

# **Brza izrada prototipova i alata**

Nastavnik:  
Prof. Dr Mladomir Milutinović

Asistent:  
Dejan Movrin

# Dalji razvoj AM tehnologija

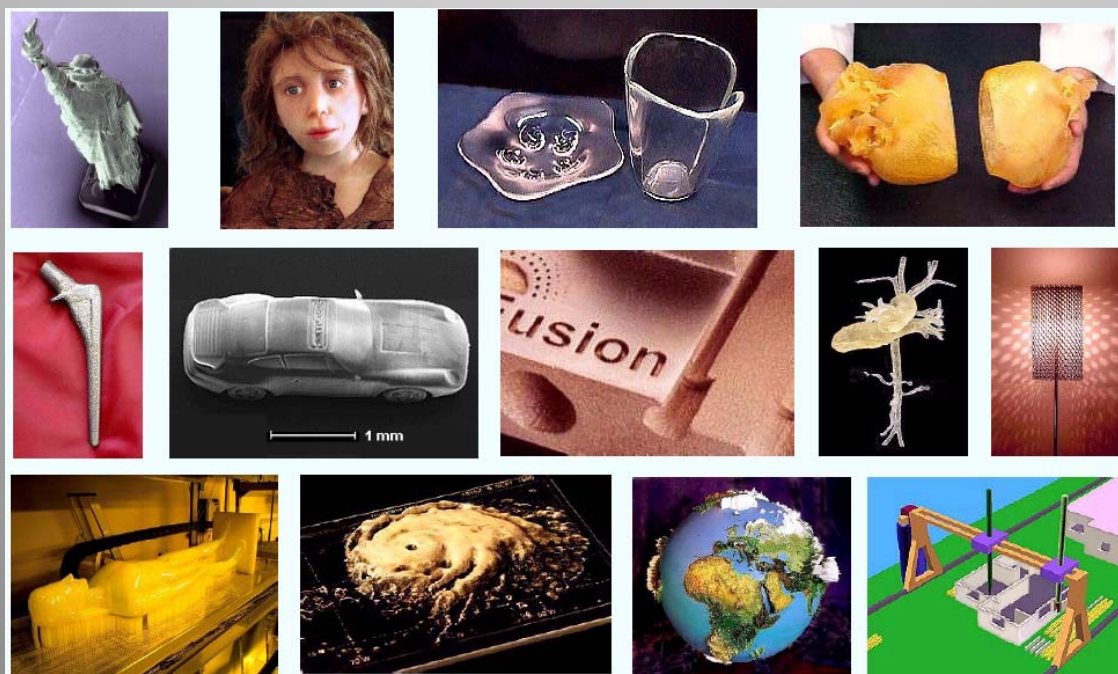
## PRINTING THE FUTURE

### Tehničke karakteristike:

- a) povećanje brzine izrade modela
- b) povećanje tačnosti modela
- c) novi materijali za AMmodele
- d) povećanje dimenzija modela
- e) telegenerisanje proizvoda na zahtev

### Oblasti:

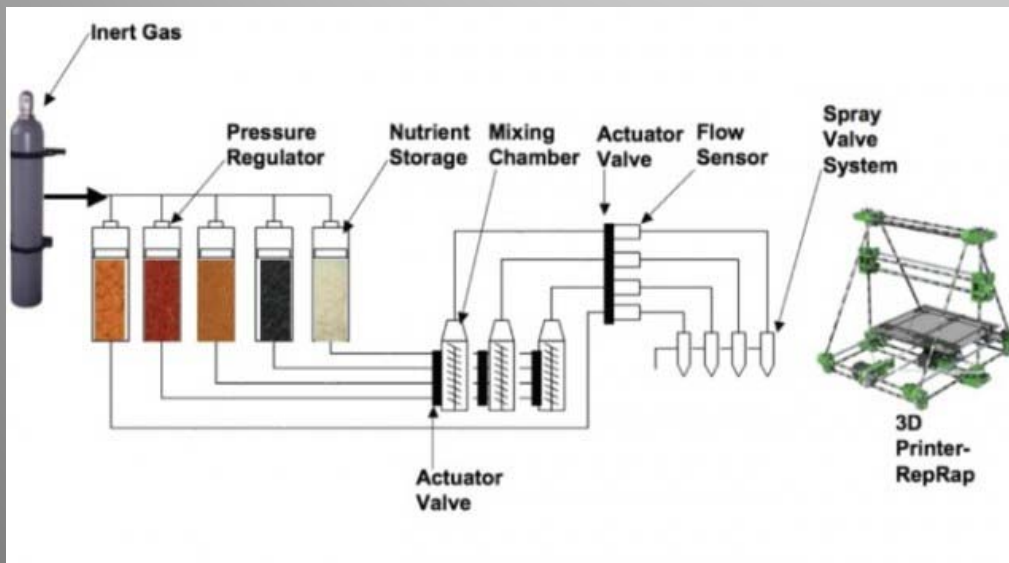
- a) **Medicina - 3D bioprinting**
- b) Proizvodnja hrane
- c) Građevina
- d) 3D za kućnu primenu
- e) Avio-industrija



## 3D Printing Aims to Deliver Organs on Demand



NASA awarded a \$125,000 grant to develop a process for 3D printing food for astronauts



NASA Funds 3D-Bio-Printer Development to Combat Universal Hunger

# Primena 3D Printinga u medicini

1. Edukacija i izrada medicinskih modela
2. Fabrikovanje tkiva i organa;
3. Izrada proteza, implantata, medicinskih pomagala, membrana, anatomskih modela i sl.
4. Proizvodnja hiruških komponenti
5. Primena u farmaciji – razvoj novih lekova, novi forme doziranja, novi načini isporuke lekova i sl.

1984

- **Charles Hull** invented *Stereolithography*

1996

- **Dr. Gabor Forgacs** observed that *cells stick together during embryonic development*

2000

- Urinary bladder augmentation using a *synthetic scaffold* seeded with the patients' own cells

2003

- **Thomas Boland's lab** modified an *inkjet printer* to accommodate and dispense cells in scaffolds

2009

- Organovo, creates the *NovoGen MMX Bioprinter* using Forgacs technology

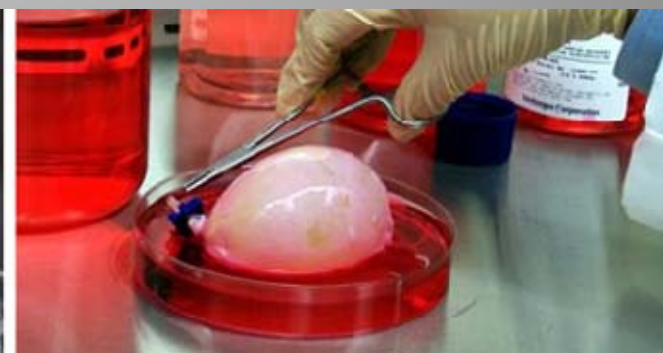
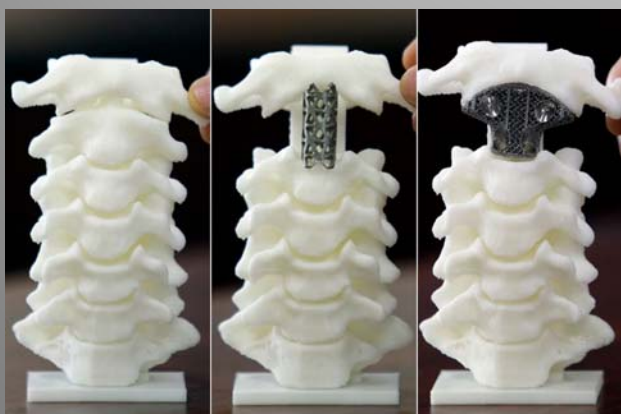
2010

- Organovo prints the first human blood vessel without the use of scaffolds

2011

- Organovo develops 3D bioprinted disease models made from human cells.





# BioPrinting / BioFabrikacija (Tissue engineering)

- Kompjuterski podržan bio-additivni proizvodni proces kojim se deponuju žive ćelije zajedno sa skeletom (scaffold), u cilju fabrikacije tkiva i organa.
- Koristi tehnologiju štampe 3D za proizvodnju ćelija, biomaterijala i biomaterijala od samih ćelija pojedinačno ili u tandemu, sloj po sloju, direktno stvarajući 3D strukture tkiva.
- Na raspolaganju su različiti materijali za izgradnju skeleta (scaffold), u zavisnosti od željene čvrstoće, poroznosti i vrste tkiva, sa hidrogelima koji se obično smatraju najpogodnijim za proizvodnju mekih tkiva.
- Koriste se različite bioadditive tehnologije proizvodnje, uključujući:
  - Laser-based writing,
  - Inkjet based printing ,
  - Extrusion-based deposition

Bioprinting na bazi inkjeta je najviše zastupljen!!!

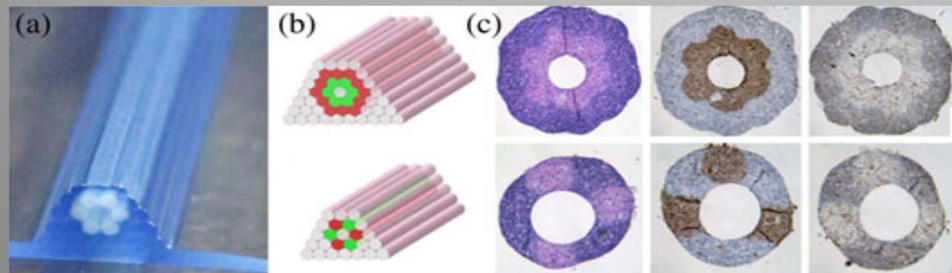
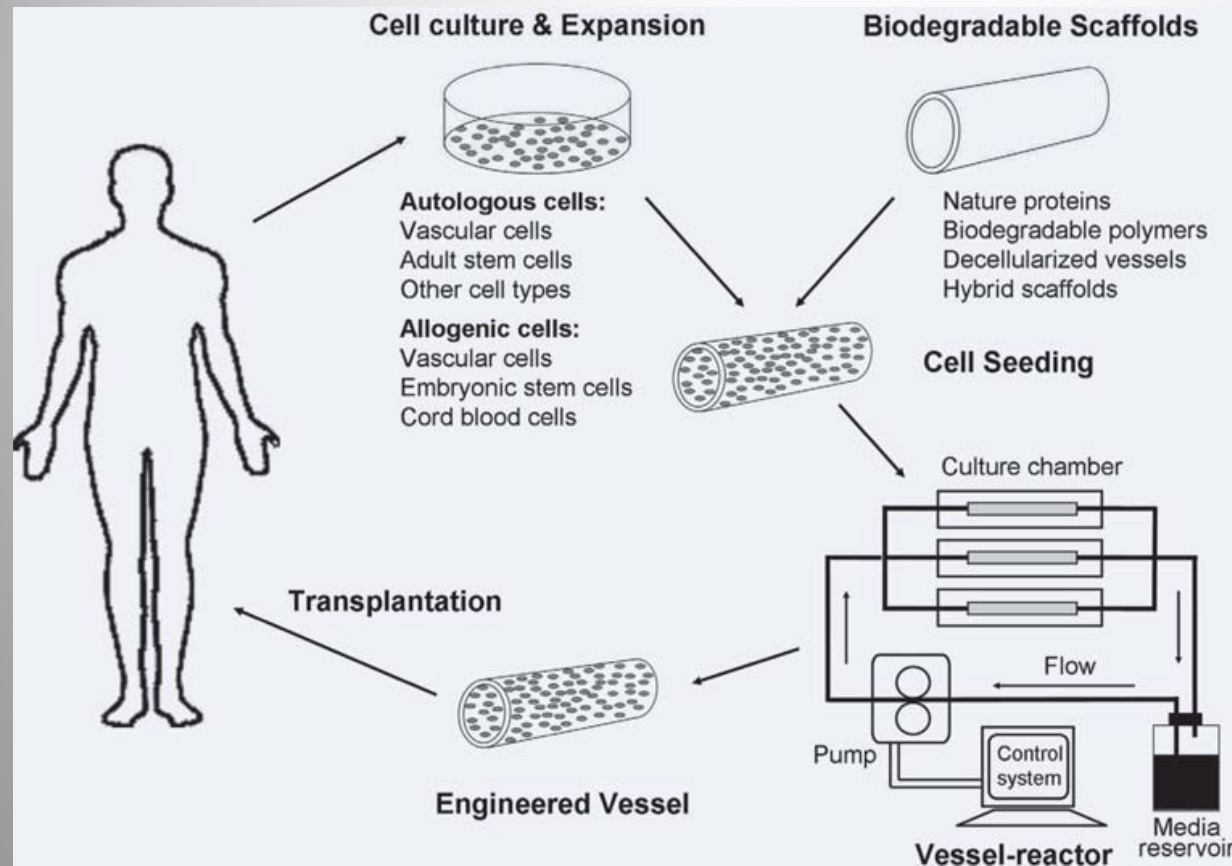
- Bioprinting omogućava veliku preciznost u pogledu prostornog deponovanja ćelija.
- Precizno pozicioniranje više vrsta ćelija je neophodno za izradu gustih i složenih organa, kao i za istovremenu konstrukciju integrisanog vaskularnog ili mikrovaskularnog sistema koji je od ključnog značaja za funkcionisanje organa

