

APLICAREA TEHNOLOGIEI DE IMPRIMARE 3D PENTRU PROIECTAREA ȘI FABRICAREA PĂRȚII COMPONENTE A BIOREACTORULUI DESTINAT MĂSURĂRILOR BIOIMPEDANȚEI CELULARE

Aurel BABILUNGA^{1*}

¹Universitatea Tehnică a Moldovei, Facultatea Calculatoare, Informatică și Microelectronică (FCIM),
Departamentul Microelectronică și Inginerie Biomedicală (DMIB),
Centrul Național de Studiu și Testare a Materialelor (CNSTM), grupa MN-181, Chișinău, Republica Moldova

*Autorul corespondent: Aurel Babilunga, e-mail aurel.babilunga@mib.utm.md

Rezumat. În lucrarea dată a fost elaborat o detalie 3D pentru matricea de electrozi care determina adeziunea, gradul de proliferare și confluență a celulelor vii în regim dinamic. Analizând piața imprimantelor 3D, s-a ales cea mai optimă opțiune, în raport cu prețul și calitatea (în favoarea calității). Alegerea a căzut pe proiectarea cu ajutorul imprimantei 3D pe tehnologia Stereolitografiei, deoarece acest tip de imprimante imprimă cu o precizie mai înaltă în comparație cu cele convenționale Imprimante 3D din grupul Extrudare, de exemplu Modelarea prin fuzionarea metodei. A fost elaborat design-ul modelului 3D în softul AutoCAD. Utilizând printerul 3d de la Centrul Național de Studiu și Testare a Materialelor din cadrul UTM, a fost realizat detalia 3D. În lucrare se realizează o sinteză a literaturii în domeniul dat.

Cuvinte cheie: printare 3D, stereolitografia, nanoparticule, matrice de electrozi, bioreactoare.

Introducere

În ultimii ani, imprimarea tridimensională (3D) a îmbunătățit în mod semnificativ funcționalitatea bioreactoarelor oferind capacitatea de a fabrica arhitecturi complexe, care schimbă modul de realizare a biomodelării *in vitro* și a bioanalizei. Pe măsură ce tehnologiile de imprimare 3D devin din ce în ce mai mature, arhitectura bioreactoarelor tipărite 3D poate fi adaptată la aplicații specifice utilizând diferite abordări de imprimare pentru a crea un mediu optim pentru bioreacții. Componente funcționale multiple sunt combinate într-un singur bioreactor fabricat prin imprimare 3D, iar acest bioreactor integrat complet funcțional depășește metodele tradiționale. În special, mai multe sisteme de bioreactoare tipărite 3D au demonstrat performanțe îmbunătățite în ingineria țesuturilor și screeningul medicamentelor datorită microambientului lor de cultură celulară 3D cu control spațial precis și compatibilitate biologică. Mai mult, s-au propus, de asemenea, mulți bioreactori microbieni pentru a aborda problemele legate de detectarea agenților patogeni, diagnosticarea bolilor infecțioase, etc.

Bioreactoarele sunt instrumente esențiale care nu numai că ghidează și susțin dezvoltarea țesuturilor vii *in vitro*, ci acționează și ca spații de cultură pentru a studia răspunsul biologic al țesuturilor la condiții fiziologice [1,2]. Fabricarea aditivă cunoscută și sub numele de tehnologie de imprimare 3D, a arătat un potențial enorm în fabricarea structurilor complexe, la costuri reduse și personalizate, construite prin depunerea unui strat deasupra straturilor imprimate anterior [3]. În ultimele trei decenii, au fost stabilite mai multe strategii de imprimare 3D, cu accent pe fabricarea bioreactoarelor de diferite forme și dimensiuni. [4,5] Caracteristicile dispozitivelor tipărite 3D se bazează în principal pe metoda de imprimare aleasă. Unele aplicații au imprimat 3D doar substratul în cultura celulară pentru analiza *in vitro*, în timp ce alte aplicații au încorporat celule vii în materiale de imprimare biocompatibile [6]. S-au folosit diverse metode de imprimare 3D pentru a fabrica structuri și dispozitive 3D bazate pe diverse tehnici de imprimare, inclusiv topirea selectivă cu laser (SLM), sinterizarea directă a laserului metalic (DMLS), modelarea cu depunere prin fuziune (FDM), fabricarea cu filamente fuzionate (FFF), inkjet, PolyJet, jet de materiale,

stereolitografie (SLA), procesare digitală a luminii (DLP), micro-SLA (μ SLA) și litografie multifoton, fiecare cu propriile avantaje și dezavantaje [7]. Aceste procese de imprimare 3D de asemenea sunt utilizate și pentru fabricarea bioreactoarelor. Cu toate acestea, niciunul dintre aceste procese de imprimare 3D nu este ideal datorită limitărilor lor specifice, cum ar fi problemele de biocompatibilitate, dificultatea în îndepărtarea materialelor suport, rezoluția redusă, precizia dimensională slabă și textura superficială aspră [8-10].

