НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

Факультет біомедичної інженерії
Кафедра трансляційної медичної інженерії

«На правах рукопису»

УДК 616.71-003.93

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри
_____ Олександр БЕСАРАБ
(підпис)

«___»_____2024 р.

Магістерська дисертація

на здобуття ступеня магістра
за освітньо-професійною програмою «Регенеративна та біофармацевтична інженерія»
зі спеціальності 163 «Біомедична інженерія»
на тему: «Біоінженерний проєкт виготовлення 3D-матриці для відновлення кісткової тканини»

Виконав: студент 2 курсу, групи БФ-21мп
Гайдук Володимир Андрійович _____
(підпис)

Науковий керівник к.т.н., доцент, зав. каф. трансляційної медичної біоінженерії
Бесараб Олександр Борисович _____
(підпис)

Рецензент: д.б.н., професор, професор каф. біоенергетики, біоінформатики і екобіотехнології
Горго Юрій Павлович _____
(підпис)

Засвідчую, що у цій магістерській дисертації немає запозичень з праць інших авторів без відповідних посилань.
Студент _____

Київ – 2024 року

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

Рівень вищої освіти:	другий (магістерський)
Спеціальність:	163 «Біомедична інженерія»
Освітньо-професійна програма	«Регенеративна та біофармацевтична інженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ
В.о. завідувача кафедри
трансляційної медичної біоінженерії

_____ Олександр БЕСАРАБ
«__»_____2023 р.

ЗАВДАННЯ
на магістерську дисертацію студенту
Гайдуку Володимиру Андрійовичу

1. Тема дисертації «Біоінженерний проєкт виготовлення 3D-матриці для відновлення кісткової тканини»

науковий керівник дисертації Бесараб Олександр Борисович, к.т.н., доцент, в.о. зав. каф. трансляційної медичної біоінженерії, затверджені наказом по університету від «6» листопада 2023 р. № 5161-с.

2. Термін подання дисертації здобувачем 10 січня 2024 р.

3. Об’єкт дослідження: наукове обґрунтування технології виготовлення 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини.

4. Предмет дослідження: адаптація виробництва 3D-матриці для відновлення кісткової тканини з використанням стовбурових клітин в Україні.

5. Перелік завдань, які потрібно розробити: огляд літератури наявних технологій 3D-друку, зокрема 3D-біодруку з використанням стовбурових

клітин, а також матеріалів та їх властивостей для створення та виготовлення оптимальної структури біосумісної 3D-матриці; розробка технологічної схеми виробництва, схеми компоновки приміщень, схеми потоків персоналу та сировини; проведення контролю якості на основних етапах виробництва; оцінка ризиків технології виробництва.

6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу: технологічна схема виробництва, схема компоновки приміщення та обладнання, схема потоків сировини і персоналу.

7. Дата видачі завдання: 02 листопада 2023 року.

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Огляд літератури основних технологій 3D-друку з використанням стовбурових клітин	02.11.23-10.11.23	
2	Огляд літератури щодо матеріалів та їх властивостей для створення та виготовлення оптимальної структури біосумісної 3D-матриці	11.11.23-20.11.23	
3	Створення технологічної схеми виробництва та опис запропонованої технології виготовлення	21.11.23-25.11.23	
4	Розробка схеми компоновки приміщення основних етапів виробництва 3D-матриць з використанням стовбурових клітин	25.11.23-30.11.23	
5	Потоки сировини та матеріалів, розробка схеми	01.12.23-03.12.23	
6	Контроль якості на основних етапах виробництва	04.12.23-07.12.23	
7	Проведення оцінки ризиків	08.12.23-12.12.23	
8	Розробка стартап-проєкту	13.12.23-18.12.23	
9	Аналіз результатів роботи	19.12.23-20.12.23	
10	Оформлення магістерської дисертації	21.12.23-23.12.23	
11	Підготовка презентації для захисту	24.12.23-25.12.23	
12	Підготовка до захисту	26.12.23-27.12.23	
13	Захист магістерської дисертації	17.01.24	

Студент _____ Володимир ГАЙДУК
(підпис) (ім'я, прізвище)

Науковий керівник дисертації _____ Олександр БЕСАРАБ
(підпис) (ім'я, прізвище)

РЕФЕРАТ

Магістерська дисертація налічує 6 розділів із висновками до кожного, загальні висновки та список джерел літератури. Для написання було оброблено 60 джерел. Робота включає в себе 4 ілюстрації та 15 таблиць, а також 2 додатки. Загальний обсяг звіту складає 90 сторінок.

Основна мета магістерської дисертації полягає в проектуванні та розробці виробництва 3D-матриці зі всіма технологічними аспектами для відновлення кісткової тканини, створенням персоналізованих і біосумісних матриць з подальшим їх наповненням стовбуровими клітинами пацієнта, які сприяють ефективній регенерації та зміцненню кістки.

Для досягнення поставленої мети були поставлені такі задачі:

- Провести огляд сучасної літератури наявних технологій 3D-друку, а також матеріалів та їх властивостей для створення та виготовлення оптимальної структури біосумісної 3D-матриці.
- Обґрунтувати обрану технологію виробництва, описати основні етапи виробництва, навести схему технологічного процесу.
- Обґрунтувати компоновку приміщення, потік сировини та матеріалів.
- Надати рекомендації щодо оцінки якості готового продукту, а також продуктів на проміжних етапах виробництва.
- Провести оцінку ризиків. Створити матрицю основних ризиків виробничого процесу та перелік контрольних точок.
- Розробка стартап-проекту для реалізації обраної технології у виробництво.

Об’єкт дослідження: технологія виробництва 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини

Предмет дослідження: впровадження технології виробництва 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини в Україні.

Наукова новизна отриманих результатів.

Варто зазначити, що в Україні відсутні технології виробництва 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини, а оскільки існує потреба у кісткових трансплантатах, то описані технологічні аспекти мають новаторський підхід по впровадженню такої технології виготовлення трансплантату для подальшого лікування пацієнтів, що мають травми або пошкодження кісткової тканини.

Практичне значення.

Реалізація запропонованої технології по створенню 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини в першу чергу допоможе пацієнтам, які потребують операційного втручання та поки не мають можливості ефективного лікування, оскільки джерела кісткових трансплантатів обмежені, болісні та можуть мати безліч потенційних ускладнень. Така розробка, також, може використовуватись для пришвидшення регенерації кісткової тканини, зменшує терміни реабілітації. Окрім того, технологія доволі гнучка до змін, тому в майбутньому її можна змінювати та вдосконалювати.

Ключові слова: 3D-друк, 3D-матриця, сегмент стегнової кістки, стовбурові клітини, остеоцити, гідроксиапатит, колаген, композит, технологічна схема, апаратурна схема

ABSTRACT

The master's thesis has 6 chapters with conclusions to each, general conclusions and a list of literature sources. For writing, 60 sources were processed. The work includes 4 illustrations and 15 tables, as well as 2 appendices. The total volume of the report is 90 pages.

The main goal of the master's thesis is to design and develop the production of a 3D matrix encompassing all technological aspects for the restoration of bone tissue. This involves creating personalized and biocompatible matrices, followed by their filling with patient-specific stem cells, contributing to the effective regeneration and strengthening of bone.

To achieve the goal, the following tasks were set:

- Conduct a review of modern literature on available 3D printing technologies, as well as materials and their properties for creating and manufacturing an optimal structure of a biocompatible 3D matrix.
- Justify the selected production technology, describe the main stages of production, and provide a diagram of the technological process.
- To substantiate the layout of the premises, the flow of raw materials and materials.
- Provide recommendations on the assessment of the quality of the finished product, as well as products at intermediate stages of production.
- Conduct a risk assessment. Create a matrix of the main risks of the production process and a list of control points.
- Development of a startup project to implement the selected technology into production.

Research object: 3D matrix production technology using stem cells for bone tissue regeneration

The subject of the research: implementation of the technology of 3D-matrix production using stem cells for bone tissue restoration in Ukraine.

The scientific novelty of the obtained results is significant.

It is important to highlight that in Ukraine, there are no technologies for manufacturing a 3D matrix using stem cells for the restoration of bone tissue. Given the demand for bone transplants, the described technological aspects represent an innovative approach to introducing such manufacturing technology for transplant production. This holds potential for the further treatment of patients with bone injuries or damage, addressing a critical need in the medical field.

The implementation of the proposed technology for creating a 3D matrix using stem cells for bone tissue restoration will primarily help patients who need surgical intervention and do not yet have the possibility of effective treatment, since the sources of bone grafts are limited, painful and can have many potential complications. This development can also be used to speed up the regeneration of bone tissue and reduce the rehabilitation period. In addition, the technology is quite flexible to change, so it can be changed and improved in the future.

Key words: 3D printing, 3D matrix, femur segment, stem cells, osteocytes, hydroxyapatite, collagen, composite, technological scheme, hardware scheme

ЗМІСТ

ВСТУП 10
РОЗДІЛ 1. АНАЛІЗ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ 13
1.1. Основні принципи біоінженерії кісткової тканини 13
1.1.2. Роль технологій 3D-друку у виготовленні біоінженерних матеріалів .. 13
1.1.3. Методика 3D друку кісток поза тілом 14
1.2. Технології 3D-друку для виготовлення кісткових матриць 15
1.2.1. Моделювання плавленим осадженням (FDM) 16
1.2.2. Селективне лазерне спікання (SLS) 18
1.2.3. Стереолітографія (SLA) 19
1.2.4. Електронно-променеве плавлення (EBM) 20
1.2.5. 3DP технологія 21
1.2.6. Екструзійний друк 22
1.3. Матеріали та їх властивості для створення оптимальної матриці 23
1.3.1. Металевий матеріал 24
1.3.2. Неметалічні матеріали 25
1.3.3. Полімерний матеріал 27
1.3.4. Композитні матеріали 29
Висновки до розділу 1 30
РОЗДІЛ 2.ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ 32
2.1. Нормативно-технічна документація виробництва 3D-матриці для відновлення кісткової тканини 32
2.2. Попит на аналогічний продукт 33
2.3. Кількість потенційних споживачів 34
2.4. Розрахунок потужності виробництва 35
Висновки до розділу 2 36
РОЗДІЛ 3. СТАДІЇ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ВИРОБНИЦТВА 3D-МАТРИЦІ ДЛЯ ВІДНОВЛЕННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ З ВИКОРИСТАННЯМ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН 37

Висновки до розділу 3 47
РОЗДІЛ 4. ПРОЄКТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА 3D-МАТРИЦІ З ВИКОРИСТАННЯМ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ДЛЯ ВІДНОВЛЕННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ 48
4.1. Обґрунтування компоновки приміщень та обладнання з розподілом за класами чистоти 48
4.2. Обґрунтування потоків сировини 49
4.3. Обґрунтування потоків персоналу 50
Висновки до розділу 4 51
РОЗДІЛ 5. ОЦІНКА ЯКОСТІ ПРОДУКЦІЇ ТА ОСНОВНИХ РИЗИКІВ ВИРОБНИЦТВА 52
5.1. Контроль якості кінцевого продукту 52
5.2. Характеристика сировини, персоналу, матеріалів та напівпродуктів 52
5.3. Контроль чистоти повітря, приміщень, обладнання та персоналу. 54
5.3.1. Повітря 55
5.3.2. Приміщення 55
5.3.3. Обладнання 56
5.3.4. Персонал 56
5.4. Оцінка виробничих ризиків технологічного процесу 57
Висновки до розділу 5: 63
РОЗДІЛ 6. СТАРТАП-ПРОЄКТ 64
6.1. Резюме стартап-проєкту 64
6.2. Ринковий аналіз реалізації проекту 66
6.3. Розрахунок фінансових показників стартапу 69
6.4. Розробка ринкової стратегії стартап проєкту 74
Висновки до розділу 6 75
ВИСНОВКИ 77
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 79
ДОДАТОК А 89
ДОДАТОК Б 90

ВСТУП

Актуальність

Актуальним питанням у травматології та ортопедії сучасності є відновлення цілісності кісткової тканини та повернення функціональної спроможності у випадку тих чи інших переломів на рівні діафізу різних кісток. Дослідження процесу репаративного остеогенезу залишається актуальним на поточний момент. В різних наукових виданнях, журналах та публікаціях ведеться активна дискусія та дослідження проблем регенерації кістки як в Україні, так і закордоном. [3].

На жаль, деякі травми чи деформації або хвороби не підлягають повній регенерації. Відновлення пошкоджених кісток є болючим і складним процесом. Кісткові трансплантати є болісними, непередбачуваними і можуть мати безліч потенційних ускладнень [3].

Однак 3D-друк та інші технології можуть надати значну допомогу навіть у найскладніших медичних втручаннях, де кісткові трансплантати є пріоритетними, і багато дослідників підтримують цю можливість завдяки неймовірним перспективам різноманітних підходів [2].

Актуальність отримання 3D-матриць для відновлення кісткової тканини при 3D-біодруку полягає в створенні штучних каркасів (скаффолдів) з їх подальшим наповненням стовбуровими клітинами, які, в свою чергу, можуть бути використані для заміни або відновлення пошкоджених або втрачених тканин. Це новаторський підхід до лікування різних захворювань і травм, які виникають у пацієнтів [1, 2].

Мета магістерської дисертації: основна мета магістерської дисертації полягає в проектуванні та розробці виробництва 3D-матриці зі всіма технологічними аспектами для відновлення кісткової тканини, створенням персоналізованих і біосумісних матриць з подальшим їх наповненням стовбуровими клітинами пацієнта, які сприяють ефективній регенерації та зміцненню кістки.

Для досягнення поставленої мети були поставлені такі задачі:

1. Провести огляд сучасної літератури наявних технологій 3D-друку, зокрема 3D-біодруку, а також матеріалів та їх властивостей для створення та виготовлення оптимальної структури біосумісної 3D-матриці.
2. Обґрунтувати обрану технологію виробництва, описати основні етапи виробництва, навести схему технологічного процесу.
3. Обґрунтувати компоновку приміщення, потік сировини та матеріалів.
4. Надати рекомендації щодо оцінки якості готового продукту, а також продуктів на проміжних етапах виробництва.
5. Провести оцінку ризиків. Створити матрицю основних ризиків виробничого процесу та перелік контрольних точок.
6. Розробка стартап-проекту для реалізації обраної технології у виробництво.

Об’єкт дослідження: технологія виробництва 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини

Предмет дослідження: впровадження технології виробництва 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини в Україні.

Наукова новизна отриманих результатів.

Варто зазначити, що в Україні відсутні технології виробництва 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини, а оскільки існує потреба у кісткових трансплантатах, то описані технологічні аспекти мають новаторський підхід по впровадженню такої

технології виготовлення трансплантату для подальшого лікування пацієнтів, що мають травми або пошкодження кісткової тканини.

Практичне значення.

Реалізація запропонованої технології по створенню 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини в першу чергу допоможе пацієнтам, які потребують операційного втручання та поки не мають можливості ефективного лікування, оскільки джерела кісткових трансплантатів обмежені, болісні та можуть мати безліч потенційних ускладнень. Така розробка, також, може використовуватись для пришвидшення регенерації кісткової тканини, зменшує терміни реабілітації. Крім того, технологія має високий рівень адаптивності до змін, що створює можливість для її модифікації та подальшого вдосконалення у майбутньому.

РОЗДІЛ 1. АНАЛІЗ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Основні принципи біоінженерії кісткової тканини

1.1.2. Роль технологій 3D-друку у виготовленні біоінженерних матеріалів

Технології 3D-друку відіграють важливу роль у виготовленні біоінженерних матеріалів, зокрема 3D-матриць для відновлення кісткової тканини, а саме:

- Персоналізованість: За допомогою 3D-друку можна створювати індивідуальні моделі та конструкції, які відповідають унікальним потребам пацієнтів. Це дозволяє точно відтворити форму та розміри пошкодженої кістки, забезпечуючи ефективність лікування [2, 7].
- Точність та складність: 3D-друк дозволяє виготовляти складні структури з високою точністю. Це особливо важливо для відтворення складної архітектури кістки, що включає пористу структуру, канали для проникнення крові та інші деталі. Технологія 3D-друку дозволяє створювати ці структури з великою прецизійністю і контролем [2, 7].
- Матеріали та біологічна сумісність: 3D-друк дозволяє використовувати різноманітні матеріали, включаючи біорозкладні полімери, керамічні матеріали та гідрогелі. Ці матеріали мають біологічну сумісність та можуть сприяти росту тканин і оновленню кістки. Також можливе використання біологічних матеріалів, які можуть взаємодіяти з клітинами та стимулювати їх регенерацію [1, 2].
- Швидкість та ефективність: Використання 3D-друку дозволяє значно зменшити час виготовлення біоінженерних матеріалів порівняно з традиційними методами. Крім того, ця технологія може забезпечити гнучкість

та масштабованість виробництва, що дозволяє виготовляти біоінженерні матеріали великих розмірів для клінічного застосування [2, 7].

Основною відправною точкою розробки кісткової тканини є досягнення відновлення та регенерації кістки за допомогою «індукованого остеогенезу».

Досягнення точного контролю матеріалу каркаса (матриці) та структури пор, а структурну форму неможливо повністю узгодити з анатомічною структурою кісткового дефекту, тому підготовка персоналізованих імплантатів не може бути реалізована. В останні роки, з поглибленим вивченням інженерії кісткової тканини, підготовка матеріалів каркасу та методи їх приготування поступово стали центром досліджень [7].

Як технологія, яка може підготувати інженерні каркаси (матриці) кісткової тканини, 3D-друк ефективно компенсує ці недоліки та швидко широко використовується для формування каркасів або матриць [7].

1.1.3. Методика 3D друку кісток поза тілом

Прогресивною та перспективною методикою може слугувати 3D-друк кісток із застосуванням стовбурових клітин для подальшої імплантації в організм пацієнта [6].

За допомогою комп'ютерної томографії сканується пошкоджена кістка пацієнта, за результатами сканування створюється 3D-модель матриці (скаффолд) кістки. За допомогою верстата ЧПК 3D-модель переноситься на кістку тварини (зазвичай корови), щоб у точній формі відобразити всі особливості трансплантата, який має бути імплантований у тіло хворого.

Далі жирові клітини пацієнта і стовбурові клітини з жиру ізолюються, поміщаються в біореактор з подрібненими кістками тварини. Стовбурові клітини з жиру здатні розмножуватися в різних формах тканини, що робить їх ідеальними для цього процесу [14].

За допомогою 3Д друку можна дуже просто відтворити точну копію будь-якої кістки, незалежно від її стану. Ми маємо простий спосіб створення певної моделі кістки, спочатку КТ скан, потім 3D-модель в CAD-програмах.

