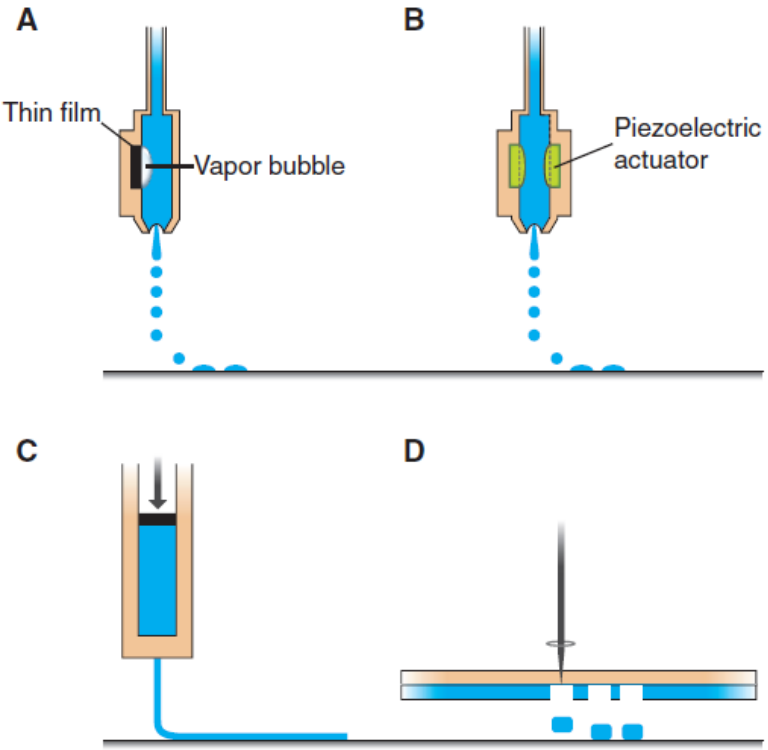
3D Printing

Εισαγωγή

Οι εκτυπωτές 3D (3D Printers) είναι μια μορφή συσκευών παραγωγής μοντέλων για την αναπαράστασή τους, με σκοπό τόσο τη βελτίωση, όσο και τη λειτουργικότητά τους σε διάφορες εφαρμογές. Η **τεχνική** που χρησιμοποιείται είναι η **κατά στρώματα εναπόθεση υλικού σε επίπεδα** που διαμορφώνει το τελικό μοντέλο.[1] Η εναπόθεση μπορεί να γίνει με **πολλούς τρόπους** και με διάφορες τεχνικές, όπως είναι η **θερμική, χημική, μηχανική, ή/και οπτική, ανάλογα με το υλικό που επιλέγεται.**[2] Τα υλικά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι σχεδόν όλων των ειδών: πολυμερή, μέταλλα, κεραμικά, και εν γένει υλικά που χρησιμοποιούνται στη βιοτεχνολογία – βιοϊατρική για διάφορες εφαρμογές. Τέτοιες εφαρμογές περιλαμβάνουν την αναγεννητική μηχανολογία ιστών, την κατασκευή τεχνητών οργάνων (**βιοεκτύπωση - bioprinting**), κ.ά. (**Εικόνα 1**). Τελευταία, έχουμε την εμφάνιση χαμηλού κόστους συσκευών **3D Printing**, που χρησιμοποιούν υλικό σε μορφή ινών, μέσω των οποίων, με θέρμανση και εξώθηση, μπορούν να παράγουν πολύπλοκες μορφές μοντέλων.[3]



Εικόνα 1: Τρόποι εναπόθεσης βιοϋλικού σε βιοεκτύπωση (**biorpinting**).

A & B: Εναπόθεση μικρο-σταγονιδίων σε συγκεκριμένες θέσεις με ακρίβεια. Η εναπόθεση γίνεται με χρήση φυσαλίδας αερίου (**A**) ή πιεζοηλεκτρικού ενεργοποιητή (**B**).

Εναπόθεση σε συγκεκριμένες θέσεις με χρήση νήματος και εξώθηση με συνεχόμενο τρόπο και δημιουργία στρώματος (**C**), και (**D**) με προώθηση μέσω laser μικροποσότητας υλικού που βρίσκεται σε μορφή πηκτής (**gel**) προσροφημένου σε ειδική πλάκα.

Bioprinting

Προσεγγίζεται με δύο τρόπους:

1. Με **ικριώματα (scaffolds),** στα οποία αναπτύσσεται ιστός. Απορρόφηση και ενσωμάτωσή τους.

   Πλεονεκτήματα:

   - **Καλύτερη μηχανική αντοχή** κατά την ανάπτυξη της εξωκυτταρικής μήτρας
   - Δυνατότητα **ανάπτυξης μεγάλων** κυτταρικών **συμπλεγμάτων**.

