

Перспективы биопечати тканей и органов (по итогам глобального опроса ученых)

Фабио Батиста Мота

Научный сотрудник^а, fabio.mota@fiocruz.br

Луиза Амара Масьель Брага

Научный консультант^а, аспирант^б, luiza.braga@fiocruz.br

Бернардо Перейра Кабраль

Научный консультант^а, профессор^с, bernardo.cabral@fiocruz.br

Карлос Гилберт Конте Филью

Научный консультант^а, профессор^д, carlos.conte@fiocruz.br

^а Центр стратегических исследований, Фонд им. Освальдо Круза (Oswaldo Cruz Foundation), Brasil Avenue 4036, 21040-361, Rio de Janeiro – RJ, Brazil

^б Федеральный университет Флуминенсе (Fluminense Federal University), Rua Prof. Marcos Waldemar de Freitas Reis, 24210-200, Rio de Janeiro – RJ, Brazil

^с Федеральный университет Бэйи (Federal University of Bahia), Treze de Maio Square 6, 40.060-300, Salvador – BA, Brazil

^д Федеральный университет Св. Марии (Federal University of Santa Maria), Independencia Avenue 3751, 983000-000, Santa Maria – RS, Brazil

Аннотация

Технологии 3D- и 4D-биопечати позволяют восстанавливать либо заменять ткани и органы, решая проблему нехватки донорских ресурсов и уменьшая риски отторжения имплантатов. В статье представлены результаты двухэтапного глобального опроса ученых — специалистов по инжинирингу тканей о перспективах биопечати в доклинических исследованиях и клинической практике. Представлена картина вероятных треков и горизонтов, на которых возможна реализация рассматриваемых решений. Согласно результатам обследования в ближайшие два десятилетия станет возможно воссоздавать ткани и органы,

пригодные для имплантации и тестирования лекарств. Возникнет рынок биопечатных продуктов, решится проблема дефицита органов и побочных реакций на лекарства. Эти изменения могут существенно повлиять не только на практику биомедицинских исследований, тестирования лекарств и медицины, но и на сферу здравоохранения в целом, что подразумевает необходимость превентивного пересмотра текущей политики. Предложен практичный и доступный инструментарий выявления и опроса большого числа экспертов по всему миру, который может оказаться полезным для новых Форсайт-исследований.

Ключевые слова: медицина будущего; инновационная экосистема; 3D/4D-биопечать; биопечатные органы; имплантация органов; тканевая инженерия; обследование; экспертные опросы

Цитирование: Mota F.B., Maciel Braga L.A., Cabral B.P., Conte Filho K.G. (2022) Future of Bioprinted Tissues and Organs: A Two-Wave Global Survey. *Foresight and STI Governance*, 16(1), 6–20. DOI: 10.17323/2500-2597.2022.1.6.20

Future of Bioprinted Tissues and Organs: A Two-Wave Global Survey

Fabio Batista Mota

Researcher ^a, fabio.mota@fiocruz.br

Luiza Amara Maciel Braga

Associate Researcher ^a, PhD Student ^b, luiza.braga@fiocruz.br

Bernardo Pereira Cabral

Associate Researcher ^a, Professor ^c, bernardo.cabral@fiocruz.br

Carlos Gilbert Conte Filho

Associate Researcher ^a, Professor ^d, carlos.conte@fiocruz.br

^a Oswaldo Cruz Foundation, Brasil Avenue 4036, 21040-361, Rio de Janeiro – RJ, Brazil

^b Fluminense Federal University, Rua Prof. Marcos Waldemar de Freitas Reis, 24210-200, Rio de Janeiro – RJ, Brazil

^c Federal University of Bahia, Treze de Maio Square 6, 40.060-300, Salvador – BA, Brazil

^d Federal University of Santa Maria, Independencia Avenue 3751, 983000-000, Santa Maria – RS, Brazil

Abstract

Technologies of 3D- and 4D-bioprinting make it possible to restore or replace tissues and organs, solving the problem of the lack of donor resources and reducing the risks of implant rejection. This article presents the results of a two-stage global survey of specialists in tissue engineering on the prospects of bioprinting in preclinical studies and clinical practice. A picture of possible tracks and horizons upon which the implementation of the considered solutions is possible is presented. According to the results of the survey, in the next two decades it will be possible to

recreate tissues and organs suitable for implantation and drug testing. There will be a market for bioprinted products, the problem of organ shortages and adverse reactions to drugs will be solved. These changes may significantly affect not only the practice of biomedical research, drug testing, and medicine, but also the healthcare sector in general, which implies the need for a preventive review of current policies. A practical and accessible tool for identifying and interviewing a large number of experts around the world is proposed, which may be useful for new Foresight studies.

Keywords: future medicine; innovation ecosystem; 3D/4D-bioprinting; bioprinted organs; toxicity testing; organ implantation; tissue engineering; survey; expert opinion.

Citation: Mota F.B., Maciel Braga L.A., Cabral B.P., Conte Filho K.G. (2022) Future of Bioprinted Tissues and Organs: A Two-Wave Global Survey. *Foresight and STI Governance*, 16(1), 6–20. DOI: 10.17323/2500-2597.2022.1.6.20

Актуальность инженерии тканей и органов для развития медицины сложно переоценить ввиду колоссального влияния этого направления на качество и продолжительность жизни людей. Эти технологии позволяют восстанавливать либо заменять ткани и органы посредством биопечати, рецеллюляризации¹, «ремонта» или регенерации клеток и ксенотрансплантации (Hunsberger et al., 2016). Внедрение технологий трехмерной (3D) печати приведет к формированию сложной инновационной экосистемы (Beltagui et al., 2020).

В статье оцениваются перспективы технологий 3D/4D-биопечати тканей и органов для создания биологических функциональных систем (Thayer et al., 2020) на основе клеток, биоматериалов, каркасов из них (Ahn et al., 2016; Mao et al., 2020). Трехмерная печать подразумевает создание объектов по цифровым моделям, а четырехмерная — использование материалов, реагирующих на раздражители (Ashammakhi et al., 2018; Yang et al., 2019; Yu et al., 2020). В 3D- и 4D-биопечати применяется один и тот же биопринтер с той лишь разницей, что в последнем случае «чернилами» служат «умные» материалы, реагирующие на раздражители (Yang et al., 2020). Напечатанные 4D-конструкции могут трансформироваться (расти или уменьшаться) под воздействием внешних сигналов (Yang et al., 2019, 2020; Mao et al., 2020).

Мировой рынок 3D-биопечати развивается под влиянием растущего дефицита донорских органов, связанного с ускоряющимся старением населения и распространением хронических заболеваний по всему миру. В 2020 г. его объемы оценивались в 1,4 млрд долл., а к 2028 г. могут достичь 4,4 млрд долл. (Grand View Research, 2021). Подобная динамика стимулирует появление новых стартапов, специализирующихся на 3D-биопечати, а компании расширяют свой бизнес, предлагая биопринтеры и соответствующее оборудование (Combella et al., 2018). Возраст большинства предприятий из этой сферы составляет не более двух лет, а штат не превышает 10 сотрудников (Vicudo et al., 2021). Наиболее известные: американские Aspect, Aether, SE3D, Organovo, Tevido, BIOLIFE 4D, Seraph Robotics, BioRobots, ASLS и nScript; европейские Ourobotics, Poietis, 3Dynamic, EnvisionTEC, regenHU, REGEMAT 3D, GeSiM, CELLINK и 3D Bio; азиатские Sichuan Revotek, Regenovo Biotech, ROKIT, Cyfuse, Pensees и Bio3D Tech (Choudhury et al., 2018). Картирование патентов показало, что наибольшее число изобретений в области биопечати принадлежит китайской компании Sichuan Revotek и американской Organovo (Mota et al., 2020).

Среди основных направлений современной политики здравоохранения — меры по увеличению базы зарегистрированных доноров (Shanmugarajah et al., 2014). Биопечать полнофункциональных тканей и органов для имплантации позволяет рассчитывать на преодоление дефицита донорского материала, улучшение здоровья и рост благополучия населения (Wang et al., 2020b; Yu et al., 2020; Unagolla, Jayasuriya, 2020; Bea, 2020).

Открываются перспективы исследования и тестирования лекарств на токсичность (Rosania, 2013; Gardin et al., 2020; Mota et al., 2020) для устранения отрицательных реакций организма (Haris et al., 2020). Только в США с подобными случаями сталкиваются около 2 млн пациентов, ежегодно фиксируются летальные исходы для 100 000 человек (Giacomini et al., 2007; Niu et al., 2015). Отрицательные реакции на лекарства могут объясняться тем, что в доклинических испытаниях используются животные, которые не являются надежными предикторами токсичности для человека (Giacomini et al., 2007; Niu et al., 2015). Прилагаются усилия к тому, чтобы в ближайшие десятилетия заменить животных тестированием непосредственно на человеческом организме (Bandyopadhyay et al., 2018).

С помощью 3D/4D-биопечати уже созданы ткани различного типа — кожная, костная, хрящевая, нервная и т. д. (Duan, 2017; Heinrich et al., 2019; Lukin et al., 2019). Некоторые из них, в частности кости, хрящи, кожу и сосудистые трансплантаты, удалось имплантировать в организм животных (Singh et al., 2020; Wang et al., 2020b); другие, например трахеальную шину, успешно пересадили ребенку с трахеобронхомаляцией (Yang et al., 2019). Однако использование биопечатных тканей и органов в доклинических исследованиях и клинической практике весьма ограничено (Vijayavenkataraman et al., 2018; Murphy et al., 2020). Предстоит решить сложные задачи, включая создание васкуляризованных тканей и органов (Gao, Cui, 2016; Murphy et al., 2020; Zhu et al., 2021). Васкуляризация обеспечит долгую жизнь биопечатным конструкциям (Vries et al., 2015). Для этого потребуются более совершенные биопринтеры (у существующих разрешение и скорость пока недостаточны) (Dias et al., 2020; Heinrich et al., 2019). Предстоит совершенствовать характеристики биочернил, такие как способность поддерживать пролиферацию и дифференциацию клеток для применения при создании тканей и органов (Albritton, Miller, 2017; Heinrich et al., 2019; Huang et al., 2017; Mori et al., 2018; Park et al., 2016).

Перспективы 3D/4D-биопечати в рассматриваемых направлениях остаются неопределенными, несмотря на отдельные попытки их оценки (Mir, Nakamura, 2017; Vijayavenkataraman et al., 2018; Silva, 2019; Mota et al., 2020; Unagolla, Jayasuriya, 2020). Ни в одной из перечисленных работ не рассматривались мнения ученых о будущих разработках в сфере 3D/4D-биопечати и их ожидаемом эффекте для биомедицинских исследований, тестирования лекарств и медицины. Чтобы восполнить пробел, мы опросили свыше 1400 авторов новейших научных публикаций, проиндексированных в Web of Science Core Collection (WoS) из числа специалистов в области тканевой инженерии² в международном масштабе. Сбор данных осуществлялся в два этапа с двухлетним интервалом — в 2018 и 2020 гг. На втором этапе оценивались изменения ожиданий ученых, связанные с будущим тканевой инженерии, в том числе изготовле-

¹ Удаление клеток из ткани с сохранением внеклеточного матрикса и трехмерности структуры органа.

