

واژه‌های کلیدی:

چاپگر سه بعدی
داربست
مهندسی بافت

ساخت داربست‌های پلیمری مهندسی بافت توسط چاپگرهای سه بعدی

امیر شمس^۱، الهه مسائلی^{۲*}، حامد قمی^۳، محمد حسین بیگی^۲

۱ نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد، گروه مهندسی بافت

۲ اصفهان، گروه زیست فناوری سلولی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده زیست فناوری
جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان

۳ نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد، دانشکده مهندسی مواد، مرکز تحقیقات
مواد پیشرفته

چکیده ...

امروزه مهم‌ترین کاربرد چاپگرهای سه بعدی در علوم پزشکی، ساخت داربست‌های مهندسی بافت است. مهندسی بافت، دانشی بین‌رشته‌ای است که توانایی بالقوه برای ترمیم یا بازسازی بافت یا اندام جدید در بدن انسان را فراهم می‌کند. مهم‌ترین عامل کارکرد در مهندسی بافت، داربست‌های سه بعدی هستند که به تقلید از ماتریس خارج سلولی (ECM) طبیعی بدن توسط روش‌های مختلفی از مواد زیست‌سازگار مختلف شامل پلیمرها، سرامیک‌ها، فلزات و مواد طبیعی استخراج یافته از بدن تولید می‌شوند. جدیدترین و دقیق‌ترین روش تولید داربست‌های مهندسی بافت، چاپگرهای سه بعدی هستند. چاپگر سه بعدی از فایل دیجیتالی ارائه شده به آن، لایه به لایه نمونه فیزیکی را می‌سازد. چاپگر سه بعدی از فایل دیجیتالی ارائه شده به آن، لایه به لایه نمونه فیزیکی را می‌سازد و توانایی تولید هر نوع داربست با هر شکل و اندازه را دارد. دقت عالی و سرعت فوق‌العاده چاپگرهای سه بعدی، آن‌ها را به محبوب‌ترین روش تولید داربست‌های مهندسی بافت مبدل کرده است. در این مقاله چاپگرهای سه بعدی مناسب برای تولید داربست‌های مهندسی بافت با فناوری‌های مختلف مورد نقد و بررسی قرار گرفته و اصول کلی کارکرد آن‌ها به طور کامل شرح داده می‌شود. در ادامه محدودیت‌ها و مزایای انواع روش‌های چاپ سه بعدی نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد.

*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:

elahe.masaali@royaninstitute.org

۱ مقدمه

هرساله میلیون‌ها نفر در جهان نیازمند پیوند بافت یا عضو هستند که متأسفانه به علت محدودیت افراد اهداکننده یا مشکل عدم هماهنگی ژنتیکی میان اهداکننده و گیرنده با مشکلات پزشکی متعددی روبرو می‌شوند. امروزه تحقیقات گسترده‌ای برای تولید بافت یا اندام در آزمایشگاه انجام گرفته است که طی آن‌ها خوشبختانه دانشمندان توانسته‌اند بسیاری از بافت‌ها و اندام‌ها را در محیط آزمایشگاهی خارج از بدن بازسازی کنند. این پیشرفت‌ها نویددهنده آینده درخشانی در عرصه پزشکی ترمیمی است. از جمله ملزومات تولید بافت یا اندام در آزمایشگاه، طراحی و ساخت داربستی ایده‌آل است که خصوصیات لازم برای تقلید ماتریس خارج سلولی (Extracellular Matrix (ECM)) طبیعی بدن را داشته باشد. تاکنون روش‌های مختلفی برای تولید انواع داربست‌های مهندسی بافت ابداع شده‌اند که چاپ سه‌بعدی توسط سامانه‌های رایانه‌ای یکی از روش‌های نوین در این زمینه است. این روش با پیشرفت علوم رایانه‌ای به سرعت گسترش یافته است؛ به طوری که امروزه بیش از ده‌ها روش مختلف تولید داربست با این فناوری توسعه یافته‌اند. روش‌های چاپ سه‌بعدی داربست دارای دقت بسیار خوب و ساختاری بسیار هماهنگ با بافت مورد نظر است. همچنین سرعت ساخت داربست در این روش‌ها بسیار بالا است و معمولاً از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه است [۱، ۲].

روش‌های چاپ سه‌بعدی داربست معمولاً دارای دو مرحله اصلی است. مرحله اول تولید نقشه رایانه‌ای داربست یا اندام مورد نظر است و مرحله دوم پیاده‌سازی این نقشه توسط چاپگرهای سه‌بعدی مخصوص ساخت داربست است. از جمله روش‌های چاپ سه‌بعدی تولید داربست می‌توان به فناوری‌های استریولیتوگرافی (SLA)، تفت جوشی (پخت) انتخابی لیزری (SLS)، مدل‌سازی رسوب ذوب شده (FDM)، پردازش دیجیتال نور (DLP)، ریخته‌گری موم (WAX) و چاپگرهای زیستی (Bioprinter) اشاره کرد. این روش‌ها هر یک دارای مزایا و معایب مخصوص به خود بوده و محققان برای تولید داربست با بررسی زیست‌مواد هماهنگ با بافت و همچنین ویژگی‌های مورد نظر خود یکی از این روش‌ها را انتخاب می‌کنند. امروزه ساخت داربست به فرایندی سریع و مقرون به صرفه تبدیل شده و

حتی دستگاه‌های چاپ خانگی نیز در این عرصه استفاده می‌شوند که می‌توان توسط آن‌ها داربست‌های کوچک با وضوح ولی دقت کم تولید کرد.

۲ ویژگی‌های داربست‌های تولید شده توسط چاپ سه‌بعدی

به‌طور کلی برای بررسی کیفیت هر داربست و ویژگی‌های آن عوامل مختلفی مورد بررسی قرار می‌گیرند که با توجه به فناوری تولید داربست تغییر می‌کنند.

پنج ویژگی متداول ساختاری در داربست‌های سه‌بعدی عبارتند از [۳-۵]:

(۱) تخلخل: داربست‌ها در ساختار خود حفراتی دارند که عموماً محل قرارگیری سلول‌ها هستند و بسته به نوع بافت و سلول‌های آن، اندازه و درصد تخلخل تعیین می‌شود. در روش‌های چاپ سه‌بعدی داربست، گستره وسیعی از اندازه و درصد تخلخل قابل پیاده‌سازی است. به‌طورمثال در روش چاپ مدل‌سازی رسوب ذوب شده (FDM) اندازه تخلخل‌ها در حد یک میکرون تا یک میلی‌متر قابل تغییر است. اندازه و درصد تخلخل داربست رابطه مستقیم با قدرت تفکیک دستگاه دارد؛ به طوری که در دستگاه‌هایی که قدرت تفکیک بالاتری دارند تخلخل‌های کوچک‌تر با درصد بالاتری قابل حصول است.