2. Με **απευθείας εκτύπωση κυττάρων (cell printing)** ή αποικιών κυττάρων με συγκεκριμένη χωροθέτηση, που να οδηγεί στην ανάπτυξη του ιστού.

   Πλεονεκτήματα:

   - Κανένα πρόβλημα **βιοσυμβατότητας** κατά την προσρόφηση.
   - **Συνθήκες παρόμοιες με το περιβάλλον** του σώματος, και καλύτερη διακυτταρική επικοινωνία.
   - Τα κύτταρα έχουν λιγότερες πιθανότητες να **αποδιοργανωθούν και να αποκλίνουν** από τη λειτουργία τους.

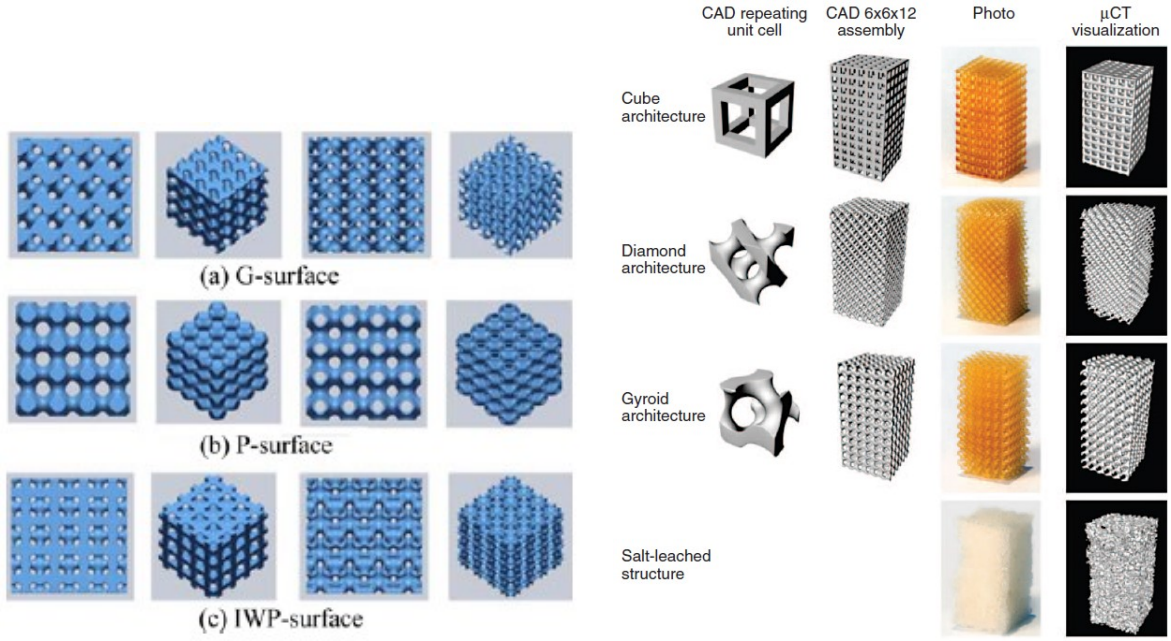
Η ραγδαία εξέλιξη των τεχνολογιών απεικόνισης 3D σε όλους του τομείς των επιστημών έχει μεγάλη απήχηση και στους τομείς των βιοϋλικών, καθόσον εμφανίζονται νέες τεχνικές σχεδιασμού και ανάπτυξης προϊόντων που σχετίζονται με τις εφαρμογές τους στην επίλυση διάφορων προβλημάτων υγείας σε ασθενείς. Ένας τομέας που βρίσκεται στην αιχμή της έρευνας είναι αυτός, ο οποίος περιλαμβάνει β) ανάπτυξη ικριωμάτων–σκαλωσιών ή υποστηριγμάτων (scaffolds) που μπορούν να αποτελέσουν υπόστρωμα για περαιτέρω ανάπτυξη διαφόρων τύπων ιστού σε διαφορές εφαρμογές βιοϋλικών, και β) δημιουργία ελεγχόμενων συσσωματωμάτων από καλλιέργειες κυττάρων διαφόρων τύπων ή αποικιών από κύτταρα, τα οποία μπορούν να εξελιχθούν ακόμη και σε σύνθετα όργανα. Η τεχνολογία που βρίσκεται στην αιχμή της έρευνας είναι αυτή της προσθετικής μορφοποίησης (**Additive Manufacturing - AM**) ή αλλιώς ελεύθερης στερεάς μορφοποίησης (**Solid Freeform Fabrication - SFF**), στην οποία γίνεται ευρεία συνδυαστική χρήση των συστημάτων μηχανολογικής σχεδίασης CAD με διαγνωστικά ιατρικά μηχανήματα και 3D Printers.