² Междисциплинарная область, объединяющая химию, биологию и инжиниринг (Richards et al., 2013).

ние функциональных тканей для регенеративной медицины и тестирования лекарств (Richards et al., 2013) в целях замены больных тканей и органов (Leberfinger et al., 2019; Yu et al., 2020; Zhu et al., 2021). Приглашенные участники были разработчиками и пользователями рассматриваемых технологий, что гарантировало их квалификацию для прогнозирования развития этой области и эффектов в отношении биомедицинских исследований, тестирования лекарств и здравоохранения.

Наше исследование опирается на инструментальный технологический Форсайт (Martin, 1995; Martin, Johnston, 1999; Georghiou et al., 2008; Martin, 2010; Miles, 2010), который определяется как системная попытка заглянуть в долгосрочное будущее науки, технологий, экономики и общества для выявления стратегических областей и возникающих универсальных технологий, способных принести наибольшие экономические и социальные преимущества (Martin, 1995). В рамках Форсайта формируется информационная основа для принятия решений и долгосрочного планирования научно-технологического развития (Martin, 1995; Martin, Johnston, 1999; Georghiou et al., 2008; Martin, 2010; Miles, 2010; Popper, 2008). Поскольку появление новых научных знаний и развитие технологий влияют на ожидания, важно отслеживать их динамику. Наиболее популярным механизмом такого мониторинга остаются периодические опросы.

Технологический Форсайт и динамика ожиданий

Прогнозирование технологического развития приобрело системный характер после Второй мировой войны, когда прогресс стал рассматриваться как механизм аккумуляции коллективных знаний, а не результат усилий отдельных людей (Miles et al., 2017). Возникли новые прогностические инструменты — от количественного анализа, разработанного Министерством обороны США (U.S. Department of Defence), до качественных методов, предложенных аналитическими центрами, такими как RAND Corporation (Linstone, 2011). На первом этапе (1940–1950-е гг.) Форсайт-исследования фокусировались на получении надежных вероятностных оценок будущего, отражавших детерминистский взгляд на экономическое и инновационное развитие. В 1990-х гг. эта парадигма сменилась пониманием, что текущие решения зависят от социальных и политических факторов, влияющих на всех участников процесса (Martin, Irvine, 1989; Martin, 2010). Подход впервые описан Джоном Ирвином (John Irvine) и Беном Мартином (Ben Martin) как попытка определить границы ориентированных на будущее исследований в сфере науки и технологий (Irvine, Martin, 1983; Martin, Irvine, 1989). Форсайт как концепция был отделен от технологического прогнозирования и стал распространенным инструментом выявления новых технологий в исследованиях инновационной деятельности (Martin, 2010; Miles, 2010). В развитие

концепции Форсайта были продемонстрированы возможности влиять на технологическое развитие (Miles, 2010). Партисипативная природа подобных инициатив обеспечивает участие в разработке потенциальных стратегий различных сторон, способных учитывать не только индивидуальные интересы (Lall, 2004).

Превентивное выявление ключевых технологий влияет на экономический рост и повышает эффективность политики (Government Office for Science, 2017). Здравоохранение предъявляет высокий спрос на инновации — от новых устройств, например «лабораторий на чипе» (*labs-on-a-chip*, LOC) для повышения качества диагностики (Mendes et al., 2019), до 3D/4D-биопечатных тканей и органов (Jang et al., 2016; Kačarević et al., 2018; Lerman et al., 2018). Форсайт-исследования часто выполняются по заказу государства и требуют значительных ресурсов. Напротив, наш метод более доступен, быстрее дает результаты, не требует участия широкого круга исследователей, при этом позволяя получить мнения экспертов со всего мира. Предполагает регулярные итерации для переоценки итогов предыдущих опросов и выявления изменений в ожиданиях экспертов, связанных с будущим конкретной технологии. Это дает возможность существенной оптимизации результатов Форсайта с точки зрения как понимания логики экспертов, так и проверки реалистичности их предположений (Brandes, 2009; Kaivo-oja, 2017; Apreda et al., 2019). В связи с высокой степенью новизны многих разработок, выступающих предметом Форсайта, пересмотр мнений экспертов крайне полезен для принятия решений в сфере науки и технологий. Периодические опросы позволяют не только обновить результаты предыдущих раундов исследований, но и проверить, изменилась ли точка зрения ученых.

Методология

Анализ литературы и анкета

Составлению анкеты предшествовало сканирование публикаций в WoS, посвященных 3D/4D-биопечати, инжинирингу тканей и альтернативам использованию животных в научных исследованиях. Поискковые формулы представлены в боксе 1.

Для обнаружения ключевых слов в заголовках публикаций использовалась метка Title (ti). В обоих поисковых запросах присутствовали термины медицинских рубрик³ и слова в свободной текстовой форме. Публикации анализировались на основе расширенного индекса научного цитирования (SCI-EXPANDED) (все типы документов) за период с 2013 по 2018 г. Поиск, проводившийся в 2018 г., выявил 276 статей по первому запросу и 191 — по второму. Импортное в VantagePoint 10.0 облегчило отбор работ путем фиксации названий и аннотаций, позволив сократить выборку до 92. Интеграция полученного массива в программу Citavi 6.1 обеспечила окончательный отбор на основе чтения полных текстов. Таким образом, для ана-

³ ncbi.nlm.nih.gov/mesh, дата обращения 02.06.2021.

Бокс 1. Формулы поисковых запросов

(ti=(“4D bioprint*” OR “4D bio-print*” OR “four-dimensional bioprint*” OR “four-dimensional bio-print*” OR “4-dimensional bioprint*” OR “4-dimensional bio-print*” OR “four-D bioprint*” OR “four-D bio-print*” OR “4D print*” OR “four-dimensional print*” OR “4-dimensional print*” OR “four-D print*” OR “3D bioprint*” OR “3D bio-print*” OR “three-dimensional bioprint*” OR “three-dimensional bio-print*” OR “3-dimensional bioprint*” OR “3-dimensional bio-print*” OR “three-D bioprint*” OR “three-D bio-print*” OR “3D print*” OR “three-dimensional print*” OR “3-dimensional print*” OR “three-D print*”) and ti=(«Tissue Engineer*» OR «tissue culture*» OR «Cell Engineer*» OR «cell culture*» OR «Bioengineer*» OR «Bio-engineer*» OR «organ* culture*» OR «in vitro*)) AND LANGUAGE: (English)

Индексы = SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Горизонт = 2013–2018

(ti=(“animal* testing alternative*” OR “alternative* to animal* testing” OR “animal* use alternative*” OR “alternative* to animal* use” OR “animal* experiment* alternative*” OR “alternative* to animal* experiment*” OR “animal* research alternative*” OR “alternative* to animal* research” OR “animal* model* alternative*” OR “alternative* to animal* model*” OR “lab* animal* alternative*” OR “alternative* to lab* animal*” OR “reduction refinement and replacement*” OR “3Rs” OR “three-Rs*)) AND LANGUAGE: (English)

Индексы = SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI Горизонт = 2013–2018

Источник: составлено авторами.

лиза литературы и разработки анкеты были отобраны 35 публикаций: (Richards et al., 2013; Balls, 2014; Doke, Dhawale, 2015; Fleetwood et al., 2015; Goh et al., 2015; Graham, Prescott, 2015; Mosadegh et al., 2015; Obregon et al., 2015; Stokes, 2015; Zhang, Zhang, 2015; Ahn et al., 2016; Brunello et al., 2016; Colasante et al., 2016; Gao, Cui, 2016; Groeber et al., 2016; Mehrban et al., 2016; Mohanty et al., 2016; Ng et al., 2016; Park et al., 2016; Zhao et al., 2016; Zhu et al., 2016; Albritton, Miller, 2017; Burden et al., 2017b; Cheluvappa et al., 2017; Duan, 2017; Garreta et al., 2017; Huang et al., 2017; O’Connell et al., 2017; Vanderburgh et al., 2017; Almela et al., 2018; Faramarzi et al., 2018; Löwa et al., 2018; Mori et al., 2018; Stratton et al., 2018; Tarassoli et al., 2018).

Анкета, состоявшая из трех разделов, охватывала периоды 2018–2038 гг. (1-й этап) и 2020–2038 гг. (2-й этап). Первый оценивал уровень осведомленности об использовании технологий 3D/4D-биопечати для инжиниринга тканей (от полного отсутствия таковых до хорошего знания). Второй раздел состоял из пяти тезисов, сбор мнений о которых позволял оценить перспективы эффектов от внедрения 3D/4D-биопечати:

- создание полнофункциональных человеческих тканей и органов для имплантации;
- заживление повреждений непосредственно в месте раны;
- разработка моделей для тестирования лекарств на токсичность;
- моделирование заболеваний человека для научных исследований;
- отказ от использования животных в исследованиях и испытаниях лекарств на токсичность.

Оценивались реалистичность каждого предположения и возможный срок получения результатов (до или после 2038 г.), вычислялась вероятность решения пяти научно-технологических задач, связанных с созданием биоприинтеров, васкуляризацией тканей и масштабным производством биопечатных моделей в течение указанного временного горизонта. Анкета была рассчитана на заполнение в течение не более 2–3 минут, чтобы минимизировать вероятность пропуска отдель-

ных вопросов либо отказа от участия в обследовании. Демографические данные о респондентах не учитывались, поскольку они не влияют на итоги подобных обследований (Pereira Cabral et al., 2019a, 2019b; Cabral et al., 2021; Mota et al., 2020; Rocha et al., 2020).