(۲) ریزساختار سطحی و جانبی: در داربست‌ها ساختار سطحی اهمیت ویژه‌ای دارد؛ به طوری که حاشیه‌های هر داربست و اعوجاج سطحی و جانبی آن در بررسی‌های سطحی داربست عموماً مورد سنجش قرار می‌گیرد. در روش چاپ سه‌بعدی داربست، ساختارهای سطحی و جانبی برخلاف روش‌های دیگر دارای نظم و انضباط بسیار خوبی بوده، اعوجاج سطحی و جانبی بسیار ناچیز است که از مزیت‌های بسیار خوب روش‌های چاپ سه‌بعدی نسبت به دیگر روش‌های تولید داربست است.

(۳) هندسه داربست: بافت‌های مختلف دارای ماتریس خارج سلولی منحصربه‌فرد خود هستند و هر بافت یا اندام شکل هندسی مخصوصی نیز دارد. از این رو داربست‌های تولیدی باید هندسه‌ای شبیه به ماتریس خارج سلولی بافت مورد نظر داشته باشند تا بافت یا اندام نهایی تولید شده دقیقاً به شکل بافت یا اندام طبیعی بدن باشد. این امر مستلزم تولید داربست با شکل هندسی پیچیده و با جزئیات دقیق است که توسط روش‌های چاپ سه‌بعدی داربست میسر می‌شود.

طبیعی و مصنوعی تقسیم می‌شوند: پلیمرهای طبیعی دارای زیست‌سازگاری بسیار خوبی هستند که به‌طور طبیعی در ماتریس خارج سلولی طبیعی بدن موجودند. از طرفی مواد مصنوعی خواص مکانیکی خوبی از خود نشان می‌دهند و دارای محدوده زیست‌تخریب‌پذیری خوبی هستند.

برای دستیابی به خواص خوب زیستی می‌توان از ترکیبی از مواد طبیعی و مصنوعی یا حتی ترکیب پلیمرها با فلزات و سرامیک‌ها استفاده کرد. البته باید توجه داشت که برای چاپ داربست باید از موادی استفاده شود که قابلیت چاپ داشته، درجات خوبی از خواص زیستی را نیز نشان دهد و همچنین قیمت و قابلیت شکل‌پذیری مناسبی داشته باشد [۶، ۷].

۱) فلزات: فلزات یکی از مواد بالقوه برای چاپ سه‌بعدی داربست هستند که به‌دلیل استحکام خوب و پایداری مکانیکی و شکل‌پذیری مناسب دارای جذابیت‌های زیادی در تولید داربست هستند. دمای ذوب فلزات بسیار متغیر است از این رو می‌توان در فناوری‌های مختلف چاپ سه‌بعدی از آن‌ها استفاده کرد. فلزات از نظر زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری جزء گروه مواد زیست‌خثی هستند، از این رو می‌توان انواع داربست‌های موقت و دائم را از آن‌ها تولید کرد. یکی از مشکلات فلزات تولید یون‌های سمی است؛ بنابراین در فرایند چاپ سه‌بعدی داربست باید از به‌کارگیری فلزاتی که در فرایند ذوب و شکل‌دهی، تولید یون‌های سمی می‌کنند، اجتناب کرد.

از جمله فلزات استفاده شده در ساخت داربست می‌توان به فولاد ضدزنگ، آلیاژهای کروم-کبالت، تیتانیوم و آلیاژهای آن اشاره کرد. برای مثال آلیاژ آهن و منگنز ماده خوبی برای ساخت داربست‌های استخوانی است که به صورت پودر آهن و منگنز در چاپگرهای سه‌بعدی استفاده می‌شود [۸].

داربست‌های پایه منیزیومی نیز ویژگی‌های بسیار خوبی از خود نشان می‌دهند که شبیه به ویژگی‌های استخوان است؛ از این رو از این داربست‌ها برای ساخت و ترمیم بافت استخوانی استفاده شده است [۸، ۹].

۲) سرامیک‌ها: سرامیک‌ها به‌دلیل زیست‌سازگاری و استحکام مکانیکی خوب برای ساخت داربست‌ها مناسب هستند. سرامیک‌های طبیعی نیز در بدن وجود داشته که مهم‌ترین آن‌ها هیدروکسی‌آپاتیت (HA) است که در ساختار دندان و استخوان‌ها یافت می‌شود. هیدروکسی‌آپاتیت می‌تواند به‌عنوان ماده‌ای برای چاپ

۴) جنس داربست: بافت‌های بدن به‌طور کلی به دو گروه بافت سخت و بافت نرم تقسیم می‌شوند. از این رو برای تولید هر یک از این بافت‌ها داربست‌هایی با خواص مناسب مکانیکی، فیزیکی، شیمیایی و زیستی مورد نیاز است. مواد مورد استفاده در تولید داربست‌ها خواص گوناگونی دارند و برای تولید خواص بینابینی نیز می‌توان از ترکیب انواع مواد استفاده کرد. در روش‌های چاپ سه‌بعدی داربست می‌توان از انواع مختلف مواد مانند فلزات، سرامیک‌ها، پلیمرها، شیشه‌ها و حتی ترکیبات آن‌ها استفاده کرد؛ از این رو روش‌های چاپ سه‌بعدی داربست برای تولید انواع بافت‌های سخت و نرم مناسب هستند.

۵) ویژگی‌های زیستی: داربست‌ها دارای خواص زیست‌تخریب‌پذیری و زیست‌سازگاری مناسب با بافت هدف هستند که این خواص متناسب با زیست‌مواد استفاده شده در ساختار و روش تولید آن‌ها است. در روش‌های تولید داربست با چاپ سه‌بعدی به‌دلیل امکان استفاده از مواد مختلف و همچنین ترکیبات این مواد با یکدیگر می‌توان به ساختار ایده‌آلی برای تولید داربست رسید که ویژگی‌های زیست‌تخریب‌پذیری و زیست‌سازگاری متناسب با بافت هدف را داشته باشد. از طرفی دقت تولید در روش‌های چاپ سه‌بعدی بسیار بالاست و تخلخل به‌صورت دقیق با پراکندگی یکسان ایجاد شده، حاشیه‌ها و سطوح دارای اعوجاج کم و مطابق با نمونه هستند. از این رو خواص سطحی داربست قابل کنترل بوده، می‌توان سطحی با زیست‌سازگاری بسیار بالا را تولید کرد. پراکندگی تخلخل در داربست‌های تولیدشده با چاپ سه‌بعدی دارای نظم بسیار بالایی است و می‌توان اندازه تخلخل و درصد تخلخل را به‌طور دقیق تعیین و حتی ترکیبی از تخلخل‌ها را در کنار هم طراحی کرد. از این رو اتصال سلول‌ها در این تخلخل‌ها بسیار بالا بوده، دارای نظم کاملی است.

