Mesterséges bőrszövetek a kutatásban és a gyógyításban

Guba Melinda[1, 2] ▪ Szűcs Diána[1, 2]
Kemény Lajos dr.[1, 2, 3] ▪ Veréb Zoltán dr.[1, 2, 3, 4]

[1]Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Regeneratív Medicína és Celluláris Farmakológiai Kutató Laboratórium, Szeged
[2]Interdiszciplináris Kutatásfejlesztési és Innovációs Kiválósági Központ (IKIKK), Transzlációs Biomedicína Kutató Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Szeged
[3]Magyar Molekuláris Medicina Kiválósági Központ (HCEMM), Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged
[4]Szegedi Tudományegyetem, 3D Központ, Szeged

A bőrpótlóknak mind a klinikumban, mind a gyógyszerkutatásokban kiemelt szerepük van. Ezek a kezdetleges mesterséges bőrszövetek segíthetik a bőr regenerálódását, modellezhetik a főbb funkciókat, de megvannak a korlátaik is, mechanikailag sérülékenyek, és nem tartósak. A legtöbb bőrpótló vagy acelluláris, vagy csak egy-két sejttípust tartalmaz. Az eredeti bőrrel megegyező szerkezetű, teljesen funkcionális mesterséges bőrszövet a mai napig nem létezik. A háromdimenziós szövetnyomtatás megoldást kínálhat erre a problémára is, hiszen a bőrszövet minden sejtes eleme felhasználható, megfelelő hidrogélek és biotinták segítségével pedig olyan komplex struktúrák hozhatók létre, amelyek képesek a bőr teljes funkcionális repertoárját biztosítani. Ez nemcsak klinikai szempontból kiemelt jelentőségű, hanem a preklinikai kísérletek esetében kiválthatja az állatmodelleket és számos toxikológiai vizsgálatot is.
Orv Hetil. 2022; 163(10): 375–385.

Kulcsszavak: mesterséges bőrszövet, 3D szövetnyomtatás, mesenchymalis őssejt, extracellulárismátrix-fehérjék

Tissue engineered skin products in research and therapeutic applications

Skin substitutes have a prominent role in therapeutic applications and drug research. These simple artificial skin tissues can support skin regeneration, *in vitro* they can model the main functions of the skin but they also have limitations such as being mechanically vulnerable and not durable enough. Most skin substitutes are either acellular or contain only one or two cell types. Fully functional artificial skin substitute with the same structure as the original skin has not been produced to this day. Three-dimensional tissue bioprinting can also offer a solution to this problem, as all cellular elements of skin tissue can be used, and with the help of appropriate hydrogels and bioinks, complex structures can be created that can provide a complete functional repertoire of the skin. It is important not just in the clinical therapeutic use, but it can also trigger the replacement of animal models and a number of toxicological studies in preclinical trials.

Keywords: artificial skin tissue, 3D bioprinting, mesenchymal stem cell, extracellular matrix proteins

Guba M, Szűcs D, Kemény L, Veréb Z. [Tissue engineered skin products in research and therapeutic applications]. Orv Hetil. 2022; 163(10): 375–385.

(Beérkezett: 2021. június 11.; elfogadva: 2021. szeptember 13.)

Rövidítések

3D = (three-dimensional) háromdimenziós; CD = (cluster of differentiation) differenciációs klaszter; EFOP = Emberi Erőforrás Fejlesztési Operatív Program; EU = Európai Unió; GelMA = (gelatin methacrylate) zselatin-metakrilát; HCEMM = (Hungarian Center of Excellence for Molecular Medicine) Magyar Molekuláris Medicina Kiválósági Központ; PCL = (polycaprolactone) polikaprolakton; PD = Posztdoktori Kiválósági Program pályázat; PLA = (polylactic acid) politejsav; SZTE = Szegedi Tudományegyetem; ÚNKP = Új Nemzeti Kiválóság Program

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

Bőrünk a legnagyobb méretű szervünk, amely egy felnőtt ember testsúlyának megközelítőleg a 15%-át teszi ki. A bőr a szervezet és a külső környezet közötti kapcsolat, jelentős szerepet játszik a szervezet védelmében és támogatásában. Szerepe van fizikai gátként a mikroorganizmusok elleni és a külső környezetből származó káros anyagokkal szembeni védelemben, a testhőmérséklet fenntartásában, valamint a D-vitamin szintézisének és számos immunológiai folyamatnak a színtere [1].

A bőr szerkezete

A bőrt három réteg és ezek függelékei alkotják: az epidermis, a dermis és a subcutis. Minden réteget komplex sejtes rendszerek alkotnak. Az epidermis a többrétegnyi, elszarusodó keratinocytákból álló legfelső réteg, a középső réteg a dermis, amely kollagént és fibroblastokat tartalmaz. A legbelső réteg a subcutis, amely zsírsejtekből (adipocytákból) és kollagénből áll. A rétegek vastagsága változik a test különböző pontjain, így például az epidermisréteg a tenyérnél a legvastagabb, 1,5 mm, míg a szemhéjnál a legvékonyabb, megközelítőleg 0,1 mm, ezzel szemben a felületi epidermishez képest a dermis 30–40-szer vastagabb a hát területén. Ennek a komplex rendszernek a folyamatos megújulása és a sérülések utáni regenerálódása a bőrben található őssejteknek köszönhető, melyek napjainkban egyre nagyobb hangsúlyt kapnak a terápiás alkalmazásokban is. Ezek az őssejtek megtalálhatók a felnőttek szervezetének hámszöveti szőrtüszőiben, faggyúmirigyeiben és az epidermisben is [2].

Epidermis

A kültakaró legkülső rétege az epidermis, amelyet többrétegű elszarusodó laphám alkot, és ennek csak a legalsó (basalis) rétege képes aktívan osztódni [3]. Az epidermis szerkezetileg több különálló rétegbe (stratum germinativum, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum corneum) rendeződik, amelyek a keratinocyták egymást követő érési fázisait reprezentálják. A legalsó mitotikusan aktív basalis rétegtől vándorolnak a sejtek a legkülső rétegbe, miközben elveszítik proliferációs képességüket az integrin és a laminin expressziójának kikapcsolása által, és végül leválnak a bőr felszínéről [4]. Az epidermisnek nincs közvetlen vérellátása, a tápanyagellátás és a salakanyagok eltávolítása a mögöttes dermisből, a basalis membránán keresztül történő diffúzió által valósul meg. Az epidermist és a dermist az extracelluláris mátrix határolja el [3]. A bőr legkülső rétegének felépítésében a keratinocyták mellett, melyek az epidermis 80%-át alkotják, számos egyéb sejttípus is részt vesz, mint például a Merkel-sejtek, a Langerhans-sejtek, a melaninképző sejtek (melanocyta), illetve a különböző progenitor- és őssejtek [5]. A bőr epidermisét a legnagyobb részben keratinocytasejtek alkotják, létrehozva a szervezet legkülső fizikai gátját (védelem a külső környezeti behatásokkal, mikroorganizmusokkal stb. szemben). A keratinocyták négy réteget alkotnak, eltérő fokú differenciációs szerveződést mutatva, melyeket a basalis alaplemez osztódó sejtjei hoznak létre. A keratinocytákban található keratinszálak alkotta cytoskeletalis hálózat a basalis sejtekben, a K5 és K14 keratinok, a K1 és K10 keratinfehérjék pedig a következő keratinocytaréteg (stratum spinosum) sejtjeiben találhatók. Jellemző továbbá ezen sejtekre az involukrin fehérje megjelenése is, amely transzglutaminázokkal együtt keresztkötéseket képes létrehozni, ezáltal mechanikai szilárdságot biztosít a keratinocytáknak. A differenciáltabb rétegben (stratum granulosum) a sejtek citoplazmájában keratohialin-granulumok, valamint még lorikrin, involukrin és profilaggrin a jellemző fehérjék, melyek a sejtek érettségi állapotát mutatják, így a terminális differenciálódás markereiként jellemezhetők. A sejtek folyamatosan vándorolnak, és a differenciálódás végén elérik a stratum corneumot, amely szorosan összezárt, elhalt sejtekből áll, kialakítva ezzel a kórokozók behatolását megakadályozó, valamint a kiszáradással szembeni védővonalat. Az epidermis basalis rétegében találhatók a melanocytasejtek, amelyek pigmentjeikkel a bőr és a haj színét adják. A melanocyták nemcsak az epidermisben és a szőrtüszőkben vannak jelen, hanem a nyálkahártyában, a fül szöveteiben és az íriszben is megtalálhatók. A melanocyták száma az epidermisben az ultraibolya (UV) sugárzás mértékétől függ, a keratinocyták és fibroblastok által szelektált faktoroktól, normálkörülmények között nagyon ritkán szaporodnak. Minden melanocyta 30–40 szomszédos keratinocytával érintkezik az epidermisben, hosszú elágazó morfológiájuknak köszönhetően. A bőr szőrtüszőiben, valamint a kezek és a lábak ujjbegyeinek szöveteiben találhatók a mechanoszenzitív Merkel-sejtek. A sejtek morfológiáját jellemzik a sejtmagon megfigyelhető behúzódások és a granulumok felszaporodása a citoplazmában, továbbá képesek desmosomalis kapcsolatok kialakítására keratinocytákkal. A basalis membránán helyezkednek el, ahol szenzoros (afferens) idegvégződésekhez kapcsolódnak, így kialakítva a tapintás- és a nyomásérzékelést. Az immunválaszban jelentősek az epidermisben sűrű hálózatot alkotó Langerhans-sejtek. Fontos szerepük van a bőr elsődleges védővonalában antigénprezentáló sejtekként (dendritikus sejtekként), ám a gyulladással járó folyamatokban – mint a psoriasis, az atopiás dermatitis vagy az allergiás bőrkiütések – betöltött szerepük továbbra is több kutatás tárgyát képezi [6].