Отбор респондентов

Участники опроса выявлялись по научным публикациям на тему инжиниринга тканей, проиндексированным в WoS в период с 2013 по 2018 г. (1-й этап) и с 2015 по 2020 г. (2-й этап) с применением следующего поискового запроса:

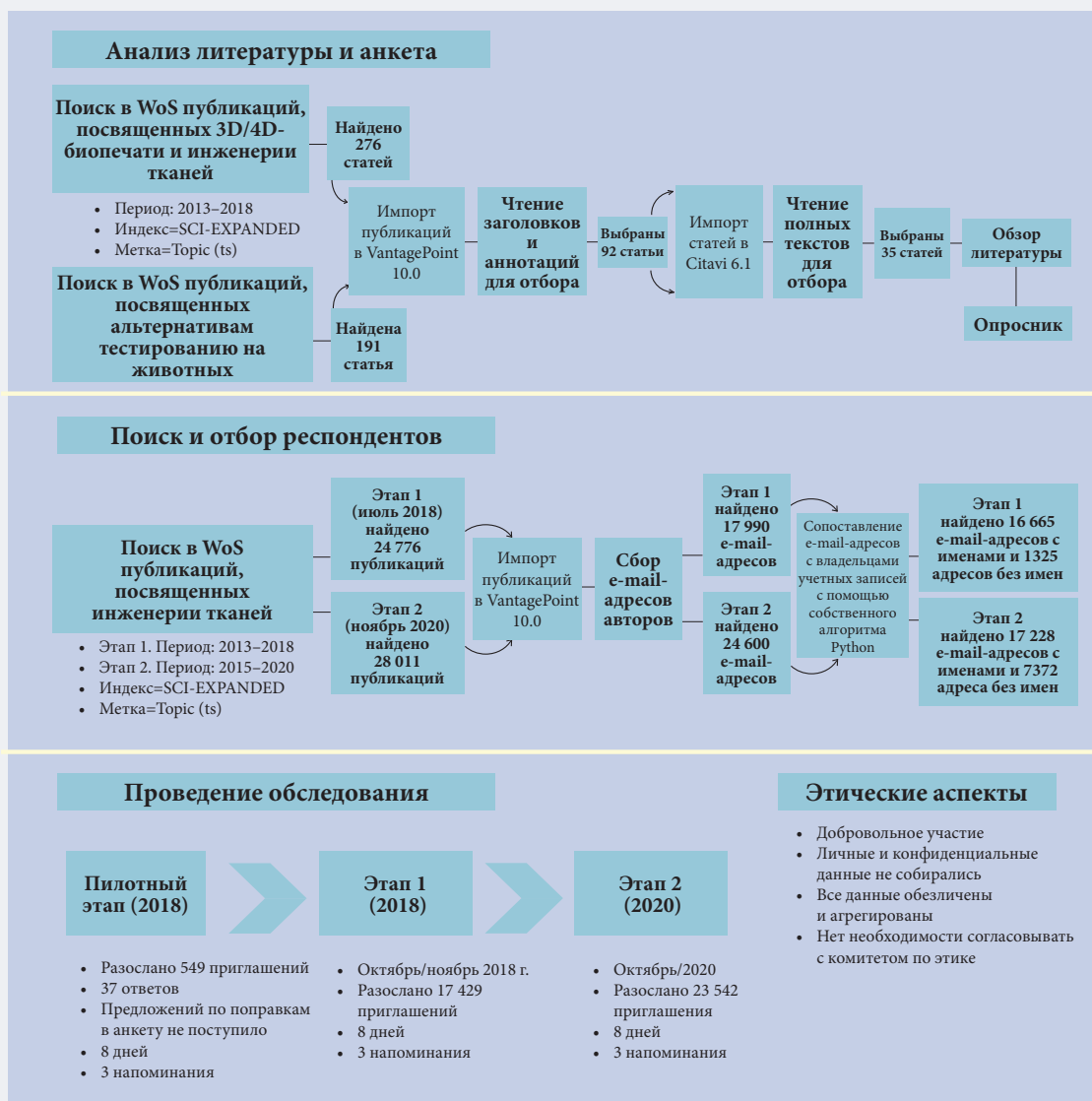
(ts=(“tissue engineer*”), Индексы=SCI-EXPANDED
Горизонт=2013-2018 (1 этап) и 2015-2020 (2 этап).

Для обнаружения дескрипторов в названиях публикаций, аннотациях и ключевых словах использовались метка Topic (ts) и термин «tissue engineering». Чтобы выявить ожидания специалистов по естественным наукам, сканировались документы, проиндексированные в SCI-EXPANDED. На первом этапе идентифицировались публикации, вышедшие в 2018 г. (24 776), на втором — за 2020 г. (28 011). Встраивание этого массива в приложение VantagePoint 10.0 выявило 17 990 адресов электронной почты авторов на 1-м этапе и 24 600 — на 2-м. С применением собственного алгоритма Python удалось привязать около 81% этих адресов к именам владельцев соответствующих учетных записей, что позволило направить им персонализированные электронные письма.

Опрос и этические аспекты

На первом этапе анкета проверялась с помощью пилотного опроса по случайной выборке из 549 респондентов (около 3% от общего числа выявленных авторов). Поскольку ответившие 37 человек не представили предложений по корректировке анкеты, ее содержание осталось изначальным. Данные пилотной стадии учитывались в статистическом анализе. Ввиду того что на обоих этапах обследования использовалась одна и та же анкета, в 2020 г. предварительный опрос не прово-

Рис. 1. Схема исследования



Источник: составлено авторами.

дился. Оба раунда выполнялись осенью 2018 и 2020 гг. соответственно. Анкета была доступна для заполнения в течение восьми дней после отправки электронного приглашения. Ученые отвечали на вопросы на анонимной основе⁴. На рис. 1 представлена общая схема нашего исследования.

Статистический анализ

Соответствие выборки нормальному распределению проверялось с помощью тестов Шапиро–Уилка (Shapiro–Wilk) и Колмогорова–Смирнова. Эффективность первого обоснована тем, что в подобных исследованиях нет необходимости заранее знать среднее значение и

дисперсию выборки. Второй оценивает соответствие распределения тому или иному параметру. Для проверки нормальности следует вычислить максимальную абсолютную разницу между ожидаемой (нормальной) функцией и эмпирическим распределением данных. Тест Колмогорова–Смирнова оптимален для крупных выборок, критерий Шапиро–Уилка — для небольших (менее 50 наблюдений). Поскольку распределение выборки оказалось не нормальным, а ординальным, использовались непараметрические тесты с доверительной вероятностью 95%.⁵

Являются ли две выявленные группы («хорошее» и «некоторое» знание предмета) статистически одно-

⁴ Методы, использованные для выявления респондентов по научным публикациям, извлечения и привязки электронных адресов к именам владельцев учетных записей и для разработки и проведения онлайн-опроса использовались и в других недавних Форсайт-исследованиях в сфере здравоохранения (Pereira Cabral et al., 2019a, 2019b; Cabral et al., 2021; Mota et al., 2020; Rocha et al., 2020).

⁵ Параметрические тесты более надежны, чем непараметрические, но их можно использовать только при нормальном распределении наблюдений (Hesse et al., 2017), т. е. для данного исследования они непригодны.

родными или же одна из них преобладает над другой? Для ответа на этот вопрос уровень осведомленности респондентов оценивался с помощью биномиального непараметрического теста. Чтобы выяснить, влияет ли отмеченный показатель на преобладающую медиану, применялся непараметрический U-критерий Манна–Уитни (Mann–Whitney). Кроме того, медиана полученных ответов измерялась с помощью непараметрического критерия Уилкоксона (Wilcoxon). При использовании обоих показателей самому низкому рангу (позиция 1) присваивается значение 1, следующему — значение 2 и т. д. В результате элементы с высоким рангом получают больше баллов и наоборот. Наконец, для сравнения ответов, полученных в 2018 и 2020 гг. соответственно, применялся непараметрический критерий маргинальной гомогенности, основанный на распределении хи-квадрат. Для каждого опроса создавалась таблица частоты ответов с последующим сравнением. Анализ данных выполнялся с помощью приложения IBM-SPSS Statistics 26. Результаты представлены в дополнительных материалах.

Результаты

Для того чтобы оптимизировать представление и интерпретацию результатов, ответы участников с «хорошим» и «относительным» знанием предмета были объединены. Биномиальный непараметрический тест опроверг гипотезу о двух группах экспертов — с «хорошим» и «некоторым» уровнем компетенций, от каждой из которых следовало ожидать по 50% ответов. На обоих этапах обследования преобладали респонденты, оценившие свое знание предмета как «некоторое». Таким образом, в каждом случае результаты могут быть некорректно интерпретированы в зависимости от уровня осведомленности. В 2018 г. в исследовании согласились участвовать 801 человек (процент отклика — 4.3%), из них 61 были исключены ввиду отсутствия требуемых знаний.

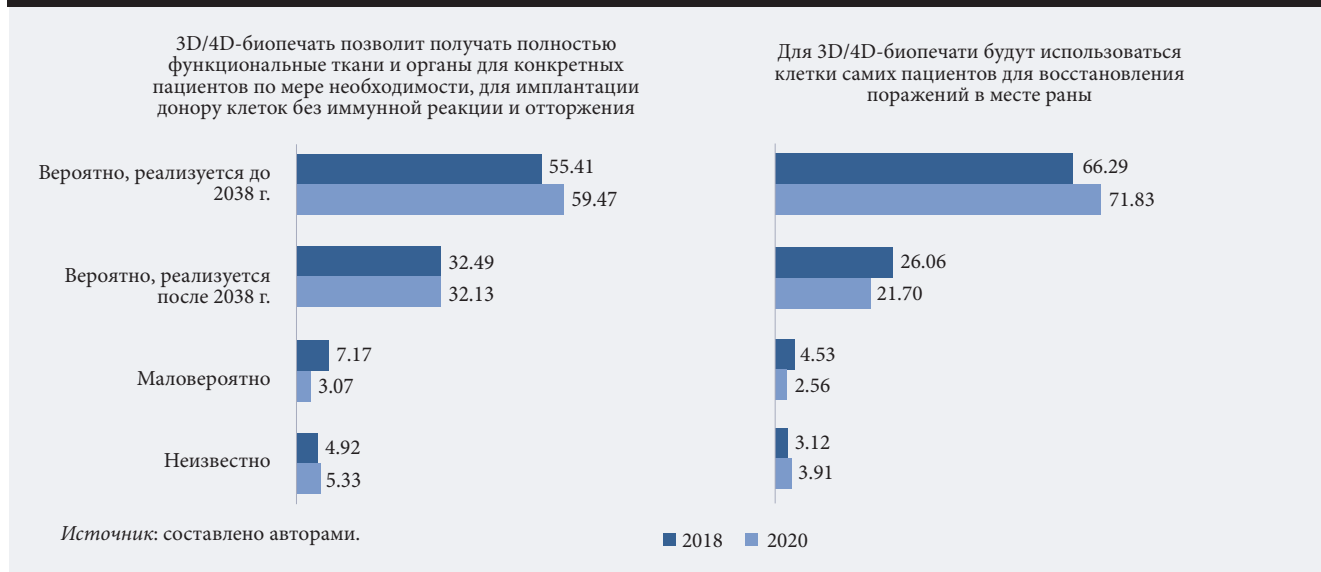
Из 740 ученых анкет 38.4% заполнили специалисты, оценившие свою осведомленность как «хорошую», и 61.6% — как «некоторую». Поскольку полные ответы поступили от 673 опрошенных (90.9% общего числа), выборку можно считать репрезентативной с уровнем достоверности 95% и погрешностью 3.7%. В опросе 2020 г. приняли участие 836 ученых (процент отклика 3.3%). Ввиду незнания предмета 60 из них «отсеялись». Из оставшихся 776 человек от специалистов с «хорошим» знанием предмета поступило 40.1% засчитанных анкет, 59.9% — с «некоторым». Получены 708 заполненных анкет (91.2% общего числа). Учитывая этот показатель и доверительный интервал в 95%, погрешность результатов составляет 3.6%. Из 1516 респондентов, чьи ответы были засчитаны, 110 участвовали в обоих этапах. Географический охват на первом этапе составил 67 стран, на втором — 66.⁶

На первом этапе (2018 г.) около 87% опрошенных ожидали, что 3D/4D-биопечать позволит по мере необходимости получать полнофункциональные ткани и органы для имплантации донору клеток без иммунной реакции и отторжения. На втором (2020 г.) доля таких ученых превысила 90% (рис. 1). На фоне небольшого увеличения процента положительных ответов и снижения отрицательных в период между двумя раундами тест маргинальной гомогенности выявил отсутствие статистически значимых различий. Согласно U-критерию Манна–Уитни в обоих случаях уровень знаний респондентов о предмете не повлиял на преобладающую медиану. Тест Уилкоксона указал на доминирующее мнение, что 3D/4D-биопечать к 2038 г. позволит получать полнофункциональные ткани и органы для конкретных пациентов. Более 90% исследователей предположили, что в 3D/4D-биопечати будут использоваться собственные клетки пациентов для восстановления поражений непосредственно в месте раны, причем это станет возможным до 2038 г. (рис. 2). Сравнение итогов за 2018 и 2020 гг. выявило умеренный рост доли положительных ответов в отношении рассматриваемого горизонта. Однако тест маргинальной гомогенности не обнаружил значимых различий между статистикой двух этапов. U-критерий Манна–Уитни также показал, что уровень знаний респондентов о предмете не влияет на результаты.

