



**Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 18025 – Конкурсна сесия 2018:
„Създаване на инфраструктура за 3D и биопринтере на персонализирани
пространствено контролирани изследователски, диагностични и
терапевтични импланти, протези, медицински устройства и консумативи в
МУ-Варна“**

Ръководител: Доц. д-р Стоян Павлов Павлов, дм

3D принтерите представляват клас машини, които за разлика от „традиционните“ отнемачи методи (фрезване и пр.), са в състояние да изградят физически обекти чрез добавяне на материали. Материалите се добавят прецизно и последователно, слой по слой, докато целия обект не бъде завършен. Основните методи за 3D принтиране включват FDM (Fused Deposition Modeling), SLS (Selective Laser Sintering), SLA (Stereolithography), MJF (Multi Jet Fusion), DLP (Digital Light Processing) и др.

Самите методи и материалите, които могат да се използват са доста различни, но основните характеристики на процеса на 3D принтиране остават същите:

- ❖ Обектът се изгражда слой по слой, като върху предходния слой започва изграждането на следващия и така до завършване на процеса.
- ❖ За изграждането на висящи във въздуха структури, е нужно принтирането на допълнителни подпори. Методите, използващи спояване на прах (SLS, SLM и пр.) са изключение.
- ❖ След завършване на 3D принтирането е необходима допълнителна обработка (шкурене, шлифване, полиране, допълнителна полимеризация, полагане на нанопокритие и др.).

Полученият обект не е толкова здрав и устойчив като тези, получени чрез инжекционно формиране или отнемачи методи на производство (принтираните модели са с около 20% по-малко здрави). Възможността за изграждане на сложни пространствени структури при 3D принтирането обаче е много по-добра и това му дава много предимства, особено в областта на биомедицината.

При 3D биопринтере, естествен или синтетичен биополимер се екструдира върху работна маса чрез инжекционна, вакуумна или пиезо-електрична диспензираща система. След завършването на обекта, влакната на включените в материала полимери образуват триизмерна мрежа, която съществено променя структурните свойства на обекта. При използване на няколко биополимера в един композитен материал, се получава сложна пространствена структура, която наподобява тази на междуклетъчното вещество в тъканите на многоклетъчните организми. Това прави подобни матрици

(scaffold – англ. скеле) много добри среди за изготвянето на триизмерни клетъчни, тъканни или органни култури и модели.

Свойствата на материалите, използвани за 3D биопринтере могат да бъдат допълнително контролирани чрез добавянето на адитиви като растежни фактори (ILGF, VEGF, BMP, FGF и др.) или високо-инженерни материали (graphene, metals, carbon, nano silicates и др.). Посочените материали променят драматично както физичните свойства на материала (якост, твърдост, реология и пр.), така и биологичните (адхезия, миграция, пролиферация, диференциация на клетки).

Триизмерната клетъчна култура представлява модел, отразяващ естествените условия в екстрацелуларния матрикс и поведението на клетките, които го обитават. Това е от особено голямо значение за клетките, които се използват в регенеративната медицина. (ембрионални и адултни стволови и прогениторни клетки, индуцирани плурипотентни стволови клетки, перицити и пр.).

Най-обещаващите биоматериали за изграждане на такива клетъчни и тъканни култури представляват хидрофилни композитни структури, наречени хидрогелове. Техния висок вискозитет и водни съдържание осигуряват чудесни условия както за постигане на качествено 3D принтиране, така и за получаването на здрав скафолд с добри условия за поддържане и модулиране поведението на клетъчна популация.

За 3D принтиране на органични структури от биологично активни материали, които нямат опора и са разположени във въздуха, много добър подпорен материал е желатина, а метода за използването му като подпорна структура – FRESH method (Freeform reversible embedding of suspended hydrogels). Тази технология позволява принтирането на още по-сложни триизмерни структури, респективно осигурява още по-комплексни условия за клетките.

На последно, но не по значимост място – всяка хирургична специалност може да подобри диагностичните си и лечебни алгоритми чрез 3D принтирани модели на анатомични структури в естествен размер, генерирани чрез точни антропометрични данни от томографско образно изследване (КТ, ЯМР, 3D ултразвук). Те могат да служат за планиране на операцията или за трениране в върху симулационен модел. Това намалява интраоперативното време, риска от усложнения и времето за възстановяване на пациента. Освен това тези модели са много добро обучително средство за медицинските специалности.

През 2018 г. Медицински Университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ – Варна, по инициатива на катедрата по Анатомия и клетъчна биология, започна изграждането на лаборатория за 3D Адитивно манифактуриране за изграждането на 3D устройства с образователно, изследователско, диагностично и терапевтично предназначение. За изпълнението на тази цел, беше закупен модуларен 3D принтер - Hyrel 3D Hydra 16 A, оборудван със следните модуларни глави:

