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

Abstract

Natural bone tissue defects are caused by fractures and aging. Due to the long-term self-healing process or the lack of regeneration in severe injuries, the subject of tissue engineering was raised. The most important success factors in tissue engineering are the selection of suitable cell and scaffold. 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 field. There are several technique, such as electrospinning to preparation of scaffolds. The electrospinning method because of the similarity of the nanofibers with the extracellular matrix of the native tissue, the choice of different materials, the high surface area-to-volume ratio and the reconstruction of the tissue more than other methods have been considered. Polyacrylactone 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 membrane facilitates cellular behavior.

The purpose of this research, was the characterization and evaluation of polyacroplactone based electrospinning scaffolds for bone tissue repair.

Keywords

Electrospinning, Scaffold, Polycaprolactone, Composite, Cell

Corresponding Author, E-mail: Peyman_Sheikholeslami@yahoo.com

ویرایش شده

کامپوزیت‌های الکتروریسی‌شده برپایه پلی‌کاپرولاکتون در مهندسی بافت استخوان

پیمان شیخ الاسلامی کندلوسی*

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

چکیده

بافت استخوان طبیعی در اثر شکستگی‌ها و پیری دچار نقص می‌شود. با توجه به روند خودترمیمی طولانی‌مدت و یا عدم بازسازی در آسیب‌های شدید، موضوع مهندسی بافت مطرح شد. مهم‌ترین عوامل موفقیت در مهندسی بافت، بکارگیری سلول و داربست مناسب می‌باشد. سلول‌های متنوعی همچون استئوبلاست، سلول‌های بنیادی جنینی و مزانشیمی مورد استفاده قرار می‌گیرند ولی خصوصیات منحصربه فرد سلول‌های مزانشیمی موجب شد تا کاربرد وسیعی در حوزه مهندسی بافت پیدا کند. تکنیک‌های مختلفی مانند الکتروریسندگی نیز برای ساخت داربست وجود دارد. روش الکتروریسی به دلیل شباهت نانوالیاف با ماتریکس خارج سلولی بافت طبیعی، قابلیت انتخاب مواد مختلف، نسبت سطح به حجم بالای الیاف و بازسازی هرچه بیشتر بافت نسبت به دیگر روش‌ها مورد توجه قرارگرفته است. پلی‌کاپرولاکتون یک پلیمر زیستی مصنوعی که بطور گسترده در کاربردهای پزشکی استفاده می‌شود. مهم‌ترین مزایای استفاده از این نوع پلیمر، استحکام مکانیکی بالا، قابلیت پردازش ساده، سمیت کم، محرک ضعیف سیستم ایمنی است. عمدتا پلیمرها را به منظور دستیابی به خواص مکانیکی مطلوب با سرامیک‌ها کامپوزیت می‌کنند. داربست‌های مهندسی بافت استخوان باید زیست سازگار، زیست تخریب‌پذیر، مستحکم، متخلخل، دارای اندازه حفره میکرومتری و از نظر مورفولوژیکی، صاف، یکنواخت و بدون گره باشند. همچنین زبری سطحی و آبدوست بودن غشاء سبب تسهیل رفتارهای سلولی می‌شود.

هدف از این پژوهش، ارزیابی و مشخصه‌یابی داربست‌های الکتروریسی شده بر پایه پلی‌کاپرولاکتون جهت بازسازی و ترمیم بافت استخوان بوده است.

ویرایش نشده

واژگان کلیدی

الکتروریسی، داربست، پلی‌کاپرولاکتون، کامپوزیت، سلول

نویسنده مسئول، پیام نگار:

