

Università degli Studi di Padova

Corso di Laurea Triennale in Ingegneria Chimica e dei Materiali

Realizzazione di un canale vascolarizzato utilizzando la stampa 3D di Hydrogel

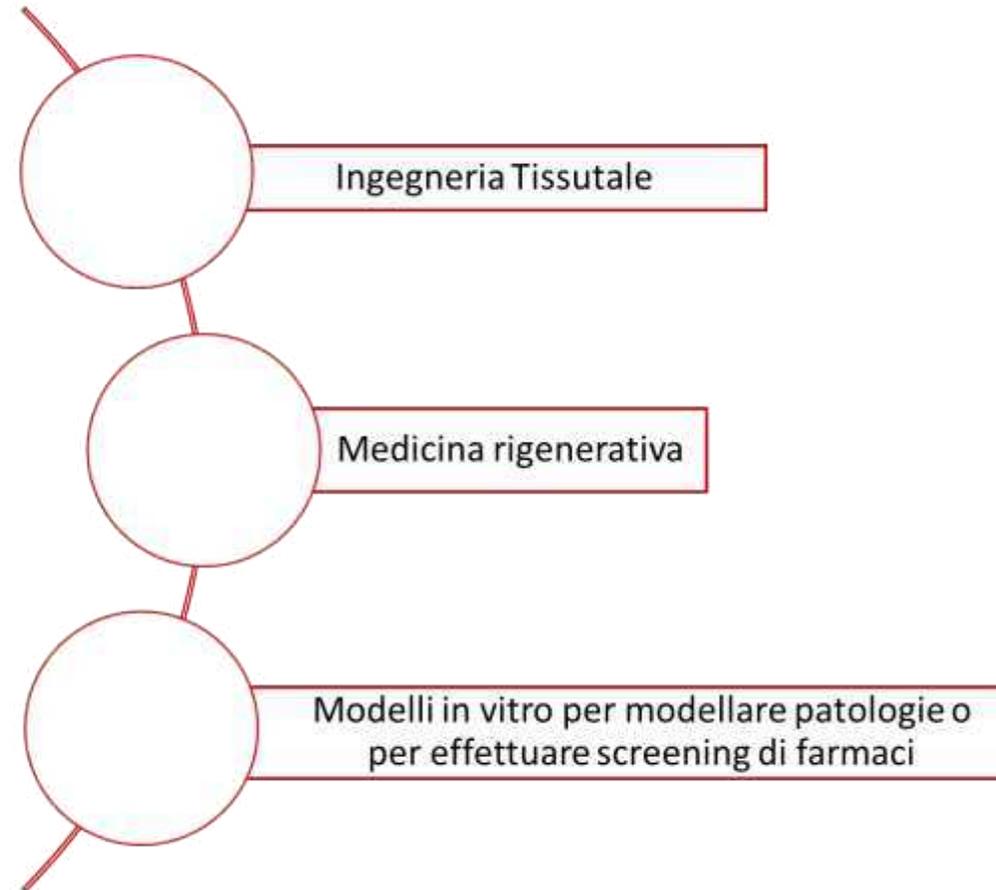
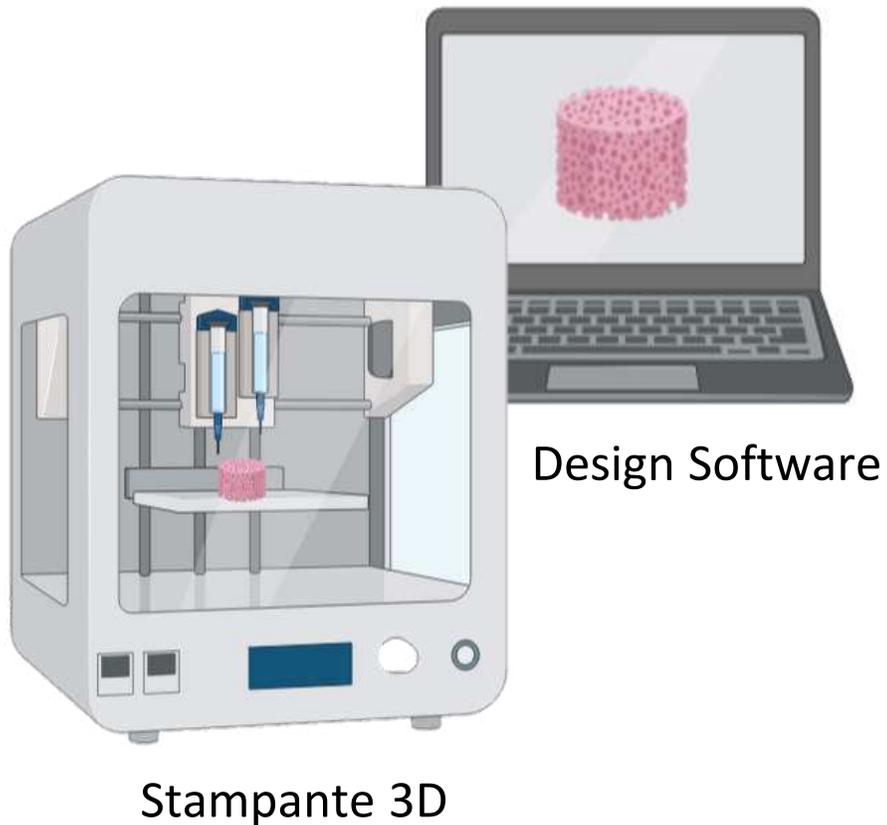
Relatore: Prof. Elisa Cimetta

