

# Polycaprolactone-based Electrospun Composites in Bone Tissue Engineering

Peyman Sheikholeslami Kandelousi

Department of Materials and Industrials Engineering, Babol University of Technology,  
P.O. Box 484, Babol, Iran

Received: 27 January 2018, Accepted: 9 July 2018

## Abstract

Natural bone tissue defects are caused by fractures and aging. The subject of tissue engineering has been raised and developed due to long-term self-healing processes or the lack of regeneration in severe injuries. The most important factors in successful tissue engineering are the selection of suitable cells and scaffolds. Various cells such as osteoblast, embryonic and mesenchymal stem cells are used, but the unique properties of mesenchymal cells have led to extensive application in the tissue engineering. Electrospinning is the one among several techniques to obtain scaffolds. In electrospinning method, because of the similarity of nanofibers with the extracellular matrix of the native tissue, the choice of different materials, the high surface area/volume ratio and the reconstruction of the tissue more than other methods have been considered. Polycaprolactone is a synthetic biopolymer that is widely employed in medical applications. The most important advantages of this polymer are high mechanical strength, simple processability, low toxicity, low immunogenicity. Mainly, the polymers are combined with ceramics to achieve the desired mechanical properties. Bone tissue engineering scaffolds should be biocompatible, biodegradable, high strength, porous, micro-scale pore size, and have smooth, uniform and free-bead morphology. Surface roughness and hydrophilicity of a membrane facilitates cellular behavior. The purpose of this research was the characterization and evaluation of polycaprolactone-based electrospinning scaffolds for bone tissue repair.

## Key Words

electrospinning,  
scaffold,  
polycaprolactone,  
composite,  
cell

(\*) To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: Peyman\_Sheikholeslami@yahoo.com

# کامپوزیت‌های الکترورسی شده بر پایه پلی‌کاپرولاکتون در مهندسی بافت استخوان

بسیار ش  
فصلنامه علمی - ترویجی  
سال هشتم، شماره ۳  
صفحه ۳۵-۲۶، ۱۳۹۷  
ISSN: 2252-0449

پیمان شیخ‌الاسلامی کندلوسی

بابل، دانشگاه صنعتی بابل، دانشکده مهندسی مواد و صنایع، صندوق پستی ۴۸۴

دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۷، پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۱۸

بافت استخوان طبیعی در اثر شکستگی‌ها و پیری دچار نقص می‌شود. با توجه به روند خودترمیمی طولانی‌مدت یا بازسازی‌نشدن در آسیب‌های شدید، موضوع مهندسی بافت مطرح شده است. مهم‌ترین عوامل موفقیت در مهندسی بافت، به‌کارگیری سلول و داربست مناسب است. بدین منظور، سلول‌های متنوعی همچون استخوان‌سازها و سلول‌های بنیادی جنینی و مزانشیمی استفاده می‌شوند. ولی ویژگی‌های منحصر به فرد سلول‌های مزانشیمی موجب شد تا کاربرد گسترده‌ای در حوزه مهندسی بافت پیدا کنند. فنون مختلفی مانند الکترورسی نیز برای ساخت داربست وجود دارد. روش الکترورسی به دلیل شباهت نانوالیاف با ماتریس خارج سلولی بافت طبیعی، قابلیت انتخاب مواد مختلف، نسبت سطح به حجم زیاد الیاف و بازسازی هرچه بیشتر بافت نسبت به سایر روش‌ها مورد توجه قرار گرفته است. پلی‌کاپرولاکتون زیست‌پلیمری سنتزی است که به‌طور گسترده در کاربردهای پزشکی استفاده می‌شود. مهم‌ترین مزایای استفاده از این نوع پلیمر، استحکام مکانیکی زیاد، فراورش‌پذیری ساده، سمیت کم و تحریک ضعیف سامانه ایمنی است. به‌طور عمده پلیمرها را به‌منظور دست‌یابی به خواص مکانیکی مطلوب با سرامیک‌ها کامپوزیت می‌کنند. داربست‌های مهندسی بافت استخوان باید زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر، مستحکم، متخلخل، دارای اندازه تخلخل میکرومتری و از نظر شکل‌شناسی، صاف، یکنواخت و بدون گره باشند. همچنین، زبری سطحی و آب‌دوست بودن غشا سبب آسان‌شدن رفتارهای سلولی می‌شود. هدف از این پژوهش، ارزیابی و مشخصه‌یابی داربست‌های الکترورسی شده بر پایه پلی‌کاپرولاکتون در بازسازی و ترمیم بافت استخوان بوده است.

## چکیده



پیمان شیخ‌الاسلامی  
کندلوسی

## واژگان کلیدی

الکترورسی،  
داربست،  
پلی‌کاپرولاکتون،  
کامپوزیت،  
سلول

## مقدمه

بافت طبیعی استخوان از مواد معدنی، ماتریس خارج سلولی (ECM) و آب تشکیل شده است. بیشترین حجم آن را (حدود ۶۰٪) هیدروکسی آپاتیت دربرمی‌گیرد که موجب سختی و استحکام استخوان می‌شود. همچنین، کلاژن موجود در ECM به انعطاف‌پذیری ساختار استخوان کمک می‌کند [۱]. مهم‌ترین آسیب‌های استخوان ناشی از شکستگی‌های مختلف است. شکستگی بافت استخوان در اثر عواملی چون پیری و ضربه رخ می‌دهد. استخوان خاصیت گرانروکشناسی دارد به گونه‌ای که هر چه مقدار بارگذاری بیشتر باشد، آسیب بیشتری به استخوان و بافت‌های اطراف آن وارد می‌شود. بافت آسیب‌دیده تا حدود زیادی قابلیت خودترمیمی دارد، ولی در شرایطی که نقص شدید باشد، عمدتاً از روش‌های جراحی برای تثبیت، اصلاح استخوان و به‌حدائق رساندن عوارض جانبی استفاده می‌شود [۲]. براساس آمار و ارقام گزارش شده در آمریکا، سالانه برای بیش از ۵۰۰۰۰۰ نفر پیوند استخوان انجام می‌گیرد [۳]. با توجه به هزینه‌های زیاد و زمان طولانی درمان، موضوع مهندسی بافت روی کار آمده است. پیشینه بهره‌گیری از مهندسی بافت به اوایل سال ۱۹۸۰ میلادی برمی‌گردد. هدف اولیه مهندسی بافت، بازیابی عملکرد اندام‌ها و ترمیم بافت آسیب‌دیده با پیوند از خود بیمار به خودش (autograft)، از شخص دیگر به بیمار (allograft) و از حیوان به بیمار (xenograft) بود [۴]. در این میان، ظرفیت زیادی برای درمان بافت در پیوند از بیمار به خود در نظر گرفته شده، اما مقدار آن اندک است [۵]. منابع موجود و قابل استفاده برای پیوند خود به خودی معمولاً کشکک، ران یا فیبولا هستند [۶]. از سوی دیگر، پیوند از شخص دیگر به بیمار و حیوان به انسان با توجه به امکان انتقال بیماری و عدم پذیرش پیوند مناسب نیست. همچنین، از نظر اقتصادی بسیار گران است و به عمل جراحی دهنده و گیرنده عضو نیاز دارد [۵].

