

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

«До захисту допущено»
В. о. завідувача 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: «Біоінженерне конструювання виробу-моделі
гематоенцефалічного бар'єру для біологічного оцінювання
протипухлинних лікарських засобів»**

Виконала:

здобувачка IV курсу, групи БФ-91

Макляк Таїсія Олегівна

Керівник:

Доцент кафедри ТМБ, к. фарм. н.

Голембіовська Олена Ігорівна

Консультант з «Розробки схеми автоматизації»:

Старший викладач кафедри ТПЗА

Жураковський Ярослав Юрійович

Консультант з «Охорони праці та техніки безпеки»:

ктн, доцент кафедри ОППЦБ

Демчук Гліб Іванович

Рецензент:

ст. викл. кафедри ББЗЛ, к.мед.н.

Цанько Іван Іванович

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

Здобувач _____
(підпис)

Відомість дипломного проєкту

№ з/п	Формат	Позначення	Найменування	К-сть листів	Примітка
1	A4		Завдання на дипломний проєкт	2	
2	A4	БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Пояснювальна записка	57	
3	A1	БФ 91/147.37.30.002 ТС	Технологічна схема	1	
4	A1	БФ 91/147.37.30.003 АС	Апаратурно-технологічна схема	1	
5	A1	БФ 91/147.37.30.004 СА	Схема автоматизації	1	

				БФ 91/147.37.30.001		
	ПІБ	Підп.	Дата			
Розробн.	Макляк Т. О.			Відомість дипломного проєкту	Лист	Листів
Керівн.	Голембіовська О. І.				1	1
Консульт.					КПІ ім. Ігоря Сікорського Каф. <u>ТМБ</u> Гр. <u>БФ-91</u>	
Н/контр.						
В.о. зав. каф.	Бесараб О. Б.					

**Пояснювальна записка
до дипломного проєкту**

на тему: «Біоінженерне конструювання виробу-моделі гематоенцефалічного бар'єру для біологічного оцінювання протипухлинних лікарських засобів»

Київ – 2023

**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

В. о. завідувача кафедри

Олександр БЕСАРАБ

« » 20
__ р.

**ЗАВДАННЯ
на дипломний проєкт
студенту Макляк Таїсії Олегівні**

1. Тема проєкту «Біоінженерне конструювання виробу-моделі гематоенцефалічного бар'єру для біологічного оцінювання протипухлинних лікарських засобів», керівник проєкту Голембіовська Олена Ігорівна, к.фарм.н., доцент кафедри ТМБ, затверджені наказом по університету від «30» травня 2023 р. № 2106-с.
2. Термін подання студентом проєкту 16.06.2023 р.
3. Вихідні дані до проєкту: інженерний проєкт – лабораторна установка, яка моделює гематоенцефалічний бар'єр для біологічного оцінювання протипухлинних лікарських засобів.
4. Зміст пояснювальної записки: вступ, 4 розділи (медико-біологічна частина, технологічна частина, апаратурно-інженерна частина, охорона праці та техніка безпеки), висновки, список використаних джерел та додатки.
5. Перелік графічного матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо): технологічна схема виробу -моделі гематоенцефалічного бар'єру для біологічного оцінювання лікарських засобів (А1), апаратурно-технологічна схема виробу-моделі гематоенцефалічного бар'єра (А1), автоматизація виробу-моделі гематоенцефалічного бар'єра (А1).

6. Консультанти розділів проєкту

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 3.2. Розробка схеми автоматизації	Жураковський Я. Ю., старший викладач кафедри технічних та програмних засобів автоматизації	05.04.2023	09.06.2023
Розділ 4. Охорона праці та техніка безпеки	Демчук Г. В., доцент кафедри охорони праці, промисловості та цивільної безпеки	19.04.2023	02.06.2023

7. Дата видачі завдання 03.04.2023 р.

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проєкту	Термін виконання етапів проєкту	Примітка
1	Літературний пошук по темі ДП	01.09.2022-10.10.2022	
2	Вибір матеріалів та схеми установки для створення максимально наближених до людського організму умов	11.10.2022-12.12.2022	
3	Аналіз технологічних аспектів виготовлення та вибір технології з урахуванням вимог охорони праці та техніки безпеки	13.12.2022-07.02.2023	
4	Виконання технологічної схеми, апаратурно-технологічної схеми та схему автоматизації виробництва	08.02.2023-20.04.2023	
5	Оформлення ДП та підготовка до захисту	травень 2023	

Здобувач

Таїсія МАКЛЯК

Керівник

Олена ГОЛЕМБІОВСЬКА

РЕФЕРАТ

Дипломний проєкт присвячено біоінженерному конструюванню виробу-моделі гематоенцефалічного бар'єру для біологічного оцінювання протипухлинних лікарських засобів.

Обсяг дипломної роботи становить 55 сторінок, містить 5 рисунків, 18 таблиць, а також 1 додаток. Загалом опрацьовано 38 джерел літератури.

Метою проєкту є розробка динамічної моделі гематоенцефалічного бар'єру у вигляді лабораторної установки для дослідження фармакодинаміки лікарських засобів, зокрема протипухлинних.

Дана робота спрямована на дослідження проникності гематоенцефалічного бар'єру, оскільки саме ця характеристика є фундаментальною для підбору ефективних біологічно активних речовин для впливу на пухлини в центральній нервовій системі.

Проаналізувавши літературні джерела, у ході конструювання було розроблено замкнену систему, що є максимально наближеною до аналогічних процесів *in vivo*, за допомогою перистальтичного насоса, резервуарів, засобів контролю температури, витрати, рівня рідини. Для імітації крові було обрано фізіологічний розчин. Моделлю безпосередньо гематоенцефалічного бар'єру є напівпроникна пориста мембрана із інкубованими на ній нейронами мишей, розміщена у закритому резервуарі.

Було розроблено схему автоматизації виробу-моделі із низкою контурів для контролю основних параметрів.

Виріб-модель має практичну цінність, яка полягає в універсальності вибору лікарських засобів для досліджень.

Актуальність конструювання даної лабораторної установки полягає у відсутності аналогів в Україні.

Результат роботи може стати корисним для низки навчально-наукових установ та лабораторій.

ABSTRACT

The diploma project is devoted to the bioengineering design of a blood-brain barrier model product for the biological evaluation of anticancer drugs.

The volume of the thesis is 55 pages, contains 5 figures, 18 tables, and 1 appendix. A total of 38 sources of literature have been processed.

The aim of the project is to develop a dynamic model of the blood-brain barrier in the form of a laboratory setup for studying the pharmacodynamics of drugs, including anticancer drugs.

This work is aimed at studying the permeability of the blood-brain barrier, as this characteristic is fundamental for the selection of effective biologically active substances for the treatment of tumors in the central nervous system.

After analyzing the literature, a closed system was developed to simulate similar processes in vivo using a peristaltic pump, tanks, temperature, flow, and fluid level control devices. A physiological solution was chosen to simulate blood. The model of the blood-brain barrier itself is a semipermeable porous membrane with incubated mouse neurons placed in a closed tank.

A scheme for automating the product model with a number of circuits to control the main parameters was developed.

The product-model has practical value, which lies in the versatility of the choice of drugs for research.

The relevance of the design of this laboratory unit is the lack of analogues in Ukraine.

The result of the work can be useful for a number of educational and research institutions and laboratories.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ.....	8
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1 МЕДИКО-БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА.....	11
1.1 Медико-біологічне обґрунтування.....	11
1.1.1 Загальна характеристика гематоенцефалічного бар'єру.....	11
1.1.2 Патології гематоенцефалічного бар'єру та фармакологічна корекція	13
1.2 Характеристика готового біомедичного продукту.....	15
1.3 Прототипи виробу-моделі.....	16
1.4 Біологічні основи отримання біомедичного продукту	18
Висновки до розділу 1	19
РОЗДІЛ 2 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	21
2.1 Обґрунтування вибору технології виготовлення	21
2.2 Опис технологічного процесу.....	22
2.3 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів	31
2.4. Матеріальний баланс	32
2.5 Контроль процесу виготовлення.....	33
2.6 Стандартизація біомедичної продукції	34
Висновки до розділу 2	35
РОЗДІЛ 3 АПАРАТУРНО-ІНЖЕНЕРНА ЧАСТИНА.....	37
3.1. Обґрунтування конструкції технологічного устаткування	37
3.2 Розробка схеми автоматизації лабораторної установки	38

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ Документа	Підпис	Дата	Біоінженерне конструювання виробу-моделі гематоенцефалічного бар'єру для біологічного оцінювання протипухлинних лікарських засобів	Літера	Аркуш	Аркушів
Розробив	Макляк Т. О.						6	53
Перевірив	Голембіовська О. І.							
Н. контр.	Голембіовська О.І.					КПІ ім. Ігоря Сікорського ФБМІ		
Затвердив	Бесараб О. Б.							

Висновок до розділу	40
РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ	41
4.1 Характеристика виробничого приміщення	41
4.2 Аналіз потенційних небезпек та заходи їх усунення	44
4.2.1 Небезпека ураження електричним струмом	45
4.2.2 Пожежна небезпека	46
4.2.3 Хімічна небезпека	47
Висновки до розділу 4	48
ВИСНОВКИ	50
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	51
ДОДАТКИ	56

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		7

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

ГАМК – гамма-аміномасляна кислота

ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр

ДР – допоміжні роботи

ДФУ – Державна Фармакопея України

ЗВ – знешкодження відходів

ІЛ-1 – інтерлейкін-1

КУО – колонієутворюючі одиниці

ПВ – переробка відходів

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

ПС – поживне середовище

ТЕН – трубчастий електронагрівник

ТП – технологічний процес

ФНП- α – фактор некрозу пухлини- α

ЦНС – центральна нервова система

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		8

ВСТУП

Актуальність

Гематоенцефалічний бар'єр – фізіологічний механізм, розташований у центральній нервовій системі.

Головною особливістю даної структури є вибіркова проникність, що є основою захисної функції, оскільки ГЕБ в нормі не можуть подолати токсини, альбуміни, цукри, бактерії, іони калію тощо.

З іншого боку, при розвитку пухлин у головному мозку, під час підбору фармакологічного лікування слід враховувати шлях доставки біологічно активної речовини до ураженої ділянки. Існує досить невелика кількість протипухлинних препаратів, здатних подолати ГЕБ.

Практичну цінність представляє розширення можливостей доставки ліків за допомогою вивчення як морфологічної структури ГЕБ на базі виробу-моделі, так і дослідження фармакодинаміки обраних препаратів.

Конструювання даної лабораторної установки також створює перспективу дослідження шляхів подолання безпосередньо ГЕБ *in vivo* для досліджень при інших патологіях.

Враховуючи відсутність аналогів в Україні, згаданим виробом можуть користуватись навчально-наукові інститути та низка лабораторій, що повною мірою обґрунтовує доцільність конструювання.

Мета роботи: розробити модель-виріб ГЕБ для оцінювання протипухлинних лікарських засобів.