Το πορώδες κα η σημασία του

Ο έλεγχος του αποδοτικού πορώδους στα βιολογικά μοντέλα που να προσομοιώνει το πραγματικό βιολογικό πορώδες, αποτελεί μια δύσκολη και πολύπλοκη διαδικασία. Οι κλασικές μέθοδοι είναι η εξάχνωση υγρού, και το ξέπλυμα μικροσωματιδίων που δημιουργούν τυχαίο πορώδες. Στην προσθετική μορφοποίηση έχουμε τη δυνατότητα ελέγχου του πορώδους με χρήση συγκεκριμένων δομικών μονάδων, οι οποίες μπορούν να συνθέσουν πολύπλοκες μορφές με διαφορετική διαβάθμιση, ανάλογα με το τρισδιάστατο μοντέλο. Η διαβάθμιση αυτή επιτυγχάνεται με μαθηματική παρεμβολή διαφορετικών δομικών στοιχείων. Από τα διαγνωστικά δεδομένα προκύπτει το πορώδες σε διάφορες περιοχές π.χ. του οστού και στη συνέχεια μια υπολογιστική μηχανή υπολογίζει τις οντότητες που θα συνδυαστούν για την τελική σύσταση του πορώδους στο μοντέλο (**Εικόνα 2**).

Αποδοτικό πορώδες

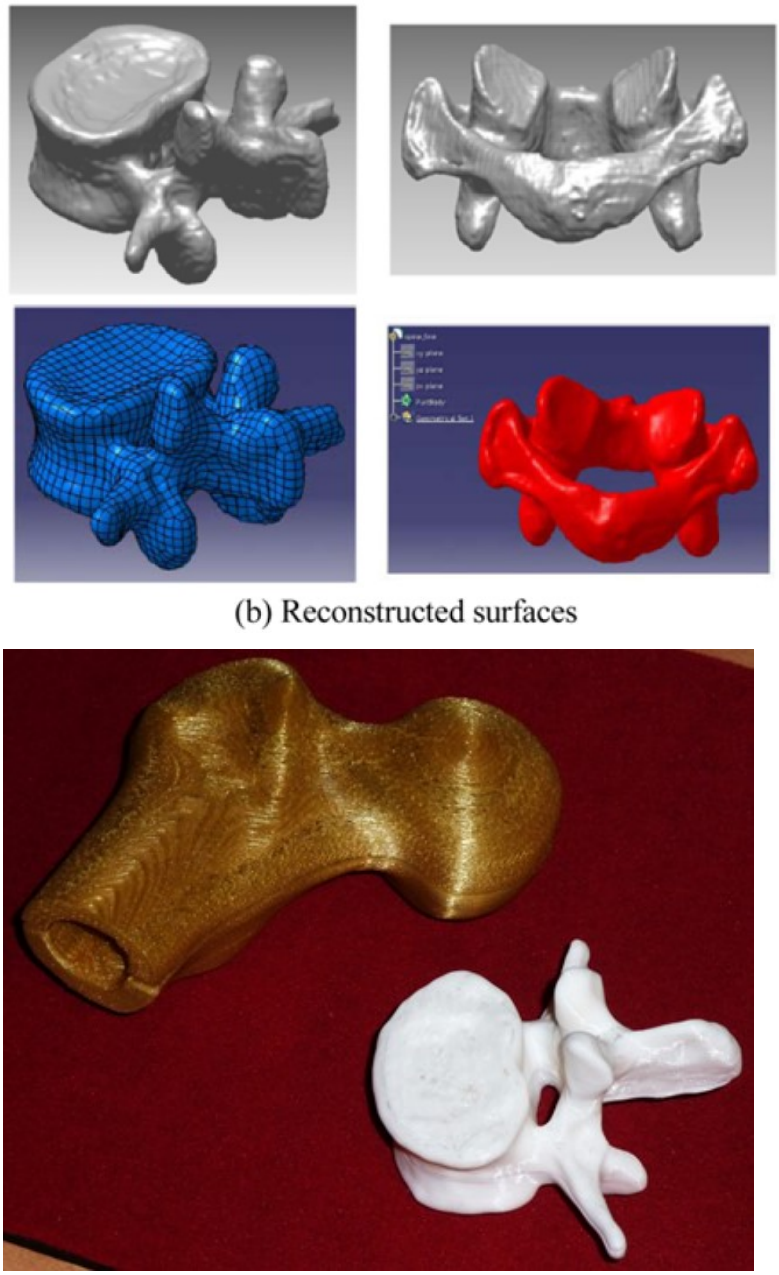
- Έλεγχος: Δύσκολη και πολύπλοκη διαδικασία
- Είναι διαφορετικό μέσα στον ιστό
- Αποτελεί βασικό στοιχείο για την ανάπτυξη του ιστού (μετακίνηση κυττάρων–αποικιών, μεταφορά τροφής, ανάπτυξη αγγειακού δικτύου, αποβολή καταλοίπων)
- Αποτελεί στοιχείο στιβαρότητας για τη μηχανική αντοχή και τη μετέπειτα επιτυχία του εμφυτεύματος