امروزه هدف از مهندسی بافت، کشت سلول روی داربست مناسب است [۴]. روش‌های متنوعی برای ساخت داربست سه‌بعدی همچون ریخته‌گری حلال، خشک‌کردن انجمادی و

نمونه‌سازی سریع وجود دارد [۷]. محدودیت در ضخامت داربست، عدم ایجاد حفره‌های به‌هم‌مرتبط و رشد بافت نایک‌نواخت به دلیل شرایط نامناسب انتقال مواد مغذی به درون داربست از عمده معایب فن ریخته‌گری حلال است [۸]. همچنین، در روش خشک‌کردن انجمادی و نمونه‌سازی سریع وجود حفره‌های بسته در ساختار غشا و ضعف در کنترل تخلخل و خواص مکانیکی داربست مانع از آماده‌سازی داربست مطلوب می‌شود [۷]. در نتیجه روش جدیدی بر پایه نانوالیاف همچون الکتروریسندگی مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است. مهم‌ترین مزایای فن الکتروریسی، شباهت الیاف با ECM بافت طبیعی، قیمت ارزان، قابلیت به‌کارگیری مواد متنوع، راه‌اندازی آسان و کنترل شکل‌شناسی و قطر الیاف است [۹].

افزون بر انتخاب داربست، نوع سلول استفاده‌شده در مهندسی استخوان بسیار حائز اهمیت است. انواع سلول‌ها و ویژگی‌های آن‌ها در جدول ۱ آمده است [۱۰]. عمر سلول‌های بنیادی جنینی (-em bryonic stem cells) طولانی بوده و می‌توان از آن‌ها برای درمان و بازسازی بافت آسیب‌دیده استفاده کرد. اما تحریک سامانه ایمنی استفاده از این نوع سلول‌ها را محدود کرده است [۱۱]. سلول‌های مزانشیمی (mesenchymal stem cells) که از تاج استخوان ایلیاک به‌دست می‌آیند با توجه به مزایای آن‌ها به‌طور گسترده در بازسازی و ترمیم بافت استفاده می‌شوند [۱۲].

## الکتروریسی

نمایی از دستگاه الکتروریسی در شکل ۱-الف نشان داده شده است. الیاف الکتروریسی شده به‌وسیله اختلاف پتانسیل اعمالی بین سوزن و صفحه تفلون پوشانده شده با ورق آلومینیم از راه خروج محلول پلیمری و تشکیل مخروط تیلور (Taylor cone) از نوک سوزن خارج می‌شوند و روی صفحه جمع‌کننده قرار می‌گیرند. با تغییر در شکل صفحه جمع‌کننده و سوزن می‌توان الیافی با ساختار و خواص متفاوت تهیه کرد. با توجه به اهمیت دست‌یابی به ساختار صاف و بدون گره در الیاف باید پارامترهای الکتروریسی شامل ولتاژ، فاصله سوزن و صفحه جمع‌کننده، سرعت تغذیه و غلظت محلول پلیمری

جدول ۱- منابع سلولی مناسب برای مهندسی بافت استخوان [۱۰].

ویژگی‌ها	سلول
اتصال بهتر به داربست	استخوان‌ساز (osteoblast)
قابلیت تمایز با انواع سلول‌ها، اتصال زیاد به نانوالیاف و تکثیر نامحدود	بنیادی جنینی
تکثیر سلولی زیاد و دست‌یابی آسان‌تر به سایر سلول‌های بنیادی	بنیادی مزانشیمی

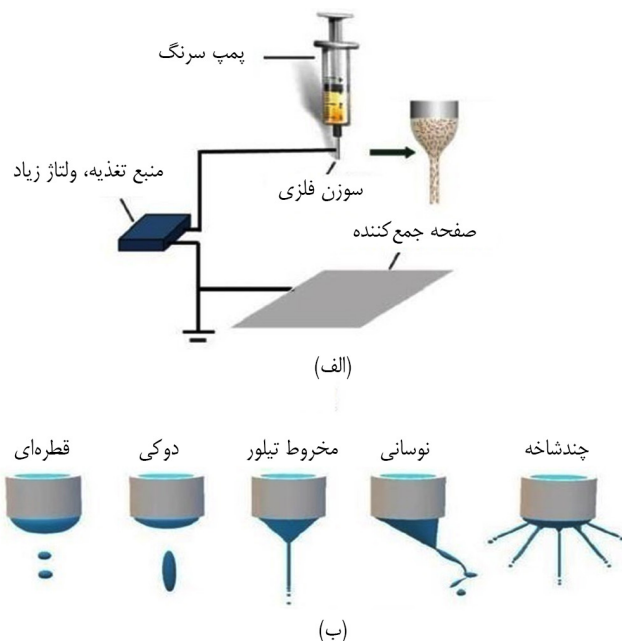
بافت استخوان کاربرد دارند. درجه بلورینگی زیاد PGA، انحلال‌ناپذیری در حلال‌های آلی و تخریب‌پذیری سریع این پلیمر موجب شده است تا استفاده از آن در تهیه داربست محدود شود. در اثر تخریب پلیمر، غلظت موضعی اسید افزایش می‌یابد و ممکن است باعث آسیب بافت شود. PLA، آب‌گریز بوده و سرعت تخریب آهسته‌تری دارد. در مقابل، مدت زمان تخریب‌پذیری PCL بیش از سایر پلیمرها بوده (کمتر از ۲۴ هفته) و انتخاب مناسبی برای جایگزین‌های طولانی‌مدت است [۱۴].