На первом этапе большинство (83.9%) полагали, что до 2038 г. 3D/4D-биопечать позволит создавать модели тестирования лекарств на токсичность, соответствующие установленным требованиям и повышающие результативность клинических испытаний. На втором доля респондентов, ожидающих аналогичных достижений, несколько увеличилась (до 85.95%) (рис. 3). Тест на маргинальную гетерогенность подтвердил отсутствие статистически значимой разницы между результатами обоих этапов. Согласно тесту Уилкоксона неизменно преобладал вариант ответа, предполагающий возможность создавать упомянутые модели тестирования лекарств посредством 3D/4D-биопечати до 2038 г. Однако в соответствии с U-критерием Манна–Уитни осведомленность о предмете сказалась на итогах обоих раундов — примерно по 57% опрошенных, предположивших такую возможность до 2038 г., имели «некоторые» знания об использовании 3D/4D-биопечати. Схожая картина по обоим раундам проявилась в отношении перспектив 3D/4D-биопечати для создания моделей болезней, соответствующих необходимым требованиям. В каждом случае около 90% участников сочли эту возможность реалистичной, и более 70% полагали, что она воплотится к 2038 г. (рис. 3). Непараметрические тесты продемонстрировали отсутствие значимой разницы между ответами 2018 и 2020 гг. Тест Уилкоксона выявил статистическое преобладание на обоих этапах предположения, что 3D/4D-биопечать позволит создавать такие модели болезней до 2038 г. Свыше 55% тех,

⁶ В обоих случаях самая большая доля респондентов проживала в Европе (38.70% для этапа 1, 41.15% для этапа 2); далее идут Азия (23.82%, 25.12%), Северная Америка (21.52%, 15.67%) и Южная Америка (10.96%, 15.19%).

Рис. 2. Оценка вероятности эффектов от внедрения технологий 3D/4D-биопечати – часть 1
(доли респондентов, выбравших соответствующий вариант ответа, %)



кто ожидает их появления до 2038 г., имеют лишь «некоторые» знания о 3D/4D-биопечати.

На обеих стадиях примерно по 67% респондентов предположили, что 3D/4D-биопечать позволит отказаться от использования животных в исследованиях и тестировании лекарств на токсичность, причем более 40% уверены в осуществимости подобного сценария до 2038 г. (рис. 3). При этом значительной оказалась доля представителей иной точки зрения — 28.41% в 2018 г. и 25.99% в 2020 г. Учитывая U-критерий Манна-Уитни, уровень знаний о предмете на первом этапе не повлиял на результаты опроса, но во втором раунде значимый эффект оказали респонденты с небольшими знаниями. Тест Уилкоксона подтвердил общие ожидания, что 3D/4D-биопечать позволит не использовать

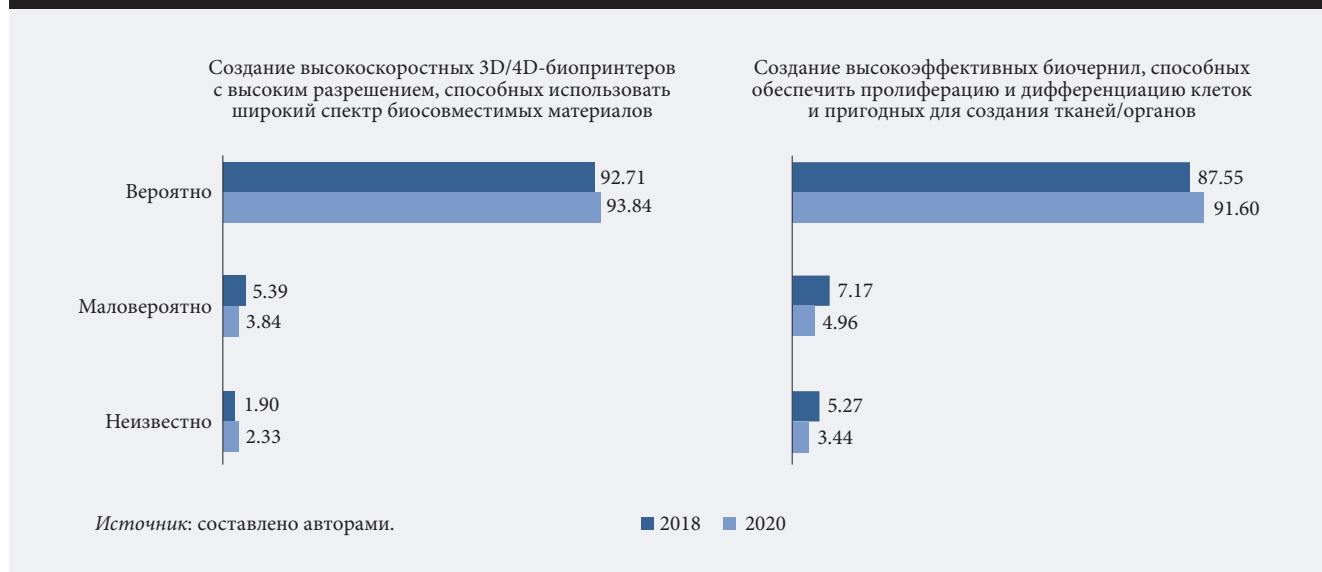
животных в исследованиях и тестировании лекарств на токсичность.

Помимо рассмотренных эффектов респонденты оценивали перспективы решения пяти научно-технологических задач с помощью 3D/4D-биопечати с горизонтом до 2038 г. (рис. 4, 5). По мнению большинства в обоих раундах, в ближайшие 18 лет будут созданы скоростные 3D/4D-биопринтеры с высоким разрешением, позволяющие применять широкий спектр биосовместимых материалов (рис. 4). Вероятно появление до 2038 г. высокоэффективных биочернил, обеспечивающих пролиферацию и дифференциацию клеток, пригодных для создания тканей и органов (87.55% респондентов на первом этапе и 91.60% — на втором). Уровень знаний о предмете в обоих раундах не повлиял

Рис. 3. Оценка вероятности эффектов от внедрения технологий 3D/4D-биопечати – часть 2
(доли респондентов, выбравших соответствующий вариант ответа, %)



Рис. 4. Оценка вероятности решения научно-технологических проблем до 2038 г. – часть 1
(доли респондентов, выбравших соответствующий вариант ответа, %)

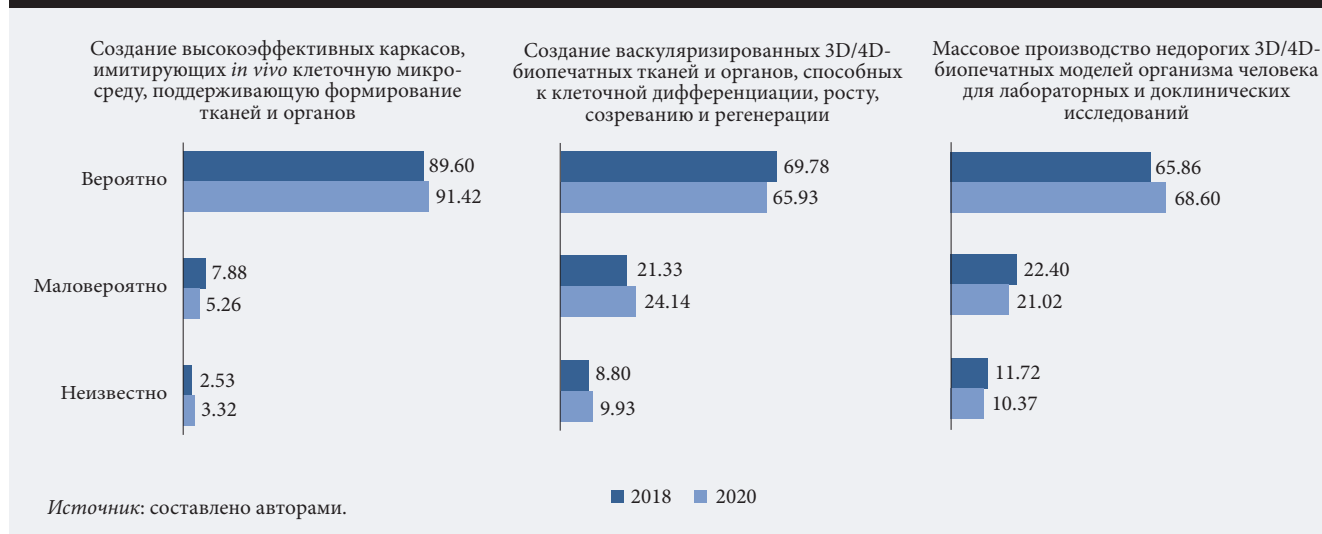


на результаты опроса. Тест Уилкоксона обнаружил неизменное преобладание положительного ответа, указывавшего на возможное появление таких биопринтеров и биочернил.

Последние три проблемы представлены на рис. 5. На обеих стадиях не менее 90% респондентов предположили, что высокоэффективные каркасы, имитирующие *in vivo* клеточную среду для поддержки формирования тканей и органов, появятся до 2038 г. Увеличился скептицизм в отношении создания васкуляризованных 3D/4D-биопечатных тканей и органов, способных к клеточной дифференциации, росту, созреванию и регенерации (69.78% положительных ответов на первом этапе и 65.93% — на втором). Одновременно выросли доли респондентов, считающих такую перспективу

маловероятной и не готовых ответить. Процент отрицательных ответов на данный вопрос также оказался максимальным (24.14%). Наконец, более чем 65% респондентов на обоих этапах опроса сочли вероятным массовое производство недорогих 3D/4D-биопечатных моделей организма для лабораторных и доклинических исследований. На втором этапе доля положительных предположений немного выросла (до 68.60% против 65.88% на первом). Удельный вес ответов «маловероятно» и «неизвестно» слегка снизился, но остался высоким (чуть более 20 и 10%, соответственно). Этот вопрос стал единственным, на который не смогли ответить более 10% респондентов. Разница ответов, полученных на каждом раунде, протестированная на маргинальную гомогенность, оказалась значимой только для заявления

Рис. 5. Оценка вероятности решения научно-технологических проблем до 2038 г. – часть 2
(доли респондентов, выбравших соответствующий вариант ответа, %)



о создании васкуляризированных 3D/4D-биопечатных тканей и органов. На втором этапе увеличился пессимизм экспертов в отношении создания таких биопечатных тканей и органов. По всем трем утверждениям, представленным на рис. 5, U-критерий Манна–Уитни показывает (для обоих этапов), что уровень знаний экспертов о предмете опроса не влияет на результаты. Согласно критерию Уилкоксона доминирует положительный ответ.

