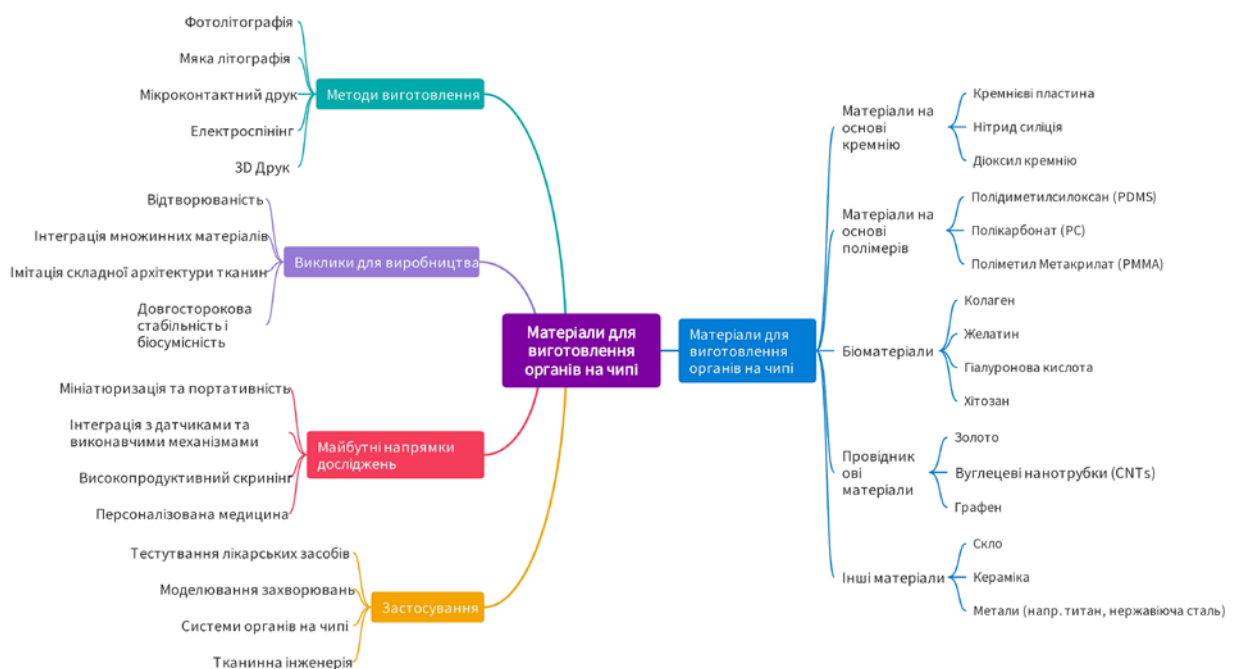


Рис. 1. Асоціативна діаграма, яка відображає основні матеріали для виготовлення органів на чипі, методи виготовлення, проблеми виробництва, майбутні напрямки досліджень та застосування органів на чипі

Особливо важливими є матеріали, що використовуються для органів на чипі, адже вони також впливатимуть на репрезентативність досліджень.

Мета дослідження. Матеріали, що використовуються для створення органів на чипах, порівняння матеріалів для різних цілей. У даному дослідженні будуть розглянуті лише найбільш матеріали, що безпосередньо контактують з клітинами.

Основні матеріали досліджень. Мікрофлюїдика або мікрогідродинаміка – наука і однойменна технологія, де використовується оперування маленькими об'ємами рідин (10^{-9} ... 10^{-18} л) у каналцях з розміром від десятків до сотень мікрометрів. При створенні мікрофлюїдних систем використовуються напрацювання у сферах мікрогідродинаміки, мікроелектроніки та матеріалознавства [1]. Орган на чипі (ОНЧ) – система культивування клітин, заснована на мікрофлюїдиці, у яких невеликі камери та каналці, заселені клітинами, постійно перфузуються, чим досягається наближення умов культивування до фізіологічних умов організму [2]. Органи на чипі дають змогу регулювати швидкість потоку рідин/повітря, градієнти концентрації, розташування клітин, взаємодію тканина-тканина, та навіть взаємодію між органами, оскільки вже існують «системи на чипі». У майбутньому очікуються моделі «тварина на чипі» та «людина на чипі», тобто по-суті моделювання цілого живого організму [3, 4].