Завдання роботи:

1. Провести аналіз літературних джерел для формування технологічних процесів, необхідних для проектування моделі-виробу.
2. Розробити ефективні способи відтворення наближених умов до людського організму *in vitro*.
3. Скласти технологічну схему конструювання лабораторної установки.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		9

4. Скласти апаратурну схему лабораторної установки.
5. Розробити схему автоматизації основних процесів, які протікають в моделі.
6. Оцінити основні види небезпек, пов'язаних із конструюванням моделі-виробу.
7. Розробити відповідні заходи для запобігання небезпекам.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		10

РОЗДІЛ 1 МЕДИКО-БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

1.1 Медико-біологічне обґрунтування

1.1.1 Загальна характеристика гематоенцефалічного бар'єру

Гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) – це складний фізіологічний механізм, що розташований у центральній нервовій системі (ЦНС), між кров'ю та нервовою тканиною. Він регулює проникність речовин, що циркулюють у крові, в цереброспінальну рідину та нервову тканину. ГЕБ відноситься до внутрішніх, або гістогематичних бар'єрів, які відокремлюють середовище органів від загального внутрішнього середовища – крові [1].

Гематоенцефалічний бар'єр виконує дві основні функції.

По-перше, він виконує захисну функцію, яка полягає в тому, що він утримує різні речовини, які можуть пошкодити ЦНС, від доступу з крові до нервової тканини. Ця захисна роль ГЕБ добре візуалізується як у лабораторних експериментах, так і в клінічній фізіології й патології.

По-друге, ГЕБ має регуляторну функцію, що полягає в контролі складу цереброспінальної рідини і забезпеченні її стабільності. Ця регуляторна роль ГЕБ підтримує особливе середовище ЦНС, порівняно з іншими органами, оскільки вона регулює доступ різних речовин, що циркулюють у крові, до неї.

Морфологічною основою гематоенцефалічного бар'єру є структурні компоненти, розташовані між кров'ю та нервовими клітинами, що представлено на рис. 1.1 [2].

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		11

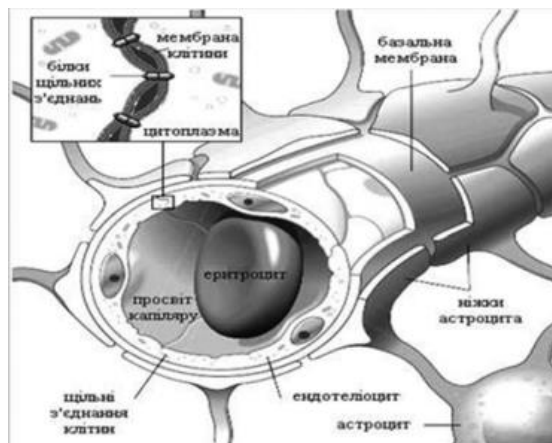


Рисунок 1.1 – Схематичне зображення морфології ГЕБ [2]

Ці компоненти включають міжендотеліальні щільні зв'язки, які утворюються за допомогою білків: оклюдинів і клаудинів, а також інтердигітації між плазмолемами сусідніх ендотеліальних клітин.

Описані клітини розташовані на базальній мембрані, яка є дуже товстою і не має пор. З іншого боку мембрани розташовані відростки астроцитів (кінцеві ніжки астроцитів), які знаходяться дуже близько один до одного, утворюючи перешкоду для дифузії макромолекул.

Наявність піноцитозних везикул у астроцитах свідчить про їх участь у транспорті речовин між кровоносними капілярами та нейронами. Крім того, вважається, що астроцити не лише забезпечують транспорт речовин до нейронів, але також створюють резерв кисню, необхідний для нервових клітин в екстремальних ситуаціях.

Відростки астроцитів також виконують функцію, що полягає у вибіркового пропуску речовин з кровотоку, які необхідні для підтримки стану нервових клітин, і поверненні продуктів обміну речовин назад до крові [3].

Важливу роль у функціонуванні гематоенцефалічного бар'єру відіграє ферментний бар'єр. Цей бар'єр складається з комплексу активних речовин, які сприяють нейтралізації та розкладанню речовин, що потрапляють з крові.

ГЕБ забезпечує специфічну проникність та підтримує біохімічний та електролітичний гомеостаз мозку, що є необхідним для нормального

функціонування нервової тканини. Рівні кальцію, рН та інших показників в крові не повинні впливати на нервову тканину.

Крім того, ГЕБ служить захисним бар'єром, що запобігає проникненню нейромедіаторів (наприклад, гліцину, адреналіну, норадреналіну, ацетилхоліну, дофаміну, серотоніну, гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) та іонів калію, які можуть змінювати збудливість нервових клітин. Фізичне навантаження або прийом їжі можуть спричиняти зміни концентрації різних речовин (наприклад, амінокислот, гормонів, іонів) в крові, що потенційно може порушити функції центральної нервової системи. ГЕБ також захищає структури мозку від проникнення шкідливих мікроорганізмів та ксенобіотиків. Особливості будови цього бар'єру унеможливають імунну відповідь, оскільки він не пропускає антитіла, мікроорганізми та лейкоцити [4].

Гематоенцефалічний бар'єр розташований не суцільно. Наприклад, центр блювання у довгастому мозку, де він відсутній, відповідає за виявлення отруйних речовин у крові. Гіпоталамус постійно контролює хімічний склад крові для регулювання водно-сольового балансу, температури тіла та інших фізіологічних показників.

1.1.2 Патології гематоенцефалічного бар'єру та фармакологічна корекція

Проникність ГЕБ для різних препаратів має важливе значення в фармакології. Наприклад, деякі антибіотики не можуть проникати до нервової тканини. Пеніцилін має низьку розчинність у ліпідах, тому погано проникають в ліквор, навіть у високих терапевтичних дозах. ГЕБ затримує аміни, такі як дофамін та серотонін, але пропускає їх кислотні попередники – L-ДОФА та 5-гідрокситриптофан. Це має велике значення для лікування хвороби Паркінсона, епілепсії та інших нейродегенеративних захворювань і психічних розладів [5,6].

У клінічній практиці використовують спрямоване зниження проникності гематоенцефалічного бар'єру для підвищення ефективності хіміотерапевтичних препаратів, антибіотиків та введення антитіл, гормонів, медіаторів, які зазвичай

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		13

не проникають в мозок через цей бар'єр. При розвитку деяких захворювань порушується формування щільних зв'язків між клітинами гематоенцефалічного бар'єру. Наприклад, у пухлинах головного мозку, які не містять функціональних астроцитів, може відбуватися порушення цього бар'єру. Це може стати причиною виникнення внутрішньомозкових пухлин, таких як гліобластоми, метастази в мозок та інші [7].

Існує група речовин, які можуть пошкодити гематоенцефалічний бар'єр і порушити його вибіркову проникність. Такі пошкодження, зокрема, біля пухлини, можуть спричинити вазогенний набряк мозку. Одна з гіпотез щодо появи нейродегенеративних захворювань полягає у порушенні функцій мікрогліальних клітин. Після втрати ендотеліоцитів через травму або природні причини, їх місце займають клітини мікроглії [8].

Наприклад, роль порушень гематоенцефалічного бар'єру підтверджується у розвитку розсіяного склерозу. В здорових людей судини мозку не пропускають клітини крові, включаючи імунні клітини. Проте, у хворих на розсіяний склероз спостерігається міграція активованих Т-лімфоцитів через гематоенцефалічний бар'єр до паренхіми мозку, що призводить до збільшення рівня прозапальних цитокінів, таких як γ -інтерферон, ФНП- α , ІЛ-1 і інші, а також активації В-лімфоцитів. Це спричиняє синтез антитіл до білку мієліну і формування запальних демієлінізуючих уражень [9].

Патологічна проникність гематоенцефалічного бар'єру грає важливу роль у виникненні та перебігу епілепсії. Досі було прийнято думку, що це наслідок нападів епілепсії, а не причина. Однак нові дослідження свідчать про зв'язок між порушенням бар'єру та збільшенням частоти епілептичних нападів [10].

Наприклад, досліді, проведені в лабораторії університету Амстердама, показали, що відкриття гематоенцефалічного бар'єру у щурів призводило до збільшення частоти епілептичних нападів. Чим більш виражене було порушення бар'єру, тим більше була ймовірність, що тварина розвине скронеvu форму епілепсії [11].

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		14

1.2 Характеристика готового біомедичного продукту

Виріб-модель гематоенцефалічного бар'єру використовується в біомедичних дослідженнях для вивчення фізіології та патології головного мозку. Ця модель дозволяє дослідникам вивчати прохідність бар'єру між кров'ю та мозковою тканиною зі зниженням кількості проведення доклінічних досліджень з використанням хребетних тварин.

Для створення виробу-моделі ГЕБ використовують культури клітин, що складаються з ендотеліальних клітин судин мозку та астроцитів, які оточують ці судини. Ці культури створюють умови для дослідження прохідності бар'єру на різних етапах його формування.

За допомогою виробу-моделі ГЕБ дослідники можуть вивчати різні аспекти функціонування бар'єру, такі як регуляція проникнення рідин, речовин та мікроорганізмів, які можуть мати вплив на здоров'я людини. Крім того, ця модель може бути використана для вивчення ефективності протипухлинних засобів та інших терапевтичних засобів на проникнення до мозкової тканини.

Тестування ліків на виробі-моделі гематоенцефалічного бар'єру може допомогти вирішити кілька проблем:

- оцінка проникності ліків до мозкової тканини;
- вивчення фармакодинаміки окремих лікарських засобів;
- визначення токсичності ліків, що може допомогти знизити ризик побічних ефектів ліків та підвищити їх безпеку;
- вивчення ефектів протипухлинних препаратів, що може допомогти з'ясувати, наскільки безпечними та ефективними є нові терапевтичні засоби.

Перевагами біоінженерного конструювання виробу-моделі ГЕБ є:

1. Можливість оцінки ефективності лікарських засобів без використання піддослідних тварин.
2. Стабільність роботи установки, що досягається завдяки розповсюдженним приладам, що включає модель.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		15

3. Створює можливість поставити велику кількість експериментів із відносно невеликими затратами на розхідні матеріали.

Недоліками є:

1. складність закупівлі апаратури, що є можливою лише за проведення тендерів, що означає попереднє обґрунтування доцільності проектування виробу-моделі.

2. вимоги до постійної підтримки технічним персоналом.

3. виріб-модель ГЕБ є доволі високовартісною установкою, що може зменшити її доступність для дослідників.

1.3 Прототипи виробу-моделі

За допомогою передових технологій 3D-друку (Nanoscribe) створюється точна модель ГЕБ з фотополімерної смоли в реальному масштабі. Ця технологія дозволяє створювати складні 3D-об'єкти з субмікронною роздільною здатністю, використовуючи лазер, який сканує рідкий фотополімер і забезпечує застигання матеріалу локально, шар за шаром [12].

Друк за допомогою фотополімерів типу IP-Visio є доцільним через низку таких переваг:

1. Низький рівень автофлуоресценції;

2. Абсорбуюча смола для прикріплення клітин на основі білків;

3. Біосумісність.