Обсуждение

Ожидается, что в будущем применение полнофункциональных биопечатных тканей и органов путем имплантации в человеческий организм станет частью клинической практики (Gilbert et al., 2018; Gershlag, Ott, 2020) и приведет к появлению соответствующего рынка (Gilbert et al., 2018). Большинство опрошенных ожидают реализацию этой перспективы до 2038 г. при условии, что удастся решить ряд ключевых проблем. Сохраняется большая неопределенность в отношении возможностей биопечати «выращивать» органы с учетом индивидуальных характеристик пациентов (Colasante et al., 2016; Faramarzi et al., 2018) или наладить производство «на заказ» (Colasante et al., 2016). Для адекватного воспроизведения 3D-изображения предстоит усовершенствовать программные инструменты автоматизированного проектирования. Имитация исходных форм потребует повышенного разрешения биопечати. Создание специфических характеристик тканей невозможно без соответствующих биоматериалов (Colasante et al., 2016; Ng et al., 2016). Производство таких биоинноваций «на заказ» будет зависеть не только от способности технологии создавать функциональные органы с помощью биоприпринтеров, но и от доступности биопродуктов (Mir et al., 2019) и правил их коммерциализации (Gilbert et al., 2018). В случае его масштабирования можно ожидать сокращения очередей за органами для пересадки (Gershlag, Ott, 2020) и решения проблемы иммунного отторжения, что увеличит продолжительность жизни (Loai et al., 2019; Mir et al., 2019).

Неизвестен и потенциал 3D/4D-биопечати для прямого лечения поврежденной зоны (Huang et al., 2017). На обоих этапах допускалась его реализация до 2038 г. Принцип биопечати «на месте» (*in vivo*) подразумевает сканирование очага поражения и печать тканей с использованием клеток, взятых непосредственно из этой зоны (Mehrban et al., 2016; Dias et al., 2020), что может исключить последующее хирургическое вмешательство (Huang et al., 2017; Chen et al., 2020). Подобным системам предстоит пройти долгий путь, чтобы стать быстродействующими, автоматизированными и удобными для клинической практики (Dias et al., 2020). Получены положительные результаты тестирования биопечати кожи, костей и хрящей *in situ* на модельных животных (Albanna et al., 2019; Unagolla, Jayasuriya, 2020). Использование животных для моделирования заболевания людей и в качестве предикторов токсичности лекарств часто оказывается неэффективным, во многом из-за межвидовых различий (Rosania, 2013; Balls, 2014;

Löwa et al., 2018). Предполагается, что 3D/4D-био печать повысит результативность этого процесса, поскольку позволит создавать модели доставки лекарств к участку действия и болезней для исследований и тестирования препаратов на людях. В результате снизятся риски клинических испытаний (Burden et al., 2017a; Löwa et al., 2018; Richards et al., 2013; Lukin et al., 2019; Gardin et al., 2020; Mota et al., 2020).

Большинство респондентов ожидают, что вышеопианные инструменты появятся до 2038 г., следовательно, перспектива отказа от использования животных станет намного реалистичнее (Weinhart et al., 2019). Уже имеются случаи положительной валидации — изготовленная методом 3D-биопечати модель печени, предсказавшая токсичность тровафлоксацина (Trovafloracin). Данный препарат тестировался на животных на доклинической стадии и был отклонен лишь на третьем этапе клинических испытаний. Иными словами, 3D-био печатная модель показала более превосходные результаты, чем испытания на животных. Если бы она практиковалась в доклинических исследованиях, препарат не прошел бы на следующие стадии, что сэкономило бы ресурсы (Peng et al., 2017). Таким образом, повышенная предсказательная точность био печатных моделей по сравнению с доклиническими исследованиями на животных повысит результативность клинических испытаний (Charbe et al., 2017; Peng et al., 2017). Как следствие, возникнет спрос на подобные инструменты, особенно со стороны фармацевтических компаний, которые уже инвестируют в их развитие (Fonseca et al., 2020).

Для реализации разработок предстоит решить ряд научно-технологических проблем (Mao et al., 2020). Перспектива изготовления сравнительно «простых» человеческих тканей подтверждена (Garreta et al., 2017; Stratton et al., 2018; Chen et al., 2020; Matai et al., 2020), чего нельзя сказать о более сложных функциональных органах (Mir, Nakamura, 2017; Stratton et al., 2018; Wang et al., 2020b). Одни органы (кожу с ее плоской структурой и несколькими видами клеток) изготовить проще, чем другие (почки с несколькими сегментами разной формы и примерно тридцатью видами клеток) (Jorgensen et al., 2020). Органы с усложненным функционалом (почки, сердце, печень и др.) требуют высокоэффективных каркасов — биосовместимых структур, среды, в которой размещаются и растут клетки (Brunello et al., 2016), и сосудистых сетей (Mohanty et al., 2016), изготовление которых по-прежнему проблематично (Unagolla, Jayasuriya, 2020; Wang et al., 2020b). Оптимальные биоматериалы и методы биопечати для их создания пока не найдены (Tarassoli et al., 2018). Современные каркасы не обладают достаточной пористостью и перфузией, что препятствует росту и дифференциации клеток (Brunello et al., 2016), блокирует васкуляризацию (Wang et al., 2020a), ограничивает жизнеспособность искусственных тканей и органов в долгосрочной перспективе (Vries et al., 2015). Большинство экспертов допускают создание высокопроизводительных каркасов до 2038 г. Одновременно развиваются бескаркасные методы биопечати, позволяющие избежать проблем, таких как недостаточная биосовместимость материалов, несоот-

ветствие скорости деградации клеток каркаса и темпов воспроизводства их заменителей, проницаемость кислорода, питательных веществ и метаболических отходов (Khoshnood, Zamanian, 2020).

Рассматриваемое направление выглядит многообещающим, в том числе для более эффективной васкуляризации биопечатных тканей и органов (Heinrich et al., 2019; Unagolla, Jayasuriya, 2020). До сих пор такие методы использовали преимущественно в биопечати небольших фрагментов тканей. Отчасти это связано с тем, что печать без каркаса требует сложной подготовки ввиду повышенной трудоемкости и высокой стоимости (Gardin et al., 2020; Khoshnood, Zamanian, 2020). Выбор методов с каркасами или без них зависит от сферы применения (Khoshnood, Zamanian, 2020). В целом методы на основе каркаса подходят для изготовления больших фрагментов богатых матриксом тканей с однородным клеточным составом, а бескаркасные — для изготовления небольших тканевых элементов с гетерогенной клеточной структурой и низким содержанием матрикса (Alghuwainem et al., 2019). Сосудистые сети — это микроканалы кровеносных сосудов и капилляров (Vanderburgh et al., 2017), которые доставляют в ткани питательные вещества и кислород, необходимые для роста и регенерации клеток (Mohanty et al., 2016). Для жизнедеятельности клеток следует обеспечить интеграцию и созревание сложных сосудистых сетей (Zhang et al., 2020), на что 3D/4D-биопечать пока не способна (Zhao et al., 2016).

Для предотвращения гибели тканей сосуды и клетки требуются печатать одновременно и с одинаковой скоростью (Leberfinger et al., 2019). Современные биопринтеры могут печатать только сосуды (Leberfinger et al., 2019) и не способны воспроизводить иерархические кровеносные сети вместе с другими тканями (Murphy et al., 2020; Wang et al., 2020b), однако, по мнению большинства опрошенных, эта проблема будет решена до 2038 г.

Недавно появилась технология 5D-биопечати для создания васкуляризованных моделей (Foresti et al., 2020), воспроизводящая более сложные системы изогнутой формы (Kumar et al., 2019). Печать выполняется под пятью разными углами с помощью вращающихся печатающих головок (Dey, Ozbolat, 2020). В свою очередь 3D/4D-биопринтеры используют печатающую головку только под фиксированным углом (Ahmad et al., 2019). Однако ни одна из упомянутых возможностей не будет реализована без совершенствования биопринтеров и биочернил. Под последними понимаются разнообразные жидкости, содержащие биоматериалы либо живые клетки — от гидрогелей (с использованием альгината, коллагена, фибрина, метакрилата желатина) до клеточных агрегатов, микроносителей и децеллюляризованных матриц (Whitford, Hoying, 2016; Hospodiuk et al., 2017; Gungor-Ozkerim et al., 2018). В настоящее время наиболее распространены три вида биопечати — струйная, экструзионная и лазерная (Sears et al., 2016; Vijayavenkataraman et al., 2018; Dias et al., 2020; Zhang et al., 2020), но все они остаются медленными и трудоемкими (Duan, 2017). По мнению свыше 90% экспертов, к 2038 г.

будут разработаны скоростные 3D/4D-биопринтеры с высоким разрешением, поддерживающие широкий спектр биосовместимых материалов (Park et al., 2016; Heinrich et al., 2019). Появятся высокоэффективные биочернила, обеспечивающие пролиферацию и дифференциацию клеток, производство тканей и органов (Mosadegh et al., 2015; Albritton, Miller, 2017; Huang et al., 2017; Mori et al., 2018). В обоих раундах более 87% опрошенных отметили, что технология биочернил, вероятно, достигнет такого уровня до 2038 г. От наличия у биочернил соответствующих свойств зависит биологическая функциональность биопечатных конструкций (Murphy et al., 2020). Отсутствие высокоэффективных биочернил ограничивает прогресс инжиниринга тканей и внедрение результатов исследований в клиническую практику (Mori et al., 2018). В перспективе биопринтеры смогут комбинировать разные биочернила со скоростью, обеспечивающей васкуляризацию, рост и дифференциацию клеток, что позволит нарастить объемы создания тканей (Dias et al., 2020).

Воспроизводство 3D/4D-биопечатных моделей организма в лабораториях требует не только усовершенствованных методов, биопринтеров и биочернил, но и масштабного производства недорогих тканей (Tarassoli et al., 2018; Weinhart et al., 2019). Притом что этот вопрос получил максимальную долю ответов «неизвестно», преобладает уверенность, что к 2038 г. проблема будет решена. Ткани могут изготавливаться в необходимых количествах с небольшими затратами, если речь идет о создании органа для конкретного пациента. Проблема возникает в ситуациях, требующих создания нескольких конструкций, например, для доклинических испытаний (Daly et al., 2017). Биопечать пока еще требует существенных затрат времени и других ресурсов (Wang et al., 2020b), однако, в перспективе имеет потенциал стать базовой технологией для производства тканей и органов в больших объемах (Correia Carreira et al., 2020) и с низкими затратами (Heinrich et al., 2019).

