

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский университет
«Московский институт электронной техники»

Факультет электроники и компьютерных технологий
Кафедра биомедицинских систем

Корнеев Юрий Андреевич

**Лазерные методы создания биосовместимых
наноматериалов для восстановления врожденных
и приобретенных патологий сердечно-сосудистой
системы**

Научный руководитель:
к.ф.-м.н., доцент Маслобоев Ю.П.

Москва 2018

Классификация методов лазерного биопринтинга



Прямая лазерная печать

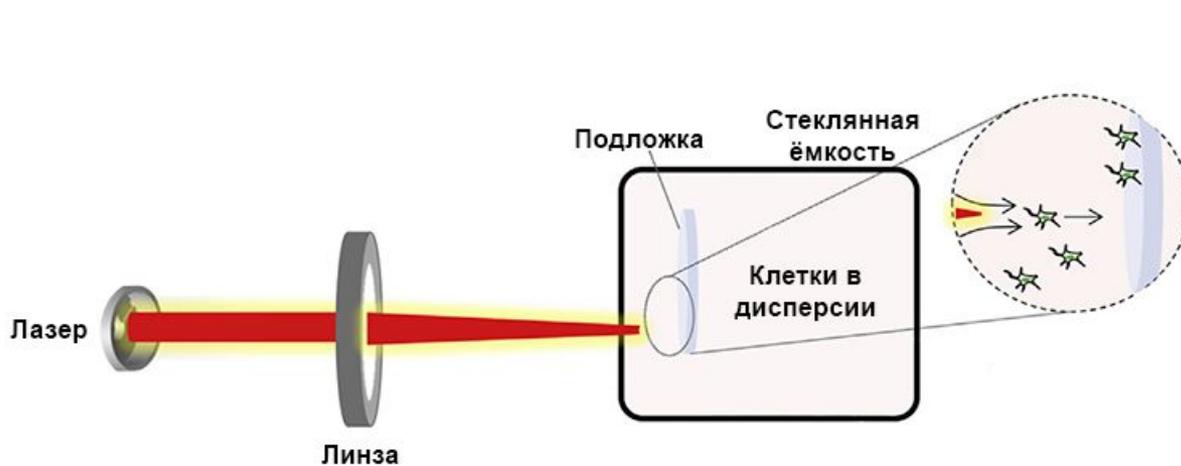


Рис. 1 Принципиальная схема установки для прямой лазерной печати

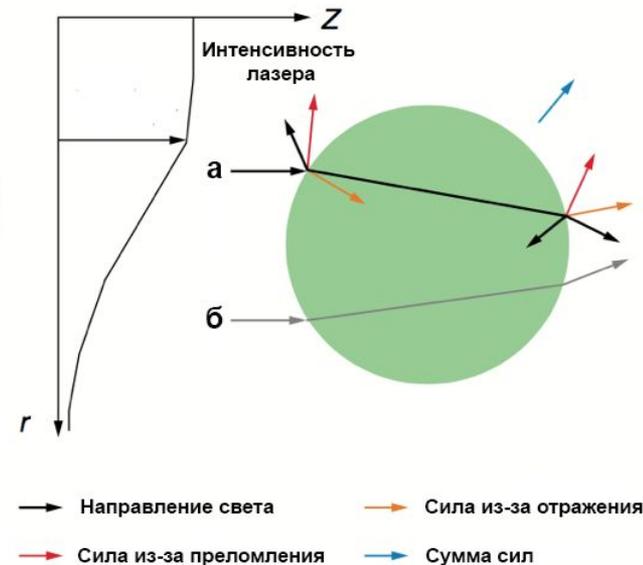
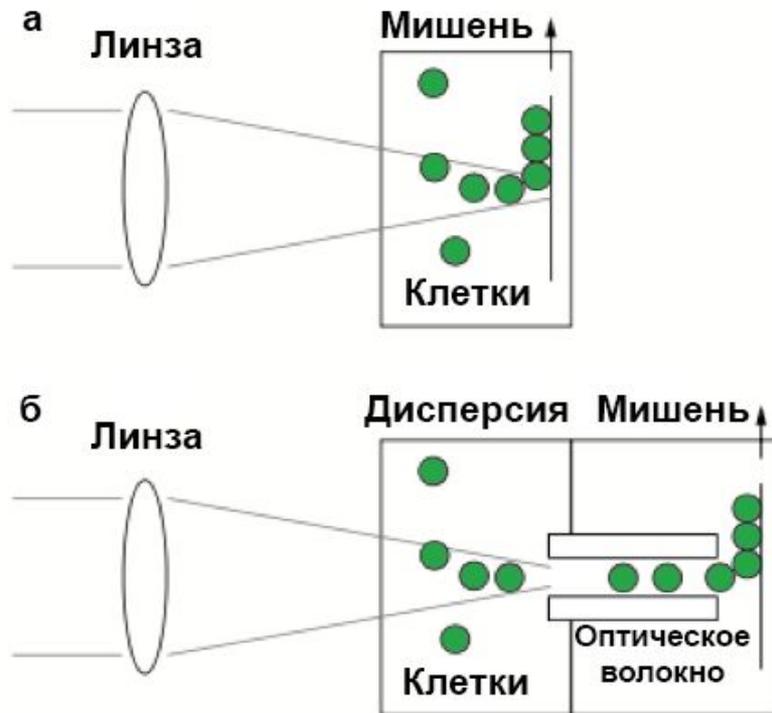


Рис. 2 Схема действия сил лазерного излучения на диэлектрическую частицу при прямой лазерной печати

Прямая лазерная печать с ОПТИЧЕСКИМ ВОЛОКНОМ



- Защита от естественного конвективного движения жидкости
- Увеличенное расстояние переноса
- Определенный профиль луча
- Изоляция подложки от источника
- Возможность использования нескольких источников

Рис. 1 Схема принципа действия прямой лазерной печати клетками без использования оптоволокну (а) и с использованием (б)

Прямая импульсная лазерная печать испарением со вспомогательной матрицы



Рис. 1 Принципиальная схема установки для прямой импульсной лазерной печати испарением со вспомогательной матрицы

