

نگاهی بر تکنولوژی پرینت سه بعدی در کاربردهای پزشکی

کلمات کلیدی: پرینت سه بعدی، ایمپلنت، داربست، مواد بیومدیکال (زیست پزشکی)

چکیده:

کمبود اهدا کننده برای پیوند عضو مشکل جهانی بزرگی است. ریسک احتمالی پیش رو با متدهای رایج شامل عوارض، جراحات ثانویه و کمبود منابع اهدا کننده است. تکنولوژی پرینت سه بعدی پتانسیل حل تمامی این محدودیت ها را دارد. این تکنولوژی میتواند برای تولید سریع داربست های مهندسی بافت شخصی سازی شده، اصلاح نقایص بافت بصورت *in situ* با سلول ها و حتی پرینت مستقیم بافت و ارگان ها بکار رود. چنین ایمپلنت ها و ارگان هایی نه تنها کاملاً با بافت آسیب دیده بیمار همخوانی دارد بلکه دارای میکروساختارها و قرارگیری های سلولی است که سبب افزایش رشد سلولی و تفکیک بهتر میشود. بدین خاطر چنین ایمپلنت هایی سبب اصلاح بافت دلخواه میشوند و در نهایت میتوانند منجر به حل مساله کمبود اهدا کننده شوند. این بررسی مطالعات مربوط و پیشرفت های اخیر را در چهار سطح خلاصه میکند. انواع متفاوت مواد بیومدیکال (زیست پزشکی) را معرفی میکند و به مشکلات موجود و سختی های ساخت به وسیله پرینت سه بعدی می پردازد که مربوط به مواد و ساخت ماتریس خارج سلولی *in vitro* برای کاربردهای پزشکی هستند.

1. معرفی

جراحات و نقایصی که نیازمند به پیوند بافت یا ارگان هستند همچنان مشکلاتی فشارآور در پزشکی بالینی هستند و هنوز هم مشکلاتی در استفاده از روش های کنونی وجود دارد. این روش ها شامل پیوند اتو یا خودکار (از خود فرد)، پیوند زنو (از یک گونه متفاوت) و پیوند ارگان های مکانیکی مصنوعی هستند. گرچه پیوند اتو میتواند تاثیر رضایت بخشی داشته باشد اما این نتیجه مثبت همراه با هزینه های سازمان بهداشت و درمان است و ممکن است منجر به تعداد زیادی از مشکلات و جراحات ثانویه شود. ریسک های احتمالی برای پیوند زنو نیز وجود دارد که به عنوان مثال میتوان به پس زدن سیستم ایمنی و انتقال ویروس اشاره کرد. همچنین منابع اهدا کننده محدود دارد. به هر حال پیوند ارگان های مصنوعی در درمان های پزشکی غالباً موفقیت آمیز بوده و کیفیت زندگی بیماران را بهبود می بخشد. از تکنولوژی پرینت سه بعدی انتظار می رود که محدودیت های روبرو در استفاده از متدهای رایج را برطرف کند و این کار را با استفاده از ساختارهای شخصی سازی شده از بافت یا ارگان های بیونیک (دارای بخش مصنوعی الکتریکی) انسان انجام دهد.

پرینت سه بعدی که به تولید افزاینده نیز معروف است برپایه قوانین تولید لایه ای است که در آن مواد لایه لایه روی یکدیگر همپوشانی دارند. از این تکنولوژی میتوان در ساختن سرعتی اجزا با اشکال پیچیده استفاده کرد که شامل متراکم کردن دقیق مواد با مدل سازی جامد، بوسیله طراحی کامپیوتری (CAD) مدل یا اسکن توموگرافی پردازشی (CT scan)، است. صنعت پرینت سه بعدی اخیراً به دلیل کاهش هزینه ی تولید پرینترهای سه بعدی و افزایش دقت و سرعت پرینتشان رشد چشم گیری داشته و شرایط را برای پیشرفت های بزرگی در تجهیزات پزشکی، جنس ایمپلنت ها و پرینت سلولی مهیا کرده است. آماده سازی مدل ارگان ها، تولید سریع داربست های شخصی سازی شده و پرینت مستقیم در سایت (ناحیه) نقص میتواند به وسیله تکنولوژی پرینت سه بعدی بنابر داده های تصویربرداری بیمار، مثل تصویربرداری CT یا رزونانس مغناطیسی (MRI) بدست آید. بدین صورت تکنولوژی پرینت سه بعدی راه های جدیدی را برای ساخت بافت یا ارگان بیونیک و حل مشکل کمبود اهدا کننده ایجاد میکند.

تحقیقات حاضر بر تکنولوژی پرینت سه بعدی در کاربردهای پزشکی را میتوان در چهار دسته نواحی تمرکز اصلی تقسیم بندی کرد:

- 1) تحقیقات بر تولید مدل های پاتولوژیک (آسیب شناسی) ارگان برای کمک در برنامه ریزی قبل از عمل و آنالیز درمان جراحی
- 2) تحقیقات بر تولید ایمپلنت های غیر بیواکتیو دائمی

(3) تحقیقات بر ایجاد داربست های زیست تخریب پذیر و بیواکتیو محلی

(4) تحقیقات بر پرینت مستقیم بافت و ارگان ها که دارای عملکردهای زندگی کامل هستند.

گرچه چنین کاربردهایی، به خاطر تعداد زیادی از مشکلات فنی و پایه علمی موجود، همچنان بسیار دورتر از استفاده کلینیکال هستند اما پیشرفت های علمی و کاربردهای قابل توجهی در این نواحی بدست آمده اند.

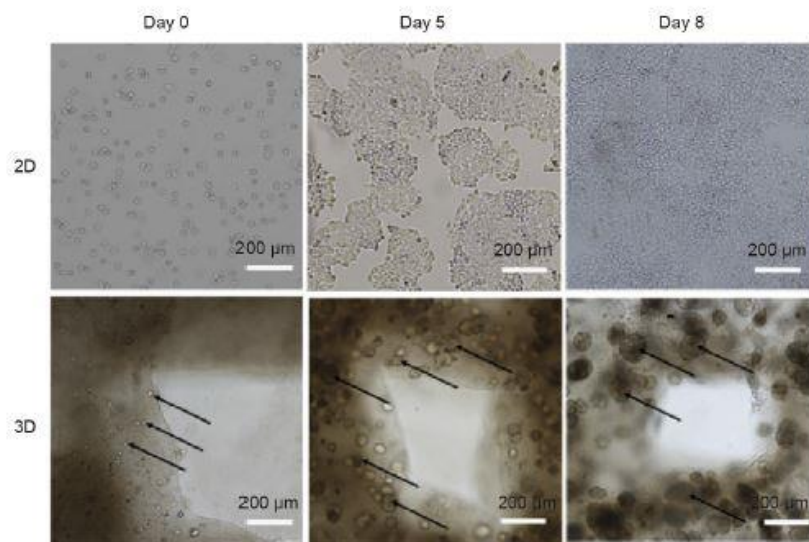
2. چهار مدل پرینت سه بعدی در کاربردهای پزشکی

2.1. مدل سازی ارگان ها برای کمک در برنامه ریزی قبل از عمل و آنالیز درمان جراحی

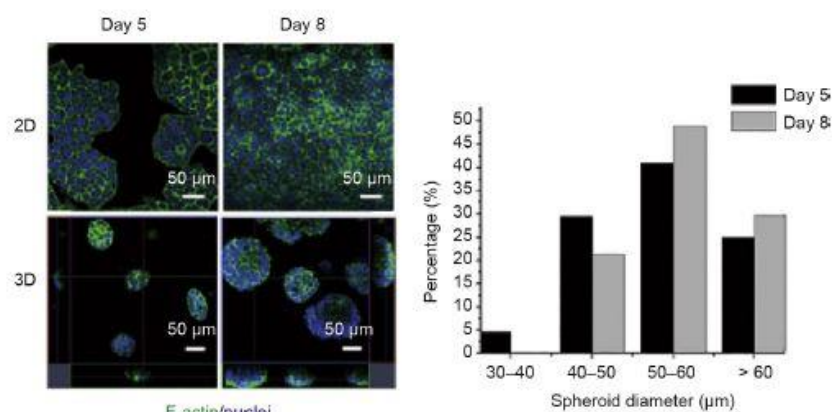
مدل فیزیکی ارگان با کیفیت نقشی مهم را در درمان کلینیکال و آموزش پزشکی ایفا میکند. فرایندهای تولیدی معمول از قبیل گچ گیری یا قالب گیری، زمان زیادی را برای آماده سازی هدر میدهند و همیشه تفاوت های فردی را در بیماران نادیده میگیرند. پرینت سه بعدی این قابلیت را دارد که مدل های پزشکی شخصی سازی شده را به سرعت و با هزینه ای کمتر ایجاد کند زیرا هیچگونه ابزاری در آن بکار نمیرود. مدل های ارگان پرینت سه بعدی شده معمولاً به دکترها در آنالیز جراحی و تمرین قبل از عمل کمک میکند. مدل های پزشکی شخصی سازی شده دارای اشکال پیچیده که توسط پرینتر سه بعدی تولید شده است میتواند برای دکترها و مهندس ها رابطی برای ارتباط بینشان ایجاد کند و بدین ترتیب، در برنامه ریزی و تشخیص جراحی کمک کند. هیچگونه ملزوماتی برای زیست سازگاری مواد در این کاربردها وجود ندارد که خود شامل مدل های پزشکی و تجهیزات *in vitro* برای برنامه ریزی های پیش از عمل، طراحی پروتز، استانداردهای تست گیری و ... است. چراکه این قطعات وارد بدن نمیشوند.

گروهی از محققان از چین و آمریکا از تکنولوژی پرینت سه بعدی همراه با سلول های HeLa هیدروژل های ژلاتین/آلژینات/فیبرینوژن استفاده کرده اند و بطور موفقیت آمیزی مدلهایی از تومور مغزی *in vitro* را ساخته اند و بدین ترتیب تصویربرداری واضح سه بعدی ای از محیط تومور فراهم نموده اند. همانگونه که در شکل 1 قابل مشاهده است، سلول های HeLa با سطوح صاف تشکیل گلوله های کروی و درون هیدروژل سه بعدی به ارتباطات سفت بین سلولی منجر میشود و در این حال مورفولوژی صاف و باریکی در سطوح کشت بافت دوبعدی دارند. در مقایسه با سطوح کشت دوبعدی، مدل ها در ساختارهای سه بعدی میتوانند خصوصیتی از سلول های تومور را نمایان کنند و بدین ترتیب محققان و پزشکان میتوانند بهتر رشد، اختلاف (تفاوت با حالت اولیه) و شیوع تومور را شناسایی کنند.