Дана ідея особливо цікава тим, що в процесі використовуються власні стовбурові клітини пацієнта для вирощування кісток поза тілом. При цьому дана методика, на відміну від класичного відновлення пошкоджених кісток або за допомогою кісткових трансплантатів не є болісною, є передбачуваною та не може мати потенційних ускладнень, оскільки відтворювалась в біореакторі. Ідея в тому, що вони будуть рости навколо кістки, по суті, поглинаючи її. Після закінчення процесу в біореакторі утворюється нова кістка, що складається з власних клітин пацієнта, і готова до імплантації [6, 14].

1.2. Технології 3D-друку для виготовлення кісткових матриць

Технологія 3D-друку створює тверді тіла шляхом укладання матеріалів шар за шаром і може швидко й точно підготувати скелети для інженерії кісткової тканини певних форм і структур відповідно до потреб різних пацієнтів [2].

Про технологію 3D-друку вперше повідомив Емануал Сакс з MIT у 1989 році. Це свого роду технологія швидкого прототипування, також відома як адитивне виробництво [2].

ЇЇ принцип роботи базується на дискретній теорії накопичувального формування в поєднанні з автоматизованим проектуванням, технологією цифрового керування, біологічними матеріалами тощо. Це нова технологія цифрового формування, яка може точно та швидко виготовляти матеріали в моделі 1:1 на основі принципу пошарового виготовлення та пошарового накладання [2].

Процес підготовки кісткової матриці виглядає наступним чином: спочатку тривимірні дані ділянки ремонту пошкодженої кістки отримують за допомогою КТ або магнітно-резонансної томографії, а потім тривимірну модель «розрізають» за допомогою програмного забезпечення CAD для отримання даних кожного шару та імпортують або в середовище моделювання 3D-моделей або саме в систему 3D-друку. Нарешті, біопринтер готує кістковий каркас шляхом укладання матеріалів шар за шаром відповідно до пошарових даних.

На даний час дослідження із застосування технології 3D-друку в лікуванні захворювань кісткової тканини в Китаї та світі досягли хороших результатів [8-10].

Скаффолд або матриця з кісткової тканини, виготовлена за технологією 3D-друку, може найбільшою мірою відновити первісну анатомічну структуру рани пацієнта та точно відкоригувати розмір пор всередині каркасу [2].

1.2.1. Моделювання плавленим осадженням (FDM)

Моделювання плавленим осадженням (FDM), також відоме як моделювання плавленим ламінуванням, — це технологія, яка нагріває та розплавляє ниткоподібні термоплавкі матеріали або полімери, і в той же час, під керуванням комп’ютера, тривимірне сопло вибірково покриває матеріал на ЧПУ-верстаті відповідно до інформації профілю перетину. Після швидкого охолодження утворюється шар поперечного зрізу. Після завершення формування одного шару стіл верстата опускається на висоту (тобто на товщину шару), а потім формує наступний шар, поки не буде сформована повна суцільна форма (рисунок 1.2.1.1) [2, 11].

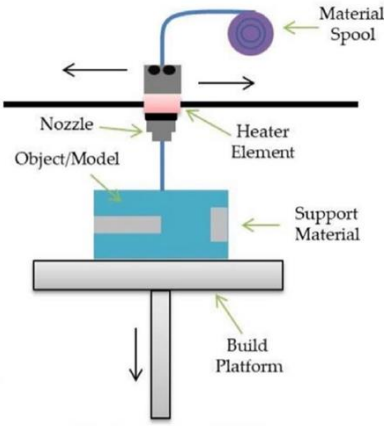

Рисунок 1.2.1.1. - Схематичне зображення FDM [11].

Науковці [17] використали полікапролактон як матеріал для виготовлення пористого 3D-друкованого каркасу за технологією плавленого осадження та застосували його для вивчення дефектів черепа свиней, і виявили, що дефект кістки демонструє хорошу цілісність кістки.

Група науковців [18] використовували моделювання плавленим осадженням під контролем КТ для виготовлення тривимірної штучної кістки з полікапролактону/гідроксиапатиту, що імітує натуральну стегнову кістку кози. Це простий, зручний і відносно недорогий метод, який підходить для виготовлення штучної кістки. Крім того, штучна кістка з полікапролактону/гідроксиапатиту, виготовлена за цією технологією, ближча до механіки природної кістки, має хорошу клітинну біосумісність і здатність до біологічного розкладання in vitro, а також відповідну здатність до формування нової кістки in vivo.

Таким чином, тривимірна штучна кістка з полікапролактону/гідроксиапатиту може бути використана для лікування пацієнтів із клінічними дефектами кісткової тканини.

Перевага FDM полягає в простоті виготовлення та низькій вартості, але друкований каркас не є ідеальним з точки зору точності та якості поверхні, а висока температура може порушити хімічний склад сировини. Проте дана технологія плавленого-ламінування недостатньо стабільна, менше використовується у сфері швидкого прототипування, яке вимагає високої

точності, і ця технологія не може друкувати фактори росту, білки та клітини, що обмежує її подальше застосування в медичних каркасах та матрицях. [2, 11].

1.2.2. Селективне лазерне спікання (SLS)

Сировиною для селективного лазерного спікання є переважно порошкоподібні речовини. В даний час матеріалами для даної технології є восковий порошок і пластиковий порошок, а процес спікання з металевим або керамічним порошком все ще вивчається.

Під час обробки порошок спочатку нагрівають до температури, трохи нижчої за його температуру плавлення, а потім розплющують порошок під дією вирівнювальної палички. Під керуванням комп'ютера лазерний промінь вибірково спікається відповідно до інформації секції розшарування. Після того, як один шар завершено, спікається наступний шар. Далі видаляють надлишки порошку. Таким чином можна отримати спечену деталь (рисунок 1.2.2.1). [2].

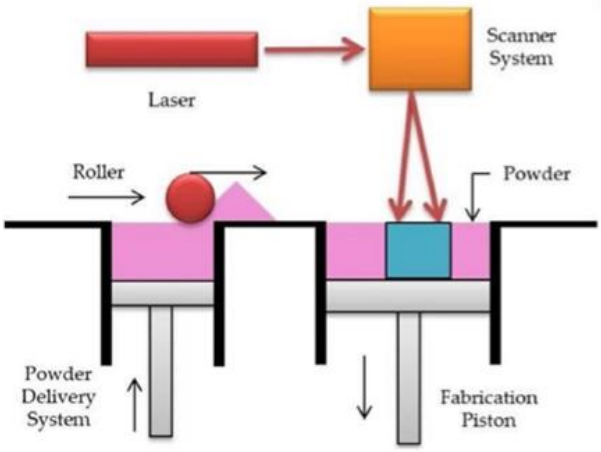

Рисунок 1.2.2.1 - Схема зображення SLS [2]

Автори роботи [19] використали селективну технологію лазерного спікання для виготовлення 3D трапецієподібних пористих каркасів і

імплантували їх у дефект нижньої щелепи новозеландських кроликів, і виявили, що каркаси добре впливають на реконструкцію щелепи.

Дослідники [20] реконструювали тривимірну модель скроневої кістки, навчену хірургією основи черепа за допомогою технології селективного лазерного спікання. Модель дуже специфічна для хірургічного пацієнта та має важливе керівне значення для передопераційного планування хірургом.

Науковці [21] використовували селективне лазерне спікання для виготовлення пористих каркасів із трикальційфосфату.

Крім того, каркасні матеріали для інженерії кісткової тканини повинні мати міцно взаємопов'язану пористу структуру з відповідними механічними та біологічними властивостями. Для того, щоб покращити продуктивність каркасу, дослідники здебільшого використовують композитну сировину для виготовлення каркасів.

У порівнянні з моделюванням плавленого осадження, вибіркове лазерне спікання має ширший вибір матеріалів для друку, високу швидкість обробки, відсутність опорних матеріалів, високу точність і високу міцність. Однак вибіркове лазерне спікання та моделювання осадження плавленням мають ті самі недоліки, тобто властивості біологічних матеріалів або факторів росту будуть знищені під час високої температури обробки, а поверхня формованого виробу є шорсткою, тому її не можна використовувати для друку у поєднанні з живими клітинами тощо [2].

1.2.3. Стереолітографія (SLA)

Сировиною для стереолітографії є світлочутлива смола. Технологія керує лазером через комп'ютер і сканує поверхню рідкої світлочутливої смоли точково відповідно до інформації про кожну шарувату секцію деталі. Тонкий шар смоли в області сканування затверджується за допомогою фотополімеризації, щоб утворити тонкий шар деталі. Після завершення

затвердіння одного шару робочий стіл пересувається вниз на відстань на один шар товщини. Потім новий шар рідкої смоли наноситься на поверхню попередньо затверділої смоли до отримання тривимірної твердої моделі. (Рисунок 1.2.3.1) [2].

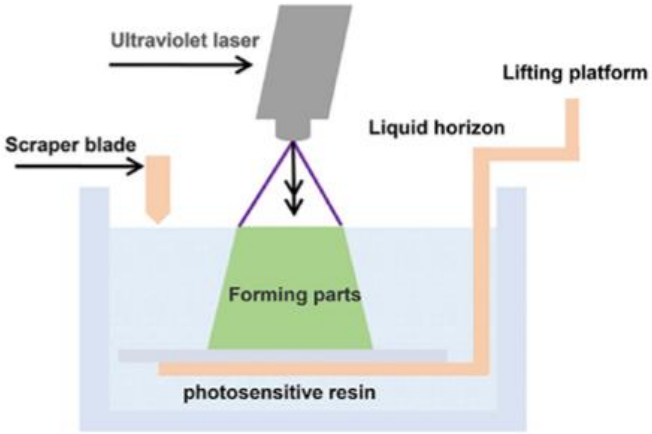

Рисунок 1.2.3.1 - Принципова схема вигляду стереолітографії [2]

До переваг стереолітографії можна віднести короткий час виготовлення та широкий асортимент продукції, а також можливість друкувати об’єкти високої роздільної здатності зі складними структурами. Але він також має недоліки, зокрема матеріали для друку обмежені рідкими смолами, які можуть бути токсичними, а для очищення від домішок потрібна додаткова обробка [2].

1.2.4. Електронно-променеве плавлення (EBM)

Технологія електронно-променевого плавлення (EBM) — це сучасна передова технологія, розроблена шляхом поєднання передових технологій, таких як числове програмне керування, електронний дизайн і пучки електронів високої енергії [2].

Технологія спочатку обробляє тривимірну цифрову модель деталі пошарово, щоб отримати інформацію про її двовимірний поперечний переріз, а потім використовує спеціальну програму для електронно-променевої плавки для імпорту ефективної інформації в електронно-променеве плавильне

обладнання для отримання необхідного тривимірного виробу шляхом додавання матеріалів шар за шаром [2].

Оскільки електронний промінь має такі характеристики, як висока потужність, висока швидкість сканування, чистота та відсутність забруднення тощо, технологія плавлення електронного променю має такі переваги, як висока ефективність формування, безпека та захист навколишнього середовища, а також широкий спектр застосовних матеріалів, особливо для складного формування важких для обробки металевих матеріалів. Відтворюваність ЕВМ робить його чудовим вибором для підготовки пористих матеріалів [2].

Науковці [22] підготували пористі імплантати за допомогою технології електронно-променевого плавлення та імплантували їх у двосторонню стегнову кістку та спину овець. Через 26 тижнів імплантати та навколишні тканини були видалені, що продемонструвало чудову довгострокову біосумісність м’яких тканин і високий ефект інтеграції в кістку.

Проблеми технології електронно-променевого плавлення включають високу технічну складність, високу вартість і неповне допоміжне програмне забезпечення. З розвитком числового керування, електронної інформації, нових матеріалів та інших галузей технологія електронно-променевого плавлення також буде поширена в лікарнях для населення [2].

1.2.5. 3DP технологія

Технологія 3DP використовує порошкові матеріали для формування, такі як керамічний порошок, металевий порошок. Ці порошки не з’єднуються шляхом спікання, а поперечний переріз деталі друкується поверх порошку матеріалу за допомогою насадки з використанням адгезиву, такого як силікон. Однак міцність деталей, склеєних клеєм, низька і вимагає додаткової обробки [2].

Конкретний процес виглядає наступним чином: після того, як верхній шар склеєно, формувальний циліндр опускається вниз (дорівнює товщині шару: 0,013-0,1 мм), циліндр, що подає порошок, піднімається, виштовхує трохи порошку і штовхається розкидним валиком з порошком до формувального циліндра. Ці порошки стиснені та ущільнені. Під керуванням комп'ютера розпилювальна головка вибірково розпилює клейовий будівельний шар відповідно до даних формування будівельної секції нижче. Таким чином, склеювання тривимірного порошку остаточно завершується [2].

Технологія 3DP проста в експлуатації, продукт має такі переваги, як висока пористість, широкий діапазон застосування сировини, гладка поверхня каркасу та можливість прямого кріплення клітин. Він може безпосередньо друкувати клітини, фактори росту та білки. Недоліком є невисока механічна міцність виробу. Незважаючи на те, що технологія 3DP використовується для виготовлення каркасів для інженерії кісткової тканини, ця технологія потребує подальших досліджень та вдосконалення [2].

Науковці Farzadi та інші [23] досліджували вплив затримки друку 3DP на продуктивність каркаса, і результати показали, що затримка шарового друку мала значний вплив на міцність каркаса на стиск. Це дослідження показало, що друк із затримкою 300 мс є оптимальною умовою друку, забезпечуючи найвищу міцність і точність розмірів.

1.2.6. Екструзійний друк

Зараз для біологічного 3D-моделювання біопринтери використовують екструзійну технологію друку. Під час процесу друку ця техніка використовує механічний поршень або тиск повітря, щоб стиснути шприц із чорнилом, а потім видавлює біочорнило через мікросопло (рисунок 1.2.6.1) [2, 11].

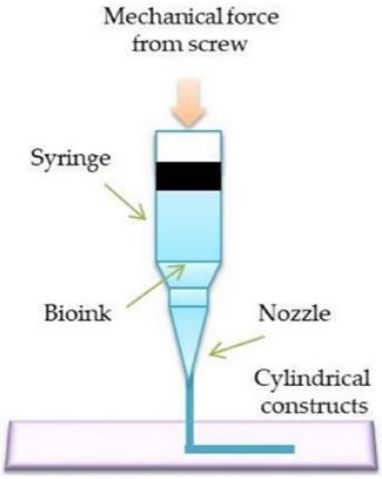

Рисунок 1.2.6.1 - Схематичне зображення екструзійного біодруку [11]

У порівнянні з іншими технологіями, технологія екструзійного біодруку сумісна з різноманітними матеріалами, швидкість друку є високою та з високою точністю [24]. Ця техніка не передбачає надмірного процесу нагрівання, тому клітини та біоактивні речовини можна легко додавати, оскільки вони не руйнуються [25].

Екструзійний біодрук має більший вибір доступних біочорнил. Біочорнило, що використовується в екструзійному друці, повинно мати достатню в'язкість і здатність до зшивання, щоб підтримувати хорошу тривимірну структуру під час і після друку [2, 11].

1.3. Матеріали та їх властивості для створення оптимальної матриці

В інженерії кісткової тканини ідеальний матеріал каркаса або матриці повинен відповідати таким умовам:

- Остеопровідність: здатність матеріалу створювати канал або середовище для росту нової тканини.
- Остеоіндуктивність: здатність матеріалу стимулювати ріст кісткової тканини.
- Гарна біосумісність: матеріал повинен сприяти адгезії, проліферації та диференціації клітин кісткової тканини.

- Гарна біорозкладаємість.
- Достатні механічні властивості.
- Тривимірна пориста структура: здатність забезпечити простір для росту клітин кісткової тканини.
- Простота в обробці та стерилізації [2, 26].

При проектувані скаффолдів (матриць) слід враховувати наступні три аспекти:

- Матриця може стати основою для клітинної адгезії, диференціації, проліферації та міграції. Розмір і структура пор, пористість і хімічний склад поверхні каркасів є факторами впливу.
- Мати належну механічну міцність.
- Відповідати анатомічній морфології змінної частини [2, 26].

Крім того, зазвичай вважається, що пористість тривимірних кісткових каркасів або матриць має бути більшою за 40%-60%, щоб сприяти швидкій дифузії клітин і потоку клітинних поживних речовин, а також перенесення клітин. Тому при проектуванні та підготовці каркасів слід звернути увагу на вимоги до каркасів інженерії кісткової тканини та вибрати найбільш відповідні матеріали [27].

В даний час найбільш поширені матеріали для 3D-друку включають металеві матеріали, біокераміку та композитні матеріали [2].

1.3.1. Металевий матеріал

Металеві матеріали є одними з найбільш широко використовуваних матеріалів для 3D-друку в клінічній практиці. Найпоширенішим є титановий сплав, який широко використовується в лікуванні клінічних дефектів кісткової тканини завдяки легкій вазі та високій міцності. Найбільша особливість матеріалів для медичних імплантатів полягає в тому, що існують великі

індивідуальні відмінності у розмірі та формі, складній структурі та великій кількості дрібних деталей [2].

Металевим каркасам, виготовленим за традиційною технологією, складно повністю відповідати анатомічним характеристикам пацієнтів [2].

Пористі кісткові каркаси-матриці, виготовлені з титанових сплавів, мають хорошу біосумісність і мають дуже хороший вплив на сприяння проліферації та диференціації остеобластів [28].

Хоча металеві матеріали є найбільш широко використовуваними, процес друку потрібно проводити при високій температурі, і необхідні подальші дослідження для підтримки активності та функціонування клітин протягом тривалого часу [2].

1.3.2. Неметалічні матеріали

1.3.2.1. Біокераміка

Біокерамічні матеріали - це матеріали для відновлення кісток з гарними показниками остеопровідності, представлені трикальцій фосфатом, фосфатом кальцію та гідроксиапатитом. Основні компоненти цих матеріалів подібні до неорганічних компонентів людської кістки, вони добре розкладаються та здатні сприяти формуванню нової кістки [2].

Кісткові каркаси з двофазного фосфату кальцію (суміш гідроксиапатиту та трикальцій фосфату) мають чудову здатність сприяти остеогенній диференціації клітин [29].

Науковці [30] виготовили композитний пористий каркас із гідроксиапатиту/хітозану за допомогою технології 3D-друку після змішування та додавання до каркасу колаген типу I. Під час експериментів на тваринах виявилось, що гідроксиапатит/хітозан композитний пористий каркас із додаванням колагену типу I може значно збільшити секрецію лужної фосфатази та сприяти остеогенезу.