Лазерно-индуцированный прямой перенос

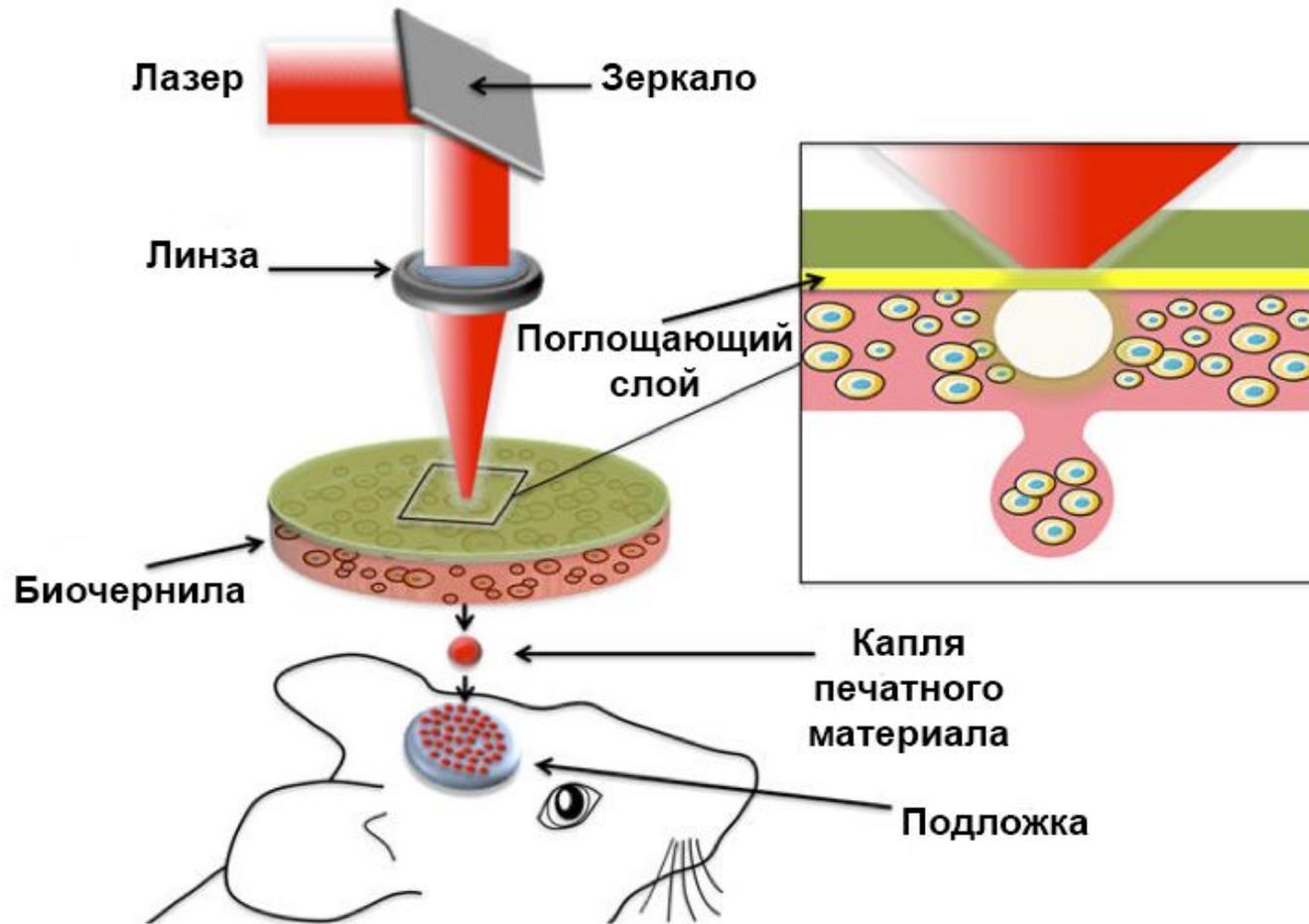


Рис. 1 Принципиальная схема установки
для лазерно-индуцированного
прямого переноса

Картридж для лазерно-индуцированного прямого переноса

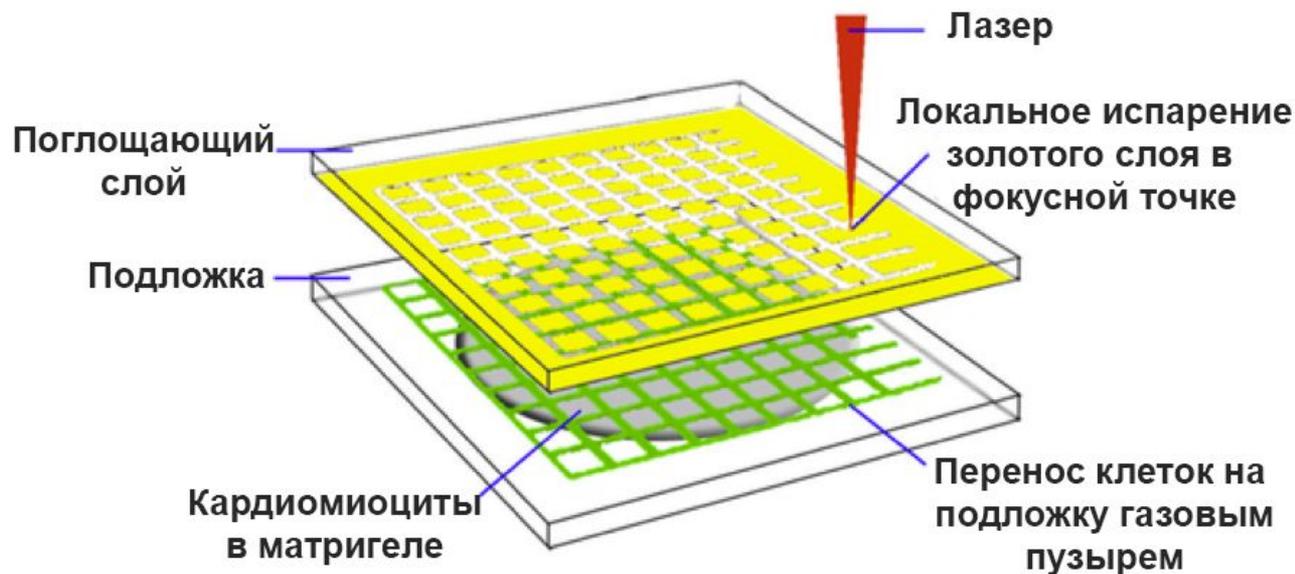


Рис. 1 Принципиальная схема картриджа для лазерно-индуцированного прямого переноса