محققان دانشگاه Monash در استرالیا یک مدل آناتومیک بدن انسان را توسط پرینت سه بعدی ساختند. این مدل از پودر سنگ گچ مانند یا پلاستیک تولید شد و با اسکن گونه های آناتومیک واقعی با استفاده از اسکنرهای CT یا لیزر صفحه ای ساخته شد. این مدل های کپی رزولوشن بالا شامل دست و پا، قفسه سینه، شکم، سر و گردن و دیگر قسمت های بزرگ بدن (شکل 2) هستند که توسط پرینتر سه بعدی ساخته می شود و برای یادگیری و تمرین مردم شناسی (anthropometry) در بیمارستان ها و مدارس پزشکی بکار می رود.



(a)



(b)

(c)

شکل 1. تغییرات مورفولوژی سلولی در ساختار سه بعدی و صفحه کشت دو بعدی. (a) سلول های HeLa برای دوره های متفاوت، (b) توزیع سیتواسکلتون پس از رنگ آمیزی، (c) توزیع قطر کره در ساختارهای HeLa/هیدروژل سه بعدی



(a)



(b)

شکل 2. کیت مدل آناتومیکال انسان پرینت سه بعدی شامل (a) سر و (b) بازو، ساخته شده توسط دانشگاه Monash

مدل های پرینت سه بعدی شده نه تنها شرایط واقعی بافت ها و ارگان های *in vivo* را نشان میدهند بلکه مدل های شخصی سازی شده پزشکی میتوانند به پزشکان در بررسی وضعیت بیمار و آماده سازی برنامه های قبل از عمل کمک کنند.

متخصصان قلب (کاردیولوژیست) از بیمارستان کودکان Spectrum Health Helen DeVos در Grand Rapids، میشیگان اعلام کردند که با استفاده از داده های مصنوعی از تکنیک های مختلف تصویربرداری که شامل ترکیب کردن اسکن های CT و داده های اکوکاردیوگرافی سه بعدی توانسته اند مدل سه بعدی پر جزئیات تری را پرینت کنند. متدهای پرینت سه بعدی قبلی تنها از یک روش تصویر برداری استفاده میکرد درحالیکه پرینت سه بعدی هیبریدی میتواند در تشخیص صحیح و برنامه ریزی جراحی کمک کننده باشد چراکه میتواند برای شبیه سازی پروسه جراحی و کاهش مشکلات با ترکیب چندین متد تصویر برداری و دیتاست های مربوطه استفاده شود.

مدل های پرینت سه بعدی شده از نمونه پلاستیکی در ابعاد فیزیکی و دوام قابل قبول تر هستند. این مدل ها حتی میتوانند توسط نوع بافت کدگذاری رنگی یا ماده ای شوند. گرچه علاوه بر قیمت بالاتر و جمع آوری داده های سه بعدی چنین مدل ها مشکلاتی همانند رزولوشن پرینت محدود، مدت زمان پرینت طولانی تر و تعداد کمی از مواد مشابه ارگان یا بافت مورد نظرباید حین فرآیند برطرف شوند. برای بهبود عملکرد مدل های پرینت سه بعدی شده محققان میتوانند بیشتر روی مواد با کشش لمسی، رنگ و ترکیبات متفاوت کار کنند تا بتوانند ظاهر بافت و ارگان انسان را شبیه سازی کنند.

2.2. ایمپلنت های غیربیواکتیو دائمی

ایمپلنت های دائم پزشکی رایج در کاربردهای دندان پزشکی و ارتوپدی نیازمند بیومتریال های تخریب ناپذیر هستند و زیست سازگاری مناسبی پس از انجام جراحی دارند. در مقایسه با ایمپلنت های تولید شده توسط متدهای رایج، پرینت سه بعدی قابلیت تولید در لحظه ی شخصی سازی شده هرگونه ایمپلنت پیچیده با دقت ابعادی بالا و سیکل های تولیدی کوتاه دارد. هنگام معالجه معمول استخوان پدیده stress shielding به راحتی رخ میدهد زیرا ایمپلنت های رایج فلزی سفتی (stiffness) بالاتری نسبت به استخوان دارد که در یکپارچگی استخوان را به مخاطره می اندازد. ترکیب طراحی های توپولوژی-بهینه سازی با پرینت سه بعدی تکنولوژی جدید و موثری برای ساخت ایمپلنت های شخصی سازی شده سبک وزن با سفتی تنظیم شده است.

این تکنولوژی با دستگاه های اندازه گیری دیجیتالی که بصورت گسترده مورد استفاده قرار میگیرند، در تبدیل داده ها و space docking سازگاری بالایی دارد.



شکل 3. (a) مدل اسکن CT و داده های اکوکاردیوگرافی 3D، (b) مدول قلبی پرینت سه بعدی شده با ترکیب تکنولوژی های تصویربرداری پزشکی متفاوت

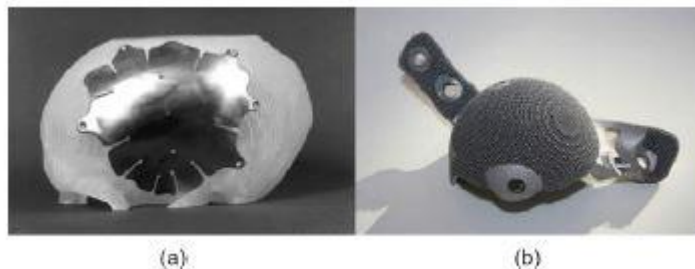
Zhang و همکارانش پروتز های مفصل دستی (کاستوم) را با توجه به مورفولوژی استخوانی بخش سرطانی جدا شده میانی (پروکسیمال) تیپیا تولید کردند. شکل 4 تصویر برداری پس از عمل بازسازی پروتزی دستی را نشان میدهد. در آن پژوهش بیشتر بیماران عملکرد حرکتی عالی را با اندک مشکلاتی بازیابی کردند. توجه بیشتری باید به بازیابی (ریکاوری) طولانی مدت عملکرد بیماران شود. بدین خاطر بازسازی پروتز مفاصل دستی نتایج رضایتمندی را برای بیماران با سرطان استخوان در تیپیا میانی یا مفصل تیبیوفیولار میانی حین شیمی درمانی جدید و عمل های نجات اندام حاصل کرده است. Galasso و همکارانش نیز یک بازسازی پروتز مدولار دستی دیستال فمور را بر بیماری 20 ساله با سرطان استخوان

مرحله II2 انجام دادند. ده ماه پس از جراحی درجه حرکت زانو به 0-110 درجه رسید و بیمار توانست تمام وزن بدن خود را بدون درد و حمایت خارجی تحمل کند.

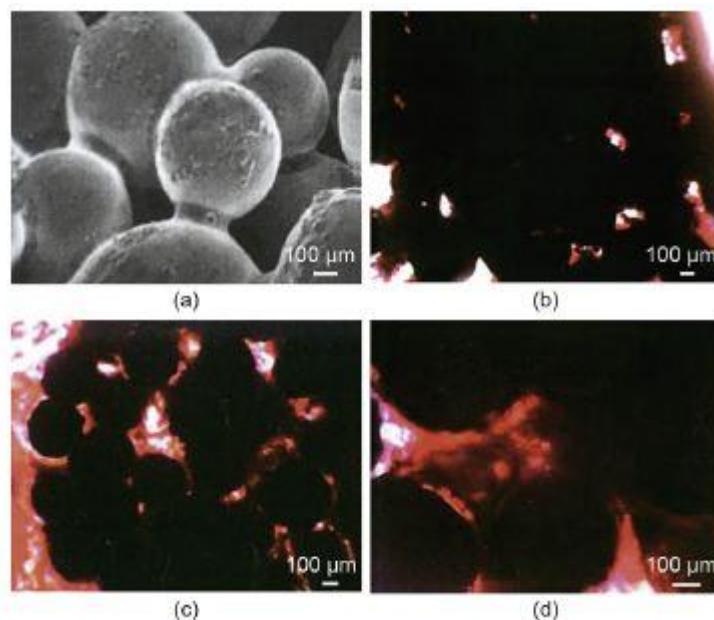
تکنولوژی کنونی برای پرینت سه بعدی ایمپلنت های دائم تقریباً تکامل یافته است و بدین خاطر، مقاله کنونی بر سه جنبه تمرکز می کند: اولین مورد توسعه مواد پزشکی برای عملکرد بهتر بررسی شده است. به عنوان مثال Winder و همکارانش ایمپلنت های تیتانیومی مجسمه ای دستی را بصورت مستقیم از رزین استریولیتوگرافی (سنگ چاپ سه بعدی) تولید کردند (شکل 5 قسمت a) و بدین شکل فرآیند تولید به طرز قابل توجهی ساده تر شد. در دومین مورد ما استفاده از تکنولوژی پیشرفته را برای تولید ایمپلنت ها با خواص مکانیکی عالی مطابق خواص استخوان مورد نظر بررسی کردیم. به عنوان مثال SLM Solutions در آلمان یک ایمپلنت تیتانیومی (شکل 5 قسمت b) هیپ را برای بیماری استرالیایی با استفاده از فرایند ذوب لیزری انتخابی (SLM) تولید کردند. این ایمپلنت سبک وزن با استحکام بالا سازگاری خوبی با بافت بدن انسان دارد. سومین مورد بهبود زیست سازگاری و جلوگیری از عفونت در مواد پزشکی بالغ موجود با بهینه سازی سطح است تا بتوانند به نیازمندی های پزشکی پاسخ دهند. همانطور که در شکل 6(a) قابل مشاهده است Bian و همکارانش از دانشگاه Xi'an Jiaotong از تیتانیوم با روکش هیدروکسی آپاتیت (HA) متخلخل استفاده کرد که به عنوان حامل شناخته میشود. این حامل را با پروتئین-2 مورفوژنتیک استخوان (BMP-2) همراه با ژلاتین همراه کردند. آن ها بصورت موفقیت آمیزی تیتانیوم متخلخل سه بعدی دارای رسانش سلولی را از مواد کامپوزیتی ساختند.



شکل 4. بازسازی پروتزی دستی بعد از عمل (a) خلفی پشتی و (b) جانبی



شکل 5 (a) مدل رزین استریولیتوگرافی از کل مجموعه همراه با صفحات تیتانیومی مخصوص در برخی نواحی، (b) ایمپلنت هیپ ساخته شده توسط SLM Solutions در آلمان.



شکل 6 (a) نوار اشعه ایکس ترکیب BMP-2 gelatin/HA متخلخل، (b) برش های بافت مشاهده شده در 6 هفته بعد از نصب ایمپلنت متخلخل تیتانیومی با روکش HA، (c) برش های بافت مشاهده شده در 6 هفته پس از نصب ایمپلنت تیتانیومی با BMP-2 gelatin/HA متخلخل و (d) برش های بافت مشاهده شده در 24 هفته پس از نصب ایمپلنت تیتانیومی با BMP-2 gelatin/HA متخلخل.