Заключение

В исследовании представлены результаты двухэтапного глобального опроса ученых, специализирующихся в области инжиниринга тканей, о перспективах использования 3D/4D-биопечати в биомедицинских исследованиях, для тестирования лекарств и в медицине. Оценены изменения в ожиданиях экспертов между двумя этапами опроса (в 2018 и 2020 гг.). По большинству оцениваемых тезисов выявлен рост оптимизма: доля тех, кто ожидает появления соответствующих решений до 2038 г., увеличилась. Это связано с развитием тканевой инженерии за последние два года, что позволило респондентам получить более четкое представление о будущих перспективах. Согласно результатам исследования менее чем через два десятилетия появятся 3D/4D-биопечатные ткани и органы, пригодные для имплантации и тестирования лекарств на токсичность. Возникнет новый рынок для коммерциализации биопечатных продуктов, решится проблема дефицита органов и побочных реакций на лекарства. Иными словами,

технологические изменения могут существенно повлиять не только на практику биомедицинских исследований, тестирования лекарств и медицины, но и на сферу здравоохранения в целом, что подразумевает необходимость превентивного пересмотра текущей политики.

Наше исследование носит сравнительно узкий характер (Mota et al., 2021), в отличие от «полномасштабных» (*fully fledged*) Форсайт-проектов (Miles, 2010). Несмотря на отсутствие партисипативного элемента и ориентированности на разработку политики (Miles, 2010), узкая направленность исследования имеет свою ценность, поскольку позволяет глубже изучить конкретную технологию (Mota et al., 2021). Мы предлагаем

практичный и доступный инструментарий выявления и опроса большого числа экспертов по всему миру, который может оказаться полезным для новых Форсайт-исследований. Надеемся, наш метод поможет не только в сборе мнений о будущем на основе экспертных опросов, но и в анализе их динамики, что позволит получить информацию для отслеживания тенденций научно-технологического развития.

Авторы выражают благодарность Центру стратегических исследований Фонда им. Освальдо Круза и всем респондентам, принявшим участие в исследовании. Грантовая поддержка со стороны каких-либо государственных, коммерческих или некоммерческих организаций не оказывалась.

Библиография

- Ahmad N., Gopinath P., Dutta R. (2019) *3D printing technology in nanomedicine*, St. Louis, MO: Elsevier.
- Ahn S.H., Lee J., Park S.A., Kim W.D. (2016) Three-dimensional bio-printing equipment technologies for tissue engineering and regenerative medicine. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 13, 663–676. <https://doi.org/10.1007/s13770-016-0148-1>
- Albanna M., Binder K.W., Murphy S.V., Kim J., Qasem S.A., Zhao W., Tan J., El-Amin I.B., Dice D.D., Marco J., Green J., Xu T., Skardal A., Holmes J.H., Jackson J.D., Atala A., Yoo J.J. (2019) In Situ Bioprinting of Autologous Skin Cells Accelerates Wound Healing of Extensive Excisional Full-Thickness Wounds. *Scientific Reports*, 9, 1856. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38366-w>
- Albritton J.L., Miller J.S. (2017) 3D bioprinting: Improving in vitro models of metastasis with heterogeneous tumor microenvironments. *Disease Models and Mechanisms*, 10, 3–14. doi: 10.1242/dmm.025049.
- Alghuwainem A., Alshareeda A.T., Alsowayan B. (2019) Scaffold-Free 3-D Cell Sheet Technique Bridges the Gap between 2-D Cell Culture and Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4926. <https://doi.org/10.3390/ijms20194926>
- Almela T., Al-Sahaf S., Brook I.M., Khoshroo K., Rasoulianboroujeni M., Fahimipour F., Tahriri M., Dashtimoghadam E., Bolt R., Tayebi L., Moharamzadeh K. (2018) 3D printed tissue engineered model for bone invasion of oral cancer. *Tissue and Cell*, 52, 71–77. DOI:10.1016/j.tice.2018.03.009
- Apreda R., Bonaccorsi A., dell'Orletta F., Fantoni G. (2019) Expert forecast and realized outcomes in technology foresight. *Technological Forecasting and Social Change*, 141, 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2018.12.006>
- Ashammakhi N., Ahadian S., Zengjie F., Suthiwanich K., Lorestani F., Orive G., Ostrovidov S., Khademhosseini A. (2018) Advances and Future Perspectives in 4D Bioprinting. *Biotechnology Journal*, 13(12), 1800148. <https://doi.org/10.1002/biot.201800148>
- Balls M. (2014) Animal experimentation and alternatives: Time to say goodbye to the Three Rs and hello to humanity? *ATLA*, 42, 327–333. DOI: 10.1177/026119291404200506
- Bandyopadhyay A., Dewangan V.K., Vajanthri K.Y., Poddar S., Mahto S.K. (2018) Easy and affordable method for rapid prototyping of tissue models in vitro using three-dimensional bioprinting. *Biocybernetics and Biomedical Engineering*, 38, 158–169. <https://doi.org/10.1016/j.bbe.2017.12.001>
- Bea S. (2020) Opt-out policy and the organ shortage problem: Critical insights and practical considerations. *Transplantation Reviews*, 35, 100589. <https://doi.org/10.1016/j.trre.2020.100589>
- Beltagui A., Rosli A., Candi M. (2020) Exaptation in a digital innovation ecosystem: The disruptive impacts of 3D printing. *Research Policy*, 49, 103833. <https://doi.org/10.1016/j.respol.2019.103833>
- Bicudo E., Faulkner A., Li P. (2021) Sociotechnical alignment in biomedicine: The 3D bioprinting market beyond technology convergence. *Technology in Society*, 66, 101668. <https://doi.org/10.1016/j.techsoc.2021.101668>
- Brandes F. (2009) The UK technology foresight programme: An assessment of expert estimates. *Technological Forecasting and Social Change*, 76, 869–879. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2009.01.005>
- Brunello G., Sivoletta S., Meneghello R., Ferroni L., Gardin C., Piattelli A., Zavan B., Bressan E. (2016) Powder-based 3D printing for bone tissue engineering. *Biotechnology Advances*, 34, 740–753. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.03.009>
- Burden N., Aschberger K., Chaudhry Q., Clift M.J., Doak S.H., Fowler P., Johnston H., Landsiedel R., Rowland J., Stone V. (2017a) The 3Rs as a framework to support a 21st century approach for nanosafety assessment. *Nano Today*, 12, 10–13. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2016.06.007>
- Burden N., Aschberger K., Chaudhry Q., Clift M.J.D., Fowler P., Johnston H., Landsiedel R., Rowland J., Stone V., Doak S.H. (2017b) Aligning nanotoxicology with the 3Rs: What is needed to realise the short, medium and long-term opportunities? *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 91, 257–266. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.10.021>
- Cabral B.P., Bonventre J.V., Wieringa F., Mota F.B. (2021) Probing Expert Opinions on the Future of Kidney Replacement Therapies. *Artificial Organs*, 45(1), 79–87. <https://doi.org/10.1111/aor.13784>
- Charbe N., McCarron P.A., Tambuwala M.M. (2016) Three-dimensional bio-printing: A new frontier in oncology research. *World Journal of Clinical Oncology*, 8, 21–36. DOI: 10.5306/wjco.v8.i1.21
- Cheluvappa R., Scowen P., Eri R. (2017) Ethics of animal research in human disease remediation, its institutional teaching; and alternatives to animal experimentation. *Pharmacology Research and Perspectives*, 5, 1–14. <https://doi.org/10.1002/prp2.332>
- Chen Y., Zhang J., Liu X., Wang S., Tao J., Huang Y., Wu W., Li Y., Zhou K., Wei X., Chen S., Li X., Xu X., Cardon L., Qian Z., Gou M. (2020) Noninvasive in vivo 3D bioprinting. *Science Advances*, 6, 1–10. DOI: 10.1126/sciadv.aba7406
- Choudhury D., Anand S., Naing M.W. (2018) The arrival of commercial bioprinters – Towards 3D bioprinting revolution! *International Journal of Bioprinting*, 4(2), 139. DOI:10.18063/IJB.v4i2.139
- Colasante C., Sanford Z., Garfein E., Tepper O. (2016) Current Trends in 3D Printing, Bioprosthetics, and Tissue Engineering in Plastic and Reconstructive Surgery. *Current Surgery Reports*, 4(3), 1–14. DOI:10.1007/s40137-016-0127-4
- Combellack E., Jessop Z.M., Whitaker I.S. (2018) The commercial 3D bioprinting industry. In: *3D Bioprinting for Reconstructive Surgery* (eds. D.J. Thomas, Z.M. Jessop, I.S. Whitaker), Amsterdam: Elsevier, pp. 413–421. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101103-4.00029-6>
- Correia Carreira S., Begum R., Perriman A.W. (2020) 3D Bioprinting: The Emergence of Programmable Biodesign. *Advanced Healthcare Materials*, 9(15), 1900554. <https://doi.org/10.1002/adhm.201900554>
- Daly A.C., Freeman F.E., Gonzalez-Fernandez T., Critchley S.E., Nulty J., Kelly D.J. (2017) 3D Bioprinting for Cartilage and Osteochondral Tissue Engineering. *Advanced Healthcare Materials*, 6(22), 1700298. <https://doi.org/10.1002/adhm.201700298>
- Dey M., Ozbolat I.T. (2020) 3D bioprinting of cells, tissues and organs. *Scientific Reports*, 10, 14023. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70086-y>