Peyman_Sheikholeslami@yahoo.com

مقدمه

بافت طبیعی استخوان از مواد معدنی، ماتریکس خارج سلولی (ECM) و آب تشکیل شده است. بیشترین حجم آن را (حدود ۶۰٪) هیدروکسی آپاتیت دربرمی‌گیرد که مسئولیت سختی و استحکام استخوان را بر عهده دارد. همچنین کلاژن موجود در ECM به انعطاف پذیری ساختار استخوان کمک می‌کند [۱]. مهم‌ترین آسیب‌های استخوان ناشی از شکستگی‌های مختلف می‌باشد. شکستگی بافت استخوان در اثر عواملی چون پیری و ضربه رخ می‌دهد. استخوان خاصیت ویسکوالاستیکی دارد بگونه‌ای که هر چه میزان بارگذاری بیشتر باشد در نتیجه آسیب بیشتری به آن و بافت‌های اطراف وارد می‌شود. بافت آسیب دیده تا حدود زیادی قابلیت خود ترمیمی دارد ولی در مواردی که نقص شدید باشد عمدتا از روش‌های جراحی برای تثبیت، اصلاح استخوان و به حداقل رساندن عوارض جانبی استفاده می‌شود [۲]. براساس آمار و ارقام گزارش شده در آمریکا، سالیانه برای بیش از ۵۰۰۰۰۰ نفر پیوند استخوان انجام می‌گیرد [۳]. با توجه به هزینه‌های بالا، زمان طولانی‌مدت درمان، موضوع مهندسی بافت روی کار آمد. قدمت بهره‌گیری از مهندسی بافت به اوایل سال ۱۹۸۰ میلادی برمی‌گردد. هدف اولیه مهندسی بافت، بازیابی عملکرد اندام‌ها و ترمیم بافت آسیب‌دیده از طریق پیوندهای پیوند از خود بیمار به خودش (Autograft)، از شخص دیگر به بیمار (Allograft) و حیوان به بیمار (Xenograft) بوده‌است [۴]. در این میان، پیوند از بیمار به خود پتانسیل بالایی برای درمان بافت درنظرگرفته شده است اما مقدار آن اندک است [۵]. منابع موجود و قابل استفاده برای پیوند خود به خودی معمولا کشکک، ران و یا فیبولا هستند [۶]. از سویی دیگر، پیوند از شخص دیگر به بیمار و حیوان به انسان با توجه به امکان انتقال بیماری و عدم پذیرش پیوند مناسب نمی‌باشد. 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 بر روی داربستی مناسب می‌باشد [۴]. روش‌های متنوعی برای ساخت داربست ۳ بعدی همچون ریخته‌گری حلال، خشکایش انجمادی، نمونه‌سازی سریع وجود دارد [۷]. محدودیت در ضخامت داربست، عدم ایجاد حفره-های درون مرتبط، رشد بافت غیریکنواخت به دلیل شرایط نامناسب انتقال مواد مغذی به درون داربست از عمده معایب تکنیک ریخته-گری حلال است [۸]. همچنین در روش خشکایش انجمادی و نمونه‌سازی سریع وجود حفره‌های بسته در ساختار غشاء و ضعف در کنترل تخلخل و خواص مکانیکی داربست مانع از آماده‌سازی داربست ایده‌آل می‌شود [۷]. درنتیجه روش جدیدی بر پایه نانوالیاف

ویرایش نشده

همچون الکتروریسندگی مورد توجه دانشمندان قرارگرفته است. مهم‌ترین مزایای تکنیک الکتروریسی، شباهت الیاف با ECM بافت طبیعی، قیمت ارزان، قابلیت بکارگیری مواد متنوع، راه اندازی آسان و کنترل مورفولوژی و قطر الیاف می‌باشد [۹].

علاوه بر انتخاب داربست، نوع سلول مورد استفاده در مهندسی استخوان بسیار حائز اهمیت است. انواع سلول‌ها و ویژگی‌های آن در جدول (۱) آمده است [۱۰]. عمر سلول‌های بنیادی جنینی طولانی بوده و می‌تواند برای درمان و بازسازی بافت آسیب دیده بکارگرفت اما به دلیل تحریک سیستم ایمنی استفاده از این نوع سلول‌ها را محدود کرده است [۱۱]. سلول‌های مزانشیمی که از تاج استخوان ایلیاک به دست می‌آید با توجه به مزایای آن بطورگسترده در بازسازی و ترمیم بافت استفاده می‌شود [۱۲].

