

فناوری پرینت سه بعدی زیستی

ساقی فدائی

استاد راهنما: دکتر امیلیا مرادی

پایان نامه دورهء لیسانس

دپارتمان زیست شناسی

موسسه علمی آزاد

Bahai Institute for Higher Education

بهار ۱۳۹۹

سپاسگذاری

با تشکر فراوان از خانم دکتر امیلیا مرادی که در طول راه همراهم بودند و با راهنمایی ها و همین طور اطمینان قلبی که به من دادند کمک بسیاری کردند. از دپارتمان محترم زیست شناسی نیز سپاس گذارم که در تمام طول سال های تحصیل مرا تشویق و حمایت کردند.

همچنین از صبر و حمایت پدر و مادر عزیزم که اولین معلم های من در زندگی بوده اند و همواره در طول تحصیل پشتیبانم بوده اند بی نهایت سپاس گذارم. بابای خوبم ممنونم که باعث شدی خودم را از زاویه دیگری ببینم و با بخشندگی تمام، کوتاهی هایم در جبران خوبیهایت را نادیده می گیری. مامان گلم مرسی که باعث رشد شدی، به من اعتماد به نفس دادی و با صبوری بزرگترین درس های زندگیم را به من آموختی و از همه مهمتر اینکه همیشه جوان ماندن کار سختی نیست، هیچ کلمه ای قادر به بیان میزان قدردانی ام از داشتن مادری چون شما نیست. خواهرم که همیشه نگرانی های من را درک کرده ای و باعث شده ای زندگیم پر از لحظه های شاد و خاطرات انرژی بخش باشد ممنونم که همیشه لبخند را به لبم میاوری و به من اعتماد به نفس می دهی. همسر عزیزم با داشتن پشتیبانی چون تو که در تمامی مراحل زندگی مرا حمایت کرده است خود را قوی تر از هر زمان میبینم و به آینده امیدوارتر می شوم، ممنونم که باعث رشد من می شوی و باعث می شوی انسان بهتری باشم. تک تک شما عزیزان هستید که به من انگیزه می دهید تا هر روزم شادتر از قبل باشم.

چکیده

با اختراع صنعت چاپ در قرن پانزدهم، امکان تکثیر و انتشار وسیع اطلاعات با هزینه ای اندک فراهم شد. در دهه گذشته پیشرفت های فراوانی در رابطه با ساختار پرینترها از جمله پرینترهای سه بعدی صورت گرفت و اکنون پرینترهای سه بعدی نقش گسترده ای در زمینه های مختلف از جمله هنر، صنایع غذایی، هوافضا و همچنین پزشکی ترمیمی و مهندسی بافت ایفا می کنند. امروزه پرینترهای سه بعدی زیستی جهت ساخت بافت ها و اندام ها به منظور استفاده پزشکان، محققان و بیماران مورد استفاده می باشند. پرینت سه بعدی زیستی اخیراً به فرآیندی کارآمد برای ساخت داربست های زیستی، ایمپلنت های پروتزی بافتی و مدل های ساختاری با کیفیت از بافت ها و اندام ها تبدیل شده است و در تلاش است تا در شرایط آزمایشگاهی بافت هایی با پیچیدگی های بافت های طبیعی بدن بسازد.

پرینترهای سه بعدی زیستی برای تهیه ساختارهای سه بعدی از برنامه های کامپیوتری به منظور انتقال جوهرهای زیستی به سطوح مناسب استفاده می کنند. جوهرهای زیستی که پرینترهای زیستی به آن ها نیازمند هستند، مواد زیست سازگاری از جمله سوسپانسیون های سلولی، هیدروژل های مملو از سلول، حمل کننده های میکرونی، اسفروئیدهای سلولی/بافتی و اجزاء ماتریکس فاقد سلول هستند که در تکنولوژی های متفاوت پرینت زیستی مورد استفاده قرار می گیرند.

تکنولوژی های پرینت زیستی در سه دسته کلی جای می گیرند: پرینترهای جوهر افشان زیستی، پرینترهای رسوب ساز زیستی و پرینترهای لیزری زیستی. با وجود تفاوت هایی که در انواع پرینترهای سه بعدی زیستی وجود دارند آنچه در هر سه نوع پرینتر مورد اهمیت است، نزدیک بودن ساختار بافت پرینت شده به بافت های طبیعی و حفظ بقای سلول ها در تمام مراحل پرینت و همچنین پس از آن می باشد. استفاده از روش های تصویربرداری مانند میکروسکوپ های نوری، ام آر آی و سی تی اسکن در پرینت سه بعدی زیستی اهمیت به سزایی دارد زیرا بدین وسیله محققان قادرند سازه هایی با ساختار صحیح و سایز و شمایل اختصاصی برای نیازهای تحقیقاتی و درمانی تولید کنند.

تکنولوژی پرینت سه بعدی زیستی می تواند موجب تغییرات چشمگیری در علوم پایه و پزشکی شود از جمله کاهش استفاده از حیوانات در تحقیقات، امکان ساخت اندام های حیاتی انسانی، پوست، استخوان، مفصل و غضروف برای بیماران نیازمند و اصلاح و پیشرفت نتایج تحقیقات آزمایشگاهی. با وجود پیشرفت های روز افزون پرینت زیستی سه بعدی، هنوز چالش هایی وجود دارند که نیازمند اصلاح هستند از جمله محدودیت ارسال مواد غذایی و اکسیژن به درونی ترین بخش های بافت پرینت شده، وضوح سطح و سرعت پرینت.

Abstract

Printing press invented in 15th century and since then, it has been possible to rapidly replicate and widely spread the information. In past decade, different types of printers have been introduced and advanced remarkably and at the moment three dimensional (3D) printers are widely used in several fields such as arts, food industry, aerospace as well as regenerative medicine and biomedical and tissue engineering. Similar to any other printers, bio-printers are high-throughput tools and are used to produce cell models and tissues for medical doctors, scientists and patients. Lately, 3D printing appeared to be an efficient tool to make biomaterial scaffolds, tissue implant prostheses and physical models of tissues and organs mimicking the complexity of in-vivo tissues.

To create 3D structures, 3D printers require appropriate computer software to transfer biomaterials and cells onto appropriate surfaces. Bio-inks, which are required for bio-printing, are biocompatible materials such as cell suspensions, cell-laden hydrogels, micro-carriers, cell/tissue spheroids and decellularized matrix components. There are three different bio-printers including inkjet bio-printing, extrusion bio-printing and light-assisted bio-printing. These have been used in different bio-printing techniques. Despite of their differences, they all aim to keep cells and tissues viable during printing processes in order to create tissue models similar to body tissues.

Using imaging techniques such as optical microscopes, magnetic resonance imaging (MRI) and CT scan in 3D bio-printing is crucial in order to produce anatomically-correct structures with customized size and shape to meet researchers and patients' need.

3D bio-printing is an innovative achievement in science and it aims to decrease animal use in research, to provide human vital organs, skin, bones, joints and cartilage, etc. for patients in need and to improve the lab-based research. Despite of all advances in 3D bio-printing technologies, there are still several challenges such as limited oxygen and nutrient supply to the innermost parts of the bio-printed structures, resolution of printed models and printing speed, which must be overcome.

فهرست مطالب

فصل اول: پرینت زیستی سه بعدی

۱,۱	مقدمه	۲
۱,۱,۱	تفاوت محیط های سه بعدی با اندام های قرار گرفته بر روی تراشه	۳
۱,۲	خلاصه ای از تاریخچه مهندسی بافت و پرینت زیستی	۴
۱,۲,۱	سلول های بنیادی	۵
۱,۲,۲	برتری محیط های کشت سه بعدی و مهندسی بافت نسبت به محیط های دوبعدی	۶
۱,۲,۳	نخستین مدل های سه بعدی آزمایشگاهی و نخستین کاربردهای درمانی	۶
۱,۲,۴	جدیدترین پیشرفت ها و نقایص پیش رو در مهندسی بافت	۸
۱,۳	موفقیت تکنولوژی پرینت زیستی در تهیه و ساخت مدل های پیچیده سه بعدی	۸
۱,۴	فاکتورهای اساسی در انواع پرینترهای سه بعدی زیستی	۹
۱,۴,۱	وضوح سطح (دقت و تفکیک پذیری)	۹
۱,۴,۲	حفظ بقای سلول ها حین فرآیند پرینت	۱۰
۱,۴,۲,۱	دهانه پرینتر	۱۰
۱,۴,۳	مواد زیستی استفاده شده در پرینترها	۱۱
۱,۵	خلاصه مطلب	۱۳

۱,۶ فهرست منابع ۱۵

فصل دوم: انواع پرینت زیستی

۲,۱ مقدمه ۱۸

۲,۲ تکنولوژی پرینت و روش های پرینت سه بعدی ۱۸

۲,۳ پرینترهای جوهرافشان زیستی ۲۰

۲,۳,۱ انواع پرینترهای جوهرافشان زیستی ۲۲

۲,۳,۱,۱ پرینترهای جوهرافشان حرارتی ۲۲

۲,۳,۱,۲ پرینترهای جوهرافشان صوتی ۲۳

۲,۳,۲ محدودیت های پرینترهای جوهرافشان ۲۵

۲,۳,۳ مزیت های پرینترهای جوهرافشان ۲۶

۲,۴ پرینترهای رسوب ساز ۲۷

۲,۴,۱ سیستم های اعمال فشار در پرینترهای رسوب ساز ۲۹

۲,۴,۲ مواد مطلوب در پرینت رسوبی ۳۱

۲,۴,۳ مزیت های پرینت رسوبی ۳۱

۲,۴,۳,۱ سرعت ۳۲

۲,۴,۳,۲ دریافت غلظت های بالای سلولی ۳۲

- ۲, ۴, ۳, ۳ افزایش نرخ بقای سلول ها ۳۳
- ۲, ۴, ۴ محدودیت های پرینترهای رسوب ساز ۳۳
- ۲, ۵ پرینترهای لیزری زیستی ۳۴
- ۲, ۵, ۱ مزیت های پرینت لیزری زیستی ۳۵
- ۲, ۵, ۲ محدودیت های پرینت لیزری زیستی ۳۷
- ۲, ۵, ۲, ۱ فقدان دهانه پرینت ۳۷
- ۲, ۵, ۲, ۲ تنظیم سرعت انعقاد مواد مصرفی ۳۸
- ۲, ۵, ۲, ۳ تبخیر لایه فلزی جذب کننده لیزر ۳۸
- ۲, ۶ انواع تصویربرداری سه بعدی ۳۹
- ۲, ۶, ۱ میکروسکوپ نوری ۴۱
- ۲, ۶, ۲ پرتو ایکس ۴۱
- ۲, ۶, ۳ ام آر آی ۴۲
- ۲, ۶, ۴ میکروسکوپ الکترونی ۴۳
- ۲, ۶, ۵ میکروسکوپ نیروی اتمی ۴۳
- ۲, ۶, ۶ میکروسکوپ صوتی ۴۴
- ۲, ۶, ۷ میکروسکوپ هسته ای ۴۴

۴۵..... ۲,۶,۸ روش های چندین کیفیتی

۴۵..... ۲,۷ خلاصه مطلب

۴۷..... ۲,۸ فهرست منابع

فصل سوم: مواد مورد استفاده در پرینت زیستی

۵۱..... ۳,۱ مقدمه

۵۲..... ۳,۲ جوهرهای زیستی

۵۳..... ۳,۳ پلیمرهای زیست سازگار

۵۴..... ۳,۴ هیدروژل

۵۶..... ۳,۴,۱ انواع هیدروژل

۵۷..... ۳,۴,۱,۱ هیدروژل های مصنوعی

۵۸..... ۳,۴,۱,۱,۱ مزایا و محدودیت های هیدروژل های مصنوعی

۵۹..... ۳,۴,۱,۲ هیدروژل های طبیعی

۶۱..... ۳,۴,۱,۲,۱ مزایا و محدودیت های هیدروژل های طبیعی

۶۱..... ۳,۴,۱,۳ هیدروژل های مخلوط

۶۲..... ۳,۵ ماتریکس خارج سلولی

۶۴..... ۳,۵,۱ منابع سلولی ماتریکس خارج سلولی

۳,۶	ماتریکس فاقد سلول	۶۴
۳,۶,۱	بازگردانی سلول ها به ماتریکس فاقد سلول	۶۵
۳,۷	اسفروئیدهای سلولی	۶۵
۳,۸	داربست های سلولی	۶۷
۳,۸,۱	داربست های سرامیکی	۶۹
۳,۸,۲	داربست های مصنوعی	۷۰
۳,۸,۳	داربست های طبیعی	۷۱
۳,۱۰	خلاصه مطلب	۷۲
۳,۱۱	فهرست منابع	۷۳

فصل چهارم: محدودیت های کنونی در تکنولوژی پرینت زیستی

۴,۱	مقدمه	۷۸
۴,۲	محدودیت ها و چالش های کنونی تکنولوژی پرینت زیستی	۷۹
۴,۲,۱	فقدان استحکام مکانیکی	۸۰
۴,۲,۲	ایده آل نبودن جوهرهای زیستی مصرفی	۸۰
۴,۲,۳	عدم وضوح کافی	۸۱
۴,۲,۴	فقدان شبکه عروقی کاربردی	۸۱

- ۴,۲,۵ عدم تناسب مدت زمان سپری شده در مقایسه با سرعت پرینت ۸۲
- ۴,۲,۶ شکست در برقراری پیوند با بدن میزبان ۸۲
- ۴,۲,۷ برخی راه های غلبه بر این چالش ها ۸۳
- ۴,۳ خلاصه مطلب ۸۳
- ۴,۴ فهرست منابع ۸۵

فهرست تصاویر

تصویر ۱	 فصل ۱. صفحه ۳
تصویر ۲	 فصل ۱. صفحه ۷
تصویر ۳	 فصل ۱. صفحه ۱۳
تصویر ۴	 فصل ۲. صفحه ۲۰
تصویر ۵	 فصل ۲. صفحه ۲۲
تصویر ۶	 فصل ۲. صفحه ۳۰
تصویر ۷	 فصل ۲. صفحه ۳۵
تصویر ۸	 فصل ۲. صفحه ۳۷
تصویر ۹	 فصل ۲. صفحه ۴۰
تصویر ۱۰	 فصل ۳. صفحه ۵۵
تصویر ۱۱	 فصل ۳. صفحه ۷۰
تصویر ۱۲	 فصل ۳. صفحه ۷۱

فهرست جداول

جدول ۱	 فصل ۲. صفحه ۱۹
--------	----------------------

فصل اول

پرینت زیستی سه بعدی

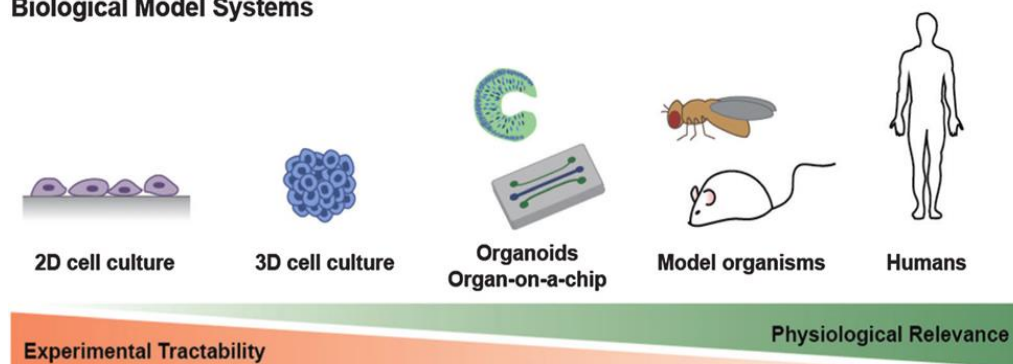
هرروزه هزاران نفر از مردم جهان به علت نارسایی های قلبی عروقی، از کار افتادگی کلیه، کبد و سایر اندام های حیاتی شان به مراکز پزشکی مراجعه می کنند و در راستای نجات جان بسیاری از این بیماران، پیوندهای بافت صورت می گیرد؛ اما تعداد بیشماری از آنان به دلایل مختلف از جمله عدم دسترسی به بافت برای پیوند، آلودگی اندام های پیوندی و یا رد شدن بافت پیوندی توسط فرد گیرنده، جان خود را از دست می دهند. به منظور جلوگیری از رد بافت پیوندی توسط سیستم ایمنی فرد گیرنده لازم است فرد بیمار از داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی استفاده کند؛ که همین امر بدن فرد گیرنده را در معرض ابتلا به بیماری های عفونی بی شماری قرار می دهد. افراد زیادی نیز به علل مختلف، عضوی از بدنشان را از دست می دهند و یا معلول متولد می شوند و به اجبار تا پایان عمر این فقدان عضو را تحمل می کنند؛ و یا مبتلا به سرطان های مختلفی می شوند که هنوز علم پزشکی نتوانسته است داروی کارآمدی برای درمان آن ها پیدا کند [۱].

از دیرباز تا کنون، به منظور آگاهی از علت بیماری ها، یافتن راه های مناسب درمان و کشف کارآمدترین داروها، از حیوانات و یا محیط های کشت سلولی دو بعدی استفاده شده است. با وجود اینکه تمامی راه های کلاسیک، امکان دستیابی به راه حل های فراوانی را در اختیار دانشمندان، پزشکان و محققان گذارده اند، هیچ یک قادر نبوده اند شرایط فیزیکی، شیمیایی و زیستی موجود در محیط میکرونی بافت ها و اندام های طبیعی بدن را فراهم کنند. با توجه به پیشرفت روزافزون علم و دستیابی به اطلاعات بیشتر راجع به شرایط فیزیکی و سلولی محیط میکرونی به عنوان مهمترین عامل کمک کننده به پیشروی بیماری ها، محققان موفق به تهیه مدل های سه بعدی در شرایط آزمایشگاهی شده اند [۲].

با وجود اینکه استفاده از مدل های حیوانی نقش مهمی در مطالعه روند بیماری ها داشته است، چون شرایط محیط میکرونی بدن حیوانات متفاوت از بدن انسان است، هیچ گاه نمی توان از نتایج به دست آمده از این تحقیقات بر روی انسان اطمینان قطعی داشت. به بیانی دیگر نمی توان به طور قطع مطمئن بود که تاثیرات درمانی و میزان مسمومیت داروها در حیوانات مورد مطالعه در آزمایشگاه، تاثیراتی مشابه بر انسان ها داشته باشد. استفاده از حیوانات آزمایشگاهی همچنین نیازمند توجه قرار دادن متغیرهای فراوانی از جمله سن، جنس و وزن

جانور، رطوبت و دمای محیط، مدت زمان آزمایش و وضعیت میکروبیولوژیک جانور است. البته بسیاری از این متغیرها غیر قابل کنترل هستند و سبب محدود شدن نتایج حاصله می شوند. به علاوه، تمامی این تحقیقات هزینه بر بوده و از نظر اخلاقی نیز نیازمند بازنگری هستند. از این رو است که تحقیقات بر روی حیوانات سبب شد تا محققان به دنبال راهی با هزینه کمتر، بازدهی بیشتر و صدمات کمتر به حیوانات باشند (تصویر ۱) [۳].

Biological Model Systems



تصویر ۱. پروسه پیشرفت مدل های زیستی. در این تصویر مدل های زیستی بر اساس پیشرفت حاصل از تجربه و همچنین افزایش کاربرد فیزیولوژیک نشان داده شده است، از آغاز آزمایشات زیستی با محیط کشت سلولی دو بعدی تا جانوران آزمایشگاهی و انسان [۳].

۱،۱،۱ تفاوت اندام های قرار گرفته بر روی تراشه^۱ با مدل های حیوانی

از جمله جدیدترین مدل های سه بعدی استفاده شده در تحقیقات زیستی، اندام های قرار گرفته بر روی تراشه هستند که در واقع مدل های مینیاتوری اندام های انسانی هستند که از سلول های بنیادی برگرفته شده اند. این اندام ها با تحت تاثیر قرار گرفتن توسط هورمون های رشد و مواد مناسب، تغییر یافته و به نوع خاصی از سلول ها یا بافت ها تبدیل خواهند شد و رفتار خاص همان بافت یا سلول را نیز بروز خواهند داد. اندام های قرار گرفته بر روی تراشه تاثیر به سزایی در مطالعات زیستی و آسیب شناسی^۲ انسانی داشته و در آینده ای نزدیک به کلی جایگزین مدل های حیوانی آزمایشگاهی خواهند شد. زیرا این اندام ها در مقایسه با مدل های حیوانی، قابل تکثیر در تعداد

^۱ Organs-on-a-chip or Organoids

^۲ Pathology

زیاد با هزینه کم بوده و مشکلات اخلاقی کمتری را نیز به دنبال دارند؛ و البته شرایط مناسب تری را نیز برای مطالعه بیماری های انسانی که تا کنون در مدل های حیوانی مورد بررسی قرار می گرفتند، فراهم خواهند کرد [۴].

۱,۲ خلاصه ای از تاریخچه مهندسی بافت و پرینت زیستی^۳

ایده پرینت سه بعدی برای اولین بار توسط چارلز هال^۴ در سال ۱۹۸۶ با نام استرولیتوگرافی^۵ ارائه شد. در این روش لایه های نازکی از یک ماده که برای استحکام در معرض پرتو فرابنفش قرار می گیرند، به صورت متوالی پرینت می شوند تا یک ساختار سه بعدی جامد را به وجود آورند. بعد از مدتی از این روش برای ساخت قالب های رزینی استفاده شد که برای ساخت داربست های سه بعدی از مواد زیستی مورد استفاده قرار می گرفتند. پیشرفت سیستم های پرینت سه بعدی که قادر به کار با مواد نیمه مایع^۶ بودند، این امکان را فراهم ساخت تا مواد زیستی به صورت مستقیم در داربست های سه بعدی پرینت شوند و در پیوندهای عضو مورد استفاده قرار گیرند. با بروز پیشرفت های اخیر در تکنولوژی پرینت سه بعدی، بیولوژی سلولی، و علوم مربوط به مواد، پرینت سه بعدی زیستی نیز جهش بزرگی به سوی پیشرفت برداشت و با نام امروزی آن یعنی مهندسی بافت به اولین موفقیت هایش در زمینه پرینت سه بعدی ابزارهای پزشکی مانند استنت و آتل^۷ رسید [۵].

ظهور مهندسی بافت به عنوان زمینه جدیدی در علم پزشکی که با استفاده از سلول های زنده، مواد و فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی زیست سازگار، قادر به ساخت بافت های سه بعدی مشابه بافت های بدن است، تحول عظیمی برپا کرد. هدف اساسی مهندسی بافت، پیوند بافت های مذکور و قرار دادن آن ها در بدن افراد جهت ترمیم بافت های آسیب دیده و یا جایگزین کردن بافت های از کار افتاده می باشد. همان گونه که بافت های متفاوت بدن عملکردهای ویژه ای را بر عهده دارند عملکرد هریک از این بافت های طراحی شده نیز متفاوت بوده و ممکن است ساختمانی^۸ (مانند استخوان و غضروف)، مانع شوند و انتقال دهنده^۹ (مانند پوست و عروق)، و یا ترشح کننده^{۱۰})

^۳ Tissue engineering and bioprinting

^۴ Charles W. Hull

^۵ Sterolithography

^۶ Aqueous-based

^۷ Stent and splint

^۸ Structural

^۹ Barrier and transport related

^{۱۰} Secretory

مانند کبد و پانکراس) باشد [۶]. در کنار کاربردهای پزشکی، موارد دیگر استفاده از مهندسی بافت، شامل مطالعه داروها برای اطلاع از میزان کارآمدی و یا سمی بودن می باشد. به همین دلیل است که در اغلب اوقات از دو اصطلاح پزشکی ترمیمی^{۱۱} و مهندسی بافت به طور همزمان استفاده می شود. با این وجود تفاوت پرینت زیستی این دو تکنولوژی در این است که در موارد مربوط به پزشکی ترمیمی، سلول های بنیادی^{۱۲} به عنوان منبع اصلی مورد استفاده و تحقیق قرار می گیرند؛ در حالی که در مهندسی بافت از سایر سلول ها نیز بهره برداری می شود [۷].

۱،۲،۱ سلول های بنیادی

دلیل استفاده از سلول های بنیادی به عنوان منبع اصلی در پرینت سه بعدی زیستی که در رابطه با پزشکی ترمیمی انجام می گیرد، این است که این سلول ها توانایی تبدیل شدن به انواع متفاوت سلول ها و همچنین بازسازی خود را دارند. به طور کلی چندین نوع سلول بنیادی با ویژگی های متفاوت وجود دارند که دارای خصوصیات مناسب روش های پرینت سه بعدی زیستی و ساخت بافت ها و اندام های زنده می باشند. انواع سلول های بنیادی عبارتند از سلول های بنیادی جنینی^{۱۳} که از تخمک های بارور^{۱۴} به دست می آیند و قابلیت تبدیل به هر سه نوع لایه های جنینی را دارند و بدون کهولت قادر به تکثیر تعداد زیادی سلول هستند، سلول های بنیادی بالغ^{۱۵} که از بخش های خاصی از بافت های بالغ به دست می آیند که تنها در زمان آسیب دیدگی و بازسازی بافت، آزاد شده و مورد استفاده قرار می گیرند و فقط قادرند به سلول های والدشان تبدیل شوند، سلول های بنیادی نوزادی^{۱۶} که از مایع آمنیوتیک و بند ناف نوزاد به دست می آیند، در واقع بسیار شبیه سلول های بنیادی جنینی هستند و قابلیت های مشابه آن ها یعنی احیا و بازسازی بافت و چندین ظرفیتی بودن را دارند، با این تفاوت که تنها برای فرد اهداء کننده قابل استفاده خواهند بود، سلول های بنیادی چند منظوره انسانی^{۱۷} که از سلول های سوماتیک^{۱۸} که در مرحله پایانی برای بازسازی و عملکرد به عنوان سلول های بنیادی جنینی قرار دارند به دست می آیند [۸].

^{۱۱} Regenerative medicine

^{۱۲} Stem cells

^{۱۳} Embryonic Stem Cells (ESCs)

^{۱۴} Fertilized eggs

^{۱۵} Adult Stem Cells (ASCs)

^{۱۶} Neonatal Stem Cells (NSCs)

^{۱۷} Human-induced Pluripotent Stem Cells (hPSCs)

^{۱۸} Somatic cells

۱,۲,۲ برتری محیط های کشت سه بعدی و مهندسی بافت نسبت به محیط های دوبعدی

با ظهور تکنولوژی پرینت زیستی به عنوان ابزاری کارآمد جهت ساخت بافت ها و اندام های اختصاصی هر بیمار و با استفاده از کاربرد تصاویر دیجیتالی و انتقال شان به نرم افزار کامپیوتری مانند "گد"^{۱۹}، در های بسیاری به روی دنیای پزشکی و داروسازی گشوده شد، از جمله امکان مطالعه روند بیماری و غربالگری دارو ها به منظور کشف سریعتر دارو های کارآمد در مدت زمانی کوتاهتر از گذشته. تحقیقات صورت گرفته در رابطه با محیط های کشت سلولی سه بعدی نسبت به محیط های دو بعدی، ثابت کرده اند که سلول ها در شرایط سه بعدی تشابه رفتاری بیشتری با محیط داخل بدن خواهند داشت. ساختار های زیستی سه بعدی از نظر فیزیولوژیکی، شرایط آزمایشگاهی مناسبی را به منظور تهیه بافت ها و اندام ها، مطالعه روند بیماری و کشف دارو فراهم می کنند. ساختار های زیستی سه بعدی از تکنیک های ساده ای جهت برقراری اسکلت شان بهره می برند، با این وجود بسیار کارآمدتر از روش های کلاسیک بوده و ساختمان محکم تری را ایجاد می کنند. برای تهیه پرینت سه بعدی، می توان به آسانی با انتقال اطلاعات تصویری و دیجیتالی به یک برنامه کامپیوتری مانند CAD، نتایج قابل توجهی از جمله نمونه سازی سریع و زیست کارآمد به دست آورد، که در آن سلول ها و مواد زیستی با وضوح بالایی در کنار یکدیگر قرار گرفته اند [۹]. این تصاویر که با استفاده از روش های تصویربرداری متعددی از جمله میکروسکوپ نوری، پرتو ایکس، ام آر آی^{۲۰}، میکروسکوپ الکترونی، میکروسکوپ اتمی، میکروسکوپ صوتی و میکروسکوپ هسته ای به دست می آیند قادرند اطلاعات غیر مستقیمی را در اختیار پزشکان قرار دهند؛ از جمله تغییرات مورفولوژیک، افزایش نفوذپذیری رگ و ورم بافت، خونریزی، تصلب رگها، لخته شدن خون، و از کار افتادن بافت [۱۰].

۱,۲,۳ نخستین مدل های سه بعدی آزمایشگاهی و نخستین کاربردهای درمانی

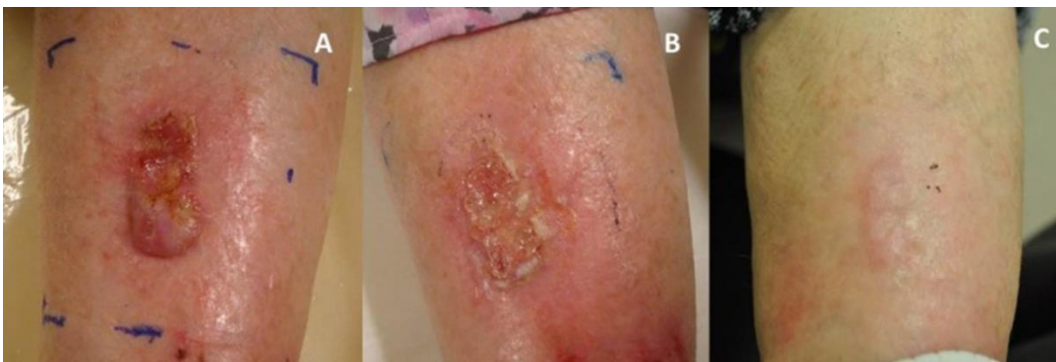
مدل های سه بعدی آزمایشگاهی توانسته اند به عنوان حلقه اتصال میان محیط سلولی طبیعی و محیط کشت سلولی آزمایشگاهی عمل کنند و همچنین نقطه عطفی میان مدل های آزمایشی حیوانی و آزمایشات انسانی به حساب می آیند. ساختمان اولین مدل های سه بعدی بسیار ساده بود و اغلب اوقات تنها از یک لایه نازک با قطر کمتر

^{۱۹} Computer Aided Design (CAD)

^{۲۰} Magnetic Resonance Imaging (MRI)

از ۱ میلی متر تشکیل می شد، و مواد سازنده آن مخلوطی از بافت های منتقل شده از بدن فرد اهداء کننده و یا پلیمرهای زیستی طبیعی مانند کلاژن، ماتریکس خارج سلولی و ژل پلی آکریل آمید بودند [۱۱].

