

# A Brief Review on Fabrication of Three-dimensional Porous Scaffolds by Electrospinning-Part I: Physical Methods

Zahra Pedram Rad and Javad Mokhtari\*

Department of Textile Engineering, Faculty of Engineering, University of Guilan,  
P.O. Box: 41635-3756, Rasht, Iran

Received: 27 June 2015, Accepted: 15 September 2015

## Abstract

Nanofiber scaffolds possess high surface-to-volume ratios and adjustable porosity which promotes cellular activities such as attachment and infiltration, therefore providing some key characteristics of the native extracellular matrix. Compared to other production methods of nanofibers, electrospinning is a versatile and simple procedure. Due to recent developments and improvements, electrospinning is becoming a popular technique in the fabrication of three-dimensional (3D) scaffolds. In general, 3D scaffolds can provide a better link between single cells and organs than conventional 2D scaffolds. To date, several approaches have been proposed to fabricate 3D fiber structures by electrospinning. This article summarizes the production of 3D scaffolds using electrospinning techniques by physical methods including combining rapid prototyping and direct-write with electrospinning, post-processing after electrospinning (laser process, physical punching method), liquid-assisted collection, template-assisted collection, porogen-added electrospinning, co-axial electrospinning, and needleless electrospinning. Furthermore, the role of various factors like voltage and humidity in electrospun scaffolds is discussed.

## Key Words

tissue engineering,  
nanofiber,  
electrospinning,  
3D scaffold,  
cell culture

(\*) To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: j.mokhtari@guilan.ac.ir

# مروری کوتاه بر روش‌های تهیه داربست‌های سه‌بعدی و متخلخل از راه الکتروریسی - قسمت اول: روش‌های فیزیکی

زهرا پدرام راد، جواد مختاری\*

رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده فنی، گروه مهندسی نساجی، صندوق پستی ۳۷۵۶-۴۱۶۳۵

دریافت: ۱۳۹۴/۴/۶، پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۲۴

داربست‌های نانوالیافی نسبت سطح به حجم زیاد و تخلخل تنظیم‌پذیر دارند. این ویژگی‌ها باعث پیش‌رفت فعالیت‌های سلولی، مانند چسبندگی و نفوذ می‌شود. این داربست‌ها، بعضی از خواص کلیدی ماتریس برون‌سلولی طبیعی را ارائه می‌دهند. الکتروریسی در مقایسه با سایر فرایندهای تولید نانوالیاف، روشی ساده و متنوع است. روش نام‌برده، به‌علت توسعه و اصلاحات اخیر در فناوری آن، تبدیل به روشی محبوب برای تولید داربست‌های سه‌بعدی شده است. به‌طورکلی، داربست سه‌بعدی نسبت به داربست دوبعدی می‌تواند پیوند بهتری میان سلول و اندام برقرار کند. تا به امروز، رویکردهای مختلفی برای تهیه ساختارهای سه‌بعدی الیافی از الکتروریسی پیشنهاد شده است. مقاله پیش رو، خلاصه‌ای از روش‌های فیزیکی تولید داربست‌های سه‌بعدی به‌کمک الکتروریسی، از جمله ترکیب الگوبرداری سریع و چاپ مستقیم با الکتروریسی، فرایندهای اصلاح پس از الکتروریسی (فرایند لیزر، روش فیزیکی پانچ)، جمع‌آوری الیاف با کمک سیال، جمع‌آوری الیاف به‌وسیله قالب، افزودن ذرات به الکتروریسی، الکتروریسی هم‌محور و الکتروریسی بدون سوزن را بیان می‌کند. افزون بر آن، نقش عوامل مختلف، مانند ولتاژ و رطوبت در داربست‌های الکتروریسی شده نیز بررسی می‌شود.

بسپارش  
فصلنامه علمی- ترویجی  
سال ششم، شماره ۲  
صفحه ۴۳-۵۶، ۱۳۹۵  
ISSN: 2252-0449

## چکیده



زهرا پدرام راد



جواد مختاری

## واژگان کلیدی

مهندسی بافت،  
نانوالیاف،  
الکتروریسی،  
داربست سه‌بعدی،  
کشت سلول

## مقدمه

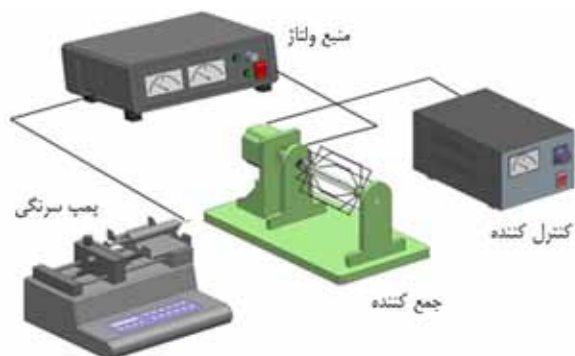
سلول‌های کشت شده در داربست سه‌بعدی نسبت به نوع دوبعدی معمولی می‌تواند پیوند بهتری با اندام ایجاد کند. زیرا داربست‌های سه‌بعدی، جهت دیگری برای واکنش‌های سلول-سلول، مهاجرت سلولی و شکل سلول‌ها ارائه می‌دهند که در تنظیم چرخه سلولی و عملکرد بافت مهم است. همچنین، ریزمحیط‌های سه‌بعدی با اتصالات داخلی به‌منظور تحریک و سازمان‌دهی مجدد سلول دارای اهمیت هستند. زیرا آن‌ها، نه‌تنها برای چسبیدن و رشد سلول‌ها قالب ایجاد می‌کنند، بلکه ایجاد اتصالات داخلی، انتقال مواد مغذی به داخل و خارج بافت مهندسی شده را آسان می‌کنند. از این رو، نیاز به داربستی سه‌بعدی و متخلخل در مهندسی بافت احساس می‌شود [۱۰-۵]. در مقاله مروری پیش رو، به‌طور خلاصه به پیش‌رفت‌های اخیر در تولید داربست‌های نانولیفی سه‌بعدی با روش‌های الکترورسی (روش‌های فیزیکی) اصلاح جمع‌کننده، صفحه سرد (cold-plate)، حمام انعقاد، همراه با فرایند لیزر، همراه با فرایند الگوبرداری سریع (rapid prototyping)، چاپ مستقیم (direct-write) یا DWES، دوافشانی و هم‌محور، همراه با فرایند حذف ذرات (porogen addition)، با ولتاژ مثبت و منفی و الکترورسی بدون سوزن، پرداخته شده است.

## تولید داربست‌های سه‌بعدی و متخلخل با روش الکترورسی

## اصلاح جمع‌کننده

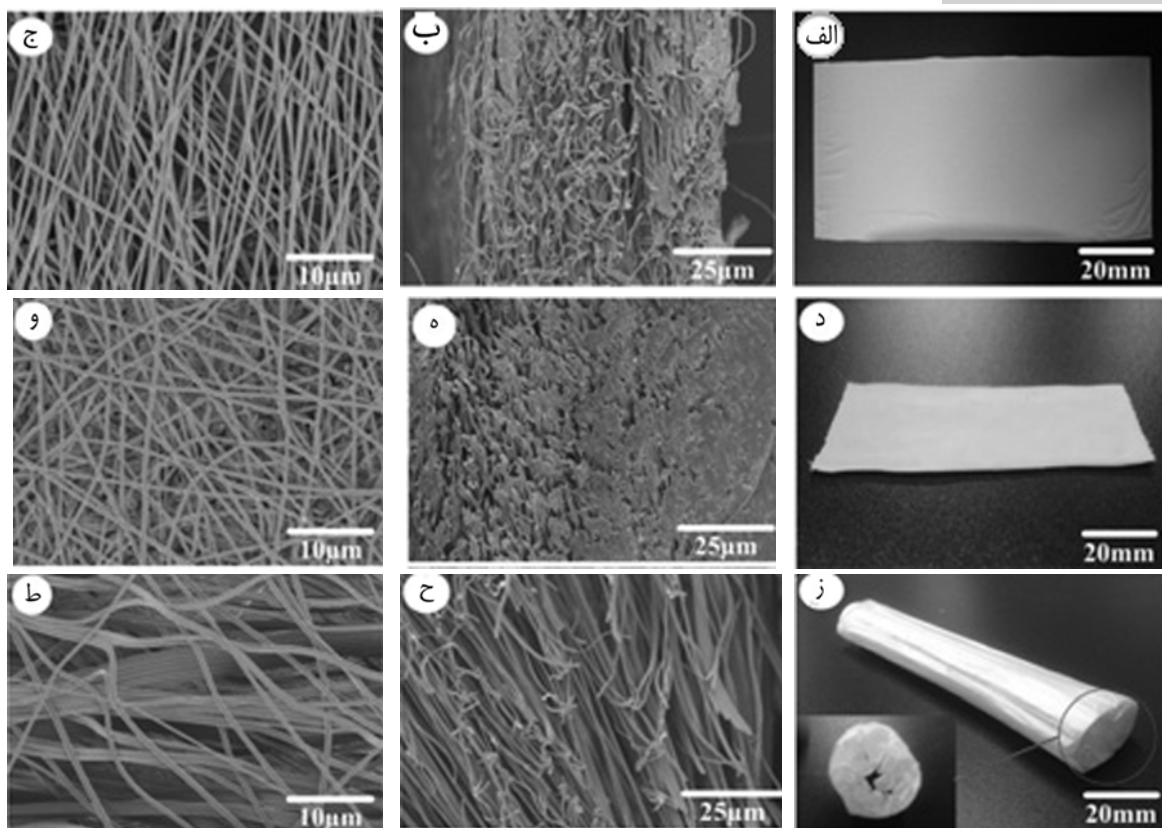
امروزه، تولید داربست سه‌بعدی به‌کمک طراحی جمع‌کننده، با توجه به کنترل آسان آن رایج است. جمع‌کننده می‌تواند مکانیکی و با شکل مدنظر، مانند جمع‌کننده‌های چرخشی یا ساکن، یا به‌شکل سایر سازه‌های لیفی، مانند میکروالیاف باشد [۱۱-۱۳].