Dermis

A bőrt felépítő három réteg közül a legvastagabb a dermis, amely két további részre osztható: ezek a stratum papillare és a stratum reticulare [7]. A bőrnek ez a középső rétege egy kötőszövet, amely extracelluláris mátrixból, fibroblastokból, vascularis endothelium sejtekből, véredényekből, szőrtüszőkből, faggyúmirigyekből, verejtékmirigyekből és idegvégződésekből épül fel: ezek együtt biztosítják a mechanikai támaszt, a rugalmasságot és a szilárdságot [8]. A mechanikai védelem kialakításában

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

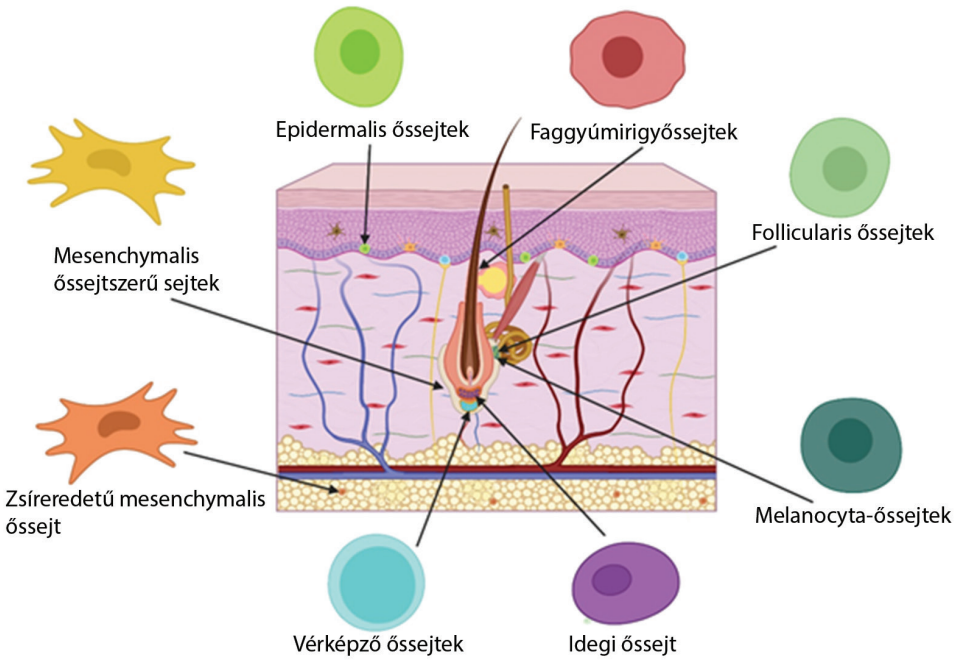
kollagén és elasztin fehérjék vesznek részt, melyeket a dermisben található fibroblastok termelnek. Kollagén nagy mennyiségben (70%) található a dermisben; ennek a fehérjecsaládnak több mint 15, genetikailag különálló típusa van az emberi bőrben [4]. Az extracelluláris mátrixban található elasztin segíti a szövetek mechanikai nyújtásához szükséges szerkezeti integritást és rugalmasságot, így a bőr nyújtását és visszahúzódását teszik lehetővé. Az elasztin nagy mennyiségben a dermis stratum reticulare részében van jelen, ahol az elasztin fehérjeszálakba rendeződik, ezek a nagy átmérőjű, rugalmas szálak pedig mélyen a szövet belsejében helyezkednek el. A fibroblastok elasztikus rostjai a dermis extracelluláris mátrixához kapcsolódnak, amely glikozaminoglikánokból áll. A fehérjeszálak vastagsága eltérő a stratum papillarében és a stratum reticularében [4]. A mesenchymából származó fibroblastsejtek a dermis kötőszövet-szerkezetét biztosítják proteoglikánok, fibrin, kollagén és egyéb matricelluláris fehérjék termelésével. Gyógyulási folyamatokban jelentős szerepük van azáltal, hogy a sebhez vándorolnak, osztódnak, és ott extracelluláris mátrix termelésével segítik a regenerációt; ezt azokban az esetekben is megfigyelték, amikor kívülről injektálták a sebbe a fibroblastsejteket. Immunmoduláló tulajdonságuk révén képesek a lymphocyta- és a T-sejteket gátolni. Karakterizálásuk sejtkultúrákban a CD26 és CD10 markerekkel lehetséges.

Subcutis

A bőr legalsó rétege, melynek legnagyobb része zsírszövet, valamint a benne elhelyezkedő verejtékmirigyek és szőrtüszők, így gazdag ideg- és érhálózattal rendelkezik. Ez a réteg energiaraktárként szolgál, valamint mechanikai behatásokkal szembeni védelmet is biztosít. Két típust különböztetünk meg: a barna, illetve a fehér zsírszövetet, így az adipocytáknak is két formájuk van. A fehér adipocyták főleg visceralisan és subcutaneusban halmozódnak fel az emberi szervezetben. Morfológiájukra jellemző az oldalra kiszorított sejtmag és vékony citoplazma, a sejt közepén elhelyezkedő lipidcsepp, valamint kisszámú mitokondriumot tartalmaznak. Az energia tárolásában játszanak fontos szerepet. A barna adipocyták jelentősége a hőtermelésben nyilvánul meg. Szerkezetükre jellemző a több, kisebb méretű zsírcsepp, melyek egyenletesen oszlanak el a citoplazmában; a sejtmag elhelyezkedése emiatt lehet centrális vagy excentrikus, a citoplazmájuk mitokondriumokban gazdag. Számottevően magzati korban van jelen.

Őssejtek a bőrben

A bőr regenerálódásában és folyamatos megújulásában vesznek részt az őssejtek, melyek több helyen is megtalálhatók, mint a basalis lamina vagy a szőrtüszők egyik speciális régiója („bulge region"). Ebben a két régióban több őssejttípus is található, melyek a helyreállítás teljes folyamatában részt vesznek. A szőrtüszőhöz csatlakozó simaizom (szőrszálemelő izom) melletti terület („follicle bulge region") több őssejt-populációt tartalmaz [9]. Ezek az őssejtaltípusok multipotensek, és sebzés hatására aktiválódhatnak, a szőrtüszőkből a sérülés helyére vándorolhatnak a helyreállítása érdekében. Az epithelialis őssejtek másik csoportja az interfollicularis epidermalis őssejtek, melyek a sebgyógyulásban kiemelten fontos



1. ábra Ős - és progenitorsejtek a bőrben
A bőrben számos ős és progenitorsejt van. A hám basalis rétegében található epidermalis őssejtek felelősek az epidermis különböző rétegeinek mindennapi regenerálásáért. A külső gyökérhüvelyben oszlanak el a szőrtüszőkben található őssejtek. A melanocyta őssejtek felelősek a melanocyták pótlásáért, őssejteket találunk a faggyúmirigyek területén is. Mind a dermisben és a hipodermisben találunk mesenchymalis vagy stroma őssejteket melyek szerepe még nem tisztázott a bőr homeosztázisában.

