

«ОРГАН-НА-ЧИПЕ»: ТЕХНОЛОГИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Людмила ГРАМОВИЧ^{1*}

¹Технический Университет Молдовы, Национальный Центр по Изучению и Тестированию Материалов, FCIM, DMIB, gr. IBM-192, Кишинёв, Республика Молдова

*Автор-корреспондент: Грамович Людмила gramovici.ludmila@mib.utm.md

Аннотация. «Орган на чипе», также известные как микрофизиологические системы или «тканевые чипы», в последние годы привлекли значительный интерес из-за их способности быть информативными на многих этапах процесса открытия и разработки лекарств. Эти инновационные устройства могут дать представление о нормальном функционировании человеческих органов и патофизиологии заболеваний, а также более точно предсказать безопасность и эффективность исследуемых препаратов для людей. Основная идея «орган на чипе» заключается в том, чтобы предоставить искусственный объект тестирования, имитирующий живой человеческий орган. В этом обзоре представлен прогресс этой быстро развивающейся технологии, рассматриваются текущие приложения и реализация, а также предлагаются направления на ближайшее десятилетие.

Ключевые слова: «орган на чипе», *in vitro*, *in vivo*, микрофлюидные технологии, **lab-on-a-chip**, доклинический скрининг.

Введение

Растущие затраты на разработку лекарств являются сильным фактором, способствующим росту цен на здравоохранение. В среднем, чтобы разработать один клинический препарат, сегодня на это уходит почти 2,5 миллиарда долларов и 10-12 лет в среднем. Чтобы снизить стоимость разработки, важно улучшить прогнозирующую способность доклинического скрининга, чтобы как можно раньше устранить неэффективность лекарства для кандидатов. Различие между геномом испытующего лекарства и геномом человека велико, поэтому традиционные модели разработки лекарственных препаратов, такие как скрининг одиночных клеток и тестирование на животных, часто невозможно предсказать лекарственные эффекты, наблюдаемые на стадии клинических испытаний непосредственно на организме.

Чтобы удовлетворить потребность в улучшении доклинических исследований за счет более точного моделирования физиологии человека, технология «орган на чипе» была выведена путем слияния двух направлений: микрофлюидики и тканевой инженерии. На основе методов изготовления микрожидкостей, был создан фундамент для создания сложных физических сред, имитирующих нормальную органную среду клеток. [1-4]

Техника тканевой инженерии используется для изготовления больших тканей, импланты которых были уменьшены для создания микротканей. Достижения в области биологии стволовых клеток еще больше ускорили прогресс в этой области, предоставив легкий доступ к незлокачественным клеточным линиям человека и специфическими для пациента стволовых клеток, что делает эту технологию более актуальной для пациентов конкретной физиологии.

Главные преимущества устройства является *diagnosis and treatment*, могут дать представление о нормальном функционировании человеческих органов и заболеваниях, патофизиологии, а также более точно прогнозирования безопасность и эффективность исследуемых лекарства у человека. В статье [5] приведены примеры интеграции органов на чипе для диагностики, понимания механизмов заболевания и лечения рака, неврологических расстройств и редких заболеваний.

Методы изготовления

Микрофлюидика - это научный термин, относящийся к контролю жидкости внутри каналов микрометров. Обычно небольшое количество жидкости обрабатывается в каналах размером до сотен микрометров. Так же стоит отметить, что микрофлюидный поток является ламинарным из-за чего не происходит смешивания между соседними потоками в одном канале (только за счет диффузии). В качестве современного метода культивирования клеток с использованием микрофлюидной технологии обеспечивает ряд преимуществ по сравнению с традиционными методами в отношении манипуляций, а также анализа культур в микромасштабе. Чтобы реалистично имитировать поведение и биологическую активность тканей и органов, необходимо поддержание конкретных условий, такие как осмотическое давление, скорость потока, pH, наличие питательных веществ, а также токсинов и многое другое [6,7].

Основные принципы, которые используются для общего процесса разработки моделей «орган на чипе» можно прочесть в следующей статье [8]. В этой статье также отмечены преимущества микрофлюидной технологии для создания lab-on-a-chip.

Также для детальной информации можно обратиться к статье о микрофлюидных чипах для биологических и медицинских исследований [9]. В рамках данной статьи рассматриваются микрофлюидные устройства на основе чипов для анализа биологических проб.