Correlatore: Ing. Sara Micheli

Laureando: *Davide Laurenti*

Padova, 14/11/2024

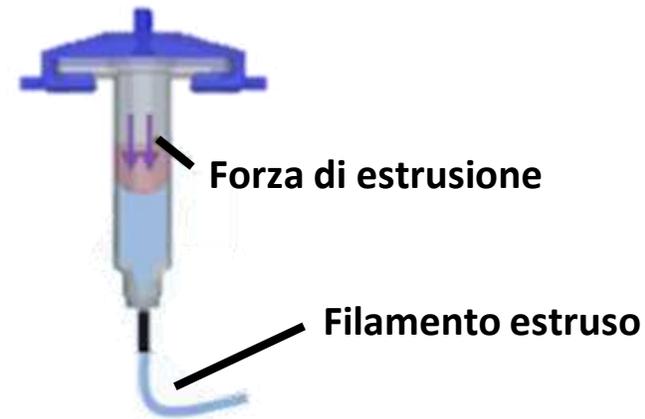
La biostampa 3D è una tecnologia che permette di ricreare in vitro le strutture 3D presenti in vivo tramite l'uso di bioinchiostri



Uno dei metodi più utilizzati grazie alla sua semplicità, rapida prototipazione, basso costo e compatibilità con vari hydrogel. La stampante utilizzata è la BIO X™ prodotta dalla CELLiNK Company.



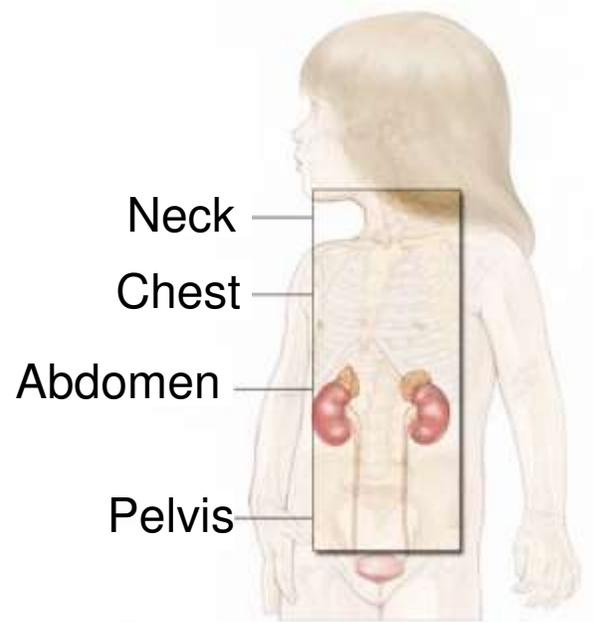
Uno dei metodi più utilizzati grazie alla sua semplicità, rapida prototipazione, basso costo e compatibilità con vari hydrogel. La stampante utilizzata è la BIO X™ prodotta dalla CELLiNK Company.



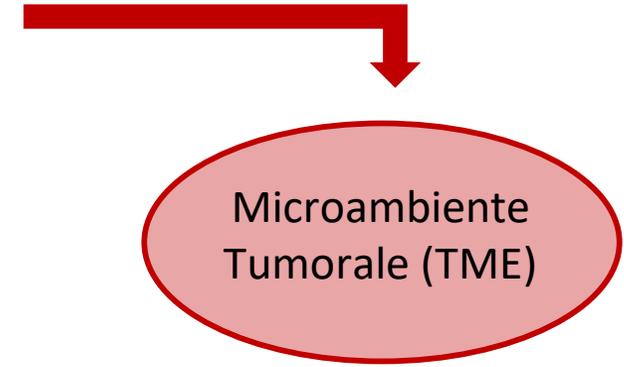
La stampante è dotata di un ugello che estrude l'hydrogel in modo da ricreare le strutture 3D progettate tramite AutoCAD®

Il **Neuroblastoma** (NB) è un tumore pediatrico diagnosticato in media prima dei 5 anni

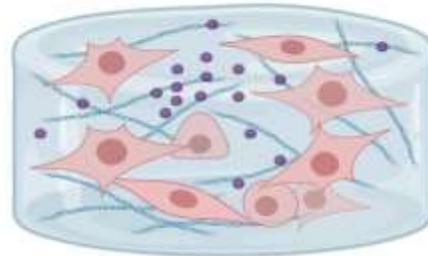
Sistema nervoso
simpatico



Il **Neuroblastoma** (NB) è un tumore pediatrico diagnosticato in media prima dei 5 anni

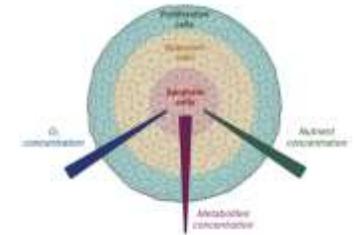


Coltura cellulare 3D



- Alta capacità di mimare il TME
- Ricrea le interazioni tra le cellule
- Possibilità di effettuare drug screening

