

УДК 543.07+621.389

© П. К. Афоничева, А. Л. Буляница, А. А. Евстапов, 2019

"ОРГАН-НА-ЧИПЕ" — МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ (ОБЗОР)

В последние годы новые технологии изготовления микро- и наноразмерных структур существенно повлияли на прогресс в различных областях науки. Так, микрофлюидные технологии заняли нишу как инструмент для разнообразных применений, особенно в биоинженерных и биомедицинских исследованиях. Например, технологии микрофлюидики успешно используются при подготовке биологических образцов, в тканевой инженерии, в молекулярной диагностике и при скрининге лекарств и т.д. Помимо таких применений, эти технологии являются важным вспомогательным средством при моделировании различных органов и их свойств. Сочетание микрофлюидики и методов формирования клеточных 3D-структур повлекло за собой создание нового направления "орган-на-чипе". Основная идея "орган-на-чипе" заключается в том, чтобы предоставить искусственный объект тестирования, имитирующий живой человеческий орган. Развитие микрофлюидных технологий помогает преодолеть разрыв между *in vitro* и *in vivo*, предлагая новые современные подходы к медицинским, биологическим и фармакологическим исследованиям. Устройства "орган-на-чипе" могут представлять собой не только целый орган, но и имитировать отдельные процессы, протекающие в организме. Клетки выращиваются внутри камер и каналов для создания тканей или органов, чтобы имитировать их работу. Достичь полной функциональности можно за счет поддержания конкретных условий, обеспечивающих функционирование органа или ткани, таких как давление, скорость потока, pH, осмотическое давление, содержание питательных веществ, присутствие токсинов и других свойств.

В обзоре приводятся данные по анализу публикационной активности исследователей в последнем десятилетии по тематике "орган-на-чипе" и родственной ей, индексируемых в библиометрической базе данных SCOPUS. Эти данные свидетельствуют не только о повышенном внимании, уделяемом данной тематике, но и о мультидисциплинарности этого направления. Помимо распределения публикаций по годам, представляет интерес сравнение публикационной активности представителей различных стран (лидеры — США, Китай и Южная Корея, почти по всем направлениям).

В статье освещаются общие вопросы, касающиеся основных и вспомогательных технологий систем "орган-на-чипе", материалов и методов изготовления устройств и элементов этих систем, а также рассматриваются примеры некоторых устройств. Для получения адекватных результатов исследования при использовании систем "орган-на-чипе" необходимо создать максимально близкие к естественным условия для функционирования модельных систем, в том числе обеспечить требуемые температурные режимы; условия формирования напряжения сдвига в потоке, омывающем клетки, механического сжатия, циклической деформации или воздействия других физических сил; создать нужную среду для изучаемых объектов. Все это приводит к усложнению систем, необходимости применения различных материалов (а следовательно, и методов изготовления), датчиков и микро-электромеханических устройств, созданию многоэтапных алгоритмов исследования. Системы "орган-на-чипе" динамично развиваются, а затрачиваемые исследователями усилия позволяют получать впечатляющие результаты в виде новых знаний об организме.

Кл. сл.: микрофлюидика, "орган-на-чипе", "печень-на-чипе", "легкое-на-чипе", полимеры, технология изготовления

ВВЕДЕНИЕ

Микрофлюидные технологии в настоящее время являются развивающимся направлением для многочисленных приложений, особенно при биологических и биомедицинских исследованиях. Преимуществами микрофлюидики при управлении частицами являются: снижение объемного расхода жидкости (более низкие затраты на реагенты, меньшее количество отходов, небольшие эксплуатационные затраты); портативность уст-

ройств; возможность тотального контроля и гибкого управления процессами в микрофлюидном устройстве; высокие скорости протекания реакций в микромасштабе и т.д. Поскольку микрофлюидный поток является, как правило, ламинарным, то практически не происходит смешивания между соседними потоками в одном канале (только за счет диффузии). В конвергенции клеточной биологии это редкое свойство жидкости используется для лучшего изучения сложных клеточных поведений, таких как подвижность клеток в ответ

Табл. 1. Распределение публикаций по областям знаний

Область знаний	"Орган-на-чипе" ("organ on a chip")	"Печень-на-чипе" ("liver on a chip")	"Сердце-на-чипе" ("heart on a chip")	"Легкие-на-чипе" ("lungs on a chip")	"Тело-на-чипе" ("body on a chip")
Техника	262	31	28	12	35
Биохимия, генетика и молекулярная биология	259	43	25	14	44
Химическая инженерия	160	25	12	7	28
Математические науки	139	13	16	4	11
Химия	115	6	9	5	18
Медицина	87	8	7	14	13
Фармакология и токсикология	85	7	4	9	12
Физика и астрономия	54	3	5	2	8
Иммунология и микробиология	24	9	—	—	7
Компьютерные науки	19	—	—	—	3
Нейронауки	—	2	—	—	—
Здравоохранение	—	2	—	—	—
Сельскохозяйственные и биологические науки	—	—	1	—	—
Окружающая среда	—	—	—	4	—
Мультидисциплинарная тематика	—	—	—	1	—
Всего	1105	149	107	72	179

на химико-тактические стимулы [1], дифференцировка стволовых клеток [2], аксональное наведение, передача биохимических сигналов в субклеточных системах и эмбриональное развитие [3].

На основе разработок "лаборатория-на-чипе" (ЛНЧ) была предложена концепция "орган-на-чипе" (ОНЧ), которая быстро завоевала популярность среди исследователей по всему миру. Совмещение техники "лаборатория-на-чипе" и методов клеточной биологии позволяет изучать физиологические процессы в организме человека на новых моделях многоклеточных человеческих органов *in vitro* [4].

ОНЧ представляет собой многоканальный трехмерный микрофлюидный чип, позволяющий с определенным масштабированием моделировать органы, тем самым заменяя живой организм тех-

ническим устройством или моделью и уменьшая время и стоимость исследований. Это делает ОНЧ крайне важным инструментом для поиска функциональных свойств, патологических состояний и исследований развития органов [5].

Популярность и востребованность в разработках ОНЧ и исследованиях с использованием этих систем подтверждается наличием множества публикаций по данной теме. В табл. 1 приводятся данные по публикационной активности исследователей в разных областях знаний, связанных с разработками и исследованиями на системах ОНЧ. Использованы данные с сайта Scopus.com за период 10 лет, начиная с 2010 г. Эти области входят в предлагаемый сайтом перечень направлений исследований.

Из таблицы следует достаточно тривиальный

Табл. 2. Распределение публикаций по государственной принадлежности авторов

Страна	"Орган-на-чипе"	"Печень-на-чипе"	"Сердце-на-чипе"	"Легкие-на-чипе"	"Тело-на-чипе"
США	266	30	26	25	41
Китай	79	7	9	6	2
Южная Корея	74	11	3	5	13
Германия	58	6	3	1	9
Япония	38	4	—	—	11
Канада	34	—	5	1	—
Голландия	34	4	—	5	—
Швейцария	27	—	7	2	12
Великобритания	26	—	—	2	—
Франция	20	—	—	—	—
Испания	—	3	—	—	—
Россия	—	6	—	—	—
Польша	—	—	6	—	—
Швеция	—	5	—	—	—
Саудовская Аравия	—	4	4	—	—
Италия	—	—	6	—	—
Иран	—	—	2	3	—
Австралия	—	—	—	1	—
Австрия	—	—	—	—	3

вывод о том, что при предложенном наборе областей знаний, исследования по ОНЧ пока не затронули лишь "народнохозяйственные" области — строки от "Здравоохранение" и ниже.

Анализируя публикационную активность разных стран по тематике ОНЧ (табл. 2) можно отметить, что лидирующее положение занимают США. В то же время в пятерку лидеров также входят Китай, Южная Корея, Германия и Япония. Что касается российских авторов, то их публикации относятся только к направлению "печень-на-чипе", и количество статей русских авторов несопоставимо с ведущими странами в этой области.

С 2010 г. наблюдается непрерывный рост числа публикаций (табл. 3). Статистика показывает, что интерес к теме ОНЧ с каждым годом только растет. Динамика числа публикаций хорошо описывается уравнением логистического роста первого порядка

$$y(t) = \frac{a}{1 + \exp(-k(t - t_0))}$$

с параметрами: $a = 198.87 \pm 36.21$,
 $k = 0.619 \pm 0.093$,
 $t_0 = 7.62 \pm 0.67$.

При $t = 10$, что соответствует 2019 г., средняя прогнозируемая численность числа публикаций 161.79.

Здесь y — численность публикаций по тематике "орган-на-чипе" в год с номером t . Началу отсчета ($t = 0$) соответствует 2009 г.

Коэффициент детерминации указанной зависимости превышает 0.985, что свидетельствует о высокой адекватности аппроксимирующей зависимости.

Сопоставляя суммарные по столбцам данные табл. 1 и 3 можно отметить следующую тенденцию — каждая статья относится к двум областям

Табл. 3. Распределение публикаций по годам (по данным scopus.com на 01.08.2019)

Год	"Орган-на-чипе"	"Печень-на-чипе"	"Сердце-на-чипе"	"Легкие-на-чипе"	"Тело-на-чипе"
2010	2	—	—	1	3
2011	5	—	1	2	2
2012	7	1	1	5	4
2013	24	4	2	4	6
2014	39	3	3	6	10
2015	47	5	7	5	14
2016	77	12	11	3	11
2017	118	18	12	3	12
2018	137	12	8	10	14
2019	111	10	7	5	9
Итого	567	65	53	45	85

знаний. Например, столбец "Орган-на-чипе" в табл. 1 суммарно имеет 1105 публикаций, а в табл. 3 — 567. Это свидетельствует, что в среднем каждая статья на эту тему в табл. 1 учтена дважды. Исключение составляют публикации по "легкие-на-чипе", где такое соотношение примерно 1,5, т.е. статья может быть конкретнее отнесена к одной из обозначенных областей.

Сопоставление суммарных по столбцам данных табл. 1 и 3 позволяет соотнести число публикаций на тему с количеством авторов и сделать вывод, что публикации — результат работы коллективов.

КОНЦЕПЦИЯ СИСТЕМ "ОРГАН-НА-ЧИПЕ"

Микрофлюидика (микрогидродинамика) — это междисциплинарная область знаний, которая связана с описанием поведения малых объемов и потоков жидкостей при их нахождении (движении) в микроразмерных пространствах. Успехи в области микро- и нанотехнологий позволили создавать устройства, обеспечивающие возможность точных и воспроизводимых манипуляций с небольшими объемами жидкости и объектами, находящимися в ней (клетки, молекулы и т.д.). Особое внимание исследователи стали уделять развитию клеточных технологий в формате микрофлюидных устройств.