PCL، پلی‌استری آب‌گریز، زیست‌تخریب‌پذیر، زیست‌سازگار، نیمه‌بلوری، انعطاف‌پذیر، از نظر پردازش ساده و آسان، غیرسمی و امتزاج‌پذیر با سایر پلیمرها و سرامیک‌هاست. PCL هنگامی که در محیط فیزیولوژیک بدن قرار می‌گیرد، پیوند استری در آن به آب و کربن دی‌اکسید تجزیه می‌شود که آثار نامطلوبی بر متابولیسم سلولی ندارد [۱۵]. اطلاعات مختصری از این نوع پلیمر سنتزی در جدول ۲ نشان داده شده‌است.

### مواد زیستی برای ترمیم بافت استخوان

همان‌طور که اشاره شد، ساختار طبیعی استخوان از بخش‌های انعطاف‌پذیر و مستحکم تشکیل شده‌است. بدین دلیل، مواد کامپوزیت پلیمری-سرامیکی برای بازسازی بافت استخوانی مناسب است. امروزه از پلیمرهای طبیعی مختلف مانند ژلاتین، ابریشم، آلژینات، کلاژن، کیتوسان و پلیمرهای سنتزی از قبیل PCL و سرامیک‌های زیستی مانند هیدروکسی آپاتیت، بنتاری کلسیم فسفات و کلسیم کربنات استفاده می‌شود.

پلیمرهای طبیعی به‌علت زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و جذب آب زیاد به‌عنوان داربست استفاده می‌شوند. اما سرعت تخریب‌پذیری آهسته و آب‌گریز بودن پلیمرهای سنتزی مانند PCL، موجب شده است تا به‌منظور بهبود خواص داربست مهندسی بافت از کامپوزیت آن‌ها ساخته شود. مطالعات اخیر نشان داد، تهیه داربست‌های مخلوط از PCL و سایر پلیمرهای طبیعی، خواص فیزیکی و زیستی، به‌ویژه ظرفیت استخوان‌سازی را، افزایش می‌دهد [۱]. در جدول ۳ خلاصه‌ای از کامپوزیت‌های الکترووریسی شده به‌منظور



شکل ۱- (الف) دستگاه الکترووریسی و (ب) انواع جت‌های پلیمری [۱۳].

دارای مقدار مطلوبی باشند. انتخاب پارامترهای مناسب برای الکترووریسی به‌شدت به نوع پلیمر و محلول پلیمری بستگی دارد. انواع جت‌های مختلف که ممکن است در نوک سوزن رخ دهد، در شکل (۱-ب) نمایش داده شده است. تغییر در ساختار جت پلیمری تشکیل شده با شکل‌شناسی الیاف مرتبط است، به‌طوری که به‌کارگیری پارامترهای نامتناسب با نوع محلول و پلیمر باعث شکل‌گیری جت‌های نوسانی (oscillating)، چندشاخه (multiple)، قطره‌ای (dripping) و دوکی (spindle) می‌شود. هدف از بهینه‌سازی پارامترهای الکترووریسی، فراهم کردن قطره مناسب در جلوی سوزن و ایجاد مخروط تیلور برای تهیه الیاف یکنواخت و بدون آسیب است [۱۳].

### پلی‌کاپرولاکتون

پلیمرهای زیستی همچون پلی‌کاپرولاکتون (PCL)، پلی‌گلیکولیک اسید (PGA) و پلی‌لاکتیک اسید (PLA) به‌طور عمده در مهندسی

جدول ۲- اطلاعات مربوط به پلی‌کاپرولاکتون [۱۵، ۱۶].

فرمول مولکولی	فرمول ساختاری	سازوکار تخریب	نوع تخریب	دمای ذوب (°C)
$(C_6H_{10}O_2)_n$	$\left[ -O-(CH_2)_5-\overset{O}{\parallel}C- \right]_n$	آبکافت استر	سطح-توده	۶۰

جدول ۳- کامپوزیت‌های استفاده‌شده در مهندسی بافت استخوان و اطلاعات مربوط به پارامترهای الکترونیسی.

مرجع	میانگین قطر الیاف (nm)	فاصله (cm)	سرعت تغذیه (mL/h)	ولتاژ (kV)	حلال	داربست‌های کامپوزیتی
۱۷	۷۶۰-۹۰۰	۱۳	۱	۲۰	متانول-کلروفرم	PCL-کلسیم کربنات
۱۸	۲۸۰-۱۲۰۰	۱۰-۱۵	۱/۵-۳	۱۵-۲۲	متانول-کلروفرم	PCL-هیدروکسی آپاتیت
۱۹	۲۶۵-۴۵۰	۸	۲	۲۰	تری فلئورواتانول متانول-کلروفرم-	PCL-ژلاتین-هیدروکسی آپاتیت
۲۰	۱۸۹-۵۷۹	۱۳	۱	۱۳	هگزافلئوروپروپانول	PCL-کلاژن-هیدروکسی آپاتیت
۲۱	۲۰۰-۲۰۰۰	۷/۵	۰/۶	۵	دی کلرومتان	PCL-بتا تری کلسیم فسفات PCL-پلی‌ال لاکتیک اسید-
۲۲	۱۰۰-۲۰۰	۱۵	۱	۱۹	دی کلرومتان دی‌متیل فرمامید	کلسیم فسفات
۲۳	۱۰۰-۱۴۰۰	۲۰	۲	۱۸-۲۲	تری فلئورواتانول-سدیم دودسیل سولفات	PCL-سیلیکا
۲۴	۳۲۰-۴۳۰	۱۲	۲	۱۸-۲۲	تری فلئورواتانول	PCL-آپاتیت
۲۵	۲۰۰-۶۰۰	۱۸	۳	۲۰	تری فلئورواتانول-استیک اسید	PCL-ژلاتین
۲۶	۵۰-۱۰۰	۱۲/۵	۰/۳	۲۰	استیک اسید-فرمیک اسید	PCL-کتوسان-شیشه‌های زیست‌فعال

ترمیم بافت سخت گزارش شده است.