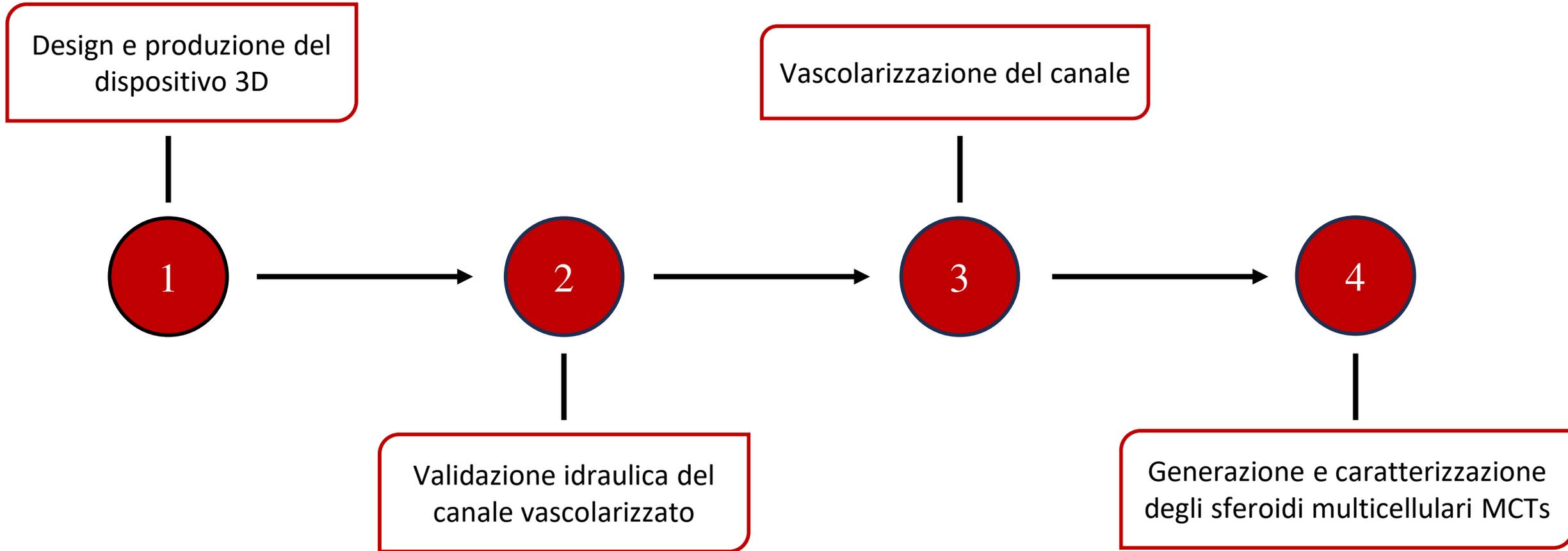
Sferoidi multicellulari (MCTS)



3D bioprinting



Lo scopo del progetto è quello di produrre e validare un modello 3D vascolarizzato di Neuroblastoma in grado di replicare le condizioni in vivo per lo screening di farmaci

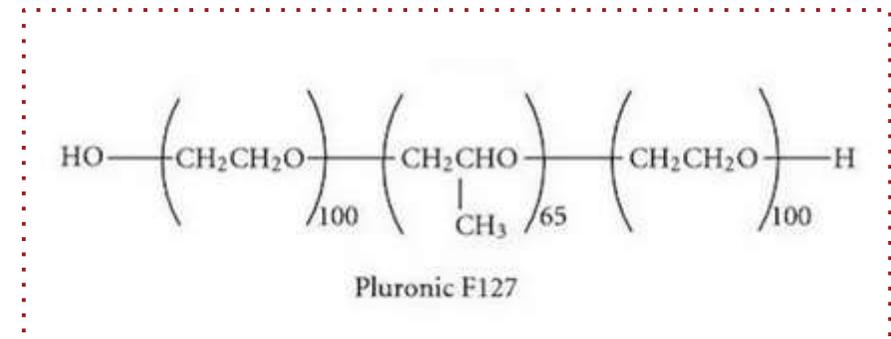
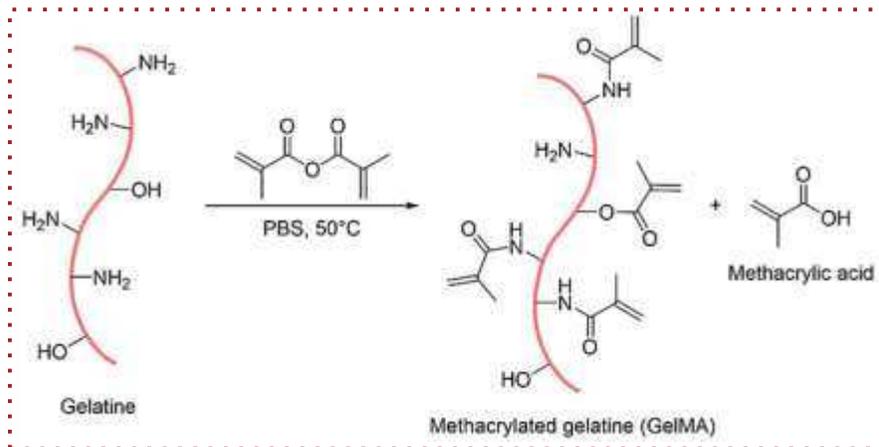


