

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ  
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ  
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»  
Факультет біомедичної інженерії  
Кафедра трансляційної медичної біоінженерії**

«До захисту допущено»  
Завідувач кафедри

Олександр БЕСАРАБ  
“ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**Дипломний проєкт  
на здобуття ступеня бакалавра  
за освітньо-професійною програмою  
«Регенеративна та біофармацевтична інженерія»  
спеціальності 163 Біомедична інженерія  
на тему: «Біоінженерний проєкт вирощування штучної печінки  
людини для подальшої трансплантації»**

Виконала:

здобувачка IV курсу, групи БФ-01

Мацкевич Дар'я Сергіївна

Керівник:

Доцент кафедри ТМБ, д.б.н., с.н.с.

Поєдинок Наталія Леонідівна

Консультант з «Розробки схеми автоматизації»:

Старший викладач кафедри ТПЗА

Жураковський Ярослав Юрійович

Консультант з «Охорони праці та техніки безпеки»:

ктн, доцент кафедри ОПЦБ

Демчук Гліб Іванович

Рецензент:

Доцент кафедри ББЗЛ, к.н.п.

Юденко Оксана Вадимівна

Засвідчую, що у цьому дипломному  
проєкті немає запозичень з праць інших  
авторів без відповідних посилань.

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Відомість дипломного проекту

№ з/п	Формат	Позначення	Найменування	К-сть листів	Примітка
1	A4		Завдання на дипломний проект	2	
2	A4	БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Пояснювальна записка	55	
3	A1	БФ-0109.12.30.002 ТС	Технологічна схема	1	
4	A1	БФ-0109.12.30.003 АС	Апаратурно=технологічна схема	1	
5	A1	БФ-0109.12.30.004 СА	Схема автоматизації	1	

				БФ-0109.12.30.001		
		ПІБ	Підп.	Дата		
Розробн.	Мацкевич Д.С.				Лист	Листів
Керівн.	Поєдинок Н.Л.				1	1
Консульт.					Відомість дипломного проекту	
Н/контр.						
В.о. зав. каф.	Бесараб О. Б.					
					КПІ ім. Ігоря Сікорського Каф. <u>ТМБ</u> Гр. <u>БФ-01</u>	

**Пояснювальна записка  
до дипломного проєкту**

на тему: «Біоінженерний проєкт вирощування штучної печінки людини  
для подальшої трансплантації»

Київ – 2024

**Національний технічний університет України**  
**«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»**  
**Факультет біомедичної інженерії**  
**Кафедра трансляційної медичної інженерії**

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 163 Біомедична інженерія

Освітньо-професійна програма «Регенеративна та біофармацевтична інженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

Олександр БЕСАРАБ

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**ЗАВДАННЯ**

**на дипломний проєкт студенту**  
**Мацкевич Дар'ї Сергіївні**

1. Тема проєкту «Біоінженерний проєкт вирощування штучної печінки людини для подальшої трансплантації», керівник проєкту Поєдинок Наталія Леонідівна, доцент кафедри ТМБ, д.б.н., с.н.с. затверджені наказом по університету від « 29 » травня 2024 р. № 2165-с
2. Термін подання студентом проєкту 10.06.2024 р.
3. Вихідні дані до проєкту: біоінженерний проєкт – створення штучної печінки шляхом заміщення клітин донорського органу клітинами реципієнта.
4. Зміст пояснювальної записки: вступ, 4 розділи (медико-біологічна частина, технологічна частина, апаратурно-інженерна частина, охорона праці та техніка безпеки), висновки, перелік посилань та додатки.
5. Перелік графічного матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо): технологічна схема вирощування штучної печінки людини для подальшої трансплантації (A1), апаратурно-технологічна схема вирощування штучної печінки людини (A1), автоматизація вирощування штучної печінки людини (A1).

## 6. Консультанти розділів проекту

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 3.2. Розробка схеми автоматизації	Жураковський Я.Ю., старший викладач кафедри ТПЗА	27.05.2024	08.06.2024
Розділ 4. Охорона праці та техніка безпеки	Демчук Г. В., доцент кафедри охорони праці, промисловості та цивільної безпеки	27.05.2024	10.06.2024

## 7. Дата видачі завдання 27.05.2024

### Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проекту	Термін виконання етапів проекту	Примітка
1	Пошук та аналіз літератури з теми дипломного проекту	13.09.2023 – 20.11.2023	
2	Розробка ефективного методу створення штучної печінки	20.11.2023 – 25.12.2023	
3	Розробка схеми автоматизації, технологічної та апаратурно-технологічної схем виробництва	26.12.2023 – 17.03.2024	
4	Створення плану лабораторного приміщення з оглядом на техніку безпеки та вимоги охорони праці	18.03.2024 – 05.05.2024	
5	Оформлення дипломного проекту та підготовка матеріалів до захисту	06.05.2024 – 02.06.2024	

Здобувач

Дар'я МАЦКЕВИЧ

Керівник

Наталія ПОЄДИНОК

## РЕФЕРАТ

Дипломний проект висвітлює тему біоінженерного проектування процесу вирощення штучної печінки людини для подальшої трансплантації.

Дипломна робота за обсягом складається з 53 сторінок, містить 19 таблиць, 3 рисунки та 1 додаток. В роботі було використано інформацію з 32 джерел.

Під час роботи було розроблено схему автоматизації, апаратурно-технологічну та технологічну схеми процесу вирощення штучної печінки.

Метою біоінженерного проекту є створення функціонального органу для подальшої трансплантації. Це включає розробку технологій та методик, які дозволяють вирощувати печінку з використанням стовбурових клітин та очищеного позаклітинного матриксу, з метою забезпечення повноцінної заміни пошкодженого органу та поліпшення якості життя пацієнтів.

Після ретельного аналізу джерел, для вирощування штучної печінки було обрано метод за яким очищений позаклітинний матрикс заселяють клітинами реципієнту, для створення органу з максимальною сумісністю з організмом реципієнту. Для очищення позаклітинного матриксу від клітин, в роботі розглядається метод перфузійної децелюляризації. Такий метод забезпечує ефективне очищення матриксу, а також збереження нативної судинної мережі, що полегшує процес подальшого живлення органу.

Актуальність роботи обумовлена кількома ключовими факторами. По-перше, існує значний дефіцит донорських органів, через що багато пацієнтів не можуть вчасно отримати необхідну трансплантацію. По-друге, штучна печінка, вирощена із застосуванням біоінженерних технологій, має потенціал значно знизити ризик відторгнення органу після трансплантації.

Ключові слова: штучні органи, децелюляризація, дифузія, позаклітинний матрикс.

## **ABSTRACT**

The diploma project highlights the topic of bioengineering design of the process of growing an artificial human liver for subsequent transplantation.

The thesis consists of 53 pages, contains 19 tables, 3 figures and 1 appendix. The work used information from 32 sources.

During the work, an automation scheme, hardware-technological and technological scheme of the process of growing an artificial liver was developed.

The goal of the bioengineering project is to create a functional organ for further transplantation. This includes the development of technologies and methods that allow growing a liver using stem cells and purified extracellular matrix, with the aim of providing a full-fledged replacement of the damaged organ and improving the quality of life of patients.

After a thorough analysis of the sources, a method was chosen for the cultivation of an artificial liver, according to which the purified extracellular matrix is populated with cells of the recipient, to create an organ with maximum compatibility with the recipient's body. To clean the extracellular matrix from cells, the paper considers the method of perfusion decellularization. This method ensures effective cleaning of the matrix, as well as preservation of the native vascular network, which facilitates the process of further nutrition of the organ.