Двухмерные (2D) системы клеточной культуры не всегда являются надежными для прогнозирования многих клеточных функций, таких как, например, оценка эффективности лекарств, для кон-

троля точных физических и химических параметров микросред. Эти системы не отвечают основным требованиям клеточных микросред *in vivo*, вследствие чего они постепенно заменяются трехмерными (3D) системами, которые более адекватно отражают сложность тканей. Тем не менее органоиды, образованные в трехмерных клеточных культурах, имеют разные формы и размеры, что вызывает определенные трудности при их исследовании. Функциональный анализ, трансцеллюлярный транспорт, секреция и абсорбция, а также биохимический и генетический анализы культивируемых клеток также затруднительны в 3D-системах. Во многих из них отсутствуют разномаштабные архитектуры, не учитывается воздействие механических сигналов, таких как напряжение, сжатие и напряжение сдвига потока для клеток, которые играют большую роль для развития и функционирования органов как во время болезни, так и в здоровом состоянии. Микрофлюидные системы предлагают решения для преодоления этих ограничений, так как трехмерные системы на основе микрофлюидики обладают огромным потенциалом для проектирования конструкций, обеспечивающих размещение клеток / тканей с целью создания физиологически релевантной среды [6].

Основная идея систем "орган-на-чипе" (ОНЧ) состоит в том, чтобы предоставить искусственный объект тестирования, который во всех аспектах напоминает органы человеческого тела. Развитие микрофлюидных технологий позволяет устранить разрыв между моделями *in vitro* и *in vivo*, предлагая новые подходы к исследованиям в области медицины, биологии и фармакологии. Хотя орган

представляет собой сложную единицу различных тканей, а эти ткани в свою очередь состоят из различных типов клеток с различными функциями, тем не менее органы человеческого тела могут быть смоделированы микрофлюидными устройствами (МФУ). Реакционные камеры таких устройств заполняются живыми клетками. Для простейшей системы используется только один клеточный слой, используя который можно имитировать соответствующие функции ткани, а для сложных систем культивируются различные типы клеток, относящиеся к различным тканям. Эти клетки соединены с мембранами и расположены с противоположных сторон для правильного моделирования органов. Микрофлюидные устройства для имитации функций органа реализуются с помощью многоклеточной архитектуры, сопряженной с тканями и физико-химическими микросистемами, такими же как системы кровообращения организма.

Для получения адекватных результатов анализов распределения лекарств и реакций организма, клетки разных органов сопрягаются на чипе соответствующим образом, создавая условия для формирования напряжения сдвига в потоке, омывающем клетки, механического сжатия, циклической деформации или других физических сил. Электрохимический контроль и сенсорные системы для регистрации электрохимических преобразований, образования ферментов и биомаркеров в МФУ могут быть реализованы путем внедрения соответствующих микросистем в эти устройства [7].

Хотя лучшие результаты по сравнению с традиционными подходами могут быть достигнуты путем имитации микросреды *in vivo* с использованием микрофлюидных систем, для моделирования от клеточного уровня до ткани требуются более сложные условия окружающей среды. Так, для моделирования органов, где две или более неоднородные ткани связаны друг с другом, вызывая ткань-тканевое взаимодействие, условия становятся более сложными. При моделировании болезни органа степень сложности только растет. Таким образом, при добавлении в модель новых параметров одними лишь средствами микрофлюидики их невозможно точно контролировать. Для решения многих практических задач нет необходимости создавать полный рабочий орган, достаточно синтезировать функциональную единицу, отражающую основную функцию органа. Однако в ряде случаев для точного создания системы и контроля ее параметров необходимы некоторые дополнительные решения.

Так, для изготовления ОНЧ помимо микрофлюидных технологий могут быть привлечены вспомогательные технологии. Ниже будут перечислены некоторые из них.

Технологии 3D-биопечати. Технологии 3D-биопечати используются в создании клеточных структур, где функции и жизнеспособность клеток сохраняются в конструкциях путем послойного нанесения различных биоматериалов и клеточных композиций [8]. Биопечать может производить органоподобные и тканеподобные структуры сложной топологии, которые могут быть использованы в исследованиях. Возможна полная 3D-печать ОНЧ. При совмещении биопечати ОНЧ и микрофлюидики удастся получить сложные искусственные ткани. Например, этим методом для тестирования лекарств была разработана "печень-на-чипе" [9]. Также 3D-биопечать может использоваться для изготовления сердечной мышцы для изучения и моделирования заболеваний. Помимо этого существует возможность печати микрофлюидных систем со сложными системами биологической культуры, например, чтобы получить лучшую структуру эпителия. Также известно использование варианта 3D-печати на основе экструзии для моделирования нервной системы [10].

Биосенсорные технологии. Объединение биосенсоров с микрофлюидными устройствами помогает обеспечить точный контроль за работой систем и тем самым улучшить транспортировку аналитов. Маленькие объемы и расстояния в микрофлюидике облегчают биораспознавание элементов. Некоторые микрофлюидные биосенсоры, основанные на электрохимических реакциях, могут применяться в ОНЧ при создании сердца и нервов. Микрокамеры из полидиметилсилоксана (ПДМС) с электродами и датчиками помогают контролировать кардиомиоциты оптическим и электрохимическим методами. Применение электрического поля используется для сокращения клеток и в целях заживления ран [11].

Электрохимическая тканевая инженерия. Тканевая инженерия включает в себя производство тканей для медицинских целей. Клеточно-клеточные взаимодействия, т.е. гомотипические или гетеротипические взаимодействия, поддерживают тканевые функции и структуры, и многие клетки реагируют на эти взаимодействия. Например, "печень-на-чипе" имитирует гетеротипические взаимодействия с помощью разделения гепатоцитов, культивируемых при низком напряжении сдвига и диффузионных преобладающих микросредах при высокой гомотипической плотности клеток. Так, в работе [12] была представлена структура, подобная печени, изготовленная на чипе методами биоинженерии и микрофлюидных технологий, которая использовалась для исследования печеночной ткани и оценке токсичности, вызванной лекарственными средствами. Равномерная клеточная агрегированная совместная

культура гепатоцитов и фибробластов инкапсулировалась в трехмерные гидрогели для создания печеночных микротканей, которые были индивидуально собраны в устройстве и подвержены воздействию лекарств и жидкостей.

Микротехнологии, микроэлектроника и микрофлюидные технологии предлагают разные перспективные решения проблем при имитации сложных физиологических реакций *in vitro* в точно смоделированных условиях. ОНЧ может быть использован не только для исследования физиологии и болезни органов, но также для изучения структуры ткани и зависящих от кровоснабжения биологических механизмов. На одном чипе может производиться множество экспериментов с различной вариацией условий воздействия на изучаемый объект — орган. Большое количество образцов легче обрабатывать на чипе, вследствие чего повышается надежность и достоверность результатов исследования. Благодаря возможности тотального контроля условий эксперимента и потока жидкости жизнеспособность клеток и их дифференцирование существенно улучшаются; например, "легкое-на-чипе" можно культивировать в течение одного месяца [13].

В перспективе ОНЧ может помочь в изучении хронических патофизиологических реакций, вычислительном моделировании жидкостно-динамических взаимодействий с метаболитами и взаимодействия клеток и газов с циркулирующими клетками, например кровью, опухолью, иммунными клетками и бактериями [14].

Создание надежных искусственных органов требует не только точных клеточных манипуляций, но и детального понимания фундаментально сложной реакции человеческого организма на любое явление. Общая проблема с органами на чипе заключается в изоляции каждого органа во время тестирования.

МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ МИКРОФЛЮИДНЫХ УСТРОЙСТВ И СИСТЕМ "ОРГАН-НА-ЧИПЕ"

Говоря о материалах для МФУ и систем ОНЧ, будем рассматривать следующие основные варианты устройств:

- для имитации физико-химических процессов в биологических системах;
- для имитации функций органов.

В первом варианте, как правило, не предполагается культивирование клеток на поверхности структур, что существенно снижает требования биосовместимости.

Среди множества полимерных материалов полидиметилсилоксан (ПДМС), полиметилметакрилат (ПММА), поликарбонат (ПК), полистирол (ПС), поливинилхлорид (ПВХ), полиимид (ПИ)

и семейство циклических олефиновых полимеров широко используются в микрофлюидике [15]. Уникальные характеристики ПДМС позволяют достаточно просто формировать сеть микроканалов и реакционных камер для создания высокоточных микрофлюидных устройств [16]. Кроме того, у этого материала есть свойства, которые делают его идеальным выбором для изготовления микроустройств для культивирования клеток и тканей. ПДМС обладает хорошей газопроницаемостью и эластичностью для обеспечения подачи кислорода к клеткам в микроканалах, что устраняет необходимость в отдельных устройствах для генерации кислорода, необходимых в кремниевых, стеклянных и пластиковых устройствах, и что особенно важно — для поддержания дифференцированной функции первичных клеток с высокой метаболической потребностью [17]. Микрофлюидные системы из ПДМС позволили сформировать жизнеспособные и функциональные ткани человека. Хотя ПДМС был основным материалом при создании ОНЧ из-за относительно низкой стоимости, оптических свойств и отработанных технологий "мягкой" литографии, он часто неадекватно моделировал имитируемые ткани [18]. К недостаткам ПДМС относят его высокую жесткость (для решения некоторых задач) и временную нестабильность свойств при модификации поверхности, что ограничивает продолжительность жизни культивируемых клеток. Наиболее проблематичным является поглощение материалом белков, молекул лекарств и гидрофобных молекул, что усложняет исследование фармакокинетики и фармакодинамики и затрудняет точную дозировку лекарств [19]. Использование ПДМС ограничивает модели, которые можно исследовать с помощью ОНЧ.

Учитывая вышеотмеченное, непрестанно ведутся исследования по поиску и разработке новых полимерных материалов, подходящих для применения в микрофлюидных приложениях

Выбор того или иного материала предполагает и определенные технологии изготовления микроструктур устройств ОНЧ. Были разработаны и на данный момент достаточно широко используются несколько методов для изготовления микрофлюидных систем. Среди них основными считаются: 1) методы горячего тиснения [20], 2) литье под давлением [21] и 3) варианты "мягкой" литографии [22].