GelMA (Gelatina Metacrilata)

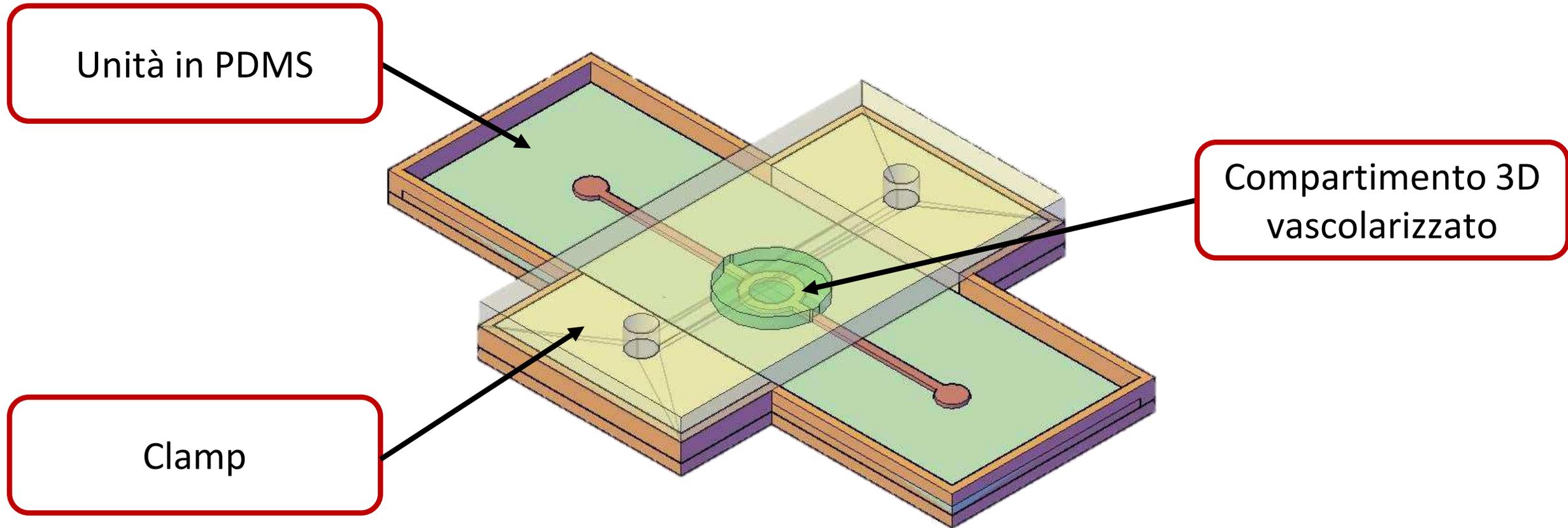
- Deriva dalla gelatina naturale
- Biocompatibile e biodegradabile
- Reticolabile tramite UV in presenza di un fotoiniziatore
- Permette la creazione di strutture cellulari 3D
- Modulabile in termini di rigidità
- Compatibilità con la stampa ad estrusione

Pluronic F-127

- Biocompatibile e non tossico
- Termosensibile [soluzione liquida a $T < 15^\circ\text{C}$ e gel a $T > 20\text{-}25^\circ\text{C}$]
- Supporta la stampa 3D
- Non reticola con UV
- Facilmente rimuovibile

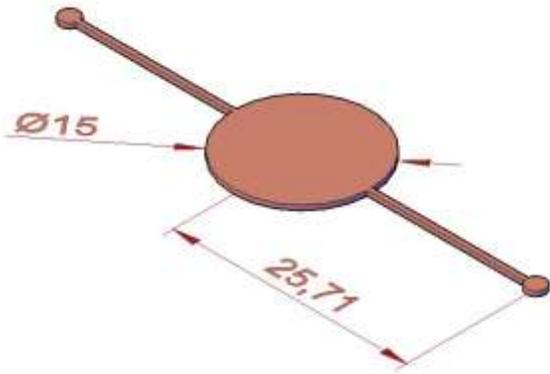


Struttura composta da 3 unità



Design tramite AutoCAD
della geometria

Dimensioni in [mm]



Stampa della geometria usando il
Pluronic [40% p/v]



Struttura finale dell'unità in
PDMS



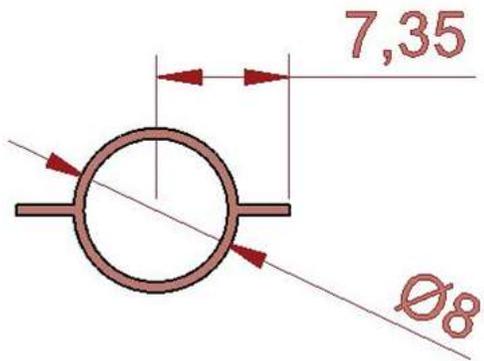
Replica molding usando il PDMS e
trattamento al plasma per ottenere la
struttura finale