Imprimarea 3D este o tehnologie care evoluează rapid, care oferă o oportunitate de a fabrica 3D complexe structuri pentru aplicații biologice [11]. Este un instrument important pentru cercetarea translațională care se concentrează pe biologia *in vitro* și modelele de boală în bioreactoare. Accesibilitatea crescândă la Imprimarea 3D a dus la eforturi substanțiale multe dezvoltări creative ale imprimării 3D bioreactoare pentru cultivarea mamiferelor ca precum și celulele microbiene. Diversi bioreactori au au fost fabricate cu imprimare 3D pentru a studia răspunsul acestor celule la cele mai mici detalii ale lor medii locale precum substratul geometric aranjament, chimie și mecanică [12]. O mare parte din înțelegerea noastră despre fundamental mecanismele celulare sunt colectate din aberant interacțiunile celulelor pe substraturi 2D. Pe măsură ce ne mișcăm este spre micro-mediu mai conform vital pentru a demitifica exact ce factori sunt operativi în sisteme 3D, mai degrabă decât simpla luare în considerare a factorul de dimensionalitate în joc [13]. A crescut capacitățile imprimantelor 3D au dus la construcții de arhitectură bine cu caracteristici fine și geometrii specifice aplicației. Provocarea cheie aici constă în realizarea geometriei care oferă gradul corect de biomimicie, mecanic și indicii chimice necesare pentru suficientă celulă-celulă semnalizare, dezvoltare celulară și expresie genetică. Într-adevăr, parametrii suprafeței, cum ar fi porozitatea, rugozitatea și curbura sunt reglabile conform la nevoile experimentale și efectul acestora asupra comportamentul celular colectiv, inclusiv aderența, creșterea, alinierea, proliferarea și diferențierea are a fost demonstrat, de asemenea. În mod ideal, rolul imprimării 3D este de a oferi celulelor un mediu adecvat susținând tranziția lor în țesut funcțional *in vitro*. Cu imprimarea 3D, putem fabrica bioreactoare de diferite dimensiuni și forme și introduce celule în bioreactoare după imprimare pentru testarea *in vitro*. În general, acest articol își propune să acopere Bioreactoare tipărite 3D pentru studiul *in vitro* al ambelor cultură de celule de mamifere și bacterii.

În prezent, cercetarea de tipărire 3D pentru aplicații biologice *in vitro* se concentrează în principal pe sisteme relativ simple care încorporează doar un număr limitat de celule și tipuri de celule. Spre exemplu, recent a fost raportat un bioreactor cu electrozi integrați pentru studiul celulelor la aplicarea stimulilor electrici [14].

În lucrarea dată, a fost proiectat partea componentă a bioreactorului care este compus din cipul cu contacte pe care se plasează partea componentă imprimată 3D din material biocompatibil.

Noțiuni de bază despre tehnologie

Imprimantă 3D - mașină cu control numeric care implementează doar operația de adăugare, adică doar adăugarea unei porțiuni de material la piesa de prelucrat. De obicei folosește metoda de tipărire strat cu strat a piesei. Imprimarea 3D este o formă de fabricație aditivă și se referă de obicei la tehnologii de prototipare rapidă.

Stereolitografia cu laser (abreviată SLA și STL din stereolitografia engleză) este una dintre tehnologiile de prototipare rapidă. Aparatul pentru stereolitografie a fost brevetat pentru prima dată de Chuck Hull în anul 1984.