Метод горячего тиснения очень похож на термическую наноимпринтную литографию [23] и может совместно с ней использоваться для создания отпечатков в микроструктурах с высоким аспектным отношением (отношение глубины к ширине сечения).

При литье под давлением структуры для уст-

ройства получают путем впрыскивания расплавленного материала в форму, где он охлаждается и затвердевает, принимая конфигурацию формы. Этот метод наиболее подходит для создания серийных устройств.

Как правило, материалы с относительно низкой вязкостью в форме раствора являются предпочтительными, потому что во время литья они имеют хороший контакт с пресс-формой (мастер-формой), что приводит к формированию четких и точных реплик [24]. Методы инъекционного литья используются преимущественно для изготовления структур в таких материалах как ПММА и ПК [25]. Каждый способ изготовления имеет определенные ограничения из-за свойств материала (например, температуры плавления, температуры стеклования, коэффициента теплового расширения и др.). Эти параметры не только важны для изготовления, но также играют ключевую роль при герметизации, когда материалы термически или химически прочно соединяются друг с другом.

Гидрогели, которые механически перестраиваются и химически функционализированы для прикрепления клеток, такие как альгинат, являются альтернативным "строительным" материалом, который лучше имитирует микросреды мягких тканей и обеспечивает возможность долгосрочного культивирования [26]. Белковые или смешанные белок-синтетические полимерные нановолокна также являются химически и механически перестраиваемыми субстратами с наноразмерными свойствами, подобными нативной матрице [27]. С такими материалами можно моделировать сложные физиологические состояния на ОНЧ.

Для создания ОНЧ необходим набор методов изготовления, подходящий для массового производства. Развитие "мягкой" литографии привело к микроконтактной печати субстратов для контроля клеточной и тканевой структуры *in vitro*, а также недорогому и относительно упрощенному производству МФУ для скрининга лекарств и клеточных культур [28]. Эти методы, подходящие для лаборатории, в основном являются "ручными" и требуют автоматизации для обеспечения серийного производства. На новый уровень выходят технологии 3D-печати; так, достижения в этой области позволили изготовить тканевой микроциркулятор с использованием синтетических и биологических полимеров, напечатанных со встроенными клетками и без них [29, 30].

Анализируя материалы, используемые при изготовлении систем ОНЧ (табл. 4), следует отметить, что наиболее часто для формирования "каркасных" конструкций органов применяются эластичные полимеры, например уже ставший популярным в микрофлюидике ПДМС, гидрогели, сти-

рол-этилен-бутилен-стирольные каучуки. При создании пористых мембран и подобных элементов используются пленки из коллагена, полимолочной и полигликолевой кислот, желатина и т.д., на которых могут выращиваться клетки. Для "жестких" элементов в ОНЧ применяются ПММА, полиуретанметакрилат, фотоотверждаемые смолы. В последнем случае необходимо тестировать выбранную смолу на биосовместимость, поскольку разнообразный компонентный состав смол может препятствовать росту клеток. Имеется ряд материалов, у которых можно регулировать некоторые свойства (например, биоразлагаемость) — полигидроксилканоаты, полиэфиры, полиолсебацианаты [31].

Производство систем ОНЧ в больших масштабах требует внедрения мер контроля качества и стандартов, которые в настоящее время окончательно не разработаны. Если формируется ОНЧ, то генотип, фенотип и зрелость развития применяемых клеточных линий должны быть согласованными и контролироваться [55]. Также и среда, используемая для культивирования клеток в ОНЧ, должна быть стандартизирована.

Поскольку цель ОНЧ заключается в том, чтобы наиболее близко имитировать ответ человеческого организма *in vitro*, то показания ОНЧ должны соответствовать стандартной клинической диагностике. Однако корреляция показаний ОНЧ с клиническими аналогами затруднена из-за различий в методах и способах измерения. Открытым остается вопрос: как данные, которые мы получаем от ОНЧ, должны быть сопоставлены с физиологией органов и патофизиологией? В настоящее время ведутся исследования по созданию микрофлюидных систем следующего уровня сложности, чтобы получить представление о взаимодействии между тканями, физически разделенными *in vivo* [56]. В связи с этой задачей необходимо создавать новые микрофлюидные конструкции, в которых ткани должны быть способны выполнять функцию, необходимую для поддержки других тканей. Это диктует несколько иные подходы к выбору конструкционных материалов для чипов, обеспечивающих более высокую биосовместимость и инертность.

Изначально ткани одного органа были изучены отдельно [57], и теперь проводятся исследования с несколькими органами на чипе [58]. Сначала парами, такими как фибробласты печени, кишечника—печени и печени—поджелудочной железы, а затем путем включения большего числа органов с фактором интеграции, учитывающим однократную и рециркуляционную перфузию, поскольку системы органов связываются посредством секретирования химических факторов и пузырьков [59].

Табл. 4. Материалы, применяемые в микрофлюидных технологиях

№ п/п	Материал	Соответствующие свойства	Предлагаемое приложение	Ссылка
1	2	3	4	5
1	Коллаген (Хитозан)	Биосовместимость, универсальный контроль структуры и химия	Биосеноры, сборка пленок. ОНЧ	[32, 33]
2	Шелкопряд (Bombyx Mori)	Биосовместимость, механическая стойкость, гибкость, высокий механический модуль, прочность	Изготовление микрофлюидных каналов. Элементы ОНЧ	[34]
3	Агарозный гидрогель	Низкая цитотоксичность, био-разлагаемость, механическая стабильность при низком содержании твердых фракций	Культивирование клеток, датчики и исполнительные механизмы. ОНЧ	[35]
4	Гидрогели	Набухание и сокращение, возможность действия как датчиков и исполнительных механизмов	Саморегулирующиеся клапаны, массивы микролинз, системы высвобождения лекарств, связывание антигенов, белков и глюкозы. Датчики расхода, регуляторы pH, охлаждающие устройства. ОНЧ	[36]
5	Тефлон	Простота изготовления с максимальной химической стойкостью	Высокоточный анализ, сверхчистые инструменты, изготовление клапанов и насосов	[37]
6	Акрилонитрил-бутадиен-стирол	Высокое разрешение, различные варианты обработки поверхности	Изготовление литейной формы, микрофлюидные интерфейсы, обнаружение патогенов, биологический анализ. Элементы ОНЧ (ограниченно)	[38-39]
7	ABS, поликарбонат, полифенилсульфон, эластомеры	Дешевый материал, простота использования	Обнаружение патогенных микроорганизмов и вирусов. ОНЧ (ограниченно)	[40, 41]
8	Фотоотверждаемая смола / полимер	Высокое пространственное разрешение	Биологическое наблюдение за ростом клеток. ОНЧ	[42]
9	Полиамид (ПА)	Высокая скорость сборки, многокомпонентная печать, прочный и устойчивый к высоким температурам материал	Изготовление мастер-формы	[43]
10	Полиуретанметакрилат (ПУМА)	Экономичен в производстве, биосовместим, нетоксичен, позволяет реализовать условия разделения с высокой электроосмотической подвижностью	Микроструктуры с высоким аспектным отношением. ОНЧ	[44]
11	Полиэтиленгликоли (ПЭГ)	Относительно недорогой материал, доступный в широком спектре молекулярных масс, биосовместимый, незначительная цитотоксичность	Микрожидкостные клапаны, элементы микрочипов. Элементы ОНЧ (ограниченно)	[45]

Табл. 4. (продолжение)

1	2	3	4	5
12	Полигидроксиалканоаты (ПГА), термопластичные разрушаемые линейные полиэфиры микробиологического происхождения	Биосовместимость, перестраиваемая биоразлагаемость	Микропленочный барьер для пара и кислорода. ОНЧ	[46]
13	Желатин метакрилат (гель-МА)	Фотополимеризуемая, пористая мембрана	Механическая матрица для поддержки клеток, для сосудистой биологии. ОНЧ	[47]
14	Полимолочная кислота и полигликолевая кислота	Перестраиваемая биodeградация	Пористый каркас для клеточной культуры с лучшей адгезией. ОНЧ	[48]
15	Полиолсебацинаты, синтетически биоразлагаемые полимеры, состоящие из структурных звеньев, эндогенных для метаболизма человека. Свойства материала полимеров можно настраивать	Биосовместимость, адаптивность конструкции, механическая совместимость, низкая цитотоксичность, разлагаемость	3D-микрофлюидная система, микробиореакторы. ОНЧ	[49]
16	Поли(этиленгликоль) диакрилат (ПЭГДА)	Биосовместимость, потенциал неоваскуляризации, возможность изготовления нескольких материалов при высоком пространственном разрешении	Тканевая инженерия, регенеративная медицина и биосенсорика. ОНЧ	[50]
17	ПММА	Благоприятная механическая и термическая стойкость, химическая совместимость	Геномный анализ. ОНЧ	[51]
18	Стирол-этилен-бутилен-стирольные каучуки. Форма термопластичного эластомера с добавлением стирола	Биосовместимость, электрические свойства поверхности (стабильная и относительно высокая величина дзета-потенциала), слабое поглощение лекарств, высокое светопропускание, механические характеристики	Изготовление сложных систем микрофлюидных каналов, микроустройства для электрокинетических применений, устройства для культивирования клеток. ОНЧ	[52–54]

Несмотря на современное развитие технологий, некоторые критические проблемы для интеграции всех органов в чипе все еще не решены. Например, биологические проблемы: соответствующее масштабирование органов, васкуляризация тканей, включение иммунных компонентов, создание универсальной среды, индуцированное выделение плюрипотентных стволовых клеток и т.д. [60]. Существуют и технические проблемы: подключение платформ для поддержания стерильности и предотвращения образования пузырьков, ад-

сорбция лекарств и связывание с ПДМС, различия в скорости потока между платформами и создание идеальных уровней оксигенации и питательных веществ для различных органов и др. [61].

ПРИМЕРЫ УСТРОЙСТВ "ОРГАН-НА-ЧИПЕ"

Состояние разработок

Изучение функций органов с использованием микрофлюидики все еще находится в "зачаточ-

ном" состоянии [62]. Таким образом, новые разработки "органа-на-чипе" будут отличаться друг от друга по дизайну и подходу в разных исследованиях, а повышение достоверности и оптимизация имитации работы органов потребуют значительного времени. На данный момент существует ряд органов, которые были смоделированы с применением МФУ: сердце, легкое, почка, артерия, кость, хрящ, кожа и т.д.

"Легкое-на-чипе"

"Легкое-на-чипе" воспроизводит ключевые структурные, функциональные и механические свойства альвеолярно-капиллярного интерфейса человека (т.е. основной функциональной единицы живого легкого).

