



# چاپ زیستی سه بعدی نانوساختار PLA با داربست های بیوگلس - CNT برای تولید پیوند بافت استخوانی JMR & T

BIOMATERIAL

مترجم

ملینا آهنگر سریزدی



# چاپ زیستی سه بعدی نانو ساختار PLA با داربست های بیوگلاس-CNT برای تولید پیوند بافت استخوانی

نویسندگان:

Esleane Vilela Vasconcelos a, Francilene Belo da Luz a, Simone Patrícia Aranha da Paz a, Marcos Allan Leite dos Reis a, Alisson Clay Rios da Silva b, Marcele Fonseca Passos b, Carlos Augusto Galvão Barboza c, Sérgio Neves Monteiro d, Verônica Scarpini Candido a

## چکیده

درگیری استخوانی که با افزایش سن و حوادث ترویح می شود، علاقه به مواد زیستی و فناوری های ساخت بیولوژیک برای اهداف بازسازی استخوان را افزایش داده است. بنابراین، فناوری چاپ سه بعدی به دلیل تطبیق پذیری آن در تولید هندسه های پیچیده با منافذ به هم پیوسته، در تولید داربست ها برجسته شده است. در این کار، داربست های کامپوزیتی از پلی (اسید لاکتیک) (PLA)، شیشه های زیستی (BG) و نانولوله های کربنی (CNT) با چاپ سه بعدی، با استفاده از هندسه شش ضلعی و لانه زنبوری که در هم قرار گرفته اند، تولید شدند. نمونه ها از نظر ساختار شیمیایی، بلورینگی و مورفولوژی با استفاده از طیف سنجی فرسرخ تبدیل فوریه و طیف سنجی رامان آنالیز شدند، به ترتیب پراش اشعه ایکس و میکروسکوپ الکترونی روبشی. پایداری حرارتی کامپوزیت با استفاده از وزن سنجی حرارتی و خواص مکانیکی آن با آزمون های فشرده سازی ارزیابی شد. زنده ماندن سلول توسط Alamar Blue تعیین شد. نتایجی که طیف سنجی رامان برهمکنش BG را در ماتریس پلیمری توسط پیک های جدید در طیف بین ۱۴۰۰ تا ۲۶۰۰ سانتی متر مربع و حضور باندهای D، G و ۲ بعدی نانولوله های کربنی تایید کرد. از نظر مقاومت فشاری داربست های PLA با فاصله داخلی ۲ میلی متر استحکام فشاری بالاتر  $2/35 \pm 14/88$  مگاپاسکال را نشان دادند، در حالی که مدول فشاری آشکار  $36/0 \pm 58/0$  مگاپاسکال بود. در خصوص زنده ماندن سلولی، آزمایش های آماری نشان داد که بین داربست های با فاصله داخلی ۲ و ۴ میلی متر تفاوت معنی داری وجود ندارد.

## کلید واژه ها

PLA: بیوگلاس، نانولوله های کربنی و چاپ سه بعدی

## معرفی

پیری جمعیت باعث افزایش بیماری های دژنراتیو و شکستگی های ناشی از تصادفات می شود که بر کیفیت زندگی افراد تأثیر می گذارد. بنابراین، علاقه زیادی به جستجوی مواد برای بازسازی استخوان وجود دارد. در میان مواد

اصلی مورد بررسی، بیومواد سازگار با ساختار استخوان، مانند پلی (اسید لاکتیک) (PLA) و بیوگلاس (BG) ، برجسته هستند.

از جمله روش های تولید بیومواد، ساخت افزودنی است. این تکنیک به دلیل توانایی تولید ترکیبی از مواد با طراحی مناسب برای بازسازی استخوان، مانند داربست های متخلخل، شهرت قابل توجهی پیدا کرده است. داربست ها ساختارهایی هستند که به عنوان پشتیبان رشد سلولی با هدف بازسازی بافت جدید عمل می کنند و می توانند توسط موادی با خواص زیست تخریب پذیری، زیست سازگاری و زیست فعالی برای بهبود و جایگزینی استخوان بهینه شوند.

با توجه به تکنیک پرینت سه بعدی، می توان مدل سازی رسوب ذوب شده (FDM) را برای تولید داربست ها با مزیت هزینه کم، تکرارپذیری، کنترل اندازه، هندسه، اتصال به هم منافذ تولید شده و ترکیب موادی که می توان در فرآیند استفاده می شود. تاکید می شود که هندسه و اندازه منافذ عوامل مهمی هستند که به رشد و تمایز سلولی و عروقی شدن بافت کمک می کنند.

با توجه به بیومواد موجود برای بازسازی استخوان، مطلوب است که این ویژگی هایی مانند زیست سازگاری و جذب زیستی وجود داشته باشد. سرا و همکاران داربست های کیتوزان، ژلاتین و  $\beta$ TCP را برای بازسازی استخوان تولید کردند و به این نتیجه رسیدند که داربست ها زیست فعالیتی و زیست سازگاری را به عنوان مواد بالقوه برای کاربرد در بازسازی استخوان نشان دادند. لی و همکاران یک ماده زیستی کیتوزان اصلاح شده با نانورس برای کاربرد به عنوان جایگزین استخوان تولید کرد و به این نتیجه رسید که ماده تولید شده دارای اثرات القای استخوان است که توسط نانورس افزایش می یابد و محیطی مطلوب برای بهبود استخوان فراهم می کند. پوپسکو و همکاران داربست های کامپوزیتی آلژینات- پولولان-شیشه-سرامیک را برای بازسازی استخوان ایجاد کرد و به این نتیجه رسید که کامپوزیت باعث بازسازی استخوان و رگزایی در آزمایشات *in vivo* می شود و ظرفیت استخوان زایی آن را افزایش می دهد. گرگور و همکاران زیست سازگاری داربست تولید شده توسط روش مدل سازی رسوب ذوب شده با پلی (اسید لاکتیک) (PLA) تجاری موجود، ارائه آزمایش های سمیت سلولی، ارزیابی تکثیر سلولی و ظرفیت تمایز با نتایج رضایت بخش را گزارش کرد PLA. به دلیل سازگاری زیستی، جذب زیستی و استحکام مکانیکی خوب ، علاوه بر این که به راحتی توسط بدن انسان پردازش و جذب می شود، به عنوان یک ماده زیستی امیدوارکننده در نظر گرفته می شود که آنها را برای تولید داربست های استخوانی جذاب می کند.

ماده دیگری که به طور گسترده برای بازسازی استخوان استفاده می شود، شیشه بیوگلاس (BG) است، نوعی از بیوسرامیک که خواص بالایی از زیست سازگاری و یکپارچگی استخوانی را ارائه می دهد. بیوگلاس از طریق تشکیل یک لایه آپاتیت استخوانی روی سطح، پیوندهای قوی با استخوان ایجاد می کند که یون های  $Ca$  ،  $Si$  ،  $P$  و  $Na$  را آزاد می کند و همچنین تشکیل بافت استخوان را تحریک می کند. در این رابطه، د سوزا و همکاران. زیست

سازگاری، زیست فعالی و بازسازی استخوان را در آزمایش‌های *in vitro* و *in vivo* با شیشه‌های زیستی تأیید کرده‌اند.

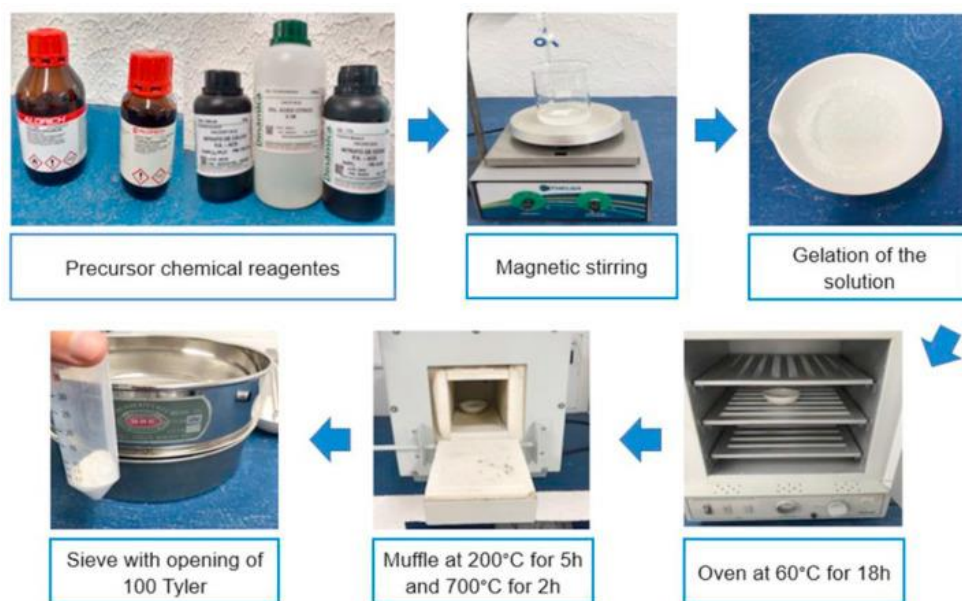
یکی از روش‌های به‌دست‌آوردن شیشه‌های زیستی، ژل سل است که علاوه بر اینکه روشی ساده و کم‌هزینه است، به‌علاوه اینکه روشی ساده و کم‌هزینه است، برای حمایت از تخلخل مورد علاقه برای بازسازی استخوان بسیار جذاب است. با توجه به شیشه‌های زیستی، مشخص است که دارای محدودیت‌هایی است که ناشی از استحکام مکانیکی پایین، به ویژه چقرمگی شکست است. به عنوان راهی برای اصلاح این وضعیت، مطالعات به افزودن نانولوله های کربنی (CNT) به عنوان مواد تقویت کننده، به دلیل مقاومت مکانیکی عالی آن اشاره می کنند. در این مورد، توری و همکاران. به خواص مکانیکی بهبود یافته کامپوزیت بیوگلاس CTN در مقایسه با داربست بیوگلاس برای مهندسی بافت استخوان گواهی می دهد.

بنابراین، هدف از این مطالعه تولید و مطالعه داربست های PLA، PLA/BG و PLA/CNT با چاپ FDM با هندسه لانه زنبوری، شکل هندسی است که به عنوان مطلوب برای رشد و تمایز سلول نشان داده شده است. قابل ذکر است که برای اولین بار است که یک بیوکمپوزیت با این شکل تولید و ترکیب تولید می شود، زیرا در ادبیات داربست PLA، BG و CNT در لانه زنبوری درهم، تولید شده توسط چاپ FDM، با استفاده از شیشه زیستی یافت نشد. سنتز شده توسط مسیر سل-ژل آلی.

## مواد و روش ها

### سنتز شیشه زیست فعال

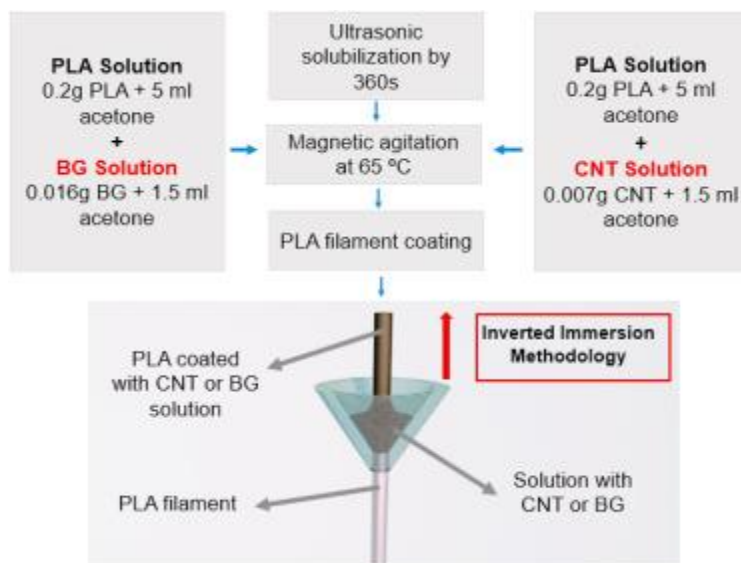
بیوگلاس با روش سل-ژل مطابق با روش Faure و همکارانش سنتز شد. مواد شیمیایی پیش ساز زیر استفاده شد: تترااتیل ارتوسیلیکات 11.6 (TEOS) میلی لیتر و تری اتیل فسفات 1 (TEP) میلی لیتر، هر دو از سیگما آلدریج (SP/برزیل)، نیترات کلسیم تتراهیدرات 7.15 گرم، نیترات سدیم 4.65 گرم و محلول اسید سیتریک 5 میلی مولار، 26 میلی لیتر از (SP/ Dynamics (برزیل)). معرف ها به آرامی در یک راکتور ترموستات با نام تجاری Thega (MG/Brazil) تا تشکیل ژل شفاف مخلوط شدند. سپس در اجاق گاز برند Gigante مدل G42L (SP/Brazil) به مدت 18 ساعت در دمای 60 درجه سانتیگراد نگهداری شد و در کوره صدا خفه کن سالیید استیل در دمای 200 درجه سانتیگراد به مدت 5 ساعت و 700 درجه سانتیگراد به مدت 2 ساعت پخت شد. مدل (SP/ SSfm (برزیل)). پودر به دست آمده در الک 100 تایلر برای کاهش اندازه ذرات طبق نمودار شکل 1 الک شد.