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

سلول	نام لاتین	خصوصیات
استئوبلاست	Osteoblast	تعلق و وابستگی بهتر به داربست
سلول‌های بنیادی جنینی	Embryonic stem cells	قابلیت تمایز به انواع سلول‌ها تعلق زیاد روی نانوالیاف تکثیر نامحدود
سلول‌های بنیادی مزانشیمی	Mesenchymal stem cells	تکثیر سلولی بالا دستیابی آسان‌تر نسبت به دیگر سلول‌های بنیادی

ویرایش نشده

الکتروریسندگی

شماتیکی از دستگاه الکتروریسندگی در شکل (۱. الف) نشان داده شده است. الیاف الکتروریسی‌شده بوسیله اختلاف پتانسیل اعمالی بین سوزن و صفحه تفلونی پوشانده‌شده با ورق آلومینیوم از طریق خروج محلول پلیمری و تشکیل مخروط تیلور (Taylor Cone) از نوک سوزن خارج‌شده و بر روی صفحه جمع‌کننده قرارمی‌گیرند. با تغییر در شکل صفحه جمع‌کننده و سوزن می‌توان الیافی با ساختار و خواصی متفاوت تهیه کرد. با توجه به اهمیت رسیدن به ساختاری صاف و بدون گره در الیاف باید پارامترهای الکتروریسی شامل

ولتاژ، فاصله سوزن و صفحه جمع‌کننده، نرخ تغذیه، غلظت محلول پلیمری در مقدار مطلوبی باشد. انتخاب پارامترهای مناسب برای الکتروریسی به شدت به نوع پلیمر و محلول پلیمری بستگی دارد.

جت‌های مختلفی که در نوک سوزن ممکن است رخ دهد در شکل (۱. ب) نمایش داده شد. تغییر در ساختار جت پلیمری تشکیل‌شده با مورفولوژی الیاف مرتبط است بطوریکه بکارگیری پارامترهای نامتناسب با نوع محلول و پلیمر باعث شکل‌گیری جت‌های نوسانی (oscillating)، چند شاخه (multiple)، قطره‌ایی (dripping) و دوکی (spindle) شکل می‌شود. هدف از بهینه‌سازی پارامترهای الکتروریسی، فراهم کردن قطره مناسب در جلوی سوزن و ایجاد مخروط تیلور برای تهیه الیاف یکنواخت و بدون آسیب می‌باشد [۱۳].

شکل ۱- الف) دستگاه الکتروریسی ب) انواع جت‌های پلیمری [۱۳].

پلی‌کاپرولاکتون

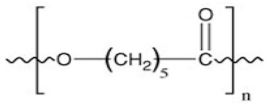
پلیمرهای زیستی همچون پلی‌کاپرولاکتون (PCL)، پلی‌گلیکولیک اسید (PGA) و پلی‌لاکتیک اسید (PLA) عمدتا در مهندسی بافت استخوان کاربرد دارند. درجه بلورینگی بالای PGA، عدم انحلال در حلال‌های آلی و تخریب پذیری سریع این پلیمر موجب شد تا استفاده از آنها را در تهیه داربست با محدودیت روبه‌رو کند. در اثر تخریب پلیمر، غلظت موضعی اسید افزایش یافته و ممکن است باعث آسیب بافتی شود. PLA، آب‌گریز بوده و نرخ تخریب آهسته‌تری دارد. در مقابل مدت زمان تخریب‌پذیری PCL بیشتر از دیگر پلیمرها بوده (کمتر از ۲۴ هفته) و انتخاب مناسبی برای جایگزین‌های طولانی‌مدت می‌باشد [۱۴].