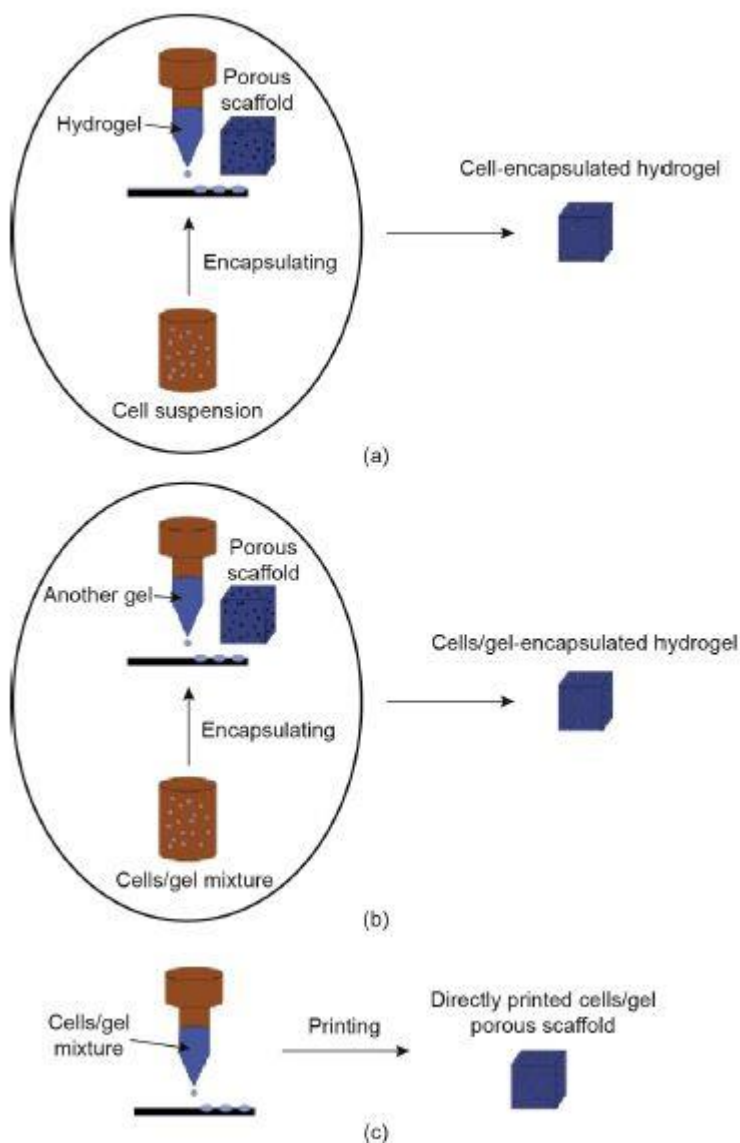
در مقایسه با برش های بافت در گروه کنترل (شکل 6 قسمت b)، (شکل 6 قسمت c) و شکل 6 (d) توده استخوانی بیشتری تشکیل شده ای را در گروه تیتانیومی متخلخل BMP-2 gelatin/HA نشان دادند و سطوح استخوان جدید در تماس مستقیم با آن ها قرار میگیرد. پس از 24 هفته تیتانیوم متخلخل پر از استخوان جدید شده بود که نشان دهنده علائم درمان زود هنگام استخوان است. علاوه بر هیدروکسی آپاتیت دیگر ترکیبات هیدروژل نیز میتوانند به عنوان پوشش داربست های آلیاژی استفاده شوند. Sing و همکارانش برای ساخت داربست های دوتایی با کلاژن نوع 1/تیتانیوم و کلاژن نوع 1/تیتانیوم-تانالیوم، SLM را با نقوذ کلاژن ترکیب کردند. ترکیب کلاژنی نقشی را در رشد و تفکیک سلولی دارد و باعث ترمیم استخوانی و عروق خونی میشود در حالیکه بخش داربستی استحکام مکانیکی مورد نیاز را فراهم میکند.

بهینه سازی سطحی میتواند در درازمدت از چسبندگی باکتریایی و تشکیل زیست لایه جلوگیری کند که باعث عفونت میشوند. محققان یافتند که گرچه نیروهای دفاعی میزبان و آنتی بیوتیک های معمول سبب از بین رفتن عفونت های باکتری پلاکتونی میشوند اما در برابر باکتری های زیست لایه ای ناتوان هستند. اجتناب از چسبندگی اولیه باکتریایی برای تشکیل زیست لایه ها در کاهش ریسک عفونت ایمپلنت ها ضروری است. تحقیقات کنونی نشان میدهند که با بهبود خواص آنتی باکتریال سطح ایمپلنت توسط بهینه سازی شیمیایی بیومتریال ها با دوقطبی سازی (zwitterionization) و نانوتوپوگرافی یا معماری سطحی مخصوص برای کنترل و جلوگیری کردن از چسبندگی باکتریایی ایمپلنت ها موثر است. Zong و همکارانش هیدروکسی آپاتیت دوقطبی شده ای که از خواص ضد چسبندگی و رفتار زیست سازگار in vitro برخوردار است را توسط اسمبلی direct-wire طراحی کردند و ساختند. تعامل بهینه این جفت های دوقطبی بر سطوح HA توانست چسبندگی باکتریایی را تا 90٪ کاهش دهد. این مهم در مقایسه با هیدروکسی آپاتیت بهینه نشده بود و زیست سازگاری HA در این آزمایشات حفظ شده است. Izquierdo-Barba و همکارانش یافتند که آلیاژ Ti6Al4V با روکش نانوساختارهای تیتانیوم توسط روش GLAD (استفاده از پراکندگی مگنترون یا MS-GLAD) دارای تراکم ستون نانویی بیشتری است و چسبندگی باکتریایی سختی دارد که سبب جلوگیری از تشکیل زیست لایه میشود. این

متدهای جلوگیری از چسبندگی باکتریایی راه‌هایی جدید را برای ایمپلنت‌های دائمی پرینت سه بعدی شده فراهم میکنند تا به نیازمندی‌های پزشکی پاسخ دهند.

2.3. ساخت داربست‌های زیست فعال و زیست تخریب پذیر محلی

بنا بر اینکه آیا سلول‌ها حین فرایند تشکیل بصورت مستقیم دستکاری شده باشند یا خیر دو راه برای ساخت بافت و ارگان‌ها وجود دارد. راه اول مهندسی سازی بافت (شکل 7a) است که به آن اسمبلی سلولی غیرمستقیم نیز گفته میشود که شامل شکل گیری یک داربست سه بعدی و سپس سلول پراکنی به همین ترتیب است. بصورت تنها یا ترکیبی با سلول‌های زنده، مواد زیست سازگار، فاکتورهای رشدی و فاکتورهای فیزیکی نیز میتوانند برای ایجاد میکروساختارهای داربست بافت مانند بیومیمتیک استفاده شوند. دومین راه که به اسمبلی مستقیم سلولی معروف است شامل ترکیب کردن سلول‌ها و مواد به داخل ساختار کامپوزیتی است. همانگونه که در شمل 7(b) و 7(c) قابل مشاهده است ترکیب سلول‌ها و ژل درون داربست‌های سه بعدی که از ژلی دیگر با استحکام مکانیکی مناسب ساخته میشوند محصور میشوند و یا بصورت مستقیم پرینت میشوند تا توزیع فضایی سلول‌ها کنترل شود و حتی ترمیم‌های *in situ* بصورت متقارن انجام گیرند.



شکل 7. نمای شماتیک سه متدهای پردازشی برای داربست های شخصی سازی شده زیست تخریب پذیر. (a) محصور کردن مستقیم سلول ها به داربست ژلی، (b) محصور کردن ترکیب سلول ها/ژل به داربست های سه بعدی و (c) پرینت مستقیم سلول ها/ژل.

داربست های زیست تخریب پذیر نقشی مهم را به عنوان ساختار بیونیک ماتریس خارج سلولی دارند. در مقایسه با متدهای ساخت داربست رایج، پرینت سه بعدی میتواند هرگونه ساختار پیچیده را با حفرات میکروسکوپی و اشکال ماکروسکوپی ایجاد کند و اجازه کنترل مناسب میکروساختار و خواص فیزیکی-شیمیایی داربست را به ما میدهد.

به عنوان حامل اتصال سلول ها، جنس داربست ها باید زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری خوبی داشته باشد و داربست ها باید نسبت به بافت انسان واکنش نشان دهند تا سبب ترمیم بافت پس از نصب ایمپلنت شوند. هیدروژل ها میتوانند در مهاجرت سلولی یا رشد تاثیر مثبتی داشته باشند و سرعت ترمیم و بازسازی بافت را افزایش دهند. این کار را به عنوان نوع جدیدی از مواد کاربردی با خواص بیونیک که شبیه ماتریس خارج سلولی همراه با ساختارهای به شدت سه بعدی است انجام میدهند. تعداد رو به افزایشی از محققان به این نتیجه رسیده اند که استفاده از این بیومتریال ها به عنوان حامل برای پیوند سلولی و برای رهایش تاخیر یافته فاکتورهای رشدی بسیار مناسب است زیرا خواص هیدروژل ها آن ها را مخصوصا برای ترمیم و بازسازی بافت های نرم و ارگان ها مناسب میسازد. هنگام ترمیم بافت ها محققان توجه زیادی به بهبود یا تشدید رگ سازی که محدودیت بزرگی است میپردازند. بدین خاطر یک گروه محقق مفهومی جدید را تعریف کرده که در آن داربست هیبریدی از غشاهای متخلخل نازک و شبکه های فیلامنتی که در لایه هایشان برای بهبود رشد رگ ها متفاوتند ساخته میشود. برای بهبود الگوی لایه لایه داربست های سه بعدی و وسیع کردن فضای طراحی شبکه، شبکه های میکرو و سکولار بیومیمتیک سه بعدی را میتوان با اسمبلی direct-wire نیز درون مخزن ژل فتوکوری برای ایجاد شبکه میکرو و سکولار دلخواه قرار داد. پرینت *in situ* داربست های سه بعدی برای بهبود بازسازی بافت بالک (توده ای) نیز مناسب و موثر است. به عنوان مثال هیدروژل فیبرین/کلاژن میتواند در بالای لایه فیبروبلاست توسط خروج ناگهانی ترومبین از نازل اتمی چاپ شود. دوباره اپیتلیال سازی زخم های بزرگ در این بررسی نشان میدهد که پرینت پوست *in situ* را میتوان برای ترمیم فوری زخم ها بکار برد.

2.3.1. خواص داربست ها

داربست های شخصی سازی شده پرینت سه بعدی شده برای کاربردهای پزشکی را میتوان برای درمان علائم متفاوتی بین بیماران بکار برد. این داربست ها نیازمند خواص بیوفیزیکی-شیمیایی، ساختاری و مکانیکی خاص هستند و همچنین خصوصیت های بعدی: یک شبکه متصل داخل متخلخل سه بعدی برای رشد سلولی و انتقال جریانی مواد مغذی و ضایعات متابولیسمی، زیست سازگاری و هماهنگی با نرخ تخریب پذیری و جذب شدگی کنترل شده سلول/رشد بافت بصورت *in vitro* و *in vivo*، خصوصیات شیمیایی مناسب سطحی برای چسبندگی سلولی، تکثیر و تفکیک پذیری و همانطور خصوصیتی که با بافت های ایمپلنت شده هماهنگی دارند.