۳ زیست‌مواد مورد استفاده در چاپ سه‌بعدی

برای ساخت داربست‌ها توسط چاپ سه‌بعدی از مجموعه مواد بسیار متنوعی می‌توان استفاده کرد که این مواد می‌توانند در حالت پودری، رشته‌ای (فیلامنت) یا مایع باشند که بسته به روش استفاده شده در چاپ سه‌بعدی انتخاب می‌شوند.

مواد استفاده شده برای ساخت داربست‌ها به دو دسته

خنثی تولید شوند. با استفاده از ترکیب پلیمرهای تخریبی با نرخ تخریب متفاوت می توان نرخ زیست تخریب پذیری داربست را کنترل کرد. به طور مثال زیست تخریب پذیری PGA بسیار سریع بوده، مخلوط آن با PLA نرخ این تخریب پذیری را کاهش می دهد.

کلاژن یکی از پلیمرهایی است که به صورت طبیعی در بدن وجود دارد و به صورت مصنوعی نیز تولید شده است. از کلاژن می توان در چاپ سه بعدی داربست برای تولید بافت های نرم استفاده کرد [۱۳]. از دیگر پلیمرهای طبیعی قابل استفاده برای چاپ سه بعدی می توان به نشاسته و دکستران اشاره کرد که می توانند خواص زیست سازگاری مناسب از خود نشان دهند [۱۴].

۴) مواد مرکب یا کامپوزیت ها: کامپوزیت ها شامل دو فاز ماتریس و تقویت کننده هستند و گستره وسیعی از خواص مکانیکی را دارند. کامپوزیت ها در ساخت داربست ها توسط چاپ سه بعدی نیز استفاده شده اند. یکی از کامپوزیت های استفاده شده ترکیبی از کلسیم فسفات و کلاژن نوع یک است که خواص مکانیکی بسیار خوبی از خود نشان داده، برای مهندسی بافت های استخوانی قابل استفاده است [۱۵]. از نمونه های دیگر می توان به کامپوزیت های هیدروژلی اشاره کرد که برای ساخت داربست های بافت های عصبی از آن ها استفاده شده است و خواصی مشابه با ماتریس بافت هم بند از خود نشان می دهند. یکی از ویژگی های بسیار خوب کامپوزیت های تولید شده به روش چاپ سه بعدی، همگن بودن فازها و همچنین مرزبندی دقیق در فازها و ارتباط دقیق میان فازها است؛ از این رو داربست های کامپوزیتی تولیدی دارای ویژگی های مکانیکی و فیزیکی و شیمیایی مطابق با بافت مورد نظر هستند.

۵) مواد ترکیبی: در ساخت داربست توسط چاپ سه بعدی می توان از انواع مواد استفاده کرد و محدودیتی از نظر فنی در تلفیق موادی مثل فلز-سرامیک-پلیمر و کامپوزیت وجود ندارد؛ البته به شرط آن که از لحاظ شیمیایی و فیزیکی قابلیت زیستی مورد نظر ایجاد شود. همچنین توسط روش های چاپ سه بعدی درصد دقیقی از مخلوط سازی را امکان پذیر سازند. البته چاپگرهای سه بعدی مخصوصی برای ساخت داربست های ترکیبی وجود دارند و همه چاپگرهای سه بعدی قادر به تولید مواد ترکیبی نیستند.

سه بعدی داربست استفاده شود تا خواصی مشابه با ساختارهای استخوانی ایجاد کند؛ از این رو استفاده از هیدروکسی آپاتیت برای ساخت داربست با چاپ سه بعدی بسیار گسترش یافته است [۱]. تری کلسیم فسفات (TCP) سرامیک زیست فعال دیگری است که می تواند به همراه هیدروکسی آپاتیت برای ساخت داربست توسط چاپ سه بعدی استفاده شود. سرامیک دیگر مورد استفاده کلسیم سیلیکات (CaSiO_3) است که در داربست های ترمیمی استخوان کاربرد دارد و نقش بسیار خوبی در ترمیم استخوان ها و بازسازی بافت های سخت از خود نشان داده است [۱۰]. برای دستیابی به خواص بینابینی مناسب می توان ترکیبی از سرامیک های مختلف را برای تولید داربست استفاده کرد. دقت روش های چاپ سه بعدی برای مخلوط سازی سرامیک ها بیش از ۹۸ درصد است و ساختاری بسیار همگن و پایدار ایجاد می کنند [۱۱].

۳) پلیمرها: پلیمرها یکی از مهم ترین ترکیبات مورد استفاده در ساخت داربست هستند. پلیمرها عموماً از پلیمر شدن منومرهای طبیعی و مصنوعی به وجود می آیند. خواص پلیمرها مانند زیست سازگاری، آب دوستی و آب گریزی و همچنین گستره وسیعی از خواص مکانیکی آن ها این مواد را به یکی از پرکاربردترین زیست مواد تبدیل کرده است. از پلیمرهای مهم در چاپ سه بعدی داربست می توان از پلی کاپرولاکتون (PCL)، پلی لاکتیک اسید (PLA)، پلی گلیکولیک اسید (PGA)، پلی لاکتیک گلیکولیک اسید (PLGA) و پلی هیدروکسی بوتیرات (PHB) نام برد. همچنین پلیمرهای طبیعی مانند ژلاتین، پلی ساکاریدها و کلاژن نیز در ساخت داربست های سه بعدی چاپ شده استفاده شده اند. پلیمرهای PCL، PLA و PLGA برای کاربردهای بالینی توسط سازمان غذا و دارو امریکا (FDA) تأیید شده اند و برای ساخت داربست های بافت سخت و نرم بسیار مناسب هستند. این پلیمرها سمیت کمی ایجاد می کنند و زیست تخریب پذیری و زیست سازگاری مناسبی دارند. در مقابل گزارش هایی از ایجاد پاسخ التهابی در بدن پس از پیوند داربست هایی از جنس این پلیمرها وجود دارد. پاسخ های التهابی از طریق سنجش فاکتورهای نکروز توموری آلفا ($\text{TNF}\alpha$)، اینتر لوکین های ۶، ۱۰، ۱۲، ۲۳ و فاکتور رشد توموری بتا ($\text{TGF}\beta$) اندازه گیری شده اند [۱۲].

پلیمرها می توانند به صورت زیست تخریب پذیر یا زیست

ویژگی‌ها توسط بررسی‌های میکروسکوپی روی داربست و عموماً پس از کاشت سلول‌ها روی داربست مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. از بررسی‌های میکروسکوپی می‌توان به مشاهده سلول‌ها توسط میکروسکوپ نوری یا فلورسنت و همچنین مشاهده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و عبوری (TEM) برای بررسی اتصال سلول‌ها به داربست و عملکرد آن‌ها اشاره کرد.