The relevance of the work is determined by several key factors. First, there is a significant shortage of donor organs, due to which many patients cannot receive the necessary transplants in time. Second, an artificial liver grown using bioengineering technologies has the potential to significantly reduce the risk of organ rejection after transplantation.

**Key words:** artificial organs, decellularization, diffusion, extracellular matrix.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ .....	8
ВСТУП .....	9
1. МЕДИКО-БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА .....	11
1.1. Медико-біологічне обґрунтування.....	11
1.2. Характеристика біомедичного продукту та обґрунтування конструкції.....	13
1.2.1. Позаклітинний матрикс .....	13
1.2.2. Перфузійна децелюляризація .....	15
1.2.3. Відновлення клітинного складу печінки .....	16
1.3. Біологічні основи отримання біомедичного продукту.....	16
2. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА.....	20
2.1. Обґрунтування вибору технології виготовлення .....	20
2.2. Опис технології виготовлення .....	21
2.3. Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів .....	27
2.4. Матеріальний баланс.....	28
2.5. Контроль процесу виготовлення.....	30
2.6. Стандартизація біомедичної продукції.....	31
3. АПАРАТУРНО-ІНЖЕНЕРНА ЧАСТИНА.....	33
3.1. Обґрунтування конструкції технологічного устаткування .....	33
3.2. Розробка схеми автоматизації технології виготовлення.....	34
3.2.1. Аналіз технологічного процесу як об'єкту автоматизації.....	34
3.2.2. Опис розробленої схеми автоматизації.....	35
4. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ .....	37
4.1. Характеристика виробничого приміщення.....	37
4.2. Аналіз потенційних небезпек та заходи їх усунення .....	41
4.2.1. Пожежна небезпека.....	41

					<i>БФ-0109.12.30.001 ПЗ</i>			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Мацкевич Д.С.			<i>Біоінженерний проект вирощування штучної печінки людини для подальшої трансплантації</i>	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Поєдинок Н.Л.					6	57
Реценз.		Юденко О.В.				<i>КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБМІ</i>		
Н. Контр.		Поєдинок Н.Л.						
Затверд.		Бесараб О.Б.						

4.2.2. Хімічна небезпека .....	43
4.2.3. Небезпека ураження електричним струмом.....	45
ВИСНОВКИ .....	48
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	49
ДОДАТКИ.....	54

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						7
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

ПКМ – позаклітинний матрикс

ДР – допоміжні роботи

ТП – технологічний процес

АЛТ – аланінамінотрансфераза

АСТ – аспаратамінотрансфераза

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						8
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## ВСТУП

### Актуальність

Печінка є важливим органом гомеостазу людського організму. Цей орган, що відповідає за багато імунних і метаболічних функцій, необхідних для розвитку організму. Трансплантація печінки є важливим напрямком в медичній практиці.

Захворення печінки, такі як цироз, гепатит В та С, стають все поширенішими. На жаль, недостатньо донорських печінок для всіх пацієнтів, які потребують трансплантації. Вирощування штучних печінок може допомогти забезпечити відповідні органи для трансплантації.

Тканинна інженерія є передовою дисципліною в біомедицині. Каркаси позаклітинного матриксу необхідні для полегшення генерації тривимірних органів або тканин із використанням диференційованих стовбурових клітин *in vivo*.

За останні роки децелюляризовані тканини та органи перетворилися на нову, повноцінну платформу для створення тканинно-інженерних конструкцій поряд з гідрогелями природного та штучного походження та біоінертними полімерами. Позаклітинний матрикс – головний продукт децелюляризації. Він може не тільки служити фізичним каркасом, в який вбудовуються клітини, але також здатний регулювати багато клітинних процеси, включаючи зростання, міграцію, диференціювання, гомеостаз та морфогенез.

**Мета роботи:** розробка технології створення штучних органів шляхом заміщення клітин донорського органу клітинами реципієнта.

### Завдання роботи:

1. Проаналізувати літературні джерела і виявити, які технологічні процеси і в якій послідовності будуть відбуватися при виготовленні кінцевого продукту.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						9
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2. Скласти технологічну схему виробництва очищеного від клітин позаклітинного матриксу печінки та заповнення його клітинами реципієнта.

3. Описати технологічну схему.

4. Розрахувати матеріальний баланс технології.

5. Розробити апаратурно-технологічну схему та описати її.

6. Розробити схему автоматизації основних процесів під час виготовлення штучної печінки.

7. Оцінити основні види небезпек, що можуть виникнути під час виготовлення кінцевого продукту.

8. Розробити відповідні заходи для запобігання небезпекам.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						10
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

# 1. МЕДИКО-БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

## 1.1. Медико-біологічне обґрунтування

Печінка є важливим органом гомеостазу людського організму. Цей орган, що відповідає за багато імунних і метаболічних функцій, необхідних для розвитку організму, в основному складається з клітин шестикутної форми, відомих як гепатоцити, які мають апікальний і базальний домени, наповнені внутрішньоклітинними органелами. Крім того, що печінка є другим за величиною органом людського тіла, вона має величезну структурну і функціональну складність і має потужну регенеративну здатність. Тим не менш, при серйозній травмі втрачається більша частина його функціональних та регенеративних здібностей. На цей орган можуть впливати багато факторів, таких як надмірне вживання алкогольних напоїв, вживання наркотиків, інфекції, спричинені вірусами гепатиту В і С, а також генетичні фактори, що призводять до розвитку тяжких метаболічних захворювань [1].

Трансплантація органів є останнім терапевтичним вибором за термінальної стадії печінкової недостатності, яка обмежена відсутністю достатньої кількості донорів. Позаклітинний матрикс печінки може бути використана як відповідна матриця для тканинної інженерії печінки з потенціалом клінічного застосування. Оптимізація процедури отримання ПКМ дозволить отримати біологічний матрикс із повністю віддаленими клітинними компонентами та збереженою тривимірною структурою [2].

Найбільш перспективна на даний момент технологія отримання позаклітинного каркасу складних органів - це децелюляризація (очищення від клітин) відповідного органу мертвого донора або відповідної за розміром тварини (найчастіше свині). Для цього через судини органу повільно протягом

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						11
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

декількох днів пропускають розчин миючого засобу зростаючої концентрації. Коли всі клітини видалені, матрикс промивають, щоб підготувати до заселення клітинами нового господаря. Метод хороший і тим, що без клітинний матрикс складається з природного матеріалу, який забезпечує правильне прикріплення та проліферацію клітин. Основний недолік цієї технології полягає в тому, що вона руйнує мікросудинну мережу - капіляри, які фактично складаються з одного шару ендотеліальних клітин, видаляються при промиванні [3].

В останнє десятиліття ця технологія використовувалася для біоінженерії безклітинних каркасів з донорських людських печінок, не придатних для трансплантації. Каркас позаклітинного матриксу печінки заселяють стовбуровими клітинами реципієнта, а судинну мережу укріплюють специфічними для пацієнта ендотеліальними клітинами та перицитами для отримання повноцінного працюючого органу [4].

Створення готового каркасу з композитних тканин людини може виявитися корисним у забезпеченні хірургів різноманітними тканеспецифічними трансплантатами відповідного розміру для швидкого відновлення пошкоджених органів [5].

До переваг такої технології створення органу належить: наявність повноцінної кровоносної система органу; висока сумісність з організмом реципієнта; можливість «переробити» непрацюючий орган на дієдатний; відсутність конкурентних аналогів.