$100-350 \mu\text{m}$  است [۱۵]. به‌طور کلی، حفره‌ها به دو گروه

تقسیم‌بندی می‌شوند:

۱- حفره‌های بسته، حفره‌هایی که به سطح داربست راه ندارند.  
۲- حفره‌های باز، حفره‌هایی که یک یا چند راه تا رسیدن به سطح دارند [۲۸]. عمدتاً در داربست‌های مهندسی بافت، حفره‌های باز برای انتقال مواد مغذی و شکل‌گیری بافت هدف مناسب است [۵]. Aragon و همکاران به‌کمک تابش لیزر میکروتخلخل‌هایی در داربست ایجاد کردند تا چسبندگی و رشد سلولی بهتری فراهم شود. تصاویر میکروسکوپ الکترونی پویشی نشان می‌دهد، اطراف حفره‌های ایجادشده از نظر شکل‌شناسی تغییر درخور توجهی نداشتند (شکل ۲) [۲۹].

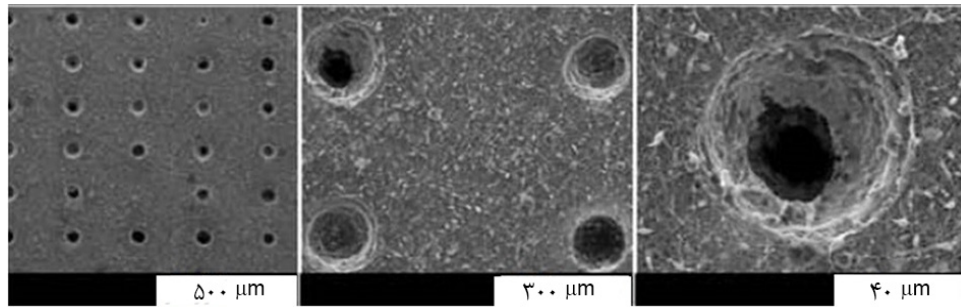
تغییر اندازه حفره، بر خواص مکانیکی، رشد و تکثیر سلولی موثر است. در نتیجه به اندازه حفره بهینه نیاز است. اگر اندازه حفره در داربست خیلی بزرگ باشد، سلول‌ها بدون اینکه در رأس‌های اتصال الیاف گیر کنند، در راستای آن کشیده می‌شوند [۳۰]. همچنین، تکثیر سلولی اولیه و خواص مکانیکی داربست مهندسی بافت تضعیف می‌شود [۳۱]. در مقابل اگر اندازه حفره کوچک باشد، رسیدن مواد مغذی به سلول و دفع مواد زائد حاصل از آن‌ها دشوارتر می‌شود. در نتیجه، میزان تکثیر و مهاجرت سلولی (به‌علت تجمع سلول‌ها در اطراف غشا)، رشد بافت و قابلیت رگ‌زایی مواد

### ویژگی داربست مهندسی بافت استخوان

زیست‌سازگاری عبارت از قابلیت مواد در ایجاد واکنش مناسب با بافت میزبان است که به‌شدت به خلوص مواد بستگی دارد [۲۷]. به‌طور کلی، داربست مهندسی بافت استخوان باید به‌گونه‌ای زیست‌سازگار باشد که التهاب ایجاد نکند و رفتارهای سلولی مانند مهاجرت و تکثیر سلولی را ارتقا بخشد [۵].

ویژگی دوم، سرعت زیست‌تخریب‌پذیری داربست‌های مهندسی بافت است. بدین معنی که سرعت تشکیل بافت جدید با تخریب داربست کاشته شده در بدن هماهنگ باشد و محصولات تخریب نباید به بافت‌های زنده آسیب برسانند. داربست‌های تخریب‌پذیر با سرعت زیاد در حدود چند روز تا چند هفته تخریب می‌شوند. در حالی که تخریب‌پذیری آهسته در عرض چند هفته تا چند ماه پس از قرارگیری در محیط بدن رخ می‌دهد. نوع تخریب هم بسیار مهم است. تخریب‌های سطحی و توده به‌ترتیب برای حفظ استحکام داربست و افزایش چسبندگی سلولی دنبال می‌شوند. در مهندسی بافت استخوان، هر دو نوع تخریب در حد میانه نیاز است.

درصد تخلخل و اندازه منافذ برای داربست اهمیت دارد. حداقل تخلخل و اندازه حفره برای رشد بافت استخوان به‌ترتیب ۷۰-۶۰ و

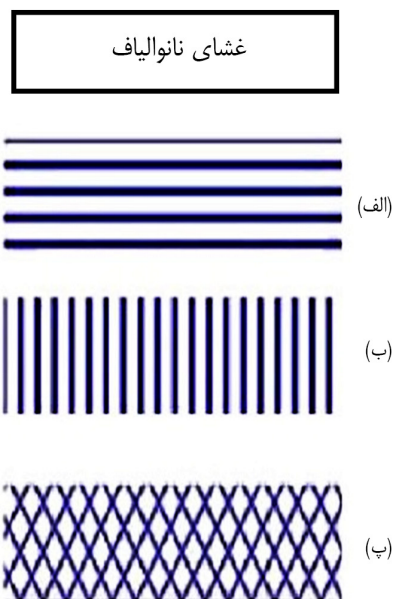


شکل ۲- تخلخل ایجادشده در داربست با پرتو لیزر [۲۹].

تولید ECM بیشتر کمک می‌کند [۳۷].  
الکتروروسی مغناطیسی از روش‌های ساده و مهم برای دست‌یابی به الیاف منظم است. در این روش ابتدا مقدار کمی از نانوذرات مغناطیسی مانند  $Fe_3O_4$  به محلول پلیمری اضافه می‌شود. سپس، با ایجاد میدان مغناطیسی با استفاده از دو آهن‌ریا در دو سوی صفحه جمع‌کننده، نانوالیاف آرایش‌یافته شکل می‌گیرند. مقدار آرایش‌یافتگی در الکتروروسی مغناطیسی بیش از سایر روش‌هاست. همچنین، می‌توان داربست‌هایی با ساختار پیچیده تولید کرد [۳۸].

