فصل ۳

تکنیک های چاپ سه بعدی زیستی[1]

چاپ سه بُعدی زیستی سلول یک فناوری نوظهور است که اساساً برای طراحی و ساخت سازه های سه بُعدی سلولی، به منظور کاربرد در درمان های پیوندی، مورد استفاده قرار می گیرند. جذاب ترین مزیت این فناوری، امکان ساخت سازه های سه بُعدی با مواد خام زنده بیولوژیک، مثل سلول ها و مواد مغذی است. در این فصل، با تعدادی از شرکت های فعال در این حوزه آشنا خواهیم شد که توجه ویژه ای به سیستم ها و فرایندهای چاپ سه بُعدی زیستی در ساخت و کاربرد سلول ها و مواد زیستی (بیومتریال ها) در مطالعات پیش درمانی مربوطه داشته اند؛ اقدامات نوآورانه ی این شرکت ها، پیشرفت های فراوانی را در این حوزه، در مقایسه با روش های طراحی و تولید داربستی مطرح شده در فصل ۲، نشان می دهد. این سیستم ها بر اساس تکنیک های چاپ مورد استفاده در آنها، همچون چاپ جوهرافشان[2]، تکنیک های اکستروژن[3] و ترکیبی، طبقه بندی می شوند. در ادامه با ارائه ی مقدمه ای بر مفهوم چاپ سه بُعدی زیستی، اصول و مکانیزم های فرایندی چاپ سه بُعدی زیستی بررسی و تشریح شده و سپس مزایا و معایب این فرایند مورد بحث و بررسی قرار می گیرد. در انتهای فصل نیز کاربرد تکنیک های چاپ سه بُعدی زیستی بحث و بررسی شده است.

۳-۱- چاپ سه بُعدی زیستی

۳-۱-۱- مفهوم چاپ سه بُعدی زیستی

اگرچه توافقی در خصوص مفهوم اصطلاح "چاپ سه بُعدی زیستی" بین پژوهشگران امر حاصل نشده، اما رویکردهای فراوانی را در بکارگیری سلول های زنده و مواد زیستی با همان اهداف مربوط به ساخت سازه های دقیق سه بُعدی مورد بررسی قرار داده اند. مفهوم چاپ سه بُعدی زیستی برای اولین بار در سپتامبر سال ۲۰۰۴ و در نخستین کنفرانس بین المللی چاپ سه بُعدی زیستی در موسسه ی علوم و تحقیقات وابسته دانشگاه منچستر[4] – که هم اکنون بخشی از دانشگاه

[1] - *Three-dimensional (3D) Bioprinting*
[2] - *Inkjet printing*
[3] - *Extrusion*
[4] - *University of Manchester Institute of Science and Technology*

Maharfan

منچستر انگلستان است – مطرح شد. در این کنفرانس، چاپ سه بُعدی زیستی به این صورت معرفی شد [۱]:

"بهره گیری و استفاده از فرایندهای انتقال مواد (متریال ها) با هدف الگوسازی و مونتاژ مواد زیستی – همچون مولکول ها، سلول ها، بافت ها و بیومتریال های زیست تخریب شونده[1] – به کمک یک ساختار از پیش تجویز و تعیین شده برای اجرای یک یا چند عملکرد زیستی (بیولوژیک)"

این یک تعریف بسیار گسترده و کلی از مفهوم چاپ زیستی است که در آن به این مقوله به عنوان مجموعه ای از تکنیک ها پرداخته شده تا صرفاً یک رویکرد واحد. اگر از زاویه ی نگاه تکنیکی به این مقوله بپردازیم، که در آن امکان انتقال مواد زیستی به یک لایه ی فرایندی وجود داشته و در نهایت منتج به ایجاد ساختارهای سه بُعدی می گردد، می توان آن را به عنوان یک تکنیک چاپ زیستی در نظر گرفت. هدف غایی و نهایی از چاپ زیستی، تولید بافت ها و ارگان های عملکردی زنده و پیوند آن ها به اندام های بدن انسان است. میرونوف و همکارانش [۲]، اصطلاحی دیگر با نام "چاپ اندام" را به حوزه ی این علم معرفی کردند و در ادامه تعریفی برای آن ارائه دادند که به این صورت است [۲]:

"مهندسی سه بُعدی بافت ها و اندام های زنده ی بدن به کمک رایانه و با اجرای همزمان فرایند بر روی سلول ها و هیدروژل ها بر پایه ی اصول خودسامانی[2]"

۳-۱-۲- نگاهی اجمالی بر فرایندهای چاپ زیستی

همانگونه که در بخش ۳-۱-۱ مطرح شد، در حال حاضر تکنیک های چاپ زیستی مختلفی وجود دارند، از جمله اکستروژن، چاپ جوهر افشان، چاپ دریچه ای[3]، پردازش نور[4]، چاپ لیزری[5] و تکنیک های ترکیبی چاپ. این تکنیک های چاپ زیستی در گستره ی وسیعی از کاربردهای بیولوژیک با الزامات گوناگون، همچون نیاز به الگوسازی مقیاس طول، تنوع در سرعت چاپ، تنوع در هزینه و مقوله ی زیست سازگاری[6]، مورد استفاده قرار می گیرند. این تکنیک ها را می توان بر

---

[1] - *Biodegradable biomaterials*
[2] - *Self-assembly*
[3] - *Valve-based printing*
[4] - *Light processing*
[5] - *Laser-based printing*
[6] - *Biocompatibility*

Maharfan

اساس روش های ورود مواد زیستی به سیستم های مربوطه، به دو دسته ی کلی تکنیک های تماسی[1] و غیرتماسی[2] طبقه بندی کرد.

تکنیک های تماسی: در این نوع از تکنیک های چاپ زیستی، نیاز به تماس بین دستگاه و لایه یا سطح دریافت کننده ی ماده ی زیستی وجود دارد. روش اکستروژن یکی از این تکنیک هاست.

تکنیک های غیر تماسی: در این نوع از تکنیک های چاپ زیستی، ماده ی ورودی به لایه یا سطح مربوطه که در مکانی بسیار نزدیک به ابزار ورودی قرار دارد (تقریباً مماس با هم هستند) تخلیه و وارد می شود. چاپ لیزری و جوهرافشان نمونه هایی شناخته شده از این تکنیک هستند.

۳-۲- اکستروژن: مورد اول

۳-۲-۱- شرکت مورد مطالعه: اِنویژن تِک آلمان[3]

شرکت اِنویژن تِک که در سال ۲۰۰۲ در شهر مارل آلمان[4] تاسیس شده است، در فناوری ساخت و تولید لایه به لایه[5]، به صورت عمومی، و در تولید تجهیزات مهندسی اُپتیک، مکانیک و برق، به صورت اختصاصی، به عنوان شرکت رهبر در جهان شناخته می شود [۳]. این شرکت، تجهیزات چاپگرهای سه بُعدی شامل سخت افزار، نرم افزار و متریال های مربوطه را بسیار مقرون به صرفه از لحاظ هزینه طراحی و تولید می کند. تولیدات این شرکت در حجم بسیار گسترده در صنایع هوافضا، خودروسازی، پزشکی، دندانپزشکی، تولید موادزیستی و آموزش الکترونیک مورد استفاده قرار می گیرند [۴]. شرکت اِنویژن تِک در ساخت سیستم ها و تولیدات مبتنی بر فناوری لایه به لایه در دنیا بسیار شناخته شده و معتبر است، چراکه در فرایند تولید خود از فناوری مدولاسیون بنیادی نور انتخابی بهره می برد. سادگی این فناوری باعث شده تا این سیستم در بازار محصولات حوزه ی شنوایی از جمله بازار سمعک، بسیار محبوب باشد، بطوریکه این شرکت بیش از ۶۰ درصد از سهم این بازار را در کل دنیا به خود اختصاص داده است. این شرکت در حال حاضر بیش از ۹۰ مورد حق امتیاز ثبت قطعی اختراع و همچنین پرونده های ثبت اختراع بین المللی زیادی را در حال ثبت در این حوزه داشته و به صورت مستمر به طور متوسط در هر ۳ ماه یک مورد ثبت

---

[1] - *Contact techniques*
[2] - *Non-contact techniques*
[3] - *EnvisionTEC GmbH*
[4] - *Marl, Germany*
[5] - *Additive Manufacturing (AM)*

Maharfan

اختراع جدید در دستور کار خود دارد. دفتر مرکزی شرکت اِنویژن تِک در شهر گلادبک آلمان[1] قرار دارد و شعبات زیادی در آمریکای شمالی، اروپا و آسیا نیز راه اندازی نموده است.

۳-۲-۲- نام محصول: پلاتر سه بُعدی زیستی[2]

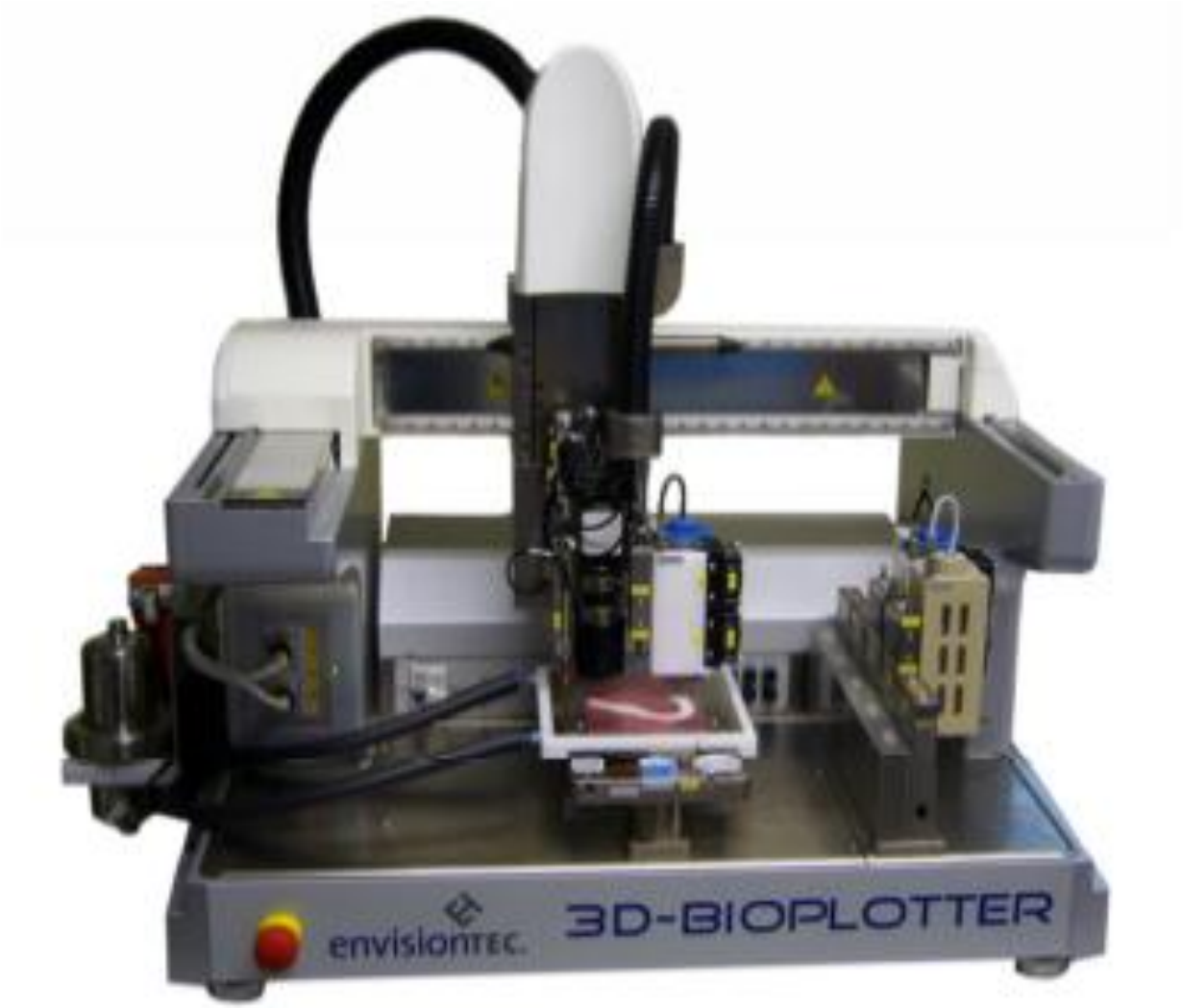
این دستگاه ابزاری مناسب برای پردازش دامنه ی گسترده ای از مواد زیستی در حین اجرای فرایند مهندسی بافت رایانه ای[3] مدل های مربوطه[4] و داده های بدست آمده از سی تی بیماران (توموگرافی رایانه ای)[5]– است، که با هدف دستیابی به داربست های سه بُعدی زیستی و فیزیکی همراه با یک فرم خارجی و نیز یک ساختار داخلی باز از آن، مورد استفاده قرار می گیرد. این دستگاه قادر است داربست های مذکور را با استفاده از مواد متنوع – از هیدروژل های نرم گرفته تا سرامیک و فلزات سخت – تولید کند. در چاپ یک شیء مورد نظر با این دستگاه می توان تا ۵ ماده ی اولیه ی مختلف را مورد استفاده قرار داد که البته تغییر ابزارهای مربوطه نیز بصورت خودکار صورت می گیرد. این دستگاه به طور ویژه برای کاربرد در محیط های استریل در یک جعبه جریان لمینری طراحی شده که یکی از نیازمندی های اساسی در چاپ زیستی – به عنوان مثال در مواقع استفاده از سوسپانسیون های کپسولی (سلولی) آلژینات برای ساخت داربست مربوطه– می باشد. در پلاتر سه بُعدی زیستی، همانگونه که در شکل شماره ۳-۱ نشان داده شده است، از سیستم های مختلف و چندکاره از جمله سیستم موقعیت یابی سه محوره با دقت ۰/۰۰۱میلی متری (۰/۰۰۰۰۴ اینچی) بهره برده شده است [۵]. در این دستگاه ۵ کارتریج[6] ماده مختلف تعبیه شده که قابلیت استفاده همزمان در تولید را داشته و قطر رشته نیز به کمک دوربین با رزولوشن بالا بصورت بلادرنگ کنترل می شود تا دقت عمل دستگاه به حداکثر برسد. بعلاوه، شرکت اِنویژن تِک موفق به تولید یک نرم افزار جدید و جامع طراحی رایانه ای و برنامه نویسی فرایند تولید[7] شده که دارای رابط کاربری گرافیکی و بصری است. فرایند چاپ زیستی به کمک این نرم افزار تا مرحله تکمیل کار تحت کنترل دقیق قرار می گیرد. اطلاعات کامل مربوط به این دستگاه در جدول شماره ی ۳-۱ بصورت خلاصه آورده شده است. همچنین، تعدادی از موادی که