2.3.2. دسته بندی داربست ها

(1) اسمبلی غیرمستقیم سلولی: محاصره سازی سلول ها بصورت مستقیم به درون داربست ژل. برای اسمبلی غیرمستقیم سلول ها به داخل داربست های ژل متخلخل کاشته میشوند (شکل 7a)). دسته بندی اصلی داربست های سریع تولید شونده با محتوای زیاد آب، زیست سازگاری عالی و زیست تخریب پذیری کنترل شده را میتوان بر اساس تکنیکی که برای شکل گیری داربست ها استفاده شده بود ساخت:

- برپایه اکستروژن (بیرون اندازی)
- برپایه جوهرافشانی
- برپایه دریچه های میکرو
- بیوپرینت کردن به کمک لیزر

تکنیک بیوپرینت کردن برپایه اکستروژن یک سیستم تخلیه مایعات و یک سیستم اتوماتیک ربانی را برای اکستروژن و بیوپرینت کردن ترکیب می‌کند. Hospodiuk و Ozbolat از یک سیستم رسوب برای فهم رسوب دقیق فیلامنت‌های استوانه‌ای با سلول‌های کشت شده برای تشکیل ساختارهای دلخواه سه بعدی کنترل شده توسط کامپیوتر استفاده کردند. بیوپرینت کردن برپایه جوهرافشانی (شامل بیوپرینت جوهرافشانی پیوسته و بیوپرینت کردن جوهرافشانی بر اساس تقاضا) مزیت‌های زیادی در سادگی و چابکی، همراه با کنترل دقیق رسوب سلول‌ها و بیومتریال‌ها دارد. دست‌بالایی در جاذبه، فشار اتمسفری و مکانیک مایعات برای تغییر شکل فیزیکی جوهر زیستی را در تولید قطره‌ها و سپس تخلیه قطره‌ها روی لایه گیرنده دارد. بیوپرینت کردن به کمک درجه‌های میکرو نیز نوعی پرینت کردن بر اساس تقاضا است اما نسبت به پرینت برپایه جوهرافشانی سیستم آن توان بالاتری دارد و مورد اطمینان تر است. کنترل دقیق نقطه رسوب متعدد سلول‌ها و بیومتریال‌ها را با قابلیت زیست سلولی بالا و نرخ توان بالا تشخیص می‌دهد و رزولوشن پرینت متوسطی دارد. برخلاف سه مورد پرینت کردن اول، زیرلایه بیوپرینت به کمک لیزر معمولاً با لایه‌ای نازک از مواد جاذب لیزر و لایه ضخیم تر دوم بیومتریال، مانند هیدروژل همراه با سلول‌های داخل آن، روکش شده است. تبخیر این لایه در ناحیه تمرکزی لیزر حباب‌های بخار فشار بالا ایجاد می‌کند. این حباب بیومتریال را توسط فشار حبابی به جلو حرکت می‌دهد و سپس بیومتریال بصورت قطره در یک مختصات از پیش تعیین شده بر روی اسلاید قرار می‌گیرد.

بخاطر مزیت‌های پرینت سه بعدی سریع ساختارها با ترکیب کردن تصویربرداری های CAD/CAE, CT (مهندسی به کمک کامپیوتر)، طراحی ساختاری بیومیمتیک کاربردی و فرآیندهای هیبریدی ژل/سلولی، داربست‌های سلول دار شخصی سازی شده تکنیکی جدید را فراهم آورده اند که به نتایج خوبی در آزمایشات سلولی و ایمپلنت‌های پزشکی رسید. جدول 1 پژوهش‌های جهانی و پیشرفت‌های اخیر را در داربست‌های هیدروژنی سلول دار خلاصه کرده است.

(2) اسمبلی مستقیم سلولی: محاصره سازی ترکیب سلول‌ها/ژل به داخل داربست‌های سه بعدی. کاشت مستقیم سلول‌ها به داربست‌های سه بعدی پرینت شده که سبب نرخ پایین تلقیح و افزایش نمایی فضای توزیع سلول‌ها می‌شود. برای حل این مشکلات محققان ترکیبی از سلول‌ها/ژل را به داربست‌هایی که از یک نوع ژل دیگر ساخته شده باشند می‌افزایند تا استحکام مکانیکی مناسب و شکل پذیری داربست‌های سه بعدی حاصل شود (شکل 8).

هیدروژل‌ها نیز نقشی را در محاصره سازی همگن و چسبندگی سلولی در این متد بازی می‌کنند. ناحیه رنگ دار شده همتوکسیلین-ائوزین (شکل 8 قسمت b) و ناحیه سافرانین 0 (شکل 8 قسمت c) سلول‌هایی فراوان با توزیع متقارن را همراه با حفرات (lacuna) نشان داد که تشکیل بافت غضروف دادند.

قراردادن درست و یکپارچه کوندروسیت‌ها به داخل داربست محیط رشد سه بعدی مناسبی را برای کوندروسیت‌ها با ترکیب همزمان استحکام ژل کلاژن با برخی خواص مکانیکی داربست‌های پلی لاکتیک کوگلایکولیک اسید (PLGA) نمونه سازی سریع فراهم می‌آورند. همانگونه که در شکل 9 نشان داده شده است سلول‌های دوکی شکل که بر سطح نمونه موجودند و سلول‌های چند لایه گرد لاکونها (lacunae) غضروف را در لایه‌های عمقی پدید آورده اند. بیشتر سلول‌های بسته بندی شده بالغ بودند و اکثر سلول‌ها با توزیع یکسان با lacunae گرد شده بودند. ماتریس غضروفی تشکیل شده در حفره‌های این بیومتریال‌ها تشکیل شده بود که سبب رشد بافت غضروف میشد. حفرات قابل مشاهده پس از اینکه داربست بصورت کامل تجزیه شده بود باقی ماندند. Hong و همکارانش سلول‌های جنینی کلیه انسانی (HEK) را داخل محلول کلاژن نوع 1 دم موش قرار دادند و سپس ترکیب را به داخل حفرات به هم پیوسته شبکه پرینت شده پلی (اتیلن گلایکول) (PEG) -سدیم آلژینات-نانو رس وارد کردند تا هیدروژلی مصنوعی ایجاد شود. سلول‌های بذر هفت روز پس از کاشته شدن نیز فعالیت بالایی داشتند (شکل 9 قسمت c) و اینکه هیدروژل‌های دارای نانو رس زیست سازگار هستند و برای کشت طولانی مدت مناسب هستند را تایید می‌کند.

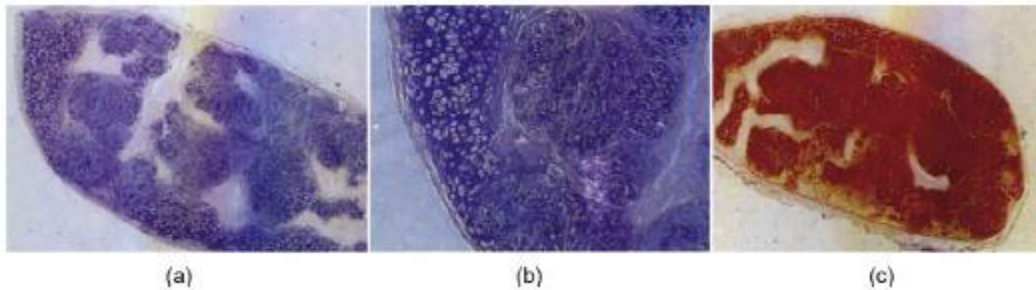
(3) اسمبلی مستقیم سلولی: پرینت مستقیم سلول‌ها/ژل. محاصره سازی مستقیم سلول‌ها یا ترکیب سلول‌ها/ژل به داربستی سه بعدی که میتواند ساختاری بیونیک را از ماتریس خارج سلولی in vitro شبیه سازی کند. نصب داربست به داخل جراحت میتواند سبب آسیب‌های ثانویه و مشکلاتی شود. برای فهم ترمیم in situ در in vivo بسیاری از محققان سلول‌ها را بصورت مستقیم به هیدروژل‌ها وارد کردند تا کنترل

همزمانی بر رشد سلولی و توزیع فضایی داشته باشند (شکل 7 قسمت c). Hockadady و همکارانش ترکیبی از پلی (اتیلن گلیکول)-دی آکریلات (PEG-DA) و آلژینات ترکیب شده با سلول های بینابینی دریچه آئورت خوک (PAVICS) را برای پرینت کردن بکار بردند. شکل 10 نشان میدهد که زنده بودن سلول های PAVICS در داربست ها تا 21 روز حدود 100٪ باقی ماند. این متد را میتوان برای تولید سریع مجراهای دریچه های ناهمگن آناتومیکی برای نصب سلول ها بکار برد. [46]

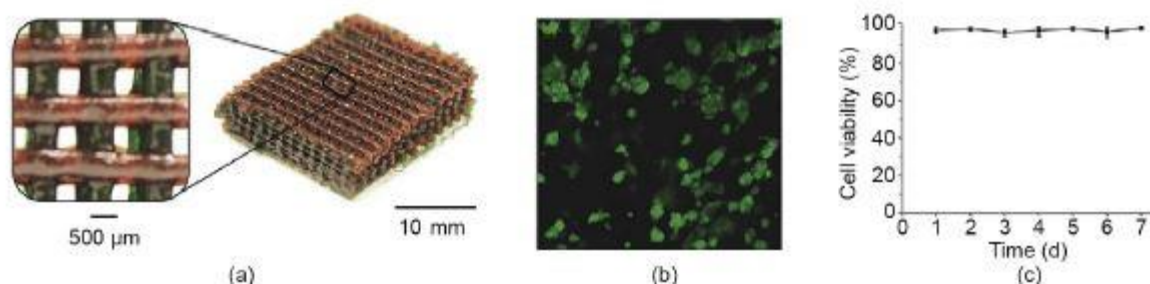
جدول 1: پژوهش های جهانی و پیشرفت های اخیر در داربست های شخصی سازی شده توسط تکنیک های متفاوت

