

Review Paper

A Review of 3D Bioprinting Technologies in the Reconstruction of Human Nasal Cartilaginous Tissue



Hosein Rostamani<sup>1</sup> , \*Omid Fakhraei<sup>1</sup> , Fatemeh Toosizadeh Khorasani<sup>1</sup> , Narges Kelidari<sup>1</sup>

1. Department of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.



**Citation** Rostamani H, Fakhraei O, Toosizadeh Khorasani F, Kelidari N, Fakhraei O. [A Review of 3D Bioprinting Technologies in the Reconstruction of Human Nasal Cartilaginous Tissue (Persian)]. *Journal of Guilan University of Medical Sciences*. 2024; 33(2):134-159. <https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.2.2574.1>



<https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.2.2574.1>

Received: 22 Dec 2022

Accepted: 30 Oct 2023

Available Online: 01 Jul 2024

**ABSTRACT**

**Background** Frequent nose defects due to inborn causes or accidents have increased the demand for rhinoplasty. In addition to a functional defect, nose defects are also known as aesthetic defects because the shape of the nose is one of the most prominent features that define the human face. Hence, common reconstruction methods could not meet the requirements caused by limitations.

**Objective** This study investigates the ability of different three-dimensional bioprinting methods to repair defects in the nose area.

**Methods** In this review study, articles available in ScienceDirect, Springer, Wiley, Cambridge, De Gruyter, and Google Scholar databases were used. The search was done using the following keywords: Tissue engineering, nasal cartilage, 3D bioprinting, and bioink materials. The search was done with a time limit of the last 4 years. Out of 300 eligible articles, 159 articles were finally reviewed.

**Results** Bioprinting has special potential for repairing nasal cartilaginous tissue. Hydrogels have become an excellent option for mimicking the microenvironment of the host tissue due to their porosity and ability to load different materials, as well as their ability to absorb water and encapsulate cells. On the other hand, the two main cell sources for tissue engineering of nasal cartilage are autologous chondrocytes and mesenchymal stem cells.

**Conclusion** Bioprinting technology can bio-mimic the cartilage host tissue to an acceptable degree morphologically, biochemically, and mechanically to be implanted surgically. Although the use of bioprinting at the clinical level still faces limitations, the prospect of this technology is promising since it can fix nasal defects with low cost, unique accuracy, and personalization.

**Keywords:**

Bioprinting, Nose, Tissue engineering, Cartilage tissue, Bio-compatible material

**\* Corresponding Author:**

Omid Fakhraei

Address: Department of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

Tel: +98 (936) 1351735

E-Mail: [omid.fakhraei@mshdiau.ac.ir](mailto:omid.fakhraei@mshdiau.ac.ir)



Copyright © 2024 The Author(s); This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC-BY-NC; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode.en>), which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

## Extended Abstract

### Introduction

Nasal cartilage is a specific connective tissue of hyaline type, without nerves, vessels and lymph, and has a very low number of cells. This tissue consists of approximately 1% chondrocytes and 99% extracellular matrix (ECM), and its chondrocytes originate from mesenchymal stem cells [1]. Cartilage ECM is mainly composed of water, macromolecules and proteoglycans, and is the product and the host of chondrocytes at the same time [3]. These features cause special mechanical properties and low self-healing capacity. Currently, the common and gold standard treatment is reconstruction using local flap or autologous cartilage transplantation (ACI) [1, 4]. The ACI surgery for major nasal reconstruction is a complex, time-consuming and skill-based procedure that involves harvesting rib cartilage, cutting and manually suturing them into the nose-shaped framework. The duration of the surgery can be more than 8 hours, during which the patient is under general anesthesia [4]. Due to the lack of septal cartilage, a modified autologous costal cartilage is usually used for grafting [2]. The purpose of cartilage tissue repair is to restore the key properties of native hyaline cartilage from the histological and biomechanical point of view.

In recent years, medical engineering applications for nasal cartilage have been rapidly developed [6, 7]. Bioprinting is an interdisciplinary science between medical sciences, biology, mechanical engineering and material science, and it is also known as a new approach in tissue engineering [12, 13]. As one of the branches of 3D printing, bioprinting technology is based on the precise placement of living cells and biomaterials to create replacement tissues based on the specific geometric and functional requirements of each tissue, with similar functions and properties. Bioprinting, in addition to avoiding complications of the donor area and personalization, has created unique opportunities for cartilage repair and reconstruction [4, 14]. This technology enables the printing of constructs with small and fine details up to dimensions with several hundreds of nanometers [15]. Today, it is also possible to simultaneously deposit two or more biological substances and produce complex and personalized constructs based on the patient's medical images [21].

Bioprinting has been able to overcome many limitations of tissue engineering, such as accurate cell distribution and tissue biological function; however, there are challenges in nasal cartilage reconstruction with bioprinting.

One of the most important challenges is the unavailability of appropriate bioinks [18, 22]. This study aimed to investigate the ability of different three-dimensional bioprinting methods to repair defects in the nose area. In this regard, the studies with on nasal cartilage bioprinting, related technologies and its process were reviewed.

### Methods

This is a review study. The search for related articles was done in ScienceDirect, Springer, Wiley, Cambridge, DeGruyter and Google Scholar databases using the keywords tissue engineering, nasal cartilage, 3D bioprinting, and bioink materials and with a time limit of 4 years. Out of 300 articles, 159 were finally included for the review.

### Results

The review of studied showed that, in order to obtain the desired results in vitro or in vivo, choosing the appropriate bioprinting approach and biological ink has a major role. The most important studies with in-vitro tests are listed in Table 1. Table 2 shows the studies with in-vivo tests. The presented findings related to 3D bioprinting technologies included the processing method, extrusion method, ink-jet method, laser method, application in the field of nasal cartilage, characteristics of nasal cartilage, nasal cartilage implantation, 3D modeling, bio ink, bio materials, cell sources, bioactives, in-vitro evaluations, and in-vivo evaluations.

### Conclusion

Until recently, cartilage tissue regeneration methods were limited to the use of autologous or allogeneic cartilages or the use of alloplastic grafts, each of which had inevitable disadvantages. For this reason, bioprinting is used to solve these problems in regenerative medicine. According to the specific requirements of the bioinks of the target tissues, researchers have used different technologies for tissue and organ printing, each of which has advantages and limitations. Based on the in-vivo and in-vitro studies that have been carried out on the printed nasal cartilage tissues, bioprinting technology has been able to imitate the cartilage host tissue to a very acceptable extent in terms of morphological, biochemical and mechanical aspects. Although the use of this technology at the clinical level still faces limitations, the prospect of this technology is promising since it can address nasal defects with low cost, unique accuracy and personalization.

**Table 1.** The in-vitro studies reviewed in this article

| Author, Year                   | Journal                                                               | Country     | Type of Study    |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------|------------------|
| Visscher et al. 2020 [83]      | Acta Biomaterialia                                                    | USA         | Research article |
| Hauptstein et al 2020 [94]     | Advanced Healthcare Materials                                         | UK          | Research article |
| Nedunchezian et al. 2021 [100] | Materials Science and Engineering                                     | Netherlands | Research article |
| Lam et al. 2021 [101]          | Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials | USA         | Research article |
| Yang et al. 2018 [103]         | Materials Science and Engineering: C                                  | Netherlands | Research article |
| Wei et al. 2020 [109]          | Drug Delivery                                                         | UK          | Research article |
| Li et al. 2019 [114]           | BioMed Research International                                         | USA         | Research article |
| Setayeshmehr et al. 2019 [120] | European Polymer Journal                                              | USA         | Research article |
| Cao et al. 2021 [130]          | Regenerative Biomaterials                                             | UK          | Research article |
| Rathan et al. 2019 [131]       | Advanced Healthcare Materials                                         | UK          | Research article |
| Kosik-Kozioł et al. 2017 [133] | Biofabrication                                                        | UK          | Research article |
| Khalilifar et al. 2019 [144]   | Cell Journal (Yakhteh)                                                | Iran        | Research article |
| Pountos (2019) [160]           | Springer Science                                                      | Germany     | Book chapter     |
| Mouser VHM (2017) [163]        | Biofabrication                                                        | UK          | Research article |

Journal of  
Guilan University of Medical Sciences

## Ethical Considerations

### Compliance with ethical guidelines

This article is a meta-analysis with no human or animal sample.

### Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.

## Authors' contributions

Conceptualization, study design, data acquisition, analysis and curation: Fatemeh Toosizadeh Khorasani and Hosein Roostamani; Statistic analysis and initial draft preparation: Hosein Roostamani; Review and editing: Omid Fakhraei and Narges Kelidari; Supervision: Omid Fakhraei.

## Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

**Table 2.** The in-vivo studies reviewed in this article

| Author (Year)                | Journal                                            | Country     | Type of Study    |
|------------------------------|----------------------------------------------------|-------------|------------------|
| Chantre et al. 2019 [29]     | ACS Applied Materials & Interfaces                 | USA         | Research article |
| Leberfinger et al. 2019 [71] | Acta Biomaterialia                                 | USA         | Review study     |
| Luo et al. 2020 [102]        | Tissue Engineering Part C: Methods                 | USA         | Research article |
| Beketov et al. 2022 [121]    | International Journal of Molecular Sciences        | Switzerland | Research article |
| Apelgren et al. 2017 [134]   | PLoS One                                           | USA         | Research article |
| Zopf et al. 2015 [137]       | Otolaryngology--Head and Neck Surgery              | USA         | Research article |
| Khalilifar et al. 2019 [144] | Cell Journal (Yakhteh)                             | Iran        | Research article |
| Selmi et al. 2008 [150]      | The Journal of Bone & Joint Surgery British Volume | UK          | Research article |
| Pountos I (2019) [160]       | Springer Science                                   | Germany     | Book chapter     |
| Bücking TM (2017) [164]      | PLoS One                                           | USA         | Research article |
| Xu B (2020) [165]            | Frontiers in Bioengineering and Biotechnology      | Switzerland | Research article |

## Acknowledgements

The authors would like to thank Department of Medical Engineering, [Islamic Azad University, Mashhad Branch](#), Iran, Mashhad for accompanying in this research.

This Page Intentionally Left Blank



## مقاله مروری

# مروری بر فناوری های چاپ زیستی سه بعدی در بازسازی بافت غضروفی بینی انسان

حسین رستماني<sup>۱</sup>، امید فخرایی<sup>۱</sup>، فاطمه طوسی زاده خراسانی<sup>۱</sup>، نرگس کلیدری<sup>۱</sup>

۱. گروه مهندسی پزشکی، دانشکده پزشکی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.



**Citation** Rostamani H, Fakhraei O, Toosizadeh Khorasani F, Kelidari N, Fakhraei O. [A Review of 3D Bioprinting Technologies in the Reconstruction of Human Nasal Cartilaginous Tissue (Persian)]. *Journal of Guilan University of Medical Sciences*. 2024; 33(2):134-159. <https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.2.2574.1>

**doi** <https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.2.2574.1>

## چکیده

**زمینه:** نقایص مختلف بینی بنابر علل مادرزادی یا سوانح، تقاضای زیادی را برای عمل های بازسازی بینی ایجاد کرده اند. عیوب بینی علاوه بر نقص عملکردی به عنوان یک نقص زیبایی نیز شناخته می شود، چرا که شکل بینی از بارزترین ویژگی هایی است که چهره انسان را مشخص می کند. با این حال، روش های معمول بازسازی به دلیل محدودیت ها قادر به پاسخ گویی نیستند.

**هدف:** این مطالعه با هدف بررسی توانایی روش های مختلف چاپ زیستی سه بعدی در زمینه رفع عیوب ناحیه بینی انجام شده است.

**روش ها:** در این مطالعه مروری از مقالات موجود در پایگاه های اطلاعاتی ساینس دایرکت، اشپرینگر، وایلی، کمبریج، دی گروتر و گوگل اسکالر استفاده شده است. جست و جو با استفاده از کلیدواژه های *3D bioprinting nasal cartilage tissue engineering* و *bioink materials* با محدودیت زمانی ۴ سال اخیر انجام شد. از بین ۳۰۰ مقاله یافت شده، در نهایت ۱۵۹ مقاله بررسی شد.

**یافته ها:** چاپ زیستی با داشتن پتانسیل منحصر به فرد در زمینه ترمیم و بازسازی بافت غضروفی بینی، می تواند روشی مناسب برای برطرف کردن این نواقص باشد. هیدروژل ها با توانایی بارگذاری مواد مختلف ضمن ایجاد تخلخل و همچنین قابلیت جذب آب و محصور کردن سلول ها به گزینه های عالی برای تقلید ریز محیط بافت میزبان بدل شده اند. از سوی دیگر، کندروسیت های اتولوگ و سلول های بنیادی مزانشیمی اصلی ترین منابع سلولی برای مهندسی بافت غضروف بینی هستند.

**نتیجه گیری:** نتایج این تحقیق نشان داده که فناوری چاپ زیستی توانسته است بافت میزبان غضروف را به صورت ایمپلنت هایی قابل کاشت در جراحی تا حد قابل قبولی از لحاظ مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مکانیکی تقلید کند. استفاده از چاپ زیستی در سطح بالینی محدود است، اما چشم انداز این فناوری از آن جهت امیدوار کننده است که می تواند با هزینه پایین، دقت منحصر به فرد و شخصی سازی، معایب و نقایص بینی را برطرف کند.

تاریخ دریافت: ۰۱ دی ۱۴۰۱

تاریخ پذیرش: ۰۸ آبان ۱۴۰۲

تاریخ انتشار: ۱۱ تیر ۱۴۰۳

## کلیدواژه ها:

چاپ زیستی، بینی، مهندسی بافت، بافت غضروفی، مواد زیست سازگار

## \* نویسنده مسئول:

امید فخرایی

نشانی: مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، دانشکده مهندسی، گروه مهندسی پزشکی.

تلفن: ۱۳۵۱۳۲۵ (۹۳۶) ۹۸+

رایانامه: [omid.fakhraei@mshdiau.ac.ir](mailto:omid.fakhraei@mshdiau.ac.ir)



Copyright © 2024 The Author(s);

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC-BY-NC: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode.en>), which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

## مقدمه

یا چاپ زیستی به عنوان یک روش امیدوارکننده جایگزین برای ساخت یا ترمیم غضروف بینی بیمار در حال ظهور است به طوری که بافت‌های ساده مانند پوست و غضروف به کمک این فناوری با موفقیت ساخته و تجاری‌سازی شده‌اند، اما ساخت بافت‌های پیچیده‌تر همچنان با دشواری‌هایی همراه است. چاپ سه‌بعدی یا تولید افزودنی<sup>۳</sup> که متفاوت با روش‌های سنتی ساخت است، برای چاپ یک داربست سه‌بعدی به صورت مستقیم و لایه به لایه از روی یک مدل دیجیتال<sup>۴</sup> به کار گرفته می‌شود. تولید افزودنی امروزه دارای طیف گسترده‌ای از کاربردها در پزشکی است [۶، ۸، ۹]. عمدتاً از چارلز دبیلو. هال به عنوان مخترع اولین چاپگر سه‌بعدی در سال ۱۹۸۳ یاد می‌کنند [۱۰]. روش‌های سنتی ساخت به دلیل مشکلاتی همچون عدم توانایی در ترکیب سلول‌ها، استفاده از حلال سمی و ناتوانی در کنترل دقیق معماری داربست با چاپ سه‌بعدی امروزی جایگزین شدند [۳، ۱۱].

چاپ زیستی یک علم میان‌رشته‌ای مابین علوم پزشکی، زیست‌شناسی، مهندسی مکانیک و علم مواد است و همچنین به عنوان یک رویکرد نوین در مهندسی بافت شناخته می‌شود [۱۲، ۱۳]. به عنوان یکی از شاخه‌های چاپ سه‌بعدی، فناوری‌های چاپ زیستی براساس قرار دادن دقیق سلول‌های زنده و بیوموادها، بافت‌های جایگزین را براساس الزامات هندسی و عملکردی خاص هر بافت، با عملکرد و خواص مشابه می‌سازند. چاپ زیستی در کنار اجتناب از عوارض ناحیه اهداکننده و شخصی‌سازی، فرصت‌های بی‌نظیری را برای ترمیم و بازسازی غضروف ایجاد کرده است [۴، ۱۴]. این فناوری چاپ ساختارهایی با جزئیات کوچک و ظریف تا ابعاد چند صد نانومتر را امکان‌پذیر می‌کند [۱۵].

در حالی که دستگاه‌های چاپگر زیستی پس از توسعه اولیه خود به سرعت تجاری شدند، به دلیل قیمت بالای سیستم توزیع‌کننده رباتیک، جذب آن‌ها تا حد زیادی محدود به نهادهای تجاری شد [۱۶]. عموماً فناوری‌های چاپ زیستی را به ۳ دسته تقسیم می‌کنند: مبتنی بر اکستروژن<sup>۴</sup>، جوهرافشان<sup>۵</sup> و مبتنی بر لیزر<sup>۶</sup> که هر کدام مزایا و محدودیت‌های خاص خود را دارند. هر فناوری الزامات ویژه‌ای برای جوهر زیستی دارد. باید توجه داشت که بر ویژگی و عملکرد سازه چاپ‌شده عوامل مختلفی همچون خواص ماده و پارامترهای فرایند چاپ (مانند دما، سرعت و نیروی اعمال شده برای چاپ) می‌توانند تأثیر داشته باشند [۱۷-۱۹].