Образование капель при лазерно-индуцированном прямом переносе

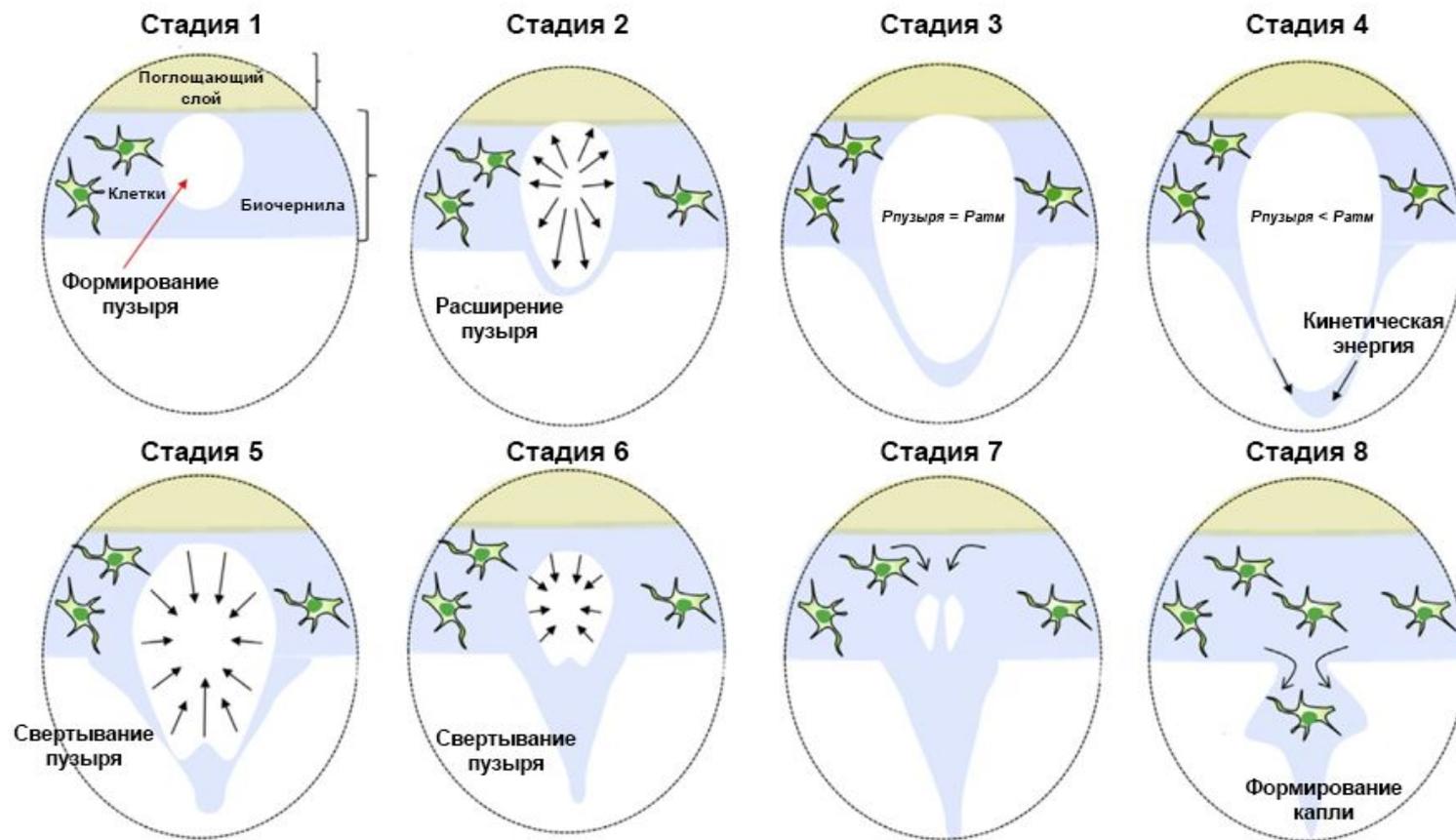
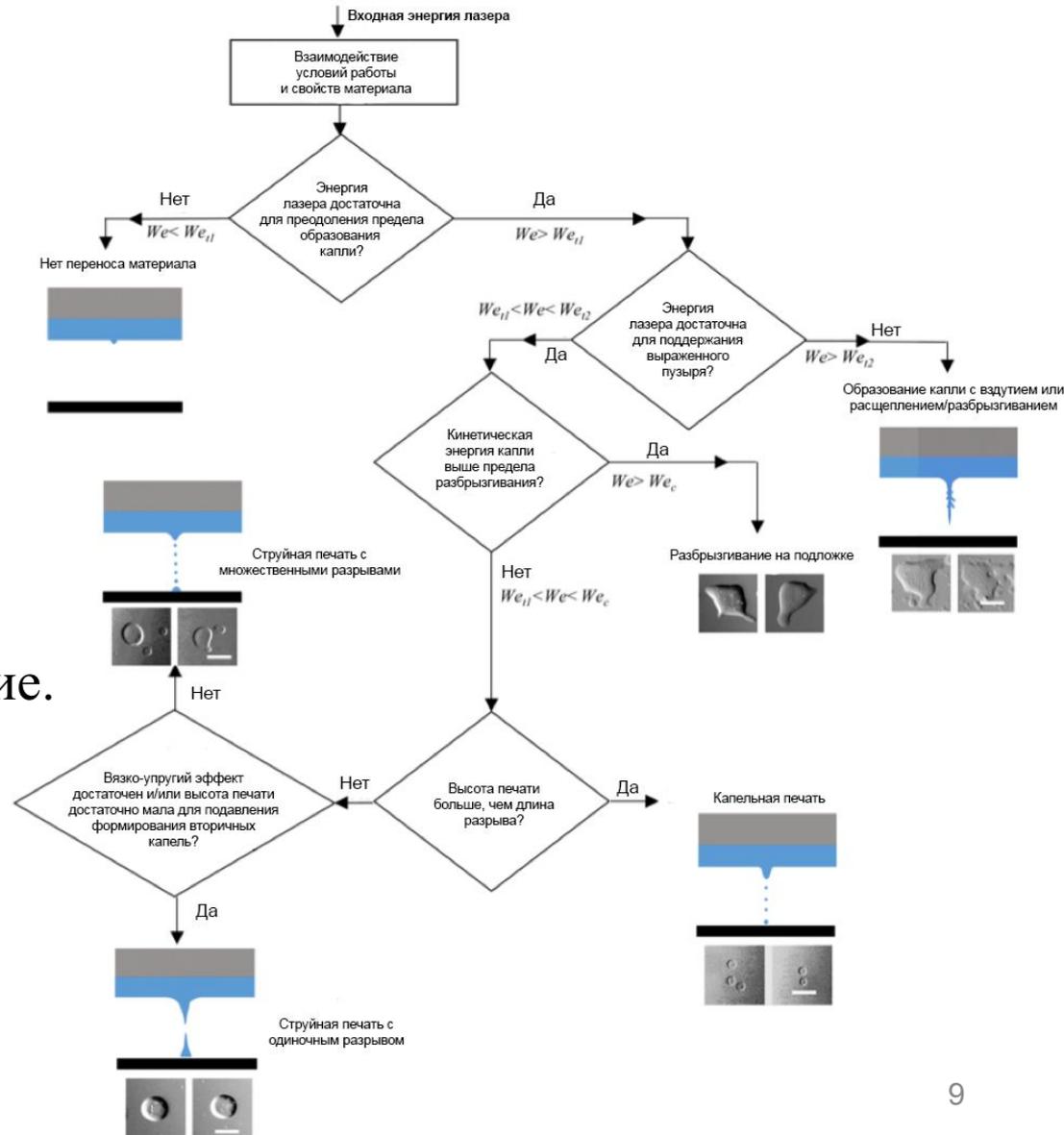


Рис. 1 Пошаговая схема физических взаимодействий при формировании парового пузыря и печатной струи

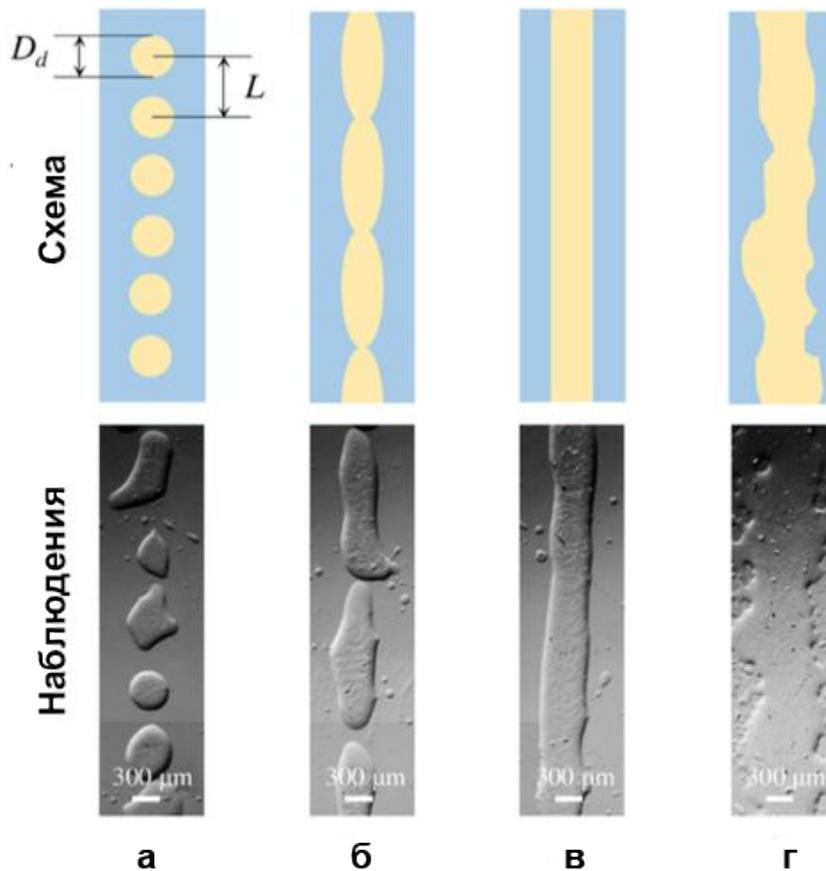
Дробление каплеь на подложке

$$We_e = \frac{\rho d U^2}{\sigma}$$

ρ - ПЛОТНОСТЬ ЖИДКОСТИ,
 d - диаметр капли,
 U - скорость,
 σ - поверхностное натяжение.