اولین درمان های صورت گرفته توسط بافت های پرینت شده سه بعدی مربوط به پیوند پوست می باشد، که ادامه پیشرفت در این زمینه منجر به ساخت پوست قابل پیوندی شد که محققان قادر به نگهداری آن در بانک های ویژه ای بودند (تصویر ۲). در تصویر ۲، زخم سرطانی ایجاد شده بر روی دست بیمار، با برداشتن بافت سرطانی و پیوند پوست پرینت شده، کاملاً درمان شده است [۱۲]. بدین ترتیب با موفقیت ساخت پوست به وسیله تکنولوژی پرینت زیستی، دوره مهندسی بافت مدرن در اوایل دهه ۱۹۸۰ آغاز شد. در طی سال های پس از آن ساختارهای پوستی در این راستا تولید شدند که روز به روز پیشرفت بیشتری داشته و به موفقیت های موثری در زمینه ترمیم پوست افرادی که دچار سوختگی شدید شده و یا به دلایل دیگری قسمتی از پوستشان از بین رفته است، دست یافتند. علاوه بر پوست، غضروف نیز از اولین تولیدات مهندسی بافت به شمار می رود و دلیل اساسی موفقیت نسبتاً زود هنگام در ساخت این دو بافت، به دلیل عدم نیازشان به شبکه عروقی و سایر پیچیدگی های بافتی بوده است. اما آنچه مسلم است این که چالش های پیش رو برای تهیه بافت های پیچیده به مراتب دشوارتر و نیازمند زمان بیشتری خواهد بود [۷].



تصویر ۲. درمان زخم ایجاد شده بر اثر سرطان پوست و ترمیم آن به وسیله پوست پرینت شده. (A) زخم در ابتدای شروع درمان سرطان (B) زخم در انتهای درمان سرطان (C) زخم پس از گذشت ۱۲ هفته از شروع درمان سرطان [۱۲].

۱,۲,۴ جدیدترین پیشرفت ها و نقایص پیش رو در مهندسی بافت

طی سه دهه گذشته، مهندسی بافت پیشرفت های چشمگیری در زمینه های بیولوژی سلولی و مولکولی و سیستم های میکرو و نانو داشته است. با وجود اهمیتی که این پیشرفت ها برای علم پزشکی به ارمغان آورده اند، قادر به شناخت مشکلات بالینی بیماران نبوده و نتوانسته اند به موفقیت قابل توجهی در زمینه شناخت و درمان بیماری ها دست یابند؛ در حالی که مهندسی بافت زمانی موثر واقع خواهد شد که قادر به تشخیص و درمان بالینی بیماری ها باشد [۷].

استفاده از بافت های طبیعی در شرایط آزمایشگاهی، نیازمند مراقبت های ویژه ای به خصوص در زمان خروج بافت از بدن و سپس در هنگام آماده سازی و مورد استفاده قرار گرفتن در فرآیند پرینت زیستی است؛ که همین مراقبت ها سبب محدودیت در کارایی فرآیند پرینت می شوند. تحقیقاتی که در راستای برطرف کردن این محدودیت ها و ساخت بافت هایی با ویژگی های شیمیایی، مکانیکی و سطحی نزدیک تری به محیط های سلولی طبیعی صورت گرفت، سرانجام منجر به تهیه ساختارهای زیستی کارآمد با استفاده از مهندسی بافت شد که امروزه کاربرد فراوانی در علم پزشکی دارند. علیرغم اینکه مطالعات ابتدایی بر روی بافت های ساخته شده از طریق مهندسی بافت، بر کاربرد آن در پزشکی ترمیمی تمرکز داشت، امروزه کاربرد این بافت ها در مطالعه مکانیسم های سلولی و تست داروهای منتخب برای انسان اهمیت فراوانی دارد. پیشرفت روز افزون ساختارهای سه بعدی در زمینه های داروسازی و زیست شناسی مولکولی سبب خواهد شد که در آینده ای نزدیک نیاز به بافت و اندام های پیوندی به میزان قابل توجهی کاهش یابد [۷].

۱,۳ موفقیت تکنولوژی پرینت زیستی در تهیه و ساخت مدل های پیچیده سه بعدی

در دهه اخیر پیشرفت قابل توجهی در زمینه ساخت مدل های سه بعدی آزمایشگاهی صورت گرفته است و تکنولوژی های زیادی برای تهیه ساختارهای سه بعدی زیستی با کارایی های متفاوت به وجود آمده اند. محققان بر اساس روش کار هریک از این تکنولوژی ها، آن ها را در سه دسته اساسی جای می دهند: پرینترهای جوهر افشان زیستی، پرینترهای رسوب ساز زیستی و پرینترهای لیزری زیستی. از جمله کاربردهای این تکنولوژی ها در زمینه پرینت زیستی می توان به مدلی از پوست تکثیرپذیر اشاره کرد که به منظور مطالعه روند بیماری ملانوما

و یافتن داروی کارآمد جهت معدوم نمودن داریست های کلاژنی و اسفروئیدهای سلول های سرطانی مورد استفاده قرار گرفته است [۱۳]. مدل سه بعدی دیگری که در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفته است یک مدل شبیه سازی شده از کبد بوده است که دارای سلول های جاودانه^{۲۱} است و هیدروژل مورد استفاده در ساخت این مدل که نشأت گرفته از ماتریکس خارج سلولی است، نه تنها سبب بهبود کاربرد سلول های کبدی می شود، بلکه شرایط مناسبی را جهت امتحان داروهای مختلف و ارزیابی میزان مسمومیت شان در کبد فراهم می کند. از مدل های دیگری که به وسیله پرینت سه بعدی تهیه شده اند می توان استخوان، عضله قلب، کبد [۷]، نای، عروق، اعصاب، غضروف [۱۴] و قرنیه [۱۵] را نام برد.

۱,۴ فاکتورهای اساسی در انواع پرینترهای سه بعدی زیستی

بدون در نظر گرفتن تفاوت ها، توجه به سه فاکتور مهم در رابطه با هر سه تکنولوژی پرینت زیستی حائز اهمیت است. این فاکتورها عبارتند از وضوح سطح^{۲۲}، حفظ بقای سلول ها^{۲۳}، و مواد زیستی استفاده شده در پرینتر. در صورت فقدان هر یک از این موارد، ساختار زیستی پرینت شده دارای کارایی مورد نیاز برای مصارف پزشکی، داروسازی و یا مهندسی بافت نخواهد بود [۱۶, ۱۷].

۱,۴,۱ وضوح سطح (دقت و تفکیک پذیری)

با توجه به اینکه بافت های تهیه شده از طریق پرینترهای سه بعدی زیستی، برای تحقق اهداف پزشکی و دارویی مورد استفاده قرار می گیرند، بسیار حائز اهمیت است که این بافت ها دارای وضوح بالا در سطح میکرونی سلولی و مولکولی (در واحد نانومتر) بوده و تشابه ساختاری زیادی با بافت های طبیعی بدن داشته باشند. بافت پرینت شده در صورت عدم وضوح کافی، کارایی مورد نظر را نخواهد داشت و زحمات به کار رفته در این مسیر بی اهمیت خواهند بود. در حال حاضر پرینترهای سه بعدی زیستی توانایی پرینت بافت ها و اندام هایی بسیار کوچکتر از اندازه طبیعی که تنها در مصارف آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می گیرند را دارند؛ اما در آینده ای نزدیک، ارتقاء کیفیت وضوح اندام یا بافت پرینت شده در سائز طبیعی بسیار حائز اهمیت خواهد بود. زیرا هرچه سائز

^{۲۱} Immortalized cells

^{۲۲} Surface resolution

^{۲۳} Cell viability

بافت پرینت شده افزایش می یابد، فرآیند انتقال اکسیژن و مواد غذایی به سلول ها نقش حیاتی و مهمتری را در رشد و بلوغ بافت ایفا می کند؛ بنابراین وجود شبکه عروقی تفکیک شده و دارای وضوح سطح بالا در بافت پرینت شده برای مصارف پزشکی و درمانی اهمیت به سزایی خواهد داشت [۱۸].

۱, ۴, ۲ حفظ بقای سلول ها حین فرآیند پرینت

علاوه بر اهمیت وضوح سطح در بافت های پرینت شده، حفظ بقای سلول ها در تمامی مراحل پرینت و همچنین پس از اتمام فرآیند پرینت، اهمیت به سزایی دارد. در غیر این صورت، هدف پرینت زیستی بی نتیجه مانده و فاقد هرگونه کارایی پزشکی و دارویی خواهد بود. مهمترین عامل حفظ بقای سلول ها حین پرینت زیستی، دهانه پرینتر است. کوچکی یا بزرگی دهانه پرینتر و میزان فشار مکانیکی و حرارتی که به جوهر زیستی و سلول های در حال خروج از دهانه پرینتر وارد می شود، عامل تعیین کننده ای در کاهش و افزایش حفظ بقای سلول ها می باشد. قابل ذکر است که در ابتدای ظهور پرینترهای زیستی، سطوحی که سلول ها روی آن پرینت و مستقر می شدند، دارای زیست سازگاری مناسب سلول ها نبودند؛ اما تحقیقات اخیر باعث ترقی و اصلاح سیستم های پرینت زیستی در مسیری شده است که توانایی هرچه بیشتر کار با مواد زیستی و کاهش هرگونه عامل احتمالی تهدید کننده بقای سلول ها را فراهم میکند [۱۸, ۵].

۱, ۴, ۲, ۱ دهانه پرینتر

دهانه پرینتر که محل خروج جوهرزیستی از پرینتر است، نقش بسیار مهمی در تشکیل قطرات جوهرزیستی و نحوه استقرار آن بر روی سطح زیرین و در نتیجه تشکیل ساختار سه بعدی زیستی کارآمد ایفا می کند. هرچه دهانه پرینتر کوچکتر باشد می توان ساختارهای ظریف تری را به وسیله آن به وجود آورد؛ اما اشکال دهانه کوچک این است که در مدت کوتاهی پس از شروع پرینت مسدود می شود و همچنین فشار مکانیکی و حرارتی زیادی را به جوهرزیستی و سلول ها وارد می کند. با این وجود جلوگیری از مسدود شدن دهانه پرینتر بستگی به میزان چسبندگی جوهرزیستی استفاده شده دارد. در بعضی از پرینترهای زیستی برای افزایش دقت کار و همچنین استفاده همزمان از چند نوع جوهرزیستی، از چندین دهانه پرینت استفاده می شود. قابل ذکر است که دهانه پرینتر به همان میزان که در فرآیند پرینت زیستی با اهمیت است می تواند باعث اختلال در فرآیند پرینت نیز بشود؛ زیرا

تجمع جوهر زیستی در دهانه پرینتر سبب مسدود شدن آن شده و فرآیند پرینت را مختل خواهد کرد، در حالی که تداوم پرینت زیستی و عدم توقف آن در میانه کار اهمیت بالایی دارد. در بعضی از پرینترهای زیستی از جمله پرینترهای لیزری زیستی دهانه پرینت وجود ندارد و این پرینترها فاقد دهانه پرینت هستند. از چنین پرینترهایی می توان برای پرینت مقادیر زیاد سلول و همچنین جوهرهای زیستی با چسبندگی بالا استفاده کرد، زیرا مشکلات معمول از جمله مسدود شدن دهانه پرینتر به دلیل لخته شدن جوهر در دهانه و یا گرم شدن بیش از حد اجکتور^{۲۴} اتفاق نخواهد افتاد [۱۹, ۲۰].

۱, ۴, ۳ مواد زیستی استفاده شده در پرینترها

دستیابی به یک بافت و یا اندام پرینت شده کاربردی نیازمند استفاده از سلول ها و مواد زیست سازگار است. ترکیب مواد مورد استفاده در پرینت زیستی که به اصطلاح جوهر زیستی نامیده می شوند بسیار حائز اهمیت است زیرا بافت سه بعدی پرینت شده اهمیت به سزایی در علوم پزشکی و داروسازی خواهد داشت [۲۱].

مواد تشکیل دهنده جوهر زیستی مخلوطی از سلول های مختلف، ماتریکس مایع، پلیمرها، هیدروژل ها، پروتئین ها و فاکتورهای زیستی را شامل می شود. پلیمرها امکان ایجاد پیوندهای مستحکم و پایدار را فراهم می کنند، زیرا پس از پرینت سفت شده و داربست هایی قوی برای استحکام بافت پرینت شده فراهم می آورند. راه معمول تهیه این پلیمرهای کارآمد پلیمرایزیسیون^{۲۵} است. به طور کلی در حین فرآیند پلیمرایزیسیون مولکول های مونومر در معرض پرتو فرابنفش به یکدیگر متصل می شوند و رشته های پلیمر با شبکه سه بعدی را به وجود می آورند. این ویژگی پلیمرها باعث شده است که در تهیه ساختارهای مستحکم سه بعدی زیستی بسیار کارآمد باشند و نه تنها ساختار مورد نظر دارای استحکام کافی جهت استفاده زیستی خواهد بود، بلکه در موارد پیوند بافتی نیز، قادر به ایجاد پیوندهای قوی و ناگسستنی با بدن فرد گیرنده خواهد بود [۷, ۲۲].

هیدروژل ها که کاربرد زیادی در تهیه جوهر زیستی دارند، از زنجیره های پلیمری تشکیل شده اند که با قابلیت انعطاف پذیری و جذب بالای آب قادرند محیط میکرونی مناسبی را برای سلول های موجود در جوهر

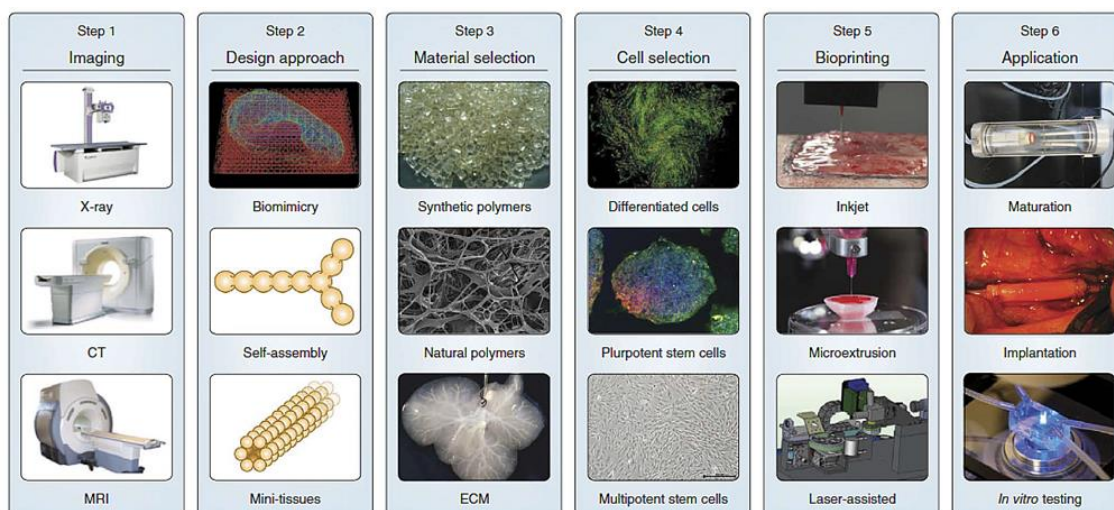
^{۲۴} Ejector

^{۲۵} Polymerization

زیستی فراهم کنند. همچنین فضاهای خالی فراوانی که در هیدروژل ها وجود دارد سبب سهولت انتشار مولکول ها در داخل و خارج هیدروژل می شود. به علاوه هیدروژل دارای دامنه پیوستگی وسیعی بوده و قابلیت اتصال به ترکیبات مختلف زیستی و دارویی را دارد. این ویژگی ها در مجموع باعث شده اند که هیدروژل ها از جمله مواد پرکاربرد در تهیه جوهرهای زیستی باشند [۲۱].

سلول های مورد نیاز برای تهیه جوهر زیستی را می توان از دو منبع به دست آورد، بافت اهداء شده که اکثرا محتویات محدودی دارد، و یا سلول های بنیادی. سلول های بنیادی دارای دو ویژگی بارز هستند که سبب اهمیت آن ها به عنوان منبعی جهت تهیه مقادیر زیادی سلول می شود. این ویژگی ها عبارتند از توانایی تکثیر پذیری بالا و همچنین قدرت تبدیل شدن به سلول هایی با کارایی های گوناگون [۷].

از جمله اولین و مهمترین کاربردهای تکنولوژی پرینت زیستی، ساخت داربست های سلولی با استفاده از پرینت سه بعدی می باشد. داربست های سلولی به عنوان ساختارهای سه بعدی متخلخل، محیط مناسبی را برای بازسازی بافت ها و اندام ها فراهم می کنند، و در واقع نقش قالبی را ایفا می کنند که سلول ها و در موارد نیاز فاکتورهای رشد درون آن ها قرار می گیرند [۲۰]. از ابتدای پیدایش تکنولوژی ساخت داربست های سلولی در اواخر ۱۹۸۰، مواد زیادی به منظور استفاده در ساخت این داربست ها مورد آزمایش قرار گرفتند تا مشخص شود کدام مواد قابلیت های مناسب ساخت مدل های سه بعدی میکرونی را دارند. از جمله مهمترین ویژگی های داربست های سلولی استحکام و تخلخل پذیری بالا است، که دسترسی به هماهنگی بین این دو ویژگی مهم، در حجم بالایی از مواد، کار دشواری است. به همین دلیل است که استفاده از محیط های پلیمری با ویژگی های خاص، در مورد ساخت داربست ها اهمیت بالایی دارد؛ به خصوص اگر پلیمر مورد استفاده هیدروژل باشد. علاوه بر این افزودن برخی از سلول ها به ساختمان داربست سبب افزایش کارایی و بازده داربست پرینت شده در مهندسی بافت می شود. با وجود چالش های متعدد در زمینه پرینت سه بعدی داربست های سلولی، این تکنولوژی با سرعت زیادی پیشرفت کرد و به دلیل سرعت، دقت و کم هزینه بودن، به ابزاری کارآمد و در دسترس تبدیل شد. تکنولوژی پرینت سه بعدی زیستی در مدت زمانی اندک با استفاده از روش های تصویربرداری و قرار دادن تصاویر در نرم افزار کامپیوتری CAD قابلیت پرینت اختصاصی برای اشخاص را نیز کسب کرد، که این خود نکته مثبتی است که به اهمیت آن می افزاید (تصویر ۳) [۲۳].



تصویر ۳. مراحل پرینت زیستی. تصویربرداری از بافت آسیب دیده و محیط اطرافش اطلاعات موثری را برای تهیه بافت پرینت شده فراهم می کند. سپس مواد مورد نیاز پرینت با توجه به پرینتر مورد استفاده انتخاب می شوند و پرینت زیستی بافت مورد نظر صورت می گیرد و بنا به نیاز برای پیوند بافت و یا تحقیقات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار خواهد گرفت [۲۴].

۱,۵ خلاصه مطلب

با پیشرفت تکنولوژی و افزایش کاربرد پرینترها در زمینه های مختلف، نیاز به پرینترهای کارآمد در رشته های مختلف کاملاً محسوس بود. بدین ترتیب پرینترهای اختصاصی در هر زمینه و با ویژگی های متمایز از آنچه سایر پرینترها داشتند، توسعه یافتند. از این جمله، پرینترهای سه بعدی زیستی بودند که نیازمند افزایش و یا کاهش برخی از ویژگی هایشان به منظور زیست سازگار شدنشان بودند. برای این منظور باید تغییرات مهمی در ساختمان پرینتر صورت می گرفت تا در حین پرینت، کمترین آسیب به مواد زیستی وارد شود. البته یکی دیگر از مهمترین چالش ها در ارتقاء سطح کیفیت پرینترهای سه بعدی زیستی مربوط به مواد استفاده شده در فرآیند پرینت به عنوان جوهر زیستی بوده است. با توجه به نیازهای پرینت زیستی و ویژگی منحصر به فرد این نوع پرینت یعنی استفاده از سلول های زنده برای پرینت بافت یا اندامی که قابل استفاده در بدن موجودات زنده به خصوص انسان باشد، انواع پرینترهای سه بعدی زیستی با ویژگی ها و قابلیت های کاملاً متفاوت از یکدیگر ساخته شده اند تا پاسخگوی نیازهای بسیار خاص و حیاتی این نوع پرینت باشند. بدین ترتیب پرینترهای سه بعدی وارد عرصه های

پزشکی، داروسازی و مهندسی بافت شدند و تحول بزرگی در زمینه کشف داروهای کارآمد و ساخت بافت ها و اعضای بدن به وجود آوردند.

در ادامه این تحقیق، به مرور انواع متدهای پرینت سه بعدی زیستی و مزیت ها و محدودیت های هریک از آن ها پرداخته و روش های مختلف تصویربرداری از بافت ها به منظور استفاده در پرینت سه بعدی زیستی را معرفی خواهیم کرد. همچنین جوهرهای زیستی را معرفی کرده و به تفصیل در مورد مواد تشکیل دهنده جوهرهای زیستی کارآمد خواهیم پرداخت و در انتها محدودیت های کنونی این تکنولوژی و راه های پیشرفت آن در آینده نزدیک را بررسی خواهیم کرد.

- [1] J.J. Song, H.C. Ott, Organ engineering based on decellularized matrix scaffolds, *Trends in molecular medicine* 17(8) (2011) 424-32.
- [2] S.S. Yoo, 3D-printed biological organs: medical potential and patenting opportunity, *Expert opinion on therapeutic patents* 25(5) (2015) 507-11.
- [3] F.J. O'Brien, Biomaterials & scaffolds for tissue engineering, *Materialstoday* 14(3) (2011) 88-95.
- [4] F. Yu, W. Hunziker, D. Choudhury, Engineering Microfluidic Organoid-on-a-Chip Platforms, *Micromachines (Basel)* 10(3) (2019).
- [5] S.V. Murphy, A. Atala, 3D bioprinting of tissues and organs, *Nat Biotechnol* 32(8) (2014) 773-85.
- [6] A. Shafiee, A. Atala, Printing Technologies for Medical Applications, *Trends Mol Med* 22(3) (2016) 254-265.
- [7] F. Berthiaume, T.J. Maguire, M.L. Yarmush, Tissue engineering and regenerative medicine: history, progress, and challenges, *Annual review of chemical and biomolecular engineering* 2 (2011) 403-30.
- [8] C.F.a.D.A.S. Joshua Gagan, cell, stem cells and regenerative medicine, *Sci fors chen* 2.2 (2016) 1-8.
- [9] J. Vanderburgh, J.A. Sterling, S.A. Guelcher, 3D Printing of Tissue Engineered Constructs for In Vitro Modeling of Disease Progression and Drug Screening, *Ann Biomed Eng* 45(1) (2017) 164-179.
- [10] A.V. Naumova, M. Modo, A. Moore, C.E. Murry, J.A. Frank, Clinical imaging in regenerative medicine, *Nat Biotechnol* 32(8) (2014) 804-18.
- [11] E.L. Jackson, H. Lu, Three-dimensional models for studying development and disease: moving on from organisms to organs-on-a-chip and organoids, *Integr Biol (Camb)* 8(6) (2016) 672-83.
- [12] G.B. Stephanie Casey, Joseph B. Awotwi-Pratt, High dose rate 192-Ir-Brachytherapy for basal cell carcinoma of the skin using a 3d printed surface mold, *Cureus* (2019) 1-5.
- [13] J.T. Neal, C.J. Kuo, Organoids as Models for Neoplastic Transformation, *Annual review of pathology* 11(2016)199-220.
- [14] B. Balakrishnan, N. Joshi, A. Jayakrishnan, R. Banerjee, Self-crosslinked oxidized alginate/gelatin hydrogel as injectable, adhesive biomimetic scaffolds for cartilage regeneration, *Acta biomaterialia* 10(8) (2014) 3650-63.
- [15] S. Wang, C.E. Ghezzi, R. Gomes, R.E. Pollard, J.L. Funderburgh, D.L. Kaplan, In vitro 3D corneal tissue model with epithelium, stroma, and innervation, *Biomaterials* 112 (2017) 1-9.
- [16] Y.J. Seol, H.W. Kang, S.J. Lee, A. Atala, J.J. Yoo, Bioprinting technology and its applications, *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery* 46(3) (2014) 342-8.
- [17] V.K. Lee, G. Dai, Printing of Three-Dimensional Tissue Analogs for Regenerative Medicine, *Ann Biomed Eng* 45(1) (2017) 115-131.
- [18] W. Zhu, X. Ma, M. Gou, D. Mei, K. Zhang, S. Chen, 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering, *Current opinion in biotechnology* 40 (2016) 103-112.
- [19] H.N. Chia, B.M. Wu, Recent advances in 3D printing of biomaterials, *J Biol Eng* 9 (2015) 4.
- [20] X. Zhang, Y. Zhang, Tissue Engineering Applications of Three-Dimensional Bioprinting, *Cell Biochem Biophys* 72(3) (2015) 777-82.
- [21] M. Patenaude, T. Hoare, Injectable, mixed natural-synthetic polymer hydrogels with modular properties, *Biomacromolecules* 13(2) (2012) 369-78.

- [22] A. Skardal, M. Devarasetty, H.W. Kang, I. Mead, C. Bishop, T. Shupe, S.J. Lee, J. Jackson, J. Yoo, S. Soker, A. Atala, A hydrogel bioink toolkit for mimicking native tissue biochemical and mechanical properties in bioprinted tissue constructs, *Acta biomaterialia* 25 (2015) 24-34.
- [23] F.C.P. Salvatrice Rigogliuso, Valerio Brucato, Vincenzo, P.F. La Carrubba, Francesca Intranuovo, Roberto Gristina and, G. Gherzi, Use of Modified 3D Scaffolds to Improve Cell Adhesion and Desired Cell Responses, *Chemical engineering transactions* 27 (2012) 1-6.
- [24] M.R.M. Kianoush Khosravi-Darani, Ladan Rashidi, and Mehrdad Mohammadi, Calcium based non-viral gene delivery: an overview of methodology and applications, *Acta Medica Iranica*, 48 (2009) 1-9.

فصل دوم

انواع پرینت زیستی

پرینترهای سه بعدی قادر به ساخت ساختارهای سه بعدی در هر شکل و طرحی می باشند. با استفاده از تصاویر دیجیتال سه بعدی و انتقال آنها به نرم افزار CAD، می توان به آسانی هر طرحی را به پرینتر منتقل کرده و ساختار سه بعدی همان طرح را به عنوان محصول نهایی دریافت کرد. ظهور پرینترهای سه بعدی راه ورود به دنیای جدیدی را گشود که تنها در تخیل قابل مشاهده بود. نکته قابل توجه دیگر این است که برخلاف جوهر که تنها ماده مورد استفاده در پرینترهای کلاسیک بود، پرینترهای سه بعدی قادر به استفاده از هر نوع ماده ای از جمله فلزات، چوب، پلاستیک و سلول های زنده به عنوان جوهر می باشند. با پیشرفت تکنولوژی و افزایش کاربرد پرینترهای سه بعدی در زمینه های مختلف، ساخت پرینترهای اختصاصی در هر زمینه و با ویژگی های متمایز از سایر پرینترها اهمیت یافت. پرینترهای سه بعدی زیستی نیز از جمله این پرینترهای اختصاصی بودند. به منظور ارتقاء پرینترهای سه بعدی زیستی و زیست سازگار شدنشان باید تغییرات مهمی در ساختمان پرینترها صورت می گرفت تا در حین پرینت، کمترین آسیب به مواد زیستی وارد شود. بدین ترتیب پرینترهای سه بعدی وارد عرصه های پزشکی، داروسازی و مهندسی بافت شدند و تحول بزرگی در زمینه کشف داروهای کارآمد و ساخت بافت ها و اعضای بدن به وجود آوردند [۱-۳]. در این فصل به مسائل مربوط به پرینترهای سه بعدی زیستی و انواع تکنولوژی های مورد استفاده در این راستا خواهیم پرداخت.

۲,۲ تکنولوژی پرینت و روش های پرینت سه بعدی

پرینت سه بعدی زیستی به وسیله تکنولوژی های متعدد و متفاوتی که هریک قابلیت ها و محدودیت هایی دارند امکان پذیر است. سه تکنولوژی اساسی که در حال حاضر بیشترین کاربرد را در زمینه پرینت زیستی دارند عبارتند از پرینترهای جوهر افشان زیستی^۱، پرینترهای رسوب ساز زیستی^۲ و پرینترهای لیزری زیستی^۳ (جدول ۱).

^۱ Inkjet bioprinters

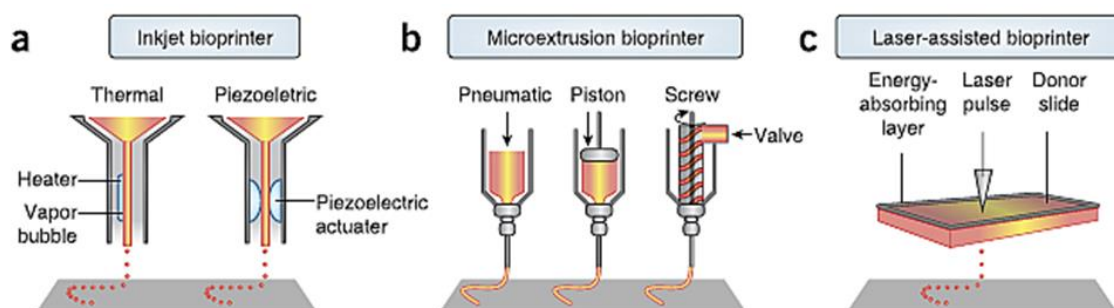
^۲ Extrusion based bioprinters

^۳ Laser based bioprinters

انواع پرینتر	مدت زمان آماده سازی	سرعت پرینت	حفظ بقای سلول ها	هزینه پرینت شده	بافتهای پرینت	مزیت ها	محدودیت ها
پرینترهای جوهرافشان زیستی	کم	زیاد (۱- ۱۰,۰۰۰ قطره در ثانیه)	<۸۵٪	کم	رگ بافت عضلانی اعصاب پوست کبد	در دسترس, کم هزینه, وضوح زیاد, سرعت زیاد, قادر به ایجاد شیب غلظت در ساختارهای سه بعدی	انسداد دهانه, اعمال فشار مکانیکی و حرارتی به سلول ها, قادر به پرینت مواد محدود (فقط مواد مایع)
پرینترهای رسوب ساز زیستی	کم تا متوسط	کم (۱۰-۵۰) $\mu\text{m/s}$	٪۴۰-۸۰	متوسط	دریچه قلب پوست افت میوکارد رگ اعصاب	قادر به پرینت بسیاری از مواد, قابلیت استفاده از اسفروئیدهای سلولی, توزیع یکسان سلول ها	استحکام کم, تطابق اختصاصی مواد و محیط مایع اطرافشان برای حفظ ساختار بافت پرینت شده, وضوح کم, زیست سازگاری کم
پرینترهای لیزری زیستی	متوسط تا زیاد	متوسط تا زیاد (۲۰۰- ۱,۶۰۰ mm/s)	<۹۵٪	زیاد	رگ استخوان پوست	فاقد دهانه, فرآیند بدون برخورد با جوهر, سلول ها با فعالیت و وضوح زیاد پرینت می شوند, کنترل زیاد روی قطره های جوهر و قرار دادن دقیق آن روی سطح دریافت کننده	هزینه زیاد, زمان بر, به خطر افتادن بقای سلول ها به دلیل تبخیر و انتشار لایه فلزی

جدول ۱. مقایسه ویژگی های انواع پرینترهای سه بعدی زیستی [۴-۶].