В Институте биологической инженерии Wyss в Гарварде изготовили систему, содержащую близкорасположенные микроканалы, разделенные тонкой (10 мкм) пористой гибкой мембраной, изготовленной из ПДМС [13]. Устройство состоит из трех полых микрофлюидных каналов, из которых средний канал содержит горизонтальную пористую мембрану. Культуры клеток выращивали с обеих сторон такой мембраны: человеческие альвеолярные эпителиальные клетки с одной стороны и человеческие легочные микрососудистые эндотелиальные клетки с другой. Боковые каналы были соединены с вакуумом и поэтому могли имитировать растяжение мембраны. Сокращение диафрагмы вызывает снижение внутриплеврального давления, что приводит к расширению альвеол. Это явление имитируется легким на чипе.

Чтобы полностью подтвердить биологическую точность устройства должна быть рассмотрена реакция всего органа. Воспаление легких моделируется путем введения среды, содержащей мощный медиатор воспаления. Только через несколько часов после травмы клетки в МФУ, подвергшиеся циклической деформации, реагировали, как при воспалительном процессе.

Живые бактерии кишечной палочки были использованы для демонстрации того, как система может имитировать врожденный клеточный ответ на бактериальную легочную инфекцию. Бактерии были введены на апикальную поверхность альвеолярного эпителия. В течение нескольких часов нейтрофилы были обнаружены в альвеолярном отделении, что означает, что они переселились из сосудистого микроканала, где пористая мембрана захватывала бактерии.

Кроме того, исследователи полагают, что потенциальная ценность такой системы, как "легкое-на-чипе", проявится в токсикологических исследованиях. Исследуя реакцию легких на наночастицы, ученые надеются узнать больше о рисках для здоровья в определенных условиях и улучшить ранее

упрощенные модели *in vitro* [63]. Поскольку микрофлюидное "легкое-на-чипе" может более точно воспроизводить механические свойства легкого живого человека, его физиологические реакции будут более быстрыми и точными, чем при использовании культуральных сред. Тем не менее опубликованные исследования признают, что реакции "легкого-на-чипе" еще не полностью воспроизводят реакции естественных альвеолярных эпителиальных клеток.

"Печень-на-чипе"

Печень, обладая высокой метаболической активностью, имеет большое значение для жизни. Ее ткань обладает быстрой регенеративной способностью, но подвержена хроническим заболеваниям и вирусным инфекциям. Для исследования взаимодействия гепатоцитов было разработано МФУ для выращивания трехмерных культур клеток печени. "Печень-на-чипе" может состоять из монокультуры и культуры гепатоцитов и печеночных звездчатых клеток для изучения ее взаимодействия с потоком и без него [64]. Несколько исследований из обзора [65] свидетельствуют о возможности применения устройства "печень-на-чипе" для анализа лекарств, оценки токсичности, патофизиологии и физиологии человека.

Мониторинг метаболической функции является проблемой для существующих моделей *in vivo*, в то же время микрофлюидные системы ОНЧ, дополненные датчиками, обладают рядом преимуществ для отслеживания биологических процессов. Соединение "печени" и сенсора в работе Бавли и др. [66] обеспечили возможность исследования адаптации к митохондриальной дисфункции. Датчик был разработан для наблюдения за изменениями глюкозы и лактата. "Печень-на-чипе" часто применяется для испытаний токсичности лекарственных средств.

Следует отметить, что публикации российских исследователей касаются главным образом изучения именно систем "печень-на-чипе" (см. табл. 2).

"Сосуды-на-чипе"

Развиваются и технологии изготовления искусственных кровеносных сосудов. Так, инженеры Fraunhofer IWS (Materials & BeamTechnology, Germany) использовали прецизионную лазерную резку при создании системы искусственных кровеносных сосудов для разработки так называемого "мультиорганового" чипа для имитации биологических процессов в живых системах. Эта разработка, удостоенная премии EARTO Innovation Awards 2018 в Брюсселе, имитирует процессы кровообращения в органах животных или людей, что может содействовать завершению экспери-

ментов по тестированию на животных. Чипы состоят из нескольких слоев. Используя лазер, нарезают каналы для кровеносных сосудов, камеры для клеток и другие функциональные элементы на пластиковой пленке, затем укладывают эти пленки друг на друга, соединяют их, устанавливают датчики, клапаны, насосы, теплообменники и электронные средства управления. Далее заполняют камеры микрочипов биологическим материалом, например клетками печени, сердца или других органов, иницируют искусственное кровообращение и вводят тестируемое вещество [67].

"Сердце-на-чипе"

Имитация *in vivo* сердечной тканевой среды представляется сложным процессом из-за трудностей при моделировании сократительной способности и электрофизиологических реакций. В свою очередь микрофлюидика уже внесла свой вклад в эксперименты *in vitro* на кардиомиоцитах, которые генерируют электрические импульсы, контролирующие частоту сердечных сокращений [68]. Например, исследователи изготовили массив реакционных камер в ПДМС, связанных с датчиками и стимулирующими электродами, как устройство, которое электрохимически и оптически может контролировать метаболизм кардиомиоцитов [69].

"Тело-на-чипе" или "человек-на-чипе"

Тело человека, состоящее из органов и тканей, которые обладают множеством разнообразных физиологических ролей, представляется как очень сложная система. Как упоминалось ранее, довольно трудно точно предсказать взаимодействие между органами и тканями с использованием традиционных подходов к культивированию клеток *in vitro*, поэтому для прогнозирования фармакокинетики проводят тесты на животных. В области исследований "орган-на-чипе" были предложены МФУ, содержащие функции нескольких органов и тканей, так называемые "тело-на-чипе" или "человек-на-чипе". Эти устройства могут быть использованы для наблюдения фармакокинетических процессов в организме, а полученные данные могут быть применены для построения математических моделей прогнозирования эффективности лекарственных средств.

Исследовательская группа Шулера, являющаяся весьма продвинутой в биохимических инженерных исследованиях, проводит исследования "тела-на-чипе" с 2000-х годов [70]. Они разработали устройство "тело-на-чипе" с несколькими камерами, имитирующими разные органы, называемое аналогом микрочелочной культуры (uCCA), и совместно культивировали различные клетки органов на этом устройстве.

С помощью этого устройства осуществлялись исследования противоопухолевого препарата Тегафур на клеточном уровне путем наблюдения за взаимодействием различных органов. Полученные результаты свидетельствовали, что сложные биологические реакции при дозировании лекарств, предполагающих пероральное или внутривенное введение, ранее изученные традиционными способами с использованием анализов на животных, могут быть успешно воспроизведены с использованием технологии "тело-на-чипе".

Хотя устройство "тело-на-чипе" не способно воспроизводить все биологические реакции, но одно из важных предназначений его заключается в обнаружении неизвестных реакций, которые можно наблюдать только в режиме реального времени при взаимодействии между органами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хотя на настоящий момент времени наблюдается вполне обоснованная тенденция применения различных материалов при создании систем ОНЧ, тем не менее ПДМС является основным материалом при создании относительно простых устройств. ПДМС не всегда позволяет создавать конструкции, адекватно моделирующие имитируемые объекты, но в ряде случаев он является незаменимым материалом для быстрого прототипирования систем в условиях исследовательских лабораторий. Существенным недостатком является поглощение белков, молекул лекарств и гидрофобных молекул, что ограничивает модели, которые можно изучать с помощью ОНЧ из ПДМС.

В настоящее время предлагается использовать и другие материалы, например гидрогели, которые могут быть химически функционализированы для прикрепления клеток, лучше имитируют микросреды тканей, обеспечивают возможность долгосрочного культивирования. При конструировании пористых сред используются пленки из коллагена и желатина и др., на которых могут выращиваться клетки. Для "жестких" элементов ОНЧ применяются ПММА, полиуретанметакрилат, фотоотверждаемые смолы. Разработан ряд материалов, у которых можно регулировать биоразлагаемость — полигидроксиалканоаты, полиэфиры, полиолсебацанаты. Вообще, сочетание различных материалов при конструировании ОНЧ позволяет создавать системы, в большей степени адекватные живым организмам, хотя система при этом становится "технически" более сложной. В идеале для сборки ОНЧ требуется набор методов изготовления, подходящий для массового производства. Совершенствование методов "мягкой" литографии привело к микроконтактной печати субстратов для формирования клеточной и тканевой структуры *in vitro*, а также недорогому и относительно упро-

ценному производству МФУ для скрининга лекарств и клеточных культур. Эти технологии сейчас используются при создании ОНЧ. 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. Очевидно, что в будущем при создании систем ОНЧ будут широко привлекаться технологии молекулярной печати.

Ключевым моментом при создании систем ОНЧ является корректное масштабирование органоидов в соответствии с их человеческими аналогами. Методы математического моделирования микрофлюидных элементов (каналов/капилляров, сосудов, кровеносных систем, печени и т.д.), входящих в состав систем ОНЧ, в этом случае играют важную роль. Здесь необходимо отметить, что число публикаций, относящихся к области математических наук относительно общего числа публикаций по тематике ОНЧ составляет более 12%.

Благодаря признанной и устоявшейся терминологии, библиографический поиск публикаций по тематике, связанной с созданием и применением различных вариантов систем ОНЧ, представляет собой простую процедуру, которую можно осуществить на сайте scopus.com или webofknowledge.com после задания необходимых сочетаний ключевых слов. Бесспорными лидерами на текущий момент времени по публикациям являются США, Китай и Южная Корея. Однако в базе данных Scopus имеются ссылки на публикации ученых из более чем 20 стран, включая Россию. Из приведенной статистики следует, что "орган-на-чипе" — актуальное направление исследований в мире, но, к сожалению, Россия не занимает лидирующей позиции в этих исследованиях.