Design con AutoCAD della
geometria del canale

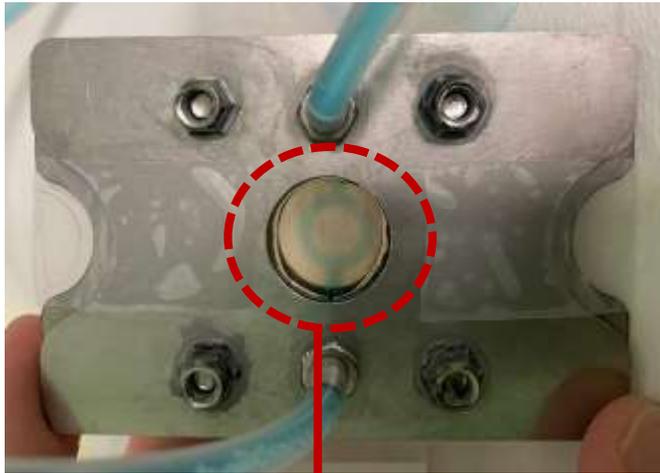
Stampa con il Pluronic [40% p/v]
del canale

Struttura del canale ricoperta
dalla GelMA [8% p/v]

Dimensioni in [mm]



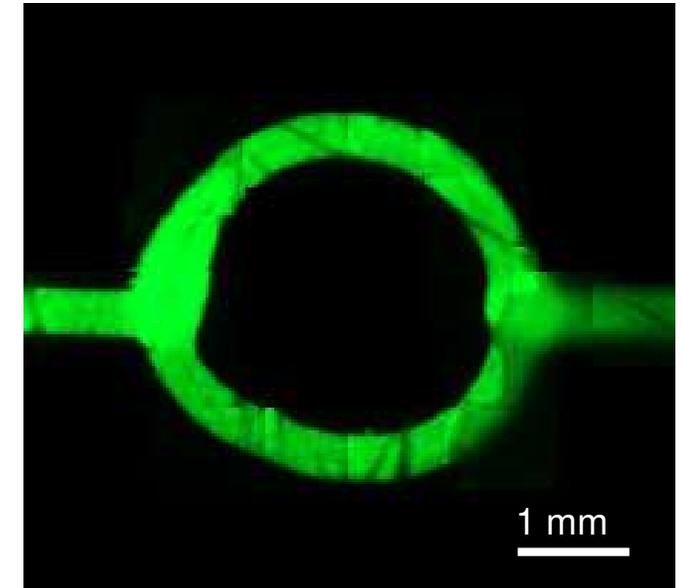
Assemblaggio della clamp

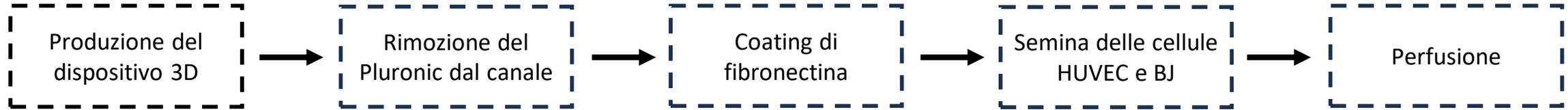


Collegamento alla pompa peristaltica
usando diversi traccianti e portate



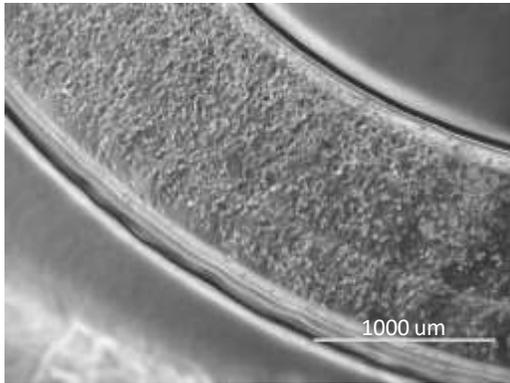
Controllo al microscopio per
monitorare eventuali perdite