دست یافت ها	سلول های کپسول شده	روش تولید	متریال	محققان
احتمال ترمیم آسیب های استئوکندرالی	کندروسیت انسان و نمونه های استئوژنیک	رسوب فیبری سه بعدی	آلژینات هیدروژل	Fedorovich و همکاران
نشان دادن عملکرد بیولوژیکی داربست های میکروساختاری	HUVECs	PSL	GelMA	Gauvin و همکاران
خواص داربست ها پایه گذاری شد	-	3DP	پودرهای پلیمری برپایه نشاسته	Lam و همکاران
زیست سازگاری خوب، اندازه حفرات و تخلخل مناسب	کندروسیت جنین خرگوش	تولید رسوب دماپایین	nHA/PLGA	Chen و همکاران
داربست های PCL پتانسیل این را دارند که در مهندسی بافت استخوان و غضروف بکار روند	فیبروبلاست ها و سلول های پریوستال انسان	FDM	PCL	Hutmacher و همکاران
داربست های PPF متقاطع در بافت های نرم و سخت زیست سازگارند	-	استریولیتوگرافی لیزر فرابنفش	PPF	Fisher و همکاران
نتایج in vivo نشان داد که داربست های PCL با دقت بالا سبب رشد بافتی بیشتر میشود.	فیبروبلاست ها	SLS	PCL	Williams و همکاران
خواص مکانیکی داربست ها بهتر از رگ های مصنوعی خونی است.	-	FDM	PLGA/PU	Zhang
سلول ها میتوانند به داربست های سه بعدی بچسبند و روی آن ها در شرایط استاتیک و جریانی زنده بمانند.	HC ها و سلول های کبد غیرپارانیشیمی از موش های Lewis	3DP	PLGA	Kim و همکاران
قابلیت زنده ماندن و عملکرد بالای سلول ها در ساختارهای dECM پرینت شده و بلوغ ساختاری بهبود یافته میوبلاست ها	بافت چربی، بافت غضروف و بافت قلب	3DP	PCL	Pati و همکاران

GeIMA: ژلاتین متآکریلات، PSL: استریولیتوگرافی تصویری، HUVECs: سلول های اندوتلیال ورید نافی انسان، 3DP: پرینت سه بعدی، nHA/PLGA: نانوهیدروکسی آپاتیت/پلی لاکتیک کو-گلیکولیک اسید، PCL: پلی کاپرولاکتون، FDM: مدل سازی با ساخت رشته های مذاب، PPF: پلی پروپیلین فومارات، SLS: بست و سخت سازی لیزری انتخابی، PU: پلی اورتان، HCs: هپاتوسایت ها، dECM: ماتریس خارج سلولی بدون سلول شده.



شکل 8. ژل PLGA-کلاژن با کندروسایت ها به مدت 12 هفته نصب شده تحت میکروسکوپ نوری. (a) رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اؤزین (x40)، (b) رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اؤزین (x100)، رنگ آمیزی سافرانین (x40)0



شکل 9. (a) شبکه پرینت شده با هیدروژل سخت و زیست سازگار، (b) سنجش زنده-مرده سلول های جنینی کلیه انسانی (HEK) در هیدروژل کلاژن کاشته شده در شبکه سه پرینت سه بعدی شده، (c) زنده بودن سلول های HEK پس از هفت روز

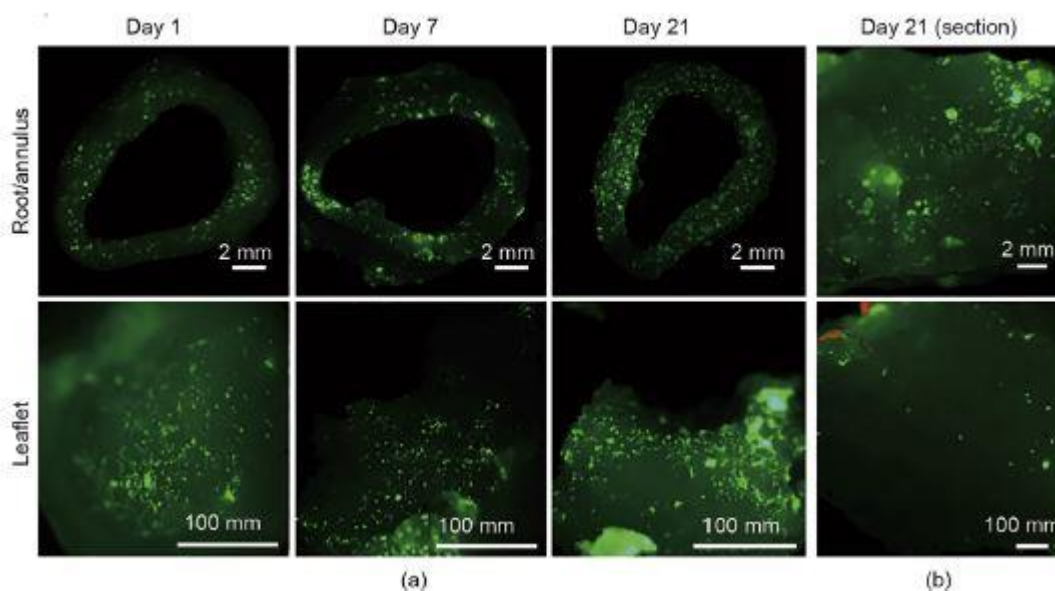
Xue و همکارانش سلول های پالپ دندان و ژل آلژینات/ژلاتین را برای تولید داربست هایی با شکل و اندازه دلخواه بنا بر برخی پارامترهای مشخص و با استفاده از بیوپرینتر ترکیب کردند. چگالی سلولی کنترل شده بود و سلول های زنده با فعالیت بالا به داخل شبکه سه بعدی چسبیدند. این پژوهش پایه و اساس تکنولوژی بیوپرینت کردن را با کاربردهایی در مهندسی بافت دندان بنا کرد و میتواندست متدی جدید را برای بازسازی دندانی ایجاد کند.

علاوه بر استفاده از تکنولوژی پرینت سه بعدی برای تولید ساختارهای بیولوژیک زنده *in vitro*، هیدروژل ها میتوانند بصورت مستقیم در ناحیه زخم برای ترمیم *in situ* پرینت شوند. این بدان معناست که صدمات پیچیده را به جای جایگزین کردن میتوان ترمیم کرد و روش های جدید برای ترمیم های حادقل تهاجمی نیز میتوانند کشف شوند.

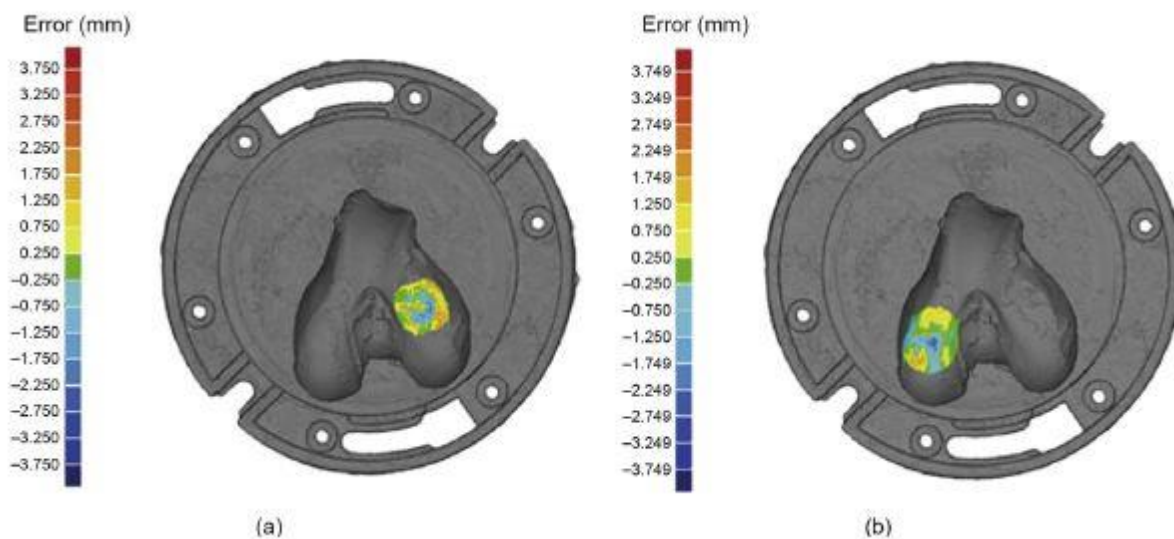
به عنوان مثال هیدروژل آلژینات و فرمول جدیدی از ماتریس استخوانی بدون مواد معدنی را برای ترمیم *in situ* غضروف و استخوان به ترتیب بکار برده اند. خطای سطح در نقاط ترمیم داخل محدوده قابل قبول پزشکی بود (شکل 11) [47].

علاوه بر ترمیم ارتوپدی، این تکنیک را میتوان به دیگر شاخه های بیومدیکال همانند بازسازی صورت شخصی سازی شده با کمترین تهاجم گسترش داد. با انتخاب دیگر متریال ها و سلول های مناسب برای کاشتن این کار قابل انجام است. Cui و همکارانش [48] پیشرفت های فوق العاده ای در پرینت های *in situ* سلول ژل داشتند. آن ها ترکیبی از پلی (اتیلن گلیکول) دی متا آکریلات (PEGDMA) و کندروسیت های مفصلی انسان را به عنوان زیست جوهر ایجاد کردند و سپس پرینت های *in situ* ای را برای نقایص غضروفی با استفاده از نور فرابنفش (UV) ساختند. سلول ها بصورت متقارنی در داربست ژلی پس از پرینت شدن توزیع شدند و فعالیت زیستی بالایی داشتند. جدول 2 مدول های فشرده

هیدروژل را نزدیک دامنه خواص غضروف مفصلی طبیعی بدن نشان میدهد و بدین ترتیب مواد مناسب برای مهندسی غضروف را از روی آن مشخص میتوان کرد.



شکل 10. تصویربرداری مرده-زنده از PAVIC ها . (a) PAVIC های زنده در ریشه (بالا) و ورقه (پایین) در دوره های متفاوت قابل مشاهده بود. (b) سلول های شناسایی شده در ناحیه بینابین ریشه و ورقه پس از 21 روز [45].



شکل 11. نمودار خطا از نمای بالای (a) نقص کندرال و (b) نقص استئوکندرال. اسکن های لیزری سطوح پرینت شده با هندسه مرجع CT اسکن های قبل صدمه مقایسه شدند [47].

گرچه پرینت *in situ* به شرایط محیطی همانند نورفرابنفش، دما و وجود کلسیم (برای شروع تغییر فاز پس از رسول در ساخت بافت *in vitro*) حل کرده است اما تقاضای زیادی برای برنامه ریزی دقیق مسیر و تغییر شکل (deformation) هنگام پرینت *in situ* وجود دارد.

پرینت داخل زخم بدن معناست که بهینه سازی های شیمیایی و نانوتوپوگرافی سطحی را نمیتوان با بهینه سازی سطح برطرف کرد. بدین دلیل محققان باید برای جلوگیری از چسبندگی باکتریایی ایمپلنت ها در بیوپرینت کردن *in situ* بیشتر تفکر کنند.