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 075-00780-19-00.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jeon N.L., Baskaran H., Dertinger S.K.W., Whitesides G.M., Van De Water L., Toner M. Neutrophil chemotaxis in linear and complex gradients of interleukin-8 formed in a microfabricated device // *Nature biotechnology*. 2002. Vol. 20, no. 8. P. 826–830. DOI: 10.1038/nbt712
2. Chung B.G., Flanagan L.A., Rhee S.W., Schwartz P.H., Lee A.P., Monuki E.S., Jeon N.L. Human neural stem cell growth and differentiation in a gradient-generating microfluidic device // *Lab on a Chip*. 2005. Vol. 5, no. 4. P. 401–406. DOI: 10.1039/b417651k
3. Huh D., Hamilton G.A., Ingber D.E. From 3D cell culture to organs-on-chips // *Trends in cell biology*. 2011. Vol. 21, no. 12. P. 745–754. DOI: 10.1016/j.tcb.2011.09.005
4. Yum K., Hong S.G., Healy K.E., Lee L.P. Physiologically relevant organs on chips // *Biotechnology journal*. 2014. Vol. 9, no. 1. P. 16–27. DOI: 10.1002/biot.201300187
5. Aziz A., Geng C., Fu M., Yu X., Qin K., Liu B. The role of microfluidics for organ on chip simulations // *Bioengineering*. 2017. Vol. 4, no. 2. P. 39–53. DOI: 10.3390/bioengineering4020039
6. Mammoto T., Mammoto A., Ingber D.E. Mechanobiology and developmental control // *Annual review of cell and developmental biology*. 2013. Vol. 29. P. 27–61. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122340
7. Henry O.Y.F., Villenave R., Crounce M.J., Leineweber 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 // *Lab on a Chip*. 2017. Vol. 17, no. 13. P. 2264–2271. DOI: 10.1039/C7LC00155J
8. Pati F., Gantelius J., Svahn H.A. 3D bioprinting of tissue/organ models // *Angewandte Chemie International Edition*. 2016. Vol. 55, no. 15. P. 4650–4665. DOI: 10.1002/anie.201505062
9. Bhise N.S., Manoharan V., Massa S., Tamayol A., Ghaderi M., Miscuglio M., Lang Q., Zhang S.Y., Shin S.R., Calzone G. A liver-on-a-chip platform with bioprinted hepatic spheroids // *Biofabrication*. 2016. Vol. 8, no. 1. P. 014101. DOI: 10.1088/1758-5090/8/1/014101
10. Johnson B.N., Lancaster K.Z., Hogue I.B., Meng F., Kong Y.L., Enquist L.W., McAlpine M.C. Correction: 3D printed nervous system on a chip // *Lab on a Chip*. 2016. Vol. 16, no. 10. P. 1946–1946. DOI: 10.1039/C6LC90045C
11. Sun Y.S., Peng S.W., Cheng J.Y. In vitro electrical-stimulated wound-healing chip for studying electric field-assisted wound-healing process // *Biomicrofluidics*. 2012. Vol. 6, no. 3. P. 034117. DOI: 10.1063/1.4750486
12. Ma C., Zhao L., Zhou E., Xu J., Shen S., Wang J. On-chip construction of liver lobule-like microtissue and its application for adverse drug reaction assay // *Analytical chemistry*. 2016. Vol. 88, no. 3. P. 1719–1727. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b03869
13. Huh D., Matthews B.D., Mammoto A., Montoya-Zavala M., Hsin H.Y., Ingber D.E. Reconstituting organ-level lung functions on a chip // *Science*. 2010. Vol. 328, no. 5986. P. 1662–1668. DOI: 10.1126/science.1188302
14. Kim H.J., Huh D., Hamilton G., Ingber D.E. Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow // *Lab on a Chip*. 2012. Vol. 12, no. 12. P. 2165–2174. DOI: 10.1039/c2lc40074j
15. Tsao P.W. Polymer microfluidics: Simple, low-cost fabrication process bridging academic lab research to commercialized production // *Micromachines*. 2016. Vol. 7, no. 12. P. 225–236. DOI: 10.3390/mi7120225
16. Edington P.D., Chen W.L.K., Geishecker E., et al. Interconnected microphysiological systems for quantitative biology and pharmacology studies // *Scientific reports*. 2018. Vol. 8, no. 1. P. 4530–4548.
17. Halldorsson S., Lucumi E., Gómez-Sjöberg R., Fleming R.M.T. Advantages and challenges of microfluidic cell culture in polydimethylsiloxane devices // *Biosensors and*

- Bioelectronics. 2015. Vol. 63. P. 218–231. DOI: 10.1016/j.bios.2014.07.029
18. Lee H., Cho D.W. One-step fabrication of an organ-on-a-chip with spatial heterogeneity using a 3D bioprinting technology // *Lab on a Chip*. 2016. Vol. 16, no. 14. P. 2618–2625. DOI: 10.1039/C6LC00450D
 19. Toepke M.W., Beebe D.J. PDMS absorption of small molecules and consequences in microfluidic applications // *Lab on a Chip*. 2006. Vol. 6, no.12. P. 1484–1486. DOI: 10.1039/b612140c
 20. Becker H., Locascio L.E. Polymer microfluidic devices // *Talanta*. 2002. Vol. 56, no. 2. P. 267–287. DOI: 10.1016/S0039-9140(01)00594-X
 21. Sethu P., Mastrangelo P.H. Cast epoxy-based microfluidic systems and their application in biotechnology // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2004. Vol. 98, no. 2-3. P. 337–346. DOI: 10.1016/j.snb.2003.09.036
 22. Kim P. Soft lithography for microfluidics: a review // *Biochip*. 2008. Vol. 2. P. 1–11.
 23. Pepin A., Youinou P., Studer V., Lebib A., Chen Y. Nanoimprint lithography for the fabrication of DNA electrophoresis chips // *Microelectronic engineering*. 2002. Vol. 61. P. 927–932. DOI: 10.1016/S0167-9317(02)00511-7
 24. Becker H., Locascio L.E. Polymer microfluidic devices // *Talanta*. 2002. Vol. 56, no. 2. P. 267–287. DOI: 10.1016/S0039-9140(01)00594-X
 25. Kellogg G.J. Centrifugal microfluidics: applications // *Springer*. 2000. P. 239–242. DOI: 10.1007/978-94-017-2264-3_55
 26. Agarwal A., Farouz Y., Nesmith A.P., Deravi L.F., McCain M.L., Parker K.K. Micropatterning alginate substrates for in vitro cardiovascular muscle on a chip // *Advanced functional materials*. 2013. Vol. 23, no. 30. P. 3738–3746. DOI: 10.1002/adfm.201203319
 27. Badrossamay M.R., Balachandran K., Capulli A.K., Golecki H.M., Agarwal A., Goss J.A. Engineering hybrid polymer-protein super-aligned nanofibers via rotary jet spinning // *Biomaterials*. 2014. Vol. 35, no. 10. P. 3188–3197. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.072
 28. Dittrich P.S., Manz A. Lab-on-a-chip: microfluidics in drug discovery // *Nature reviews drug discovery*. 2006. Vol. 5, no. 3. P. 210–218. DOI: 10.1038/nrd1985
 29. Wu W., DeConinck A., Lewis J.A. Omnidirectional printing of 3D microvascular networks // *Advanced Materials*. 2011. Vol. 23, no. 24. P. H178–H183. DOI: 10.1002/adma.201004625
 30. Kolesky D.B., Truby R.L., Gladman S.A., Busbee T.A., Homan K.A., Lewis J.A. 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs // *Advanced materials*. 2014. Vol. 26, no. 19. P. 3124–3130. DOI: 10.1002/adma.201305506
 31. Sosa-Hernández J., Villalba-Rodríguez A., Romero-Castillo K., Aguilar-Aguila-Isaias M., García-Reyes I., Hernández-Antonio A. Organs-on-a-ChipModule: A Review from the Development and Applications Perspective // *Micromachines*. 2018. Vol. 9, no. 10. P. 536–556. DOI: 10.3390/mi9100536
 32. Yi H., Wu L.Q., Ghodssi R., Rubloff G.W., Payne G.F., Bentley W.E. Signal-directed sequential assembly of biomolecules on patterned surfaces // *Langmuir*. 2005. Vol. 21, no. 6. P. 2104–2107. DOI: 10.1021/la047529k
 33. Yi H., Wu L.Q., Bentley W.E., Ghodssi R., Rubloff G.W., Culver J.N., Payne G.F. Biofabrication with chitosan // *Biomacromolecules*. 2005. Vol. 6, no. 6. P. 2881–2894. DOI: 10.1021/bm050410l
 34. Bettinger P.J., Cyr K.M., Matsumoto A., Langer R., Bornstein J.T., Kaplan D.L. Silk fibroin microfluidic devices // *Advanced Materials*. 2007. Vol. 19, no. 19. P. 2847–2850. DOI: 10.1002/adma.200602487
 35. Ling Y., Rubin J., Deng Y., Huang P., Demirci U., Karp J.M., Khademhosseini A. A cell-laden microfluidic hydrogel // *Lab on a Chip*. 2007. Vol. 7, no. 6. P. 756–762. DOI: 10.1039/b615486g
 36. Bertassoni L.E., Ceccconi M., Manoharan V., Nikkha M., Hjortnaes J., Cristino A.L. Hydrogel bioprinted microchannel networks for vascularization of tissue engineering constructs // *Lab on a Chip*. 2014. Vol. 14, no. 13. P. 2202–2211. DOI: 10.1039/C4LC00030G
 37. Grover W.H., von Muhlen M.G., Manalis S.R. Teflon films for chemically-inert microfluidic valves and pumps // *Lab on a Chip*. 2008. Vol. 8, no. 6. P. 913–918. DOI: 10.1039/b800600h
 38. Rogers P.I., Qaderi K., Woolley A.T., Nordin G.P. 3D printed microfluidic devices with integrated valves // *Biomicrofluidics*. 2015. Vol. 9, no. 1. 016501. DOI: 10.1063/1.4905840
 39. Han N., Shin J.H., Han K.H. An on-chip RT-PCR microfluidic device, that integrates mRNA extraction, cDNA synthesis, and gene amplification // *RSC Advances*. 2014. Vol. 4, no. 18. P. 9160–9165. DOI: 10.1039/c3ra47980c
 40. Chudobova D., Cihalova K., Skalickova S., Zitka J., Rodrigo M.A.M., Milosavljevic V. 3D-printed chip for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* labeled with gold nanoparticles // *Electrophoresis*. 2015. Vol. 36, no. 3. P. 457–466. DOI: 10.1002/elps.201400321
 41. Krejčová L., Nejdil L., Rodrigo M.A.M., Zurek M., Matoušek M., Hyněk D. 3D printed chip for electrochemical detection of influenza virus labeled with CdS quantum dots // *Biosensors and Bioelectronics*. 2014. Vol. 54. P. 421–427. DOI: 10.1016/j.bios.2013.10.031
 42. Hanada Y., Sugioka K., Shihira-Ishikawa I., Kawano H., Miyawaki A., Midorikawa K. 3D microfluidic chips with integrated functional microelements fabricated by a femtosecond laser for studying the gliding mechanism of cyanobacteria // *Lab on a Chip*. 2011. Vol. 11, no. 12. P. 2109–2115. DOI: 10.1039/c1lc20101h
 43. Becker H., Gärtner P. Polymer microfabrication technologies for microfluidic systems // *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2008. Vol. 390, no. 1. P. 89–111. DOI: 10.1007/s00216-007-1692-2
 44. Kuo J.S., Ng L., Yen G.S., Lorenz R.M., Schiro P.G., Edgar J.S. A new USP Class VI-compliant substrate for manufacturing disposable microfluidic devices // *Lab on a Chip*. 2009. Vol. 9, no. 7. P. 870–876. DOI: 10.1039/b818873d
 45. Plegue T.J., Kovach K.M., Thompson A.J., Potkay J.A. Stability of polyethylene glycol and zwitterionic surface modifications in PDMS microfluidic flow chambers // *Langmuir*. 2017. Vol. 34, no. 1. P. 492–502. DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b03095