«Лёгкие на чипе» Ключевой элемент лёгких – это трёхслойная мембрана в альвеолах. Она обеспечивает не только газообмен, но и ряд других функций вроде активации иммунной системы. Состоит такая мембрана из клеток лёгочного эпителия, проницаемого внеклеточного матрицы и клеток кровеносных капилляров. Именно этот «интерфейс» и воспроизводится внутри микроканального чипа (рис. 1). В роли матрицы выступает тончайшая резиновая мембрана с множеством микроскопических отверстий. По обе стороны от неё расположены живые человеческие клетки, соответственно капиллярные и клетки лёгочного эпителия. Со стороны последних, вакуумный насос имитирует цикл дыхания, а с противоположной стороны чипа пропускается жидкость, имитирующая кровоток. В голубые лунки можно добавлять то, что поступает в систему из воздуха, а в красные – то, что должно попасть в кровь (например, клетки иммунной системы, чтобы изучить её реакцию на легочную инфекцию).

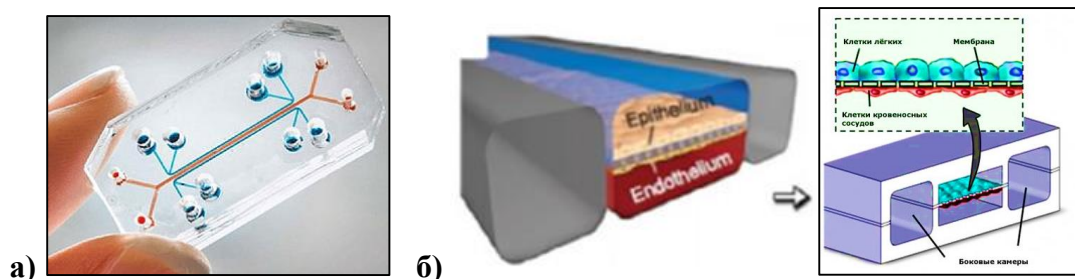


Рисунок 1. «Лёгкие на чипе» (а) и схематическое изображение в (б)

«Сердце на чипе» Технология «сердце на чипе» заключается в использовании тонкой мускульной пленки для оценки структур и функций миокарда. Эта система позволяет в реальном времени измерять сокращение ткани сердечной мышцы в ответ на патофизиологические условия, сочетая механические, электрические и химические стимулы. Продвижение данной технологии, продемонстрировала не только микроконтактную печать фибронектина на тонких гибких пленках ПДМС, но и электрическую стимуляцию анизотропно-организованных кардиомиоцитов, а также множество сконструированных сердечных тканей на чипе для тестирования лекарств с использованием технологии 3D-печати. На рис. 2 предоставлено 3D напечатанное «сердце-на-чипе».

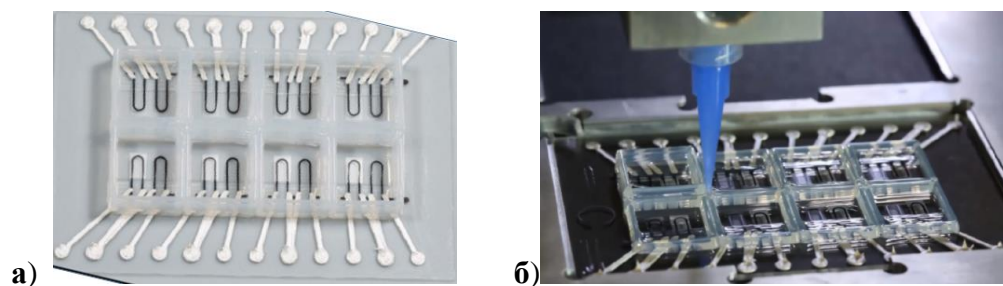


Рисунок 2. «Сердце на чипе» (а) и печать чипа на 3D принтере в (б)

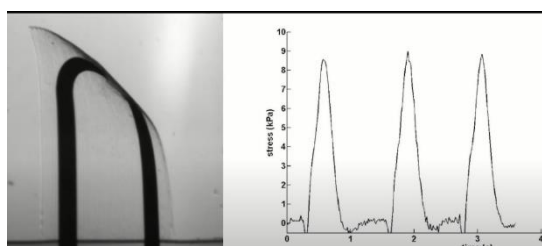


Рисунок 3. Графическое изображение ответа ткани на лекарство и токсины

С помощью микрофлюидики был изготовлен массив реакционных камер ПДМС, связанных с датчиками и стимулирующими электродами, как устройство, которое электрохимически и оптически может контролировать метаболизм кардиомиоцитов, полученных из индуцированных человеком плюрипотентных стволовых клеток.

«Кишечник на чипе» Устройство позволяет выращивать клеточную культуру кишечника человека и населяющие кишечник бактерии. С ее помощью, возможно, воспроизвести и изучить происходящие в теле человека процессы, недоступные другим методам исследования. Состав кишечных бактерий влияет на здоровье человека: некоторые заболевания, например сахарный диабет или ожирение, связаны именно с дисбалансом микрофлоры. Однако современные методы в этой области ограничены экспериментами на животных, результаты которых нельзя однозначно перенести на человека. В статье [10], опубликованной в журнале *Nature Communications*, ученые из США и Люксембурга представили систему, которая расширит возможности исследований, – микропроточный чип **HuMiX** (Human-Microbial Crosstalk). HuMiX имитирует анаэробные -безвоздушные - условия, в которых существуют микроорганизмы и клетки эпителия кишечника. Система состоит из трех ячеек: в верхней части содержатся питательные вещества, в средней камере на тонкой мембране растут человеческие клетки, а в самом низу – бактериальная культура из одного или несколько штаммов (рис. 4).