## **Procedura Bioprintinga obuhvata sledeće faze (korake) :**

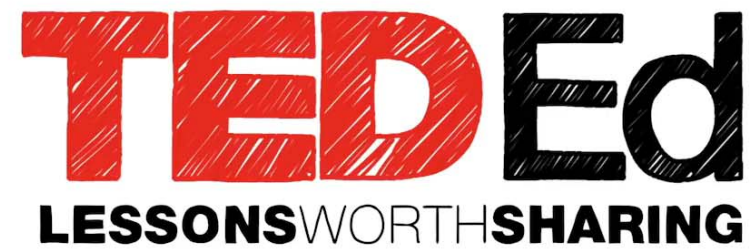
- 1) kreiranje strukture-šeme (blueprint) organa zajedno sa vaskularnim sistemom
- 2) generisanje plana procesa 3D bioprintinga;
- 3) izolacija matičnih ćelija;
- 4) diferencijacija matičnih ćelija u ćelije organa;
- 5) priprema bioink rezervoara sa specifičnim ćelijama organa, ćelijama krvnih sudova i potpornih struktura i pozicioniranje istih u Bio-šampač;
- 6) bioprint;
- 7) postavljanje bio-printovanog organa u bio-reaktor pre transplantacije.



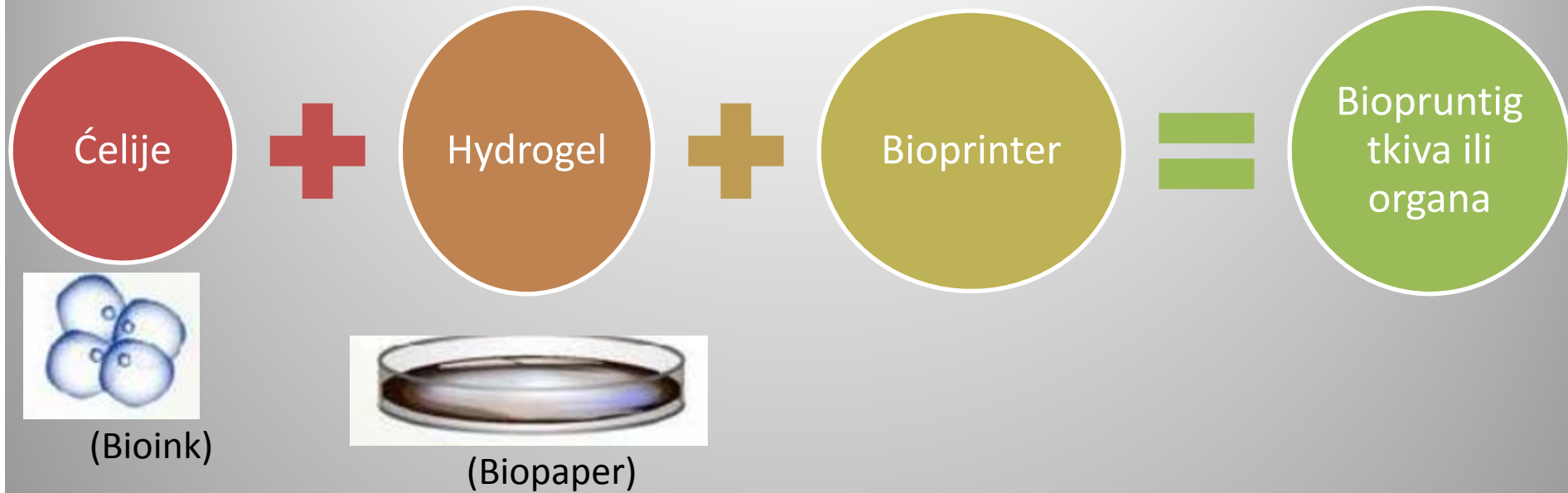
# Bioprinting krvnih sudova



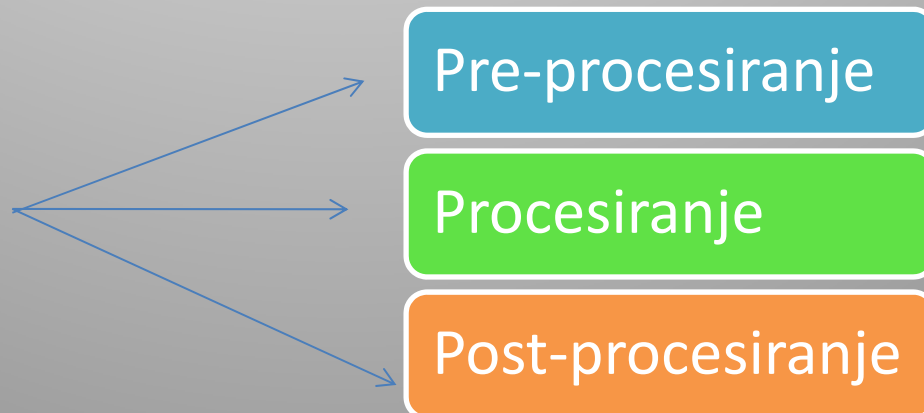
Tkivni sferoidi za štampanje krvnih sudova: (a) taloženje ravnih niti koje sadrže niz tkivnih sferoida (obojenih belom bojom) sa agaroznim (polisaharidnim) filamentima kao pomoćnim materijalom (obojeno u plavo) oko ćelijskih filamenata i unutar jezgra, (b) dizajn za višćelijski sklop sa (c) štampanim uzorcima sa ćelijama glatkih mišića pupčane vene i ćelijama fibroblasta kože.

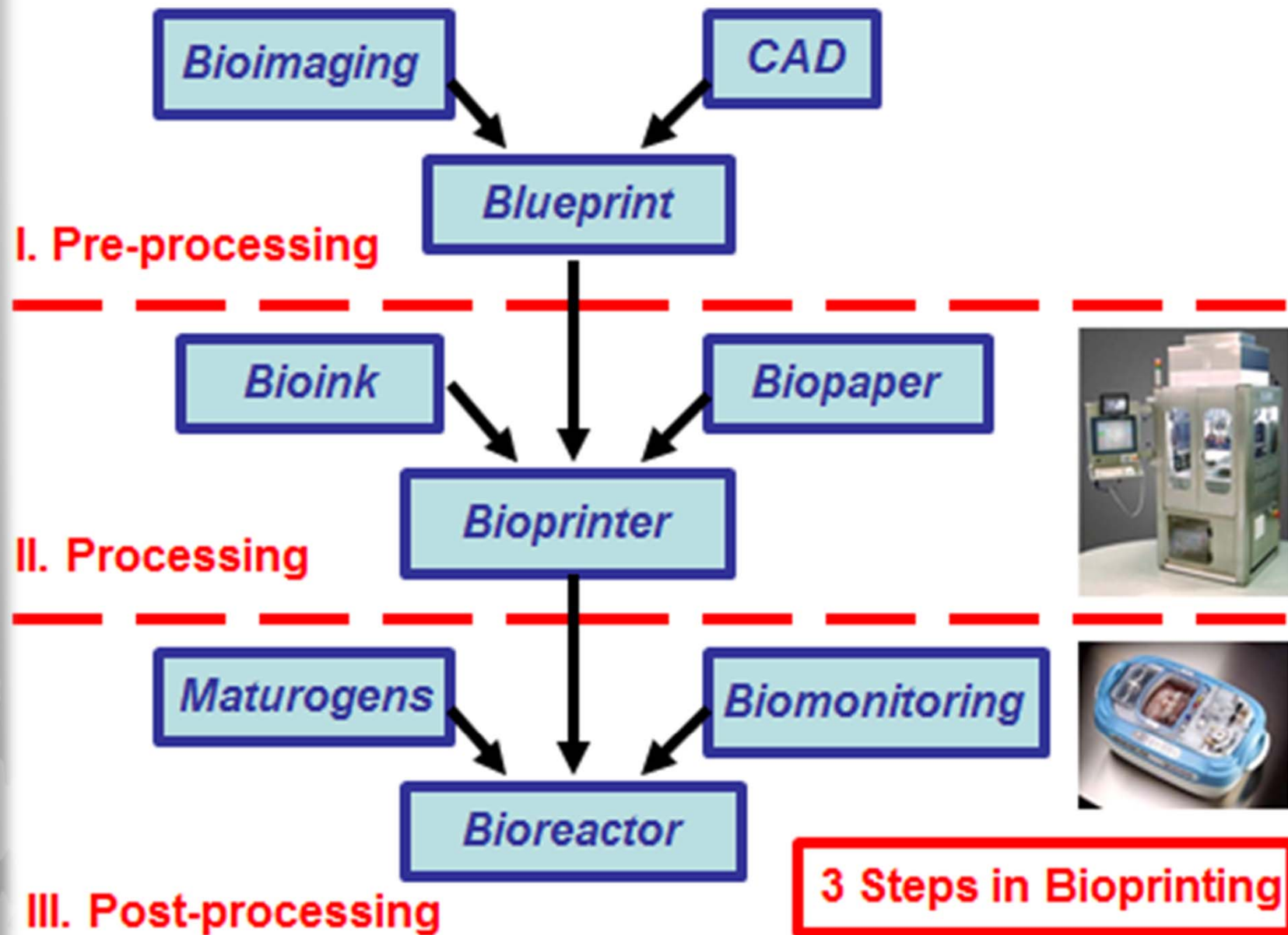


# *Komponente neophodne za bioprinting*



*3 faze*



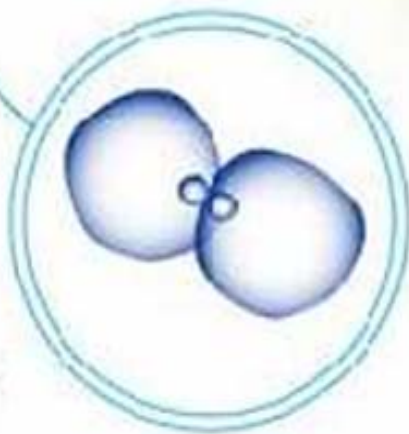




# Kreiranje Bioink-a

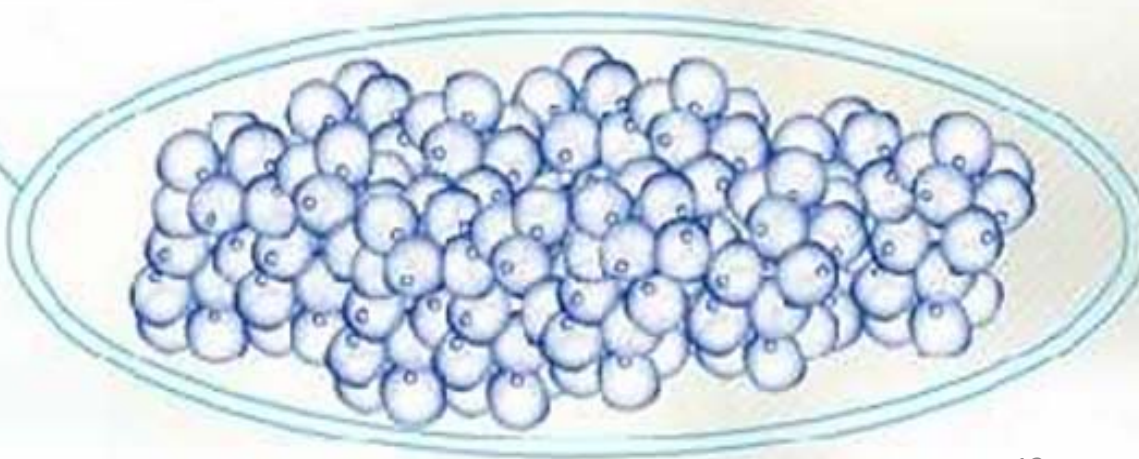
## 1 Cells

Poreklo: ćelije pacijenta dobijene biopsijom ili matične ćelija. Uzgajane standardnim metodama i tehnikama.