В даний час технології 3D-друку керамічних каркасів в основному включають 3D-друк зі спіканням і 3D-друк при кімнатній/низькій температурі.

1) Надрукований зі спіканням 3D керамічний каркас: найпоширенішим методом підготовки керамічних каркасів з кісткової тканини є друк каркасів спеціальної форми та розміру пор з наступним спіканням при високій температурі для видалення всіх органічних фаз для формування чистих керамічних каркасів. [2].

Автори дослідження [31] сконструювали кристалічні біоносії з літій-кальцієвого силікату з подвійною біоактивністю за допомогою процесу спікання композиту за допомогою 3D-друку для реконструкції остеохондральної поверхні. Скаффолд має високу механічну міцність. У каркасі (скаффолді) мезенхімальні стовбурові клітини можуть піддаватися остеогенній диференціації, а хондроцити можуть піддаватися хондрогенній диференціації in vitro та in vivo.

2) Надруковані 3D керамічні каркаси при кімнатній/низькій температурі: на додаток до високотемпературних зі спіканням каркасів для інженерії кісткової тканини все більше дослідників почали використовувати 3D-друк при кімнатній/низькій температурі для підготовки каркасів для інженерії кісткової тканини [2].

Науковці [32] повідомили про виготовлення насичених тромбоцитами фібрином нано-двофазних композитів nBCP/PVA за допомогою низькотемпературного 3D-друку на основі екструзії. Скаффолд має кращу біосумісність in vitro та біологічну активність, покращує адгезію, проліферацію та остеогенну диференціацію мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку. А в кролячій моделі великого сегментарного дефекту кістки спостерігалося більше утворення нової кістки.

Надрукована зі спіканням 3D кераміка демонструє чудові механічні властивості, які можуть краще підтримувати остеогенну та хондрогенну диференціацію клітин скелетів для інженерії кісткової тканини [2].

1.3.3. Полімерний матеріал

Полімерні матеріали в основному поділяються на природні полімери та синтетичні полімери. Природний полімер: природні макромолекулярні полімери, також відомі як природні біоматеріали, є матеріалами, виробленими живими організмами, такими як колаген, хітозан, гіалуронова кислота, альгінат натрію та фібрин, які з часом розкладаються мікроорганізмами на вуглекислий газ і воду [1, 2].

Біоматеріали природного походження мають такі переваги, що викликають лише легку запальну реакцію in vivo, хорошу біосумісність, широкий вибір джерел матеріалів, легкий доступ до матеріалів і хорошу пластичність [2].

Колаген - природний полімер, який міститься в шкірі, кістках, сухожиллях і зв'язках. Колаген для біомедичних застосувань отримують із таких тварин, як свиняча або бичача шкіра, щурячий хвіст, демінералізована бичача або кроляча кістка. Колаген має високі властивості до набрякання, низьку антигенність, цитосумісність і потенціал регенерації тканин, і завдяки цим властивостям колаген вважається ідеальним матеріалом для інженерії кісткової тканини. Однак через низьку механічну міцність чистого колагену його не можна безпосередньо використовувати як матеріал-замінник кістки, тому дослідженням композитних скаффолдів з колагену та інших матеріалів приділяється велика увага [1, 2].

Науковці [33] виготовили тривимірні колаген-гідроксиапатитові нанокомпозитні каркаси, використовуючи методи суспензування та імерсійності, і модуль стиску був у 12 разів вищий, ніж у колагенових каркасів відповідно. Через 4 тижні після імплантації каркаса в стегнову кістку щура було помічено утворення нової кісткової тканини в порах, що було порівняно з біорозкладністю імплантату.

Вчені [34] розробили каркас з колагену гідроксиапатиту з 3-шаровою структурою. Колагеновий каркас імплантували в пористу кальцій-фосфатну кераміку методом вакуумної інфузії, а потім інкапсулювали біоміметичною мінералізацією, яку порівнювали зі звичайним пористим кальцій-фосфатом. Порівняно з керамічними каркасами, цей 3-шаровий каркас має кращу механічну міцність, більш швидкий і має більший рівень остеогенезу при імплантації в спинний м’яз кролика in vitro.

Хітозан - це біологічний матеріал, який отримують з панцирів ракоподібних шляхом лужного гідролізу в результаті повного або часткового деацетилювання хітину. Це біологічно розкладний, біосумісний, вільний від антигенів, нетоксичний, біологічно функціональний матеріал, тому він використовується для виготовлення різних каркасів і широко вивчався в області регенерації кісток. Однак, оскільки хітозан нерозчинний у воді, швидко розкладається in vivo, має погану сумісність з кров’ю та має антибактеріальні властивості, його потенціал для відновлення кісткових дефектів обмежений [1].

Функціоналізація структури хітозану була досягнута шляхом змішування з різними матеріалами, враховуючи ці обмеження; додавання до полімеру біокерамічних матеріалів дозволяє поліпшити його механічні властивості [2].

Науковці [35] обробляли хітозан/наногідроксіапатит холодною плазмою, і поверхня каркаса була шорсткою з хорошою змочуваністю, що вибірково посилювало адсорбцію фібронектину та білка вітаміну С. Ця модифікація призвела до більшої інфільтрації мезенхімальних стовбурових клітин у каркас і збільшення відкладення колагену та мінералізації через 3 тижні.

Це дослідження показує, що обмеження хітозану можна вирішити шляхом змішування з іншими матеріалами та стати відповідним матеріалом для підготовки каркасу для інженерії кісткової тканини [2].

Синтетичний високополімерний матеріал. До таких матеріалів належать полімолочна кислота (PLA), полікапролактон (PCL), поліглiколева кислота (PGA) та їх кополімери (PLGA). Цей тип полімеру є термопластичним матеріалом, який можна переробляти в різні структурні форми, а механічні властивості та швидкість деградації матеріалу можна регулювати та контролювати шляхом регулювання та збільшення молекулярної маси, вибору різних методів полімеризації та методів формування. Через нетоксичні продукти розпаду та хорошу біосумісність PLA та PGA були схвалені FDA США як імплантати [1, 2].

Автори [36] підготували хрящово-кістковий композитний каркас із PLGA/PLLA як верхній шар і PLGA/TCP як нижній шар за допомогою технології 3D-друку. Дослідження показало, що хондроцити були більш схильні прилипати до області каркаса хряща, і утворення хрящової тканини можна було побачити після 6 тижнів культивування. Механічна міцність остеогенної ділянки скаффолда може досягати того ж порядку, що й нова губчаста кістка людини.

Вчені [37] використали технологію 3D-друку, щоб зробити квазі-каркас із змішаного порошку полікапролактону та полівінілового спирту, а потім застосували фільтрацію частинок для видалення полівінілового спирту для отримання пористих каркасів. Відфільтрований каркас є пухким і м’яким, а структура пор має високу зв’язність.

Синтетичні полімери погано розчиняються у воді, тому для їх розчинення потрібні органічні розчинники, які можуть бути токсичними. Крім того, використання органічних розчинників, очевидно, збільшує вартість і ускладнює великомасштабне масове виробництво матеріалів для каркасів медичного призначення [2].

1.3.4. Композитні матеріали

Для того, щоб задовольнити вимоги створення ідеальних матеріалів для відновлення кісток за допомогою технологій 3D-друку, композитні матеріали, що поєднують два або більше матеріалів, таких як високомолекулярні полімери, метали та біокераміка, стали новим проривом у 3D-друку кісткових матеріалів. Скаффолди або матриці кісткової тканини, що складаються з високомолекулярних полімерів і біокераміки, широко використовуються у 3D-друку матеріалів для відновлення кісток, оскільки вони схожі на природну кісткову матрицю [2].

Автори дослідження [38] використовували синтетичний полімер полімолочної кислоти та гідроксиапатит як сировину для виготовлення розсмоктуючих пористих каркасів для реконструкції нижньої щелепи. Для порівняння вони виявили, що порівняно з традиційними каркасами з титанового сплаву полімерні каркаси з полімолочної кислоти/гідроксиапатиту мають кращий ремонтний ефект.

Деякі дослідження також виявили, що матеріали, отримані шляхом змішування трикальційфосфату та високомолекулярних полімерів, можуть значною мірою сприяти проліферації та диференціації мезенхімальних стовбурових клітин людини. Крім того, композиційний матеріал у поєднанні з цитокінами та білками з остеогенною індукцією може ще більше підсилити ефект надрукованих 3D кісткових каркасів у відновленні кісток[1, 2].

Висновки до розділу 1

Отже, на основі літературного аналізу можна зробити висновок, що в даний час технології 3D-друку, які використовуються для підготовки каркасів-матриць (скаффолдів) кісткової тканини, в основному включають моделювання плавленого осадження (FDM), селективне лазерне спікання (SLS), стереолітографію (SLA), плавлення електронним променем (EBM), технологію 3DP та екструзійний друк.

Серед 3 основних елементів інженерії кісткової тканини (посівні клітини, матеріали каркаса та фактори росту) матеріали каркасу або матриці, безсумнівно, відіграють ключову роль. Оскільки каркас забезпечує основу для росту нової кістки.

Надрукований 3D керамічний каркас при кімнатній/низькій температурі робить скаффолд більш прийнятним для дослідників. У порівнянні зі звичайними експериментальними умовами більше дослідників можуть відтворити експеримент у власній лабораторії, виконуючи 3D-друк при кімнатній/низькій температурі

Таким чином, поточні дослідження та розробки полімерних матеріалів на базі колагену або хітозану та композитних (наприклад гідроксиапатит та колаген) для 3D-друку та технології друку матриць повинні поступово виходити на шлях систематизації та стандартизації та покращувати стандарти застосування.

РОЗДІЛ 2.ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

2.1. Нормативно-технічна документація виробництва 3D-матриці для відновлення кісткової тканини

3D-матриці або скаффолди є медичними виробами, і їх розробка ґрунтується на відповідних нормативних документах, що регулюють виробництво та контроль якості медичних виробів.

Відповідно матриці заповнені біоматеріалом пацієнта та готові трансплантати регулюються законом України «Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині» та відповідними нормативними документами [47].

Усі процеси виробництва повинні бути належними та сертифікованими для отримання продукції належної якості. Під час розробки технологічних етапів виробництва, проектування виробництва, потоків матеріалів, сировини та персоналу використовувалась лише документація, яка є чинною в Україні відповідно до законодавства та гармонізована під стандарти Європейського союзу. Усі нормативні документи представлені нижче у таблиці 2.1

Таблиця 2.1 Перелік нормативної документації

№	Назва нормативного документу
1.	Постанова КМУ від 02.10.2013 р. № 753 «Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів» [43]
2.	ISO 13485 «Вироби медичні. Система управління якістю» [44]
3.	ДСТУ EN ISO 10993-1:2022 Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 1. Оцінювання і тестування в рамках процесу управління ризиками [45]
4.	ДСТУ EN 1041:2015 Вироби медичні. Інформація, яку надає виробник [46]
5.	Закон України, № 2427-VIII від 17.05.2018 «Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині» [47].

Продовження таблиці 2.1 Перелік нормативної документації

6.	Постанова КМУ № 720 від 05.08.2020 «Про затвердження Порядку перевезення анатомічних матеріалів людини в межах України, ввезення таких матеріалів на митну територію України та вивезення їх за межі митної території України» [48].
7.	ДСТУ 3974-2000 «Система розроблення та поставлення продукції на виробництво. Правила виконання дослідно-конструкторських робіт. Загальні положення» [49]
8.	Управління ризиками виробництва медичних виробів згідно ДСТУ EN ISO 14971:2015 [50]
9.	Керування ризиком. Методи загального оцінювання ризику. ДСТУ IEC ISO 31010:2013 [51]
10.	Настанова ДСТУ ISO 14644-1:2009 «Чисті приміщення й пов'язане з ними контрольоване середовище. Частина 1. Класифікація чистоти повітря» [52]
11.	ДСТУ EN 980:2007 «Символи графічні для маркування медичних виробів» [53]
12.	СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 «Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації» [54]
13.	ДСТУ EN 12741:2019 «Біотехнологія. Лабораторії, що виконують дослідження, розроблення та аналізування. Настанови щодо діяльності біотехнологічних лабораторій» [55]
14.	ДСТУ EN ISO 13485:2018 Медичні вироби. Система управління якістю. Вимоги до регулювання (EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT) [56]

2.2. Попит на аналогічний продукт

Останніми роками інженерія кісткової тканини стала перспективним рішенням обмежень застосування поточних варіантів золотого стандарту лікування захворювань, пов'язаних з кістками, таких як аутологічні кісткові трансплантати. Інженерія кісткової тканини забезпечує виготовлення каркаса (скаффолду) або матриці, який імітує позаклітинний матрикс, забезпечуючи архітектуру, яка керує природним процесом регенерації кістки.

Важливість кістки відображає приголомшливий економічний і клінічний вплив лікування дефектів кісток у результаті таких захворювань, як недосконалий остеогенез, остеоартрит, остеомієліт і остеопороз [16].

Сучасним золотим стандартом відновлення переломів кісток критичного розміру є використання аутологічних кісткових трансплантатів (аутотрансплантатів). Однак аутотрансплантати дорогі, пацієнти переважно мають великий термін очікування щодо імплантації та представляють хірургічні ризики, такі як кровотеча, запалення, інфекція та хронічний біль, а також пошкодження донорської ділянки, хворобливість та деформація [16].

З 20 мільйонів людей, які щорічно страждають від нестачі кісткової тканини в усьому світі, близько 5 мільйонів випадків потребують ортопедичного втручання, причому трансплантація становить близько 60% цих втручань. Однак ці підходи до лікування мають серйозні обмеження у відновленні та регенерації кістки [16].

Схожа технологія виробництва кісток від компанії-стартапу EpiBone. EpiBone займає стратегічне положення на ринку, для надання якісних кісткових трансплантатів, які забезпечують точне відновлення дефекту, спрощену хірургічну процедуру, покращене формування та регенерацію кістки, а також коротший час відновлення без ускладнень імплантації стороннього тіла для понад 900 000 пацієнтів, які проходять операцію з кісткової тканини або пов'язаних операцій щороку [42].

Отже, маємо, що якщо 5 мільйонів випадків потребують ортопедичного втручання, то трансплантація становить – 3 мільйони випадків згідно статистичних даних вище. Тоді маємо що дана компанія-стартап забезпечує (900000/3000000) потреби 30% по трансплантації щороку.

2.3. Кількість потенційних споживачів

Старіння населення в поєднанні зі збільшенням випадків ожиріння та недостатньою фізичною активністю призвело до збільшення випадків кісткових захворювань, включаючи переломи кісток, біль у попереку, сколіоз, остеопороз, інфекції кісток, пухлини та ревматичні захворювання.

Насправді понад 20 мільйонів людей у всьому світі щороку страждають від втрати кісткової тканини, спричиненої травмою чи захворюванням, і тільки в США щорічно відбувається понад півмільйона ремонтів кісткових дефектів, що становить понад 2,5 мільярда доларів США [16].

В Україні поворотним моментом у трансплантації стало прийняття змін до Закону «Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині» від 20.12.2019 року. Щороку в Україні [15] близько 5000 людей потребують пересадки різних органів включно з кістковою трансплантацією. Так як в Україні дана технологія досить малорозвинена, а точні статистичні дані відсутні, розрахуємо приблизний відсоток забезпечення пацієнтів. Щоб забезпечити 30% пацієнтів або це 1500 пацієнтів в рік відповідно треба виробляти 1500 готових трансплантатів на рік.

2.4. Розрахунок потужності виробництва

Щоб розрахувати потужність виробництва, спочатку оцінимо кількість робочих днів. У 2023 році в Україні передбачено стандартний календар з робочою неділею, яка включає в себе 5 робочих днів звідси кількість тижнів = 52, отже робочих днів – 260.

Розрахуємо обсяг виробництва на добу для забезпечення попиту, враховуючи кожний з робочих днів у році (Q1):

$$Q1. = Q/\tau = 1500/260 = 5{,}769 \approx 6 \text{ (шт/добу)}, \qquad (3.3.1)$$

де Q – обсяг виробництва трансплантату, шт за рік; τ – кількість робочих днів на рік.

Отже, потужність виробництва становить 6 готових трансплантатів на добу.

Кількість виробів за місяць (в місяці – 22 робочі дні) відповідно буде становити 132 шт/місяць

Висновки до розділу 2

Отже, виробництво 3D-матриць з використанням стовбурових клітин і кінцевий продукт - трансплантат для лікування травм, хронічних вад обов'язково повинно проходити сертифікацію та отримувати дозволи на реалізацію продукції. Планування виробництва включає дотримання чинних законодавчих актів, що регулюють всі етапи створення продукції. Оскільки ця продукція вважається медичними виробами, дотримання нормативів стає пріоритетом, гарантуючи високу якість та безпеку продукції. У цьому розділі використовуються нормативні акти для розробки технологічного процесу, проектування лабораторії, управління персоналом, та контролю якості готової продукції. Це дозволяє створити конкурентоспроможний продукт на місцевому та світовому ринку.

Обсяг виробництва, необхідний для задоволення поточного попиту, повністю відповідає проектованому обсягу виробництва та кількості обладнання. При потребі в 5000 трансплантаціях щороку виробництво здатне забезпечити 30%, потужність виробництва становить 6 трансплантатів на добу.

РОЗДІЛ 3. СТАДІЇ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ВИРОБНИЦТВА 3D-МАТРИЦІ ДЛЯ ВІДНОВЛЕННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ З ВИКОРИСТАННЯМ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

На даний момент до основних методів трансплантації кісток відносяться: аутологічна трансплантація кістки, алогенна трансплантація кістки, ксенотрансплантація кістки та штучна трансплантація кістки. Порівняно з іншими джерелами кісткової тканини, аутологічна кістка є найбільш ідеальним матеріалом для лікування ушкоджень кістки, але джерело аутологічної кістки обмежене, і це призведе до вторинного пошкодження пацієнтів, що призведе до неякісного лікування, яке не може відповідати клінічним потребам [3].

Технологія виробництва 3D-матриць для відновлення кісткової тканини знаходиться на етапі розвитку і формування, та клінічних досліджень. При розробці технологічної схеми за основу були взяті наукові дослідження та стандарти [2].

ДР 1 Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1 Приготування дезінфікуючих і миючих розчинів

ДР1.1.1. Підготовка дезінфікуючих розчинів

Розчини дезінфікуючих засобів готують в спеціальному приміщенні, обладнаному спеціальною вентиляцією або у витяжній шафі.