Wang و همکاران برای تولید ساختارهای نانولیفی سه‌بعدی پلی‌لاکتیک-گلیکولیک‌اسید (PLGA) در سامانه الکترورسی معمولی از جمع‌کننده تنظیم‌شونده به‌جای نوع معمولی استفاده کردند (شکل ۱). چرخانه قفسی (cage rotor) بخش مهمی از



شکل ۱- نمایی از سامانه الکترورسی پیشنهادی [۱۴].

از معضلات بزرگی که علم پزشکی از دیرباز با آن درگیر بوده، ارائه درمان قطعی برای بازسازی بافت‌های ازکارافتاده و معیوب است. متداول‌ترین شیوه در درمان این نوع بافت‌ها روش پیوند است که خود با مشکلات متعدد روبه‌روست. از این رو، نیاز به مهندسی بافت و تولید داربست از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی بیش از پیش احساس می‌شود. پایه مهندسی بافت بر اساس سه رکن اصلی داربست، سلول و عوامل رشد است [۱]. نقش اصلی مهندسی بافت، تولید بافت مصنوعی برای جایگزینی عملکردهای زیست‌شناختی در بازسازی نسج‌ها و التیام زخم است. ایجاد چنین جایگزینی به داربست سه‌بعدی، متخلخل، زیست‌سازگار و ترجیحاً زیست‌تخریب‌پذیر نیاز دارد. این داربست باید ماتریس برون‌سلولی (ECM) را تقلید کرده، بستر مناسبی برای چسبندگی و رشد سلول فراهم کند [۲]. در این میان، انتخاب داربست‌های مناسب به‌عنوان محیطی برای رشد و تکثیر سلول از اصول اساسی در مهندسی بافت به‌شمار می‌آید. زیرا داربست‌ها وظیفه نگاه‌داری سلول‌ها، شکل‌دهی رشد آن‌ها و کنترل تطابق ساختار بافت مصنوعی با بافت طبیعی از نظر خواص فیزیکی و شیمیایی را بر عهده دارد. به همین دلیل، روش‌های زیادی برای تولید آن‌ها وجود دارد. اما در سال‌های اخیر، استفاده از نانوالیاف در تولید داربست‌ها جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است [۳-۵]. داربست‌های نانوالیافی نسبت به سطح به حجم و تخلخل زیادی دارند. این ویژگی‌ها باعث افزایش چسبندگی سلول به سطح آن‌ها می‌شود. همچنین، نتایج پژوهش انجام شده نشان می‌دهد، سلول‌ها به‌خوبی در اطراف الیاف با قطر کمتر از سلول (در حد نانومتر) می‌چسبند و سازمان‌دهی می‌شوند. امروزه، سه روش اصلی برای ساخت داربست‌های نانولیفی شامل خودآرایی، الکترورسی و جدایش فاز وجود دارد که هر کدام قابلیت‌ها، مزایا و معایب خود را دارند [۶]. الکترورسی روشی شناخته شده در جهان است که تولید الیاف نانو و میکرو را از محلول یا مذاب پلیمری در میدان الکتریکی قوی امکان‌پذیر می‌کند. روش الکترورسی به‌دلیل تغییر تخلخل، نسبت زیاد سطح به حجم غشای الکترورسی شده و ساده بودن فرایند آن برای کاربردهایی، مانند مهندسی بافت، بسیار جذاب است [۶،۷]. با وجود این، دو ایراد بزرگ در داربست‌های الکترورسی وجود دارد. اول، اندازه حفره میکرومتری به‌علت لایه‌گذاری تصادفی الیاف است که باعث مشکلات نفوذ سلول می‌شود. دوم، برخی کاربردهای مهندسی بافت به داربست‌های با ضخامت میلی‌متری یا سانتی‌متری نیاز دارند. افزون بر این،



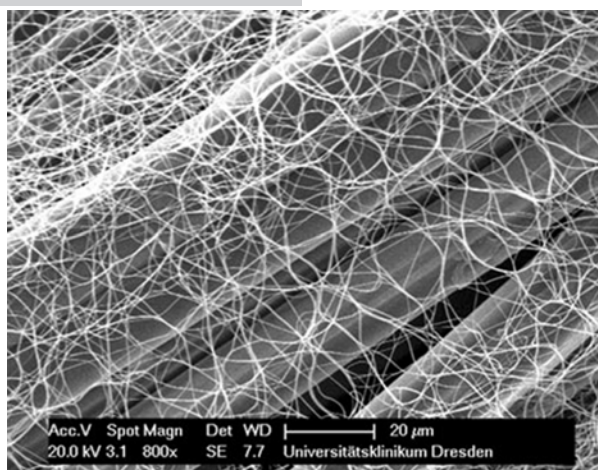
شکل ۲- تصاویر SEM سطح رویی و جانبی داربست نانولیفی PLGA: (الف-ج) داربست تولید شده با الکتروریسی معمولی در ۱ h، (د-و) داربست تولید شده با الکتروریسی معمولی در ۵ h و (ز-ط) داربست سه‌بعدی تولید شده با سامانه پیشنهادی [۱۴].

جمع‌کننده است. قطر آن به راحتی می‌تواند با چرخاندن مهره نصب شده روی دوک نخ‌ریسی تنظیم شود. این پژوهشگران برای نشان دادن عملکرد سامانه، سازه‌های ساخته شده با سامانه پیشنهادی را با داربست‌های تولید شده از الکتروریسی معمولی مقایسه کردند. تصاویر میکروسکوپی و نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان می‌دهد، داربست ساخته شده با سامانه پیشنهادی ضخامت و تخلخل بیشتری نسبت به داربست‌های معمولی دارد. افزون بر این، ساختار سه‌بعدی داربست نیز دارای تخلخل زیاد، ساختار هندسی پایدار و خواص مکانیکی مناسب است (شکل ۲ و جدول ۱) [۱۴]. Jin و همکاران با هدف توسعه داربست الیافی نرم با منافذ متصل

(interconnected pores) برای مهندسی بافت استخوان، داربستی بر پایه هیدروکسی‌آپاتیت تولید کردند. آن‌ها ابتدا پلیمر پلی‌لاکتیک اسید را در مخلوطی از حلال‌های دی‌کلرومتان (DCM) و دی‌متیل‌فرمامید (DMF) حل و الکتروریسی کردند. سپس، زیست‌معدنی‌سازی (biomineralization) با کمک مایع شبیه‌سازی شده بدن (SBF) و با هدف به دست آوردن هیدروکسی‌آپاتیت پوشش یافته در سطح الیاف انجام شد (شکل ۳-ب-۳). در داربست نهایی تولید شده، منافذ متصل زیادی ظاهر شد که اجازه نفوذ سلول به درون داربست سه‌بعدی ساخته شده را می‌داد. در فرایند الکتروریسی به جای استفاده از جمع‌کننده معمولی از جمع‌کننده

جدول ۱- ضخامت، چگالی و تخلخل داربست‌های نانوالیافی الکتروریسی شده [۱۴].

نوع	روش	زمان (h)	ضخامت (μm)	چگالی (g/cm <sup>3</sup> )	تخلخل (%)
الف	الکتروریسی معمولی	۱	۸۵	۰/۲۵	۷۸
ب	الکتروریسی معمولی	۵	۳۰۰	۰/۳۱	۷۳
ج	روش پیشنهادی	۵	۱۵۰۰۰	۰/۰۲	۹۸



شکل ۵- تصویر SEM از داربست کامپوزیتی کیتوسان و ژلاتین [۱۶].