جوهر زیستی<sup>۷</sup> به عنوان یکی از مهم‌ترین جنبه‌های چاپ زیستی باید هم‌سازگاری سلولی برای بازسازی بافت و هم قابلیت چاپ را برای پشتیبانی از فرایند چاپ برآورده کند. افزون بر این، ویسکوالاستیسیته بودن، قابلیت اتصال عرضی، یکپارچگی

نقایص غضروف بینی ناشی از تروما، عدم وجود غضروف، خطای پزشکی یا انواع ناهنجاری‌های مادرزادی می‌تواند اثرات نامطلوب جسمی و روانی بر بیمار داشته باشد. همچنین در جراحی سرطان، غیرمعمول نیست که بافت فیبروعضلاتی اطراف لوبول آلار و غضروف تیغه بینی در حین برداشتن تومور برداشته شود. عیوب بینی علاوه بر نقص عملکردی به عنوان یک نقص زیبایی نیز شناخته می‌شوند، چراکه شکل بینی از بارزترین ویژگی‌هایی است که چهره انسان را مشخص می‌کند [۱، ۲]. غضروف بینی یک بافت همبند تخصصی از نوع هیالین، بدون عصب، رگ و لنف است و تعداد سلول بسیار پایینی دارد. این بافت متشکل از تقریباً ۱ درصد سلول‌های غضروفی (کندروسیت) و ۹۹ درصد ماتریکس خارج سلولی<sup>۱</sup> است و کندروسیت‌های آن از سلول‌های بنیادی مزانشیمی<sup>۲</sup> منشأ می‌گیرد [۱]. ماتریکس خارج سلولی غضروف عمدتاً از آب، ماکرومولکول‌ها و پروتئوگلیکان‌ها تشکیل شده است و محصول و درعین حال میزبان کندروسیت‌هاست [۳]. این ویژگی‌ها باعث ویژگی‌های مکانیکی خاص و ظرفیت خودترمیمی پایین شده است. در حال حاضر، درمان رایج و استاندارد طلائی، مبتنی بر بازسازی با فلپ موضعی یا کاشت غضروف اتولوگ است [۴، ۱].

جراحی پیوند اتولوگ برای بازسازی عمده بینی، یک روش پیچیده، زمان‌بر و نیازمند مهارت است که شامل برداشت غضروف دنده، برش و بخیه زدن دستی آن‌ها در چارچوب شکل بینی است. مدت زمان عمل می‌تواند بیش از ۸ ساعت باشد که در این مدت بیمار تحت بیهوشی عمومی است [۴]. به دلیل کمبود غضروف تیغه بینی، معمولاً غضروف دنده‌ای اصلاح‌شده اتولوگ برای پیوند استفاده می‌شود [۲]. با این حال، این فرایند ممکن است با عوارض ناحیه اهداکننده همچون عفونت همراه باشد و مقدار بافت به دست آمده بسته به در دسترس بودن بافت اهداکننده از نظر اندازه و شکل محدود است [۱، ۵]. این محدودیت‌ها، جراحان را به تلاش برای توسعه انواع پیوندهای آلوژنیک سوق داده است که از لحاظ نظری زیست‌سازگار و غیرایمونوژن هستند، با این حال تاکنون نتوانسته‌اند جایگزین استاندارد طلائی فعلی شوند. مواد آلوژنیک می‌توانند معایبی همچون نرخ جذب بالا، جابه‌جایی، عفونت یا انتقال بیماری را داشته باشند یا تحت تأثیر رد ایمنی قرار گیرند، در نتیجه با استقبال گسترده مواجه نشده‌اند [۱، ۲].

هدف از ترمیم بافت غضروف بازگرداندن خواص کلیدی غضروف هیالین بومی از منظر بافت‌شناسی و بیومکانیکی است. در سال‌های اخیر، کاربردهای مهندسی پزشکی برای غضروف بینی به سرعت توسعه یافته است [۶، ۷]. چاپ زیستی سه‌بعدی

3. Additive Manufacturing (AM)

4. Extrusion-based

5. Inkjet

6. Laser-based

7. Bioink

1. Extracellular Matrix (ECM)

2. Mesenchymal Stem Cells (MSCs)

درون تنی ترسیم شد. به تحلیل و بررسی دقیق تر یافته‌ها به‌طور دسته‌بندی‌شده در ادامه مقاله پرداخته شده است.

### فناوری‌های چاپ زیستی سه‌بعدی

#### فرایند

برای چاپ یک سازه، اول یک مدل سه‌بعدی دیجیتالی از بافت معیوب با استفاده از تکنیک‌های تصویربرداری، از جمله توموگرافی کامپیوتری<sup>۱۶</sup>، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی<sup>۱۷</sup>، سونوگرافی و تصویربرداری پزشکی هسته‌ای، گرفته می‌شود. سپس از طریق طراحی به کمک کامپیوتر (CAD)، جزئیات داخلی و خارجی سازه، مانند هندسه و اندازه منافذ و تخلخل، در مدل سه‌بعدی بافت معیوب منعکس می‌شود. سپس این مدل به فایل سطح - مش<sup>۱۸</sup> با فرمت استاندارد STL تبدیل می‌شود. فرمت STL نمایش دیجیتالی سطوح یک جسم به شکل مجموعه‌ای از مثلث‌های مجزا است که حجم یک جسم را مشخص می‌کند، اما کاربر باید تصمیم بگیرد که از چه موادی برای چاپ آن استفاده کند. در گام بعد، درمورد رویکردهای لایه‌به‌لایه، که اغلب روش‌های چاپ زیستی را تشکیل می‌دهند، فایل STL باید توسط نرم‌افزار برش (Slicing Software) از نظر محاسباتی به برش‌هایی تقسیم شود و فایل قابل پردازش توسط ماشین (معمولاً G-code) را خروجی دهد. در فایل G-code براساس ساختار هر برش، یک سری دستورات ایجاد می‌شود که نحوه حرکت چاپگر و رسوب مواد در طول این حرکات و اطلاعاتی همچون الزامات ساختار پشتیبان<sup>۱۹</sup> را تعیین می‌کند. درنهایت، بعد از انتخاب یک یا چند جوهر زیستی مطلوب، این فایل قابل پردازش در یک چاپگر زیستی وارد شده و فرایند آغاز می‌شود. درنهایت بافت تشکیل شده در کشت برون تنی، در داخل بدن کاشته می‌شود [۲۴، ۲۳].

پس از ایجاد ساختار بافت، ممکن است برای تثبیت ساختار چاپی یا حذف مواد پشتیبان نیاز به فرایندهای پس پردازش<sup>۲۰</sup> باشد [۲۵]. همچنین ممکن است لازم باشد سلول‌ها بر روی یک ساختار سلولی یا بدون سلول وارد شوند یا برای تکمیل برخی فرایندهای سلولی در مدت زمانی در راکتور زیستی کشت داده شوند تا به بافتی با عملکرد کاربردی تبدیل شوند؛ در نظر گرفتن این موارد، محدودیت‌هایی را برای چاپ زیستی به همراه می‌آورد [۲۶، ۲۷].

به‌طور کلی رویکردهای چاپ زیستی به ۳ دسته بر پایه اکستروژن، جوهرافشان و لیزری (شامل استریولیتوگرافی) تقسیم می‌شوند که در بخش بعدی به آن‌ها پرداخته شده است. هر کدام

مکانیکی بالا و تجزیه‌پذیری مناسب از دیگر خصوصیات یک جوهر زیستی ایده‌آل است [۲، ۲۰]. امروزه همچنین امکان رسوب هم‌زمان ۲ یا چند جوهر زیستی و تولید ساختارهای پیچیده و شخصی‌سازی‌شده براساس تصاویر پزشکی بیمار نیز امکان‌پذیر شده است [۲۱]. چاپ زیستی توانسته است بسیاری از محدودیت‌های مهندسی بافت مانند توزیع دقیق سلولی و عملکرد بیولوژیکی بافت را برطرف کند، با این حال چالش‌هایی در بازسازی غضروف بینی به کمک چاپ زیستی وجود دارد. از جمله مهم‌ترین موانع در دسترس نبودن جوهر زیستی مطلوب است [۱۸، ۲۲].

در این مقاله ابتدا به طرز کار و مفاهیم اصلی چاپ زیستی اشاره شده است، سپس فناوری‌های این حوزه که پیش‌تر نام برده شد بررسی شده و روش‌ها، فرایند کلی و مزایا و معایب هر کدام تشریح می‌شود. در ادامه پس از معرفی کاربرد این فناوری در زمینه غضروف بینی به فرایند آن، مانند مدل‌سازی، انتخاب و تهیه جوهر زیستی مطلوب پرداخته می‌شود و در پایان نتایج ارزیابی‌های برون تنی<sup>۸</sup> و درون تنی<sup>۹</sup> بیان خواهد شد.

### روش‌ها

در این مطالعه مروری از مقالات موجود در پایگاه‌های اطلاعاتی ساینس دایرکت<sup>۱۰</sup>، اشپرینگر<sup>۱۱</sup>، وایلی<sup>۱۲</sup>، کمبریج<sup>۱۳</sup>، دی گرویتز<sup>۱۴</sup> و گوگل اسکالر<sup>۱۵</sup> استفاده شده است. جست‌وجو با استفاده از کلیدواژه‌های 3D، nasal cartilage، tissue engineering، bioink materials و bioprinting با محدودیت زمانی ۴ سال اخیر انجام شد که از بین ۳۰۰ مقاله مروری و پژوهشی، ۱۵۹ مقاله برای گردآوری دقیق‌تر این مقاله استفاده شدند.

### یافته‌ها

#### یافته‌های کلی

در این مقاله مروری، یک دید کلی از تحقیقات و مقالات متعدد در زمینه تلاش‌ها برای چاپ زیستی غضروف بینی، فناوری‌های مرتبط و فرایند آن ارائه شده است. مطالعه و بررسی این مقالات نشان داده است که برای کسب نتایج موردنظر در محیط برون تنی یا درون تنی، انتخاب رویکرد چاپ و جوهر زیستی مناسب در این حوزه نقش محوری دارد. مهم‌ترین منابع دربرگیرنده آزمون‌های برون تنی در این پژوهش در جدول شماره ۱ نشان داده شده‌اند. به‌طور مشابه، جدول شماره ۲ برای منابع در زمینه آزمون‌های

8. In vitro
9. in vivo
10. Science direct
11. Springer
12. Wiley
13. Cambridge
14. De Gruyter
15. Google Scholar

16. Computed Tomography (CT)
17. Magnetic Resonance Imaging (MRI)
18. Surface-Mesh File
19. Support structure
20. Post-processing

فشرده ممکن است تأخیر کمی در توزیع وجود داشته باشد که بر وضوح مؤثر باشد، باین حال کلیه این روش‌ها با موفقیت در چاپ زیستی به کار رفته‌اند. از اقسام فناوری‌های مبتنی بر اکستروژن می‌توان به مدل‌سازی رسوب‌شده<sup>۲۱</sup> و چاپ زیستی مبتنی بر اکستروژن اشاره کرد. نازلی که در اکستروژن استفاده می‌شود اغلب شبیه سرنگ بدون سوزن، یک نازل مخروطی شکل یا مشابه لوله مویرگی شیشه‌ای است. هندسه مقطع دهانه نازل بر هندسه فیلامنت چاپ‌شده تأثیر دارد [۲۷].

چاپ زیستی مبتنی بر اکستروژن از فناوری مدل‌سازی رسوب‌شده سرچشمه می‌گیرد. این دستگاه‌ها از سرهای چاپ سرنگی مانند برای هدایت پنوماتیک، مکانیکی یا الکترومغناطیسی جوهر زیستی (غالباً هیدروژل حاوی سلول‌ها) و رسوب دادن آن استفاده می‌کنند. در این فرایند، می‌توان در یک مرحله چاپ زیستی انجام داد یا آنکه بعداً سلول‌ها را در داربست اولیه کاشت. چاپ زیستی اکستروژن با بسیاری از بیومواد که ویسکوزیته‌ای بیش از  $10^6 \times 6$  مگاپاسکال در ثانیه دارند، سازگار است. در شرایطی که عموماً مواد با ویسکوزیته بالا از خواص مکانیکی بهتر بهره می‌برند و مواد با ویسکوزیته پایین‌تر، از زنده‌مانی سلولی پشتیبانی می‌کنند. نیروی‌های برشی را می‌توان با کاهش فشار توزیع و طول نازل و با افزایش قطر نازل کنترل کرد. باین حال این کار باعث از دست دادن زمان و وضوح چاپ می‌شود [۲۷، ۳۵]. در حالت ایدئال، جوهر زیستی مورداستفاده در چاپ زیستی اکستروژن برای چاپ یک ایمپلنت زیست‌تقلیدشده می‌بایست علاوه بر زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و الاستیسیته بودن، از نازک شدن و بازیابی برشی سریع<sup>۲۲</sup> و نیز سینتیک ژل شدن پشتیبانی کند. جوهرهای با ویسکوزیته بالا اگرچه وفاداری شکل بهتری دارند، اما ممکن است آسیب سلولی یا گرفتگی نازل را در پی داشته باشند [۱۶، ۳۶].

مزیت اصلی چاپ زیستی مبتنی بر اکستروژن، توانایی چشمگیر آن در استفاده از سلول‌های با چگالی و گرانروی بالا و سازگاری با انواع مواد، از جمله هیدروژل‌های مملو از سلول، میکروحمل‌ها و ماتریکس خارجی بدون سلول است. همچنین این روش قادر به چاپ ساختارهای زیست‌تقلیدشده در ابعاد بزرگ و در کنار آن، نسبتاً مقرون‌به‌صرفه است. باین حال موارد چالش‌برانگیزی همچون تثبیت خواص سازه پس از چاپ را با خود همراه دارد و نقطه ضعف اصلی این روش این است که سرعت، وضوح و زنده‌مانی کمتری را نسبت به سایر روش‌ها نتیجه می‌دهد. با تغییر پارامترهایی چون اندازه و قطر نازل، نیروی وارده بر جوهر زیستی، سرعت و دمای چاپ و میزان ترشوندگی بستر، می‌توان بر وضوح تأثیر گذاشت. با کاهش فشار اکستروژن و افزایش اندازه نازل، زنده‌مانی سلولی در حدود ۴۰ تا ۸۰ درصد است و وجود

از آن‌ها دارای نقاط قوت و چالش‌هایی هستند، اما محبوب‌ترین فناوری در این میان نوع اکستروژن است. تلفیق روش‌های چاپ زیستی نیز فرصت‌هایی را برای طراحی فرایندهایی ارائه می‌دهد که ابزارهای متعددی را برای حل مشکلات پیچیده به همراه می‌آورند، جایی که ممکن است یک فناوری واحد برای همه جنبه‌های یک مشکل بهینه نباشد [۲۸، ۲۹]. چاپ زیستی مبتنی بر اکستروژن به دلیل کاربردی بودن، تنوع انتخاب بالا در جوهرهای زیستی و توانایی ایجاد ساختارها در مقیاس بزرگ، پرکاربردترین فناوری بوده است. پیش‌بینی می‌شود بازار تجاری فناوری چاپ زیستی در مقیاس جهانی تا سال ۲۰۲۴ به ارزش ۲/۶ میلیارد دلار برسد. چاپ زیستی را می‌توان در مهندسی بافت و پزشکی ترمیمی، علوم پیوند بافت یا عضو، مطالعات زیست‌شناسی سلولی، غربالگری داروها و تحقیقات سرطان به کار برد. انتقال چاپ زیستی به عمل بالینی هنوز در انتظار توسعه بیشتر فناوری است؛ باین حال، استفاده از آن در داروسازی بسیار رایج بوده و برای ساخت بافت‌هایی برای آزمایش دارو و غربالگری بازده بالا، یا تولید اشکال دارویی چندلایه، که در آن هر لایه خواص آزادسازی متفاوتی دارد، استفاده می‌شود. همچنین به‌عنوان جایگزینی برای مدل‌های حیوانی برای آزمایش داروها مشکلاتی همچون هزینه بسیار بالا، نگرانی‌های اخلاقی و برگردان ضعیف به کاربردهای بالینی را دربر ندارد [۱۶، ۳۰]. توسعه سریع فناوری‌های تولید افزودنی، تعریف دستورالعمل‌ها و استانداردهای مشخص ساخت را در این حوزه با چالش‌هایی همراه کرده است. چاپ زیستی چهاربعدی مفهومی نوآورانه است که به چاپ بافت‌های سه‌بعدی با قابلیت خودبستگی پس از فرایند چاپ اشاره دارد که در طول زمان تحت اثر محرک‌ها قرار می‌گیرند. چاپ زیستی به‌طور مداوم در دهه گذشته توسعه یافته و هنوز هم در حال تکامل است؛ به‌طوری‌که چاپ زیستی با چند جوهر زیستی غیرقابل اختلاط یک رویکرد امیدوارکننده برای آماده‌سازی اندام‌هایی با خواص موضعی متفاوت است [۳۱، ۳۲]. در تصویر شماره ۱ انواع مختلف فناوری‌های چاپ زیستی به همراه اجزای یک جوهر زیستی نشان داده شده است [۳۳].