۵ روش‌های تصویرسازی رایانه‌ای (CAD)

در این روش از تصاویر دوبعدی بافت یا اندام استفاده شده، با تلفیق این تصاویر، تصویری سه‌بعدی توسط رایانه خلق می‌شود که از آن می‌توان برای ساخت داربست توسط چاپگر استفاده کرد. سه روش رایج برای دریافت تصاویر دوبعدی استفاده از اسکنرهای لیزری، ام آر آی (MRI) و سی‌تی اسکن (CT-Scan) هستند [۱۹، ۲۰]. (۱) اسکنرهای لیزری: اسکن لیزری سه‌بعدی در حقیقت فنی است که مختصات نقاط را به‌طور مستقیم و به‌همراه زوایا و افسست‌ها برداشت می‌کند. لیزر در سامانه‌های قدیمی تنها مختصات نقاط را اندازه‌گیری می‌کرد؛ اما اخیراً اطلاعات دیگری نیز با پرتو لیزر استخراج می‌شود. در اسکن لیزری دستگاه روی سه‌پایه‌ای سوار می‌شود و می‌تواند دور تا دور خود را به‌صورت استوانه‌ای برداشت کند. پس از برخورد پرتو لیزر به منطقه مورد نظر، ضریب انعکاس جسم تعیین می‌کند که چه مقدار از علامت (سیگنال) منتشر شده به لیزر برمی‌گردد. مقدار این انعکاس به طول موج لیزر بستگی دارد و خصوصاً برای سطوح سیاه و سفید متفاوت است. کاربردها و استفاده‌های مختلفی از آن‌ها بر اساس این اندازه‌گیری‌ها امکان‌پذیر است؛ البته تهیه مدل از سطوح براساس اندازه‌گیری آخرین پالس است. انعکاس به جنس مواد سطح بستگی دارد. سطوح طبیعی مثل بافت بدن جانوران و گیاهان مقادیر انعکاس بیشتری نسبت به مواد ساخت بشر مانند آسفالت و بتون دارند. بنابراین به‌طور کلی تشخیص بدن از محیط اطراف توسط اسکن لیزری امکان‌پذیر است و به کمک روش‌های جداسازی می‌توان نقاط مورد نظر را در موارد خاص استخراج و تعداد نقاط جمع‌آوری شده را برای هر کاربرد تعیین کرد. سرعت برداشت لیزر اسکن به حدود ۲۸۰۰۰ نقطه در ثانیه می‌رسد و طی ۴ دقیقه، ۳۶۰ درجه (یک دور کامل)

۴ ویژگی زیست‌مواد مورد استفاده در چاپ سه‌بعدی

ویژگی‌های اساسی زیست‌مواد برای ساخت داربست به دو دسته ویژگی‌های عام و ویژگی‌های خاص تقسیم می‌شوند [۱۶، ۱].

۴-۱ ویژگی‌های عام داربست‌ها

به‌طور کلی مواد مورد استفاده در ساخت داربست‌ها در چاپ سه‌بعدی باید ویژگی‌های زیر را داشته باشد.

- عدم ایجاد سمیت برای سلول
- عدم جهش زایی برای سلول
- عدم سرطان‌زایی برای سلول
- عدم ایجاد پاسخ ایمنی اولیه و ثانویه

۴-۲ ویژگی‌های خاص داربست‌ها

ویژگی‌های خاص داربست‌ها به دو دسته تقسیم می‌شوند: ۱. ویژگی‌های درشت‌مقیاس یا ماکروسکوپی مانند خواص فیزیکی - شیمیایی و مکانیکی، ۲. ویژگی‌های کوچک‌مقیاس یا میکروسکوپی مانند اندازه تخلخل، ارتباط داخلی تخلخل‌ها، درصد تخلخل داربست و برهم‌کنش سلول‌ها و داربست [۱۷].

(۱) ویژگی‌های درشت‌مقیاس یا ماکروسکوپی: این ویژگی‌ها به دو دسته خواص مکانیکی و خواص فیزیکی - شیمیایی تقسیم شده، توسط بررسی‌های کمی و کیفی روی داربست اندازه‌گیری می‌شوند. خواص و ویژگی‌های مکانیکی مورد نظر در داربست بسته به بافت هدف متفاوت است و باید این خواص مکانیکی تا حد ممکن نزدیک به خواص مکانیکی بافت باشند. از خواص مکانیکی متداول می‌توان نقطه تسلیم، مدول یانگ، مقاومت به سایش، مقاومت به فرسایش، استحکام شکست، سختی، چقرمگی و کشسانی را نام برد. این ویژگی‌ها پس از تولید داربست نهایی توسط چاپ سه‌بعدی اندازه‌گیری شده، با بافت هدف مقایسه می‌شوند [۱۸].

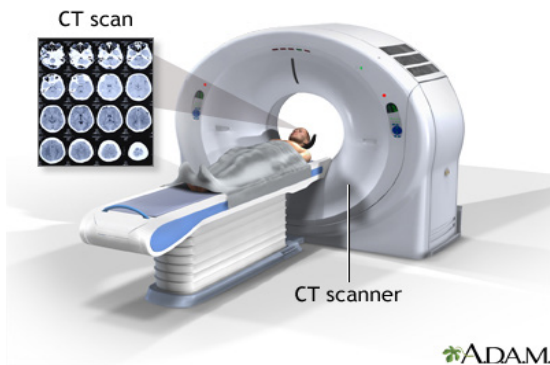
ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی مورد نظر شامل میزان آب‌دوستی و آب‌گریزی، برهم‌کنش‌های سطحی، میزان چسبندگی سلولی و برهم‌کنش‌های پروتئینی با سطح است که مجدداً پس از تولید داربست، مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. (۲) ویژگی‌های کوچک‌مقیاس یا میکروسکوپی: این

در زمان بررسی کم‌تر است. با تجویز سریع تباین (کنتراست) و ریدی در طی سی‌تی‌اسکن این جزئیات دقیق تصویری را می‌توان بازسازی سه‌بعدی کرد. با ادامه پیشرفت‌ها و بهبود مداوم در فناوری سی‌تی‌اسکن، از جمله سریع‌تر شدن زمان تصویربرداری و بهبود تفکیک‌پذیری یا وضوح تصاویر، دقت و کارایی این روش به‌طور چشمگیری افزایش یافته، در نتیجه از سی‌تی‌اسکن به میزان بیشتری در بازسازی مدل‌های سه‌بعدی پزشکی استفاده می‌شود.