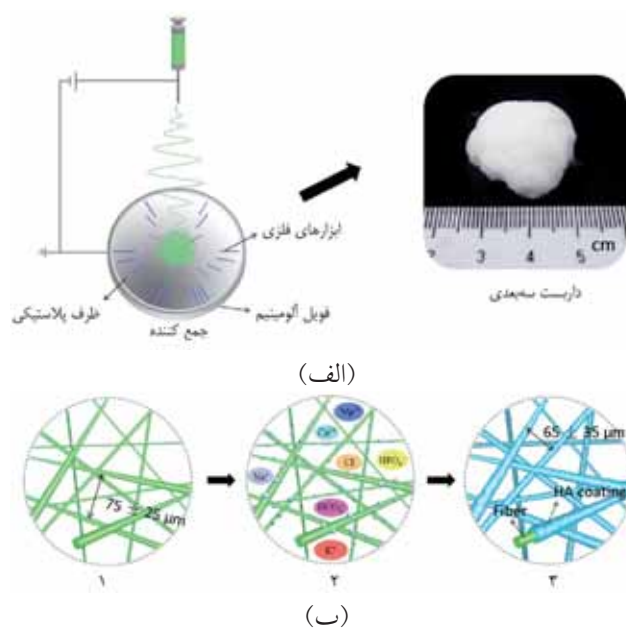
نفوذ و ترویج سلول‌های استخوانی را دارد [۱۵].

Hild و همکاران داربست‌های کامپوزیتی سه‌بعدی نانو و میکرولیفی را از ژلاتین و کیتوسان تهیه کردند. بدین منظور، آن‌ها الیاف کیتوسان بافته شده را، با کمک ماشین بافندگی جدید (ماشین بافندگی رپیر یا صاف) تهیه کردند. سپس، نانوالیاف ژلاتین را با روش الکتروریسی روی الیاف کیتوسان بافته شده جمع‌آوری کردند (شکل ۴). بدین ترتیب، آن‌ها توانستند از نانوالیاف داربستی با استحکام مکانیکی کافی و ساختار متخلخل تهیه کنند (شکل ۵). سپس، رفتار کشت سلول را در این داربست سه‌بعدی بررسی کردند. نتایج نشان داد، داربست تهیه شده خواص مکانیکی کافی و تخلخل مناسب برای کاربردهای مهندسی بافت دارد [۱۶].

### الکتروریسی صفحه سرد

در این روش جمع‌کننده به سردکننده (chiller) متصل می‌شود که قابلیت سرد کردن صفحه جمع‌کننده را تا  $90^{\circ}\text{C}$  - دارد (شکل ۶). از این رو، به دلیل رسوب بلورهای یخ و افزایش رطوبت، رسانش الکتریکی الیاف افزایش می‌یابد. در اثر بار الکتریکی، نانوالیاف سریع‌تر به جمع‌کننده منتقل می‌شوند. همچنین، به علت رطوبت زیاد و وجود بلورهای یخ میان الیاف، یون‌های جدا شده روی سطح الیاف جمع می‌شوند و الیاف یکدیگر را دفع می‌کنند. بدین ترتیب، داربست متخلخل و سه‌بعدی به دست می‌آید.

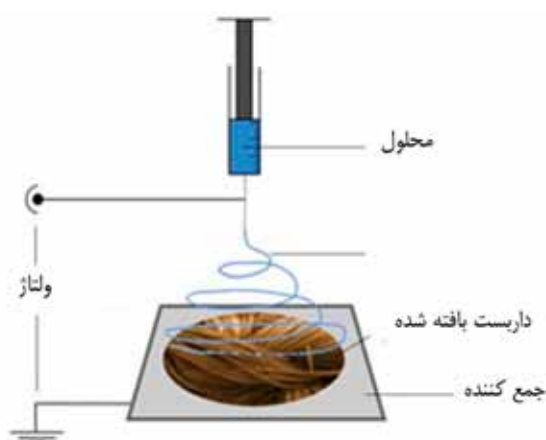
Faheem و همکاران با استفاده از فناوری الکتروریسی صفحه سرد (CPE)، داربست الیافی سه‌بعدی ابریشم را برای کاربرد در ساخت پوست مصنوعی تولید کردند. همچنین، آن‌ها نانوالیاف به دست آمده از این روش را با لایه نانوالیاف دوبعدی تولید شده با الکتروریسی معمولی (TE) و داربست نانوالیافی سه‌بعدی تولید شده با



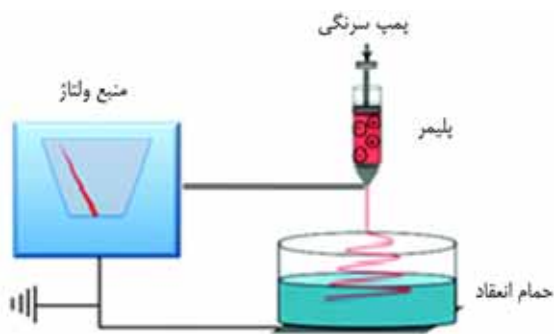
شکل ۳- (الف) نمایی از فرایند ساخت الیاف نرم PLLA با استفاده از الکتروریسی با جمع‌کننده ویژه، (ب-۱) الیاف PLLA، (ب-۲) الیاف PLLA غوطه‌ور شده در SBF و (ب-۳) الیاف PLLA غوطه‌ور شده در SBF به مدت ۲۱ روز و رشد HA روی سطح الیاف [۱۵].

ویژه استفاده شد (شکل ۳-الف). این کار با جاسازی منظم کاوردهای فولاد زنگ‌نزن در ظرف پلاستیکی پوشش یافته با فویل آلومینیم، انجام می‌شود. این ابزارها باعث می‌شوند، الیاف در محدوده کوچکی روی یکدیگر جمع‌آوری شوند و داربست سه‌بعدی به دست آید. در نهایت، روی داربست تولید شده آزمایش کشت سلول انجام می‌شود.

نتایج این پژوهش نشان داد، داربست ساخته شده قابلیت رشد،



شکل ۴- نمایی از الکتروریسی محلول ژلاتین روی داربست کیتوسان بافته شده [۱۶].



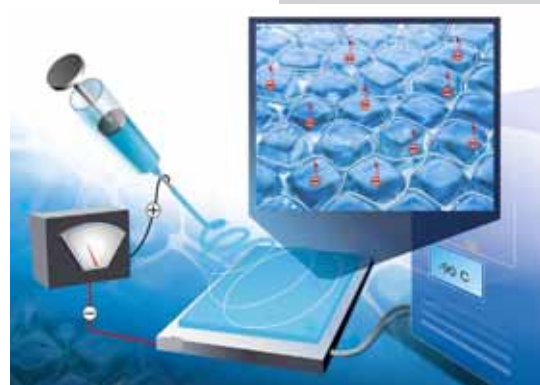
شکل ۸- نمایی از الکترورسی در حمام انعقاد [۲۰].

می‌شود (شکل ۸). درحقیقت، حمام اتانول به‌عنوان جمع‌کننده به‌کار می‌رود. سرعت تغذیه اتانول نیز به‌طور دستی تنظیم می‌شود. با این روش، ضخامت و ساختار سه‌بعدی داربست کنترل می‌شود. به‌دلیل کشش سطحی کم اتانول، پلیمر به‌آرامی در حمام اتانول ته‌نشین می‌شود و داربستی با ساختار سه‌بعدی به‌دست می‌آید. درحالی‌که، الیاف الکترورسی شده در آب خالص به‌دلیل کشش سطحی به‌نسبت زیاد آب به‌خوبی ته‌نشین نمی‌شوند [۱۸، ۱۹].

#### الکترورسی مرطوب همراه با فرایند لیزر

Kim و همکاران داربست نانوالیافی سه‌بعدی با تخلخل زیاد را به‌کمک روش الکترورسی همراه فرایند لیزر تولید کردند. آن‌ها برای تهیه داربست، پلی‌کاپرولاکتان (PCL) را به حمام اتانول الکترورسی داخل کردند. پلی‌کاپرولاکتان به‌آرامی در حمام اتانول ته‌نشین شد و داربستی با ساختار سه‌بعدی ایجاد کرد. سپس، داربست به‌وسیله خشک‌کن انجمادی خلأ خشک شد (شکل ۹). درنهایت، برای ایجاد منفذ بزرگ‌تر در سطح داربست، از فرایند لیزر استفاده شد. درحقیقت، نور لیزر پس از عبور از تعدادی آینه، به سطح داربست برخورد می‌کند. این کار باعث ایجاد منفذ در داربست می‌شود. پالس لیزری بسیار کوتاه به‌مقدار درخور توجهی طول انتشار گرمایی را کاهش می‌دهد، به طوری که فرآوری مواد می‌تواند مؤثرتر و با آسیب‌رسانی کمتر به محیط اطراف اتفاق بیفتد. برای تولید منفذ همگن در ساختار داربست، شرایط فرایند لیزر، مانند منفذ متمرکز شده، تعداد پالس‌ها و فاصله کنترل می‌شود. نتایج نشان داد، با ازدیاد زمان نوردهی لیزر، اندازه حفره نیز افزایش می‌یابد (شکل ۱۰-ج).

بدین ترتیب، در این مطالعه داربست‌های سه‌بعدی با منافذ طراحی شده یکسان به‌دست آمد (شکل ۱۰). پس از کشت سلول روی داربست نتایج نشان داد، داربست تولید شده قابلیت کاربرد در



شکل ۶- نمایی از روش الکترورسی صفحه سرد [۱۷].