1. Модуларни глави за 3D принтиране на термо пластмаси чрез екструдирание на полимерна нишка (fused deposition modeling, FDM) Тези пластмаси може да се използват за анатомични, диагностични и тренировъчни 3D модели, лабораторна апаратура, защитни кутии за електроника, компоненти за биореактори и др.
 - ❖ МК1-250 Стандартен екструдер за FDM 3D принтиране. Дава достъп до филамент-базирани материали с температура на екстудирание до 250°C като PLA, ABS, PETG, ASA, Nylon и др.
 - ❖ МК2-250 Специализиран екструдер за еластични материали като TPU, TPE, различни еластомери, полиуретани и силикони.
 - ❖ МК1-450 Специален екструдер за високо-инженерни термополимери с температура на екстудирание до 450 °C като семейството на PEAK полимерите (PEEK, PEK, PEKEK и др.), PEI, различни композити и пр.
2. Модуларни глави за инжекционно екстудирание и диспенсирание на материали в висок вискозитет. Това включва различни гелове и разтвори, включително хидрогелове, смоли, пасты, емулсии, силикони, восък, метални глини (включително глини на ценни метали) и др. Сегашният екструдер работи с температура на околната среда, екстудирайки материала чрез 10 мл. Спринцовка и луерова игла. Може допълнително да бъде оборудван с екструдери от същия тип, работещи в различни размери спринцовки и различни температури.
3. Модуларна глава-микроскоп с 100x за качествен контрол.
4. Машината допълнително може да бъде оборудвана с различни модуларни глави, даващи достъп до няколко субтрактивни и адитивни CNC технологии, включително фреза, лазер за рязане, лазер-енгрейвър, различни лампи и глави за фотополимеризация, устройство за точно поставяне и др.

3D принтерът ще се използва за няколко докторантски проекта:

1. “Глезенна стабилност след таларна субституция с 3D индивидуално принтирана протеза”; Катедра: Ортопедия и травматология; д-р Преслав Пламенов Пенев;
2. “Биопринтиране и морфологичен анализ на 3D матрица за биосинтетични импланти”; Катедра: Анатомия и клетъчна биология; д-р Петър Стаматов Вълчанов;
3. “Биопринтиране за изграждане на микрофлуидни системи (орган върху чип) за патофизиологични и фармакологични проучвания на неалкохолната мастна чернодробна болест и съпътстващи многосистемни метаболитни увреждания.”; Катедра: Физиология и патофизиология, УС по патофизиология; Доц. д-р Камелия Жечкова Братоева, дм;
4. „Създаване на индивидуализирани биопродукти за менажиране на предната очна повърхност“; Катедра: Катедра по очни болести и зрителни науки; Ас. Д-р Димитър Иванов Групчев.

Резултати:

1. Придобити материални и нематериални активи:

- ❖ Мултифункционална отворена система за триизмерен печат Hydra 16AT, Hyrel 3D, USA
- ❖ Осигурен SDS10 екструдер, закупен по Проект № 19027 „Биопринтере и морфологичен анализ на 3D матрица за биосинтетични импланти с повишен остеогенен потенциал“.

2. Осъществени ремонт и строителство:

- ❖ Преоборудване на зала 220 на Катедрата по Анатомия и клетъчна биология с цел приемане на 3D Принтера.

3. Привлечени средства, в резултат на сътрудничеството с български и чуждестранни висши училища, научни институции и др.:

- ❖ „Физически антропоморфни модели на млечни жлези и технология за тяхното производство“ (Physical breast anthropomorphic models and technology for their production (PHENOMENO)); ръководител доц. д-р инж. Кристина Близнакова – финансиран с грант No 101008020 по дейности “Marie Skłodowska-Curie “ на Програма за изследвания и иновации на Европейския Съюз „Хоризонт 2020“

- ❖ „ARPHA: Изработване на антропоморфни радиологични фантоми“ -финансиран от националния Фонд „Научни изследвания, 2021-2023

4. Перспективи и възможности за бъдещо развитие на научноизследователската дейност в МУ – Варна:

Изгражданата инфраструктура осигурява методологична поддръжка за няколко текущи проекта:

- ❖ „Глезенна стабилност след таларна субституция с 3D индивидуално принтирана протеза“; Катедра: Ортопедия и травматология; д-р Преслав Пламенов Пенев
- ❖ „Биопринтере и морфологичен анализ на 3D матрица за биосинтетични импланти“; Катедра: Анатомия и клетъчна биология; д-р Петър Стаматов Вълчанов
- ❖ „Биопринтере за изграждане на микрофлуидни системи (орган върху чип) за патофизиологични и фармакологични проучвания на неалкохолната мастна чернодробна болест и съпътстващи многосистемни метаболитни увреждания.“; Катедра: Физиология и патофизиология, УС по патофизиология; Доц. д-р Камелия Жечкова Братоева, дм

Освен методологичната поддръжка, която инфраструктурата осигурява по споменатите текущи проекти, изградената инфраструктура е ключова и за участието по два нови проекта:

1. „Физически антропоморфни модели на млечни жлези и технология за тяхното производство“ (Physical breast anthropomorphic models and technology for their production (PHENOMENO)); ръководител доц. д-р инж. Кристина Близнакова – финансиран с грант No 101008020 по дейности “Marie Skłodowska-Curie “ на Програма за изследвания и иновации на Европейския Съюз „Хоризонт 2020“;
2. „ARPHA: Изработване на антропоморфни радиологични фантоми“ - финансиран от националния Фонд „Научни изследвания, 2021-2023.