- Dias J.R., Ribeiro N., Baptista-Silva S., Costa-Pinto A.R., Alves N., Oliveira A.L. (2020) In situ Enabling Approaches for Tissue Regeneration: Current Challenges and New Developments. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 85. DOI: 10.3389/fbioe.2020.00085
- Doke S.K., Dhawale S.C. (2015) Alternatives to animal testing: A review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23, 223–229. DOI: 10.1016/j.jsps.2013.11.002
- Duan B. (2017) State-of-the-Art Review of 3D Bioprinting for Cardiovascular Tissue Engineering. *Annals of Biomedical Engineering*, 45, 195–209. DOI: 10.1007/s10439-016-1607-5
- Faramarzi N., Yazdi I.K., Nabavinia M., Gemma A., Fanelli A., Caizzone A., Ptaszek L.M., Sinha I., Khademhosseini A., Ruskin J.N., Tamayol A. (2018) Patient-Specific Bioinks for 3D Bioprinting of Tissue Engineering Scaffolds. *Advanced Healthcare Materials*, 7(11), 1870043. <https://doi.org/10.1002/adhm.201870043>
- Fleetwood G., Chlebus M., Coenen J., Dudoignon N., Lecerf C., Maisonneuve C., Robinson S. (2015) Making Progress and Gaining Momentum in Global 3Rs Efforts: How the European Pharmaceutical Industry Is Contributing. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 54, 192–197.
- Fonseca A.C., Melchels F.P.W., Ferreira M.J.S., Moxon S.R., Potjewyd G., Dargaville T.R., Kimber S.J., Domingos M. (2020) Emulating Human Tissues and Organs: A Bioprinting Perspective Toward Personalized Medicine. *Chemical Reviews*, 120, 11128–11174. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00342>
- Foresti R., Rossi S., Pinelli S., Alinovi R., Sciancalepore C., Delmonte N., Selleri S., Caffarra C., Raposio E., Macaluso G., Macaluso C., Freyrie A., Miragoli M., Perini P. (2020) In-vivo vascular application via ultra-fast bioprinting for future 5D personalised nanomedicine. *Scientific Reports*, 10, 3205. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60196-y>
- Gao G., Cui X. (2016) Three-dimensional bioprinting in tissue engineering and regenerative medicine. *Biotechnology Letters*, 38, 203–211. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1975-1>
- Gardin C., Ferroni L., Latremouille C., Chachques J.C., Mitrečić D., Zavan B. (2020) Recent Applications of Three Dimensional Printing in Cardiovascular Medicine. *Cells*, 9(3), 742. <https://doi.org/10.3390/cells9030742>
- Garreta E., Oria R., Tarantino C., Pla-Roca M., Prado P., Fernández-Avilés F., Campistol J.M., Samitier J., Montserrat N. (2017) Tissue engineering by decellularization and 3D bioprinting. *Materials Today*, 20, 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2016.12.005>
- Georghiou L., Cassingena Harper J., Keenan M., Miles I., Popper R. (2008) *The handbook of technology foresight: Concepts and practice*, Cheltenham: Edward Elgar.
- Gershlak J.R., Ott H.C. (2020) Bioprinting Organs-Progress Toward a Moonshot Idea. *Transplantation*, 104, 1310–1311. DOI: 10.1097/TP.0000000000003172
- Giacomini K.M., Krauss R.M., Roden D.M., Eichelbaum M., Hayden M.R., Nakamura Y. (2007) When good drugs go bad. *Nature*, 446, 975–977. DOI: 10.1038/446975a
- Gilbert F., O'Connell C.D., Mladenovska T., Dodds S. (2018) Print Me an Organ? Ethical and Regulatory Issues Emerging from 3D Bioprinting in Medicine. *Science and Engineering Ethics*, 24, 73–91. <https://doi.org/10.1007/s11948-017-9874-6>
- Goh J.-Y., Weaver R.J., Dixon L., Platt N.J., Roberts R.A. (2015) Development and use of in vitro alternatives to animal testing by the pharmaceutical industry 1980–2013. *Toxicology Research*, 4, 1297–1307. DOI:10.1039/C5TX00123D
- Government Office for Science (2010) *Technology and innovation futures: UK growth opportunities for the 2020s* (2010 ed.), London: Government Office for Science.
- Government Office for Science (2012) *Technology and innovation futures: UK growth opportunities for the 2020s* (2012 refresh), London: Government Office for Science.
- Government Office for Science (2017) *Technology and Innovation Futures 2017*, London: Government Office for Science.
- Graham M.L., Prescott M.J. (2015) The multifactorial role of the 3Rs in shifting the harm-benefit analysis in animal models of disease. *European Journal of Pharmacology*, 759, 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.040>
- Grand View Research (2021) *3D Bioprinting Market Size, Share and Trends Analysis Report by Technology (Magnetic Levitation, Inkjet-based), by Application (Medical, Dental, Biosensors, Bioinks), by Region, and Segment Forecasts, 2021–2028*, San Francisco, CA: Grand View Research.
- Groeber F., Engelhardt L., Lange J., Kurdyn S., Schmid F.F., Rücker C., Mielke S., Walles H., Hansmann J. (2016) A first vascularized skin equivalent as an alternative to animal experimentation. *ALTEX*, 33, 415–422. <https://doi.org/10.14573/altex.1604041>
- Gungor-Ozkerim P.S., Inci I., Zhang Y.S., Khademhosseini A., Dokmeci M.R. (2018) Bioinks for 3D bioprinting: An overview. *Biomaterials Science*, 6, 915–946. DOI: 10.1039/c7bm00765e
- Haris M.S., Azlan N.H.M., Taher M., Rus S.M., Chatterjee B. (2020) 3D-printed Drugs: A Fabrication of Pharmaceuticals towards Personalized Medicine. *IJPER* 54(3s), s411–s422. DOI:10.5530/ijper.54.3s.139
- Heinrich M.A., Liu W., Jimenez A., Yang J., Akpek A., Liu X., Pi Q., Mu X., Hu N., Schiffelers R.M., Prakash J., Xie J., Zhang Y.S. (2019) 3D Bioprinting: From Benches to Translational Applications. *Nano-Micro Small*, 15, e1805510. <https://doi.org/10.1002/sml.201805510>
- Hesse C.A., Ofosu J.B., Nortey E.N. (2017) *Introduction to Nonparametric Statistical Methods*, Accra (Ghana): Akrong Publications Limited.
- Hospiadiuk M., Dey M., Sosnoski D., Ozbolat I.T. (2017) The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials. *Biotechnology Advances*, 35, 217–239. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.12.006>
- Huang Y., Zhang X.-F., Gao G., Yonezawa T., Cui X. (2017) 3D bioprinting and the current applications in tissue engineering. *Biotechnology Journal* 12(8), 1600734. <https://doi.org/10.1002/biot.201600734>
- Hunsberger J., Neubert J., Wertheim J.A., Alllickson J., Atala A. (2016) Bioengineering Priorities on a Path to Ending Organ Shortage. *Current Stem Cell Reports*, 2, 118–127. <https://doi.org/10.1007/s40778-016-0038-4>
- Irvine J., Martin B.R. (1983) *Project Foresight, a Proposal Submitted to the Cabinet Office*, Brighton, SPRU, University of Sussex.
- Jang J., Yi H.-G., Cho D.-W. (2016) 3D Printed Tissue Models: Present and Future. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 2, 1722–1731. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.6b00129>
- Jorgensen A.M., Yoo J.J., Atala A. (2020) Solid Organ Bioprinting: Strategies to Achieve Organ Function. *Chemical Reviews*, 120, 11093–11127. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00145>
- Kačarević Ž.P., Rider P.M., Alkildani S., Retnasingh S., Smeets R., Jung O., Ivanišević Z., Barbeck M. (2018) An Introduction to 3D Bioprinting: Possibilities, Challenges and Future Aspects. *Materials*, 11, 2199. <https://doi.org/10.3390/ma11112199>
- Kaivo-oja J. (2017) Towards better participatory processes in technology foresight: How to link participatory foresight research to the methodological machinery of qualitative research and phenomenology? *Futures*, 86, 94–106. <https://doi.org/10.1016/j.futures.2016.07.004>
- Khoshnood N., Zamanian A. (2020) A comprehensive review on scaffold-free bioinks for bioprinting. *Bioprinting*, 19, e00088. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2020.e00088>
- Kolominsky-Rabas P.L., Djanatlijev A., Wahlster P., Gantner-Bär M., Hofmann B., German R., Sedlmayr M., Reinhardt E., Schüttler J., Kriza C. (2015) Technology foresight for medical device development through hybrid simulation: The ProHTA Project. *Technological Forecasting and Social Change*, 97, 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2013.12.005>
- Kumar A., Kargozar S., Baino F., Han S.S. (2019) Additive Manufacturing Methods for Producing Hydroxyapatite and Hydroxyapatite-Based Composite Scaffolds: A Review. *Frontiers in Materials*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmats.2019.00313>
- Lall S. (2004) *Reinventing Industrial Strategy: The Role of Government Policy in Building Industrial Competitiveness*. United Nations Conference on Trade and Development Report (G-24 Discussion Paper Series No. 28), New York, Geneva: United Nations.
- Leberfinger A.N., Dinda S., Wu Y., Koduru S.V., Ozbolat V., Ravnic D.J., Ozbolat I.T. (2019) Bioprinting functional tissues. *Acta Biomaterialia*, 95, 32–49. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.01.009>