Можна умовно поділити способи культивування клітин у ОНЧ на 2D та 3D. До 2D-способів відноситься культивування на поверхнях мікроканалців та мікрокамер одним шаром, культивування на мембранах одним шаром [4]. До 3D способів відносяться органоїди (сфероїди), які можуть бути прикріплені до поверхні, знаходитися у скафолді, переважно у гідрогелях, у сформованих лунках, формах, а також інкапсульовані у гідрогелі, альгінат, тощо [5].

До матеріалів ОНЧ, що контактують з клітинами висуваються такі вимоги: біосумісність, прозорість (для того, щоб була можливість контролювати процес культивування за допомогою мікроскопа) та властивості, що дозволяють застосовувати матеріал для моделювання певного органу [6].

Для виготовлення ОНЧ використовуються скло, кремній, натуральні та синтетичні полімери, метали, і застосовують найновітніші технології, такі як м'яка літографія, 3D друк. Узагальнено матеріали, методи, проблеми виготовлення та перспективи ОНЧ розглянуті на асоціативній діаграмі (рис.1).

Найбільш поширеним матеріалом для виготовлення ОНЧ є полідиметилсилоксан (PDMS). PDMS це полімер, а конкретно еластомер, що є біоінертним, хімічно стабільним, газопроникним, прозорим та має відповідні механічні властивості. Також розповсюдженню цього матеріалу сприяв розвиток м'якої літографії – технології, що дозволяє створювати та копіювати мікро- та наноструктури на еластомерах, особливо саме на PDMS. Основним недоліком PDMS є гідрофобність (кут змочування близько 108°), а для адгезії клітин потрібна гідрофільна поверхня. Для того, щоб зробити поверхню гідрофільною, використовуються різні методи. Найбільш розповсюдженим є обробка плазмою, але ефект пропадає вже через кілька хвилин після обробки і може відбуватися пошкодження поверхні, також часто застосовується коронний заряд, але від нього ефект також довго не тримається. Обидва цих методи засновані на заміні гідрофобних метильних груп на гідрофільні силанольні групи (Si-OH). Завдяки цьому PDMS після обробки може утворювати міцні ковалентні Si-O-Si зв'язки зі склом. Також може застосовуватися обробка ультрафіолетовим світлом та озоном [4, 6, 7, 8]. На даний момент активно розробляються нові методи, що допомагають утримувати поверхню PDMS гідрофільною протягом більш тривалого часу. Наприклад, існує досить швидкий та відносно простий спосіб покриття поверхні PDMS полівініловим спиртом (PVA), що є гідрофільним полімером [9] (рис. 1).

Окрім еластомерів, можуть застосовуватися і термопласти. Серед них полістирол (PS), поліметилметакрилат (PMMA), полікарбонат (PC), циклічний олефіновий полімер (COP), циклічний олефіновий кополімер (COC). Термопласти прозорі, їх легко виготовляти, але

важко створювати необхідні мікроструктури. Пористі PS-мембрани можуть використовуватися для моделювання з'єднання між двома різними тканинами. PS вже давно використовується для виготовлення посуду для культивування клітин. COP і COC є проникними не лише для видимого спектру світла, а й для ультрафіолетового діапазону, що забезпечує можливість використовувати флуоресцентні методи оцінки [4, 6].

Серед неорганічних матеріалів у органах на чипах може використовуватися скло та кремній, причому перші органи на чипах були зроблені саме на основі кремнію. Основна проблема – кремній не є прозорим, тому з цієї точки зору є більш виграним варіантом. Однак, не зважаючи на те, що на склі гарно адгезують клітини та не притягуються гідрофобні молекули, цей матеріал не є газопроникним, що ускладнює аерацію клітин. Серед іншого, фотолітографія, за допомогою якого виробляють скляні мікрофлюїдні пристрої, на відміну від м'якої літографії, що застосовується для PDMS, є більш дорогавартісною. Рідке скло (нанокомпозит з аморфного кремнезему), що потенційно може бути вирішенням цих недоліків [6].

Папір використовується для створення мембран. Це дешевий та доступний матеріал. Целюлозна матриця може бути використана для вирощування 3D культур через свою пористість. Окрім цього можуть застосовуватись нітроцелюлозні мембрани, що схожі на паперові [6].