استفاده از روش الکترورسی حذف نمک (SLE) مقایسه کردند. شایان توجه است، در این پژوهش برای تهیه محلول الکترورسی از دو پلیمر ابریشم و پلی‌اتیلن اکسید (PEO) استفاده شد. سپس، تمام نانوالیاف ساخته شده، بلافاصله به خشک‌کن انجمادی منتقل و در اتانول ۹۵٪ غوطه‌ور شدند. در مرحله بعد، PEO با کمک آب مقطر حذف شد. نتایج نشان داد، ضخامت داربست تولید شده با روش CPE نسبت به دو روش دیگر بیشتر است و برای تکثیر و رشد سلول مناسب است (شکل ۷).

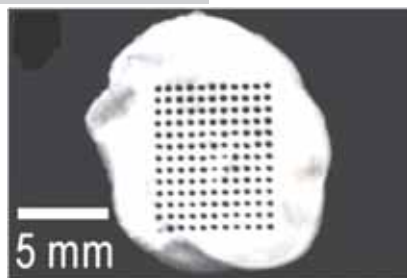
بر اساس نتایج به‌دست آمده از محاسبه خواص فیزیکی (تورم، برداشت آب و درصد تخلخل)، داربست تولید شده با روش الکترورسی صفحه سرد، نسبت به داربست‌های تولید شده با روش‌های TE و SLE خواص بسیار بهتری دارد. این مطالعه نشان داد، روش CPE نانوالیاف سه‌بعدی، بسیار متخلخل و ضخیم فراهم می‌کند. این محصول موجب بهبود عملکرد کلی و نفوذ بهتر سلول می‌شود و برای بافت پوست مناسب است [۱۷].

#### الکترورسی در حمام انعقاد (الکترورسی مرطوب)

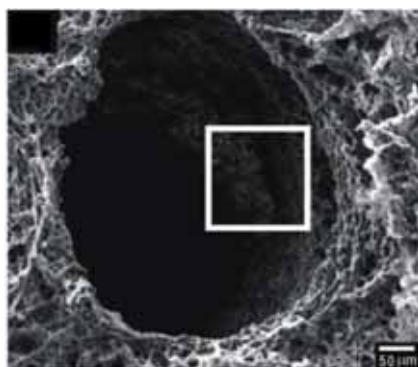
در این روش برای تهیه داربست، پلیمر درون حمام انعقاد الکترورسی



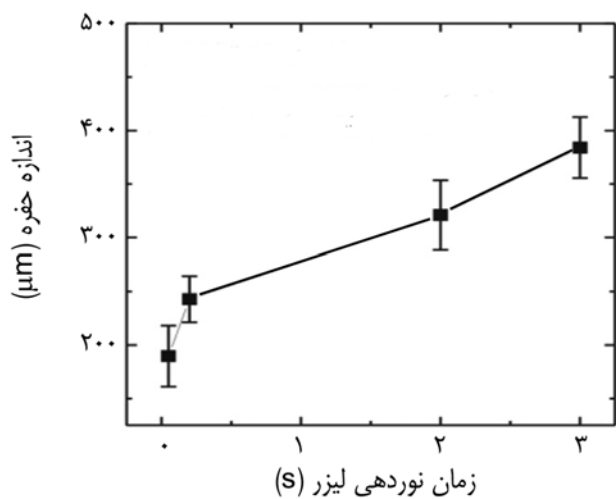
شکل ۷- مقایسه ضخامت داربست‌های تولید شده با سه روش SLE، TE و CPE [۱۷].



(الف)



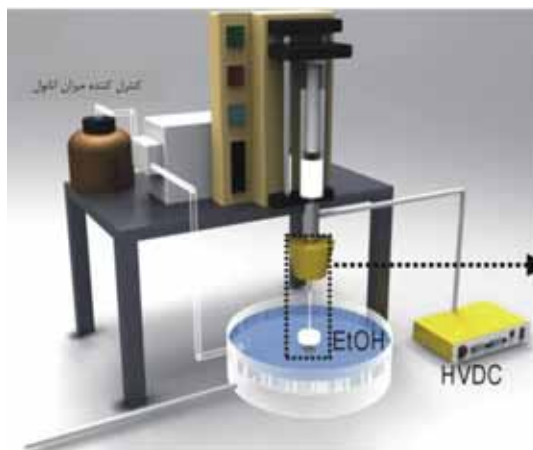
(ب)



(ج)

شکل ۱۰- (الف) تصویر میکروسکوپ نوری و (ب) تصویر SEM از داربست سه‌بعدی ساخته شده پس از فرایند لیزر و (ج) مقایسه اندازه منافذ برای تعداد پالس‌های مختلف لیزر [۲۱].

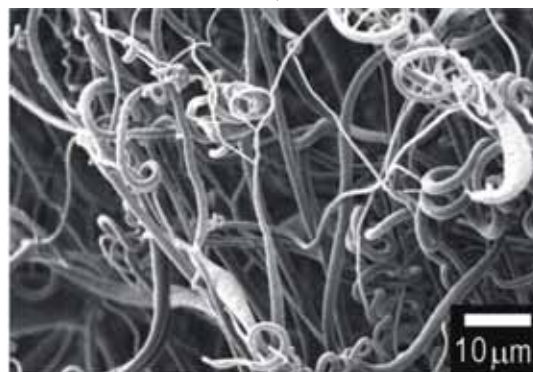
در این روش به کمک رایانه و یک دستگاه ذوب-ثبت یا رسم مسیر حرکت، پلیمر ذوب شده به شکل شبکه‌ای عمود برهم تولید می‌شود. با وجود این، در داربست‌های تولید شده به کمک این روش حفره‌هایی با اندازه‌های بسیار بزرگ‌تر از اندازه سلول ایجاد می‌شوند که برای چسبندگی و رشد سلول مناسب نیست. از سوی دیگر، داربست‌های ساخته شده با الکتروریسی استحکام کمی دارند. از این رو، پژوهشگران به منظور تولید داربست‌های سه‌بعدی با اندازه



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۹- (الف) نمایی از فرایند الکتروریسی با حمام اتانول، (ب) الیاف سه‌بعدی الکتروریسی شده در حمام اتانول و (ج) تصویر SEM داربست سه‌بعدی تولید شده از الیاف PCL [۲۱].

مهندسی بافت را دارد [۲۱].

### الکتروریسی مرطوب همراه با فرایند الگوبرداری سریع

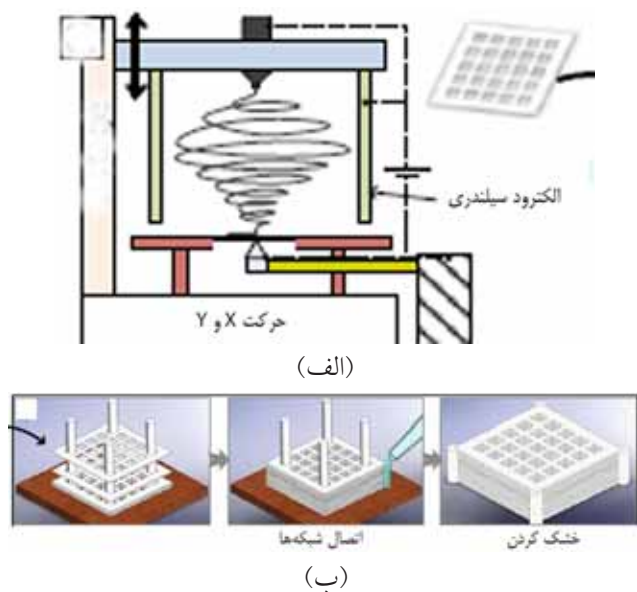
الگوبرداری سریع، روشی امیدوارکننده برای تهیه داربست‌های سه‌بعدی با شکل دلخواه و منافذ متصل است. مطالعات زیادی بر توسعه روش‌های مختلف الگوبرداری سریع متمرکز شده است.

منظور، ابتدا داربست در دمای  $76^{\circ}\text{C}$ - منجمد شد. سپس، آن را با میله فولادی تیز سوراخ کردند. با این کار، داربست پلی‌کاپرولاکتان-آلژینات بسیار متخلخل با شبکه پلی‌کاپرولاکتان جاسازی شده به‌دست آمد (شکل ۱۱). با توجه به نتایج می‌توان گفت، خواص مکانیکی داربست‌ها به راحتی به وسیله لایه‌های PCL تولید شده با الگوبرداری سریع، افزایش یافت [۷].