#### روش اکستروژن

روش اکستروژن رایج‌ترین، تطبیق‌پذیرترین و در دسترس‌ترین روش چاپ زیستی است. این روش با رسوب دادن لایه‌به‌لایه مواد زیستی رشته‌ای، که فیلامنت نامیده می‌شوند، عمل می‌کند. اکستروژن کردن مواد معمولاً به یکی از روش‌های توزیع پنوماتیکی، پیستونی یا پیچشی صورت می‌گیرد که توزیع پیچشی برای هیدروژل‌های با ویسکوزیته بالا مطلوب‌تر است [۲۷، ۳۴].

چاپ اکستروژن پنوماتیکی با استفاده از فشردن هوا جوهرهای زیستی را اکستروژن می‌کند، درحالی‌که در روش پیستونی یا پیچشی ماده به‌طور فیزیکی اکستروژن می‌شود. در فناوری هوای

21. Fused Deposition Modeling (FDM)

22. Shear-thinning and quick shear recovery

قطرات را افزایش دهد، از انسداد نازل پاشش خودداری کند و نیروی برشی را کاهش دهد، هرچند به خواص مکانیکی پایین‌تر منجر می‌شود و ممکن است برای تثبیت ساختار چاپ‌شده نیاز به اتصال عرضی اضافی داشته باشد. در نقطه مقابل ویسکوزیته بالا اغلب باعث گرفتگی مکرر نازل می‌شود. پس از پاشش قطرات در مکان‌های مشخص، قطرات باید به‌راحتی تثبیت شوند که این امر معمولاً به‌وسیله برخورد قطره با یک عامل اتصال عرضی در بستر رخ می‌دهد [۴۶، ۲۷]. چاپ زیستی جوهرافشان با وجود برتری در وضوح نسبتاً بالاتر در سطح میکرون، تا حد زیادی به چاپ یافت در مقیاس کوچک محدود می‌شود. از سوی دیگر معمولاً برای چاپ ساختارهای ضخیم مناسب نیست و نسبت به روش اکستروژن آن چنان در چاپ چندماده‌ای استفاده نمی‌شود [۴۸، ۴۷]. قطر نازل می‌تواند تا حدود ۱۸ میکرومتر باشد، نازکی نازل باعث کشش سطحی می‌شود که از نشت جوهر جلوگیری می‌کند. از مزایای روش جوهرافشان می‌توان به قابلیت رسوب مستقیم سلول‌ها جهت چاپ سلولی بدون داربست اشاره کرد. همچنین این فناوری قادر است با تغییر تراکم یا اندازه قطرات، امکان چاپ مواد یا سلول‌ها را با گرادینان غلظت در سراسر ساختار فراهم کند [۴۹]. عموماً روش‌های جوهرافشان نسبت به روش‌های اکستروژن در سرعت و زنده‌مانی برتری دارند، اما نسبت به روش‌های لیزری در این موارد نتایج ضعیف‌تری می‌دهند [۵۰، ۵۱، ۵۲].

بایندر جت<sup>۲۴</sup> و متریال جت<sup>۲۵</sup> نوع فناوری جوهرافشان از نظر ماهیت ماده رسوب‌کننده هستند. هر دوی این فناوری‌ها برای رسوب دادن قطرات مایع یک ماده استفاده می‌شوند. در بایندر جت قطرات چسب پیونددهنده روی یک بستر پودری پاشیده می‌شوند، به‌طوری‌که ذرات پودر مجاور و همچنین لایه فعلی را با لایه قبلی به هم می‌چسباند. هنگامی که لایه تکمیل شد، سکو پایین می‌آید و یک لایه جدید پودر به‌طور یکنواخت روی لایه قبلی از طریق یک سیستم تغذیه پودر گذاشته می‌شود. در متریال جت حجمی بسیار کوچکی از ماده موردنظر (از پیکولیترا تا نانولیترا) را روی بستر هدف رسوب می‌دهند. متریال جت به دلیل کم‌هزینه بودن، زنده‌مانی مطلوب، وضوح بالا و امکان رسوب مستقیم سلول‌ها، به‌طور گسترده در مهندسی بافت به کار گرفته شده است. باینر حال، این تکنیک با محدودیت‌های متعددی از جمله در انتخاب مواد، به دلیل محدودیت‌های ویسکوزیته و کشش سطحی، مواجه است [۳].

براساس مکانیسم تشکیل قطرات، چاپ زیستی جوهرافشان به‌طور کلی به ۲ دسته حرارتی و پیزوالکتریک تقسیم می‌شود. عموماً دستگاه‌های دارای سر چاپ حرارتی دارای واحد گرمایش الکتریکی در مجاورت نازل هستند که با تبخیر مواد هم‌بند<sup>۲۶</sup>

نیروی برشی بر روی سلول‌های موجود در جوهر زیستی نیز اثر می‌گذارد. چاپ با سرعت بسیار بالا به کشیده شدن خطوط و خواص مکانیکی ضعیف ختم می‌شود و چاپ با سرعت بسیار کند، منجر به افزایش عرض خطوط چاپی می‌شود [۲۸، ۳۷-۳۹]. محدودیت در وضوح می‌تواند کاربرد این فناوری زیستی را در حد ترمیم بافت‌های نرم تقلیل دهد، با آنکه همچنان برای بافت‌های سخت بزرگ‌تر از ۱۰ میلی‌متر قابل استفاده است [۴۰].

یکی از روش‌های پیشرفته اکستروژن چاپ زیستی چندماده‌ای است که هدف آن تکرار نظم پیچیده بافت و اندام‌های میزبان در سازه است. از آنجایی که بافت‌ها و اندام‌های بومی انسان دارای ساختارهای درون‌سلولی و برون‌سلولی ناهمگن هستند، توانایی ساخت سازه‌هایی با چند جوهر زیستی بسیار حائز اهمیت است. چاپ یک هندسه چندماده‌ای اغلب شامل چاپ متوالی مواد منفرد با استفاده از نازل‌های متعدد است. چاپ چندماده‌ای به فرد اجازه می‌دهد تا مواد طبیعی را با مواد مصنوعی با استحکام مکانیکی بالا ترکیب کند تا از مزایای هر دو ماده استفاده شود. باینر حال کند بودن و نیازمندی به دقت زیاد در تراز بودن نازل‌ها از معایب آن است. آلزینات در این نوع چاپ زیستی بسیار پرکاربرد است. چاپ زیستی چندماده‌ای را می‌توان براساس نحوه سازماندهی مواد به چند دسته تقسیم کرد. رایج‌ترین تکنیک چندماده‌ای چاپ سایدبای‌ساید<sup>۲۳</sup> است که در آن چندین ماده متناوباً در یک یا چند لایه قرار می‌گیرند که جهت افزایش خواص مکانیکی در تولید ساختارهای غضروفی قابل‌به‌کارگیری است [۴۱، ۴۲]. در تصویر شماره ۲ پرکاربردترین مواد زیستی قابل استفاده در چاپ زیستی چندماده‌ای نمایش داده شده است [۴۳].

امروزه چاپگرهای زیستی تجاری اکستروژن را می‌توان برای کاربردهای خاص سفارشی‌سازی کرد، چنان‌که امکان پخت UV در میانه چاپ یا پس از چاپ، اکستروژن ترکیبی، الکتروریسی و تلفیق با سایر فناوری‌های نوظهور مهندسی بافت را داشته باشند [۴۴]. باید توجه داشت روش اتصال عرضی جوهر زیستی - اتصال عرضی حرارتی، یونی، نوری، آنزیمی و غیره - بر انتخاب استراتژی چاپ و فرایندهای حین و پس از چاپ تأثیر می‌گذارد [۴۵].

#### روش جوهرافشان

چاپ سه‌بعدی جوهرافشان روشی بدون تماس است که با پاشش متوالی قطرات گسسته جوهر زیستی از نازل‌ها بر روی یک بستر به ساخت لایه‌به‌لایه سازه می‌انجامد. این فناوری مشابه سیستم جوهرافشان دوبعدی است. کیفیت و وضوح چاپ به اندازه و گرانی قطرات بستگی دارد. از آنجایی که قطرات می‌توانند در حجم پیکولیترا باشند، چاپ زیستی جوهرافشان وضوح چاپ بالا تا ۵۰ میکرون را در قرار دادن دقیق سلول‌ها ارائه می‌دهد. جوهر زیستی با ویسکوزیته پایین می‌تواند تشکیل

24. Binder Jetting  
25. Material Jetting  
26. Binder materials

23. Side-by-side printing

مختلف، وضوح بالا، عدم وجود مشکلات نازل و خطر پایین آلودگی از مزیت‌های این روش است. با این حال این روش علاوه بر ضعف در مقیاس‌پذیری، پرهزینه بوده و انرژی بالای پرتو لیزر، با آسیب سلولی در ارتباط است که با افزایش ویسکوزیته جوهر و ضخامت بستر می‌توان به حفاظت بیشتر از سلول‌ها کمک کرد. میزان بقای سلولی اغلب حدود ۸۵ درصد گزارش شده است [۵۸، ۵۹]. از آنجایی که چاپ زیستی به کمک لیزر مانند روش جوهرافشان یک روش غیر تماسی است، می‌تواند انواع مواد زیستی و سلول‌ها را در محیط‌های کشت مختلف چاپ کند تا از آلودگی و آسیب سلولی جلوگیری کند [۵۷].

در روش تفجوشی لیزری انتخابی<sup>۲۹</sup> یک پرتو لیزر که به بستری از پودر ساطع می‌شود، پودر را در یک الگوی برنامه‌ریزی شده ذوب می‌کند. پس از ایجاد یک لایه، بستر پودری عقب رفته و لایه بعدی روی آن غلت می‌خورد و این فرایند تا زمانی که داربست کامل شود، تکرار می‌شود و در پایان پودر اضافی حذف می‌شود. در جایی که سازه چاپ‌شده دارای منافذ در ابعاد میکرون باشد، این فرایند حذف پودر اضافی می‌تواند بسیار دشوار باشد. از زمان ابداع فناوری تفجوشی لیزری انتخابی، این روش به‌طور گسترده برای بازسازی بافت‌های آناتومیک پیچیده، مانند غضروف استفاده شده است [۶۰].

دیگر فناوری پر استفاده مبتنی بر لیزر، پلیمریزاسیون در ظرف<sup>۳۰</sup> است که استریولیتوگرافی<sup>۳۱</sup> از انواع آن است. استریولیتوگرافی معمولاً از لیزر ماورای بنفش (UV) برای فتوپلیمریزاسیون سطح حمامی از پلیمرهای حساس به نور استفاده می‌کند. استریولیتوگرافی عموماً متشکل از یک مخزن پر شده با محلول یا رزین پلیمری شامل آغازگرهای نوری، لیزر با محور x-y قابل کنترل و یک پایه ساخت با کنترل محور z است. طی فرایند با پایین آمدن تدریجی پایه، لایه‌های بیومواد توسط اتصالات عرضی روی هم پلیمریزه می‌شوند و در نتیجه سازه‌های سه‌بعدی با وضوح بالا، بین ۵ تا ۳۰۰ میکرون، به روش از پایین به بالا تشکیل می‌شوند. نواحی اسکن نشده در فاز مایع باقی می‌مانند [۶۱، ۶۲]. آغازگرهای نوری موادی حساس به دامنه‌های مختلف طول موج هستند که وقتی در معرض انرژی نور قرار می‌گیرند، طی یک مکانیسم شیمیایی با مونومرهای یک ماده واکنش داده و تشکیل زنجیره پلیمری می‌دهند. اشعه ماورای بنفش می‌تواند برای DNA سلول‌ها مضر باشد؛ اگرچه توسعه استریولیتوگرافی مبتنی بر نور مرئی امکان گنجاندن سلول‌ها را در فرایند چاپ فراهم کرده است، با این حال محدودیت قابل توجه این فناوری این است که امکان چاپ فقط به مواد حساس به نور، مانند ژلاتین

جوهر زیستی و تشکیل حباب بخار عمل می‌کنند. این حباب بخار در اثر فشار منبسط می‌شود و به‌صورت قطره‌ای از سر چاپ خارج می‌شود [۳۵، ۵۲]. زمان گرمایش آن قدر کوتاه است که فقط ۴ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد دمای جوهر زیستی زیاد می‌شود که تأثیری بر زنده‌مانی ندارد [۵۳]. در مقابل دستگاه‌های پیزوالکتریک توسط پالس‌های فشاری قطرات جوهر زیستی را به روی بستر چاپ می‌کنند. با این پالس‌ها دیواره محفظه توسط سرامیک پیزوالکتریک تغییر شکل داده و در اثر این تغییر حجم، جوهر به‌صورت قطره‌ای از نازل خارج می‌شود با توجه به عدم استفاده از حرارت، آسیب سلولی بر اثر دما وجود نخواهد داشت [۵۴].

#### روش لیزری

چاپ سه‌بعدی مبتنی بر لیزر ویژگی‌های سودمند مختلفی همچون فرکانس بالای چاپ، وضوح بالا، نرخ بقای سلولی بالا (بیش از ۹۵ درصد) و توانایی چاپ همه‌جهته ساختارهای پیچیده را نشان می‌دهد [۵۵]. عموماً روش‌های مبتنی بر لیزر سرعت و نرخ زنده‌مانی متوسط بیشتری را نسبت به سایر روش‌ها (اکستروژن و جوهرافشان) ارائه می‌دهند [۴۹-۵۱].

فناوری چاپ زیستی به کمک لیزر<sup>۳۲</sup> که با نام انتقال توسط لیزر<sup>۳۸</sup> نیز شناخته می‌شود، به‌طور کلی از اجزای زیر تشکیل شده است:

۱. منبع لیزر پالسی؛
۲. لایه جاذب انرژی (مانند طلا یا تیتانیوم)؛
۳. لایه اهداکننده، معمولاً به شکل یک اسلاید یا نوار شیشه‌ای؛
۴. لایه جوهر زیستی؛
۵. بستر مواد.

این چاپگرها فاقد نازل هستند، بنابراین از چالش‌هایی همچون گرفتگی نازل جلوگیری می‌شود. در عین حال این روش از جوهرهای با گرانروی بالا (۱ تا ۳۰۰ میلی‌پاسکال بر ثانیه) نیز پشتیبانی می‌کند [۵۶، ۵۷]. لایه جاذب سرعت لیزر را بهبود می‌بخشد و جوهر زیستی را از تماس مستقیم با پرتو لیزر بازمی‌دارد. با تابیدن لیزر، در ناحیه مشخصی از نوار اهداکننده یا قربانی، یک حباب با فشار بالا ایجاد می‌شود، فشار حباب باعث چکیدن قطرات لایه جوهر زیستی در مکان‌های تعیین شده روی بستر می‌شود. بستر هیچ پرتوی را جذب نمی‌کند. این فرایند تا زمانی که ساختار سه‌بعدی به وجود آید تکرار می‌شود. همچون چاپ زیستی اکستروژن، این روش نیز تراکم سلولی بالایی را نتیجه می‌دهد. قابلیت استفاده از جوهر زیستی با ویسکوزیته‌های

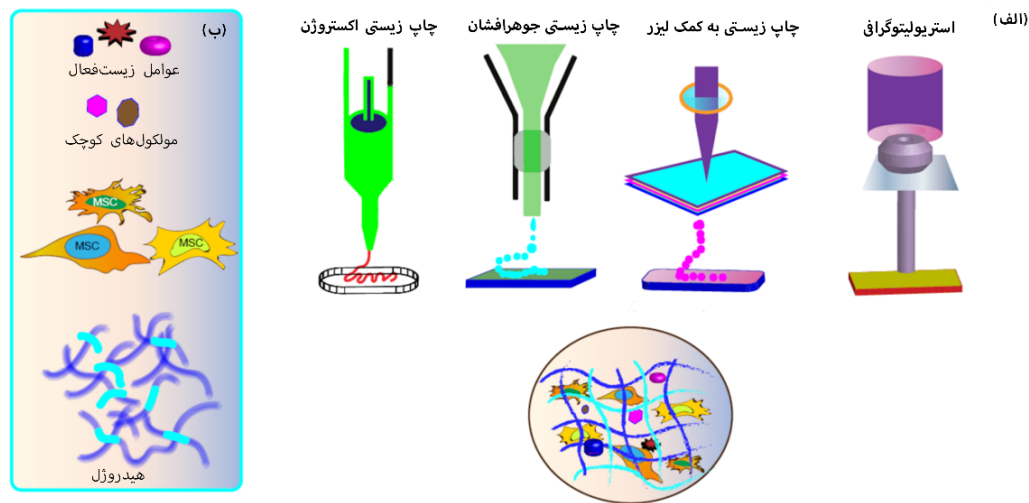
29. Selective Laser Sintering (SLS)

30. Vat polymerization

31. Stereolithography (SLA)

27. Laser assisted bioprinting

28. Laser-induced forward transfer (LIFT)



مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

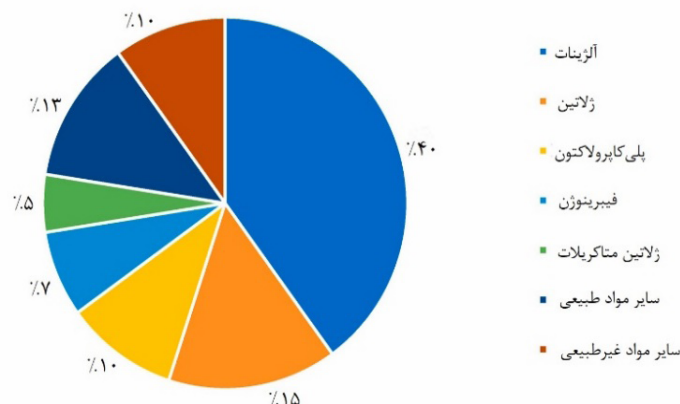
تصویر ۱. (الف) شمایی از فرایند کلی فناوری‌های چاپ زیستی سه‌بعدی (ب) بخش‌های مختلف یک جوهر زیستی [۳۳]

در روش پردازش نور دیجیتال<sup>۳۶</sup>، طرح سه‌بعدی با مقیاس‌پذیری منحصربه‌فرد و همچنین با سرعت و وضوح قابل‌توجه چاپ می‌شود. این روش از نظر مکانیسم کار بسیار به استریولیتوگرافی مشابه است، اگرچه عموماً از نور مرئی و پروژکتور دیجیتال برای فتوپلیمریزاسیون استفاده می‌کند تا یک طرح واحد از کل لایه را به یک‌باره در کل رزین فلاش کند [۶۷، ۶۸]. روش پردازش نور دیجیتال از حرکت مکانیکی در صفحه X-Y بی‌نیاز است و صرفاً با تشکیل هر لایه، در جهت Z حرکت می‌کند. این فناوری ارزش زیادی در ساخت سریع محصولات شخصی‌سازی‌شده دارد [۶۹، ۷۰]. این فناوری همچون استریولیتوگرافی می‌تواند بافت‌های با تراکم بالای سلولی چاپ کند [۵۸، ۷۱]. روش‌های مبتنی بر

متاکریلات<sup>۳۲</sup> و پلی‌اتیلن گلیکول دی‌اکریلات<sup>۳۳</sup>، محدود است. افزون بر این، عدم محدودیت در ویسکوزیته جوهر زیستی، سرعت بالا و نبود تنش برشی از مزایای استریولیتوگرافی است [۶۳، ۶۴]. سیستم‌های استریولیتوگرافی از نظر منبع روشنایی به ۲ دسته روش‌های تک‌فوتون (ماورای بنفش و نور مرئی) و چندفوتون (مادون قرمز) تقسیم می‌شوند. اخیراً با استفاده از دستگاه‌های آینه دیجیتال<sup>۳۴</sup> با استریولیتوگرافی پروجکشن نوری پویا<sup>۳۵</sup> برای افزایش سرعت چاپ ساختارهای بزرگ استفاده می‌کنند [۶۵، ۶۶].