Недоліками є висока вартість, труднощі із закупівлею продукту та навчанням персоналу роботі із 3D-друком.

Модель ГЕБ складається з мікрофлюїдної системи з 50 паралельних циліндричних каналів, з'єднаних між собою переходами і з порами на стінках циліндрів. Ці пори мають діаметр 1 мкм і рівномірно розподілені по всіх циліндрах.

Модель ГЕБ, створена за допомогою 3D-друку, наведена на рис. 1.2.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16

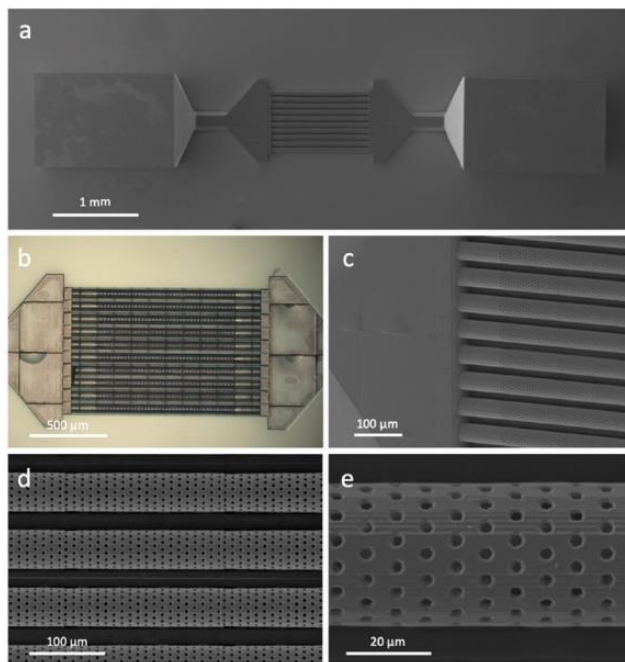


Рисунок 1.2 – Точна модель ГЕБ, створена за допомогою 3D-друку [12]

Після створення складної скафолдоподібної полімерної структури навколо пористої мікрокапілярної системи, ендотеліальні та нервові клітини культивуються на ній, створюючи біологічний бар'єр. В результаті утворюється біогібридна система, яка нагадує свою природну модель. Пристрій має компактний розмір, і рідини можуть проходити через нього під тим самим тиском, що й кров у судинах мозку [13].

Таблиця 1.1 – Аналоги (прототипи) біомедичного продукту

Назва продукту	Виробник	Склад (конструкція)
Blood-brain barrier model	VISIKOL	Конструкція складається з двох посудин, на дні однієї з яких розташована напівпроникна пориста мембрана, що вкрита перицитами, ендотеліальними клітинами та астроцитами; системи LC-MS/MS.
3D <i>In Vitro</i> Blood-Brain-Barrier Model	ETH Zurich	Модель включає клітини ендотелію головного мозку людини, первинні перицити та астроцити у 3D-розміщенні на відкритій мікрофлюїдній платформі без помпи.

1.4 Біологічні основи отримання біомедичного продукту

Гематоенцефалічний бар'єр – це фізіологічний бар'єр, який регулює перенесення речовин між кров'ю та мозком. ГЕБ є важливим елементом захисту мозку від шкідливих речовин, таких як бактерії, віруси, токсини та інші небезпечні речовини.

Нейрони мишей, що наносяться на напівпроникну пористу мембрану, використовуються в дослідженні гематоенцефалічного бар'єру через те, що структура та функція ГЕБ в мишах дуже схожа на ту, що мають люди [14]. Таким чином, миші є моделлю для дослідження ГЕБ в людей.

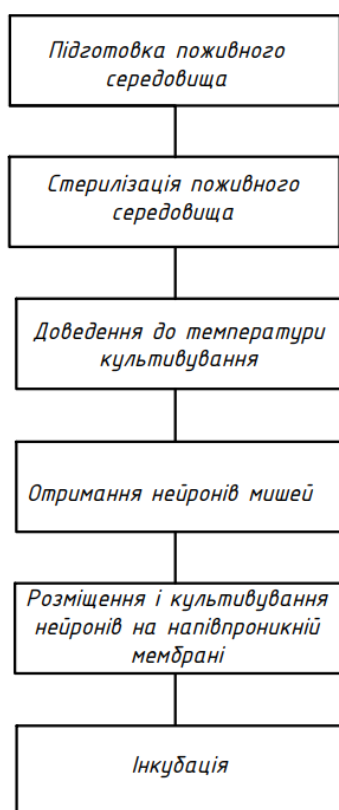


Рисунок 1.3 – Схема отримання нейронів мишей

Крім того, миші є досить доступними для досліджень, і їх легко можна утримувати та експериментально обробляти. У мишей також можна створювати генетичні модифікації, що дозволяє досліджувати різні аспекти функціонування ГЕБ.

Усі експерименти мають проводитись із дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях [15].

Висновки до розділу 1

У даному розділі було наведені відомості про морфологію гематоенцефалічного бар'єру, його функції та особливості. Також було описано наслідки при патологіях ГЕБу та можливості фармакологічної корекції.

Характеризуючи готовий біомедичний виріб, можна зробити висновок про його медико-біологічне обґрунтування. Воно полягає в актуальності проектування вище згаданого виробу-моделі в лабораторних умовах.

Попит:

Даною установкою можуть користуватись науково-дослідні інститути або лабораторії, робота яких направлена на фармакологію, а саме:

1. Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України.
2. Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України.
3. Інститут проблем харчування Національної академії наук України.
4. Інститут клінічної та експериментальної патології Національної академії медичних наук України.
5. Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка Національної академії медичних наук України.

Завдяки використанню моделі гематоенцефалічного бар'єру, науковці можуть досліджувати різні аспекти функціонування бар'єру, зокрема регулювання проникнення рідин, речовин та мікроорганізмів, які можуть впливати на здоров'я людини. Крім того, ця модель може бути використана для

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		19

оцінки ефективності протипухлинних та інших терапевтичних засобів на проникнення до мозкової тканини.

Значну роль відіграють етичні причини: проектування лабораторної установки знижує необхідність використання хребетних тварин для доклінічних та клінічних досліджень.

Також у цьому розділі було описано біологічні основи отримання біомедичних продуктів для конструювання установки, виділено основні етапи їх підготовки.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
						20
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 2 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

2.1 Обґрунтування вибору технології виготовлення

Вибір технології прямо корелюється із метою створення лабораторної установки для оцінювання проникності протипухлинних лікарських засобів *in vitro*, для зменшення необхідності проведення доклінічних та клінічних досліджень на лабораторних тваринах, оскільки зазвичай для повноцінних експериментів використовується їх велика кількість.

Також конструювання даної установки має перспективу значно здешевити процес оцінювання лікарських засобів, розробити способи збільшення проникності гематоенцефалічного бар'єру.

Починаючи з проведення біопсії, застосовують стандартні операційні процедури [16]. Потім біоптат поміщають у контейнер з розчином для зберігання та транспортування і доставляють в лабораторію.

Вийнятий біоптат оброблюють фосфатно-сольовим розчином з додаванням антибіотиків. Проводять ензимоліз тканини. Отриману суспензію після піддають центрифугуванню, отримуючи ізольовані клітини, готові для культивування.

Висівають виділені клітини у підготовлене середовище для культивування на напівпроникну мембрану. Для підтримки життєдіяльності нейронів мишей використовується модифіковане багатокомпонентне середовище [17].

Також для імітації крові потрібно підібрати певний склад фізіологічних розчинів. Один з них має містити речовини або частки, що проникають через ГЕБ, інший – ті, що затримуються на напівпроникній мембрані. Серед таких: токсини, альбуміни, цукри, бактерії [18]. Вибраними речовинами для дослідів є такі протипухлинні антибіотики: мітоксантрон, епірубіцин, циклофосфамід. За відомими даними, згадані препарати не проникають крізь ГЕБ [19,20,21].

В табл. 2.1 наведена вартість поживних середовищ для культивування біологічних агентів.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		21

Таблиця 2.1 – Вартість поживних середовищ для культивування біологічних агентів

Продуцент	Компонент поживного середовища		Концентрація у ПС	Ціна компонента	Вартість компонента на 1 л середовища
нейрони мишей	мінімальне середовище Ігла		0,96%	3150 грн за 0,5 л	6300 грн
	набір для інкубації	кінська сироватка	10%	25 грн за 0,02 л	1250 грн
		NaHCO ₃	2,3 г/л		
		інсулін	8 мкг/л		
		бензилпеніциліну натрієва сіль	50 од/л		
		стрептоміцину сульфату	50 мкг/л		
Загальна вартість 1 л середовища					7550 грн

2.2 Опис технологічного процесу

ДР 1 Санітарна підготовка виробництва

На цьому етапі виконуються операції, які гарантують належну якість цільового продукту на кожній стадії технологічного процесу. Санітарна підготовка виробництва та інші наступні етапи технологічного процесу виконуються відповідно до нормативно-технологічної документації.

ДР 1.1 Підготовка персоналу

ДР 1.1.1 Медичне обстеження персоналу

Перед розпочатком роботи обов'язково проводиться медичний огляд для всього персоналу. Для забезпечення контролю за станом здоров'я співробітників, який може впливати на якість результатів дослідження, необхідно мати відповідні інструкції. Після першого медичного огляду, подальші огляди проводяться періодично. Результати обстежень фіксуються відповідним чином у журналах на виробництві. [22, 23].

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		22

ДР 1.1.2 Навчання персоналу

Персонал, який працює з установкою, має пройти обов'язкове навчання з метою кваліфікованого виконання своїх обов'язків і дотримання заходів з охорони праці згідно з встановленою програмою. Це передбачає необхідність проведення інструктажу з техніки безпеки. Крім цього, необхідно забезпечувати подальше навчання персоналу та періодично перевіряти їх практичну ефективність.

ДР 1.2 Підготовка приміщень

З метою запобігання ризику контамінації цільового продукту, необхідно провести обробку приміщення та обладнання дезінфікуючими засобами. Для цього слід використовувати мийні та дезінфекційні засоби, які є зареєстрованими в Україні та дозволеними для використання на підприємствах хіміко-фармацевтичної промисловості, відповідно до установлених процедур.

У якості мийних та дезінфекційних засобів забороняється використовувати органічні розчинники і також використовувати їх для приготування робочих розчинів мийних та дезінфекційних розчинів. Рекомендується чергувати дезінфекційні засоби щомісячно-тримісячно, щоб запобігти розвитку резистентності мікроорганізмів.

Мийні та дезінфекційні засоби потрібно періодично контролювати на мікробіологічну чистоту, а їх розчини слід зберігати у попередньо очищеній тарі та відповідно до встановлених термінів зберігання. Приготовані робочі розчини слід використовувати одноразово. Процес приготування розчинів включає етапи приготування та зберігання.