### داربست‌های الکتروروسی شده در بازسازی بافت استخوان

Antonio و همکاران داربستی از PCL و نانوذرات سیلیکا تهیه کردند. شکل‌شناسی داربست‌های PCL-نانوذرات سیلیکا، الیاف صاف با جهت‌گیری تصادفی داشتند. افزودن ذرات با غلظت‌های زیاد موجب

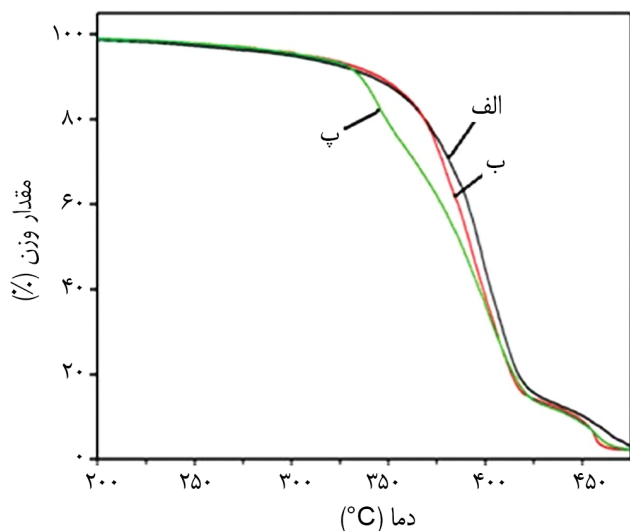


شکل ۳- جهت‌گیری‌های مختلف الیاف الکتروروسی شده: (الف) منظم عمودی، (ب) منظم افقی و (پ) جهت‌گیری تصادفی [۳۷].

زیستی کاهش می‌یابد [۳۲]. با استفاده از فن نانو-میکروالیاف (از دو پمپ سرنگ جداگانه و مستقل حاوی محلول پلیمری استفاده می‌شود) و تغییر در پارامترهای الکتروروسی و قطر الیاف، می‌توان اندازه حفره را افزایش داد. Thorvaldsson و همکاران روش نوینی برای ساخت داربست متخلخل از نانوالیاف PCL الکتروروسی شده روی میکروالیاف پلی‌لاکتیک اسید، استفاده کردند. داربست نانوالیاف پوشش‌یافته بر میکروالیاف دارای تخلخل ۹۵٪ نشان داد، الیاف به‌طور همگن توزیع شده‌اند. همچنین، اندازه منافذ  $100 \mu m$  و حتی بزرگ‌تر، به‌راحتی به‌دست آمد که تراوش سلولی داربست را بهبود می‌دهد [۳۳].

داربست مهندسی بافت برای مقاومت در برابر نیروهای مکانیکی و حمایت از بافت‌های اطراف در محیط بدن باید استحکام مناسب و نزدیک به بافت استخوان داشته باشد. خواص مکانیکی داربست مهندسی بافت برای انواع استخوان‌ها، متفاوت است [۱۴]. خواص مکانیکی الیاف الکتروروسی شده مانند استحکام کششی و تنش تسلیم با قطر آن‌ها رابطه عکس دارد. بدین ترتیب، با کاهش قطر الیاف می‌توان به این مهم دست یافت [۳۴]. از طرفی، با استفاده از نانوذرات سرامیکی همچون کلسیم کربنات و آپاتیت می‌توان استحکام مکانیکی داربست پلیمری را بهبود بخشید [۳۵]. هنگامی که غشاهای تقویت‌شده با نانوذرات در محیط فیزیولوژیکی قرار می‌گیرند، لایه‌ای از هیدروکسی کربنات آپاتیت روی سطح آن‌ها تشکیل می‌یابد که موجب بهبود رشد و تمایز سلول‌ها می‌شود [۳۶].

جهت‌گیری منظم و تصادفی الیاف الکتروروسی شده ویژگی مهم دیگری در داربست‌هاست که به نوع صفحه جمع‌کننده (چرخان یا ثابت) بستگی دارد. انواع جهت‌گیری الیاف در شکل ۳ نشان داده شده‌است. در اثر آرایش منظم الیاف، خواص مکانیکی داربست از جمله مدول یانگ و استحکام کششی نهایی افزایش می‌یابد. از سویی، به‌دلیل شباهت داربست منظم با ساختار بافت طبیعی بدن به



شکل ۴- نمودار تجزیه گرمایی نمونه‌های PCL-کیتوسان حاوی: (الف) ۰٪، (ب) ۱/۵٪ و (پ) ۳٪ وزنی شیشه‌های زیستی [۳۹].

کیتوسان حاوی نانوذرات شیشه‌های زیست‌فعال و هیدروکسی آپاتیت را بررسی کردند (شکل ۴). افزایش غلظت نانوذرات دمای تجزیه را کاهش می‌دهد (تخریب در دمای کمتر اتفاق می‌افتد). نمونه‌های ۰ و ۱/۵٪ وزنی شیشه به‌علت دارا بودن ساختار همگن و فاقد انبوهش نانوذرات در داربست تقریباً مشابه یکدیگر و متفاوت با نمونه ۳٪ وزنی گزارش شد. از طرفی، چسبندگی و تکثیر سلولی مناسب‌تری در داربست‌های دارای ۳٪ ذرات سرامیکی به‌دلیل بهبود آب‌دوستی و جذب آب بیشتر مشاهده شد [۳۹].

بررسی‌های کشت سلول‌های استخوان‌ساز بر داربست حاوی کلسیم کربنات اتصال سلول‌ها و تعامل مطلوب الیاف با سلول را تایید کرد. در نتیجه، گرانول‌های بیانگر فرایند معدنی شدن روی سطح سلول یافت شد. از این رو، این کامپوزیت انتخاب مناسبی برای کاربردهای ترمیم بافت استخوان است [۱۷].

حیدری و همکاران دریافتند، تعداد سلول‌های استخوان‌ساز بیشتری روی داربست PCL-اکتاکلسیم فسفات نسبت به نمونه پلیمر خالص زنده ماندند. در نتیجه، داربست کامپوزیتی رشد سلولی را ارتقا می‌بخشد و با جذب کلسیم بیشتر در سلول‌های استخوانی به ترمیم هر چه بیشتر استخوان منجر می‌شود [۲۲].