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

szerepet játszanak, általuk újul meg a felhám. Ezek az epidermalis őssejtek unipotensek, és a basalis laminában helyezkednek el; korlátozott replikációra képesek, mielőtt érett keratinocytákká differenciálódnának (terminális differenciálódás) [10] *(1. ábra)*.

A bőrben jelen lévő extracellulárismátrix-fehérjék

A bőrt alkotó epidermist és dermist az extracelluláris mátrix határolja el egymástól, amelyet további részekre oszthatunk: ezek az interstitialis membrana és a basalis membrana. A sejteket egymással összekapcsoló komplex fehérjehálózat az extracelluláris mátrix, amely lehetővé teszi a többsejtű élőlényekben a szövetek és szervek létrehozását, valamint ezek megfelelő szerkezetét és integritását adja. Az extracelluláris mátrix szerkezetét glikoproteinek és proteoglikánok alkotják, amelyek szövetspecifikusak, és kémiai, fizikai tulajdonságokat biztosítanak. A megfelelő struktúra biztosításán kívül befolyásolják a proliferációt, a fenotípust és a differenciálódást is [11]. A mátrixhoz növekedési faktorok kötődnek, amelyek fizikai sérülést követően felszabadulnak, így a regenerációban is szerepük van [12]. Az extracelluláris mátrixot alkotó fehérjékben bekövetkező mutáció, illetve a szabályozásukban jelentkező diszfunkció különböző betegségeket és kóros állapotokat hoz létre az emberi szervezetben. A kollagén, az extracelluláris mátrix egyik összetevője, hozzájárul a különböző szövetek szerkezeti szilárdságához (például szakítószilárdság, rugalmasság), ezen tulajdonságainak köszönhetően a csontok, az inak, az ínszalagok és a bőr fő összetevője. Az emberi szervezetben több típusa van (összesen 16-féle), a bőrben a legnagyobb részben (80–90%) az I-es típus van jelen a dermisben. A kollagén fibrillákba rendeződik, így biztosítva a szövetek megfelelő szerkezeti integritását. A kollagén szálainak elrendeződése adja a megfelelő szakítószilárdságot azoknak a kötőszöveteknek, amelyek szükségesek ahhoz, hogy ellenálljanak a különböző mechanikai igénybevételeknek [13]. Befolyásolják a sejtek adhézióját, támogatják a kemotaxist és a migrációt, valamint a szövetfejlődést. Az interszticiális kollagén nagy részét fibroblastok szekretálják, melyek főként a stromában találhatók. Az elasztin a kollagén mellett az extracelluláris mátrix másik jelentős összetevője, mely a bőr rugalmasságához és nyújthatóságához szükséges. Jelentős mennyiségben van jelen az erekben és a tüdő szövetében, ahol fontos a flexibilitás. Az elasztinpolimerek szálakba rendeződve helyezkednek el a dermis stratum reticulare részében. A legtartósabb emberi fehérjék közé tartozik, mivel a gazdaszervezet élete végéig megmarad, ám nem képes a regenerálódásra a súlyos, mély dermist is érintő

1. táblázat A bőr extracellulárismátrix-fehérjéit alkotó komponensek funkciója és a fehérjék lehetséges felhasználásának szerepe a háromdimenziós szövetnyomtatásban. Az extracellulárismátrix-molekulák fizikomechanikai tulajdonságaival a nyomtatandó szövettípus számos tulajdonsága befolyásolható

Extracellulárismátrix-komponens	Szerkezete	Funkciója	A 3D nyomtatás szempontjából
Kollagén	Az extracelluláris mátrixon belül képződik, fibrillákba rendeződik.	Befolyásolja a sejtadhéziót és a migrációt.	Az I. típusú kollagént gyakran használják a gélállványok bevonataként a sejttapadás elősegítésére.
Elasztin	Tropoelasztin alegységből épül fel, keresztkötve, amely rugalmas szálat alkot.	Szorosan kapcsolódik a kollagénekhez, biztosítja a rugalmasságot.	A szövettervezésben a rugalmasság fokozásában lehet szerepe.
Microfibrillaris komponensek – Fibrillinek	Nagy méretű glikoproteinek, melyek három tagból állnak (fibrillin-1, -2, -3), a microfibrillák fő komponensei.	Támogatják a szövet rugalmasságát, emlősökben az elasztin állványaként (scaffold) működnek a rugalmas rostképződés során.	
Laminin	A laminin trimer szerkezettel rendelkezik. Három különböző láncból áll, α, β, γ, amelyek különféle, genetikailag elkülönülő formákban léteznek.	A basalis membránban található. Szerepe van a keratinocyták mozgásának szabályozásában és a vérerek képzésében. A regenerációban nagy jelentőséggel bír.	A sejtek tapadásának fokozására használható.
Fibronektin	Dimer, két, közel azonos monomerből áll. Kétféle formában létezik, az oldhatatlan sejtasszociált forma az integrinreceptorokhoz kapcsolódik.	A basalis membránban található. Szerepet játszik a sejtadhézióban és a sebzést követő gyógyulási folyamatban.	A fibronektin fontosságát a sebgyógyulásban betöltött szerepe mutatja, emiatt lényeges a szövetmérnöki alkalmazásokban.
Tenaszkin	Glikoprotein. Diszulfidkötésekkel összekapcsolt 2 trimerből áll.	Mechanikai aktivitáshoz kapcsolt. Szerepe van a sejtek adhéziójában és migrációjában, a szövetek homeostasisában.	
Növekedési faktorok		A mechanikus stimuláció mellett történő aktiválásáért felelősek, döntő szerepük van a sebgyógyulásban. Létfontosságúak számos más szövettípus kialakításában és differenciáltatásában.	A sebgyógyulást és a szövetek átalakítását segíti.

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

sebek esetén [14]. Az extracelluláris mátrix másik fontos összetevője a laminin fehérje. A basalis membranában helyezkedik el, és jellegzetes, kereszt alakú struktúrával rendelkezik, amelyet három (α, β és γ) lánc alkot, heterotrimerré összeállva, s ennek köszönhetően hálós szerkezetet alakít ki. A lamininek részt vesznek a keratinocyták mozgásának szabályozásában, jelentős szerepük van a vérerek képzésében, az angiogenesisben. Ezen tulajdonságaik miatt a sebek regenerálásában is nagy jelentőségük van. A fibronektin a basalis membranában elhelyezkedő egyik extracelluláris protein, amely kulcsszerepet játszik mind a sejtadhézióban, mind a sérülésre adott válaszreakciókban. Két formában van jelen a szervezetben: plazmafibronektin formájában, amely a vérplazmában kering, és sérülés esetén gyorsan a sebhez ér, valamint celluláris fibronektin formájában, amelyet fibroblastok termelnek. Az utóbbi fibronektin elsősorban az extracelluláris mátrixok oldhatatlan, fibrillaris alkotórészeként található meg. Szerkezetében a funkcionális protein két hasonló, de nem minden esetben azonos, 220–250 kDa méretű alegységből épül fel, amelyek a karboxilvégződéseiknél diszulfidkötésekkel kapcsolódnak össze, így létrehozva a jellegzetes fibronektindimert. A fibronektinek kapcsolatot hoznak létre integrinek és más receptorok révén a sejtekkel, ezáltal szabályozva a sejtek adhézióját, migrációját és differenciálódását [15] *(1. táblázat)*.

Bőrszövet 3D nyomtatása

A gyógyításban egyre nagyobb teret hódít a szerv- és szövetnyomtatás lehetősége: ez egy additív gyártási technológia, amelyet implantátumok és szöveti konstrukciók előállítására használnak [16]. Lehetővé teszi, hogy élő sejteket, faktorokat és egyéb anyagokat komplex 3D struktúrába rendezzenek össze. Röviden összefoglalva, ez a technológia három fő lépésből áll. Az első a nyomtatandó szervek, szövetek adatainak összegyűjtése a megfelelő modellek és anyagok kiválasztásához; a második az információ elektromos jelekké alakítása, amelyek alapján a nyomtató elkészíti a mintát; a harmadik a stabil struktúra létrehozása [17]. A szövetek nyomtatása során a sikeres eredmény eléréséhez fontos a megfelelő sejtek megválasztása, ez az egyik kulcsfontosságú döntés a tervezés során. Fontos szem előtt tartani, hogy a szöveteket általában több sejttípus alkotja, és ezek összehangolt munkája adja meg szerveink komplexitását, így ezt a nyomtatott konstrukciók esetében is figyelembe kell venni. A nyomtatás során az alkalmazott sejttípusoknak megfelelő tápkomponenseket és biotintákat (vázrendszert) kell biztosítani. Bőr nyomtatásakor a leggyakrabban dermalis fibroblastokat, keratinocytákat és melanocytákat használnak, mivel ezek a sejtek alkotják a legnagyobb mennyiségben a valódi szövetet [18]. További megoldást jelenthetnek még az őssejtek (klinikai viszonylatban a betegből izolált őssejtek, amelyek később nem váltanak ki immunválaszt), mivel ezek a sejttípusok kevesebb összetevőt igényelnek a fenntartásukhoz [19].