Розчини дезінфікуючих засобів готують шляхом змішування дезінфікуючого засобу з водопровідною водою в спеціальному технічному посуді (наприклад: мірних градуйованих колбах, ємностях).

Для приготування робочого розчину вимірюють необхідну кількість дезінфікуючого засобу у вигляді порошку, використовуючи терези або

спеціальні мірні ложки, що входять у комплект засобу. Дезінфікуючі засоби у вигляді водних або спиртових концентратів для приготування розчину відміряють за допомогою мірної градуйованої склянки, піпетки або шприца.

ДР1.1.2. Підготовка миючих розчинів

У лабораторіях часто використовують розчини миючих засобів, пральних порошків, соди (карбонату натрію), фосфату натрію. Збільшення ефективності миючих засобів спостерігається при використанні їх у гарячій воді. Дрібні колби, насадки та пробірки можна покласти у ємність з нагрітим мильним розчином, прокип'ятити, а потім вийняти і ретельно промити гарячою водою. Великі бутлі, колби, стакани промити всередині невеликою кількістю гарячого миючого розчину, після чого очистити поверхні йоржиком або щіткою і промити гарячою водою.

ДР 1.2 Підготовка персоналу

Усі працівники повинні мати відповідну кваліфікацію та підготовку, а також, постійно підвищувати свою кваліфікацію та покращувати якість своєї роботи. Обсяг і характер навчання працівників може варіюватися залежно від їхнього початкового рівня підготовки, посади, обов’язків та завдань. Документи щодо навчання працівника підприємства повинні зберігатися даним підприємством протягом усього строку працевлаштування такого працівника. Виробництво повинне мати чітку організаційну структуру, а всі працівники повинні мати актуальні посадові інструкції з чітко визначеними завданнями та обов'язками.

Забезпечення належного санітарно-гігієнічного стану персоналу є важливою передумовою готовності персоналу до технологічних процесів.

Перед початком робочого процесу працівники застосовують дезінфікуючі розчини для обробки рук з метою забезпечення відсутності мікроорганізмів. Процедура обробки рук включає наступні етапи: змочування рук теплою водою, уважне миття до ліктів мильним розчином. Після цього руки висушуються одноразовим паперовим рушником. Завершальний етап

включає нанесення приблизно 5 мл дезінфікуючого розчину на руки з дозатора, розподіл його по поверхні рук та висушування.

Персонал, який здійснює роботу з хімічними розчинами або біологічним матеріалом, повинен носити спеціальний одяг, такий як халат, шапочка, марлева пов'язка та гумові рукавички. У разі вказівок також слід використовувати респіратор певної марки і захисні окуляри.

ДР 2 Підготовка виробничих приміщень та комунікацій

ДР 2.1 Стерилізація посуду та інструментів

Стерилізація в підприємствах з лабораторним посудом та інструментами може відбуватись 4 методами:

1) стерилізація сухим жаром або гарячим повітрям, що проводиться в сушильних шафах або печах Пастера при температурі 150—200°С протягом 1-1,5 год після досягнення заданої температури.

2) Стерилізація кип'ятінням протягом 30 хв вбиває вегетативні форми мікробів.

3) Стерилізацію насиченою парою під тиском проводять в парових стерилізаторах (автоклавах) (наприклад: тиск 0,5 атм., темп. 112°С). Цей метод є найбільш надійним і швидким методом стерилізації.

4) Стерилізація текучою парою проводиться в апараті Коха або в автоклаві при не загвинченій кришці і відкритому випускному крані. Стерилізація посуду та інструментів не тільки дозволяє збільшити точність дослідів, але і знижує ризик для здоров'я працівників.

ДР 2.2 Стерилізація обладнання

Очищення основних вузлів та поверхонь обладнання виконується за допомогою розчину миючих засобів. Ті частини обладнання, які мають контакт з препаратом, перед миттям відстібаються навченим персоналом і демонтується для подальшого очищення. Контроль за мікробіологічною чистотою здійснюється з певною регулярністю, що визначається відповідно до результатів кваліфікації обладнання.

ДР 2.3 Прибирання приміщень

Дезінфекція приміщень проводиться з використанням дезінфікуючих розчинів (наприклад, перекис водню концентрації 3%). Контроль мікробіологічної чистоти проводиться з певною встановленою періодичністю.

ДР 3. Підготовка технічної води

ДР 3.1 Фільтрація технічної води

Вода подається з джерела, наприклад, з трубопроводу або резервуару, до системи підготовки води. Далі вода проходить через фільтри, що призначені для видалення твердих частинок, які можуть бути присутні у воді, таких як пісок, грунт, іржа тощо. В залежності від вимог до якості води, також застосовуються додаткові процеси, такі як демінералізація, зворотний осмос, ультрафільтрація або дезінфекція.

ДР 3.2 Регулювання температури

Для отримання холодної технічної води, можуть бути використані холодильні системи або охолоджувальні пристрої для зниження температури води. У випадку гарячої технічної води, можуть бути використані системи нагріву для підігріву води до необхідної температури.

ДР 4. Підготовка повітря

ДР 4.1 Фільтрування повітря

Очищення та стерилізація повітря проводиться за допомогою високоефективного повітряного фільтра HEPA, призначеного для високоефективної очистки повітря з рівнем очистки понад 99%. Фільтри здатні затримувати пил, бруд, пилок, бактерії (0,2-2,0 мкм), віруси (0,02-0,3 мкм) та рідкий аерозоль (0,02-0,5 мкм). Вони також ефективно утримують підлоговий пил, що містить різноманітні мікроорганізми. Під час експлуатації фільтрів необхідне регулярне обслуговування та оновлення.

ДР 4.2 Стерилізація повітря

Ультрафіолет – сучасний метод знезараження повітря в приміщеннях. Ультрафіолетове випромінювання в діапазоні довжин хвиль 205-315 нм володіє бактерицидною дією, спричинюючи деструктивно-модифікуючі фотохімічні пошкодження ДНК клітинного ядра мікроорганізмів.

Ультрафіолетове бактерицидне опромінення повітряного середовища здійснюється за допомогою ультрафіолетового радіаційного обладнання, яке працює на основі пропускання електричного розряду через розріджений газ у герметичному корпусі. Випромінювальне обладнання - це бактерицидні лампи, опромінювачі і установки. Час опромінення – 40 хв.

ДР 5 Підготовка температурного режиму

На цьому етапі необхідною умовою є налагодження параметрів повітря, забезпечуючи його оптимальну вологість та температуру (20-25^{0}C). Відповідно для цього потрібно, щоб повітря постійно проходило через теплообмінник який залежно від необхідності або охолоджував, або нагрівавав його. Ресивер використовується для стабілізації потоку повітря, що компенсує коливання тиску, які виникають під час роботи компресійного обладнання, а зволоження повітря здійснюється через використання форсунок, які розпилюють воду.

Необхідно проводити щоденний моніторинг і коригування температурного режиму в лабораторії для забезпечення постійного контролю за функціонуванням всієї аналітичної системи.

ДР 6 Підготовка процесів перед вирощуванням кісток

ДР 6.1 Калібрування 3D-принтеру

Для стабільної роботи 3D-принтера та отримання якісних моделей-матриць сегментів майбутньої кістки (наприклад кортикального сегменту стегнової кістки, що взята за основу у виробництві) необхідно проводити калібрування пристрою перед кожним процесом друку. Завдяки спеціальному ПЗ, що має 3D-принтер, калібрування дозволяє усунути дефекти друку та забезпечити створення матриці сегменту кістки найкращої якості.

ДР 6.2 Перевірка отриманих КТ-знімків для формування 3D-моделі

Для того щоб відтворити пошкоджену кістку або певний сегмент, необхідно мати діагностичний знімок. За допомогою КТ-сканування пацієнт отримує максимально чітку та анатомічно правильну структуру кожного сегменту кістки. Початково виробництво буде сфокусоване на сегментарному

виробництві стегнової кістки. Зі знімками з діагностичного центру пацієнт звертається до нашого підприємства-лабораторії. Фахівці перевіряють отримані КТ-знімки, залишаючи (відсортовуючи) найкращі та конвертують їх.

ДР 6.3 Виділення клітин для їх подальшого використання

На даному етапі необхідно підготувати основу для відтворення кістки – це біологічний матеріал. Тут потрібен біоптат жирової тканини пацієнта

Забір біологічного матеріалу проводять під контролем лікаря тільки в медичному закладі. В лабораторію доставляється готовий матеріал.

ДР 6.3.1 Отримання суспензованої культури клітин

1) З отриманого біоптату жирової тканини пацієнта виділяється суспензована культура стовбурових клітин

Отриману клітинну масу (мезенхімальні стовбурові клітини) вирощують у середовищі, яке базується на Ігла, модифікованому Дюльбекко (DMEM) і доповненому 20% ембріональною сироваткою теляти (FBS) та 10 мкл/см³ антибіотиком-антимікотиком. Під час другого етапу культивування, нижня частина культурального посуду заповнюється клітинами на рівні 60–80%, далі поживне середовище видаляють і замінюють індукційним, в якому клітини вирощують протягом 2–3 тижнів. [13].

Заміну індукційного середовища проводять через кожні 3 доби. Процес диференціації клітин контролюють, визначаючи активність ендогенної лужної фосфатази у клітинах, що беруть участь у процесі остеогенезу.

ТП 1 Розробка 3D-CAD матриці сегменту кістки з КТ-знімків

На даному етапі, за допомогою спеціального ПЗ, конвертують отримані, перевірені (відсортовані) КТ-знімки в трьохвимірну модель та розробляють 3D-CAD модель матриці кортикального сегменту майбутньої кістки. Початково виробництво буде сфокусоване на сегментарному виробництві стегнової кістки. Далі з розвитком та вдосконаленням технології планується поступовий перехід до повного відтворення кістки.

В таблиці 4.1 зазначені параметри друкованої матриці побудованої з відсканованої моделі стегнової кістки. Модель побудована в середовищі

Solidworks. В додатку А зображено проекції сегменту та моделі матриці пористої структури, а в додатку Б схема сегментарного поділу з відтворюваною матрицею.

Таблиця 3.1. Параметри друкованої матриці відповідно до моделі

Діаметр матриці (сер. значення)	**Діаметр стінки (сер. значення)**	**Довжина сегменту (відповідно до досліджень [4])**
25 мм	6-8 мм	100 мм

ТП 2 Підготовка до 3D-друку матриці відтворюваного сегменту

На даному етапі готуються конічні насадки для принтера. І здійснюється перехід в наступні підпроцеси.

ТП 2.1 Підготовка матеріалу до друку сегменту кістки

На даному етапі беруться матеріали компанії Bauer`s у якості напівфабрикату порошка-композиту (гідроксиапатиту та колагену). Гідроксиапатит (HA) та колаген є одними з основних компонентів кісткової тканини. Гідроксиапатит забезпечує твердість та міцність кістки, а також пористість майбутньої матриці для того щоб такий каркас можна було наповнити стовбуровими клітинами. Колаген формує довгі волокна, які надають кістці міцність і жорсткість. Це важливо для того, щоб кістка могла витримувати механічні навантаження. Надрукована матриця має гнучкі та пружні властивості.

Для виготовлення каркасів, цей порошок зв’язується водними (часто кислими) зв’язуючими розчинами. Розведення лимонної кислоти (20-40% мас.) використовуються як базовий сполучний розчин для друку каркасів. Також додається плюроник F-127 (0,1 мас.%) для зменшення поверхневого натягу сполучного розчину [12]. Співвідношення полімеру до гідроксиапатиту 1:9.

ТП 2.2 Налаштування 3D-принтеру та створення G-коду

За допомогою спеціального ПЗ та конвертування у формат STL, підтримуваний 3D-принтером, завантажується створена 3D-модель матриці

сегменту відтворюваної кістки. Принтер має своє ПЗ, тобто створює собі G-код. Ключові інструкції (алгоритм) у цьому коді визначають різновиди рухів, що здійснюються в 3D-принтері. G-код слугує послідовними рядками інструкцій, за допомогою яких виконується друк.

ТП 3 Друк сегменту кістки

В якості матеріалу для друку слугує композит (гідроксиапатит + колаген), де відношення полімеру до гідроксиапатиту 1:9. Процес друку матриці сегменту кістки здійснюється за алгоритмом, що розглядався в минулому етапі. На виході отримується еластичний завдяки колагеновим волокнам та пористий остеогенний каркас або матриця сегменту кістки завдяки гідроксиапатиту.

ТП 4 Наповнення остеогенного каркасу кістки стовбуровими клітинами

Отриману культуру стовбурових клітин пацієнта поміщають в остеогенний каркас для подальшого поділу та росту. На даному етапі дуже важливо зробити все швидко, але якісно. Отримуємо «живу» остеогенну конструкцію.

ТП 5 Переміщення отриманої «живої» конструкції до біореактора

«Жива» конструкція переміщується в біореактор для подальшого росту та трансформації клітин. Підготовлений біореактор слугує імітацією умов організму людини.

ТП 6 Виробничий синтез в біореакторі

На даному етапі основними показниками, від яких залежить результат технологічного процесу є: температура, вологість, кислотність і склад поживних речовин. Показники мають бути правильними для того, щоб стовбурові клітини трансформувалися в клітини для росту кісток, які називаються остеобластами.

ТП 6.1 Трансформація стовбурових клітин в остеобласти

Мезенхімальні стовбурові клітини мають властивості диференціюватись у остеобласти.

Остеобласти представляють собою молоді клітини кісткової тканини з діаметром приблизно 15-20 мкм, які виробляють міжклітинну речовину, відому як матрикс. По мірі накопичення цієї речовини, остеобласти вбудовуються в неї і перетворюються у остеоцити. Остеобласти також виробляють колаген та глікозаміноглікани, які в подальшому виділяються у міжклітинний простір. Ці компоненти сприяють утворенню органічного матриксу кісткової тканини. Остеобласти відповідають за процес мінералізації міжклітинної речовини [9].

ТП 6.2 Колонізація каркасу остеобластами та реконструкція в готову кістку

Каркас, надрукований на 3D-принтері слугує обмежувачем росту для молодої кісткової тканини. Спираючись на досвід світових компаній та термін остеогенезу – до 3 тижнів. Матриця на основі гідроксиапатиту та колагену біодеградує. Готовий сегмент кістки виймається з біореактора.

Таким чином, на місці імплантату залишається мінеральний компонент та власні живі клітини пацієнта, тобто фактично звичайна кісткова тканина

ТП7. Контроль якості отриманої кістки в біореакторі

На даному етапі фахівцями лабораторії здійснюється контроль якості вихідного продукту з біореактора – відновленого сегменту стегнової кістки. Фахівці перевіряють молоду кістку, на анатомічну ідентичність. Головне завдання тут перевірити правильність трансформації «живої» конструкції в готову кістку в 3D-матриці.

Перевірена кістка, складається з власних клітин пацієнта, а тому готова для подальшої трансплантації [4-6].

ПВ 8 Пакування, маркування, видача готової продукції

ПВ 8.1 Пакування

Пакування здійснюється у спецупаковці як наприклад інші органи при трансплантації.

Часто трансплантати зберігають за методикою "потрійних пакетів". Орган, вже відмитий в консервуючому розчині, поміщають у стерильний

поліетиленовий пакет з консервантом. Далі вставляють в інший, який наповнений стерильною сніжною кашею (зазвичай це шуго), і обидва пакети поміщають у третій, який містить холодний фізіологічний розчин. Орган, збережений у цій системі "потрійних пакетів", можна транспортувати та зберігати у термоконтейнері або холодильнику при температурі 4-6°C [4-6].

ПВ 8.2. Маркування

Для спрощення подальшого процесу біосинтезу кісток зі першочерговим створенням 3D-матриці, спецупаковка даного препарату повинна мати маркування з відповідною інформацією, як то: повна назва відтворюваної кістки або сегменту, розмір пакування (об'єм, маса), дата виготовлення, спеціальні застереження (вказати за необхідності), термін придатності до трансплантації, умови зберігання, найменування та місцезнаходження виробника[4-6].

ПВ 8.3. Видача готової продукції

На даному етапі медичному центру, що лікує пацієнта видається готова продукція – молода анатомічна кістка або сегмент відтворюваної кістки, для подальшої трансплантації та приживання вже в організмі хворого.

ПВ 9 Переробка відходів

Матеріали та речовини, які можуть бути використані повторно, повинні бути відокремлені для подальшого збору та переробки відповідальними організаціями.

По мірі накопичення достатньої кількості відходів, особа, відповідальна за цей процес, організовує їх вивезення. [4-6].

ЗВ 10 Знешкодження відходів

Усі тверді відходи, пов'язані з хімічними та мікробіологічним сектором виробництва, збираються в процесі роботи в спеціальні ємності для відходів, що підлягають знешкодженню, та в подальшому направляються відповідальним персоналом у контейнери, які регулярно передаються профільній організації для знешкодження [4-6].

Висновки до розділу 3

Технологія виробництва 3D-матриці для відновлення кісткової тканини, описана вище базується на сучасних досягненнях розвитку технологій і є чітко структурованою. Всі стадії технологічного процесу виробництва вибудувані в чіткій ієрархії, дотримання яких є обов’язковим для забезпечення швидкого та якісного виготовлення продукції.

РОЗДІЛ 4. ПРОЄКТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА 3D-МАТРИЦІ З ВИКОРИСТАННЯМ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ДЛЯ ВІДНОВЛЕННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ

4.1. Обґрунтування компоновки приміщень та обладнання з розподілом за класами чистоти

Виробництво має 2-основні технологічні дільниці: моделювання та лабораторія, зокрема дільниці поділено на відділи:

1) Для моделювання: відділ обробки КТ-знімків, відділ 3D-CAD моделювання, відділ друку моделей 3D-матриць

2) Для лабораторії: відділ стерилізації інструментів та обладнання, відділ підготовки матеріалів до друку, відділ роботи з біологічним матеріалом та створенням «живої» конструкції, відділ біореакторного синтезу, відділ зберігання реактивів та відділ зберігання готового трансплантату

Для забезпечення вимог до чистоти приміщень, робочі зони розділені на відповідні класи чистоти, а також враховані технічні приміщення.

Через відділи лабораторної роботи з біоматеріалом та біореакторного синтезу протягнуто технічні коридори класу B, C та D, для підготовки персоналу та переходу до чистіших умов. Наприклад, для переходу в клас C використовується переодягальня класів D та C. Переходи у найчистіший клас відбуваються поступово, проходячи переодягальні-коридори або технічні приміщення всіх класів, тобто щоб потрапити у клас B з класу Д, необхідно пройти переодягальню класів D та C.