Морфология печатных следов



$$\lambda = 1 - \frac{L}{D_d},$$

Рис. 1 Четыре основные морфологии печатных следов (а) изолированные капли, (б) дискретные сегменты, (в) четко определенные линии, (г)

СПЛОШНАЯ ЛИНИЯ

Стереолитография

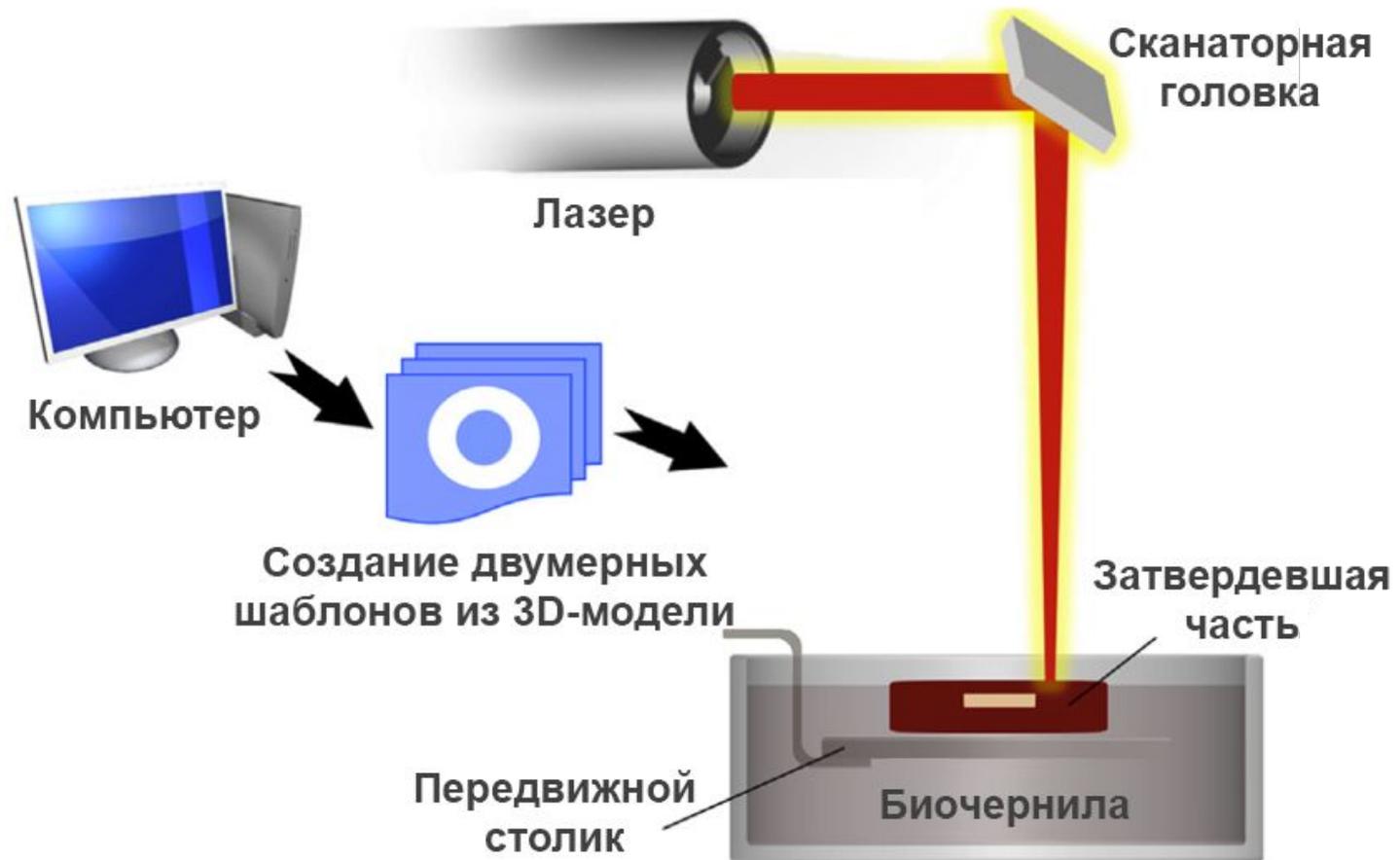


Рис. 1 Стандартная схема установки для лазерной стереолитографии

Расчет времени печати

$$t_i = \frac{S_i}{dw} \quad (1)$$

$$T = \sum_{i=1}^N \frac{S_i}{dw}, \quad (2)$$

$$T = \sum_{i=1}^N \frac{S_i dL}{dwdL} = \frac{\sum_{i=1}^N S_i dL}{dwdL} \quad (3)$$

$$T = \frac{V}{dwdL} \quad (4)$$

Динамическая оптическая проекционная стереолитография

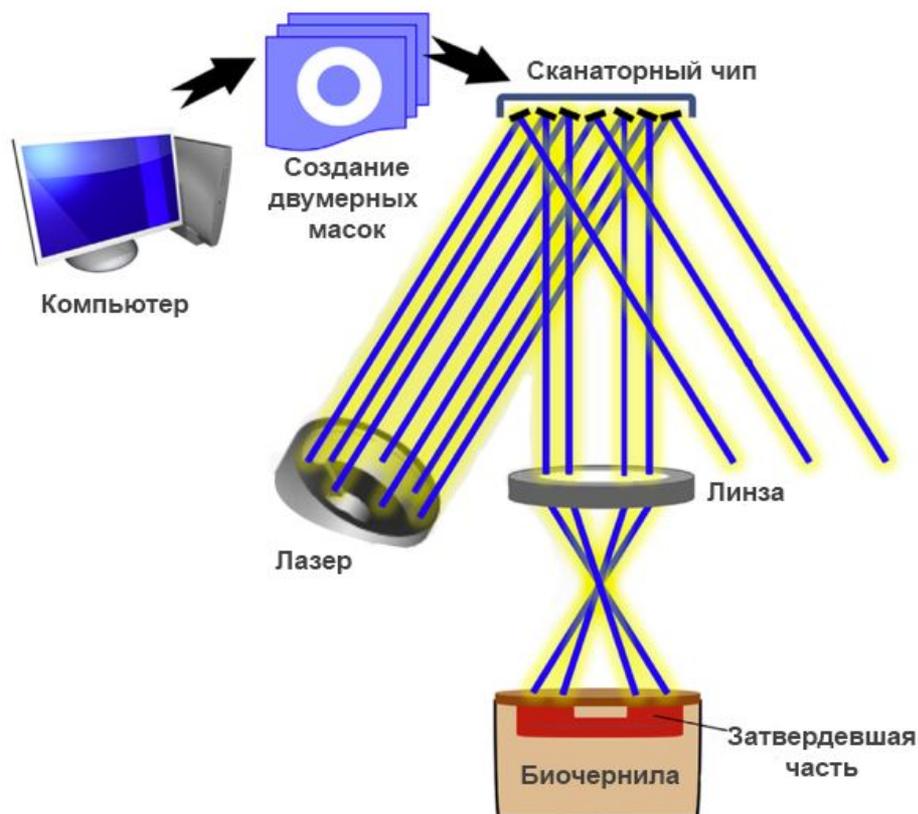


Рис. 1 Принципиальная схема установки для динамической оптической проекционной стереолитографии