---

[1] - *Gladbeck, Germany*
[2] - *3D-Bioplotter® System*
[3] - *Computer Aided Tissue Engineering (CATE)*
[4] - *Computer Aided Design (CAD)*
[5] - *Computed Tomography (CT)*
[6] - *Cartridge*
[7] - *CAM-CAD*

Maharfan

امکان پردازش توسط این دستگاه را، با هدف ساخت داربست های مربوطه، دارند در جدول شماره ۳-۲ فهرست شده اند.



شکل ۳-۱: پلاتر سه بُعدی زیستی، ساخت شرکت اِنویژن تِک

Maharfan

رزولوشن محور	۰/۰۰۱ میلی متر
سرعت	۰/۱ تا ۱/۵ میلی متر بر ثانیه
حجم	۱۴۰ * ۱۵۰ * ۱۵۰ میلی متر
رزولوشن حسگر سوزنی	۰/۰۰۱ میلی متر
رزولوشن دوربین	۰/۰۰۹ میلی متر در هر پیکسل
حداقل قطر رشته	۰/۱۰۰ میلی متر (بسته به متریال مربوطه)
ابعاد	۷۷۳ * ۶۲۵ * ۹۷۶ میلی متر
وزن	۱۳۰ کیلو
برق مصرفی	۲۴۰-۱۰۰ ولت – توان ۳۰۰۰ – ۶۰/۵۰ هرتز

جدول ۳-۱: مشخصات فنی پلاتر سه بُعدی زیستی، ساخت شرکت اِنویژن تِک

حوزه ی کاربرد	ماده (متریال) موجود
بازسازی استخوان	هیدروکسی آپاتیت[1]، تیتانیوم[2] و تری کلسیم فسفات[3]
دارو رسانی	پلی کاپرولاکتون[4]، پلی لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید[5] و پلی لاکتیک اسید[6]
تولید بافت نرم/چاپ زیستی اندام	آگار[7]، کیتوزان[8]، آلژینات[9]، ژلاتین[10]، فیبرین[11] و کلاژن[12]

جدول ۳-۲: مواد (متریال ها) موجود برای پلاتر سه بُعدی زیستی، ساخت شرکت اِنویژن تِک

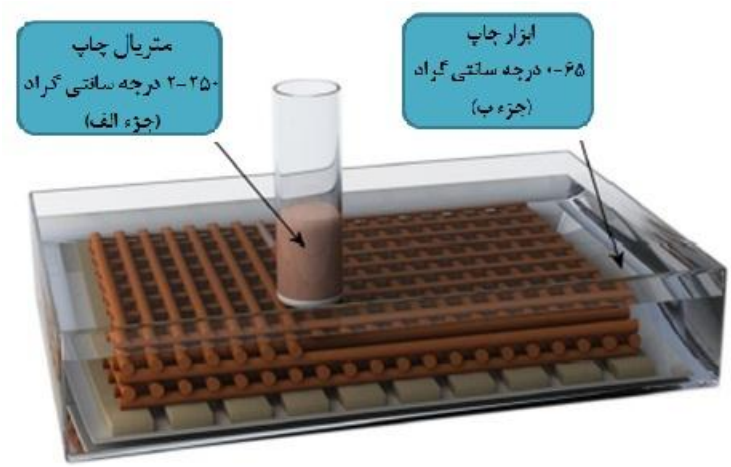
۳-۲-۳- اصول و روش کار

در تکنیک مورد استفاده در این پلاتر، مواد اولیه ی مربوطه به کمک هوا یا فشار مکانیکی در مکان مربوطه قرار داده می شوند [۶]. این فشار توسط سرنگ های مربوطه وارد می شود که هرکدام

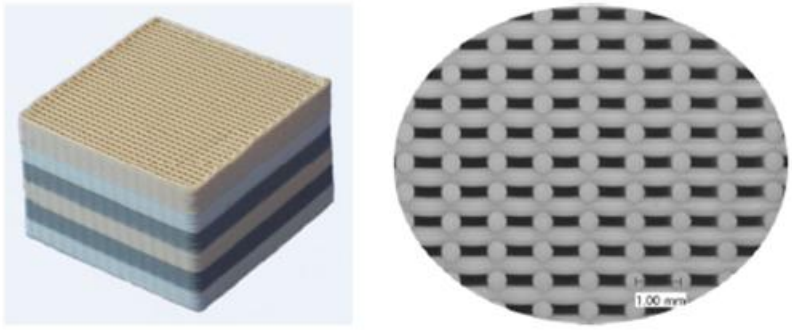
[1] - *Hydroxyapatite*
[2] - *Titanium*
[3] - *Tricalcium Phosphate (TCP)*
[4] - *Polycaprolactone (PCL)*
[5] - *Polylactic-Co-Glycolic Acid (PLGA)*
[6] - *Polylactic Acid (PLA)*
[7] - *Agar*
[8] - *Chitosan*
[9] - *Alginate*
[10] - *Gelatin*
[11] - *Fibrin*
[12] - *Collagen*

Maharfan

محتوی یک ماده ی خاص، از یک خمیر چسبناک گرفته تا یک مایع، هستند. در حالتی که سرنگ بصورت افقی در حرکت است این ماده در فرم یک رشته در لایه مربوطه جاسازی شده و قرار می گیرد. همانگونه که در شکل شماره ۳-۲ نیز نشان داده شده است، این رشته ها در موازات یکدیگر قرار دارند. فاصله ی بین هر رشته به تخلخل تعریف شده (منافذ موجود) توسط کاربر در فاز طراحی بستگی دارد. بعد از اتمام یک لایه، مسیر حرکت سرنگ ۹۰ درجه چرخش کرده و لایه ی بعدی را چاپ می کند. این روند تا رسیدن به یک ساختار فیزیکی کامل از مدل پیش طراحی شده ی رایانه ای ادامه پیدا می کند. در شکل شماره ی ۳-۳ یک شیء ساخته شده به این روش با نوعی مش مرغوب نشان داده شده است.



شکل ۳-۲: فرایند چاپ با پلاتر سه بُعدی زیستی، ساخت شرکت اِنویژن تِک



شکل ۳-۳: نمایی کامل از مش ساخته شده (شکل سمت چپ) و نمای مقطع مش (سمت راست)

تعداد کمی پلتفرم لایه ای/ساختاری موجود هستند که به صورت فلز سرد، صفحات شیشه ای و یا یک مایع خاص می باشند. پُر واضح است که سلول ها یا مواد زیستی چاپ شده را می توان بر

Maharfan

روی صفحات جامد نگه داشته و انباشت. در خصوص مایع مذکور نیز باید دو کاربرد ویژه ی آن را بیان کرد که عبارتند از ۱) تسهیل امکان انجماد در انتقال یونی و سایر رویکردهای ایجاد پیوندهای متقاطع (کراس لینکینگ)[۱] و ۲) حفاظت از مواد انباشته شده در حین فرایند انجماد در مقابل خاصیت شناوری و رانش ایجاد شده بواسطه ی وجود اختلاف چگالی بین ماده و مایع مربوطه.

دو فاکتور مهم ضخامت رشته و طراحی ساختار داخلی برای رسیدن به کیفیت بالا در چاپ باید مورد توجه ویژه قرار گیرند. ضخامت رشته مشخصاً فاصله ی بین سطح رشته و مکان سلول را تعیین می کند که نقش مهمی در تکثیر سلولی دارد [۷]. بعلاوه، خواص و مشخصات مکانیکی نیز بسیار تحت تاثیر ساختار داخلی شیء مورد نظر قرار دارد. بنابراین، تغییرات خاصی باید در خصوص مواد مختلف مورد استفاده اعمال شود.

۳-۳- اکستروژن: مورد دوم

۳-۳-۱- شرکت مورد مطالعه: اُرگانووو[۲]

هلدینگ شرکت های اُرگانووو اساساً یک موسسه ی تحقیقاتی است که دفتر مرکزی آن در سن دیاگوی ایالات متحده آمریکا[۳] قرار دارد. در اوایل سال ۲۰۰۳، چاپ جوهرافشان سلول های زنده توسط دکتر توماس بولند[۴] در دانشگاه کلمسون[۵] ثبت اختراع شده و امتیاز انحصار تجاری دریافت کرده است. به مرور، مطالعات مربوط به چاپ زیستی اندام های بدن در دانشگاه میسوری[۶] با معرفی یک فناوری چاپ اندام با نام "فرایندهای خودسامانی تراکم سلولی و روش های مشابه سازی"[۷] آغاز شد که زیرساخت تاسیس شرکت اُرگانووو را ایجاد نمود. در آوریل سال ۲۰۰۷، این شرکت با هدف تجاری سازی امتیاز مذکور به صورت رسمی در ایالت دلاویر ایالات متحده آمریکا[۸] راه اندازی شد که در حقیقت یک شرکت فعال در حوزه ی چاپ سه بُعدی زیستی می باشد. این شرکت اولین محصول تجاری خود را تحت نام "چاپگر زیستی اِم. اِم. ایکس نووژِن[۹]" در سپتامبر ۲۰۰۹ به بازار معرفی نمود. اُرگانووو در حال حاضر بصورت متمرکز بر روی ساخت تعدادی مدل

---

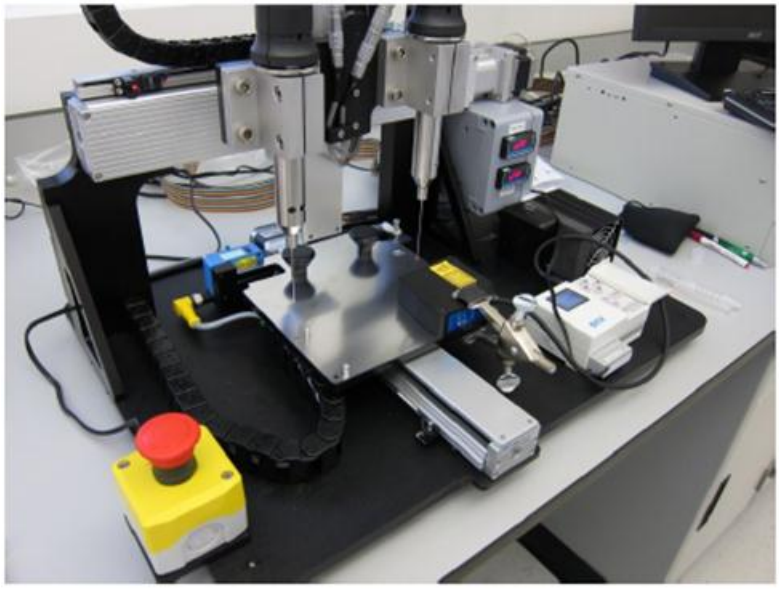
[1] - *Crosslinking*
[2] - *Organovo*
[3] - *San Diego, USA*
[4] - *Dr. Thomas Boland*
[5] - *Clemson University*
[6] - *University of Missouri*
[7] - *Self-Assembling Cell-Aggregates and Methods of Making the Same*
[8] - *Delaware, USA*
[9] - *NovoGen MMX Bioprinter™*

Maharfan

بافت سه بُعدی برای امور تحقیقاتی و مصارف تشخیص دارویی فعالیت کرده و همچنین در تلاش است تا رویای ساخت بافت های بدن انسان را با هدف بهبود درمان های نیازمند به جراحی و پیوند اعضاء به حقیقت برساند.