Гідрогелі – зшиті полімери, що здатні утримувати в собі рідину, найчастіше воду, при чому не розчинаючись. У ОНЧ можуть застосовуватись для створення мембран, скафолдів, полімерних мікрокраплин для культивування сфероїдів, тощо [10].

Серед синтетичних матеріалів для виготовлення гідрогелів використовуються поліетиленгліколь (PEG) та його похідні, а також полімолочна кислота (полілактид, PLA), кополімер молочної та гліколевої кислот (PLGA) і полікапролактон (PCL). Основною перевагою синтетичних гідрогелів є те, що можна легко регулювати їхні біологічні та механічні властивості [6] (Рис. 2).

Колаген – найбільш поширений матеріал для отримання гідрогелів і має дуже широке застосування в ОНЧ і застосовується для моделювання багатьох тканин. Фібриновий гідрогель може забезпечувати постачання кисню та поживних речовин, що дозволяє його використовувати для моделювання васкуляризованих тканин. Колаген може застосовуватись для моделювання серцевої тканини, гематоенцефалічного бар'єру, шкіри. У гідрогелях фіброїну шовку можна регулювати механічні властивості, оскільки вони залежать від впливу різних температур, зміни рН, механічних впливів та впливу ультразвуку, а також від зшивання йонами. Колаген може застосовуватися для моделювання серцевої тканини, рогівки, оскільки саме ці тканини постійно піддаються механічним навантаженням різного роду. Желатин та його похідна сполука желатин-метакрилоїл (GelMA, який можна зшивати) зберігають RGD-последовності (аргінілгліциласпарагінової кислоти), що відіграє роль у адгезії, диференціації та розмноженні клітин, а також є чутливими до матриксних металопротеаз, що беруть участь у модифікації позаклітинного матриксу і, відповідно, у багатьох фізіологічних процесах. Желатин та GelMA можна використовувати для моделювання серцевої, печінкової тканин, судин, а також пухлин. Гіалуронова кислота та гідрогелі на її основі мають широке застосування, адже гіалуронова кислота бере участь у міграції, диференціації та проліферації клітин, а також в ангиогенезі. Може використовуватися для моделювання тканин серця, печінки, скелетних м'язів саме у 3D. Зазвичай застосовуються гідрогелі на основі модифікованої гіалуронової кислоти. В одному дослідженні RGD-модифікований гідрогель сприяв поширенню клітин та секреції білків порівняно з немодифікованим гідрогелем на основі гіалуронової кислоти. Геланова камедь, що продукується бактеріями *Pseudomonas elodea*, та застосовується у харчовій промисловості як гелеутворювач, також може бути використана в ОНЧ. Геланова камедь може утворювати стабільні гідрогелі шляхом зшивання. Особливо перспективним є застосування геланової камеді як біочорнил у біодруці. Вона застосовується для моделювання мікросудин у тканинах [11].

Окрім створення гідрогелів, природні полімери використовуються і для інших цілей в ОНЧ. Так, хітозан – продукт деацетилювання хітину, біополімер, що складається з мономерів D-глюкозаміну. Хітозан є біологічно активною речовиною, що бере участь у багатьох фізіологічних процесах. Може застосовуватись для мембран, а також для полімерних мікрочасток, що використовуються для доставки гідрофільних ліків та поживних речовин. Альгінати (солі альгінової кислоти) можна використовувати для інкапсуляції клітин та сфероїдів у мікросфери. Альгінати та декстран можуть також застосовуватись для створення мікросудин на основі ендотеліальних клітин пупкової вени людини [11].

Matrigel – комерційно доступний матрикс, багатий на фібрин, колаген, ламінін та інші речовини, типові для позаклітинного матриксу. Його отримують з пухлин мишей. Він має широке застосування, зокрема у культивуванні різних типів стовбурових клітин, і використовується в тому числі і в ОНЧ [12, 4].

Якщо узагальнювати, то застосування натуральних та синтетичних полімерних матеріалів у ОНЧ має як плюси, так і мінуси. Полімери є біосумісними. Модифікуючи їх або піддаючи різним впливам можна отримувати бажані фізичні та механічні властивості. Деякі полімери, як наприклад, PDMS є економічно вигідним матеріалом для виготовлення ОНЧ. Основною проблемою полімерів, як біоматеріалів, є схильність до старіння під впливом фізіологічних рідин (у випадку ОНЧ, рідин що імітують фізіологічне середовище організму). Окрім цього, виготовлення деяких полімерів є досить складним та дорогим процесом. Серед недоліків слід виділити відсутність або складність стандартизації, а також етичні аспекти застосування матеріалів тваринного походження. Потенційні шляхи вирішення цих проблем наведено на асоціативній діаграмі (рис. 2).