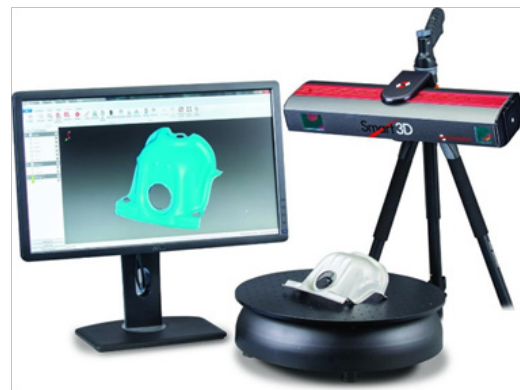
۳) ام‌آر‌آی (MRI): در واقع ام‌آر‌آی روشی است که در آن از خاصیت مغناطیسی بافت‌ها استفاده شده، تصویر تولید می‌شود. اصول پایه ام‌آر‌آی بر این اساس است که هسته‌های بعضی از عناصر در بدن (مثل هیدروژن مولکول آب)، وقتی در میدان مغناطیسی قوی قرار می‌گیرند، با نیروی مغناطیسی در یک راستا قرار گرفته و با میدان مغناطیسی دستگاه همسو می‌شوند. تصویر تولیدشده در ام‌آر‌آی مبتنی بر حرکت اسپینی هسته‌های اتم هیدروژن موجود در بافت‌های مختلف بدن است. این حرکت، از اسپین‌های پروتون‌ها و نوترون‌های درون هسته ناشی می‌شود. با توجه با این‌که در اتم هیدروژن فقط یک پروتون وجود دارد، خود هسته یک اسپین خالص یا گشتاور زاویه‌ای دارد و از آن جایی که تعداد هسته‌های هیدروژن در بافت‌های مختلف بدن متفاوت است، با تبدیل فوریه و محاسبات پیچیده رایانه‌ای تصویر نهایی در ام‌آر‌آی به دست می‌آید. با ام‌آر‌آی می‌توان در جهات فوقانی-تحتانی (اگزیمال)،

را برداشت می‌کند. دقت دستگاه‌ها براساس فاصله نقاط برداشت‌شده سنجیده می‌شود که معمولاً از چند میکرومتر الی چند میلی‌متر متغیر است و قیمت آن‌ها بستگی به قدرت تفکیک و دقت آن‌ها دارد. نمونه‌ای از اسکنر لیزری سه‌بعدی در شکل ۱ نشان داده شده است. ۲) سی‌تی‌اسکن: در سی‌تی‌اسکن یا توموگرافی رایانه‌ای با استفاده از اشعه ایکس و محاسبات رایانه‌ای تصویری از اعضا و بافت‌های بدن ایجاد می‌شود. در سی‌تی‌اسکن، لوله تولیدکننده اشعه ایکس (تیوب)، در مقابل آشکارساز (دکتور) این اشعه قرار داده شده، با کمک حلقه‌ای که به صورت دستگاه و به شکل چرخشی در اطراف بیمار حرکت می‌کند، تصویر رایانه‌ای مقطعی به صورت برش یا مقطع عرضی تولید می‌کند. تصویر به دست آمده در سطح اگزیمال (محوری) و تصویرهای مقطع کروئال (تاجی) و ساژیتال (سهمی) را می‌توان به وسیله بازسازی‌های رایانه‌ای به صورت مدل سه‌بعدی ارائه کرد. در برخی موارد عوامل رادیو کنتراست برای توصیف بهتر آناتومی مورد استفاده واقع می‌شوند. یک دستگاه سی‌تی‌اسکن در شکل ۲ نشان داده شده است.

در سی‌تی‌نوع اسپیرال با آشکارسازهای زیاد (مولتی دکتور) از چند ردیاب یا آشکارساز بهره‌گیری می‌شود. در این نوع سی‌تی‌اسکن ۸، ۱۶، ۶۴ یا ۲۵۶ ردیاب یا آشکارساز در طول حرکتی پیوسته و مستمر از طریق تابش پرتو تصویراز بیمار تصویربرداری می‌کنند که حاصل آن تصاویری عالی و با جزئیات بسیار ظریف



شکل ۲ دستگاه سی‌تی‌اسکن



شکل ۱ اسکنر لیزری سه‌بعدی

از موادی که به شکل رشته‌ای در می‌آیند استفاده کرد. رشته‌ها توسط چرخنده به المنت و افشانک (Nozzle) دستگاه فرستاده می‌شوند و با اعمال حرارت به فاز مایع درآمده، به صورت لایه‌لایه روی هم قرار می‌گیرند. از مواد استفاده شده در این روش می‌توان به پلیمرهای PLA، PCL، PLGA و ABS اشاره کرد. ایاف استفاده شده دارای دو استاندارد ۱/۷۵ و ۳ میلی‌متری هستند و بیش از ۵۰ نوع آن‌ها به صورت تجاری وجود دارد [۲۲]. در روش FDM ابتدا فایل سه‌بعدی جسم مورد نظر از طریق رایانه و نرم‌افزارهای سه‌بعدی طراحی شده و با شکل قابل‌شناسایی برای چاپگرهای سه‌بعدی ذخیره می‌شود. در حال حاضر مناسب‌ترین شکل، ((Stereolithography (STL)) است. با نرم‌افزارهای مخصوص چاپگر سه‌بعدی فایل STL به فرمت G-Code تبدیل شده، به دستگاه چاپگر سه‌بعدی ارسال می‌شود. سپس دستگاه چاپگر سه‌بعدی شروع به ساخت جسم سه‌بعدی به صورت لایه‌به‌لایه می‌کند. برای ساخت لایه‌ها، مواد اولیه (الیاف) از طریق استپر موتور به افشانک اکستروژن هدایت شده، این افشانک با ذوب کردن مواد اولیه، آن‌ها را روی صفحه دستگاه (پلتفرم)، اکستروژن می‌کند. افشانک و پایه هم‌زمان با هم در تماسند؛ به طوری که ابعاد شیء در مختصات X،Y،Z توسط پایه و افشانک در هنگام چاپ کنترل می‌شود. در این روش، افشانک اکستروژن حرکتی افقی و عمودی را برای رسم مقطع نمونه مورد نظر روی صفحه (Platform)

چپ-راستی (ساژیتال) و پس-پیش (کورونال) و حتی در جهات اُریب و مایل تصویربرداری و تصاویر حاصل را بازسازی سه‌بعدی کرد تا مدل سه‌بعدی حاصل شود. یک دستگاه ام‌آر‌آی در شکل ۳ نشان داده شده است.