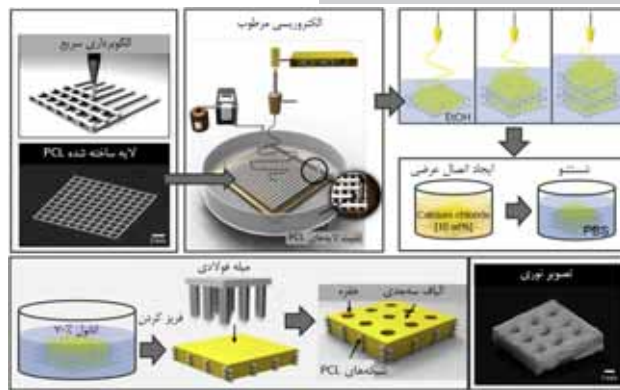
### الکترورسی چاپ مستقیم (DWES)

در روش چاپ مستقیم دو عملیات تمرکز جت الکترورسی در یک نقطه و پویا جمع‌کننده در طول مسیر از پیش معین، به الکترورسی معمولی افزوده می‌شود. بدین منظور، مطابق شکل الکتروود میله‌ای تیز (sharp-pin) در جمع‌کننده و الکتروود استوانه‌ای اطراف میدان الکتریکی قرار داده می‌شود. بدین ترتیب، میدان الکتریکی به شکل مستقیم به سمت الکتروود جمع‌کننده متمرکز می‌شود. در نتیجه نانوالیاف با توجه به مسیر جمع‌کننده جمع‌آوری می‌شوند. با این روش، داربست نانوالیافی سه‌بعدی با منافذ سه‌بعدی و متصل به‌دست می‌آید [۲۳، ۲۴].

Lee و همکاران داربست نانوالیافی سه‌بعدی با منافذ شبکه‌ای (lattice pores) را با استفاده از روش الکترورسی چاپ مستقیم تولید کردند. روش استفاده شده شامل دو مرحله الکترورسی چاپ مستقیم برای تولید شبکه‌های نانوالیافی و انباشتن لایه‌های شبکه‌ای روی یکدیگر، با هدف تولید داربست سه‌بعدی با منافذ منظم و



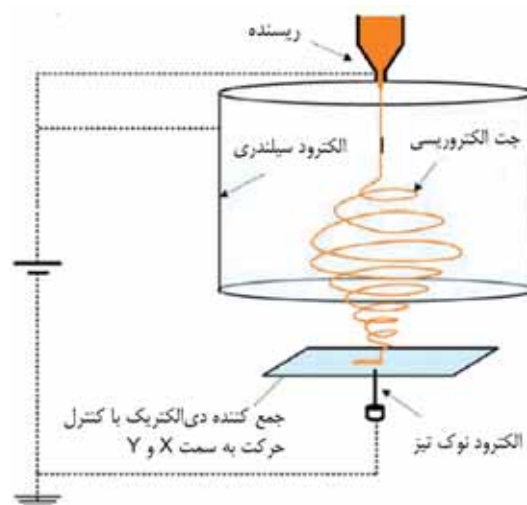
شکل ۱۳- مراحل تولید داربست سه‌بعدی: (الف) ساخت شبکه نانوالیافی با استفاده از روش DWES و (ب) انباشتن شبکه‌ها و تولید داربست سه‌بعدی [۲۳].



شکل ۱۱- نمای مراحل تهیه داربست پلی‌کاپرولاکتان-آلژینات [۷].

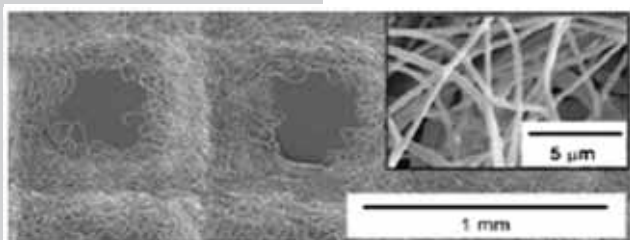
منافذ دلخواه و استحکام بیشتر، روش الگوبرداری سریع را با روش الکترورسی ادغام کردند. درحقیقت، به کمک روش الگوبرداری سریع قالبی با حفره‌های منظم طراحی می‌شود که از آن به جای جمع‌کننده معمولی در الکترورسی استفاده می‌شود [۲۲].

Seong Kim و Hyung Kim داربست سه‌بعدی از آلژینات و پلی‌کاپرولاکتان تهیه کردند. در این کار، داربست الیافی پلی‌کاپرولاکتان-آلژینات، با استفاده از روش ترکیبی الکترورسی مرطوب و فرایند الگوبرداری سریع تهیه شد. ابتدا با کمک دستگاه ذوب-ثابت یا رسم مسیر حرکت، پلی‌کاپرولاکتان ذوب شده به شکل شبکه عمود برهم تولید شد. سپس با روش الکترورسی، الیاف پلی‌کاپرولاکتان-آلژینات روی لایه متشکل از شبکه پلی‌کاپرولاکتان در حمام اتانول لایه‌گذاری شد. در این فرایند، اتانول ترکیب واسطه برای به‌دست آوردن ساختار لیفی سه‌بعدی از پلی‌کاپرولاکتان-آلژینات بود. در نهایت، کامپوزیت پلی‌کاپرولاکتان-آلژینات ساخته شده، برای به‌دست آوردن منافذ به نسبت بزرگ اصلاح شد. بدین

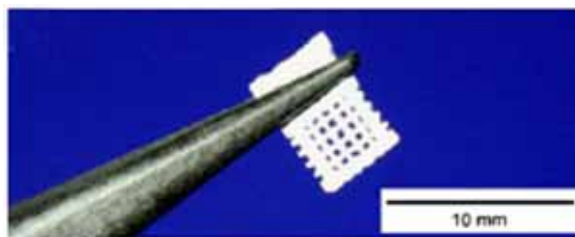


شکل ۱۲- نمایی از الکترورسی چاپ مستقیم [۲۴].

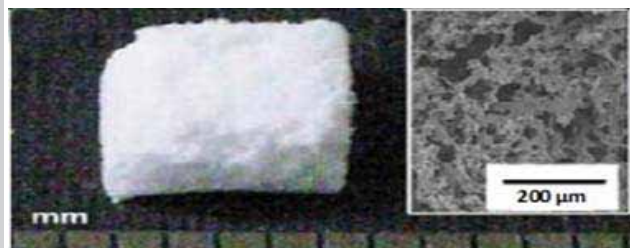




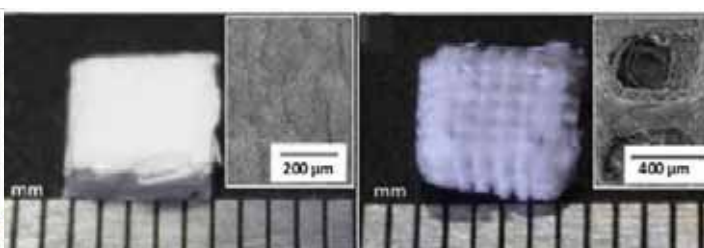
(ب)



(الف)



(ه)



(د)

(ج)

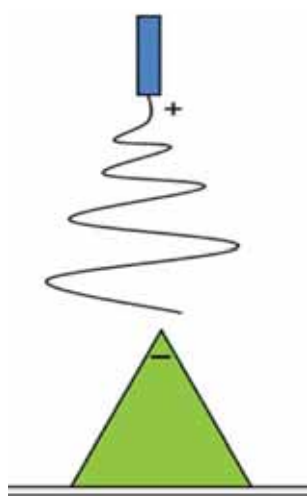
شکل ۱۴- ویژگی‌های شبکه نانوالیاف طراحی شده با روش DWES: (الف) عکس، (د) تصاویر SEM و سه‌بعدی از داربست‌های تهیه شده با (ج) روش DWES، (د) الکتروریسی معمولی و (ه) حذف نمک [۲۳].

حل شدند. پلی‌کاپرولاکتون در هسته داخلی و پلی‌استیرین در لایه خارجی (پوسته) الکتروریسی شدند [۸]. لایه خارجی پلی‌استیرینی نقش کلیدی در تهیه ساختار نرم سه‌بعدی ایفا می‌کند. محلول پلی‌استیرین و جت پلیمر خارج شده از نوک سوزن، در اثر ولتاژ مثبت اعمال شده به سر سوزن، دارای بار مثبت هستند. پس از فرایند کشش، ناپایداری شلاقی، متلاشی شدن جت و تبخیر حلال، بار مثبت الیاف به سرعت به جمع‌کننده دارای بار منفی منتقل می‌شود. از طرفی، به علت رسانابودن پلی‌استیرین، بار منفی از فویل آلومینیمی به الیاف منتقل و در نوک توده جمع می‌شود. الیاف به علت القای الکتروستاتیک و قطبی شدن در اثر میدان الکتروستاتیکی قوی دارای بار منفی می‌شوند. بارهای منفی