2.3.3. بهبود خواص مکانیکی داربست ها

داربست های شخصی سازی شده و مخصوصا جایگزین های مفصلی مهندسی سازی شده باید محیطی را با میکرو-تنش بوجود آورند که همچنان محیطی طبیعی برای سلول ها باشد، پایداری و یکپارچگی ساختاری را حفظ کند و استحکام مکانیکی داشته باشند که مشابه استخوان ساب کندرال و غضروف کناری ناحیه ایمپلنت باشد تا عملکرد تحمل بارگذاری فوری و طولانی مدت داشته باشد [49]. محققان معمولا تکنولوژی اتصال عرضی (cross linking) برای بهبود خواص مکانیکی متریال های ژل استفاده میکنند. به خاطر نقاط ضعف همانند چروکیدگی آسان، تردی و در کل خواص مکانیکی ضعیف این کار صورت میگیرد [50].

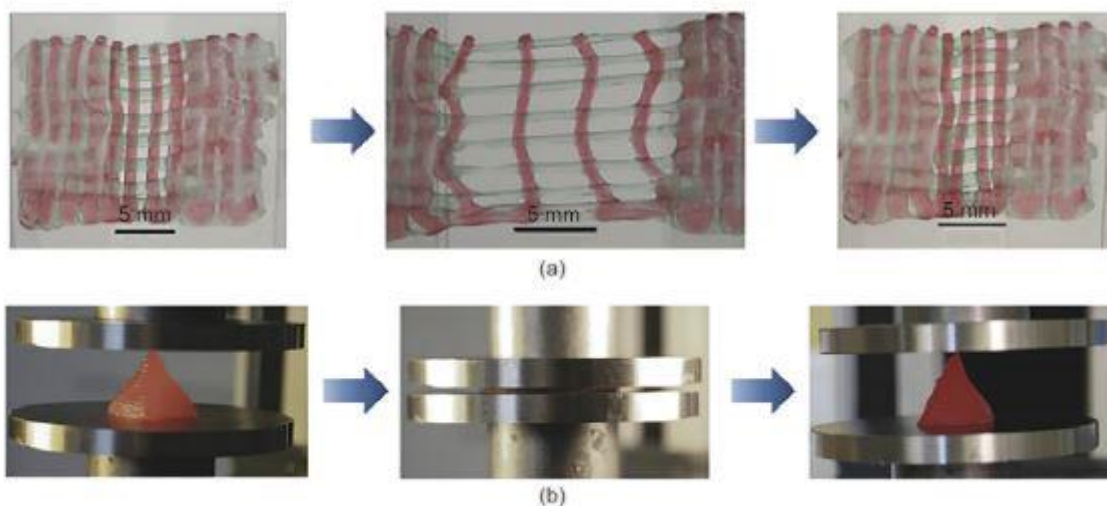
چنین تکنولوژی هایی معمولا شامل اتصال عرضی حرارتی، اتصال عرضی یونی و اتصال عرضی pH میشود. استفاده از گروه های عملردی متفاوت حین اتصال عرضی از استفاده اتصال عرضی های سمی برای سلول جلوگیری میکند [51]. به عنوان مثال Wu و همکارانش [52] داربست های شیشه ای بیوفعال پرینت سه بعدی شده ای با معماری سلسله مراتبی حفره ای و مزوپور (حفره های meso) مرتبی در اشکال گوناگون ساختند و سپس از الکل پلی وینل (PVA) به عنوان عامل اتصال عرضی حرارتی برای بهبود خواص مکانیکی استفاده کردند.

استفاده از تکنولوژی های اتصال عرضی متفاوت میتواند بصورت معناداری خواص مکانیکی را بهبود بخشد. به عنوان مثال از اتصال عرضی یونی میتوان برای تخلیه انرژی مکانیکی و از اتصال عرضی کووالانسی برای افزایش الاستیسیته استفاده کرد. Hong و همکارانش [44] شبکه ای درهم نفوذ کرده ای برای ساخت هیدروژل های سخت و کششی ایجاد کردند (شکل 12). تافنس هیدروژل زیست سازگار وابسته به ترکیب دو مکانیزم دارد: اتصال عرضی معکوس Ca^{2+} سدیم آلژینات انرژی مکانیکی مصرف میکند درحالیکه اتصال عرضی کووالانسی PEG الاستیسیته را کمتر از مقدار تغییر شکل بزرگ نگه میدارد. افزایش غلظت مواد پلیمری میتواند خواص مکانیکی هیدروژل ها را بهبود بخشد.

جدول 2: خواص PEGDMA پرینت شده یا نشده با یا بدون کندروسیت انسان

	PEGDMA content (% (w/v))	Mass-swelling ratio	Equilibrium water content (%)	Compressive modulus (kPa)
Printed	10 (without human chondrocytes)	12.54 ± 0.30	9.02 ± 0.19	37.75 ± 7.18
	10 (with human chondrocytes ^a)	11.80 ± 0.07	91.53 ± 0.05	30.14 ± 4.41
	20 (without human chondrocytes)	6.19 ± 0.10	83.85 ± 0.26	395.73 ± 80.40
	20 (with human chondrocytes ^a)	6.10 ± 0.05	83.60 ± 0.14	321.06 ± 43.99
Non-printed	10 (without human chondrocytes)	12.18 ± 0.01	91.74 ± 0.06	47.61 ± 2.80
	10 (with human chondrocytes ^a)	12.51 ± 0.04	92.00 ± 0.03	36.12 ± 8.44
	20 (without human chondrocytes)	6.68 ± 0.15	85.04 ± 0.34	483.75 ± 29.47
	20 (with human chondrocytes ^a)	6.75 ± 0.10	85.19 ± 0.23	372.40 ± 37.85

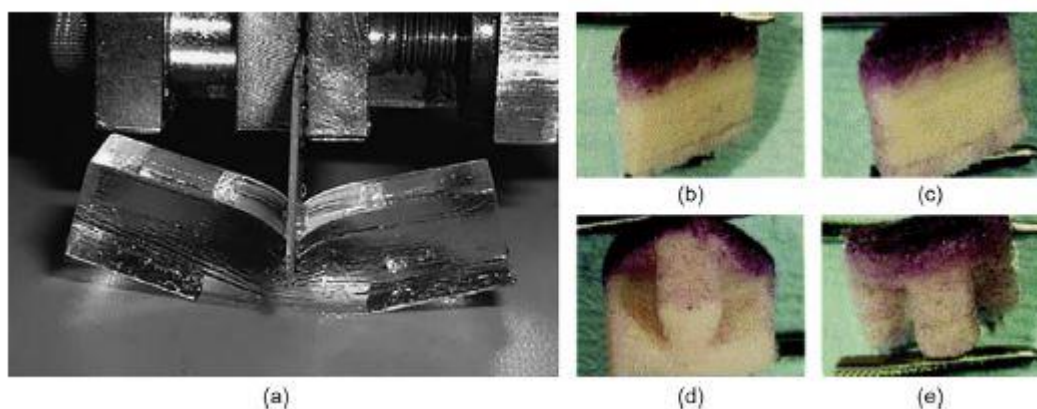
^a Human chondrocyte concentration in hydrogels: 5×10^6 cells mL⁻¹; w/v: weight/volume.



شکل 12. (a) مش دولایه پرینت شده که در یک محور تا سه برابر طول اولیه خود کش آمده و تقریباً تماماً به شکل اولیه خود پس از رهاسازی برگشته است. (b) مخروطی پرینت شده که تحت فشار کرنشی 95٪ قرار گرفته و به شکل اولیه خود پس از رهاسازی برمیگردد.

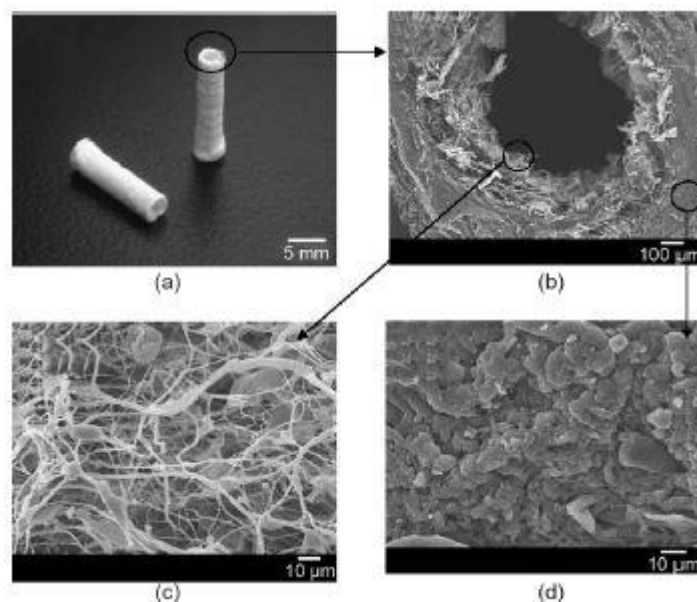
محققان اخیراً هیدروژل‌های با استحکام بالایی که در برابر پارگی مقاوم، تعداد سلول بالا و بافت نرم چندلایه مصنوعی ساخته‌اند. به عنوان مثال هیدروژل‌های دوشبکه (DN) از این شمار هستند [53-57]. Gong [58] یافت که هیدروژل‌های DN استحکام بالا که از پلیمر طبیعی پلی (2-آکریلامیدو-2-متیل-1-پروپان سولفونیک اسید) (PAMPS) پلی الکترولیت و پلی آکریلامید (PAAM) ساخته شده باشد ویژگی‌های خاصی را نشان داد: اصطکاک پایین، سایش کم و سازگاری سلولی مناسب (شکل 13 قسمت a). Sherwood و همکارانش [59] داربستی کامپوزیتی مهندسی بافت شده چندلایه از غضروف-استخوان (شکل 13 قسمت b تا e) ساختند. در نواحی بالایی داربست بخش غضروفی از D,L-PLGA/L-PLGA/tricalcium phosphate (PLA) برای سادگی کاشت همگن سلول‌ها ایجاد شده است. بخش پایینی استخوانی داربست شامل L-PLGA/tricalcium phosphate (TCP) کامپوزیت است که برای پیشینه کردن رشد استخوانی ساخته شده است. ناحیه گزار بین دو بخش شامل گرادیان مواد و تخلخل برای جلوگیری از لایه لایه شدگی است. تست‌های *in vivo* پیشنهاد می‌دهند که این داربست خواص مکانیکی برتری برای نصب *in vivo* و تعویض کامل مفصل دارد.

Cui و همکارانش [60] مجراهای دولایه پلی اورتان (PU) کلاژنی برای ترمیم عصب محیطی بوسیله یک نازل دوتایی و سیستم تولیدی رسوب فیبری با دمای پایین فراهم کردند. مجراهای عصبی پلی اورتان-کلاژن دولایه در شکل 14 قابل مشاهده هستند [60]. این طراحی ساختاری مزیت‌های کلاژن داخلی را برای سازگاری سلولی خوب با مزیت پلی اورتان برای خواص مکانیکی بهتر ترکیب می‌کند.