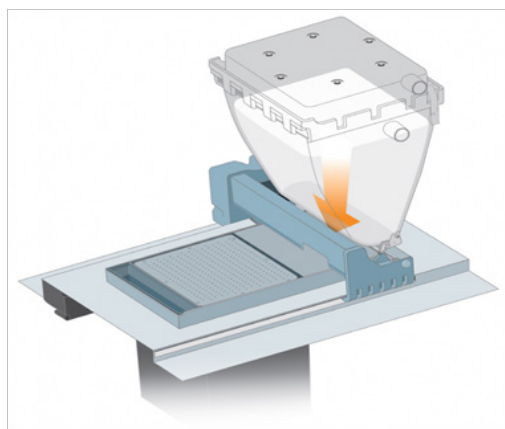
۶ روش‌های چاپ سه‌بعدی داربست

۱-۶ چاپگر سامانه سه‌بعدی

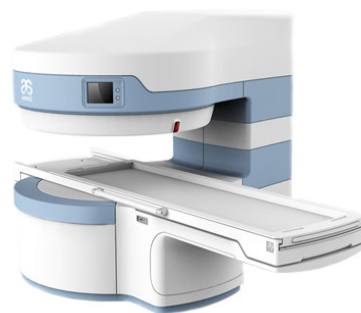
اولین دستگاه چاپ سه‌بعدی در سال ۱۹۹۰ توسط دانشگاه MIT ساخته شد. این سامانه بر اساس چاپگرهای جوهری معمولی پایه‌گذاری شد که از دو جزء پودری و مایع چسبان در آن استفاده می‌شد. در این روش برای چاپ داربست ابتدا لایه‌ای از پودر روی صفحه قرار می‌گرفت و نازل دستگاه در محل‌های تعیین شده، محلول چسبنده را اسپری می‌کرد. سپس لایه دیگری از پودر قرار گرفته و مرحله فوق تکرار می‌شد که در انتها پودرهای اضافه از محفظه خارج می‌شدند. مشکل این روش نیاز آن به استفاده از تف‌جوشی برای افزایش خواص مکانیکی و استحکام آن است. این دسته از چاپگرها هم‌اکنون توسعه یافته، آخرین نمونه تجاری این نوع چاپگرهای سه‌بعدی، ساخت شرکت Z-Corp است. چاپگر سامانه سه‌بعدی در شکل ۴ نشان داده شده است [۲۱].

۶-۲ چاپگر مدل‌سازی رسوب ذوب شده (Fused Deposition Modeling (FDM))

در روش مدل‌سازی رسوب ذوب شده (FDM) می‌توان



شکل ۴ چاپگر سامانه سه‌بعدی

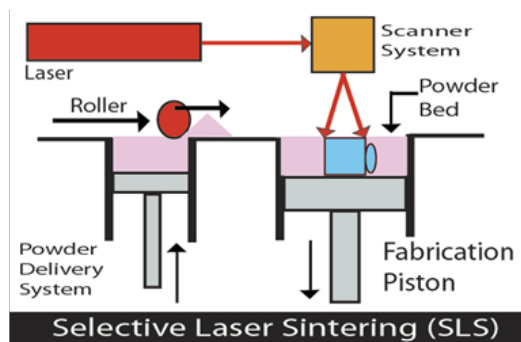


شکل ۳ دستگاه ام‌آر‌آی

روندچاپ سه بعدی توسط SLS را نشان می دهد.

۶-۴ چاپگر استریو لیتوگرافی ((Stereolithography (SLA))

در روش SLA برخلاف فناوری های دیگر، از مایع رزین و تابیدن اشعه روی این مایع و در نهایت جامد شدن آن و ساختن نمونه استفاده می شود. چاپگر استریولیتوگرافی (SLA) دارای چهار بخش اصلی است: (۱) مخزنی که با پلاستیک مایع (پلیمر) پوشانده می شود. (۲) صفحه سوراخ داری که حجم مخزن را کاهش می دهد. (۳) منبع اشعه فرابنفش (UV) (۴) موتور و محوری که صفحه و جهت تابش اشعه UV را کنترل می کند [۲۵]. نمونه سازی در این روش بدین شرح است که ابتدا لایه ای نازک از مایع رزین در حدود (۰/۱۵ - ۰/۰۵ mm) روی صفحه سوراخ دار گذاشته می شود. سپس با تاباندن اشعه UV به سطح صفحه، اولین لایه ساخته می شود و پس از آن که مخزن صفحه پایین رفت و لایه اول به فرم جامد و سخت تبدیل شد، سطح جدیدی از لایه ای نازک از مایع رزین به صفحه اضافه شده، دوباره با تاباندن اشعه UV لایه بعدی به لایه قبل می چسبد و شروع به سفت و سخت شدن می کند. این روند برای تمامی لایه های جسم مورد نظر تکرار می شود تا ساختارداربست کامل شود. سپس داربست از صفحه جدا شده، رزین های اضافی به مخزن باز می گردد. در این روش مواد استفاده شده نسبت به روش های دیگر محدودتر هستند؛ چراکه این مواد باید در فاز مایع موجود باشند و خاصیت فعالیت نوری داشته باشند.



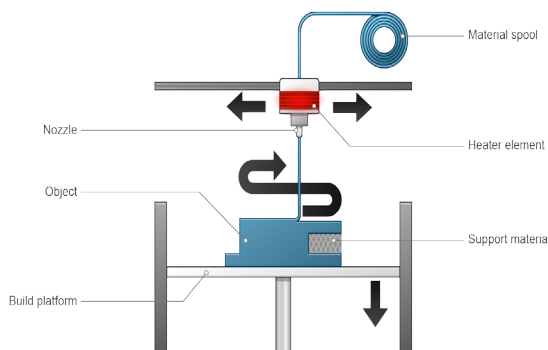
شکل ۶ چاپگر SLS

طی می کند. این لایه نازک که از مواد مذاب تشکیل شده، بلافاصله به لایه زیر چسبیده و هنگامی که لایه کامل می شود با دقتی معادل صد میکرون افشانک به بالا حرکت می کند تا برای ساخت لایه بعدی آماده شود. زمان چاپ و تولید نمونه بستگی به ابعاد نمونه ای دارد که در حال تولید است (شکل ۵). اشیا کوچک تر و اجسام با طول بیشتر ولی ضخامت کم به سرعت چاپ می شوند ولی اشیائی که دارای پیچیدگی های هندسی و ابعادی بزرگ تر هستند سرعت دستگاه را نسبت به حجم کار کاهش می دهند [۲۳].

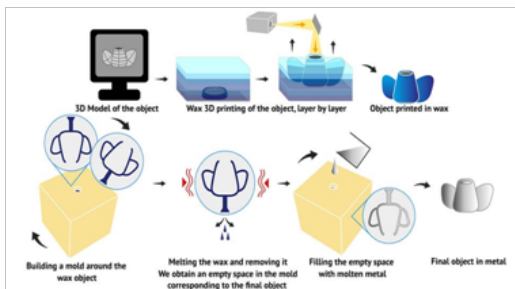
۶-۳ چاپگر پخت لیزر انتخابی ((Selective Laser Sintering (SLS))

((Selective Laser Sintering (SLS))

نحوه کار فناوری SLS به این صورت است که این چاپگر سه بعدی از نوعی منبع لیزر قوی مانند لیزر دی اکسید کربن (CO_2) استفاده کرده، مخلوطی از پودر مواد اولیه مانند پلیمر، فلز، سرامیک یا پودر شیشه را به توده ای جامد و سه بعدی تبدیل می کند. این لیزر به طور انتخابی، مواد پودر مانند را با استفاده از مدل سه بعدی نمونه روی سطح صفحه دستگاه تولید می کند. روش لایه سازی در این فناوری به این صورت است که ابتدا لایه ای از مواد اولیه روی صفحه اصلی (پلتفرم) قرار می گیرد و پس از جامد شدن و لایه سازی توسط لیزر، لایه بعدی مواد اولیه روی لایه قبل اجرا می شود و این روند تا کامل شدن نمونه مورد نظر ادامه پیدا می کند [۲۴]. مواد مورد استفاده در این روش پلیمرها، زیست سرامیک ها، فلزات و شیشه است. شکل ۶



شکل ۵ چاپگر FDM



شکل ۸ چاپگر WAX

از انواع پلیمرها به عنوان ماده اصلی و از موم یا پارافین به عنوان ماده حمایت کننده استفاده کرد. این روش یکی از گران ترین روش های تولید داربست است [۲۸].