46. *Cherpinski A., Torres-Giner S., Vartiainen J., Pere-sin M.S., Lahtinen P., Lagaron J.M.* Improving the water resistance of nanocellulose-based films with polyhydroxyalkanoates processed by the electrospinning coating technique // *Cellulose*. 2018. Vol. 25, no. 2. P. 1291–1307. DOI: 10.1007/s10570-018-1648-z
47. *Chen M.B., Srigunapalan S., Wheeler A.R., Simmons P.A.* A 3D microfluidic platform incorporating methacrylated gelatin hydrogels to study physiological cardiovascular cell–cell interactions // *Lab on a Chip*. 2013. Vol. 13, no. 13. P. 2591–2598. DOI: 10.1039/c3lc00051f
48. *Zamboni F., Keays M., Hayes S., Albadarin A.B., Walker G.M., Kiely P.A., Collins M.N.* Enhanced cell viability in hyaluronic acid coated poly (lactic-co-glycolic acid) porous scaffolds within microfluidic channels // *International journal of pharmaceutics*. 2017. Vol. 532, no. 1. P. 595–602. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.09.053
49. *Mogosanu D.E., Verplancke R., Dubruel P., Vanfleteren J.* Fabrication of 3-dimensional biodegradable microfluidic environments for tissue engineering applications // *Materials & Design*. 2016. Vol. 89. P. 1315–1324. DOI: 10.1016/j.matdes.2015.10.046
50. *Miri A.K., Nieto D., Iglesias L., GoodarziHosseinabadi H., Maharjan S., Ruiz-Esparza G.U.* Microfluidics-Enabled Multimaterial Maskless Stereolithographic Bioprinting // *Advanced Materials*. 2018. 1800242. DOI: 10.1002/adma.201800242
51. *Chen Y., Zhang L., Chen G.* Fabrication, modification, and application of poly(methyl methacrylate) microfluidic chips // *Electrophoresis*. 2008. Vol. 29, no. 9. P. 1801–1814. DOI: 10.1002/elps.200700552
52. *Roy E., Geissler M., Galas J.P., Veres T.* Prototyping of microfluidic systems using a commercial thermoplastic elastomer // *Microfluidics and nanofluidics*. 2011. Vol. 11, no. 3. P. 235–244. DOI: 10.1007/s10404-011-0789-2
53. *Borysiak M.D., Yuferova E., Posner J.D.* Simple, low-cost styrene-ethylene/butylene-styrene microdevices for electrokinetic applications // *Analytical chemistry*. 2013. Vol. 85, no. 24. P. 11700–11704. DOI: 10.1021/ac4027675
54. *Domansky K., Sliz J.D., Wen N., Hinojosa P., Thompson G., Fraser J.P.* SEBS elastomers for fabrication of microfluidic devices with reduced drug absorption by injection molding and extrusion // *Microfluidics and Nanofluidics*. 2017. Vol. 21, no. 6. P. 107. DOI: 10.1007/s10404-017-1941-4
55. *Sheehy S.P., Pasqualini F., Grosberg A., Park S.J., Aratyn-Schaus Y., Parker K.K.* Quality metrics for stem cell-derived cardiac myocytes // *Stem cell reports*. 2014. Vol. 2, no. 3. P. 282–294. DOI: 10.1016/j.stemcr.2014.01.015
56. *Luni C., Serena E., Elvassore N.* Human-on-chip for therapy development and fundamental science // *Current opinion in biotechnology*. 2014. Vol. 25. P. 45–50. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.08.015
57. *Zhang B., Korolj A., Lai B.F.L., Radisic M.* Advances in organ-on-a-chip engineering // *Nature Reviews Materials*. 2018. Vol. 3, no. 8. P. 257–278. DOI: 10.1038/s41578-018-0034-7
58. *Maschmeyer I., Lorenz A.K., Schimek K., et al.* A four-organ-chip for interconnected long-term co-culture of human intestine, liver, skin and kidney equivalents // *Lab on a Chip*. 2015. Vol. 15, no. 12. P. 2688–2699. DOI: 10.1039/C5LC00392J
59. *Ronaldson-Bouchard K., Vunjak-Novakovic G.* Organ-on-a-chip: a fast track for engineered human tissues in drug development // *Cell Stem Cell*. 2018. Vol. 22, no. 3. P. 310–324. DOI: 10.1016/j.stem.2018.02.011
60. *Jiang B., Zheng W.F., Zhang W., Jiang X.Y.* Organs on microfluidic chips: A mini review // *Science China Chemistry*. 2014. Vol. 57, no. 3. P. 356–364. DOI: 10.1007/s11426-013-4971-0
61. *Abaci H.E., Shuler M.L.* Human-on-a-chip design strategies and principles for physiologically based pharmacokinetics/pharmacodynamics modeling // *Integrative Biology*. 2015. Vol. 7, no. 4. P. 383–391. DOI: 10.1039/C4IB00292J
62. *Bhusnure O.G., Satpute V., Gholve S.B., Giram P.S., Jagtap S., Chakure S.S.* Organs-on-a-chip: a new tool for drug discovery // *International Journal of ChemTech Research*. 2017. Vol. 10, no. 9. P. 35–49.
63. *Nalayanda D.D., Puleo C., Fulton W.B., Sharpe L.M., Wang T.H., Abdullah F.* An open-access microfluidic model for lung-specific functional studies at an air-liquid interface // *Biomedical microdevices*. 2009. Vol. 11, no. 5. P. 1081–1089. DOI: 10.1007/s10544-009-9325-5
64. *Lee S.A., No D.Y., Kang E., Ju J., Kim D.S., Lee S.H.* Spheroid-based three-dimensional liver-on-a-chip to investigate hepatocyte–hepatic stellate cell interactions and flow effects // *Lab on a Chip*. 2013. Vol. 13, no. 18. P. 3529–3537. DOI: 10.1039/c3lc50197c
65. *No Y., Lee D., Lee K.-H., Lee J.* 3D liver models on a microplatform: well-defined culture, engineering of liver tissue and liver-on-a-chip // *Lab Chip*. 2015, Vol. 15. P. 3822–3837. DOI: 10.1039/C5LC00611B
66. *Bavli D., Prill S., Ezra E., Levy G., Cohen M., Vinken M., Vanfleteren J., Jaeger M., Nahmias Y.* Real-time monitoring of metabolic function in liver-on-chip microdevices tracks the dynamics of mitochondrial dysfunction // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016. Vol. 113, no. 16. P. E2231–E2240. DOI: 10.1073/pnas.1522556113
67. *Günther A., Yasotharan S., Vagaon A., Lochovsky C., Pinto S., Yang J., Lau C., Voigtlaender-Bolz J., Bolz S.S.* A microfluidic platform for probing small artery structure and function // *Lab on a Chip*. 2010. Vol. 10, no. 18. P. 2341–2349. DOI: 10.1039/c004675b
68. *Cheng W., Klauke N., Sedgwick H., Smith G.L., Cooper J.M.* Metabolic monitoring of the electrically stimulated single heart cell within a microfluidic platform // *Lab on a Chip*. 2006. Vol. 6, no. 11. P. 1424–1431. DOI: 10.1039/b608202e
69. *Werdich A.A., Lima E.A., Ivanov B., Ges I., Anderson M.E., Wikswo J.P., Baudenbacher F.J.* A microfluidic device to confine a single cardiac myocyte in a sub-nanoliter volume on planar microelectrodes for extracellular potential recordings // *Lab on a Chip*. 2004. Vol. 4, no. 4. P. 357–362. DOI: 10.1039/b315648f

70. Sin A., Chin K.C., Jamil M.F., Kostov Y., Rao G., Shuler M.L. The design and fabrication of three-chamber microscale cell culture analog devices with integrated dissolved oxygen sensors // *Biotechnology progress*. 2004. Vol. 20, no. 1. P. 338–345. DOI: 10.1021/bp034077d

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (Буляница А.Л.)

Контакты: *Афоничева Полина Константиновна, polina.afonicheva@gmail.com*

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург (Афоничева П.К., Буляница А.Л., Евстратов А.А.)

Материал поступил в редакцию 02.10.2019

"ORGAN-ON-A-CHIP" — MATERIALS AND METHODS OF CREATION (REVIEW)

P. K. Afonicheva¹, A. L. Bulyanitsa^{1,2}, A. A. Evstrapov¹

¹*Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint-Petersburg, Russia*
²*Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Russia*

In the recent years new manufacturing technologies for micro- and nanoscale structures has significantly influenced progress in various academic fields. Thus, microfluidics technology has its place as an instrument for diverse uses, especially in bioengineering and biomedical researches.

For instance, microfluidic technology is successfully used for biological samples preparation, tissue engineering, molecular diagnosis, drug screening and so on. In addition to such application this technology is important auxiliary tool in modelling various organs and their properties. Combination of microfluidics and methods for the formation of 3D cellular tissue structures led to the creation of new area called "organ-on-a-chip". Main idea of "organ-on-a-chip" is creation of artificial test object that models live human organ. Developing of microfluidics helps overcome the gap between in vitro and in vivo, offering new modern approaches to medical, biological and pharmacological research. "Organ-on-a-chip" devices can be not just a whole organ, but are able to imitate particular processes occurring in the body. Cells are grown inside reaction chambers and channels cells are used for forming tissues and organs models. Whole functionality can be achieved by maintaining specific conditions for ensuring the organ and tissue functioning, such as pressure, flow rate, pH, osmotic pressure, nutrition content, the toxin presence and other properties.