## 2 Cultured

Ćelije se uzgajaju u mediju za rast što omogućava ćelijama da se množe i rastu.

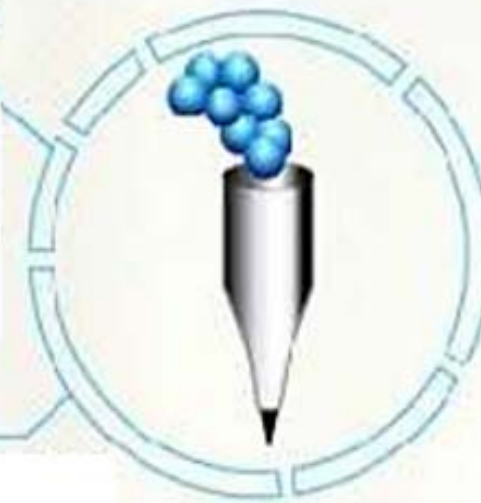


## 3 Collected

Kada se proizvede dovoljno ćelija, sakupljaju se da bi se napravio Bio-Ink.

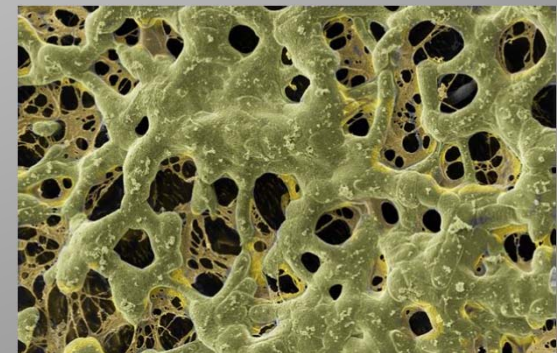
### CELLS ARE THEN

- Sferoidni oblik
- Unošenje u kertridž radi kreiranja Bio Ink-a.



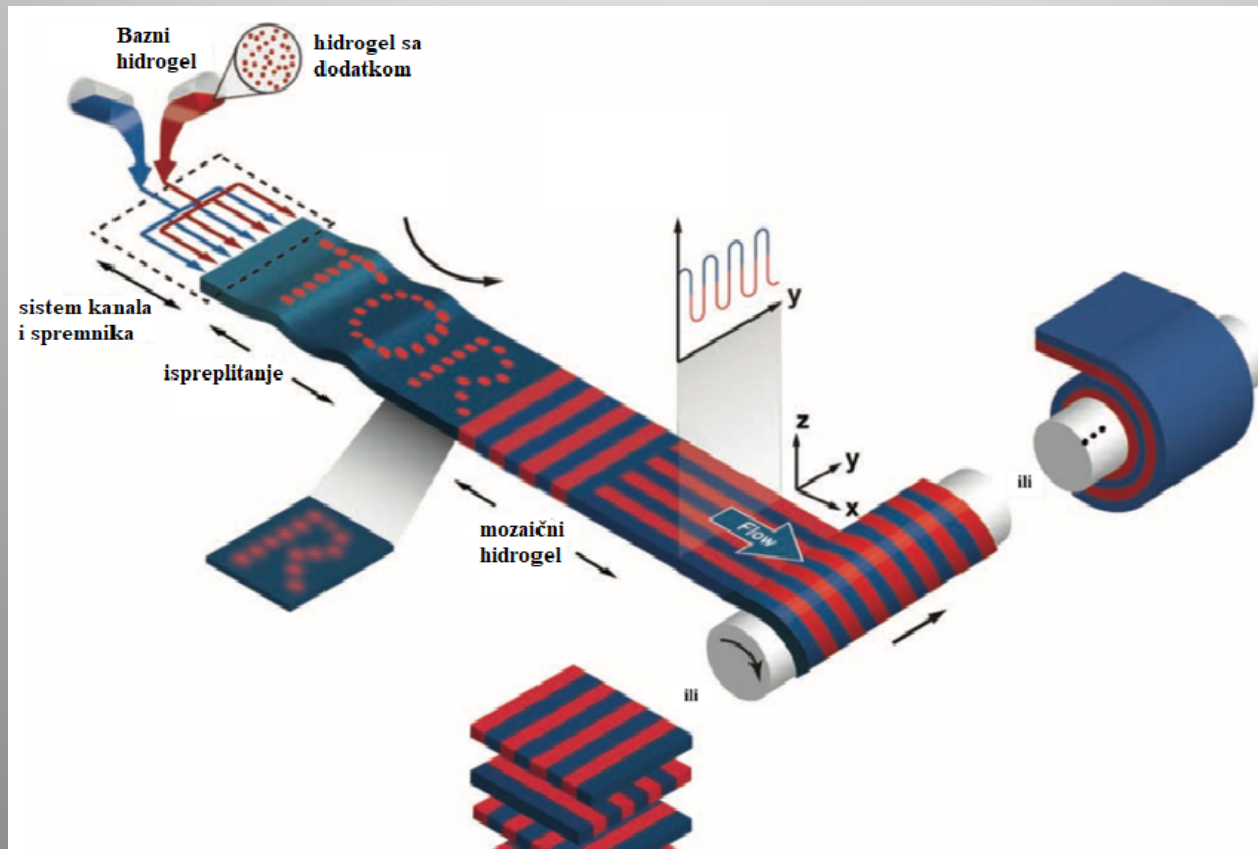
# Hidrogel

- Glavni cilj inženjerstva tkiva je pronaći odgovarajuću podlogu koja bi bila analogna prirodnoj izvanćelijskoj matrici.
- Problem koje se javlja prilikom slojevitog štampanja ćelija, posebno u strukturama većih dimenzija jeste brzo raspadanje takve strukture zbog nedostatka krvnih sudova za dovod kiseonika i hranjivih materija.
- Kreiran je biorazgradivi materijal koji u štampanom obliku daje formu, zajedno sa ćelijama suspendovanim u mastilu na bazi vode, te biorazgradivom polimeru raspoređenom u rešetkastom uzorku i privremenoj strukturi.
- Tkivo ima sistem mikrokanala koji omogućuje da se hranjive materije i kiseonik iz tela rasprši u strukturu dok se sistem krvnih sudova ne formira
- **Hidrogel** je supstanca koja nastaje kada organski polimer (prirodni ili veštački) počne gelirati kako bi stvorio trodimenzionalnu otvorenu rešetku koja hvata molekule vode ili druge rastvore pomoću kojih nastaje gel.

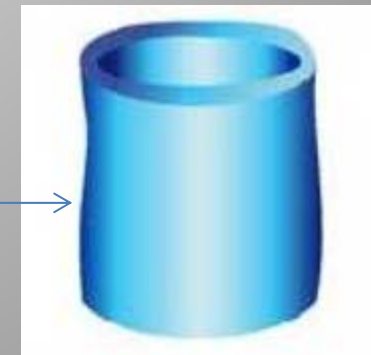
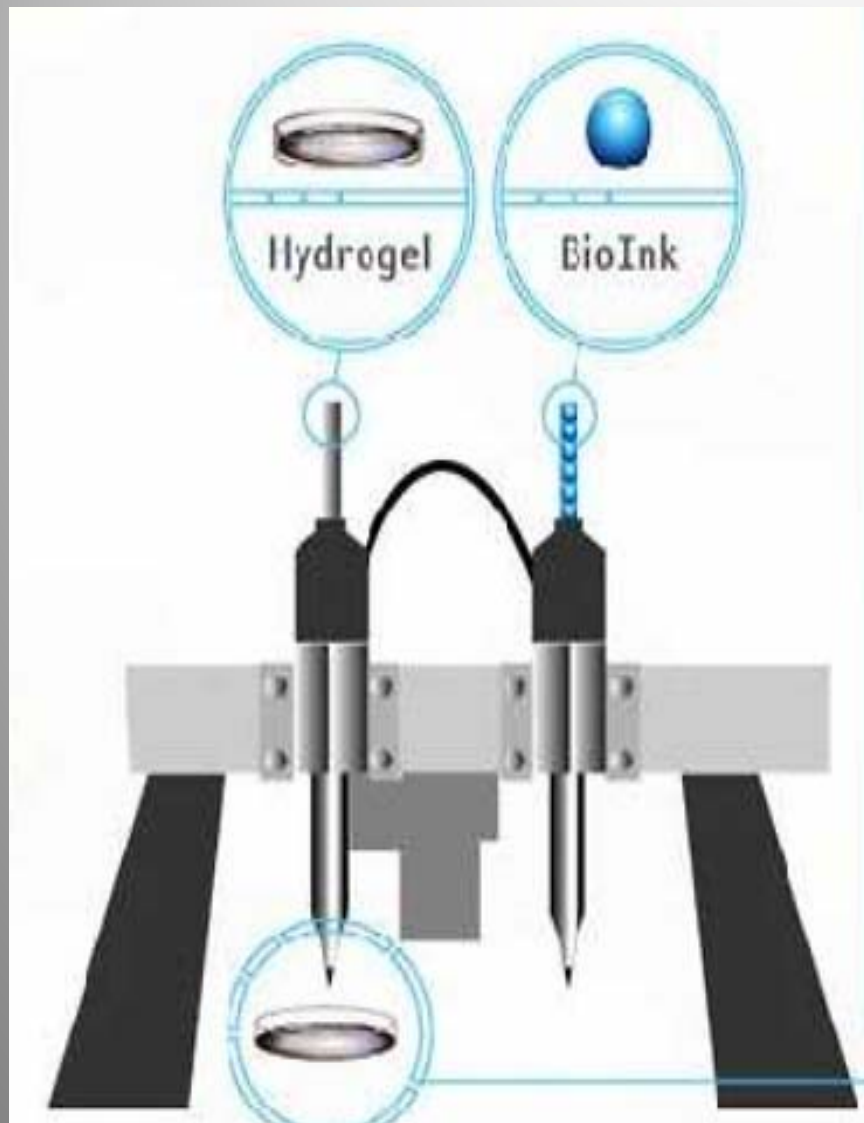


# Štampanje hidrogela

- Stvaranje slojevite strukture vrši se ispreplitanjem mekih biopolimernih slojeva na način da se kroz jedan biopolimer koji predstavlja bazu, provlači drugi koji ima osobinu da u sebi može sadržavati mikročestice, biomolekule ili žive ćelije.
- Rastvori dva različita biopolimera odvojeni su u različitim spremnicima.
- Nizom kanala dovode se do izlaza na kojem počinje njihovo ispreplitanje (stvaranje mozaika).
- Slaže se oko deset različitih slojeva od milimetra do centimetra dužine koji sadrže praznine, područja spajanja slojeva i područja popunjena mikročesticama (npr. ćelijama)-