شکل ۱. نمودار شماتیک سنتز بیوگلاس به روش سل-ژل.

#### آماده سازی فیلامنت

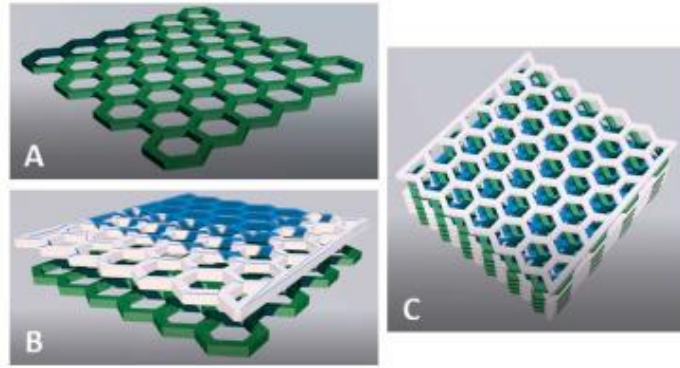
فیلامنت شفاف PLA با قطر ۱.۷۵ میلی متر از ۳ (D Fila<sup>®</sup> (MG/Brazil استفاده شد 0.2 PLA . گرم) در استون خالص مخلوط شده در واشر اولتراسونیک Schuster L100 (RS/Brazil) به مدت ۳۶۰ ثانیه با (۰.۰۰۷ گرم) نانولوله های کربنی چند جداره عامل دار با اسید کربوکسیلیک حل شد. سپس همان آماده سازی با محلول PLA و BG (0.016 گرم) انجام شد. محلول های تهیه شده برای پوشش دادن رشته PLA خالص با روش غوطه وری معکوس استفاده شد ( شکل ۲)). برای پوشش دادن فیلامنت PLA با محلول ها، از قیف با سوراخ کوچک و ضخامت نزدیک به قطر رشته استفاده شد. یک سانتی متر از فیلامنت در انتهای قیف قرار داده شد و محلول در بالای قیف اضافه شد. سپس رشته با سرعت ۰.۰۵ متر بر ثانیه به سمت بالا کشیده شد تا تمام طول قابل استفاده با محلول CNT یا BG پوشانده شود. پس از آن، فیلامنت برای خشک شدن و چسبندگی در دمای اتاق (RT) به مدت ۲ ساعت رها شد. پس از این زمان، روش غوطه وری معکوس مجدداً انجام شد، بنابراین دوباره رشته را با لایه دوم روی لایه قبلی پوشانید. پس از این فرآیند، رشته برای خشک شدن در RT به مدت ۵ ساعت دیگر جدا شد. پس از آن مدت، آماده استفاده در چاپگر است.



شکل ۲. طرح آماده سازی محلول ها برای پوشش رشته ها برای چاپ سه بعدی.

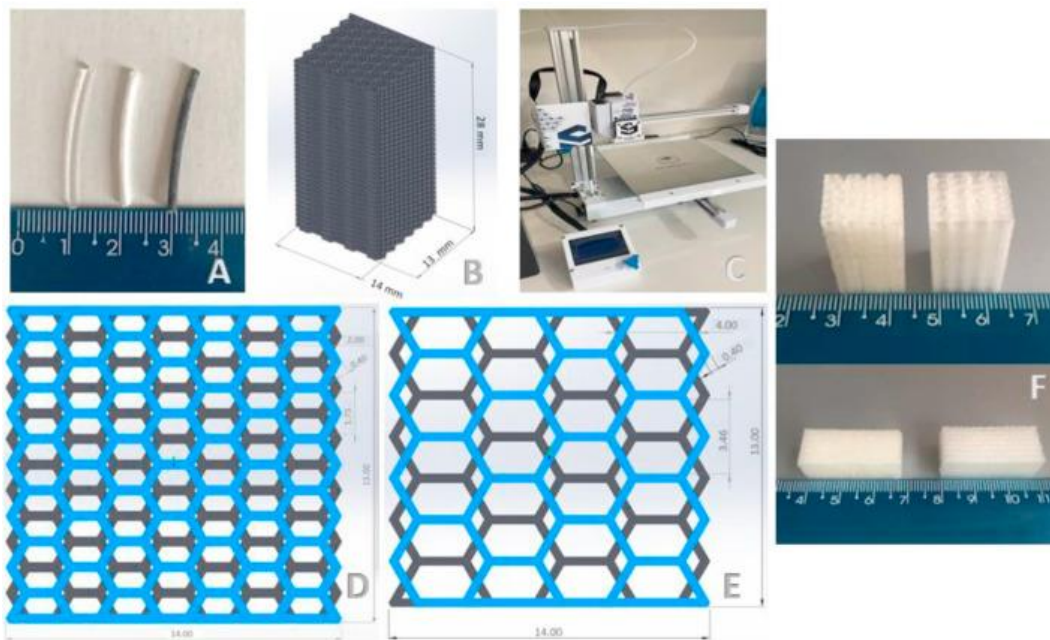
در حین چاپ، فیلامنت با سطح پوشش داده شده با CNT یا BG تحت یک فرآیند ذوب در دمای ۲۱۰ درجه سانتیگراد در نازل اکسترودر چاپگر قرار می گیرد، بنابراین اطمینان حاصل می شود که نانوذرات رسوب شده روی سطح رشته نیز بخشی از کل ماتریس پلیمری هستند.

چاپ سه بعدی داربست با مدل سازی رسوب ذوب شده (FDM) یک چاپگر تجاری FDM با نام تجاری Stella3 LITE (PR/Brazil) برای ساخت داربست ها استفاده شد. معماری لانه زنبوری منتخب شکل دهنده شش ضلعی توسط نرم افزار مدلسازی (Cinema 4D نسخه رایگان) طراحی شده و پارامترهای چاپ توسط اسلایسر Prusa-Slicer نسخه ۲.۳.۲ (نسخه رایگان) تنظیم شده است. شکل ۳ طراحی داربست ها را نشان می دهد. داربست های سه بعدی از طریق رسوب لایه بستر با اکستروژن مذاب رشته PLA با نازل اکسترودر با قطر ۰.۲ میلی متر تهیه شدند. دمای لایه اولیه ۲۱۰ درجه سانتی گراد و دمای لایه های دیگر ۱۸۰ درجه سانتی گراد با ضخامت لایه ۰.۱ میلی متر و ضخامت دیواره ۰.۴ میلی متر بود. سرعت چاپ برای قسمت بیرونی ۲۰ میلی متر بر ثانیه و برای قسمت داخلی ۱۰ میلی متر بر ثانیه بود و داربست هایی با فاصله داخلی بین رشته ها ۲ تا ۴ میلی متر از PLA، PLA/BG و PLA/CNT تولید شد. (شکل ۴).



شکل ۳

شکل ۳. طرح داربست لایه به لایه با هندسه لانه زنبوری شش ضلعی. در A اولین لایه روی یک محور مشخص مشاهده می شود. در B، لایه خلفی در محور جابجا شده به طوری که شش ضلعی ها در مرکز لایه قبلی قرار گیرند، به این ترتیب، بین لایه های نشان داده شده در C.



شکل ۴

شکل ۴. فرآیند به دست آوردن داربست با چاپ FDM. در یک رشته تولید شده توسط FDM در PLA، PLA/BG و PLA/CNT در ابعاد B داربست طراحی شده توسط نرم افزار مدل سازی. در چاپگر FDM. در ابعاد لایه D و E با فاصله داخلی ۲ و ۴ میلی متر. در داربست F تولید شده توسط FDM.

## اشباع حرارتی سطح داربست

برای القای افزایش چسبندگی سلولی، داربست های PLA، PLA/BG و PLA/CNT با بیوگلاس پوشش داده شدند تا کل سطح را پوشش دهند. برای انجام این کار، نمونه‌ها در ظروف پتری قرار داده شدند و با پودر پوشاننده شدند و سپس در اجاق گاز با دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت گرمایش ۴.۸ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و سپس خنک‌سازی همرفتی قرار گرفتند.

## شرح

### پراش اشعه ایکس (XRD)

فازهای کریستالی کیفی توسط XRD، در تجهیزات تولید پروتو، سیستم پراش پودر XRD به دست آمد: ژنراتور ۳۰ کیلو ولت و ۲ میلی آمپر، تابش  $Cu-K\alpha 1$ ، گام زاویه ای  $0.0149$  درجه، فاصله زمانی  $0.5$  ثانیه، رفت و برگشت  $2\theta$  و  $47$  دقیقه. از  $5$  درجه تا  $60$  درجه. فازهای کریستالی در باقیمانده با اشاره به COD شناسایی شدند. آزمایش بر روی نمونه‌های بیوگلاس و رشته‌های PLA، PLA/BG و PLA/CNT انجام شد.

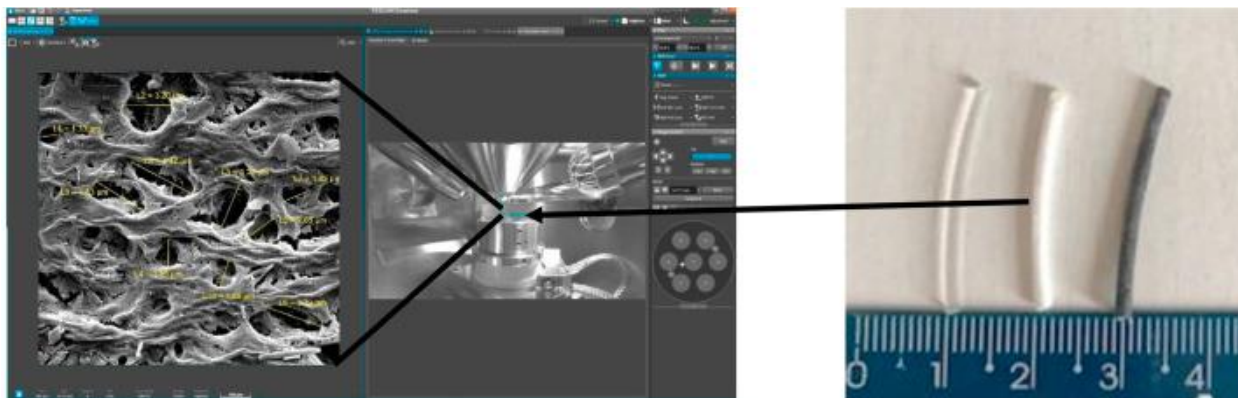
### طیف‌سنجی ارتعاشی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)

اسپکتروفتومتر Thermo Scientific Nicolet iS50 FTIR برای FTIR استفاده شد. نمونه‌ها در ناحیه طیفی مادون قرمز میانی (MIR - Middle Infrared)، از  $4000$  تا  $400$  سانتی متر در  $1$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. آزمایش بر روی نمونه بیوگلاس انجام شد.

### میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

شیشه‌های زیستی و داربست‌ها با طلا و پالادیم با استفاده از متالایزر QUORUM TECHNOLOGIES SC7620 متالایز شدند و سپس در زیر میکروسکوپ الکترونی روبشی TESCAN VEGA 3 با جریان پرتو الکترونی  $85-90 \mu A$ ، ولتاژ شتاب  $15$  میلی‌متر ولت و  $15$  میلی‌متر ولت مشاهده شدند. آزمایش بر روی نمونه‌های بیوگلاس و داربست‌های PLA، PLA/BG و PLA/CNT قبل و بعد از آغشته‌سازی با BG روی سطح انجام شد. اندازه منافذ در رشته‌ها مطابق شکل ۵ توسط SEM اندازه گیری شد.





شکل ۵. نمایش شماتیک اندازه گیری اندازه منافذ رشته های مورد استفاده در چاپ داربست ها. اندازه گیری با اسکن میکروسکوپ الکترونیکی، با استفاده از نرم افزار *Essence* به دست آمد.

#### طیف سنجی رامان

برای اندازه گیری پراکندگی رامان، از مدل HR Evolution تجهیزات طیف سنج LabRam از Horiba، تحت شرایط زیر استفاده شد: لیزر ۶۳۳ نانومتر. محدوده ۶۰۰-۳۲۰۰ سانتی متر-۱؛ زمان ۱۲۰ ثانیه؛ انباشت ۲؛ فیلتر قدرت لیزر ۵٪ و لنز ۱۰۰x. آزمایش ها بر روی نمونه های بیوگلاس و داربست های PLA، PLA/BG و PLA/CNT قبل و بعد از آغشته سازی حرارتی با BG روی سطح انجام شد.

#### تجزیه و تحلیل حرارتی

تجزیه و تحلیل حرارتی (TGA) و مشتق آن (DTG) در تجهیزات Shimadzu مدل DTG-60H انجام شد. آزمایش تحت یک اتمسفر اکسیژن پیوسته با سرعت ۵۰ میلی لیتر در دقیقه، با سرعت گرمایش ۲۰ درجه سانتیگراد در دقیقه، از RT تا ۸۰۰ درجه سانتیگراد انجام شد. آزمایش بر روی نمونه داربست PLA/CNT آغشته به BG روی سطح انجام شد تا پایداری حرارتی، رفتار تخریب و درصد جرم باقیمانده داربست کامپوزیت ارزیابی شود.