This review provides data on the publication activity of researchers in the last decade on the subject of "organ-on-chip" and related topics, indexed in the bibliometric database SCOPUS. These data indicate not only the increased attention given to this subject, but also the multidisciplinary nature of this field. In addition to publications' distribution by year, it is of interest to compare the publication activity of representatives of various countries (the leaders are the USA, China and South Korea, in almost all directions).

The paper highlights general issues related to the basic and auxiliary "organ-on-a-chip" technology systems, materials and methods of devices and elements manufacturing, as well as examples of some devices. In order to obtain adequate research results using "organ-on-chip" systems, it is necessary to produce conditions as close to natural as possible for the model systems functioning, including the required temperature conditions, conditions for shear stress formation in the flow washing cells, mechanical compression, cyclic deformation or the influence of other physical forces, and to create the necessary environment for investigated objects.

It also increases the system complexity and leads to a need to use different materials (and hence manufacturing methods), sensors and micro-electromechanical devices, to create multi-stage research algorithms. "Organ-on-a-chip" systems are dynamically developing and the efforts spent by researchers make it possible to obtain impressive results in the form of new knowledge about the human body.

Keywords: microfluidics, organ-on-chip, liver-on-chip, lung-on-chip, polymers, manufacturing technology

REFERENCES

- Jeon N.L., Baskaran H., Dertinger S.K.W., Whitesides G.M., Van De Water L., Toner M. Neutrophil chemotaxis in linear and complex gradients of interleukin-8 formed in a microfabricated device. *Nature biotechnology*, 2002, vol. 20, no. 8, pp. 826–830. DOI: 10.1038/nbt712
- Chung B.G., Flanagan L.A., Rhee S.W., Schwartz P.H., Lee A.P., Monuki E.S., Jeon N.L. Human neural stem cell growth and differentiation in a gradient-generating microfluidic device. *Lab on a Chip*, 2005, vol. 5, no. 4, pp. 401–406. DOI: 10.1039/b417651k
- Huh D., Hamilton G.A., Ingber D.E. From 3D cell culture to organs-on-chips. *Trends in cell biology*, 2011, vol. 21, no. 12, pp. 745–754. DOI: 10.1016/j.tcb.2011.09.005
- Yum K., Hong S.G., Healy K.E., Lee L.P. Physiologically relevant organs on chips. *Biotechnology journal*. 2014, vol. 9, no. 1, pp. 16–27. DOI: 10.1002/biot.201300187
- Aziz A., Geng C., Fu M., Yu X., Qin K., Liu B. The role of microfluidics for organ on chip simulations. *Bioengineering*, 2017, vol. 4, no. 2, pp. 39–53. DOI: 10.3390/bioengineering4020039
- Mammoto T., Mammoto A., Ingber D.E. Mechanobiology and developmental control. *Annual review of cell and developmental biology*, 2013, vol. 29, pp. 27–61. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122340
- Henry O.Y.F., Villenave R., Crouce M.J., Leineweber 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. *Lab on a Chip*, 2017, vol. 17, no. 13, pp. 2264–2271. DOI: 10.1039/C7LC00155J
- Pati F., Gantelius J., Svahn H.A. 3D bioprinting of tissue/organ models. *Angewandte Chemie International Edition*, 2016, vol. 55, no. 15, pp. 4650–4665. DOI: 10.1002/anie.201505062
- Bhise N.S., Manoharan V., Massa S., Tamayol A., Ghaderi M., Miscuglio M., Lang Q., Zhang S.Y., Shin S.R., Calzone G. A liver-on-a-chip platform with bioprinted hepatic spheroids. *Biofabrication*, 2016, vol. 8, no. 1, 014101. DOI: 10.1088/1758-5090/8/1/014101
- Johnson B.N., Lancaster K.Z., Hogue I.B., Meng F., Kong Y.L., Enquist L.W., McAlpine M.C. Correction: 3D printed nervous system on a chip. *Lab on a Chip*, 2016, vol. 16, no. 10, pp. 1946–1946. DOI: 10.1039/C6LC90045C
- Sun Y.S., Peng S.W., Cheng J.Y. In vitro electrical-stimulated wound-healing chip for studying electric field-assisted wound-healing process. *Biomicrofluidics*, 2012, vol. 6, no. 3, 034117. DOI: 10.1063/1.4750486
- Ma C., Zhao L., Zhou E., Xu J., Shen S., Wang J. On-chip construction of liver lobule-like microtissue and its application for adverse drug reaction assay. *Analytical chemistry*, 2016, vol. 88, no.3, pp. 1719–1727. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b03869
- Huh D., Matthews B.D., Mammoto A., Montoya-Zavala M., Hsin H.Y., Ingber D.E. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science*, 2010, vol. 328, no. 5986, pp. 1662–1668. DOI: 10.1126/science.1188302
- Kim H.J., Huh D., Hamilton G., Ingber D.E. Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow. *Lab on a Chip*, 2012, vol. 12, no. 12, pp. 2165–2174. DOI: 10.1039/c2lc40074j
- Tsao P.W. Polymer microfluidics: Simple, low-cost fabrication process bridging academic lab research to commercialized production. *Micromachines*, 2016, vol. 7, no. 12, pp. 225–236. DOI: 10.3390/mi7120225
- Edington P.D., Chen W.L.K., Geishecker E., et al. Interconnected microphysiological systems for quantitative biology and pharmacology studies. *Scientific reports*, 2018, vol. 8, no. 1, pp. 4530–4548.
- Halldorsson S., Lucumi E., Gómez-Sjöberg R., Fleming R.M.T. Advantages and challenges of microfluidic cell culture in polydimethylsiloxane devices. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, vol. 63, pp. 218–231. DOI: 10.1016/j.bios.2014.07.029
- Lee H., Cho D.W. One-step fabrication of an organ-on-a-chip with spatial heterogeneity using a 3D bioprinting technology. *Lab on a Chip*, 2016, vol. 16, no. 14, pp. 2618–2625. DOI: 10.1039/C6LC00450D
- Toepke M.W., Beebe D.J. PDMS absorption of small molecules and consequences in microfluidic applications. *Lab on a Chip*, 2006, vol. 6, no.12, pp. 1484–1486. DOI: 10.1039/b612140c
- Becker H., Locascio L.E. Polymer microfluidic devices. *Talanta*, 2002, vol. 56, no. 2, pp. 267–287. DOI: 10.1016/S0039-9140(01)00594-X
- Sethu P., Mastrangelo P.H. Cast epoxy-based microfluidic systems and their application in biotechnology. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2004, vol. 98, no. 2-3, pp. 337–346. DOI: 10.1016/j.snb.2003.09.036
- Kim P. Soft lithography for microfluidics: a review. *Biochip*, 2008, vol. 2, pp. 1–11.
- Pepin A., Youinou P., Studer V., Lebib A., Chen Y. Nanoimprint lithography for the fabrication of DNA electrophoresis chips. *Microelectronic engineering*, 2002, vol. 61, pp. 927–932. DOI: 10.1016/S0167-9317(02)00511-7
- Becker H., Locascio L.E. Polymer microfluidic devices. *Talanta*, 2002, vol. 56, no. 2, pp. 267–287. DOI: 10.1016/S0039-9140(01)00594-X
- Kellogg G.J. Centrifugal microfluidics: applications. *Springer*, 2000, pp. 239–242. DOI: 10.1007/978-94-017-2264-3_55
- Agarwal A., Farouz Y., Nesmith A.P., Deravi L.F., McCain M.L., Parker K.K. Micropatterning alginate substrates for in vitro cardiovascular muscle on a chip. *Advanced functional materials*, 2013, vol. 23, no. 30, pp. 3738–3746. DOI: 10.1002/adfm.201203319
- Badrossamay M.R., Balachandran K., Capulli A.K., Golecki H.M., Agarwal A., Goss J.A. Engineering hybrid polymer-protein super-aligned nanofibers via rotary jet spinning. *Biomaterials*, 2014, vol. 35, no. 10, pp. 3188–3197. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.072
- Dittrich P.S., Manz A. Lab-on-a-chip: microfluidics in drug discovery. *Nature reviews drug discovery*, 2006, vol. 5, no. 3, pp. 210–218. DOI: 10.1038/nrd1985
- Wu W., DeConinck A., Lewis J.A. Omnidirectional printing of 3D microvascular networks. *Advanced Materials*, 2011, vol. 23, no. 24, pp. H178–H183. DOI: 10.1002/adma.201004625