Непрерывная динамическая оптическая проекционная стереолитография

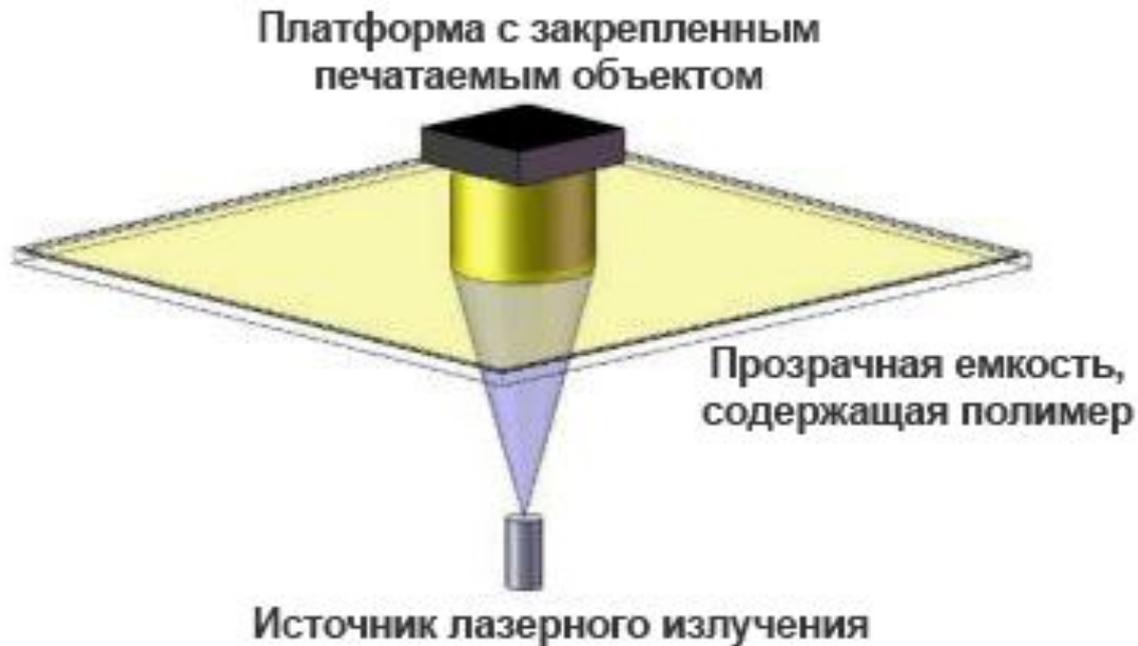


Рис. 1 Принципиальная схема установки для непрерывной динамической оптической проекционной стереолитографии

Применение динамической оптической проекционной стереолитографии в биоинженерии сердечно-сосудистой системы

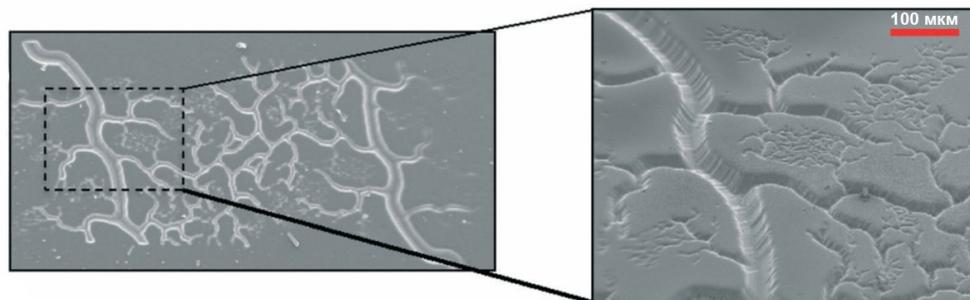


Рис. 1 Напечатанная по методу динамической оптической проекционной стереолитографии сосудистая сеть

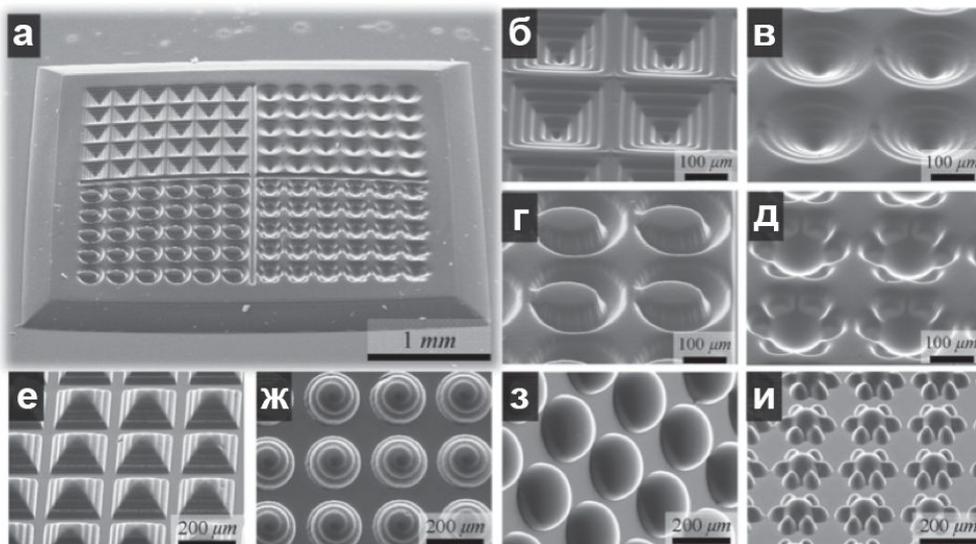


Рис. 2 Электронная микроскопия изображения готовых лунок и микроархитектур. а) подложка с различными микроструктурированными скважинами: б) ступенчатые; в) спиральные; г) в форме зародыша; е) в форме цветка, ж-к) аналогичные инверсные структуры

Двухфотонная полимеризация

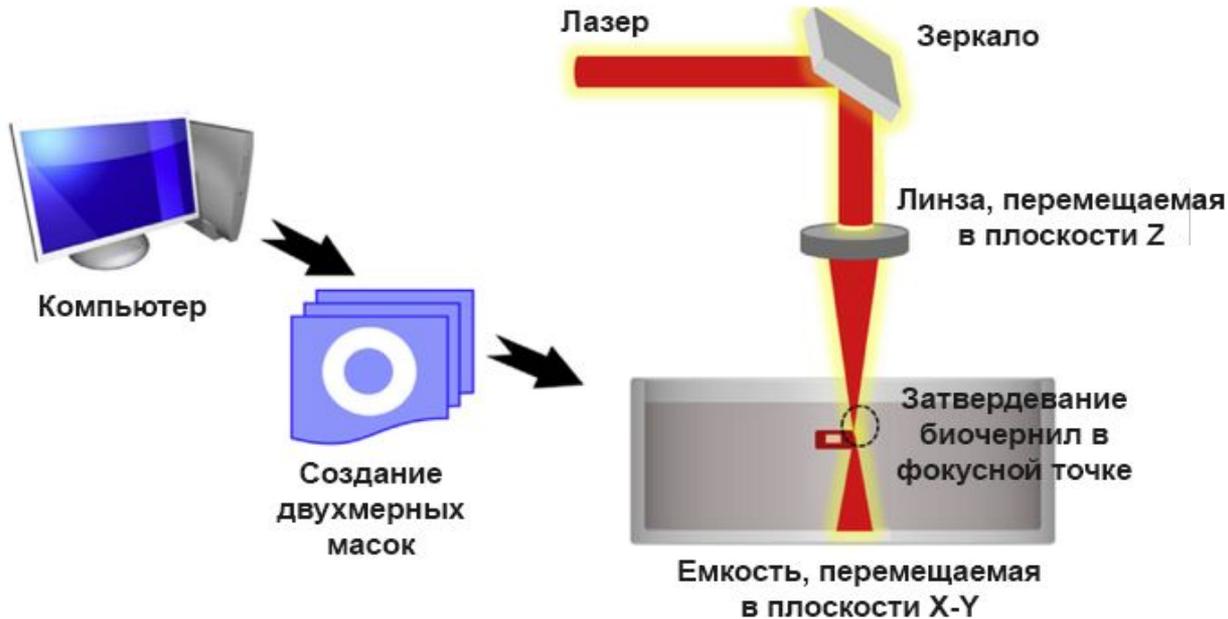
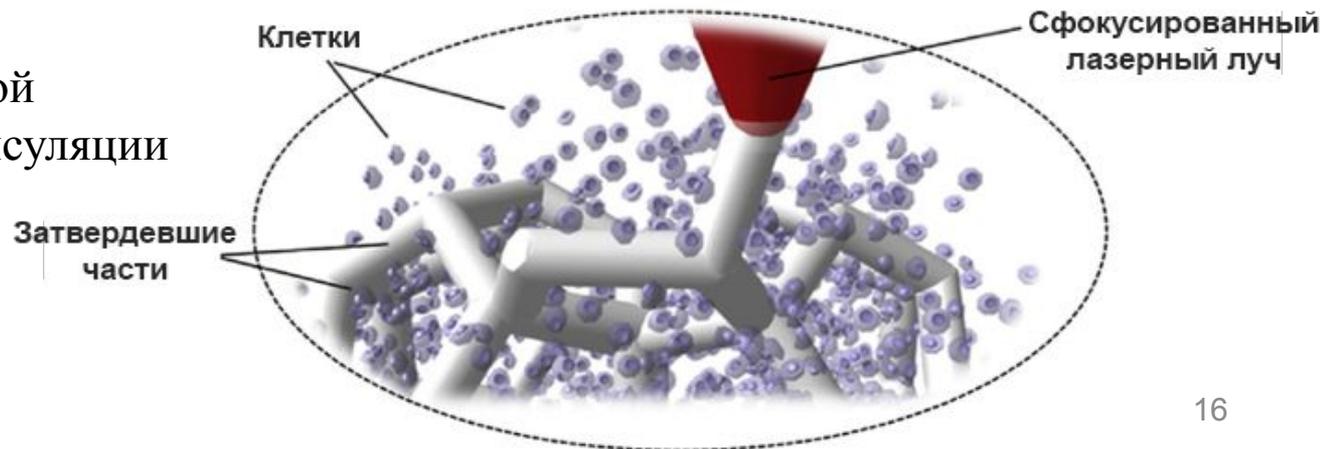