تجزیه و تحلیل شکل‌شناسی سلول‌های بنیادی جنینی کشت یافته روی داربست PCL-هیدروکسی آپاتیت نشان داد، رشد کمتر سلول‌ها در مقایسه با نمونه بدون داربست مشاهده شد. این موضوع ممکن است به‌علت عدم لانه‌گزینی سلول‌ها باشد. از طرف دیگر تکثیر سلولی در نمونه حاوی نانوذرات ضعیف‌تر از سایر نمونه‌ها گزارش شد [۱۶].

کلوخه شدن، کاهش قطر و توزیع قطری الیاف شد. در مقابل، مدول کششی از ۹/۵ MPa به ۱۳/۵ MPa افزایش یافت. کلوخه شدن سیلیکا خواص داربست را تغییر می‌دهد، به‌طوری که مدول و استحکام کششی در نمونه دارای ۷۵٪ سیلیکا به کمترین مقدار حتی کمتر یا مشابه نمونه PCL خالص رسیده است [۲۳]. Bianco و همکاران پژوهش دیگری را انجام دادند که نشان داد، وجود غلظت‌های زیاد هیدروکسی آپاتیت در محلول پلیمری، گرانیروی و رسانش الکتریکی نمونه‌ها را افزایش می‌دهد و موجب کلوخه شدن و ناهمگنی الیاف الکتروروسی می‌شود. همچنین، خواص مکانیکی نانوالیاف در نمونه‌های حاوی ۲، ۴ و ۶٪ استحکام داربست تغییر چشمگیری نداشته است، اما با افزایش بیشتر جزء دوم به‌علت ساختار ناهمگن و نایکنواخت الیاف کاهش درخور توجهی داشته است [۱۶].

Yang و همکاران ذرات آپاتیت را به زیست‌پلیمر افزودند. پژوهش‌های انجام شده نشان داد، خواص مکانیکی و رفتارهای سلولی در نمونه ۲۵٪ آپاتیت بیش از نمونه ۵۰٪ بوده است [۲۴]. ترشوندگی سطحی از خواص فیزیکی مهم در داربست الکتروروسی شده است که به‌طور مستقیم بر فعالیت‌های سلولی اثر می‌گذارد. Hassan و همکاران پژوهشی انجام دادند که نشان داد، زاویه تماس آب در نمونه PCL-هیدروکسی آپاتیت در مقایسه با PCL سیر نزولی داشته و مقدار آب‌دوستی الیاف کامپوزیت شده به‌دلیل خاصیت ترشوندگی زیاد فاز کلسیم فسفات افزایش یافته است [۱۸]. Ren و همکاران کامپوزیتی از PCL-ژلاتین به‌کمک الکتروروسی ساختند. وجود ژلاتین به بهبود جذب آب منجر شد و متعاقب آن افزایش زیست‌پذیری سلول‌های استخوان‌ساز را به دنبال داشت. ولی، استحکام کامپوزیت در مقایسه با نمونه خالص کاهش یافت [۲۵].

تجزیه گرمایی داربست به‌منظور ارزیابی خواص فیزیکی-شیمیایی آن نیز اهمیت دارد. Liverani و همکاران، خواص گرمایی نانوالیاف را به‌کمک گرماوزن‌سنجی بررسی و بیان کردند که وجود کیتوسان خواص گرمایی PCL خالص را تحت تاثیر قرار می‌دهد. نتایج آزمون گرمایی نمونه‌های PCL خالص، PCL-کیتوسان و PCL-کیتوسان-شیشه‌های زیست‌فعال نشان داد، وزن تمام نمونه‌ها در دماهای متفاوت ۵۰٪ کاهش یافت. PCL خالص بیشترین مقدار را در حدود ۴۰۰°C نشان داد. این مقدار برای نمونه دوجزئی و سه‌جزئی کاهش یافت که احتمالاً به‌دلیل کلوخه شدن ذرات، خواص گرمایی داربست تغییر کرده است [۲۶]. Shalumon و همکاران پایداری گرمایی دو گروه از نمونه‌های الکتروروسی شده PCL-

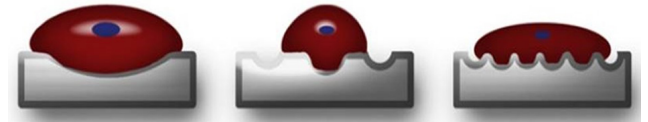
یافت. البته نایکنواختی الیاف در نمونه ۱٪ بر رفتار سلولی بی‌اثر نبوده است [۴۲].

### نتیجه‌گیری

انتخاب مواد، روش ساخت داربست و نوع سلول مناسب عوامل کلیدی در موفقیت مهندسی بافت است. پلیمرها، سرامیک‌ها و کامپوزیت پلیمر-سرامیک در تهیه و ساخت داربست‌ها استفاده می‌شوند. الیاف الکترونیسی شده بر پایه PCL به دلیل خواص منحصر به فرد نسبت به PLA و PGA به طور گسترده در مهندسی بافت استخوان کاربرد دارند. غشای مطلوب باید زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر و مستحکم باشد و بافت میزبان را تحریک نکند. در این مطالعه مروری مشخص شد، به منظور بهبود خواص آب‌دوستی، استحکام مکانیکی، تکثیر و رشد سلولی در نمونه‌ها، سرامیک‌ها و پلیمرهای طبیعی را به پلی کاپرولاکتون اضافه می‌کنند. البته به کارگیری غلظت‌های زیاد از سرامیک‌ها موجب کلوخه شدن ذرات و کاهش خواص مکانیکی داربست می‌شود. از سوی دیگر، جذب زیاد آب، تعامل سلول با الیاف را ترویج می‌کند. به طور کلی، داربست‌های کامپوزیتی خواص بهتر و مناسب‌تری نسبت به نمونه‌های خالص داشتند. ارزیابی‌ها برای هرچه بهتر کردن خواص داربست‌ها و نزدیک‌سازی آن با شرایط بدن ادامه دارد.