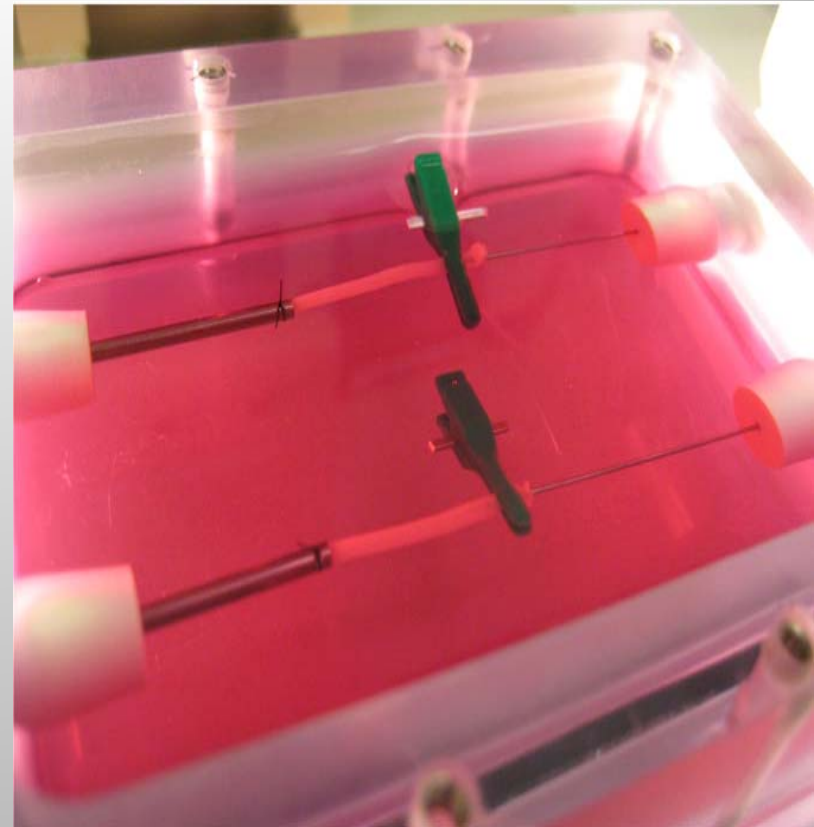
# *Proces štampanja*



*Sazrevanje*



# *Post-printing*

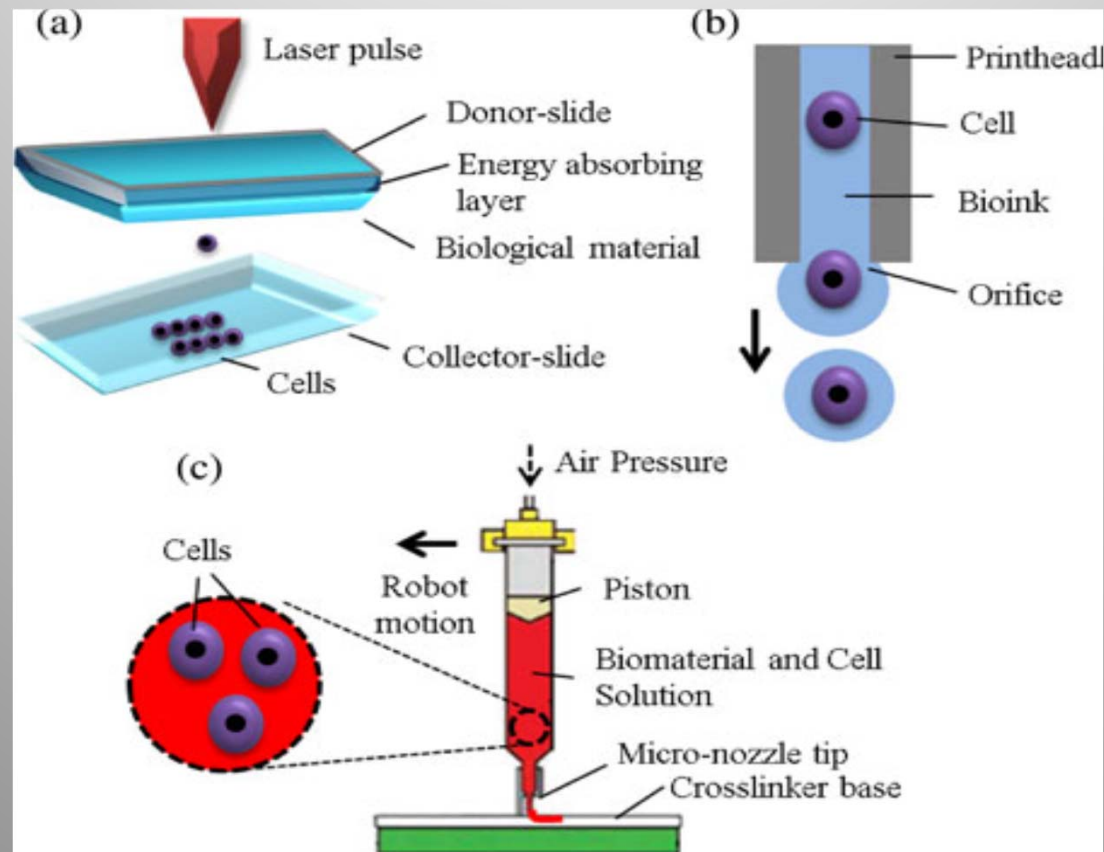


*Bio-Reaktor za post-printing sazrevanje fabrikovanog krvnog suda*



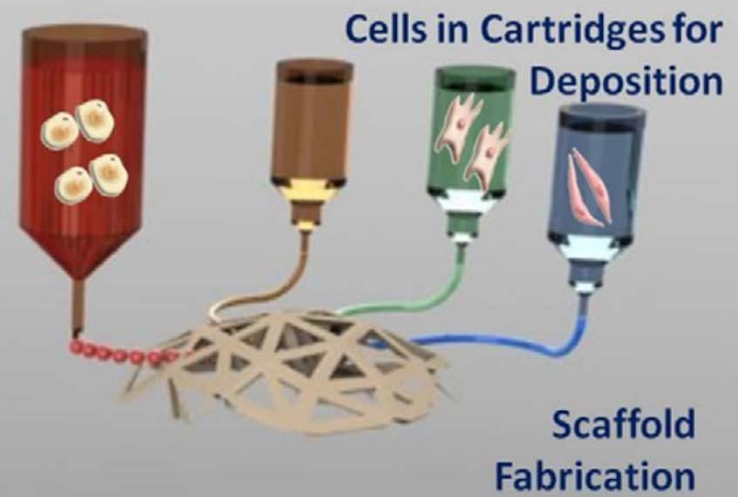
# 3D Bioprinting

- (a) laser-based writing of cells,
- (b) inkjet-based systems, and
- (c) extrusion-based deposition (FDM BioExtrusion)



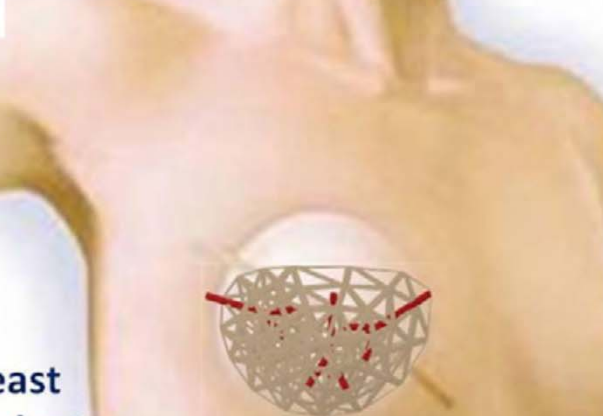
[illegible]

B

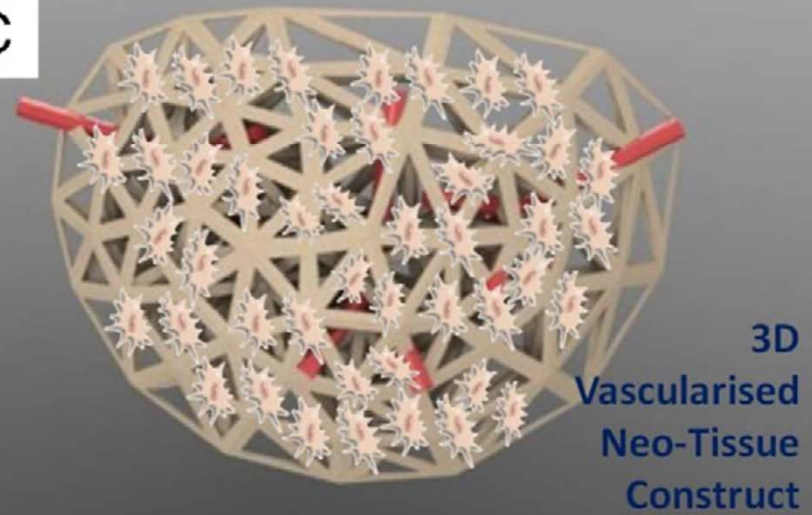


**D**

Breast Implant



C

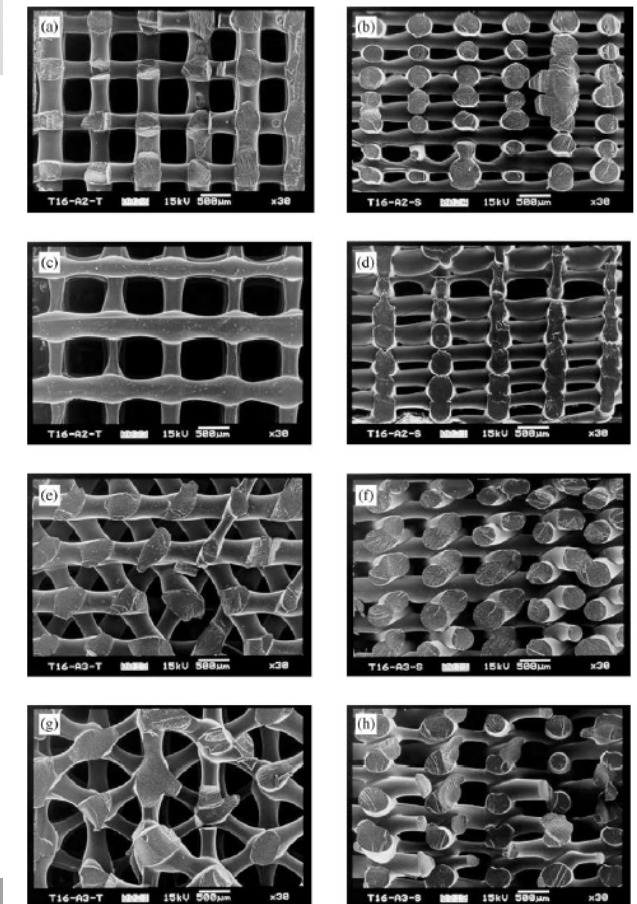
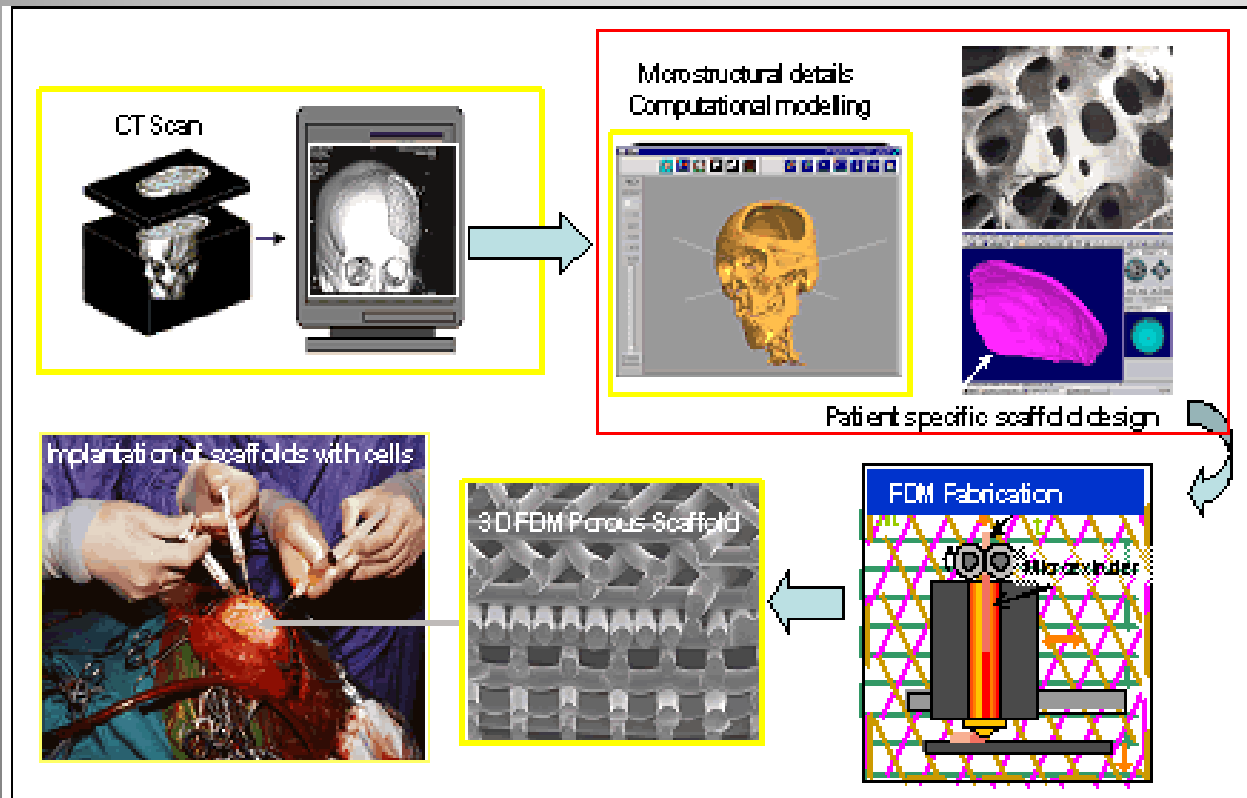