- Lerman M.J., Lembong J., Gillen G., Fisher J.P. (2018) 3D printing in cell culture systems and medical applications. *Applied Physics Reviews*, 5, 041109. <https://doi.org/10.1063/1.5046087>
- Linstone H.A. (2011) Three eras of technology foresight. *Technovation*, 31, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.technovation.2010.10.001>
- Loai S., Kingston B.R., Wang Z., Philpott D.N., Tao M., Cheng H.L. (2019) Clinical Perspectives on 3D Bioprinting Paradigms for Regenerative Medicine. *Regenerative Medicine Frontiers*, 1, e190004. <http://dx.doi.org/10.20900/rmf20190004>
- Löwa A., Jevtić M., Gorreja F., Hedtrich S. (2018) Alternatives to animal testing in basic and preclinical research of atopic dermatitis. *Experimental Dermatology*, 27(5), 476–483. <https://doi.org/10.1111/exd.13498>
- Lukin I., Musquiz S., Erezuma, I., Al-Tel T.H., Dolatshahi-Pirouz A., Orive G. (2019) Can 4D bioprinting revolutionize drug development? *Expert Opinion on Drug Discovery*, 14(10), 953–956. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1636781>
- Mao H., Yang L., Zhu H., Wu L., Ji P., Yang J., Gu Z. (2020) Recent advances and challenges in materials for 3D bioprinting. *Progress in Natural Science: Materials International*, 30(5), 618–634. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2020.09.015>
- Martin B.R. (1995) Foresight in science and technology. *Technology Analysis and Strategic Management*, 7(2), 139–168. <https://doi.org/10.1080/09537329508524202>
- Martin B.R. (2010) The origins of the concept of 'foresight' in science and technology: An insider's perspective. *Technological Forecasting and Social Change*, 77, 1438–1447. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2010.06.009>
- Martin B.R., Irvine J. (1989) *Research Foresight: Priority setting in science*, London: Frances Pinter.
- Martin B.R., Johnston R. (1999) Technology Foresight for Wiring Up the National Innovation System. *Technological Forecasting and Social Change*, 60, 37–54. [https://doi.org/10.1016/S0040-1625\(98\)00022-5](https://doi.org/10.1016/S0040-1625(98)00022-5)
- Masum H., Ranck J., Singer P.A. (2010) Five promising methods for health foresight. *Foresight*, 12(1), 54–66. <https://doi.org/10.1108/14636681011020182>
- Matai I., Kaur G., Seyedsalehi A., McClinton A., Laurencin C.T. (2020) Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*, 226, 119536. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119536>
- Mehrban N., Teoh G.Z., Birchall M.A. (2016) 3D bioprinting for tissue engineering: Stem cells in hydrogels. *International Journal of Bioprinting*, 2(1), 6–19. DOI:10.18063/IJB.2016.01.006
- Mendes F.M.L., Castor K., Monteiro R., Mota F.B., Rocha L.F.M. (2019) Mapping the lab-on-a-chip patent landscape through bibliometric techniques. *World Patent Information*, 58, 101904. <https://doi.org/10.1016/j.wpi.2019.101904>
- Miles I. (2010) The development of technology foresight: A review. *Technological Forecasting and Social Change*, 77, 1448–1456. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2010.07.016>
- Miles I., Meissner D., Vonortas N.S., Carayannis E. (2017) Technology foresight in transition. *Technological Forecasting and Social Change*, 119, 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2017.04.009>
- Mir T.A., Iwanaga S., Kurooka T., Toda H., Sakai S., Nakamura M. (2019) Biofabrication offers future hope for tackling various obstacles and challenges in tissue engineering and regenerative medicine: A Perspective. *International Journal of Bioprinting*, 5(1), 153. 1–11. DOI: 10.18063/ijb.v5i1.153
- Mir T.A., Nakamura M. (2017) Three-Dimensional Bioprinting: Toward the Era of Manufacturing Human Organs as Spare Parts for Healthcare and Medicine. *Tissue Engineering*, 22(3), 245–256. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2016.0398>
- Mohanty S., Sanger K., Heiskanen A., Trifol J., Szabo P., Dufva M., Emméus J., Wolff A. (2016) Fabrication of scalable tissue engineering scaffolds with dual-pore microarchitecture by combining 3D printing and particle leaching. *Materials Science and Engineering. C*, 61, 180–189. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.032>
- Mori A., Peña Fernández M., Blunn G., Tozzi G., Roldo M. (2018) 3D Printing and Electrospinning of Composite Hydrogels for Cartilage and Bone Tissue Engineering. *Polymers*, 10(3), 285. <https://doi.org/10.3390/polym10030285>
- Mosadegh B., Xiong G., Dunham S., Min J.K. (2015) Current progress in 3D printing for cardiovascular tissue engineering. *Biomedical Materials*, 10(3), 034002. DOI: 10.1088/1748-6041/10/3/034002
- Mota F., Braga L., Rocha L., Cabral B. (2020) 3D and 4D bioprinted human model patenting and the future of drug development. *Nature Biotechnology*, 38, 689–694. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0540-1>
- Mota F., Braga L.A.M., Cabral B.P., Conte Filho C.G. (2021) What is the future of lab-on-a-chip diagnostic devices? Assessing changes in experts' expectations over time. *Foresight*, 23(6), 640–654. <https://doi.org/10.1108/FS-05-2021-0101>
- Murphy S.V., de Coppi P., Atala A. (2020) Opportunities and challenges of translational 3D bioprinting. *Nature Biomedical Engineering*, 4, 370–380. <https://doi.org/10.1038/s41551-019-0471-7>
- Ng W.L., Yeong W.Y., Naing M.W. (2016) Polyelectrolyte gelatin-chitosan hydrogel optimized for 3D bioprinting in skin tissue engineering. *International Journal of Bioprinting*, 2(1), 53–62. DOI:10.18063/IJB.2016.01.009
- NIPHE (2018) *Public Health Foresight Study 2018 – A healthy prospect*, Bilthoven (NL): National Institute for Public Health and the Environment.
- Niu S.-Y., Xin M.-Y., Luo J., Liu M.-Y., Jiang Z.-R. (2015) DSEP: A Tool Implementing Novel Method to Predict Side Effects of Drugs. *Journal of Computational Biology*, 22(12), 1108–1117. <https://doi.org/10.1089/cmb.2015.0129>
- O'Connell G., Garcia J., Amir J. (2017) 3D Bioprinting: New Directions in Articular Cartilage Tissue Engineering. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 3(11), 2657–2668. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.6b00587>
- Obregon F., Vaquette C., Ivanovski S., Huttmacher D.W., Bertassoni L.E. (2015) Three-Dimensional Bioprinting for Regenerative Dentistry and Craniofacial Tissue Engineering. *Journal of Dental Research*, 94(9), 1435–152S. <https://doi.org/10.1177%2F0022034515588885>
- Park S.-H., Jung C.S., Min B.-H. (2016) Advances in three-dimensional bioprinting for hard tissue engineering. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 13, 622–635. <https://doi.org/10.1007/s13770-016-0145-4>
- Peng W., Datta P., Ayan B., Ozbolat V., Sosnoski D., Ozbolat I.T. (2017) 3D bioprinting for drug discovery and development in pharmaceuticals. *Acta Biomaterialia*, 57(15), 26–46. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.05.025>
- Pereira Cabral B., da Graça Derengowski Fonseca M., Batista Mota F. (2019a) What is the future of cancer care? A technology foresight assessment of experts' expectations. *Economics of Innovation and New Technology*, 28, 635–652. <https://doi.org/10.1080/10438599.2018.1549788>
- Pereira Cabral B., da Graça Derengowski Fonseca M., Mota F.B. (2019b) Long term prevention and vector control of arboviral diseases: What does the future hold? *International Journal of Infectious Diseases*, 89, 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.10.002>
- Popper R. (2008) Foresight methodology. In: *The Handbook Of Technology Foresight: Concepts and Practice* (eds. L. Georghiou, J. Cassingena Harper, M. Keenan, I. Miles, R. Popper), Cheltenham: Edward Elgar, pp. 44–88.
- Postma T.J., Alers J.C., Terpstra S., Zuurbier A. (2007) Medical technology decisions in The Netherlands: How to solve the dilemma of technology foresight versus market research? *Technological Forecasting and Social Change*, 74(9), 1823–1833. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2007.05.011>
- Richards D.J., Tan Y., Jia J., Yao H., Mei Y. (2013) 3D Printing for Tissue Engineering. *Israel Journal of Chemistry*, 53, 805–814. <https://doi.org/10.1002/ijch.201300086>
- Rocha L.F.M., Braga L.A.M., Mota F.B. (2020) Gene Editing for Treatment and Prevention of Human Diseases: A Global Survey of Gene Editing-Related Researchers. *Human Gene Therapy*, 31(15–16), 852–862. <https://doi.org/10.1089/hum.2020.136>
- Rosania K. (2013) Synthetic research tools as alternatives to animal models. *Lab Animal*, 42, 189–190. <https://doi.org/10.1038/labana.306>
- Schoemaker C.G., van Loon J., Achterberg P.W., van den Berg M., Harbers M.M., den Hertog F.R.J., Hilderink H., Kommer G., Melse J., van Oers H., Plasmans M.H.D., Vonk R.A.A., Hoeymans N. (2019) The Public Health Status and Foresight Report 2014: Four Normative Perspectives on a Healthier Netherlands in 2040. *Health Policy*, 123(3), 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.healthpol.2018.10.014>

- Sears N.A., Seshadri D.R., Dhavalikar P.S., Cosgriff-Hernandez E. (2016) A Review of Three-Dimensional Printing in Tissue Engineering. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, 22(4), 298–310. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2015.0464>
- Shanmugarajah K., Villani V., Madariaga M.L.L., Shalhoub J., Michel S.G. (2014) Current progress in public health models addressing the critical organ shortage. *International Journal of Surgery*, 12(12), 1363–1368. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2014.11.011>
- Silva L.P. (2019) Current Trends and Challenges in Biofabrication Using Biomaterials and Nanomaterials: Future Perspectives for 3D/4D Bioprinting. In: *3D and 4D Printing in Biomedical Applications* (ed. M. Maniruzzaman), Weinheim (Germany): Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, pp. 373–421. <https://doi.org/10.1002/9783527813704.ch15>
- Singh S., Choudhury D., Yu F., Mironov V., Naing M.W. (2020) In situ bioprinting – Bioprinting from benchside to bedside? *Acta Biomaterialia*, 101, 14–25. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.08.045>
- Stokes W.S. (2015) Animals and the 3Rs in toxicology research and testing: The way forward. *Human and Experimental Toxicology*, 34, 1297–1303. <https://doi.org/10.1177%2F0960327115598410>
- Stratton S., Manoukian O.S., Patel R., Wentworth A., Rudraiah S., Kumbar S.G. (2018) Polymeric 3D Printed Structures for Soft-Tissue Engineering. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(24), 45569. <https://doi.org/10.1002/app.45569>
- Tarassoli S.P., Jessop Z.M., Al-Sabah A., Gao N., Whitaker S., Doak S., Whitaker I.S. (2018) Skin tissue engineering using 3D bioprinting: An evolving research field. *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 71(5), 615–623. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2017.12.006>
- Thayer P., Martinez H., Gatenholm E. (2020) History and Trends of 3D Biopr (ed. J. Crook), New York: Humana, pp. 3–18. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0520-2_1
- Unagolla J.M., Jayasuriya A.C. (2020) Hydrogel-based 3D bioprinting: A comprehensive review on cell-laden hydrogels, bioink formulations, and future perspectives. *Applied Materials Today*, 18, 100479. DOI: 10.1016/j.apmt.2019.100479
- Vanderburgh J., Sterling J.A., Guelcher S.A. (2017) 3D Printing of Tissue Engineered Constructs for In Vitro Modeling of Disease Progression and Drug Screening. *Annals of Biomedical Engineering*, 45(1), 164–179. DOI: 10.1007/s10439-016-1640-4
- Vijayavenkataraman S., Yan W.-C., Lu W.F., Wang C.-H., Fuh J.Y.H. (2018) 3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 132, 296–332. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.004>
- Vries R.B.M., Leenaars M., Tra J., Huijbregtse R., Bongers E., Jansen J.A., Gordijn B., Ritskes-Hoitinga M. (201) The potential of tissue engineering for developing alternatives to animal experiments: A systematic review. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 9(7), 771–778. <https://doi.org/10.1002/term.1703>
- Wang C., Huang W., Zhou Y., He L., He Z., Chen Z., He X., Tian S., Liao J., Lu B., Wei Y., Wang M. (2020a) 3D printing of bone tissue engineering scaffolds. *Bioactive Materials*, 5(1), 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.01.004>
- Wang Z., Kapadia W., Li C., Lin F., Pereira R.F., Granja P.L., Sarmiento B., Cui W. (2020b) Tissue-specific engineering: 3D bioprinting in regenerative medicine. *Journal of Controlled Release*, 329, 237–256. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.11.044>
- Weinhart M., Hocke A., Hippenstiel S., Kurreck J., Hedtrich S. (2019) 3D organ models – Revolution in pharmacological research? *Pharmacological Research*, 139, 446–451. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.11.002>
- Whitford W.G., Hoying J.B. (2016) A bioink by any other name: Terms, concepts and constructions related to 3D bioprinting. *Future Science OA*, 2(3), 1–5. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2016-0044>
- Yang G.H., Yeo M., Koo Y.W., Kim G.H. (2019) 4D Bioprinting: Technological Advances in Biofabrication. *Macromolecular Bioscience*, 19(5), 1800441. <https://doi.org/10.1002/mabi.201800441>
- Yang Q., Gao B., Xu F. (2020) Recent Advances in 4D Bioprinting. *Biotechnology Journal*, 15(1), 1900086. <https://doi.org/10.1002/biot.201900086-10>
- Yu J., Park S.A., Kim W.D., Ha T., Xin Y.-Z., Lee J., Lee D. (2020) Current Advances in 3D Bioprinting Technology and Its Applications for Tissue Engineering. *Polymers*, 12(12), 2958. <https://doi.org/10.3390/polym12122958>
- Zhang X., Zhang Y. (2015) Tissue Engineering Applications of Three-Dimensional Bioprinting. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 72, 777–782. <https://doi.org/10.1007/s12013-015-0531-x>
- Zhang Y., Kumar P., Lv S., Di X., Zhao H., Cai Z., Zhao X. (2020) Recent Advances in 3D Bioprinting of Vascularized Tissues. *Materials and Design*, 199, 109398. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.109398>
- Zhao X., Liu L., Wang J., Xu Y., Zhang W., Khang G., Wang X. (2016) In vitro vascularization of a combined system based on a 3D printing technique. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 10(10), 833–842. <https://doi.org/10.1002/term.1863>
- Zhu W., Ma X., Gou M., Mei D., Zhang K., Chen S. (2016) 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering. *Current Opinion in Biotechnology*, 40, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.03.014>
- Zhu W., Yu C., Sun B., Chen S. (2021) Bioprinting of Complex Vascularized Tissues. In: *Computer-Aided Tissue Engineering. Methods in Molecular Biology* (eds. A. Rainer, L. Moroni), New York: Humana, pp. 163–173. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0611-7_14