#### تست فشرده سازی

برای تعیین خواص مکانیکی با فشرده سازی، نمونه هایی با ابعاد  $14 \times 14 \times 13$  میلی متر با پرینت سه بعدی از مواد مورد مطالعه با پیروی از دستورالعمل های ASTM D695-10 ساخته شدند. برای رعایت مشخصات تعیین شده توسط استاندارد، نمونه ها با ابعادی ساخته شدند که ارتفاع دو برابر عرض باشد. آزمایش ها در دستگاه تست جهانی مدل EMIC DL-500 با لودسل ۵۰۰ کیلوگرم بر دقیقه و سرعت ۱ میلی متر در دقیقه انجام شد. بر روی داربست های PLA، PLA/BG و PLA/CNT با فاصله داخلی ۲ و ۴ میلی متر بین رشته ها انجام شد.

چندین اثر تولید داربست هایی با فاصله داخلی کمتر بین رشته ها را نشان می دهد که انتخاب هندسه لانه زنبوری را در کار حاضر توجیه می کند، زیرا با لایه های مختلف درهم می توان فواصل داخلی کمتری را بین رشته ها به دست آورد.

مقاومت فشاری و خواص کرنش از داده های بار-جابجایی محاسبه شد. مدول فشار ظاهری بر اساس شیب منحنی تنش-کرنش در ناحیه الاستیک بود.

زنده ماندن سلولها

رده سلولی preosteoblast مشتق از کالواری موشی) MC3T3 به دست آمده از American Type Culture Collection/ATTC (USA) برای تجزیه و تحلیل زنده ماندن سلول استفاده شد. سلول ها در محیط کشت  $\alpha$ -MEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱ درصد محلول آنتی بیوتیک/ضد قارچ) همه از Gibco، ایالات متحده (کشت شدند. ۲۴ ساعت قبل از کشت روی داربست ها، سلول ها در شرایط کمبود تغذیه ای (محیط کشت بدون افزودن سرم جنین گاوی) نگهداری شدند تا تمام سلول ها در فاز چرخه سلولی یکسان باقی بمانند. زنده ماندن سلول ها با استفاده از روش Alamar Blue، یک محلول آماده برای استفاده مبتنی بر رزازورین (یک ترکیب غیر سمی که نفوذپذیر به سلول و رنگ آبی غیر فلورسنت است) که به عنوان شاخص سلامت سلول عمل می کند، ارزیابی شد. با ورود به سلول های فعال متابولیکی، رنگ به رزوروفین کاهش می یابد. سلول های MC3T3 روی نمونه های داربست PLA/BG، PLA/CNT و PLA با فاصله داخلی ۲ و ۴ میلی متر، بین رشته ها، آغشته به BG روی سطح در صفحات ۲۴ چاهی با تراکم  $1 \times 10^4$  سلول در هر چاه، رشد کردند. سلول های کشت شده بر روی پلی استایرن سطح پلاستیک گروه کنترل را ترکیب کرد. دو آزمایش مستقل در شش نسخه انجام شد (تعداد = ۶). پس از زمان های آزمایشی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، محیط از چاهک ها خارج شد و سلول ها با ۳۰ میکرولیتر Alamar Blue (Invitrogen)، ایالات متحده آمریکا (و ۲۷۰ میکرولیتر از محیط  $\alpha$ -MEM در شرایط کشت منظم انکوبه شدند. پس از ۴ ساعت، جذب محلول با استفاده از میکروپلیت خوان (در ۵۷۰ نانومتر برای فرم احیا شده و ۶۰۰ نانومتر برای فرم اکسید شده) تعیین شد و درصد کاهش Alamar Blue در هر نمونه با استفاده از معادله ارائه شده توسط سازنده محاسبه شد.

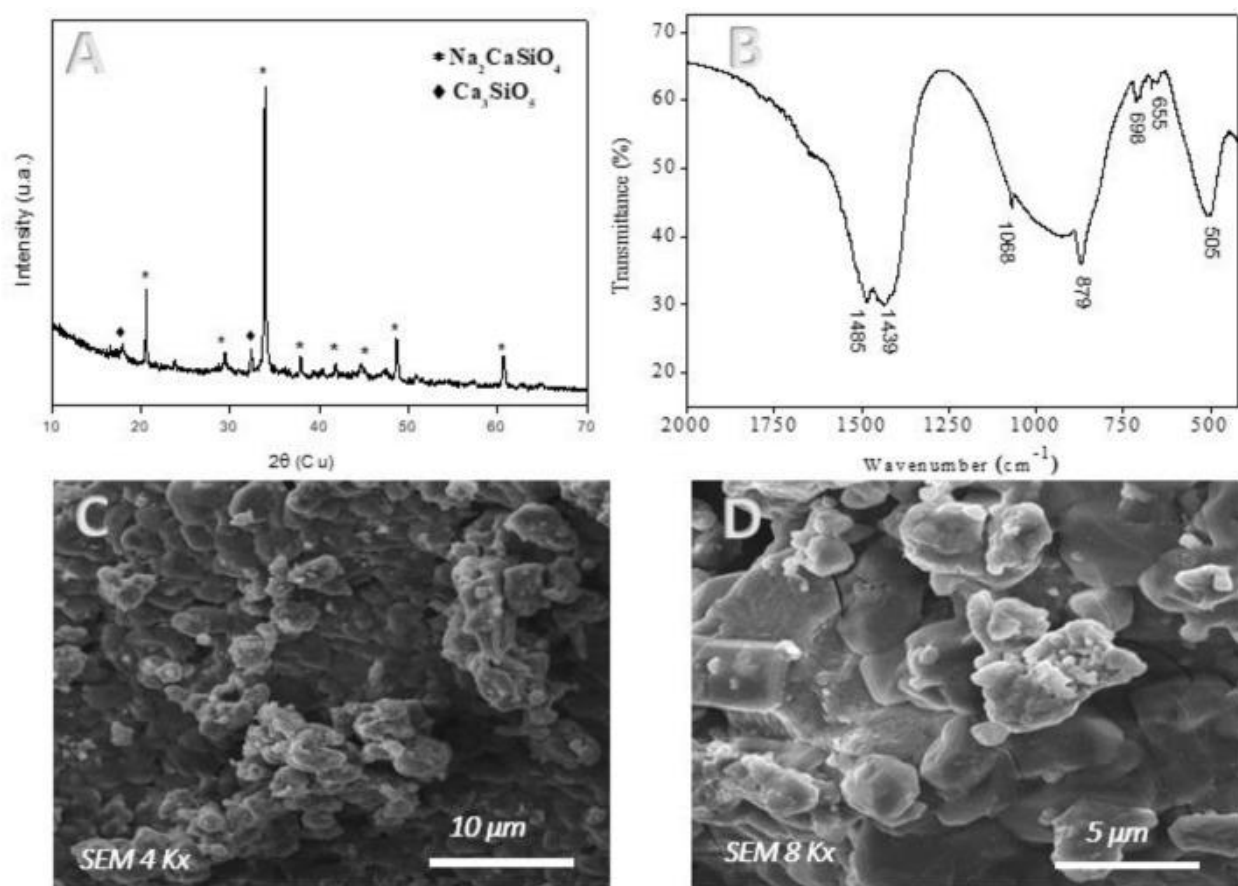
تحلیل آماری

اعتبار سنجی آماری داده ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) با فاصله اطمینان ۹۵ درصد ( $05/0p <$ ) انجام شد. مقادیر میانگین با استفاده از آزمون توکی مقایسه شد.

## نتایج و بحث

خصوصیات بیوگلاس سنتز شده توسط سل-ژل

شکل ۶ A نمودار پراش اشعه ایکس بیوگلس را نشان می دهد. الگوی پراش سنجی پیک های فاز سیلیکات کلسیم سدیم ( $\text{Na}_2\text{CaSiO}_4$ ) را به عنوان فاز اکثریت نشان می دهد. در شکل ۶ B، در طیف FTIR بیوگلاس، ارتعاشات پیوندهای سیلیکون-اکسیژن مشاهده شده است. ارتعاشات گروه فسفات و ارتعاشات کربن-اکسیژن. به نوبه خود، میکروگراف هایی را می توان در شکل ۶ C و D مشاهده کرد که توده هایی با اندازه های متغیر با تشکیل منافذ را نشان می دهد.



شکل ۶. خصوصیات ریزساختاری پودر بیوگلاس سنتز شده توسط سل-ژل XRD در A، FTIR در B و میکروگراف در C و D.

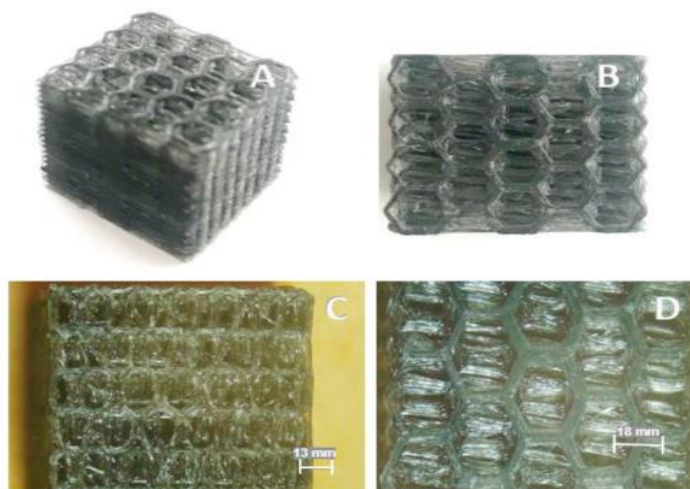
فاز  $\text{Na}_2\text{CaSiO}_4$  یافت شده در این مطالعه دارای ظرفیت بالایی برای القای تشکیل آپاتیت است که توسط ژائو و همکاران نیز گزارش شده است. بلوچی و همکاران هنگامی که آنها بیوگلاس را از طریق سل-ژل سنتز کردند. علاوه بر این، فاز سیلیکات کلسیم فعال زیستی دیگری ( $\text{Ca}_3\text{SiO}_5$ ) نیز در کار حاضر یافت شد و توسط

Refs گزارش شد. که مسئول تشکیل کریستال های کمبود هیدروکسی آپاتیت است که رشد سلولی، زیست سازگاری و زیست فعالی را تحریک می کند، نشان می دهد که حضور این فاز کاربرد شیشه زیستی در ناحیه ایمپلنت استخوان را افزایش می دهد.

همانطور که برای نتایج FTIR از شیشه زیستی، در شکل ۶ B طول موج های زیر یافت شد: ۸۷۹ و ۱۰۶۸ cm<sup>-1</sup> مرتبط با ارتعاشات طویل شدن سیلیکون با اکسیژن. ۶۱۹، ۶۵۰ و ۶۹۸ سانتی متر -۱ ارتعاشات گروه بندی فسفات و در ۱۴۴۰ و ۱۴۸۵ سانتی متر -۱ ارتعاشات کربن با اکسیژن. نتایج مشابهی نیز توسط بنتو و همکاران گزارش شده است. وفا و همکاران. و لوکاس-گیروت و همکاران. بر روی ارتعاشات سیلیکونی با اکسیژن. در مورد ارتعاشات گروه بندی فسفات و پیوندهای کربن-اکسیژن، آنها مشابه مطالعه Cacciotti و همکاران بودند. آگویار و همکاران. بن ارفع و همکاران.