Εικόνα 2: Τυπικά παραδείγματα σχεδιαστικού πορώδους.

Ψηφιοποίηση και εκτύπωση

Πολύπλοκα μοντέλα μπορούν να κατασκευαστούν με συσκευές 3D Printing, χρησιμοποιώντας την τεχνική της ελεγχόμενης εναπόθεσης υλικού σε στρώματα (**slices**). Μέσω της τεχνικής αυτής επιτυγχάνεται ένα πολύ **καλό περιβάλλον ελέγχου του πορώδους, του σχήματος, της μορφής, της κατεύθυνσης της διασυνδεσιμότητας και της διακλαδικότητας (Εικόνα 3).**[4,5]



Εικόνα 3: Τυπικά παραδείγματα βιοεκτυπώσεων από πολυμερή

Σκοπός της άσκησης

Σκοπός της άσκησης είναι η α) πρώτη επαφή με τη διαδικασία 3D εκτύπωσης, με τα μέσα του εργαστηρίου και των απαραίτητων βημάτων που πρέπει να γίνουν ώστε να έχουμε ένα συγκεκριμένο αποτέλεσμα, και τέλος β) εκτύπωση ενός δοκιμίου.

Κατά την πορεία της άσκησης, θα παρουσιαστούν όλα τα βήματα που ακολουθούνται για την εκτύπωση ενός μοντέλου, από την αρχική δημιουργία του αρχείου STL με διάφορους τρόπους (συστήματα CAD ή χρήση βιοϊατρικών δεδομένων), την επεξεργασία του σε ειδικό λογισμικό κατάτμησης σε στρώματα, μέχρι και την παραγωγή του κώδικα για τον PRINTER.

Τα στάδια για την κατασκευή μοντέλου 3D εκτύπωσης παρουσιάζονται παρακάτω:

1. Αρχική προσέγγιση του ιστού-μοντέλου που θα εκτυπωθεί.

Στο στάδιο αυτό:

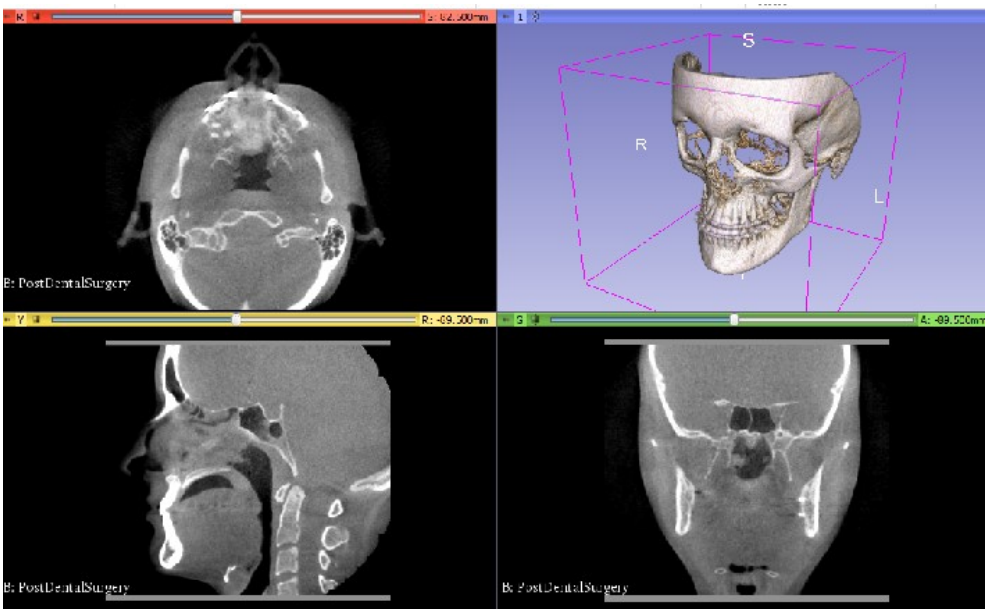
α) **εντοπίζεται το είδος** του ιστού που μας ενδιαφέρει να εκτυπώσουμε, δηλαδή αν είναι **μαλακός ή σκληρός** ιστός

β) **προσδιορίζεται η δομή του**, αν είναι απλός ή σύνθετος, και

γ) **αναγνωρίζεται η βιολογική του υπόσταση** από πλευράς κυττάρων, κ.λπ.