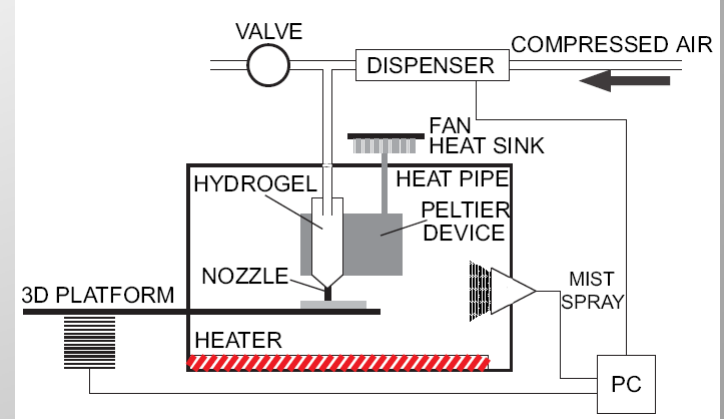
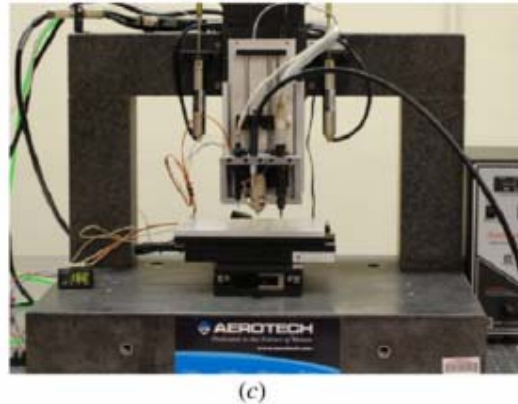
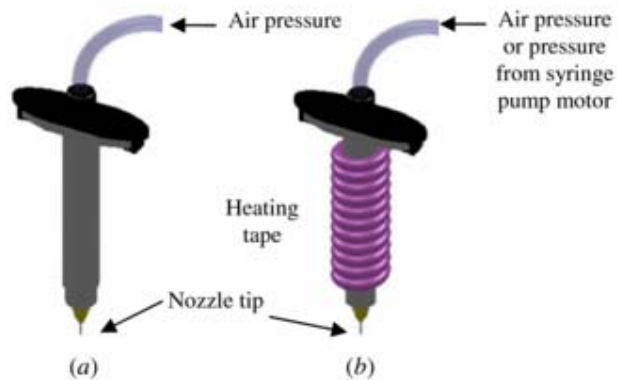
# FDM BioExtrusion

Biokompatibilni materijali: *Polycaprolactone (PCL)*

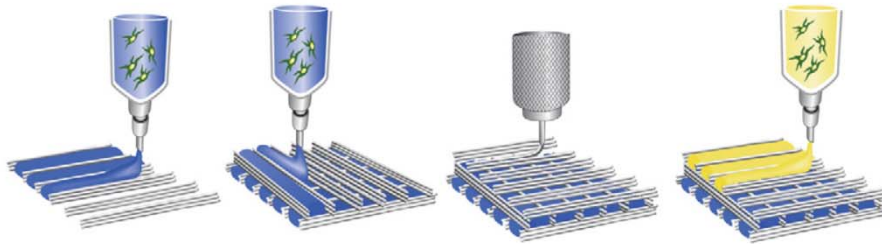
## Scaffolds



# FDM BioExtrusion



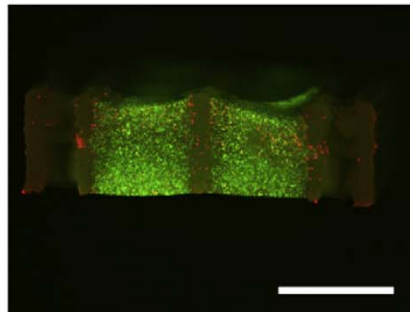
A



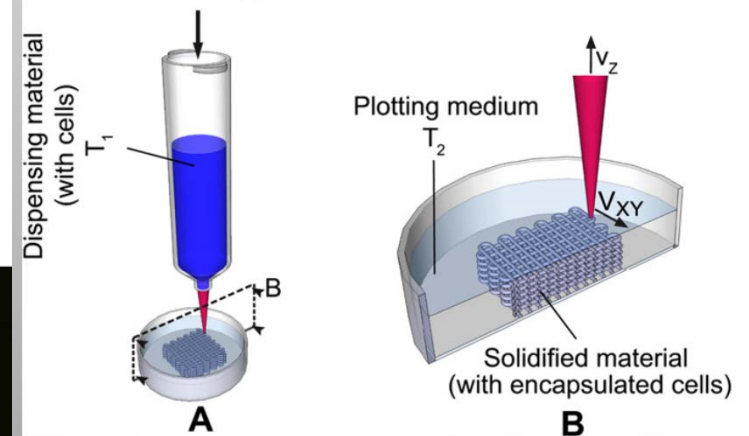
3



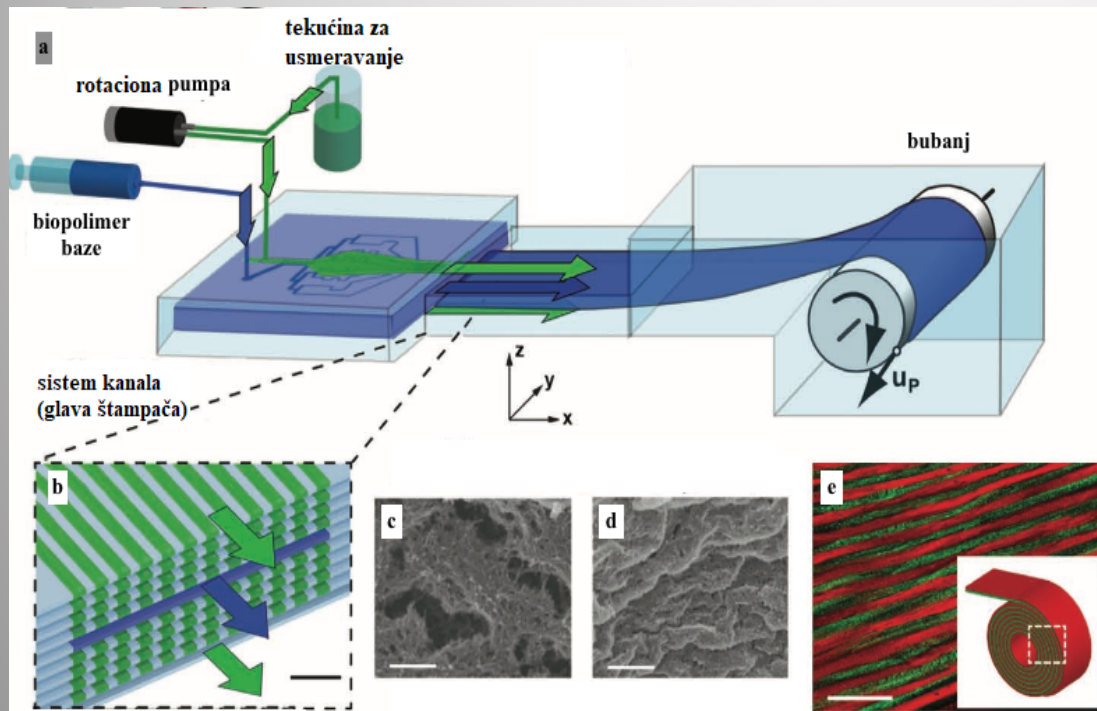
C



Pressure / Stepper motor



# 3D biošampač

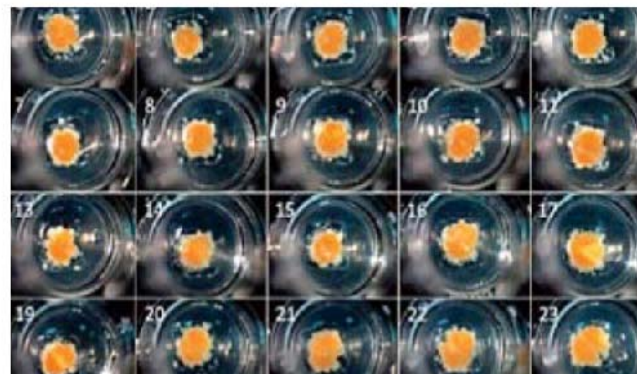
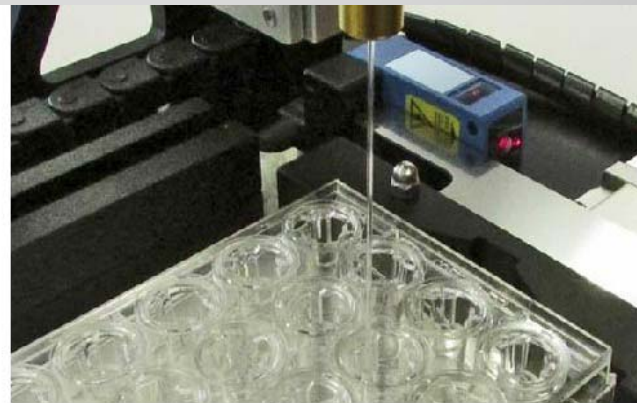


a) šematski prikaz biošampača sa smeštajem bazne (plavo) i tečnosti za usmeravanje (zeleno), potisne i rotacione pumpe; glave šampača, smer kretanja i bubnja za prikupljanje, b) smeštaj biopolimera u možaičnom hidrogelu, c i d) uvećane fotografije pora unutar biopolimera, e) fluorescentni prikaz biopolimera smeštenog na bubnju za prikupljanje (za potrebe snimanja i prikaza u boji, u slojeve su dodane plave/zelene mikrogranule), f) fotografija biošampača