۶-۷ چاپگر زیستی (Bioprinter)

چاپگرهای زیستی برای ساخت بافت های زنده طراحی و تولید شده اند که دارای سه قسمت اصلی هستند: (۱) افشانک (۲) پمپ (۳) مخزن های جوهر زیستی در مخازن جوهر می توان موادی برای تولید داربست و همچنین فاکتورهای رشد و تمایز سلولی و حتی خود سلول ها را قرار داد. معمولاً در این روش، ماده ساخت داربست در فاز نیمه ژل قرار دارد که از پیش با فاکتورهای رشد و سلول ها مخلوط شده است. سپس طی فرایند چاپ در محیط کشت سلولی این ماده نیمه ژل به شکل ژل درمی آید و سخت می شود. در این روش کل مجموعه باید در محفظه ای سترون قرار گیرد [۲۹].

دستگاه زیست چاپگر شرکت NovoGen مدل MMX یکی از آخرین فناوری های چاپ زیستی است که توانسته تلفیقی از داربست و سلول را به طور هم زمان تولید کند؛ به طوری که در این سامانه در یکی از مخازن، ژل مخصوص تولید داربست قرار گرفته و در مخزن دیگر سلول قرار دارد و از این طریق می توان به طور هم زمان داربست را تولید و در منافذ داربست، سلول ها را قرار داد. روش چاپ زیستی پایه گذار چاپ مستقیم بافت زنده است. امروزه چاپ مستقیم بافت، دارای مزایای بسیاری از جمله ساخت اندام و بافت در یک مرحله و با سرعت عالی بدون نیاز به کشت سلولی است و دستگاه های زیادی در این زمینه تولید شده اند. شکل ۹

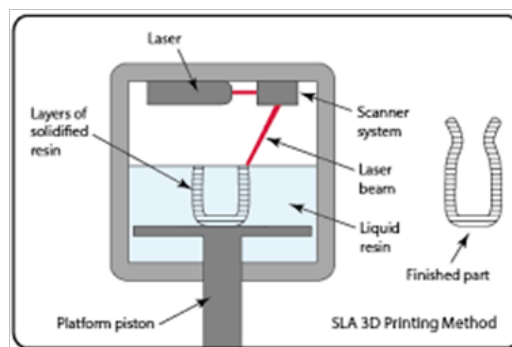
در شکل ۷ مراحل چاپ SLA نشان داده شده است [۲۶].

۶-۵ چاپگر پردازش نوری دیجیتال (Digital Light Processing (DLP))

به طور کلی فناوری DLP بر اساس روش SLA ساخته شده است ولی با این تفاوت که منبع نور اشعه UV به تمام سطح مخزن و به رزین های پلیمری به طور هم زمان اعمال می شود. به طور کلی ساخت قطعات در آن نسبت به فناوری SLA بسیار سریع تر و دقیق تر بوده، قطعات تولیدی توسط آن از وضوح بالاتری برخوردارند. یکی از مزایای روش DLP این است که عمق کمی از مخزن با مایع رزین پر می شود که این خود باعث تسهیل در روند تولید و به طور کلی پایین آمدن هزینه و کاهش ضایعات تولید می شود [۲۷].

۶-۶ چاپگر ریخته گری موم (WAX)

در این روش دو ماده به نام ماده اصلی (Build) و حمایت کننده (Support) وجود دارند که به صورت غیرمستقیم برای تولید داربست استفاده می شوند. دستگاه توسط افشانک و با ماده حمایت کننده، قالبی منفی از داربست را چاپ می کند سپس افشانک دیگر ماده اصلی را درون آن قرار می دهد و این فرایند، لایه به لایه ادامه می یابد. در انتها قطعه تولید شده در حلال مخصوص قرار می گیرد تا ماده حمایت کننده حل شود و داربست نهایی حاصل شود (شکل ۸). این روش برای تولید داربست هایی با حاشیه دقیق مناسب بوده، داربست حاصل کم ترین اعوجاج سطحی و جانبی را دارد. در این فناوری می توان

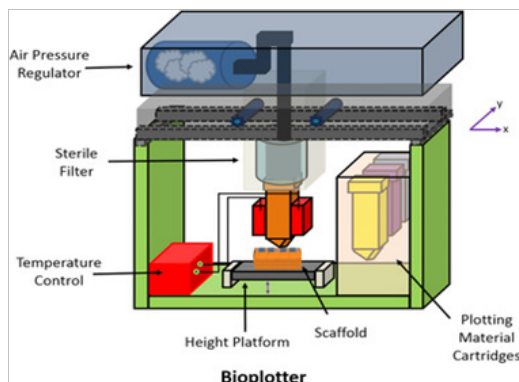


شکل ۷ چاپگر SLA

روش های متعددی برای ساخت داربست و بافت توسط رایانه وجود دارند که هر کدام معایب و مزایای خاص خود را دارند. لذا با توجه به نوع بافت مورد نظر باید یکی از این روش ها انتخاب شود و در هر روش با تغییر متغیرهای مخصوص دستگاه مانند سرعت چاپ، سرعت حرکت افشانه ها، نرخ رهاش ماده و غیره تنظیم شوند تا داربستی با خواص مکانیکی و فیزیکی - شیمیایی مناسب با بیشترین هماهنگی با بافت مورد نظر تولید شود.

برای چاپ سه بعدی داربست های مهندسی بافت، مدل سه بعدی نمونه بافت نیاز است. مدل سه بعدی توسط نرم افزارهای مخصوص سه بعدی ساز با پردازش تصاویر دوبعدی حاصل از اسکنرهای لیزری، سی تی اسکن و ام آر آی به دست می آید.

برای داربست های مهندسی بافت، فناوری های مختلفی از چاپ سه بعدی وجود دارند که روش مدل سازی رسوب ذوب شده (FDM) ارزان ترین روش در این زمینه است که دقت و سرعت بسیار خوبی داشته و می توان در آن از مواد اولیه مختلفی برای تولید داربست استفاده کرد. زیست چاپگرها برترین فناوری ساخت بافت و اندام هستند که می توانند به طور هم زمان داربست و سلول ها را به منظور تولید بافت زنده چاپ کنند. هزینه بالای این فناوری مانع بزرگی برای استفاده محققان از آن است.