### مراجع

- Balagangadharan K., Dhivya S., and Selvamurugan N., Chitosan Based Nanofibers in Bone Tissue Engineering, *Inter. J. Biol. Macromol.*, **104**, 1372-1382, 2017.
- Nyary T. and Scammell B.E., Principles of Bone and Joint Injuries and Their Healing, *Surgery*, **33**, 7-14, 2015.
- Ngiam M., Liao S., Patil A.J., Cheng Z., Chan C.K., and Ramakrishna S., The Fabrication of Nano-Hydroxyapatite on PLGA and PLGA/Collagen Nanofibrous Composite Scaffolds and Their Effects in Osteoblastic Behavior for Bone Tissue Engineering, *Bone*, **45**, 4-16, 2009.
- Yarlagadda P.K., Chandrasekharan M., and Shyan J.Y.M., Recent Advances and Current Developments in Tissue Scaffolding, *Biomed. Mater. Eng.*, **15**, 159-177, 2005.
- Murugan A. and Ramakrishna S., Design Strategies of Tissue



شکل ۵- نمایی از رفتار بین سلول و ناهمواری سطح در داربست مهندسی بافت [۴۱].

زبری سطح از عوامل مهم و اثرگذار بر واکنش بین سلول و داربست‌های مهندسی بافت و تغییر رفتار سلولی است. زبری نانومتری سوبسترا به دلیل شباهت آن با ECM طبیعی بدن، به افزایش جذب پروتئین‌هایی همچون فیبرونکتین و ویترونکتین منجر می‌شود و تکثیر و زیست‌پذیری سلولی را افزایش می‌دهد. تعیین ناهمواری سطح به نوع سلول، مواد داربست و بافت مدنظر بستگی دارد که می‌توان با تغییر پارامترهای دستگاه الکترونیسی به مقدار بهینه دست یافت [۴۰]. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، سطح ناهموار و متخلخل نسبت به سطح صاف، مساحت رویه بیشتری را ایجاد کرده که فرایندهای اتصال و مهاجرت سلولی را نیز فراهم می‌کند. همچنین، ناهمواری‌های کوچک، عملکرد زیستی داربست را در محیط بدن بهبود می‌بخشد [۴۱].

Song و همکاران بیان کردند، افزودن گرافن اکسید به دلیل افزایش رسانش الکتریکی محلول موجب کاهش قطر الیاف و زبری سطحی کامپوزیت PCL-گرافن اکسید شده است. پس از قرارگیری سلول‌های مزانشیمی روی نانوالیاف، میزان تکثیر سلول‌ها در نمونه‌های ۰/۱٪ نسبت به ۱٪ ماده سرامیکی در اثر زبری سطح بیشتر (اختلاف در حدود ۱۰۰ nm) به شدت افزایش

- Engineering Scaffolds with Controlled Fiber Orientation, *Tissue Eng.*, **13**, 1845-1866, 2007.
- Puppi D., Chiellini F., Piras A.M., and Chiellini E., Polymeric Materials for Bone and Cartilage Repair, *Prog. Polym. Sci.*, **35**, 403-440, 2010.
- Salgado A.J., Coutinho O.P., and Reis R.L., Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends, *Macromol. Biosci.*, **4**, 743-765, 2004.
- Liu X., and Ma P.X., Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering, *Ann. Biomed. Eng.*, **32**, 477-486, 2004.
- Beachley V. and Wen X., Polymer Nanofibrous Structures: Fabrication, Biofunctionalization, and Cell Interactions, *Prog. Polym. Sci.*, **35**, 868-892, 2010.
- Holzwarth J.M. and Ma P.X., Biomimetic Nanofibrous Scaf-