Рис. 1 Схема установки для двухфотонной полимеризации

Рис. 2 Схема двухфотонной полимеризации для инкапсуляции клеток



Применение двухфотонной полимеризации в биоинженерии сердечно-сосудистой системы

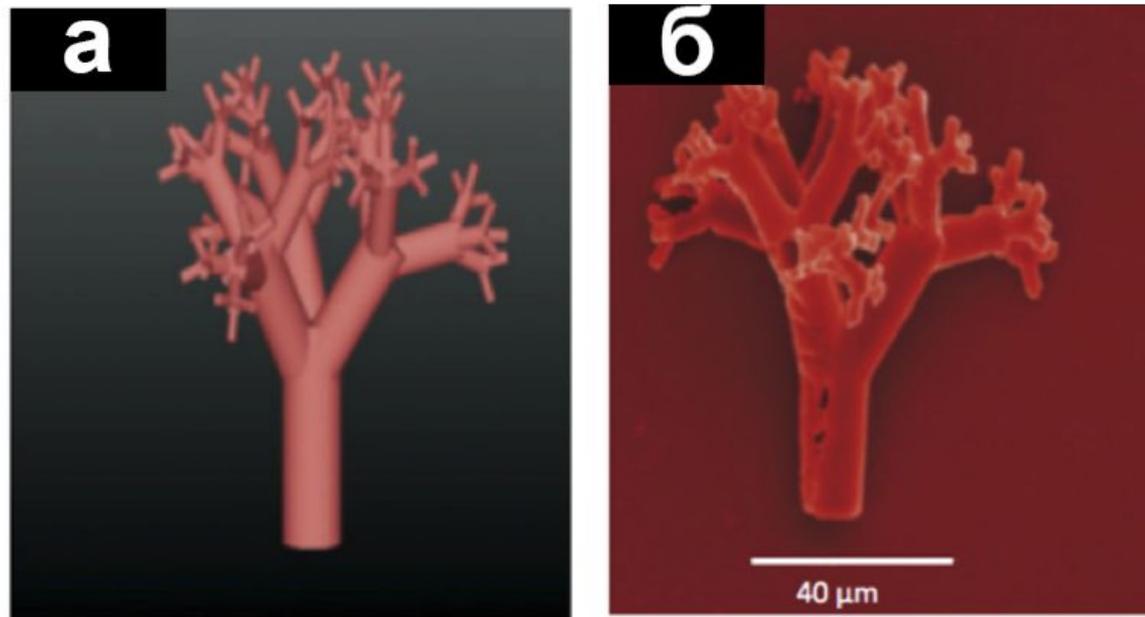


Рис. 1 Альвеолоподобные клеточные структуры (а) компьютерная модель; (б) изображение со сканирующего электронного микроскопа.

Селективное лазерное спекание

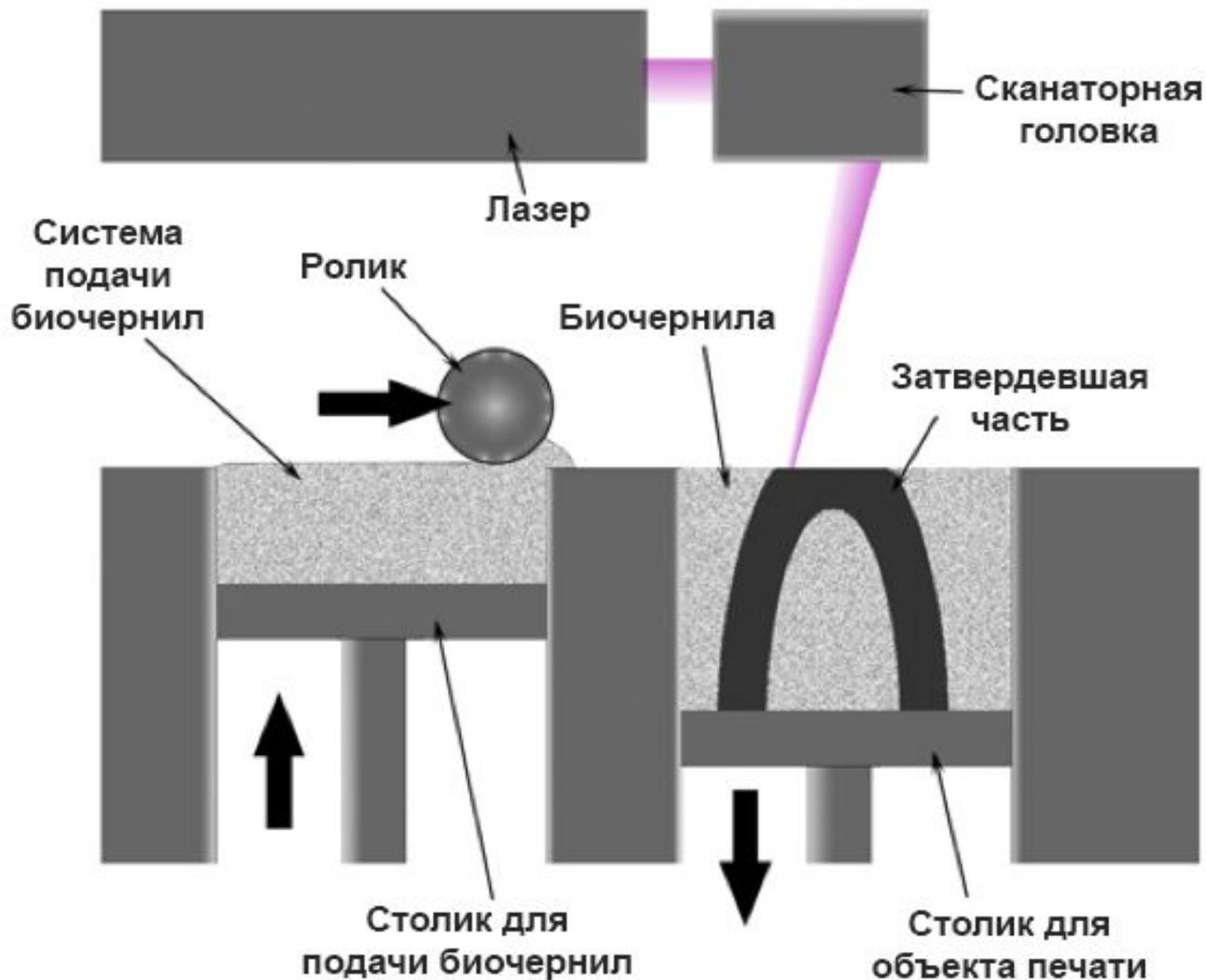


Рис. 1 Принципиальная схема установки для селективного лазерного спекания

Применение селективного лазерного спекания в биоинженерии сердечно-сосудистой системы