۳-۳-۲- نام محصول: چاپگر زیستی نووژِن اِم اِم ایکس[1]

این دستگاه قادر است یک انسان کامل را چاپ کند و بافت های سه بُعدی را با معماری دقیق در فرمت ها و اَشکال مختلف و متنوع بسازد. این پلتفرم چاپ زیستی، همانگونه که در شکل ۳-۴ نشان داده شده است، با هدف راحتی قرارگرفتن در یک کابین استاندارد نگهداری امن محصولات زیستی، در ابعاد کوچک و فشرده طراحی شده است که امکان عمل جراحی کاملاً استریل را ممکن ساخته و با کمترین امکان ریختن ذرات عمل می کند. این پلتفرم شامل یک ربات حرفه ای و دقیق و دو هد[2] ویژه برای توزیع مواد مختلف می باشد که قابلیت ساخت بافت های ضخیم (با ضخامت بیشتر از ۵۰۰ میکرون) را با کنترل فضایی در محورهای سه گانه ی X، Y و Z دارد. بنابراین، الگوها یا قسمت های خاص بافت را می توان با این دستگاه تولید کرد که ویژگی ها و جنبه های اصلی بافت های واقعی را بصورت کاملاً دقیق در محیط کنترل شده ی خارجی داشته باشند. تکرارپذیری مکانی سیستم کنترل حرکت در این دستگاه تقریباً ۱۰± میکرومتر است.

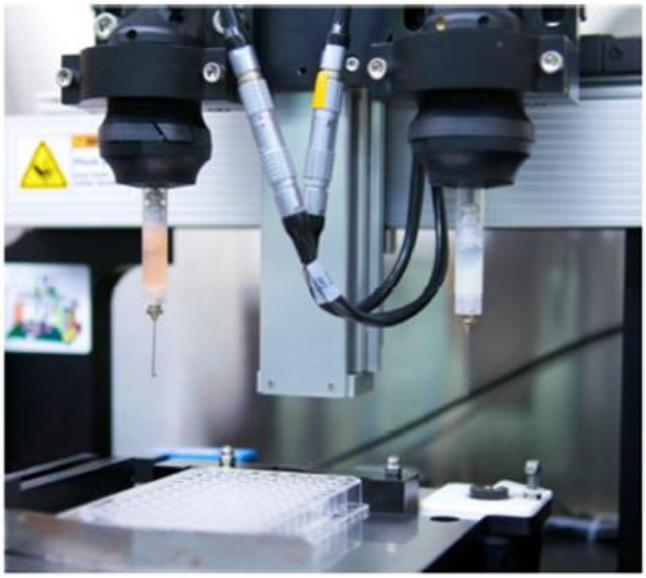


شکل ۳-۴: چاپگر زیستی اِم اِم ایکس نووژِن، ساخت شرکت اُرگانووو

[1] - *NovoGen MMX Bioprinter™*
[2] - *Head*

Maharfan

واحد کالیبراسیون لیزری داخلی این دستگاه، دقت مکانی بالای بین دو هد را بصورت بلادرنگ تضمین می کند. دقت بالا و خودکار بودن عملکرد این دستگاه، امکان تولید مجدد و تکثیر بافت های تولید شده از طریق چاپ زیستی را به کمک کنترل دقیق ترکیب و هندسه ی بافت تضمین می کند. این چاپگر زیستی، همانگونه که در شکل ۳-۵ و ۳-۶ نشان داده شده است، قادر است ترکیبات سلولی کروی و استوانه ای را که در کارتریج های میکروپیپِت[1] (با درازای تا ۷۵ میلی متر) پیش بارگذاری شده اند، به ترتیب با قطر ۵۰۰ و ۲۶۰ میکرومتر استخراج (اکسترود) کند [۹] و [۱۰]. بعلاوه، هیدروژل ها را می توان در این دستگاه به عنوان ساختارهای موقت و قابل حذف محافظت کننده از سلول ها در حین اجرای فرایند، چاپ نمود. همچنین، این پلتفرم مجهز به محفظه های گرمایشی و سرمایشی بوده که دمای سیستم را از ۴ تا ۹۵ درجه ی سانتی گراد تغییر داده و تنظیم می کنند. از اینرو، بافت ها را می توان در یک دامنه ی متنوع از برنامه های کِشت و یا در محفظه های اختصاصی طراحی شده برای حفظ حالت و تغییر شرایط بافت های سه بُعدی، تولید نمود. از این طریق، نیاز به دستکاری در تنظیمات دستگاه که منجر به ایجاد تفاوت های تولیدی می شود را می توان تا حد زیادی رفع نمود. در شکل ۳-۷ بافت های ایجاد شده توسط این دستگاه در یک صفحه ی ۲۴ ضلعی[2] (که به آن وِل پلِیت ۲۴ چاهکی و یا پلیت میکرووِل نیز گفته می شود) نشان داده شده است.

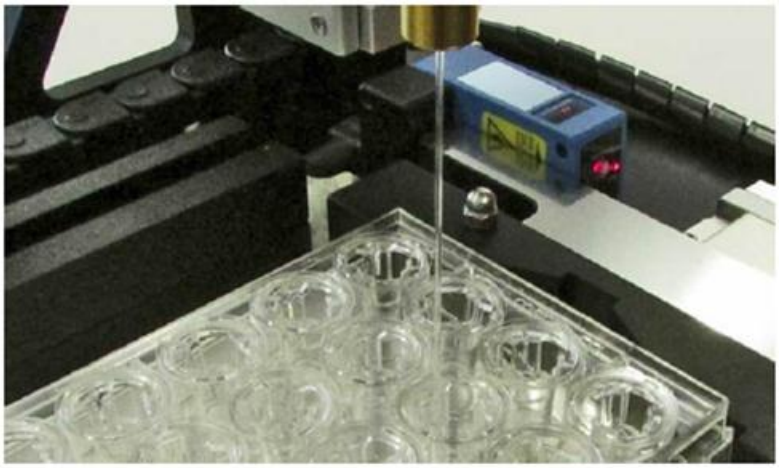


[1] - *Micropipette-cartridges*
[2] - *24 well-plate (Micro-well plate)*

Maharfan

شکل ۳-۵: دو هد دیسپنسر[1] چاپگر زیستی اِم. اِم. ایکس نووژِن، ساخت شرکت اُرگانووو، در حال اکسترود جوهر زیستی یا هیدروژل در صفحات میکرو چندضلعی

شکل ۳-۶: واحدهای جوهر زیستی که در کارتریج های مویی میکروپیپِت قرار گرفته اند (سمت چپ: کروی؛ سمت راست: استوانه ای) [۱۰] (حق چاپ محفوظ است، ۲۰۱۲، با اجازه ی رسمی از مجله ی اسپرینگر[2])



شکل ۳-۷: بافت تولید شده توسط چاپگر زیستی اِم. اِم. ایکس نووژِن

نرم افزاری که در حال حاضر با این دستگاه ارائه می گردد فقط توابع عملکردی پایه را داشته و اجرا می کند. این نرم افزار یک رابط کاربری گرافیکی داشته که به کاربران این امکان را می دهد تا سازه های سه بُعدی متنوعی را طراحی کنند. کاربر می تواند پارامترهای مختلفی را از جمله نوع سلول، مواد مربوطه و نیز سرعت چاپ را تعیین کند. بعلاوه، این نرم افزار می تواند دستورات از پیش تعریف شده ای را که توسط کاربر برای تعیین حرکات خاص ربات و هدهای نگهدارنده ی سرنگ ها نوشته شده اند اجرا کند. شرکت اُرگانووو در حال حاضر با شرکت اُتودِسک[3] (سن رافائل، کالیفرنیا، ایالات متحده آمریکا) در خصوص تولید نرم افزار چاپ سه بُعدی زیستی برای چاپگرهایش همکاری می کند.

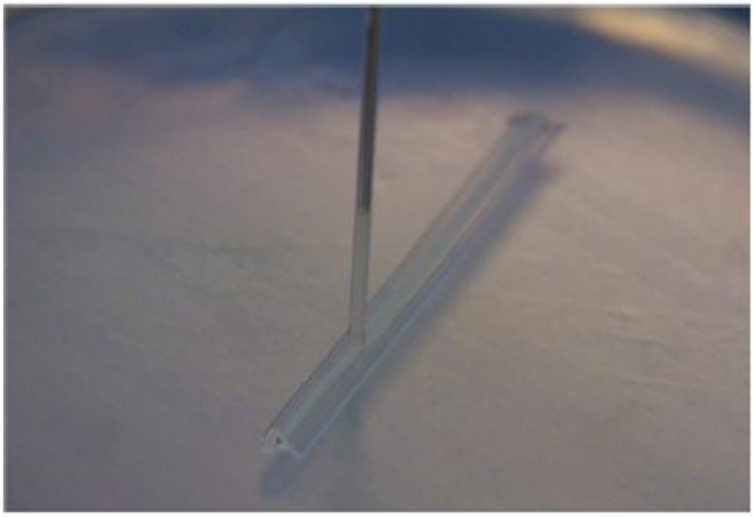
---

[1] - *Dispensing heads*
[2] - *Springer*
[3] - *Autodesk Inc., San Rafael, CA, USA*

Maharfan

۳-۳-۳- فرایند چاپ

اولین قدم در اجرای فرایند چاپ، ایجاد پروتوکل های پردازش زیستی مورد نیاز برای ایجاد بلوک های سازه ای چندسلولی (جوهر زیستی[1] نیز نامیده می شوند) از سلول های مورد استفاده برای ساخت بافت هدف است. فرایند چاپ با اکسترود کردن[2] واحدهای جوهر زیستی در محیط حفاظت حفاظت موقت آغاز می گردد [۱۱]. بلوک های سازه ای جوهر زیستی با بهره گیری از رویکرد لایه به لایه –که برای دستیابی به خروجی هدف مقیاس بندی شده است– از چاپگر زیستی توزیع می شوند. اجزاء هیدروژل بی اثر (خنثی)[3] را می توان به عنوان محافظ، به عنوان بافت هایی که با هدف دستیابی به ماهیت سه بُعدی محصول ایجاد می شوند و یا به عنوان فیلتر برای ایجاد کانال یا فضاهای خالی بین بافت ها برای ایجاد ویژگی های بافت واقعی، مورد استفاده قرار داد. در شکل شماره ی ۳-۸ نمونه ای از تولید یک رگ خونی از طریق چاپ زیستی نشان داده شده است.



شکل ۳-۸: چاپ زیستی لایه به لایه یک رگ خونی با استفاده از هیدروژل و جوهر زیستی سلولی در یک معماری فضایی مشابه واقعی

شکل ۳-۹ فرایند جایگیری ترکیبات کروی برای تولید سازه های تیوبی شکل را نشان می دهد. از آنجائیکه چاپگرهای زیستی هد چندگانه دارند، واحدهای سلولی جوهر زیستی و میله های آگارُز[4] (حفاظتی) را نیز می توان با همین چاپگرهای زیستی تولید نمود. فرایند چاپ زیستی را می توان برای تولید بافت ها در انواع مختلف، از بافت های بسیار ریز موجود در صفحات کشت بافت

[1] - *Bio-ink*
[2] - *Extruding*
[3] -*Bio-inert*
[4] - *Agarose rods*

Maharfan

چندضلعی گرفته تا ساختارهای درشت تر مناسب برای قرارگیری در رآکتورهای زیستی[1] با هدف ایجاد شرایط زیست مکانیکی (بیومکانیکی) پیش از کاربرد، تغییر داده و بهینه نمود.