- folds for Bone Tissue Engineering, *Biomaterials*, **32**, 9622-9629, 2011.
11. Huselstein C., Li Y., and He X., Mesenchymal Stem Cells for Cartilage Engineering, *Biomed. Mater. Eng.*, **22**, 69-80, 2012.
  12. Holmes B., Castro N.J., Li J., Keidar M., and Zhang L.G., Enhanced Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Functions in Novel 3D Cartilage Scaffolds with Hydrogen Treated Multi-Walled Carbon Nanotubes, *Nanotechnology*, **24**, 1-10, 2013.
  13. Zong H., Xia X., Liang Y., Dai S., Alsaedi A., Hayat T., Kong F., and Hong Pan J., Designing Function-Oriented Artificial Nanomaterials and Membranes via Electrospinning and Electrospaying Techniques, *Mater. Sci. Eng., C*, 2017. doi: 10.1016/j.msec.2017.11.007
  14. Iqbal-Sabir M., Xu X., and Li L., A Review on Biodegradable Polymeric Materials for Bone Tissue Engineering Applications, *J. Mater. Sci.*, **44**, 5713-5724, 2009.
  15. Fisher J.P. and Reddi A.H., Functional Tissue Engineering of Bone: Signals and Scaffolds, *Top. Tissue Eng.*, **5**, 1-29, 2003.
  16. Bianco A., Federico E.D., Moscatelli I., Camaioni A., Armentano I., Campagnolo L., Dottori M., Kenny J.M., Siracusa G., and Gusmano G., Electrospun Poly( $\epsilon$ -caprolactone)/Ca-Deficient Hydroxyapatite Nanohybrids: Microstructure, Mechanical Properties and Cell Response by Murine Embryonic Stem Cells, *Mater. Sci. Eng. C*, **29**, 2063-2071, 2009.
  17. Fujihara K., Kotaki M., and Ramakrishna S., Guided Bone Regeneration Membrane Made of Polycaprolactone/Calcium Carbonate Composite Nano-Fibers, *Biomaterials*, **26**, 4139-4147, 2005.
  18. Hassan M.I., Sun T., and Sultana N., Fabrication of Nanohydroxyapatite/Poly(caprolactone) Composite Microfibers Using Electrospinning Technique for Tissue Engineering Applications, *J. Nanomater.*, **2014**, 1-7, 2014.
  19. Yang X., Yang F., Walboomers X.F., Bian Z., Fan M., and Jansen J.A., The Performance of Dental Pulp Stem Cells on Nano-Fibrous PCL/Gelatin/nHA Scaffolds, *J. Biomed. Mater. Res.*, **93A**, 247-257, 2010.
  20. Venugopal J., Vadgama P., Sampath-Kumar T.S., and Ramakrishna S., Biocomposite Nanofibres and Osteoblasts for Bone Tissue Engineering, *Nanotechnology*, **18**, 1-8, 2007.
  21. Eriskin C., Kalyon D.M., and Wang H., Functionally Graded Electrospun Polycaprolactone and  $\beta$ -Tricalcium Phosphate Nanocomposites for Tissue Engineering Applications, *Biomaterials*, **29**, 4065-4073, 2008.
  22. Heydari Z., Mohebbi-Kalhari D., and Shafiee Afarani M., Engineered Electrospun Polycaprolactone (PCL)/Octacalcium Phosphate (OCP) Scaffold for Bone Tissue Engineering, *Mater. Sci. Eng. C*, **81**, 127-132, 2017.
  23. Castro A.G.B., Diba M., Kersten M., Jansen John A., Van Den Beucken J.J.J.P., and Yang F., Development of a PCL-Silica Nanoparticles Composite Membrane for Guided Bone Regeneration, *Mater. Sci. Eng. C*, **85**, 154-161, 2018.
  24. Yang F., Both S.K., Yang X., Walboomers X.F., and Jansen J.A., Development of an Electrospun Nano-Apatite/PCL Composite Membrane for GTR/GBR Application, *Acta Biomater.*, **5**, 3295-3304, 2009.
  25. Ren K., Wang Y., Sun T., Yue W., and Zhang H., Electrospun PCL/Gelatin Composite Nanofiber Structures for Effective Guided Bone Regeneration Membranes, *Mater. Sci. Eng., C*, **78**, 324-332, 2017.
  26. Liverani L., Lacina J., Roether J.A., Boccardi E., Killian M.S., Schmuki P., Schubert D.W., and Boccaccini A.R., Incorporation of Bioactive Glass Nanoparticles in Electrospun PCL/Chitosan Fibers by Using Benign Solvents, *Bioact. Mater.*, **3**, 55-63, 2017.
  27. Mouthuy P.A., Snelling S.J.B., Dakin S.G., Milković L., Gašparović A.Č., Carr A.J., and Žarković N., Biocompatibility of Implantable Materials: An Oxidative Stress Viewpoint, *Biomaterials*, **109**, 55-68, 2016.
  28. Elsayed Y. and Lekakou C., Designing and Modeling Pore Size Distribution in Tissue Scaffolds, In *Characterisation and Design of Tissue Scaffolds*, Tomlins P. (Ed.), Woodhead, 24-43, 2016.
  29. Aragon J., Navascues N., Mendoza G., and Irusta S., Laser-Treated Electrospun Fibers Loaded with Nano-Hydroxyapatite for Bone Tissue Engineering, *Int. J. Pharm.*, **525**, 112-122, 2017.
  30. Lowery J.L., Datta N., and Rutledge G.C., Effect of Fiber Diameter, Pore Size and Seeding Method on Growth of Human Dermal Fibroblasts in Electrospun Poly( $\epsilon$ -caprolactone) Fibrous Mats, *Biomaterials*, **31**, 491-504, 2010.
  31. Loh Q.L. and Choong C., Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size, *Tissue Eng. Part B, Rev.*, **19**, 485-502, 2013.
  32. Phipps M.C., Clem W.C., Grunda J.M., Clines G.A., and Bellis S.L., Increasing the Pore Sizes of Bone-Mimetic Electro-

- pun Scaffolds Comprised of Polycaprolactone, Collagen I and Hydroxyapatite to Enhance Cell Infiltration, *Biomaterials*, **33**, 524-534, 2012.
33. Thorvaldsson A., Stenhamre H., Gatenholm P., and Walkenström P., Electrospinning of Highly Porous Scaffolds for Cartilage Regeneration, *Biomacromolecules*, **9**, 1044-1049, 2008.
34. Tan E.P.S., Ng S.Y., and Lim C.T., Tensile Testing of a Single Ultrafine Polymeric Fiber, *Biomaterials*, **26**, 1453-1456, 2005.
35. Sambudi N.S., Sathyamurthy M., Lee G.M., and Park S.B., Electrospun Chitosan/Poly(vinyl alcohol) Reinforced with CaCO<sub>3</sub> Nanoparticles with Enhanced Mechanical Properties and Biocompatibility for Cartilage Tissue Engineering, *Compos. Sci. Technol.*, **106**, 76-84, 2015.
36. Cerruti M., Greenspan D., and Powers K., Effect of pH and Ionic Strength on the Reactivity of Bioglass 45S5, *Biomaterials*, **26**, 1665-1674, 2005.
37. Lee C.H., Shina H.J., Choa I.H., Kanga Y.M., Kima I.A., Parkb K.D., and Shin J.W., Nanofiber Alignment and Direction of Mechanical Strain Affect the ECM Production of Human ACL Fibroblast, *Biomaterials*, **26**, 1261-1270, 2005.
38. Yang D., Lu B., Zhao Y., and Jiang X., Fabrication of Aligned Fibrous Arrays by Magnetic Electrospinning, *Adv. Mater.*, **19**, 3702-3706, 2007.
39. Shalumon K.T., Sowmya S., Sathish D., Chennazhi K.P., Nair S.V., and Jayakumar R., Effect of Incorporation of Nanoscale Bioactive Glass and Hydroxyapatite in PCL/Chitosan Nanofibers for Bone and Periodontal Tissue Engineering, *J. Biomed. Nanotechnol.*, **9**, 430-440, 2013.
40. Zhao C., Tan A., Pastorin G., and Ho H.K., Nanomaterial Scaffolds for Stem Cell Proliferation and Differentiation in Tissue Engineering, *Biotechnol. Adv.*, **31**, 654-668, 2013.
41. Martino S., D'Angelo F., Armentano I., Kenny J.M., and Orlacchio A., Stem Cell-Biomaterial Interactions for Regenerative Medicine, *Biotechnol. Adv.*, **30**, 338-351, 2012.
42. Song J., Gao H., Zhu G., Cao X., Shi X., and Wang Y., The Preparation and Characterization of Polycaprolactone/Graphene Oxide Biocomposite Nanofiber Scaffolds and their Application for Directing Cell Behaviors, *Carbon*, **95**, 1039-1050, 2015.