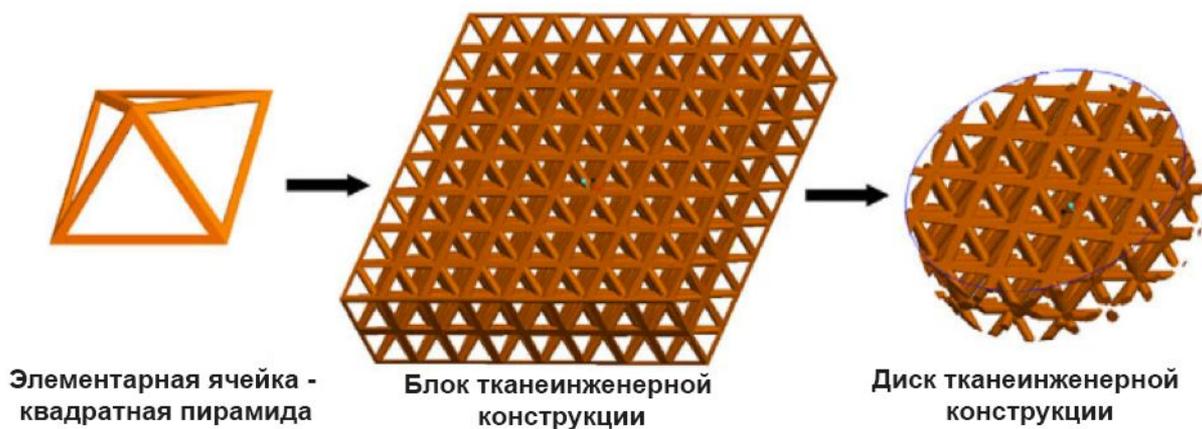


Рис. 1 Конструкция каркаса

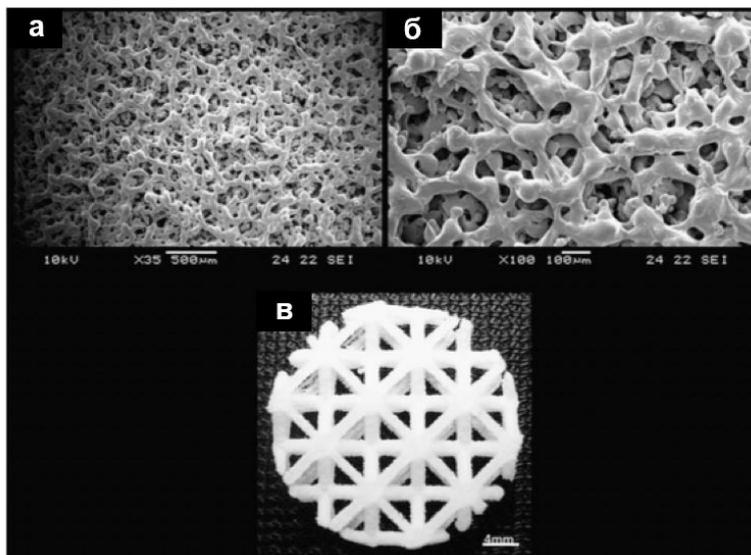


Рис. 2 Морфология частиц поликапролактона, спеченная при мощности лазера 3 Вт и скорости сканирования 150 Гц. (а) 35-кратное увеличение; (б) 100-кратное увеличение; (в) макроструктура спеченного диска.

Печать несколькими материалами

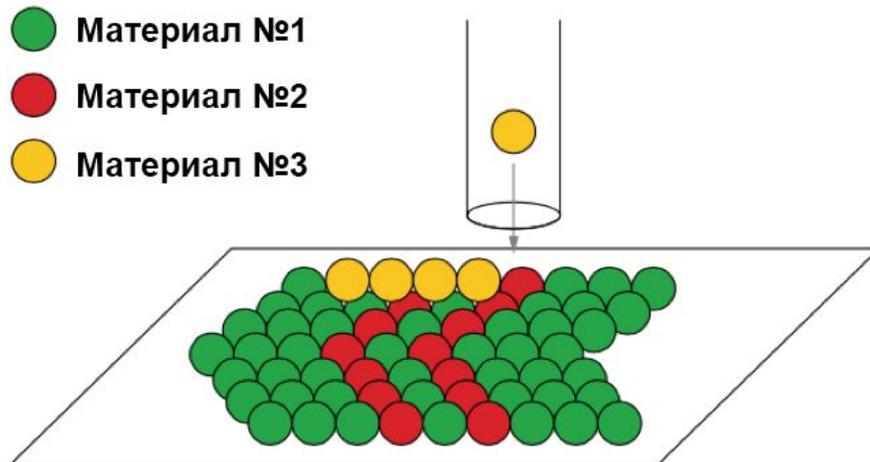


Рис. 1 Прямая лазерная печать несколькими материалами с использованием оптического волокна

Решения для стереолитографии:

- Микроавтоматическая установка, позволяющая промывать печатные каналы и загружать новый фотоотверждаемый материал;
- Вращательная система из двух емкостей, двух щеток, очистителя и сушилки.

Решение для лазерно-индуцированного прямого переноса:

- Карусельный держатель с несколькими картриджами.

Ограничения лазерного биопринтинга

Методы на основе переноса клеток:

- Термическое и механическое воздействие лазера на клетки;
- Высокая вероятность случайных осадений;
- Дорогостоящая установка;
- Ограничения биопечати в 3D.

Методы на основе фотополимеризации:

- Долгое время печати;
- Токсичность фотополимера;
- Осаждение клеток в растворе.

Сравнение методов лазерного биопринтинга (1)

	Конструкция лазерного комплекса	Диаметр лазерного луча	Параметры конструкции лазерного комплекса	Минимальный размер печатной конструкции	Жизнеспособность клеток	Достоинства данной конструкции лазерного комплекса	Недостатки данной конструкции лазерного комплекса
Процессы с фотополимеризацией	Стереолитография	75-250 мкм	Лазерный флюенс ≤ 350 мДж/см ² , $\lambda = 325-365$ нм	250 мкм	87%	Среднее время печати, возможность печати конструкций с улучшенными механическими характеристиками	Низкое разрешение, ограниченность биочернил, цитотоксичность фотоинициатора при высоких концентрациях
	Динамическая оптическая проекционная стереолитография	-	Интенсивность лазерного луча 50 мВт/см ²	50 мкм	65-76%	Высокая скорость печати	Ограниченный выбор биоматериалов для печати, ограниченный контроль толщины фотополимеризуемого слоя

Сравнение методов лазерного биопринтинга (2)