هر یک از تکنولوژی های پرینت زیستی دارای مشترکات و تفاوت هایی در زمینه جوهرهای زیستی مصرفی، نحوه خروج جوهر از دستگاه، محل استقرار بافت پرینت شده و به طور کلی ساختمان و کارایی دستگاه هستند. بر پایه همین مشترکات و تفاوت هاست که تکنولوژی های متعدد پرینت زیستی در سه دسته اساسی نام برده قرار می گیرند (تصویر ۴) [۷].



تصویر ۴. انواع پرینترهای زیستی. (a) پرینترهای جوهر افشان که قادرند از نیروی صوتی و یا حرارتی به منظور خروج جوهر زیستی از دهانه پرینتر استفاده کنند. (b) پرینترهای رسوب ساز زیستی که از نیروهای بادی و مکانیکی (پیستون و پیچ) برای خروج جوهر زیستی از دهانه پرینتر استفاده می کنند. (c) پرینترهای لیزری به عنوان به روزترین پرینترهای زیستی با استفاده از انرژی لیزر، جوهر زیستی را به سمت صفحه گیرنده هدایت می کنند [۸].

۲,۳ پرینترهای جوهر افشان زیستی

پرینترهای جوهر افشان را می توان نسل اولیه پرینترهای امروزی دانست که در اواخر سال ۱۹۸۰ توسعه یافتند و تنها در ابعاد بزرگ و در زمینه چاپ متون به کار می رفتند. با توجه به سرعت برق آسای پیشرفت تکنولوژی، در دهه ۱۹۹۰ جهش عظیمی در صنعت پرینت، دروازه ورود این تکنولوژی به منازل را گشود. بدین ترتیب پرینترهای جوهر افشان با ابعاد کوچک تر از پرینترهای عظیم اولیه، به ابزارهای خانگی ارتقاء یافتند که علاوه بر چاپ متون قادر به چاپ عکس نیز بودند. با آغاز قرن ۲۱ و پیشرفت سریع علم، تکنولوژی پرینت نیز از این پیشرفت بی بهره نماند و از سال ۲۰۰۰ به بعد امکان پرینت دیجیتالی به وسیله مایعی مناسب و کارآمد، جایگزین جوهرهای رنگی شد و میدان جدیدی را در زمینه پرینت قطعات الکترونیک پدید آورد. دستیابی به موفقیت در پرینت قطعات الکترونیک به وسیله موادی که جایگزین جوهرهای رنگی شدند، رویای ساخت ابزار توسط دستگاه را تحقق

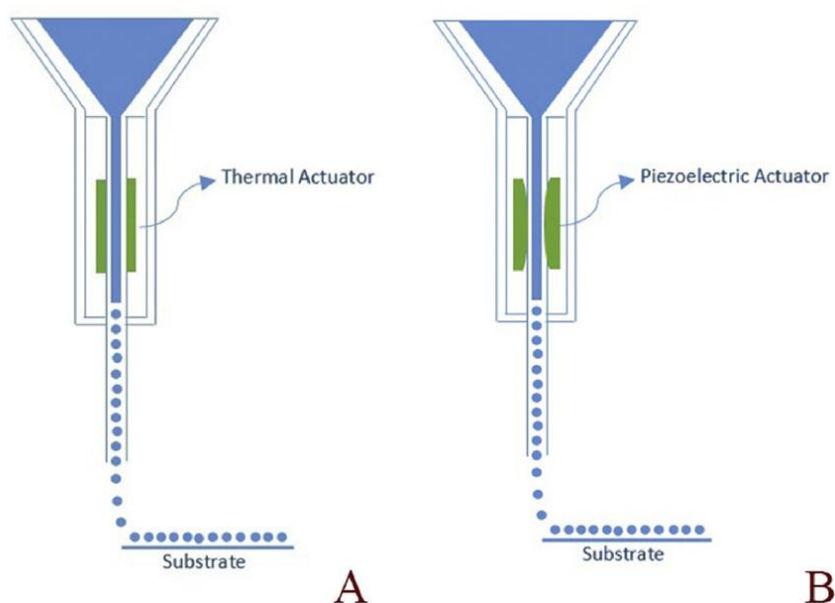
بخشید و سبب به وجود آمدن ایده هایی نو در مورد کاربرد پرینترها در دیگر زمینه ها شد. از جمله این ایده های نو که تحولی اساسی در روند تکنولوژی پرینت ایجاد کرد، پرینترهای زیستی بودند که استفاده از مواد زیستی را جایگزین جوهر کردند. به وقوع پیوستن چنین ایده ای به سهولت امکان پذیر نبود زیرا مواد زیستی که ماهیت زنده دارند نیازمند شرایط ویژه ای جهت حفظ بقایشان می باشند [۹].

پرینترهای دو بعدی جوهر افشان برای پرینت مطالب از کامپیوتر بر روی کاغذ مورد استفاده قرار می گیرند و برای این منظور از کارتریج های حاوی جوهر استفاده می کنند. پرینترهای سه بعدی جوهر افشان زیستی شباهت زیادی به پرینترهای دو بعدی جوهر افشان صنعتی دارند. زیرا به منظور پرینت بافت سه بعدی، از فایل تصویری موجود در کامپیوتر استفاده می کنند و همچنین مواد استفاده شده در پرینترهای سه بعدی زیستی مخلوطی از مواد مایع و پودر هستند که شباهت زیادی به کارتریج های استفاده شده در پرینترهای دو بعدی دارند. این شباهت سبب سهولت در استفاده از پرینترهای جوهر افشان زیستی است. البته تفاوت پرینترهای جوهر افشان زیستی با دیگر پرینترهای جوهر افشان به وضوح مشهود است و مهمترین تفاوت آنها در این نکته است که در پرینترهای جوهر افشان زیستی مواد مصرف شده، به جای کارتریج، مواد زنده زیستی می باشند. در مقایسه با پرینترهای جوهر افشان دو بعدی نیز، در پرینترهای جوهر افشان زیستی استفاده از یک صفحه بالابر جایگزین استفاده از کاغذ شده است. همان طور که در پرینترهای جوهر افشان دوبعدی، کاغذ محل استقرار جوهر پرینت شده بود، در پرینترهای جوهر افشان زیستی صفحه بالابر که به صورت الکترونیکی کنترل می شود محل استقرار مواد زیستی مصرفی است. صفحه بالابر ذکر شده با حرکت در هر سه محور x ، y و z امکان ساخت ساختاری سه بعدی توسط پرینتر را فراهم می کند [۷، ۹].

از دیگر ویژگی های قابل توجه پرینت با پرینترهای جوهر افشان زیستی، می توان به این نکته اشاره کرد که در طی مراحل پرینت هیچگونه تماسی بین دهانه پرینتر و سطح استقرار بافت های سه بعدی نهایی صورت نمی گیرد. به این معنی که پس از تعیین داده های دیجیتالی مورد نظر توسط کامپیوتر، این داده ها به صورت تصاویر دیجیتالی به پرینتر منتقل می شوند و سپس قطرات جوهر زیستی بر روی سطحی که به منظور استقرار بافت پرینت شده در زیر پرینتر قرار دارد فرود آمده و بدین ترتیب تصویر دیجیتالی را به صورت ساختاری سه بعدی پرینت می کنند [۱۰].

۲,۳,۱ انواع پرینترهای جوهر افشان زیستی

با توجه به کاربرد وسیع پرینترهای جوهر افشان سه بعدی در زمینه های مختلف زیستی و غیر زیستی، در این پرینترها با توجه به نوع محصول نهایی از مایعات متفاوتی به عنوان جوهر استفاده می شود. این جوهرهای مصرفی از هر ماده ای که تشکیل شده باشند نیازمند نیروی محرکه ای هستند که جوهر را به خارج از دهانه پرینتر منتقل کند. از این رو در پرینترهای جوهر افشان از نیروهای متفاوتی به منظور ایجاد فشار لازم جهت خروج جوهر زیستی از دهانه پرینتر استفاده می شود. به منظور ایجاد فشار ذکر شده جهت خروج قطرات مایع جوهر زیستی و استقرار آن بر روی صفحه بالابر الکترونیکی، دو نیروی حرارتی یا صوتی مورد استفاده قرار می گیرند. از این رو پرینترهای جوهر افشان زیستی به دو دسته حرارتی و صوتی تقسیم می شوند (تصویر ۵) [۱۱].



تصویر ۵. انواع پرینترهای جوهر افشان. (A) پرینتر جوهر افشان حرارتی. (B) پرینتر جوهر افشان صوتی [۱۲].

۲,۳,۱,۱ پرینترهای جوهر افشان حرارتی

صرف نظر از موادی که به عنوان جوهر مورد استفاده قرار می گیرند، پرینترهای جوهر افشان حرارتی از حرارت به عنوان عامل ایجاد کننده فشار مورد نیاز برای خارج ساختن جوهر از دهانه پرینتر استفاده می کنند. ساختار پرینترهای جوهر افشان حرارتی، الهام گرفته از فرآیند طبیعی و معمول جوشیدن آب و حباب هایی که بدین

وسیله تولید می شوند است. در این تکنولوژی، به منظور ایجاد حرارت اولیه در دهانه پرینتر از گرمایش الکتریکی استفاده می شود. به وسیله گرمایش الکتریکی، جوهری که درون محفظه قرار دارد، در مدتی اندک و با سرعتی بالا گرم می شود و به دمای ۳۵۰ تا ۴۰۰ درجه سانتی گراد رسیده و بخار تولید می کند. نکته قابل توجه این است که برخلاف دمای بسیار بالای این گرمایش متمرکز، حرارت تاثیر چشمگیری بر روی پایداری مولکول های زیستی مانند دئوکسی رابونوکلئیک اسید (دی ان ای)، و یا بقای سلول های پستانداران نخواهد داشت. زیرا به دلیل کوتاه بودن مدت حرارت دهی، افزایش دما در دهانه پرینتر تنها ۴ تا ۱۰ درجه سانتی گراد خواهد بود. در ادامه فرآیند پرینت بلافاصله پس از تولید بخار، حبابی در سطح ایجاد می شود که تولید فشار کرده و قطره جوهر را به خارج از دهانه پرینتر فشار می دهد. همزمان با خروج قطره جوهر، به دلیل افت فشار، حباب تولید شده ترکیده و نیروی مورد نیاز جهت پر شدن مجدد محفظه توسط جوهر را مهیا می کند. این فرآیند بسیار سریع است و در مدت زمانی کمتر از ۱۰ میکروثانیه روی می دهد. در مورد پرینترهای جوهر افشان زیستی، حرارت وارده بر دستگاه نیازمند توجه بالایی است زیرا حرارت از عوامل تهدید کننده بقای مواد زیستی می باشد [۱۳، ۱۴].

مزیت های پرینترهای جوهر افشان حرارتی عبارتند از سرعت بالای پرینت، هزینه کم و در دسترس بودن. از سوی دیگر، خطر قرار گرفتن سلول ها و مواد در معرض فشارهای حرارتی و مکانیکی، کم دقتی در هدایت قطره، تولید قطرات ناهمسان، بسته شدن مکرر دهانه پرینتر و قرار دادن سلول ها در جایگاه های نادرست، از جمله اشکالات این پرینترهای زیستی می باشند [۷، ۱۱].

۲،۳،۱،۲ پرینترهای جوهر افشان صوتی

نوع دیگری از پرینترهای جوهر افشان زیستی، پرینترهای پیزوالکتریک^۴ یا صوتی هستند. در پرینترهای جوهر افشان صوتی، برخلاف پرینترهای جوهر افشان حرارتی، که به منظور ایجاد فشار لازم برای تولید قطرات جوهر از حرارت و تولید حباب استفاده می کنند، از آمیزش نیروی تشعشع صوتی با یک میدان فراصوت استفاده می شود. میدان فراصوت امکان تشکیل اسفروئیدهای سلولی با قابلیت بالای زیست پذیری و تراکم سلولی در مدت زمانی به کوتاهی چند دقیقه را فراهم می کند. استفاده از میدان فراصوت با شدت پایین همچنین سبب افزایش تعداد و

^۴ Piezoelectric

تفکیک پذیری سلول های بنیادی می شود. به طور کلی استفاده از تکنولوژی فراصوت در پرینت زیستی سه بعدی، میزان تولید ساختارهای پرینت شده را افزایش می دهد [۱۵].

در ساختمان پرینترهای جوهرافشان صوتی قطعات دیگری از جمله یک صفحه پیزوسرامیک و یک دیافراگم نازک که به صفحه پیزوالکتریک متصل است نیز ایفای نقش می کنند. کاربرد این دیافراگم نازک ممانعت از برقراری تعاملات ناخواسته میان جوهر و صفحه می باشد. تولید موج صوتی در فواصل معین در درون دهانه پرینتر موجب شکسته شدن جوهر مایع و تبدیل آن به قطره می شود. صفحه پیزوالکتریک که بر اثر موج صوتی ایجاد شده تغییر شکل داده است سبب ایجاد فشاری می شود که این اعمال فشار سبب ایجاد تغییر سریع در اندازه قطرات جوهر شده و این تغییر به نوبه خود فشار مورد نیاز برای خروج قطرات از دهانه پرینتر را فراهم می آورد. با قطع شدن موج صوتی و بازگشت صفحه پیزوسرامیک به شکل اولیه اش، محفظه مجدداً از جوهر پر شده و این فرآیند تا پایان پرینت به دفعات تکرار می شود. قابل ذکر است که پارامترهای فراصوت، مانند پالس، استمرار و دامنه، تغییر پذیرند و با اعمال تغییر در هریک از این ویژگیها می توان اندازه قطرات و تعداد قطرات خروجی مورد نیاز پرینت را تعیین کرده و به نتیجه مورد نظر دست یافت [۷, ۱۱].

در پرینترهای جوهرافشان صوتی برخلاف پرینترهای جوهرافشان حرارتی، از هیچ گونه حرارتی استفاده نمی شود، در نتیجه سلول های موجود در جوهر زیستی از فشارهای حرارتی و مکانیکی حفظ می شوند. از مزیت های این نوع پرینت جوهرافشان، قابلیت استفاده انواع بیشتری از جوهرهای زیستی و افزایش طول عمر دهانه پرینتر می باشد. در مقایسه با پرینترهای جوهرافشان حرارتی، پرینترهای جوهرافشان صوتی دارای قابلیت تولید و کنترل قطرات با اندازه های یکنواخت بوده و همچنین دقت بالایی در هدایت قطره دارند [۹]. از دیگر ارجحیت های پرینترهای جوهرافشان صوتی می توان به قابلیت استفاده از چندین اجکتور که در یک قالب تنظیم پذیر ترکیب شده اند اشاره کرد. مزایای استفاده ترکیبی از اجکتورهای متعدد عبارتند از: فراهم کردن موقعیت برای پرینت همزمان انواع سلول ها و مواد مختلف، و امکان ساخت بافت هایی متشکل از لایه هایی با مواد متنوع. با وجود این مزیت ها، پرینترهای جوهرافشان صوتی بی نقص نیستند. فرکانس های صوتی ۱۵ تا ۲۵ کیلوهرتز که در این پرینترها اعمال می شوند، به دلیل طول موج کوتاه دارای انرژی بسیار زیادی هستند و این موجب آسیب دیدن غشاء سلولی

و تحلیل رفتن سلول می شود. به علاوه، هزینه مورد نیاز جهت تهیه دهانه پرینترهای جوهرافشان صوتی و نرم افزارهای وابسته به آن نیز بسیار سنگین برآورد شده است [۷, ۱۱].

۲,۳,۲ محدودیت های پرینترهای جوهر افشان

علاوه بر محدودیت هایی که در مورد هریک از انواع پرینترهای جوهرافشان به صورت جداگانه بیان شد، محدودیت های دیگری نیز وجود دارند که امید است در آینده ای نه چندان دور راه حلی برایشان پیدا شود. محدودیت هایی که در زیر نام برده خواهند شد، به عنوان چالش هایی مشترک در هر دو نوع پرینترهای جوهرافشان حرارتی و صوتی دیده می شوند.

از جمله محدودیت های پرینترهای جوهرافشان زیستی که هر دو نوع حرارتی و صوتی را تحت تاثیر قرار می دهد محدودیت چسبناکی مواد مصرفی (در حد مطلوب زیر ۱۰ سنتیپوز^۵) است. در پرینترهای جوهرافشان توجه به میزان چسبندگی مواد مورد استفاده، جهت تهیه جوهر، نقش به سزایی دارد. زیرا از سویی درصد چسبندگی کم سبب رقیق شدن جوهر می شود و جوهر رقیق به هیچ وجه به منظور ساخت بافت های مستحکم مطلوب نیست؛ و از سوی دیگر درصد چسبندگی زیاد سبب غلظت بالای جوهر شده و متعاقب آن به اعمال نیروی بیشتری جهت خروج قطرات جوهر از دهانه پرینتر نیاز خواهد بود. در پرینترهای زیستی که دو فاکتور وضوح سطح و بقای سلول ها و مواد زیستی در اولویت قرار دارد، این مورد نقش به سزایی ایفا می کند [۷, ۱۶]. مواد استفاد شده به عنوان جوهر زیستی نه تنها باید حالت مایع داشته باشند تا روند تولید قطره را تسهیل بخشند، بلکه این مایع باید طوری باشد که پس از پرینت شدن یک ساختار سه بعدی جامد کارآمد و مستحکم را ایجاد کند. برای برطرف کردن این محدودیت، ایجاد پیوند بین مواد مورد استفاده می تواند تاثیر گذار باشد. ایجاد پیوند بین مواد زیستی از چند طریق امکان پذیر است، از جمله واکنش های شیمیایی زیست سازگار، و قرار دادن مواد در معرض پرتو فرابنفش (آغازگرهای نوری^۶) [۱۷]. با این حال، ایجاد پیوند بین مواد زیستی باعث کند شدن فرآیند پرینت زیستی شده و سبب تغییر ساختار طبیعی ماتریکس خارج سلولی می شود. این ایجاد تغییر در ساختار طبیعی ماتریکس خارج سلولی، باعث می شود که خصوصیات ماده و ساختار شیمیایی آن نیز به کلی عوض شود. همچنین برخی از مکانیسم

^۵ Centipoise

^۶ Photoinitiators (PI)

های پیوند بین مواد، تنها زمانی کارایی لازم را دارند که تحت شرایط یا مواد خاصی قرار گیرند، که متأسفانه این شرایط و مواد در برخی موارد برای سلول‌ها سمی بوده و کارایی و شرایط مطلوب زنده ماندن سلول را به خطر می‌اندازند [۱۸].

مشهود است که بیشترین چالش مربوط به پرینترهای جوهرافشان زیستی، مربوط به دستیابی به غلظت سلولی مناسب است. قابل ذکر است که در اکثر موارد، از غلظت‌های سلولی کم (کمتر از ۱۰ میلیون سلول بر میلی‌لیتر) به منظور تسهیل تشکیل قطرات، کاهش نیروی برشی و اجتناب از مسدود شدن دهانه پرینتر استفاده می‌شود. که البته همین غلظت کم ممکن است مانع تشکیل بافتی مستحکم شود [۷، ۱۹].

۲،۳،۳ مزیت‌های پرینترهای جوهر افشان

با وجود اشکالات ذکر شده در پرینترهای جوهرافشان، می‌توان به مزیت‌های مشترکی در هر دو نوع حرارتی و صوتی اشاره کرد. از جمله مزایای پرینترهای جوهر افشان، قیمت مناسب، دقت و سرعت بالا و سازگاری با مواد متعدد است. مزیت دیگر پرینترهای جوهرافشان که سبب توسعه کارایی آن در موارد زیستی بوده است، قابلیت تنظیم شیب غلظت^۷ سلول‌ها، مواد یا فاکتورهای رشد است، که به تناسب نیاز در هر قسمت از بافت سه بعدی اعمال می‌شود. بدین معنی که پرینترهای جوهرافشان از طریق تنظیم مقدار یا اندازه قطرات خروجی، غلظت مواد در هر قسمت از بافت را تنظیم می‌کنند. تنظیم شیب غلظت مواد مصرفی که به عنوان جوهر در پرینترهای جوهرافشان زیستی استفاده می‌شوند، عامل مهمی در ایجاد پیوند های سالم بین مواد است و نقش به سزایی در ایجاد استحکام ساختارهای سه بعدی ایفا می‌کند [۷].

از جمله پیشرفت‌هایی که پرینترهای جوهرافشان زیستی تا کنون به آن دست یافته اند، موفقیت‌های چشمگیری در زمینه ساخت پوست [۲۰، ۲۱] و غضروف [۲۲] کارآمد در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. سرعت بالای پرینت در پرینترهای جوهرافشان زیستی، موجب استقرار صحیح و به جای سلول‌ها و مواد استفاده شده، در محل آسیب دیده پوستی یا غضروبی می‌شود. پوست ساخته شده توسط پرینتر، قابل استفاده در درمان زخم‌های ایجاد شده در بیماران دیابتی و افرادی که دچار سوختگی‌های حاد شده اند می‌باشد؛ و غضروف ساخته شده بدین

^۷ Concentration gradient

وسیله قابل استفاده در درمان آسیب های وارد آمده به افرادی که بر اثر حادثه، بخشی غضروفی را از دست داده اند خواهد بود [۲۰، ۲۲]. همان طور که اشاره شد، سرعت پرینت در پرینترهای جوهر افشان زیستی بالاست. بنابراین نیاز است تا در کوتاه ترین زمان ممکن میان مواد حاوی سلول پیوند برقرار شود. واکنش های شیمیایی زیست سازگار و همچنین آغازگرهای نوری، برقراری چنین پیوند هایی را امکان پذیر می کنند [۲۳، ۲۴]. به طور کلی می توان از سرعت بالای پرینت به عنوان اساسی ترین مزیت پرینترهای جوهر افشان نام برد. سرعت بالای این پرینترها در موارد زیستی سبب می شود که استقرار سلول های اولیه و سلول های بنیادی، با سهولت بیشتر و غلظت یکسان، بر روی ناحیه آسیب دیده صورت گیرد؛ که از نتایج یکسانی غلظت سلول های خارج شده از پرینتر، سازگاری سلولی و عملکرد بالای آنها پس از فرآیند پرینت است [۲، ۷].

۲،۴ پرینترهای رسوب ساز

در ادامه پیشرفت تکنولوژی پرینت، علاوه بر پرینترهای جوهر افشان، پرینترهای مجهزتری با کارایی بیشتر پا به عرصه ظهور گذاشتند. پرینترهای رسوب ساز با تمرکز بر روی نحوه خروج مواد توانستند به سرعت جای خود را در این میان باز کنند، به طوری که امروزه به متداول ترین و مقرون به صرفه ترین نوع پرینترهای سه بعدی غیر زیستی تبدیل شده اند، و همچنین در زمینه های زیستی به یکی از اساسی ترین تکنیک های پرینت بدل شده اند. با ورود پرینترهای رسوب ساز به دنیای پزشکی، واضح بود که ایجاد برخی تغییرات به منظور زیست سازگار شدن^۱ این پرینتر لازم است. به همین دلیل ساختار پرینترهای رسوب ساز زیستی و غیر زیستی دارای تفاوت های ساختاری اندکی می باشند. به منظور زیست سازگار نمودن پرینترهای رسوب ساز از ترکیب دو سیستم که یکی توزیع کننده مایع و دیگری یک سیستم رباتیک اتومات است بهره گرفته شده است، تا پرینتر علاوه بر خارج سازی مواد، دارای قابلیت حرکت در هر سه محور x ، y و z نیز باشد. پرینترهای رسوب ساز زیستی، همچنین مجهز به یک چراغ فیبرنوری به منظور روشن سازی ناحیه استقرار مواد، یک دوربین ویدیویی به منظور کنترل محورهای x - y - z و یک مرطوب کننده فیزیوالکتریک می باشند. تمامی این تجهیزات قابلیت پرینت مواد زیستی را برای پرینترهای رسوب ساز فراهم کرده، و سبب شده اند که در دسته پرینترهای کارآمد، جهت دستیابی به اهداف

^۱ Biocompatibility

پزشکی و داروسازی قرار گیرند. قابل ذکر است که در تعداد کمی از پرینترهای رسوب ساز، دهانه های متعددی به منظور تسهیل توزیع هم زمان چند ماده، استفاده می شوند. وجود چندین دهانه، نیاز به افزودن مجدد مواد را کاهش داده و به پرینتر این امکان را می دهد تا برای مدت زمان طولانی تری بدون وقفه فرآیند پرینت را به انجام برساند. نحوه توزیع جوهر زیستی توسط پرینترهای رسوب ساز، بدین صورت است که در تمامی مراحل پرینت یک سیستم ته نشین کننده^۹، جوهر زیستی را به وسیله کنترل کامپیوتری توزیع می کند و محصول نهایی، سلول هایی محفوظ شده درون رشته های استوانه ای با ساختار سه بعدی خواهند بود [۷, ۲۵].

عملکرد پرینترهای رسوب ساز از طریق کنترل رباتیک هدایت می شود و خروج مواد تحت نظارت این سیستم کنترل، انجام می گیرد. مواد خروجی که توسط دهانه میکرواکستروژن^{۱۰} پرینتر در اندازه ریزمیلیمتر^{۱۱} به بیرون هدایت می شوند، بر روی سطح زیرین مستقر می شوند. قطعات خارج شده از پرینترهای رسوب ساز، بسیار متفاوت از قطره هایی هستند که توسط پرینترهای جوهرافشان تولید می شوند. محصولات پرینترهای رسوب ساز به جای قطرات مایع، مهره های متوالی از مواد هستند که به صورت استوانه قابل مشاهده اند. یکی از نکات قابل توجه در مورد پرینترهای رسوب ساز زیستی، تعداد بی شمار موادی است که می توان به عنوان جوهرهای زیستی مورد استفاده قرار داد، بدون اینکه از وضوح سطح و یا بقای اجزای تشکیل دهنده ساختار نهایی کاسته شود. این مواد با ارزش عبارتند از هیدروژل ها^{۱۲} [۸]، پلیمرهای زیست سازگار^{۱۳} و اسفروئیدهای سلولی^{۱۴} [۲۶]. اسفروئیدها توده ای از سلول های در حال ازدیاد و تکثیر هستند که به یکدیگر متصل شده و همواره ساختمان سه بعدی خود را حفظ می کنند، و همچنین نسبت به بافت پرینت شده مورد نظر، کاملاً اختصاصی عمل می کنند [۲۷]. هریک از مواد نام برده، یکی از فاکتورهای مورد نیاز پرینت زیستی رسوبی را تامین می کنند. برای مثال مواد دارای چسبندگی زیاد، اکثراً پشتیبانی ساختاری مورد نیاز بافت پرینت شده را فراهم می کنند؛ و در مقابل، مواد

^۹ Deposition system

^{۱۰} Microextrusion

^{۱۱} Submillimeter

^{۱۲} Hydrogels

^{۱۳} Biocompatible polymers

^{۱۴} Cell spheroids

دارای چسبندگی کم، شرایط محیطی مناسب سلول ها را فراهم می کنند. از این رو در برخی موارد که امکان تهیه مخلوطی از هر دو نوع این مواد وجود داشته باشد، پرینت رسوبی بهترین بازده را خواهد داشت [۷].

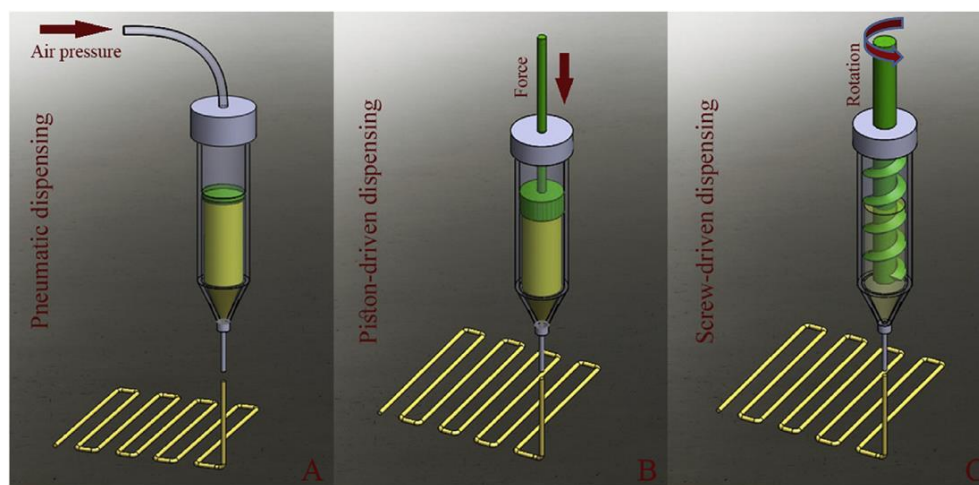
پرینترهای رسوب ساز زیستی، در ساخت بسیاری از بافت ها کاربرد دارند که از این جمله می توان کبد را نام برد. برخی از عوامل بیماری زای مرگبار انسانی به این دلیل که تنها میزبانان انسان است قابل مطالعه در حیوانات آزمایشگاهی نیستند، برای مثال آدنوویروس انسانی. یکی از تحقیقات انجام شده بر روی کبدی که توسط پرینت رسوبی ساخته شده است، مربوط به بررسی چگونگی انتقال و درمان عفونت آدنوویروس انسانی در کبد انسان است. در افراد سالم، آدنوویروس باعث عفونت های ملایم دستگاه تنفسی و دستگاه گوارشی، و ورم لایه ملتحمه چشم می شود. اما در بیمارانی که از داروهای ضعیف کننده سیستم ایمنی استفاده می کنند، مانده افرادی که تحت جراحی پیوند بافت قرار گرفته اند، آدنوویروس می تواند سبب عفونت های شدید و کشنده شود. در تحقیق انجام شده، برای پرینت کبد مشابه بافت طبیعی، از جوهرزیستی تشکیل شده از ماتریکس فاقد سلول انسانی، الجینات و ژلاتین، که مناسب پرینت سه بعدی کبد توسط پرینتر رسوب ساز زیستی هستند استفاده شده است. پس از قرار دادن سلول ها در ماتریکس فاقد سلول و بلوغ بافت پرینت شده، شرایط مناسب تکثیر آدنوویروس انسانی برای مطالعه ویروس فراهم می شود [۲۸].