Робочі розчини використовуються для обробки обладнання, комунікацій і приміщень. Наприклад, миючий розчин та робочий розчин пероксиду водню. Приготування розчинів повинно здійснюватись з дотриманням правил безпеки, що забезпечують захист шкіри, слизових оболонок очей та верхніх дихальних шляхів.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		23

ДР 1.2.1 Приготування розчину миючих засобів

Для приготування робочого розчину в ємність за допомогою дозатора необхідно внести визначений об'єм миючого засобу і розвести його водою. Після цього розчин потрібно перемішати і використовувати його одноразово.

Робочий розчин спирту слід готувати шляхом розведення 96%-го розчину етилового спирту питною водою до досягнення концентрації 76%. Рекомендується використовувати такий розчин для дезінфекції обладнання та антисептичної обробки рук персоналу. Для дезінфекції технологічного обладнання та комунікацій рекомендується використовувати розчин перексиду водню в концентрації 6 %. Робочий розчин готують шляхом розведення 33%-го розчину перексиду водню водою до зазначеної концентрації [24, 25].

ДР 1.2.2 Щоденне прибирання

Комплекс дій щоденного прибирання включає вологе прибирання підлоги, дверей, столів та інших поверхонь приміщення з використанням розчину мийного засобу, а потім промивання теплою водою та висушування.

Для покращення якості чистоти приміщення, після звільнення його від персоналу, може застосовуватись обробка ультрафіолетовим випромінюванням на визначений період часу. Після завершення прибирання приміщення, оформлюється відповідна документація про санітарно-гігієнічний стан.

Перед початком роботи щоденно здійснюється протирання робочих поверхонь за допомогою дезінфікуючого розчину..

ДР 1.2.3 Генеральне прибирання

Генеральне прибирання є розширеним процесом, який включає не лише щоденну підготовку приміщень, але й спеціальну обробку поверхонь з використанням миючих та дезінфікуючих розчинів.

Генеральне прибирання проводиться один раз на тиждень, і включає обробку поверхонь стін, стелі та підлоги. Процес передбачає використання спочатку миючих розчинів для очищення поверхонь, а потім дезінфікуючих розчинів для їх дезінфекції.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		24

Крім того, під час генерального прибирання здійснюють усі інші заходи щоденної підготовки приміщень, які включаються в розклад робіт (вологе прибирання підлоги, дверей, столів та інших поверхонь, а також протирання робочих поверхонь дезінфікуючим розчином).

ДР 1.4 Підготовка обладнання та комунікацій

Метою комплексу робіт з підготовки обладнання та комунікацій є забезпечення їх належного стану і досягнення відповідної якості цільового продукту. Цей етап включає мийку обладнання та комунікацій, перевірку їх герметичності та стерилізацію. Для забезпечення належного стану обладнання також проводять мікробіологічний контроль.

ДР 1.4.1 Мийка обладнання та комунікацій

Обладнання, яке має прямий контакт з речовинами, проходить процес мийки за допомогою синтетичних миючих засобів та дезінфікуючих розчинів при температурі 50-60 °С. Розбірні компоненти обладнання від'єднуються та миються в розчині миючого засобу за тих самих температурних умов.

ДР 1.4.2 Ополіскування обладнання

Після застосування одного з вищезазначених мийних засобів, необхідно ретельно промити оброблені поверхні водою, щоб повністю видалити залишки забруднень та розчину мийного засобу.

ДР 1.4.3 Перевірка на герметичність

Для перевірки герметичності апарату в ньому створюється тиск 0,2 МПа, після чого виконується витримка протягом визначеного періоду. Якщо перевірка герметичності показала позитивний результат, тобто виявлено відсутність протікання, процес завершується етапом стерилізації.

ДР 1.4.4 Стерилізація

Обладнання та комунікації піддаються стерилізації за допомогою гострої пари, яка вводиться безпосередньо в апарат. Процедура стерилізації виконується при температурі 140°С, тиску 0,2 МПа протягом 90 хвилин. Після завершення

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		25

стерилізації, до апарату подається стерильне повітря через барботер для забезпечення та підтримки асептичних умов, при тиску 0,02-0,03 МПа..

ДР 2 Підготовка повітря

ДР 2.1 Підготовка вентиляційного повітря

Для забезпечення виробничих приміщень з відповідним класом чистоти використовується система подачі вентиляційного повітря з неоднаправленим потоком. Повітря постачається через розподільники повітря, які встановлені в системі кондиціонування.

Додатково встановлюються пересувні рециркуляційні повітроочисники всередині приміщення для швидкого і ефективного очищення повітря шляхом механічної фільтрації.

Очищення припливного повітря проводиться поетапно, залежно від необхідного рівня чистоти повітряного середовища у приміщенні. Це досягається за допомогою використання фільтрів з певною ефективністю очищення.

ДР 2.1.1 Забір повітря з атмосфери

Для визначення місця забору повітря з зовнішнього середовища, необхідно враховувати наявні та можливі джерела аерозольних та газоподібних забруднень. З цією метою, забір повітря здійснюється з атмосфери за допомогою високих трубчастих конструкцій, висотою 8-10 метрів, розташованих у місцях з найменшою кількістю пилу та газів.

ДР 2.1.2 Механічна очистка повітря

Метою попередньої очистки повітря від механічних контамінантів є видалення аерозольних механічних часток та запобігання абразивному пошкодженню компресійної апаратури. На цьому етапі використовують фільтри попередньої очистки, які встановлюються перед вентиляторами. Ці фільтри призначені для утримання часток розміром більше 5 мкм, що запобігає їх проникненню у систему повітропостачання.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		26

ДР 2.1.3 Регулювання та стабілізація термодинамічних показників повітря

У системі повітропостачання, за допомогою компресора, повітря піддається нагнітання, що призводить до його підвищення температури. Щоб забезпечити оптимальні умови роботи системи, необхідно охолодити це повітря до визначеної температури. Для цього використовується теплообмінник, який дозволяє відводити надлишкове тепло. Під час процесу охолодження утворюється крапельна волога, яка збирається і виводиться у каналізацію у вигляді конденсату.

ДР 2.1.4 Очистка повітря на головному фільтрі

На даному етапі використовується повітряний фільтр класу HEPA, при використанні якого можливе проведення очистки повітря від часток розміром $> 1,5$ мкм з ефективністю до 98% [26].

ДР 2.2 Підготовка технологічного повітря

У біотехнологічному виробництві досить високі вимоги до ступеня очищення технологічного повітря, що подається для аерації при культивуванні продуцентів біологічно активних речовин, оскільки необхідною вимогою є зниження рівня можливої контамінації.

Таким чином, для процесу очистки технологічного повітря основними стадіями так само є ДР 2.1.1, ДР 2.1.2, ДР 2.1.3 та ДР 2.1.4, але ефективність останньої не є достатньою у зв'язку з чим є необхідним проведення очистки на індивідуальному фільтрі.

ДР 2.2.5 Очистка повітря на індивідуальному фільтрі

Індивідуальний фільтр в системі призначений для уловлювання часток, які можуть бути пропущені іншими фільтрами, а також для забезпечення уловлювання часток, які мають розмір більше 0,3 мкм. Ці фільтри мають високу ефективність, яка досягає значення 99,99999%, що означає, що вони здатні уловлювати більшість часток цього розміру.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		27

ДР 3 Підготовка поживного середовища

Етап підготовки поживного середовища є критичним у виробництві, оскільки якість приготовленого середовища має прямий вплив на подальші процеси вирощування культур і отримання кінцевого продукту. Враховуються такі фактори, як доступність, вартість, здатність організмів до засвоєння та забезпечення основними джерелами вуглецю та азоту.

Ці вимоги допомагають забезпечити оптимальні умови для росту та максимального виходу цільового продукту під час лабораторного культивування. Належна підготовка поживного середовища забезпечує необхідні ресурси для життєдіяльності організмів і допомагає досягти бажаних результатів у культивації.

У даному моделюванні процес отримання посівного матеріалу (нейронів мишей) проводять на модифікованому середовищі, що включає наступні компоненти:

- мінімальне середовище Ігла;
- 10 % кінської сироватки;
- 2,3 г/л NaHCO_3 ;
- 8 мкг/мл інсуліну;
- 50 од/мл бензилпеніциліну натрієвої солі;
- 50 мкг/мл стрептоміцину сульфату.

Для пригнічення надмірної проліферації гліальних клітин використовується цитозин-A-D-арабінофуранозид у концентрації 5 мкмоль/л.

ДР 4 Підготовка посівного матеріалу

ДР 4.1 Розміщення нейронів на мембрані

Нейронні клітини гіпокампу мишей вилучаються з їх мозку та розміщуються в товщі поживного середовища, нанесеного на напівпроникну пористу мембрану.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		28

ДР 4.2 Інкубація посівного матеріалу

Напівпроникна мембрана з нейронами мишей поміщається в інкубатор (І-8) на 22 доби при температурі 37°C, що імітує температуру *in vivo*, при подачі 5% CO₂ з балона.

ТП 5 Поміщення мембрани у резервуар

Напівпроникна пориста мембрана із інкубованими нейрональними клітинами поміщається в резервуар (3-12 на апаратурній схемі).

ТП 6 Завантаження лікарського засобу

Досліджуваній розчин із активною речовиною (лікарським засобом) завантажуюється вручну в резервуар (позначення 3-10 на апаратурній схемі).

ТП 7 Прогонка розчину лікарського засобу по системі

Для імітації кровотоку для схеми обрано перистальтичний насос, місцем введення лікарської речовини у кров виступає резервуар (забірник).

Далі розчин проходить через трубу, до якої під'єднано нагрівальний елемент (ТЕН), що нагріває систему до 37 °C, типової температури крові.

Наступним елементом схеми є резервуар, який функціонально являє собою фільтр. Всередині кожуха даного резервуару встановлено напівпроникну мембрану. Мембрана постійно занурена у робочий розчин для запобігання висиханню та загибелі клітинної культури. Проходячи через дану структуру, залежно від обраного препарату, розчин змінюється за хімічним складом та потрапляє у нижню частину елемента. Відбір проб здійснюється за допомогою прямого крану PTFE.

ТП 8 Відбір проб

При використанні розчину, діюча речовина якого затримується на поверхні шару клітин, проводиться відбір проби та, за умови задовільного результату лабораторного тестування, розчин прямує до початкового елемента.

ТП 9 Злив розчину і забірник

При прогонці розчину, який передбачувано проникає через ГЕБ, робочий розчин зливається через прямий кран PTFE в забірник повністю.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		29

ТП 10 Аналіз фільтрату

Відібрані проби розчину тестуються на якісний та кількісний склад діючої речовини за допомогою методу молекулярного аналізу, що визначає наявність у зразку індивідуальних хімічних сполук.

ЗВ 11 Знешкодження відходів та викидів.

Під час проведення лабораторних досліджень утворюється певна кількість відходів, які слід знешкодити на даному етапі відповідно до вимог. Таким чином, на даному етапі головною метою є безпечне та екологічно відповідне утилізування відходів та викидів, які включають відпрацьовані рідини, повітряні викиди та тверді відходи. Це включає такі елементи як некондиційний посівний матеріал, промивні води, вентиляційне та технологічне повітря, які підлягають викиду в атмосферу, а також партії бракованого препарату та залишки пакувальних матеріалів.