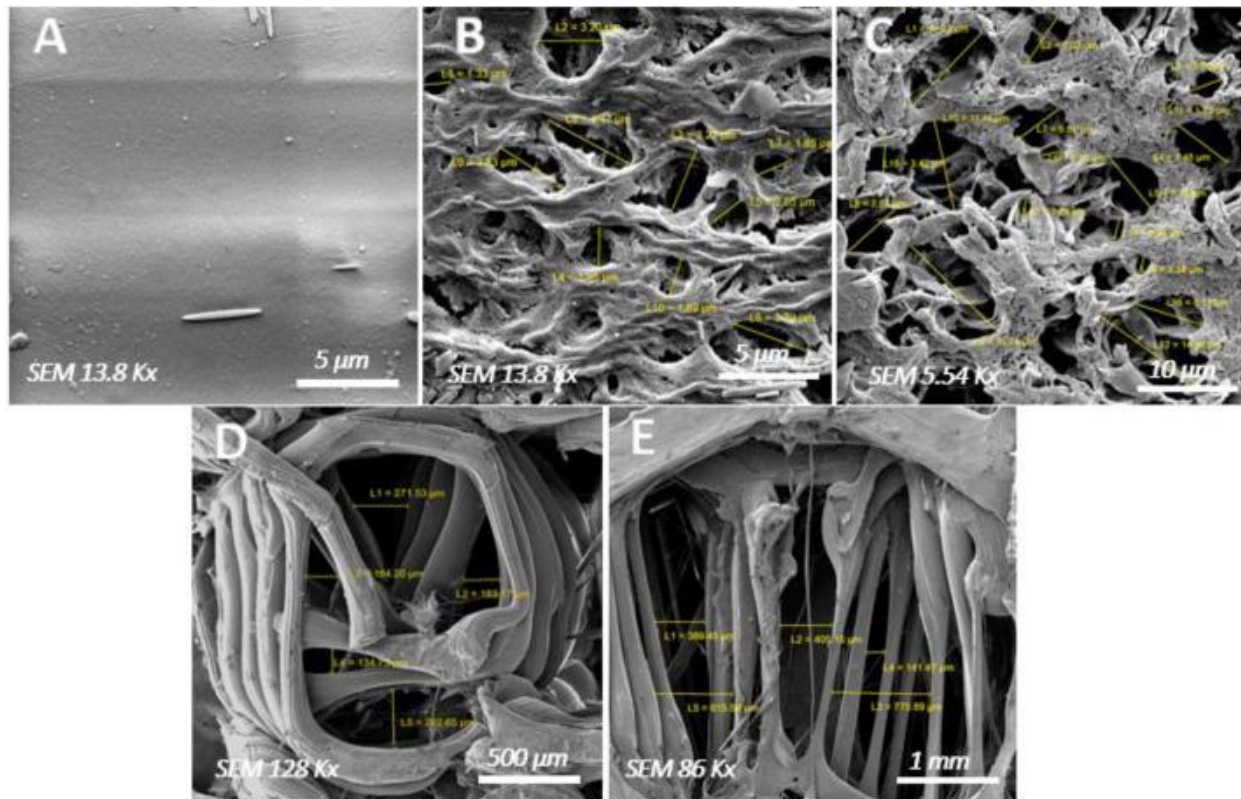
با توجه به میکروگراف های پودر بیوگلاس، شکل ۶ C و D آگلومراهایی با اندازه متغیر با تشکیل منافذ را نشان می دهد. وفا و همکاران به اطلاع می رساند که بهترین پیوند با بافت استخوان به دلیل تخلخل مواد است، عواملی که برای گردش مایع بدن و تحریک رشد سلول مفید هستند و با استفاده از اسید سیتریک در سنتز افزایش می یابند. از شیشه های زیستی. بنابراین وجود منافذ در بیومتریال از ویژگی های مهم برای ترمیم استخوان است.

ظاهر بصری، خصوصیات مورفولوژیکی و ساختاری داربست های تولید شده توسط چاپ FDM در شکل ۷ می توان هندسه لانه زنبوری دهانه شش ضلعی را در نماهای مختلف مشاهده کرد. در قسمت داخلی آن، مشبک های به هم پیوسته دهانه شش ضلعی مشاهده می شود که باعث کاهش فاصله داخلی می شود. بر اساس مطالعات، داربست هایی با هندسه زاویه حاد و مبهم، مشخصه هندسه شش ضلعی، رگ زایی را تسهیل می کنند و باعث بهبود عروق، چسبندگی، تکثیر و تمایز سلولی می شوند و برای بازسازی استخوان ضروری هستند.



شکل ۷. نمای بالا به دست آمده توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰X و ۰.۸X: نمای بالا و پرسپکتیو داربست ها در A و B. میکروگراف داربست چاپی با فاصله داخلی ۲ میلی متر در C و داربست چاپی با فاصله داخلی ۴ میلی متر در D.

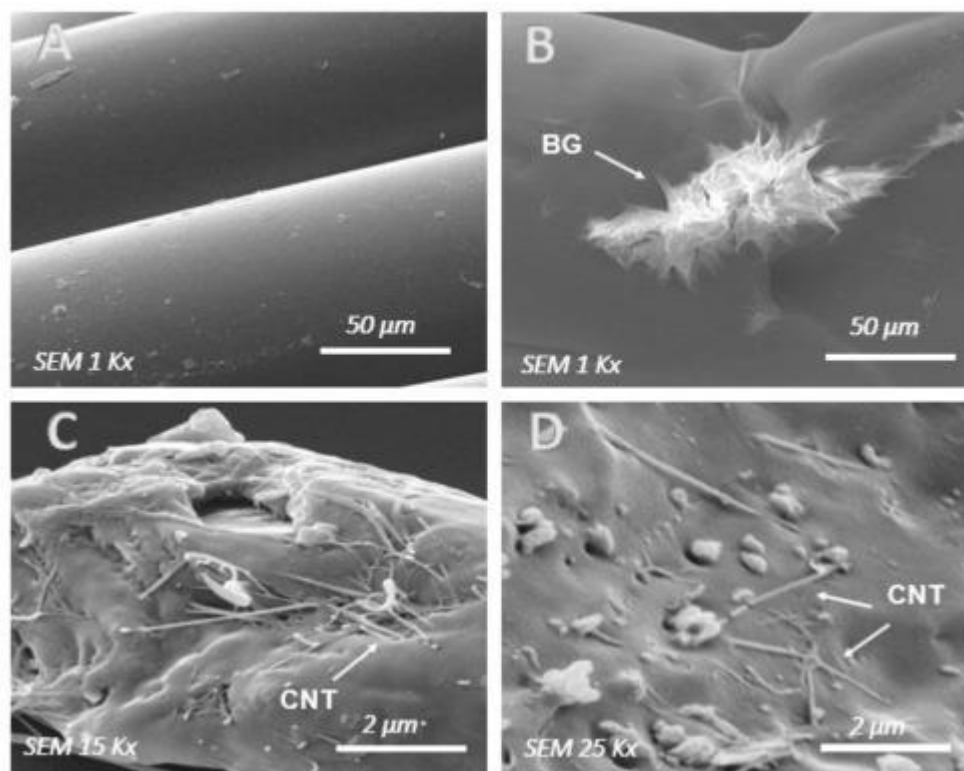
شکل ۸ میکروگراف هایی از رشته ها (AC) و داربست ها (D, E) با فاصله داخلی ۲ و ۴ میلی متری تولید شده توسط چاپ FDM را در نمای سطح بالایی داربست های برش نشان می دهد. می توان مشاهده کرد که رشته PLA دارای تخلخل نیست ( شکل ۷ (A) ، اما با افزودن BG و CNT ( شکل ۸ (B, C) ظاهر منافذ در ساختار رشته PLA مشاهده می شود. متوسط اندازه منافذ فیلامنت با BG برابر با  $1.29 \pm 2.43$  میکرومتر و برای رشته با  $3.20 \pm 5.83$  CNT میکرومتر بود. سرا و همکاران e Baptista et al همچنین قطر منافذی مشابه مطالعه حاضر پیدا کرد. در شکل ۸ (D، میکروگراف داربست با فاصله داخلی ۲ میلی متر فاصله داخلی بین رشته ها و لایه ها را بین ۱۳۰ میکرومتر تا ۵۰۰ میکرومتر نشان داد. در شکل ۸ (E، میکروگراف داربست چاپ شده با فاصله داخلی ۴ میلی متر، فاصله داخلی بین رشته ها و لایه ها را بین ۱۵۰ میکرومتر و ۸۰۰ میکرومتر نشان داد.



شکل ۸. میکروگراف رشته ها و داربست ها. (الف) رشته PLA؛ (ب) رشته PLA/BG؛ (ج) رشته PLA/CNT؛ (د) داربست با فاصله داخلی ۲ میلی متر و (E) داربست با فاصله داخلی ۴ میلی متر.

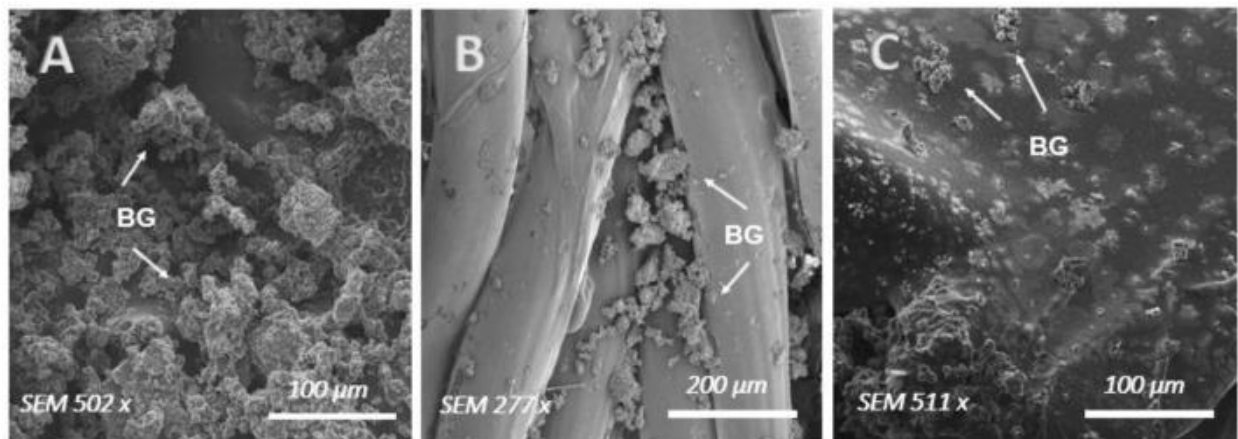
در این زمینه محمدی و همکاران. در مطالعه خود نشان داد که داربست هایی با منافذ ۳۲۰-۶۰۰ میکرومتر و هندسه منافذ شش ضلعی به استئوژنز و رگ زایی بهتری کمک می کنند. تایید، چن و همکاران. اشاره کرد که داربست هایی با منافذ ۵۰۰ میکرومتر چسبندگی سلولی، تکثیر و تمایز استخوانی بهتری داشتند.

مورفولوژی داربست های PLA، PLA/BG و PLA/CNT را می توان در میکروگراف های شکل ۹ مشاهده کرد. شکل ۹ A یک میکروگراف از داربست PLA با سطح صاف را نشان می دهد، در حالی که شکل ۹ B وجود شیشه بیوگلس چسبیده به سطح پلیمری را نشان می دهد و شکل ۹ C و D CNT را در ناحیه شکستگی داربست نشان می دهد.



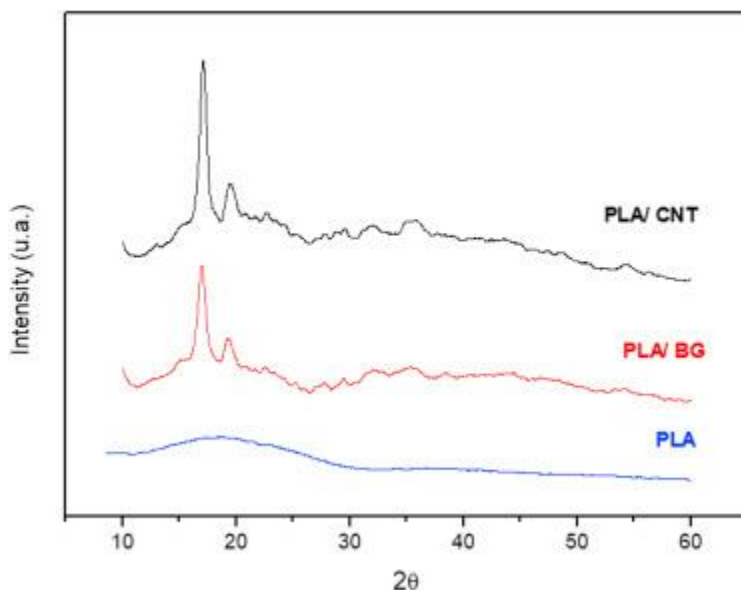
شکل ۹. ریزنگاری داربست ها قبل از اشباع حرارتی: A در PLA، B در PLA/BG و C در PLA/CNT و D. روی سطح PLA BG در B و CNT در C و D قابل مشاهده است.

شکل ۱۰ (الف، ب و ج) ریزنگاری داربست ها را پس از آغشته شدن حرارتی سطح به شیشه بیوگلاس نشان می دهد و مشاهده می شود که ذرات شیشه زیستی به سطح داربست چسبیده اند. با چسباندن ذرات بیوگلاس بر روی سطح، در نظر گرفته شده است که زیست فعالی داربست ها از طریق خواص زیست فعال بیوگلاس افزایش یابد، زیرا پلی لاکتیک اسید (PLA)، با وجود اینکه به عنوان یک ماده زیستی مهم برای زیست سازگاری و تخریب عالی آن در محیط فیزیولوژیکی در نظر گرفته می شود، پاسخ سلولی پایینی دارد. در مطالعه Canales و همکاران. نانو ذرات بیوگلاس ادغام شده در PLA با فرآیند همجوشی نشان داد که ادغام باعث افزایش تخریب هیدرولیتیک پلیمر شده و روند تخریب آن و زیست فعالی ناشی از شیشه زیستی را بهبود می بخشد.