۲,۴,۱ سیستم های اعمال فشار^{۱۰} در پرینترهای رسوب ساز

با وجود مایع و سیال بودن مواد مصرفی در انواع پرینترها، همچنان به نیرویی جهت خارج کردن جوهر از دهانه پرینتر نیاز است. این نیروهای مورد نیاز را با توجه به نوع پرینتر و طرز عملکرد آن می توان از راه های متفاوتی تامین کرد. از جمله این روش ها می توان به دو سیستم انتشار بادی و مکانیکی (پیستون و پیچ) اشاره کرد (تصویر ۶). عملکرد این دو سیستم نه تنها مناسب پرینترهای غیر زیستی رسوب ساز بوده، بلکه نشان داده اند که قابلیت های لازم جهت پرینت زیستی را نیز دارند. از این رو سیستم های انتشار بادی و مکانیکی روش های رایجی برای خارج کردن مواد زیستی و به کار بردن آنها در برنامه های پرینت زیستی سه بعدی می باشند. در سیستم های بادی (تصویر ۶-A)، از حجم فشرده گاز، به منظور ایجاد فشار لازم برای خروج قطرات جوهر استفاده

^{۱۰} Fluid dispensing system

می شود، که البته فشرده بودن حجم گاز سبب ایجاد تاخیر در خروج مواد می گردد. در مقابل سیستم های بادی، در سیستم های مکانیکی از پیچ یا پیستونی که فشار لازم را به جوهر اعمال می کند، استفاده می شود (تصویر B و C-۶). سیستم های انتشار مکانیکی، امکان کنترل مستقیم بیشتر بر روی جریان مواد را فراهم می کنند. علیرغم مشکلات مربوط به چسبندگی مواد مصرفی در موارد زیستی، هر دو سیستم بادی و مکانیکی به منظور توزیع مواد دارای چسبندگی بالا، مناسب هستند. با این حال در سایر موارد مهم، سیستم های مکانیکی دارای مزیت های بیشتری نسبت به سیستم های بادی می باشند. مزیت های بارز سیستم های مکانیکی سبب شده است که این سیستم ها قادر به ایجاد کنترل فضایی مناسب تری، جهت ساخت ساختارهای سه بعدی باشند. از جمله فاکتورهایی که امکان کنترل فضایی مناسب تری را به سیستم های مکانیکی می دهد، کوچکتر و پیچیده تر بودن اجزاء سازنده شان نسبت به سیستم های بادی است. ظرافت اجزاء سازنده این سیستم های مکانیکی مولد فشار، استرس های وارده بر مواد زیستی را به حداقل رسانده و در نتیجه ساختار سه بعدی کارآمدتری را ارائه خواهند داد [۷، ۲۹].



تصویر ۶. انواع سیستم اعمال فشار در پرینترهای رسوب ساز. (A) سیستم اعمال فشار بادی (B) سیستم اعمال فشار مکانیکی پیستون (C) سیستم اعمال فشار مکانیکی پیچ [۱۲].

۲, ۴, ۲ مواد مطلوب در پرینت رسوبی

در پرینت رسوبی، استفاده از بازه وسیعی از مواد امکان پذیر است. با این وجود برخی از مواد که توانایی برقراری پیوند بر اثر افزایش دما را دارند (پیوند حرارتی) و یا موادی که دارای ویژگی های نازکی برش^{۱۶} هستند، بیشتر مطلوب بوده و بر سایر مواد ارجحیت دارند. در دانش مربوط به جریان و تغییر شکل ماده، نازکی برش، به رفتار غیر نیوتونی مایعاتی اطلاق می شود، که بر اثر آسیب برشی که حین خروج از دهانه و قرار گرفتن روی سطح بر آن ها وارد می شود، چسبندگی شان کاهش می یابد. ویژگی های نازکی برش را می توان در محلول هایی با حجم مولکولی بالا مانند محلول های پلیمری و پلیمرهای ذوب شده، مایعات پیچیده و سوسپانسیون هایی مثل خون و رنگ ها مشاهده کرد. تعداد بیشماری از مواد زیست سازگار در دمای اتاق دارای حالت مایع هستند، که به آنها امکان خروج همزمان با سایر اجزاء زیستی را می دهد؛ اما همین مواد که در دمای اتاق سیال هستند، در دمای داخل بدن بر اثر افزایش دما، درصد چسبندگی شان افزایش می یابد و موجب برقراری پیوند میان این مواد با سلول ها و مواد ثابت بدن می شود. این ویژگی سبب تسهیل پیوند بافت پرینت شده به بدن فرد گیرنده و افزایش سرعت بهبود جراحات می شود. متناوباً موادی که در دماهای فیزیولوژیکی مطلوب (۳۵-۴۰ درجه سانتی گراد) قابلیت جاری شدن دارند اما در دمای اتاق قادر به برقراری پیوند هستند نیز، می توانند کارایی های زیادی در زمینه پرینت زیستی داشته باشند. این رفتار غیر نیوتونی مواد، چسبندگی را کاهش داده و موجب افزایش نرخ برش^{۱۷} می شود [۳۰]. در حین فرآیند پرینت زیستی، نرخ برش بالا در دهانه پرینتر، سبب کاهش چسبندگی مواد شده و به مواد این امکان را می دهد تا در دهانه پرینتر جاری شوند؛ و بالعکس در حین قرار گرفتن مواد بر روی سطح، زمانی که نرخ برش کاهش می یابد، افزایش ناگهانی چسبندگی نتایج مطلوبی را به دست می دهد [۲۹].

۲, ۴, ۳ مزیت های پرینت رسوبی

پرینترهای رسوب ساز زیستی دارای مزیت های متعددی از جمله سرعت، قابلیت استفاده از غلظت های بالای سلولی و زیست سازگار بودن، هستند.

^{۱۶} Shear-thinning features

^{۱۷} Shear rate

۲,۴,۳,۱ سرعت

یک از موارد مهم در پرینت و به خصوص پرینت زیستی، سرعت است. از جمله مزیت های تکنولوژی پرینت رسوبی، می توان به عملکرد سریع آن اشاره کرد. این سرعت عملکرد، در نتیجه استقرار متوالی رشته های مواد ایجاد می شود. پرینترهای رسوب ساز، برخلاف پرینترهای جوهرافشان، به جای تولید قطره، مهره های کوچک متوالی که به شکل رشته ای دیده می شوند را تولید می کنند. بنابراین در پرینت رسوبی هیچ زمانی صرف تولید قطره نشده و بدین ترتیب در استفاده از زمان صرفه جویی می شود و فرآیند پرینت با سرعت بیشتری پیش می رود. قابل ذکر است که سرعت بالای فرآیند پرینت، نه تنها عامل صرفه جویی در زمان و ابزار استفاده شده است، بلکه سبب ارتقاء ساختاری بافت پرینت شده نیز می شود [۷, ۲۹].

۲,۴,۳,۲ دریافت غلظت های بالای سلولی

از دیگر مزیت های پرینترهای رسوب ساز که آن ها را در زمره برترین پرینترهای سه بعدی زیستی قرار می دهد، این است که این پرینترها قادر به دریافت غلظت های بالای سلولی هستند. هدف اصلی در زمینه پرینت زیستی، دستیابی به غلظت های نرمال فیزیولوژیک سلولی، در اندام ها و بافت های پرینت شده است. به منظور دستیابی به این هدف، اسفروئیدهای سلولی. متشکل از چندین نوع سلول، بر روی ساختارهای سه بعدی از پیش تعیین شده (داربست های زیستی) قرار داده می شوند. قابل ذکر است که اسفروئیدهای سلولی، دارای مواد مورد نیاز برای تکثیر هردو خواص مکانیکی و عملکردی بافت. ماتریکس خارج سلولی می باشند. به دلیل خواص چسبندگی قطعات سازنده اسفروئیدهای سلولی، در بافت پرینت شده حاوی اسفروئیدهای مذکور، انواع مختلفی از تجمعات سلولی با یکدیگر آمیخته و یک ساختار میکروسکوپی منسجم را شکل می دهند. از جمله مزیت های اسفروئیدها این است که، موجب سرعت بخشیدن به سازماندهی بافتی شده و امکان کنترل ساخت بافت های پیچیده را افزایش می دهند. با این توصیف ها، پرینت رسوبی رایج ترین تکنولوژی مورد استفاده در پرینت زیستی اسفروئیدهای سلولی می باشد [۷].

۲, ۴, ۳, ۳ افزایش نرخ بقای سلول ها

یکی دیگر از مزیت های پرینترهای رسوب ساز، امکان حفظ بقای سلول ها است. به این معنا که امکان دستیابی به سلول های زنده و کارآمد بسیار آسان است و درصد بقای سلول ها در پرینترهای رسوب ساز بین ۴۰- ۸۰٪ می باشد. با این وجود، افزایش فشار وارد شده به جوهر زیستی در هنگام خروج از دهانه، می تواند عامل مهمی در کاهش درصد بقای سلول ها باشد. البته این نکته نیز حائز اهمیت است که قطر دهانه پرینتر، تأثیر به سزایی بر حفظ بقای سلول ها دارد. هرچه قطر دهانه کمتر باشد، خروج سلول ها کندتر و مشکل تر صورت خواهد گرفت. با وجود این، فشار وارد شده در هنگام توزیع جوهر زیستی، همچنان تأثیر بیشتری نسبت به قطر دهانه پرینتر بر بقای سلول ها دارد. بقای سلول ها با کاهش فشارهای وارده و افزایش سایز دهانه پرینتر حفظ خواهد شد، اما نتیجه آن کاهش چشمگیری در دقت و سرعت پرینت خواهد بود. با این حال برای دستیابی به عملکرد هرچه بهتر بافت پرینت شده مهم است که بقای سلول ها حفظ شود [۷].

۲, ۴, ۴ محدودیت های پرینترهای رسوب ساز

سرعت پرینترهای رسوب ساز بالا است، با این حال سرعت موجب می شود که بافت پرینت شده فاقد وضوح کافی باشد. با اینکه پرینتر های رسوب ساز زیستی قادر به استفاده از مواد زیادی هستند، اما بسیاری از این مواد فاقد قابلیت شکل گیری سریع می باشند. به همین دلیل، گزینه های مطلوب اندکی از جوهر های زیستی باقی می مانند که توانایی شکل گیری سریع پس از پرینت را دارند. چالش دیگر در زمینه پرینت رسوبی، تغییر شکل سلول ها به علت نیروی برشی است. هنگامی که تراکم سلول ها در دهانه پرینتر زیاد باشد، نیروی برشی سبب از بین رفتن تعداد قابل توجهی از سلول های زنده می شود. با این حال با ارتقاء پارامترهایی از جمله غلظت جوهر زیستی، فشار دهانه پرینتر، قطر دهانه و غلظت سلول های خارج شده، می توان تا حدودی موجب کاهش این محدودیت ها شد. دو عامل محدود کننده ذکر شده، یعنی گزینه های محدود جوهر زیستی. مطلوب و وضوح کم بافت پرینت شده، موجب کاهش کارایی پرینترهای رسوب ساز می شوند. استفاده از جوهر های زیستی دارای چسبندگی زیاد این مزیت را دارد که مانع کشش سطحی در هنگام تشکیل قطرات شده و باعث می شود مواد به شکل رشته های متوالی پرینت شوند. اما همین چسبندگی زیاد موجب گرفتگی دهانه پرینتر می شود. گرفتگی دهانه پرینترهای رسوب ساز به دلیل

چسبندگی مواد، به علل متفاوتی مربوط است. از جمله تنظیم اشتباه دمای محفظه گرمایشی، انتشار محلول متصل کننده در داخل دهانه، ادغام پیش از موعد اسفروئیدها، انعقاد ذرات زیستی موجود در جوهر زیستی در قسمتی از دهانه پرینتر که باریک تر است، ناپیوستگی فشاری که جوهر زیستی را درون دهانه نگاه می دارد، و محلول های حاوی جوهرهای زیستی ناهمگون. حاوی قطعات بلند که روی هم انباشته شده و موجب مسدود شدن دهانه پرینتر می شوند [۲۹].

۲،۵ پرینترهای لیزری زیستی

لیزر ابزاری کاربردی در تمامی زمینه ها، صنعت، ساخت و ساز، زیبایی، سلامت، هنر و غیره است، که نور را به صورت پرتوهای موازی بسیار باریکی که طول موج مشخصی دارند ساطع می کند. در هریک از موارد مختلف مصرف، از درجه لیزر متفاوتی متناسب با فرآیند و محصول نهایی استفاده می شود. به طور کلی دستگاه لیزر حاوی ماده فعال کننده نور^{۱۸} است که سبب تقویت نور شده و آن را متمرکز می کند؛ این ماده فعال کننده که مهمترین ویژگی آن قابلیت برانگیخته شدن است می تواند گاز، مایع یا جامد باشد. نور لازم جهت عملکرد لیزر ابتدا توسط یک منبع انرژی بیرونی به وجود می آید و سپس توسط ماده مذکور تقویت می شود. همان طور که می توان تصور کرد، کاربردهای فراوان لیزر سبب ورود آن به عرصه تکنولوژی پرینت نیز شده است. تکنیک پرینت لیزری^{۱۹} به دلیل داشتن تفکیک پذیری میکرونی، موقعیت مناسبی برای پرینت هردو مواد زیستی و غیرزیستی فراهم می کند. در ابتدای توسعه پرینترهای لیزری از این تکنیک تنها به منظور پرینت فلزات استفاده می شد، اما به مرور زمان این تکنولوژی توانست به موفقیت های چشمگیری در زمینه پرینت مواد زیستی از جمله پپتیدها، دی ان ای و سلول ها نیز دست یابد [۳۱]. پرینترهای لیزری با پایه زیستی از سه جزء تشکیل شده اند: (۱) یک منبع لیزری پالس دار، (۲) یک نوار جذب کننده لیزر که مواد زیستی از آنجا پرینت می شوند (این نوار از سه لایه نازک ساخته شده است که به ترتیب عبارتند از صفحه انتقال دهنده^{۲۰}، لایه جذب کننده لیزر^{۲۱} که از جنس فلز طلا یا تیتانیوم است، و جوهر زیستی)، و (۳) یک سطح دریافت کننده که علاوه بر اینکه محل استقرار مواد پرینت شده است، قادر به

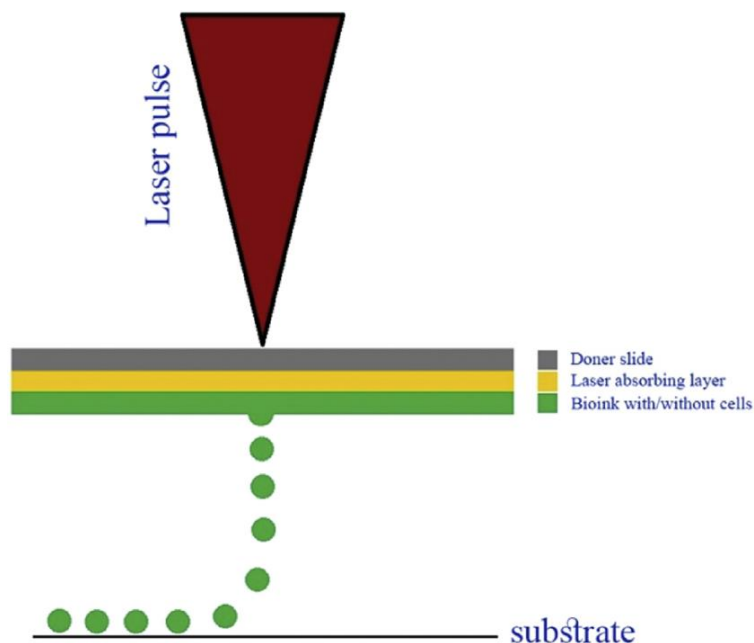
^{۱۸} Laser induced material

^{۱۹} Laser Induced Forward Transfer (LIFT)

^{۲۰} Doner slide

^{۲۱} Laser absorbing layer

حرکت سه بعدی بر روی هر سه محور x، y و z نیز می باشد (تصویر ۷) [۳۲، ۳۳]. نحوه کار پرینترهای لیزری زیستی به این گونه است که، پالس لیزری متمرکز به نوار جذب کننده تابیده می شود تا حبابی با فشار بالا به وجود بیاورد که مواد حاوی سلول ها را به سمت سطح دریافت کننده هدایت می کند [۷، ۳۲، ۳۴].



تصویر ۷. پرینتر لیزری زیستی و اجزاء تشکیل دهنده آن [۱۲].

دستیابی به نتایج پرینت واضح و برجسته، با استفاده از پرینت لیزری زیستی، به عواملی همچون ضخامت لایه جوهر زیستی پوشاننده نوار، کشش سطحی و چسبندگی جوهر زیستی، میزان رطوبت سطح زیرین، حرکت روان لیزر، و فضای بین نوار و سطح زیرین بستگی دارد. با توجه به نوع ماده پرینت شده، نسبت این پارامترها تغییر می کند تا وضوح و دقت مورد نظر حاصل شود [۷، ۳۲].

۲،۵،۱ مزیت های پرینت لیزری زیستی

علیرغم نقش به سزایی که دهانه پرینتر در هدایت و استقرار جوهرهای مصرفی ایفا می کند، تراکم مواد در این ناحیه سبب مسدود شدن مجرای خروجی و همچنین افزایش نیروی برشی می شود. از مهمترین مزیت های پرینترهای لیزری زیستی، ساختمان فاقد دهانه آن ها است، که مشکل مسدود شدن دهانه توسط سلول ها و مواد را به میزان قابل توجهی کاهش داده است. مزیت دیگر این پرینترها سازگاری با مواد مختلف از جمله محلول های

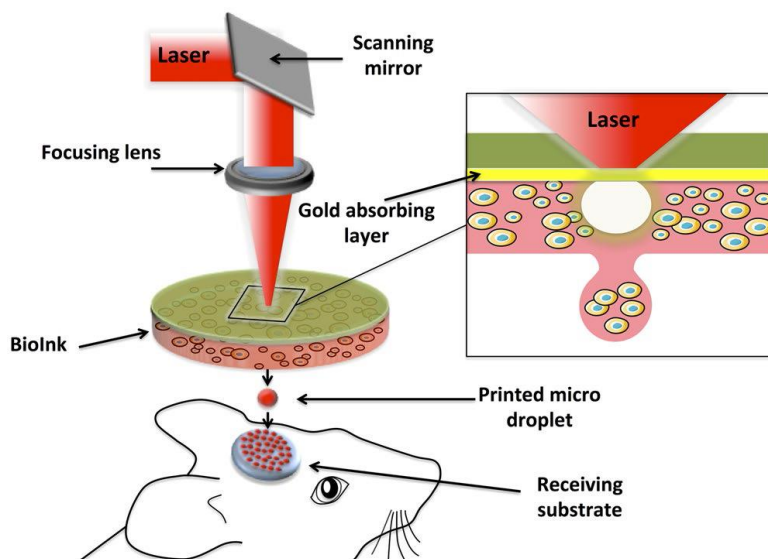
بسیار چسبناک، جامدات، ژل ها و همچنین سلول ها، با کمترین آسیب به بقا و عملکرد سلول ها می باشد. پرینترهای لیزری زیستی همچنین دارای سرعت بالایی در استقرار هم زمان میزان زیادی سلول هستند [۷, ۳۲, ۳۵].

استفاده از مواد شیمیایی در فرآیند پرینت امری معمول است. استفاده از مواد شیمیایی در پرینت زیستی، علاوه بر مزایایی که دارد، سبب آسیب سلول ها و مواد زیستی مورد استفاده در پرینت می شود. از دیگر عوامل تهدید کننده بقای سلول ها در فرآیند پرینت، حرارت است که ممکن است در مراحل مختلف از جمله تولید قطره و یا خروج جوهر از پرینتر مورد استفاده قرار گیرد. تکنیک های پرینت لیزری، در اصل به این دلیل کاربرد فراوانی در زمینه زیستی دارند، که هیچ نیازی به مواد شیمیایی آسیب زا و همچنین حرارت دادن مواد ندارند، بنابراین آسیب های وارده به سلول ها به حداقل کاهش میابد [۳۶].

پرینترهای لیزری زیستی به دلیل برخورداری از این مزایا، قابل استفاده در پرینت بافت های بسیاری از جمله استخوان هستند. استخوان ها ممکن است به دلیل بیماری و یا وارد آمدن جراحات مختلف تحلیل رفته یا از بین بروند؛ به همین دلیل، استفاده از پرینترهای لیزری زیستی در پزشکی ترمیمی نقش مهمی را ایفا می کند. برای مثال در تحقیقی، با جراحی، بخش کالواریای^{۲۲} جمجمه موش برداشته شده و سپس جوهر زیستی متشکل از هیدروژل و سلول های استرومای مزانشیمی^{۲۳}، توسط پرینتر لیزری بر روی ناحیه آسیب دیده جمجمه پرینت می شوند (تصویر ۸). پس از گذشت ۲ ماه از انجام پرینت، بررسی نمونه هایی از بافت پرینت شده از طریق تصاویر micro-CT، نشان دادند که استخوان جدید در محل آسیب دیده شکل گرفته است و به خوبی در ناحیه آسیب دیده توزیع شده است. این پیشرفت، گامی مهم در جهت پرینت بافت استخوان انسان، به صورت مستقیم در محل آسیب دیده، محسوب می شود [۳۷].

^{۲۲} Calvaria

^{۲۳} Mesenchymal stromal cells (MSCs)



تصویر ۱. پرتو لیزر تابیده شده به نوار جذب کننده سبب جدا شدن جوهر زیستی از نوار و تولید قطره می شود. قطره تولید شده بر روی ناحیه آسیب دیده مجموعه موش قرار می گیرد [۳۷].

۲,۵,۲ محدودیت های پرینت لیزری زیستی

پرینت لیزری زیستی، با وجود مزایای متعددی که نام برده شدند، همچون انواع دیگر پرینتر، با محدودیت هایی رو به رو است. این محدودیت ها عبارتند از: فقدان دهانه پرینت، تنظیم سرعت انعقاد مواد مصرفی، و تبخیر لایه فلزی جذب کننده لیزر. در ادامه به توضیح بیشتر راجع به هریک از این محدودیت ها خواهیم پرداخت.

۲,۵,۲,۱ فقدان دهانه پرینت

فقدان دهانه پرینتر در پرینترهای لیزری زیستی، به همان میزان که موجب افزایش درصد بقای سلول ها می شود، در انتقال جوهر زیستی بر روی سطح زیرین نیز، چالش ایجاد می کند. از این رو می توان فقدان دهانه در پرینترهای لیزری را بزرگترین محدودیت این پرینترهای کارآمد دانست، که موجب انباشته شدن فوتوپلیمرها بر روی سطح دریافت کننده، می شود. فوتوپلیمرها، مونومرهایی هستند که بر اثر تابش پرتو فرابنفش یا نور سفید، تبدیل به پلیمر می شوند. سطح دریافت کننده، محلی است که اجسام سه بعدی به عنوان محصولات نهایی پرینت، در آنجا مستقر می شوند. فضای موجود در سطح دریافت کننده پرینترهای لیزری، به هیچ عنوان برای پلیمریزه شدن

در نظر گرفته نشده است، و فوتوپلیمرهایی که روی آن مستقر می شوند، کارایی مورد نیاز مهندسی بافت را نخواهند داشت. این عمل، باعث به هدر رفتن مواد و افزایش هزینه پرنیت می شود [۳۴, ۷].

۲, ۵, ۲, ۲ تنظیم سرعت انعقاد مواد مصرفی

تنظیم سرعت انعقاد مواد مصرفی، یکی دیگر از چالش های پیش روی تکنولوژی پرنیت لیزری زیستی است. انعقاد جنبشی سریعی که در فرآیند پرنیت لیزری به منظور حفظ شکل ساختار مورد نظر صورت می گیرد، به میزان قابل توجهی سبب کاهش سرعت جریان پرنیت می شود. نوارهایی که به عنوان سکوی پرتاب مواد جهت شروع فرآیند پرنیت مورد استفاده قرار می گیرند، بسیار اختصاصی عمل کرده و اغلب برای هر سلول و یا هر نوع هیدروژل به صورت اختصاصی تهیه می شوند. در مواردی که نیاز است تا انواع متعددی از سلول ها و مواد، پرنیت شوند این فرآیند بسیار هزینه بر خواهد بود. به علاوه آماده سازی تک تک این نوارهای اختصاصی، برای هر سلول و هر نوع هیدروژل نیز بسیار زمان بر است. همچنین تعیین مکان مناسب قرار گرفتن سلول ها در جایگاه مناسب، روی نوار مذکور کار بسیار دشوار است. راه حلی که برای غلبه بر این چالش مورد استفاده قرار می گیرد، تکنولوژی اسکن تشخیص سلولی^{۲۴} نام دارد. تکنولوژی اسکن تشخیص سلولی، در پزشکی به عنوان راهی برای یافتن محل دقیق عفونت های داخلی، مورد استفاده قرار می گیرد. در تکنولوژی اسکن تشخیص سلولی، ابتدا سلول های مورد نظر توسط مولکول های رادیواکتیو و یا مواد فلوروسنت، نشان دار می شوند. سپس سلول های نشان دار شده وارد بدن فرد و یا وارد مخلوطی از سایر سلول ها و مواد زیستی می شوند و به آن ها زمان داده می شود تا در مکان های مورد نظرشان مستقر شوند. پس از مدتی به وسیله دستگاه اسکن، مکان سلول های نشان دار مشخص می شود. در تکنولوژی پرنیت زیستی، استفاده از اسکن تشخیص سلولی این امکان را به پرتو لیزر می دهد تا با هر پالس، تنها یک توده سلولی خاص که از پیش نشان دار شده است را انتخاب کند. این روند "هدف و پرتاب"^{۲۵} نام دارد و تضمین می کند که هر قطره پرنیت شده حاوی تعداد سلول های از پیش تعیین شده است [۳۴, ۷].

^{۲۴} Cell recognition scanning technology

^{۲۵} Aim-and-shoot

۲,۵,۲,۳ تبخیر لایه فلزی جذب کننده لیزر

چالش دیگر پیش رو در پرینت لیزری زیستی، تبخیر لایه فلزی جذب کننده لیزر است. زیرا در حین پرینت این لایه فلزی تبخیر شده و نه تنها از بین می رود، بلکه مولکول های تبخیر شده وارد ساختار در حال پرینت می شوند. از این رو کاهش لایه فلزی، یکی از دلایل توقف پرینت ساختارهای سه بعدی خواهد بود. همچنین ورود مولکول ها و یون های فلزی به درون بافت در حال پرینت، موجب اختلال در تعادل مواد زیستی مصرفی می شود. دو پیشنهاد برای جلوگیری از ورود مولکول های فلزی تبخیر شده به بافت در حال پرینت، استفاده از لایه های جذبی غیر فلزی و اصلاح پروسه پرینت به نوع بی نیاز به لایه فلزی جذب کننده می باشد [۷, ۳۴].

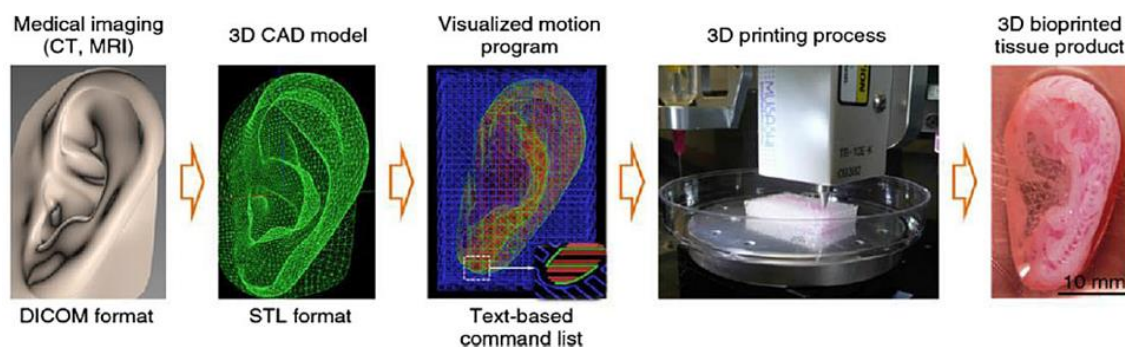
پرینت لیزری زیستی، تا کنون در تولید ساختارهای پوستی مورد استفاده قرار گرفته است و ثابت کرده است که پتانسیل پرینت کلینیکی غلظت های سلولی، در یک ساختار با بافت لایه ای را دارا است. اما هنوز مشخص نیست که آیا این سیستم در مقیاس بافت های بزرگتر نیز کارآمد است یا خیر؟! همچنین هزینه بالای این نوع پرینت، یکی از موانع پیشرفت سریع آن محسوب می شود. البته با توجه به سرعت بالای پیشرفت تکنولوژی پرینت، این چالش ها نیز در آینده ای نزدیک برطرف خواهند شد [۷].

۲,۶ انواع تصویربرداری سه بعدی

با توجه به محدودیت هایی که در تکنولوژی های متفاوت پرینت زیستی موجود است، و تا به امروز علم نتوانسته است راهی برای پرینت اندام ها و بافت هایی کاملاً مشابه بافت های طبیعی بیابد، محققان به دنبال راه کاری برای غلبه بر این چالش هستند. بهبود نسبی در طراحی درمان های سلولی و پروتوکل های بالینی، دانش عمیق تری را در مورد سلول ها و سرنوشت آن ها پس از پیوند و کاشت در شرایط غیر آزمایشگاهی (شرایط داخل بدن) در اختیار می گذارد. پاسخ برخی از این چالش ها را می توان از طریق تصویربرداری به دست آورد. به وسیله تصویربرداری بالینی می توان مشکلات کارایی هر اندامی از جمله تغییرات مورفولوژیکی، کاهش حجم، خونریزی، لخته شدن خون، افزایش نفوذپذیری رگ و ورم بافت، تغییرات سوخت و ساز نسبت به بافت پارانشیمی اطراف، اکسیژنه شدن، تصلب بافت، و از کار افتادن را از جنبه های مختلف مورد بررسی قرار داد. این داده ها قادرند

اطلاعات غیر مستقیمی راجع به کارایی بافت پیوندی در اختیار پزشکان گذاشته و راه را به منظور به کاربردن مکانیسم های درمانی صحیح، هموار کنند [۳۸].

به منظور تهیه تصویر از مراحل مختلف فرآیند مهندسی بافت، از زمان شروع طراحی تا آخرین مرحله که تهیه بافت و یا اندام مورد نظر است، در موارد زیادی به تصاویر مختلف تهیه شده از طریق روش های متفاوت تصویربرداری نیاز است [۱۰، ۳۹]. این تصاویر که از طریق تکنولوژی های تصویربرداری پیشرفته تهیه می شوند، نه تنها دانش و اطلاعات بیشتری راجع به ابعاد مختلف بافت پرینت شده فراهم می کنند، بلکه امکان مطالعه تاثیر داروهای مختلف و میزان مسمویت های ایجاد شده در بخش های مختلف بافت را نیز در اختیار محققان قرار می دهند (تصویر ۸) [۴۰].



تصویر ۹. کاربرد روش های تصویربرداری در تهیه پرینت زیستی سه بعدی. در مرحله اول با توجه به بافت مورد نظر و محل قرار گرفتنش، از مناسب ترین روش تصویربرداری سه بعدی استفاده می شود و سپس این تصویر به عنوان نمونه ای جهت پرینت سه بعدی به نرم افزار کامپیوتری CAD منتقل می شود. با استفاده از اطلاعات داده شده به نرم افزار کامپیوتری و جوهر زیستی قرار داده شده در پرینتر، بافت پرینت شده تهیه خواهد شد [۴۱].