Недоліками технології вирощування печінки, шляхом децелюляризації з подальшим заповненням очищеного каркасу клітинами, є: важкість виробництва; велика кількість часу на вирощування; потреба в використанні донорського органу.

Потреби штучних органів для пересадки для внутрішнього ринку України, становлять 1200 органів на рік [6].

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						12
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## 1.2. Характеристика біомедичного продукту та обґрунтування конструкції

Практично будь-який орган людини складається із трьох тісно пов'язаних структур. По-перше, це сполучнотканинний позаклітинний матрикс - розгалужена мережа колагенових волокон, яка надає органу форми і щільності, а також служить каркасом для клітин. По-друге, це клітини, завдяки яким орган виконує свої біологічні функції (у багатьох органах є кілька типів клітин). По-третє, це судинна мережа, яка приносить артеріальну кров, насичує тканини киснем та поживними речовинами, забираючи в них вуглекислий газ та продукти обміну. Створення кожної з цих структур є окремим складним завданням тканинної інженерії [3].

### 1.2.1. Позаклітинний матрикс

Багатообіцяюча стратегія, розроблена для вирішення проблеми браку печінки, передбачає використання всього ПКМ, отриманого з печінки. Позаклітинний матрикс спочатку вважався інертним продуктом або субстратом клітин, але на даний момент стало відомо, що ПКМ виконує важливу структурну, біохімічну та біомеханічну функцію. ПКМ може впливати на адгезію, форму та диференціювання клітин. Взаємодія ПКМ-клітин регулює активацію попередників або зрілих клітин печінки *in vitro*. Ці взаємодії можуть відбуватися за допомогою передачі сигналів шляхом інтегрину, основних рецепторів на поверхні гепатоцитів, здатних опосередкувати взаємодії ПКМ-клітин. Ламінін, колаген III, IV та гіалуронова кислота важливі для підтримки недиференційованого стану клітин-попередників печінки. У той час, як фібронектин є ключовим компонентом ПКМ [7].

Завдяки недавнім досягненням в інженерії тканин печінки були використані декілька стратегій диференціювання печінки, що досліджують компоненти позаклітинного матриксу, для створення гепатоцитів або

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		13



стовбурових клітин, індукцію епітеліально-мезенхімального переходу та стимулювання злоякісної поведінки клітин гепатоомелюлярів [1].

### 1.2.2. Перфузійна децелюляризація

Перфузійна децелюляризація – це визнана біоінженерна технологія, що дозволяє створювати каркаси позаклітинного матриксу з донорських органів та тканин за допомогою циркуляції детергентів через нативну судинну мережу. У той час як інші методи децелюляризації засновані на пасивній дифузії або фізичному впливі, перфузійна децелюляризація використовує нативне судинне дерево для розподілу детергентів, забезпечуючи кращий доступ, глибокий вплив на тканини і поліпшене видалення клітинних компонентів з великих тривимірних тканинних компартментів [10].

Перфузійна децелюляризація зазвичай є методом вибору для децелюляризації композитних трансплантатів, оскільки вона дозволяє контролювати швидкість потоку реагенту, венозний відтік та мінімально необхідну відстань дифузії детергенту. Таким чином, він забезпечує доступ до всіх шарів тканини і призводить до більш ефективного видалення клітинного сміття та збереження тривимірної архітектури. Оскільки судинна мережа призначена для оптимальної доставки кисню до клітин, вона є ефективним каналом для адресної доставки детергентів та видалення клітинного сміття.

Тиск та швидкість подачі розчину, а також концентрація агента впливають на успіх перфузійної децелюляризації. Постійна перфузія із низьким фізіологічним тиском дозволяє оптимально зберегти нативний матрикс. Судинний опір не залишається постійним протягом усього процесу, оскільки початкова присутність більшої кількості клітинного вмісту створює більш високий опір. Таким чином, багато процедур спочатку забезпечують більш низьку або переривчасту швидкість потоку, щоб уникнути механічного стресу, що ушкоджує позаклітинний матрикс або базальну мембрану судин [11].

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		15

Судинний опір також залежить від в'язкості  $\eta$ , отже, від концентрації перфузату. Отже, опір є змінним, якщо склад чи концентрація розчину непостійні. Ступінчаста швидкість потоку часто застосовується для запобігання неадекватно високого середнього артеріального тиску в судинній мережі на початковому етапі, одночасно зводячи до мінімуму час дії, коли опір падає з видаленням клітин [12].

### **1.2.3. Відновлення клітинного складу печінки**

Функціональну тканину спочатку нарощували на матрикс, занурюючи його в живильний розчин із клітинами та факторами росту. Останнім часом все частіше з цією метою використовують гідрогелі, які, застигаючи, забезпечують рівномірний розподіл клітин, їхнє найкраще закріплення та дифузію поживних речовин і газів [13]. При використанні децелюляризованого донорського матриксу розчин клітин та факторів росту пропускають через його судини.

Окрему проблему представляє розмноження та виживання клітин — у диференційованій тканині їхня можливість ділитися та розвиватися обмежена довжиною теломер («насадок» на кінцях молекул ДНК, необхідних для її реплікації, які коротшають з кожним розподілом клітини). Вирішенням цієї проблеми може стати використання індукованих плюрипотентних стовбурових клітин, які за здатністю проліферувати та диференціюватися близькі до ембріональних стовбурових клітин [14].

## **1.3. Біологічні основи отримання біомедичного продукту**

Трансплантація печінки є єдиним радикальним методом лікування багатьох захворювань, що вражають цей орган, проте його кількість та життєздатність знижуються. Дослідження каркасів печінки на основі

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16

позаклітинного матриксу є стратегією тканинної біоінженерії, що має велике застосування в регенеративній медицині.

Трансплантація гепатоцитів забезпечує альтернативний шлях лікування пацієнтів із різними захворюваннями печінки. Багато дослідників прийняли цю стратегію, проте деякі обмежуючі фактори, такі як обмежена кількість клітинних добавок та ефективність дії цих клітин у тканині-мішені, перешкоджають використанню цієї альтернативи. Таким чином, трансплантація печінки в даний час є єдиним варіантом терапевтичного лікування [15]. Нещодавні дослідження в галузі фізіології печінки, молекулярної біології, стовбурових клітин та позаклітинного матриксу підтримують розвиток тканинної інженерії, відкриваючи вельми перспективні досягнення в цій галузі науки. Досягнення тканинної інженерії забезпечили розробку методів створення біоштучних органів із потенційним застосуванням у регенеративній медицині.

Основною метою цієї області є заміна людських клітин, тканин або органів для відновлення нормальної функції органу або тканини, яка була пошкоджена багатьма факторами, такими як старіння і навіть вроджені порушення.

В даний час людські органи, які будуть викинуті, знайшли критично важливе застосування у тканинній біоінженерії [16].

Розвиток області тканинної інженерії призвів до значного прориву децелюляризації печінки. Це дозволило створити функціонуючі тканини печінки, що може мати значення для трансплантації, і навіть для регенерації тканин. Децелюляризація забезпечує точне видалення донорських клітин печінки, внаслідок чого утворюється безклітинний каркас, який зберігає складну тривимірну архітектуру та склад позаклітинного матриксу органу. Потім цей каркас можна заселити специфічними для пацієнта гепатоцитами або стовбуровими клітинами печінки, що може полегшити створення біоінженерних печінкових структур.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		17

Ця нова стратегія може вирішити проблему нестачі донорських органів та покращити розуміння проблем, що стосуються печінки, таких як причини різних порушень та відповідні терапевтичні рішення [17].