Szövetnyomtatás

A szöveti nyomtatásnál a sejtek kötődéséhez, majd későbbi növekedésük iránymutatójaként a váz (scaffold) szolgál. Ez a váz többféle anyagból készülhet, mint például a beteg saját szövetének extracelluláris mátrixából, természetes biopolimerekből (alginát, zselatin, kollagén stb.) vagy szintetikus polimerekből (például polikaprolakton – PCL stb.) [20]. A természetes polimerek (biopolimerek) összetételük alapján számos pozitív tulajdonsággal rendelkeznek, amelyek a nyomtatandó szövethez és sejttípushoz alakíthatók. A váz megtervezésekor figyelembe kell venni, hogy a sejteknek elegendő helyük legyen a migrációra és a proliferációra [21]. A természetes polimerek hátránya, hogy mechanikailag sérülékenyek, ennek a problémának a javítására sok esetben más anyagokkal keverik [22]. A nyomtatás megtervezésekor a használandó anyagok sajátosságait (koncentráció, viszkozitás, nyírási feszültség stb.) figyelembe kell venni ahhoz, hogy a sejtek számára megfelelő környezetet lehessen létrehozni [21]. A 3D nyomtatás során a természetes polimerek megvédhetik a sejteket a nyomtatás során fellépő károsító hatásoktól, majd a keresztkötés (térhálósítás) után egy féligáteresztő szerkezetet alkotva átjárhatóvá válik a sejtek számára nélkülözhetetlen metabolitok, tápanyagok és oxigén számára. A keresztkötésekkel szükséges a megfelelő stabilitást létrehozni, amelyet kémiai és fizikai módszerekkel lehet elérni, mint például UV sugárzással (fizikai), kétértékű kationokkal (kémiai), enzimatikusan vagy savak alkalmazásával stb. A polimerek másik csoportja a szintetikus polimerek, melyek a mechanikai szilárdság és immunogén válaszok szempontjából előnyösebbek a biopolimerekkel szemben [23]. Ezeket a polimereket kémiai reakciókkal hozzák létre, hidrogéleiket általában inverz diszperziós módszerekkel állítják elő. A szintetikus polimerek 3D nyomtatási eljárása során gyakran szerves oldószereket, magas hőmérsékletet használnak a térhálósításhoz: ennek következménye, hogy a sejtek és a különböző növekedési faktorok inaktívvá válnak, ezért veszítenek kompatibilitásukból [24] *(2. táblázat)* [25–29].

Alginát

Barna algából származó poliszacharid, amelyet az élelmiszer-, textil- és gyógyszeripar is használ. Az alginátot kétértékű kationokkal, például kalciummal, magnéziummal vagy báriummal lehet keresztkötni, így egyszerűen megoldható a sejtek kapszulázása és visszanyerése. Ezen tulajdonságai alkalmassá teszik 3D nyomtatásban való felhasználásra, mivel azonban a sejtek nem képesek lebontani, megtartják kerek morfológiájukat a kinyomtatott mintában. Sok esetben a sejtek gyenge proliferációt és differenciálódást mutatnak alginátba ágyazva [30].

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

2. táblázat Háromdimenziós szövetnyomtatás során alkalmazható „scaffoldok” [25–29]. A szövetnyomtatásban ezek a leginkább elterjedt „scaffoldok”, melyek a mesterséges bőrszövetek létrehozásában is szerepet játszhatnak. Számos „scaffold” nem közvetlenül a szövet előállításában játszik fontos szerepet, hanem csak támogató funkciója van, melynek során megtartja és esetleg védi a kinyomtatott bőrszövetet, vagy mechanikai stabilitást biztosít. Ebben az esetben főként azon tulajdonságuk fontos, hogy víztaszítók, és a sejtek nem tapadnak rájuk

Név	Anyaga	Leírás
Kollagén	Természetes	Szinte mindenhol előfordul a szervezetben, biztosítja a megfelelő rugalmasságot és szakítószilárdságot. Gélesedése függ a pH-viszonyoktól és a hőmérséklettől.
Elasztin	Természetes	Rugalmasságot és nyújthatóságot biztosít.
Zselatin	Természetes	Biokompatibilis, magában is megfelelő hidrogél, de más anyagokkal keverve stabilabb „scaffoldok” készíthetők. Kémiai módosítással GelMA hozható létre belőle.
Selyem	Természetes	A selyem nagymértékű rugalmasságot és tapadást mutat, de elektromos mező alkalmazását és alacsony pH-értéket igényel. A selyem szolubilizálható, felhasználható különböző anyagformátumok kialakítására képes, így hidrogélek készítéséhez is alkalmas [25].
Kitozán	Természetes	Biokompatibilis és biológiailag könnyen lebontható a pH megváltoztatásával. „Scaffoldokban” alkalmazva segíti a sejtek osztódását és differenciálódását.
Fibrinogén	Természetes	Alkalmas sebkezelésre, jó mechanikai tulajdonságai miatt [26].
Alginát	Természetes	A sejtek kapszulázása és visszanyerése szempontjából előnyös választás hidrogélnek, viszont a sejtek nem képesek lebontani, ezáltal megmarad a kapszulázáskor felvett forma, valamint a sejtek proliferációja alacsony szintet mutat.
PCL	Szintetikus	Fokozza a sejtproliferációt és a sebgyógyulást a polimer felületi lebomlása miatt fiziológiai körülmények között, a sejteknek iránymutatóként szolgál [26, 27].
PLA	Szintetikus	Olcsó és könnyen előállítható, megfelelő szilárdságot biztosít a nyomtatott mintának.
PLLA	Szintetikus	A nanoszálas állványok fokozzák az epidermalis bőrsejtek vándorlását a seben, összehasonlítva egy állvány nélküli [28].
PLGA	Szintetikus	A nagyon porózus állvány mechanikus támaszt biztosított a sejtek számára az egyenletes eloszlás fenntartása érdekében; jobb sejtvándorlás és kollagénszekréció [26, 29].

GelMA = zselatin-metakrilát; PCL = polikaprolakton; PLA = politejsav; PLGA = poli(tejsav-ko-glikolsav); PLLA = poli-L-tejsav

Zselatin

A zselatin kiváló biokompatibilitást mutat, teljes mértékben lebontható biológiailag. Termikusan reverzibilis gél, emiatt széles körben alkalmazható a 3D nyomtatási technikáknál. A sejtek életképessége, különösen az őssejtek proliferációs és differenciálódási képességei megmaradnak. Hidrogélként alkalmazva keverhető más anyagokkal – mint például kitozánnal vagy alginánttal – a 3D nyomtatott konstrukciók mechanikai tulajdonságainak és szerkezeti stabilitásának javítására azáltal, hogy fokozódik a térhálósítás. A zselatin kémiailag módosítható metakrilamiddal, így zselatin-metakrilát jön létre, más néven GelMA. A hibrid GelMA-hidrogélhez fotoiniciátor adható, amelylyel UV sugárzás jelenlétében fotopolimerizálható [31].

Kollagén

A kollagén elsődleges forrásai a borjúbőr és a csont, melyek állati eredetűek, például sertésből és tengeri állatokból származnak, mint a tengerisün. A kollagén az extracelluláris mátrix egyik legfontosabb komponense, kiváló mechanikai tulajdonságai és lebonthatósága teszi széles körben használhatóvá számos klinikai alkalmazásban, mint például a szövetek regenerálása vagy a 3D szövetnyomtatás. A szervnyomtatások kapcsán a kollagén mint váz nagymértékben segíti a fiziológiás folyamatokat, mivel szerkezetének köszönhetően képes a különböző tápanyagok és növekedési faktorok diffúziójára a strukturális és mechanikai támogatás mellett. Gélesedése függ a kémhatástól és a hőmérséklettől, mivel alacsony pH-n és hőmérsékleten gátlódik a fibrillogenesis. Fiziológiás körülmények között fél óra alatt következik be a gélképződés. A hőmérséklet változtatásával befolyásolni lehet a kialakuló fibrillumok vastagságát, ami befolyásolhatja a sejtek viselkedését. A kollagénnek számos pozitív tulajdonsága mellett nagy hátránya a kismértékű merevség és a rövid idejű stabilitás [30].