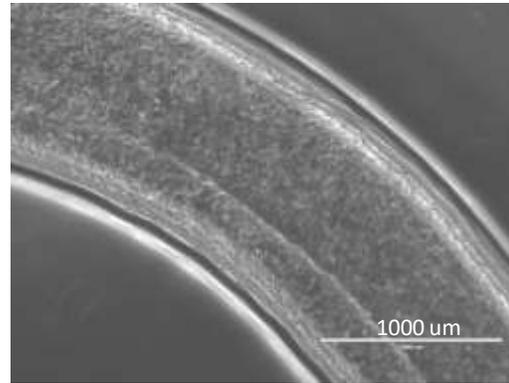




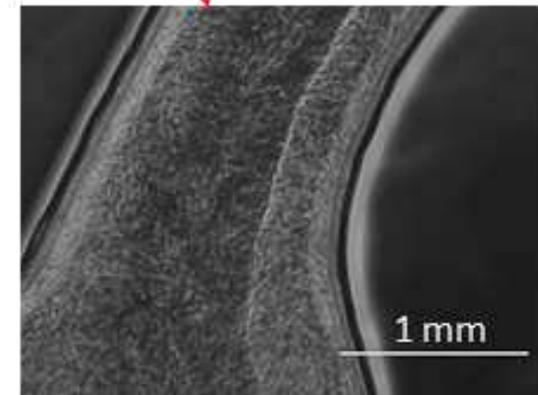
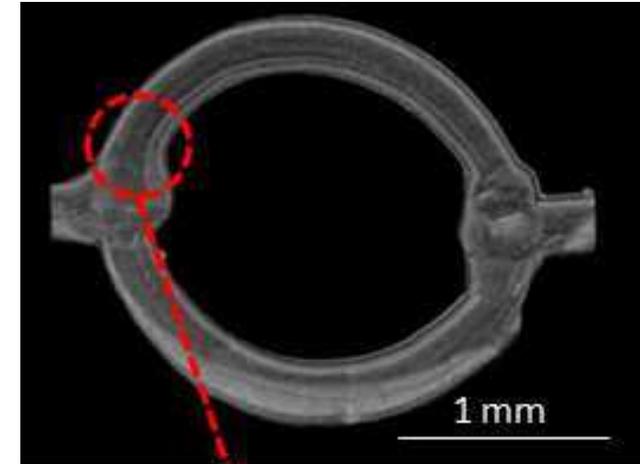
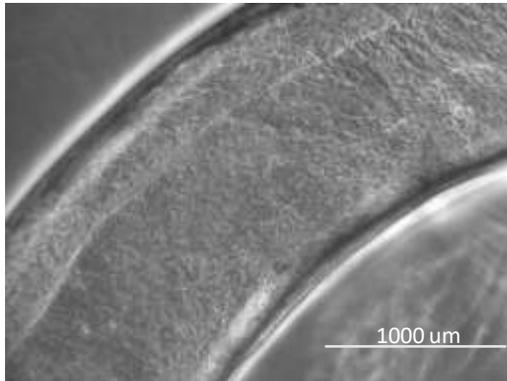
Giorno 0



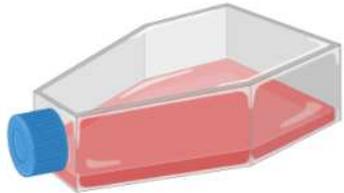
Giorno 5



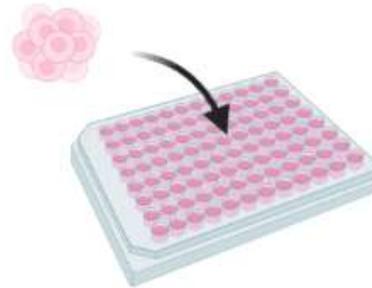
Giorno 7



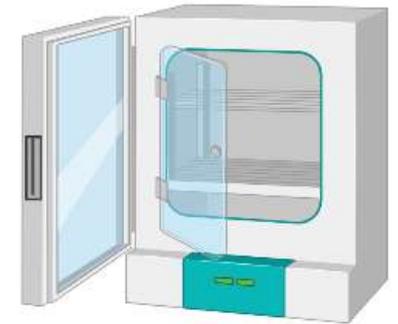
Splitting cellule SK-N-AS e BJ



Semina nella ULA



Incubazione per 7 giorni



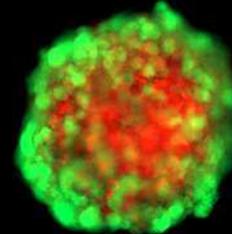
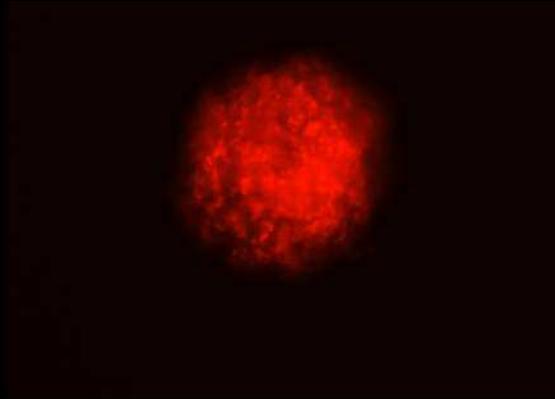
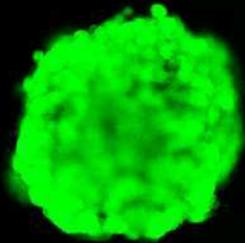
Densità di semina delle cellule di 6000
cellule/sferoide: 2000 SK-N-AS e 4000 BJ

Centrifuga a 1000 rpm
per 10 minuti

GENERAZIONE DEGLI SFEROIDI MCTs

La composizione degli MCTs è: SK-N-AS e BJ

Giorno 2

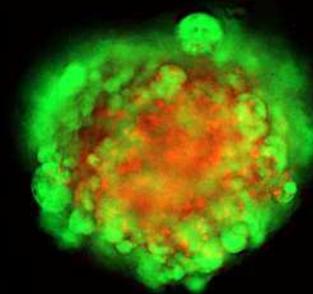
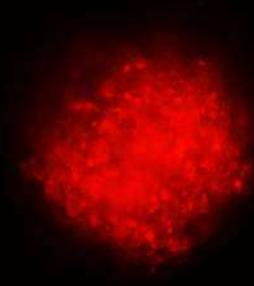
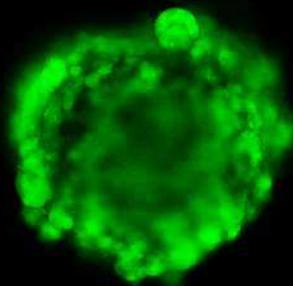