	Конструкция лазерного комплекса	Диаметр лазерного луча	Параметры конструкции лазерного комплекса	Минимальный размер печатной конструкции	Жизнеспособность клеток	Достоинства данной конструкции лазерного комплекса	Недостатки данной конструкции лазерного комплекса
Процессы с фотополимеризацией	Двух-фотонная полимеризация	-	330 мВт, 80 фс, 75 МГц, $\lambda=800$ нм	≤ 100 нм	25,7 % в областях лазерного облучения, 95% за их пределами	Очень высокое разрешение	Ограниченный выбор биоматериалов, непригодные для инкапсуляции клеток, за исключением случаев, когда используются водорастворимые фотоинициаторы, малая жизнеспособность клеток, находящихся в области воздействия лазерного луча
	Селективное лазерное спекание	-	Мощность лазерного луча 3 Вт, 150 Гц	-	-	Среднее время печати	Низкое разрешение, ограниченность биочернил, сложность печати конструкции со средней и низкой жесткостью

Сравнение методов лазерного биопринтинга (3)

	Конструкция лазерного комплекса	Диаметр лазерного луча	Параметры конструкции лазерного комплекса	Минимальный размер печатной конструкции	Жизнеспособность клеток	Достоинства данной конструкции лазерного комплекса	Недостатки данной конструкции лазерного комплекса
Процессы на основе передачи клеток	Прямая лазерная печать	-	Мощность лазерного луча 200-300 мВт, $\lambda=532-830$ нм	10 мкм	90 %	Высокое разрешение, высокая жизнеспособность клеток из-за слабой фокусировки лазерного луча	Ограниченность биоматериалов из-за показателя преломления, невозможность использования вязких биочернил
	Прямая импульсная лазерная печать испарением со вспомогательной матрицы	10-200 мкм	Флюенс лазера 50-2000 мДж/см ² , 12-30 нс, 10 Гц, $\lambda=193$ нм	25-50 мкм	50-90 %	Возможность использования вязких биочернил, различных типов клеток и биопрепаратов, среднее разрешение	Термоиндуцированное повреждение клеток, невозможность автоматической подготовки печатной ленты, недостаточная жизнеспособность клеток, низкие механические характеристики, сложность в использовании различных материалов одновременно

Сравнение методов лазерного биопринтинга (4)

	Конструкция лазерного комплекса	Диаметр лазерного луча	Параметры конструкции лазерного комплекса	Минимальный размер печатной конструкции	Жизнеспособность клеток	Достоинства данной конструкции лазерного комплекса	Недостатки данной конструкции лазерного комплекса
Процессы на основе передачи клеток	Лазерно-индуцированный прямой перенос	100 мкм	Лазерный флюенс 25-400 мДж/см ² , 2,5 нс, 0,1-100 Гц, λ=248 нм	25 мкм	95-100 %	Минимальные повреждения от лазерного луча, широкий выбор биочернил, среднее разрешение	Невозможность автоматической подготовки печатной ленты, низкие механические характеристики, сложность в использовании различных материалов одновременно

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

- Лазерные комплексы с полимеризацией биочернил позволяют создавать биосовместимые наноматериалы сложной формы, однако выбор материалов для печати очень ограничен, и не могут обеспечить высокий процент выживаемости клеток.
- Методы лазерного переноса обеспечивают самый высокий процент выживаемости клеток на уровне 90% в сравнении с другими рассмотренными методами. В настоящее время эта технология автоматизирована лишь минимально и пока еще требует большое количество ручного труда.
- Лазерная стереолитография обеспечивает среднюю скорость печати, но способна обеспечить высокие механические характеристики напечатанного материала. Скорость печати может быть увеличена использованием динамической оптической проекционной стереолитографии, что достигается использованием компьютеризированной системы зеркал.
- Двухфотонная полимеризация позволяет печатать с самым высоким разрешением по сравнению с другими рассмотренными методами, однако выживаемость клеток в области фокуса лазерного луча самая низкая.
- Конструкция лазерного комплекса для создания трехмерных клеточно- и тканеинженерных конструкций должна обеспечивать работу при температуре, не превышающей денатурацию белков или биологически активных веществ. Кроме того, лазерные методы печати позволяют не использовать дорогостоящие чистые помещения.
- Ускорение процесса затвердевания может быть обеспечено использованием фотоинициаторов, однако использование их для биопечати является затруднительным, поскольку они токсичны и снижают рост клеток. Поэтому наиболее предпочтительным методом для увеличения скорости печати является использование сканаторных систем, которые используются в динамической оптической проекционной стереолитографии. Цифровая система микрзеркал сканаторной системы обеспечивает высокую

Список использованной литературы

1. Ibrahim A., Saude N., Ibrahim M. Optimization of Process Parameter for Digital Light Processing (DLP) 3D Printing // Proceedings of Academics World 62nd International Conference, Seoul, South Korea, 18th-19th April 2017. – P. 11-14.
2. Mazzoli A. Selective laser sintering in biomedical engineering // Med. Biol. Eng. Comput. – 2013. – Vol. 51. – P. 245–256.
3. Gu B.K., Choi D.J., Park S.J., Kim M.S., Kang C.M., Kim C.H. 3-dimensional bioprinting for tissue engineering applications // Biomaterials Research. – 2016. – Vol. 20. – P. 1-8.
4. Odde, D.J., Renn, M.J. Laser-guided direct writing for applications in biotechnology // Trends in Biotechnology. – 1999. – Vol. 17. – N. 10. – P. 385-389.
5. Ozbolat I.T. 3D-Bioprinting. Fundamentals, Principles and Applications. – 2017. – P. 341.
6. Ashkin A. Optical trapping and manipulation of neutral particles using lasers // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – Vol. 94. – P. 4853-4860.
7. Fitz-Gerald J.M., Chrisey D.B., Piqué A., Auyeung R.C.Y., Mohdi R., Young H.D., Wu H.D., Lakeou S., Chung R. Matrix Assisted Pulsed Laser Evaporation Direct Write (MAPLE DW): A New Method to Rapidly Prototype Active and Passive Electronic Circuit Elements // Mat. Res. Soc. Proc. – 2000. – Vol. 965.
8. Yang S., Zhang J. Matrix-Assisted Pulsed Laser Evaporation (MAPLE) technique for deposition of hybrid nanostructures // Frontiers in Nanoscience and Nanotechnology. – 2017. – Vol. 3. – P. 1-9.
9. Kinzel E.C., Xu X., Lewis B.R., Laurendeau N.M., Lucht R.P. Brent R. Direct Writing of Conventional Thick Film Inks Using MAPLE-DW Process // Journal of Laser Micro/Nanoengineering. – 2006. – Vol. 1. – N. 1. – P. 74-78.
10. Lewis J.K., Wei J., Siuzdak G. Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry in Peptide and Protein Analysis // Encyclopedia of Analytical Chemistry. – 2000. – P. 5880–5894.
11. Piqué A., Kim H. Laser-Induced Forward Transfer of Functional Materials: Advances and Future Directions // Journal of Laser Micro/Nanoengineering. – 2014. – Vol. 9. – N. 3. – P. 192-197.
12. Xiong R, Zhang Z, Huang Y. Identification of optimal printing conditions for laser printing of alginate tubular constructs // Journal of Manufacturing Processes. – 2015. – Vol. 20. – P. 450–455.
13. Gruene M., Unger C., Koch L., Deiwick A., Chichkov B. Dispensing pico to nanolitre of a natural hydrogel by laser-assisted bioprinting // BioMedical Engineering OnLine. – 2011. – P. 1-11.
14. Deng Y., Renaud P., Guo Z., Huang Z., Chen Y. Single cell isolation process with laser induced forward transfer // Journal of Biological Engineering. – 2017. – Vol. 11. – P. 1-11.
15. Martinez P.S. Conductive inks printing through laser-induced forward transfer // Treball de Fi de Master. – 2015. – P. 1-8.