Elasztin

A bőr rugalmasságáért felelős extracelluláris fehérje, mely tropoelasztinból képződik. A természetes elasztint nehéz kivonni, ezért más módszerekkel állítják elő a hozzá hasonló peptideket. Az elasztinszerű peptideket *Escherichia coli* törzsben való termeltetéssel, majd sejtlysatumok tisztításával állítják elő. Nyomtatás során az elasztin rugalmasabb vázat eredményez, mint a kollagén [32].

Kitozán

A kitozán egy amino-poliszacharid, amely kitinből (kagylóhéj, rovarok, gombák) származik; széles körben alkalmazott természetes biopolimer, amely számos pozitív tulajdonsággal rendelkezik, mint például a biokompatibilitás vagy a biológiai lebonthatóság, ezek miatt

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

3. táblázat A mesterséges bőrszövetek létrehozásához használható háromdimenziós nyomtatók összehasonlítása. Az alapelv ugyanaz, ugyanakkor a kinyomtatott szövet szempontjából számos különbség adódik az eltérő technológiák miatt

	Inkjet	Extrusiós	Lézerasszociált
Alkalmazható sejtsűrűség	Alacsony	Magas	Közepes
Sebesség	Lassú	Gyors	Közepes
Költségek	Alacsony	Mérsékelt	Magas
Előnyök	Alacsony viszkozitású anyagok nyomtathatók, gyors, alacsony költségű, nagy felbontású	Egyszerű, sokféle anyag nyomtatására képes, nagy sejtsűrűség alkalmazható	Nagy felbontású, különböző fázisú anyagok (szilárd vagy folyadék) lerakódása
Hátrányok	Folyamatos áramlás szükséges, alacsony sejtsűrűség használható	Csak folyadékokra alkalmazható	Magas költségek, a sejtek lézer okozta hőkárosodása
Bőrnyomtatásra alkalmas	Igen	Igen	Igen

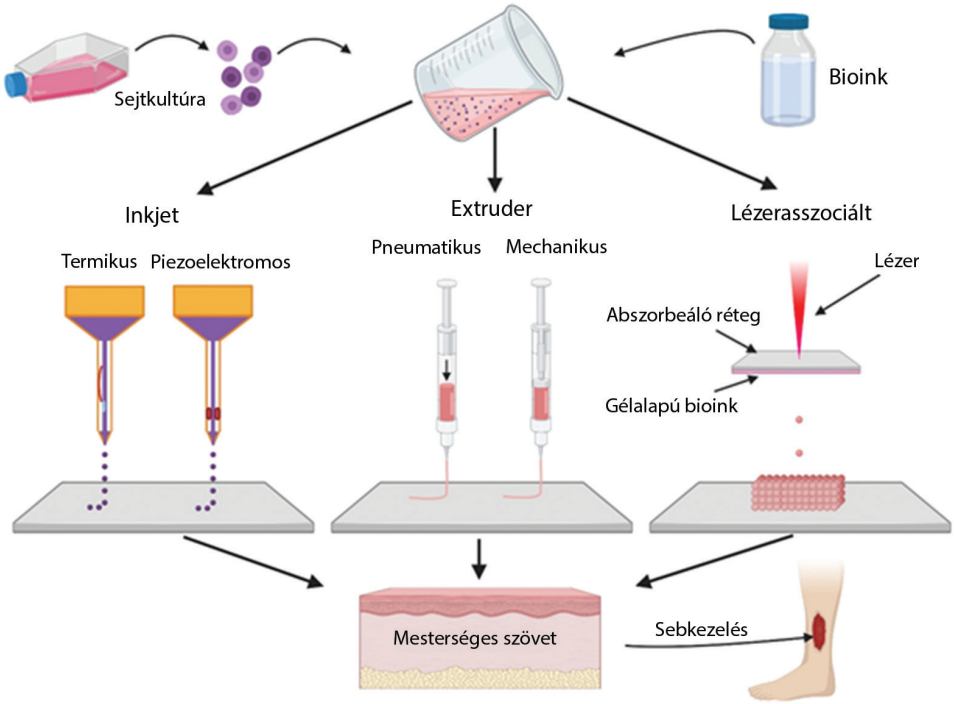
alkalmazható sebgyógyításnál, égési sérülteknél. A kitozán stabilitását keresztkötésekkel növelni lehet, e nélkül savas pH-kémhatás mellett gyorsan lebomlik. Vázként segíti a sejtek adhézióját, proliferációját és differenciálódását, továbbá beültetés után kilökődést csak kismértékben tapasztaltak [33].

PLA

A politejsav (PLA – polylactic acid) egy megújuló forrásokból (cukorrépa, kukoricakeményítő) származó poliészter. Meglehetősen közkedvelt anyag ipari és kutatási felhasználásban is, népszerűségét sokoldalúságának köszönheti. A PLA olcsó és könnyen előállítható; 3D nyomtatásban nagy felbontású szerkezetek megalkotására alkalmas, jellemző rá a mechanikai szilárdság, melyet a pórusok alakja, mérete, valamint a merevítők tájolása befolyásol. Ezek a tulajdonságok alkalmassá teszik szövetek helyreállítására, de felhasználják csontok különböző defektusainak javítására is [34].

PCL

A polikaprolakton egy szintetikus polimer, amelyet széles körben alkalmaznak a 3D nyomtatási rendszerekben. Az egyik legkiemelkedőbb szintetikus polimer; pozitív tulajdonságai közé tartozik, hogy biológiailag lebomló anyag, megfelelő mechanikai szilárdsággal bír, nem toxikus, és alacso4ny az olvadási pontja. Ez a szintetikus polimer azonban rossz hidrofilitással rendelkezik, és nem tudja a szöveteket megfelelően imitálni [35].



2. ábra A szövetnyomtatáshoz használt legelterjedtebb 3D nyomtatók
Az inkjet, a mikroextrúziós és a lézerrel támogatott 3D szövetnyomtatók alapjaiban véve hasonló elven működnek, alkatrészeik egy része analóg. Ilyen a nyomtatófej, az asztal és a bioinket tartalmazó tartályok vagy fecskendők. Konstrukciótól függően a nyomtatófejek vagy az asztalmotorok segítségével x és y tengely mentén mozognak, az egyes rétegek elkésztéséért a z tengelyű mozgás a felelős. A bioink egy biomassza, amely élősejt szuszpencióból és biokompatibilis hidrogélekből áll, amelyek a bioprinter tartályába vagy a fecskendőbe vannak töltve. Ezen bioprinterek mindegyikének egyedi módszerei vannak a 3D sejtstruktúrák jó felbontással és életképességgel történő lerakására

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

A nyomtatások típusai

A különböző sejteket tartalmazó vázak egyik legnagyobb problémája a sejtek szabályozatlan elhelyezkedése. A 3D nyomtatás megoldást jelenthet a vázak és a sejtek megfelelő elegyítésére, mivel az anyagok és a sejtek elhelyezése szerkeszthetővé válik. Jelenleg többféle 3D nyomtatási stratégia létezik, ezek közül a leggyakrabban használt „inkjet" (tintasugaras), extrusiós és lézeralapú nyomtatási módszereket fogjuk részletezni *(3. táblázat)*. Ezekkel a 3D nyomtatási módszerekkel többféle 3D szövetet készítettek már, mint például porcot vagy véredényeket. Számos nyomtató létezik ma már, és ezek különböző képességekkel rendelkeznek, de a nyomtatott sejtek életképességének fenntartása továbbra is kihívást jelent *(2. ábra)*.

„Inkjet"

Az „inkjet" technológián belül két típust lehet elkülöníteni: a piezoelektromos és a termikus („hot-bubble") típust. A termikus típus esetében egy fűtőelem hat a biotintára; ennek hatására megnő az anyag hőmérséklete, és a keletkezett nyomás által gőzbuborékot hoz létre, amely kialakítja a cseppet a nyomtatás során. A cseppek megfelelő mérete mindkét típusnál könnyen állítható. Hátránya a magas hőmérséklet (200–300 °C) alkalmazása, amely károsíthatja és befolyásolhatja a sejtek aktivitását a nyomtatás során. Másik típusa piezoelektromos technikát alkalmaz, amely feszültséget használ nyomásimpulzusként az anyag cseppenkénti adagolására. Ebben az esetben is sérül a sejt membránja, és nagymértékű a cytolysis is. Másik hátránya a megfelelő viszkozitás fenntartása, mivel a viszkózusabb anyagok esetében nem megfelelő a cseppképződés, és könnyen eltömíthetik a nyomtatófejet, az ideális viszkozitás mellett viszont csökken a sejtek száma. Ezt a típusú technikát a leginkább bőr és porc nyomtatására használják [36].