У відділі біореакторного синтезу розташовано біореактор (в якому показники імітують середовище організму людини) для вирощування молодої

готової кістки як трансплантат з урахуванням пропорцій компонентів ПС. Для даної дільниці було обрано клас чистоти B для забезпечення максимальної чистоти середовища заради уникнення ризику контамінації середовища. Персонал в приміщеннях переодягнутий у змінний хімічний одяг, тому саме для тут на вході проходять обробку рук. Дані відділи розташовані поруч щоб ефективно та якісно переходити на інші рівні технологічного процесу.

Клас чистоти B обрано для відділу лабораторної роботи з біоматеріалом та у відділі зберігання трансплантату, але для відділу лабораторної роботи з біоматеріалом загалом, цей відділ класу чистоти B з зонами класу A. Оскільки в даному відділі важливо дотримуватись всіх показників та температурного режиму. Дані відділи забезпечені лабораторним обладнанням для виділення необхідних клітин.

У дільницях моделювання, зокрема відділ обробки КТ-знімків, відділ 3D-CAD моделювання передбачено клас чистоти D, оскільки продукт цих відділів не потребує виключної чистоти та рекомендується здійснювати у приміщеннях класів частоти C і D або в приміщеннях, де не ведеться моніторинг рівня шкідливих часток, за умови відсутності відкритого контакту з навколишнім середовищем для запобігання забрудненню.

Дані відділи забезпечені ПК та спеціальним ПЗ для роботи з КТ-знімками, їх інтерпретацією, конвертуванням та моделюванням та подачею інструкцій на 3D-принтери.

Відділи друку моделей 3D-матриць та підготовки матеріалів до друку мають клас чистоти B. Ці відділи розроблені з метою забезпечення чітко визначеного рівня чистоти повітря у встановленому та функціональному стані. Тут знаходяться 3D-принтери та готовий композит з полімеру (колаген) та гідроксиапатиту.

4.2. Обґрунтування потоків сировини

Технологічний процес виробництва 3D-матриць з використанням стовбурових клітин для відновлення пошкоджених кісток або їх сегментів повинен бути стерильним з дотриманням чітко встановлених параметрів у 3 випадках: виділенням суспензованих культур стовбурових клітин з жирового біоптату пацієнта у лабораторному відділі, підготовкою матеріалу до друку у однойменному відділі та біореакторному синтезі. Тому спершу отримуються виділені суспензовані культури, далі йде підготовка композиту. Далі після того як матрицю майбутнього сегменту кістки надруковано, суспензована культура стовбурових клітин поміщається в нього і вся «жива» конструкція через стерильні технічні коридори переміщується до біореактора де проходять всі основні біологічні трансформації і перетворення конструкції в кістку. Після цього готова молода кістка переміщується до відділу зберігання готового трансплантату.

4.3. Обґрунтування потоків персоналу

Персонал через технічні коридори та приміщення приходять на свої робочі місця орієнтовно з інших допоміжних цехів. Це не стосується спеціалістів дільниці моделювання. Вони працюють автономно у своїй дільниці. В технічному коридорі, який пролягає через всі приміщення, працівники повинні носити відповідний для класу D одяг.

Персонал може вийти з технічного коридору до зони лабораторних процесів відповідно до свого призначення. Між дільницею моделювання та відділом приготування біочорнил, знаходиться відділ стерилізації інструменту та обладнання.

До відділу лабораторної роботи та створенням «живої» конструкції і до відділу біореакторного синтезу персонал потрапляє через переодягальні коридори із різним рівнем чистоти. Тут проводять дезінфекцію рук, одягають стерилізований спецодяг, а також гумові/латексні рукавички. Персонал

заходить у зоні класу B, а саме біореакторного синтезу тільки для наповнення роздрукованої матриці культурою стовбурових клітин, переміщенням конструкції в біореактор та первинним його налаштуванням та у крайньому випадку, якщо помічено не дотримання спеціально температурного режиму та показників у біореакторі.

Висновки до розділу 4

Раціональне розташування приміщень та вибір обладнання для виробництва 3D-матриці із використанням стовбурових клітин та готового трансплантату вважається ключовим аспектом розробки цієї технології. Розподіл дільниць на певні функціональні зони за класами чистоти від B до D забезпечує оптимальний потік роботи та запобігає контамінації та забрудненню. Обґрунтування правильної компоновки приміщень, а також використання відповідного обладнання гарантує ефективну роботу виробництва та забезпечує технологічні етапи задля отримання якісного продукту.

РОЗДІЛ 5. ОЦІНКА ЯКОСТІ ПРОДУКЦІЇ ТА ОСНОВНИХ РИЗИКІВ ВИРОБНИЦТВА

5.1. Контроль якості кінцевого продукту

Найважливішою вимогою і на стадії моделювання, і на стадії підготовки композиту та саме друку, і на стадії виділення суспензованих культур стовбурових клітин є сталість складу готового продукту (майбутньої кістки або її сегменту). Оскільки біологічний матеріал - складний об'єкт і проводиться в імітованій біологічній системі (біореактор), клітини виходять не однакові, а з варіаціями [12].

Метою розробки процесу виробництва та очищення є досягнення стабільності та незмінності характеристик продукту, так щоб варіації не мали впливу на його якість та не відхилялися від теоретичних параметрів між різними трансплантатами. Для досягнення цієї мети здійснюється валідація процесу виробництва, що включає експериментальне підтвердження забезпечення отримання продукту із відповідними характеристиками. [7].

5.2. Характеристика сировини, персоналу, матеріалів та напівпродуктів

Усі компоненти, задіяні в процесі виробництва, є потенційними факторами, що впливають на якість кінцевого продукту. Відповідно, вони підлягають попередньому контролю для забезпечення їх відповідності заявленим стандартам і вимогам якості. Зокрема, це особливо стосується сировини та напівфабрикатів, використовуваних у виробництві, більшість з яких є стандартизованими і піддаються легкому контролю (таблиця 5.2.1.).

Таблиця 5.2.1 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Найменування	**Категорія і номер НТД, згідно якої перевіряються показники якості**	**Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення**	**Примітка**
1.Основна сировина			
1.1 Композит (гідроксиапатит + колаген)	ДСТУ 4388	Здатність до біорозкладу біосумісність, еластичність, пористість структури. Відсутність антигенних властивостей	Основний матеріал для друку 3D-матриці сегменту кістки
1.2. Суспензована культура стовбурових клітин жирових (мезенхімальні)	ДСТУ 12.0.230:2008	Зовнішній вигляд - Прозора рідина жовтувато-червоного кольору. Аутентичність - формування чіткого кільця преципітації тривалістю не більше 7 хв. в розведенні 1:1000 Прозорість (од. оптичн. щільності) - не більше 0,48 pH від 6,7 до 7,8 Високодиффернційованість Мультипотентність	Основний матеріал для наповнення матриці кістки і подальшого трансформування в молоду кістку
2. Допоміжна сировина			
2.1 Плюроник F-127	ДСТУ ISO 9001:2015	Зовнішній вигляд: Концентрація: 0,1%	Порошок-біореагент, придатний для культивування клітин, а також для зниження поверхневого натягу зв'язуючого розчину
2.2. Суміш лимонної кислоти	ДСТУ 908:2006	Зовнішній вигляд Концентрація: 20-40%	Базовий зв'язуючий розчин для матриць
2.3 Натрій гідрокарбонат	ДСТУ 2156-76	Зовнішній вигляд, колір, запах, масова частка близько 99,5% н/м	Компонент поживних речовин біореактора, стабілізатор pH
2.4 Ембріональна теляча сироватка	ТУ 9385-008-13175637-2008	Зовнішній вигляд, прозора рідина відтіком від жовтого до червонуватогокольору. Прозорість (од. оптич. щільності) - не більше 0,45 pH від 7,0 до 8,0 Білок, від 20,0 до 50,0 (г/л)	Для приготування буферних розчинів. Компонент живильного середовища.

Продовження таблиці 5.2.1.

2.5. Гідрофосфат калію	ДСТУ 2493-75	Масова частка калію фосфорнокислого двузаміщеного 3-водного: ≤99 % Нерозчинені у воді речовини: ≤0,005% Азот ≤0,001%	Для приготування буферних розчинів. Компонент живильного середовища.
2.6 Водню пероксид	ДСТУ 7356-2013	Характеристика, кількісне визначення, упаковка, маркування, термін придатності	Для приготування дезинфікуючих розчинів
2.7. Засіб миючий синтетичний	ДСТУ 2207.1-93	Усі показники відповідно ДСТУ	Для приготування миючих розчинів
2.8. Розчин спиртовий 70%	ДСТУ 7457-2013	Концентрація спирту - 70%	Масова частка спирту, 70%
3.Персонал			
3.1 Персонал	ДСТУ ISO 9001:2015	Кадри повинні мати достатній обсяг знань, практичних навичок і відповідну професійну підготовку.	Підтримка, здійснення всих виробничих процесів
3.2. Технологічний одяг	ДСТУ EN 14605:2017	Відповідність нормам, стерильність та захист	Захист продукту та персоналу.
4. Матеріали			
4.1 Етикетки на спецупаковку (поліетиленові пакети) з готовим трансплантатом	ДСТУ ISO 780-2001	Маркування з відповідною інформацією, як то: повна назва відтворюваної кістки, розмір пакування (об’єм, маса), дата виготовлення, спеціальні застереження (вказати за необхідності), термін придатності до трансплантації, умови зберігання, найменування та місцезнаходження виробника.	Для маркування готової продукції
4.2 Рукавички технічні гумові тип А та/або В	ДСТУ EN 420-2007	Герметичність, зовнішній вигляд	Засіб індивідуального захисту при саніобробці
4.3 Повітряні фільтри	ДСТУ 3493-96	Прохідність повітря фільтру та швидкість повітря через його прохідний переріз	Для забезпечення стерильності повітря

5.3. Контроль чистоти повітря, приміщень, обладнання та персоналу.

Важливо виконувати контроль чистоти виробничих умов, зокрема повітря, приміщень, обладнання та персоналу, щоб забезпечити належні умови виробництва та отримати стерильний та якісний продукт.

5.3.1. Повітря

Для забезпечення стерильного процесу у приміщеннях з розподілом за різними класами чистоти необхідно використовувати чисте повітря. Якість поданого повітря є ключовою і має велике значення, тому цей показник необхідно ретельно перевіряти. Регулярний мікробіологічний контроль чистоти повітря здійснюється за допомогою пристроїв для взяття зразків проб і є обов'язковим.

Процес фільтрації та стерилізації повітря здійснюється за допомогою високоефективного повітряного фільтра технології HEPA із ступенем очищення понад 99%. Такі фільтри здатні утримувати пил, бруд, бактерії розміром (0,2-2,0 мкм), віруси (0,02-0,3 мкм), тощо. Вони також ефективно утримують підлоговий пил, який може містити різноманітні мікроорганізми. Регулярне обслуговування та оновлення фільтрів є обов'язковими для забезпечення їх ефективної експлуатації.

5.3.2. Приміщення

Відповідно до технологічної схеми та плану виробничого приміщення, у зонах класу В відбуваються основні процеси, які вимагають повної стерильності, наприклад, виділення суспензованих культур стовбурових клітин пацієнта та остеоцитів з кісткового матеріалу тварин.

Регулярні відхилення від стандартів можуть вказувати на несумісність системи опалення, вентиляції та кондиціонування повітря (HVAC), проблеми з обладнанням чи системою транспортування, або порушення правил

експлуатації. Моніторинг зони класу В також повинен відповідати стандартам, щодо кількості часток та мікроорганізмів у повітрі, забезпечуючи оптимальний хід процесів задля зниження загального рівня забруднення.

5.3.3. Обладнання

Обладнання та лабораторні прилади та інструменти, які прямо контактують з продуктами виробництва, повинні регулярно піддаватися санітарній обробці для уникнення контамінації або перенесення матеріалів, що можуть вплинути на якість проміжної продукції. Оскільки матеріали обладнання можуть бути чутливими до певних хімічних речовин чи високих температур, важливим аспектом є розробка чітких графіків та структурованих процедур, включаючи опис матеріалів та методів, розведення миючих засобів, також інструкції для проведення обслуговування обладнання. Важливим етапом підготовки обладнання та комунікацій є перевірка його герметичності та ефективності при стерилізації. Також важливо проводити інспекцію обладнання на наявність забруднень безпосередньо перед використанням та мінімізувати час між завершенням процесу та очищенням обладнання.

Калібрування обладнання відповідно до стандартів є важливим етапом забезпечення ефективності обладнання, що задіяні у всіх необхідних процесах.

5.3.4. Персонал

Персонал, активно взаємодіючи з усіма етапами виробництва, відіграє ключову роль у забезпеченні чистоти та безпеки кінцевого продукту від можливих забруднень. Для досягнення цієї мети та забезпечення безпеки працівників встановлюються конкретні правила та норми. Серед них можуть бути вимоги до кваліфікації та практичного досвіду, додержання гігієнічних стандартів та носіння відповідного одягу. Підготовка персоналу, яка враховує

їх можливу роль у забрудненні, включає проходження навчань та систематичний контроль їх знань щодо особливостей технологічного процесу.

Основою підготовки персоналу є навчання методам забезпечення біобезпеки під час роботи. Це включає навчання правильному миттю рук, використанню відповідного одягу та рукавичок, а також коректному застосуванню дезінфікуючих засобів та обладнання.

5.4. Оцінка виробничих ризиків технологічного процесу

Можливість створювати дуже складні форми або геометрії є однією з ключових переваг 3D-друку. Але для виготовлення будь-якої деталі методом 3D-друку необхідна наявність цифрової 3D-моделі або файлу CAD. [2].

В більшості випадків управління ризиками зводиться до ідентифікації критичних елементів виробничого процесу та детального контролю цих елементів. Це можна здійснити за допомогою методів системного аналізу ризиків та критичних контрольних точок (HACCP), який забезпечує систематичний підхід до виявлення, оцінювання та управління небезпеками.

Під час аналізу системи якості важливо зосередитися на вивченні мікробіологічного ризику на кожному етапі життєвого циклу методики та взаємодії з 3D-принтером. Важливим є проведення валідації та систематичного контролю на кожній стадії виробництва, яка відбувається в асептичних умовах. В процесах, де основною вимогою є стерильність, існує висока ймовірність помилок, які можуть призвести до випуску неякісного продукту. Будь-яка ручна чи механізована дія з використанням заздалегідь виділеного біологічного матеріалу або під час підготовки матеріалу для друку та використання первинних пакувальних матеріалів перед або під час асептичного компонування має потенційний ризик контамінації і, отже, вимагає уважного аналізу і контролю.

Для гарантування стерильності фінального виробу на виробництві слід

використовувати системи та обладнання, які успішно пройшли процедуру кваліфікації, а персонал належним чином підготовлений до експлуатації. Таке обладнання повинно працювати у контрольованому навколишньому середовищі, з повністю задокументованими технологічними процесами. [7].

Оцінка ризиків починається з аналізу технологічного процесу виготовлення 3D-матриці із використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини.

На основі аналізу схеми виробництва, можна виділити наступні ККТ:

- Підготовка виробництва, сировини та матеріалів, що включає санітарну підготовку виробництва, підготовку обладнання та комунікацій, підготовку стерильного повітря (ДР1-4) – ці стадії є підготовчими та основними, тому неякісна початкова підготовка може призвести до появи мікробіологічного/хімічного забруднення (очікуваний ризик R_1);
- Підготовка поживного середовища та процесів перед вирощуванням кісток (ДР5) – на цих стадіях можуть виникнути ризики забруднення мікробіологічного та хімічного характеру, а також відхилення в здійсненні технологічного процесу (очікуваний ризик R_2);
- Виробнича розробка 3D-CAD матриці сегменту кістки з КТ-знімків (ТП1)– ризик виникнення відхилення в проведенні технологічного процесу через некоректно побудовану модель від якої залежить подальша сумісність виробу з тілом пацієнта (очікуваний ризик R_3);
- Підготовка до 3D-біодруку матриці відтвореної кістки включно з підрозділом налаштування принтеру і створенням G-коду (ТП2.2) – на цих стадіях може виникнути ризик відхилення в проведенні технологічного процесу та вихід з ладу основного технологічного етапу при створенні каркасу майбутньої кістки (очікуваний ризик R_4);
- Підготовка матеріалу до друку матриці (необхідно враховувати, що матеріали мають композитну складову (гідроксиапатит та колаген) (ТП2.1) – ризик виникнення хімічної контамінації та відхилення в здійсненні технологічного процесу (очікуваний ризик R_5);

- Друк сегменту кістки (ТП3)– ризик виникнення відхилення в здійсненні технологічного процесу (очікуваний ризик R_6).
- На етапах наповнення остеогенного каркасу кістки стовбуровими клітинами та переміщенням у біореактор (ТП4-5) – ризик виникнення мікробіологічної та хімічної контамінації та відхилення в здійсненні технологічного процесу (очікуваний ризик R_7).
- Виробничий синтез в біореакторі з підстадіями (ТП6) – ризик виникнення мікробіологічної та хімічної контамінації та відхилення в здійсненні технологічного процесу внаслідок недотримання оптимальних показників для росту та трансформації стовбурових клітин в кісткову тканину (очікуваний ризик R_8).

Важливо відзначити, що ризик визначається як ймовірність виникнення шкоди та ступінь її тяжкості. Оцінка ризику полягає в порівнянні визначеного ризику з встановленими критеріями для визначення його припустимості. Таким чином, рівень ризику визначається впливом двох факторів: ймовірності виникнення та ступеня тяжкості можливої шкоди, яку може спричинити цей ризик.

З урахуванням рекомендацій з нормативних документів, унікальних властивостей виробу та на основі досвіду аналогічних виробництв, розумно вжити якісний підхід до проведення аналізу ризиків [4-6].

Отже, ми обираємо підхід, використовуючи матрицю N-M для опису вірогідності та тяжкості ризику у кожній контрольній точці якості, яку ми раніше визначили. Усі можливі рівні тяжкості, викликані ризиком, поділяються на три категорії: значний (значна зворотна шкода або втрата ефективності препарату), помірний (незначна зворотна шкода), незначний (без шкоди). Щодо якісної ймовірності виникнення шкоди, ми також розподілимо її на три рівні: високий (можливо, часто трапляється), середній (можливо, але не часто трапляється), низький (малоймовірно, рідко трапляється).

Проаналізувавши ККТ, було виявлено три найбільш критичні процеси, а саме: підготовка процесів перед вирощуванням кісток з підпроцесами (ДР 6),

підготовка матеріалу до друку кістки (ТП2.1), і виробничий синтез в біореакторі з підпроцесами (ТП 6) (табл. 1). Також, до критичних стадій виробництва можемо віднести: підготовку виробництва, сировини та матеріалів (ДР 1), розробку 3D-CAD моделі матриці сегменту кістки (ТП1) та друком сегменту кістки (ТП3) (таблиця 5.4.1).