- 32. Gelatin Methacrylate (GelMa)
- 33. Polyethylene Glycol Diacrylate (PEGDA)
- 34. Digital-mirror devices
- 35. Dynamic optical projection stereolithography

مواد زیستی کاربرد در چاپ زیستی چندماده‌ای



مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

تصویر ۲. کاربرد مواد در چاپ زیستی چندماده‌ای [۴۳]



تصویر ۳. شمایی از غضروف‌های بینی انسان

مجله دانشگاه علوم پزشکی کیران

باین حال سادگی نسبی ساختار غضروف ساخت آن را تسهیل و به هدفی ایدئال برای چاپ زیستی تبدیل کرده است. ۳ دسته کلی غضروف در بدن وجود دارد که عبارتند از: غضروف هیالین، غضروف الاستیک و غضروف فیبرو. غضروف بینی از نوع هیالین است [۷۶، ۷۷].

غضروف هیالین بینی از ۳ بخش اصلی سپتوم یا تیغه بینی، غضروف‌های جانبی فوقانی و غضروف‌های جانبی تحتانی معروف به آلاله تشکیل شده است (تصویر شماره ۳). یکپارچگی ساختاری غضروف بینی برای عملکرد آن، که عبارت است از بویایی و گرم، مرطوب و تهویه کردن هوای استنشاقی قبل از ورود به ریه، از اهمیت حیاتی برخوردار است. سپتوم بینی را به دو حفره تقسیم می‌کند و غضروف‌های جانبی فوقانی از سپتوم امتداد یافته و به استخوان‌های فوقانی و فک می‌رسند [۳، ۶، ۷۸].

#### درون کاشت غضروف بینی

در زمینه بافت غضروفی بینی، چاپ زیستی در مواردی همچون شبیه‌سازی قبل از عمل، گرافت‌های شخصی، تولید بستری برای دارورسانی هدفمند جهت ترمیم غضروف و طراحی ساخت مستقیم پروتزهای بینی نقش دارد. همچنین چاپ زیستی می‌تواند نقایص کوچک بینی را ترمیم کند [۷۹، ۸۰].

لیزر چندماده‌ای عموماً براساس سیستمی کار می‌کنند که به‌طور خودکار مخزن رزین را تغییر می‌دهد یا آنکه اقدام به تزریق متوالی جوهرهای مختلف می‌کند. با وجود این، فوتوپلیمریزاسیون چندماده‌ای باتوجه به چالش‌های مختلف همچنان محدود است [۷۳، ۷۴].

#### کاربرد در زمینه غضروف بینی

##### ویژگی‌های غضروف بینی

بافت غضروف شامل سلول‌های تخصصی کندروسیت‌ها و کندروبلاست‌هاست که در ECM غضروفی قرار گرفته‌اند. غضروف مملو از الیاف کلاژن، فیبرهای الاستین و آب است. همچنین این فضا شامل پروتئوگلیکان‌ها و گلیکوپروتئین‌ها بوده که با ایجاد تعامل بین سلول‌ها و الیاف کلاژنی باعث اتصال آن‌ها می‌شود که مقاومت بافت غضروفی در برابر نیروهای فشاری را در پی دارد [۷۴، ۷۵]. بافت غضروفی دارای ساختاری هیدراته، ناهمگن، با اصطکاک سطح کم و مقاومت در برابر سایش است. علاوه بر آن بافتی بدون عروق، بدون لنف و بدون عصب است و با تعداد کم سلول‌های غضروفی شناخته می‌شود. به همین جهت، در صورت هرگونه آسیب توانایی ترمیم بسیار پایینی دارد.



تصویر ۴. سه نمای مختلف از غضروف آلاله بینی که به وسیله میکرو CT گرفته شده است [۸۳].

مجله دانشگاه علوم پزشکی کیران

جدول ۱. منابع اصلی استفاده شده برای گردآوری این مطالعه با تکیه بر آزمون های برون تنی

| نویسندگان                      | مجله                                                                  | کشور                | نوع پژوهش    |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------|
| ویشر، دی. او (۲۰۲۰) [۸۳]       | Acta biomaterialia                                                    | ایالات متحده آمریکا | مقاله پژوهشی |
| لام، تی. (۲۰۲۱) [۱۰۱]          | Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials | ایالات متحده آمریکا | مقاله پژوهشی |
| یانگ، ایکس. (۲۰۱۸) [۱۰۳]       | Materials Science and Engineering: C                                  | هلند                | مقاله پژوهشی |
| وی، پی. (۲۰۲۰) [۱۰۹]           | Drug Delivery                                                         | بریتانیا            | مقاله پژوهشی |
| لی، ایکس (۲۰۱۹) [۱۱۴]          | BioMed Research International                                         | ایالات متحده آمریکا | مقاله پژوهشی |
| ستایش مهر، ام. (۲۰۱۹) [۱۲۰]    | European Polymer Journal                                              | ایالات متحده آمریکا | مقاله پژوهشی |
| کائو، وای (۲۰۲۱) [۱۳۰]         | Regenerative Biomaterials                                             | بریتانیا            | مقاله پژوهشی |
| راتان، اس (۲۰۱۹) [۱۳۱]         | Advanced healthcare materials                                         | بریتانیا            | مقاله پژوهشی |
| کوسیک-کوزیول، ای. (۲۰۱۷) [۱۳۳] | Biofabrication                                                        | بریتانیا            | مقاله پژوهشی |
| خلیلی فر، ام. ای (۲۰۱۹) [۱۴۴]  | Cell Journal (Yakhteh)                                                | ایران               | مقاله پژوهشی |
| پوتوس، آی (۲۰۱۹) [۱۶۰]         | Springer Science                                                      | آلمان               | فصل کتاب     |
| هپت اشتاین، جی (۲۰۲۰) [۱۶۱]    | Advanced Healthcare Materials                                         | بریتانیا            | مقاله پژوهشی |
| ندونچیان، اس (۲۰۲۱) [۱۶۲]      | Materials Science and Engineering                                     | هلند                | مقاله پژوهشی |
| موسر، وی. اچ. ام (۲۰۱۷) [۱۶۳]  | Biofabrication                                                        | بریتانیا            | مقاله پژوهشی |

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

آوردن تصاویر سه بعدی سی تی اسکن است. از آنجایی که غضروف بینی توسط بافت نرم احاطه شده و کوچک و پیچیده است، تعیین ویژگی های دقیق مورفولوژیکی غضروف بینی دشوار است [۶، ۲۷، ۷۹]. پس از فرایند بخش بندی ۳۷ تصویر دیجیتال، مرحله بعدی، طراحی و شبیه سازی CAD مدل سه بعدی براساس تصاویر بافت مورد نظر است که توسط نرم افزارهای مدل سازی نظیر Autodesk Fusion 360، SolidWorks و 3D Slicer قابل انجام است. با استفاده از این نرم افزارهای CAD به تصویر اندازه و حجم مشخص داده می شود و اصلاح عیوب هندسی مدل قابل انجام است. همچنین این مرحله می تواند با کمک آسیب شناسی دیجیتال صورت گیرد. باید توجه داشت بروز اشکالات در طراحی CAD می تواند بر یکپارچگی ایمپلنت چاپ شده تأثیر بگذارد که نتایج نامطلوب در آزمون های بیومکانیکی برون تنی را به همراه دارد. علاوه بر این یک طراحی ضعیف می تواند منجر به عدم پایداری طولانی مدت ساختار در آزمایش های درون تنی شود. پردازش مدل سه بعدی به وسیله نرم افزار برش و تقسیم به لایه های دوبعدی، گام بعدی در این مرحله است. در نهایت فایل برش شده به یک فرمت قابل تفسیر توسط ماشین، معمولاً

در پیشروی علم پزشکی، چاپ زیستی نقش دارد که هدف آن چاپ بافت ها و اندام ها، باتوجه به جنبه های کاربردی و زیبایی شناختی است. بافت غضروف از جمله بافت هایی است که تاکنون به کمک این فناوری چاپ شده و از این فناوری برای تولید ایمپلنت های بینی با شکل و اندازه دقیق و قابل قبول استفاده شده است تا با جراحی کاشته شود [۶، ۸۱]. علاوه بر این ایمپلنت های بینی ممکن است در عمل های رینوپلاستی استفاده شوند [۳]. امروزه دستگاه های بیونیک بینی با قابلیت تشخیص بو معرفی شدند که دارای یک سیستم حسگر زیستی الکتروشیمیایی یکپارچه است که می توان آن را برای انواع بوهاء، ساختارهای شیمیایی و نشانگرهای زیستی تنظیم کرد. این دستگاه ها قابلیت یکپارچه سازی با ایمپلنت زیست چاپ شده غضروف بینی را دارند [۲۱].

#### مدل سازی سه بعدی

قبل از فرایند چاپ، تصویربرداری از توموگرافی بافت مورد نظر معمولاً با استفاده از روش های مرسوم مانند CT، MRI یا اولتراسوند انجام می شود، چراکه تصویربرداری اساس بازسازی مدل های پزشکی است. در حال حاضر روش اصلی برای به دست

جدول ۲. منابع اصلی استفاده شده برای گردآوری این مطالعه با تکیه بر آزمون‌های درون تنی

| نویسندگان                     | مجله                                               | کشور                | نوع پژوهش    |
|-------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------|--------------|
| شانتره، سی. او (۲۰۱۹) [۲۹]    | ACS applied materials & interfaces                 | ایالات متحده آمریکا | مقاله پژوهشی |
| لبر فینگر، ای. ان (۲۰۱۹) [۲۸] | Acta biomaterialia                                 | ایالات متحده آمریکا | مقاله مروری  |
| لو، سی (۲۰۲۰) [۱۰۲]           | Tissue Engineering Part C: Methods                 | ایالات متحده آمریکا | مقاله پژوهشی |
| بکتوف، ای. ای (۲۰۲۲) [۱۲۱]    | International Journal of Molecular Sciences        | سوئیس               | مقاله پژوهشی |
| آپلگرن، پی (۲۰۱۷) [۱۳۴]       | PLoS One                                           | ایالات متحده آمریکا | مقاله پژوهشی |
| زویف، دی. ای (۲۰۱۵) [۱۳۷]     | Otolaryngology--Head and Neck Surgery              | ایالات متحده آمریکا | مقاله پژوهشی |
| خلیلی فر، م. ای (۲۰۱۹) [۱۳۴]  | Cell Journal (Yakhteh)                             | ایران               | مقاله پژوهشی |
| سلمی، تی. ای (۲۰۰۸) [۱۵۰]     | The Journal of Bone & Joint Surgery British Volume | بریتانیا            | مقاله پژوهشی |
| پونتوسی، آی (۲۰۱۹) [۱۶۰]      | Springer Science                                   | آلمان               | فصل کتاب     |
| بوکینگ، تی. ام (۲۰۱۷) [۱۶۴]   | PLoS One                                           | ایالات متحده آمریکا | مقاله پژوهشی |
| شو، بی (۲۰۲۰) [۱۶۵]           | Frontiers in Bioengineering and Biotechnology      | سوئیس               | مقاله پژوهشی |

مجله دانشگاه علوم پزشکی کیران

حرارت، واکنش‌های شیمیایی یا اتصال دهنده‌ها)، فیزیکی (مانند فعل‌وانفعالات یونی)، آنزیمی یا ترکیبی از آن‌ها رخ دهد [۸۷]. برای مثال می‌توان به استفاده از نور ماورای بنفش برای اتصال عرضی هیدروژل‌های ژلاتین متاکریلات (شیمیایی) یا یون‌های کلسیم برای اتصال عرضی آلژینات (فیزیکی) اشاره کرد [۸۹، ۹۰].

#### مواد زیستی

به‌طور کلی مواد زیستی به‌کاررفته در جوهر زیستی را می‌توان به ۲ دسته طبیعی و غیرطبیعی تقسیم کرد. مواد زیستی طبیعی خود می‌توانند از منبع حیوانی یا غیرحیوانی باشند. از جمله مواد زیستی طبیعی ژلاتین، آلژینات، کلاژن، فیبروئین ابریشم، هیالورونیک اسید، کیتوزان و ECM بدون سلول در ساخت جوهرهای زیستی مناسب برای چاپ بافت غضروفی به کار رفته‌اند. مواد زیستی غیرطبیعی خود می‌توانند از منبع آلی یا معدنی باشند. از جمله آن‌ها می‌توان به پلی‌کاپرولاکتون، پلی‌اتیلن گلیکول، پلی‌لاکتیک اسید و نانولوله‌های کربنی اشاره کرد. مواد زیستی طبیعی برخلاف انواع غیرطبیعی عموماً زیست‌سازگاری خوبی دارند، اما خواص مکانیکی آنان ضعیف‌تر است [۲۷، ۸۵، ۹۱]. پلیمرهای طبیعی از آنجایی که تحت اثر آنزیم‌هایی که از سیستم بدن یا میکروارگانیسم‌ها ترشح می‌شوند قرار می‌گیرند و تجزیه می‌شوند، زیست‌تخریب‌پذیر هستند. از سوی دیگر

G-code تبدیل می‌شود تا در زمان چاپ وارد چاپگر زیستی شود [۸۱، ۸۲]. در تصویر شماره ۴ تصاویر پزشکی گرفته‌شده از غضروف آلا ر بینی از ۳ نمای مختلف نشان داده شده است [۸۳].

#### جوهر زیستی

جوهر زیستی جزو اصلی و زنده چاپ زیستی است و معمولاً حاوی ترکیبی زیست‌سازگار از مواد داربست، سلول‌های قابل کاشت و مواد زیست‌فعالی است که خواص مکانیکی و زیست‌شناختی بافت میزبان را تقلید می‌کنند [۸۴]. زیست‌سازگار یعنی هیچ اثر نامطلوب موضعی یا سیستمی ایجاد نشود و از عملکرد بافت پشتیبانی شود. همچنین جوهر زیستی ایدئال می‌بایست با دارا بودن سینتیک ژل شدن و نازک شدن برشی، قابلیت چاپ دقیق و کنترل شده داشته باشد و دارای خواص مکانیکی مناسب باشد؛ به این معنا که در شرایط اعمال نیروی خارجی شکل اولیه خود را حفظ کند. زیست‌تخریب‌پذیری و سازگاری با حداقل ۱ روش استریل شدن از دیگر ویژگی‌های جوهر زیستی ایدئال است. فرایند تخریب داربست باید با تشکیل بافت همراه باشد [۱۴، ۲۷، ۸۵]. جوهرهای زیستی چندجزئی به ترکیبی از چند نوع ماده زیستی، یک یا چند نوع سلول و مواد زیست‌فعال اطلاق می‌شود [۸۶].