Extruder

Az extrusiós technika a cseppalapú nyomtatási technikákhoz képest gyors és könnyen kezelhető nyomtatást tesz lehetővé. A vázak nagy választéka használható, ideértve a különböző sejteket tartalmazó hidrogéleket, decellularizált mátrixokat és a szintetikuspolimer-szálakat [37]. Az extrusiós nyomtatóknál a nyomtatandó anyagok adagolásához alkalmazott erő alapján két típus különböztethető meg: a pneumatikus és a mechanikus. A pneumatikus rendszerek esetében az anyagáramlás felett kevésbé lehet közvetlen irányítást gyakorolni a gázmennyiség kompressziójából adódó késleltetés miatt. A mechanikai erőt használóknál egy csavar biztosítja az adagolást, ezért ezek optimálisabbak az erősen viszkózus hidrogélek nyomtatásához. Mindkét típus esetében figyelni kell a folyamatos anyagáramlásra. Ennél a technikánál nagyobb sejtsűrűséggel lehet dolgozni, a nyomtatás felbontása és sebessége viszont lassabb lesz, mint más módszerek esetében. Az alkalmazott hidrogélnél figyelni kell a viszkozitás mértékére: ha túl magas, akkor a nyomtatófejhez tartozó tű eltömődhet. Az alkalmazott hidrogéleket a nyomtatást követően keresztkötni kell, ami történhet hőkezeléssel vagy kémiai, fizikai módszerekkel. Ezzel a technikával sokféle szövet nyomtatható, köztük olyanok is, mint a máj, a csont vagy a bőr [38].

Lézer

Ennél a nyomtatási technikánál lézerimpulzusokat alkalmaznak a nyomtatáshoz, aminek lényege, hogy a lézer egy fókuszálórendszeren keresztülhaladva egy abszorpciót segítő fémréteggel (például arannyal) bevont kvarcüveg lemezt (szalagot) melegít egy adott pontban. A lemez alsó része biotintával van bevonva, amely sejteket tartalmaz. A lézer hatására csepp keletkezik, amely egy fogadó szubsztrátú felületre érkezik [39]. A technika egyik előnye, hogy nem tömődik el nyomtatófej, mint az előzőekben bemutatott esetekben, ezért nagy viszkozitási tartomány áll rendelkezésre. Nagy sejtsűrűség alkalmazható anélkül, hogy a sejtek életképessége csökkenne [40]. Hátránya, hogy a nyomtatás során fém maradhat a mintában, szennyezett lehet az elkészült nyomtatott struktúra, valamint a nagyon magas anyagköltség. Sokféle szövet és szerv, köztük a bőr nyomtatására is alkalmas ez a technika [36].

Őssejtek alkalmazása nyomtatás során

A mesenchymalis őssejtek jellemző tulajdonsága az *in vitro* differenciálódási képesség adipocyták, chondroblastok vagy osteoblastok irányában, továbbá ezeken kívül kialakulhatnak belőlük más sejttípusok is, mint például cardiomyocyták, endotheliumsejtek, hepatocyták. Izolálásuk régebben csontvelőből történt, ma már azonban több szövetféléből (máj, fogak, zsírszövet, köldökzsinór stb.) is nyernek ki. A különböző szövetekből származó őssejtek eltérő tulajdonságokkal rendelkeznek, például a zsírszövetből nagyobb őssejtmennyiség nyerhető ki, mint a többi szövetféléből. Nyomtatáskor fontos szempont a differenciálatlan mesenchymalis őssejtek azon tulajdonsága, hogy allograftbeültetésre használhatók, mivel immuntoleránsak, és immunmoduláló képességgel rendelkeznek, csökkentve ezáltal a graftkilökődés veszélyét [41]. A csontvelőből származó mesenchymalis sejtek képesek érképzést, hámosodást és szövetképződést indukálni *in vivo*, így alkalmasak a bőr regenerációjára. Egyre elterjedtebben alkalmazzák a zsírszövetből származó őssejteket is különböző bőrgyógyászati eljárásokban is [42].

Preklinikai/klinikai eredmények nyomtatott bőrszövetekkel

Az utóbbi években több kísérletet tettek a bőr hatékony pótlására [43]. Klinikai alkalmazásban használnak terve-

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

4. táblázat Kereskedelemben kapható bőrpótlók [26, 46–48]. Ezek nagy része nem komplex, korlátozott életidejű és felhasználású bőrpótló. Leginkább egy vagy két sejttípusból állnak, nem tartalmazzák a bőr számos függelékét vagy sejttípusát sem

Kereskedelemben kapható termék	Gyártó	Leírás	Felhasználás
AlloDerm®	LifeCell Corporation, Branchburg, NJ, USA	Allograft humán dermis; decellularizált, fagyasztva szárított	Mély sebek kezelésére [26, 46]
Apligraf®	Organogenesis Inc., Canton, MA, USA	Humán újszülöttfitymából származó keratinocyta és fibroblast szarvasmarha 1-es típusú kollagénmátrixban	Diabeteses és vénás lábfekély esetén alkalmazható [26, 46]
Biobrane®	UDL Laboratories Inc., Rockford, IL	Sertéskollagén kémiailag szilikonhoz kötve/nejlon membrana, sejtmentes	Felületi, részleges vastagságú égéseknél [26, 46, 47]
Bioseed-S	BioTissue Technologies GmbH, Freiburg, Germany	Autológ keratinocyták fibrinfelszínen	Krónikus vénás lábfekélyek kezelésére használják [46, 47]
CryoSkin	Altrika Ltd., Sheffield, UK	Szilikonon (allogén) újszülöttfitymából izolált keratinocytákból készített sejtspray	Felszíni sebek kezelésére [46]
Dermagraft®	Advanced BioHealing, Inc., New York, NY and La Jolla, CA, USA	Újszülöttekből származó tenyésztett fibroblastok (allogén) poliglikolsav/politejsav állványon („scaffold”)	Égési, valamint krónikus sebek, krónikus diabeteses lábfekélyek kezelésére [26, 46]
EPIBASE®	Laboratoires Genevrier, Antibes, France	Biopsziából származó confluens autológ keratinocyták	Bőrkalcifilaxis és égési sérülések esetén [26, 46]
Epicel®	Genzyme Biosurgery, Cambridge, MA, USA	Confluens autológ keratinocyták	A mély dermist is érintő égési sebeknél [26, 46, 47]
GraftJacket®	Wright Medical Technology, Inc., Arlington, TN, USA	Humán kollagénmátrix erekkel, cadaverből	A vascularisatio segítésének és a sejtek újratelepülésének alapjaként szolgál [26, 46, 48]
Hyalograft 3D®	Fidia Advanced Biopolymers, Abano Terme , Italy	Autológ fibroblastok hialuronsav vázon („scaffoldon”)	Mély sebeknél [26, 46, 47]
Integra®	Integra LifeSciences Corporation, Plainsboro, NJ, USA	Szarvasmarha-eredetű kollagénrostok, kondroitin-6-szulfát keveréke és egy szilikonlap mátrix, sejtmentes	Égési sérüléseknél vagy rekonstruktív műtétnél [26, 46]
Laserskin®	Fidia Advanced Biopolymers, Padua , Italy	Lézerrel perforált hialuronsav keratinocytákkal (rekombináns)	Regeneráció égési sebek és krónikus, teljes vastagságú fekélyek esetén [26, [46], 48]
Matriderm®	Dr Suwelack Skin and Health Care AG, Billerbeck, Germany	Szarvasmarha-eredetű decellularizált α-elasztin-hidrolizátummal bevont kollagénmátrix	Teljes vastagságú égési és krónikus sebek regenerálása [26, 46]
Myskin™	CellTran Ltd., Sheffield, UK	Subconfluens autológ keratinocyták kioltva, speciálisan kezelt szilikonlapon	Neuropathiás és diabeteses lábfekélyek esetén [26, 48]
OASIS®	Smith & Nephew plc, London, UK	Sertésvékonybél-submucosából származó mátrix	Sebzárás, fekélyek [26, 46]
OrCel®	Ortec International, Inc., New York, NY, USA	I. típusú kollagénmátrix keratinocytákkal és fibroblastokkal	Súlyos égési sérüléseknél [26, 46]
Permacol™	Tissue Science Laboratories, Andover, MA, USA	Decellularizált dermalis sertés , amely kollagént és elasztint tartalmaz	Kifejezetten a hasfal sérvére és a bőr rekonstrukciójára használják [26, 46]
PolyActive®	HC Implants BV, Leiden, The Netherlands	Poli(etilén-oxid) vagy poli(butilén-tereftalát) tenyésztett keratinocytákkal és fibroblastokkal	Nem specifikus [46, 47]
PriMatrix®	TEI Biosciences Inc., Boston, MA, USA	Kollagén, I. és III. típus	Komplex sebek lefedésére alkalmas [47, 48]
Recell®	Avita Medical Ltd. Valencia, CA, USA	Keratinocyta- és melanocytaspray	Mély sebek kezelésére [46, 47]
Suprathel®	Bio Med Sciences, Allentown, PA, USA	Szintetikus epidermalis helyettesítő, egyrétegű DL-tejsavból	Kis kiterjedésű égési sérülésekre, horzsolásokra [26, 46, 47]
Terudermis®	Olympus Terumo Biomaterials Corp., Japan	Szarvasmarha liofilizált térhálósított kollagén, szilikonlemezen	Égési sérüléseknél [46, 47]