Орган печінки вирощений таким чином зберігає природну судину систему, максимально сумісна з організмом пацієнта, якому її трансплантують.

### **Висновок до розділу 1**

У цьому розділі була представлена інформація про орган печінки, його функції та особливості, метод її вирощування шляхом децелюляризації природного органу і заселення позаклітинного матриксу клітинами реципієнта.

Описавши готовий штучний орган печінки було зроблено висновок щодо його медико-біологічного обґрунтування. Цей висновок заснований на актуальності розробки технології вище згаданого виробу в лабораторних умовах.

Даний метод створення органів є інноваційним, тож аналогів продукції на ринку не буде. Органи, отримані шляхом децелюляризації і повторного заповнення позаклітинного матриксу клітинами реципієнта, мають найвищу сумісність з організмом реципієнта, що попередить появу відторгнення після пересадки.

Печінка людини придатна до трансплантації матиме попит серед лікарень, що займаються пересадкою органів, а саме [18]:

1. Державна установа “Національний науковий центр хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова” національна академія медичних наук України
2. Клініка “Оберіг”
3. Національна дитяча спеціалізована лікарня “ОХМАТДИТ” міністерство охорони здоров’я України
4. Клінічна лікарня “Феофанія”

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						18
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

5. Комунальне некомерційне підприємство “Київська міська клінічна лікарня №1”

6. Комунальне некомерційне підприємство “Львівське територіальне медичне об’єднання Багатопрофільна клінічна лікарня інтенсивних методів лікування та швидкої медичної допомоги”

7. Комунальне некомерційне підприємство “Запорізька обласна клінічна лікарня”

8. Комунальне некомерційне підприємство “Хмельницька обласна лікарня”

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						19
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## 2. ТЕХНОЛГІЧНА ЧАСТИНА

### 2.1. Обґрунтування вибору технології виготовлення

Для децелюляризації печінки було обрано метод перфузії через його високу ефективність. Такий метод дозволяє очистити печінку від клітин при цьому зберігаючи кровоносну систему органу непошкодженою [19].

Для проведення децелюляризації органу печінкову артерію і воротну вену канюлюють. Після канюляції артерії, печінку розміщують у спеціально розроблений біореактор і розпочинають перфузію промивних та децелюляризуючих розчинів. Розрахункові даня про кількість необхідних промивних розчинів було взято із статі «Perfusion decellularization of a human limb: A novel platform for composite tissue engineering and reconstructive surgery» на Journal,рone. Спочатку орган промивається 6 літрами гепаризинового фізіологічного розчину, щоб видалити кров та тромби із судинної мережі. Потім пенку перфузують двома змінами по 40 літрів автоклавованої деіонізованої води за один прохід зі швидкістю 60 мл/хв. Потім перфузують 1% за обсягом додецилсульфату натрію протягом 30 днів і 1% тритону-Х протягом 15 днів у замкнутій системі рециркуляції з резервуаром ємністю 50 літрів, замінюючи розчин миючого засобу через день. Швидкість перфузії починалася з 60 мл/хв і збільшилася до 120 мл/хв у міру продовження децелюляризації. Після закінчення процедури децелюляризації орган перфузують автоклавированной деіонізованою водою протягом 15 днів, змінюючи резервуар об'ємом 50 літрів кожні 12 годин, щоб забезпечити видалення детергентів матриксу. Потім орган повторно врівноважують перфузією 50 літрів стерильного буферного фосфатного розчину і використовували для гістологічної та біохімічної перевірки [10].

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						20
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Очищений каркас позаклітинного матриксу заповнюють клітинами реципієнта. За допомогою вже встановлених канюль, через кровоносну систему пропускають суміш стовбурових клітин та факторів росту до повного заповнення каркасу позаклітинного матриксу клітинами.

Після закінчення процесу вирощування, печінку підключають до системи штучного кровообігу для стабілізації пересаджених клітин в матриксі. Для перевезення готовий орган поміщають в ємність зі спеціальним консервуючим розчином в гіпотермічних умовах при 4 °С. Такі умови збережуть дієздатність органу при його переміщені [20].

## 2.2. Опис технології виготовлення

### ДР 1 Санітарна підготовка виробництва

Цей етап включає в себе дії, спрямовані на забезпечення високої якості кінцевого продукту на кожному етапі технологічного процесу. Всі наступні кроки, такі як санітарна підготовка виробництва, виконуються згідно з встановленою нормативно-технологічною документацією.

#### ДР 1.1 Підготовка приміщень

При використанні мийних та дезінфекційних засобів обов'язково треба уникати органічних розчинників та їх використання для приготування робочих розчинів. Для запобігання розвитку резистентності мікроорганізмів рекомендується чергувати дезінфекційні засоби щомісячно або щоквартально.

Також важливо регулярно перевіряти мікробіологічну чистоту мийних та дезінфікуючих засобів. Розчини повинні бути зберігані у попередньо очищеній тарі відповідно до встановлених термінів зберігання. Приготовані робочі розчини повинні бути використані лише одного разу, а процес їх приготування включає етапи підготовки та зберігання.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						21
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

### ДР 1.1.1 Щоденне прибирання

Щоденне прибирання слід виконувати після кожної зміни вологим способом. Перед початком процесу та після його завершення приміщення слід обробити миючими та дезінфекційними засобами.

### ДР 1.1.2 Генеральне прибирання

Генеральне прибирання приміщень виконують один раз на тиждень. Процес включає прибирання підлоги, стін, стелі, повітропроводів, підвіконня, поверхонь обладнання, комунікацій та меблів. Для обробки використовують відповідні мийні та дезінфекційні засоби, враховуючи матеріал, з якого вони виготовлені.

### ДР 1.2 Підготовка персоналу

#### ДР 1.2.1 Проведення медичного огляду

Перед тим як розпочати роботу, обов'язково проводиться медичний огляд для всього персоналу. Це необхідно для контролю за станом здоров'я працівників, оскільки це може впливати на якість результатів дослідження. Після першого медичного огляду подальші огляди проводяться регулярно. Результати таких обстежень записуються відповідним чином у журналах на виробництві.

#### ДР 1.2.2 Навчання працівників

Співробітники, які працюють з установкою, повинні пройти обов'язкове навчання для виконання своїх обов'язків та дотримання заходів з охорони праці згідно з встановленою програмою. Це включає проведення інструктажу з техніки безпеки. Крім того, необхідно забезпечувати подальше навчання співробітників та періодично перевіряти їх практичну ефективність.

### ДР 1.3 Підготовка одягу

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						22
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Для роботи персонал повинен мати відповідний одяг. Одяг зберігається у складському приміщенні центру у необхідній кількості та регулярно піддається хімічному очищенню.

#### ДР 1.4 Підготовка комунікацій та обладнання

На цьому етапі відбувається обробка обладнання та комунікацій до та після проведення технологічного процесу. Підготовка включає перевірку герметичності та функціональності обладнання, його очищення та стерилізацію. Обладнання регулярно проходить випробування та калібрування, щоб забезпечити його правильну роботу.

##### ДР 1.4.1 Мийка комунікацій та обладнання

Обладнання, яке безпосередньо контактує з речовинами, очищується синтетичними миючими засобами та дезінфікуючими розчинами. Розбірні частини обладнання відокремлюються та миються у розчині миючого засобу.

##### ДР 1.4.2 Стерилізація обладнання

Обладнання та комунікації стерилізуються гарячою парою, що подається безпосередньо в апарат. Процес стерилізації проводиться при температурі 140°C і тиску 0,2 МПа протягом 60 хвилин. Після завершення стерилізації до апарату подається стерильне повітря через барботер, щоб забезпечити та підтримувати асептичні умови при тиску 0,02-0,03 МПа.