طی فرایند چاپ، به کمک اتصال عرضی، جوهر زیستی به ساختاری سه‌بعدی تبدیل می‌شود. اتصال عرضی میان این محلول پلیمری می‌تواند به روش شیمیایی (مانند استفاده از نور،

جدول ۳. مزایا و معایب مهم‌ترین هیدروژل‌های زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر با پایه طبیعی

| ماده زیستی               | منشأ       | مزایا                                                                    | معایب                                                       | آزمایش انسانی | منابع                |
|--------------------------|------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------|----------------------|
| هیالورونیک اسید          | طبیعی      | ایمنی‌زایی کم                                                            | پایداری ساختاری ضعیف                                        | ✓             | [۱۳۷-۱۳۵، ۱۰۰]       |
| ژلاتین                   | طبیعی      | دسترسی آسان، هزینه کم، ظرفیت تورم، آموخته، مناسب برای اتصال سلولی        | خواص مکانیکی ضعیف، زمان تخریب کوتاه                         | —             | [۱۴۰-۱۳۸]            |
| ژلاتین متاکریلات (GelMA) | نیمه‌طبیعی | مشابه ECM طبیعی، تقویت‌کننده چسبندگی و رشد سلولی، ساختار شفاف برای نظارت | ویسکوزیته پایین، تخریب سریع                                 | —             | [۱۴۱، ۱۰۲، ۱۰۱]      |
| کلاژن                    | طبیعی      | زیست‌سازگاری بالا، پایداری مکانیکی مطلوب، پشتیبانی از رشد سلولی          | زمان پردازش اضافی جهت ژل شدن، ساختار بسیار نرم              | ✓             | [۱۴۳-۱۴۲، ۵۹]        |
| سلولز                    | طبیعی      | دسترسی گسترده، خواص مکانیکی مطلوب                                        | وجود ناخالصی و مشکلات رئولوژی                               | —             | [۱۴۶، ۱۴۵، ۸۷]       |
| فیبرین                   | طبیعی      | چسبندگی مطلوب                                                            | تخریب سریع و خواص مکانیکی ضعیف                              | ✓             | [۱۴۸، ۱۴۷، ۲۱]       |
| آلژینات                  | طبیعی      | شکل‌پذیری، قابلیت چاپ و خواص مکانیکی مطلوب با اتصال عرضی یونی            | چسبندگی سلولی نامناسب، به شدت نرم و شکننده                  | ✓             | [۱۵۰، ۱۴۹، ۱۴۷، ۱۰۳] |
| آگارز                    | طبیعی      | خواص ژل شدن با تشکیل پیوندهای هیدروژنی، قابلیت چاپ مطلوب                 | عدم پشتیبانی از چسبندگی سلولی                               | ✓             | [۱۵۰، ۱۴۳]           |
| کیتوزان                  | طبیعی      | انتشار پایدار و کنترل‌شده دارو، ماهیت ضدباکتریایی، فعالیت هموستاتیک      | نامناسب برای چاپ به دلیل خواص اسیدی، چسبندگی سلولی ضعیف     | ✓             | [۱۵۴-۱۵۱، ۱۰۶، ۹۳]   |
| فیبروژن ابریشم           | طبیعی      | کشش و استحکام مکانیکی قابل تنظیم                                         | نداشتن خواص بهینه ژل شدن                                    | —             | [۱۵۶، ۱۵۵، ۱۰۴]      |
| سلول‌زدایی شده ECM       | طبیعی      | تقلید ECM طبیعی، زیست‌سازگاری بالا، قابلیت چاپ مطلوب                     | خواص مکانیکی ضعیف، احتمال انتقال بیماری، تفاوت دسته به دسته | ✓             | [۱۵۹-۱۵۷، ۴۰]        |

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

هستند [۹۷، ۹۶]. هیدروژل‌ها می‌توانند از پلیمرهای طبیعی یا غیرطبیعی یا ترکیبی از آنان تشکیل شده باشند که برای یک جوهر زیستی بهبودیافته قابل چاپ ساخته می‌شوند [۹۹، ۹۸]. در جدول شماره ۳ فهرستی از مهم‌ترین هیدروژل‌های زیست‌سازگار طبیعی به همراه مزایا و معایب شاخص آن‌ها درج شده است. کلیه این هیدروژل‌ها آزمون‌های برون‌تنی و درون‌تنی حیوانی را با موفقیت پشت سر گذاشته‌اند. امروزه، بسیاری از این بیوپلیمرها به‌عنوان جایگزین بافت زنده وارد فاز آزمایش‌های انسانی<sup>۳۹</sup> شده‌اند.

ندونچزیان و همکاران با اصلاح هیالورونیک اسید از طریق اتصالات عرضی شیمیایی و پیوندهای غیر کووالانسی یک هیدروژل مناسب برای ترمیم غضروف ساختند [۱۰۰]. لو و همکاران یک جوهر زیستی مبتنی بر ژلاتین متاکریلات مملو از سلول تولید کرد که پس از اتصال عرضی نوری، غضروف‌زایی منحصره‌فردی از خود نشان داد. [۱۰۲، ۱۰۱] مواد زیستی طبیعی غیرحیوانی که عمدتاً از خانواده پلی‌ساکاریدها هستند، مانند آلژینات و آگارز، خواص مکانیکی و قابلیت چاپ بسیار مطلوبی دارند، اما از سویی خواص زیستی آن‌ها برای تحقق عملکرد سلولی ایدئال نیست

بیوپلیمرها مانند پلی‌کاپرولاکتون<sup>۳۸</sup> به‌صورت هیدرولیتیکی در بدن تخریب می‌شوند [۹۲].

هیدروژل‌ها زنجیره‌های پلیمری بسیار آب‌دوست هستند که با اتصالات عرضی به یکدیگر وصل شدند تا یک شبکه سه‌بعدی را تشکیل دهند [۹۳]. هیدروژل‌ها به دلیل تخلخل و توانایی بارگذاری مواد مختلف و همچنین توانایی در جذب آب و محصور کردن سلول‌ها به‌گزینه‌ای عالی برای تقلید ریزمحیط بافت میزبان بدل شده‌اند. از دیگر ویژگی‌های منحصره‌فرد هیدروژل‌ها می‌توان به زیست‌تخریب‌پذیری، زیست‌سازگاری، پشتیبانی از اتصال، رشد یا تمایز سلولی اشاره کرد. پلیمرهای طبیعی و ECM سلول‌زدایی شده به علت زیست‌سازگاری بالا و قابلیت ژل شدن، مکرراً در ساخت جوهر زیستی مناسب مهندسی بافت غضروف استفاده شده‌اند [۹۵، ۹۴، ۵۹]. همچنین هیدروژل‌ها می‌توانند به‌عنوان حامل مواد، دارو و سلول‌ها عمل کنند و در شرایط کشت، در تأمین مواد مغذی و ایجاد یک ریزمحیط مناسب برای سلول‌های محصور شده نقش ایفا کنند و پس از قرارگیری در بدن، رهاسازی کنترل‌شده مواد را باعث شوند. بنابر این دلایل هیدروژل‌ها گزینه اصلی برای مهندسی بافت غضروف با استفاده از چاپ زیستی

## منابع سلولی

یک منبع سلولی با عملکرد بیولوژیکی و ظرفیت بازسازی، ضمن عدم ایمنی‌زایی از مهم‌ترین بخش‌های یک مهندسی بافت است؛ چنان‌که بسیاری از غضروف‌های آلون اغلب توسط سیستم ایمنی بدن رد می‌شوند. کندروسیت‌های اتولوگ و سلول‌های بنیادی مزانشیمی، ۲ منبع اصلی برای مهندسی بافت غضروف بینی هستند [۱۱۶، ۱۱۵].

کندروسیت‌های اولیه اتولوگ، مطلوب‌ترین و پرمصرف‌ترین منبع سلولی برای کاربرد در جوهرهای زیستی مناسب چاپ زیستی غضروف هستند. غضروف‌های مفصلی، سپتوم، گوش و مهم‌تر از همه دنده‌ای از این دست منابع سلولی‌اند. باین‌حال به دلیل مشکلاتی همچون عوارض ناحیه اهداکننده و دسترسی، از منابع جایگزینی، مانند سلول‌های بنیادی پرتوان القایی مشتق شده از انسان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان، پد چربی زیر کشکی، سلول‌های بنیادی جنینی و غیره استفاده می‌شود. این سلول‌های بنیادی قدرت تکثیر بالایی دارند و به‌وسیله زیست‌فعال‌ها قابل تمایز به کندروسیت‌ها هستند. افزون بر این، مطالعات جدید از کشت مشترک چند نوع سلول برای دستیابی به غضروف‌زایی حمایت می‌کنند [۱۱۷، ۷۹]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی برداشته‌شده از یک بالغ، تمایل بیشتری برای تمایز به غضروف دارند [۱۱۸]. کندروسیت‌های به‌دست‌آمده از تیغه بینی توانایی تکثیر نسبتاً بالاتری برای تولید بافت‌های هیالین دارند [۱۱۴]. منابع آلونیک یا اهداکننده افزون بر مشکلات منابع اتولوگ، می‌توانند رد شدن توسط بافت میزبان و نیاز به سرکوب سیستم ایمنی به‌صورت مادام‌العمر را در پی داشته باشند [۱۱۹، ۱۲۰].

کندروسیت‌ها می‌توانند از منبع انسانی یا حیوانی تهیه شوند، اما باید توجه داشت فنوتیپ آن‌ها به‌سرعت در محیط آزمایشگاهی از بین می‌رود که این امر را می‌توان با فاکتورهای رشد کنترل کرد [۱۲۰، ۱۱۴]. در آزمایشی که اوگنی و همکاران انجام دادند منبع سلولی از غضروف دنده‌ای موش‌های تازه متولدشده تأمین شد که محتوای سلولی بالایی را فراهم کردند [۱۲۱].

## زیست‌فعال‌ها

عوامل زیست‌فعال نقش کلیدی در هدایت سلولی و بهبود خواص بیوشیمیایی و بیومکانیکی بافت دارند. فاکتورهای رشدی همچون فاکتور رشد تغییردهنده بتا، فاکتور رشد شبه‌انسولین و فاکتور رشد فیبروبلاست جهت تنظیم سنتز و متابولیسم ماتریکس غضروفي، تقویت تکثیر و تمایز و حفظ فنوتیپ در جوهر زیستی استفاده می‌شوند. برای نمونه فاکتورهای رشد تغییردهنده بتا ۱ و ۳ جهت تحریک تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های غضروفي کاربرد دارد [۱۲۲، ۱۲۳]. در مطالعات مشخص شد فاکتورهای

[۸۴]. تلفیق دیگر پلیمرهای طبیعی همچون ژلاتین و کلاژن با آلزینات برای رسیدن به خواص زیستی مدنظر بسیار رایج است. یانگ ایکس و همکاران از غضروف مهندسی‌شده کلاژن - آلزینات استفاده کردند که قادر است فنوتیپ غضروفي را به‌طور مؤثر حفظ کند و نرخ انبساط و خواص مکانیکی مطلوبی داشته باشد [۱۰۴، ۱۰۳].

در تحقیقی که وایشر و همکاران انجام دادند یک جوهر زیستی سلول‌زدایی‌شده مبتنی بر ECM غضروفي ضمن اتصال عرضی نوری، با ایجاد ریزمحیطی برای فعالیت و بلوغ سلولی و پایداری مکانیکی نتایج امیدوارکننده‌ای برای بازسازی غضروف ارائه کرد [۱۰۵]. پلی‌استر پلی‌کاپرولاکتون<sup>۴۰</sup> پلیمری زیست‌سازگار، با سرعت تخریب مناسب و دارای خواص مکانیکی مطلوب است که عمدتاً به‌عنوان چارچوب هیدروژل‌ها، مثلاً برای پشتیبانی مکانیکی از ساختار غضروف، استفاده می‌شود. باوجوداین، توانایی محصور کردن سلول‌ها را ندارد. چراکه ذوب یا حل کردن پلیمر در حلال برای سلول‌ها آسیب‌زا است [۱۰۶-۱۰۸]. میکروالیاف‌های پلی‌استر پلی‌کاپرولاکتون به دلیل خواص مکانیکی مناسب در جوهرهای زیستی استفاده می‌شوند. با افزودن میکروالیاف پلی‌استر پلی‌کاپرولاکتون به جوهر زیستی، می‌توان مدول الاستیک آلزینات و ژلاتین متاکریلات را به ترتیب ۵۴۴ و ۴۵ برابر افزایش داد [۱۰۹]. باین‌حال سطح آبریز پلی‌استر پلی‌کاپرولاکتون دارای میل سلولی ضعیف است. جوهرهای زیستی هیبریدی که نانوذرات PDA و پلی (ال - لاکتیک اسید - کو - گلیکولید)<sup>۴۱</sup> را از طریق چاپ سه‌بعدی در داربست پلی‌استر پلی‌کاپرولاکتون وارد می‌کنند، می‌توانند زاویه تماس آب با پلی‌استر پلی‌کاپرولاکتون خالص را کاهش دهند و زیست‌سازگاری ریزمحیط را بهبود بخشند [۱۱۰]. پلی‌اتیلن گلیکول<sup>۴۲</sup> پلیمری خطی و محلول در آب است که معمولاً به اشکال پلی (اتیلن گلیکول) دیاکریلات<sup>۴۳</sup> یا متاکریلات<sup>۴۴</sup> در چاپ زیستی کاربرد دارد [۱۱۲، ۱۱۱]. پلی‌لاکتیک اسید<sup>۴۵</sup> و پلی (ال - لاکتیک اسید - کو - گلیکولید) به دلیل ساختار قابل تنظیم، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری در جوهرهای زیستی قابل استفاده است. باین‌حال به دلیل آب‌گریزی، آن‌ها چسبندگی سلولی ضعیفی دارند [۱۱۳]. مطالعات ثابت کرده‌اند که نانولوله‌های کربنی تولیدشده با استفاده از فناوری چاپ زیستی می‌توانند خواص فیزیکی داربست‌های غضروفي را افزایش دهند [۹۰]. برخی از هیدروژل‌های مصنوعی مانند هیدروژل پلی‌متاکریله‌شده برای مهندسی بافت غضروف مناسب به نظر می‌رسند [۱۱۴].

40. Polycaprolactone (PCL)

41. Poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA)

42. Polyethylene Glycol (PEG)

43. Polyethylene Glycol Diacrylate (PEGDA)

44. Poly (ethylene glycol) Methacrylate (PEGMA)

45. Polylactic acid (PLA)

رشد فیبروبلاست<sup>۴۶</sup> پتانسیل غضروفی شدن در طول دوره کشت بافت چاپ شده را به طور قابل توجهی افزایش داده‌اند. همچنین داروهای مختلف، هورمون‌ها و سیتوکین‌ها را می‌توان برای تقویت رشد سلول‌ها در نظر گرفت [۱۲۴].

#### ارزیابی‌های برون‌تنی

کشت مدل‌های سه‌بعدی به شکل وسیعی در تحقیقات زیست‌پزشکی مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین چاپ بافت‌های مقیاس کوچک به شکل میکروسفرهای هیدروژل<sup>۴۷</sup> نیز در زمینه مهندسی بافت و غربالگری دارو کاربرد دارد [۱۲۵]. پس از چاپ زیستی بافت، بافت چاپ سه‌بعدی شده ممکن است در شرایط برون‌تنی به وسیله بیوراکتورها کشت داده شود تا پیش از کاشت درون بدن بالغ شود [۱۲۶]. بیوراکتورها با شبیه‌سازی محیط بافت طبیعی، مواد مغذی و محرک‌های رشد را برای بافت چاپ شده تأمین می‌کنند. برای کشت باید به الزامات ذاتی و رفتاری هر نوع سلول توجه داشت [۱۲۷، ۱۲۸]. آزمون کمی سمیت سلولی MTT، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - آئوزین، رنگ‌آمیزی دی، رنگ آلیسان آبی برای گلیکوزامینوگلیکان‌ها<sup>۴۸</sup>، ارزیابی‌های فلوسیتومتری و مطالعه به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۴۹</sup> از جمله بررسی‌هایی است که محققان برای ارزیابی زنده‌مانی، بافت‌شناسی و ریخت‌شناسی بافت چاپ شده انجام می‌دهند. همچنین سنجش کمی محتوای گلیکوزامینوگلیکان‌ها، DNA و کلاژن نوع II در ECM، طیف‌سنجی تبدیل فوری، بلورنگاری پرتوی ایکس، سنجش فعالیت میتوکندری، آزمون نسبت تورم و آزمون‌های رتولوژیکی و مکانیکی نیز برای بررسی‌های دقیق‌تر می‌تواند صورت بگیرد تا ویژگی‌ها، فنوتیپ و کارایی ساختار چاپ شده مشخص شود [۱۱۲، ۱۲۹].

بر اساس مطالعات، چاپ زیستی اکستروژن هیدروژل‌های آلژینات و آگارز از تشکیل هیالین بیشتری نسبت به هیدروژل‌های دیگر پشتیبانی می‌کند [۱۰۹]. داربست‌های پلی‌استر پلی‌کاپرولاکتون / آلژینات چاپ شده حاوی فاکتور رشد تغییردهنده بتا<sup>۵۰</sup>، منجر به تشکیل سطوح بالاتری ECM شدند [۱۳۰]. باید توجه داشت که برای شناسایی سلول‌ها در منبع جمع‌آوری شده از رنگ‌آمیزی آبی آلیسان استفاده می‌شود. تولید گلیکوزامینوگلیکان و تجمع آن‌ها در ECM نمایانگر وجود سلول‌هاست [۱۲۱]. هنگامی که سلول‌های بنیادی مزانشیمی در کنار فاکتور رشد تغییردهنده بتا<sup>۳</sup> به جوهرهای زیستی اضافه‌شده پشتیبانی قابل توجهی برای ایجاد غضروف مستحکم نشان داد که این ترکیب برای استراتژی چاپ در جابجا مناسب تلقی شد [۱۳۱].