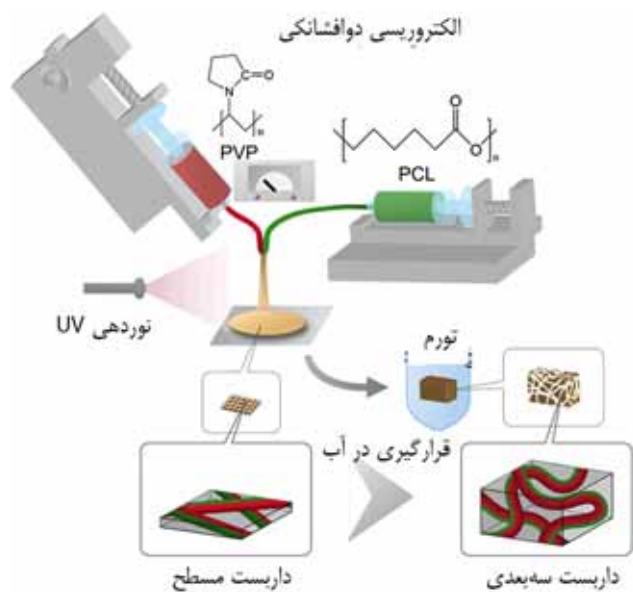
ضخامت کافی است. در این پژوهش از پلیمر کاپرولاکتون برای تهیه داربست استفاده شده است. لایه‌های شبکه‌ای نانوالیافی، پس از ساخت این شبکه‌ها روی یکدیگر انباشته می‌شوند. سپس، با ماده متصل‌کننده از محلول کلروفورم و پلی‌کاپرولاکتون به یکدیگر متصل می‌شوند (شکل ۱۳). در این مطالعه به منظور مقایسه، داربست پلی‌کاپرولاکتون را با سه روش چاپ مستقیم، الکتروریسی معمولی و روش حذف نمک تولید کردند. در نتیجه، با این روش داربست سه‌بعدی با منافذی منظم ساخته شد. در شکل ۱۴ داربست تهیه شده از این روش با داربست‌های تهیه شده با روش الکتروریسی معمولی و حذف نمک مقایسه شده است. برای نشان دادن برتری داربست پیشنهادی، رفتار سلول در داربست به مدت ۱۴ روز با روش الکتروریسی معمولی و حذف نمک مقایسه شد. نتایج نشان داد، داربست پیشنهادی محیط مناسب‌تری برای بازسازی بافت نرم سه‌بعدی از نظر مهاجرت و همچنین تکثیر و چسبیدن سلول فراهم می‌کند [۲۳].

#### الکتروریسی‌های دوافشانی و هم‌محور

روش‌های مختلفی برای تولید داربست‌های سه‌بعدی از الیاف دو جزئی وجود دارد [۲۵]. در این قسمت به طور مختصر دو پژوهش انجام شده در این زمینه توضیح داده می‌شوند. Lee و همکاران الیاف پوسته-مغزی پلی‌کاپرولاکتون (PCL) و پلی‌استیرین (PS) را به کمک الکتروریسی هم‌محور تهیه کردند. به منظور تهیه محلول الکتروریسی، این دو پلیمر در مخلوط حلال‌های تتراهیدروفوران (THF) و دی‌متیل‌فرمامید (DMF)



شکل ۱۵- نمایی از بارهای موجود در نوک توده الیاف [۲۶].

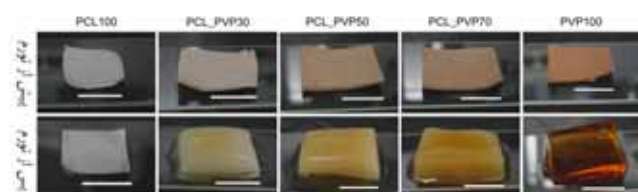


شکل ۱۷- نمایی از فرایند تولید داربست سه‌بعدی با الکترورسی دوافشانکی [۲۷].

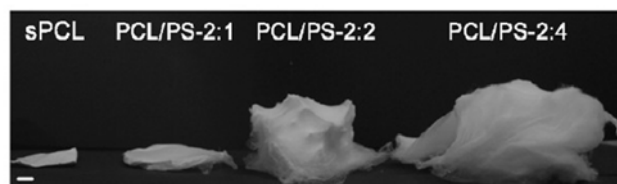
آبگریز و محلول در آب و در ادامه پیچ‌خوردگی فضایی پلیمر محلول در آب، داربست الیافی سه‌بعدی بسیار متخلخلی تولید شد (شکل ۱۸). نتایج نشان داد، رفتار کششی و مقادیر مدول داربست تولیدی، در محدوده لازم برای ترمیم بافت‌های نرم، مانند پوست و نخاع قرار دارد. همچنین، با استناد به نتایج آزمایش داربست ساخته شده در آزمایشگاه و داخل بدن، این داربست قابلیت کاربرد در مهندسی بافت نرم را دارد [۲۷].

#### الکترورسی همراه فرایند حذف ذرات

در این روش، الکترورسی با فرایند حذف ذرات ترکیب می‌شود. درحقیقت، ذرات نمک یا یخ به وب یا محلول الکترورسی افزوده می‌شوند. در پایان الکترورسی، ذرات حذف می‌شوند. بدین ترتیب، داربستی متخلخل و سه‌بعدی به دست می‌آید. با این روش می‌توان اندازه منافذ داربست را با کنترل اندازه ذرات، تنظیم کرد. در این سامانه، اگر چه تخلخل داربست می‌تواند باعث انتقال جرم مناسب به مواد مغذی و دفع مواد زائد شود، اتصال داخلی حفره‌ها نیز به



شکل ۱۸- تغییر ساختار داربست‌های ساخته شده با درصد‌های مختلف PCL و PVP پیش و پس از تورم در آب [۲۷].



شکل ۱۶- تصاویر رقمی از داربست سه‌بعدی تولید شده از PCL/PS [۸].

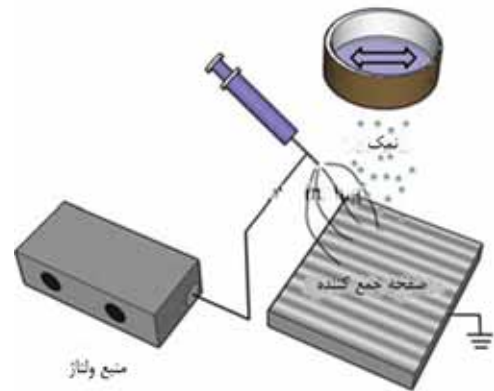
ایجاد شده در سطح الیاف مانند جمع‌کننده جدید عمل کرده، الیاف ورودی با بار مثبت را جذب می‌کند. بنابراین، الیاف جدید در نوک الیاف انباشته شده جمع می‌شوند (شکل ۱۵). در زمان کوتاهی، توده سه‌بعدی از الیاف به دست می‌آید. همان طور که در شکل ۱۶ مشاهده می‌شود، با افزودن درصد پلی‌استیرن داربست سه‌بعدی تشکیل می‌شود [۲۶].

اما از آنجا که پلی‌استیرن تخریب‌پذیری و خواص مکانیکی ضعیفی دارد، برای استفاده به عنوان داربست در مهندسی بافت مناسب نیست. بنابراین در کار حاضر پس از تهیه داربست، پلی‌استیرن با حلال DMF در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  شست‌وشو داده شد (انحلال‌پذیری پلی‌کاپرولاکتون و پلی‌استیرن در DMF در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  بسیار متفاوت است). فرایند شست‌وشو ۵ بار تکرار شد. سپس داربست سه بار در اتانول و آب مقطر خیسانده شده و در نهایت به خشک‌کن انجمادی منتقل شد تا داربست PCL الیافی سه‌بعدی به دست آید. همچنین در این کار، داربست‌های نانوالیافی با استفاده از مدل‌های درون‌آزمایشگاهی و درون‌تنی بررسی شدند تا قابلیت این الیاف برای استفاده در کاربردهای مهندسی بافت نشان داده شود.

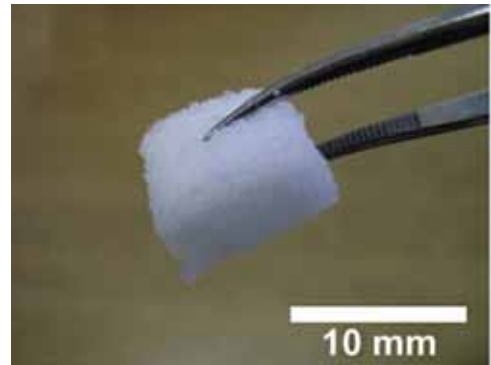
نتایج نشان داد، داربست تهیه شده بسیار نرم و انعطاف‌پذیر است. سلول کشت شده در داربست نیز به شکل یکنواخت تکثیر می‌شود. همچنین، براساس نتایج منحنی‌های تنش و کرنش، مدول یانگ و استحکام داربست تولید شده با این روش از داربست‌های تولید شده از پلی‌کاپرولاکتون بدون پلی‌استیرن کمتر است. باوجوداین، استحکام داربست تولید شده از پلی‌کاپرولاکتون-پلی‌استیرن به نسبت ۲:۲ در محدوده لازم برای ترمیم بافت نرم است. بنابراین، داربست‌های تولید شده محیط مناسبی برای رشد سلول هستند [۸].