#### ДР 2 Підготовка чистого повітря

##### ДР 2.1 Підготовка повітря для вентиляції

Для забезпечення робочих приміщень повітрям необхідного класу чистоти використовується система подачі вентиляційного повітря з неодноспрямованим потоком. Повітря подається через розподільники, встановлені в системі кондиціонування.

##### ДР 2.1.1 Забір атмосферного повітря

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						23
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Для вибору місця забору повітря з зовнішнього середовища потрібно враховувати можливі джерела газоподібних та аерозольних забруднень. З цією метою використовуються трубчасті конструкції висотою два метри, розміщені в зонах з найменшою кількістю пилу та газів.

#### ДР 2.1.2 Механічне очищення повітря

Основною метою попереднього очищення повітря від механічних забруднень є видалення аерозольних часток та запобігання абразивному пошкодженню компресійного обладнання. На цьому етапі використовуються фільтри попереднього очищення, які встановлюються перед вентиляторами. Ці фільтри призначені для затримання часток розміром більше 5 мкм, що запобігає їх проникненню у систему повітропостачання.

#### ДР 2.1.3 Стабілізація термодинамічних показників повітря

На цьому етапі головною метою є налаштування повітря до оптимальної вологості та температури. Повітря проходить через теплообмінник, який відповідно охолоджує або нагріває його в залежності від потреб. Для стабілізації потоку повітря використовується ресивер, який згладжує пульсації тиску під час роботи компресійного обладнання. Зволоження повітря відбувається за допомогою форсунок, що розпилюють вологу.

#### ДР 2.2 Підготовка технологічного повітря

В біотехнологічному виробництві висуваються високі вимоги до ступеня очищення технологічного повітря, оскільки необхідно знизити рівень можливої контамінації. Тому для процесу очищення технологічного повітря на ДР 2.1.3 обов'язково використовувати індивідуальний фільтр.

#### ДР 2.2.1 Очистка повітря на індивідуальному фільтрі

Індивідуальний фільтр у системі призначений для уловлювання часток, які можуть пройти через інші фільтри, а також для забезпечення уловлювання часток, розмір яких перевищує 0,3 мкм. Ці фільтри демонструють високу

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						24
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ефективність, яка становить 99,99999%, що вказує на їх здатність уловлювати більшість часток даного розміру.

### ДР 3 Підготовка води

#### ДР 3.1 Дистиляція води

Дистиляція води призначена для ефективного очищення води від забруднень та домішок для подальшого використання.

### ДР 4 Підготовка органу

#### ДР 4.1 Промивання органу

Перед проведенням операцій з органом його обов'язково треба видалити зовнішні забруднення. Для цього треба ретельно промити орган дистильованою водою.

#### ДР 4.2 Канюлювання органу

Головну артерію органу канюлюють за допомогою тупої голки 15 калібру, щоб забезпечити перфузію розчину. Плечову вену також канюлювали, щоб забезпечити моніторинг судинного відтоку.

#### ДР 4.3 Промити орган гепаризованим фізіологічним розчином

Щоб видалити кров і згустки крові з судинної системи орган промивають гепаризованим фізіологічним розчином.

### ТП 5 Децелюляризація органу

#### ТП 5.1 Перфузія органу дистильованою деіонізованою водою

Перфузування кінцівки двома змінами 40 літрів дистильованої деіонізованої води за один прохід зі швидкістю 60 мл/хв.

#### ТП 5.2 Перфузія органу додецилсульфатом натрію

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						25
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Перфузування 1% об'ємний розчин додецилсульфату натрію (SDS) у замкнутій системі рециркуляції з 50-літровим резервуаром із заміною розчину через день .

#### ТП 5.3 Перфузія органу Triton -X

Перфузування розчином 1% Triton-X (Sigma Aldrich; T8787) у замкнутій системі рециркуляції з 50-літровим резервуаром із заміною розчину миючого засобу через день .

#### ТП 5.4 Перфузія органу дистильованою деіонізованою водою

Наприкінці процедури децелюляризації дистильовану деіонізовану воду перфузували в органі, змінюючи 50-літровий резервуар кожні 12 годин, щоб забезпечити видалення детергентів з матриці.

#### ТП 5.5 Перфузія органу стерильним фосфатно буферним розчином

Орган треба повторно врівноважити за допомогою перфузії 50 літрів стерильного фосфатного буферного розчину (PBS).

#### ТП 6 Введення специфічних клітин в децелюляризований орган

Структура органу заселюється клітинами реципієнта. Щоб посилити структуру кровоносних судин для майбутнього навантаження, в них були введені клітини людського ендотелію.

#### ТП 7 Забезпечення живлення органу

До колагенової артерії підключають штучна система циркуляції, що постачає орган поживними речовинами та киснем.

#### ЗВ 8 Знешкодження та переробка відходів

Всі рідкі відходи, відпрацьовані матеріали та повітря потрібно нейтралізувати та знешкодити перед викидом. Ці процеси відбуваються в окремих приміщеннях, що ізолюються від виробничих зон.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						26
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Рідкі малотоксичні та нетоксичні відходи не вимагають спеціальної обробки перед зливанням у міську каналізацію; їх розбавляють значною кількістю води з водопроводу.

Рідкі відходи, що мали контакт з тваринними клітинами, переливаються у спеціально позначені герметичні ємності, що містять дезінфікуючі розчини. Ці відходи піддаються дезінфекції протягом принаймні 2 годин, а потім направляються до зони інактивації, де їх обробляють сухим хлорним вапном і залишають ще 2 години. Герметичні контейнери передаються спеціалізованим службам для спалювання [21].

Контроль здійснюється на технічному, хімічному та мікробіологічному рівнях.

### 2.3. Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Для досягнення ефективності у виготовленні печінки людини важливо визначити показники, які обов'язково потрібно перевірити. Опис сировини та матеріалів, а також їх відповідні показники, наведено у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Опис сировини, матеріалів та напівфабрикатів

№	Назва	Параметри перевіряються відповідно до визначеної категорії та номера нормативно-технічної документації (НТД).	Показники, що обов'язково перевіряються	Примітка
1	2	3	4	5
1. Основна сировина				
1.1	Орган печінки		мікробіологічна чистота	-

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4	5
1.2	Стволові клітини реципієнту	ISO/TS 10993-20:2006	мікробіологічна чистота	-
<b>2. Допоміжна сировина</b>				
2.1	Гепаризовані й фізіологічний розчин	ДСТУ 8145:2015	мікробіологічна чистота	-
2.2	Додецилсульфат натрію	ДСТУ 8145:2015	мікробіологічна чистота	-
2.3	Тритіно-Х	ДСТУ 8145:2015	мікробіологічна чистота	-
2.4	Фосфатний буфер	ДСТУ 8145:2015	Мікробіологічна чистота	-
<b>3. Матеріали</b>				
3.1	Спецодяг	ГОСТ 24760-81	зовнішній вид	-
3.2	Гумові рукавички	ДСТУ EN ISO 3741:2018	зовнішній вид	-
3.3	Стакн лабораторний	ГОСТ 25336-82Е	зовнішній вид	-
3.4	Мірний стакан	ГОСТ 25336-82Е	зовнішній вид	-

#### 2.4. Матеріальний баланс

В таблиці 2.2 наведений матеріальний баланс етапів вирощування штучної печінки.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						28
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 2.2 – Матеріальний баланс етапів створення органу печінки