شکل ۳-۹ قالب طراحی سازه های تیوبی شکل (رنگ صورتی: میله های آگارُز؛ رنگ نارنجی: واحدهای استوانه ای جوهر زیستی)

در انتهای فرایند چاپ زیستی، ساختار سه بُعدی ایجاد شده به مرحله ی پسافرایندی وارد می گردد. فاز پسافرایندی در یک انکوباتور[2] (اینکیوبیتور نیز خوانده می شوند) انجام می شود که در آن، سازه ی هدف با همجوشی[3] واحدهای چاپ شده ی جوهر زیستی تکمیل و تولید می گردد. در حین اجرای فرایند همجوشی، سازه ی ایجاد شده به تدریج سخت و محکم شده و سپس مواد حفاظتی از آن جدا می گردد. در نهایت، این سازه به یک رآکتور زیستی منتقل می گردد که در آن، شرایط فیزیولوژیک مشابه و بسیار نزدیک به حالت رشد کامل، ایجاد و تقویت شده است.

۳-۳-۴- اصول اجرای فرایند

برای تشریح اصول اجرای فرایند چاپ زیستی اکستروژن، ابتدا باید رفتارها و فرایندهای سلولی ذیل توضیح داده شده و تفسیر شوند.

- **خودسازماندهی**[4]: فرایندی است که در آن، الگوسازی در سطح کلان یک سیستم، به صورت مستقل و از تعداد بیشماری تعاملات صورت گرفته بین اجزاء پایین سطحی یک سیستم ناشی می شود [۱۳]. اندام های زنده نمونه ای از سیستم های خودسازمانده هستند.
- **خودسامانی**: ساماندهی خودکار اجزاء، از یک حالت اولیه به الگوها یا ساختارهای نهایی، بدون دخالت عامل انسانی [۱۴]. به عبارت دیگر، در این فرایند، ساختار ریخت شناسی[5]

---

[1] - *Bioreactors*
[2] - *Incubator*
[3] - *Fusion*
[4] - *Self-organisation*
[5] - *Morphological*

Maharfan

(مورفولوژیکی) در رشد جنینی هنوز در سیستم خودسامانی و بدون اعمال تاثیرات خارجی در حال تکامل می باشد. خودسامانی یک فرایند فراگیر و همه جایی در حوزه ی زیست شناسی تکوینی بوده و تولید و تکامل اندام های زنده[1] (ارگانوژنز) نمونه ای از این فرایند است.

- **مرتب سازی سلولی**[2]: یک فرایند خودسامانی مشتمل بر مکانیزم مشابه ایجاد اجزاء و لایه های مرزی سلولی بین بافت های مجزا است [۱۵] و [۱۶]. ماهیت سیال[3] (فلوئیدیک) سلولی را می توان با فرضیه ی چسبندگی دیفرنشیال[4] [۱۷] و [۱۸] (انتقال سلولی در فرایند ریخت زایی ترمودینامیکی سلول) به صورت جزئی و دقیق تشریح کرد. اگر دو نوع سلول کاملا متفاوت بصورت تصادفی با یکدیگر ترکیب شوند، سلول های هم نوع به تدریج به هم نزدیک شده و یکپارچه می شوند، درحالیکه سلول های غیر هم نوع به علت تفاوت در قدرت چسبندگی موجود بین سلول های مختلف اطراف خود، از یکدیگر جدا می گردند.
- **همجوشی بافت**[5]: نوعی دیگر از فرایند خودسامانی بوده که در واقع یک پدیده ی رایج در مکانیک سیالات است که در آن، دو یا چند نوع مختلف از سلول ها با یکدیگر در تماس قرارگرفته و آمیخته می شوند[۱۶] و [۱۹]. بنابراین، فرایند همجوشی بافت را گهگاه "هم ذوب شدن بافت ها" نیز می نامند که عامل اصلی آن نیروهای کشش سطحی هستند [۱۷].

در فرایند چاپ زیستی ابداعی توسط شرکت اُرگانووو، رفتارهای سلولی مذکور بکارگرفته شده اند؛ ماهیت بنیادین این فرایند چاپ زیستی در شکل شماره ی ۳-۱۰ به تصویر کشیده شده است. فرایند چاپ یک بافت تیوبی شکل نیز در شکل شماره ی ۳-۱۱ نشان داده شده است که در آن، اسفروئیدهای بافت[6] به صورت لایه به لایه در هیدروژل های حفاظتی بدون اثر سلولی جایگذاری شده و سپس همجوشی بافت و حذف عوامل حفاظتی به ترتیب اجرا می شوند.
نقاط قوت فرایند چاپ زیستی مبتنی بر اکستروژن که توسط شرکت اُرگانووو ابداع شده است موارد ذیل هستند:

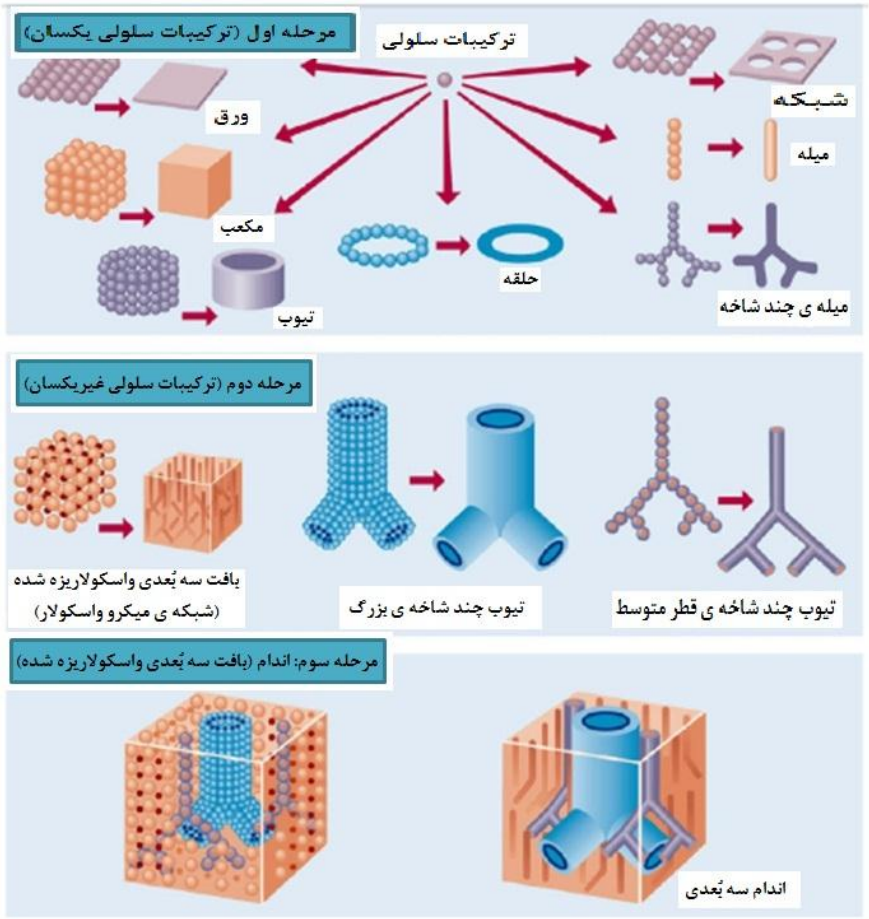
---

[1] - *Organogenesis*
[2] - *Cell-sorting*
[3] - *Fluidic*
[4] - *Differential Adhesion Hypothesis*
[5] - *Tissue Fusion*
[6] - *Tissue Spheroids*

Maharfan

۱) دقت بالا: این تکنیک چاپ زیستی مبتنی بر اکستروژن دارای سرعت بالا بوده که در تولید سازه های با مقیاس بزرگ، همچون رگ های خونی، در مقایسه با چاپ جوهرافشان بسیار کارامدتر می باشد [۲۰].

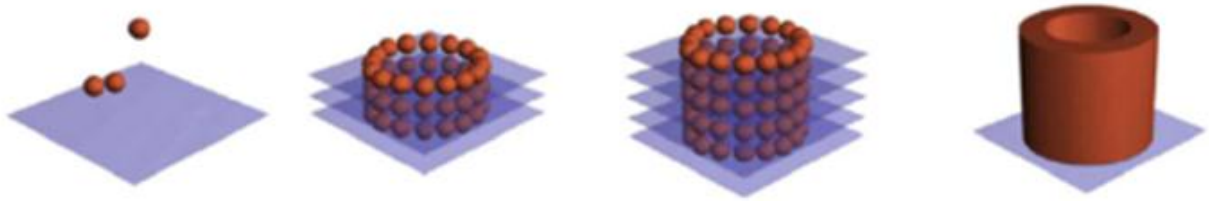
۲) چگالی سلولی بالا: با این تکنیک می توان سازه های سلولی دارای چگالی بالا تولید نمود. به کمک این تکنیک می توان بافت هایی را به صورت زیستی چاپ نمود که مستقل از اجزاء داربستی یکپارچه یا هیدروژلی هستند و به این دلیل، این بافت ها دارای چگالی مشابه بافت های واقعی و نیز ویژگی های سلولی بسیار ساخت یافته همچون اتصالات محکم بین سلولی و شبکه های میکرومغناطیسی هستند.



شکل ۳-۱۰: مفهوم کلی تکنیک چاپ اکستروژن، ابداعی شرکت اُرگانووو [۲] (حق چاپ محفوظ است، ۲۰۰۹، با مجوز رسمی از مجله ی الزویر[1])

[1] - *Elsevier*

Maharfan



شکل ۳-۱۱: فرایند چاپ یک بافت تیوبی شکل

۳) توان تولید ساختارهای بافتی ضخیم. به کمک این تکنیک، مشکلات مربوط به واسکولاریز[1] در ساختارهای بافتی ضخیم (تولید انبوه رگ های خونی) به طور کامل رفع شده است. در این تکنیک می توان سازه های چاپی را واسکولاریزه نمود و از اینرو به کمک این تکنیک می توان ساختارهای بافتی ضخیم تولید نمود.

۴) توان تولید ترکیبات و هندسه ی چندگانه در سازه های سه بُعدی. به کمک این تکنیک می توان فرایند تولید و آزمایش تطبیقی ترکیبات و هندسه ی چندگانه را در سازه ها اجرا نمود، بطوریکه در انتها، آن ترکیبات و هندسه ی تولید شده ی بهتر از سایرین، بصورت سیستماتیک و بر اساس نتایج زمانی و عملکردی، انتخاب شده و برای تولید نهایی در پیش گرفته شود.

۵) توان تولید بافت های مشابه نمونه های واقعی. بافت های چاپ شده ی زیستی توسط این تکنیک، در مقایسه با پلتفرم های استاندارد کاشت سلولی، به مواد زیستی یا اجزاء داربستی که در بافت های واقعی اصلاً وجود ندارند، وابسته نبوده و از این نقطه نظر، بسیار مشابه بافت های واقعی هستند.

نقاط ضعف این تکنیک نیز در مقایسه، به شرح ذیل هستند:

۱) نیازمندی به محیط کنترل: در تولید یک سازه ی چاپی با مقیاس بزرگ، سلول های چاپ شده ممکن است قبل از اینکه فرایند به طور کامل اجرا شده و به پایان برسد، از بین بروند. یک محیط کنترل کوچک، که قادر به تنظیم دما، تامین اکسیژن، تامین خوراک لازم و مواردی از این دست باشد، برای اجرای این تکنیک بسیار مورد نیاز است.

۲) در این تکنیک به اسفروئیدهای سایز استاندارد احتیاج خواهیم داشت.

۳) در این تکنیک، بُعد عمودی سازه ی تولیدی دارای ثبات بسیار کمی خواهد بود و به این دلیل، چاپ سازه های دارای ارتفاع زیاد با این تکنیک چندان موفق نخواهد بود.