در حال حاضر، روش های تصویربرداری بسیار متفاوت و فراوانی در رابطه با مهندسی بافت و پزشکی ترمیمی وجود دارند. این روش ها، در دستیابی به هدف نهایی کاشت بافت های مهندسی شده کارآمد، نقش به سزایی را ایفا می کنند. این روش های تصویربرداری در ۷ گروه دسته بندی می شوند: (۱) میکروسکوپ نوری^{۲۶}، (۲) پرتو

^{۲۶} Optical

ایکس^{۲۷}، ۳) ام آر آی، ۴) میکروسکوپ الکترونی^{۲۸}، ۵) میکروسکوپ نیروی اتمی^{۲۹}، ۶) میکروسکوپ صوتی^{۳۰}، ۷) و میکروسکوپ هسته ای^{۳۱} [۱۰].

۲,۶,۱ میکروسکوپ نوری

میکروسکوپ نوری به عنوان یک تکنولوژی نوظهور و در حال پیشرفت، قادر به تهیه تصاویر برای پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری، هم به صورت بالینی و هم در مراحل بستری شدن فرد، و همچنین در حین جراحی می باشد. در استفاده از میکروسکوپ نوری، تنها از نور سفید به عنوان منبع روشن کننده استفاده می شود، که البته تابش آن به سلول های زنده هیچ آسیبی وارد نمی کند. با توجه به اینکه در میکروسکوپ نوری به هیچ وجه از پرتو یونیزه شده استفاده نمی شود، میزان مواجهه فرد بیمار با پرتوهای مضر به حداقل کاهش می یابد، و تکرار تصویربرداری از این طریق، هیچ گونه آسیبی به فرد و یا بافت ها وارد نخواهد کرد. این روش تصویربرداری، به علاوه دارای توانایی تفکیک بافت های نرم بدن از یکدیگر است، و قادر به تفکیک بافت های نرم خودی از بافت های نشان دار شده نیز می باشد. می توان از میکروسکوپ نوری به صورت ترکیبی با سایر روش های تصویربرداری، به منظور تهیه تصاویر واضح تر، استفاده کرد. در حال حاضر استفاده از میکروسکوپ نوری، زمینه مناسبی برای مشاهده ساختارهای سلولی در ابعاد مختلف، و از نظر ویژگی های متفاوت در مقیاس نانو، فراهم می کند. میکروسکوپ نوری را می توان از کلاسیک ترین ابزارهای بررسی بافت ها و سلول ها دانست که کاربردهای آن در مهندسی بافت به خوبی تعریف شده است [۱۰].

۲,۶,۲ پرتو ایکس

پرتو ایکس، شکلی از تابش الکترومغناطیس است، که بر اساس تفاوت طول موج، به دو دسته پرتوهای ایکس سخت و نرم تقسیم می شود. در واقع پرتوهای ایکس سخت هستند که با توجه به انرژی زیادی که دارند به منظور تصویربرداری از داخل بدن و به خصوص استخوان ها مورد استفاده قرار می گیرند. تهیه تصویر از داخل

^{۲۷} X-ray

^{۲۸} Electron microscopy

^{۲۹} Atomic Force Microscopy (AFM)

^{۳۰} Acoustic microscopy

^{۳۱} Nuclear microscopy

بدن به وسیله پرتو ایکس، با تاباندن میزان کمی پرتوی یونیزه، به بخشی از بدن صورت می گیرد. از طریق تصاویر تهیه شده، اطلاعات ریز زیادی در مورد ساختار بافت مورد نظر در اختیار پزشکان قرار می گیرد. اما استفاده از پرتو ایکس این محدودیت را نیز دارد که در مورد نمونه های بافت های نرم، زیاد کارآمد نیست. باید خاطر نشان کرد که استفاده از پرتو ایکس در پرینت زیستی، ضروری است. بخصوص برای توصیف ویژگی های سطحی بافت، که سبب موفقیت بیشتر پرینت سه بعدی زیستی می شود [۱۰].

۲،۶،۳ ام آر آی

از ام آر آی، به منظور تهیه تصاویر از آناتومی و فرآیندهای فیزیولوژیک بدن، برای اطلاع از میزان بیماری و سلامت، استفاده می شود. برای تهیه این تصاویر، اسکنرهای ام آر آی، از میدان های مغناطیسی، امواج رادیویی، و میدان های شیب الکتریکی قدرتمندی بهره می گیرند. پایه کارکرد ام آر آی، بر اساس علم رزونانس مغناطیس هسته ای است، و برای تهیه تصاویر ام آر آی، اغلب از اتم هیدروژن برای تولید سیگنال رادیویی قابل ردیابی استفاده می شود. سیگنال رادیویی ذکر شده، توسط یک آنتن، که در نزدیکی محل مورد مطالعه قرار دارد، دریافت می شود. روش های ام آر آی، که به خوبی قادر به تفکیک بافت های نرم از یکدیگر هستند، تا به حال به منظور دستیابی به اطلاعات آناتومی^{۳۲}، کاربردی^{۳۳}، و سلولی، مورد استفاده قرار گرفته اند. با اینکه تصویربرداری ام آر آی مزیت های زیادی دارد، اما نمی توان آن را بهترین ابزار برای مشاهده تعاملات سلولی دانست، زیرا نسبت به دیگر روش های تصویربرداری مولکولی، دارای حساسیت کم و کاوشگرهای مولکولی محدودی است. حساسیت کم ام آر آی در موارد تصویربرداری مولکولی نسبت به سایر روش ها، سبب زمان بر بودن آن و همچنین نیاز به تعداد بسیاری عوامل تصویربرداری به منظور تهیه یک تصویر می شود. با این حال این نکته حائز اهمیت است که ام آر آی قادر به مشاهده و ارزیابی ساختار بافت های مهندسی شده بدون حضور هرگونه عامل بیرونی است [۱۰].

^{۳۲} Anatomical

^{۳۳} Functional

۲,۶,۴ میکروسکوپ الکترونی

میکروسکوپ الکترونی، به منظور کند و کاو در ساختار طیف وسیعی از نمونه های زیستی و غیر زیستی، از جمله میکروارگانیسم ها، سلول ها، مولکول های درشت، نمونه های بیوپسی، فلزات و کریستال ها مورد استفاده قرار می گیرد. برای مشاهده نمونه توسط میکروسکوپ الکترونی، از یک اشعه که از الکترون های تسریع شده تشکیل شده است به عنوان منشاء نور استفاده می شود. میکروسکوپ الکترونی دارای قدرت تحلیل بیشتری نسبت به میکروسکوپ نوری می باشد، زیرا طول موج یک الکترون کمتر از طول موج فوتون های نور مرئی است. بدین ترتیب میکروسکوپ الکترونی امکان مشاهده اجسام کوچکتری را فراهم می کند. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، می توان از ویژگی های توپولوژیک و مکانی داربست های زیستی، تصویربرداری کرد و به وضوح بالایی در مقیاس نانو دست یافت. اما نیاز است که نمونه ها ابتدا پردازش، و سپس ثابت و خشک، و توسط فلزات سنگین، پراکنده شوند. میکروسکوپ الکترونی قابلیت مشاهده بخشی از یک نمونه با وضوح بالا و در مقیاس میلیمتر را داراست. تصاویری که از این راه به دست می آیند دارای وضوح بالا در مقیاس نانو هستند [۱۰].

۲,۶,۵ میکروسکوپ نیروی اتمی

میکروسکوپ نیروی اتمی، که دارای وضوح بسیار بالایی است، قدرت مشاهده بخشی از یک نمونه در مقیاس میکرومتر را فراهم می کند. اطلاعات مورد نیاز تصویربرداری، از طریق لمس سطح مورد نظر توسط یک جستجوگر مکانیکی، به دست می آید. در این میان حضور عناصر پایزوالکتریک^{۳۴}، که امکان حرکت دقیق را مهیا می کنند نیز، نقش مهمی در تهیه یک اسکن بی نقص ایفا می کند. در تصویربرداری توسط میکروسکوپ اتمی، از تکنولوژی میکروسکوپی پایزورسپانس^{۳۵} استفاده می شود، که ابزار قدرتمندی برای جستجوی جفت های الکترومکانیکی در مقیاس نانو، در سیستم های فیزیوالکتریک که سیستم های جراحی از طریق امواج فراصوت هستند و مواد فرروالکتریک^{۳۶} است. مواد فرروالکتریک، مواد خاصی حاوی جریان الکتریکی دوقطبی

^{۳۴} Piezoelectric

^{۳۵} Piezoresponse

^{۳۶} Ferroelectric

خودانگیخته^{۳۷} هستند. این جریان الکتریکی دوقطبی خودانگیخته، می تواند بر اساس میدان مغناطیسی خارجی^{۳۸} از قطبی به قطب دیگر تغییر یابد. از این رو است که روش AFM کاربرد زیادی در مطالعه برخی مواد و بافت های زیستی نیز داشته است [۴۲, ۱۰].

۲,۶,۶ میکروسکوپ صوتی

میکروسکوپ صوتی، به منظور تهیه تصاویر قابل مشاهده، از مشخصات داخلی و نقص هایی مثل شکستگی ها، لایه لایه شدن، و حفره ها، مورد استفاده قرار می گیرد. طرز کار میکروسکوپ صوتی بدین صورت است که در آن از فرکانس های بسیار بالای فراصوت که هیچ گونه تخریبی ایجاد نمی کنند، برای ورود به جامدترین مواد استفاده می شود. فراصوت، به هرگونه صدایی که فراتر از بازه شنوایی انسان باشد، گفته می شود. هنگامی که فراصوت وارد نمونه ای می شود، با توجه به نوع مواد موجود در نمونه مورد نظر، یا به علت خصوصیات درونی آن، ممکن است پراکنده، جذب، و یا بازتابیده شود. همین فراصوت بازتابیده شده بر اساس خصوصیات درونی نمونه، برای تهیه تصاویر فراصوت مورد استفاده قرار می گیرد. به همین دلیل است که این میکروسکوپ، برای مشاهده عروق و تفکیک داربست ها بسیار مناسب است. برقراری تعادل میان عمق نفوذ فراصوت، و وضوح فضایی تصویر تهیه شده، از طریق طراحی صوتی سیستم تصویربرداری، قابل کنترل است [۴۳, ۱۰].

۲,۶,۷ میکروسکوپ هسته ای

در تصویربرداری هسته ای، از مواد رادیواکتیو به عنوان ردیاب استفاده می شود. به این طریق که با تزریق عوامل رادیواکتیو و جاسازی آن در اندام ها و بافت های مورد بررسی، و همچنین با استفاده از مواد شیمیایی خاص نشان دار شده ای، که از نظر زیستی مناسب هستند، تصویربرداری هسته ای، امکان پذیر می شود. تصویربرداری هسته ای امکان تحلیل و بررسی بر پایه رادیولوژی داخلی را امکان پذیر می کند [۴۴, ۱۰].

^{۳۷} Spontaneous electric polarization

^{۳۸} External electric field

۲,۶,۸ روش های چندین کیفیتی^{۳۹}

هر یک از روش های تصویربرداری ذکر شده، تنها قادر به تهیه تصاویر از اندام، بافت و یا فرآیند درونی خاصی هستند. بدین ترتیب به منظور مشاهده و بررسی تغییرات پیچیده دینامیک، که درون بافت های سه بعدی روی داده است، به روش های دیگری که جامع و کامل بوده و قادر به تهیه تصاویر از زوایای مختلف یک ساختار پیچیده باشند نیاز است. روش های چندین کیفیتی، که اکثراً از آمیزش دو یا تعدادی از روش های تصویربرداری نام برده در بخش های پیشین حاصل می شوند، بسیار کاربردی هستند. زیرا امکان مطالعه کارایی و ویژگی های ساختار سه بعدی را فراهم کرده و اطلاعات جامع و کاملی را از زوایای مختلف درمورد نمونه مورد نظر، تهیه می کنند. تصویربرداری چندین کیفیتی در مهندسی بافت، سبب می شود تا در زمان صرفه جویی شده، از تعداد جانور کمتری به منظور بررسی بافت ها استفاده شود، و همچنین نتایج دقیق تری به دست آید [۴۶, ۱۰].

۲,۷ خلاصه مطلب

پرینت سه بعدی زیستی، که در زمینه های پزشکی، داروسازی و مهندسی بافت کاربرد دارد، مسبب مطالعه دقیق تر داروهای متعدد، ساخت بافت ها و اعضای بدن به منظور بهبود هرچه سریعتر بیماران، بوده است. انواع پرینترهای سه بعدی زیستی نام برده شده در این فصل، پرینترهای جوهر افشان، پرینترهای رسوب ساز، و پرینترهای لیزری، تا کنون به موفقیت های چشمگیری دست یافته اند. با اینکه هر سه نوع این پرینترها دارای شباهت های زیادی در نحوه عملکرد کلی می باشند، اما تفاوت های زیادی هم دارند. از جمله تفاوت در نوع جوهرهای زیستی مصرفی، چگونگی خروج جوهر از پرینتر، محل استقرار بافت پرینت شده و به طور کلی ساختمان و کارایی دستگاه. هرچه قدر این تفاوت ها حائز اهمیت باشند، باز هم باید به دو نکته اساسی در مورد آن ها اشاره کرد که سبب دستیابی به محصولی کارآمد می شوند: وضوح سطح و حفظ بقای سلول های به کار رفته در جوهر زیستی [۳۴, ۷].

با اینکه تکنولوژی پرینت سه بعدی زیستی، تا کنون پیشرفت قابل توجهی داشته است، اما بزرگترین چالش ها در رابطه با انواع پرینترهای سه بعدی زیستی، مربوط به همین دو نکته اساسی یعنی یافتن راهی برای

^{۳۹} Multimodal methods

دستیابی به غلظت سلولی مناسب در جوهر زیستی و همچنین چگونگی خروج آن برای دستیابی به وضوح سطح بالا است [۱۶, ۱۸]. با توجه به پیشرفت روز افزون علم و تکنولوژی در زمینه ترکیب مواد و انواع روش های تصویربرداری، و تلاش بی وقفه محققان در این زمینه، در آینده ای نزدیک این چالش ها به موفقیت هایی بزرگ در علم پزشکی و داروسازی تبدیل خواهند شد.

- [1] A. Shafiee, A. Atala, Printing Technologies for Medical Applications, Trends Mol Med 22(3) (2016) 254-265.
- [2] G. Gao, X. Cui, Three-dimensional bioprinting in tissue engineering and regenerative medicine, Biotechnology letters 38(2) (2016) 203-11.
- [3] X. Zhang, Y. Zhang, Tissue Engineering Applications of Three-Dimensional Bioprinting, Cell Biochem Biophys 72(3) (2015) 777-82.
- [4] S.V.M.A. Atala, 3D bioprinting of tissues and organs, nature biotechnology (2014).
- [5] Y.J. Seol, H.W. Kang, S.J. Lee, A. Atala, J.J. Yoo, Bioprinting technology and its applications, European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery 46(3) (2014) 342-8.
- [6] M.C. Jipeng Li, Xianqun Fan and Huifang Zhou, Recent advances in bioprinting, journal of translational medicine (2016) 1-15.
- [7] S.V. Murphy, A. Atala, 3D bioprinting of tissues and organs, Nat Biotechnol 32(8) (2014) 773-85.
- [8] F.J. O'Brien, Biomaterials & scaffolds for tissue engineering, Materialstoday 14(3) (2011) 88-95.
- [9] S. Yamaguchi, A. Ueno, Y. Akiyama, K. Morishima, Cell patterning through inkjet printing of one cell per droplet, Biofabrication 4(4) (2012) 045005.
- [10] L. Teodori, A. Crupi, A. Costa, A. Diaspro, S. Melzer, A. Tarnok, Three-dimensional imaging technologies: a priority for the advancement of tissue engineering and a challenge for the imaging community, J Biophotonics 10(1) (2017) 24-45.
- [11] J. Li, F. Rossignol, J. Macdonald, Inkjet printing for biosensor fabrication: combining chemistry and technology for advanced manufacturing, Lab on a chip 15(12) (2015) 2538-58.
- [12] R.M. Soroosh Derakhshanfar, Kaige Xu, Xingying Zhang, Wen Zhong,, M. Xin, 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering, Bioactive materials (2018) 144-156.
- [13] T. Boland, T. Xu, B. Damon, X. Cui, Application of inkjet printing to tissue engineering, Biotechnology journal 1(9) (2006) 910-7.
- [14] T.B. Xiaofeng Cui, Darryl D. D'Lima, and Martin K. Lotz, Thermal Inkjet Printing in Tissue Engineering and Regenerative Medicine, National institutes of health 2 (2012) 149-155.
- [15] Y. Zhou, The Application of Ultrasound in 3D Bio-Printing, Molecules 21(5) (2016).
- [16] Y. Loo, C.A. Hauser, Bioprinting synthetic self-assembling peptide hydrogels for biomedical applications, Biomed Mater 11(1) (2015) 014103.
- [17] Z. Wang, H. Kumar, Z. Tian, X. Jin, J.F. Holzman, F. Menard, K. Kim, Visible Light Photoinitiation of Cell-Adhesive Gelatin Methacryloyl Hydrogels for Stereolithography 3D Bioprinting, ACS Appl Mater Interfaces 10(32) (2018) 26859-26869.
- [18] J.H. Park, B.G. Chung, W.G. Lee, J. Kim, M.D. Brigham, J. Shim, S. Lee, C.M. Hwang, N.G. Durmus, U. Demirci, A. Khademhosseini, Microporous cell-laden hydrogels for engineered tissue constructs, Biotechnology and bioengineering 106(1) (2010) 138-48.
- [19] R. Cruz-Acuna, A.J. Garcia, Synthetic hydrogels mimicking basement membrane matrices to promote cell-matrix interactions, Matrix Biol 57-58 (2017) 324-333.
- [20] V. Lee, G. Singh, J.P. Trasatti, C. Bjornsson, X. Xu, T.N. Tran, S.S. Yoo, G. Dai, P. Karande, Design and fabrication of human skin by three-dimensional bioprinting, Tissue Eng Part C Methods 20(6) (2014) 473-84.

- [21] M. Yanez, J. Rincon, A. Dones, C. De Maria, R. Gonzales, T. Boland, In vivo assessment of printed microvasculature in a bilayer skin graft to treat full-thickness wounds, *Tissue Eng Part A* 21(1-2) (2015) 224-33.
- [22] X. Cui, G. Gao, T. Yonezawa, G. Dai, Human cartilage tissue fabrication using three-dimensional inkjet printing technology, *J Vis Exp* (88) (2014).
- [23] M. Khandaker, A. Orock, S. Tarantini, J. White, O. Yasar, Biomechanical Performances of Networked Polyethylene Glycol Diacrylate: Effect of Photoinitiator Concentration, Temperature, and Incubation Time, *Int J Biomater* 2016 (2016) 3208312.
- [24] G.S. Amol A. Pawar, Ido Cooperstein, Liraz Larush, Joshua A. Jackman, Seyed R. Tabaei, S.M. Nam-Joon Cho, High-performance 3D printing of hydrogels by water-dispersible photoinitiator nanoparticles, *APPLIED SCIENCES AND ENGINEERING* (2016) 1-7.
- [25] J.W. Jung, J.S. Lee, D.W. Cho, Computer-aided multiple-head 3D printing system for printing of heterogeneous organ/tissue constructs, *Sci Rep* 6 (2016) 21685.
- [26] G.G.N. Kyriacos A. Athanasiou, a.C.M. Agrawal, Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid, *Elsevier* 17 (1996) 93-102.
- [27] S. Guven, P. Chen, F. Inci, S. Tasoglu, B. Erkmen, U. Demirci, Multiscale assembly for tissue engineering and regenerative medicine, *Trends Biotechnol* 33(5) (2015) 269-279.
- [28] J.B. Thomas Hiller, Laura Elomaa, Viola Röhrs, Imran Ullah, Katrin Schaar, M.A.A.-Z. Ann-Christin Dietrich, Andreas Kurtz, Andreas C. Hocke, H.F. Stefan Hippenstiel, MarieWeinhart and Jens Kurreck, Generation of a 3D liver model comprising human extracellular matrix in an alginate gelatin based bioink by extrusion bioprinting for infection and transduction studies, *Molecular Sciences* (2018) 2-17.
- [29] I.T. Ozbolat, M. Hospodiuk, Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting, *Biomaterials* 76 (2016) 321-43.
- [30] H. Lee, J.J. Yoo, H.W. Kang, D.W. Cho, Investigation of thermal degradation with extrusion-based dispensing modules for 3D bioprinting technology, *Biofabrication* 8(1) (2016) 015011.
- [31] M. Gruene, M. Pflaum, C. Hess, S. Diamantouros, S. Schlie, A. Deiwick, L. Koch, M. Wilhelmi, S. Jockenhoevel, A. Haverich, B. Chichkov, Laser printing of three-dimensional multicellular arrays for studies of cell-cell and cell-environment interactions, *Tissue Eng Part C Methods* 17(10) (2011) 973-82.
- [32] B. Guillotin, A. Souquet, S. Catros, M. Duocastella, B. Pippenger, S. Bellance, R. Bareille, M. Remy, L. Bordenave, J. Amedee, F. Guillemot, Laser assisted bioprinting of engineered tissue with high cell density and microscale organization, *Biomaterials* 31(28) (2010) 7250-6.
- [33] N.R. Schiele, D.T. Corr, Y. Huang, N.A. Raof, Y. Xie, D.B. Chrisey, Laser-based direct-write techniques for cell printing, *Biofabrication* 2(3) (2010) 032001.
- [34] W. Zhu, X. Ma, M. Gou, D. Mei, K. Zhang, S. Chen, 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering, *Current opinion in biotechnology* 40 (2016) 103-112.
- [35] D.B.K. JASON A. BARRON, and BRADLEY R. RINGEISEN, Laser printing of single cells statistical analysis cell viability and stress, *Biomedical Engineering Society* 23 (2005) 121-130.
- [36] S.D. Gittard, R.J. Narayan, Laser direct writing of micro- and nano-scale medical devices, *Expert Rev Med Devices* 7(3) (2010) 343-56.
- [37] H.O. Virginie Keriquel, Murielle Rémy, Sophia Ziane, Samantha, B.R. Delmond, Sylvie Rey, Sylvain Catros, Joelle Amédée, Fabien, G.J.-C. Fricain, In situ printing of mesenchymal stroma cells, by laser-assisted bioprinting, for in vivo bone regeneration applications, *Scientific Reports* (2017) 1-10.
- [38] A.V. Naumova, M. Modo, A. Moore, C.E. Murry, J.A. Frank, Clinical imaging in regenerative medicine, *Nat Biotechnol* 32(8) (2014) 804-18.

- [39] M. Leahy, K. Thompson, H. Zafar, S. Alexandrov, M. Foley, C. O'Flatharta, P. Dockery, Functional imaging for regenerative medicine, *Stem Cell Res Ther* 7(1) (2016) 57.
- [40] L. Li, Q. Zhou, T.C. Voss, K.L. Quick, D.V. LaBarbera, High-throughput imaging: Focusing in on drug discovery in 3D, *Methods* 96 (2016) 97-102.
- [41] M. Varkey, D.O. Visscher, P.P.M. van Zuijlen, A. Atala, J.J. Yoo, Skin bioprinting: the future of burn wound reconstruction?, *Burns Trauma* 7 (2019) 4.
- [42] D.T. Edwards, T.T. Perkins, Optimizing force spectroscopy by modifying commercial cantilevers: Improved stability, precision, and temporal resolution, *J Struct Biol* 197(1) (2017) 13-25.
- [43] J. Wei, Q. Wang, X. Song, Q. Luo, X. Yang, Prospective Respiration-Gated Photoacoustic Microscopy, *IEEE Trans Biomed Eng* (2019).
- [44] J.M. Hooker, R.E. Carson, Human Positron Emission Tomography Neuroimaging, *Annu Rev Biomed Eng* 21 (2019) 551-581.
- [45] M.B. Dario Genovesi, Corinna Altini, Cristina Elena Popescu, Paola Ferro, Lavinia Monaco, Anna Borra, Cristina Ferrari, and Federico Caobelli, The role of positron emission tomography in the assessment of cardiac sarcoidosis, *British institute of radiology* (2019) 1-11.
- [46] J. Xu, Y. Li, X. Xu, J. Zhang, Y. Zhang, X. Yu, D. Huang, Clinical application of (99m)Tc-HYNIC-TOC SPECT/CT in diagnosing and monitoring of pancreatic neuroendocrine neoplasms, *Ann Nucl Med* 32(7) (2018) 446-452.

فصل سوم

مواد مورد استفاده در پرینت زیستی

تشخیص و ارائه راه حل مناسب درمان بیماری های مختلف، نیازمند دانش کافی راجع به زوایای متفاوت بیماری می باشد. مطالعه یک بیماری در اکثر اوقات نه تنها به اطلاعات گرفته شده از بافت ها و اندام ها، بلکه به تعاملات سلولی نیز مربوط می شود. تا کنون بیماری های مختلف از طرق متفاوتی از جمله تصویربرداری، کشت آزمایشگاهی و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفته اند [۱]. علیرغم کارآمد بودنشان، هیچ یک از این روش ها قادر به ایجاد شرایط محیطی درون بدن انسان نیستند و به همین دلیل سبب بروز مشکلاتی در زمینه تشخیص بیماری و تهیه داروهای مناسب برای درمان می شوند. تکنولوژی پرینت زیستی، راه بسیار مناسبی برای ساختن انواع الگوهای بافتی و سلولی، و مطالعه فعل و انفعالات سلول ها به وجود آورده است. این الگوهای سلولی پرینت شده، همچنین می توانند به عنوان مدل های آزمایشی برای تست و بررسی داربست های سلولی [۲]، و یا رفتارهای فاکتورهای حلال در سلول، مورد استفاده قرار گیرند [۳]. علاوه بر این، تکنولوژی پرینت سلولی با استفاده از سلول هایی با غلظت زیاد و قابلیت بالا برای ترکیب شدن، شرایط مناسبی را برای تولید اندام های سه بعدی فراهم می کند [۴]. فعل و انفعالات سلولی. مدل های میکرونی. بافت هایی که از طریق این تکنولوژی ساخته شده اند، تقلیدی از آنچه در اندام های طبیعی رخ می دهد است، و این بافت ها می توانند برای هر دو هدف آموزش پایه ای زیست شناسی و غربالگری دارویی^۱ مورد استفاده قرار گیرند [۵]. با این وجود قابلیت اصلی تکنولوژی پرینت سلولی، ساختن اندام ها و بافت هایی با شباهت زیاد نسبت به اندام های طبیعی است. انجام یک پرینت زیستی موفقیت آمیز، بستگی زیادی به توزیع مناسب سلول ها و استفاده از مواد زیست سازگار (اسکلت سلولی دارای مواد زیستی)، و دانش کافی از فیزیولوژی سلول و واکنش ماتریکس خارج سلولی دارد [۶, ۷].

اصطلاح جوهر زیستی که به مواد مورد استفاده در پرینت اطلاق می شود، برگرفته از جوهرهایی است که در پرینترهای مخصوص چاپ روی کاغذ که نسل اولیه پرینترها بودند، استفاده می شده است. البته در انواع مختلف پرینترهای امروزی که در صنایع متفاوتی کاربرد دارند، جوهرهای متنوعی مورد استفاده قرار می گیرند که بر اساس کارکرد پرینترها، جوهرهای مصرفی شامل مواد متفاوتی می باشند [۸]. در پرینت زیستی، مطالعه

^۱ High-throughput drug screening

دقیق مواد گزیده شده به عنوان جوهر، بسیار حائز اهمیت است. زیرا بافت سه بعدی پرینت شده اهمیت به سزایی در علوم پزشکی و داروسازی خواهد داشت. با توجه به اینکه بقای سلول ها و مواد زیستی و درجه استحکام بافت پرینت شده اهمیت زیادی دارد، می توان به نقش جوهرهای مورد استفاده در ارتقاء این موارد پی برد [۹].

در پرینت سه بعدی زیستی علاوه بر جوهرهای زیستی از ماتریکس خارج سلولی^۲، ماتریکس فاقد سلول^۳، اسفروئیدهای سلولی^۴، و داربست های سلولی^۵ نیز استفاده می شود. کاربردهای این مواد عبارتند از: افزایش استحکام و محافظت از ساختار بافت، برقراری ارتباط میان سلولی، ایجاد محیط مناسب برای بازسازی بافت ها و اندام ها، تنظیم فرآیندهای حیاتی و مهم در رابطه با بقا، رشد و مرگ سلول ها و همچنین ایجاد چهارچوبی که سلول ها پس از پرینت در آن مستقر شوند [۳، ۱۰-۱۲].

۳،۲ جوهرهای زیستی

به منظور دستیابی به جوهرهای کارآمد در زمینه پرینت زیستی، تا کنون انواع مختلفی از مواد به عنوان جوهر مورد استفاده قرار گرفته اند. از جمله سوسپانسیون های سلولی [۱۳]، هیدروژل های مملو از سلول [۱۴] و حامل های میکرونی^۶ [۱۵]. با این وجود، تا به امروز هیچ ماده ایده آلی که اختصاص یافته به پرینت سلولی باشد یافت نشده است. به همین دلیل است که استفاده از مواد زیستی که در روش های کلاسیک کاربرد داشته اند، بهترین مواد در مورد تکنیک های پرینت زیستی به حساب می آیند. غالباً این مواد زیستی به صورت ترکیبی استفاده می شوند تا امکان دستیابی به بهترین ویژگی های مکانیکی و ارتباطی را فراهم کنند [۷، ۱۶].

با توجه به مواد متفاوتی که می توان در پرینت سلولی مورد استفاده قرار داد، باید این نکته مهم را نیز مد نظر داشت که توجه ویژه به فاکتورهایی خاص، می تواند به بهبود کیفیت پرینت کمک کند. تعدادی از این فاکتورها عبارتند از: قابل پرینت بودن (سرعت بالای لیزر و قابلیت عبور در پرینترهای لیزری و قابلیت اکستروده شدن در پرینترهای رسوب ساز)، ویژگی های رئولوژیکی (چسبندگی، تکثیر، تفکیک پذیری، انقباض)، مکانیسم های

^۲ Extracellular matrix

^۳ Decellularized matrix

^۴ Cell spheroids

^۵ Cell scaffolds

^۶ Microcarriers

پلیمر ازیسیون، درجه سمی بودن، و سازگاری مواد با پرینتری که مورد استفاده قرار خواهد گرفت. با اینکه ممکن است این فاکتورها سبب محدودیت انتخاب مواد زیستی شوند، اما بهترین راه برای انتخاب مطلوب ترین ماده و تضمین کیفیت محصولات به دست آمده می باشند [۷, ۱۷].

در هریک از پرینترهای زیستی با توجه به نحوه کارکرد پرینتر، می توان از جوهرهای متفاوتی استفاده کرد. برای مثال در پرینت به وسیله جوهرافشان یا لیزر، مواد محدودی به عنوان جوهر مناسب هستند و علت آن چگونگی فرایند چاپ در این تکنیک ها است. در پرینترهای زیستی جوهرافشان و لیزری، جوهرهایی با حالت مایع بیشترین کاربرد را دارند، در حالی که در پرینترهای رسوب ساز، جوهرهایی با چسبندگی معین مناسب ترند [۱۷]. آگاهی از ویژگی های فیزیکی و شیمیایی جوهرهای مصرفی، شناخت پرینترهای مختلف و آگاهی از نحوه عملکرد هریک، کمک شایانی به انتخاب مناسبترین جوهر جهت استفاده در هریک از سه تکنولوژی اساسی پرینت زیستی خواهد کرد [۷].