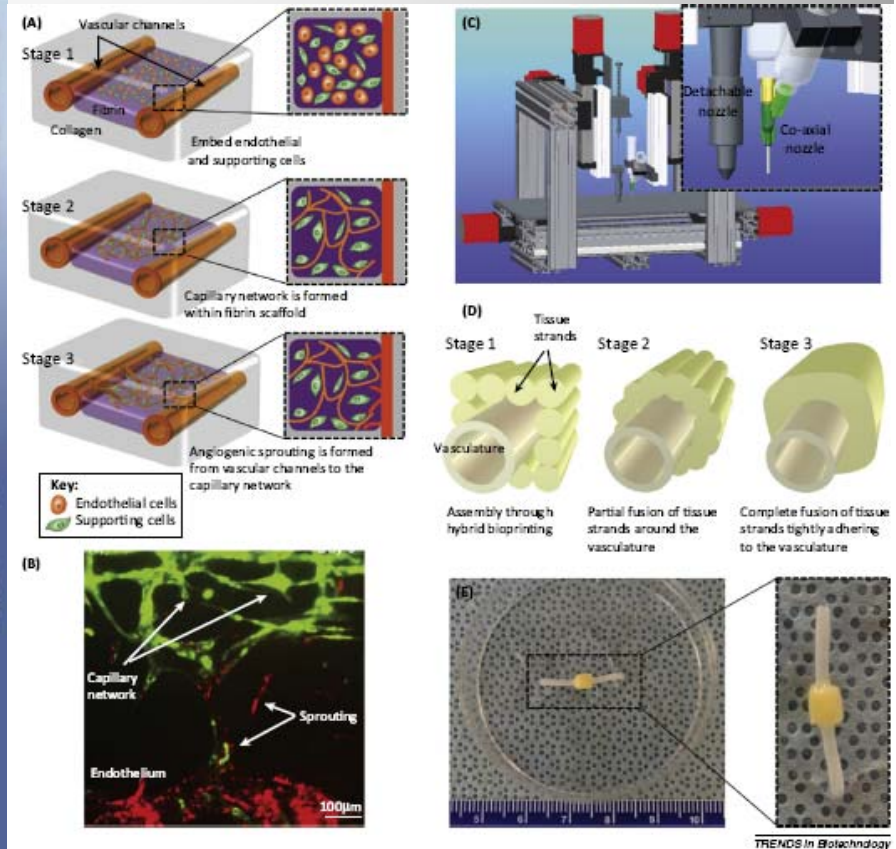
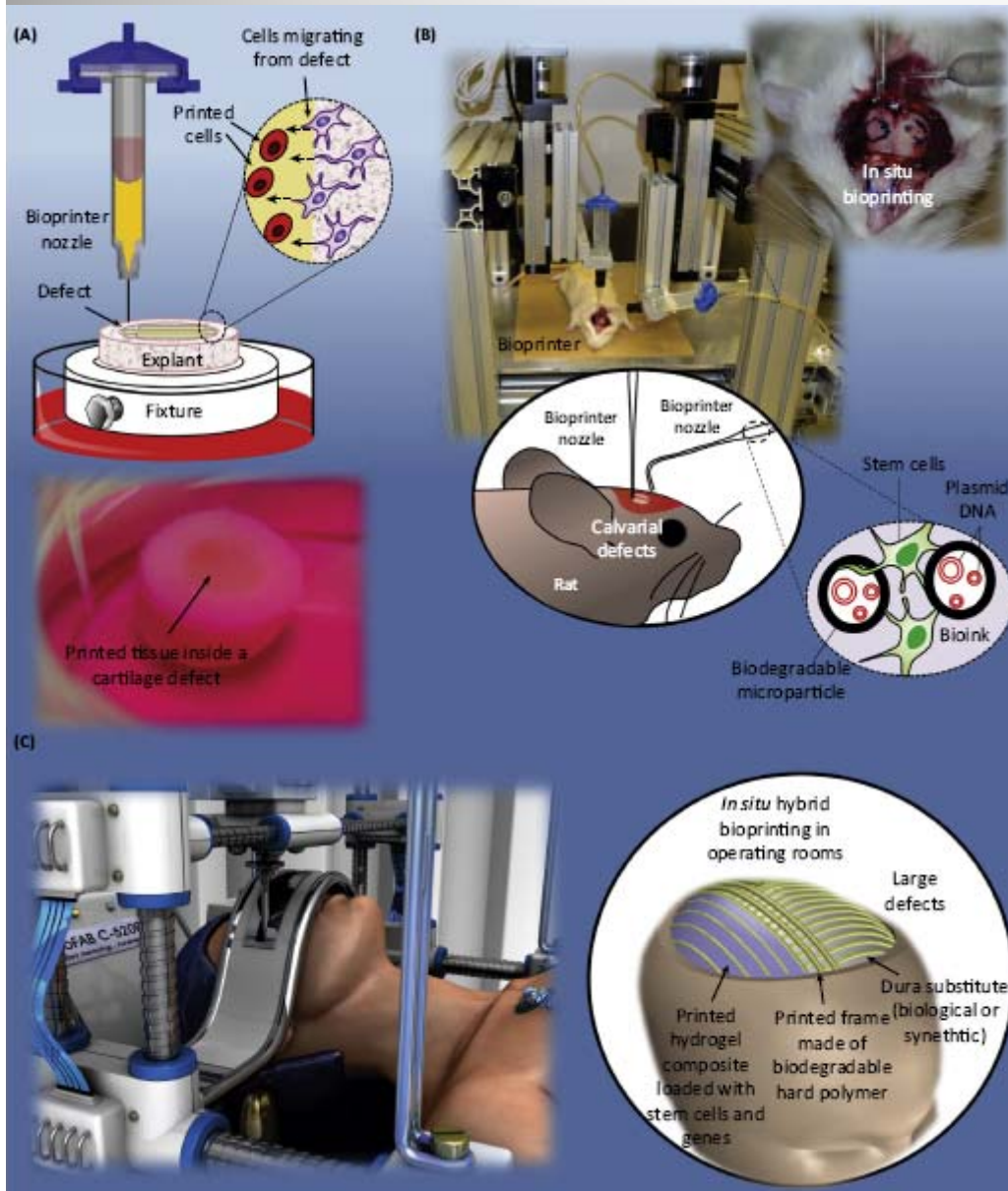
# 3D biošampač

- Američka kompanija Organovo pomoću bio šampača stvorila je trodimenzionalni model tkiva jetre debljine nekoliko milimetara.
- Trenutno se koristi za klinička i farmaceutska ispitivanja lekova i njihovih učinaka, znatno skraćujući vreme potrebno za njihovo puštanje na tržište.
- Osnovna razlika između klasično uzgojenog tkiva i navedenog biošampanog je njihov vek trajanja: dok klasično može preživeti nekoliko dana, biošampano tkivo može preživeti minimalno dve nedelje





# 3D Bioprinting



# Current Progress



***Uho:*** 250  $\mu\text{m}$  ćelije i kolagen iz repa pacova omogućavaju izradu ljudskog uha za 15 min. Post-processing: 3 meseca. Služi deci sa oštećenjem sluha zbog nepravilnog oblikovanja spoljnog uha.



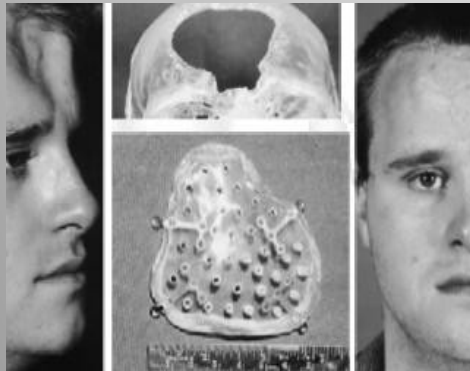
***Bubreg:*** Gradnja sloj-po-sloj skeleta (scaffold) i deponovanje ćelija bubrega. Tkivo koje će se transplantirati pacijentu. Degradacija skeleta - in vivo.



***Krvni sudovi:*** Čvrsti i netoksični filament na bazi šećera čine jezgro. Ćelije deponovane oko filamenata. Protok krvi rastvara šećer.



***Graftovi kože:*** lasersko skeniranje rane za određivanje dubine i područja. Jedna mlaznica deponuje enzime, a druga ćelije. Sloj kože konačno je zatvoren ljudskim ćelijama. Korisno u ratnim i katastrofalnim zonama.



***Kosti:*** Štampanje skeleta sa keramičkim ili titan prahom, inkubacija od 1 dana u kulturi matičnih ćelija čoveka. Primena kod složenih lomova.

\$65,000,000,000

***Testiranje lekova***



# Bioprinting - Prognosis

## *Research (today)*

- Printing new Skin
- Printing cartilage & bones
- Printing replacement tissues
- Printing replacement organs

## *Technology Adoption ( after 5- 8 years)*

- Specific organ tissue replacement for important organs like heart and kidney.
- Personalized replacement for 3D printed joints with custom fit.
- Life saving 3D printed organ replacement.

## *Commercialization (after 10- 15 years)*

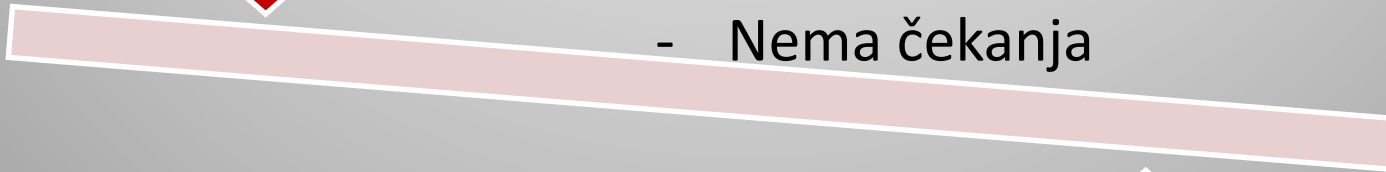
- Replacement of 3D printed organs at affordable price.
- Liver– Kidney replacement companies reach maturity.
- 3D printed replacement for all body organs available.



# Za & Protiv



- Veštački organ personalizovan pomoću sopstvenih ćelija pacijenata
- Nema odbacivanja organa
- Nema potrebe za imunosupresivima koji su potrebni nakon redovne transplantacije organa
- Nema potrebe za donorima
- Nema čekanja



- Visoka cena Bio Printera
- Primena matičnih ćelija - kontraverze
- Cena matičnih ćelija



## Evolution of Tissue Engineering and Bioprinting

- 1984** Charles Hull invented stereolithography, which enabled a tangible 3D object to be created from digital data. The technology was used to create a 3D model from a picture and enabled testing the design before investing in a larger manufacturing program.
- 1996** Dr. Gabor Forgacs (ONVD founder) and colleagues made the observation that cells stick together during embryonic development and move together in clumps with liquid-like properties, manufacturing program.
- Circa 2000** The first human patients underwent urinary bladder augmentation using a synthetic scaffold seeded with the patients' own cells (engineered, not printed).
- 2003** Thomas Boland's lab at Clemson modified an inkjet printer to accommodate and dispense cells in scaffolds.
- 2004** Dr. Forgacs developed new technology to engineer 3D tissue with only cells, no scaffolds.
- 2009** Organovo creates the NovoGen MMX Bioprinter using Forgacs technology.
- 2009-2010** Organovo prints the first human blood vessel without the use of scaffolds.
- 2011** Organovo develops multiple drug discovery platforms, 3D bioprinted disease models made from human cells.
- Today** small-scale tissues for drug discovery and toxicity testing
- Tomorrow** simple tissues for implant, (e.g. cardiac patches or segments of tubes, like blood vessels)
- Future** lobes or pieces of organs\*  
\*For example, a patient who needs a liver transplant has lost about 80-90 % of their liver function, so a full liver is not needed to make a therapeutic impact.
- Very Future** full organs
- What Has Been Achieved So Far**
- Nerve guides - 2009
  - Blood vessel - 2010
  - Cardiac sheet or patch - 2011
  - Lung tissue - 2012

## Welcome Let's begin: HOW IT WORKS

### Main Components:



### Creating the BioInk

#### 1 Cells

Sourced from patient biopsies or stem cells, and grown using standard methods and techniques.



#### 3 Collected

When enough cells are produced, they are collected to make BioInk.

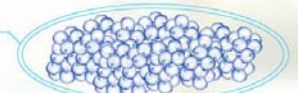
**CELLS ARE THEN**

- formed into spheroids or other shapes
- loaded into a cartridge to create the BioInk



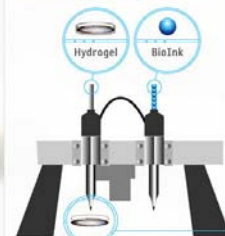
#### 2 Cultured

Cells are cultured in a growth medium, enabling cells to multiply and grow.



### Printing Process

#### NovoGen MMX bioprinter



NovoGen MMX bioprinter is used to:

print a layer of hydrogel (an inert water-based gel), which functions as a space holder for the printed tissue

deposit bioink spheroids into the layer of hydrogel

Hydrogel/spheroid print process is repeated

As layers are built upon, the spheroids naturally fuse together



#### Maturation

Printed tissue is left in the growth medium for several weeks to grow and mature. During which time, the hydrogel is removed.



#### Use

Printed tissues can then be used in medical research to discover and test new drugs and investigate causes of human diseases. And, in the future, as therapies.