شکل 13. (a) تصویر هیدروژل سفت PAMPS/PAAm DN، (b) نمای دید عرضی داربست استئوکندرال MTT رنگ شده پس از کشت سلولی بالایی، (c) نمای دید عرضی داربست استئوکندرال MTT رنگ شده پس از کشت سلولی چرخشی، (d) نمای بیرونی داربست استئوکندرال MTT رنگ شده پس از کشت سلولی چرخشی [53-57].

MTT:3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide



شکل 14. موفولوژی یک مجرای عصبی پلی اورتان-کلاژن دولایه. (a) تصویر مجرای دولایه، (b) تصویر میکروسکوپ الکترونی رابط بین دو لایه ها (سطح مقطع)، (c) میکروساختارهای لایه کلاژنی، (d) میکروساختارهای لایه پلی اورتان [60].

2.4 پرینت مستقیم بافت و ارگان

کپسول کردن سلول ها به داخل داربست های زیست تخریب پذیر از طریق مهندسی بافت معمولی نمیتواند اطمینان دهد که سلول ها بصورت دقیق درون داربست ها نصب شده اند و فاکتورهای رشدی تنها بر رشد و تفکیک پذیری سلول های سطحی اثر میگذارند. بدین خاطر محققان تکنولوژی پرینت مستقیم فاکتور رشد و سلول را با هدف نهایی تولید بافت و ارگان مطالعه کرده اند. در سال 2000 پروفیسور Thomas Boland از دانشگاه Clemson در USA مفهومی جدید را به نام "پرینت سلول و ارگان" پیشنهاد کرد که پیدایش تکنولوژی بیوپرینت کردن سه بعدی جدید را آغاز کرد. ساختار بافت ها با عملکرد فیزیولوژیکی را میتوان با پرینت مواد متفاوت و "جوهر بیولوژیکی" حاوی سلول های بذریه فاکتورهای رشد و اجزای مغذی لایه به لایه همراه با کشت بافت یا ارگان پرینت شده تشکیل داد.

بزرگترین چالش فنی پرینت بافت و ارگان ها ساخت شبکه عروقی داخلی پیچیده ارگان ها است و نه فرایند ساخت. بدین خاطر بسیاری از محققان تمرکز خود را بر پرینت عروق خونی گذاشته اند. در سال 2009 کمپانی Ganovo در ایالات متحده اولین کمپانی بود که از تکنولوژی پرینت سه بعدی برای تولید پروتز های عروقی استفاده کرد [61]. دانشگاه کالیفرنیا جنوبی علوم سلامت و دانشگاه میشیگان آگارز را به عنوان ساپورت با سلول هایی برای پرینت مشترک شبکه عروقی ترکیب کردند. این شبکه اندازه ای کمتر از 3mm داشت و با استفاده از دستگاه پرینت سه بعدی ایجاد شد. [62]

دانشمندان موسسه Wyss برای مهندسی تحت تاثیر بیولوژی در دانشگاه هاروارد [63] متدی جدید برای بیوپرینت سه بعدی را برای ساخت ساختارهای زنده پیچیده با میکرو عروق ها گزارش کردند که با استفاده از سرهای پرینت و "جوهر" مخصوص این کار را انجام میداد. حین تولید بافت ترکیبی با عروق خونی، انواع زیادی از سلول ها و ماتریس خارج سلولی (ECM) و یک بیوپرینتر با سرهای پرینت (Print head) با کنترل مستقیم از هم برای ایجاد این ساختارهای غیرهمگن با جنس متنوع طراحی شده است که باید به دقت و همزمان پرینت شوند. ژلاتین متآکریلات (GelMA) به عنوان حامل ماتریس و سلول بکار میرد. در حالیکه پلی (دی متیل سیلوکسان) (PDMS) رنگ شده با فلئورسان سازهای متفاوت برای برچسب گذاری بیومتریال های متفاوت (شکل 15 قسمت a,b) [63] بکار می رود. معماری ناهمسانگرد سه بعدی (شکل 15 قسمت c) که در آن هر لایه از GelMA متفاوتی تشکیل شده است نیز سپس پرینت مشترک میشود. پروتئین های فلئورسنت سبز و قرمز به ترتیب نشانگر فیبروبلاست های پستی نوزاد انسان (HNDfs) و سلول های اندوتلیال ورید نافی انسان (HUVECs) هستند که به راحتی در شکل 15 قسمت d,e قابل مشاهده است و نشان میدهد که HUVEC ها میتوانند بهجسند و در کانال های ساخته شده تکثیر یابند تا بافت زنده عملکردی و حتی ارگان ها را بوجود آورند.

موارد موافقی از پرینت بافت و ارگان توسط محققان خارجی و داخلی وجود دارد. Michael و همکارانش [64] تکنیک بیوپرینت به کمک لیزر را برای ایجاد جایگزینی سلول دار برای پوست با جاگزینی کردن فیبروبلاست ها و کراتینوسیت ها در الگویی فضایی سه بعدی خاص طراحی کردند (شکل 16). ساختار پرینت شده پوست شامل فیبروبلاست های برچسب خورده به رنگ قرمز و کراتینوسیت های به رنگ سبز در بالای MatriDerm است که درون زخم در پوست موش قرار میگیرد (شکل 16 قسمت b). دیگر بخش های پوست موش ثابت میمانند. در آزمایش ساختار پوستی با بکارگیری ناحیه چین خوردگی پوستی در موش، سلول های پرینت شده فعال باقی می ماندند و به تکثیر ادامه میدادند و ECM ترشح میکردند. در ادامه همانگونه که در شکل 16 قسمت c قابل مشاهده است برخی عروق خونی در حال رشد نیز از بستر زخم و لبه ی زخم یافت شد. یک تکنیک بیوپرینت برای چند لایه سلولی پیش نیاز برای ایجاد بافت های پیچیده تر است.

Mannoor و همکارانش [65] گوشی بیونیک را با پرینت سه بعدی ماتریس هیدروژلی آلژینات با کندروسیت های کاشته شده رویش و نانوذرات نقره با هندسه آناتومیکی گوش انسان و الکترودهای شبیه حلزونی گوش (شکل 17 قسمت a,b) تولید کردند. گوش پرینت شده بیونیک حساسیت شنوایی بهتری نسبت به فرکانس های رادیویی در مقایسه با گوش انسان داشت. یک بیولوژیست از دانشگاه Cornell سلول های بنیادی و مواد بیوپلیمر را برای پرینت درپچه قلبی فعال بکار برد (شکل 17 قسمت c) و سلول های بنیادی به مرور زمان تبدیل به سلول های بدن انسان شدند. اکنون تعدادی از ارگان های پرینت شده برای کاربردهای پزشکی وجود دارد. در شکل 17 قسمت d میبینید که محققان دانشگاه میشیگان یک نای (trachea) مصنوعی پرینت سه بعدی شده را درون حلق (windpipe) نوزادی با مشکلات بدو تولدی قرار نصب کردند تا به تنفس او کمک شود و این اولین پیوند ارگان انسانی پرینت سه بعدی شده موفق در جهان بود.

- [1] Wolfe RA, Roys EC, Merion RM. Trends in organ donation and transplantation in the United States, 1999–2008. *Am J Transplant* 2010;10(4 Pt 2):961–2.
- [2] Yeong WY, Chua CK, Leong KF, Chandrasekaran M, Lee MW. Indirect fabrication of collagen scaffold based on inkjet printing technique. *Rapid Prototyping J* 2006;12(4):229–37.
- [3] Butscher A, Böhner M, Doeblin N, Hofmann S, Müller R. New depowderingfriendly designs for three-dimensional printing of calcium phosphate bone substitutes. *Acta Biomater* 2013;9(11):9149–58.
- [4] Saunders RE, Gough JE, Derby B. Delivery of human fibroblast cells by piezoelectric drop-on-demand inkjet printing. *Biomaterials* 2008;29(2):193–203.
- [5] Xu T, Zhao W, Zhu JM, Albanna MZ, Yoo JJ, Atala A. Complex heterogeneous tissue constructs containing multiple cell types prepared by inkjet printing technology. *Biomaterials* 2013;34(1):130–9.
- [6] Derby B. Printing and prototyping of tissues and scaffolds. *Science* 2012;338(6109):921–6.
- [7] Wang K, Ho CC, Zhang C, Wang B. A review on the 3D printing of functional structures for medical phantoms and regenerated tissue and organ applications. *Engineering* 2017;3(5):653–62.
- [8] Zhao Y, Yao R, Ouyang L, Ding H, Zhang T, Zhang K, et al. Three-dimensional printing of Hela cells for cervical tumor model in vitro. *Biofabrication* 2014;6(3):035001.
- [9] Yap YL, Tan YSE, Tan HKJ, Zhen KP, Xue YL. 3D printed bio-models for medical applications. *Rapid Prototyping J* 2017;23(2):227–35.
- [10] Mogali SR, Yeong WY, Tan H, Tan GJS, Abrahams PH, Zary N, et al. Evaluation by medical students of the educational value of multi-material and multi-colored three-dimensional printed models of the upper limb for anatomical education. *Anat Sci Educ* 2018;11(1):54–64.
- [11] Altamimi AA, Fernandes PRA, Peach C, Cooper G, Diver C. Metallic bone fixation implants: a novel design approach for reducing the stress shielding phenomenon. *Vitr Phys Prototyping* 2017;12(2):141–51.
- [12] Zhang Y, Yang Z, Li X, Chen Y, Zhang S, Du M, et al. Custom prosthetic reconstruction for proximal tibial osteosarcoma with proximal tibiofibular joint involved. *Surg Oncol* 2008;17(2):87–95.
- [13] Galasso O, Mariconda M, Brando A, Iannò B. Disassembly of a distal femur modular prosthesis after tumor resection. *J Arthroplasty* 2010;25(2):334.e5–9.
- [14] Winder J, Cooke RS, Gray J, Fannin T, Fegan T. Medical rapid prototyping and 3D CT in the manufacture of custom made cranial titanium plates. *J Med Eng Technol* 1999;23(1):26–8.
- [15] Bian WG, Lei P, Liang FH, Bone XuHZ. morphogenetic protein-2 and gel complex on hydroxyapatite-coated porous titanium to repair defects of distal femur in rabbits. *Chin J Orthop Trauma* 2007;9(6):550–4. Chinese.
- [16] Sing SL, Wang S, Agarwala S, Wiria FE, Ha TMH, Yeong WY. Fabrication of titanium based biphasic scaffold using selective laser melting and collagen immersion. *Int J Bioprinting* 2017;1(3):65–71.
- [17] Sánchez-Salcedo S, Colilla M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. Preventing bacterial adhesion on scaffolds for bone tissue engineering. *Int J Bioprinting* 2016;2(1):20–34.
- [18] Zong QG, Yuan CJ, Wang YF, Su ZP. Design and preparation of biocompatible zwitterionic hydroxyapatite. *J Mater Chem B* 2013;1(11):1595–606.
- [19] Izquierdo-Barba I, García-Martín JM, Álvarez R, Palmero A, Esteban J, Pérez-Jorge C, et al. Nanocolumnar coatings with selective behavior towards osteoblast and *Staphylococcus aureus* proliferation. *Acta Biomater* 2015;15:20–8.
- [20] Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993;260(5110):920–6.
- [21] Li S, Qian T, Wang X, Liu J, Gu X. Noncoding RNAs and their potential therapeutic applications in tissue engineering. *Engineering* 2017;3(1):3–15.
- [22] Billiet T, Vandenhaute M, Schelthout J, Van Vlierberghe S, Dubruel P. A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. *Biomaterials* 2012;33(26):6020–41.
- [23] Jia A, Teoh JEM, Suntornnond R, Chua CK. Design and 3D printing of scaffolds and tissues. *Engineering* 2015;1(2):261–8.
- [24] Mosadegh B, Xiong G, Dunham S, Min JK. Current progress in 3D printing for cardiovascular tissue engineering. *Biomed Mater* 2015;10(3):034002.
- [25] Ng WL, Wang S, Yeong WY, Naing MW. Skin bioprinting: impending reality or fantasy? *Trends Biotechnol* 2016;34(9):689–99.
- [26] Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 2000;21(24):2529–43.
- [27] Pan T, Cao X. Progress in the development of hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. *Mater Chin* 2015;34(3):236–45. Chinese.
- [28] Ozbolat IT, Hospodiuk M. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting. *Biomaterials* 2016;76(37):321–43.
- [29] Gudapati H, Dey M, Ozbolat I. A comprehensive review on droplet-based bioprinting: past, present and future. *Biomaterials* 2016;102:20–42.
- [30] Ng WL, Lee JM, Yeong WY, Win Naing M. Microvalve-based bioprinting—process, bio-inks and applications. *Biomater Sci* 2017;5(4):632–47.
- [31] Koch L, Brandt O, Deiwick A, Chichkov B. Laser assisted bioprinting at different wavelengths and pulse durations with a metal dynamic release layer: a parametric study. *Int J Bioprinting* 2017;3(1):42–53.
- [32] Fedorovich NE, Schuurman W, Wijnberg HM, Prins HJ, van Weeren PR, Malda J, et al. Biofabrication of osteochondral tissue equivalents by printing topologically defined, cell-laden hydrogel scaffolds. *Tissue Eng Part C Methods* 2012;18(1):33–44.
- [33] Gauvin R, Chen YC, Lee JW, Soman P, Zorlutuna P, Nichol JW, et al.