PCL، پلی استری آب‌گریز، زیست تخریب‌پذیر، زیست سازگار، نیمه بلوری، انعطاف پذیر، از نظر پردازش ساده و آسان، غیرسمی، امتزاج پذیر با دیگر پلیمرها و سرامیک‌ها می‌باشد. PCL هنگامی‌که در محیط فیزیولوژیک بدن قرارمی‌گیرد، پیوند استری در آن به آب و دی اکسید کربن تجزیه شده که اثرات نامطلوبی بر متابولیسم سلولی ندارد [۱۵]. اطلاعات مختصری از این نوع پلیمر مصنوعی در جدول (۲) نشان داده شده است.

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

فرمول مولکولی	فرمول ساختاری	مکانیزم تخریب	نوع تخریب	دمای ذوب (°C)
$(C_6H_{10}O_2)_n$		هیدرولیز استر	سطح/ بالک	۶۰

ویرایش نشده

مواد زیستی برای ترمیم بافت استخوان

همانطورکه اشاره شد ساختار طبیعی استخوان از بخش‌های انعطاف‌پذیر و مستحکم تشکیل شده است، به همین دلیل مواد کامپوزیت پلیمر–سرامیکی برای بازسازی بافت استخوانی مناسب است. امروزه از پلیمرهای طبیعی مختلف مانند ژلاتین، ابریشم، آلژینات، کلاژن و کیتوزان و پلیمرهای مصنوعی از قبیل PCL، سرامیک های زیستی مانند هیدروکسی آپاتیت، بتا تری کلسیم فسفات و کربنات کلسیم استفاده می‌شود.

پلیمرهای طبیعی به علت زیست سازگاری، زیست‌تخریب پذیری و جذب بالای آب به عنوان داربست استفاده می‌شود. اما نرخ تخریب‌پذیری آهسته و آب‌گریز بودن پلیمرهای سنتزی مانند PCL، موجب شد تا به منظور بهبود خواص داربست مهندسی بافت ازکامپوزیت آنها ساخته شود. مطالعات اخیر نشان داد که تهیه داربست‌های مخلوطی از PCL و دیگر پلیمرهای طبیعی، خواص فیزیکی، بیولوژیکی و بطورخاص ظرفیت استخوان‌سازی را افزایش می‌دهد [۱]. در جدول (۳) خلاصه‌ای از کامپوزیت‌های الکتروریسی شده به‌منظور ترمیم بافت سخت گزارش شده است.

جدول ۳- کامپوزیت‌های مورداستفاده در مهندسی بافت استخوان و اطلاعات مربوط به پارامترهای الکتروریسندگی.

داربست‌های کامپوزیتی	حلال	ولتاژ (کیلوولت)	نرخ تغذیه (میلی لیتر/ساعت)	فاصله (سانتی‌متر)	میانگین قطر الیاف (نانومتر)	منبع
PCL/کربنات کلسیم	متانول/ کلروفرم	۲۰	۱	۱۳	۹۰۰-۷۶۰	[۱۷]
PCL/ هیدروکسی	متانول/ کلروفرم	۲۲-۱۵	۳-۱/۵	۱۵-۱۰	۱۲۰۰-۲۸۰	[۱۸]

ویرایش نشده

آپاتیت						
PCL/ ژلاتین/ هیدروکسی آپاتیت	تری فلوئورواتانول	۲۰	۲	۸	۴۵۰-۲۶۵	[۱۹]
PCL/ کلاژن/ هیدروکسی آپاتیت	متانول/ کلروفرم/ هگزافلوئورو پروپانول	۱۳	۱	۱۳	۵۷۹-۱۸۹	[۲۰]
PCL/ بتا تری کلسیم فسفات	دی کلرومتان	۵	۰/۶	۷/۵	۲۰۰۰-۲۰۰	[۲۱]
PCL/ پلی‌ال لاکتیک اسید/ هیدروکسی آپاتیت	دی کلرومتان/ دی متیل فرمامید	۱۹	۱	۱۵	۲۰۰-۱۰۰	[۲۲]
PCL/ سیلیکا	تری فلوئورواتانول/ سدیم دودسیل سولفات	۱۸-۲۲	۲	۲۰	۱۴۰۰-۱۰۰	[۲۳]
PCL/ آپاتیت	تری فلوئورواتانول	۱۸-۲۲	۲	۱۲	۴۳۰-۳۲۰	[۲۴]
PCL/ ژلاتین	تری فلوئورواتانول/ استیک اسید	۲۰	۳	۱۸	۶۰۰-۲۰۰	[۲۵]
PCL/ کیتوزان/ شیشه‌های زیست فعال	استیک اسید/ فرمیک اسید	۲۰	۰/۳	۱۲/۵	۱۰۰-۵۰	[۲۶]