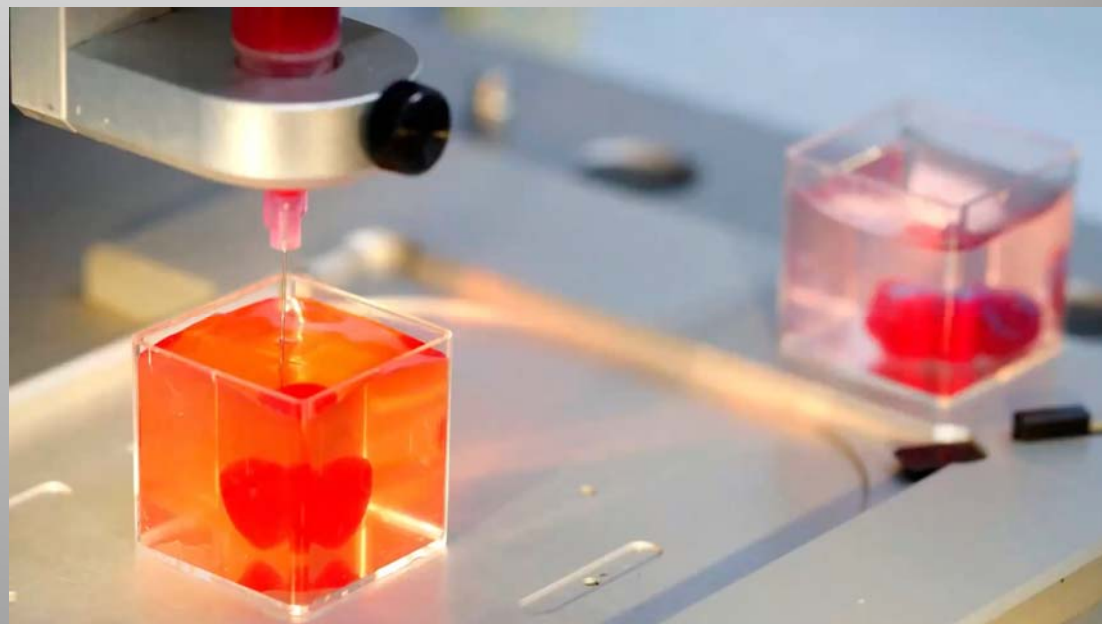


## PRINTING A LIVER

The eventual, longterm goals for bioprinting are to produce full organs. Using today's technology, an average sized liver (1,200cc) and liver lobe (120cc) would take 10 days to print. As technology improves the speed at which human tissue and, eventually, full organs can be printed will vastly improve.



It would take 1,690,912,929,600 hours to print a liver for every member of the human race using today's processes.



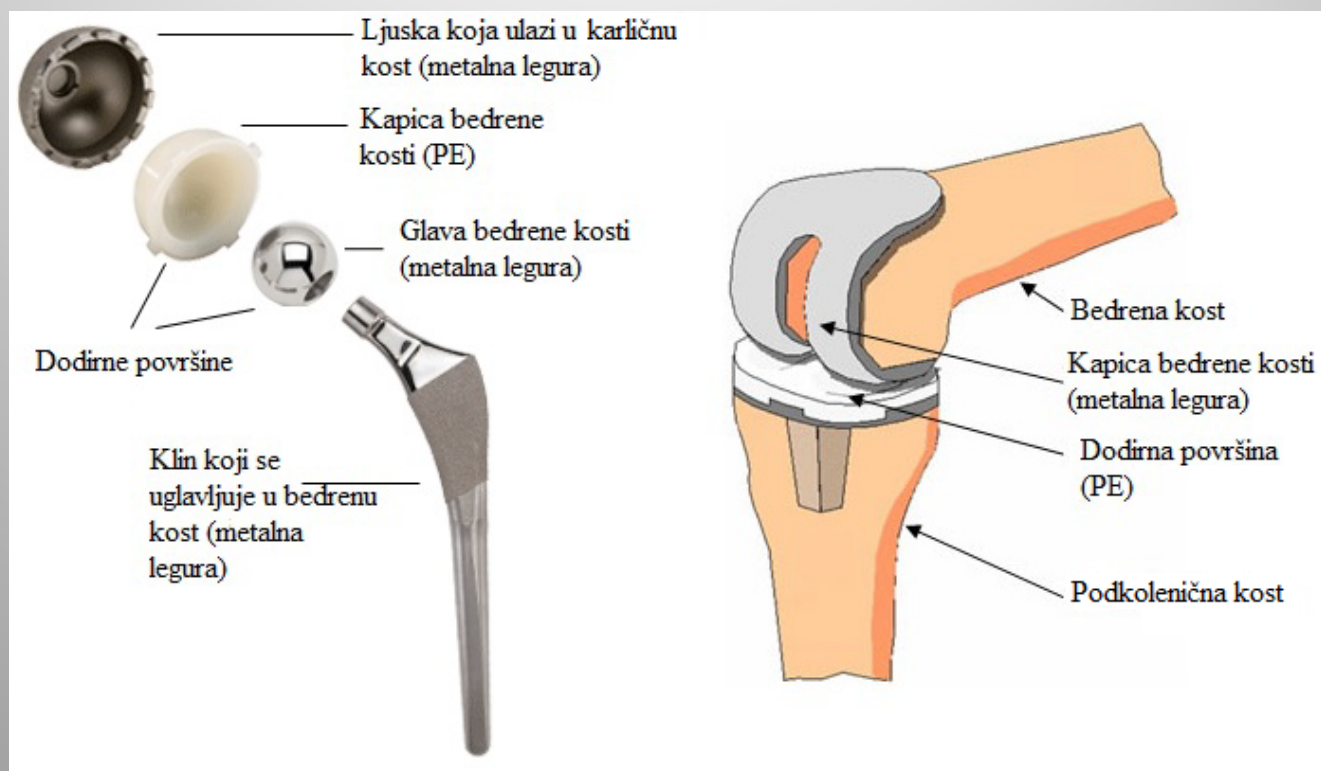
# 3D Bioprinting

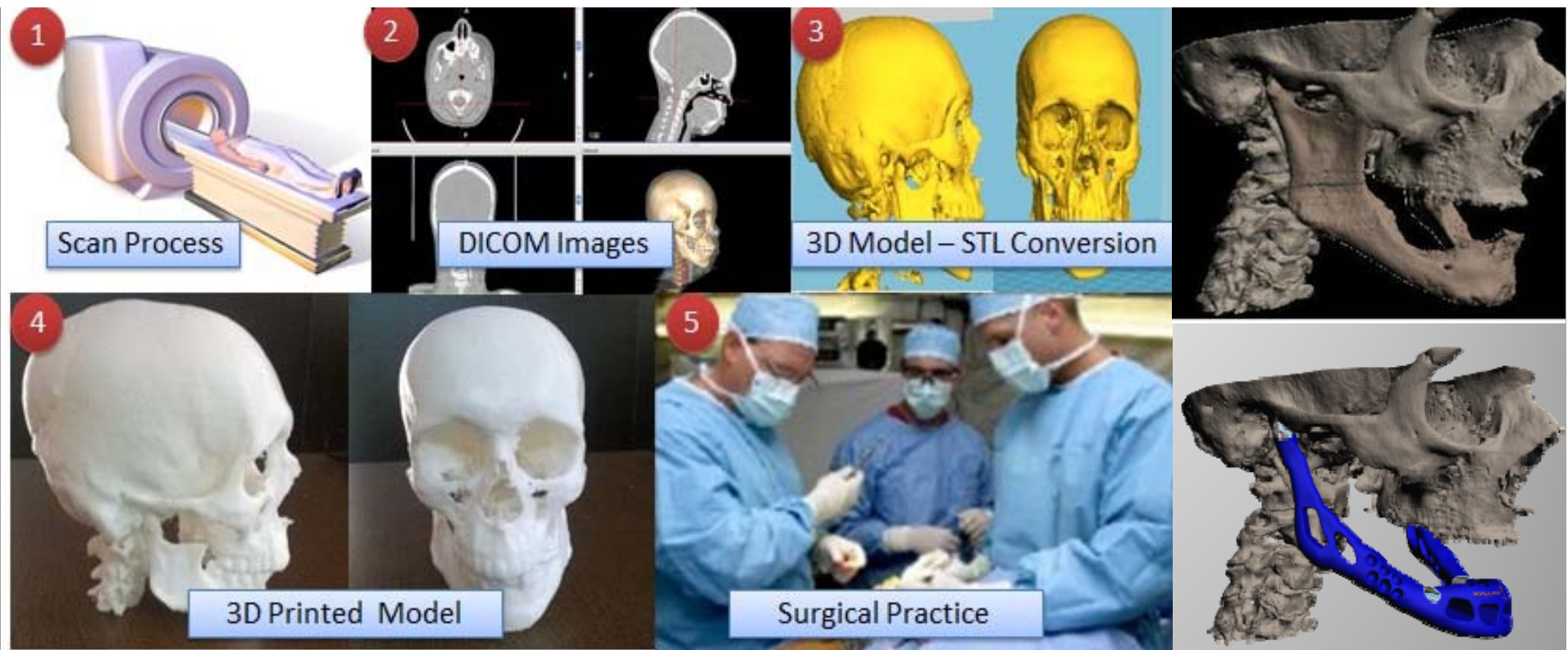
## Individualizovani implantati i proteze

- Moguće je izraditi implantate i proteze bilo koje geometrije prevođenjem X-ray, MRI ili CT snimaka u digitalne .stl 3D print datoteke
- Na ovaj način, 3D štampanje uspešno se koristi u sektoru zdravstvene zaštite kako bi se napravili i standardni i složeni prilagođeni protetski udovi i hirurški implantati, ponekad u roku od 24 sata. Ovaj pristup se između ostalog koristi za izradu implantata za zube, kičmenog stuba i kuka.



## Individualizovani implantati i proteze





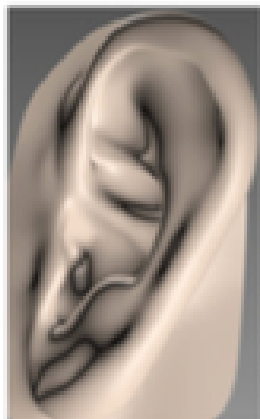
Medical imaging  
(CT, MRI)

3D CAD model

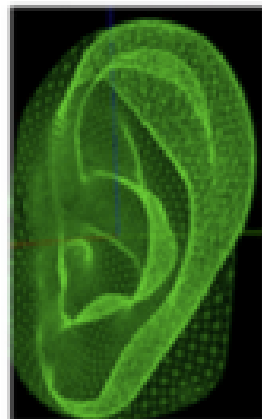
Visualized motion  
program

3D printing process

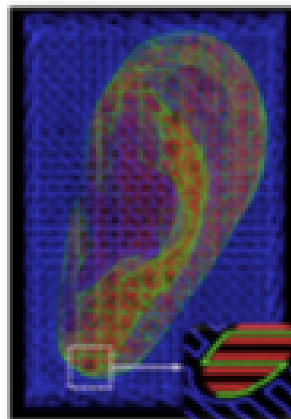
3D bioprinted  
tissue product



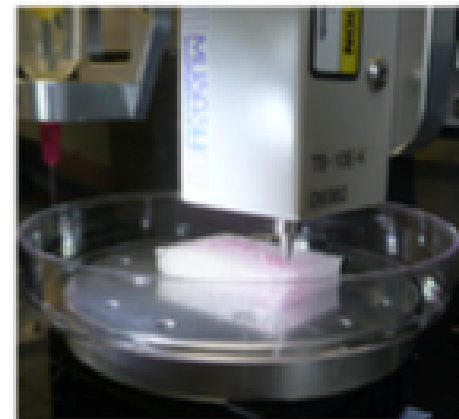
DICOM format



STL format

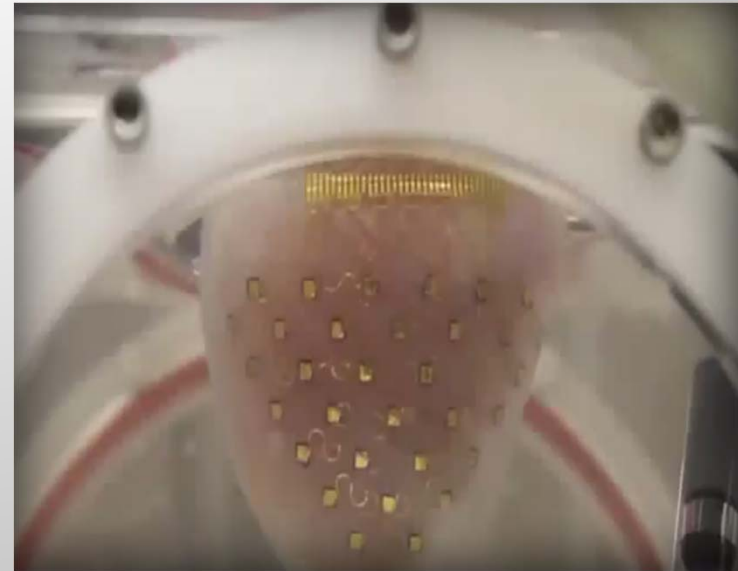
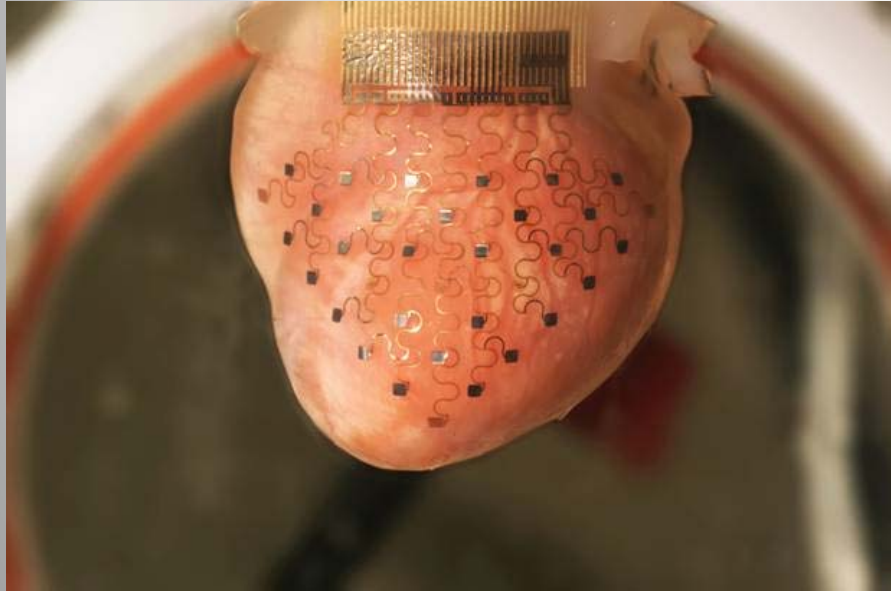