Στο σημείο αυτό χρησιμοποιούνται τα βιοϊατρικά δεδομένα από συστήματα MRI, CT, κ.ά. και **γίνεται προσπάθεια απομόνωσης του μοντέλου από τα υπόλοιπα**. Για το λόγο αυτό, χρησιμοποιείται το ειδικό λογισμικό **Slicer 3D**,[6] το οποίο δίνει τη δυνατότητα για **επιλεκτική προβολή των ιστών** που προέρχονται από τέτοια συστήματα (**Εικόνα 4**).

Παρακάτω, δίνεται παράδειγμα από την προβολή οστών του κρανίου.



Εικόνα 4: Επεξεργασία βιοϊατρικών δεδομένων για δημιουργία μοντέλων

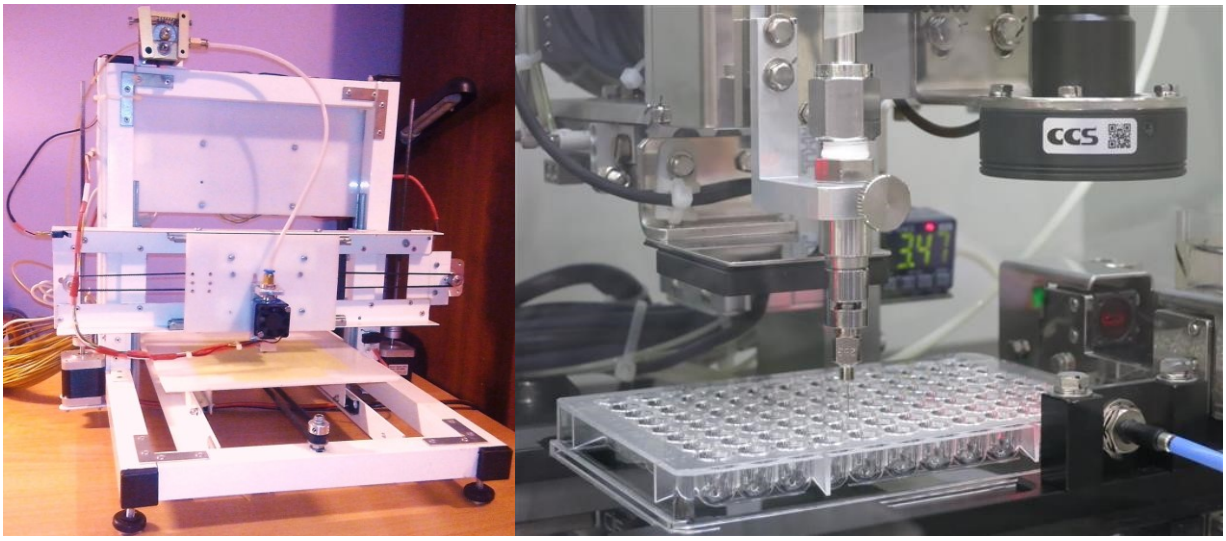
2. Διερεύνηση τρόπου και είδους εκτύπωσης

Από την παραπάνω διαδικασία **καθορίζεται ο τρόπος και το υλικό εκτύπωσης,** όπως και το **είδος του εκτυπωτή ή της κεφαλής εκτύπωσης** (**Εικόνα 5**). Όλοι οι εκτυπωτές δεν είναι σε θέση να εκτυπώσουν τα πάντα. **Υπάρχουν διαφορετικοί εκτυπωτές ανάλογα με**