ویرایش نشده

ویژگی داربست مهندسی بافت استخوان

زیست سازگاری عبارت است از توانایی مواد جهت ایجاد یک واکنش مناسب با بافت میزبان که به شدت بستگی به خلوص مواد دارد [۲۷]. بطورکلی داربست مهندسی بافت استخوان باید زیست سازگار باشد به‌گونه‌ایی‌که التهاب ایجاد نکند و رفتارهای سلولی مانند مهاجرت و تکثیر سلولی را ترقی بخشد [۵].

ویژگی دوم سرعت تخریب‌پذیری زیستی داربست‌های مهندسی بافت است بدین‌معنی‌که 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 و 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 بالکی به ترتیب برای حفظ استحکام داربست و افزایش چسبندگی سلولی ممکن است دنبال شود. در مورد 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 ۶۰-۷۰٪ و ۱۰۰-۳۵۰ میکرومتر می‌باشد [۱۵]. بطورکلی، حفرات به دو گروه تقسیم بندی می‌شوند:

۱- حفرات بسته: حفره‌هایی که به سطح داربست راهی ندارند.

۲- حفرات باز: حفره‌هایی که یک یا چند راه تا رسیدن به سطح دارند [۲۸]. عمدتا در داربست‌های مهندسی بافت، حفرات 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 روبشی نشان می‌دهد که اطراف حفرات ایجاد شده از نظر مورفولوژیکی تغییری قابل‌توجهی نداشتند (شکل. ۲) [۲۹].

شکل ۲- تخلخل ایجاد شده در داربست با پرتوی لیزر [۲۹].

تغییر اندازه حفره، بر خواص مکانیکی، رشد و تکثیر سلولی موثر خواهد بود درنتیجه به یک اندازه حفره بهینه نیاز داریم. اگر اندازه حفره در داربست خیلی زیاد باشد سلول‌ها بدون اینکه در رئوس 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 شده، درنتیجه میزان تکثیر و مهاجرت سلولی (به‌علت تجمع سلول‌ها در

ویرایش نشده

اطراف غشاء)، رشد بافت و توانایی رگ زایی مواد زیستی کاهش می‌یابد [۳۲]. از طریق تکنیک نانو/میکروالیاف (از دو پمپ سرنگ جداگانه و مستقل حاوی محلول پلیمری استفاده می‌شود) و تغییر در پارامترهای الکتروریسندگی و قطر الیاف، می‌توان اندازه حفره را افزایش داد. Thorvaldsson و همکاران روشی نوین برای ساخت داربست متخلخل از طریق نانوالیاف PCL الکتروریسی‌شده بر روی میکروالیاف پلی‌لاکتیک اسید استفاده کردند. داربست نانوالیاف پوشش داده شده بر میکروالیاف با تخلخل ۹۵٪ نشان داد که الیاف بصورت همگن توزیع شده‌اند همچنین اندازه منافذ ۱۰۰ میکرومتر و حتی بزرگتر، به راحتی به دست آمد که تراوش سلولی داربست را بهبود می‌دهد [۳۳].