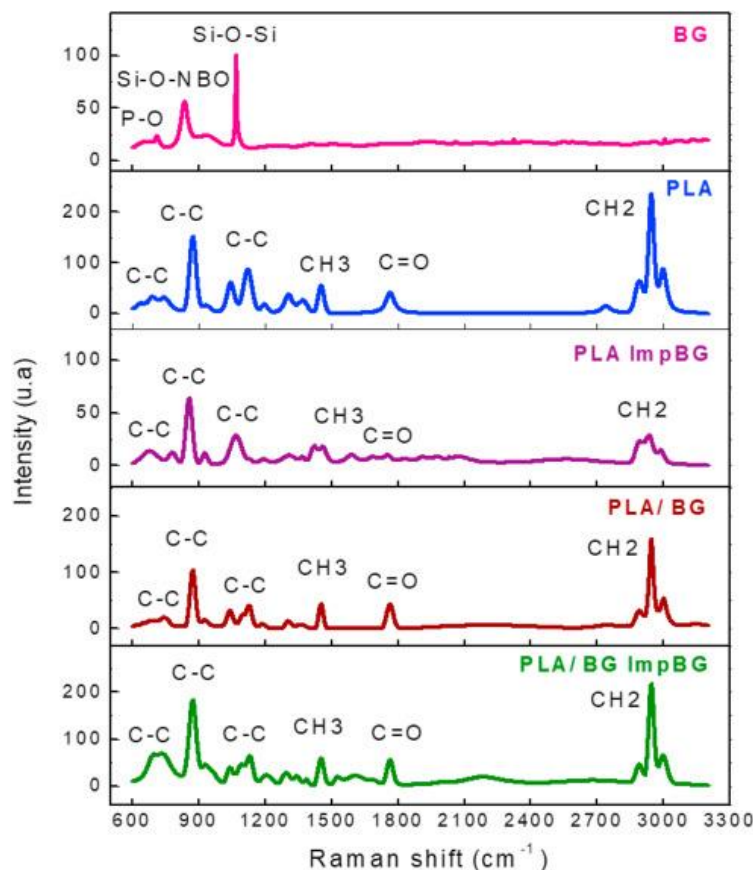
شکل ۱۰. ریزنگاری داریست ها پس از آغشته سازی حرارتی سطح به شیشه بیوگلاس. A در PLA، B در PLA/BG و C در PLA/CNT

شکل ۱۱ پراش فیلامنت های منظم PLA، PLA/BG و PLA/CNT را پس از چاپ FDM نشان می دهد. پراش رشته PLA منظم فقط هاله آمورف را نشان می دهد. در پراش PLA/BG و PLA/CNT، دو پیک مربوط به  $2\theta$  برابر با  $16.5$  درجه و  $19$  درجه مربوط به کریستال ها مشاهده می شود که در PLA/CNT شدیدتر است. این قله ها به ترتیب با کریستال های  $\alpha'$  و  $\alpha$  مطابقت دارند که طبق گفته هوانگ و همکاران. به دلیل ذوب پلیمری است که در اکستروژن چاپ FDM رخ می دهد، که نشان می دهد رفتار کریستالی PLA پس از چاپ سه بعدی تحت تأثیر BG و CNT قرار می گیرد. و با توجه به ژو و همکاران. این افزودن به عنوان یک مکان هسته برای رشد کریستال های PLA عمل می کند.



شکل ۱۱. پراش XRD رشته های PLA، PLA/BG و PLA/CNT

شکل ۱۲ طیف های رامان شیشه های زیستی، داربست های PLA و PLA/BG و داربست PLA و PLA/BG را پس از آغشته شدن سطح به شیشه زیستی نشان می دهد که PLA Imp BG و PLA/BG Imp BG نامیده می شود.



شکل ۱۲ . طیف رامان بیوگلاس و داربست های PLA و PLA/BG قبل و بعد از آغشته سازی حرارتی سطح به شیشه بیوگلس.

در طیف رامان شیشه زیستی، مشاهده ارتعاشات باندهای معمولی پیوند Si-O-Si امکان پذیر است، در محدوده ۹۰۰-۹۷۰  $\text{cm}^{-1}$  مربوط به (Si-O-NBO اکسیژن غیر نقطه ای) است. کشش و ۱۰۰۰ تا ۱۱۰۰ سانتی متر مربع نسبت به کشش نامتقارن Si-O-Si. در حالی که، نوارهای ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ سانتی متر مربع با پیوند Si-O-Si در چهار وجهی سیلیس با تعداد متفاوتی از اکسیژن غیر نقطه ای (NBO) مرتبط هستند. در حالی که، نوارهای ارتعاشی در ۹۳۸ سانتی متر -۱ مشخصه Si-O هستند حالت های کشش و خمش Si، اوج در ۱۰۶۹ سانتی متر مربع به ارتعاش کشش پیوند اختصاص داده می شود، که در آن اتم اکسیژن پل کننده موازی با خطوط Si-Si حرکت می کند. در حالی که، نوار حدود ۶۰۰ سانتی متر -۱ به ارتعاش فسفات (P-O) اختصاص داده شد قله های مشخصه PLA به: ۲۷۴۰، ۲۸۹۱، ۲۹۴۷ و ۳۰۰۰ سانتی متر -۱ اختصاص داده شد که مربوط به ارتعاش کششی آرایش ساختاری CH<sub>2</sub> است. ۱۷۶۵ سانتی متر تا پیوند دوگانه ارتعاش کششی ۱۴۵۴ . CO ، ۱۳۷۰ ، ۱۳۰۶  $\text{cm}^{-1}$  به ارتعاش خمشی آرایش CH<sub>3</sub> . ۱۱۲۲ ، ۱۰۴۵ ، ۷۴۶ ، ۶۸۹ و ۶۳۲  $\text{cm}^{-1}$  به ارتعاش



کششی C-C ارتعاش نوسان  $934\text{ cm}^{-1}$  با  $\text{CH}_3$  و  $873\text{ cm}^{-1}$  به ارتعاش کششی C-COO واحد تکراری زنجیره پلیمری PLA.

در جدول ۱، می توان پیک های موجود در طیف رامان PLA و PLA آغشته به BG و همچنین در جدول ۲ پیک های موجود در طیف PLA/BG و PLA/BG آغشته به BG را با FWHM مربوطه خود مقایسه کرد. عرض و نیم قد، به نوارهای ارتعاشی مشخصه پلیمر و برهمکنش قوی با BG که حالت های ارتعاشی جدید را القا می کند و نوارهای جدیدی بین  $1400$  تا  $2600$  سانتی متر  $^{-1}$  ایجاد می کند، توجه کنید. علاوه بر این، افزایش FWHM نشان دهنده افزایش گروه های عاملی جذب شده روی ماتریس است، بنابراین برهمکنش شیشه زیستی با ماتریس PLA را نشان می دهد.

**Table 1 – Deconvolutions of the main spectrum Raman of PLA scaffolds and PLA impregnated with bioglass (BG).**

Deconvolutions of PLA $\text{cm}^{-1}$ peaks	FWHM PLA $\text{cm}^{-1}$	Deconvolutions of PLA Imp BG peaks $\text{cm}^{-1}$	FWHM PLA Imp BG $\text{cm}^{-1}$
632	61.29	–	–
689	47.45	677	92.11
746	63.81	780	43.68
873	35.57	857	34.12
934	44.86	927	31.66
1045	39.67	1068	59.45
1122	45.04	–	–
1196	34.50	1191	46.43
1306	44.18	1308	80.90
1370	46.78	1368	23.03
–	–	1419	33.20
1454	31.25	1460	41.66
–	–	1588	65.43
–	–	1685	61.60
1765	45.87	1752	50.89
–	–	1830	57.41
–	–	1910	64.85
–	–	1976	47.29
–	–	2030	13.66
–	–	2074	141.43
–	–	2564	418.13
2740	51.34	–	–
2891	41.83	2891	40.75
2947	28.74	2936	41.20
3000	39.80	2989	38.01

جدول ۱. دکاتولوشن طیف اصلی رامان داربست های PLA و PLA آغشته به شیشه زیستی BG

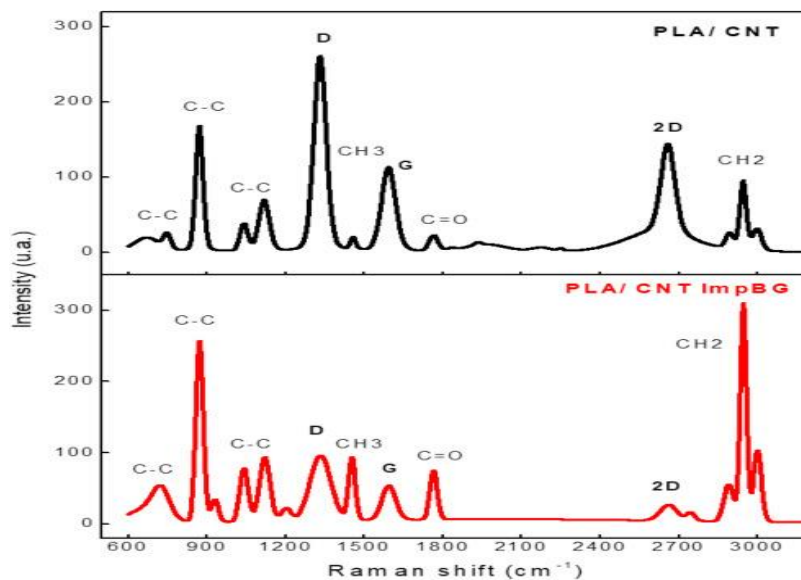
**Table 2 – Deconvolutions of the peaks of the Raman spectrum of PLA/BG and PLA/BG scaffolds impregnated with bioglass (BG).**

Deconvolutions PLA/BG cm <sup>-1</sup> peaks	FWHM PLA/BG cm <sup>-1</sup>	Deconvolutions PLA/BG Imp BG cm <sup>-1</sup> peaks	FWHM PLA/BG Imp BG cm <sup>-1</sup>
691	131.56	689	56.70
748	39.99	740	90.75
873	28.69	873	31.53
926	47.39	955	56.77
1040	33.10	1040	32.55
1096	29.40	1091	43.52
1128	29.99	1132	32.94
1187	37.34	1206	58.41
1303	30.99	1294	40.33
1360	55.42	1343	20.03
-	-	1385	23.52
1454	27.61	1454	30.99
-	-	1526	31.91
-	-	1608	111.98
-	-	1696	38.10
1765	34.47	1765	33.25
2206	460.93	2183	211.63
		2684	401.89
2746	110.17	-	-
2835	17.80	-	-
2889	38.17	2891	36.87
2947	23.59	2947	27.62
3002	35.18	2999	43.44
3153	137.43	-	-

جدول ۲. دکانولوشن قله های طیف رامان داربست های PLA/BG و PLA/BG آغشته به شیشه زیستی (BG).

شکل ۱۳ طیف رامان داربست های PLA/CNT را قبل و بعد از آغشته شدن به BG روی سطح نشان می دهد که PLA/CNT Imp BG نامیده می شود. جدول ۳ پیک های یافت شده در طیف های مربوطه را نشان می دهد. باند D در ۱۳۳۳ سانتی متر و باند G در ۱۵۹۴ سانتی متر مربع شناسایی شدند که وجود نانولوله های کربنی در مواد چاپ شده سه بعدی را تأیید می کنند. این نتیجه مشابه نتیجه ارائه شده توسط ویداکیس و همکاران بود. ساخت نانوکامپوزیت های PLA/CNT با چاپ سه بعدی. ایوانف و همکاران به نوبه خود مشاهده کرد که نوارها در ۲۸۹۰-۳۰۰۰ cm<sup>-1</sup> از ماتریس پلیمریبا حضور نانولوله های کربنی کاهش یافت. طیف رامان داربست های PLA/CNT Imp BG شدت پیک های مربوط به D (1334) سانتی متر-۱، G (1594) (سانتی متر-۱) و D 2661 (سانتی متر-۱) را نشان داد. نوارها، نشان دهنده نانولوله های کربنی است. درجه نقص در ساختار گرافیتی با نسبت بین شدت باندهای D و G (ID/IG) مشخص می شود، هر چه مقدار نسبت کمتر باشد، میزان نقص در ساختار کربن کمتر است. بنابراین، مقادیر نسبت (ID/IG) برای PLA/CNT 2.2 و برای

در PLA/CNT Imp BG 1.6. همچنین افزایش FWHM باند D نشان دهنده افزایش عیوب یا عامل سازی در CNT ها و همچنین شدت باند D بیشتر از باند G نشان دهنده نقص عملکرد است.



شکل ۱۳. طیف رامان داربست PLA/CNT قبل و بعد از اشباع حرارتی سطح با بیوگلاس.