Взято				Отримано			
Найменування сировини, матеріалів, напівпродуктів	Кількість			Найменування сировини, матеріалів, напівпродуктів	Кількість		
	кг	шт	л		кг	шт	л
<b>ТП 5 Децелюляризація органу</b>							
Дистильована деіонізована вода			830	Дистильована деіонізована вода з клітинними домішками			830
Додецилсульфат натрію 1%			1500	Додецилсульфат натрію 1% з клітинними домішками			1500
Тритон-Х 1%			750	Тритон-Х 1% з клітинними домішками			750
Фосфатно буферний розчин			50	Фосфатно буферний розчин з клітинними домішками			50
Всього			3130	Всього			3130
<b>ТП 6 Введення специфічних клітин</b>							
Клітини ендотелію	0,2			Укріплена структура кровоносних судин	0,2		
Клітини реципієнта	1			Структурований орган	1		
Всього	1,2			Всього	1,2		
<b>ТП 7 Забезпечення живлення органу</b>							
Кров насичена киснем та поживними речовинами			0,5	Кров насичена вуглекислим газом і кінцевими продуктами метаболізму			0,5
Всього			0,5	Всього			0,5

## 2.5. Контроль процесу виготовлення

Таблиця 2.3 містить параметри, які є критичними і потребують контролю під час виробництва.

Таблиця 2.3 - Моніторинг виробництва

№ контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Метод контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проби	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
К 1.1.1	Концентрація розчину для дезінфекції	ваги, мірний посуд	кожного процесу	0,2% розчин хлорантоїну, 76% розчин етанолу
К 1.1.2	Концентрація миючих розчинів	ваги, мірний посуд	кожного процесу	0,5% біомою
К 1.4.1	мікробіологічна чистота	мікробіологічний аналіз змивів	щодня	< 5 КУО/пластина
К 3.1	мікробіологічна чистота	мікробіологічний аналіз	щодня	< 5 КУО/пластина
К 4.1	мікробіологічна чистота	мікробіологічний аналіз змивів	кожного процесу	< 5 КУО/пластина
К 4.2	Швидкість роботи перистальтичного насос	за допомогою вбудованого датчика, візуально	кожного процесу	60-120 мл/хв

Продовження таблиці 2.3

1	2	3	4	5
К 4.3	мікробіологічна чистота	мікро-біологічний аналіз змивів	кожного процесу	< 5 КУО/пластина
К 6	мікробіологічна чистота	мікро-біологічний аналіз	кожного процесу	< 5 КУО/пластина
К 7	мікробіологічна чистота	мікро-біологічний аналіз змивів	кожного процесу	< 5 КУО/пластина

## 2.6. Стандартизація біомедичної продукції

Для випуску подальшого виробництва штучної печінки для трансплантації, вона має відповідати міжнародним стандартам.

Стандарт ISO 13485 є міжнародним документом, що визначає вимоги до системи управління якістю для виробників медичних виробів. Цей стандарт призначений для організацій, які займаються розробкою, виробництвом, встановленням та обслуговуванням медичних пристроїв та пов'язаних послуг.

Крім того, стандарт ISO 13485 може бути використаний внутрішніми та зовнішніми сторонами, такими як органи сертифікації, для підтримки аудиторських процесів.

Часто відповідність цьому стандарту є необхідною умовою для отримання маркування CE, що є обов'язковим для розміщення медичних виробів на ринку Європейського Союзу [22].

У таблиці 2.5 наведена специфікація якості продукту.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						31
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		





перфузування: 1, 5- ємність для перфузату; 2 – перистальтичний насос; 3 – теплообмінник; 4 – перфузійна камера

Ємність для перфузату заповнена розчином для децелюляризації органу шляхом перфузії. До ємності підходить трубопровід для переміщення розчину насосу.

Для створення правильного тиску для перфузії було використано перистальтичний насос.

Далі рідина надходить до теплообмінника де набуває температури в 36 °С. Допускається похибка  $\pm 0.5$  °С.

Після встановлення належного тиску і температури для розчину, він надходить до перфузувальної камери, де проходить крізь судинну сітку органу, очищуючи його від клітин. Після проходження кровоносної системи органу, розчин з частками клітин виходить через другий канал у напрямку ємності для збирання відпрацьованої рідини.

### **3.2. Розробка схеми автоматизації технології виготовлення**

#### **3.2.1. Аналіз технологічного процесу як об'єкту автоматизації**

На основі аналізу характеристик технологічного процесу децелюляризації печінки шляхом перфузії, його обладнання та встановлених норм технологічного режиму, необхідно забезпечити певний рівень автоматизації виробництва, зокрема:

- контроль та регулювання витрати перфузійного розчину у трубопроводі.
- контроль тиску у перистальтичному насосі (10-17 КПа);

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						34
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



Для індикації та реєстрації тиску в трубопроводі встановлено первинний вимірювальний перетворювач для вимірювання тиску (3-1) та індикатор технологічний мікропроцесорний (3-2).

Для дистанційного керування ввімкненням та вимкненням теплообмінника, розроблено контур 4, що включає регулятор для керування електроприводом (4-1), встановлену на щиті.

Для контролю та корегування температури розчину в трубопроводах та в теплообміннику розроблено контур 5, що складається із терморезистора (5-1), індикатора технологічного мікропроцесорного (5-2), регулятора (5-3) та виконавчого механізму (5-4).

### **Висновок до розділу 3**

Завдяки технічним засобам досягається контроль основних параметрів, які сприяють ефективній перфузії органу. Також була розроблена специфікація технічних засобів автоматизації, використаних у схемі (Додаток А).

Було виконано аналіз технологічного процесу як об'єкта автоматизації і обґрунтовано завдання автоматизації. Крім того, надано опис розробленої функціональної схеми автоматизації.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		36

## 4. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ

Дипломна робота проводиться у Національному технічному університеті України "Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського".

Цей розділ дипломного проекту виконується за планом № 1, оскільки метою дипломного проектування є біоінженерне проектування моделі вирощування штучної печінки людини для подальшої трансплантації.

Метою розділу є оцінка небезпек та розробка рекомендацій з охорони праці та техніки безпеки при вирощуванні штучної печінки, в межах одного лабораторного приміщення.

### 4.1. Характеристика виробничого приміщення

Лабораторія для вирощування штучної печінки розташована у світлому, сухому приміщенні з природним та штучним освітленням. Згідно з нормативними правилами охорони праці під час роботи в лабораторії [25], була розроблена система штучного освітлення, яка комбінується з природним освітленням.

Клас чистоти приміщення лабораторії має бути не нижче рівня В [26]. У якості підлогового покриття для приміщення хімічної лабораторії було використано епоксидне наливне покриття. Стіни висотою 2,75 метра, для забезпечення чистоти, облицьовані глазурованою плиткою. Двері гладкі, без виступів.

Так як робота в лабораторії передбачає взаємодію з потенційно небезпечними речовинами, було встановлено спеціальну систему вентиляції, а також ламінарний бокс для роботи з найбільш небезпечними речовинами [27].

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						37
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

За допомогою встановленої вентиляції буде можливо регулювати вологість приміщення та його температуру.

Для роботи в лабораторії встановлено два лабораторних столи, стіл-мийка лабораторний, автоклав, шафа, ламінарний бокс, холодильник, перфузійна камера стіл для аналітичних ваг та аналітичні ваги. Для освітлення приміщення використовуються два вікна та чотири дволампових світильники.