در پژوهشی دیگر Jin و همکاران داربست سه‌بعدی با روش الکترورسی دوافشانکی تولید کردند. آن‌ها از دو پلیمر پلی‌کاپرولاکتون و پلی‌وینیل‌پیرولیدون (PVP) استفاده کردند. پس از الکترورسی، داربست تولید شده برای ۲۴ h در آب غوطه‌ور شد. با این کار، الیاف PVP متورم و داربست سه‌بعدی تولید می‌شود (شکل ۱۷). از این رو، با روش الکترورسی دوافشانکی به شکل موازی، از مواد

کاهش داده شد. سپس، ترکیب هیالورونیک اسید-کلاژن با موفقیت و با استفاده از مخلوط سدیم هیدروکسید (سود)-N,N-دی متیل فرمامید (DMF) حل شد. در ادامه، ساختار نرم و کرکی وب نانوالیاف حجیم، ناشی از تغییرات متعدد جت الکتروریسی و رشد عمودی آن توسعه یافت. این ساختار شکننده و اندازه منافذ آن ناکافی است. بنابراین، ذرات نمک سدیم کلرید به عنوان ماده ایجاد کننده تخلخل به طور هم‌زمان، با استفاده از روش الک‌های ارتعاشی خودکار، در طول الکتروریسی به طور کنترل شده لایه‌نشانی شدند. در نهایت، با پیوند عرضی و حذف نمک داربستی بر پایه هیالورونیک اسید متورم به دست آمد که هندسه نانوالیاف و درشت‌منفذ خود را حفظ می‌کند (شکل ۱۹). پس از آن، کشت و تکثیر سلول در داربست آزمایش شد. نتایج نشان داد، داربست ساخته شده دارای تخلخل مناسب برای رشد و نفوذ سلول است و با افزایش مقدار کلاژن استحکام کششی نیز افزایش می‌یابد. اضافه کردن مقدار کلاژن به بیش از ۲۰٪ تا حد زیادی باعث بهبود پایداری مکانیکی نانوالیاف کامپوزیتی می‌شود. بنابراین، داربست‌های تهیه شده برای کاربردهای مهندسی بافت مناسب هستند [۲۹].



(الف)



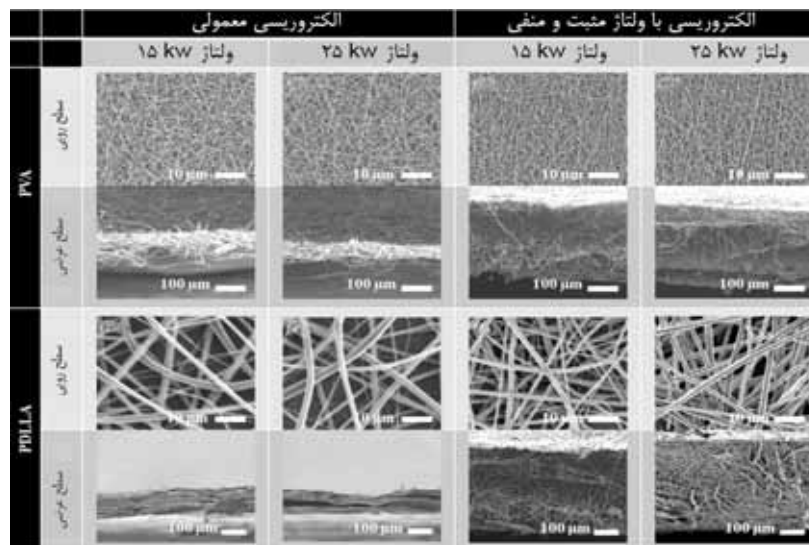
(ب)

#### الکتروریسی با ولتاژ مثبت و منفی

از دیدگاه نظری، در الکتروریسی پس از نشست نانوالیاف روی یکدیگر و با گذشت زمان، انتظار می‌رود تا نانوالیاف الکتروریسی شده سه‌بعدی و با ضخامت کافی به دست آید. اما درحقیقت، نانوالیاف الکتروریسی شده با بیشتر پلیمرها بار الکتروستاتیکی دارند. بارهای باقی مانده در نانوالیاف تازه رسیده شده نیز می‌تواند نانوالیاف واردشونده را دفع کند و از تشکیل داربست‌های نانولیفی

شکل ۱۹- (الف) نمایی از مراحل الکتروریسی و لایه‌نشانی نمک و (ب) تصویر کامپوزیت ساخته شده نمک- نانوالیاف [۲۹].

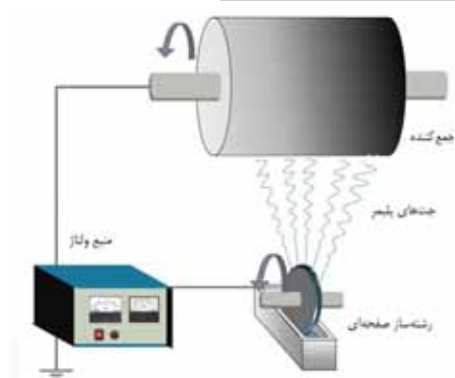
نفوذ سلول به داخل داربست کمک می‌کند [۱۰، ۲۸-۳۱]. Kim و همکاران با کمک روش الکتروریسی و حذف نمک، داربست نانولیفی از هیالورونیک اسید (HA) و کلاژن تولید کردند. برای این کار، فاصله میان افشانک و جمع‌کننده در الکتروریسی



شکل ۲۰- تصاویر SEM داربست‌های ساخته شده در ولتاژهای مختلف [۳۴].



(ب)



(الف)



(د)



(ج)

شکل ۲۱- (الف) نمایی از الکتروریسی صفحه‌ای (بدون سوزن)، (ب) الیاف جمع شده در استوانه، (ج) لایه الیاف جمع شده از استوانه و (د) لایه نانوالیاف تولید شده با الکتروریسی سوزنی [۳۶].

از سطح باز مایع است. تاکنون انواع مختلف الکتروریسی بدون سوزن اختراع شده است [۳۵].  
Li و همکاران به کمک روش الکتروریسی بدون سوزن، داربست سه‌بعدی پلی‌کاپرولاکتون را تولید کردند و اثر آن را بر جذب پروتئین، چسبندگی، تکثیر و نفوذ سلول مطالعه کردند. داربست تهیه شده با این روش، در مقایسه با داربست تولید شده با روش الکتروریسی سوزنی ضخامت بیشتری دارد (شکل ۲۱). همچنین، نتایج نشان می‌دهد، داربست سه‌بعدی تهیه شده پتانسیل خوبی برای مهندسی بافت نرم دارد [۳۶].

### نتیجه‌گیری

مهندسی بافت علمی است که به منظور ترمیم و بهبود بافت صدمه دیده استفاده می‌شود. اجزای اصلی در مهندسی بافت شامل داربست، سلول‌ها و عوامل رشد است. ماتریس‌های استفاده شده به‌عنوان

ضخیم جلوگیری کند [۳۲، ۳۳]. Wang و همکاران با دو پلیمر پلی‌وینیل الکل (PVA) و پلی (L-D-لاکتید) (PDLLA) داربست سه‌بعدی تهیه کردند. در این پژوهش، ابتدا به سر سوزن ولتاژ مثبت اعمال شد و لایه‌ای از نانوالیاف روی جمع‌کننده انباشته شد. سپس، به سر سوزن ولتاژ منفی اعمال شد. از آنجا که محلول پلیمری دارای بار منفی می‌شود، لایه جدید و لایه قبلی یکدیگر را جذب می‌کنند. بدین ترتیب، داربستی ضخیم تهیه می‌شود [۳۴].  
نتایج نشان می‌دهد، داربست‌های تهیه شده با این روش در بازه زمانی یکسان، ضخامت بیشتری نسبت به داربست‌های تهیه شده با الکتروریسی معمولی دارند (شکل ۲۰).

### الکتروریسی بدون سوزن

در این روش، به جای تولید جت پلیمر از نوک یک سوزن، ده‌ها تا صدها جت روی سطحی آزاد از محلول پلیمری تشکیل می‌شود. این عمل می‌تواند به تولید داربست‌های سه‌بعدی منجر شود. الکتروریسی بدون سوزن، در حقیقت تشکیل نانوالیاف به‌طور مستقیم

این مقاله، به پیشرفت‌های اخیر در تولید داربست‌های نانولیفی سه‌بعدی پرداخته شد. بدین منظور، روش‌های الکترورسی اصلاح جمع‌کننده، صفحه سرد، حمام انعقاد، چاپ مستقیم، دوافشانکی و هم‌محور، همراه با فرایند حذف ذرات، با ولتاژ مثبت و منفی و بدون سوزن شرح داده شد. از نتایج پژوهش‌های مرور شده در مقاله حاضر، می‌توان برای رسیدن به روشی بهینه برای تولید داربست‌های سه‌بعدی و متخلخل، به‌منظور کاربرد در مهندسی بافت استفاده کرد.