■ BJ

■ SK-N-AS

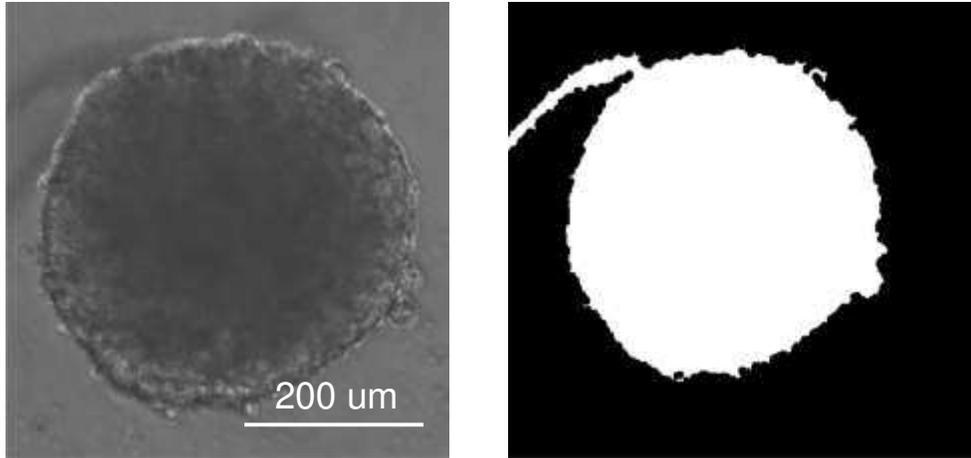
400 um

Giorno 7



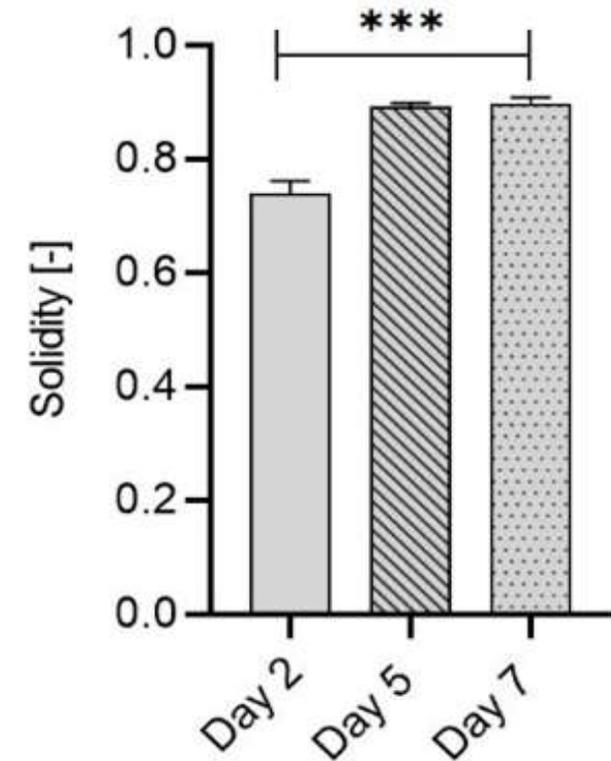
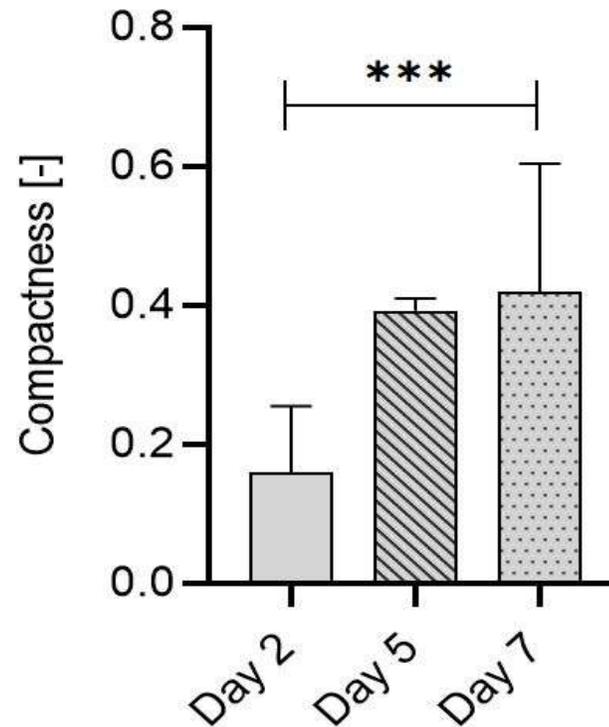
400 um