لیم و همکاران به کمک جوهر زیستی متشکل از سلول‌های بنیادی مزانشیمی، متاکریلات پلی‌وینیل الکل و ژلاتین متاکریلات و بکارگیری چاپگر پردازش نور دیجیتال تعدادی ساختار بیولوژیکی با دقت بالا چاپ کردند. پس از ۲۱ روز کشت، زنده ماندن بالای (۹۰ درصد) را حفظ کردند [۱۳۲]. یانگ و همکاران توانستند به کمک فناوری چاپ زیستی اکستروژن داربست‌های سدیم آلژینات / آگارز و سدیم آلژینات / کلاژن را همراه کندروسیت‌ها چاپ کنند. مشخص شد جوهر زیستی سدیم آلژینات / کلاژن ترکیبی بالقوه برای بازسازی غضروف است، چرا که در کشت سلولی افزایش تکثیر، بیان ژن اختصاصی غضروف و چسبندگی سلول غضروفی را نشان داد [۱۰۳]. همچنین در آزمایش کوشیک کوژول و همکاران آلژینات و میکروفیبرهای پلی لاکتیک اسید را همراه با کندروسیت‌های انسانی چاپ کردند که در بررسی‌ها زنده‌مانی ۸۰ درصد و خواص مکانیکی بهبود یافته را نتیجه داد [۱۳۳].

#### ارزیابی‌های درون‌تنی

بدیهی است زمانی که یک ایمپلنت به عنوان یک جسم خارجی در بافت میزبان قرار می‌گیرد عوارض مختلفی ممکن است رخ دهد [۹۲]. در حال حاضر اگرچه تحقیقات گسترده‌ای در زمینه چاپ زیستی غضروف بینی صورت گرفته، اما اکثر آن‌ها فاقد تحقیقات بالینی هستند، چرا که عمدتاً ساختارها به حدی بالغ نشدند که برای این تحقیقات تأیید شوند [۵].

در مطالعه‌ای که لان و همکاران انجام دادند، ساختارهای هیدروژل کلاژن و کندروسیت پس از آنکه در چند دوره کشت در انکوباتور خواص مکانیکی مطلوب و فنوتیپ غضروف بینی را نشان دادند، به صورت زیرجلدی در ۷ موش برهنه کاشته شدند. یک موش به عنوان نمونه کنترل، داربست بدون سلول را دریافت کرد. هیچ عارضه‌ای پس از جراحی مشاهده نشد و ۵ هفته پس از کاشت ارزیابی‌های مکانیکی، بافت‌شناسی و ایمنی‌شناسی روی ایمپلنت‌ها انجام شد. نتایج حاکی از آن بود که چاپ زیستی غضروف بینی می‌تواند گزینه‌ای قوی برای جراحی بازساختی بینی باشد [۲]. در آزمایش مشابهی آپلگرن و همکاران ۴۸ موش ماده برهنه مورد استفاده قرار دادند. در ساختارهای کاشته‌شده غضروف‌زایی پیش‌رونده و یکپارچگی ساختاری مشاهده شد و پس از ۲ ماه، مورفولوژی ایمپلنت مانند غضروف بومی شد [۱۳۴].

#### نتیجه‌گیری

چاپ زیستی سه‌بعدی از فناوری‌های نوظهوری است که در پزشکی بازساختی، با ترمیم و بهبود بافت غضروفی بینی توانایی بالقوه‌ای را از خود نشان داده است. روش‌های بازسازی بافت غضروفی تا چندی پیش محدود به استفاده از غضروف‌های اتولوگ، آلوژنیک یا استفاده از پیوندهای آلوپلاستیک بوده که هر یک معایب اجتناب‌ناپذیری به همراه داشته است. به همین جهت، چاپ زیستی برای حل این معضلات در پزشکی بازساختی به کار گرفته می‌شود. با توجه به الزامات خاص جوهر زیستی بافت هدف، محققان از فناوری‌های مختلفی برای چاپ بافت و

46. Fibroblast Growth Factors (FGFs)

47. Hydrogel microspheres

48. Glycosaminoglycans (GAGs)

49. Scanning Electron Microscope (SEM)

50. TGF-β

اندام بهره‌برده‌اند که هر یک مزایا و محدودیت‌های ویژه‌ای دارند. فناوری چاپ زیستی همچنین یک بازار تجاری رو به رشد است که امروزه ارزش جهانی آن به حدود ۲/۶ میلیارد دلار می‌رسد.

بر اساس مطالعات درون‌تنی و برون‌تنی که تا به امروز بر روی بافت چاپ‌شده غضروفی بینی صورت گرفته است، فناوری چاپ زیستی توانسته است بافت میزبان غضروف را تا حد بسیار قابل قبولی از لحاظ مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مکانیکی تقلید کند. اگرچه استفاده از این فناوری در سطح بالینی همچنان با محدودیت‌هایی روبه‌رو است، اما چشم‌انداز این فناوری از آنجایی امیدوارکننده است که می‌تواند با هزینه پایین، دقت منحصر به فرد و شخصی‌سازی، معایب و نقایص بینی را برطرف کند.

## ملاحظات اخلاقی

### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله از نوع مروری است و هیچ‌گونه آزمایشی بر روی انسان یا حیوان نداشته است. هیچ‌کدام از داده‌ها در حمایت از نتیجه‌نهایی پژوهش دست‌کاری نشده‌اند و به تمامی مطالعات در دسترس در راستای موضوع پژوهش اشاره شده است.

### حامی مالی

این تحقیق هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

### مشارکت‌نویسندگان

مفهوم‌سازی، طراحی مطالعه، کسب، تحلیل و تفسیر داده‌ها: فاطمه طوسی‌زاده خراسانی، حسین رستمی؛ تهیه پیش‌نویس دست‌نوشته: حسین رستمی؛ بازبینی نقادانه دست‌نوشته برای محتوای فکری مهم: امید فخرایی، نرگس کلیدری؛ تحلیل آماری: حسین رستمی؛ نظارت: امید فخرایی.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در این مقاله هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از گروه مهندسی پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد که در این پژوهش ما را همراهی کردند، تشکر و قدردانی کنند.

## References

- [1] Chiesa-Estomba CM, Aiastui A, González-Fernández I, Hernández-Moya R, Rodiño C, Delgado A, et al. Three-dimensional bioprinting scaffolding for nasal cartilage defects: A systematic review. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2021; 18(3):343-53. [DOI:10.1007/s13770-021-00331-6] [PMID]
- [2] Lan X, Liang Y, Vyhlidal M, Erkut EJ, Kunze M, Mulet-Sierra A, et al. In vitro maturation and in vivo stability of bioprinted human nasal cartilage. *Journal of Tissue Engineering*. 2022; 13:20417314221086368. [DOI:10.1177/20417314221086368] [PMID]
- [3] Agarwal T, Chiesa I, Presutti D, Irawan V, Vajanthri KY, Costantini M, et al. Recent advances in bioprinting technologies for engineering different cartilage-based tissues. *Materials Science and Engineering: C*. 2021; 123:112005. [DOI:10.1016/j.msec.2021.112005] [PMID]
- [4] Ruiz-Cantu L, Gleadow A, Faris C, Segal J, Shakesheff K, Yang J. Multi-material 3D bioprinting of porous constructs for cartilage regeneration. *Materials Science & Engineering: C, Materials for Biological Applications*. 2020; 109:110578. [DOI:10.1016/j.msec.2019.110578] [PMID]
- [5] Wang H, Wang Z, Liu H, Liu J, Li R, Zhu X, et al. Three-dimensional printing strategies for irregularly shaped cartilage tissue engineering: Current state and challenges. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022; 9:777039. [DOI:10.3389/fbioe.2021.777039] [PMID]
- [6] Shi B, Huang H. Computational technology for nasal cartilage-related clinical research and application. *International Journal of Oral Science*. 2020; 12(1):21. [DOI:10.1038/s41368-020-00089-y] [PMID]
- [7] Alkaya D, Gurcan C, Kilic P, Yilmazer A, Gurman G. Where is human-based cellular pharmaceutical R&D taking us in cartilage regeneration? *3 Biotech*. 2020; 10(4):161. [DOI:10.1007/s13205-020-2134-5] [PMID]
- [8] Eshkalak SK, Ghomi ER, Dai Y, Choudhury D, Ramakrishna S. The role of three-dimensional printing in healthcare and medicine. *Materials & Design*. 2020; 194:108940. [DOI:10.1016/j.matdes.2020.108940]
- [9] Bigham A, Foroughi F, Rezvani Ghomi E, Rafienia M, Neisiany RE, Ramakrishna S. The journey of multifunctional bone scaffolds fabricated from traditional toward modern techniques. *Bio-Design and Manufacturing*. 2020; 3:281-306. [DOI:10.1007/s42242-020-00094-4]
- [10] Osborn LS. 3D printing and intellectual property. Cambridge: Cambridge University Press; 2019. [DOI:10.1017/9781316584507]
- [11] Jian H, Wang M, Wang S, Wang A, Bai S. 3D bioprinting for cell culture and tissue fabrication. *Bio-Design and Manufacturing*. 2018; 1:45-61. [DOI:10.1007/s42242-018-0006-1]
- [12] Xie Z, Gao M, Lobo AO, Webster TJ. 3D bioprinting in tissue engineering for medical applications: The classic and the hybrid. *Polymers*. 2020; 12(8):1717. [DOI:10.3390/polym12081717]
- [13] Ghasemian Fard M, Sharifianjazi F, Kazemi SS, Rostamani H, Bathaei MS. Laser-based additive manufacturing of magnesium alloys for bone tissue engineering applications: From chemistry to clinic. *Journal of Manufacturing and Materials Processing*. 2022; 6(6):158. [DOI:10.3390/jmmp6060158]
- [14] Stampoultzis T, Karami P, Pioletti DP. Thoughts on cartilage tissue engineering: A 21st century perspective. *Current Research in Translational Medicine*. 2021; 69(3):103299. [DOI:10.1016/j.retram.2021.103299] [PMID]
- [15] You S, Li J, Zhu W, Yu C, Mei D, Chen S. Nanoscale 3D printing of hydrogels for cellular tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry B*. 2018; 6(15):2187-97. [DOI:10.1039/C8TB00301G] [PMID]
- [16] Thayer P, Martinez H, Gatenholm E. History and Trends of 3D Bioprinting. *Methods in Molecular Biology*. 2020; 2140:3-18. [DOI:10.1007/978-1-0716-0520-2\_1] [PMID]
- [17] Ning L, Yang B, Mohabatpour F, Betancourt N, Sarker MD, Papagerakis P, et al. Process-induced cell damage: Pneumatic versus screw-driven bioprinting. *Biofabrication*. 2020; 12(2):025011. [DOI:10.1088/1758-5090/ab5f53] [PMID]
- [18] Fu Z, Naghieh S, Xu C, Wang C, Sun W, Chen X. Printability in extrusion bioprinting. *Biofabrication*. 2021; 13(3):033001. [DOI:10.1088/1758-5090/abe7ab] [PMID]
- [19] Schwab A, Levato R, D'Este M, Piluso S, Eglín D, Malda J. Printability and shape fidelity of bioinks in 3D bioprinting. *Chemical Reviews*. 2020; 120(19):11028-55. [DOI:10.1021/acs.chemrev.0c00084] [PMID]
- [20] Miri AK, Nieto D, Iglesias L, Goodarzi Hosseinabadi H, Maharjan S, Ruiz-Esparza GU, et al. Microfluidics-enabled multimaterial maskless stereolithographic bioprinting. *Advanced Materials*. 2018; 30(27):1800242. [DOI:10.1002/adma.201800242]
- [21] Gupta N, Cruz MA, Nasser P, Rosenberg JD, Iatridis JC. Fibrinogenipin hydrogel for cartilage tissue engineering in nasal reconstruction. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*. 2019; 128(7):640-6. [DOI:10.1177/0003489419836667] [PMID]
- [22] Zhang S, Wang H. Current progress in 3D bioprinting of tissue analogs. *SLAS Technology*. 2019; 24(1):70-8. [DOI:10.1177/2472630318799971] [PMID]
- [23] Kasper C, Egger D, Lavrentieva A. Basic concepts on 3d cell culture. Berlin: Springer; 2021. [DOI:10.1007/978-3-030-66749-8]
- [24] Singh M, Jonnalagadda S. Advances in bioprinting using additive manufacturing. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020; 143:105167. [DOI:10.1016/j.ejps.2019.105167] [PMID]
- [25] Highley CB, Song KH, Daly AC, Burdick JA. Jammed microgel inks for 3D printing applications. *Advanced Science*. 2018; 6(1):1801076. [DOI:10.1002/advs.201801076] [PMID]
- [26] Highley CB. 3D bioprinting technologies. In: Guvendiren M. 3D bioprinting in medicine: Technologies, bioinks, and applications. Berlin: Springer; 2019. [DOI:10.1007/978-3-030-23906-0\_1]
- [27] Xing F, Xiang Z, Rommens PM, Ritz U. 3D bioprinting for vascularized tissue-engineered bone fabrication. *Materials*. 2020; 13(10):2278. [DOI:10.3390/ma13102278] [PMID]

- [28] Ramesh S, Harrysson OL, Rao PK, Tamayol A, Cormier DR, Zhang Y, et al. Extrusion bioprinting: Recent progress, challenges, and future opportunities. *Bioprinting*. 2021; 21:e00116. [DOI:10.1016/j.bprint.2020.e00116]
- [29] Chantre CO, Gonzalez GM, Ahn S, Cera L, Campbell PH, Hoerstrup SP, et al. Porous biomimetic hyaluronic acid and extracellular matrix protein nanofiber scaffolds for accelerated cutaneous tissue repair. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2019; 11(49):45498-510. [DOI:10.1021/acsami.9b17322] [PMID]
- [30] Choudhury D, Anand S, Naing MW. The arrival of commercial bioprinters - Towards 3D bioprinting revolution! *International Journal of Bioprinting*. 2018; 4(2):139. [DOI:10.18063/ijb.v4i2.139] [PMID]
- [31] Maniruzzaman M. 3D and 4D printing in biomedical applications: Process engineering and additive manufacturing. New Jersey: John Wiley & Sons; 2019. [DOI:10.1002/9783527813704]
- [32] Ravanbakhsh H, Bao G, Luo Z, Mongeau LG, Zhang YS. Composite inks for extrusion printing of biological and biomedical constructs. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2021; 7(9):4009-26. [DOI:10.1021/acsbiomaterials.0c01158] [PMID]
- [33] Huang J, Xiong J, Wang D, Zhang J, Yang L, Sun S, et al. 3D bioprinting of hydrogels for cartilage tissue engineering. *Gels*. 2021; 7(3):144. [DOI:10.3390/gels7030144] [PMID]
- [34] Pedroza-González SC, Rodríguez-Salvador M, Pérez-Benítez BE, Alvarez MM, Santiago GT. Bioinks for 3D bioprinting: A scientometric analysis of two decades of progress. *International Journal of Bioprinting*. 2021; 7(2):333. [DOI:10.18063/ijb.v7i2.337] [PMID]
- [35] Cui H, Nowicki M, Fisher JP, Zhang LG. 3D bioprinting for organ regeneration. *Advanced Healthcare Materials*. 2017; 6(1):1601118. [DOI:10.1002/adhm.201601118] [PMID]
- [36] Liu W, Zhong Z, Hu N, Zhou Y, Maggio L, Miri AK, et al. Coaxial extrusion bioprinting of 3D microfibrillar constructs with cell-favorable gelatin methacryloyl microenvironments. *Biofabrication*. 2018; 10(2):024102. [DOI:10.1088/1758-5090/aa9d44] [PMID]
- [37] Unagolla JM, Jayasuriya AC. Hydrogel-based 3D bioprinting: A comprehensive review on cell-laden hydrogels, bioink formulations, and future perspectives. *Applied Materials Today*. 2020; 18:100479. [DOI:10.1016/j.apmt.2019.100479] [PMID]
- [38] Lee JM, Sing SL, Zhou M, Yeong WY. 3D bioprinting processes: A perspective on classification and terminology. *International Journal of Bioprinting*. 2018; 4(2):151. [DOI:10.18063/ijb.v4i2.151] [PMID]
- [39] Jacob GT, Passamai VE, Katz S, Castro GR, Alvarez V. Hydrogels for extrusion-based bioprinting: General considerations. *Bioprinting*. 2022; 27:e00212. [DOI:10.1016/j.bprint.2022.e00212]
- [40] Mao H, Yang L, Zhu H, Wu L, Ji P, Yang J, et al. Recent advances and challenges in materials for 3D bioprinting. *Progress in Natural Science: Materials International*. 2020; 30(5):618-34. [DOI:10.1016/j.pnsc.2020.09.015]
- [41] Tetsuka H, Shin SR. Materials and technical innovations in 3D printing in biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*. 2020; 8(15):2930-50. [DOI:10.1039/D0TB00034E] [PMID]
- [42] Kang D, Hong G, An S, Jang I, Yun WS, Shim JH, et al. Bioprinting of multiscaled hepatic lobules within a highly vascularized construct. *Small*. 2020; 16(13):1905505. [DOI:10.1002/smll.201905505]
- [43] Betancourt N, Chen X. Review of extrusion-based multi-material bioprinting processes. *Bioprinting*. 2022; 25:e00189. [DOI:10.1016/j.bprint.2021.e00189]
- [44] Jiang T, Munguia-Lopez JG, Flores-Torres S, Grant J, Vijayakumar S, Leon-Rodriguez AD, et al. Directing the self-assembly of tumour spheroids by bioprinting cellular heterogeneous models within alginate/gelatin hydrogels. *Scientific Reports*. 2017; 7(1):4575. [DOI:10.1038/s41598-017-04691-9] [PMID]
- [45] Zhou LY, Gao Q, Fu JZ, Chen QY, Zhu JP, Sun Y, et al. Multi-material 3D printing of highly stretchable silicone elastomers. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2019; 11(26):23573-83. [DOI:10.1021/acsami.9b04873] [PMID]
- [46] Tan B, Gan S, Wang X, Liu W, Li X. Applications of 3D bioprinting in tissue engineering: Advantages, deficiencies, improvements, and future perspectives. *Journal of Materials Chemistry B*. 2021; 9(27):5385-413. [DOI:10.1039/D1TB00172H] [PMID]
- [47] Gao G, Yonezawa T, Hubbell K, Dai G, Cui X. Inkjet-bioprinted acrylated peptides and PEG hydrogel with human mesenchymal stem cells promote robust bone and cartilage formation with minimal printhead clogging. *Biotechnology Journal*. 2015; 10(10):1568-77. [DOI:10.1002/biot.201400635] [PMID]
- [48] Zhang Z, Jin Y, Yin J, Xu C, Xiong R, Christensen K, et al. Evaluation of bioink printability for bioprinting applications. *Applied Physics Reviews*. 2018; 5(4):041304. [DOI:10.1063/1.5053979]
- [49] Miri AK, Mirzaei I, Hassan S, Mesbah Oskui S, Nieto D, Khademhosseini A, et al. Effective bioprinting resolution in tissue model fabrication. *Lab On A Chip*. 2019; 19(11):2019-37. [DOI:10.1039/C8LC01037D] [PMID]
- [50] Shen Y, Tang H, Huang X, Hang R, Zhang X, Wang Y, et al. DLP printing photocurable chitosan to build bio-constructs for tissue engineering. *Carbohydrate Polymers*. 2020; 235:115970. [DOI:10.1016/j.carbpol.2020.115970] [PMID]
- [51] Lee JM, Ng WL, Yeong WY. Resolution and shape in bioprinting: Strategizing towards complex tissue and organ printing. *Applied Physics Reviews*. 2019; 6(1):011307. [DOI:10.1063/1.5053909]
- [52] Du X. 3D bio-printing review. Paper presented at: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 15–17 December 2017, Xiamen, China. [Link]
- [53] Zhang B, Gao L, Ma L, Luo Y, Yang H, Cui Z. 3D bioprinting: A novel avenue for manufacturing tissues and organs. *Engineering*. 2019; 5(4):777-94. [DOI:10.1016/j.eng.2019.03.009]
- [54] Zhou D, Chen J, Liu B, Zhang X, Li X, Xu T. Bioinks for jet-based bioprinting. *Bioprinting*. 2019; 16:e00060. [DOI:10.1016/j.bprint.2019.e00060]