ПВ 12 Переробка відходів

Метою переробки відходів є виконання процедур, що дозволяють їх повторно використовувати.

Проводиться дезінфекція, технічний та мікробіологічний контроль.

ЗВ 13 Знешкодження відходів

Усі рідкі та тверді відходи, відпрацьовані матеріали та повітря повинні бути нейтралізовані та знешкоджені перед викидом. Ці операції проводяться в окремих приміщеннях, які не мають контакту з виробничими зонами.

Рідкі нетоксичні та малотоксичні відходи не потребують спеціальних процедур знешкодження. Перед зливанням у міську каналізацію, їх розбавляють значною кількістю води з водопроводу.

Тверді нешкідливі відходи підлягають утилізації, їх збирають у спеціальні мішки та передають спеціалізованим службам.

Тверді відходи, які мали контакт з клітинами (одноразові рукавички, напівпроникна мембрана, пробірки, флакони), збираються у спеціальних

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		30

позначених ящиках і доставляються до зони інактивації, де проводять автоклавування при температурі 105 °С протягом 30 хвилин. Після цього відходи розмелюються і направляються спеціалізованим службам для спалювання.

Рідкі відходи, що мали контакт з тваринними клітинами, переливаються в спеціально позначені герметичні ємності, які містять дезінфікуючі розчини. Ці відходи піддаються дезінфекції протягом принаймні 2 годин. Потім ємності направляються до зони інактивації, де відходи обробляються сухим хлорним вапном і залишаються ще 2 години. Герметичні контейнери передаються спеціалізованим службам для спалювання.

Контроль здійснюється на технічному, хімічному та мікробіологічному рівнях.

2.3 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Для ефективної роботи із виробом-моделлю ГЕБ слід виділити показники, обов'язкові для перевірки. Характеристика сировини та матеріалів, а також їх показники, обов'язкові до перевірки, наведені в табл. 2.2.

Таблиця 2.2 – Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

№	Найменування	Категорія та номер НТД, відповідно до якої перевіряються необхідні показники	Показники, обов'язкові для перевірки	Примітка
1. Основна сировина				
1.1	Нейрони мишей		вікробіологічна чистота	—
1.2	Напівпроникна мембрана	ISO:10993	стерильність; відсутність ендотоксинів	Лабораторний посуд
2. Допоміжна сировина				
2.1	Поживне середовище	ДСТУ EN 12322:2015	мікробіологічна чистота	—
3. Матеріали				

3.1	Спецодяг	ГОСТ 24760-81	зовнішній вигляд	для персоналу
3.2	Рукавички гумові	ДСТУ EN ISO 374-1:2018	зовнішній вигляд	для персоналу
3.3	Лабораторний стакан	ГОСТ 25336-82Е	зовнішній вигляд	лабораторний посуд
3.4	Стакан мірний	ГОСТ 25336-82Е	зовнішній вигляд	лабораторний посуд

2.4. Матеріальний баланс

В таблиці 2.3 наведений матеріальний етапів баланс культивування нейронів мишей.

Таблиця 2.3 – Матеріальний баланс етапів культивування нейронів мишей

Використано				Отримано			
Назва сировини, матеріалів, напівпродуктів	Кількість			Назва сировини, матеріалів, напівпродуктів	Кількість		
	кг	шт	мл		кг	шт	мл
1	2	3	4	5	6	7	8
ТП 9 Первинне культивування (P0)							
готове поживне середовище	–	–	300	культуральна рідина	–	–	500
суспензія клітин	–	–	200				

Продовження таблиці 2.3

1	2	3	4	5	6	7	8
напівпроникна мембрана	–	1	–	напівпроникна мембрана	–	1	–
одноразові наконечники для дозаторів	–	10	–	використані наконечники	–	10	–
всього	–	11	500	всього	–	11	500
ПМВ 14 Пакування та маркування препарату							
розчин для біоконсервації	–	–	100	розчин для біоконсервації	–	–	100
стерильний контейнер	–	1	–	стерильний контейнер	–	1	–

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		32

етикетки	–	2	–	етикетки на кріопробірках та кріопакетах	–	2	–
всього	–	4	100	всього	–	4	100

2.5 Контроль процесу виготовлення

В табл. 2.4 наведені критичні параметри, які потребують контролю під час виробництва.

Таблиця 2.4 – Контроль виробництва

№ контро- льної 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
K1.1.1	дезінфікуючі розчини, концентрація	ваги, мірний посуд	кожного процесу	0,2% розчин хлорантоїну, 76% розчин етанолу
K1.1.2	миючі розчини, концентрація	ваги, мірний посуд	кожного процесу	0,5% біомою

Продовження таблиці 2.4

1	2	3	4	5
K1.2.1	руки персоналу, мікробіоло- гічна чистота	мікро- біологічний аналіз змивів	щодня	< 5 КУО/пластина
K1.3	спецодяг персоналу, мікробіоло- гічна чистота	мікро- біологічний аналіз змивів	щодня	< 5 КУО/пластина
K1.4.1	поверхні в лабораторії,	мікро- біологічний аналіз змивів	щодня	< 5 КУО/пластина

Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
						33

	мікробіологічна чистота			
K1.5.1	поживне середовище, концентрація компонентів, температура, рН	піпетатор, термометр, рН-метр	під час процесу	475 мл основного середовища для культивування, 20 мл набору для росту, $t = 2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 7,5 \pm 0,2$
K1.5.2	кількість живих клітин	трипановий синій, мікроскопія	під час процесу	$3-5 \times 10^4$ клітин
K1.5.3	початкова колба, рівень рідини	візуально	кожного процесу	500 мл
K 1.5.4	Перистальтичний насос, швидкість роботи	візуально на вбудованому датчику	кожного процесу	0,4-0,5 мл/хв
K 1.5.5	ТЕН, температура	температурний датчик	постійно	$37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$
K 1.6	бак-фільтр, температура	температурний датчик	постійно	$37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$
K 2	кінцева колба, рівень рідини	візуально	кожного процесу	500 мл

2.6 Стандартизація біомедичної продукції

Для випуску подальшого виробництва моделі-виробу ГЕБ, вона має відповідати міжнародним стандартам.

ISO 13485 є міжнародним стандартом, що встановлює вимоги до системи управління якістю, що застосовуються до виробників медичних пристроїв. Він призначений для організацій, що займаються розробкою, виробництвом, встановленням та обслуговуванням медичних пристроїв і супутніх послуг. Цей

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		34

стандарт також може бути використаний внутрішніми та зовнішніми сторонами, наприклад, органами сертифікації, для підтримки їх в аудиторських процесах. Відповідність стандарту ISO 13485 часто є обов'язковою умовою для отримання маркування CE, яке є необхідним для розміщення медичних виробів на ринку ЄС [27].

В таблиці 2.5 наведена специфікація якості продукту.

Таблиця 2.5 – Специфікація якості на біомедичний продукт

Показник контролю	Встановлені значення	Методи контролю
Опис	М'яка, прозору тканина без включень	Візуально
Морфологія	Суцільний шар нейронів мишей	Мікроскопія
Стерильність	Стерильність поживного середовища	ДФУ 2.0, 2.6.1, метод прямого висівання
Мікоплазми	Відсутність мікроорганізмів	ПЛР
Бактеріальні ендотоксини	$\leq 0,5$ Е.О./мл	ДФУ 2.0, 2.6.14, метод А
Біологічне випробування	Відсутність бактерій	Фарбування за Грамом, мікроскопія
Кількість клітин	$\geq 0,4 \times 10^6$ клітин	Фарбування трипановим синім, мікроскопія
Життєздатність клітин	≤ 150 Од/л	Колориметричний аналіз

Висновки до розділу 2

У даному розділі було обґрунтовано вибір технології. Це прямо пов'язано з метою створення лабораторної установки, яка дозволить оцінити проникність протипухлинних лікарських засобів *in vitro*. Такий підхід спрямований на зменшення потреби у проведенні доклінічних та клінічних досліджень на лабораторних тваринах, оскільки для таких експериментів зазвичай потребується велика кількість тварин.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		35

Конструкція цієї установки також має потенціал суттєво знизити вартість процесу оцінки лікарських засобів і в подальшому розробити методи для покращення проникності гематоенцефалічного бар'єру.

Також у цьому розділі було описано технологічний процес підготовки клітин, розміщення їх на напівпроникній мембрані, прогонка розчинів ЛЗ по системі, допоміжні заходи та заходи, пов'язані із знешкодженням відходів. Було охарактеризовано сировини, продукти та напівпродукти, описано заходи зі стандартизації, контроль процесу проектування.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		36

РОЗДІЛ 3 АПАРАТУРНО-ІНЖЕНЕРНА ЧАСТИНА

3.1. Обґрунтування конструкції технологічного устаткування

Для дослідження проникності ГЕБу та його взаємодії із лікарськими засобами різної функціональної структури було сконструйовано установку, функції кожного елемента якої відповідають функціям в організмі.

Процес проходження робочого розчину по системі установки є замкненим та циклічним.

Апаратурно-технологічна схема даних процесів виглядає наступним чином наведена на рис. 3.1

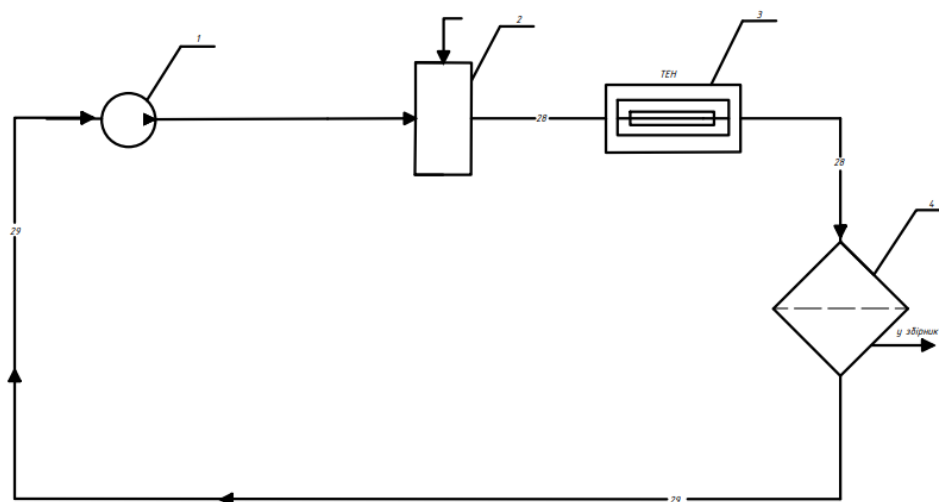


Рисунок 3.1 – Апаратурно-технологічна схема лабораторної установки-моделі гемоенцефалічного бар'єру:

1 – перистальтичний насос; 2 – бак для вводу розчину ЛЗ; 3 – ТЕН; 4 – резервуар із напівпроникною мембраною (фільтр).