zett bőrgraftokat, melyek az epidermist, a dermist vagy esetenként mindkettőt helyettesítik. A 3D nyomtatott konstrukciók további megoldást jelenthetnek a regeneráció felgyorsítására [44]. A bőrpótlóknak számos kritériumnak kell megfelelniük a megfelelő sebkezelés érdekében a költséghatékonyság mellett, mint például a seb lezárása (a fertőzéskockázat csökkentése), alkalmas környezet biztosítása (a sejtek optimális életképessége, megtapadása, osztódása, differenciálódása), tartósnak, rugalmasnak és a gyógyulási folyamat során a gazdaszervezet

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

gyógyulásával a mesterséges pótlónak biológiailag lebonthatónak kell lennie [45]. A jelenleg kereskedelemben kapható bőrpótlók nagymértékben segítik a bőr helyreállítását és regenerálódását, de a valódi bőr utánzása több szempontból sem sikeres *(4. táblázat)* [26, 46–48]. Ennek számos oka van, mint például a többrétegű bőrt imitáló szerkezet megfelelő kialakítása. Az egyik legfontosabb kihívás azonban a vascularisatio lehetővé tétele. A legtöbb bőrpótló sejtmentes, léteznek azonban olyanok is, amelyek sejteket is tartalmaznak; ezekből vannak, amelyek kétféle sejttípust használnak, fibroblastokat és keratinocytákat, illetve olyanok is, amelyek csak az egyik típusú sejtet [26]. A mesterséges bőrpótló megtervezésekor a bőr szerkezetét egyszerűsítve kell nézni, egy kétrészes kompozícióként. A felső rész (epidermis) több réteg keratinocyta különböző fokú érettséggel, az alsó rész (dermis) pedig lehet sejtmentes fehérjemátrix vagy szintetikus anyag, amelyben elszórtan fibroblastokat ágyaznak be. A legtöbb esetben kétféle sejttípust (keratinocyta, fibroblast) alkalmaznak a mesterséges bőrök esetében az epidermis és a dermis reprodukálására, miközben a bőrt többfajta sejttípus alkotja. A 3D nyomtatás több előnnyel rendelkezik a szövetalkotás terén: a nyomtatás során lehetőség van különböző mátrixokat és sejteket megfelelően rétegekbe rendezni és ezek paramétereit széles tartományban változtatni [43]. A 3D nyomtatott bőrpótlók kiválóan alkalmazhatók különböző vizsgálatok elvégzésére, mint kozmetikumok vagy gyógyszeripari termékek tesztelése, így helyettesítve az állatkísérleteket. A bőrnyomtatásra kétféle módszer van: az *in vitro (*a nyomtatott bőr egy bioreaktorban érik, mielőtt felhasználják*)* és az *in situ (*a sejteket közvetlenül a sérülés helyére nyomtatják) [49]. Az *in vitro* bőrnyomtatással több csoport is foglalkozik, és számos pozitív eredményt mutatnak. Emberi plazmából készítettek keratinocytákkal és fibroblastokkal mesterséges bőrt *Cubo és mtsai,* melyet egérmodelleken teszteltek. A készített bőrpótló struktúrája hasonlított a natív bőrhöz, a bőr függelékeit azonban nem tartalmazta [50]. Más csoportok is közöltek biztató eredményeket melanocytákból és epidermalis progenitorsejtekből nyomtatott szövetek létrehozásáról [40]. Az *in situ* bionyomtatás során a sebet úgy regenerálják, hogy a sejteket közvetlenül a célhelyre, vagyis a sebbe nyomtatják. Előnye a gyors beültetés és a helyszíni fertőzések veszélyének minimalizálása [42]. A nyomtatásnak ez a típusa több előnyt is mutat az égési sebek gyógyításakor azzal, hogy a sejtek meghatározott helyre illeszthetők, így elkerülhetővé teszi több műtéti kezelés és az *in vitro* differenciálódás költségeit [40].

Következtetés

A 3D szövetnyomtatás ígéretes és rendkívül gyorsan fejlődő technológia a mesterséges bőrszövetek létrehozásában. A megfelelő nyomtatási technológia segítségével reprodukálható, a sejtek minimális károsodásával járó módon tudunk komplex, összetett mesterséges bőrszöveteket alkotni. A felhasznált hidrogélek, vázak kémiai és fizikai tulajdonságai meghatározzák a mesterséges bőr fizikomechanikai tulajdonságait, az alkalmazott sejtek sokfélesége, mennyisége és térbeli elhelyezkedése pedig a transzplantálhatóságot, a szövet fiziológiai és immunológiai tulajdonságait, ezáltal funkcióját is meghatározhatja. A nyomtatás paramétereinek – sebesség, hőmérséklet, nyomás stb. – változtatása akár az optimális klinikai terápiás felhasználás szempontjait is figyelembe véve olyan mesterséges szövetek létrehozását teszi lehetővé, melyek elősegíthetik a nagy felületű sebgyógyulást és vascularisatiót. A jelenlegi klinikai kutatások mellett a diagnosztikában, a gyógyszertesztekben és a kozmetológiai iparban már sikeresen alkalmazzák a 3D nyomtatott bőrszöveteket, melyek elterjedése várható lesz minden érintett területen.

Anyagi támogatás: A tudományos munka az EFOP-3.6.1-16-2016-00008 azonosító számú, „Intelligens élettudományi technológiák, módszertanok, alkalmazások fejlesztése és innovatív folyamatok, szolgáltatások kialakítása a szegedi tudásbázisra építve” című, EU-társfinanszírozású projekt, a PD 132570 azonosító számú (V. Z.), a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított PD19 pályázati program finanszírozásában megvalósuló projekt támogatásával, az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-5-(ÚNKP-20-5-SZTE-169) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával és az Európai Unió Horizont 2020 kutatási és innovációs programja a 739593. sz. Támogatási megállapodás (K. L. – HCEMM: H2020-EU.4.a) – alapján valósult meg. Dr. Veréb Zoltánt a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja támogatta (BO/00190/20/5). Az ábrák a BioRender.com segítségével készültek.

Szerzői munkamegosztás : G. M.: Irodalomkutatás, a kézirat írása, ábraszerkesztés. K. L., V. Z.: Irodalomkutatás, a kézirat írása. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségei.

A részletes irodalomjegyzéket a szerzők készséggel megküldik az érdeklődőknek.

Irodalom

[1] Lee SH, Jeong SK, Ahn SK. An update of the defensive barrier function of skin. Yonsei Med J. 2006; 47: 293–306.
[2] Fuchs E. Skin stem cells: rising to the surface. J Cell Biol. 2008; 180: 273–284.
[3] Blanpain C, Fuchs E. Epidermal stem cells of the skin. Annu Rev Cell Dev Biol. 2006; 22: 339–373.