مواد زیستی که در حال حاضر برای پرینت سلولی مورد استفاده قرار می گیرند، در دو گروه کلی دسته بندی می شوند: ۱) پلیمرهای زیست سازگار^۷ که پس از استقرار و سفت شدن، داربست های قوی مکانیکی تشکیل می دهند، و ۲) هیدروژل ها که محیط میکرونی مناسبی را برای سلول های موجود فراهم می کنند [۷].

۳,۳ پلیمرهای زیست سازگار

اصطلاح پلیمر زیست سازگار، در مورد پلیمرهایی کاربرد دارد که امکان پیوندهای مستحکم و پایدار مناسب مواد زیستی را فراهم می کنند. از جمله این پلیمرها میتوان هیالورونیک اسید^۸، کربوکسی متیل سلولوز^۹ و دکستران^{۱۰} را نام برد که طی پلیمر ازیسیون به وجود می آیند [۱۸]. به طور کلی پلیمر ازیسیون به فرایندی که طی آن مولکول های مونومر نسبت به هم واکنش نشان داده و به یکدیگر متصل می شوند، گفته می شود. در نتیجه پلیمر ازیسیون و پیوند مولکول های مونومر، رشته های پلیمر و یا شبکه های سه بعدی به وجود می آیند. در پرینت

^۷ Curable polymers

^۸ Hyaluronic acid

^۹ Carboxymethyl cellulose

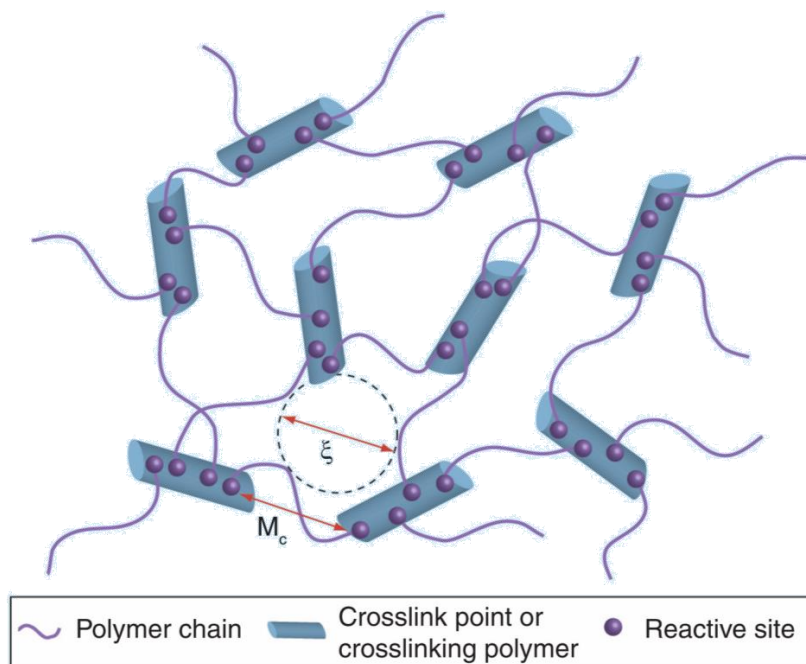
^{۱۰} Dextran

زیستی، از این ویژگی به منظور تهیه بافت ها و اندام های سه بعدی مستحکم بهره گرفته شده است. این ویژگی پلیمرها نه تنها سبب استحکام بافت مورد نظر جهت استفاده زیستی می شود، بلکه در موارد پیوند بافتی نیز، امکان ایجاد پیوندهای قوی و ناگسستگی با بدن فرد گیرنده را مهیا می کند [۷, ۱۹].

۳,۴ هیدروژل

هیدروژل، شبکه ای از زنجیره های پلیمری طبیعی و یا مصنوعی است که فوق العاده آب دوست بوده و دارای قابلیت جذب آب تا بیش از ۹۰ درصد است. هیدروژل ها همچنین به علت محتوای آب فراوانی که دارند، دارای انعطاف پذیری بسیار مشابه بافت های طبیعی می باشند. به طور کلی هیدروژل ها دارای ویژگی های مطلوب و زیست سازگار فراوانی هستند که باعث اهمیت آن ها در زمینه پرینت سلولی و مهندسی بافت شده است. این ویژگی های مطلوب فیزیکی، شیمیایی، مکانیکی و زیستی، هیدروژل ها را در زمره پرکاربردترین جوهرهای زیستی قرار داده است [۷, ۲۰].

از جمله ویژگی های مطلوب مکانیکی هیدروژل ها، این است که می توان هیدروژل ها را طوری طراحی کرد که مانند بافت های نرم بدن دارای خاصیت ارتجاعی و انعطاف پذیر باشند، و بدین وسیله از کارایی شان به عنوان روان کننده های زیستی و ابزاری کارآمد در مهندسی بافت بهره برد. خصوصیت بارز فیزیکی هیدروژل ها، فضاهاى خالی موجود در آن است. این فضاهاى خالی، امکان انتشار وابسته به وزن مولکولى را، هم در خارج و هم در داخل فاز هیدروژل تسهیل می کنند (تصویر ۱۰). ویژگی شیمیایی برجسته هیدروژل ها، دامنه پیوستگی وسیعشان با ترکیبات مختلف زیستی و دارویی است. از نظر زیستی، هیدروژل ها به دلیل اندوخته آب فراوانی که دارند توانایی کمی در جذب پروتئین ها نشان می دهند؛ به همین دلیل، وجود آب فراوان در مقایسه با میزان پروتئین جذب شده، سبب پایین بودن میزان انرژی هیدروژل ها می شود [۱۸].



تصویر ۱۰. ساختار هیدروژل و زنجیره های پلیمری آبوست متصل شده به آن [۲۱].

ویژگی های متمایز فیزیکی، شیمیایی، مکانیکی و زیستی هیدروژل ها سبب پرکاربرد بودن آن ها در بسیاری از زمینه های پزشکی، داروسازی و مهندسی بافت شده است. از جمله موارد متعدد کاربردهای هیدروژل ها می توان به تشکیل داربست های سلولی در مهندسی بافت، مراقبت از زخم، جلوگیری از چسبندگی بافت پس از جراحی، و همچنین در برخی سیستم های انتقال دارو اشاره کرد [۱۸]. هیدروژل ها از زنجیره های پلیمری یا پپتیدی تشکیل شده اند، که این زنجیره ها در درجه اول، مواد زیستی مورد نیاز جهت پرینت سلول های زنده می باشند. شروع پروسه پرینت، نیازمند به کارگیری هیدروژل ها در حالت مایع است. زیرا در غیر این صورت، تشکیل قطرات و عبور از دهانه پرینتر، بسیار مشکل و یا غیر ممکن خواهد بود و فرآیند پرینت با مشکل مواجه خواهد شد. علاوه بر این نیاز است تا هیدروژل های مورد استفاده، قادر به اتصال به یکدیگر جهت تشکیل یک شبکه ماکرومولکولی محکم باشند. تشکیل شبکه مستحکم ماکرومولکولی توسط هیدروژل های مصرفی، امکان دستیابی به نتیجه دلخواه پرینت زیستی را به میزان قابل توجهی افزایش می دهد [۲۲].

تا کنون تقریباً در تمامی تکنولوژی های پرینت زیستی، از هیدروژل ها به عنوان جوهر استفاده شده است؛ زیرا هیدروژل ها توانایی انعقاد بلافاصله پس از خروج از دهانه پرینتر را دارند. با این وجود با توجه به اینکه

هیدروژل ها قادر به ایجاد استحکام در ساختارهای لایه لایه نیستند، هیدروژل مورد استفاده باید یا به حالت بسیار چسبناک باشد و یا بلافاصله پس از قرار گرفتن روی سطح منعقد شود. هیدروژل های دارای درصد بالای پلیمر، چسبندگی ضروری مورد نیاز پرینت را فراهم می کنند. اما این درصد از چسبندگی کمتر از میزان مورد نیاز در مهندسی بافت است [۷].

۳,۴,۱ انواع هیدروژل

مواد طبیعی و مصنوعی فراوانی وجود دارند، که با توجه به ویژگی هایشان در دسته هیدروژل ها قرار می گیرند. هیدروژل ها به عنوان شبکه های پلیمری که با جذب آب به مقدار قابل توجهی متورم می شوند، از دو طریق قابل دسترسی هستند. بر این اساس هیدروژل ها در دو دسته کلی طبقه بندی می شوند: (۱) هیدروژل های مصنوعی، که از پلیمرهای تهیه شده در آزمایشگاه استخراج می شوند [۱۹, ۲۲]، (۲) هیدروژل های طبیعی، که از طریق جمع آوری و یا تصفیه منابع طبیعی به دست می آیند و اغلب در آزمایشگاه تحت پردازش های بیشتری قرار می گیرند [۲۲].

از نکات ضروری پرینت زیستی، که توجه به آن بسیار اهمیت دارد، حفظ بقای سلول ها و مواد زیستی است. این نکته ضروری که بدون آن پرینت فاقد اهمیت خواهد بود، به یکی از مهمترین چالش ها در زمینه انتخاب جوهرهای زیستی تبدیل شده است. هیدروژل ها نیز از این نکته مستثنی نیستند. به منظور انتخاب یک هیدروژل به عنوان جوهر زیستی، لازم است تا هیدروژل مورد نظر هیچ گونه آسیبی به سلول ها وارد نکند. علاوه بر این، وجود فاکتور ضروری دیگری که به درون مایه اصلی هیدروژل مربوط می شود، چسبندگی کافی آن برای اتصال سلول ها به یکدیگر است. تکنیک های پردازشی لازم برای ایجاد این پیوندها، می توانند طوری طراحی شوند که کاملاً غیر سمی بوده و امکان کپسوله سازی^{۱۱} سه بعدی سلول ها، درون شبکه پلیمری هیدروژل را فراهم کنند. علاوه بر ساخت بافت های مستحکم، هیدروژل ها قادرند برخی از ویژگی های ارتجاعی بافت ها را نیز به واقعیت تبدیل کنند، تا تقلیدی از خاصیت ارتجاعی اغلب بافت های نرم بدن باشد. برای دستیابی به ویژگی های ارتجاعی. مشابه بافت های طبیعی، توجه به فاکتورهایی همچون غلظت پیوندها، تمرکز پلیمرها، و به کار بردن واکنش های شیمیایی،

^{۱۱} Encapsulation

تأثیرگذار خواهد بود. با توجه به نیازهای متعدد سلولی و شرایط پیچیده بافت های بدن، معمولاً انواعی از هیدروژل های مختلف، برای تشکیل یک ماده مرکب، با یکدیگر ترکیب می شوند تا بتوانند پاسخگوی نیازهای متعدد فرآیند پرینت سلولی بوده و همچنین خواص مورد نظر سلول های طبیعی را نیز فراهم کنند [۱۸].

۳,۴,۱,۱ هیدروژل های مصنوعی

تهیه هیدروژل های مصنوعی، در آزمایشگاه صورت می گیرد. به این منظور، از برقراری پیوندهای شیمیایی میان پلیمرهای کارآمد، و یا قرار دادن پلیمرها در معرض پرتو فرابنفش برای برقراری اتصال با انتهای فعال زنجیره سلولی، استفاده می شود. هیدروژل های مصنوعی، با توجه به محتوای آب فراوانشان، سازگاری مناسبی با فضای محیطی بافت های بدن داشته، و قادر به تشکیل بافت های کارآمد در حضور سلول ها، پروتئین ها و دی ان ای می باشند. متداول ترین هیدروژل های مصنوعی در پرینت زیستی، مواد دارای پایه پلی اتیلن گلیکول^{۱۲} می باشند [۲۳, ۲۴]، از جمله پلی اتیلن گلیکول دی آکرلیت^{۱۳} و ژل پلی آکریل آمید^{۱۴}. به طور کلی، پلی اتیلن گلیکول یک پلیمر آب دوست است که قادر به جذب و حمل مقادیر بسیاری آب است. علاوه بر این، حضور این ماده در محیط داخلی بدن هیچ گونه حساسیتی ایجاد نکرده و هیچ پاسخ ایمنی را فعال نمی کند. هیدروژل های پلی اتیلن گلیکول، از نظر شیمیایی به خوبی تعریف شده اند و می توان از روش های شیمیایی متعددی برای تهیه و ایجاد تغییرات شیمیایی ساختاری در آن ها استفاده کرد. به همین دلیل این هیدروژل ها به عنوان ماده ای کارآمد در موارد زیستی، بسیار مورد توجه قرار گرفته اند و کارایی های فراوانی را در زمینه های متعدد زیستی به خود اختصاص داده اند؛ از جمله نقش ماتریس ها^{۱۵} برای کنترل توزیع دارو در پزشکی ترمیمی و مهندسی بافت [۲۵]. از جمله کاربردهای کلینیکی هیدروژل های پلی اتیلن گلیکول، می توان به استفاده آن در بیماران مبتلا به سرطان پروستات تحت درمان پرتوافشانی پوروتون اشاره کرد. قرار دادن این هیدروژل در فضای میان روده و پروستات (پوشش دنون ویلیرز)^{۱۶} سبب کاهش قرار گرفتن روده در معرض پرتوافشانی پوروتون می شود. این هیدروژل تنها با ایجاد

^{۱۲} PolyEthylenGlycol (PEG)

^{۱۳} PEG diacrilate

^{۱۴} Polyacrylamide gel

^{۱۵} Matrices

^{۱۶} Denonvillier's space

دیواره ای به قطر ۱ سانتی متر، میزان پرتوهای تابیده شده به روده را ۶۰٪ کاهش می دهد. هیدروژل به کاربرده شده سپس هیدرولیز و طی ۶ تا ۱۲ ماه جذب بافت های بدن می شود [۲۶].

علاوه بر هیدروژل های پلی اتیلن گلیکول، هیدروژل های مصنوعی دیگری نیز در پرینت زیستی مورد استفاده قرار می گیرند، از جمله پلی اپسیلون کپرولاکتون^{۱۷} [۲۷]، پلی لاکتیک اسید^{۱۸} [۲۸]، پلی گالاکتورنیک اسید^{۱۹} [۲۹، ۳۰]، و پلی لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید^{۲۰} [۳۱]. تمامی هیدروژل های مورد استفاده در پرینت زیستی، دارای هردو جزء ماتریکس خارج سلولی و خواص قابل تنظیم مواد می باشند. همین امر سبب کارایی هرچه بیشتر آن ها در بازتولید و افزایش موارد استفاده در مطالعات پزشکی، داروسازی و مهندسی بافت می شود. با این حال، هیدروژل های پلی اتیلن گلیکول به عنوان هیدروژل های پایه، پرکاربردترین جوهرهای زیستی مصنوعی بوده و مانع ورود هرگونه آسیبی به سلول ها می شوند [۲۳].

۳،۴،۱،۱،۱ مزایا و محدودیت های هیدروژل های مصنوعی

در مقایسه با پلیمرهای طبیعی، پلیمرهای مصنوعی دارای ویژگی های فیزیکی و شیمیایی تجدیدپذیر^{۲۱} بیشتری هستند. وجود این ویژگی ها در ساخت داربست های سلولی مورد نیاز مهندسی بافت، یکی از فاکتورهای ضروری است. امروزه پلیمرهای مصنوعی با توجه به قابلیت طراحی مولکولی، جرم مولکولی، استحکام مکانیکی و تجزیه پذیری زیستی شان، به عنوان انتخابی صحیح جهت تهیه هیدروژل های مصنوعی تبدیل شده اند [۳۲]. هیدروژل های مصنوعی، با تنظیم دقیق خواص ژل از طریق تنظیم وزن توده های سلولی، پراکندگی توده های سلولی، و غلظت پیوندهای سلولی، نقش شایانی در تهیه بافت های سه بعدی کارآمد ایفا می کنند [۱۰، ۲۵]. با این وجود، هیدروژل های مصنوعی در مقایسه با هیدروژل های طبیعی، دارای سازگاری کمتری بوده و فاقد مولکول های سیگنال دهنده^{۲۲}، مانند پپتیدها که توسط ماتریکس خارج سلولی مهیا می شوند، می باشند. علاوه بر این، هنگامی که هیدروژل های مصنوعی، در مجاورت توالی های پپتیدی طبیعی و یا موتیف های ساختاری قرار می گیرند، هیچ

^{۱۷} Polyepsilone CaproLactone (PCL)

^{۱۸} PolyLactic Acid (PLA)

^{۱۹} PolyGalactouronic Acid (PGA)

^{۲۰} PolyLactic-Co-Glycolic Acid (PLGA)

^{۲۱} Reproducible

^{۲۲} Signaling molecules

گونه فعالیت زیستی از خود بروز نمی دهند. نیاز به انجام اصلاحات در زمینه هیدروژل های مصنوعی به منظور برقراری تعاملات میان مواد سلولی، کاملاً مشهود است. تعاملات بین مواد سلولی از این رو مورد اهمیت است، که زیست سازگاری و ادغام سلول ها و بافت ها را امکان پذیر می کند. همان طور که اشاره شد، می توان خواص مکانیکی، شیمیایی و فیزیکی هیدروژل های مصنوعی را در آزمایشگاه تنظیم کرد، و خاصیت های زیستی مورد نیاز پرینت را با افزودن اجزاء مورد نیاز به مواد اصلی هیدروژل به دست آورد. با این وجود، دستیابی به ویژگی های مطلوب هیدروژل، که با ویژگی های ماتریکس خارج سلولی بافت هدف، نوع سلول ها، و محیط کشت پس از پرینت، سازگار باشد، کار بسیار دشواری است. به طور کلی موادی که دارای چسبندگی کمی هستند، قادرند محیط های مناسب تری را برای تکثیر سلول و بلوغ بافتی محیا کنند. در چنین شرایطی سلول ها نیز خواهند توانست ماتریکس اطرافشان را با سهولت بیشتری تجزیه کرده و دسترسی بیشتری به فعل و انفعالات زیستی داشته باشند. اما مواد دارای چسبندگی کم، استحکام ساختاری مورد نیاز پرینت زیستی را ندارند. به همین علت دستیابی به امنیت پرینتی این مواد، همزمان با تدارک حمایت های مکانیکی، عمل دشواری است [۷, ۸].

۳, ۴, ۱, ۲ هیدروژل های طبیعی

اجزاء تشکیل دهنده هیدروژل های طبیعی، پلیمرهای طبیعی هستند که به علت زیست سازگاری، تجزیه پذیری ذاتی^{۲۳}، و نقش زیستی مهمی که ایفا می کنند، اهمیت فراوانی در تهیه داربست های مورد استفاده در مهندسی بافت و پرینت سه بعدی زیستی دارند. هیدروژل های طبیعی متفاوتی برحسب ترکیب سلولی، شیمیایی و فیزیکی بافت هدف وجود دارند. این هیدروژل ها، نسبت به هیدروژل های مصنوعی، دارای فضای کمتری به منظور کنترل خواص فیزیکی می باشند. با این حال قابلیت هیدروژل های طبیعی در ادغام با سلول ها و بافت ها، بیشتر بوده و همچنین زیست سازگار می باشند. این موارد سبب می شوند که پس از پرینت، پیوند هیدروژل با بافت بدن به آسانی انجام پذیرد [۲۰].

از جمله هیدروژل هایی که منشاء طبیعی داشته و تا کنون کاربرد زیادی در مهندسی بافت داشته اند، هیدروژل هایی با پایه کلاژن و فیبرینوزن می باشند [۳۳, ۳۴]. با توجه به وجود کلاژن در بافت های بدن می توان

^{۲۳} Inherent biodegradability

مقادیر قابل توجهی کلاژن نوع یک را از ماتریکس خارج سلولی استخراج کرد و از آن به عنوان محیط سه بعدی مطلوبی برای تهیه بافت استفاده کرد [۳۵, ۳۶]. هیدروژل دیگری که منشأ طبیعی داشته و در تکنولوژی پرینت زیستی کاربرد فراوانی دارد، ژلاتین متاکریلات^{۲۴} است که نور قادر به عبور از آن می باشد [۳۷-۳۹]. این هیدروژل به علت کاربری آسان و خاصیت عبور نور، استفاده گسترده ای در مهندسی بافت های سه بعدی دارد. ژلاتین متاکریلات، به واسطه اینتگرین و تخریب پروتئولیتیک، قادر است شرایط مطلوبی برای چسبندگی سلول ها ایجاد کند. پلیمر طبیعی دیگری که فوق العاده زیست سازگار بوده و جوهر زیستی کارآمدی در زمینه پرینت زیستی سه بعدی به حساب می آید، آلجینات^{۲۵} است [۴۰, ۴۱]. آلجینات که از جلبک دریایی قهوه ای به دست می آید، به دلیل زیست سازگاری، میزان سمی بودن اندک، کم هزینه بودن و همچنین انعقاد تدریجی، ماده بسیار کارآمدی در مهندسی بافت محسوب می شود. نکته قابل توجه اینکه، انعقاد تدریجی آلجینات تنها بر اثر قرار گرفتن در محلول های حاوی کاتیون های دوقطبی مانند کلسیم صورت می گیرد، و نتیجه آن تشکیل هیدروژل هایی با قدرت مکانیکی بالا خواهد بود. با وجود مزایای ذکر شده، بزرگترین چالش مربوط به آلجینات این است که، قادر به ایجاد ارتباط با سلول ها و شرکت در فعل و انفعالات سلولی نیست. در چنین شرایطی، سلول ها نمی توانند به شبکه تشکیل شده از آلجینات اضافه شده و یا تغییر شکلی در آن ایجاد کنند. این محدودیت سبب مرگ سلول های قرار گرفته در شبکه تشکیل شده از آلجینات می شود. یکی از راه های غلبه بر این چالش، افزودن ژلاتین به دست آمده از کلاژن به آلجینات است. افزودن این ژلاتین، سبب افزایش چسبندگی و افزایش میزان ذخیره سازی سلول ها در آلجینات می شود [۴۲].

همان طور که ذکر شد، هیدروژل های طبیعی توانایی کمی در زمینه کنترل خواص فیزیکی دارند. با این حال، ویژگی های فیزیکی هیدروژل های طبیعی، از قبیل استحکام، کشسانی و تخلخل، نقش بسیار مهمی در بقا و عملکرد بافت های تولید شده ایفا می کنند. هیدروژل های طبیعی نه تنها شرایط مطلوب برای ترشح ماتریکس خارج سلولی توسط سلول ها را فراهم می کنند، بلکه توسط اکثر سلول ها قابل هیدرولیز شدن بوده و بدین ترتیب فضای مناسبی را برای رشد و مهاجرت سلول ها به وجود می آورند.

^{۲۴} Gelatin MetAcrylate (GelMA)

^{۲۵} Alginate

۱, ۲, ۳, ۴ مزایا و محدودیت های هیدروژل های طبیعی

هیدروژل های طبیعی با توجه به ترکیبات سلولی، شیمیایی و فیزیکی بافت هدفشان، دارای تفاوت هایی می باشند. این تنوع بین کلاس های مختلف هیدروژل های طبیعی، تاثیر منفی بسیاری بر روی محیط میکرونی مهندسی شده می گذارد؛ زیرا باعث ناهمگونی محیط می شود. علاوه بر این در مقایسه با هیدروژل های مصنوعی، هیدروژل های طبیعی با توجه به فضای کمی که در اختیار دارند، قادر به اعمال کنترل فیزیکی محدودتری می باشند. با وجود چنین محدودیت هایی، هیدروژل های طبیعی همچنان یکی از موارد بسیار مناسب جهت تهیه جوهرهای زیستی محسوب می شوند، که زیست سازگار بوده و به سهولت با سلول ها و بافت ها ادغام می شوند، و همچنین دارای فعالیت های زیستی درونی هستند که به ارزش آن ها می افزاید. هیدروژل های طبیعی با پیوندهای غیر سمی که با بافت ها و اندام های بدن ایجاد می کنند، باعث جلوگیری از هرگونه تحدید بقای سلول ها و مواد زیستی می شوند [۷, ۸].

۳, ۴, ۱, ۳ هیدروژل های مخلوط

انواع متفاوت هیدروژل ها، مصنوعی یا طبیعی، به همراه مزایا و محدودیت هایشان، قادرند به درستی ساختمان پیچیده ماتریکس خارج سلولی را کپی و تکثیر کنند. متأسفانه این عمل موجب اختلال در قابلیت بازسازی ذاتی. عملکرد و مورفولوژی سلولی می شود. روش های معمول به منظور غلبه بر این مشکل عبارتند از، ایجاد تغییرات شیمیایی و همچنین تهیه مخلوطی از چندین هیدروژل. در این روش، ترکیبی از مواد طبیعی و مصنوعی، به بافت های بدن مانند پوست و یا غشای موکوزی افزوده می شوند. این عمل، موجب بهبود سریعتر زخم و انتقال سریعتر دارو به محل مورد نظر شده، و شرایط مناسب جهت پیوند آسان ابزارهای پزشکی و مهندسی بافت را فراهم می کند [۴۳]. از جمله هیدروژل های مخلوط می توان آلجینات متاکریلات پلی اتیلن گلیکول^{۲۶} و پلی ساکارید پلی اتیلن گلیکول کیتوسان آلجینات^{۲۷} را نام برد. در ساختار اغلب هیدروژل های مخلوط، از پلی اتیلن گلیکول به عنوان یک متصل کننده مناسب استفاده می شود. زیرا دسترسی به میزان انبوهی از این هیدروژل، با ترکیبات فیزیکی و

^{۲۶} Methacrylated alginate/PEG

^{۲۷} PEG-penetrated chitosan-alginate co-polysaccharide

شیمیایی متفاوت به راحتی امکان پذیر است. به علاوه، پلی اتیلن گلیکول به عنوان ماده ای مناسب جهت مصارف زیستی از سوی سازمان غذا و دارو^{۲۸} مورد تایید قرار گرفته است، و به عنوان یک افزودنی، با دیگر مواد زیستی نیز سازگاری دارد. از هیدروژل های مخلوط در درمان های مربوط به استخوان استفاده فراوانی می شود. با توجه به مزایای هر هیدروژل، و ترکیب و تهیه هیدروژل های مخلوطی که سبب تقویت این مزایا می شوند، می توان به موفقیت های متعددی، از جمله افزایش چسبندگی، افزایش زیست سازگاری، افزایش قابلیت حمل سلول و افزایش همگن سازی، دست یافت که تمامی این موارد راه را برای دستیابی به بافت های سه بعدی بزرگتر، پیچیده تر و مستحکم تر هموار می کنند [۴۴-۴۸].

۳,۵ ماتریکس خارج سلولی

ماتریکس خارج سلولی، مخلوط پیچیده ای از ماکرومولکول های^{۲۹} ساختمانی و کاربردی است که نقش مهمی در ریخت زایی^{۳۰} اندام ها و بافت ها، بقای سلول ها و حفظ ساختار و عملکرد بافت ها دارد. ساختار فعال ماتریکس خارج سلولی باعث می شود، که به عنوان مخزنی برای مولکول های پیام رسان محلول و همچنین واسطه ای برای رساندن پیام های مهاجرت، تکثیر و تغییر شکل سلول ها از سایر منابع به سلول های مورد نظر، نقش بسیار مهمی داشته باشد. به همین دلیل است که ماتریکس خارج سلولی در رشد و نمو، و ترمیم جراحات، اهمیت بسزایی دارد [۶]. ماتریکس خارج سلولی، حاوی ماتریکس بینابینی^{۳۱} و غشای پایه^{۳۲} است. ماتریکس بینابینی، از ژل های پلی ساکاریدی و پروتئین های فیبری انباشته شده است، فضای میانی بسیاری از سلول های جانوری را پر می کند، و همچون بافر فشرده^{۳۳}، از ماتریکس خارج سلولی در برابر فشارهای وارده محافظت می کند. غشای پایه، ساختاری ورقی شکل از ماتریکس خارج سلولی است، که سلول های مخاطی متفاوت بر روی آن قرار می گیرند. ماتریکس خارج سلولی، به دلیل ماهیت فعال و ترکیبات تشکیل دهنده اش، قادر به ایجاد استحکام، جداسازی بافت ها از یکدیگر، و برقراری ارتباطات میان سلولی می باشد. به طور کلی ماتریکس خارج سلولی، علاوه بر نقش

^{۲۸} Food and drug administration (FDA)

^{۲۹} Macromolecules

^{۳۰} Morphogenesis

^{۳۱} Interstitial matrix

^{۳۲} Basement membrane

^{۳۳} Compression buffer

تنظیم‌کنندگی رفتار مکانیکی هر سلول، جدا کننده طیف گسترده ای از فاکتورهای رشد سلولی نیز هست، و به عنوان یک انبار محلی برای آن‌ها عمل می‌کند. ماتریکس خارج سلولی حاوی فاکتورهای رشد مختص هر بافت از جمله فاکتور رشد بتا^{۳۴} [۴۹]، فاکتور رشد اپیدرمال^{۳۵}، فاکتور رشد شبه انسولین^{۳۶}، به علاوه ماتریکس متالوپروتئیناز^{۳۷} می‌باشند. فاکتورهای رشد، موادی تشکیل شده از پروتئین و یا هورمون‌های استروئیدی هستند که قادر به فعال سازی هر یک از فرآیندهای رشد، تکثیر، التیام و یا تغییر شکل سلولی هستند، از این رو اهمیت فراوانی در پیشبرد بسیاری از فرآیندهای سلولی دارند. شیمیوکاینزها هم که خانواده کوچکی از سیتوکینین‌ها و یا پروتئین‌های علامت‌دهنده^{۳۸} هستند، توسط سلول‌ها ترشح شده و سبب ایجاد شیب انتشار مواد شیمیایی در سلول‌های مجاور می‌شوند. بدین وسیله شیمیوکاینزها نیز کمک شایانی به بازیافت نشانه‌های شیمیایی از محیط میکرونی می‌کنند [۵۰، ۸].

تشکیل ماتریکس خارج سلولی، امری حیاتی برای انجام فرآیندهایی همچون رشد، التیام زخم و تصلب بافت‌ها است. از این رو در پرینت زیستی نیز استفاده فراوانی دارد [۱۰]. با وجود کارایی جوهرهای زیستی در پرینت سه بعدی، هنوز هیچ یک نتوانسته اند به ساختار و عملکرد اصلی بافت‌های زنده دست یابند. اما اگر سلول‌ها بتوانند در محیط سلولی میکرونی طبیعی مشابه بافت والدشان قرار گیرند، ساختار و عملکردشان نیز، تشابه بیشتری به بافت طبیعی بدن خواهد داشت. با توجه به اینکه هیچ ماده طبیعی و یا مصنوعی نمی‌تواند صفات کامل هر بافت را به بافت پرینت شده انتقال دهد، ماتریکس فاقد سلول^{۳۹}، بهترین گزینه برای انجام چنین کاری است. برای تهیه ماتریکس فاقد سلول نیاز است تا ماتریکس خارج سلولی تحت زنجیره ای از فرآیندها قرار گیرد [۵۱].