[1] - *Vascularisation*

Maharfan

۴) در این تکنیک می توان سازه های دارای ارتفاع زیاد را به کمک متریال های حفاظتی تولید کرد، اما در نهایت، جداسازی این متریال ها کار راحتی نخواهد بود.
۵) سازه ی تولیدی به کمک این تکنیک بعد از فاز همجوشی بافت، کمی فشرده شده و سطح صاف و هموار خود را از دست می دهد.
۶) در این تکنیک، پیش از اجرای فرایند چاپ نیاز به همجوشی اسفروئید خواهیم داشت.

۳-۴- اکستروژن: مورد سوم

۳-۴-۱- شرکت مورد مطالعه: شرکت جِسیم[۱]

شرکت جِسیم یک سازمان غیر دولتی مربوط به بخش خصوصی می باشد که در سال ۱۹۹۵ در قالب مجموعه ای مستقل از مرکز تحقیقات روسِن دورف[۲] جدا شده است. این شرکت، با سابقه ای درخشان و طولانی در حوزه ی فناوری های مربوط به میکروماشین ها، فعالیت خود را در بخش تولیدات ابزاردقیق زیستی[۳] و به صورت تخصصی در حوزه ی میکرومایعات[۴]، ابزارهای کاربردی در استفاده از مایعات زیرمیکرولیتر[۵] و نیز چاپ میکروارتباطی[۶] آغاز نمود. این شرکت در حال حاضر به ارائه ی راهکارهای مناسب به مشتریان در حوزه ی میکرومایعات، ماکرومایعات، مکانیک، بسته بندی و نرم افزاهای تخصصی کنترل و بازرسی می پردازد.

۳-۴-۲- نام محصول: داربست زیستی[۷]

داربست زیستی، همانگونه که در شکل شماره ی ۳-۱۲ نشان داده شده است، یک پلتفرم ابزار مدولار است که قادر است تا ۴ محور مستقل Z را برای متریال های کاربردی پشتیبانی کند. به کمک این دستگاه می توان داربست های زیستی و نیز سلول های زنده چاپ نمود. مواد چاپی مورد استفاده در این دستگاه شامل پلیمرهای زیستی (مثل کلاژن و آلژینات)، هیدروژل ها، سیمان استخوانی[۸]، چسب های پلیمر و سیلیکون های زیست سازگار[۹] هستند. ابعاد این دستگاه ۱۰۰ در ۳۴۶ در ۴۰ میلی متر است. این دستگاه قادر است فرایند چاپ سه بُعدی از نوع پیپِتینگ

---

[1]- *GeSiM mbH*
[2] - *Rossendorf Research Center*
[3] - *Bioinstrumentation*
[4] - *Microfluidics*
[5] - *Sub-microliter liquids*
[6] - *Micro-contact printing*
[7] - *Bioscaffolder*
[8] - *Bone cement paste*
[9] - *Biocompatible*

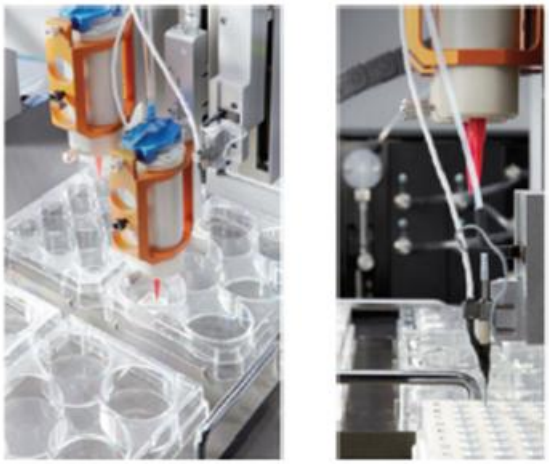
Maharfan

نانولیتری پیزوالکتریک[1] و فشارمحور را بر روی ابزار مشابه انجام دهد. هد چاپگر قادر است تا ۳ کارتریج بادی[2] (پنوماتیک) را برای جایگذاری خمیر ویسکوز[3] به کار بندد. هر یک از این دیسپِنسِرها توسط یک موتور اختصاصی Z-استِپِر[4]، با عرض استِپ ۲ میکرومتر در محورهای X و Y و ۱۰ میکرومتر در محور Z کنترل می شوند. این Z-درایو ها[5] قادرند مواد (متریال ها) مختلف را بدون تغییر در کارتریج چاپ کنند. سیستم پیپِتینگ نانولیتری می تواند تا ۳۸۴ گونه ی نمونه ای را بر بخش های یک سازه ی داربستی پیپِت کند. در شکل شماره ی ۳-۱۳، نمونه ای از این دستگاه با ساختار ۲ کارتریجی و ۱ دیسپنسر پیزوالکتریک نشان داده شده است. بخش های اصلی این دستگاه نیز در جدول شماره ی ۳-۳ فهرست شده اند؛ کاربردهای اصلی این دستگاه عبارتند از: چاپ سلول های زیستی (چه بصورت کاشت شده توسط یک میکرودیسپنسر پیزوالکتریک و چه به صورت تعبیه شده در متریال داربستی)، تولید ایمپلنت های بافت نرم، روکش کردن پوشش های رسانا بر ابزارها و تجیهزات پزشکی، استخراج متریال های حساس به نور و تولید حسگرهای خاص از پلیمرهای رسانا.

شکل ۳-۱۲ پلتفرم داربست زیستی، ساخت شرکت جِسیم

[1] - *Piezoelectric nano-litre pipetting*
[2] - *Pneumatic*
[3] - *Viscose paste*
[4] - *Z-stepper*
[5] - *Z-drives*

Maharfan



شکل ۳-۱۳: نمایی از تجهیز داربست زیستی با ۲ کارتریج و یک دیسپنسر پیزوالکتریک، ساخت شرکت جِسیم

بخش ها	عملکرد
پلتفرم	پایه ی اصلی سیستم بوده که دارای درایوهای کمربندی[1] دقیق اما ساده است. درایوهای دوکی شکل[2] (اسپیندل) نیز برای محورهای Z مورد استفاده قرار می گیرند
کارتریج	در هر تنظیم دستگاه، تا ۳ کارتریج قابل استفاده هستند. هر محور Z نیز با یک نگهدارنده ی کارتریج ۳۰ میلی متری همراه است
گرم کننده ی کارتریج	مواد اولیه با ویسکوزیته ی زیاد را می توان در دماهای بالا جایگذاری کرد. این بخش سیستم با کارتریج های ۱۰ میلی لیتری همخوانی دارد. بیشترین دمای ممکن نیز ۱۸۰ درجه ی سانتی گراد است
جعبه مایع (فلوئیدیک باکس)	کنترل فشار مستقل در مورد هر کارتریج اعمال می شود. چرخه های شروع/توقف سریع و دقیق به کمک دریچه های جانبی تعبیه شده در هد چاپگر تشخیص داده می شوند
نرم افزار	اشیاء سه بُعدی مکعبی و استوانه ای در نرم افزار کنترلی مبتنی بر رابط کاربری گرافیکی[3] قابل تعریف هستند. هر کارتریج را نیز می توان به یک رشته اختصاص داد.
	ماژول ۱: ژنراتور داربستی[4]؛ ماژول ۲: رابط زبان ارتباطی استاندارد[5]

جدول ۳-۳: بخش های اصلی داربست زیستی، ساخت شرکت جِسیم

[1] - *Belt drives*
[2] - *Spindle drives*
[3] - *GUI-based*
[4] - *Scaffold generator*
[5] - *STL-interface*

Maharfan

۳-۵- اسکتروژن: مورد چهارم

۳-۵-۱- شرکت مورد مطالعه: سایفیوز بیومدیکال کِی.کِی[1]

شرکت سایفیوز بیومدیکال کِی.کِی یک شرکت استارتاپ است که دفتر مرکزی آن در شهر توکیو در ژاپن قرار دارد. این شرکت در آگوست سال ۲۰۱۰ توسط کوجی کوچیشی[2] و کوئیچی ناکایاما[3] تاسیس شد. سایفیوز به صورت تخصصی در حوزه ی تولید و توسعه ی محصولات سه بُعدی وابسته به بافت های بدن فعالیت می کند. این شرکت همچنین در تلاش است تا سیستم های تولید محصولات سه بُعدی وابسته به بافت های بدن را طراحی و توسعه دهد. پیش از تاسیس رسمی این شرکت، این گروه مشغول به تولید چاپگرهای سه بُعدی با همکاری شرکت شیبویا کوگیو[4] (با مسئولیت محدود) بودند. یک سال بعد، سایفیوز و دانشگاه کیوشو[5] یک پروژه ای مطالعاتی را در خصوص بازسازی استئوکوندرال[6] آغاز کردند. سپس در دسامبر سال ۲۰۱۲، این شرکت به صورت رسمی یک سیستم چاپ سه بُعدی کاملاً جدید و نوآورانه را با نام "ریجِنووا[7]" به بازار معرفی نمود.

۳-۵-۲- نام محصول: چاپگر سه بُعدی زیستی ریجِنووا و علمکرد آن

ریجِنووا یک سیستم رباتیک خودکار است که سازه های سه بُعدی سلولی را از طریق جایگذاری اسفروئیدهای سلولی در آرایش های سوزنی شکل تولید می کند. فرایند چاپ در این سیستم مشابه آن چیزی است که در چاپگر زیستی نووژن اِم.اِم.ایکس شرکت اُرگانووو رخ می دهد، که می توان آن را در سه مرحله و فاز اصلی (جدول شماره ی ۳-۴) خلاصه کرد.

---

[1] - *Cyfuse Biomedical K.K.*
[2] - *Koji Kuchishi*
[3] - *Koichi Nakayama*
[4] - *Shibuya Kogyo Co. Ltd.*
[5] - *Kyushu University*
[6] - *Osteochondral regeneration*
[7] - *Regenova®*

Maharfan

	مراحل	شرح فرایند	نمایش تصویری
۱	بارگذاری اسفرئید سلولی، آماده سازی داده های سه بُعدی و آرایش سوزنی	**اسفروئیدها: سلول ها ایزوله شده و به سطوح مورد نیاز تکثیر می شوند. یک اسفروئید سلولی معمولاً دارای قطری در حدود ۵۰۰ میکرومتر و حاوی ده ها هزار سلول است** **داده های سه بُعدی: تنظیمات سه بُعدی اسفروئید در نرم افزار سایفیوز انجام می شود. در یک طرح می توان انواع گوناگون اسفروئید را انتخاب کرد** **آرایش سوزنی: سوزن های ساخته شده از فولاد ضدزنگ دارای قطر ۲۰۰-۱۰۰ میکرومتر به عنوان ابزار محافظ دما (یعنی داربست) در حین اجرای تنظیمات اسفروئید مورد استفاده قرار می گیرند**	
۲	چاپ سه بُعدی	**اسفروئید ها با قرارگیری در آرایش سوزنی به صورت یک سازه ی سه بُعدی درمی آیند.**	
۳	بلوغ و رسیدگی	**سازه ی سه بُعدی ساخته شده در یک رآکتور زیستی کاشت شده تا امکان سازماندهی سلولی وجود داشته باشد و بافت ها توان فیزیکی و عملکری خود راکسب کرده و بالغ شوند**	

جدول شماره ی ۳-۴: مراحل اصلی فرایند چاپ یک سازه ی سه بُعدی در ریجِنووا، ساخت شرکت سایفیوز

۳-۶- چاپ جوهرافشان: مورد اول

چاپ جوهرافشان یک تکنیک چاپ غیرتماسی است که داده ها را از یک رایانه ی در حال نمایش یک تصویر یا کاراکتر دریافت کرده و سپس آن را از طریق بیرون رانی[1] (اجکشن) قطره های ریز جوهر به روش بر اساس نیاز و تقاضا، بر روی یک سطح مجدداً تولید و چاپ می کند [۲۱]. روش اجکشن قطره بر اساس نیاز و تقاضا به این معنی است که جوهر فقط وقتی بر روی سطح چاپ تخلیه می شود که آنجا زمان و مکان مناسب برای تولید سازه ی چاپی باشد. چاپ جوهرافشان یک فناوری جدید نیست، بلکه سابقه ی کاربرد طولانی مدت در حوزه های الکترونیک و مهندسی ریزپردازنده ها برای چاپ مواد اولیه ی الکترونیک و مدارهای پیچیده ی یکپارچه را دارد [۲۲].

[1] - *Ejection*

Maharfan

اخیراً دکتر بولند و همکارانش [۲۳] مطالعاتی در این حوزه ی انجام داده اند که نتایج آن نشان می دهد این فناوری به تدریج برای چاپ سلول ها و مواد زیستی همچون هیدروژل ها در پزشکی و شاخه های مهندسی پزشکی در حال استفاده بیش از پیش است. در این فصل، اصطلاح "چاپ جوهرافشان" به چاپ زیستی جوهرافشان اشاره دارد و نه روش های چاپ جوهرافشان عمومی و سنتی.