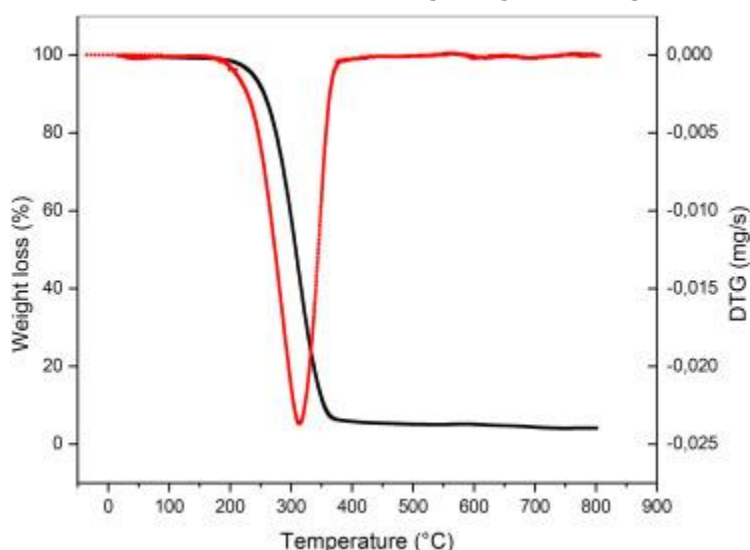
**Table 3 – Deconvolutions of the Raman spectrum peaks of PLA/CNT scaffolds and PLA/CNT impregnated with bioglass (BG).**

Deconvolutions of peaks PLA/CNT $\text{cm}^{-1}$	FWHM PLA/CNT $\text{cm}^{-1}$	Deconvolutions of PLA/CNT Imp BG $\text{cm}^{-1}$ peaks	FWHM PLA/CNT Imp BG $\text{cm}^{-1}$
669	114.48	671	152.99
748	34.08	726	73.27
873	32.76	873	33.15
-	-	931	31.37
1042	34.59	1042	37.55
1119	46.69	1122	46.63
-	-	1202	42.07
1333	55.29	1334	92.17
1458	24.39	1454	30.00
1594	62.42	1594	87.64
1765	39.39	1765	32.85
1963	187.25	-	-
2175	89.70	-	-
2622	304.61	-	-
2660	63.05	2661	73.57
-	-	2745	35.65
2894	35.57	2892	43.53
2947	29.11	2948	27.52
3000	39.28	3001	35.58

جدول ۳. نکانولشن قله‌های طیف رامان داربست‌های PLA/CNT و PLA/CNT آغشته به شیشه‌های زیستی (BG)

## تجزیه و تحلیل حرارتی و مشتقات آن (TGA/DTG)

نتایج تجزیه و تحلیل حرارتی (TGA) و تجزیه و تحلیل حرارتی دیفرانسیل (DTG) (شکل ۱۴) داده هایی را برای پایداری حرارتی و اکسیداتیو نمونه کامپوزیتی PLA/CNT Imp BG و درصد جرمی باقیمانده تقریبی CNT و BG ارائه می دهد. بستر پلیمری نمونه کامپوزیتی PLA/CNT Imp BG در دمای ۲۶۶ درجه سانتیگراد با پیک DTG 315 درجه سانتیگراد تجزیه شد.



شکل ۱۴. منحنی های TGA و DTG PLA/CNT imp BG. داده هایی را برای پایداری حرارتی و اکسیداتیو نمونه کامپوزیت PLA/CNT Imp BG و درصد جرمی باقیمانده CNT و BG موجود در بستر پلیمری ارائه می دهد.

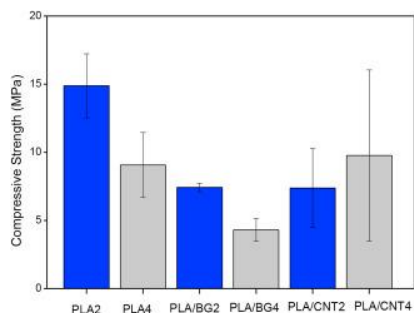
منحنی TGA دو کاهش جرم را پس از افزایش دما نشان می دهد. جرم اولیه نمونه کامپوزیت ۵.۴۸ میلی گرم بود و تلفات در محدوده دمایی ۱۰۰-۱۶۳ درجه سانتیگراد و ۲۶۶-۳۴۷ درجه سانتیگراد ظاهر شد. اولین کاهش جرم بین ۱۰۰ تا ۱۶۳ درجه سانتیگراد تقریباً ۱.۰۵۸٪ (۰.۰۵۸ میلی گرم) مشاهده می شود که می تواند به آب جذب شده نسبت داده شود. دومین کاهش جرم بین ۲۶۶ و ۳۴۷ درجه سانتیگراد رخ می دهد که با تخریب و از دست دادن ۹۴.۸۲٪ که مربوط به ۵.۱۹ میلی گرم جرم است، کاملاً قابل توجه است. اوج منحنی DTG 315 درجه سانتیگراد نشان دهنده حداکثر دمای تخریب است که به تخریب پلیمر نسبت داده می شود. در پایان تجزیه، می توان مشاهده کرد که تمام مواد پلیمری با باقیمانده ۵.۲٪ جرم مربوط به ۰.۲۲ میلی گرم که در حداکثر دمای تجزیه و تحلیل تجزیه نمی شود، تجزیه شد، که نشان می دهد CNT و BG است.

رفتار مشابهی در مطالعات Abeer و همکاران مشاهده شد. که در آن داربست PLA خالص تجزیه حرارتی پلیمر را از ۳۰۰ تا ۳۷۰ درجه سانتیگراد و از دست دادن جرم تقریباً کامل (۹۹.۱۵٪) نشان داد، در حالی که در داربست PLA/BG تجزیه حرارتی از ۲۳۰ تا ۳۰۰ درجه سانتیگراد بود.

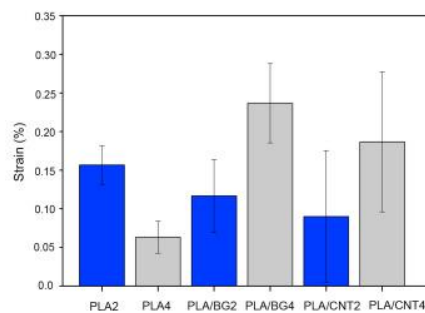
## تست فشرده سازی

برای تست های فشرده سازی و زنده ماندن سلولی در نامگذاری PLA، PLA/BG و PLA/CNT از اعداد ۲ و ۴ به معنی فاصله داخلی داربست ها استفاده شد.

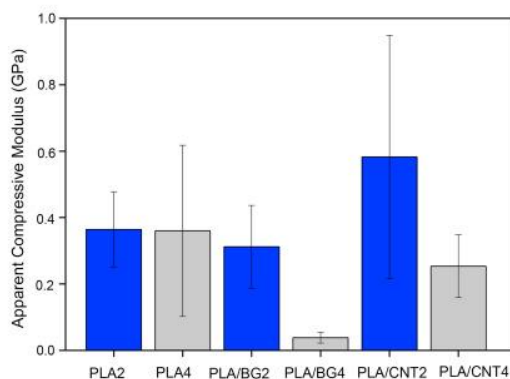
شکل ۱۵ A نمودار مقاومت فشاری را در رابطه با نوع ماده تحلیل شده نشان می دهد. در بین مدل های داربست با فاصله داخلی ۲ میلی متر، PLA بالاترین مقاومت فشاری مربوط به  $2.35 \pm 14.88$  مگاپاسکال را ارائه کرد. در بین ۴ میلی متر مدل های داربست با فاصله داخلی، PLA/NTC بالاترین مقدار مقاومت فشاری  $6.28 \pm 9.76$  مگاپاسکال را ارائه کرد. شکل ۱۵ B رفتار داربست ها را در رابطه با تغییر شکل نشان می دهد و مشاهده می شود که داربست هایی با بیشترین تغییر شکل PLA2 با  $0.16 \pm 0.02$  (٪) و PLA/BG4 مربوط به  $0.05 \pm 0.24$  (٪) بودند. شکل ۱۵ C نمودار میانگین مدول فشار ظاهری را نشان می دهد و مشاهده می شود که داربست هایی با بیشترین سختی PLA/CNT2 با  $0.36 \pm 0.58$  گیگا پاسکال و PLA4 با  $0.25 \pm 0.36$  گیگا پاسکال بودند. اندازه فاصله داخلی در ساختار داربست ممکن است مستقیماً بر رفتار مکانیکی تأثیر بگذارد و همانطور که در شکل ۸ مشاهده می شود، دهانه ها بین ۱۳۰ میکرومتر و ۵۰۰ میکرومتر متغیر است، برای داربست تولید شده با ۲ میلی متر فاصله داخلی و ۱۵۰ میکرومتر و ۸۰۰ میکرومتر برای داربست با ۴ میلی متر فاصله داخلی. عامل دیگری که ممکن است کاهش مقاومت فشاری داربست های PLA/BG و PLA/CNT را توضیح دهد این است که قرار دادن این اجزا در PLA باعث افزایش تخلخل در رشته می شود، همانطور که در شکل ۸ مشاهده می شود. (AC)، علی‌رغم اندازه متوسط منافذ، در رشته‌ها که در داربست‌های PLA/BG کوچک‌تر هستند، مقاومت فشاری در این مواد کمتر از PLA/CNT بود که نشان می‌دهد علی‌رغم افزایش اندازه منافذ در PLA، قرار دادن CNT منجر به افزایش جزئی در مقاومت فشاری به دلیل خواص ذاتی آن. همان استاندارد توسط Corcione و همکاران یافت شد. هنگامی که میکروسفرهای هیدروکسی آپاتیت در تولید داربست برای استفاده در بازسازی استخوان به PLA وارد شدند. نویسندگان کاهش مقاومت فشاری را به ادغام هیدروکسی آپاتیت در ساختار PLA نسبت دادند. سرا و همکاران نیز نتایج مشابهی با مطالعه حاضر به دست آورد و نویسندگان بیان کردند که، علی‌رغم اینکه استحکام کمتر از استخوان تراکولار بود، داربست توانست به عنوان الگو در مراحل اولیه بازسازی استخوان عمل کند. باپتیستا و همکاران مقادیر بهتری برای عملکرد مکانیکی داربست‌های PLA چاپ شده از طریق چاپ سه بعدی با تخلخل و تنوع هندسی پیدا کرد. نویسندگان به این نتیجه رسیدند که داربست‌های تکان خورده کاهش بیشتری در تخلخل باز و افزایش خواص مکانیکی در مقایسه با پیکربندی‌های دیگر نشان دادند Baptista و Guedes همچنین داربست های PLA با عملکرد مکانیکی عالی را هنگام ارزیابی تغییرات هندسه و تخلخل به دست آوردند و به این نتیجه رسیدند که این ماده ممکن است به عنوان جایگزین استخوان استفاده شود.



A



B



C

شکل ۱۵. خواص مکانیکی به دست آمده از آزمایش های فشرده سازی تک محوری. داده ها مقادیر متوسط و انحراف استاندارد خواص مکانیکی ارزیابی شده را نشان می دهند. مقاومت فشاری در A، کرنش در B و مدول فشار ظاهری در C

تجزیه و تحلیل آماری خواص مکانیکی در فشرده سازی در جدول ۴ ارائه شده است. برای مقاومت فشاری، می توان مشاهده کرد که برای مقدار  $p = 0.028695$ ،  $F$  محاسبه شده (۳.۷۲) بالاتر از مقدار بحرانی  $F(3.10)$  است، همانطور که برای کرنش، مقدار  $p = 0.035863$  است و  $F$  محاسبه شده (۳.۴۷) بالاتر از مقدار بحرانی  $F(3.10)$  است. بنابراین فرضیه برابری میانگین نمونه های ارائه شده در سطح اطمینان ۹۵ درصد رد می شود. با توجه به نتایج ANOVA، آزمایش توکی برای بررسی اینکه آیا نانولوله های بیوگلاس و کربنی در ایجاد تغییرات قابل توجه در خواص مکانیکی داربست ها مؤثرتر بودند ضروری بود و برای حداقل اختلاف معنی دار  $(MSD) 6.878504$  مشاهده شد که  $PLA/BG2$ ، داربست های  $PLA/BG4$  و  $PLA/CNT2$  تفاوت های آماری را از نظر مقاومت فشاری و  $PLA4$ ،  $PLA/BG4$  و  $PLA/CNT2$  تفاوت های آماری را در مورد تغییر شکل  $MSD$  به میزان  $0.130193$  نشان می دهند. برای مدول فشاری ظاهری، مقدار  $p = 0.035863$  و  $F$  محاسبه شده (۲.۳۶) کمتر از مقدار بحرانی  $F(3.10)$  بود و این نتیجه نشان می دهد که تفاوت آماری بین داربست ها وجود ندارد.