Таблиця 5.4.1 – Матриця ризиків технологічного процесу виробництва 3D-матриці із застосуванням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини.

		Якісні рівні тяжкості		
		Незначний	Помірний	Значний
Якісні рівні вірогідності	Високий			R_2, R_5, R_8
	Середній		R_5, R_6 , R_7	
	Низький		R_1 , R_3 , R_4	

На основі раніше отриманих даних виявлено, що для зменшення вірогідності прояву ризику необхідно вжити ряд запобіжних заходів, основними з яких є ідентифікація та контроль параметрів технологічного процесу, що можуть призвести до виникнення ризиків. Таким чином, пропонується впровадити на кожній з етапів виробництва ряд контрольних точок, зазначених у таблиці 5.4.2.

Вказано перелік ключових контрольних точок для найбільш критичних етапів виробничого процесу ДР 6 та ТП 1-6), визначених вище.

Таблиця 5.4.2 – Перелік контрольних точок технологічного процесу виробництва 3D-матриці із застосуванням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини.

Стадія та підстадія технологічного процесу	**Контрольна точка**	**Параметр для контр-ня**	**Нормативне значення параметру**	**Методи контролю і/або прилад**	**Періодичність контролю**
ДР 6 Підготовка процесів перед вирощуванням кісток **ДР 6.1** Калібрування 3D-принтеру **ДР 6.2** Перевірка отриманих КТ-знімків для формування моделі 3D-матриці **ДР 6.3** Виділення клітин для їх подальшого використання **ДР 6.3.1** Отримання суспензованої культури клітин	Кт 6.1.1	Стерильність	Відсутність КУО	ДФУ 2.0, 2.6.1	Кожну операцію
	Кт 6.1.2	Швидкість друку	7 мм/с в діапазоні 3–20 мм/с	Датчик швидкості	Періодично
	Кт 6.1.3	КТ-знімок пошкодженої кістки	Відсутність дефектів КТ-сканування	Спеціальне ПЗ	Кожну операцію
	Кт 6.1.4	Температура	36-37 ˚С	Візуально, термометр	Кожна операція
	Кт 6.1.5	pH	6,7-7,1	Візуально, датчик pH	Кожна операція
	Кт 6.1.6	Утворення тілець включення	90-95 %	Фазово контрастна мікроскопія	Кожна операція
ТП 1 Розробка 3D-CAD моделі матриці кістки з КТ-знімків **ТП 2** Підготовка до 3D-біодруку матриці відтвореної кістки	Кт 7.1.1	Отримана конвертована модель з КТ-скану	Відсутність дефектів 3D-моделі	Спеціальне ПЗ CAD моделювання	Кожна операція
	Кт 8.1.1	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично

Продовження таблиці 5.4.2

ТП 2.1 Підготовка матеріалу друку сегменту кістки	Кт 8.1.2	Частота оберту мішалки	1 c^{-1}	Візуально, тахометр	Кожна операція
	Кт 8.1.3	Час змішування	До 1 год	Візуально, годинник	Кожна операція
	Кт 8.1.4	Співвідношення концентрацій Полімеру (колагену) до гідроксиапатиту	1:9	Візуально, хім. співвідношення, ваги	Кожна операція
ТП 3 Друк сегменту кістки	Кт 9.1.1	Температура	До 60°С	Термометр, візуально на екрані	Кожна операція
	Кт 9.1.2	Тиск	3 – 300 кПа	Манометр, візуально на екрані	Кожна операція
	Кт 9.1.3	Температури платформи	50÷80°С	Термометр, візуально на екрані	Кожна операція
ТП 4 Наповнення остеогенного каркасу кістки стовбуровими клітинами	Кт 10.1.1	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Кожна операція
	Кт 10.1.2	Час	30 хв	Візуально, годинник	Кожна операція
	Кт 10.1.3	Температура	36,6÷37°С	Візуально, термометр	Кожна операція
ТП 5 Переміщення отриманої «живої» конструкції до біореактора	Кт 11.1.1	Час	30 хв	Візуально, годинник	Кожна операція
ТП 6 Виробничий синтез в біореакторі	Кт 12.1.1	pH	6,7-7,1	Візуально, датчик pH	Кожна операція
	Кт 12.1.2	Вміст кисню в культуральній рідині	25-55%	Візуально на панелі біореактора киснемір	Кожна операція

Продовження таблиці 5.4.2

ТП 6.1 Трансформація стовбурових клітин в остеобласти	Кт 12.1.3	Температура	36-37 ˚С	Візуально, термометр	Кожна операція
	Кт 12.1.4	Час	24-48 год	Візуально на панелі біореактора, годинник	Кожна операція
ТП 6.2 Колонізація каркасу остеобластами та реконструкція в готову кістку	Кт 12.1.5	Час	14-21 день	Візуально на панелі біореактора, годинник	Кожна операція

Висновки до розділу 5:

Даний розділ описує положення системи контролю якості та оцінює можливі ризики на виробництві.

Можна зробити висновок, що система контролю якості відіграє ключову роль у забезпеченні високої якості та безпеки продукції. Регулярні перевірки на кожному етапі виробництва, від прийому сировини до остаточного контролю готового трансплантату на базі 3D-матриці, гарантують відповідність всіх вимог і стандартів якості. Результати системи контролю якості не лише забезпечують безпеку та ефективність технології виготовлення продукту.

Оцінка ризиків виробництва готового трансплантату на базі 3D-матриці є важливою складовою для забезпечення безпеки працівників та якості продукції. Виявлення потенційних ризиків, таких як можливість забруднення, некоректне використання обладнання чи порушення послідовності етапів виробництва, є важливою частиною оцінки якості. Аналіз можливих наслідків і ймовірності виникнення цих ризиків допомагає прийняти відповідні заходи для їх запобігання або мінімізації впливу.

РОЗДІЛ 6. СТАРТАП-ПРОЄКТ

6.1. Резюме стартап-проєкту

Тема: впровадження у виробництво 3D-матриці для відновлення кісткової тканини з використанням стовбурових клітин

Мета стартапу: розробити технологію та план виробництва 3D-матриці для відновлення кісткової тканини з використанням стовбурових клітин в Україні.

Напрямки застосування: регенеративна медицина.

Основне завдання, яке може вирішити стартап у разі його успішної реалізації: забезпечення пацієнтів безболісними трансплантатами кісткової тканини на основі 3D-матриці з використанням стовбурових клітин для мінімум 30% операцій з трансплантацій в Україні, що мають кісткові дефекти, зокрема для операцій з відновлення функцій стегнової кістки.

Цінність:

1. Інноваційність: використання 3D-матриць та стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини є інноваційним підходом, який може змінити традиційні методи у лікуванні травм та захворювань кісток.

2. Медична необхідність: проблеми з кістковою тканиною, такі як травми, хвороби або вроджені вади, поширені в сучасному суспільстві. Розробка ефективного методу відновлення кісткової тканини значною мірою полегшить больові відчуття пацієнтів.

3. Підвищення швидкості реабілітації: дана технологія дозволяє швидше та ефективніше відновлювати кісткову тканину, це може сприяти зменшенню тривалості госпіталізації та покращенню якості життя пацієнтів.

4. Персоналізований підхід: технологія виробництва 3D-матриці дозволить створювати персоналізовані рішення, які враховують анатомічні особливості пацієнтів, що підвищує ефективність лікування.

Суб'єкт замовлення: Заклади охорони здоров'я (приватні та державні)

Місце товару у міжнародній класифікації товарів: Клас 10: Хірургічні, медичні, стоматологічні та ветеринарні апарати та інструменти; протези кінцівок, очей і зубів; ортопедичні вироби; матеріали для накладання швів; терапевтичні та допоміжні пристрої, пристосовані для людей з обмеженими можливостями; апарати для масажу; апарати, пристрої та вироби для догляду за немовлятами; апарати, пристрої та вироби для сексуальної активності [41].

Наявність аналогів або прототипів ідеї: в Україні наразі існує українсько-американський стартап Kwambio (проєкт A.D.A.M.) [57], який досліджує таку технологію створення 3D-матриці для відновлення кісткової тканини, а також існують декілька закордонних компаній і відповідно науковці, які досліджують такі технології. До таких компаній слід віднести EpiBone [59], Ossiform [58], Organovo [60].

У таблиці 6.1. приведені додаткові характеристики стартап-проекту.

Таблиця 6.1. Додаткові характеристики стартап-проекту [39]

№ п/п	Характеристика	Значення
1.	КВЕД підприємства	КВЕД-2010: Клас 32.50. Виробництво медичних і стоматологічних інструментів і матеріалів [40]
2.	Очікувана потужність	Мале підприємство
3.	Масштаб виробництва	Під замовлення
4.	Рівень спеціалізації	Вузькопрофільне
5.	Чисельність персоналу	Мала (20 осіб)
6.	Бізнес модель стартапу	B2C (business to customer)
7.	Ключові фактори успіху стартапу	Статистичне збільшення пацієнтів з хворобами, травмами або вадами кісток
8.	Споживачі	Заклади охорони здоров'я (приватні та державні)
9.	Джерела фінансування	Внутрішні (реалізація товару)

Продовження таблиці 6.1.

№ п/п	Характеристика	Значення
10.	Потенційні постачальники складових компонентів розробки	Професійний магазин Bauer's Dental Store, Хімлабореактив, Aniwaa, тощо
11.	Спосіб щодо реалізації продукції	Тендерна закупівля (торги через електронну систему Prozorro), спеціалізована закупівля приватними клініками з укладанням договору

6.2. Ринковий аналіз реалізації проекту

У таблиці 6.2.1. наведено порівняльний аналіз показників: технології, де визначаються показники, що мають а) гірші значення (W, слабкі); б) аналогічні (N, нейтральні) значення; в) кращі значення (S, сильні) [39].

Таблиця 6.2.1 Порівняльна характеристика сильних, слабких та нейтральних характеристик стартап-проекту

№ п/п	Характеристика	Пропозиції конкурентів					S	W	N
		Власний стартап-проект	A.D.A.M	EpiBone	Organovo	Ossiform			
1.	Рейтинг серед клієнтів	-	-	+	+	+		+	
2.	Контроль якості	-	+	+	+	+	+		
3.	Забезпеченість ресурсами	+	+	+	+	+			+
4.	Налагодженість виробництва	-	-	+	+	+		+	
5.	Ефективність	+	-	+	+	+	+		
6.	Рентабельність виробництва	+	+	+	+	+	+		

Аналізуючи наведену порівняльну характеристику вище, можна зробити висновок щодо ефективності, рентабельності проекту та його забезпеченості необхідними ресурсами для виробництва.

До слабких сторін слід віднести рейтинг серед клієнтів, контроль якості та налагодженість виробництва. Слід зазначити, що контроль якості буде забезпечуватись центрами сертифікації медичної продукції, медичними закладами в сфері охорони здоров'я, в які буде адресуватись продукт, відповідно налагодженість виробництва та рейтинг серед клієнтів буде покращуватись з кожною одиницею виробленого та імплантованого продукту.

Наступними у таблиці 7.2.2 та таблиці 7.2.3 розглядається огляд факторів можливостей та загроз (opportunities and threats) [39].

Таблиця 6.2.2 Фактори можливостей

№ п/п	Фактор	Можливість	Можлива реакція
1.	Незначна кількість конкурентів	В Україна існує одна стартап-компанія, що займається розробкою схожої технології	Притік інвестицій від фізичних та юридичних осіб України та зарубіжних інвесторів
2.	Інновації	Виробництво персоналізованих 3D-матриць з використанням стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини є відносно новим напрямком не лише в Україні, а й у світі	Удосконалення технології виробництва та результатів досліджень ефективності різних матеріалів з яких створені 3D-матриці для відновлення кісткової тканини
3.	Вихід на міжнародний ринок	Налагодження виробництва в Україні знизить вартість такої технології, та відповідно готового трансплантату	Швидке розповсюдження продукції на території України, що сприятиме виходу на міжнародний ринок

Таблиця 6.2.3 Фактори загроз

№ п/п	Фактор	Загроза	Можлива реакція компанії
1.	Розробка подібної продукції компаніями-конкурентами	Розвиток галузі та невисока конкуренція на ринку призведе до розробки подібної технології та продукції	Збільшення обсягів виробництва, зниження вартості одиниці товару, технологічне вдосконалення виробництва та підвищення рейтингу компанії.
2.	Висока вартість продукції	Персоналізований характер виробництва трансплантатів на базі 3D-матриці робить дану продукцію дороговартісною	Залучення Міністерства охорони здоров'я для часткового покриття витрат на продукцію та додаткових інвесторів, зокрема грантів

Продовження таблиці 6.2.3

№ п/п	Фактор	Загроза	Можлива реакція компанії
3.	Складність виходу на світовий ринок	Низькі оцінки серед пацієнтів у інших країнах та суворі нормативи стосовно якості та виробництва	Зниження собівартості продукції через розширення обсягів виробництва
4.	Контроль та управління з боку держави	Значна кількість адміністративних процедур та ускладнений бюрократичний апарат.	Залучення фахівців із юриспруденції та економіки, які спеціалізуються на питаннях трансплантації.
5.	Ускладненість моніторингу виконання стандартів якості на всіх стадіях виробництва продукції.	Погіршення якості продукції внаслідок порушень технологічного процесу	Ретельний вибір кваліфікованого персоналу, встановлення чітких правил щодо дотримання технології виробництва

Проведемо також SWOT-аналіз стартап-проекту (таблиця 6.2.4)

Таблиця 6.2.4 SWOT-аналіз продукції стартап-проекту

Сильні сторони • Унікальність • Ефективність використовуваних матеріалів та технології • Збільшення попиту • Висока біосумісність завдяки використанню біоматеріалу пацієнта	**Слабкі сторони** • Наявний конкурент в Україні • Наявні закордонні конкуренти • Високі вимоги до контролю якості виробництва • Необхідність постійного дослідження поведінки матеріалів при друці матриці для подальшого остеосинтезу
Можливості • Невисока конкуренція в Україні • Вихід на міжнародний ринок з конкурентною ціною в порівнянні з аналогами інших країн • Прогрес у технологічному вдосконаленні методики виробництва	**Загрози** • Можливе збільшення конкурентів на ринку України через розвиток технології в часі • Вихід закордонних компаній на ринок України

Далі здійснюється оцінка технічної реалізації концепції проекту з метою проведення технологічного аудиту стартапу.

Технології для реалізації ідеї: виробництво 3D-матриці з використання стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини.

Наявність та доступність технологій: наявні та доступні.

Отже можна зробити висновок, що за даних умов технічну реалізацію стартапу можна вважати цілком можливою.

6.3. Розрахунок фінансових показників стартапу

Розрахунки щодо очікуваної вартості та ціни виготовлення одного трансплантату на основі 3D-матриці. Вартість порахована з розрахунком на сегментарне відновлення кісткової тканини (на прикладі 1 сегменту стегнової кістки). З подальшим розвитком технології планується розширення до повномасштабного друку кісток.

Розрахунок ціни за різними методами ціноутворення. Виходячи з того, що площа приміщення складає – 100 м^2. Для розрахунку витратним методом необхідно знати очікувану собівартість товару.

Очікувана собівартість товару - це сума всіх витрат, пов'язаних з виробництвом одиниці товару. Цей розрахунок включає в себе витрати на сировину, працю, енергію, амортизацію обладнання та інші витрати [39].

$$\text{Очікувана собівартість} = \frac{B1+B2+B3+B4}{\text{Кількість вироблених одиниць}}, \quad (7.3.1)\ [39]$$

де B1 - вартість сировини, матеріалів, ресурсів;

B2 - вартість праці;

B3 - амортизація обладнання;

B4 - інші витрати.

Необхідно розрахувати показники B1-B4. В таблицях 6.3.1., 6.3.2. та 6.3.3. нижче представлено розрахунки забезпеченості проекту основними (B3), оборотними (B1) засобами та трудовими ресурсами (B2).

Таблиця 6.3.1. Забезпеченість проекту основними засобами

Місце ОЗ у технологічному процесі	**Назва ОЗ та кількість одиниць**	**Повна початкова вартість ОЗ, грн**	**Плановий період експлуатації ОЗ**	**Очікуваний постачальник**	**Джерело фінансування придбання**
Культивування клітин на різних етапах виробничого процесу	Інкубатор та аксесуари (фільтри) (2 шт)	103 760 *Ам = 20 752*	5 років	Хімлаборреактив	Власні заощадження, позика, гранти, інвестиції, програми підтримки малих бізнесів
Підготовка матеріалів до 3D-друку	Вортекс-міксер (3 шт)	24 510 *Ам = 4902*	5 років	Starlab	
Виробничий синтез в біореакторі	Біореактор (1 шт)	628 769 *Ам = 62 877*	10 років	Unilab	
Скринінг та контроль якості продукції	Мікроскоп (інвертований та світловий)2 шт)	105 554 *Ам = 10 555*	10 років	Медігран	
Виділення культури стовбурових клітин	Центрифуга (1 шт)	293 535 *Ам = 29 354*	10 років	Медаппаратура	
Стерилізація інструменту та обладнання	Сухожарова шафа (1 шт)	26 300 *Ам = 5 260*	5 років	ПРОФМЕД МАРКЕТ	
Фасування та пакування продукції	Фасувально-пакувальний апарат (1 шт)	124 000 *Ам 12 400*	10 років	PACKHOUSE MACHINERY	
Маркування продукції	Маркувальний апарат (1 шт)	63000 *Ам 6300*	10 років	PACKHOUSE MACHINERY	
Стерилізація інструменту та обладнання	Автоклав (1 шт)	74800 *Ам 7480*	10 років	Spectrolab	
Друк 3D-матриці	3D-принтер Dr. INVIVO 4D (2 шт.)	3 414 177 *Ам = 341418*	10 років	Aniwaa	
Обробка КТ знімків, підготовка CAD-моделі кістки та 3D-моделі матриці	ПК + монітор та ПЗ (6 шт.)	873 126 *Ам = 174 625*	5 років	Alfa-server	
Всього: 5 731 531 грн					
Амортизація: 675 923 грн					

Таблиця 6.3.2. Забезпеченість проекту оборотними фондами

Група ОбФ	Назва	Норма витрат на рік	Ціна, грн/од	Очікуваний постачальник	Джерело фінансування
Сировина і матеріали	Сировина				
	Антибіотик-антимікотик	10 шт	192 грн (500 мкг)	Хімлаборреактив	Гранти, інвестиції, програми підтримки малих бізнесів
	Гідрофосфат калію	10 шт	5 771 грн (ціна за 1 кг)	Хімлаборреактив	
	Ембріональна теляча сироватка	15 шт	1800 грн (фл – 50 мл)	ТОВ "Укрмедіасн аб"	
	Натрій гідрокарбонат	15 шт	4313 (ціна за 1 кг)	Хімлаборреактив	
	Pluronic F-127	5 шт	8 573 грн (ціна за 1 кг)	Sigma-Aldrich	
	Лимонна кислота	10 шт	24 грн (ціна за 1 кг)	Хімлаборреактив	
	Натуральний гідроксиапатит з колагеном SSC-0.25-1-1.0	15 шт	6896 грн	Bauer's Medical Group	
	Загалом: 297 870 грн				
	Матеріали				
	Скляні флакони	2000 шт	26 грн	Labormarket Labstar, MICROmed	Гранти, інвестиції
	Дозатор піпетковий	50 шт	3 600 грн		
	Чашки Петрі	100 шт	72 грн		
	Колби	200 шт	558 грн		
	Пробірки вакуумні	500 шт.	230 грн.		
	Загалом: 465 800 грн				
Електроенергія, водопостачання і водовідведення	Електроенергія	124,4 МВт-год	181,6 (грн за 1 МВт·год)	ПРАТ "ДТЕК Київські електромережі" ПАТ АК "Київ-водоканал"	Гранти, прибуток, одержаний від попередньої діяльності
	Водопостачання та водовідведення	3038 куб. м	30,384 (грн. за 1 м³)		
	Загалом: 114 898 грн				
Всього: 878 568 грн.					