α) τον τύπο του ιστού που θα εκτυπωθεί και το υλικό που θα χρησιμοποιηθεί

β) το βοηθητικό ικρίωμα που θα εκτυπωθεί

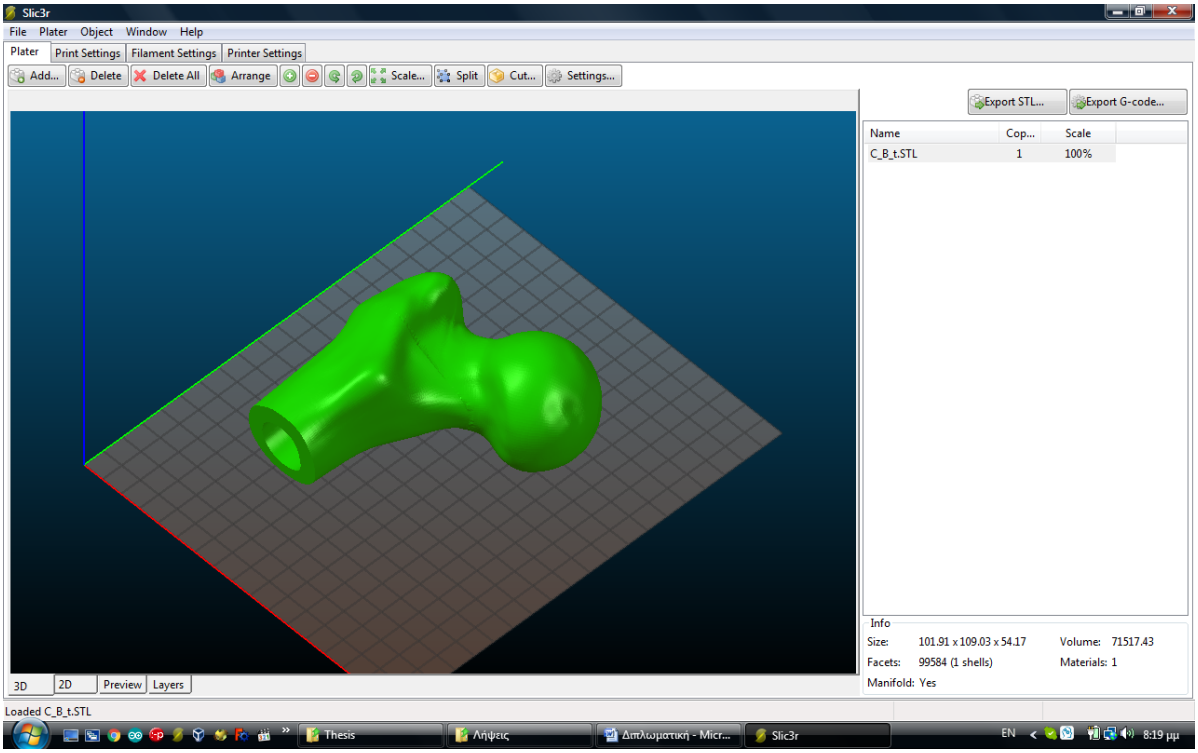
γ) το αν θα λάβει χώρα **απευθείας εκτύπωση** με βιολογικό υλικό.



Εικόνα 5: Συσκευές βιοεκτύπωσης

3. Επιλογή μεθοδολογίας δημιουργίας αρχικού μοντέλου

Οι μέθοδοι είναι συγκεκριμένοι για το αρχικό μοντέλο. Υπάρχει **δυνατότητα δημιουργίας** αρχικού μοντέλου **από τον Slicer** που μας **οδηγεί μέχρι το αρχείο STL**, με χαμηλή όμως ανάλυση και πάντα σε συνάρτηση με την ακρίβεια των τομογράφων (**Εικόνα 6**).[7] **Εναλλακτικά**, το επιθυμητό μοντέλο **μπορεί να σχεδιαστεί σε σύστημα CAD** με πολύ καλή ακρίβεια, αλλά αυτή η διαδικασία είναι χρονοβόρα. **Τέλος, ο συνδυασμός** μπορεί να έχει πολύ καλά αποτελέσματα. Το αρχείο STL παράγεται αυτόματα, χωρίς ιδιαίτερη παραμετροποίηση. Είναι γενικής χρήσης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί από πολλά συστήματα 3D απεικόνισης. Αποτελείται από ένα χωροδικτύωμα που συνθέτει το συγκεκριμένο στερεό στο χώρο.