^{۳۴} Transforming growth factor beta (TGF-β)

^{۳۵} Epidermal growth factor

^{۳۶} Insulin-like growth factor

^{۳۷} Matrix metalloproteinase

^{۳۸} Signaling proteins

^{۳۹} Decellularized extracellular matrix (dECM)

۳,۵,۱ منابع سلولی ماتریکس خارج سلولی

تمام سلول ها، دارای ماتریکس خارج سلولی هستند. اما برای تهیه ماتریکس خارج سلولی که قرار است فاقد سلول شود، بعضی منابع سلولی مناسب ترند، از جمله (۱) سلول های بنیادی جنینی،^{۴۰} (۲) سلول های جنینی^{۴۱}، که با وجود رسیدن به نقطه پایان تکثیر شدنشان، همچنان قادر به حفظ قابلیت تکثیر هستند. این ویژگی باعث سهولت تبدیل شدنشان به سایر انواع سلول ها می شود، (۳) سلول های بنیادی پرتوان القایی^{۴۱}، که دارای توانایی تولید و تکثیر فراوان در محیط آزمایشگاه بوده و قادرند به هر دونوع سلول های پارانشیمی و سلول های محافظ، جهت استفاده در ساخت بافت های پیچیده تبدیل شوند، (۴) سلول های بنیادی بالغ، و (۵) سلول های خونی بند ناف^{۴۲}، که بلافاصله پس از تولد از خون جفت برداشت می شوند و بیشتر می توان آن ها را منسوب به جنین دانست تا به مادر [۵۲].

۳,۶ ماتریکس فاقد سلول

قدم بعدی پس از انتخاب و تهیه بافت مورد نظر، فاقد سلول کردن آن است. به این منظور باید آن را از طریق تجزیه سلولی و یا کشتن سلول ها، فاقد سلول کرد. واضح است که این عمل، باید بدون آسیب رسانی به اجزاء خارج سلولی انجام پذیرد. سپس این اجزاء، ریز و خرد شده و به جوهر زیستی خمیرمانندی تبدیل می شوند. همچنین می توان از بافت های کاملی که فاقد سلول شده اند نیز، به عنوان داربست های زیستی استفاده کرد. این عمل، منابع جوهرهای زیستی بی پایان، داربست های طبیعی، و تعداد زیادی محیط های میکرونی مشابه بافت های بدن انسان را در اختیار محققان قرار می دهد. با این حال، اولین قدم در این فرآیند، یعنی فاقد سلول کردن ماتریکس خارج سلولی، باید بر پایه منابع بافتی، استاندارد شود تا جوهرهای زیستی پایدار و دارای اجزاء قابل کنترلی را تولید کند [۱۲].

^{۴۰} Fetal cells

^{۴۱} Inducible pluripotent stem cells (iPSCs)

^{۴۲} Umbilical cord blood cells

۳,۶,۱ بازگردانی سلول ها به ماتریکس فاقد سلول

پس از تهیه مواد مورد نیاز از جمله، جوهر زیستی، و یا داربست سلولی، به وسیله ماتریکس فاقد سلول، نیاز است تا ماتریکس مجددا دارای سلول شود. این عمل به منظور دستیابی به بافتی زنده که دارای قابلیت های رشد و برقراری ارتباط با سایر بافت های بدن باشد، ضروری است. بازگردانی سلول ها به ماتریکس، در دو مرحله انجام خواهد شد: (۱) بذرافشانی سلولی، به طوری که سلول ها در مکان های مشابه آنچه در بدن یک موجود زنده قرار دارند واقع شوند، و (۲) تزریق محیط پیرامونی، به منظور مهیا کردن سلول ها برای نقشی که قرار است درون بدن ایفا کنند. قابل ذکر است که بذر افشانی سلولی ممکن است به دو طریق صورت گیرد: تزریق مستقیم به اندام مورد نظر، و یا تزریق به درون سیستم گردش خون به این امید که سلول ها مقصدشان به سوی ناحیه آسیب دیده را بیابند [۵۲].

اولین چالش در بازگردانی سلول ها به ماتریکس خارج سلولی، گردآوری تعداد دقیق سلول های مورد نظر در یک مخلوط مناسب است. سپس باید این سلول ها، در فرورفتگی های مورد نظر در داربست سلولی قرار گیرند، تا ساختارهایی با شباهت هرچه بیشتر به بافت های طبیعی ایجاد کنند. واضح است که نوع و تعداد سلول های لازم برای احیای ماتریکس خارج سلولی، با توجه به اندام مورد نظر متفاوت خواهند بود. با این وجود از جمله سلول هایی که وجودشان در این مخلوط ضروری است، سلول های پارانشیمی هستند که دارای عملکرد خاص هر اندام می باشند، مانند هپاتوسیت ها^{۴۳} در کبد، کاردیومیوسایت ها^{۴۴} در قلب، و سلول های اپیتلیال در ریه. علاوه بر این وجود سلول های غیر پارانشیمی، مانند فیبروبلاست ها و سلول های اندوتلیال نیز ضروری است، زیرا سبب ارتقاء عملکرد فنوتیپی سلول های پارانشیمی شده و به شکل گیری ساختمان سلولی بافت مورد نظر کمک می کنند [۵۲].

۳,۷ اسفروئیدهای سلولی

اسفروئیدهای سلولی، مجموعه ای از سلول های در حال ازدیاد هستند، که به یکدیگر متصل شده و توپ های اسفروئیدی را تشکیل می دهند، که به صورت ناهمگن در محیط پراکنده شده اند. این توده های سلولی، همواره

^{۴۳} Hepatocytes

^{۴۴} Cardiomyocytes

ساختمان سه بعدی خود را حفظ کرده و دارای عملکرد اختصاصی هر بافت می باشند. اسفروئیدهای سلولی، مانند رسوبات سلولی و یا رشته های بافتی، هم به عنوان سیستم های میکروفیزولوژیک در زمینه کشف دارو کاربرد دارند، و هم از طریق ادغام بافتی، به عنوان قطعات سازنده بافت های پیچیده، مورد استفاده قرار می گیرند [۱۱، ۵۳]. اسفروئیدهای سلولی، مواد زنده ای با ویژگی های قابل اندازه گیری و قابل کنترل هستند، که به عنوان قطعات ساختمانی در بافت های بزرگ و ساختار اندام های سه بعدی زنده مورد استفاده قرار می گیرند. از جمله اسفروئیدهای مورد استفاده در مهندسی بافت، می توان به استخوان، غضروف، و تومور سه بعدی برای مطالعه داروهای کارآمد و روند درمان تومور، اشاره کرد. اسفروئیدهای سلولی از این رو اهمیت فراوانی دارند که امکان مطالعه مدل های آزمایشگاهی مشابه بافت های طبیعی را در اختیار محققان قرار می دهند [۷، ۸].

اسفروئیدهای سلولی متفاوت، هنگامی که در مجاورت یکدیگر قرار داده شوند، تحت تاثیر ادغام بافتی^{۴۵} قرار می گیرند و می توانند تبدیل به ساختارهایی بالغ تر، با جمعیت سلولی ناهمگون و تشابه زیستی فوق العاده شوند [۵۴].

ادغام بافتی، فرآیندی طبیعی است که در مراحل اولیه رشد جنینی، نقش به سزایی در شکل گیری صحیح، و ایفای نقش مناسب بسیاری از اندام ها و بافت ها، از جمله قلب، لوله عصبی، چشم ها، صورت و همچنین دیواره بدن دارد. طی ادغام بافتی، اجزای تشکیل دهنده دو بافت مقابل، به سوی یکدیگر رشد می کنند و متصل می شوند، تا یک بافت واحد را تشکیل دهند [۵۵]. به همین دلیل استفاده از محیط های کشت ترکیبی اسفروئیدهای سلولی، در موارد پرینت زیستی امکان پذیر بوده و نتایج مثبتی نیز خواهد داشت. برای مثال، تهیه محیط های کشت ترکیبی سلول های اندوتلیال، سلول های ماهیچه، فیبروبلاست ها، کاردیومیوسایت ها، و یا هر گونه سلول دیگر مربوط به بافت قلب، امکان دستیابی به ساختار سه بعدی که ادغام بافتی در آن صورت گرفته باشد را افزایش می دهد، و بافت پرینت شده شباهت بیشتری به بافت طبیعی خواهد داشت [۷، ۱۷].

با توجه به نوع سلول یا بافت مورد استفاده، غلظت سلول ها، مواد داربست، دوره کشت و اندازه اسفروئید، ویژگی های مکانیکی اسفروئیدهای سلولی می تواند متغییر باشد. با توجه به محور بودن اسفروئیدها، روی هم قرار

^{۴۵} Tissue fusion

دادن آن‌ها بدون استفاده از موادی که به عنوان چسب ایفای نقش کنند بسیار دشوار است، از این رو از هیدروژل‌ها و مواد داربست، که معمولاً به عنوان چسب در پرینت سه بعدی مورد استفاده قرار می‌گیرند بهره گرفته می‌شود. سرعت ادغام اسفروئیدها، بستگی زیادی به نوع بافت، ویژگی‌های مکانیکی اسفروئیدها، مواد چسبی، و شرایط محیط کشت دارد. ادغام اسفروئیدهای سلولی ممکن است از چندین روز تا چند هفته طول بکشد. این زمان برای ساختارهایی با پایه اسفروئیدهای سلولی فاقد داربست، طولانی‌تر خواهد بود. زیرا چنین ساختارهایی از نظر مکانیکی ضعیف می‌باشند و نیازمند زمان بیشتری برای ایجاد پیوند و رسیدن به بلوغ کامل هستند [۷، ۱۷، ۵۴].

۳،۸ داربست‌های سلولی

یکی از مواد ضروری در پرینت سه بعدی زیستی، داربست‌های سلولی متخلخل هستند. این ساختارهای سه بعدی، فراهم‌کننده محیط مناسب برای بازسازی بافت‌ها و اندام‌ها می‌باشند. داربست‌های زیستی که به منظور ایجاد تعاملات سلولی مطلوب، و ساخت بافت‌های کارآمد، مهندسی شده‌اند، قادر به محافظت از بافت‌های در حال پرینت می‌باشند. به بیانی دیگر، سلول‌ها در میان این داربست‌ها قرار داده می‌شوند، زیرا داربست‌ها تشابه زیادی به ماتریکس خارج سلولی طبیعی بافت‌ها دارند. داربست‌ها، این امکان را به سلول‌ها می‌دهند تا بتوانند بر محیط میکرونی اطرافشان تأثیر گذار باشند. در پرینت زیستی و مهندسی بافت، اساساً داربست‌ها، نقش قالبی را ایفا می‌کنند که سلول‌ها، و در موارد نیاز، فاکتورهای رشد، درون آن قرار می‌گیرند. علاوه بر این، داربست‌ها برای دستیابی به اهداف دیگری نیز، مورد استفاده قرار می‌گیرند. این اهداف عبارتند از: فراهم کردن شرایط مناسب برای اتصال و یا مهاجرت سلولی، رساندن سلول‌ها به محل مناسب، حفظ موقعیت سلول‌ها و فاکتورهای بیوشیمی، راه اندازی فرآیند ترشح مواد معدنی مورد نیاز سلول، ارائه تأثیرات مشخص زیستی و مکانیکی به منظور اصلاح رفتار سلول در مراحل مختلف رشد و تقسیم سلولی. داربست‌های حاوی سلول‌ها را می‌توان به دو طریق در موارد زیستی به کار برد: استفاده داربست در آزمایشگاه به منظور ساخت بافت‌های مورد نیاز. پیوند در ناحیه آسیب دیده، و یا قرار دادن مستقیم داربست در ناحیه آسیب دیده بدن میزبان و استفاده از سیستم بدن فرد برای بازسازی بافت‌ها و اندام‌ها [۳، ۵۶].

داربست های سلولی، شباهت زیادی به ماتریکس خارج سلولی موجود در بدن دارند، و تا کنون توانسته اند در موارد پرینت زیستی به عنوان بهترین جایگزین ماتریکس خارج سلولی، ایفای نقش کنند. با توجه به این که داربست ها در طبیعت وجود ندارند، نیاز است تا طی مراحل در آزمایشگاه تهیه شوند. تا کنون تکنیک های متعددی به منظور تهیه داربست های مختلف، از مواد زیستی متفاوت، مورد استفاده قرار گرفته اند. به طور کلی، می توان داربست ها را از سه طریق به دست آورد: (۱) فاقد سلول کردن بافت های زنده یا تهیه ماتریکس فاقد سلول؛ بدین طریق سلول ها از بین می روند و تنها داربست های سلولی باقی می ماندند، (۲) تولید داربست های مصنوعی، و (۳) پرینت زیستی سه بعدی داربست؛ پرینت سه بعدی داربست ها به وسیله مدل های طراحی شده کامپیوتری. همان طور که در فصل گذشته توضیح داده شد، تهیه تصاویر و استفاده از آن ها در مراحل مختلف پرینت، نقش به سزایی در تهیه محصول نهایی کارآمد ایفا می کند [۵۶].

با توجه به نوع بافت مورد نظر، نیاز است تا داربست سلولی، شرایط ایده آل مربوط به آن بافت را داشته باشد تا اهداف مهندسی بافت تامین شود. این شرایط مناسب داربست سلولی عبارتند از: (۱) خواص سطحی مناسب برای افزایش قابلیت چسبندگی، تکثیر و تفکیک سلول ها، (۲) زیست سازگار و فراهم کننده محیط مناسب بقای سلول ها، (۳) زیست تجزیه پذیر و قابل جایگزینی با ماتریکس خارج سلولی (۴) بسیار متخلخل و دارای نسبت سطح وسیع تر به حجم (به منظور رشد سلول ها و حمل و نقل جریان مواد غذایی و ضایعات سوخت و ساز درون سلولی)، (۵) برخورداری از استحکام، برای تحمل هرگونه تنش در هنگام پیوند بافت و همچنین در شرایط محیطی داخل بدن [۵۷، ۵۸].

دستیابی همزمان به تمامی این فاکتورها امر دشواری است، به خصوص ترکیب آخرین فاکتور یعنی استحکام، با فاکتور تخلخل بالا. دسترسی به چنین هماهنگی در حجم بالایی از مواد، دشوار است. به همین دلیل، استفاده از محیط های پلیمری با ویژگی های خاص و تقویت شده، در این مورد اهمیت به سزایی دارد، به خصوص اگر پلیمر مورد استفاده هیدروژل باشد. علاوه بر موارد فوق، افزودن برخی سلول ها به ساختمان داربست، سبب افزایش کارایی و بازده داربست های استفاده شده در مهندسی بافت می شود. برای مثال داربست هایی که به کلاژن نوع یک آغشته شده اند، قادر به جذب و نگه داری سلول های بیشتری در فرآیند پرینت هستند، و در نتیجه استحکام بیشتری دارند. داربست های آغشته به کلاژن نوع یک، در موارد پیوند بافت، موجب افزایش تعاملات میان سلول

های بافت پرینت شده و محیط درونی بدن می شوند، و به جوش خوردن بافت پیوندی با بدن فرد گیرنده سرعت می بخشند [۵۹].

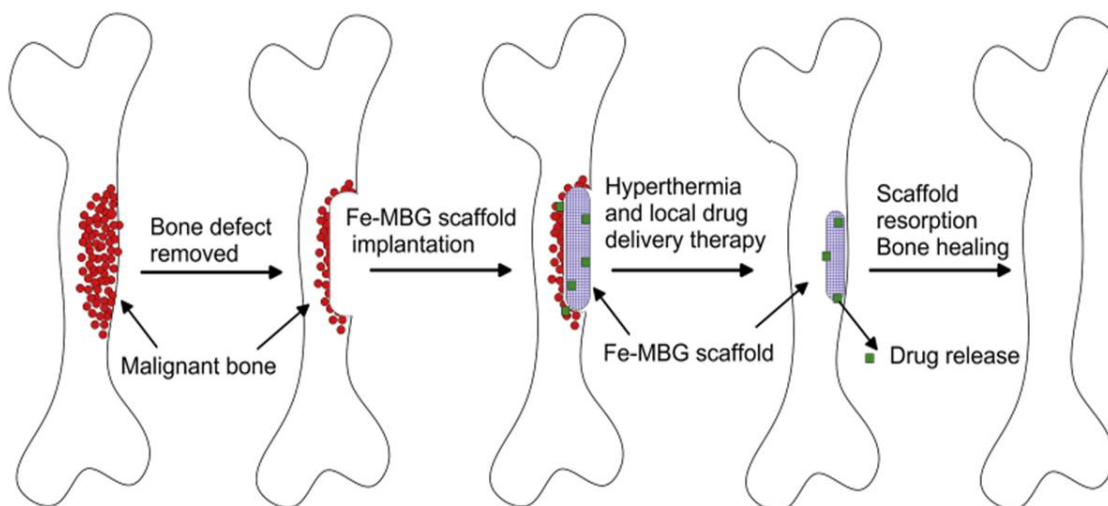
با اینکه طراحی داربست های سلولی بستگی زیادی به کاربرد بافت در نظر گرفته شده دارد، اما باید ساختاری با ویژگی هایی که در بالا ذکر شد، داشته باشد، تا مناسب اهداف پرینت سه بعدی زیستی باشد. به منظور موفقیت در دستیابی به این شرایط، دو فاکتور حائز اهمیت هستند: مواد مصرفی، و ساختار درونی و بیرونی داربست. به طور کلی سه گروه از مواد زیستی، شامل سرامیک ها، پلیمرهای مصنوعی و پلیمرهای طبیعی، در ساخت داربست های سلولی مورد نیاز مهندسی بافت، کاربرد دارند. هریک از این مواد زیستی، دارای مزیت ها و محدودیت هایی می باشند و به همین علت استفاده تلفیقی از آن ها روز به روز افزایش می یابد [۳].

۳,۸,۱ داربست های سرامیکی

به طور کلی داربست های سرامیکی، هیچ گونه کاربردی در پرینت و بازسازی بافت های نرم ندارند. اما اکثرا در زمینه پرینت بافت های سخت، و به خصوص بازسازی کاربردی استخوان، نقش به سزایی ایفا می کنند. مهمترین ویژگی های داربست های سرامیکی عبارتند از: استحکام مکانیکی بالا، خاصیت کشسانی اندک، سطح سخت، و در عین حال شکننده. داربست های سرامیکی، به دلیل شباهت زیستی فراوانی که با ویژگی های شیمیایی و ساختاری بخش معدنی استخوان های طبیعی دارند، به خوبی قادر به بازسازی استخوان بوده اند. از سرامیک های مختلف در جراحی های دندانپزشکی و استخوانی متعدد، به منظور تکمیل نقص های استخوانی و پوشاندن سطوح ایمپلنت های فلزی، جهت بهبود یکپارچگی ایمپلنت با استخوان فرد گیرنده، استفاده می شود (تصویر ۱۱). در تصویر ۱۰، داربست سرامیکی پرینت شده به عنوان ایمپلنت استخوانی که حاوی فاکتورهای دارویی است، مورد استفاده قرار گرفته است. داروهای موجود باعث از بین رفتن سلول های سرطانی باقی مانده در ناحیه و همچنین افزایش گردش خون در محل مورد نظر می شوند. در ادامه فرآیند درمان، با جذب داربست، بافت استخوان کاملا ترمیم شده است.

با این حال، استفاده پزشکی از سرامیک ها، در مهندسی بافت و پرینت سه بعدی شامل محدودیت هایی نیز هست. این محدودیت ها عبارتند از شکنندگی، دشواری شکل پذیری برای کاشت ایمپلنت، و ناتوانی در تحمل فشار

مکانیکی وارده توسط استخوان تازه شکل گرفته در یک شبکه متخلخل. این محدودیت ها، سبب کاهش کارایی داربست های سرامیکی در مهندسی بافت شده اند [۳].



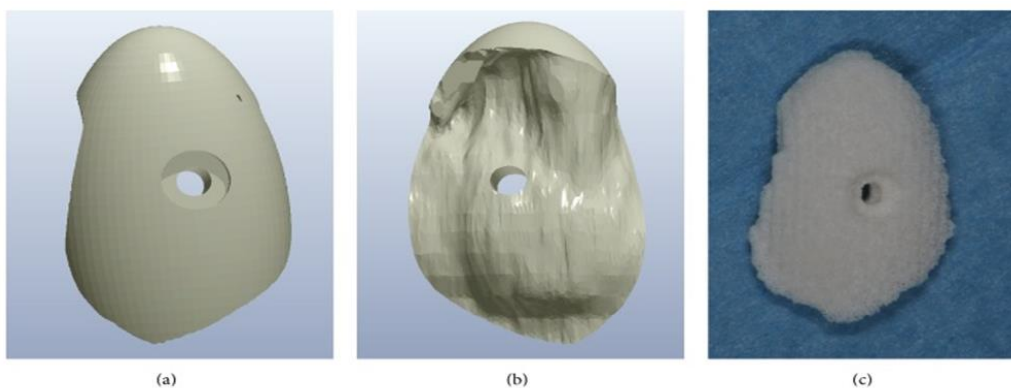
تصویر ۱۱. ایمپلنت داربست سرامیکی $^{61}\text{Fe-MBG}$ در درمان سرطان استخوان بدخیم و احیای بافت استخوانی برداشته شده [۶۰].

۳,۸,۲ داربست های مصنوعی

علاوه بر سرامیک ها، پلیمر های مصنوعی متعددی از جمله پلی لاکتیک اسید، پلی گلیکولیک اسید، و پلی دی لاکتیک کوگلیکولیک اسید، در زمینه ساخت داربست ها کاربرد دارند. داربست های مصنوعی، از طریق پرینت سه بعدی. مدل های طراحی شده تهیه می شوند. این داربست ها دارای استحکام بالا، و زیست تجزیه پذیر هستند. داربست های مصنوعی در موارد بسیاری کاربرد دارند. از این جمله می توان به ایمپلنت های دندانپزشکی اشاره کرد (تصویر ۱۲). در تصویر ۱۲، داربست متخلخل که به صورت اختصاصی برای بیمار طراحی شده است، پس از پرینت سه بعدی، در محل مورد نظر روی استخوان تحلیل رفته فک قرار داده می شود. این ایمپلنت که برای ترمیم استخوان تحلیل رفته فک انجام گرفته است، جایگاه مناسب قرار دادن ایمپلنت دندان را فراهم می کند [۶۱]. استفاده از پلیمر های مصنوعی، علاوه بر موفقیت های چشمگیری که نصیب تکنولوژی پرینت زیستی کرده است،

^{۴۶} Iron-mesoporous bioactive glass

شامل اشکالاتی از جمله پس زدن داربست توسط بدن فرد گیرنده، به علت کاهش فعالیت های زیستی می باشد. همچنین فرآیند تجزیه پلی لاکتیک اسید و پلی گلیکولیک اسید نیز، اشکالاتی را موجب می شود. زیرا هنگامی که این پلیمرهای مصنوعی هیدرولیز و تجزیه می شوند، دی اکسید کربن تولید می کنند. وجود دی اکسید کربن، سبب کاهش pH محدوده اطراف این پلیمرها و در نتیجه مرگ سلول ها و از بین رفتن بافت می شود [۳].



تصویر ۱۲. (a) داربست از زاویه خارجی (b) داربست از زاویه داخلی (c) داربست پرینت شده و آماده برای استفاده کلینیکی [۶۱].

۳,۸,۳ داربست های طبیعی

مواد دیگری که برای تهیه داربست های سلولی مورد استفاده قرار می گیرند، مواد زیستی همچون کلاژن، پروتئوگلیکان ها^{۴۷}، کیتوسان^{۴۸} و مواد دارای پایه آلجینات هستند. برخلاف داربست های تهیه شده از پلیمرهای مصنوعی، پلیمرهای طبیعی از نظر زیستی فعال هستند، و به طور طبیعی مهیا کننده محیط مناسب برای چسبندگی و رشد سلول ها می باشند. این نوع داربست ها از نظر زیستی تجزیه پذیر هستند و به مرور زمان با بافت میزبان ادغام می شوند. ادغام داربست با بافت میزبان، به سلول ها امکان ساخت ماتریکس خارج سلولی و جایگزین کردن آن به جای داربست را می دهند. با وجود این، داربست های طبیعی که دارای ساختار همگن و تجدیدپذیر هستند، ویژگی های مکانیکی ضعیفی دارند که باعث محدودیت استفاده از آن ها می شود [۳, ۶۲].

^{۴۷} Proteoglycans

^{۴۸} Chitosan

۳,۱۰ خلاصه مطلب

مواد استفاده شده در انواع پرینت، اهمیت به سزایی در کیفیت محصول نهایی ایفا می کنند. اگر این محصول نهایی یک بافت و یا اندام سه بعدی باشد، که در علوم پزشکی و داروسازی کاربرد دارد، اهمیتش چندین برابر خواهد بود. تاکنون مواد بسیاری برای استفاده در پرینترهای زیستی مورد استفاده قرار گرفته اند. اولویت گزینش این مواد، زیست سازگاری و استحکام آن ها می باشد. در این میان میتوان هیدروژل ها، ماتریکس خارج سلولی، داربست های زیستی، و اسفروئیدهای سلولی را از مناسب ترین مواد در زمینه ساخت بافت ها و اندام های سه بعدی زیستی دانست. با این وجود نمی توان هیچ یک از آن ها را کاملترین ماده استفاده شده در این زمینه به حساب آورد. علم همواره در حال پیشرفت است، و تکنولوژی پرینت نیز با سرعت زیادی رو به جلو حرکت می کند. امید است در آینده ای نزدیک، موادی کاملاً مناسب پرینت اندام ها و بافت ها به دست آیند، که مستحکم، زیست سازگار، قابل پرینت در کمترین زمان ممکن، و مناسب استفاده در موارد درمانی باشند.

- [1] J. Vanderburgh, J.A. Sterling, S.A. Guelcher, 3D Printing of Tissue Engineered Constructs for In Vitro Modeling of Disease Progression and Drug Screening, *Ann Biomed Eng* 45(1) (2017) 164-179.
- [2] H. Chen, Y. Liu, Z. Jiang, W. Chen, Y. Yu, Q. Hu, Cell-scaffold interaction within engineered tissue, *Experimental cell research* 323(2) (2014) 346-51.
- [3] F.J. O'Brien, Biomaterials & scaffolds for tissue engineering, *Materialstoday* 14(3) (2011) 88-95.
- [4] A. Fatehullah, S.H. Tan, N. Barker, Organoids as an in vitro model of human development and disease, *Nature cell biology* 18(3) (2016) 246-54.
- [5] A. Ranga, N. Gjorevski, M.P. Lutolf, Drug discovery through stem cell-based organoid models, *Advanced drug delivery reviews* 69-70 (2014) 19-28.
- [6] F. Rosso, A. Giordano, M. Barbarisi, A. Barbarisi, From cell-ECM interactions to tissue engineering, *Journal of cellular physiology* 199(2) (2004) 174-80.
- [7] V.K. Lee, G. Dai, Printing of Three-Dimensional Tissue Analogs for Regenerative Medicine, *Ann Biomed Eng* 45(1) (2017) 115-131.
- [8] A. Arslan-Yildiz, R. El Assal, P. Chen, S. Guven, F. Inci, U. Demirci, Towards artificial tissue models: past, present, and future of 3D bioprinting, *Biofabrication* 8(1) (2016) 014103.
- [9] A. Skardal, M. Devarasetty, H.W. Kang, I. Mead, C. Bishop, T. Shupe, S.J. Lee, J. Jackson, J. Yoo, S. Soker, A. Atala, A hydrogel bioink toolkit for mimicking native tissue biochemical and mechanical properties in bioprinted tissue constructs, *Acta biomaterialia* 25 (2015) 24-34.
- [10] K.L. Ou, H. Hosseinkhani, Development of 3D in vitro technology for medical applications, *Int J Mol Sci* 15(10) (2014) 17938-62.
- [11] T.R. Olsen, B. Mattix, M. Casco, A. Herbst, C. Williams, A. Tarasidis, D. Simionescu, R.P. Visconti, F. Alexis, Manipulation of cellular spheroid composition and the effects on vascular tissue fusion, *Acta biomaterialia* 13 (2015) 188-98.
- [12] J.J. Song, H.C. Ott, Organ engineering based on decellularized matrix scaffolds, *Trends in molecular medicine* 17(8) (2011) 424-32.
- [13] P.F.M. P.M. Kieran, D.M. Malone Plant cell suspension cultures: some engineering considerations, *Journal of biotechnology* (1997) 39-52.
- [14] J.H. Park, B.G. Chung, W.G. Lee, J. Kim, M.D. Brigham, J. Shim, S. Lee, C.M. Hwang, N.G. Durmus, U. Demirci, A. Khademhosseini, Microporous cell-laden hydrogels for engineered tissue constructs, *Biotechnology and bioengineering* 106(1) (2010) 138-48.
- [15] M. Parmaksiz, A. Dogan, S. Odabas, A.E. Elcin, Y.M. Elcin, Clinical applications of decellularized extracellular matrices for tissue engineering and regenerative medicine, *Biomedical materials* 11(2) (2016) 022003.
- [16] C. Tomasina, T. Bodet, C. Mota, L. Moroni, S. Camarero-Espinosa, Bioprinting Vasculature: Materials, Cells and Emergent Techniques, *Materials (Basel)* 12(17) (2019).
- [17] B. Duan, State-of-the-Art Review of 3D Bioprinting for Cardiovascular Tissue Engineering, *Ann Biomed Eng* 45(1) (2017) 195-209.
- [18] M. Patenaude, T. Hoare, Injectable, mixed natural-synthetic polymer hydrogels with modular properties, *Biomacromolecules* 13(2) (2012) 369-78.
- [19] R. Cruz-Acuna, A.J. Garcia, Synthetic hydrogels mimicking basement membrane matrices to promote cell-matrix interactions, *Matrix Biol* 57-58 (2017) 324-333.
- [20] C.F.v.N. W.E. Hennink, Novel crosslinking methods to design hydrogels, *Adv Drug Deliv Rev* 54 (2002) 13-36.