- [55] Kumar K, Zindani D, Davim JP. Rapid prototyping, rapid tooling and reverse engineering: From biological models to 3d bioprinters: Walter de Gruyter GmbH & Co KG; 2020. [DOI:10.1515/9783110664904]
- [56] Derakhshanfar S, Mbeleck R, Xu K, Zhang X, Zhong W, Xing M. 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances. *Bioactive Materials*. 2018; 3(2):144-56. [DOI:10.1016/j.bioactmat.2017.11.008] [PMID]
- [57] Zhang B, Luo Y, Ma L, Gao L, Li Y, Xue Q, et al. 3D bioprinting: An emerging technology full of opportunities and challenges. *Bio-Design and Manufacturing*. 2018; 1:2-13. [DOI:10.1007/s42242-018-0004-3]
- [58] Li H, Tan C, Li L. Review of 3D printable hydrogels and constructs. *Materials & Design*. 2018; 159:20-38. [DOI:10.1016/j.matdes.2018.08.023]
- [59] Khoeini R, Nosrati H, Akbarzadeh A, Eftekhari A, Kavetsky T, Khalilov R, et al. Natural and synthetic bioinks for 3D bioprinting. *Advanced NanoBiomed Research*. 2021; 1(8):2000097. [DOI:10.1002/anbr.202000097]
- [60] Mondschein RJ, Kanitkar A, Williams CB, Verbridge SS, Long TE. Polymer structure-property requirements for stereolithographic 3D printing of soft tissue engineering scaffolds. *Biomaterials*. 2017; 140:170-88. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2017.06.005] [PMID]
- [61] Ong LJY, Islam A, DasGupta R, Iyer NG, Leo HL, Toh YC. A 3D printed microfluidic perfusion device for multicellular spheroid cultures. *Biofabrication*. 2017; 9(4):045005. [DOI:10.1088/1758-5090/aa8858] [PMID]
- [62] Raman R, Bhaduri B, Mir M, Shkumatov A, Lee MK, Popescu G, et al. High-resolution projection microstereolithography for patterning of neovasculature. *Advanced Healthcare Materials*. 2016; 5(5):610-9. [DOI:10.1002/adhm.201500721] [PMID]
- [63] Magalhães LSSM, Santos FEP, Elias CMV, Afewerki S, Sousa GF, Furtado ASA, et al. Printing 3D hydrogel structures employing low-cost stereolithography technology. *Journal of Functional Biomaterials*. 2020; 11(1):12. [DOI:10.3390/jfb11010012] [PMID]
- [64] De S, Jose J, Pal A, Roy Choudhury S, Roy S. Exposure to low UV-B dose induces DNA double-strand breaks mediated onset of endoreduplication in *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek seedlings. *Plant and Cell Physiology*. 2022; 63(4):463-83. [DOI:10.1093/pcp/pcac012] [PMID]
- [65] Kumar H, Kim K. Stereolithography 3D Bioprinting. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.). 2020; 2140:93-108. [DOI:10.1007/978-1-0716-0520-2\_6] [PMID]
- [66] Moura D, Pereira RF, Goncalves IC. Recent advances on bioprinting of hydrogels containing carbon materials. *Materials Today Chemistry*. 2022; 23:100617. [DOI:10.1016/j.mtchem.2021.100617]
- [67] Xiang Y, Miller K, Guan J, Kiratitanaporn W, Tang M, Chen S. 3D bioprinting of complex tissues in vitro: State-of-the-art and future perspectives. *Archives of Toxicology*. 2022; 96(3):691-710. [DOI:10.1007/s00204-021-03212-y] [PMID]
- [68] Zhu W, Qu X, Zhu J, Ma X, Patel S, Liu J, et al. Direct 3D bioprinting of prevascularized tissue constructs with complex microarchitecture. *Biomaterials*. 2017; 124:106-15. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2017.01.042] [PMID]
- [69] Xia N, Jin D, Iacovacci V, Zhang L. 3D printing of functional polymers for miniature machines. *Multifunctional Materials*. 2022; 5(1):012001. [DOI:10.1088/2399-7532/ac4836]
- [70] Debnath SK, Debnath M, Srivastava R, Omri A. Intervention of 3D printing in health care: Transformation for sustainable development. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2021; 18(11):1659-72. [DOI:10.1080/17425247.2021.1981287] [PMID]
- [71] Leberfinger AN, Dinda S, Wu Y, Koduru SV, Ozbolat V, Ravnic DJ, et al. Bioprinting functional tissues. *Acta Biomaterialia*. 2019; 95:32-49. [DOI:10.1016/j.actbio.2019.01.009] [PMID]
- [72] Han D, Yang C, Fang NX, Lee H. Rapid multi-material 3D printing with projection micro-stereolithography using dynamic fluidic control. *Additive Manufacturing*. 2019; 27:606-15. [DOI:10.1016/j.addma.2019.03.031]
- [73] Kim YT, Castro K, Bhattacharjee N, Folch A. Digital manufacturing of selective porous barriers in microchannels using multi-material stereolithography. *Micromachines*. 2018; 9(3):125. [DOI:10.3390/mi9030125] [PMID]
- [74] McGivern S, Boutouil H, Al-Kharusi G, Little S, Dunne NJ, Levingstone TJ. Translational application of 3D bioprinting for cartilage tissue engineering. *Bioengineering*. 2021; 8(10):144. [DOI:10.3390/bioengineering8100144] [PMID]
- [75] Baddam P, Bayona-Rodriguez F, Campbell SM, El-Hakim H, Graf D. Properties of the nasal cartilage, from development to adulthood: A scoping review. *Cartilage*. 2022; 13(1):19476035221087696. [DOI:10.1177/19476035221087696] [PMID]
- [76] Murphy SV, De Coppi P, Atala A. Opportunities and challenges of translational 3D bioprinting. *Nature Biomedical Engineering*. 2020; 4(4):370-80. [DOI:10.1038/s41551-019-0471-7] [PMID]
- [77] Agarwal S, Saha S, Balla VK, Pal A, Barui A, Bodhak S. Current developments in 3D bioprinting for tissue and organ regeneration-A review. *Frontiers in Mechanical Engineering*. 2020; 6:589171. [DOI:10.3389/fmech.2020.589171]
- [78] Lavernia L, Brown WE, Wong BJ, Hu JC, Athanasiou KA. Toward tissue-engineering of nasal cartilages. *Acta Biomaterialia*. 2019; 88:42-56. [DOI:10.1016/j.actbio.2019.02.025] [PMID]
- [79] Sun Y, Zhao Z, An Y. Application of digital technology in nasal reconstruction. *Chinese Journal of Plastic and Reconstructive Surgery*. 2021; 3(4):204-8. [DOI:10.1016/j.cjprs.2021.12.001]
- [80] Wade DE. 3D Printing, Valuation, and Service Inputs: Looking to the future rather than the past to design rules of origin for advanced manufactured products. *Brexit Institute Working Paper Series*. 2024; No 02/2024. [Link]
- [81] Wang X, Zhao L, Fuh JYH, Lee HP. Effect of porosity on mechanical properties of 3D printed polymers: Experiments and micromechanical modeling based on X-ray computed tomography analysis. *Polymers*. 2019; 11(7):1154. [DOI:10.3390/polym11071154] [PMID]

- [82] Fay CD. Computer-Aided Design and Manufacturing (CAD/CAM) for Bioprinting. *Methods in Molecular Biology*. 2020; 2140:27-41. [DOI:10.1007/978-1-0716-0520-2\_3] [PMID]
- [83] Visscher DO, Lee H, van Zuijlen PPM, Helder MN, Atala A, Yoo JJ, et al. A photo-crosslinkable cartilage-derived extracellular matrix bioink for auricular cartilage tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. 2021; 121:193-203. [DOI:10.1016/j.actbio.2020.11.029] [PMID]
- [84] Chimene D, Lennox KK, Kaunas RR, Gaharwar AK. Advanced bioinks for 3D printing: A materials science perspective. *Annals of Biomedical Engineering*. 2016; 44(6):2090-102. [DOI:10.1007/s10439-016-1638-y] [PMID]
- [85] Bian L. Functional hydrogel bioink, a key challenge of 3D cellular bioprinting. *APL Bioengineering*. 2020; 4(3):030401. [DOI:10.1063/5.0018548] [PMID]
- [86] Sodupe-Ortega E, Sanz-Garcia A, Pernia-Espinoza A, Escobedo-Lucea C. Accurate calibration in multi-material 3D bioprinting for tissue engineering. *Materials*. 2018; 11(8):1402. [DOI:10.3390/ma11081402] [PMID]
- [87] GhavamiNejad A, Ashammakhi N, Wu XY, Khademhosseini A. Crosslinking strategies for 3D bioprinting of polymeric hydrogels. *Small*. 2020; 16(35):2002931. [DOI:10.1002/sml.202002931]
- [88] Ashammakhi N, Kaarela O. Three-dimensional bioprinting can help bone. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2018; 29(1):9-11. [DOI:10.1097/SCS.00000000000004143] [PMID]
- [89] Li Y, Liu Y, Jiang C, Li S, Liang G, Hu Q. A reactor-like spinneret used in 3D printing alginate hollow fiber: a numerical study of morphological evolution. *Soft Matter*. 2016; 12(8):2392-9. [DOI:10.1039/C5SM02733K] [PMID]
- [90] Klotz BJ, Gawlitta D, Rosenberg AJWP, Malda J, Melchels FPW. Gelatin-methacryloyl hydrogels: Towards biofabrication-based tissue repair. *Trends in Biotechnology*. 2016; 34(5):394-407. [DOI:10.1016/j.tibtech.2016.01.002] [PMID]
- [91] Wang Z, Yang Y, Gao Y, Xu Z, Yang S, Jin M. Establishing a novel 3D printing bioinks system with recombinant human collagen. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022; 211:400-9. [DOI:10.1016/j.ijbiomac.2022.05.088] [PMID]
- [92] Oshida Y, Miyazaki T. Biomaterials and engineering for implantology: In *Medicine and Dentistry*. Walter de Gruyter GmbH & Co KG; 2022. [DOI:10.1515/9783110740134]
- [93] Persaud A, Maus A, Strait L, Zhu D. 3D bioprinting with live cells. *Engineered Regeneration*. 2022; 3(3):292-309. [DOI:10.1016/j.engreg.2022.07.002]
- [94] Hauptstein J, Böck T, Bartolf-Kopp M, Forster L, Stahlhut P, Nadernezhad A, et al. Hyaluronic acid-based bioink composition enabling 3D bioprinting and improving quality of deposited cartilaginous extracellular matrix. *Advanced Healthcare Materials*. 2020; 9(15):2000737. [DOI:10.1002/adhm.202000737] [PMID]
- [95] Abdollahiyan P, Oroojalian F, Mokhtarzadeh A, de la Guardia M. Hydrogel-based 3D bioprinting for bone and cartilage tissue engineering. *Biotechnology Journal*. 2020; 15(12):e2000095. [DOI:10.1002/biot.202000095] [PMID]
- [96] Wang K, Wang Z, Hu H, Gao C. Supramolecular microgels/ microgel scaffolds for tissue repair and regeneration. *Supramolecular Materials*. 2022; 1:100006. [DOI:10.1016/j.supmat.2021.100006]
- [97] Piras CC, Fernández-Prieto S, De Borggraeve WM. Nanocellulosic materials as bioinks for 3D bioprinting. *Biomaterials Science*. 2017; 5(10):1988-92. [DOI:10.1039/C7BM00510E] [PMID]
- [98] Li D, Zhou J, Zhang M, Ma Y, Yang Y, Han X, et al. Long-term delivery of alendronate through an injectable tetra-PEG hydrogel to promote osteoporosis therapy. *Biomaterials Science*. 2020; 8(11):3138-46. [DOI:10.1039/D0BM00376J] [PMID]
- [99] Yu T, Wang H, Zhang Y, Wang X, Han B. The delivery of RNA-interference therapies based on engineered hydrogels for bone tissue regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020; 8:445. [DOI:10.3389/fbioe.2020.00445] [PMID]
- [100] Nedunchezian S, Banerjee P, Lee CY, Lee SS, Lin CW, Wu CW, et al. Generating adipose stem cell-laden hyaluronic acid-based scaffolds using 3D bioprinting via the double crosslinked strategy for chondrogenesis. *Materials Science and Engineering: C*. 2021; 124:112072. [DOI:10.1016/j.msec.2021.112072] [PMID]
- [101] Lam T, Dehne T, Krüger JP, Hondke S, Endres M, Thomas A, et al. Photopolymerizable gelatin and hyaluronic acid for stereolithographic 3D bioprinting of tissue-engineered cartilage. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2019; 107(8):2649-57. [DOI:10.1002/jbm.b.34354] [PMID]
- [102] Luo C, Xie R, Zhang J, Liu Y, Li Z, Zhang Y, et al. Low-temperature three-dimensional printing of tissue cartilage engineered with gelatin methacrylamide. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2020; 26(6):306-16. [DOI:10.1089/ten.tec.2020.0053] [PMID]
- [103] Yang X, Lu Z, Wu H, Li W, Zheng L, Zhao J. Collagen-alginate as bioink for three-dimensional (3D) cell printing based cartilage tissue engineering. *Materials Science & Engineering: C, Materials for Biological Applications*. 2018; 83:195-201. [DOI:10.1016/j.msec.2017.09.002] [PMID]
- [104] Jammalamadaka U, Tappa K. Recent advances in biomaterials for 3D printing and tissue engineering. *Journal of Functional Biomaterials*. 2018; 9(1):22. [DOI:10.3390/jfb9010022] [PMID]
- [105] Murphy C, Kolan K, Li W, Semon J, Day D, Leu M. 3D bioprinting of stem cells and polymer/bioactive glass composite scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Bioprinting*. 2017; 3(1):005. [DOI:10.18063/IJB.2017.01.005] [PMID]
- [106] Fakhraei O, Alimohammadi M, Moradi A, Akbarinezhad Nogh A, Soudmand Salarabadi S, Ghasabzadeh MS, et al. Nanofibrous polycaprolactone/chitosan membranes for preventing postsurgical tendon adhesion. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2022; 110(6):1279-91. [DOI:10.1002/jbm.b.34999] [PMID]
- [107] Alimohammadi M, Fakhraei O, Moradi A, Kabiri M, Passandideh-Fard M, Tamayol A, et al. Controlled release of azithromycin from polycaprolactone/chitosan nanofibrous membranes. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2022; 71:103246. [DOI:10.1016/j.jddst.2022.103246]