Caratterizzazione sferoidi con AnaSP

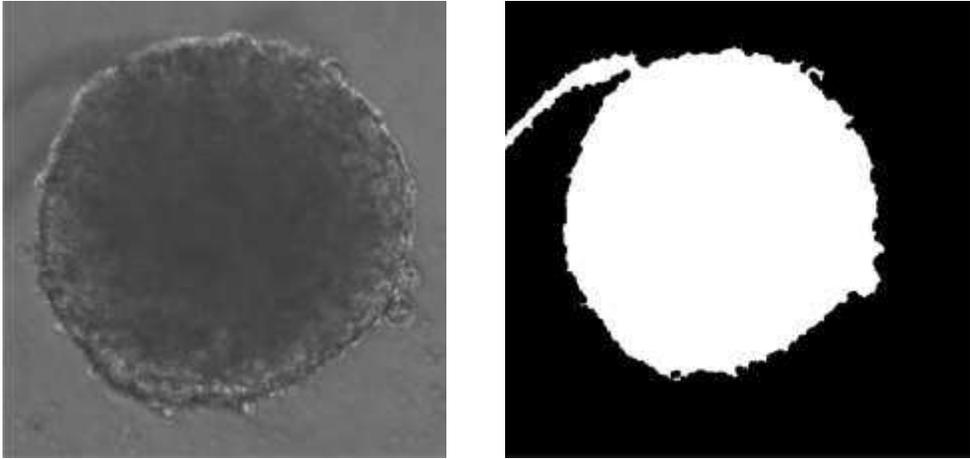


Parametri morfologici dello sferoide:

- **Compattezza**
- **Solidità**
- Indice di sfericità (SI)
- Diametro equivalente

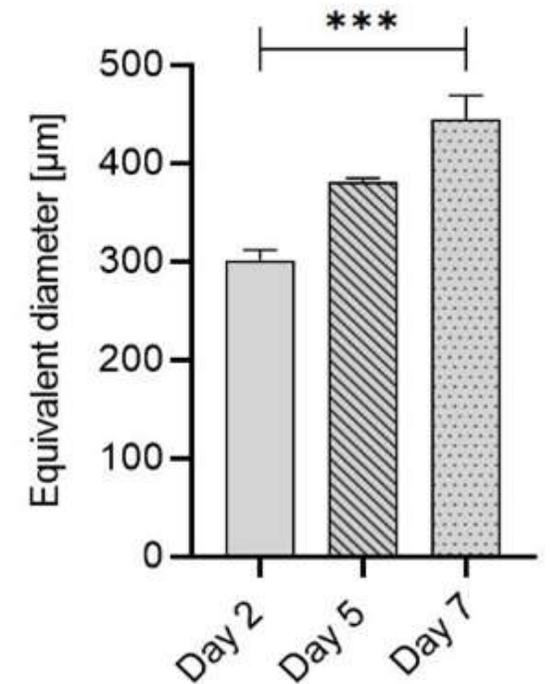
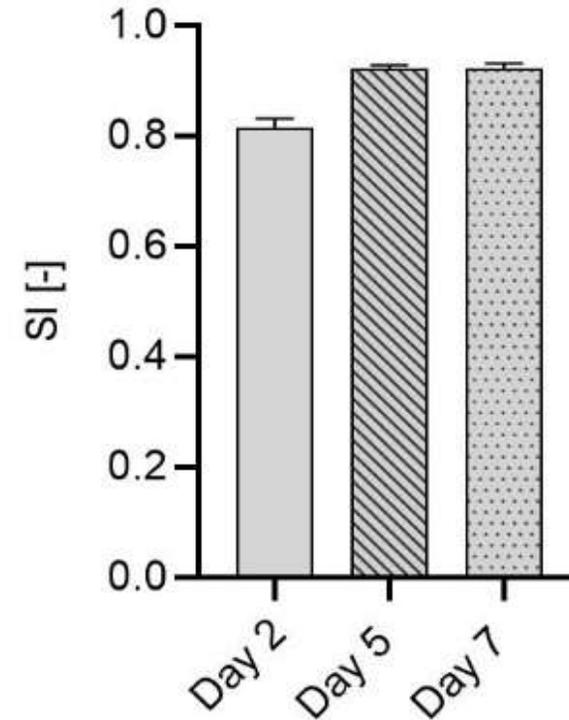


Caratterizzazione sferoidi con AnaSP



Parametri morfologici dello sferoide:

- Compattezza
- Solidità
- **Indice di sfericità (SI)**
- **Diametro equivalente**



- Il canale è stato validato sia idraulicamente che biologicamente
- Il modello 3D adottato ha una buona riproducibilità e standardizzazione
- Il protocollo usato per la generazione degli sferoidi multicellulari (MCTs) è ottimale

- Il canale è stato validato sia idraulicamente che biologicamente
- Il modello 3D adottato ha una buona riproducibilità e standardizzazione
- Il protocollo usato per la generazione degli sferoidi multicellulari (MCTs) è ottimale

- Ottimizzare la clamp per ridurre le operazioni manuali durante il processo di perfusione e migliorare la tenuta durante la perfusione all'interno del dispositivo
- Inserire gli sferoidi tumorali all'interno del modello 3D
- Validare il canale tramite saggi di vitalità cellulare e immunofluorescenza

Thank you for your attention