Microfabrication of complex porous tissue engineering scaffolds using 3D projection stereolithography. *Biomaterials* 2012;33(15):3824–34.

[34] Lam CXF, Mo XM, Teoh SH, Hutmacher DW. Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer. *Mater Sci Eng C* 2002;20(1):49–56.

[35] Chen L, Zhu WM, Fei ZQ, Chen JL, Xiong JY, Zhang JF, et al. The study on biocompatibility of porous nHA/PLGA composite scaffolds for tissue engineering with rabbit chondrocytes in vitro. *Biomed Res Int* 2013;2013:412745.

[36] Hutmacher DW, Schantz T, Zein I, Ng KW, Teoh SH, Tan KC. Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling. *J Biomed Mater Res* 2001;55(2):203–16.

[37] Fisher JP, Vehof JWM, Dean D, van der Waerden JP, Holland TA, Mikos AG, et al. Soft and hard tissue response to photocrosslinked poly(propylene fumarate) scaffolds in a rabbit model. *J Biomed Mater Res* 2002;59(3):547–56.

[38] Williams JM, Adewunmi A, Schek RM, Flanagan CL, Krebsbach PH, Feinberg SE, et al. Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering. *Biomaterials* 2005;26(23):4817–27.

[39] Zhang L. Fabrication and fundamental research of multi-branched blood vessel scaffolds with multi-layered wall [dissertation]. Beijing: Tsinghua University; 2006.

[40] Kim SS, Utsunomiya H, Koski JA, Wu BM, Cima MJ, Sohn J, et al. Survival and function of hepatocytes on a novel three-dimensional synthetic biodegradable polymer scaffold with an intrinsic network of channels. *Ann Surg* 1998;228(1):8–13.

[41] Pati F, Jang J, Ha DH, Won Kim S, Rhie JW, Shim JH, et al. Printing threedimensional tissue analogues with decellularized extracellular matrix bioink. *Nat Commun* 2014;5:3935. colored three-dimensional printed models of the upper limb for anatomical education. *Anat Sci Educ* 2018;11(1):54–64.

[11] Altamimi AA, Fernandes PRA, Peach C, Cooper G, Diver C. Metallic bone fixation implants: a novel design approach for reducing the stress shielding phenomenon. *Vitr Phys Prototyping* 2017;12(2):141–51.

[12] Zhang Y, Yang Z, Li X, Chen Y, Zhang S, Du M, et al. Custom prosthetic reconstruction for proximal tibial osteosarcoma with proximal tibiofibular joint involved. *Surg Oncol* 2008;17(2):87–95.

[13] Galasso O, Mariconda M, Brando A, Iannò B. Disassembly of a distal femur modular prosthesis after tumor resection. *J Arthroplasty* 2010;25(2):334.e5–9.

[14] Winder J, Cooke RS, Gray J, Fannin T, Fegan T. Medical rapid prototyping and 3D CT in the manufacture of custom made cranial titanium plates. *J Med Eng Technol* 1999;23(1):26–8.

[15] Bian WG, Lei P, Liang FH, Bone XuHZ. morphogenetic protein-2 and gel complex on hydroxyapatite-coated porous titanium to repair defects of distal femur in rabbits. *Chin J Orthop Trauma* 2007;9(6):550–4. Chinese.

[16] Sing SL, Wang S, Agarwala S, Wiria FE, Ha TMH, Yeong WY. Fabrication of titanium based biphasic scaffold using selective laser melting and collagen immersion. *Int J Bioprinting* 2017;1(3):65–71.

[17] Sánchez-Salcedo S, Colilla M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. Preventing bacterial adhesion on scaffolds for bone tissue engineering. *Int J Bioprinting* 2016;2(1):20–34.

[18] Zong QG, Yuan CJ, Wang YF, Su ZP. Design and preparation of biocompatible zwitterionic hydroxyapatite. *J Mater Chem B* 2013;1(11):1595–606.

[19] Izquierdo-Barba I, García-Martín JM, Álvarez R, Palmero A, Esteban J, Pérez-Jorge C, et al. Nanocolumnar coatings with selective behavior towards osteoblast and *Staphylococcus aureus* proliferation. *Acta Biomater* 2015;15:20–8.

[20] Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993;260(5110):920–6.

[21] Li S, Qian T, Wang X, Liu J, Gu X. Noncoding RNAs and their potential therapeutic applications in tissue engineering. *Engineering* 2017;3(1):3–15.

[22] Billiet T, Vandenhoute M, Schelfhout J, Van Vlierberghe S, Dubruiel P. A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. *Biomaterials* 2012;33(26):6020–41.

[23] Jia A, Teoh JEM, Suntornnond R, Chua CK. Design and 3D printing of scaffolds and tissues. *Engineering* 2015;1(2):261–8.

[24] Mosadegh B, Xiong G, Dunham S, Min JK. Current progress in 3D printing for cardiovascular tissue engineering. *Biomed Mater* 2015;10(3):034002.

[25] Ng WL, Wang S, Yeong WY, Naing MW. Skin bioprinting: impending reality or fantasy? *Trends Biotechnol* 2016;34(9):689–99.

[26] Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 2000;21(24):2529–43.

[27] Pan T, Cao X. Progress in the development of hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. *Mater Chin* 2015;34(3):236–45. Chinese.

[28] Ozbolat IT, Hospodiuk M. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting. *Biomaterials* 2016;76(37):321–43.

[29] Gudapati H, Dey M, Ozbolat I. A comprehensive review on droplet-based bioprinting: past, present and future. *Biomaterials* 2016;102:20–42.

[30] Ng WL, Lee JM, Yeong WY, Win Naing M. Microvalve-based bioprinting—process, bio-inks and applications. *Biomater Sci* 2017;5(4):632–47.

[31] Koch L, Brandt O, Deiwick A, Chichkov B. Laser assisted bioprinting at different wavelengths and pulse durations with a metal dynamic release layer: a parametric study. *Int J Bioprinting* 2017;3(1):42–53.

[32] Fedorovich NE, Schuurman W, Wijnberg HM, Prins HJ, van Weeren PR, Malda J, et al. Biofabrication of osteochondral tissue equivalents by printing topologically defined, cell-laden hydrogel scaffolds. *Tissue Eng Part C Methods* 2012;18(1):33–44.

[33] Gauvin R, Chen YC, Lee JW, Soman P, Zorlutuna P, Nichol JW, et al. Microfabrication of complex porous tissue engineering scaffolds using 3D

- projection stereolithography. *Biomaterials* 2012;33(15):3824–34.
- [34] Lam CXF, Mo XM, Teoh SH, Hutmacher DW. Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer. *Mater Sci Eng C* 2002;20(1):49–56.
- [35] Chen L, Zhu WM, Fei ZQ, Chen JL, Xiong JY, Zhang JF, et al. The study on biocompatibility of porous nHA/PLGA composite scaffolds for tissue engineering with rabbit chondrocytes in vitro. *Biomed Res Int* 2013;2013:412745.
- [36] Hutmacher DW, Schantz T, Zein I, Ng KW, Teoh SH, Tan KC. Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling. *J Biomed Mater Res* 2001;55(2):203–16.
- [37] Fisher JP, Vehof JWM, Dean D, van der Waerden JP, Holland TA, Mikos AG, et al. Soft and hard tissue response to photocrosslinked poly(propylene fumarate) scaffolds in a rabbit model. *J Biomed Mater Res* 2002;59(3):547–56.
- [38] Williams JM, Adewunmi A, Schek RM, Flanagan CL, Krebsbach PH, Feinberg SE, et al. Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering. *Biomaterials* 2005;26(23):4817–27.
- [39] Zhang L. Fabrication and fundamental research of multi-branched blood vessel scaffolds with multi-layered wall [dissertation]. Beijing: Tsinghua University; 2006.
- [40] Kim SS, Utsunomiya H, Koski JA, Wu BM, Cima MJ, Sohn J, et al. Survival and function of hepatocytes on a novel three-dimensional synthetic biodegradable polymer scaffold with an intrinsic network of channels. *Ann Surg* 1998;228(1):8–13.
- [41] Pati F, Jang J, Ha DH, Won Kim S, Rhie JW, Shim JH, et al. Printing three-dimensional tissue analogues with decellularized extracellular matrix bioink. *Nat Commun* 2014;5:3935.