۳-۶-۱- شرکت مورد مطالعه: فوجی فیلم

هلدینگ بزرگ شرکت های فوجی فیلم[1] (با مسئولیت محدود) که در سال ۱۹۳۴ تاسیس شده و با نام "فوجی فیلم" در همه جای دنیا شناخته شده است، یک شرکت عکاسی و تصویربرداری چندملیتی ژاپنی است که دفتر مرکزی آن در توکیوی ژاپن قرار دارد. سیستم چاپ زیستی که در بخش بعدی معرفی خواهد شد، توسط شرکت فوجی فیلم ایالات متحده آمریکا ایجاد و به بازارها معرفی شده است. شرکت های فوجی فیلم در ایالات متحده آمریکا خدمات خود را به شبکه ی گسترده ای از صنایع، شامل پزشکی، هنرهای تجسمی، اپتیک، بانک های اطلاعاتی سازمانی، موشن گرافیک و عکاسی و تصویربرداری، ارائه می دهد. فوجی فیلم در ۷۸ سال گذشته سرمایه گذاری های زیادی در تحقیق و توسعه خود داشته که نتیجه ی آن دستیابی به کلاس جهانی در کار خود و ایجاد فناوری های زیرساختی و بنیادین بسیار منعطف و تطبیق پذیر با صنایع مختلف می باشد. هلدینگ شرکت های فوجی فیلم ایالات متحده آمریکا در ۲۷ ایالت این کشور دفتر داشته و در حوزه های تحقیق، توسعه، تولید، فروش و خدمات مربوط به محصولات فوجی فیلم فعالیت می کند. فناوری های ایجاد شده و توسعه یافته توسط فوجی فیلم در حوزه های گوناگونی از جمله تولید و پردازش فیلم، مواد اولیه ی ارگانیک و غیرارگانیک، اپتیک، تصویربرداری، تولید دارو، مکاترونیک و الکترونیک هستند. دفتر مرکزی فوجی فیلم در منطقه ی نیشیازابو، حوزه ی شهری میناتو-کو در شهر توکیوی ژاپن[2] قرار دارد.

۳-۶-۲- نام محصول: چاپگر دیماتیکس

چاپگر دیماتیکس مدل DMP-2831[3] قادر است متریال های مایع (مایعات زیستی همچون مایعات سلولی، DNA و پروتئومیکس[4]) را در ابعاد ۸ در ۱۱ اینچ یا استاندارد A4 با بهره گیری از

[1] - *Fujifilm Holdings Corporation Ltd.*
[2] - *Nishiazabu, Minato-ku, Tokyo, Japan*
[3] - *Dimatix Materials Printer, DMP-2831*
[4] - *Proteomics*

Maharfan

یک کارتریج مصرفی (یک بار مصرف) جوهرافشان پزوالکتریک مورد استفاده قرار دهد. به کمک این چاپگر می توان الگوهای مورد نیاز را، در مساحت ۲۰۰ در ۳۰۰ میلی میتر مربع و لایه ها را با ضخامتی تا ۲۵ میلی متر و یک ارتفاع Z قابل تنظیم، تعریف و تولید نمود. دمای پِلَتِن خلاء[1] (ورق خلاء) را در این چاپگر، که لایه یا سطح مربوطه را در محل خود مستقر و امن نگه می دارد، می توان تا ۶۰ درجه ی سانتی گراد تغییر داده و تنظیم کرد. این دستگاه قادر است به کمک یک برنامه ی ویرایش الگو، اَشکال متنوعی از الگوها را پیشنهاد دهد. بعلاوه، یک ویرایشگر موجی شکل و یک دوربین کنترل قطره نیز در این چاپگر وجود دارند که تغییرات دستی پالس های الکتریکی را در دستگاه جت پزوالکتریک این چاپگر، با هدف بهینه سازی خصوصیات قطره خارج شده از نازل، ممکن می سازد. به کمک این سیستم می توان براحتی فرایند چاپ سازه های مورد نظر را برای تولید نمونه های اولیه و آزمایش دقت و صحت فرایند مربوطه انجام داد. نرم افزار کاربردی این چاپگر که در واقع رابط کاربری گرافیکی آن بوده و به همراه دستگاه ارائه می شود، فایل های ورودی را در فرمت Bitmap و در قالب مدل های رایانه ای از کاربر دریافت می کند. در این نرم افزار کاربردی، یک تابع تبدیل فرمت فایل های ورودی نیز تعبیه شده که فایل های با فرمت های DFX، Gerber، GDSII و OASIS را به فرمت Bitmap تبدیل می کند. در شکل شماره ی ۳-۱۴یک چاپگر مدل DMP-2831 و در جدول شماره ی ۳-۵، مشخصات فنی سیستم مکانیکی آن به صورت خلاصه ارائه شده است.

شکل شماره ی ۳-۱۴: چاپگر دیماتیکس مدل DMP-2831، ساخت شرکت فوجی فیلم

[1] - *Vacuum platen*

Maharfan

مشخصات فنی	پارامترها
مساحت قابل چاپ	سطح اصلی< ۰/۵ میلی متر ضخامت: ۳۱۵ * ۲۱۰ میلی متر (۱۲/۴ * ۸/۲۷ اینچ) سطح اصلی بین ۵ /۰ تا ۲۵ میلی متر ضخامت: ۲۶۰ * ۲۱۰ میلی متر (۱۰/۲ * ۸/۲۷ اینچ)
تکرارپذیری	± ۲۵ میکرومتر (± ۰/۰۰۱ اینچ)
رزولوشن	۵ تا ۲۵۴ میکرومتر (۱۰۰ تا ۵۰۸۰ dpi)
نگهدارنده ی سطح اصلی	پلتن خلاء
ابعاد	۴۱۹ * ۵۸۴ * ۶۷۳ میلی متر (۱۶ * ۲۳ * ۲۶ اینچ)
وزن تقریبی	۴۳ کیلوگرم (۹۵ پوند)
جریان برق	۲۴۰ – ۱۲۰/۲۰۰ – ۱۰۰ ولت – ۵۰/۶۰ هرتز – حداکثر ۳۷۵ وات
دامنه ی عملکرد	۴۰-۱۵ درجه ی سانتی گراد، ۸۰-۵ درصد رطوبت غیرمتراکم

جدول ۳-۵: مشخصات سیستم مکانیکی چاپگر دیماتیکس مدل DMP-2831، ساخت شرکت فوجی فیلم

منحصربه فرد ترین ویژگی این دستگاه، هد چاپگر است که این امکان را به کاربر می دهد تا مایعات مورد نظر خود را در آن جایگذاری کرده و بدون دخالت چیزی دیگر و براحتی فرایند چاپ را انجام دهد. در این چاپگر، برای به حداقل رساندن دور ریز مایعات گران قیمت، ظرفیت هر مخزن کارتریج ۱/۵ میلی لیتر در نظر گرفته شده است. کارتریج ها را می توان جهت سهولت در چاپ یک سری کامل از مایعات مورد نظر به سادگی تعویض نمود. هر کدام از این کارتریج های تک کاربرده، ۱۶ نازل دارند که با فاصله ی ۲۵۴ میکرونی به صورت خطی قرار گرفته و سایز قطره ها نیز ۱ و ۱۰ پیکولیتر هستند. این کارتریج ها با هدف ایجاد جِتینگ با رزولوشن بالا و به صورت غیرتماسی در دامنه ی کاربردی بسیار گسترده طراحی شده اند. یک کارتریج با سایز قطره ی ۱ پیکومتر می تواند خصایص و ترکیباتی به کوچکی ۲۰میکرومتر را جایگذاری کند که به کاربر این امکان را می دهد تا تعداد بسیار زیادی از عناصر را در DNA و سازه های سلولی بسته سازی کند. در شکل ۳-۱۵ یک کارتریج تعویضی دارای مخزن یکبار پرشونده توسط کاربر و در جدول شماره ۳-۶ مشخصات فنی آن به صورت خلاصه آورده شده است.

Mahafan

شکل ۳-۱۵: کارتریج چاپگر دیماکس مدل DMP-2831، ساخت شرکت فوجی فیلم

مشخصات فنی	پارامترها
نوع	دستگاه جتینگ پیزوالکتریک که دارای گرم کننده و مخزن است
ظرفیت جوهر مصرفی	تا ۱/۵ میلی لیتر (قابل پرشدن توسط کاربر)
سازگاری ماده (متریال)	بیشتر مایعات آبی، حلال ها، اسیدی ها و مایعات پایه
تعداد نازل ها	۱۶ نازل، فواصل ۲۵۴ میکرومتری، تک ردیفی
حجم قطره	۱ و ۱۰ پیکولیتر اسمی (به ترتیب برای مدل های DMC-11601 و DMC-11610)

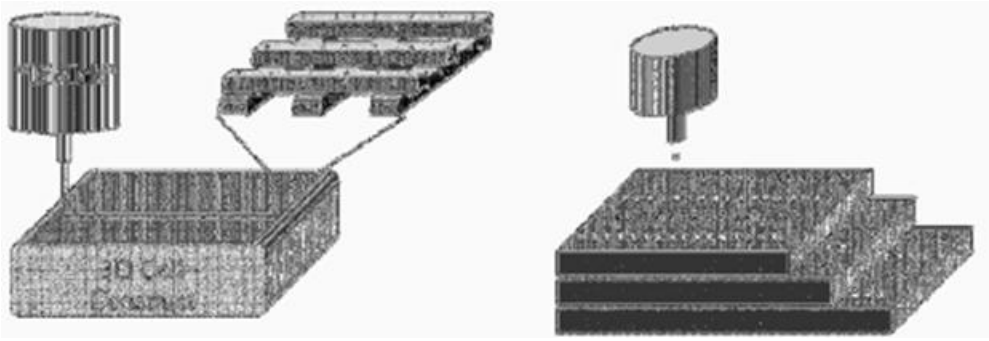
جدول ۳-۶: مشخصات فنی کارتریج چاپگر دیماکس مدل DMP-2831، ساخت شرکت فوجی فیلم

۳-۶-۳- اصول و روش کار

فرایند چاپ جوهرافشان در این چاپگر، از لحاظ روند اجرا، مشابه فناوری جوهرافشان بکاربرده شده در بیشتر چاپگرهای تجاری رومیزی است. ۲ نوع پزوالکتریک و گرمایی، انواع بسیار رایجی هستند که در این سیستم های جوهرافشان استفاده می شوند. روش چاپ سلول ها در هر دو نوع بسیار شبیه هم بوده و در شکل شماره ی ۳-۱۶ به تصویر کشیده شده اند. در این شکل، یک سازه سه بُعدی سلولی به صورت لایه به لایه از پایین به بالا ساخته شده است. در رویکرد چاپ سلولی ساختاری (شکل ۳-۱۶، سمت چپ)، همان ابزار جایگذاری برای ساخت داربست، سلول ها و مولکول های زیستی به صورت زنجیره ای مورد استفاده قرار می گیرد (و یا به صورت همزمان، اگر ابزارهای جایگزینی چندگانه و بیشتری موجود باشند).

Maharfan

در یکی دیگر از روش های چاپ (شکل شماره ی ۳-۱۶، سمت راست)، که تحت عنوان "انطباقی[1]" شناخته می شود، ابتدا یک لایه ی نازک به عنوان یک داربست پیش ساخته تعبیه شده، سپس سلول ها و مولکول های زیستی بر روی این لایه اضافه می شوند. لایه ی نازک دیگر در ادامه برای حفاظت از سلول های بعدی ساخته می شود. این چرخه ی ساخت به همین صورت ادامه پیدا می کند تا ساختار سه بُعدی مورد نظر به صورت کامل ایجاد شود.



شکل ۳-۱۶: شماتیک رویکردهای چاپ سلولی ساختاری و انطباقی

در فرایند چاپ جوهرافشان پزوالکتریک، قطره های جوهر ایجاد شده با عملگر پزوالکتریک در مخزن وارد می شوند. سپس یک پالس جریان کوتاه به یک المنت پزوالکتریک اعمال می شود که باعث تغییر شکل مخزن مایع می گردد. در ادامه، مایع مربوطه بواسطه ی انقباض و فشار مخزن از نازل خارج می شود. بعد از جتینگ مایع، مخزن به شکل اولیه ی خود برگشته و برای اجکشن بعدی دوباره پُر می گردد.