Tehnologia stereolitografiei cu laser bazată pe radiații laser fotoinițiate sau radiații ale lămpilor cu mercur polimerizare compoziție fotopolimerizabilă (FPC). Această metodă diferă de altele prin faptul că nu folosește pulberi ca „material de construcție”, ci fotopolimeri în stare lichidă. O platformă cu plasă (elevator) este plasată într-un recipient cu un fotopolimer lichid, pe care prototipul este „crescut”. Cu ajutorul acestei tehnologii, un obiect tridimensional proiectat de computer este sintetizat dintr-un FPC lichid prin straturi succesive subțiri (0,05-0,2 mm), formate sub acțiunea radiației laser pe o platformă mobilă. De regulă, procesorul pentru formarea

secțiunilor orizontale pre-convertește descrierea modelului 3D al viitorului obiect din formatul de fișier STL într-un set de secțiuni strat cu strat cu pasul de înălțime necesar, a cărui matrice este scris în fișierul executiv cu extensia SLI. Acest fișier este un set de date vectoriale bidimensionale care asigură controlul secvențial al orientării fasciculului laser prin intermediul oglinzilor în timpul sintezei unui obiect, comenzi pentru pornirea laserului, mutarea platformei.

Apoi, laserul este pornit, afectând acele zone ale polimerului care corespund pereților obiectului țintă, determinându-i să se solidifice. După aceea, întreaga platformă se scufundă puțin mai adânc, cu o cantitate egală cu grosimea stratului. De asemenea, în acest moment, o perie specială irigă zone care ar putea rămâne uscate datorită tensiunii superficiale a lichidului. La finalizarea construcției, obiectul este scufundat într-o baie cu compoziții speciale pentru îndepărtarea excesului și curățarea. Și, în cele din urmă, iradierea finală cu lumină ultravioletă puternică pentru întărirea finală. La fel ca multe alte metode de prototipare 3D, SLA necesită construirea de structuri de susținere, care sunt îndepărtate manual la finalizarea construcției.

Stereolitografia cu laser permite în cel mai scurt timp posibil (de la câteva ore la câteva zile) să treacă de la o idee de proiectare sau de proiectare la un model finit al unei piese. Această metodă de impregnare a nanoparticulelor în matrice polimerică presupune printarea 3D a polimerului impregnat cu nanoparticule/nanostructuri. Pot fi obținute structuri complicate însă distribuția nanostructurilor nu este omogenă. Această metodă permite obținerea nanocompozitelor cu o structură 3D complicată și rezoluție înaltă. Avantaje: structuri complexe, realizare simplă, etc.

Imprimarea părții componente a bioreactorului

În lucrarea dată am elaborat o detaliu 3D pentru acoperirea și separarea fiecărui electrod pentru determinarea adeziunii, gradului de proliferare și confluență a celulelor vii în regim dinamic.

Pentru imprimare a fost aleasă imprimanta 3D - Nobel 1.0 ce este o imprimantă laser SL de precizie înaltă, cu o rezoluție de imprimare de până la 300 micrometri și o grosime a stratului de 25, 50 și 100 micrometri. Este proiectat pentru a obține rezultate de imprimare superioare pentru utilizatorii de toate nivelurile la un cost accesibil.

Ca prim pas, a fost proiectat modelul 3D în softul AutoCAD după mărimile electrozilor cipului. Apoi, pentru ca imprimanta să funcționeze cu piesa, a fost necesară convertirea într-un format care să poată fi citit și reprodus de imprimantă. Pentru aceasta a fost folosit software-ul XYZprinting care este destinat pentru conversia fișierelor. În acest software, este posibil să selectați locul printații, să redimensionați și să instalați suportul (nu a fost aleasă această funcție, deoarece în cazul dat ar acoperi găurile destinate separării). A fost obținut detaliu 3D care este prezentată în Figura 1.

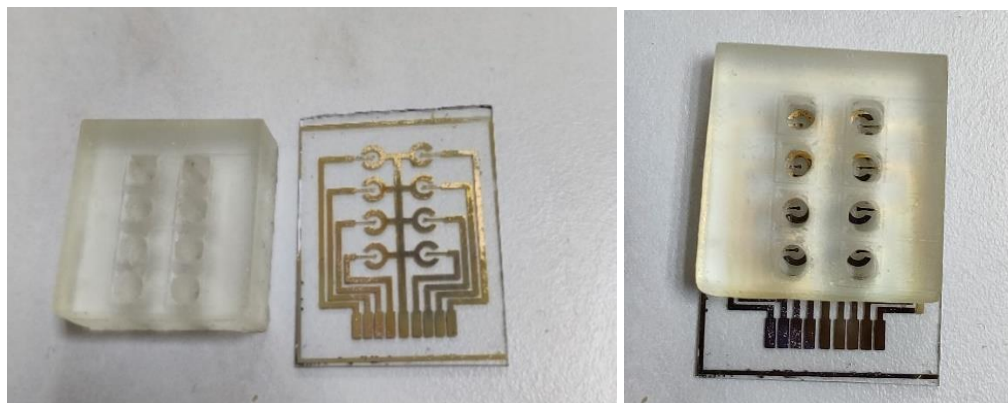


Figura 1. Imaginea foto a componentei 3D printate și matricea de electrozi: aparte - (partea stângă) și împreună – (partea dreaptă).