Відповідно до стандартів ДСТУ Б В.1.1-36:2016 "Визначення категорій приміщень, будинків та зовнішніх установок за вибухопожежною та пожежною небезпекою" [28] та "Правил будови електроустановок. Електрообладнання спеціальних установок" [29], лабораторні приміщення за рівнем пожежної небезпеки належать до категорії В, а клас зони – П-І.

Параметри лабораторного приміщення та перелік наявного обладнання й оснащення наведені в табл. 4.1.

Таблиця 4.1 – Опис хімічної лабораторії, включаючи параметри приміщення, обладнання та оснащення.

№	Назва	Основні характеристики	Кількість	Поз. на рис.
1	2	3	4	5
Приміщення				
1	Параметри приміщення	5675 × 3441 × 2750 мм; S = 19,5 м <sup>2</sup> ; V = 53,7 м <sup>3</sup>	–	–
2	Працівник	дослідник, технік-лаборант	2	–
3	Природне освітлення	Вікно металопластикове Сучасний Світ WDS 5s, 1200 × 1430 мм	2	1
4	Штучне освітлення	Світильник ЛПО-1 дволамповий, ЛД-40 Р = 40 Вт, тип ПРА: ртутний 1313 × 255 мм	4	2





Таблиця 4.2 - Фактичні та нормативні характеристики приміщень та розміщення технологічного обладнання

№	Параметри приміщення	Значення нормативні	Значення реальні
1.	Мінімальна площа на 1 працівника	6 м <sup>2</sup>	7 м <sup>2</sup>
2.	Мінімальний об'єм на 1 працівника	20 м <sup>3</sup>	24 м <sup>3</sup>
3.	Мінімальна ширина проходу	1,5 м	1.9 м
4.	Мінімальна відстань між елементами технологічного обладнання (робоча зона)	1 (1,2) м	1 м
5.	Мінімальна відстань між обладнанням (зона, яка не використовується)	0,6 м	0,6 м

Показники у таблиці 4.2 підтверджують, що фактичні характеристики приміщення відповідають вимогам ДСТУ Б В.1.1-36:2016 [28], тому додаткові заходи нормалізації не потрібні.

#### 4.2. Аналіз потенційних небезпек та заходи їх усунення

Згідно зі статтею 153 Кодексу законів про працю України, умови праці на будь-якому підприємстві, включаючи лабораторії, повинні бути безпечними та нешкідливими. Основними небезпечними та шкідливими факторами у хімічній лабораторії можуть бути хімічна, електрична та пожежна небезпека.

##### 4.2.1. Пожежна небезпека

Відомості про джерела пожежної небезпеки та заходи запобігання ризикам наведені в табл. 4.3-4.5.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						41
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 4.3 – Головні загрози, що становлять небезпеку в разі виникнення пожежі

№	Найменування обладнання, оснащення, матеріалів	Джерело небезпеки	Причини небезпеки	Наслідки небезпеки
1	Бокс ламінарний	Коротке замикання; перевантаження; дефектність приладів; неправильне використання.	Порушення безпекових заходів; порушення правил експлуатації.	Пожежа; травми працівників.
2	Аналітичні ваги			
3	Холодильник			
4	Речовини, які легко вигоряють	Спалахування від контакту з вогнем, нагріванням або іскрами	Порушення правил зберігання та неуважне ставлення до заходів безпеки	Пожежний випадок, викиди летючих речовин, та травми працівників

Таблиця 4.4 – Значення факторів ризику в реальному та нормативному вимірах.

№	Фактор небезпеки	Реальні значення	Нормативні значення
1	Коротке замикання струму	Наявний	Відсутній
2	Іскри	Наявний	Відсутній

Таблиця 4.5 – Профілактичні заходи щодо пожежної безпеки.

№	Сукупність заходів з організаційно-провідного характеру	Вид заходу	Критерій вибору
1	Експлуатаційні заходи	Обслуговування технічних систем безпеки; регулярне вимірювання опору ізоляції.	Забезпечення адекватного стану; уникнення короткого замикання
2	Технічні заходи	Встановлення пожежного датчика; застосування вогнегасника	Виявлення пожежі у початковій фазі; обмеження пожежі
3	Організаційні заходи	Підготовка до експлуатації, навчання з пожежної безпеки та створення плану евакуації	Навчання з питань безпеки під час експлуатації пристроїв; підвищення рівня безпеки в разі пожежі; захист життя та здоров'я працівників

Згідно зі стандартом ДСТУ 3855-99 [31], що регламентує питання пожежної безпеки, можна підтвердити, що в даній лабораторії були дотримані всі необхідні вимоги та норми. Це означає, що були вжиті всі заходи для запобігання пожежі, а також забезпечено відповідний контроль та безпеку в разі виникнення пожежної ситуації. Враховуючи постійні зміни у сфері безпеки та стандартизації, важливо підтримувати актуальність даних стандартів і надавати їм пріоритет у виробничих умовах, щоб забезпечити безпеку персоналу та майна.

#### 4.2.2. Хімічна небезпека

У таблицях 4.6-4.8 подано інформацію про потенційні джерела небезпеки та заходи щодо усунення ризиків. Таблиця 4.6 зосереджена на джерелах хімічної небезпеки.





Таблиця 4.10 – Фактичні та вимогові параметри електронної безпеки.

Фактор небезпеки	Реальне значення	Нормативні значення
Максимальний струм	> 10 мА	10 мА

Таблиця 4.11 – Превентивні заходи щодо безпеки використання електрики.

№	Сукупність заходів з організаційно-провідного характеру	Вид заходу	Критерій вибору
1	Технічні заходи	З'єднання розеток з заземленням; заземлення пристроїв з провідним корпусом (клас захисту I); ізоляція провідних деталей пристроїв; застосування автоматичних вимикачів; запобігання механічних ушкоджень та потрапляння води.	Запобігання накопиченню статичної електрики та перенапруженню; захист від ураження електричним струмом; захист від зовнішніх впливів; автоматичне відключення електропостачання у випадку аварії; запобігання некоректному функціонуванню приладів та ураженню електричним струмом.
2	Організаційні заходи	інструктаж з експлуатації	Тренінг з безпеки у роботі з електроприладами.

Приміщення лабораторії віднесено до категорії приміщень з низькою небезпекою, оскільки тут не спостерігається температура вище 35 градусів Цельсія, вологість повітря не перевищує 75%, а підлога забезпечена наливним епоксидом. Заходи, наведені у таблиці 4.11, підвищують рівень електричної безпеки приладів під час їх експлуатації і відповідають вимогам ДСТУ Б В.2.582:2016 [32] щодо запобігання ураження від електричного струму.

#### **Висновок до розділу 4**

У цьому розділі було детально розглянуто потенційно небезпечні аспекти, пов'язані з роботою в хімічній лабораторії під час вирощування штучної печінки. Було проведено опис приміщення та обладнання лабораторії, а також здійснили аналіз відповідності вимогам нормативних документів. В результаті цього аналізу було встановлено, що немає необхідності вживати додаткові заходи для нормалізації умов в приміщенні.

Основні потенційні небезпеки включають електричний ризик, пожежну небезпеку та хімічний потенціал. Відповідно до цього було розроблено низку технічних, організаційних та експлуатаційних заходів з метою зменшення цих ризиків та їх попередження.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						47
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## ВИСНОВКИ

Метою дипломного проєкту було біоінженерне проектування вирощення штучної печінки людини для подальшої трансплантації.

Під час виконання завдання:

1. Виконано огляд літературних джерел для формування технологічних процесів, необхідних для створення штучної працездатної печінки, та обґрунтовано розробку цього методу виготовлення продукту. Було доведено актуальність виготовлення штучного органу.