در یک سیستم جوهرافشان گرمایی، عناصر اولیه عبارتند از یک واحد گرمایی و یک محفظه یا مخزن جوهر به همراه تعدادی از نازل های کوچک (قطر روزنه ی خروجی نازل ۳۰ تا ۲۰۰ میکرومتر است) [۲۶]. ابتدا یک پالس کوتاه کنترل شده برای افزایش مناسب و زیاد دما تا ۳۰۰ درجه ی سانتی گراد در مدت ۱۰ میکروثانیه در سطح به هیتر وارد می شود. این عمل باعث می شود تا دمای فله ی مایع به ۵ تا ۱۰ درجه ی سانتی گراد افزایش یابد. در نتیجه، یک حباب کوچک هوا ایجاد شده که اندازه ی آن زیاد و کم می شود. کوچک شدن حباب باعث ایجاد پالس فشار می شود که در ادامه یک قطره ی کوچک جوهر را از نازل به بیرون می راند [۲۷]. مخزن مربوطه برای اجکشن بعدی جوهر، دوباره پُر می شود.

[1] - *Conformal*

Maharfan

در بیان کلی، فرایند چاپ جوهرافشان را می توان در دو فاز و مرحله ی اصلی تشریح نمود [۲۸]، گرچه که بعضی از پژوهشگران فرایند چاپ را فقط شامل یک مرحله می دانند (یعنی معتقدند هر دو فاز به صورت همزمان صورت می گیرد) [۲۹]. مرحله ی اول، تعبیه کردن یک لایه ی نازک ساخته شده از متریال های زیستی بر روی سطح پایه است، که به عنوان یک داربست برای محافظت از سلول هایی که در مرحله ی دوم باید چاپ شوند بکاربرده می شود. فرایند چاپ جوهرافشان را می توان به چهار مرحله ی متوالی بخش بندی کرد، که عبارتند از:

الف) ایجاد فشار و آماده سازی سیستم برای خروج مایعات از طریق گرمایش هیتر (فاز جوهرافشان گرمایی) و یا راه اندازی پزوالکتریک

ب) ایجاد یک حباب هوا، انقباض آن، تولید فشار و در نتیجه، خروج یک قطره از روزنه ی نازل

ج) جایگیری قطره ی شکل یافته بر روی یک لایه ی سطحی

د) بازگشت خودکار سیستم مکانیکی جوهرافشانی به وضعیت اولیه برای تکرار عملکرد مذکور

۳-۶-۴- نقاط قوت و ضعف سیستم

فواید اصلی چاپ جوهرافشان به شرح ذیل هستند:

۱) هزینه ی کم اجرا، تکرارپذیری زیاد و جایگذاری غیرتماسی. چاپ جوهرافشان قادر است ساختارهای سه بُعدی سلولی و چندگانه ی کاملاً مشابه و یکسان تولید کند [۲۰]. بعلاوه، کاربرد چاپ جوهرافشان در آزمایشات و فرایندهایی که مصرف متریال ها در آنها کم است بسیار مفید و کارامد بوده که خود باعث کم شدن هزینه های به اصطلاح واکنش دهنده های فرایندی می گردد.

۲) عملکرد تماماً خودکار. حرکات کنترل شده ی رایانه ای هد های چاپگر این امکان را به سلول های جوهر زیستی می دهد تا به طور دقیق جایگذاری شوند. ایجاد لایه های جوهر زیستی بخش بسیار حساس و مهمی است، چراکه هر لایه به عنوان یک سطح محافظ برای ایجاد ستون فقرات سازه ی سه بُعدی عمل خواهد کرد [۳۰].

۳) توان چاپ اندام های بدن. توانایی ایجاد و کاربرد تنوع گسترده ای از داربست های هیدروژلی حاوی پلیمرهای طبیعی یا مصنوعی در این نوع چاپ، روند چاپ مستقیم اندام ها و بافت ها را تسهیل می کند.

چالش هایی که چاپ به روش جوهرافشان با آنها روبروست نیز به شرح ذیل هستند:

Mahanfan

۱) گرفتگی روزنه ی خروجی نازل. سلول های ویسکوز می توانند منجر به بروز خطر گرفتگی روزنه ی خروجی نازل شوند که در نتیجه امکان برش سلول های خارج شده را در نازل افزایش می دهد. این برش مکانیکی زیاد منجر به خرابی سلول ها می شود.
۲) تخریب سلولی. در حین روند ایجاد قطره و بازگشت مجدد سیستم به حالت اولیه، نیروهای هیدرواستاتیک و اینرسی ایجاد می شوند که منجر به بروز انواع مختلف تخریب سلولی می شود.
۳) بروز مشکلات در تجمع و تراکم سلولی و رسوب گذاری در مخزن و لوله ی چاپگر. سلول ها باید پیش از اکستروژن، در مخزن کارتریج به طور موقت قرار گیرند، بنابراین تجمع سلولی و رسوب گذاری اجتناب ناپذیر است [۳۱] و نمی توان آن را به طور کامل رفع نمود.
۴) فشار برشی زیاد در حین اجرای جتینگ. کاملاً مشخص است که جریان مایع در مرکز روزنه ی خروجی نازل بیشتر از بخش های دیگر، مثلاً دیواره ها، است. این شیب فزاینده ی سرعت منجر به ایجاد جریان برشی قوی در روزنه ی خروجی نازل شده که در نهایت باعث تخریب سلول های زنده می گردد.
۵) تماس "زیاد" با سطوح. فعل و انفعال بین قطره ی خارج شده و لایه ی دریافت کننده را یک "تماس" می نامیم [۳۲]. سرعت های بالا در جتینگ قطره می تواند نیروهای بین قطره ها و سطوح را تحریک کند که برای سلول ها مخرب خواهد بود.
۶) رزولوشن نسبتاً کم. رزولوشن چاپ جوهرافشان ۱۰۰ میکرومتر است که بسته به سایز روزنه ی خروجی نازل بسیار محدود می شود. بعلاوه، قطر قطره ی خارج شده نزدیک به ۲۰۰ درصد بزرگتر از قطر روزنه ی خروجی نازل است. اما استفاده از نازل های نازک و نرم احتمال بروز انسداد دریچه ی نازل را بیشتر می کند.
۷) امکان چاپ سازه های با چگالی سلولی بالا در این سیستم وجود ندارد.

۳-۷- چاپ جوهرافشان: مورد دوم

۳-۷-۱- شرکت مورد مطالعه: شرکت میکروجت[1]

شرکت میکروجت یک شرکت ژاپنی فعال در حوزه ی فناوری جوهرافشان است. این شرکت در سپتامبر سال ۱۹۹۷ تاسیس شده و دفتر مرکزی آن در حال حاضر در ناگاگنو-کن ژاپن[1] قرار

[1] - *Microjet Corporation*

Maharfan

دارد. میکروجت در تلاش است تا فناوری های پیشرفته، نوآورانه و جدیدی ابداع نموده، ارزش های جدیدی را از طریق ارتباط بنیادین فناوری های جدید خود با فناوری های موجود ایجاد نموده و به طور مستمر، محصولات ارگانیک و محیط زیست پسندانه ی جدیدی را طراحی و به بازارهای هدف معرفی کند. خدمات اصلی این شرکت شامل تست دستگاه ها، توسعه ی چاپگرهای جوهرافشان برای کاربردهای صنعتی و دستگاه های سنجش و کنترل دقیق قطره های کاربردی در فرایند چاپ جوهرافشان است.

۳-۷-۲- نام محصول: دستگاه لَب جِت-بیو[۲]

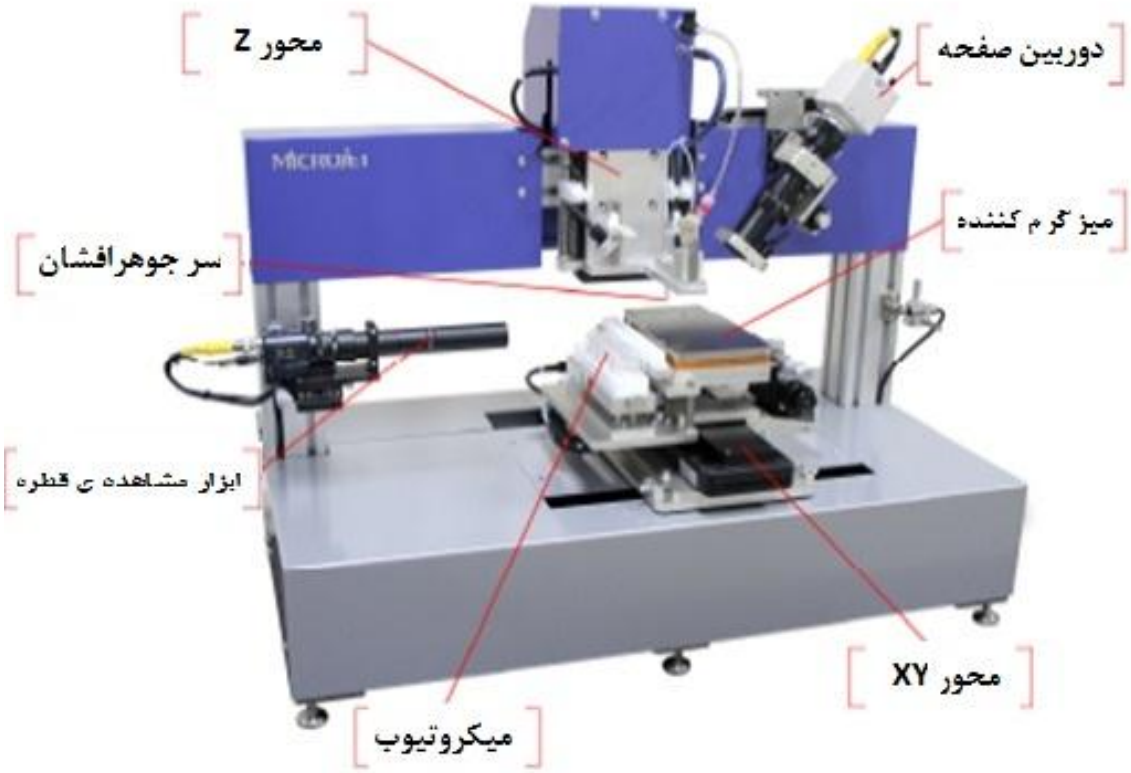
لَب جِت-بیو یک توزیع کننده ی (دیسپنسر) جوهرافشان پیزوالکتریک با دقت بالا است. این دستگاه حجم کمی از مایع را مکیده و بسته به نیاز، آن را برای الگوسازی مربوطه توزیع می کند. بعلاوه، این دستگاه قادر است انواع مختلفی از مایعات را با مخازن آوندی خود که تا ۱۶ واحد خواهند بود بکاربندد. نمونه ای از یک دستگاه لَب جِت-بیو در شکل شماره ی ۳-۱۷ نشان داده شده و ویژگی های اصلی آن به شرح ذیل هستند:

- مکش خودکار حجم کم مایع، توزیع و الگوسازی (حداقل حجم مورد نیاز: ۰/۲ میلی لیتر)
- بهره گیری از چندین مایع بصورت کنترل شده با سیستم خودکار شستشو
- عملکرد مانیتور قطره های مایع (شکل شماره ی ۳-۱۸)
- تابع عملکردی تراز کاری، تابع عملکردی کنترل
- هد پیزوالکتریک که می تواند کشش سطحی زیاد و یا ویسکوزیته ی بالا را مدیریت کند