Concluzii

Lucrarea dată descrie metoda de proiectare și printare a oricărei detalii 3D cu tehnologia stereolitografiei. A fost elaborat un model pentru prototipul unui senzor la cost redus destinat măsurării parametrilor celulari dinamici pentru perioade extinse.

Mulțumiri. Autorul aduce mulțumiri pentru ajutor și îndrumare dlui dr., conf. Eduard MONAICO, dr. Tudor BRANIȘTE și Vladimir CIOBANU. Această lucrare a fost elaborată în cadrul proiectului program de stat cu cifrul 20.80009.5007.20.

Referințe

1. BAREITHER, R., POLLARD, D. A review of advanced small-scale parallel bioreactor technology for accelerated process development: Current state and future need. In: *Biotechnol. Prog.* 2010, 27, pp. 2–14.
2. WANG, D., LIU, W., HAN, B., et al. The Bioreactor: A Powerful Tool for Large-scale Culture of Animal Cells. In: *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2005, 6, pp. 397–403.
3. CAPEL, A.J., RIMINGTON, R.P., LEWIS, M.P., et al. 3D Printing for Chemical, Pharmaceutical and Biological Applications. In: *Nat Rev Chem*, 2018, 2, pp. 422–436
4. KIM, Y., LEE, J., PARK, S. A 3D-printed Millifluidic Platform Enabling Bacterial Preconcentration and DNA Purification for Molecular Detection of Pathogens in Blood. In: *Micromachines*, 2018, 9, pp. 472-479.
5. ALESSANDRI, K., FEYEUX, M., GURCHENKOV, B., et al. A 3D Printed Microfluidic Device for Production of Functionalized Hydrogel Microcapsules for Culture and Differentiation of Human Neuronal Stem Cells (hNSC). In: *Lab on a Chip*, 2016, 16, pp. 1593–1604.
6. BALL, O., NGUYEN, B.N., PLACONE, J.K., et al. 3D Printed Vascular Networks Enhance Viability in High-volume Perfusion Bioreactor. In: *Ann Biomed Eng*, 2016, 44, pp. 3435–3445.
7. NGO, T.D., KASHANI, A., IMBALZANO, G., et al. Additive Manufacturing (3D Printing): A Review of Materials, Methods, Applications and Challenges. In: *Compos B Eng*, 2018, 143, pp. 172–196.
8. OSKUI, S.M., DIAMANTE, G., LIAO, C., et al. Assessing and Reducing the Toxicity of 3D-Printed Parts. In: *Environ Sci Technol Lett*, 2015, 3, pp. 1–6.
9. URRIOS, A., PARRA-CABRERA, C., BHATTACHARJEE, N., et al. 3D-printing of Transparent Bio-microfluidic Devices in PEGDA. In: *Lab Chip*, 2016, 16, pp. 2287–2294.
10. JIMÉNEZ, M., ROMERO, L., DOMÍNGUEZ, I.A., et al. Additive Manufacturing Technologies: An Overview about 3D Printing Methods and Future Prospects. In: *Complexity*, 2019, 2019, 9656938.
11. LERMAN, M.J., LEMBONG, J., GILLEN, G., et al. 3D Printing in Cell Culture Systems and Medical Applications. In: *Appl Phys Rev*, 2018, 5, 041109.
12. CHEN, C.S., MRKSICH, M., HUANG, S., et al. Geometric Control of Cell Life and Death. In: *Science*, 1997, 276, pp. 1425–1428.
13. BAKER, B.M., CHEN, C.S., Deconstructing the Third Dimension how 3D Culture Microenvironments Alter Cellular Cues. In: *J Cell Sci*, 2012, 125, pp. 3015–3024.
14. SCHNEIDERREIT, D., TSCHERNICH, J., FRIEDRICH, O., SCHARIN-MEHLMANN, M., GILBERT, D.F. 3D-printed reusable cell culture chamber with integrated electrodes for electrical stimulation and parallel microscopic evaluation. In: *3D Printing and Additive Manufacturing*, 2018, 5, pp. 115-125.