Для імітації кровотоку для схеми було обрано перистальтичний насос, місцем введення лікарської речовини у кров виступає резервуар (бак).

Далі розчин проходить через трубу, до якої під'єднано нагрівальний елемент (ТЕН), що нагріває систему до 37°C, типової температури крові. Допускається похибка $\pm 0,5^\circ\text{C}$.

Наступним елементом схеми є резервуар, який функціонально являє собою фільтр. Всередині кожуха даного резервуару встановлено напівпроникну мембрану, вислану шаром чутливих нейронів тваринного походження. Мембрана постійно занурена у робочий розчин для запобігання висиханню та загибелі клітинної культури. Проходячи через дану структуру, залежно від обраного препарату, розчин змінюється за хімічним складом та потрапляє у нижню частину елемента. Відбір проб здійснюється за допомогою прямого крану PTFE.

При прогонці розчину, який передбачувано проникає через ГЕБ, робочий розчин зливається через дану арматуру повністю. При використанні розчину, діюча речовина якого затримується на поверхні шару клітин, проводиться відбір проби та, за умови задовільного результату лабораторного тестування, розчин прямує до початкового елемента.

Завдяки невеликим розмірам установки, втрата тепла у трубопроводі є мінімальною, що обґрунтовує використання ТЕНу у кількості одного елемента.

3.2 Розробка схеми автоматизації лабораторної установки

На основі аналізу особливостей дослідження впливу лікарських засобів на проникнення їх через ГЕБ, необхідно забезпечити такий рівень автоматизації процесу:

- контроль витрати розчину у трубопроводах та резервуарах у різних ділянках системи, а також регулювання його температури у межах $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- індикацію та реєстрацію рівня рідини в резервуарах;
- дистанційне керування роботою перистальтичного насоса для запуску та зупинки системи [28].

Параметри контролю та регулювання наведено у таблиці 3.1 [29].

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

Таблиця 3.1 – Параметри контролю та регулювання елементів системи лабораторної установки-моделі гематоенцефалічного бар'єру

№ пор.	Назва стадії процесу (технологічний об'єкт), місце заміру параметра	Назва контролюваного чи регульованого параметра	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Вимоги до рівня автоматизації
1	перистальтичний насос	керування		дистанційне керування
2	трубопровід	витрата	5 л/хв	реєстрація, індикація
3	бак	рівень	0,12±0,015м	реєстрація, індикація
4	електронагрівник трубчастий	температура	37±0,5°C	керування, регулювання, реєстрація, індикація
5	трубопровід	температура	37±0,5°C	регулювання
6	резервуар-фільтр	температура	37±0,5°C	реєстрація, індикація
7	резервуар-фільтр	рівень	0,12±0,015м	реєстрація, індикація

Схема автоматизації містить контури автоматичного контролю та регулювання режимних параметрів технологічного процесу (Додаток А).

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

Для індикації та реєстрації витрати в трубопроводі встановлено первинні вимірювальні перетворювачі для вимірювання витрати (2-1 та 7-1) та індикатори технологічні мікропроцесорні (2-2 та 7-2).

Для індикації рівня в баці 2 розроблено контур 3, представлений мірним склом (3-1) для візуальної оцінки.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		39

Для індикації рівня в резервуарі-фільтрі 4 розроблено контур 6, який складається із гідростатичного рівнеміра (6-1) та регулятора-сигналізатора рівня (6-2)

Для контролю та регулювання температури розчину в трубопроводах та у фільтрі 4 розроблено контур 4, що складається із терморезистора (4-1), регулятора мікропроцесорного (4-2) та магнітно-контактного пускача (4-3).

Для індикації та реєстрації температури в фільтрі встановлено термоелектричний перетворювач (5-1) та розміщено індикатор технологічний мікропроцесорний (5-2).

Висновок до розділу

У даному розділі було складено опис технологічної схеми автоматизації лабораторної установки-моделі гематоенцефалічного бар'єру.

Завдяки технічним засобам досягається контроль основних параметрів, підтримка яких слугує для ефективної імітації процесів, які протікають *in vivo*.

Було складено специфікацію технічних засобів автоматизації, використаних в схемі (Додаток А).

Було проведено аналіз технологічного процесу, як об'єкта автоматизації та обґрунтовано задачі автоматизації. Також було описано розроблену функціональну схему автоматизації.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		40

РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ

Дипломна робота виконується на базі НТУУ «Київський політехнічний інститут ім. Ігоря Сікорського».

Даний розділ дипломного проєкту виконується за планом № 1, оскільки метою дипломного проєктування є біоінженерне конструювання виробу-моделі гематоенцефалічного бар'єру для біологічного оцінювання протипухлинних лікарських засобів.

Метою розділу: розробка рекомендацій з охорони праці та техніки безпеки при конструюванні виробу-моделі, в межах одного лабораторного приміщення.

4.1 Характеристика виробничого приміщення

Лабораторія являє собою світле сухе приміщення із природнім та штучним освітленням. Відповідно до Наказу про затвердження Правил охорони праці під час роботи в хімічних лабораторіях [30], передбачено застосування місцевого освітлення в комбінації із загальним освітленням.

У якості підлогового покриття для приміщення хімічної лабораторії рекомендовано використовувати епоксидне наливне покриття, яке задовольняє вимоги, наведені у вищевказаному нормативному документі [31]. Стіни, стеля, двері приміщення рекомендується покривати олійною фарбою світлих тонів. Стіни висотою 2 метра облицьовані глазурованою плиткою. Двері гладкі, без виступів. Клас чистоти приміщення не нижче рівня В [32].

Приміщення обладнане загальною примусовою вентиляцією, а місця можливого накопичення потенційно небезпечних хімічних речовин – місцевими відсмоктувачами [31, 33]. Проєктом пропонується використання вентиляційної системи, яка передбачає окрім наявності витяжної та подавальної систем, також регулювання температури та вологості в приміщенні.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		41

Згідно із ДСТУ Б В.1.1-36:2016 «Визначення категорій приміщень, будинків та зовнішніх установок за вибухопожежною та пожежною небезпекою» [34] та «Правил будови електроустановок. Електрообладнання спеціальних установок» [35], приміщення лабораторії за пожежною небезпекою належить до категорії В, класу зони – П-І.

В табл. 4.1 наведені параметри лабораторного приміщення та перелік наявного обладнання й оснащення.

Таблиця 4.1 – Характеристика хімічної лабораторії. Параметри приміщення, обладнання і оснащення

№	Найменування	Основні характеристики	Кількість	Поз. на рис.
1	2	3	4	5
Приміщення				
1	Параметри приміщення	8000 × 3000 × 2600 мм; S = 24 м ² ; V = 62,4 м ³	–	–
2	Кількість працюючих	науковий співробітник, лаборант	2	–
3	Природне освітлення	вікно металопластикове Kommerling 70ST plus, двостулкове, поворотно-відкидне, 1500 × 1500 мм	3	1
4	Штучне освітлення	стельовий світильник Horoz TETRA/SQ-72, 5670 Лм, 1500 × 174 × 24 мм	4	2
5	Вентиляційна система	припливно-витяжна установка Slimstar-Pap 1000 EC-P, 1244 × 438 × 969 мм	1	–
6	Опалення	радіатор алюмінієвий Fondital Master D3 500/100, 1408,8 Вт, 640 × 100 × 557 мм	3	3
7	Знезаражування	медичний стерилізатор з кварцовою лампою Philips, 500 × 100 × 100 мм	1	4
Обладнання, оснащення, матеріали				
8	Стіл-мийка лабораторна	розмір, мм: 1200 × 750 × 900; матеріал: метал з полімерним покриттям	1	5
9	Шафа лабораторна	розмір, мм: 900 × 600 × 1920; матеріал: сталь	2	6
10	Двокамерний холодильник БЕКО RCNA406S30X В	розмір, мм: 2020 × 595 × 670; матеріал: метал, скло; напруга: ~ 220 В, 50 Гц рівень звукової потужності: 40 дБА; температурний режим: 0...+15°C	1	7

Продовження таблиці 4.1

1	2	3	4	5
11	Стіл лабораторний	розмір, мм: 1200 × 750 × 900; матеріал: метал з полімерним покриттям	5	8
12	Стіл для аналітичних ваг	розмір, мм: 900 × 750 × 900; матеріал: метал, полірований граніт	1	9
13	Ваги лабораторні ТВЕ, Техноваги	розмір, мм: 270 × 180 × 70; матеріал: сталь, пластик; клас виробу за ступенем захисту: IP20; напруга: ~ 220 В, 50-60 Гц	1	10
14	CO2-інкубатор CellCulture CCL-050B-6	розмір, мм: 900 × 500 × 500; матеріал: метал, пластик; клас виробу за ступенем захисту: IP42; напруга: ~ 220 В, 50-60 Гц; температурний діапазон: +3...+60°C;	1	11
15	Ламінарний бокс біологічної безпеки 1 класу	розмір, мм: 1176 × 620 × 1935; матеріал: метал, скло; клас захисту (згідно з класиф. ВОЗ): ІА; клас чистоти повітря в роб. зоні: 5ІСО; рівень звукової потужності: <55 дБА; споживана потужність: 310 Вт	1	12
16	Шафа сушильна СП-50С	розмір, мм: 650x680x605; матеріал: скло, метал; клас виробу за способом захисту: ІІ; клас виробу за ступенем захисту: IP20; напруга: ~ 220 В, 50-60 Гц; рівень звукової потужності: <40 Дб; температурний діапазон: +9...+300°C	1	13
17	Насос перистальтичний ВТ-100-1F	Розмір, мм: 292 × 185 × 180 Діапазон витрати: до 500 мл/хв. Дозований обсяг: 0,1-9990 мл. Швидкість обертання: 0-10 КГц Споживана потужність: <40 Вт, 220В, ІР 31	1	14
18	Пожежний сповіщувач	димовий Tiras Detecto SMK110, 110 × 110 × 50 мм	2	15
19	Вогнегасник	порошковий, ОПУ-10, ємність 10 л	1	16

На рис. 4.1 зображено план проєктованої хімічної лабораторії, а в таблиці 4.2 розглянуто відповідність основним вимогам нормативних документів щодо характеристики приміщення.