## مراجع

- Ravichandran R.K., Sundaramurthi D., Gandhi S., Sethuraman S., and Krishnan U.M., Bioinspired Hybrid Mesoporous Silica-Gelatin Sandwich Construct for Bone Tissue Engineering, *Microporous. Mesoporous. Mater.*, **187**, 53-62, 2014.
- Ramier J., Boudierlique T., Stoilova O., Manolova N., Rashkov L., Langlois V., Renard E., Albanese P., and Grande D., Biocomposite Scaffolds Based on Electrospun Poly(3-Hydroxybutyrate) Nanofibers and Electrospayed Hydroxyapatite Nanoparticles for Bone Tissue Engineering Applications, *Mater. Sci. Eng. C.*, **38**, 161-169, 2014.
- Sundaramurthi D., Krishnan U.M., and Sethuraman S., Electrospun Nanofibers as Scaffolds for Skin Tissue Engineering, *Polym. Rev.*, **54**, 348-376, 2014.
- Pham Q.P., Sharma U., and Mikos A.G., Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review, *Tissue Eng.*, **12**, 1197-1211, 2006.
- Cai S., Xu H., Jiang Q., and Yang Y., Novel 3D Electrospun Scaffolds with Fibers Oriented Randomly and Evenly in Three Dimensions to Closely Mimic the Unique Architectures of Extracellular Matrices in Soft Tissues: Fabrication and Mechanism Study, *Langmuir*, **29**, 2311-2318, 2013.
- Holzwarth J.M. and Ma P.X., 3D Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering, *J. Mater. Chem.*, **21**, 10243-10251, 2011.
- Kim M.S. and Kim G., Three-Dimensional Electrospun Polycaprolactone (PCL)/Alginate Hybrid Composite Scaffolds, *Carbohydr. Polym.*, **114**, 213-221, 2014.
- Lee S., Cho S., Kim M., Jin G., Jeong U., and Jang J.H., Highly Moldable Electrospun Clay-Like Fluffy Nanofibers for Three-Dimensional Scaffolds, *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, **6**, 1082-1091, 2014.
- Jeong S.I., Burns N.A., Bonino C.A., Kwon I.K., Khan S.A., and Alsberg E., Improved Cell Infiltration of Highly Porous 3D Nanofibrous Scaffolds Formed by Combined Fiber-Fiber Charge Repulsions and Ultra-Sonication, *J. Mater. Chem. B.*, **2**, 8116-8122, 2014.
- Ng R., Zang R., Yang K.K., Liu N., and Yang S.T., Three-Dimensional Fibrous Scaffolds with Microstructures and Nanotextures for Tissue Engineering, *RSC. Adv.*, **2**, 10110-10124, 2012.
- Vaquette C. and Cooper-White J.J., Increasing Electrospun Scaffold Pore Size with Tailored Collectors for Improved Cell Penetration, *Acta Biomater.*, **7**, 2544-2557, 2011.
- Blakeney B.A., Tambralli A., Anderson J.M., Andukuri A., Lim D.J., Dean D.R., and Jun H.W., Cell Infiltration and Growth in a Low Density, Uncompressed Three-Dimensional Electrospun Nanofibrous Scaffold, *Biomaterials*, **32**, 1583-1590, 2011.
- Rogers C.M., Morris G.E., Gould T.W., Bail R., Toumpaniari S., Harrington H., Dixon J.E., Shakesheff K.M., Segal J., and Rose F.R., A Novel Technique for the Production of Electrospun Scaffolds with Tailored Three-Dimensional Micro-Patterns Employing Additive Manufacturing, *Biofabrication*, **6**, 035003, 2014.
- Wang F., Zhang W., Shao Z., Sun Y., and Ru C., Electrospinning System with Tunable Collector for Fabricating Three-Dimensional Nanofibrous Structures, *Micro. Nano. Lett.*, **9**, 24-27, 2014.
- Jin L., Feng Z.Q., Wang T., Ren Z., Ma S., Wu J., and Sun

- D., A Novel Fluffy Hydroxyapatite Fiber Scaffold with Deep Interconnected Pores Designed for Three-Dimensional Cell Culture, *J. Mater. Chem. B.*, **2**, 129–136, 2014.
16. Hild M., Toskas G., Aibibu D., Wittenburg G., Meissner H., Cherifa C., and Hunda R.D., Chitosan/Gelatin Micro/Nanofiber 3D Composite Scaffolds for Regenerative Medicine, *Compos. Interface.*, **21**, 301–308, 2013.
  17. Sheikh F.A., Ju H.W., Lee J.M., Moon B.M., Park H.J., Lee O.J., Kim J.H., Kim D.K., and Park C.H., 3D Electrospun Silk Fibroin Nanofibers for Fabrication of Artificial Skin, *Nanomed-Nanotechnol.*, **11**, 681-691, 2015.
  18. Hong S. and Kim G., Fabrication of Size-Controlled Three-Dimensional Structures Consisting of Electrohydrodynamically Produced Polycaprolactone Micro/Nanofibers, *Appl. Phys. A.*, **103**, 1009–1014, 2011.
  19. Yokoyama Y., Hattori S., Yoshikawa C., Yasuda Y., Koyama H., Takato T., and Kobayashi H., Novel Wet Electrospinning System for Fabrication of Spongiform Nanofiber 3-Dimensional Fabric, *Mater. Lett.*, **63**, 754–756, 2009.
  20. Meli L., Miao J., Dordick J.S., and Linhardt R.J., Electrospinning from Room Temperature Ionic Liquids for Biopolymer Fiber Formation, *Green Chem.*, **12**, 1883–1892, 2010.
  21. Kim M.S., Son J.G., Lee H.J., Hwang H., Choi C.H., and Kim G.H., Highly Porous 3D Nanofibrous Scaffolds Processed with an Electrospinning/Laser Process, *Curr. Appl. Phys.*, **14**, 1-7, 2014.
  22. Moroni L., Schotel R., Hamann D., de Wijn J.R., and van Blitterswijk C.A., 3D Fiber-Deposited Electrospun Integrated Scaffolds Enhance Cartilage Tissue Formation, *Adv. Funct. Mater.*, **18**, 53–60, 2008.
  23. Lee J., Jang J., Oh H., Jeong Y.H., and Cho D.W., Fabrication of a Three Dimensional Nanofibrous Scaffold with Lattice Pores Using Direct-Write Electrospinning, *Mater. Lett.*, **93**, 397-400, 2013.
  24. Lee J., Lee S.Y., Jang J., Jeong Y.H., and Cho D.W., Fabrication of Patterned Nanofibrous Mats Using Direct-Write Electrospinning, *Langmuir*, **28**, 7267–7275, 2012.
  25. Milleret V., Simona B., Neuenschwander P., and Hall H., Tuning Electrospinning Parameters for Production of 3D-Fiber-Fleeces with Increased Porosity for Soft Tissue Engineering Applications, *Eur. Cell. Mater.*, **21**, 286- 303, 2011.
  26. Sun B., Long Y.Z., Yu F., Li M.M., Zhang H.D., Li W.J., and Xu T.X., Self-Assembly of a Three-Dimensional Fibrous Polymer Sponge by Electrospinning, *Nanoscale*, **4**, 2134-2137, 2012.
  27. Jin G., Lee S., Kim S.H., Kim M., and Jang J.H., Bicomponent Electrospinning to Fabricate Three-Dimensional Hydrogel-Hybrid Nanofibrous Scaffolds with Spatial Fiber Tortuosity, *Biomed. Microdevices*, **16**, 793-804, 2014.
  28. Nam J., Huang Y., Agarwal S., and Lannutti J., Improved Cellular Infiltration in Electrospun Fibervia Engineered Porosity, *Tissue Eng.*, **13**, 2249-2257, 2007.
  29. Kim T.G., Chung H.J., and Park T.G., Macroporous and Nanofibrous Hyaluronic Acid/ Collagen Hybrid Scaffold Fabricated by Concurrent Electrospinning and Deposition/Leaching of Salt Particles, *Acta Biomater.*, **4**, 1611–1619, 2008.
  30. Wang Y., Wang B., Wang G., Yin T., and Yu Q., A Novel Method for Preparing Electrospun Fibers with Nano-/Micro-Scale Porous Structures, *Polym. Bull.*, **63**, 259–265, 2009.
  31. Simonet M. and Schneider O.D., Ultraporous 3D Polymer Meshes by Low-Temperature Electrospinning: Use of Ice Crystals as a Removable Void Template, *Polym. Eng. Sci.*, **47**, 2020–2026, 2007.
  32. Tong H.W. and Wang M., Electrospinning of Poly(Hydroxybutyrate-Cohydroxyvalerate) Fibrous Tissue Engineering Scaffolds in Two Different Electric Fields, *Polym. Eng. Sci.*, **51**, 1325–1338, 2011.
  33. Tong H.W. and Wang M., Electrospinning of Fibrous Polymer Scaffolds Using Positive Voltage or Negative Voltage: A Comparative Study, *Biomed. Mater.*, **5**, 054110-054125, 2010.
  34. Tong H.W. and Wang M., A Novel Technique for the Fabrication of 3D Nanofibrous Scaffolds Using Simultaneous Positive Voltage Electrospinning and Negative Voltage Electrospinning, *Mater. Lett.*, **94**, 116–120, 2013.
  35. Niu H. and Lin T., Fiber Generators in Needleless Electrospinning, *J. Nanomater.*, **2012**, 1-13, 2012.
  36. Li D., Wu T., He N., Wang J., Chen W., He L., Huang C., Ei-Hamshary H.A., Al-Deyab S.S., Ke Q., and Mo X., Three-Dimensional Polycaprolactone Scaffold via Needleless Electrospinning Promotes Cell Proliferation and Infiltration, *Colloids Surf., B.*, **121**, 432–443, 2014.