شکل ۹ چاپگر زیستی

چاپگر زیستی (زیست چاپگر) را نشان می دهد [۳۰].

۷ نتیجه گیری

امروزه فناوری چاپ سه بعدی این امکان را فراهم کرده که در کوتاه ترین زمان و با کم ترین هزینه داربست های مهندسی بافت تولید شوند. پیچیدگی های داربست های مورد نیاز برای هر بافت از بدن باعث شده تا روش های سنتی تولید داربست های مهندسی بافت جای خود را به روش های جدید چاپ سه بعدی دهند.

مراجع

1. Cox S.C., Thornby J. A., Gibbons G. J., Williams M. A. and Mallick K.K., 3D Printing Of Porous Hydroxyapatite Scaffolds Intended For Use in Bone Tissue Engineering Applications, *Materials Science And Engineering: C*, 47, 237-247, **2015**.
2. Mironov V., Boland T., Trusk T., Forgacs G. and Markwald R.R., Organ Printing: Computer-Aided Jet-Based 3D Tissue Engineering, *Trends In Biotechnology*, 21, 157-161, **2003**.
3. Dhandayuthapani B., Yoshida Y., Maekawa T., and Kumar D.S., Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review, *International Journal of Polymer Science*, 14, 1-19, **2011**.
4. Moroni L., Burdick J.A., Highley C., Lee S.J., Morimoto Y., Takeuchi S. and J.J Yoo, Biofabrication Strategies For 3D In Vitro Models and Regenerative Medicine, *Nature Reviews Materials*, 3, 21, **2018**.
5. Asghari F., Samiei M., Adibkia K., Akbarzadeh A. and Davaran S., Biodegradable and Biocompatible Polymers for Tissue Engineering Application: A Review, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2017, 45, 185-192, **2017**.
6. Armentano I., Dottori M., Fortunati E., Mattioli S. And Kenny J.M., Biodegradable Polymer Matrix Nanocomposites for Tissue Engineering: A Review, *Polymer Degradation and Stability*, 95, 2126-2146, **2010**.
7. Shin, H., S. Jo, And A.G. Mikos, Biomimetic Materials for Tissue Engineering, *Biomaterials*, 24, 4353-4364, **2003**.
8. Hong D., et al., Binder-Jetting 3D Printing and Alloy Development of New Biodegradable Fe-Mn-Ca/Mg Alloys, *Acta Biomaterialia*, 45, 375-386, **2016**.
9. Yazdimamaghani M., Razavi M., Vashae D. And Tayebi L., Surface Modification of Biodegradable Porous Mg Bone Scaffold Using Polycaprolactone/Bioactive Glass Composite, *Materials Science and Engineering: C*, 49, 436-444, **2015**.
10. Wu C., Fan W., Zhou Y., Luo Y., Gelinsky M., Chang J. and Xiao Y., 3D-Printing of Highly Uniform Calcium Phosphate Ceramic Scaffolds: Preparation, Characterization and In Vivo Osteogenesis, *Journal of Materials Chemistry*, 22, 12288-12295, **2012**.
11. Chen Q., A Study On Biosafety of HAP Ceramic Prepared-By SLA-3D Printing Technology Directly, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 98, 327-335, **2019**.
12. Santoro M., Shah S.R., Walker J.L., Mikos A.G., Poly(Lactic Acid) Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 206-212, **2016**.
13. Nocera A.D., Comín R., Salvatierra N.A., Cid M.P., Development of 3D Printed Fibrillar Collagen Scaffold for Tissue Engineering, *Biomedical Microdevices*, 20, 26-32, **2018**.
14. Zheng L., Yu Y., Tong Z., Qianhui Zou Q., Han S., Jiang H., The Characteristics of Starch Gels Molded by 3D Printing, *Journal of Food Processing And Preservation*, E13993, **2019**.
15. Inzana J.A., Olvera D., Fuller S.M., Kelly J.P., Graeve O.A., Schwarz E.M., Kates S.L., Awad H.A., 3D Printing of Composite Calcium Phosphate and Collagen Scaffolds for Bone Regeneration. *Biomaterials*, 35, 4026-4034, **2014**.
16. Carletti E., A. Motta, and C. Migliaresi, Scaffolds for Tissue Engineering and 3D Cell Culture, Springer, USA, **2011**.
17. Zhang L., Yang G., Johnson B.N., Jia X., Three-Dimensional (3D) Printed Scaffold and Material Selection for Bone Repair, *Acta Biomaterialia*, 84, 16-33, **2019**.
18. Souness A., Influence of Scaffold Design On 3D Printed Cell Constructs, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 106, 533-545, **2018**.
19. Liu Y.J., Zhang D.L. and Yuen M. M. F., A Survey on CAD Methods in 3D Garment Design, *Computers in Industry*, 61, 576-593, **2010**.
20. Parthasarathy J., 3D Modeling, Custom Implants and its Future Perspectives in Craniofacial Surgery, *Annals of Maxillofacial Surgery*, 4, 9-18, **2014**.
21. Lu T., Li Y. And Chen T., Techniques for Fabrication and Construction of Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering, *International Journal of Nanomedicine*, 8, 337-350, **2013**.
22. Bose S., Vahabzadeh S. and Bandyopadhyay A., Bone Tissue Engineering Using 3D Printing, *Materials Today*, 12, 496-504, **2013**.
23. Williams J.M., Adewunmi A., Schek R.M., Flanagan C.L., Krebsbach P.H., Feinberg S.E., Hollister S.J., Das S., Bone Tissue Engineering Using Polycaprolactone Scaffolds Fabricated Via Selective Laser Sintering, *Biomaterials*, 26, 4817-4827, **2005**.
24. Do, A. V., 3D Printing Technologies for 3D Scaffold Engineering, Woodhead Publishing, USA, **2018**.
25. Melchels F.P.W., Feijen J. and D.W. Grijpma, A Review on Stereolithography and its Applications in Biomedical Engineering, *Biomaterials*, 31, 6121-6130, **2010**.
26. Mu Q., Digital Light Processing 3D Printing of Conductive Complex Structures, *Additive Manufacturing*, 18, 74-83, **2017**.
27. Lam C.X.F., Scaffold Development Using 3D Printing With a Starch-Based Polymer, *Materials Science and Engineering: C*, 20, 49-56, **2002**.

28. Aljohani W., Ullah MW., Zhang X., Yang G., Bioprinting and Its Applications in Tissue Engineering and Regenerative Medicine, *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 261-275, **2018**.
29. Singh D., Singh D., Han S.S., 3D Printing of Scaffold for Cells Delivery, *Advances in Skin Tissue Engineering*, 8, 1-19, **2016**.
30. Murphy S.V. and Atala A., 3d Bioprinting of Tissues and Organs, *Nature Biotechnology*, 32, 773-785, **2014**.