Text-based  
command list



10 mm

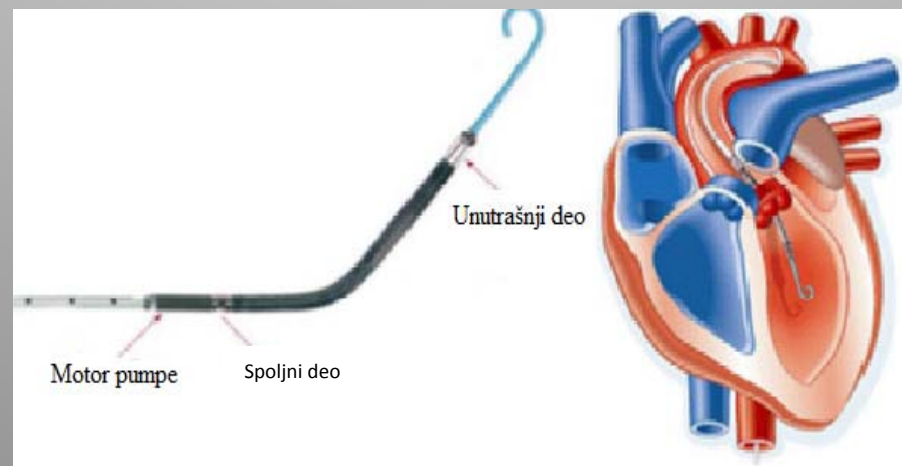
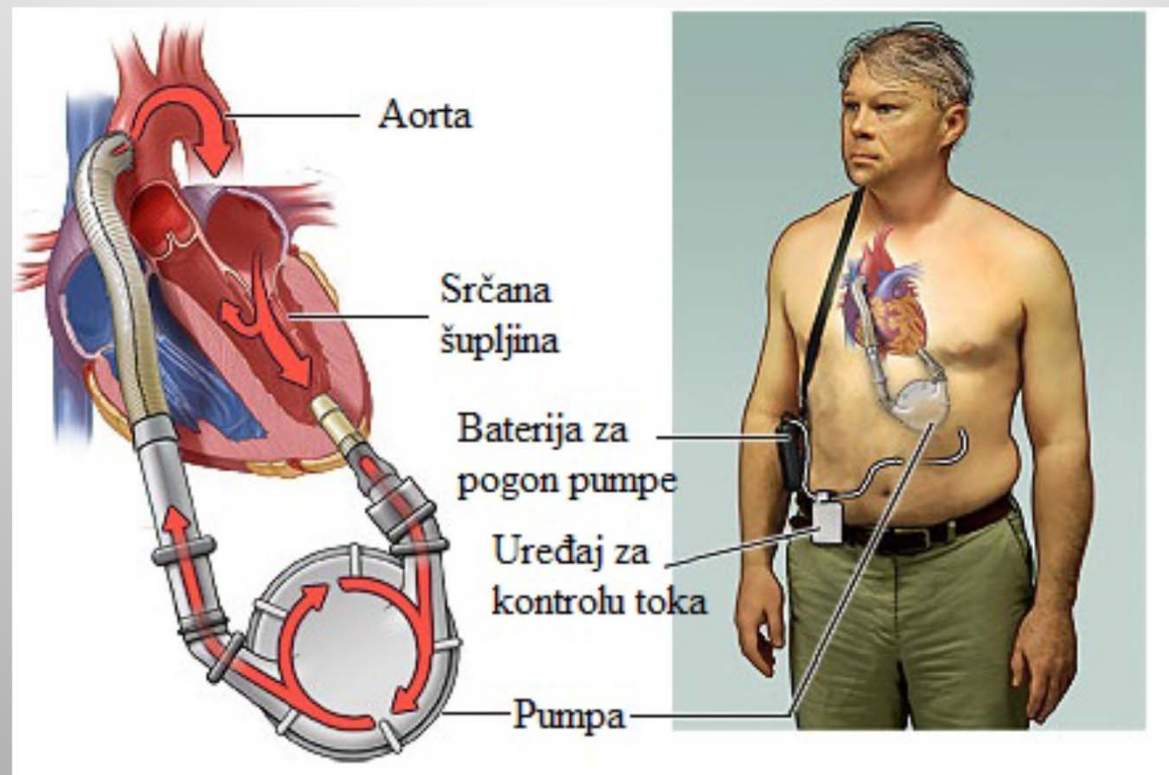
## Individualizovani implantati i proteze



Naučnici su stvorili novu revolucionarnu elektronsku membranu koja bi mogla zameniti pejsmejkere. Obmotana oko srca omogućila je normalne otkucaje tokom vremena. Uređaj koristi „mrežno senzore i elektrode poput paukove mreže“ kako bi kontinuirano nadgledao električnu aktivnost srca i slao električne impulse za održavanje zdravog broja otkucaja srca. Istraživači su koristili tehnologiju računarskog modeliranja i 3D štampač da bi napravili prototipsku membranu i uklopili je u srce zeca, održavajući organ da savršeno funkcioniše „van tela u odgovarajućem rastvoru”.

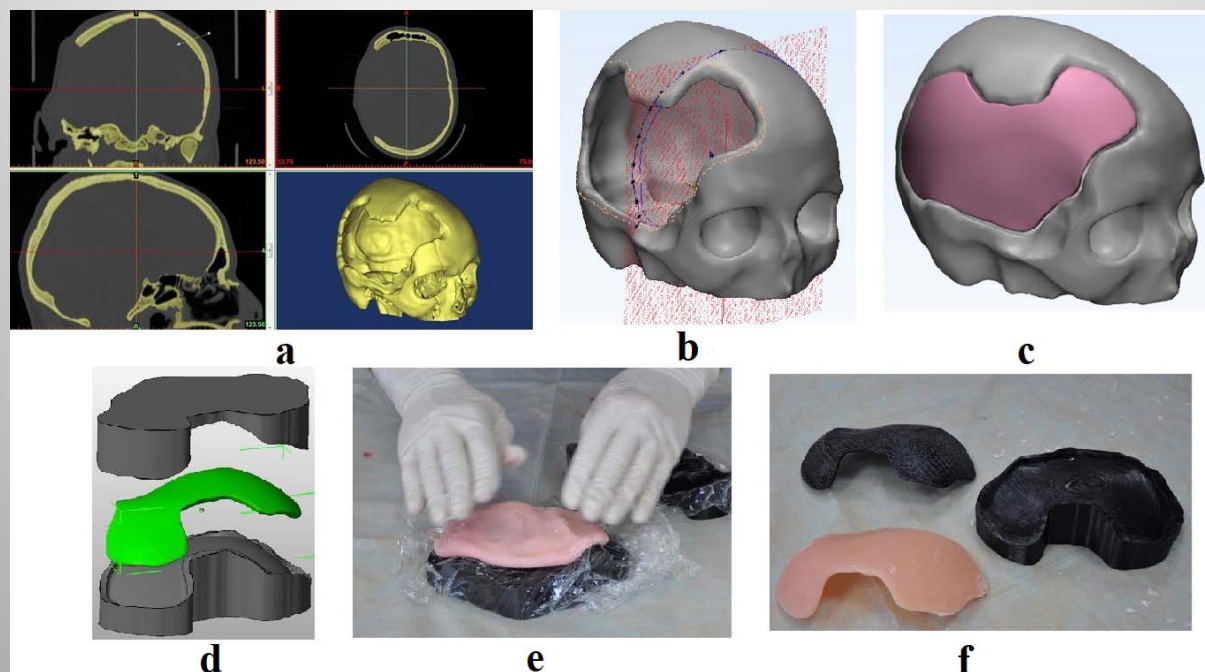


# Srčana pumpa





# Individualizovani implantati i proteze



Faze izrade implantata od akrilnih materijala:

a) snimke CT-a, b,c) prikaz modela lobanje s defektom i implantatom u programu za 3D prikaz, d) kalup i odlivak, e) izrada odlivka, f) gotovi deo (dole levo)

## Proteza ruke dobjene 3D štampom



**ZA BOLJI I LEPŠI ŽIVOT DEVOJČICE ROĐENE BEZ RUKE**

**OVO JE VEŠTAČKA RUKA IZ 3D ŠTAMPAČA  
ZA DEVOJČICU IZ VRANJA (4): Pogledajte  
podvig naučnog tima sa Fakulteta  
tehničkih nauka u Novom Sadu! (FOTO)**

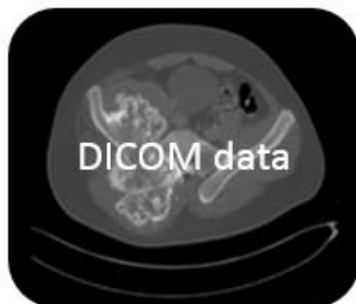
## Anatomski modeli za hiruršku pripremu

- Pojedinačne varijacije i složenosti ljudskog tela čine korišćenje 3D štampanih modela idealne za hiruršku pripremu.
- 3D štampani modeli mogu biti korisni za planiranje hirurškog zahvata.
- 3D štampani neuroanatomski modeli mogu biti naročito korisni za neurohirurge za prikaz nekih od najkomplikovanijih struktura u ljudskom telu
- Kompleksne deformacije kičmog stuba takođe se mogu bolje proučavati korišćenjem 3D modela.

# PATIENT COMMUNICATION MODELS

Courtesy of Maimonides Bone and Joint Center, USA

- 3D color bone model quickly and accurately created in Bespoke Modeling from CT scan
- Affordable 50% scale printed model helps patient communication and assists surgery practice sessions



*"I found the 3D model invaluable in patient education, surgical planning, and physician training."  
— Dr. Howard Goodman*



## Anatomske modeli jetre za transplataciju



Poređenje 3D štampane i stvarne jetre primatelja (levo) i donora (desno)

## Uređaji za davanje lekova i personalizovani oblici dozatora

- Tehnologije 3D štampanja se već uveliko koriste u farmaceutskim istraživanjima i proizvodnji, i donose neka revolucionarna rešenja u ovu oblast.
- Prednosti 3D štampanja uključuju preciznu kontrolu doze leka, visoku reproduktivnost i sposobnost proizvodnje razni formih dozatora sa kompleksnim profilima za otpuštanje leka
- Složeni procesi proizvodnje lekova takođe bi mogli biti standardizovani korišćenjem 3D štampanja kako bi ih učinili jednostavnijim i održivijim.
- Tehnologija 3D štampanja bi mogla biti veoma važna u razvoju personalizovane medicine.

- Personalizovani 3D štampani lekovi mogu naročito biti korisni kod pacijenata za koje se zna da imaju farmakogenetski polimorfizam ili koji koriste lekove sa uskim terapijskim indikacijama
- Farmakolozi mogu analizirati farmakogenetski profil pacijenta, kao i druge karakteristike kao što su uzrast, rasa ili pol, da bi se odredila optimalna doza leka.
- Farmakolog tada može da pravi (štampa) i distribuira personalizirane lekove putem automatizovanog 3D sistema za štampanje.
- Ako je potrebno, doza se može dalje prilagoditi na osnovu kliničkog odgovora.