Таблиця 6.3.3. Забезпеченість проекту трудовими ресурсами

Категорія кадрів	**Назва посади**	**Чисельність за списком на посаді**	**Кваліфікаційні вимоги**	**Плановий рівень Заробітної плати, грн**	**Джерело фінансування ФОП**
Робочі основні	Біотехнолог	1	Висока	30000	Прибуток, одержаний від попередньої діяльності
	Інженер по конверсії (Conversion Engineer)	3	Висока	28000	
	Інженер-проектувальник (Design Engineer)	3	Висока	28000	
	Оператор 3D-друку	2	Висока	20000	
Робочі допоміжні	Електрик	1	Середня	10000	
	Прибиральник	1	Низька	7000	
Спеціалісти	Аналітик-біохімік	2	Висока	18000	
	Спеціаліст з контролю якості	1	Висока	18000	
Молодший персонал обслуговування	Асистент з виробництва	2	Висока	12000	
	Оператор з технічного обслуговування	1	Висока	10000	
Керівники	Директор виробництва	1	Висока	40000	
	Директор відділу маркетингу	1	Висока	35000	
	Фінансовий директор	1	Висока	35000	
Всього	Осіб на посаді	Плановані видатки на оплату праці, грн		Плановані видатки на оплату праці, грн за рік (робочі дні)	
	20	453 000		5 353 636	

На основі розрахунків можна вирахувати собівартість продукту:

$$С = ((878\,568 + 5\,353\,636 + 675\,923))/1500 = 4605 \text{ грн.}$$

Ціна на товар розраховується за витратним методом [39]:

Ц = С + фіксований відсоток прибутку (від собівартості) (грн/од), (7.3.2) [39]

де Ц – прогнозована ціна товару, грн/од,

С – очікувана собівартість товару, грн/од.

Таким чином: Ц = 4605 + 0,9*4605 = 8749,5 ≈ 8750 грн/од.

Для будь-якого бізнесу необхідно знати час виходу в нуль.

Постійні витрати (ПВ) = 5 353 636+675 923= 6 029 559 (грн)

Змінні витрати (ЗВ)= 878 568 (грн)

1) Точка беззбитковості в грошовому представленні (еквіваленті) [39]

Математичний вираз для розрахунку покаже, який мінімальний обсяг виручки потрібен для покриття всіх витрат. Прибуток буде нульовим.

Виручка дорівнює добутку ціни на обсяг [39]: В = Ц * Об = 8750 * 1500 = 13 125 000 (грн.)

$ТБЗ_{гр}$ = (В*ПВ/(В-ЗВ)) = (13 125 000*6 029 559/(13 125 000– 878 568)) = 6 462 124 (грн)

2) Визначення точки беззбитковості через коефіцієнт маржинального доходу (Кмд) [39]:

Різницю між виручкою та змінними витратами становить маржинальний дохід (МД) [39]

МД = 13 125 000 – 878 568 = 12 246 432 (грн)

$К_{мд}$ = МД / В = 12 246 432 / 13 125 000 = 0,933061

$ТБЗ_{гр}$ = ПВ / $К_{мд}$ = 6 029 559 / 0,933061 = 6 462 124 (грн)

Підсумкове значення в обох формулах буде однаковим. Наші розрахунки підтверджують це.

3) Точка беззбитковості в представленні (еквіваленті) [39]

Математичний вираз дозволить визначити мінімальний обсяг продажів, необхідний для покриття всіх витрат виробництва при нульовому рівні прибутку. При відомому значенні $ТБЗ_{нат}$. Можна розрахувати $ТБЗ_{гр}$.: $ТБЗ_{гр}$. = $ТБЗ_{нат}$. * Ц, (7.3.3) [39]

Тоді $ТБЗ_{нат}$ = $ТБЗ_{гр}$ / Ц = 6 462 124 / 8750 = 738,5 ≈ 739 (шт.)

Отже, кожна наступна продана одиниця товару, що перевищить цей критичний обсяг, буде приносити прибуток підприємству.

Винесемо інші важливі показники та розрахунки у таблицю 6.3.4. техніко-економічних показників

Таблиця 6.3.4. Техніко-економічні показники проекту

Показники	**Одиниця виміру**	**Умовне позначення, формула розрахунку**
1. Річний обсяг реалізації ідеї, технології, методики	Од.	Об = 1500
2. Середньорічна чисельність персоналу за списком	Осіб	Чсп=20
4.Середньорічний виробіток робітника	Од/особу	Св.р.= Об/Чсп=1500/20=75
5. Капіталовкладення у проект. Всього грн.	грн.	К = ОФ+ОбК= = 5 731 531 + 878 568 = = 6 610 099
6. Повна собівартість :	грн. грн./од	ПС=А+ОбК = = 675 923 + 878 568 = 1 554 491 С=4605
7. Відносний прибуток	грн/од	П= Ц—С= 8750 - 4605 = 4145
8. Рентабельність	%	Р= (П/С) ×100=4145 / 4605 ×100=90 %
9. Період повернення капіталовкладень	років	Тпов= К/(П*Об) =6 610 099/(4145*1500)=1,06
10. Фондовіддача виробничих фондів	грн./грн	ФВ=(Ц×В)/ОФ= = (8750*1500)/ 5 731 531 = 2,28
11. Фондоємкість	грн/грн	ФЄ = 1/ФВ=1/2,28 = 0,43
12. Продуктивність праці	грн/особу	ПП= В/(Чсп *Т) = 1500/(20*1)= 75
13. Коефіцієнт економічної ефективності		Е= П*В/К = 4145*1500/6 610 099= 0,94

6.4. Розробка ринкової стратегії стартап проєкту

У таблиці 6.4.1. зазначено фактори в залежності від цільової групи споживачів та їх характеристика.

Таблиця 6.4.1 Вибір цільової групи потенційних споживачів

№ з/п	**Фактор**	**Характеристика**
1.	Профіль цільової групи	Приватний, державний
2.	Готовність пацієнтів до застосування продукту	Існує попит
3.	Попит у межах цільової групи	Середній
4.	Ступінь конкуренції	Відносно-низький
5.	Простота входу	Середня

Необхідним для стартап-проекту є розробка стратегії.

1) **Альтернатива розвитку:** фокус на розвиток сильних аспектів, підвищення рівня ефективності та технологічності

2) **Стратегія охоплення ринку**: фокус на медичних установах, приватних клініках;

3) **Ключові позиції спроможності до конкуренції:** інноваційність технології виготовлення 3D-матриці для відновлення кісткової тканини з використанням стовбурових клітин, їх висока ефективність та конкурентоспроможна цінова політика порівняно із закордонними аналогами.

4) **Базова стратегія розвитку:** підвищення обсягів виробництва.

У випадку збільшення кількості конкурентів на внутрішньому ринку, базова стратегія поведінки буде включати такі ключові характеристики:

1) Дана продукція є передовою в Україні, оскільки технологія завжди вдосконалюється.

2) Збільшення обсягів виробництва може призвести до зниження вартості 3D-матриць та готових трансплантатів, зробивши їх більш доступними, ніж у конкурентів, і таким чином привернувши, увагу цільової аудиторії до власних продуктів.

3) Виробництво є інноваційним і планує розвивати власні технологічні рішення, враховуючи технологічний прогрес. Важливо відзначити, що в майбутніх стратегічних планах входить повне відтворення будь-якої кістки.

4) Компанія буде вести конкуренцію, виступаючи з позиції домінування.

Висновки до розділу 6

Цей розділ призначений для впровадження стартап-проєкту і фокусується на виробництві бізнес-стратегії компанії 3D-матриці сегменту кістки для її відновлення з використанням стовбурових клітин для лікування травм, зокрема діафізу стегнової кістки. В даному розділі розглядаються економічні, ринкові, фінансові та конкурентні можливості та характеристики підприємства. Розрахунок очікуваної собівартості та ціни виробництва одного готового трансплантату показав, що продукт може бути доступнішим ніж аналоги інших країн, та традиційних методів лікування, залишаючись при цьому доступним для пацієнтів.

На підставі проведеного аналізу можна прийти до висновку, що дану стартап-ідею теоретично можна успішно впровадити у виробництво 3D-матриці сегменту кістки, хоча необхідне подальше більш глибоке вивчення всіх витрат. Рентабельність проєкту здійснюється на рівні 90%.

ВИСНОВКИ

Отже, огляд літератури вказав на широкий спектр технологій 3D-друку, зокрема ті, які можна використовувати для відтворення кісткової тканини. Досліджено різноманітні матеріали для створення біосумісної 3D-матриці, враховуючи їх властивості та здатність сприяти регенерації кісткової тканини.

Дослідження показало, що композитні матеріали на основі гідроксиапатиту та природного полімеру, колагену в значній мірі є основними будівельними блоками для відтворюваної матриці сегменту кістки. Така матриця здатна утворювати пористу структуру для росту живих клітин та є достатньо еластичною. Співвідношення колагену до гідроксиапатиту в композиті 1:9.

Обрана технологія виробництва ґрунтується на її здатності створювати завдяки CAD-моделюванню біосумісні анатомічно правильні 3D-матриці з необхідними характеристиками для відновлення кісткової тканини.

На основі наукових досліджень, під час етапу розробки технологічних процесів спроектовано схему сегментів стегнової кістки для подальшого відтворення. Розроблено та описано модель матриці та її параметри відповідно до анатомічно правильної моделі кістки. Відтворюваний сегмент має довжину 100 мм, діаметр змінний в залежності від товщини стінки – 6-8 мм, і в середньому становить 25 мм.

Визначено оптимальну компоновку приміщення для забезпечення ефективного потоку сировини та матеріалів на різних етапах виробництва. Розроблений план потоку сировини та матеріалів, спрямований на забезпечення стійкої якості та ефективності.

Запропоновані методики оцінки якості готової продукції та рекомендації стосовно контрольних точок на різних етапах виробництва для моніторингу та забезпечення високої якості. Наведено перелік сировини та матеріалів, що

піддаються безпосередньому та постійному контролю.

Основні суттєві ризики включають процеси під час яких може виникнути ризик мікробіологічної або хімічної контамінації, зокрема на етапах роботи з біоматеріалом пацієнта, а також процесів що супроводжують біореакторний синтез. Відповідно ці ризики виробничого процесу можуть впливати на якість та продуктивність. Розроблена матриця контрольних точок для систематичного моніторингу ризиків та прийняття вчасних заходів.

Світовий досвід налічує перспективні стартап-компанії, що досліджують дану суміжні технології, зокрема EpiBone, Ossiform, Organovo. В Україні існує лише один американо-український стартап A.D.A.M, але зараз виробництво практично не відбувається, через складну фінансову ситуацію, а тому не може забезпечувати потреби пацієнтів.

Розробка бізнес-плану для стартап-проекту включає фінансові прогнози, стратегії розвитку для успішної реалізації проекту, враховуючи конкурентне середовище та потенційних клієнтів. Рентабельність проєкту становить 90%, що свідчить про теоретично можливе успішне впровадження у виробництво даної технології виготовлення 3D-матриці сегменту кістки, хоча необхідне подальше більш глибоке вивчення всіх витрат.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. An overview of extracellular matrix-based bioinks for 3D bioprinting [Electronic resource] / Haonan Wang [et al.] // Frontiers in bioengineering and biotechnology. – 2022. – Vol. 10. – Mode of access: https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.905438 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

2. 3D printing method for bone tissue engineering scaffold [Electronic resource] / Qiliang Zhang [et al.] // Medicine in novel technology and devices. – 2023. – P. 100205. – Mode of access: https://doi.org/10.1016/j.medntd.2022.100205 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

3. Шерегій А. А. Нові методи лікування діафізарних переломів [Електронний ресурс] / А. А. Шерегій // Науковий вісник ужгородського університету. Сер. : Медицина. – 2010. – № 39. – С. 238–241. – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/UNUMED_2010_39_54. – Назва з екрана.

4. Solan S. Estimation of total length of femur from its fragments in south indian population [Electronic resource] / Shweta Solan // Journal of clinical and diagnostic research. – 2013. – Mode of access: https://doi.org/10.7860/jcdr/2013/6275.3465 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

5. Hampton L. Femoral shaft fractures [Electronic resource] / Lucinda Hampton. – [S. l.], 2022. – Mode of access: https://www.physio-pedia.com/index.php?title=Femoral_Shaft_Fractures&oldid=322900 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

6. 3D-технології дозволять вирощувати кістки поза тілом [Електронний ресурс] // 3ddevice.com.ua. – Режим доступу: https://3ddevice.com.ua/ru/blog/news-novye-3d-printery/3d-pechat-kosti-vne-tela/. – Назва з екрана.

7. Технології друку кісток на 3D-принтері [Електронний ресурс] // unitynews.in.ua. – Режим доступу: https://unitynews.in.ua/tehnologii/1037-tehnologiji-druku-kistok-na-3d-printeri.html. – Назва з екрана.

8. Fabrication of novel Si-doped hydroxyapatite/gelatine scaffolds by rapid prototyping for drug delivery and bone regeneration [Electronic resource] / F. J. Martínez-Vázquez [et al.] // Acta biomaterialia. – 2015. – Vol. 15. – P. 200–209. – Mode of access: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.12.021 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

9. Low temperature additive manufacturing of three dimensional scaffolds for bone-tissue engineering applications: processing related challenges and property assessment [Electronic resource] / Alok Kumar [et al.] // Materials science and engineering: r: reports. – 2016. – Vol. 103. – P. 1–39. – Mode of access: https://doi.org/10.1016/j.mser.2016.01.001 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

10. Placone J. K. Recent advances in extrusion-based 3D printing for biomedical applications [Electronic resource] / Jesse K. Placone, Adam J. Engler // Advanced healthcare materials. – 2017. – Vol. 7, no. 8. – P. 1701161. – Mode of access: https://doi.org/10.1002/adhm.201701161 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

11. Advances in 3D printing for tissue engineering [Electronic resource] / Angelika Zaszczyńska [et al.] // Materials. – 2021. – Vol. 14, no. 12. – P. 3149. – Mode of access: https://doi.org/10.3390/ma14123149 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

12. 3D printing of hydroxyapatite/chitosan and collagen scaffolds for bone tissue engineering [Electronic resource] / Wang Kai [et al.] // Frontiers in bioengineering and biotechnology. – 2016. – Vol. 4. – Mode of access: https://doi.org/10.3389/conf.fbioe.2016.01.01286 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

13. Мазуркевич А.Й. Розділ 7. Внутрішні незаразні хвороби та клінічна біохімія. Остеогенна та адипогенна диференціація мезенхімальних

стовбурових клітин [Електронний ресурс] / Мазуркевич А.Й., Ковпак В.В., Харкевич Ю.О. // Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна. – 2019. – Режим доступу: http://jvm.kharkov.ua/sbornik/100/7_40.pdf. – Назва з екрана.

14. EpiBone pioneers 3D printed animal bone scaffolding for human bone regrowth [Electronic resource] // www.3ders.org. – Mode of access: https://www.3ders.org/articles/20160208-epibone-pioneers-3d-printed-animal-bone-scaffolding-for-human-bone-regrowth.html. – Title from screen.

15. Трансплантація в Україні: як змінилась галузь за останні 4 роки? [Електронний ресурс] // https://moz.gov.ua/. – Режим доступу: https://moz.gov.ua/article/news/transplantacija-v-ukraini-jak-zminilas-galuz-za-ostanni-4-roki. – Назва з екрана.