2. Розроблено ефективний метод отримання каркасу позаклітинного матриксу, шляхом перфузійної децелюляризації, та відновлення клітинної структури печінки.

3. Була розроблена технологічна схема для вирощування печінки, в якій описані всі етапи процесу, включаючи допоміжні роботи, технологічні процеси та заходи щодо утилізації та поводження з відходами.

4. Складено апаратурно-технологічну схему лабораторної установки.

5. Розроблено схему автоматизації основних процесів, що необхідні для виготовлення продукту. Були розроблені системи автоматичного контролю для параметрів, таких як температура та тиск.

6. Оцінено основні види небезпек, що можуть виникнути під час виготовлення кінцевого продукту, працездатної печінки.

7. Були розроблені відповідні заходи з безпеки праці з метою усунення можливих загроз.

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						48
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		



7. M.M. Bobrova. Liver Tissue Decellularization as a Promising Porous Scaffold Processing Technology for Tissue Engineering and Regenerative Medicine/ M.M. Bobrova, L.A. Safonova, O.I. Agapova. march 20, 2015. doi: 10.17691/stm2015.7.4.01

8. Isaeva E.V., Beketov E.E., Arguchinskaya N.V., Ivanov S.A., Shegay P.V., Kaprin A.D. Decellularized extracellular matrix for tissue engineering (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2022; 14(3): 57, <https://doi.org/10.17691/stm2022.14.3.07>

9. Mariana Jian. Techniques of liver decellularization/ Mariana Jian, Vitalie Cobzac, Ivan Moghildea. 2018 doi: 10.5281/zenodo.2222303

10. Mattia Francesco Maria Gerli . Perfusion decellularization of a human limb: A novel platform for composite tissue engineering and reconstructive surgery/ Mattia Francesco Maria Gerli. 2018; 13(1): e0191497. doi: 10.1371/journal.pone.0191497. PMID: 29352303, PMCID: PMC5774802

11. Khan AA, Vishwakarma SK, Bardia A, Venkateshwarulu J. Repopulation of decellularized whole organ scaffold using stem cells: an emerging technology for the development of neo-organ. *J Artif Organs*. 2014;17(4):291-300.

12. Danielle L Nicholls. Perfusion decellularization for vascularized composite allotransplantation/ Danielle L Nicholls, Sara Rostami, Golnaz Karoubi. 2022; 10: 20503121221123893. doi: 10.1177/20503121221123893. PMID: 36120388, PMCID: PMC9478687.

13. Pei M., Li J.T., Shoukry M., Zhang Y. A review of decellularized stem cell matrix: a novel cell expansion system for cartilage tissue engineering. *Eur Cell Mater* 2011; 22: 333–343.

14. Ishita Allu. Decellularization Techniques for Tissue Engineering: Towards Replicating Native Extracellular Matrix Architecture in Liver Regeneration/ Ishita

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						50
Эмн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		





пром. безпеки, охорони пр. та гірн. нагляду від 05.10.2009 р. № 164. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0988-09#Text>.

28. Визначення категорій приміщень, будинків та зовнішніх установок за вибухопожежною та пожежною небезпекою : ДСТУ Б В.1.1-36:2016. – [Чинний від 2016-06-15]. – К. : Держспоживстандарт України, 2016. – 34 с. – (Національний стандарт України).

29. Про затвердження Правил будови електроустановок. Електрообладнання спеціальних установок [Електронний ресурс] : Наказ М-ва пр. та соц. політики України від 21.06.2001 р. № 272. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0272203-01#Text>.

30. Кодекс законів про працю України [Електронний ресурс] : Кодекс України від 10.12.1971 р. № 322-VIII : станом на 27 січ. 2023 р. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/322-08#Text>.

31. Пожежна безпека. Визначення пожежної небезпеки матеріалів та конструкцій. Терміни та визначення: ДСТУ 3855-99. – [Чинний від 2000-07-01]. – К. : Держспоживстандарт України, 199. – 27 с. – (Національний стандарт України).

32. Електробезпека в будівлях і спорудах. Вимоги до захисних заходів від ураження електричним струмом: ДСТУ Б В.2.5-82:2016. – [Чинний від 2017-04-01]. – К. : Держспоживстандарт України, 2016. – 163 с. – (Національний стандарт України).

					БФ-0109.12.30.001 ПЗ	Арк.
						53
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## ДОДАТКИ

### Додаток А. Специфікація устаткування, виробів і матеріалів

Позиція на схемі	Назва параметра	Середовище, місце відбору інформації	Граничне значення параметра	Місце монтажу	Назва, технічна характеристика	Тип, марка моделі	Заводвиробник	Кількість
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>УСТАТКУВАННЯ ТА ПРИЛАДИ</b>								
1-1 6-1	витрата	трубопровід	100 мл/хв	трубопровід	Ротаметр для води, панельного типу з регулятором потоку; витрата – 120-1000 л/год;	LZM-15ZT-18	«ZYIA», Китай	2
1-2 6-2	витрата	трубопровід	100 мл/хв	щит керування	індикатор технологічний мікропроцесорний вхідні сигнали: 0-5мА (R <sub>вх</sub> =400 Ом), 0(4)-20 мА (R <sub>вх</sub> =100 Ом), 0-10В (R <sub>вх</sub> =25кОм) Вихідні сигнали: 0-5 мА (R <sub>н</sub> <=2кОм), 0-20 мА, 4-20 мА (R <sub>н</sub> =2кОм) гранично допустима похибка: ±0,2%	ITM-11	ВАТ «МІКРОЛ» м. ІваноФранківськ	2
2-1 4-1	керування	перистальтичний насос, теплообмінник	-	прилад місцевий	сигнали керування 4 – 20 мА, 0 – 10 В сигнал зворотного зв'язку 4- 20 мА	МІК-21	ВАТ «МІКРОЛ» м. ІваноФранківськ.	2
3-1	тиск	трубопровід	0,01 МПа	трубопровід	Вимірювальний перетворювач тиску серії КВАНТ, ΔP <sub>max</sub> = 63 кПа; ΔP <sub>доп</sub> = 1,6 МПа; I <sub>вих</sub> = 4...20 мА	ДПП-2-12-001	НВФ «АГАТ-1», м. Харків	1

Продовження додатка А

1	2	3	4	5	6	7	8	9
3-2	тиск	трубопровід	0,01 МПа	Щит керування	Вторинний показувальний і реєструвальний прилад, $I_{вх} = 0 \dots 5$ мА; $4 \dots 20$ мА; $U_{вх} = 0 \dots 100$ мВ	ИДЦ1-Щ8	«Овен», Україна	1
5-1	температура	трубопровід	$36 \pm 0,5^\circ\text{C}$	місцевий	терморезистор діапазон вимірювання: -50 до +200 довжина: 2000 мм діаметр наконечника: 6 мм	TG 1-20	«Sensit», Чехія	1
5-2	температура	трубопровід	$36 \pm 0,5^\circ\text{C}$	щит керування	регулятор мікропроцесорний з корекцією за другим параметром; аналогових входів – 2 (0...5 мА, 0(4)...20 мА, 0...10 В), максимальна похибка АЦП $\pm 0,2$ %;	МІК-21	ВАТ «МІКРОЛ» м. Івано-Франківськ	1
5-3	температура	трубопровід	$36 \pm 0,5^\circ\text{C}$	щит керування	твердотільне реле струм навантаження: 25мА вхідний сигнал 3-32 В	НТ-2544.ZD3	«KIPPRIBOR», Китай	1