Рис. 2. Асоціативна діаграма основних переваг та недоліків полімерних матеріалів для виготовлення органів на чипі, а також способи подолання недоліків

Висновок

Органи на чипах є надзвичайно перспективним методом досліджень і в наступні роки слід очікувати поширення їхнього використання. Завдяки можливості регулювати велику кількість параметрів, можна значно наблизити умови культивування до фізіологічних умов організму, що значно підвищує репрезентативність результатів. Разом із цим, можна створити середовище, що моделює певне захворювання. Такі моделі є необхідними для пошуку нових ліків та методів лікування. Матеріали, що використовуються для виготовлення органів на чипах, мають бути біосумісними, прозорими та відповідати іншим вимогам, специфічним для моделювання тієї чи іншої тканини. Найбільш поширеним матеріалом є полідиметилсилоксан, основною проблемою якого є гідрофобність. Також можуть застосовуватись скло, кремній, різноманітні термопласти. Для моделювання мембран може застосовуватись папір, нітроцелюлоза, хітозан. Для виготовлення гідрогелів існує багато як синтетичних, так і природних полімерів, тому необхідно обирати матеріал, орієнтуючись на цільову тканину.

Література

1. Fabrication and applications of microfluidic devices: a review / A.-G. Niculescu et al. *International journal of molecular sciences*. 2021. Vol. 22, no. 4. P. 2011. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms22042011>(date of access: 10.04.2023).
2. Bhatia S. N., Ingber D. E. Microfluidic organs-on-chips. *Nature biotechnology*. 2014. Vol. 32, no. 8. P. 760–772. URL: <https://doi.org/10.1038/nbt.2989>(date of access: 13.04.2023).

3. Organ-on-a-chip pack. *Elveflow*. URL: <https://www.elveflow.com/microfluidics-application-packs/biology-packs/organ-on-a-chip-pack/>(date of access: 10.04.2023).
4. A guide to the organ-on-a-chip / C. M. Leung et al. *Nature reviews methods primers*. 2022. Vol. 2, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s43586-022-00118-6>(date of access: 10.04.2023).
5. Advances in spheroids and organoids on a chip / G. Fang et al. *Advanced functional materials*. 2023. P. 2215043. URL: <https://doi.org/10.1002/adfm.202215043>(date of access: 13.04.2023).
6. Biomedical application of functional materials in organ-on-a-chip / C. Ding et al. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2020. Vol. 8. URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00823>(date of access: 10.04.2023).
7. Properties and applications of PDMS for biomedical engineering: a review / I. Miranda et al. *Journal of functional biomaterials*. 2021. Vol. 13, no. 1. P. 2. URL: <https://doi.org/10.3390/jfb13010002>(date of access: 10.04.2023).
8. PDMS: a review. *Elveflow*. URL: <https://www.elveflow.com/microfluidic-reviews/general-microfluidics/the-polydimethylsiloxane-pdms-and-microfluidics/>(date of access: 11.04.2023).
9. Hydrophilic surface modification of PDMS for droplet microfluidics using a simple, quick, and robust method via PVA deposition / T. Trantidou et al. *Microsystems & Nanoengineering*. 2017. Vol. 3, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/micronano.2016.91>(date of access: 13.04.2023).
10. Advances in hydrogels in organoids and organs-on-a-chip / H. Liu et al. *Advanced materials*. 2019. Vol. 31, no. 50. P. 1902042. URL: <https://doi.org/10.1002/adma.201902042>(date of access: 13.04.2023).
11. Selection of natural biomaterials for micro-tissue and organ-on-chip models / B. Cecen et al. *Journal of biomedical materials research part A*. 2022. Vol. 110, no. 5. P. 1147–1165. URL: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37353>(date of access: 10.04.2023).
12. Tissue engineering of muscle tissue ☆ / I. Conboy et al. *Comprehensive biomaterials II*. 2017. P. 216–235. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803581-8.10178-x>(date of access: 13.04.2023).