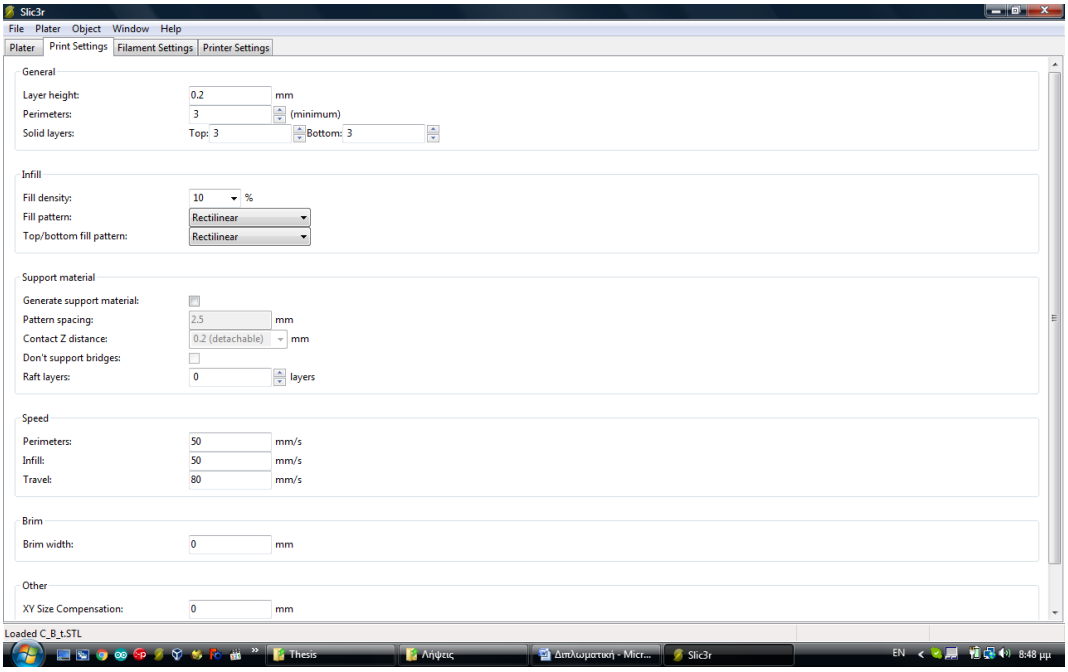
Εικόνα 6: Δημιουργία αρχείου εκτύπωσης με εφαρμογή Slicer

4. Μετεπεξεργασία του αρχείου για βελτιστοποίηση

Στη συνέχεια, υπάρχει δυνατότητα **επιπλέον επεξεργασίας** για τη βελτίωση της ποιότητας του πλέγματος, ώστε να επιτευχθεί **καλύτερη ομοιογένεια και καλύτερη τελική επιφάνεια**. Η επεξεργασία αυτή γίνεται με ειδικά προγράμματα επεξεργασίας επιφανειών. Σε κάθε περίπτωση, το βήμα αυτό δεν είναι υποχρεωτικό.

5. Δημιουργία στρωματοποίησης (slicing), με ειδικό λογισμικό και παραγωγή G-CODE, για την καθοδήγηση της μηχανής

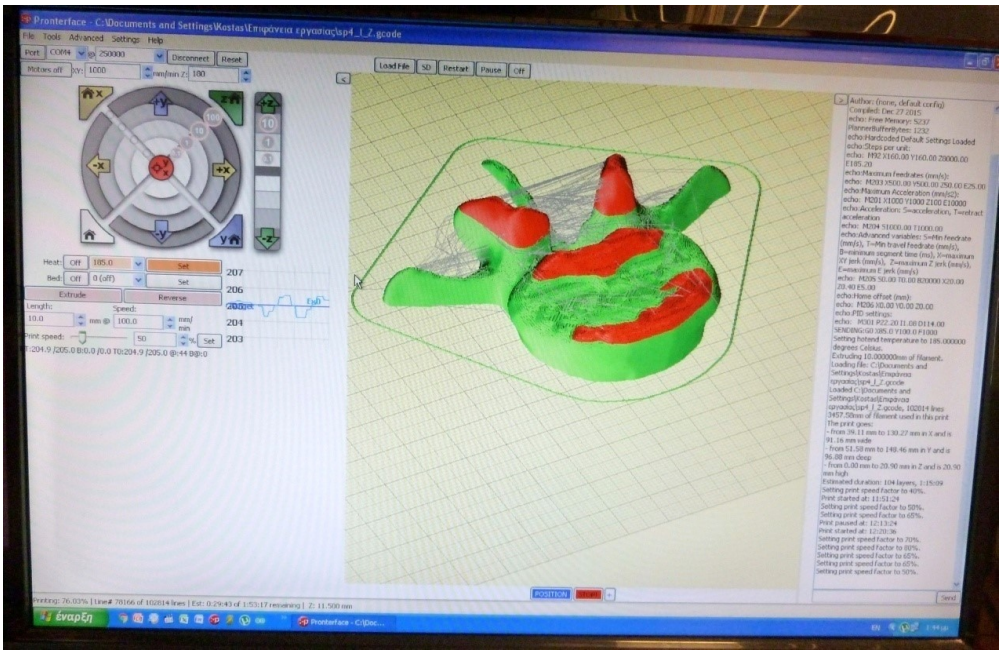
Αποτελεί το **βασικό βήμα** στην παραγωγή του τελικού δοκιμίου. Εδώ, ρυθμίζονται όλες **οι παράμετροι που θα οδηγήσουν στη σωστή εκτύπωση** και στο επιθυμητό αποτέλεσμα, σε ότι αφορά στη **δομή** του δοκιμίου, την **πυκνότητα** (πορώδες), τη **στιβαρότητα**, και την **αντοχή** (**Εικόνα 7**). Ακόμη, ρυθμίζονται οι συνθήκες εκτύπωσης (ταχύτητα, θερμοκρασία, κ.ά.). Το βήμα αυτό ολοκληρώνεται με ειδικό λογισμικό slicing.[8]