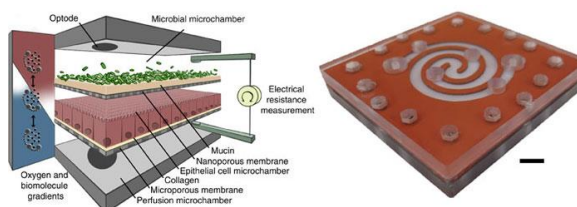


Рисунок 4. Концептуальная схема модели HuMiX для репрезентативной совместной культуры эпителиальных клеток человека с микробиотой желудочно-кишечного тракта

Вывод:

Технология «орган на чипе» позволяет ученым видеть биологические механизмы и физиологическое поведение определенного человеческого органа, что ранее было невозможно. «Орган на чипе» позволяет проводить реалистичные и точные испытания новых лекарств => перспективы создания человека на чипе и возможности интеграции модели «тела на чипе» с индивидуальными клетками человека для их дальнейшей трансплантации [11]. Это позволит избежать проблемы с отторжением иммунной системой пересаженного органа.

Совершенствование методов "мягкой" литографии привело к микроконтактной печати субстратов для формирования клеточной и тканевой структуры *in vitro*, а также недорогому и относительно упрощенному производству МФУ для скрининга лекарств и клеточных культур. Эти технологии сейчас используются при создании «органа на чипе». Особое место начинают занимать технологии 3D-печати, обеспечивающие возможность формирования сложных конструкций с использованием синтетических и биологических полимеров, напечатанных со встроенными клетками и без них. Как вывод, можно сказать, что в будущем при создании систем «органа на чипе» будут широко привлекаться технологии молекулярной печати.

Благодарность. Отдельное спасибо dr., conf. Eduard Monaico за поддержку и предоставленную возможность проявить себя, а также за неотъемлемую помощь в ходе написания работы. Работа выполнена при поддержке гранта Министерства образования, культуры и исследований Республики Молдова № 20.80009.5007.20.

Литература

1. HENRY, O.Y.F., VILLENAVE, R., CRONCE, M.J., LEINWEBER, W.D., BENZ, M.A., INGBER, D.E. Organs-on-chips with integrated electrodes for trans-epithelial electrical resistance (TEER) measurements of human epithelial barrier function. In: *Lab on a Chip*, 2017, 17(13), pp. 2264-2271.
2. PATI, F., GANTELIUS, J., SVAHN, H.A. 3D bioprinting of tissue/organ models. In: *Angewandte Chemie International Edition*, 2016, 55(15), pp. 4650–4665.
3. MIRI, A.K., MOSTAFAVI, E., KHORSANDI, D., HU, S.-K., MALPICA M., KHADEMHOSEINI, A. Bioprinters for organs-on-chips. In: *Biofabrication*, 2019, 11, 042002.
4. YU, F., CHOUDHURY, D. Microfluidic bioprinting for organ-on-a-chip models. In: *Drug Discovery Today*, 2019, 24(6), pp. 1248-1257.
5. LOW, L.A., TAGLE, D.A. ‘You-on-a-chip’ for precision medicine. In: *Expert Review of Precision Medicine and Drug Development*, 2018, 3, pp. 137-146.
6. LEE, S.H., SUNG, J.H. Microtechnology-Based Multi-Organ Models. In: *Bioengineering*, 2017, 4(2), pp. 46
7. SEI, Y., JUSTUS, K., LEDUC, P., et al. Engineering living systems on chips: from cells to human on chips. In: *Microfluid Nanofluid*, 2014, 16, pp. 907–920.
8. Microfluidics-Organ-on-chip-<https://biomedicalengineering.international/wp-content/uploads/2019/10/2668600711002008.pdf>
9. Микрофлюидные чипы для биологических и медицинских исследований-<http://chemnet.ru/rus/jvho/2011-2/99.pdf>
10. SHAH, P., FRITZ, J.V., GLAAB, E., DESAI, M.S., et. al. A microfluidics-based *in vitro* model of the gastrointestinal human–microbe interface. In: *Nature Communications*, 2016, 7, 11535.
11. LOW, L.A., MUMMERY, C., BERRIDGE, B.R., AUSTIN, C.P., TAGLE D.A. Organs-on-chips: into the next decade. In: *Nat Rev Drug Discov.*, 2020, <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0079-3>