- [108] Mohan T, Maver T, Štiglic AD, Stana-Kleinschek K, Kargl R. 3D bioprinting of polysaccharides and their derivatives: From characterization to application. In: Thomas S, Balakrishnan P, Sreekala MS, editors. *Fundamental biomaterials: polymers*. A volume in Woodhead Publishing Series in Biomaterials. London: WP; 2018. [DOI:10.1016/B978-0-08-102194-1.00006-2]
- [109] Wei P, Xu Y, Gu Y, Yao Q, Li J, Wang L. IGF-1-releasing PLGA nanoparticles modified 3D printed PCL scaffolds for cartilage tissue engineering. *Drug Delivery*. 2020; 27(1):1106-14. [DOI:10.1080/10717544.2020.1797239] [PMID]
- [110] Morris VB, Nimbalkar S, Younesi M, McClellan P, Akkus O. Mechanical properties, cytocompatibility and manufacturability of chitosan: PEGDA hybrid-gel scaffolds by stereolithography. *Annals of Biomedical Engineering*. 2017; 45(1):286-96. [DOI:10.1007/s10439-016-1643-1] [PMID]
- [111] Kim JS, Hong S, Hwang C. Bio-ink materials for 3D bio-printing. *Journal of International Society for Simulation Surgery*. 2016; 3(2):49-59. [DOI:10.18204/JISSIS.2016.3.2.049]
- [112] Wang H, Xu S, Fan D, Geng X, Zhi G, Wu D, et al. Multifunctional microcapsules: A theranostic agent for US/MR/PAT multi-modality imaging and synergistic chemo-photothermal osteosarcoma therapy. *Bioactive Materials*. 2022; 7:453-65. [DOI:10.1016/j.bioactmat.2021.05.004] [PMID]
- [113] Bee SL, Hamid ZA, Mariatti M, Yahaya B, Lim K, Bee ST, et al. Approaches to improve therapeutic efficacy of biodegradable PLA/PLGA microspheres: A review. *Polymer Reviews*. 2018; 58(3):495-536. [DOI:10.1080/15583724.2018.1437547]
- [114] Li X, Liang Y, Xu X, Xiong J, Ouyang K, Duan L, et al. Cell-to-cell culture inhibits dedifferentiation of chondrocytes and induces differentiation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *BioMed Research International*. 2019; 2019:5871698. [DOI:10.1155/2019/5871698] [PMID]
- [115] Colle J, Blondeel P, De Bruyne A, Bochar S, Tytgat L, Ver-cruysse C, et al. Bioprinting predifferentiated adipose-derived mesenchymal stem cell spheroids with methacrylated gelatin ink for adipose tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2020; 31(4):36. [DOI:10.1007/s10856-020-06374-w] [PMID]
- [116] Ong CS, Yesanatharao P, Huang CY, Mattson G, Boktor J, Fukunishi T, et al. 3D bioprinting using stem cells. *Pediatric Research*. 2018; 83(1-2):223-31. [DOI:10.1038/pr.2017.252] [PMID]
- [117] Ude CC, Miskoon A, Idrus RBH, Abu Bakar MB. Application of stem cells in tissue engineering for defense medicine. *Military Medical Research*. 2018; 5(1):7. [DOI:10.1186/s40779-018-0154-9] [PMID]
- [118] Grounds MD. Obstacles and challenges for tissue engineering and regenerative medicine: Australian nuances. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2018; 45(4):390-400. [DOI:10.1111/1440-1681.12899] [PMID]
- [119] Wragg NM, Burke L, Wilson SL. A critical review of current progress in 3D kidney biomanufacturing: Advances, challenges, and recommendations. *Renal Replacement Therapy*. 2019; 5:18. [DOI:10.1186/s41100-019-0218-7]
- [120] Setayeshmehr M, Esfandiari E, Hashemibeni B, Tavakoli AH, Rafienia M, Samadikuchaksaraei A, et al. Chondrogenesis of human adipose-derived mesenchymal stromal cells on the [devitalized costal cartilage matrix/poly (vinyl alcohol)/fibrin] hybrid scaffolds. *European Polymer Journal*. 2019; 118:528-41. [DOI:10.1016/j.eurpolymj.2019.04.044]
- [121] Beketov EE, Isaeva EV, Yakovleva ND, Demyashkin GA, Ar-guchinskaya NV, Kisel AA, et al. Bioprinting of cartilage with bioink based on high-concentration collagen and chondrocytes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(21):11351. [DOI:10.3390/ijms222111351] [PMID]
- [122] Caddeo S, Boffito M, Sartori S. Tissue engineering approaches in the design of healthy and pathological in vitro tissue models. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2017; 5:40. [DOI:10.3389/fbioe.2017.00040] [PMID]
- [123] Qu M, Jiang X, Zhou X, Wang C, Wu Q, Ren L, et al. Stimuli-responsive delivery of growth factors for tissue engineering. *Advanced Healthcare Materials*. 2020; 9(7):e1901714. [DOI:10.1002/adhm.201901714] [PMID]
- [124] Mei Q, Rao J, Bei HP, Liu Y, Zhao X. 3D bioprinting photocrosslinkable hydrogels for bone and cartilage repair. *International Journal of Bioprinting*. 2021; 7(3):367. [DOI:10.18063/ijb.v7i3.367] [PMID]
- [125] Jain P, Kathuria H, Dubey N. Advances in 3D bioprinting of tissues/organs for regenerative medicine and in-vitro models. *Biomaterials*. 2022; 287:121639. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2022.121639] [PMID]
- [126] Augustine R. Skin bioprinting: A novel approach for creating artificial skin from synthetic and natural building blocks. *Progress in Biomaterials*. 2018; 7(2):77-92. [DOI:10.1007/s40204-018-0087-0] [PMID]
- [127] Rosser J, Thomas DJ. Bioreactor processes for maturation of 3D bioprinted tissue. In: Thomas DJ, Jessop ZM, Whitaker IS, editors. *3D Bioprinting for reconstructive surgery: Techniques and applications*. London: WP; 2018. [DOI:10.1016/B978-0-08-101103-4.00010-7]
- [128] König I, Soranno A, Nettels D, Schuler B. Impact of in-cell and in-vitro crowding on the conformations and dynamics of an intrinsically disordered protein. *Angewandte Chemie*. 2021; 133(19):10819-24. [DOI:10.1002/ange.202016804]
- [129] Mousavi Nejad Z, Torabinejad B, Davachi SM, Zamanian A, Saeedi Garakani S, Najafi F, et al. Synthesis, physicochemical, rheological and in-vitro characterization of double-crosslinked hyaluronic acid hydrogels containing dexamethasone and PLGA/dexamethasone nanoparticles as hybrid systems for specific medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019; 126:193-208. [DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.12.181] [PMID]
- [130] Cao Y, Cheng P, Sang S, Xiang C, An Y, Wei X, et al. Mesenchymal stem cells loaded on 3D-printed gradient poly (ε-caprolactone)/methacrylated alginate composite scaffolds for cartilage tissue engineering. *Regenerative Biomaterials*. 2021; 8(3):rbab019. [DOI:10.1093/rb/rbab019] [PMID]

- [131] Rathan S, Dejob L, Schipani R, Haffner B, Möbius ME, Kelly DJ. Fiber reinforced cartilage ECM functionalized bioinks for functional cartilage tissue engineering. *Advanced Healthcare Materials*. 2019; 8(7):1801501. [DOI:10.1002/adhm.201801501] [PMID]
- [132] Zhang J, Hu Q, Wang S, Tao J, Gou M. Digital light processing based three-dimensional printing for medical applications. *International Journal of Bioprinting*. 2019; 6(1):242. [DOI:10.18063/ijb.v6i1.242] [PMID]
- [133] Kosik-Kozioł A, Costantini M, Bolek T, Szóke K, Barbetta A, Brinchmann J, et al. PLA short sub-micron fiber reinforcement of 3D bioprinted alginate constructs for cartilage regeneration. *Biofabrication*. 2017; 9(4):044105. [DOI:10.1088/1758-5090/aa90d7] [PMID]
- [134] Apelgren P, Amoroso M, Lindahl A, Brantsing C, Rotter N, Gatenholm P, et al. Chondrocytes and stem cells in 3D-bioprinted structures create human cartilage in vivo. *PLoS One*. 2017; 12(12):e0189428. [DOI:10.1371/journal.pone.0189428] [PMID]
- [135] An S, Choi S, Min S, Cho SW. Hyaluronic acid-based biomimetic hydrogels for tissue engineering and medical applications. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2021; 26(4):503-16. [DOI:10.1007/s12257-020-0343-8]
- [136] McMillan A, McMillan N, Gupta N, Kanotra SP, Salem AK. 3D bioprinting in otolaryngology: A review. *Advanced Healthcare Materials*. 2023; 12(19):e2203268. [DOI:10.1002/adhm.202203268] [PMID]
- [137] Zopf DA, Mitsak AG, Flanagan CL, Wheeler M, Green GE, Hollister SJ. Computer aided-designed, 3-dimensionally printed porous tissue bioscaffolds for craniofacial soft tissue reconstruction. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*. 2015; 152(1):57-62. [DOI:10.1177/0194599814552065] [PMID]
- [138] Skopinska-Wisniewska J, Tuszyńska M, Olewnik-Kruszkowska E. Comparative study of gelatin hydrogels modified by various cross-linking agents. *Materials*. 2021; 14(2):396. [DOI:10.3390/ma14020396] [PMID]
- [139] Huang J, Huang Z, Liang Y, Yuan W, Bian L, Duan L, et al. 3D printed gelatin/hydroxyapatite scaffolds for stem cell chondrogenic differentiation and articular cartilage repair. *Biomaterials Science*. 2021; 9(7):2620-30. [DOI:10.1039/D0BM02103B] [PMID]
- [140] Mushtaq F, Raza ZA, Batool SR, Zahid M, Onder OC, Rafique A, et al. Preparation, properties, and applications of gelatin-based hydrogels (GHs) in the environmental, technological, and biomedical sectors. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022; 218:601-33. [DOI:10.1016/j.ijbiomac.2022.07.168] [PMID]
- [141] Rajabi N, Rezaei A, Kharaziha M, Bakhsheshi-Rad HR, Luo H, RamaKrishna S, et al. Recent advances on bioprinted gelatin methacrylate-based hydrogels for tissue repair. *Tissue Engineering Part A*. 2021; 27(11-12):679-702. [DOI:10.1089/ten.tea.2020.0350] [PMID]
- [142] Gao Q, He Y, Fu JZ, Liu A, Ma L. Coaxial nozzle-assisted 3D bioprinting with built-in microchannels for nutrients delivery. *Biomaterials*. 2015; 61:203-15. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2015.05.031] [PMID]
- [143] Camacho P, Busari H, Seims KB, Tolbert JW, Chow LW. Materials as bioinks and bioink design. In: Guvendiren M, editor. *3D bioprinting in medicine*. Cham: Springer; 2019. [DOI:10.1007/978-3-030-23906-0\_2]
- [144] Khalilifar MA, Eslaminejad MB, Ghasemzadeh M, Hosseini S, Baharvand H. In vitro and in vivo comparison of different types of rabbit mesenchymal stem cells for cartilage repair. *Cell Journal*. 2019; 21(2):150-60. [PMID]
- [145] Zainal S, Mohd NH, Suhaili N, Anuar FH, Lazim AM, Othaman R. Preparation of cellulose-based hydrogel: A review. *Journal of Materials Research and Technology*. 2021; 10:935-52. [DOI:10.1016/j.jmrt.2020.12.012]
- [146] Yin N, Chen SY, Cao YM, Wang HP, Wu QK. Improvement in mechanical properties and biocompatibility of biosynthetic bacterial cellulose/lotus root starch composites. *Chinese Journal of Polymer Science*. 2017; 35(3):354-64. [DOI:10.1007/s10118-017-1903-z]
- [147] Pan T, Song W, Cao X, Wang Y. 3D bioplotting of gelatin/alginate scaffolds for tissue engineering: Influence of crosslinking degree and pore architecture on physicochemical properties. *Journal of Materials Science & Technology*. 2016; 32(9):889-900. [DOI:10.1016/j.jmst.2016.01.007]
- [148] Spiller KL, Maher SA, Lowman AM. Hydrogels for the repair of articular cartilage defects. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2011; 17(4):281-99. [DOI:10.1089/ten.teb.2011.0077] [PMID]
- [149] Shariatnia Z, Jalali AM. Chitosan-based hydrogels: Preparation, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018; 115:194-220. [DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.034] [PMID]
- [150] Selmi TA, Verdonk P, Chambat P, Dubrana F, Potel JF, Barnouin L, et al. Autologous chondrocyte implantation in a novel alginate-agarose hydrogel: outcome at two years. *The Journal of Bone & Joint Surgery British Volume*. 2008; 90(5):597-604. [DOI:10.1302/0301-620X.90B5.20360] [PMID]
- [151] Do NH, Truong QT, Le PK, Ha AC. Recent developments in chitosan hydrogels carrying natural bioactive compounds. *Carbohydrate Polymers*. 2022; 294:119726. [DOI:10.1016/j.carbpol.2022.119726] [PMID]
- [152] Alimohammadi M, Aghli Y, Fakhraei O, Moradi A, Passandideh-Fard M, Ebrahimzadeh MH, et al. Electrospun nanofibrous membranes for preventing tendon adhesion. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2020; 6(8):4356-76. [DOI:10.1021/acsbiomaterials.0c00201] [PMID]
- [153] Chakraborty J, Mu X, Pramanick A, Kaplan DL, Ghosh S. Recent advances in bioprinting using silk protein-based bioinks. *Biomaterials*. 2022; 287:121672. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2022.121672] [PMID]
- [154] Taghizadeh M, Taghizadeh A, Yazdi M, Zarrintaj P, Stadler FJ, Ramsey JD, et al. Chitosan-based inks for 3D printing and bioprinting. *Green Chemistry*. 2022; 24(1):62-101. [DOI:10.1039/D1GC01799C]
- [155] Tan XH, Liu L, Mitryashkin A, Wang Y, Goh JCH. Silk Fibroin as a Bioink-A thematic review of functionalization strategies for bioprinting applications. *ACS Biomaterials Sci*

- ence & Engineering. 2022; 8(8):3242-70. [DOI:10.1021/acsbiomaterials.2c00313] [PMID]
- [156] Gupta S, Alrabaiah H, Christophe M, Rahimi-Gorji M, Nadeem S, Bit A. Evaluation of silk-based bioink during pre and post 3D bioprinting: a review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2021; 109(2):279-93. [DOI:10.1002/jbm.b.34699] [PMID]
- [157] Ravanbakhsh H, Karamzadeh V, Bao G, Mongeau L, Juncker D, Zhang YS. Emerging technologies in multi-material bioprinting. *Advanced Materials*. 2021; 33(49):e2104730. [DOI:10.1002/adma.202104730] [PMID]
- [158] Gopinathan J, Noh I. Recent trends in bioinks for 3D printing. *Biomaterials Research*. 2018; 22:11. [DOI:10.1186/s40824-018-0122-1] [PMID]
- [159] Benders KE, Van Weeren PR, Badylak SF, Saris DB, Dhert WJ, Malda J. Extracellular matrix scaffolds for cartilage and bone regeneration. *Trends in Biotechnology*. 2013; 31(3):169-76. [DOI:10.1016/j.tibtech.2012.12.004] [PMID]
- [160] Pountos I, Tellisi N, Ashammakhi N. Potential clinical applications of three-dimensional bioprinting. In: Guvendiren M, editor. *3D Bioprinting in Medicine: Technologies, Bioinks, and Applications*. Berlin: Springer; 2019. [Link]
- [161] Hauptstein J, Böck T, Bartolf-Kopp M, Forster L, Stahlhut P, Nadernezhad A, et al. Hyaluronic acid-based bioink composition enabling 3D bioprinting and improving quality of deposited cartilaginous extracellular matrix. *Advanced Healthcare Materials*. 2020; 9(15):2000737. [PMID]
- [162] Nedunchezian S, Banerjee P, Lee CY, Lee SS, Lin CW, Wu CW, et al. Generating adipose stem cell-laden hyaluronic acid-based scaffolds using 3D bioprinting via the double crosslinked strategy for chondrogenesis. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*. 2021; 124:112072. [PMID] [DOI:10.1016/j.msec.2021.112072]
- [163] Mouser VH, Abbadessa A, Levato R, Hennink WE, Vermonden T, Gawlitta D, et al. Development of a thermosensitive HAMA-containing bio-ink for the fabrication of composite cartilage repair constructs. *Biofabrication*. 2017; 9(1):015026. [DOI:10.1088/1758-5090/aa6265] [PMID]
- [164] Bücking TM, Hill ER, Robertson JL, Maneas E, Plumb AA, Nikitichev DI. From medical imaging data to 3D printed anatomical models. *Plos One*. 2017; 12(5):e0178540. [DOI:10.1371/journal.pone.0178540] [PMID]
- [165] Xu B, Yuan FZ, Lin L, Ye J, Fan BS, Zhang JY, et al. The higher inherent therapeutic potential of biomaterial-based hDPSCs and hEnSCs for pancreas diseases. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020; 8:636. [PMID]