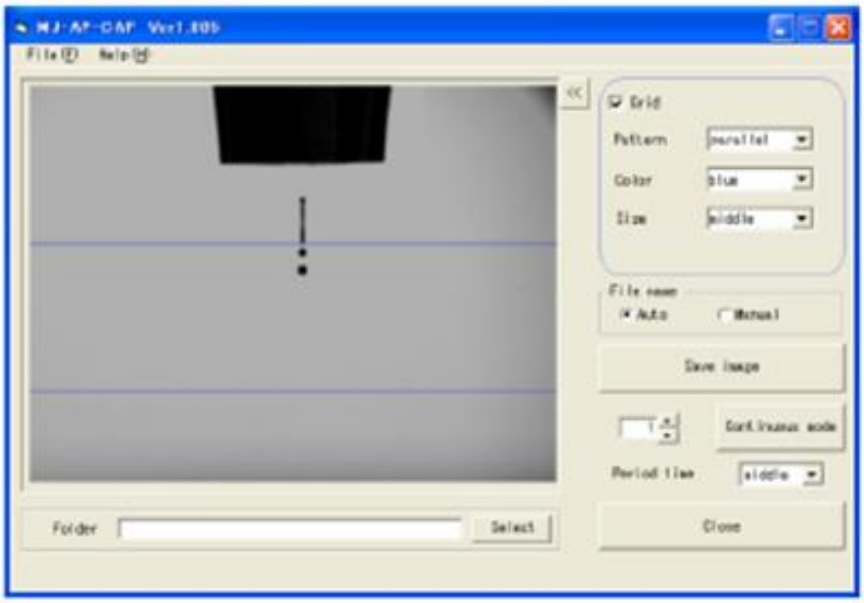
---

[1] - *Nagagno-ken, Japan*
[2] - *LabJet-Bio System*

Maharfan



شکل ۳-۱۷: نمونه ای از یک دستگاه لَب جِت-بیو، ساخت میکروجت



شکل ۳-۱۸: تابع عملکردی مانیتورینگ قطره ی اجکت شده، ارائه شده توسط میکروجت

لَب جِت-بیو متشکل از یک واحد اصلی مشتمل بر ابزار کنترل خودکار دارای محورهای سه گانه ی XYZ، یک کنترولر مراحل فرایند، یک کنترلر برای هد دستگاه، یک هد جاسازی شده و نیز یک

Manarian

سر پیزوالکتریک تک نازلی مکنده ی مایع است. در جدول شماره ی ۳-۷ مشخصات فنی این دستگاه به اختصار آورده شده اند. حوزه های اصلی کاربرد این دستگاه عبارتند از توزیع و الگوسازی پروتئین، آنتی بادی، آنزیم، سلول ها و واکنش دهنده ها، تولید چیپ ها و حسگرهای زیستی، طراحی مدار با جوهر نانو فلز، تست دارو و تولید ورق های سلولی.

پارامتر	مشخصات
سایز دستگاه	**تقریباً ۳۷۰ * ۳۴۰ * ۴۷۰**
مساحت چاپ	**۴۰ * ۸۰ میلی متر**
عملکرد الگوسازی	**نقطه ها، خطوط، چهره (با طراحی خطوط مداوم)، توزیع، عملکرد تقارنی**
دقت الگوسازی	**دقت مکان یابی بازگشتی محور XY ±۵ میکرومتر**
عملکرد کنترل قطره (استاندارد)	**قسمت های ترازکننده، دستگاه بار جفت شده[1]، کنترل فلاش تعبیه شده در کنترلر هد**
حجم اجکشن مایع	**۱۰-۳۰۰۰ پیکولیتر بر قطره (بسته به هد های دستگاه و مایعات کاربردی)**

جدول ۳-۷ مشخصات فنی دستگاه لَب جِت-بیو، ساخت میکروجت

۳-۷-۳- اصول و روش کار

روند اجرای فرایند چاپ زیستی به کمک لَب جِت-بیو به شرح ذیل است:

- قراردادن مایع سلولی در میکروتیوب
- تنظیم حجم مایع سلولی تا حداقل ۰/۲ سی سی
- تنظیم موقعیت ظرف یا مخزن مایع سلولی و تخلیه ی خودکار آن با حجمی مشخص
- کنترل وضعیت قطره ی خروجی به کمک رایانه
- انتخاب موقعیت قرارگیری بر روی میز جهت اجکت قطره به کمک نرم افزار
- انتخاب تعداد قطره های اجکت شونده ی حاوی سلول ها
- اجرای روند اجکشن
- اعمال فشار بر مایع سلولی باقیمانده در هد دستگاه که بعداً به مخزن تعیین شده بر می گردد

[1] - *Charge-coupled device*

Maharfan

دو نوع کلی عملکردی در این دستگاه به صورت اختصاصی توسط میکروجت ارائه شده اند که "کشش-فشار[1]" و "فشار-کشش[2]" هستند. حالت "کشش-فشار" معمولاً برای چاپگر جوهرافشان مصرف کننده و حالت "فشار-کشش" متناسب با اجکشن سلولی می باشند. کاربر می تواند نوع مورد نظر خود را بر اساس الزامات گوناگون چاپ مربوطه برگزینند.

۳-۷-۳-۱- روش " کشش-فشار"

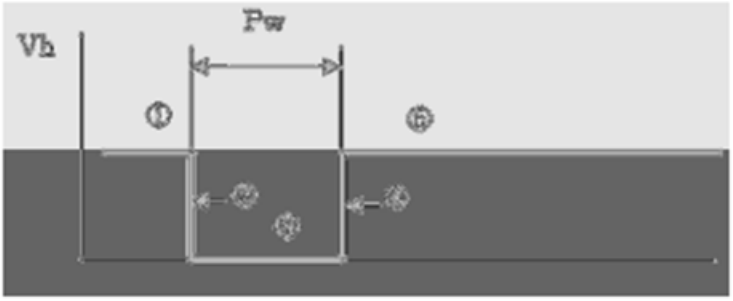
این روش برای تمام چاپگرهای جوهرافشان عمومی و با هدف به حداقل رساندن سایز قطره و یا ولتاژ تحریک المنت پیزوالکتریک مورد استفاده قرار می گیرد. اما این روش همیشه به اجکت سلول ها نمی انجامد. روش " کشش-فشار" منجر به تغییرشکل زیاد در منیسک تیوب و در نتیجه ایجاد حباب های مکنده می شود. این روش در اجکت مایعات محتوی ذراتی همچون سلول ها بسیار ناپایدار است.

شکل ۳-۱۹، بخش (الف)، فرم موجی ولتاژ " کشش-فشار" را برای اعمال بر المنت پیزوالکتریک نشان می دهد. همچنین، در بخش (ب) همین شکل، عملکرد واقعی المنت پیزوالکتریک نشان داده شده است. در این روش، ولتاژ در حالت استراحت (استندبای) بر المنت پیزوالکتریک اعمال می شود (۱). در این حالت، المنت به سمت منبع فشار خم می شود، اما هیچ فشاری رخ نمی دهد، چراکه ساکن و بی حرکت باقی می ماند. با اعمال یک سیگنال اجکشن، شارژ الکتریکی ذخیره شده در المنت آزاد می شود و ولتاژ اعمالی بر المنت نیز صفر می شود (۲). این عملیات را "کشش" در این روش تعریف می کنیم. المنت پیزوالکتریک با تخلیه ی شارژ الکتریکی به حالت اصلی خود باز می گردد. در این فرایند، یک واحد فشار منفی در مخزن فشار ایجاد می شود، زیرا حجم مخزن فشار بیشتر می شود. منیسک[3] (قوس) ایجاد شده با این فشار منفی به شدت به سمت داخل نازل کشیده می شود. سپس، این فشار منفی تبدیل به فشار مثبت شده و به لبه ی نازل منتقل می گردد. دقیقاً بعد از زمانیکه موج فشار مثبت تشدید می شود (Pw)، شارژ الکتریکی بار دیگر بر المنت پیزوالکتریک اعمال شده، باعث خم شدگی و تغییر شکل آن می شود (۴). این عملیات را "فشار" می نامیم. فشار زیادی بواسطه ی این عملیات ایجاد می شود که باعث اجکت قطره های مایع با شتاب زیاد در طول نازل می شود.

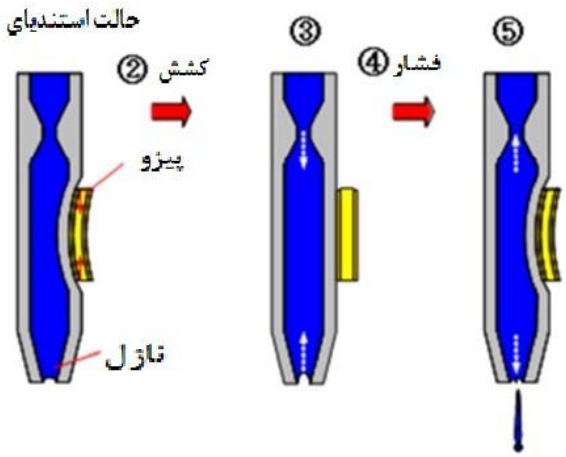
---

[1] - *Pull-Push*
[2] - *Push-Pull*
[3] - *Meniscus*

Maharfan



شکل ۳-۱۹ (الف)



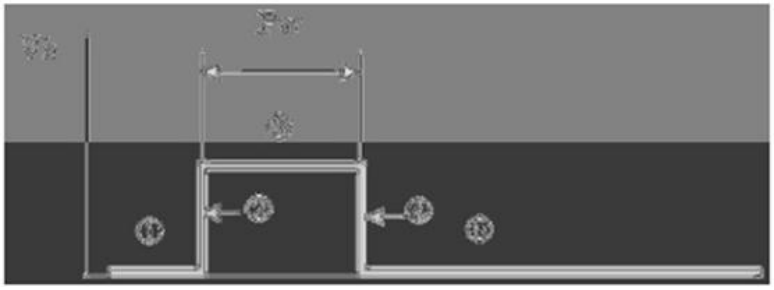
شکل ۳-۱۹ (ب): روش "کشش-فشار" ، ابداعی شرکت میکروجت

۳-۷-۳-۲- روش "فشار-کشش"

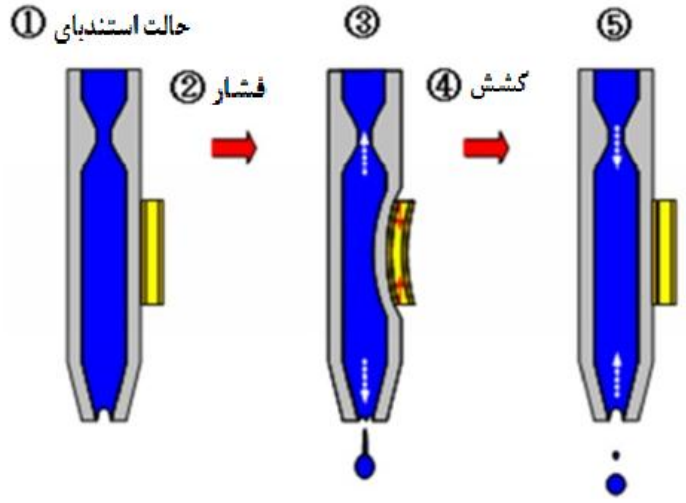
این روش کاملا برعکس روش قبلی است؛ فرم موج ولتاژ مربوطه در شکل ۳-۲۰، بخش (الف) و عملکرد المنت پیزوالکتریک در بخش (ب) نشان داده شده است.

در این حالت، ولتاژ در حالت استراحت (استندبای) بر المنت اعمال نمی شود (۱). ولتاژ با دادن یک سیگنال اجکشن بر المنت اعمال می شود، سپس شکل المنت تغییر کرده و حالت فشار ایجاد می شود (۲). در نتیجه، با فشرده سازی مخزن فشار، یک فشار مثبت ایجاد خواهد شد. این موج فشار، اجکشن قطره های مایع را در طول نازل ممکن می سازد. المنت حالت اصلی خود را با اعمال یک پهنای پالس (Pw) حفظ می کند (۳). در ادامه، شارژ الکتریکی المنت تخلیه شده، ولتاژ صفر می شود و سیستم به حالت "کشش" بر می گردد (۴). در نتیجه، جابجایی مایع نیز صفر شده و به حالت استراحت (استندبای) بر می گردد.

Maharfan



شکل ۳-۲۰ (الف)



شکل ۳-۲۰ (ب): روش "فشار-کشش"، ابداعی شرکت میکروجت

۳-۷-۴- نقاط قوت و ضعف

مزایای دستگاه لَب جت-بیو به اختصار عبارتند از:

- اجکشن ثابت مایع سلولی (عدم انسداد نازل)
- چگالی زیاد مایع سلولی (۱ در ۱۰ به توان ۶ سلول در هر سی سی)
- اجکشن ثابت سلول ها تا قطر ۳۰ میکرومتر
- مانیتورینگ بلادرنگ حالت اجکشن سلولی از طریق رایانه
- قابل کاربرد برای حجم های کم مایع سلولی
- توزیع سلولی که امکان فرونشست مایع را ممکن می سازد

معایب این سیستم نیز مشابه موارد مطرح شده در بخش ۳-۶-۴ هستند.

Maharfan