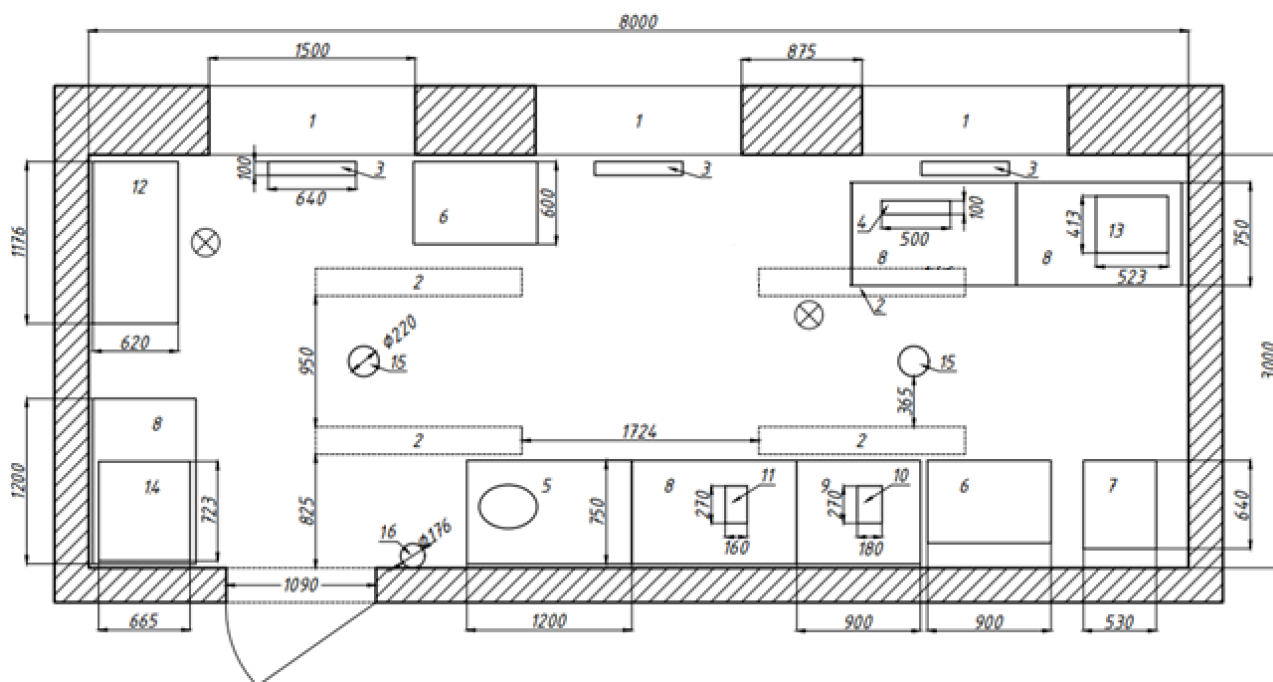


Рисунок 4.1 – План-схема хімічної лабораторії

Таблиця 4.2 – Реальні та нормативні характеристики приміщення і розміщення технологічного обладнання

№	Параметр приміщення	Реальні значення	Нормативні значення
1	Мінімальна площа на 1 працюючого	8 м ²	6 м ²
2	Мінімальний об'єм на 1 працюючого	26 м ³	20 м ³
3	Мінімальна ширина проходу	1,5 м	1,5 м
4	Мінімальна відстань між технологічним обладнанням (робоча зона)	1 м	1 м
5	Мінімальна відстань між технологічним обладнанням (неробоча зона)	0,8 м	0,6 м

Реальні характеристики приміщення відповідають нормам ДСТУ Б В.1.1-36:2016, тому проводити додаткові заходи нормалізації не потрібно.

4.2 Аналіз потенційних небезпек та заходи їх усунення

Відповідно до ст. 153 Кодексу законів про працю України [36], роботодавець повинен створити безпечні та нешкідливі умови праці. До

основних небезпечних та шкідливих виробничих чинників в хімічній лабораторії можна віднести електробезпеку, пожежну та хімічну безпеки.

4.2.1 Небезпека ураження електричним струмом

Інформація про джерела електробезпеки та заходи для захисту наведені в табл. 4.3-4.5.

Таблиця 4.3 – Оцінка небезпек електричного характеру

№	Найменування обладнання, оснащення, матеріалів	Джерело небезпеки	Причини небезпеки	Наслідки небезпеки
1	Насос перистальтичний	змінний струм	пошкодження ізоляції кабелю; відсутність заземлення; потрапляння води; механічні пошкодження;	ураження електричним струмом
2	Шафа сушильна вакуумна			
3	Холодильник			
4	Ламінарний бокс			
5	Ваги лабораторні			
6	Магнітна мішалка			

Таблиця 4.4 – Реальні та нормативні значення факторів електробезпеки

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

Таблиця 4.5 – Заходи попередження електробезпеки

№	Група номенклатурних заходів з ОП	Вид заходу	Критерій вибору
1	2	3	4
1	Технічні заходи	заземлення розеток	запобігання накопиченню статичної електрики та перенапруженню
		заземлення приладів із струмопровідним корпусом (клас захисту I)	запобігання ураження електричним струмом
		ізоляція струмопровідних частин приладів	запобігання ураження електричним струмом, захист від зовнішнього середовища

Продовження таблиці 4.5

1	2	3	4
		використання автоматичних вимикачів	швидке відключення електрики у разі аварійної ситуації
		попередження механічних пошкоджень та потрапляння води	запобігання некоректної роботи приладів, ураженню електричним струмом
2	Організаційні заходи	інструктаж з експлуатації	навчання з питань електробезпеки при експлуатації приладів

Заходи, описані в таблиці 4.5, підвищують рівень електричної безпеки приладів під час їх використання, та відповідають вимогам ДСТУ Б В.2.5-82:2016 [37] щодо запобігання ураження електричним струмом.

4.2.2 Пожежна безпека

Інформація про джерела пожежної безпеки та заходи усунення ризиків наведені в табл. 4.6-4.8.

Таблиця 4.6 – Основні безпеки, пов'язані з виникненням пожежі

№	Найменування обладнання, оснащення, матеріалів	Джерело безпеки	Причини безпеки	Наслідки безпеки
1	Насос перистальтичний	коротке замикання; перевантаження; несправність приладів; неправильне використання;	недотримання заходів безпеки; недотримання правил експлуатації;	виникнення пожежі; травмування працівників;
2	Шафа сушильна вакуумна			
3	Холодильник			
4	Ламінарний бокс			
5	Ваги лабораторні			
6	Магнітна мішалка			
7	Легкозаймисті речовини	загоряння внаслідок контакту з вогнем, нагріванням або іскрами	неправильне зберігання; недотримання заходів безпеки;	пожежа; викид летких речовин; травмування працівників;

Таблиця 4.7 – Реальні та нормативні значення факторів небезпеки

№	Фактор небезпеки	Реальні значення	Нормативні значення
1	Струм короткого замикання	наявні	відсутні
2	Іскри	наявні	відсутні
3	Відкритий вогонь	наявні	відсутні

Таблиця 4.8 – Заходи попередження пожежної небезпеки

№	Група номенклатурних заходів з ОП	Вид заходу	Критерій вибору
1	Технічні заходи	установка пожежного сповіщувача	виявлення пожежі на ранній стадії
		використання вогнегасника	локалізація пожежі;
2	Організаційні заходи	інструктаж з експлуатації	навчання з питань пожежної безпеки при експлуатації приладів
		інструктаж з пожежної безпеки	підвищення рівня пожежної безпеки
		розробка плану евакуації	збереження життя та здоров'я працівників
3	Експлуатаційні заходи	технічне обслуговування систем безпеки	забезпечення належного стану
		періодичне вимірювання опору ізоляції	попередження короткого замикання

Відповідно до ДСТУ 3855-99 [38] в даній лабораторії дотримані всі необхідні правила для забезпечення пожежної безпеки.

4.2.3 Хімічна небезпека

Інформація про джерела небезпеки та заходи усунення ризиків наведені в табл. 4.9-4.11.

Таблиця 4.9 – Джерела хімічної небезпеки

№	Найменування матеріалів	Джерело небезпеки	Причини небезпеки	Наслідки небезпеки
1	2	3	4	5
1	Органічні розчинники	хімічна пара	недотримання техніки безпеки	подразнення дихальних шляхів,

1	2	3	4	5
2	Леткі гази	розкид або витік	при поводженні з матеріалами	очей, хімічні опіки

Таблиця 4.10 – Реальні й нормативні значення факторів хім. небезпеки

№	Фактор небезпеки	Реальне значення	Нормативні значення
1	Спирт етиловий	< 1000 мг/м ²	< 1000 мг/м ²
2	Хлор	< 1 мг/м ²	< 1 мг/м ²
2	Озон	< 0,1 мг/м ²	< 0,1 мг/м ²

Таблиця 4.11 – Заходи з попередження хімічної небезпеки

№	Група номенклатурних заходів з ОП	Вид заходу	Критерій відбору
1	Технологічні заходи	встановлення вентиляційної системи	забезпечення відведення парів токсичних речовин
		використання ламінарного боксу	захист від небезпеки парів летких речовин
2	Організаційні заходи	Перевірка роботи витяжних систем	Зменшення гранично допустимої концентрації токсичних речовин
		Розробка та дотримання правил безпеки	Запобігання небезпекам
3	Експлуатаційні заходи	Маркування розчинів та речовин	Ідентифікація та надання інформації про потенційну небезпеку
4	ЗІЗ	Використання спеціального захисного одягу	Захист від потрапляння токсичних речовин на шкіру, у верхні дихальні шляхи, слизові оболонки

Обрані заходи з охорони праці забезпечують умови для безпечної роботи з шкідливими речовинами у хімічній лабораторії.

Висновки до розділу 4

У даному розділі було проаналізовано потенційно небезпечні аспекти, пов'язані з роботою в хімічній лабораторії, зокрема з моделлю гематоенцефалічного бар'єру. Було проведено опис приміщення та обладнання

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		48

лабораторії, а також проведений аналіз відповідності вимогам нормативних документів, в результаті чого встановлено відсутність необхідності вживання додаткових заходів для нормалізації умов в приміщенні.

Основними небезпечними та шкідливими факторами є електронебезпека, небезпека займання та хімічна небезпека. Відповідно до цього були розроблені технічні, організаційні та експлуатаційні заходи з метою усунення цих ризиків та їх попередження.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		49

ВИСНОВКИ

Метою дипломного проєкту було біоінженерне конструювання виробу-моделі гематоенцефалічного бар'єру для біологічного оцінювання протипухлинних лікарських засобів.

У ході роботи було:

1. Проведено аналіз літературних джерел для формування технологічних процесів, необхідних для проектування моделі-виробу, результатом чого стало обґрунтування розробки моделі. Встановлено, що завдяки своїй унікальності, конструювання виробу-моделі є актуальним.

2. Розроблено ефективні способи відтворення наближених умов до людського організму *in vitro* завдяки використанню напівпроникної мембрани із шаром клітин тваринного походження, підтримці середовища, аналогічного до ЦНС.

3. Складено технологічну схему конструювання лабораторної установки та описано його етапи, включно із допоміжними роботами, технологічними процесами, заходами зі знешкодження та знищення відходів.

4. Складено апаратурну схему лабораторної установки, включно із відомостями про попереднє очищення повітря для використання при культивуванні клітин.

5. Розроблено схему автоматизації основних процесів, які протікають в моделі. Було створено контури автоматичного контролю таких параметрів як температура, витрата, рівень рідини у резервуарі та фільтрі.

6. Оцінено основні види небезпек, пов'язаних із конструюванням моделі-виробу.