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC

[4] James WD, Elston DM. Andrews' diseases of the skin: clinical dermatology. 10th edn. Elsevier, Amsterdam, 2006.
[5] Kolarsick PA, Kolarsick MA, Goodwin C. Anatomy and physiology of the skin. J Dermatol Nurs Assoc. 2011; 3: 203–213.
[6] Deckers J, Hammad H, Hoste E. Langerhans cells: sensing the environment in health and disease. Front Immunol. 2018; 9: 93.
[7] Shirshin EA, Gurfinkel YI, Priezzhev AV, et al. Two-photon autofluorescence lifetime imaging of human skin papillary dermis *in vivo:* assessment of blood capillaries and structural proteins localization. Sci Rep-Uk. 2017; 7: 1171.
[8] Harvey C. Wound healing. Orthop Nurs. 2005; 24: 143–157; quiz 158–149.
[9] Zhou X, Ma Y, Liu F, et al. Melanocyte chitosan/gelatin composite fabrication with human outer root sheath-derived cells to produce pigment. Sci Rep. 2019; 9: 5198.
[10] Shi C, Zhu Y, Su YP, et al. Stem cells and their applications in skin-cell therapy. Trends Biotechnol. 2006; 24: 48–52.
[11] Byron A, Humphries JD, Humphries MJ. Defining the extracellular matrix using proteomics. Int J Exp Pathol. 2013; 94: 75–92.
[12] Frangogiannis NG. Matricellular proteins in cardiac adaptation and disease. Physiol Rev. 2012; 92: 635–688.
[13] Kular JK, Basu S, Sharma RI. The extracellular matrix: structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. J Tissue Eng. 2014; 5: 2041731414557112.
[14] Mithieux SM, Weiss AS. Design of an elastin-layered dermal regeneration template. Acta Biomater. 2017; 52: 33–40.
[15] Schwarzbauer JE, DeSimone DW. Fibronectins, their fibrillogenesis, and *in vivo* functions. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011; 3(7): a005041.
[16] Cui H, Nowicki M, Fisher JP, et al. 3D bioprinting for organ regeneration. Adv Healthc Mater. 2017; 6(1): 10.1002/adhm.201601118.
[17] He P, Zhao J, Zhang J, et al. Bioprinting of skin constructs for wound healing. Burns Trauma 2018; 6: 5.
[18] Lee VK, Dai G. Printing of tthree-dimensional tissue analogs for regenerative medicine. Ann Biomed Eng. 2017; 45: 115–131.
[19] Augustine R. Skin bioprinting: a novel approach for creating artificial skin from synthetic and natural building blocks. Prog Biomater. 2018; 7: 77–92.
[20] Goh KL, Holmes DF. Collagenous extracellular matrix biomaterials for tissue engineering: lessons from the common sea urchin tissue. Int J Mol Sci. 2017; 18: 901.
[21] Angelats Lobo D, Ginestra P. Cell bioprinting: the 3D-Bioplotter™ case. Materials 2019; 12: 4005.
[22] Elsawy MM, de Mel A. Biofabrication and biomaterials for urinary tract reconstruction. Res Rep Urol. 2017; 9: 79–92.
[23] Lei M, Wang X. Biodegradable polymers and stem cells for bioprinting. Molecules 2016; 21: 539.
[24] Tao O, Kort-Mascort J, Lin Y, et al. The applications of 3D printing for craniofacial tissue engineering. Micromachines (Basel) 2019; 10: 480.
[25] Partlow BP, Hanna CW, Rnjak-Kovacina J, et al. Highly tunable elastomeric silk biomaterials. Adv Funct Mater. 2014; 24: 4615–4624.
[26] Vijayavenkataraman S, Lu WF, Fuh JY. 3D bioprinting of skin: a state-of-the-art review on modelling, materials, and processes. Biofabrication 2016; 8: 032001.
[27] Augustine R, Dominic EA, Reju I, et al. Electrospun poly(epsilon-caprolactone)-based skin substitutes: *in vivo* evaluation of wound healing and the mechanism of cell proliferation. J Biomed Mater Res. Part B. Appl Biomater. 2015; 103: 1445–1454.
[28] Kurpinski KT, Stephenson JT, Janairo RR, et al. The effect of fiber alignment and heparin coating on cell infiltration into nanofibrous PLLA scaffolds. Biomaterials 2010; 31: 3536–3542.
[29] Zhu X, Cui W, Li X, et al. Electrospun fibrous mats with high porosity as potential scaffolds for skin tissue engineering. Biomacromolecules 2008; 9: 1795–1801.
[30] Caliari SR, Burdick JA. A practical guide to hydrogels for cell culture. Nat Methods 2016; 13: 405–414.
[31] Ning L, Chen X. A brief review of extrusion-based tissue scaffold bio-printing. Biotechnol J. 2017; 12: 1600671.
[32] Nicholas MN, Jeschke MG, Amini-Nik S. Methodologies in creating skin substitutes. Cell Mol Life Sci. 2016; 73: 3453–3472.
[33] Li Z, Ramay HR, Hauch KD, et al. Chitosan-alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. Biomaterials 2005; 26: 3919–3928.
[34] Coppola B, Cappetti N, Di Maio L, et al. 3D Printing of PLA/clay nanocomposites: influence of printing temperature on printed samples properties. Materials 2018; 11: 1947.
[35] Chen L, Yan D, Wu N, et al. 3D-printed poly-caprolactone scaffolds modified with biomimetic extracellular matrices for tarsal plate tissue engineering. Front Bioeng Biotechnol. 2020; 8: 219. Erratum: Front Bioeng Biotechnol. 2020; 8: 548.
[36] Dzobo K, Thomford NE, Senthebane DA, et al. Advances in regenerative medicine and tissue engineering: innovation and transformation of medicine. Stem Cells Int. 2018; 2018: 2495848.
[37] Ozbolat IT, Hospodiuk M. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting. Biomaterials 2016; 76: 321–343.
[38] Wu Z, Su X, Xu Y, et al. Bioprinting three-dimensional cell-laden tissue constructs with controllable degradation. Sci Rep. 2016; 6: 24474.
[39] Keriquel V, Oliveira H, Rémy M, et al. *In situ* printing of mesenchymal stromal cells, by laser-assisted bioprinting, for *in vivo* bone regeneration applications. Sci Rep. 2017; 7: 1778.
[40] Varkey M, Visscher DO, van Zuijlen PP, et al. Skin bioprinting: the future of burn wound reconstruction? Burns Trauma 2019; 7: 4.
[41] Tasnim N, De la Vega L, Anil Kumar S, et al. 3D bioprinting stem cell derived tissues. Cell Mol Bioeng. 2018; 11: 219–240.
[42] Kaur A, Midha S, Giri S, et al. Functional skin grafts: where biomaterials meet stem cells. Stem Cells Int. 2019; 2019: 1286054.
[43] Lee V, Singh G, Trasatti JP, et al. Design and fabrication of human skin by three-dimensional bioprinting. Tissue Eng Part C Methods 2014; 20: 473–484.
[44] van Kogelenberg S, Yue Z, Dinoro JN, et al. Three-dimensional printing and cell therapy for wound repair. Adv Wound Care 2018; 7: 145–155.
[45] Nicholas MN, Jeschke MG, Amini-Nik S. Methodologies in creating skin substitutes. Cell Mol Life Sci. 2016; 73: 3453–3472.
[46] Oualla-Bachiri W, Fernández-González A, Quiñones-Vico MI, et al. From grafts to human bioengineered vascularized skin substitutes. Int J Mol Sci. 2020; 21: 8197.
[47] Singh L, Kadian S, Dhasmana A. Skin tissue engineering: principles and advances. J Dermatol Skin 2018; 1: 101.
[48] Dixit S, Baganizi DR, Sahu R, et al. Immunological challenges associated with artificial skin grafts: available solutions and stem cells in future design of synthetic skin. J Biol Eng. 2017; 11: 49.
[49] Shahrubudin N, Koshy P, Alipal J, et al. Challenges of 3D printing technology for manufacturing biomedical products: a case study of Malaysian manufacturing firms. Heliyon 2020; 6: e03734.
[50] Cubo N, Garcia M, Del Cañizo JF, et al. 3D bioprinting of functional human skin: production and *in vivo* analysis. Biofabrication 2016; 9: 015006.

(Veréb Zoltán dr.,
Szeged, Korányi fasor 6., 6720
e-mail: jzvereb@gmail.com)

A cikk a Creative Commons Attribution 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) feltételei szerint publikált Open Access közlemény. (SID_1)

Brought to you by University of Szeged | Unauthenticated | Downloaded 06/21/22 01:27 PM UTC