**Table 4 – Analysis of single factor variance for compression assay of PLA, PLA/BG and PLA/CNT scaffolds with 2 and 4 mm diameter produced by FDM printing. Compressive Strength: p-value - 0.028695 and M.S.D - 6.878504; Strain: p-value - 0.035863 and M.S.D - 0.130193; Apparent Compressive Modulus: p-value - 0.035863.**

Compressive Strength (MPa)						
Source	Sum of Squares	Degrees of Freedom	Mean of Squares	F (calculated)	F critical	p-value
Source	Sum of Squares	Degrees of Freedom	Mean of Squares	F (calculated)	F critical	p-value
Between the groups	186,1782	5	37,23564	3,728483	3,105875	0,028695
Inside the group	119,8417	12	9,986806			
Total	306,0198	17				
Strain						
Source	Sum of Squares	Degrees of Freedom	Mean of Squares	F (calculated)	F critical	p-value
Between the groups	0,062117	5	0,012423	3,47236	3,105875	0,035863
Inside the group	0,042933	12	0,003578			
Total	0,10505	17				
Apparent Compressive Modulus (GPa)						
Source	Sum of Squares	Degrees of Freedom	Mean of Squares	F (calculated)	F critical	p-value
Between the groups	0,469103	5	0,093821	2,363193	3,105875	0,103199
Inside the group	0,476409	12	0,039701			
Total	0,945512	17				

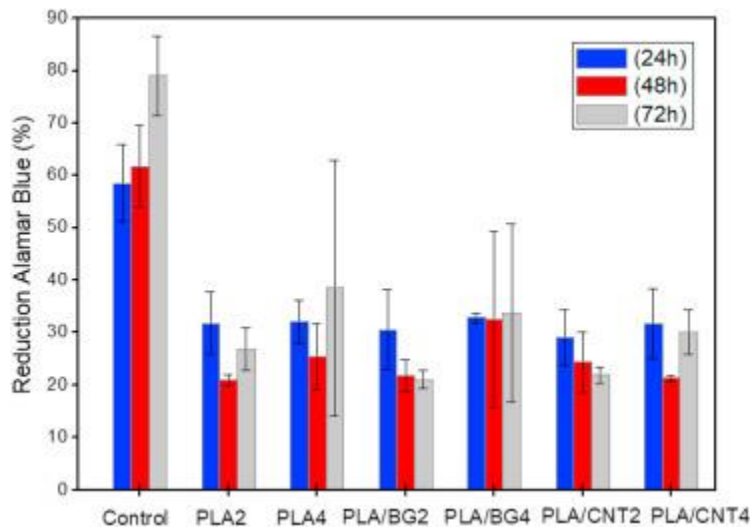
جدول ۴. تجزیه و تحلیل واریانس تک عاملی برای سنجش فشردگی ساخته شده از پلیست های PLA، PLA/BG و PLA/CNT با قطرهای ۲ و ۴ میلی متر تولید شده توسط چاپ FDM. مقاومت فشاری: مقدار  $p = 0.02869$  و  $MSD = 6.878504$ . کرنش: مقدار  $p = 0.035863$  و  $MSD = 0.130193$ . مدول فشار ظاهر: مقدار  $p = 0.035863$ .

بنابراین، می توان استنباط کرد که گنجاندن نانولوله های بیوگلاس و کربنی در ماتریس PLA باعث تغییراتی در خواص مکانیکی در استحکام فشاری و کرنش داربست ها شده است. از سوی دیگر، تفاوت معنی داری در مقادیر مدول فشار ظاهری بین ماتریس PLA و کامپوزیت های نانولوله های بیوگلاس و کربنی مشاهده نشد. نتایج با استخوان تراپکولار، مانند موجود در مهره ها، مجامه و مفاصل، که دارای مقاومت فشاری ۲-۲۰ مگاپاسکال و مدول فشاری ظاهری ۰.۱-۲.۰ گیگا پاسکال است، سازگار بود.

### زنده ماندن سلولها

کاهش Alamar Blue® در سه زمان مختلف جوجه کشی مورد ارزیابی قرار گرفت، مقادیر از قرائت جذب در ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت به دست آمد.

شکل ۱۶ داده های حاصل از سنجش Alamar Blue را نشان می دهد که نشان می دهد همه گروه های داربست تکثیر سلولی کمتری نسبت به گروه کنترل نشان می دهند. در میان گروه های داربست مورد تجزیه و تحلیل، ۴ میلی متر داربست های فاصله داخلی، تکثیر سلولی بهتری را نشان دادند. از نظر زمان، داربست ها در ۲۴ ساعت گروه PLA/BG4 دارای بهترین تکثیر سلولی با  $0.90 \pm 32/82$  (%) بودند. در ۴۸ ساعت، همین گروه نیز با  $16/78 \pm 32/53$  (%) بهترین نتیجه را ارائه کرد. در ۷۲ ساعت، گروه PLA4 با  $24/39 \pm 38/53$  (%) بیشترین تکثیر سلولی را نشان داد.



شکل ۱۶. کاهش آلامار آبی در فواصل مختلف (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت). داده ها نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد میانگین نمونه زنده ماندن سلولی در فلورسانس است.

تجزیه و تحلیل آماری ANOVA دو طرفه اعمال شد و نشان می دهد که بین مواد و کنترل،  $F$  محاسبه شده (۲۵.۲۸) بالاتر از مقدار بحرانی  $F(2,32)$  است، بنابراین نیاز به استفاده از آزمون Tukey دارد. می توان استنباط کرد که بین مواد و کنترل، از نظر آماری متفاوت هستند (MSD) از ۲۲.۳۷. تجزیه و تحلیل بین نمونه های مواد مورد مطالعه، نتایج آماری ANOVA فاکتوریل دوگانه نشان می دهد که تفاوت معنی داری بین این گروه ها وجود ندارد، زیرا  $F$  محاسبه شده (۳.۰۶) در داخل مقدار  $F$  بحرانی (۳.۲۱) قرار دارد.

برخی از محدودیت ها می توانند بر تفاوت در نتایج سنجش آبی Alamar بین گروه کنترل و داربست های آزمایش شده تأثیر بگذارند. اولین مورد این است که آب دوستی PLA می تواند مانعی برای زنده ماندن سلول به دلیل تخریب آن با محصولات اسیدی باشد. دوم اینکه در گروه کنترل، سلول ها بر روی سطح پلی استایرن کاشته شدند که به دلیل زیست سازگاری و خواص فیزیکی، سطح استاندارد طلایی برای کشت های سلولی چسبنده در نظر گرفته شده است. در حالی که در گروه های آزمایش شده، سلول ها باید بر محدودیت های احتمالی مربوط به خواص فیزیکی ریزمحیط غلبه کنند تا بتوانند بچسبند و سپس تکثیر شوند. در یک تجزیه و تحلیل کلی از گروه های داربست، پس از کاهش رشد سلولی در ساعت ۲۴ و ۴۸، مشاهده می شود که در ساعت ۷۲ رشد سلولی وجود دارد. از آنجایی که مطالعه تنها سه روز را پوشش داد، توانایی سلول ها برای غلبه بر این مشکلات ادغام نهایی با سطوح داربست ممکن است به اندازه کافی شناسایی نشده باشد.

بنابراین، خاطر نشان می شود که داربست های تولید شده خود را به عنوان مواد بالقوه برای توسعه ساختارهای مصنوعی با کاربرد به عنوان جایگزین استخوان معرفی می کنند و می توانند جایگزینی برای پزشکی بازساختی و مهندسی بافت باشند.



## نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که داربست های PLA، PLA/BG و PLA/CNT را می توان به عنوان سازه های چاپ سه بعدی با تکنیک FDM با ساختار هندسی کنترل شده با منافذ لانه زنبوری شش ضلعی، با قابلیت تکرار و دقت خوب، ویژگی های اساسی برای ساخت مواد زیستی سفارشی تولید کرد. و با خواص مکانیکی در فشرده سازی مشابه استخوان تراپکولار. تجزیه و تحلیل SEM ریزساختار متخلخل را در رشته های داربست نشان داد. در توصیف ساختاری رامن، شناسایی رفتار ارتعاشی متقابل آرایش ساختاری مواد در این مطالعه امکان پذیر بود و ظهور قله های جدیدی که در ادبیات گزارش نشده اند، برهمکنش نانولوله های بیوگلاس و کربنی را با ماتریس پلیمری نشان دادند. علاوه بر این، پایداری حرارتی خوب کامپوزیت PLA/CNT Imp BG در تجزیه و تحلیل زنده ماندن سلول، نتایج کمتر از گروه کنترل بود، با این حال، در ۷۲ ساعت تکثیر سلولی بیشتر در بین داربست ها وجود داشت. بنابراین، نتایج نشان داد که داربست سه بعدی هندسه لانه زنبوری شش ضلعی PLA، BG و CNT پتانسیلی برای کاربرد در بیومواد دارد، اما نیاز به مطالعات بیشتر در منطقه دارد. اگرچه مطالعه با داربست داده های جالبی را برای استفاده از کامپوزیت های چاپ سه بعدی برای ترمیم استخوان در مهره ها، دنده ها، استخوان های مجامه و مفاصل نشان می دهد، کاربرد ایمپلنت های آینده صرف نظر از نوع داربست تولید شده توسط چاپ سه بعدی، از نظر زیست سازگاری برای ادغام استخوان زایی محدود است.

با تشکر ویژه از: همahنگی بهبود آموزش عالی. پروفیسور تحقیقات و تحصیلات تکمیلی دانشگاه فدرال پارا؛ آزمایشگاه خصوصیات مواد معدنی؛ آزمایشگاه مدلسازی، شبیه سازی و کنترل سیستم؛ آزمایشگاه نانو دستکاری، آزمایشگاه طیفسنجی ارتعاشی و فشارهای بالا، آزمایشگاه روغن های آمازون و کامپوزیت های اکو از UFPA، آزمایشگاه کشت سلولی مرکز علوم زیستی دانشگاه فدرال ریو گراند دو نورته و آزمایشگاه مواد پیشرفته در دانشگاه دولتی نورت فلومیننس.

D.E. Heath, G.C.W. Kang, Y. Cao, Y.F. Poon, V. Chan, M.B. Chan-park  
Biomaterials patterned with discontinuous microwalls for vascular smooth muscle  
cell culture: biodegradable small diameter vascular grafts and stable cell culture  
substrates

J Biomater Sci Polym Ed, 27 (2016), pp. 1477-1494

R. Eivazzadeh-Keihan, A. Maleki, M. Guardia, M.S. Bani, K.K. Chenab, P.  
Pashazadeh-Panahi, et al.

Carbon based nanomaterials for tissue engineering of bone: building new bone on  
small black scaffolds: a review

J Adv Res, 18 (2019), pp. 185-201

S. Dasgupta, K. Maji, S.K. Nandi

Investigating the mechanical, physiochemical and osteogenic properties in gelatin-  
chitosan-bioactive nanoceramic composite scaffolds for bone tissue regeneration:  
in vitro and in vivo

Mater Sci Eng C, 94 (2019), pp. 713-728

P. Feng, J. Jia, M. Liu, S. Peng, Z. Zhao, C. Shuai

Degradation mechanisms and acceleration strategies of poly (lactic acid) scaffold  
for bone regeneration

Mater Des, 210 (2021), Article 110066

M. Barbeck, T. Serra, P. Booms, S. Stojanovic, S. Najman, E. Engel, et al.

Analysis of the in vitro degradation and the in vivo tissue response to bi-layered  
3D-printed scaffolds combining PLA and biphasic PLA/bioglass components –  
guidance of the inflammatory response as basis for osteochondral regeneration

Bioact Mater, 2 (2017), pp. 208-223

M.R. Khosravani, T. Reinicke

Effects of raster layup and printing speed on strength of 3D-printed structural  
components

Procedia Struct Integr, 28 (2020), pp. 720-725

J. Korpela, A. Kokkari, H. Korhonen, M. Malin, T. Närhi, J. Seppälä

Biodegradable and bioactive porous scaffold structures prepared using fused deposition modeling

J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 101 (2013), pp. 610-619

I.R. Serra, R. Fradique, M.C.S. Vallejo, T.R. Correia, S.P. Miguel, I.J. Correia  
Production and characterization of chitosan/gelatin/ $\beta$ -TCP scaffolds for improved bone tissue regeneration Materials

Science and Engineering C, 55 (2015), pp. 592-604

C.S. Lee, H.S. Hwang, S. Kim, F. Fan, T. Aghaloo, M. Lee  
Inspired by nature: facile design of nanoclay–organic hydrogel bone sealant with multifunctional properties for robust bone regeneration

Adv Funct Mater, 30 (2020), Article 2003717

R.A. Popescu, F.A. Tabaran, S. Bogdan, A. Farcasanu, R. Purdoiu, K. Magyari, A. Vulpoi, A. Dreanca, B. Sevastre, S. Simon, I. Papuc, L. Baia

Bone regeneration response in an experimental long bone defect orthotopically implanted with alginate-pullulan-glass-ceramic composite scaffolds

J Biomed Mater Res, 108B (2020), pp. 1129-1140

A. Gregor, E. Filová, M. Novák, J. Kronek, H. Chlup, M. Buzgo, et al.  
Designing of PLA scaffolds for bone tissue replacement fabricated by ordinary commercial 3D printer

J Biol Eng, 11 (2017), p. 31

M. Wurm, T. Möst, B. Bergauer, D. Rietzel, F.W. Neukam, S.C. Cifuentes, et al.  
In-vitro evaluation of Polylactic acid (PLA) manufactured by fused deposition modeling

J Biol Eng, 11 (2017), pp. 1-9

L. Zou, Y. Zhang, X. Liu, J. Chen, Q. Zhang  
Biomimetic mineralization on natural and synthetic polymers to prepare hybrid scaffolds for bone tissue engineering

Colloids Surf B Biointerfaces, 178 (2019), pp. 222-229

A. Szcześ, L. Hołysz, E. Chibowski  
Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications

Adv Colloid Interface Sci, 249 (2017), pp. 321-330

D. Arcos, M. Vallet-Regí

Substituted hydroxyapatite coatings of bone implants

J Mater Chem B, 8 (2020), pp. 1781-1800

F. Baino, S. Fiorilli, C. Vitale-Brovarone

Bioactive glass-based materials with hierarchical porosity for medical applications: review of recent advances

Acta Biomater, 42 (2016), pp. 18-32

L.P.L. de Souza, J.H. Lopes, F.V. Ferreira, R.A. Martin, C.A. Bertran, J.A. Camilli  
Evaluation of effectiveness of 45S5 bioglass doped with niobium for repairing critical-sized bone defect in in vitro and in vivo models

J Biomed Mater Res, 108A (2020), pp. 446-457

G.J. Owens, R.K. Singh, F. Foroutan, M. Alqaysi, C.M. Han, C. Mahapatra, et al.