Εικόνα 7: Παραμετροποίηση εκτύπωσης

6. Εκτέλεση και εκτίμηση των παραμέτρων κατά το run time

Το τελικό πρόγραμμα εκτελείται από το λογισμικό καθοδήγησης στον 3D printer. Η **επιτυχημένη εκτύπωση** θα εξαρτηθεί από το προηγούμενο βήμα και τη **σωστή εκτίμηση** των παραμέτρων (**Εικόνα 8**). Σε κάθε περίπτωση, **επιστρέφουμε για αλλαγή ρυθμίσεων** που θα βελτιώσουν το τελικό αποτέλεσμα.



Εικόνα 8: Καθοδήγηση 3D Printer και εκτύπωση.

Επίσης, ο έλεγχος του περιβάλλοντος εκτύπωσης είναι βασικός παράγοντας της επιτυχίας στο τελικό στάδιο.

Κύριος ερευνητικός στόχος του Εργαστηρίου 3D Printing

Κύριος στόχος είναι η έρευνα διαφόρων τύπων βιοϋλικών, προκειμένου αυτά να χρησιμοποιηθούν για την κατασκευή χωροδικτυωμάτων με συγκεκριμένη δομή. Τα χωροδικτυώματα αυτά θα αποτελέσουν το υπόστρωμα για την ανάπτυξη κυτταρικών δομών που θα εξελιχθούν σε ιστό. Στη συνέχεια, πάνω σε αυτά θα αναπτυχθούν κύτταρα με κατάλληλη καλλιέργεια, με σκοπό τη μελέτη των συνθηκών οστεογένεσης. Στο ερευνητικό αυτό πλαίσιο, κύριοι παράγοντες έρευνας είναι:

- η σχεδιαστική παραμετροποίηση των δοκιμίων και δημιουργία οικογενειών δοκιμίων για τη μελέτη του δομικού πορώδους
- η σύνθεση των υλικών από μια συγκεκριμένη κατηγορία που αφορά στην έρευνα του συγκεκριμένου τομέα
- επιπλέον χημικές και θερμικές κατεργασίες στα δοκίμια, ώστε αυτά να αποκτήσουν συγκεκριμένες ιδιότητες
- μελέτη της μηχανικής αντοχής τους σε διάφορες συνθήκες
- μελέτη συμπεριφοράς σε in vitro και in vivo καταστάσεις
- επανέλεγχος των δομών στη συνέχεια και επανασχεδίαση

Για τα παραπάνω, μελετώνται και αναπτύσσονται τεχνικές υποστήριξης, όπως
α) η μεταφορά βιοϊατρικών δεδομένων σε προς εκτύπωση μορφή
β) η κατάλληλη επιλογή συσκευών σύνθεσης υλικών για την εκτύπωση, και
γ) η ανάπτυξη τεχνικών 'Lab on a chip'[9]

Βιβλιογραφία

1. C.X.F. Lam, X.M. Mo, S.H. Teoh, D.W. Hutmacher, *Materials Sci. Eng. C* **2002**, *20*, 49–56

2. R. Amin, S. Knowlton, A. Hart, B. Yenilmez, F. Ghaderinezhad, S. Katebifar, M. Messina, A. Khademhosseini, S. Tasoglu, *Biofabrication* **2016**, *8*, 022001.

3. B. Derby, *Science* **2012**, *338*, 921-926.

4. D.-J. Yoo, *Int. J. Prec. Eng. Manuf.* **2011**, *12(1)*, 61-71.

5. S.A. Park, S.H. Lee, W.D. Kim, *Bioprocess Biosyst. Eng.* **2011**, *34*, 505–513.

6. Πλατφόρμα ελεύθερου λογισμικού ανοιχτού κώδικα για βιοϊατρικές απεικονίσεις - https://www.slicer.org/

7. B. Leukers, H. Gulkan, S.H. Irsen, S. Milz, C. Tille, M. Schieker, H. Seitz*, J. Materials SCI.: Materials in Medicine* **2005**, *16*, 1121–1124.

8. Ελεύθερο Λογισμικό για slicing και δημιουργία G-CODE – www.Slic3r.org

9. P.J. Kitson, M.H. Rosnes, V. Sans, V. Dragone, L. Cronin, *Lab Chip* **2012**, *12*, 3267–3271.