7. Розроблено відповідні заходи з охорони праці для усунення потенційних небезпек.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		50

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Daneman R, Prat A. The blood-brain barrier. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2015 Jan 5;7(1):a020412. doi: 10.1101/cshperspect.a020412. PMID: 25561720; PMCID: PMC4292164.
2. Banks WA. From blood-brain barrier to blood-brain interface: new opportunities for CNS drug delivery. Nat Rev Drug Discov. 2016 Apr;15(4):275-92. doi: 10.1038/nrd.2015.21. Epub 2016 Jan 22. PMID: 26794270.
3. Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E. 2006. Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier. Nat Rev Neurosci 7: 41–53.
4. Miao R, Xia LY, Chen HH, et al (2019) Improved Classification of Blood-Brain-Barrier Drugs Using Deep Learning. Sci Rep 9:1–11. doi: 10.1038/s41598-019-44773-4
5. Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. Nat Rev Neurol. 2018 Mar;14(3):133-150. doi: 10.1038/nrneurol.2017.188. Epub 2018 Jan 29. PMID: 29377008; PMCID: PMC5829048.
6. Pollak TA, Drndarski S, Stone JM, David AS, McGuire P, Abbott NJ. The blood-brain barrier in psychosis. Lancet Psychiatry. 2018 Jan;5(1):79-92. doi: 10.1016/S2215-0366(17)30293-6. Epub 2017 Aug 3. PMID: 28781208.
7. van Tellingen O, Yetkin-Arik B, de Gooijer MC, Wesseling P, Wurdinger T, de Vries HE. Overcoming the blood-brain tumor barrier for effective glioblastoma treatment. Drug Resist Updat. 2015 Mar;19:1-12. doi: 10.1016/j.drug.2015.02.002. Epub 2015 Mar 6. PMID: 25791797.
8. Rajeev V, Fann DY, Dinh QN, Kim HA, De Silva TM, Lai MKP, Chen CL, Drummond GR, Sobey CG, Arumugam TV. Pathophysiology of blood brain barrier dysfunction during chronic cerebral hypoperfusion in vascular cognitive impairment. Theranostics. 2022 Jan 16;12(4):1639-1658. doi: 10.7150/thno.68304. PMID: 35198062; PMCID: PMC8825579.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		51

9. Correale J, Villa A. The blood-brain-barrier in multiple sclerosis: functional roles and therapeutic targeting. *Autoimmunity*. 2007; 40: 148-60. PMID: 17453713. DOI: 10.1080/08916930601183522.
10. Abbott NJ, Khan EU, Rollinson CM, Reichel A, Janigro D, Dombrowski SM, Dobbie MS, Begley DJ. 2002. Drug resistance in epilepsy: The role of the blood–brain barrier. *Novartis Found Symp* 243: 38–47; discussion 47–53, 180–185.
11. Greene C, Hanley N, Reschke CR, Reddy A, Mäe MA, Connolly R, Behan C, O'Keeffe E, Bolger I, Hudson N, Delaney C, Farrell MA, O'Brien DF, Cryan J, Brett FM, Beausang A, Betsholtz C, Henshall DC, Doherty CP, Campbell M. Microvascular stabilization via blood-brain barrier regulation prevents seizure activity. *Nat Commun*. 2022 Apr 14;13(1):2003. doi: 10.1038/s41467-022-29657-y. PMID: 35422069; PMCID: PMC9010415.
12. Tricinci O, De Pasquale D, Marino A, Battaglini M, Pucci C, Ciofani G. A 3D Biohybrid Real-Scale Model of the Brain Cancer Microenvironment for Advanced In Vitro Testing. *Adv Mater Technol*. 2020 Aug 23;5(10):2000540. doi: 10.1002/admt.202000540. PMID: 33088902; PMCID: PMC7116223.
13. Wei Wei et al, 3D In Vitro Blood-Brain-Barrier Model for Investigating Barrier Insults, *Advanced Science* (2023). DOI: 10.1002/adv.202205752
14. Thomsen MS, Humle N, Hede E, Moos T, Burkhart A, Thomsen LB. The blood-brain barrier studied in vitro across species. *PLoS One*. 2021 Mar 12;16(3):e0236770. doi: 10.1371/journal.pone.0236770. PMID: 33711041; PMCID: PMC7954348.
15. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: Strasbourg, 18 March 1986. London : H.M.S.O., 1986. – 44 p
16. Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів від 14.12.2009 Наказ МОЗ с.9
17. Eagle, H. (1965) *Proc. Exp. Biol. Med.*, 89:362.

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		52

18. Daneman, R. (2012). The blood–brain barrier in health and disease. *Annals of neurology*, 72(5), 648-672.
19. Mitoxantron – Режим доступу: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01204>
20. Epirubicin – Режим доступу: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00445>
21. Cyclophosphamide – Режим доступу: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00531>
22. Про затвердження Порядку проведення медичних оглядів працівників певних категорій [Електронний ресурс] : Наказ МОЗ України від 21.05.2007 р. № 246 : станом на 23 берез. 2012 р. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0846-07#>
23. Про затвердження Документів з питань забезпечення якості лікарських засобів. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» : Наказ МОЗ України від 24.12.2020 р. № 3019 : станом на 24 груд. 2020 р.
24. Макогін О. О. Технологія виробництва біомаси грибів *Trametes rubescens*. Дільниця біосинтезу [Електронний ресурс] : Дипломний проєкт / Макогін Ольга Олександрівна. – Київ, 2020. – 79 с. – Режим доступу: https://ela.kpi.ua/bitstream/123456789/41488/1/Makohin_bakalavr.pdf
25. Про затвердження Методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів. Наказ МОЗ України від 14.12.2001 р. № 507 : станом на 24 квіт. 2015 р. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0502282-01#Text>
26. Таблиця класифікації повітряних фільтрів. [Електронний ресурс] // ENVIRCO. – Режим доступу: <https://envirco.in.ua/filterklass.html>
27. Про затвердження Державних санітарно-протиепідемічних правил і норм щодо поводження з медичними відходами. Наказ МОЗ України від

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		53

08.06.2015 № 325 – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0959-15#Text>

28. ISO 13485 – Medical devices [Електронний ресурс] // ISO – Режим доступу до ресурсу: <https://www.iso.org/iso-13485-medical-devices.html>

29. Лукінюк М. В. Технологічні вимірювання та прилади [Текст] : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / М. В. Лукінюк. – К.: НТУУ «КПІ», 2007. – 436 с. : іл. – Бібліогр.: с. 427–428. – 200 пр. – ISBN 978-966-622-247-6.

30. Лукінюк М. В. Автоматизація типових технологічних процесів: технологічні об'єкти керування та схеми автоматизації [Текст] : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл., які навчаються за напрямом «Автоматизація і комп'ют.-інтегр. технології» / М. В. Лукінюк. – К.: НТУУ «КПІ», 2008. – 236 с. : іл. – Бібліогр.: с. 230–231. – 200 пр. – ISBN 978-966-622-287-2.

31. Про затвердження Правил охорони праці під час роботи в хімічних лабораторіях [Електронний ресурс] : Наказ М-ва надзвич. ситуацій України від 11.09.2012 р. № 1192. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1648-12#Text>.

32. Чисті приміщення та пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 1. Класифікація чистоти повітря (ISO 14644-1:1999, IDT) : ДСТУ ISO 14644-1:2009 . – [Чинний від 2012-01-01]. – К. : Держспоживстандарт України, 2009. – (Національний стандарт України).

33. Про затвердження Правил з безпечної експлуатації систем вентиляції у хімічних виробництвах [Електронний ресурс] : Наказ Держ. ком. України з 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>.

34. 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).

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		54

35. 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>.

36. 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>.

37. 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).

38. 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).

					БФ 91/147.37.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		55

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	Завод-виробник	Кількість
1	2	3	4	5	6	7	8	9
УСТАТКУВАННЯ ТА ПРИЛАДИ								
1-1	керування	перистальтичний насос	-	прилад місцевий	сигнали керування 4 – 20 мА, 0 – 10 В сигнал зворотного зв'язку 4- 20 мА	МІК-21	ВАТ «МІКРОЛ» м. Івано-Франківськ.	1 од.
2-1 7-1	витрата	трубопровід	5 л/хв	трубопровід	коріолісовий витратомір Micro Motion точність масової витрати (рідина) $\pm 1,0\%$ точність температури $\pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ вихідний сигнал 4-20 мА/HART	LF3M	Emerson Electric Company (США)	2 од.
2-2 5-2 7-2	витрата	трубопровід	5 л/хв	щит керування	індикатор технологічний мікропроцесорний вхідні сигнали: 0-5мА ($R_{вх}=400\text{ Ом}$), 0(4)-20 мА ($R_{вх}=100\text{ Ом}$), 0-10В ($R_{вх}=25\text{кОм}$) Вихідні сигнали: 0-5 мА ($R_{н}\leq 2\text{кОм}$), 0-20 мА, 4-20 мА ($R_{н}=2\text{кОм}$) гранично допустима похибка: $\pm 0,2\%$	ІТМ-11	ВАТ «МІКРОЛ» м. Івано-Франківськ	2 од.
3-1	рівень	бак	$0,12\pm 0,015\text{ м}$	прилад місцевий	Мірне скло	-	-	1 од.

Продовження додатка А

1	2	3	4	5	6	7	8	9
4-1 5-1	темпера- тура	трубопровід	37±0,5°C	прилад місцевий	терморезистор діапазон вимірювання: 60 до +150 довжина: 3000 мм діаметр наконечника: 4 мм номінальна статична характеристика: 100 Ом	NT-PT100	ТОВ «НОВАЕЛЕК ТРО» м. Одеса	2 од.
4-2	темпера- тура	трубопровід	37±0,5°C	щит керування	регулятор мікропроцесорний з корекцією за другим параметром. кількість входів: аналогових – 2 (0...5 мА, 0(4)...20 мА, 0...10 В), максимальна похибка АЦП ± 0,2 %; кількість виходів: дискретних або імпульсних – 4 (транзисторний ключ ВК – відкритий ключ або релейний вихід на напругу 220 В і струм 8 А), аналогових – 1 (0...5 мА, 0(4)...20 мА), максимальна похибка ЦАП ± 0,5 %	МІК-21	БАТ «МІКРОЛ» м. Івано- Франківськ	1 од.
4-3	темпера- тура	трубопровід	37±0,5°C	щит керування	твердотільне реле струм навантаження: 25мА вхідний сигнал 3-32 В	ssr-325d	Fotek Тайвань	1 од.
6-1	рівень	резервуар-фільтр	0,12±0,015 м	прилад місцевий	гідростатичний рівнемір 0.1, 0.2, 0.4 Бар діапазони вимірювання: 0~1М,0~2М,0~4М допустима температура середовища: -10~80°C	EC1100	FineTek, Тайвань	2 од.
6-2	рівень	резервуар-фільтр	0,12±0,015 м	зит керування	регулятор-сигналізатор рівня діапазон чутливості: - від 0 кОм до 1.7 кОм - від 1.7 кОм до 17 кОм - від 17 кОм до 170 кОм - від 170 кОм до 1.7 МОм	ITM-11	БАТ «МІКРОЛ» м. Івано- Франківськ	1 од.