Sol-gel based materials for biomedical applications

Prog Mater Sci, 77 (2016), pp. 1-79

R.L. Siqueira, E.D. Zanotto

Biosilicato®: histórico de uma vitrocerâmica brasileira de elevada bioatividade

Quím Nova, 34 (2011), pp. 1231-1241

A. Bianco, K. Kostarelos, M. Prato

Making carbon nanotubes biocompatible and biodegradable

Chemical Communications journal, 47 (2011), pp. 10183-10188

L. Yang, L. Zhang, T.J. Webster

Carbon nanostructures for orthopedic medical applications

Nanomedicine, 6 (2011), pp. 1231-1244

R.F. Hamilton, Z. Wu, S. Mitra, A. Holian

The effects of varying degree of MWCNT carboxylation on bioactivity in various in vivo and in vitro exposure models

Int J Mol Sci, 19 (2018), p. 354

R. Touri, F. Moztafzadeh, Z. Sadeghian, D. Bizari, M. Tahriri, M. Mozafari  
The use of carbon nanotubes to reinforce 45S5 bioglass-based scaffolds for tissue engineering applications  
BioMed Res Int, 1 (2013), pp. 1-8

H. Mohammadi, M. Sepantafar, N. Muhamad, A.B. Sulong  
How does scaffold porosity conduct bone tissue regeneration?  
Adv Eng Mater, 23 (2021), Article 2100463

J. Faure, R. Drevet, A. Lemelle, N.B. Jaber, A. Tara, H.E. Btaouri, et al.  
A new sol–gel synthesis of 45S5 bioactive glass using an organic acid as catalyst  
Mater Sci Eng C, 47 (2015), pp. 407-412

ASTM D695-10  
Standard test method for compressive properties of rigid plastics compression tests  
ASTM International, West Conshohocken, PA, USA (April 1, 2010)

M. Alksne, M. Kalvaityte, E. Simoliunas, I. Rinkunaite, I. Gendviliene, J. Locs, V. Rutkunas, V. Bukelskiene  
In vitro comparison of 3D printed polylactic acid/hydroxyapatite and polylactic acid/bioglass composite scaffolds: insights into materials for bone regeneration  
J Mech Behav Biomed Mater, 104 (2020), Article 103641

D. Pierantozzi, A. Scalzone, S. Jindal, L. Stīpniece, K. Šalma-Ancāne, K. Dalgarno, P. Gentile, E. Mancuso  
3D printed Sr-containing composite scaffolds: effect of structural design and material formulation towards new strategies for bone tissue engineering  
Compos Sci Technol, 191 (2020), Article 108069

T. Distler, N. Fournier, A. Grünwald, C. Polley, H. Seitz, R. Detsch, A.R. Boccaccini  
Polymer-bioactive glass composite filaments for 3D scaffold manufacturing by fused deposition modeling: fabrication and characterization  
Front Bioeng Biotechnol, 8 (2020), p. 552

Y. Zhao, C. Ning, J. Chang  
Sol–gel synthesis of Na<sub>2</sub>CaSiO<sub>4</sub> and its in vitro biological behaviors

J Sol Gel Sci Technol, 52 (2009), pp. 69-74

D. Bellucci, A. Sola, R. Salvatori, A. Anesi, L. Chiarini, V. Cannillo  
Sol-gel derived bioactive glasses with low tendency to crystallize: synthesis, post-sintering bioactivity and possible application for the production of porous scaffolds  
Mater Sci Eng C, 43 (2014), pp. 573-586

T. Fu, Z. Alajmi, Y. Shen, L. Wang, S. Yang, M. Zhang  
Sol-gel preparation and properties of Ag-containing bioactive glass films on titanium  
Int J Appl Ceram Technol, 14 (2017), pp. 1117-1124

R. Bento, A. Gaddam, J.M.F. Ferreira  
Sol-gel synthesis and characterization of a quaternary bioglass for bone regeneration and tissue  
Materials, 14 (2021), p. 4515

E. Vafa, R. Bazargan-Lari, M.E. Bahrololoom  
Synthesis of 45S5 bioactive glass-ceramic using the sol-gel method, catalyzed by low concentration acetic acid extracted from homemade vinegar  
J Mater Res Technol, 10 (2021), pp. 1427-1436

A. Lucas-Girot, F.Z. Mezahi, M. Mami, H. Oudadesse, A. Harabi, M.L.M. Floch  
Sol-gel synthesis of a new composition of bioactive glass in the quaternary system SiO<sub>2</sub>-CaO-Na<sub>2</sub>O-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: comparison with melting method  
J Non-Cryst Solids, 357 (2011), pp. 3322-3327

I. Cacciotti, M. Lombardi, A. Bianco, A. Ravaglioli, L. Montanaro  
Sol-gel derived 45S5 bioglass: synthesis, microstructural evolution and thermal behavior  
J Mater Sci Mater Med, 23 (2012), pp. 1849-1866

H. Aguiar, J. Serra, P. González, B. León  
Structural study of sol-gel silicate glasses by IR and Raman spectroscopies  
J Non-Cryst Solids, 355 (2009), pp. 475-480

B.A.E. Ben-Arfa, I.M.M. Salvado, J.M.F. Ferreira

Pullar RC Enhanced bioactivity of a rapidly-dried sol-gel derived quaternary bioglass

Mater Sci Eng C, 91 (2018), pp. 36-43

A. Diez-Escudero, B. Andersson, C. Persson, N.P. Hailer

Hexagonal pore geometry and the presence of hydroxyapatite enhance deposition of mineralized bone matrix on additively manufactured polylactic acid scaffolds

Mater Sci Eng C, 125 (2021), Article 112091

N. Abbasi, S. Hamlet, R.M. Love, N. Nguyen

Porous scaffolds for bone regeneration

J Sci: Advanced Materials and Devices, 5 (2020), pp. 1-9

D. Canales, M. Saavedra, M.T. Flores, J. Bejarano, J.A. Ortiz, P. Orihuela, et al.

Effect of bioglass nanoparticles on the properties and bioactivity of poly(lactic acid) films

J Biomed Mater Res, 108 (2020), pp. 2032-2043

T. Serra, J.A. Planell, M. Navarro

High-resolution PLA-based composite scaffolds via 3-D printing technology

Acta Biomater, 9 (2013), pp. 5521-5530

R. Baptista, M. Guedes, M.F.C. Pereira, A. Maurício, H. Carrelo, T. Cidade

On the effect of design and fabrication parameters on mechanical performance of 3D printed PLA scaffolds

Bioprinting, 20 (2020), Article e00096

Z. Chen, X. Yan, S. Yin, L. Liu, X. Liu, G. Zhao, et al.

Influence of the pore size and porosity of selective laser melted Ti6Al4V ELI porous scaffold on cell proliferation, osteogenesis and bone ingrowth

Mater Sci Eng C, 106 (2020), Article 110289

Y. Huang, F. Chen, Y. Pan, C. Chen, L. Jiang, Y. Dan

Effect of hydrophobic fluoropolymer and crystallinity on the hydrolytic degradation of poly(lactic acid)

Eur Polym J, 97 (2017), pp. 308-318

X. Zhou, J. Deng, C. Fang, W. Lei, Y. Song, Z. Zhang, et al.  
Additive manufacturing of CNTs/PLA composites and the correlation between  
microstructure and functional properties  
J Mater Sci Technol, 60 (2021), pp. 27-34

P. González, J. Serra, S. Liste, S. Chiussi, B. León, M. Pérez-Amor  
Raman spectroscopic study of bioactive silica based glasses  
J Non-Cryst Solids, 320 (2003), pp. 92-99

A. Balamurugan, G. Sockalingum, J. Michel, J. Fauré, V. Banchet, L. Wortham, et  
al.  
Synthesis and characterisation of sol gel derived bioactive glass for biomedical  
applications  
Mater Lett, 60 (2006), pp. 3752-3757

K. Vano-Herrera, C. Vogt  
Degradation of poly(L-lactic acid) coating on permanent coronary metal stent  
investigated ex vivo by micro Raman spectroscopy  
J Raman Spectrosc, 48 (2017), pp. 711-719

M.A. Cuiffo, J. Snyder, A.M. Elliott, N. Romero, S. Kannan, G.P. Halada  
Impact of the fused deposition (FDM) printing process on polylactic acid (PLA)  
chemistry and structure  
Appl Sci, 7 (2017), p. 579

N. Vidakis, M. Petousis, E. Velidakis, N. Mountakis, L. Tzounis, M. Liebscher, et  
al.  
Enhanced mechanical, thermal and antimicrobial properties of additively  
manufactured polylactic acid with optimized nano silica content  
Nanomaterials, 11 (2021), p. 1012

E. Ivanov, R. Kotsilkova, H. Xia, Y. Chen, R.K. Donato, K. Donato, et al.  
PLA/Graphene/MWCNT composites with improved electrical and thermal  
properties suitable for FDM 3D printing applications  
Appl Sci, 9 (2019), p. 1209

M. Abeer, El-Kady, Ashraf F. Ali, Mohmmad M. Farag



Development, characterization, and in vitro bioactivity studies of sol–gel bioactive glass/poly(l-lactide) nanocomposite scaffolds  
Mater Sci Eng C, 30 (2010), pp. 120-131

C.E. Corcione, F. Gervaso, F. Scalera, S.K. Padmanabhan, M. Madaghiele, F. Montagna, A. Sannino, A. Licciulli, A. Maffezzoli  
Highly loaded hydroxyapatite microsphere/PLA porous scaffolds obtained by fused deposition modelling  
Ceram Int (2019), pp. 2803-2810

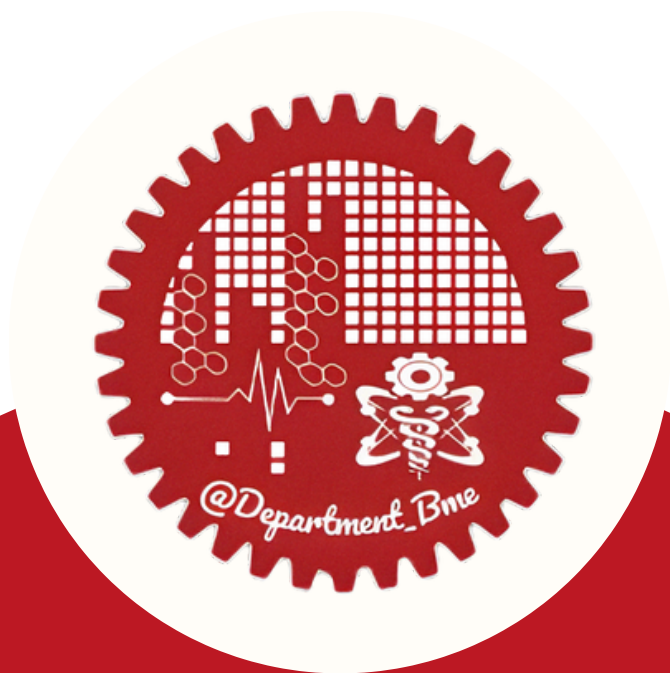
R. Baptista, M.F.C. Pereira, A. Maurício, D. Rechená, V. Infante, M. Guedes  
Experimental and numerical characterization of 3D-printed scaffolds under monotonic compression with the aid of micro-CT volume reconstruction  
Bio-Design and Manufacturing, 4 (2021), pp. 222-242

R. Baptista, M. Guedes  
Morphological and mechanical characterization of 3D printed PLA scaffolds with controlled porosity for trabecular bone tissue replacement  
Mater Sci Eng C, 118 (2021), Article 111528  
S. Bose, M. Roy, A. Bandyopadhyay  
Recent advances in bone tissue engineering scaffolds  
Trends Biotechnol, 30 (Issue 10) (2012), pp. 546-554

E. Schätzlein, C. Kicker, N. Söhling, U. Ritz, J. Neijhoft, D. Henrich, et al.  
3D-Printed PLA-bioglass scaffolds with controllable calcium release and MSC adhesion for bone tissue engineering  
Polymers, 14 (2022), p. 2389

M.J. Lerman, J. Lembong, S. Muramoto, G. Gillen, J.P. Fisher  
The evolution of polystyrene as a cell culture material  
Tissue Eng B Rev, 24 (2018), pp. 359-372

H. Rosado-Galindo, M. Domenech  
Polystyrene topography sticker array for cell-based assays  
Recent Progress in Materials, 2 (2020), p. 13



# ارتباط با ما

برای اطلاعات بیشتر



**Department\_bme**



**Info@dep-bme.ir**



**department\_bme**



**Www.dep-bme.com**