30. Kolesky D.B., Truby R.L., Gladman S.A., Busbee T.A., Homan K.A., Lewis J.A. 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs. *Advanced materials*, 2014, vol. 26, no. 19, pp. 3124–3130. DOI: 10.1002/adma.201305506
31. Sosa-Hernández, J., Villalba-Rodríguez A., Romero-Castillo K., Aguilar-Aguila-Isaias M., García-Reyes I., Hernández-Antonio A. Organs-on-a-ChipModule: A Review from the Development and Applications Perspective. *Micromachines*, 2018, vol. 9, no.10, pp.536–556. DOI: 10.3390/mi9100536
32. Yi H., Wu L.Q., Ghodssi R., Rubloff G.W., Payne G.F., Bentley W.E. Signal-directed sequential assembly of biomolecules on patterned surfaces. *Langmuir*, 2005, vol. 21, no. 6, pp. 2104–2107. DOI: 10.1021/la047529k
33. Yi H., Wu L.Q., Bentley W.E., Ghodssi R., Rubloff G.W., Culver J.N., Payne G.F. Biofabrication with chitosan. *Biomacromolecules*, 2005, vol. 6, no. 6, pp. 2881–2894. DOI: 10.1021/bm050410l
34. Bettinger P.J., Cyr K.M., Matsumoto A., Langer R., Bornstein J.T., Kaplan D.L. Silk fibroin microfluidic devices. *Advanced Materials*, 2007, vol. 19, no. 19, pp. 2847–2850. DOI: 10.1002/adma.200602487
35. Ling Y., Rubin J., Deng Y., Huang P., Demirci U., Karp J.M., Khademhosseini A. A cell-laden microfluidic hydrogel. *Lab on a Chip*, 2007, vol. 7, no. 6, pp. 756–762. DOI: 10.1039/b615486g
36. Bertassoni L.E., Cecconi M., Manoharan V., Nikkha M., Hjortnaes J., Cristino A.L. Hydrogel bioprinted microchannel networks for vascularization of tissue engineering constructs. *Lab on a Chip*, 2014, vol. 14, no.13, pp. 2202–2211. DOI: 10.1039/C4LC00030G
37. Grover W.H., von Muhlen M.G., Manalis S.R. Teflon films for chemically-inert microfluidic valves and pumps. *Lab on a Chip*, 2008, vol. 8, no. 6, pp. 913–918. DOI: 10.1039/b800600h
38. Rogers P.I., Qaderi K., Woolley A.T., Nordin G.P. 3D printed microfluidic devices with integrated valves. *Bio-microfluidics*, 2015, vol. 9, no. 1, 016501. DOI: 10.1063/1.4905840
39. Han N., Shin J.H., Han K.H. An on-chip RT-PCR microfluidic device, that integrates mRNA extraction, cDNA synthesis, and gene amplification. *RSC Advances*, 2014, vol. 4, no. 18, pp. 9160–9165. DOI: 10.1039/c3ra47980c
40. Chudobova D., Cihalova K., Skalickova S., Zitka J., Rodrigo M.A.M., Milosavljevic V. 3D-printed chip for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* labeled with gold nanoparticles. *Electrophoresis*, 2015, vol. 36, no. 3, pp. 457–466. DOI: 10.1002/elps.201400321
41. Krejcová L., Nejdil L., Rodrigo M.A.M., Zurek M., Matoušek M., Hýnek D. 3D printed chip for electrochemical detection of influenza virus labeled with CdS quantum dots. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, vol. 54, pp. 421–427. DOI: 10.1016/j.bios.2013.10.031
42. Hanada Y., Sugioka K., Shihira-Ishikawa I., Kawano H., Miyawaki A., Midorikawa K. 3D microfluidic chips with integrated functional microelements fabricated by a femtosecond laser for studying the gliding mechanism of cyanobacteria. *Lab on a Chip*, 2011, vol. 11, no. 12, pp. 2109–2115. DOI: 10.1039/c1lc20101h
43. Becker H., Gärtner P. Polymer microfabrication technologies for microfluidic systems. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2008, vol. 390, no. 1, pp. 89–111. DOI: 10.1007/s00216-007-1692-2
44. Kuo J.S., Ng L., Yen G.S., Lorenz R.M., Schiro P.G., Edgar J.S. A new USP class VI-compliant substrate for manufacturing disposable microfluidic devices. *Lab on a Chip*, 2009, vol. 9, no. 7, pp. 870–876. DOI: 10.1039/b818873d
45. Plegue T.J., Kovach K.M., Thompson A.J., Potkay J.A. Stability of polyethylene glycol and zwitterionic surface modifications in PDMS microfluidic flow chambers. *Langmuir*, 2017, vol. 34, no. 1, pp. 492–502. DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b03095
46. Cherpinski A., Torres-Giner S., Vartiainen J., Pertsin M.S., Lahtinen P., Lagaron J.M. Improving the water resistance of nanocellulose-based films with polyhydroxyalkanoates processed by the electrospinning coating technique. *Cellulose*, 2018, vol. 25, no. 2, pp. 1291–1307. DOI: 10.1007/s10570-018-1648-z
47. Chen M.B., Srigunapalan S., Wheeler A.R., Simmons P.A. A 3D microfluidic platform incorporating methacrylated gelatin hydrogels to study physiological cardiovascular cell-cell interactions. *Lab on a Chip*, 2013, vol. 13, no. 13, pp. 2591–2598. DOI: 10.1039/c3lc00051f
48. Zamboni F., Keays M., Hayes S., Albadarin A.B., Walker G.M., Kiely P.A., Collins M.N. Enhanced cell viability in hyaluronic acid coated poly (lactic-co-glycolic acid) porous scaffolds within microfluidic channels. *International journal of pharmaceutics*, 2017, vol. 532, no. 1, pp. 595–602. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.09.053
49. Mogosanu D. E., Verplancke, R., Dubruel, P., Vanfleteren J. Fabrication of 3-dimensional biodegradable microfluidic environments for tissue engineering applications. *Materials & Design*, 2016, vol. 89, pp. 1315–1324. DOI: 10.1016/j.matdes.2015.10.046
50. Miri A.K., Nieto D., Iglesias L., GoodarziHosseinabadi H., Maharjan S., Ruiz-Esparza G.U. Microfluidics-Enabled Multimaterial Maskless Stereolithographic Bioprinting. *Advanced Materials*, 2018, 1800242. DOI: 10.1002/adma.201800242
51. Chen Y., Zhang L., Chen G. Fabrication, modification, and application of poly(methyl methacrylate) microfluidic chips. *Electrophoresis*, 2008, vol. 29, no. 9, pp. 1801–1814. DOI: 10.1002/elps.200700552
52. Roy E., Geissler M., Galas J.P., Veres T. Prototyping of microfluidic systems using a commercial thermoplastic elastomer. *Microfluidics and nanofluidics*, 2011, vol. 11, no. 3, pp. 235–244. DOI: 10.1007/s10404-011-0789-2
53. Borysiak M.D., Yuferova E., Posner J.D. Simple, low-cost styrene-ethylene/butylene-styrene microdevices for electrokinetic applications. *Analytical chemistry*, 2013, vol. 85, no. 24, pp. 11700–11704. DOI: 10.1021/ac4027675
54. Domansky K., Sliz J.D., Wen N., Hinojosa P., Thompson G., Fraser J.P. SEBS elastomers for fabrication of microfluidic devices with reduced drug absorption by injection molding and extrusion. *Microfluidics and Nanofluidics*, 2017, vol. 21, no. 6, 107. DOI: 10.1007/s10404-017-1941-4
55. Sheehy S.P., Pasqualini F., Grosberg A., Park S.J.,

- Aratyn-Schaus Y., Parker K.K. Quality metrics for stem cell-derived cardiac myocytes. *Stem cell reports*, 2014, vol. 2, no. 3, pp. 282–294. DOI: 10.1016/j.stemcr.2014.01.015
56. Luni C., Serena E., Elvassore N. Human-on-chip for therapy development and fundamental science. *Current opinion in biotechnology*, 2014, vol. 25, pp. 45–50. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.08.015
57. Zhang B., Korolj A., Lai B.F.L., Radisic M. Advances in organ-on-a-chip engineering. *Nature Reviews Materials*, 2018, vol. 3, no. 8, pp. 257–278. DOI: 10.1038/s41578-018-0034-7
58. Maschmeyer I., Lorenz A.K., Schimek K., et al. A four-organ-chip for interconnected long-term co-culture of human intestine, liver, skin and kidney equivalents. *Lab on a Chip*, 2015, vol. 15, no. 12, pp. 2688–2699. DOI: 10.1039/C5LC00392J
59. Ronaldson-Bouchard K., Vunjak-Novakovic G. Organs-on-a-chip: a fast track for engineered human tissues in drug development. *Cell Stem Cell*, 2018, vol. 22, no. 3, pp. 310–324. DOI: 10.1016/j.stem.2018.02.011
60. Jiang B., Zheng W.F., Zhang W., Jiang X.Y. Organs on microfluidic chips: A mini review. *Science China Chemistry*, 2014, vol. 57, no. 3, pp. 356–364. DOI: 10.1007/s11426-013-4971-0
61. Abaci H.E., Shuler M.L. Human-on-a-chip design strategies and principles for physiologically based pharmacokinetics/pharmacodynamics modeling. *Integrative Biology*, 2015, vol. 7, no. 4, pp. 383–391. DOI: 10.1039/C4IB00292J
62. Bhusnure O.G., Satpute V., Gholve S.B., Giram P.S., Jagtap S., Chakure S.S. Organs-on-a-chip: a new tool for drug discovery. *International Journal of ChemTech Research*, 2017, vol. 10, no. 9, pp. 35–49.
63. Nalayanda D.D., Puleo C., Fulton W.B., Sharpe L.M., Wang T.H., Abdullah F. An open-access microfluidic model for lung-specific functional studies at an air-liquid interface. *Biomedical microdevices*, 2009, vol. 11, no. 5, p. 1081–1089. DOI: 10.1007/s10544-009-9325-5
64. Lee S.A., No D.Y., Kang E., Ju J., Kim D.S., Lee S.H. Spheroid-based three-dimensional liver-on-a-chip to investigate hepatocyte–hepatic stellate cell interactions and flow effects. *Lab on a Chip*, 2013, vol. 13, no. 18, pp. 3529–3537. DOI: 10.1039/c3lc50197c
65. No Y., Lee D., Lee K.-H., Lee J. 3D liver models on a microplatform: well-defined culture, engineering of liver tissue and liver-on-a-chip. *Lab Chip*, 2015, vol. 15, pp. 3822–3837. DOI: 10.1039/C5LC00611B
66. Bavli D., Prill S., Ezra E., Levy G., Cohen M., Vinken M., Vanfleteren J., Jaeger M., Nahmias Y. Real-time monitoring of metabolic function in liver-on-chip microdevices tracks the dynamics of mitochondrial dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, vol. 113, no. 16, pp. E2231–E2240. DOI: 10.1073/pnas.1522556113
67. Günther A., Yasotharan S., Vagaon A., Lochovsky C., Pinto S., Yang J., Lau C., Voigtlaender-Bolz J., Bolz S.S. A microfluidic platform for probing small artery structure and function. *Lab on a Chip*, 2010, vol. 10, no. 18, pp. 2341–2349. DOI: 10.1039/c004675b
68. Cheng W., Klauke N., Sedgwick H., Smith G.L., Cooper J.M. Metabolic monitoring of the electrically stimulated single heart cell within a microfluidic platform. *Lab on a Chip*, 2006, vol. 6, no. 11, pp. 1424–1431. DOI: 10.1039/b608202e
69. Werdich A.A., Lima E.A., Ivanov B., Ges I., Anderson M.E., Wikswo J.P., Baudenbacher F.J. A microfluidic device to confine a single cardiac myocyte in a sub-nanoliter volume on planar microelectrodes for extracellular potential recordings. *Lab on a Chip*, 2004, vol. 4, no. 4, pp. 357–362. DOI: 10.1039/b315648f
70. Sin A., Chin K.C., Jamil M.F., Kostov Y., Rao G., Shuler M.L. The design and fabrication of three-chamber microscale cell culture analog devices with integrated dissolved oxygen sensors. *Biotechnology progress*, 2004, vol. 20, no. 1, pp. 338–345. DOI: 10.1021/bp034077d

Contacts: Afonicheva Polina Konstantinovna,
polina.afonicheva@gmail.com

Article received by the editorial office on 02.10.2019