- [21] J.Z.a.R.E. Marchant, Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds, Author manuscript (2012).
- [22] Y. Loo, C.A. Hauser, Bioprinting synthetic self-assembling peptide hydrogels for biomedical applications, *Biomed Mater* 11(1) (2015) 014103.
- [23] L. Almany, D. Seliktar, Biosynthetic hydrogel scaffolds made from fibrinogen and polyethylene glycol for 3D cell cultures, *Biomaterials* 26(15) (2005) 2467-77.
- [24] C.C. Lin, K.S. Anseth, PEG hydrogels for the controlled release of biomolecules in regenerative medicine, *Pharmaceutical research* 26(3) (2009) 631-43.
- [25] C. Zhong, J. Wu, C.A. Reinhart-King, C.C. Chu, Synthesis, characterization and cytotoxicity of photo-crosslinked maleic chitosan-polyethylene glycol diacrylate hybrid hydrogels, *Acta biomaterialia* 6(10) (2010) 3908-18.
- [26] A. Navaratnam, J. Cumsy, H. Abdul-Muhsin, J. Gagneur, J. Shen, H. Kosiorek, M. Golafshar, A. Kawashima, W. Wong, R. Ferrigni, M.R. Humphreys, Assessment of Polyethylene Glycol Hydrogel Spacer and Its Effect on Rectal Radiation Dose in Prostate Cancer Patients Receiving Proton Beam Radiation Therapy, *Adv Radiat Oncol* 5(1) (2020) 92-100.
- [27] V.R. Sinha, K. Bansal, R. Kaushik, R. Kumria, A. Trehan, Poly-epsilon-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview, *International journal of pharmaceutics* 278(1) (2004) 1-23.
- [28] G.G.N. Kyriacos A. Athanasiou, a.C.M. Agrawal, Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid, *Elsevier* 17 (1996) 93-102.
- [29] I.P.C.S.A.K.F.T. R. W. STODDART, Solution properties of polygalacturonic acid, *Biochem* 114 (1969) 863-870.
- [30] H.H. Peng, Y.M. Chen, C.I. Lee, M.W. Lee, Synthesis of a disulfide cross-linked polygalacturonic acid hydrogel for biomedical applications, *Journal of materials science. Materials in medicine* 24(6) (2013) 1375-82.
- [31] Y.H.B. Byeongmoon Jeonga, Sung Wan Kima, Drug release from biodegradable injectable thermosensitive hydrogel of PEG-PLGA-PEG triblock copolymers, *Journal of controlled release* 63 (2000) 155-163.
- [32] J. Zhu, R.E. Marchant, Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds, *Expert Rev Med Devices* 8(5) (2011) 607-26.
- [33] T. Yuan, L. Zhang, K. Li, H. Fan, Y. Fan, J. Liang, X. Zhang, Collagen hydrogel as an immunomodulatory scaffold in cartilage tissue engineering, *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials* 102(2) (2014) 337-44.
- [34] Y.-J.H.a.J.G. Lyubovitsky, Collagen hydrogel characterization multi-scale and multi-modality approach, *Anal. Methods* 3 (2011) 529-536.
- [35] M.M.I. R. Ravichandran, E. I. Alarcon, A. Samanta, S. Wang,, J.H. P. Lundstrom, M. Griffith and J. Phopase, Functionalised type-I collagen as a hydrogel building block for bio-orthogonal tissue engineering applications, *Mater. Chem. B* 4 (2016) 318-326.
- [36] E.E. Antoine, P.P. Vlachos, M.N. Rylander, Tunable collagen I hydrogels for engineered physiological tissue micro-environments, *PLoS One* 10(3) (2015) e0122500.
- [37] J.W. Nichol, S.T. Koshy, H. Bae, C.M. Hwang, S. Yamanlar, A. Khademhosseini, Cell-laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels, *Biomaterials* 31(21) (2010) 5536-44.
- [38] J. Ramon-Azcon, S. Ahadian, R. Obregon, G. Camci-Unal, S. Ostrovidov, V. Hosseini, H. Kaji, K. Ino, H. Shiku, A. Khademhosseini, T. Matsue, Gelatin methacrylate as a promising hydrogel for 3D microscale organization and proliferation of dielectrophoretically patterned cells, *Lab on a chip* 12(16) (2012) 2959-69.

- [39] K. Yue, G. Trujillo-de Santiago, M.M. Alvarez, A. Tamayol, N. Annabi, A. Khademhosseini, Synthesis, properties, and biomedical applications of gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels, *Biomaterials* 73 (2015) 254-71.
- [40] K.Y. Lee, D.J. Mooney, Alginate: properties and biomedical applications, *Prog Polym Sci* 37(1) (2012) 106-126.
- [41] A.G. Tabriz, M.A. Hermida, N.R. Leslie, W. Shu, Three-dimensional bioprinting of complex cell laden alginate hydrogel structures, *Biofabrication* 7(4) (2015) 045012.
- [42] B. Balakrishnan, N. Joshi, A. Jayakrishnan, R. Banerjee, Self-crosslinked oxidized alginate/gelatin hydrogel as injectable, adhesive biomimetic scaffolds for cartilage regeneration, *Acta biomaterialia* 10(8) (2014) 3650-63.
- [43] V.A. Schulte, K. Hahn, A. Dhanasingh, K.H. Heffels, J. Groll, Hydrogel-fibre composites with independent control over cell adhesion to gel and fibres as an integral approach towards a biomimetic artificial ECM, *Biofabrication* 6(2) (2014) 024106.
- [44] A.L. Rutz, K.E. Hyland, A.E. Jakus, W.R. Burghardt, R.N. Shah, A multimaterial bioink method for 3D printing tunable, cell-compatible hydrogels, *Adv Mater* 27(9) (2015) 1607-14.
- [45] O. Jeon, J.E. Samorezov, E. Alsberg, Single and dual crosslinked oxidized methacrylated alginate/PEG hydrogels for bioadhesive applications, *Acta biomaterialia* 10(1) (2014) 47-55.
- [46] A. Radhakrishnan, G.M. Jose, M. Kurup, PEG-penetrated chitosan-alginate co-polysaccharide-based partially and fully cross-linked hydrogels as ECM mimic for tissue engineering applications, *Progress in biomaterials* 4(2-4) (2015) 101-112.
- [47] D. Kokkinis, M. Schaffner, A.R. Studart, Multimaterial magnetically assisted 3D printing of composite materials, *Nat Commun* 6 (2015) 8643.
- [48] X. Bai, M. Gao, S. Syed, J. Zhuang, X. Xu, X.Q. Zhang, Bioactive hydrogels for bone regeneration, *Bioact Mater* 3(4) (2018) 401-417.
- [49] P.W. Łukasz A. Poniatowski, Robert Gasik, and Dariusz Szukiewicz Transforming Growth Factor Beta Family: Insight into the Role of Growth Factors in Regulation of Fracture Healing Biology and Potential Clinical Applications, *Mediators Inflammation* (2015).
- [50] V.K. Lee, G. Dai, Printing of Three-Dimensional Tissue Analogs for Regenerative Medicine, *Ann Biomed Eng* (2016).
- [51] F. Pati, J. Jang, D.H. Ha, S. Won Kim, J.W. Rhie, J.H. Shim, D.H. Kim, D.W. Cho, Printing three-dimensional tissue analogues with decellularized extracellular matrix bioink, *Nature communications* 5 (2014) 3935.
- [52] S.F. Badylak, D. Taylor, K. Uygun, Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds, *Annual review of biomedical engineering* 13 (2011) 27-53.
- [53] S. Guven, P. Chen, F. Inci, S. Tasoglu, B. Erkmen, U. Demirci, Multiscale assembly for tissue engineering and regenerative medicine, *Trends Biotechnol* 33(5) (2015) 269-279.
- [54] Z. Hajdu, V. Mironov, A.N. Mehesz, R.A. Norris, R.R. Markwald, R.P. Visconti, Tissue spheroid fusion-based in vitro screening assays for analysis of tissue maturation, *Journal of tissue engineering and regenerative medicine* 4(8) (2010) 659-64.
- [55] H.J. Ray, L. Niswander, Mechanisms of tissue fusion during development, *Development* 139(10) (2012) 1701-11.
- [56] L. Teodori, A. Crupi, A. Costa, A. Diaspro, S. Melzer, A. Tarnok, Three-dimensional imaging technologies: a priority for the advancement of tissue engineering and a challenge for the imaging community, *J Biophotonics* 10(1) (2017) 24-45.
- [57] F.J.O.B. Ciara M. Murphy, David G. Little and Aaron Schindeler, Cell-scaffold interactions in the bone tissue engineering triad, *European cells and materials* 26 (2013) 120-132.

- [58] F. Berthiaume, T.J. Maguire, M.L. Yarmush, Tissue engineering and regenerative medicine: history, progress, and challenges, *Annual review of chemical and biomolecular engineering* 2 (2011) 403-30.
- [59] F.C.P. Salvatrice Rigogliuso, Valerio Brucato, Vincenzo, P.F. La Carrubba, Francesca Intranuovo, Roberto Gristina and, G. Gherzi, Use of Modified 3D Scaffolds to Improve Cell Adhesion and Desired Cell Responses, *Chemical engineering transactions* 27 (2012) 1-6.
- [60] M.S.C. Maria P. Nikolova, Recent advances in biomaterials for 3d scaffolds, *Bioactive materials* (2019) 271-292.
- [61] F.G. Fabrizia Luongo, Aldo Macchi, Giuseppe Luongo, and CarloMangano, Custom-made synthetic scaffolds for bone reconstruction, *BioMed Research International* (2016) 1-12.
- [62] J.R. Mauney, R.M. Adam, Dynamic reciprocity in cell-scaffold interactions, *Advanced drug delivery reviews* 82-83 (2015) 77-85.

فصل چهارم

محدودیت های کنونی در تکنولوژی پرینت زیستی

۱, ۴ مقدمه

روزانه هزاران انسان در سنین مختلف، به دلیل نقص عملکرد یکی از اندام های حیاتی شان به بیمارستان ها مراجعه می کنند، و به دلیل آلودگی اندام های پیوندی، تعداد زیادی از این افراد جان خود را از دست می دهند. به بیانی دیگر، امروزه نمی توان نیاز به اندام های پیوندی را، از طریق راه کارهای کلاسیک برطرف کرد. مهندسی بافت و ساخت مدل های سه بعدی، راه کاری جدید برای تغییر روش های کلاسیک به حساب می آید. مهندسی بافت، به عنوان زمینه ای میان رشته ای، از راه کارها و اصول مهندسی استفاده می کند، تا جایگزین های مناسبی برای اندام ها و بافت های آسیب دیده فراهم کند. هدف بنیادی آن نیز، ساخت بافت های طبیعی به عنوان جایگزین اندام های از بین رفته، و یا بازیابی کاربرد بافت ها است. از دیگر مزایای مهندسی بافت، اختصاصی بودن بافت های پرینت شده برای افراد است. زیرا مصالح پرینت، همان طور که در فصل گذشته اشاره شد، برگرفته از سلول ها و ماتریکس خارج سلولی بدن خود فرد خواهند بود. بنابراین هیچ جسم خارجی وارد بدن بیمار نخواهد شد و پیوند بافت ها و اندام ها با موفقیت انجام خواهد گرفت. بدین ترتیب پس زدن بافتی هم اتفاق نمی افتد، و همچنین نیازی به مصرف داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی نخواهد بود. بدین وسیله، رویای بهبود سلامت و ارتقاء کیفیت زندگی، برای میلیون ها انسان در سراسر جهان به تحقق خواهد پیوست. و راه حلی برای محدودیت های کنونی پیوند بافت، از جمله پس زدن بافت اهدایی توسط بدن فرد گیرنده و یا کمبود افراد اهداء کننده، ارائه خواهد شد.

در مهندسی بافت علاوه بر استفاده از سلول های مختلف، شامل سلول های بنیادی، از داربست های سلولی، فاکتورهای رشد، و همچنین ژن ها، به منظور بازسازی بافت ها استفاده می شود. ژن های سلول های درگیر در فرآیند پرینت، نقش مهمی در بیان فاکتورهای رشد مورد نیاز بازسازی بافت، ایفا می کنند. به همین دلیل در این راستا از تکنولوژی انتقال ژن^۱ استفاده می شود. تکنولوژی انتقال ژن، جایگزینی برای حامل های ژنی و ویروسی است، که امکان انتقال ژنوم خاصی به درون سلول های مورد نظر را فراهم می کند. با استفاده از تکنولوژی انتقال ژن، سلول ها قادر به ساخت پروتئین های خاص و یا بیان فاکتورهای رشد ویژه ای خواهند بود [۳-۱]. این نکته، در مهندسی بافت اهمیت زیادی دارد. به خصوص در مواردی که سلول ها از نظر ژنتیکی درگیرند تا فاکتور رشد تحریک کننده ساخت سلول های خونی جدید و بازسازی بافتی را هدایت کنند [۴].

^۱ Gene delivery technology

تکنولوژی های مختلف پرینت زیستی در زمینه های زیادی کاربرد دارند. به عنوان مثال، فراهم کردن نمونه مناسب برای مطالعه فعل و انفعالات سلولی، و ساخت بافت ها و اندام هایی همچون پوست، غضروف و استخوان به منظور پیوند بافت. تکنولوژی های پرینت زیستی، قادرند سلول ها و مواد زیستی را به شیوه ای دقیق و به گونه ای که هیچ آسیبی به آن ها وارد نشود، در محل تعیین شده قرار دهند. تکنولوژی های پرینت زیستی، تا کنون قادر به پرینت بافت های ساده بوده اند، اما در ساخت بافت های پیچیده و مرکب، همچنان با چالش هایی روبه رو می باشند. در حال حاضر، پرینت اندام های پیچیده در مورد حیوانات آزمایشگاهی، تا حدودی موفق بوده است. اما این اندام ها فاصله زیادی تا دستیابی به قابلیت های اندام های واقعی دارند. با این وجود، تکنولوژی پرینت سه بعدی زیستی، نشان داده است که توانایی های قابل توجهی در پرینت بافت های زنده دارد، و در آینده ای نه چندان دور به ابزاری غیر قابل چشم پوشی در زمینه مهندسی بافت و کاربردهای پزشکی تبدیل خواهد شد. به منظور ارتقاء کاربرد بالینی پرینت سه بعدی زیستی، مورد توجه قرار دادن چالش های تکنولوژیکی هر یک از پرینترهای زیستی، اهمیت به سزایی دارد [۵].

۲, ۴ محدودیت ها و چالش های کنونی تکنولوژی پرینت زیستی

با وجود پیشرفت های قابل توجهی که در دهه اخیر در زمینه ساخت مدل های سه بعدی زیستی صورت گرفته است، موفقیت این مدل ها در استفاده بالینی، محدود به بافت هایی از جمله پوست، استخوان، غضروف و ماهیچه بوده است. با اینکه محققان موفق به ساخت مدل های پیچیده از جمله قلب، کلیه، کبد، بافت عصبی و بافت های حاوی شبکه عروقی شده اند، اما این موفقیت هنوز در مرحله آزمایش بر روی حیوانات است و برای دستیابی به اندام های پیچیده انسانی زمان بیشتری لازم است. دلایل این عدم موفقیت عبارتند از: فقدان استحکام مکانیکی بافت پرینت شده، عدم وضوح کافی اندام ساخته شده، ایده آل نبودن جوهرهای زیستی مصرفی، ایده آل نبودن شبکه عروقی برای انتقال مواد مورد نیاز سلول ها، طولانی بودن مدت زمان پرینت، کم بودن سرعت پرینت، و همچنین شکست در برقراری پیوند بافت پرینت شده با بدن میزبان [۵, ۶].

۴,۲,۱ فقدان استحکام مکانیکی

مشکل مشترک تمامی بافت های تهیه شده توسط تکنولوژی پرینت زیستی، فقدان استحکام مکانیکی و یکپارچگی می باشد. علت بروز این کمبودها ویژگی های جوهر های زیستی استفاده شده است. بافت های پرینت شده، نیازمند مقاومت مکانیکی کافی هستند، تا ساختارشان حفظ شود و در برابر استرس های خارجی پس از استقرار بر روی سطح مورد نظر، آسیب نبینند. اکثر هیدروژل های کارآمد در پرینت زیستی، دارای ویژگی های مکانیکی ضعیفی هستند. زیرا جوهر های زیستی دارای قدرت چسبندگی بالا سبب مسدود شدن دهانه پرینتر می شوند. در حالی که جوهر های زیستی دارای قدرت چسبندگی کم از این مشکل جلوگیری می کنند. با توجه به اینکه کاربرد پرینت زیستی، ساخت بافت های مناسب مصارف بالینی است، توجه به چند نکته در مورد جوهر های زیستی، حائز اهمیت است. این نکات مهم که سبب کارایی بافت پرینت شده می شوند، عبارتند از: زیست سازگاری، استحکام، ضریب نفوذ بالا، و سازگاری با نوع پرینتر مورد استفاده. تنها تعداد کمی از مواد زیستی که اکنون در مهندسی بافت کاربرد دارند، از این ویژگی ها به طور همزمان برخوردارند. در اکثر موارد، مواد زیستی طراحی شده، فاقد ویژگی های مناسب بوده و نمی توان آن ها را به عنوان ابزار نهایی پرینت زیستی در نظر گرفت [۷].

۴,۲,۲ ایده آل نبودن جوهر های زیستی مصرفی

علیرغم پیشرفت قابل توجهی که در زمینه جوهر های زیستی و مواد زیستی قابل پرینت، در دهه گذشته اتفاق افتاده است، هنوز محدودیت های زیادی در رابطه با زیست شناسی، ایمنی، ساختار میکرونی، ویژگی های مکانیکی، رئولوژیکی و شیمیایی آن ها وجود دارد [۸, ۹].

از جمله مواد اصلی تشکیل دهنده جوهر های زیستی، سلول های زنده ای هستند که اغلب از دو منبع قابل تامین هستند: بافت اهداء شده که اکثراً محتویات محدودی دارد، و سلول های بنیادی. دستیابی به میزان کافی سلول، برای انجام فرآیند پرینت، یکی از چالش های کنونی است. استفاده از سلول های بنیادی، تا حدودی سبب کاهش این محدودیت بوده است. زیرا دو خصوصیت بارز سلول های بنیادی این است که، توانایی تکثیر پذیری بالایی دارند، و قادرند به سلول هایی با کارایی های گوناگون تبدیل شوند. به همین دلیل، سلول های بنیادی منبعی مناسب برای تهیه سلول های مورد نیاز پرینت سه بعدی به حساب می آیند. با این حال، چالش های اخلاقی مطرح شده در زمینه

استفاده از سلول های بنیادی جنینی، مانع بزرگی در رابطه با اختیارات مهندسی بافت، به وجود آورده است. اما پیشرفت های حاصله در زمینه استفاده از سلول های بنیادی بالغ، سلول های بنیادی پرتوان، و سلول های بنیادی به دست آمده از جفت و بند ناف، تا حدودی موقعیت جایگزینی این سلول های بنیادی با سلول های بنیادی جنینی را فراهم کرده اند [۱۰، ۱۱].

۴,۲,۳ عدم وضوح کافی

اندام ها و بافت ها، ساختارهای پیچیده ای هستند، که از انواع مختلف سلول ها با وضوح در مقیاس میکرومتر، و ساختمان درونی پیچیده تشکیل شده اند. وضوح اندام ها و بافت ها اهمیت بالایی در پرینت زیستی دارد، اما محدودیت های ساخت بافت های سه بعدی با وضوح بالا، یکی از چالش های مورد بررسی اند. مهمترین مواردی که مانع وضوح بالای پرینت می شوند، غلظت بالای جوهرهای زیستی مورد استفاده و نامناسب بودن مدت زمان پرینت است. غلظت جوهر زیستی با توجه به هدف نهایی پرینت و پرینتر مورد استفاده متغیر است. برای استحکام بافت مورد نظر نیز نمی توان پروسه پرینت را برای زمان طولانی ادامه داد. شکی نیست که با پیشرفت علم در این زمینه این موانع برطرف خواهند شد و در آینده ای نزدیک بافت های پرینت شده به وضوح ایده آل دست خواهند یافت [۷، ۱۰].

۴,۲,۴ فقدان شبکه عروقی کاربردی

یکی از چالش های مهم در رابطه با پایداری بقای بافت مهندسی شده، و کارآمد بودن آن در مصارف پزشکی، مربوط به شبکه عروقی آن می شود. این مورد، به خصوص در ساختار اندام های پیچیده، مسئله ای بسیار حیاتی است. زیرا اندام های پیچیده، به میزان قابل توجهی اکسیژن و مواد مغذی نیاز دارد. فقدان شبکه عروقی مناسب، موجب بروز مشکلاتی همچون کمبود اکسیژن در بافت ها، و در نتیجه سلول ها می شود. به همین علت است که حل این مشکل و توانایی ساخت شبکه عروقی مناسب، کاملاً ضروری است. یک پیشنهاد که کمک اندکی به برطرف کردن این محدودیت کرده است، ساخت داربست های متخلخل، به منظور ایجاد فضای کافی برای شبکه عروقی است. با این حال، داربست های متخلخل، قادر به غلبه کامل بر چالش شبکه عروقی نیستند. زیرا سایر مواد و سلول ها نیز، به ساختار متخلخل آن ها نفوذ می کنند و باعث ایجاد مشکل می شوند. با این حال، آنچه مشخص

است اینکه، همچنان که علم پیشرفت می کند راه کارهای مناسب تری نیز برای حل این چالش ارائه خواهند شد [۱۰, ۱۲].

۴,۲,۵ عدم تناسب مدت زمان سپری شده در مقایسه با سرعت پرینت

چالش دیگر، عدم تناسب میان مدت زمان سپری شده برای پرینت و سرعت انجام آن می باشد. شرایطی که سبب افزایش سرعت پرینت می شوند، همچنین سبب افزایش نیروی برشی و آسیب سلول ها هنگام خروج از دهانه پرینتر می شوند. به منظور جلوگیری از آسیب سلول ها، باید مدت زمان پرینت کاهش یابد. اما این خود باعث محدود شدن کل فرآیند پرینت می شود، و لازم است قبل از آنکه تکنولوژی پرینت زیستی مورد استفاده بالینی قرار گیرد، این مشکل برطرف شود [۱۰, ۱۳].

۴,۲,۶ شکست در برقراری پیوند با بدن میزبان

پس از نیل به موفقیت در ساخت بافت های مهندسی شده سه بعدی مناسب، همچون عروق خونی، مثانه و نای که دارای شبکه عروقی درونی کارآمدی هستند، مهمترین نکته این است که این شبکه عروقی، آنقدر بی نقص باشد که بلافاصله پس از پیوند، قابلیت اتصال به سیستم گردش خون میزبان را داشته باشد. نیاز به این شبکه عروقی بی نقص، در بافت های کاملی که از طریق پرینت سه بعدی ساخته می شوند، مانند قلب، شش و کبد به مراتب ضروری تر از سایر بافت ها است. در سال های اخیر، فعالیت های امیدوار کننده ای برای انجام این چنین پیوندهای موفقیت آمیز صورت گرفته است. فاقد سلول کردن بافت های اهدا شده از جمله قلب، کبد و شش، یک داربست سه بعدی طبیعی فاقد سلول را در اختیار محققان قرار می دهد، که آماده دریافت سلول های پارانشیمی کارآمد، و یا مجموعه ای از سلول های نمونه که برای همین منظور انتخاب شده اند، خواهد بود. بر اساس آزمایشات صورت گرفته روی حیوانات، و تکثیر این سلول های کاشته شده به کمک ماتریکس خارج سلولی، محصول به دست آمده، یک بافت کارآمد خواهد بود که در مدت زمانی کوتاه، قابل تهیه است. البته این موفقیت در ابتدای راه قرار دارد و تا تکمیل آن راهی طولانی در پیش است [۵, ۱۴].

۴,۲,۷ برخی راه های غلبه بر این چالش ها

با نگاهی به چالش های ذکر شده در مطالب قبل، می توان اساسی ترین چالش پرینت زیستی در طراحی و ساخت بافت های سه بعدی پیچیده را، محدودیت استفاده از جوهرهای زیستی کارآمد و مناسب دانست. با اینکه تحقیقات متعددی در رابطه با جوهرهای زیستی مخلوط انجام گرفته است، اما هنوز راه زیادی در راستای تهیه پلیمرهای جدید و ارتقاء کارایی این جوهرها در پیش است. ترکیب راه های متفاوتی که تا کنون در تهیه جوهرهای زیستی موفق بوده اند، می تواند منجر به تهیه جوهرهایی با کارایی های بیشتر و توانایی های مطلوب تر، جهت تهیه بافت های پیچیده شود. برای مثال چنین جوهرهایی قادر به ساخت بافت هایی محکم تر، دارای چسبندگی بیشتر، افزایش سازگاری زیستی، افزایش قابلیت حمل سلول ها، و همگن سازی بیشتر مواد، خواهند بود. از جمله راه هایی که به بهبود شرایط، جهت ترکیب مواد زیستی و ایجاد بافت های پیچیده تر کمک می کند، استفاده از پرینترهای چند دهانه ای می باشد. این پرینترها برخلاف پرینترهای سه بعدی متداول، دارای چندین دهانه پرینت هستند. برخورداری از چند دهانه پرینت، مزایای متعددی دارد. برخی از این مزایا عبارتند از: سرعت بالا و کاهش مدت زمان پرینت، و خارج کردن و استقرار همزمان جوهرهای زیستی مختلف با فرمولاسیون متفاوت. این تکنولوژی، علاوه بر ایجاد شرایط لازم برای تهیه بافت های پیچیده به همراه شبکه عروقی، کنترل فضایی بهتری را برای استقرار جوهر زیستی، در مکان مناسب فراهم می کند. البته تهیه جوهرهای زیستی دارای فرمولاسیون متفاوت، که منجر به ایجاد درجات متفاوت چسبندگی و استحکام می شوند، خود چالشی است که نیازمند بررسی و پیشرفت است [۱۵].

۴,۳ خلاصه مطلب

همچنان که تکنولوژی پرینت زیستی به سرعت رو به پیشرفت است، در آینده ای نه چندان دور تمامی چالش ها و محدودیت های ذکر شده، برطرف خواهند شد. با پیشرفت تکنولوژی پرینت سه بعدی زیستی، بافت ها و اندام های پرینت شده، برگزیده ترین محیط های میکرونی خواهند بود. مهمترین موارد کاربرد این بافت ها و اندام ها، در زمینه های زیست شناسی سرطان [۱۶, ۱۷]، مهندسی بافت، پزشکی ترمیمی، و داروسازی خواهد بود. پیشرفت در پرینت بافت های سه بعدی، راه را برای پیشرفت های آینده در زمینه غربالگری آزمایشگاهی، و تشخیص و درمان موثر بیماری ها، هموار خواهد کرد [۱۸].

تکنولوژی پرینت سه بعدی زیستی، یک دانش بین رشته ای محسوب می شود، که سبب گردهمایی رشته های مختلف شیمی پلیمر، علوم دارویی، و زیست شناسی می شود. صرف نظر از هدف نهایی پرینت سه بعدی در زیست شناسی تجربی و پزشکی بالینی، محققان هنوز موفق به تهیه مدلی متشکل از محیط میکرونی سلولی سه بعدی، با کارایی بالا و برخورداری از شرایط مشابه بافت های طبیعی، نشده اند. تعداد زیادی از مدل های سه بعدی زیستی که در حال حاضر تحت آزمایش قرار دارند، نیازمند تجهیزات گران قیمت، حجم نمونه بزرگ، زمان کمون طولانی و یا تخصص گسترده می باشند؛ و بزرگترین محدودیت آن ها، این است که ساختارشان از طبیعت اندام های واقعی انسان بسیار دور است. به دلیل مشکلات ذکر شده، تحقیقات و پیشرفت در زمینه کشف دارو، پزشکی ترمیمی، تکنولوژی زیستی و صنایع داروسازی، بسیار هزینه بر می باشد. همچنین چندین سال طول می کشد، تا تنها یک محصول دارویی وارد بازار شود [۴].

تکنولوژی پرینت سه بعدی، به عنوان یک رویکرد میان رشته ای، سبب ادغام زیست شناسی سلول و مولکولی، علم مهندسی بافت، تکنولوژی نانو، و شیمی پلیمر، شده است. ادغام میان این رشته ها، فضای مناسب سیستم های سه بعدی زنده را فراهم می کند؛ و باعث می شود تا این ساختارهای پرینت شده، شباهت بیشتری نسبت به اندام های طبیعی داشته باشند. همچنین تا حد ممکن، سبب کاهش استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و آزمایش های بالینی شده و مشکلات ذکر شده را کاهش می دهد [۴].

- [1] L. Jin, X. Zeng, M. Liu, Y. Deng, N. He, Current progress in gene delivery technology based on chemical methods and nano-carriers, *Theranostics* 4(3) (2014) 240-55.
- [2] X. Chen, M.A. Goncalves, Engineered Viruses as Genome Editing Devices, *Mol Ther* 24(3) (2016) 447-57.
- [3] J.L. Howarth, Y.B. Lee, J.B. Uney, Using viral vectors as gene transfer tools (Cell Biology and Toxicology Special Issue: ETCS-UK 1 day meeting on genetic manipulation of cells), *Cell Biol Toxicol* 26(1)(2010)1-20.
- [4] K.L. Ou, H. Hosseinkhani, Development of 3D in vitro technology for medical applications, *Int J Mol Sci* 15 (10)(2014)17938-62.
- [5] T. Ramos, L. Moroni, Tissue Engineering and Regenerative Medicine 2019: The Role of Biofabrication-A Year in Review, *Tissue Eng Part C Methods* 26(2) (2020) 91-106.
- [6] S. Derakhshanfar, R. Mbeleck, K. Xu, X. Zhang, W. Zhong, M. Xing, 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances, *Bioact Mater* 3(2) (2018) 144-156.
- [7] N. Hong, G.H. Yang, J. Lee, G. Kim, 3D bioprinting and its in vivo applications, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 106(1) (2018) 444-459.
- [8] V.K. Lee, G. Dai, Printing of Three-Dimensional Tissue Analogs for Regenerative Medicine, *Ann Biomed Eng* 45(1) (2017) 115-131.
- [9] B. Duan, State-of-the-Art Review of 3D Bioprinting for Cardiovascular Tissue Engineering, *Ann Biomed Eng* 45(1) (2017) 195-209.
- [10] Y.J. Seol, H.W. Kang, S.J. Lee, A. Atala, J.J. Yoo, Bioprinting technology and its applications, *Eur J Cardiothorac Surg* 46(3) (2014) 342-8.
- [11] F. Berthiaume, T.J. Maguire, M.L. Yarmush, Tissue engineering and regenerative medicine: history, progress, and challenges, *Annu Rev Chem Biomol Eng* 2 (2011) 403-30.
- [12] A. Arslan-Yildiz, R. El Assal, P. Chen, S. Guven, F. Inci, U. Demirci, Towards artificial tissue models: past, present, and future of 3D bioprinting, *Biofabrication* 8(1) (2016) 014103.
- [13] S.V. Murphy, A. Atala, 3D bioprinting of tissues and organs, *Nat Biotechnol* 32(8) (2014) 773-85.
- [14] M. Parmaksiz, A. Dogan, S. Odabas, A.E. Elcin, Y.M. Elcin, Clinical applications of decellularized extracellular matrices for tissue engineering and regenerative medicine, *Biomed Mater* 11(2) (2016) 022003.
- [15] A.N. Leberfinger, S. Dinda, Y. Wu, S.V. Koduru, V. Ozbolat, D.J. Ravnice, I.T. Ozbolat, Bioprinting functional tissues, *Acta Biomater* 95 (2019) 32-49.
- [16] B. Zhang, Y. Luo, L. Ma, L. Gao, Y. Li, Q. Xue, H. Yang, Z. Cui, 3D bioprinting: an emerging technology full of opportunities and challenges, *Bio-Design and Manufacturing* 1(1) (2018) 2-13.
- [17] T.B. Phamduy, R.S. Sweat, M.S. Azimi, M.E. Burow, W.L. Murfee, D.B. Chrisey, Printing cancer cells into intact microvascular networks: a model for investigating cancer cell dynamics during angiogenesis, *Integr Biol (Camb)* 7(9) (2015) 1068-78.
- [18] S. Vijayavenkataraman, W.C. Yan, W.F. Lu, C.H. Wang, J.Y.H. Fuh, 3D bioprinting of tissues and organs for regenerative medicine, *Adv Drug Deliv Rev* 132 (2018) 296-332.