16. Bone tissue engineering via growth factor delivery: from scaffolds to complex matrices [Electronic resource] / Tinke-Marie De Witte [et al.] // Regenerative biomaterials. – 2018. – Vol. 5, no. 4. – P. 197–211. – Mode of access: https://doi.org/10.1093/rb/rby013 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

17. Surface-modified functionalized polycaprolactone scaffolds for bone repair: in vitroandin vivoexperiments [Electronic resource] / Jonas Jensen [et al.] // Journal of biomedical materials research part A. – 2013. – Vol. 102, no. 9. – P. 2993–3003. – Mode of access: https://doi.org/10.1002/jbm.a.34970 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

18. 3D artificial bones for bone repair prepared by computed tomography-guided fused deposition modeling for bone repair [Electronic resource] / Ning Xu [et al.] // ACS applied materials & interfaces. – 2014. – Vol. 6, no. 17. – P. 14952–14963. – Mode of access: https://doi.org/10.1021/am502716t (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

19. Three-dimensionally printed polyetherketoneketone scaffolds with mesenchymal stem cells for the reconstruction of critical-sized mandibular defects [Electronic resource] / Michael G. Roskies [et al.] // The laryngoscope. – 2017. –

Vol. 127, no. 11. – P. E392–E398. – Mode of access: https://doi.org/10.1002/lary.26781 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
20. Training for skull base surgery with a colored temporal bone model created by three-dimensional printing technology [Electronic resource] / Masahiko Wanibuchi [et al.] // World neurosurgery. – 2016. – Vol. 91. – P. 66–72. – Mode of access: https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.03.084 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
21. Characterization of mechanical and biological properties of 3-D scaffolds reinforced with zinc oxide for bone tissue engineering [Electronic resource] / Pei Feng [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, no. 1. – P. e87755. – Mode of access: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087755 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
22. Long-term biocompatibility and osseointegration of electron beam melted, free-form–fabricated solid and porous titanium alloy: experimental studies in sheep [Electronic resource] / A. Palmquist [et al.] // Journal of biomaterials applications. – 2013. – Vol. 27, no. 8. – P. 1003–1016. – Mode of access: https://doi.org/10.1177/0731684411431857 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
23. Effect of layer thickness and printing orientation on mechanical properties and dimensional accuracy of 3D printed porous samples for bone tissue engineering [Electronic resource] / Arghavan Farzadi [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, no. 9. – P. e108252. – Mode of access: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108252 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
24. 3D printed anatomical nerve regeneration pathways [Electronic resource] / Blake N. Johnson [et al.] // Advanced functional materials. – 2015. – Vol. 25, no. 39. – P. 6205–6217. – Mode of access: https://doi.org/10.1002/adfm.201501760 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
25. Ozbolat I. T. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting [Electronic resource] / Ibrahim T. Ozbolat, Monika Hospodiuk // Biomaterials. – 2016. – Vol. 76. – P. 321–343. – Mode of access:

https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.10.076 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
26. Lee M. Recent advances in 3D printing of tissue engineering scaffolds [Electronic resource] / Min Lee, Benjamin M. Wu // Computer-Aided tissue engineering. – Totowa, NJ, 2012. – P. 257–267. – Mode of access: https://doi.org/10.1007/978-1-61779-764-4_15 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
27. Porous ceramic bone scaffolds for vascularized bone tissue regeneration [Electronic resource] / Julia Will [et al.] // Journal of materials science: materials in medicine. – 2008. – Vol. 19, no. 8. – P. 2781–2790. – Mode of access: https://doi.org/10.1007/s10856-007-3346-5 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
28. Das S. Metallic materials for 3D printing [Electronic resource] / Suman Das, David L. Bourell, S. S. Babu // MRS bulletin. – 2016. – Vol. 41, no. 10. – P. 729–741. – Mode of access: https://doi.org/10.1557/mrs.2016.217 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
29. Surface immobilization of biphasic calcium phosphate nanoparticles on 3D printed poly(caprolactone) scaffolds enhances osteogenesis and bone tissue regeneration [Electronic resource] / Kyu-Sik Shim [et al.] // Journal of industrial and engineering chemistry. – 2017. – Vol. 55. – P. 101–109. – Mode of access: https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.06.033 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
30. Osteogenic effect of controlled released rhBMP-2 in 3D printed porous hydroxyapatite scaffold [Electronic resource] / Hai Wang [et al.] // Colloids and surfaces B: biointerfaces. – 2016. – Vol. 141. – P. 491–498. – Mode of access: https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.02.007 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
31. 3D printing of a lithium-calcium-silicate crystal bioscaffold with dual bioactivities for osteochondral interface reconstruction [Electronic resource] / Lei Chen [et al.] // Biomaterials. – 2019. – Vol. 196. – P. 138–150. – Mode of access:

https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.04.005 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
32. Nano-biphasic calcium phosphate/polyvinyl alcohol composites with enhanced bioactivity for bone repair via low-temperature three-dimensional printing and loading with platelet-rich fibrin [Electronic resource] / Yue Song [et al.] // International journal of nanomedicine. – 2018. – Volume 13. – P. 505–523. – Mode of access: https://doi.org/10.2147/ijn.s152105 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
33. Development and characterisation of a collagen nano-hydroxyapatite composite scaffold for bone tissue engineering [Electronic resource] / Gráinne M. Cunniffe [et al.] // Journal of materials science: materials in medicine. – 2009. – Vol. 21, no. 8. – P. 2293–2298. – Mode of access: https://doi.org/10.1007/s10856-009-3964-1 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
34. Biomimetic fabrication of a three-level hierarchical calcium phosphate/collagen/hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering [Electronic resource] / Changchun Zhou [et al.] // Biofabrication. – 2014. – Vol. 6, no. 3. – P. 035013. – Mode of access: https://doi.org/10.1088/1758-5082/6/3/035013 (date of access: 09.01.2024). – Title from screen.
35. Design of biomimetic and bioactive cold plasma-modified nanostructured scaffolds for enhanced osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells [Electronic resource] / Mian Wang [et al.] // Tissue engineering part A. – 2014. – Vol. 20, no. 5-6. – P. 1060–1071. – Mode of access: https://doi.org/10.1089/ten.tea.2013.0235 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
36. A three-dimensional osteochondral composite scaffold for articular cartilage repair [Electronic resource] / Jill K. Sherwood [et al.] // Biomaterials. – 2002. – Vol. 23, no. 24. – P. 4739–4751. – Mode of access: https://doi.org/10.1016/s0142-9612(02)00223-5 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.
37. Processing of polycaprolactone porous structure for scaffold development [Electronic resource] / B. Y. Tay [et al.] // Journal of materials processing

technology. – 2007. – Vol. 182, no. 1-3. – P. 117–121. – Mode of access: https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2006.07.016 (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

38. Clinical application of a custom-made bioresorbable raw particulate hydroxyapatite/poly-l-lactide mesh tray for mandibular reconstruction [Electronic resource] / Akira Matsuo [et al.] // Odontology. – 2010. – Vol. 98, no. 1. – P. 85–88. – Mode of access: https://doi.org/10.1007/s10266-009-0111-x (date of access: 08.01.2024). – Title from screen.

39. Розроблення стартап-проекту [Електронний ресурс]: Методичні рекомендації до виконання розділу магістерських дисертацій для студентів інженерних спеціальностей / За заг. ред. О.А. Гавриша. – Київ: НТУУ «КПІ», 2016. – 28 с. – Режим доступу: https://ela.kpi.ua/bitstream/123456789/35763/1/startap_proekt_MV.pdf – Назва з екрана.

40. Сервіс для визначення кодів видів економічної діяльності. КВЕД-2010: Клас 32.50 [Електронний ресурс] // https://kved.ukrstat.gov.ua. – Режим доступу: https://kved.ukrstat.gov.ua/KVED2010/32/KVED10_32_50.html. – Назва з екрана.

41. Міжнародна класифікація товарів і послуг для реєстрації знаків [Електронний ресурс] // https://nice.nipo.gov.ua. – Режим доступу: https://nice.nipo.gov.ua/class/headers – Назва з екрана.

42. Portfolio company EpiBone [Electronic resource] // https://emvcapital.com. – Mode of access: https://emvcapital.com/portfolio/epibone/. – Title from screen.

43. Про затвердження Технічного регламенту щодо медичних виробів [Електронний ресурс] : Постанова Каб. Міністрів України від 02.10.2013 р. №753: станом на 30 листоп. 2022 р. – Режим доступу: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/753-2013-п#Text (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.

44. Медичні вироби. Система управління якістю. Вимоги до регулювання (EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT) : ДСТУ EN ISO 13485:2018 –

Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=82417 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
45. Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 1. Оцінювання і випробування в рамках процесу управління ризиками (EN ISO 10993-1:2020, IDT; ISO 10993-1:2018, IDT) [Електронний ресурс] : ДСТУ EN ISO 10993-1:2022. – Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=99539 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
46. Вироби медичні. Інформація, яку надає виробник (EN 1041:2008+A1:2013, IDT) [Електронний ресурс]: ДСТУ EN 1041:2015. – Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=89507 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
47. Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині [Електронний ресурс]: Закон України від 17.05.2018 р. № 2427-VIII : станом на 7 січ. 2022 р. – Режим доступу: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2427-19#Text (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
48. Про затвердження Порядку перевезення анатомічних матеріалів людини в межах України, ввезення таких матеріалів на митну територію України та вивезення їх за межі митної території України [Електронний ресурс]: Постанова Каб. Міністрів України від 05.08.2020 р. № 720: станом на 23 жовт. 2021 р. – Режим доступу: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/720-2020-п#Text (дата звернення: 09.01.2024). – Назва з екрана.
49. Система розроблення та поставлення продукції на виробництво. Правила виконання дослідно-конструкторських робіт. Загальні положення [Електронний ресурс] ДСТУ 3974-2000 – Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=67207 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
50. Вироби медичні. Настанови щодо управління ризиком (EN ISO 14971:2012, IDT; ISO 14971:2007, IDT) [Електронний ресурс] ДСТУ EN ISO 14971:2015 – Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=78979 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.

51. Керування ризиком. Методи загального оцінювання ризику (IEC/ISO 31010:2009, IDT) [Електронний ресурс] ДСТУ IEC/ISO 31010:2013 – Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=66723 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
52. Чисті приміщення та пов`язані з ними контрольовані середовища. Частина 1. Класифікація чистоти повітря (ISO 14644-1:1999, IDT) [Електронний ресурс] ДСТУ ISO 14644-1:2009 – Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=26060 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
53. Символи графічні для маркування медичних виробів (EN 980:2003, IDT) [Електронний ресурс] ДСТУ EN 980:2007 – Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=69774 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
54. Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації [Електронний ресурс]: Настанова МОЗУ 42-3.7:2013 – Режим доступу: https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0398282-13#Text (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
55. Біотехнологія. Лабораторії, що виконують дослідження, розроблення та аналізування. Настанови щодо діяльності біотехнологічних лабораторій (EN 12741:1999, IDT) [Електронний ресурс] ДСТУ EN 12741:2019 – Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=84135 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
56. Медичні вироби. Система управління якістю. Вимоги до регулювання (EN ISO 13485:2016, IDT; ISO 13485:2016, IDT) [Електронний ресурс] ДСТУ EN ISO 13485:2018 – Режим доступу: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=82417 (дата звернення: 08.01.2024). – Назва з екрана.
57. A.D.A.M. - new standards of regenerative medicine [Electronic resource] // adambioprinting.com. – Mode of access: https://adambioprinting.com/technology. – Title from screen.

58. We print bone [Electronic resource] // ossiform.com /. – Mode of access: https://ossiform.com/. – Title from screen.
59. Grow bones from your own cells [Electronic resource] // epibone.com //. – Mode of access: https://www.epibone.com/. – Title from screen.
60. Pioneering 3d human tissues for drug discovery [Electronic resource] // organovo.com //. – Mode of access: https://organovo.com/. – Title from screen.

ДОДАТОК А

В середовищі CAD-розробки, Solidworks було побудовано модель сегменту стегнової кістки та її матрицю рисунок 1. Матриця має порожнисту структуру відповідно до хімічних властивостей гідроксиапатиту. Для еластичності і міцності додано полімер – колаген.

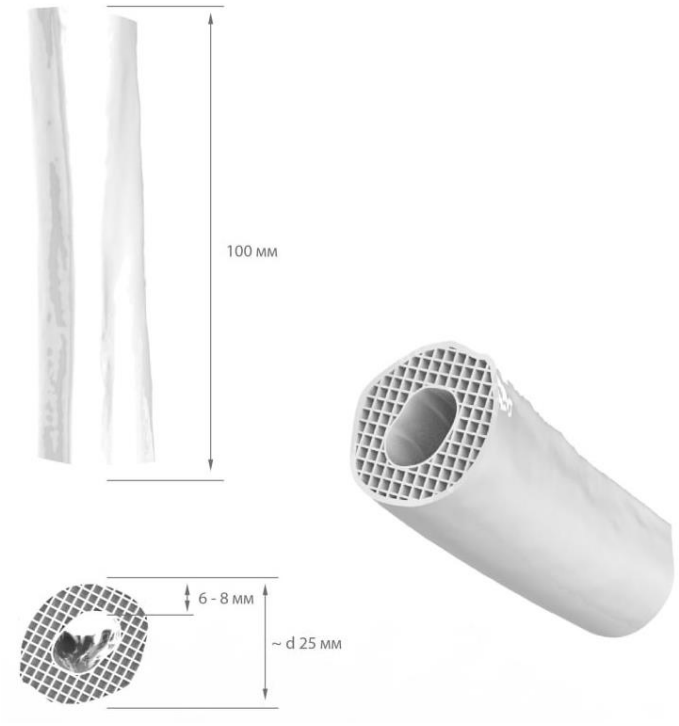

Рисунок 1 – Параметри та зовнішній вигляд 3D-моделі відтворюваного сегменту зліва вгорі, модель матриці в 2-х проекціях зліва внизу та справа.

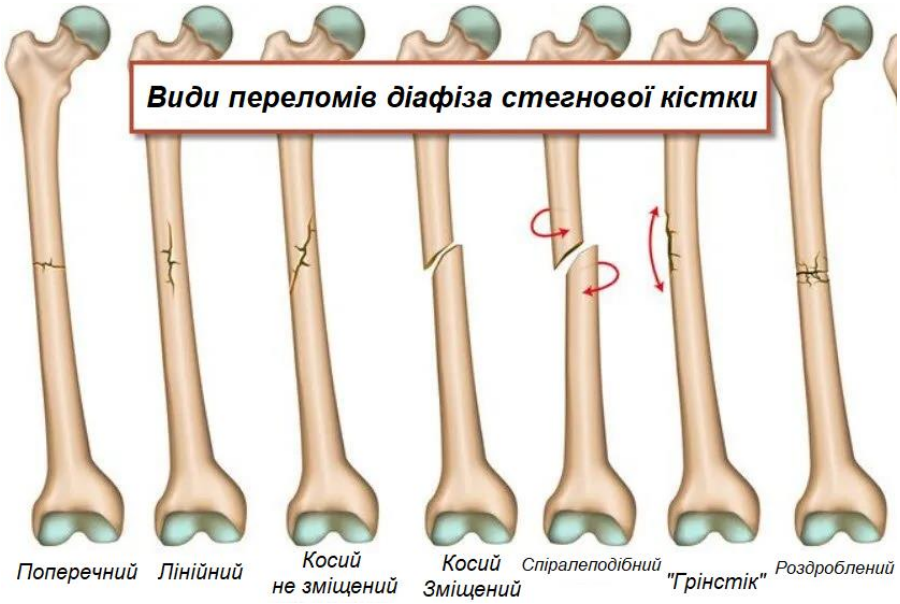

Рисунок 2. – Види переломів діафіза стегнової кістки [5]

ДОДАТОК Б

Відомо, що середня довжина стегнової кістки становить від 41-48 см. На основі досліджень науковців [4, 5] розроблено схему моделювання стегнової кістки. Середня довжина сегменту 3 – 10 см.

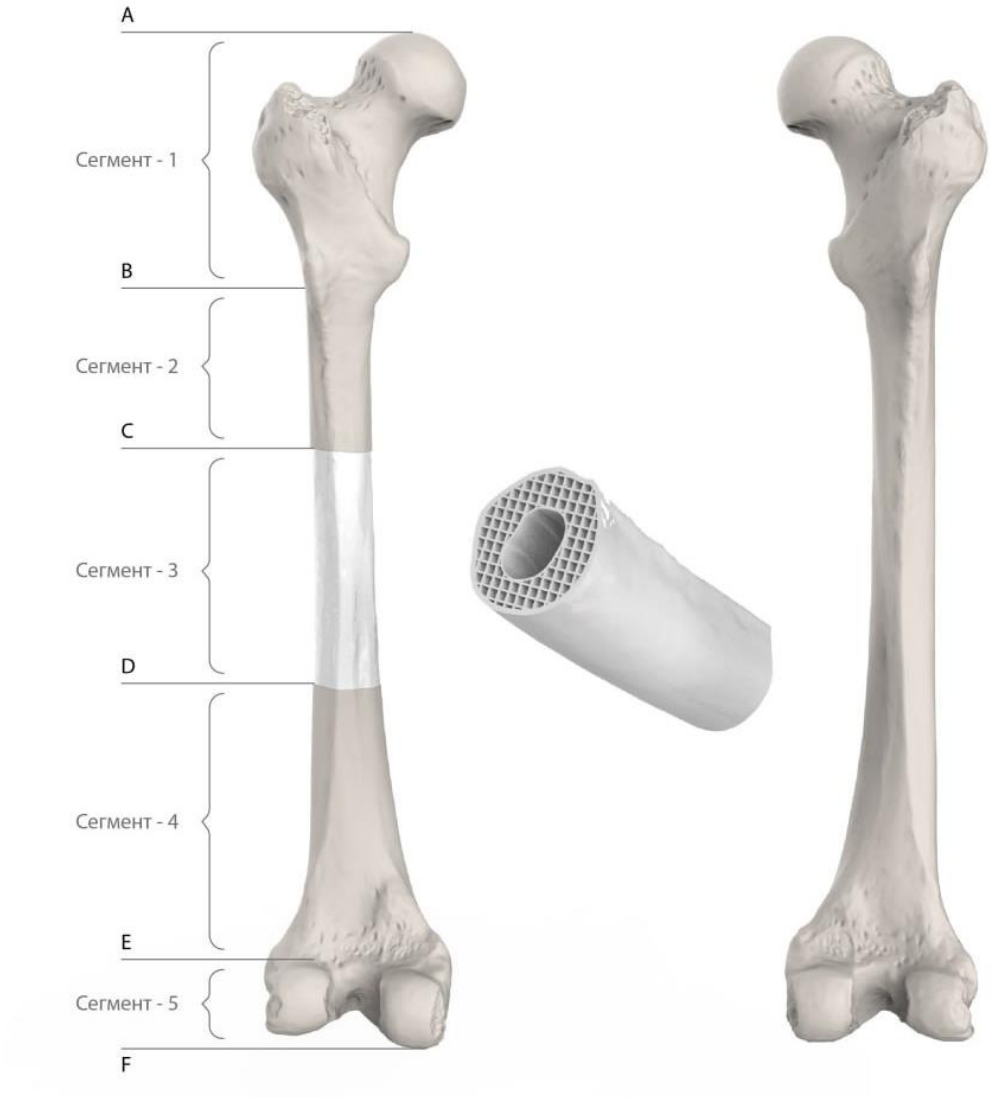

Рисунок 1 – Схема сегментарного поділу стегнової кістки, а також відтворюваної матриці відповідно до 3D-моделі обраного сегменту 3

Точки від a до f, взяті для поділу на 5 сегментів – [A] Найбільш проксимальна точка на головці [B] Нижня межа малого вертіла [C] Точка, де сіднична та спіральна лінії з'єднуються, утворюючи шорстку лінію. [D] Точка, де шорстка лінія поділяється на медіальну та латеральну надвиросткові лінії. [E] Найпроксимальніша точка міжвиросткової ямки [F] Найбільш дистальна точка на медіальному виростку [4]