داربست مهندسی بافت جهت مقاومت در برابر نیروهای مکانیکی و حمایت از بافت‌های اطراف در محیط بدن باید استحکام مناسب و نزدیک به بافت استخوانی را داشته باشد. خواص مکانیکی داربست مهندسی بافت برای انواع استخوان‌ها، متفاوت است [۱۴]. خواص مکانیکی الیاف الکتروریسی‌شده مانند استحکام کششی و تنش تسلیم با قطر آنها رابطه عکس دارد. بدین‌ترتیب با کاهش قطر الیاف می‌توان به این مهم دست پیدا کرد [۳۴]. از طرفی با استفاده از نانوذرات سرامیکی همچون کلسیم‌کربنات و آپاتیت می‌توان استحکام مکانیکی در داربست پلیمری را بهبود بخشید [۳۵]. غشاهای تقویت شده با نانوذرات، زمانی‌که در محیط فیزیولوژیک قرار می‌گیرند لایه‌ایی از هیدروکسی‌کربنات آپاتیت روی سطح آنها تشکیل شده که موجب بهبود رشد و تمایز سلول‌ها می‌شود [۳۶].

جهت‌گیری منظم و تصادفی الیاف الکتروریسی‌شده دیگر خصوصیت مهم در داربست‌ها می‌باشد که به نوع صفحه جمع‌کننده (چرخان یا ثابت) بستگی دارد. انواع جهت‌گیری الیاف را در شکل (۳) نشان داده شده است. آرایش منظم الیاف خواص مکانیکی داربست از جمله مدول یانگ و استحکام کششی نهایی را افزایش می‌دهد. از طرفی به‌دلیل شباهت داربست منظم با ساختار بافت طبیعی بدن به تولید ECM بیشتر کمک می‌کند [۳۷].

شکل ۳- جهت‌گیری مختلف از الیاف الکتروریسی‌شده [۳۷].

الکتروریسی مغناطیسی یکی از روش‌های ساده و مهم برای رسیدن به الیاف منظم می‌باشد. در این روش ابتدا مقدار کمی از نانوذرات مغناطیسی مانند Fe_3O_4 به محلول پلیمری اضافه می‌شود سپس با ایجاد میدان مغناطیسی توسط دو آهنربا در طرفین صفحه جمع‌کننده نانوالیاف آرایش‌یافته شکل می‌گیرد. میزان آرایش‌یافتگی در الکتروریسی مغناطیسی بیشتر از سایر روش‌ها بوده همچنین می‌توان داربست‌هایی با ساختار پیچیده تولید نمود [۳۸].

ویرایش نشده

داربست‌های الکتروریسی‌شده به منظور بازسازی بافت استخوان

Antonio و همکاران داربستی از PCL و نانوذرات سیلیکا تهیه کردند. مورفولوژی داربست‌های PCL- نانوذرات سیلیکا، الیافی صاف با جهت‌گیری تصادفی داشتند. افزودن ذرات در غلظت‌های زیاد موجب کلوخه‌شدن و کاهش قطر و توزیع قطری الیاف شد. در مقابل مدول کششی از ۹/۵ به ۱۳/۵ مگاپاسکال افزایش یافت. کلوخه‌شدن سیلیکا خواص داربست را تغییر می‌دهد بطوری‌که مدول کششی و استحکام کششی در نمونه ۷۵٪ سیلیکا به کمترین مقدار حتی کمتر یا مشابه نمونه PCL خالص رسیده است [۲۳]. در تحقیق دیگری که توسط Bianco و همکاران انجام شد نشان می‌دهد که حضور غلظت‌های بالای هیدروکسی آپاتیت در محلول پلیمری، گرانروی و هدایت الکتریکی نمونه‌ها را افزایش داده و موجب کلوخه شدن و ناهمگنی الیاف الکتروریسی می‌گردد همچنین خواص مکانیکی نانوالیاف در نمونه‌های حاوی ۲، ۴ و ۶ درصد استحکام داربست تغییر چشمگیری نداشته است اما با افزایش بیشتر جزء دوم به‌علت ساختار ناهمگن و غیر یکنواخت الیاف کاهش فاحشی داشته است [۱۶].

Yang و همکاران ذرات آپاتیت را به پلیمر زیستی افزودند. تحقیقات انجام شده نشان داد که خواص مکانیکی و رفتارهای سلولی در نمونه ۲۵٪ آپاتیت بیشتر از نمونه ۵۰٪ بوده است [۲۴].

ترشوندگی سطحی یکی از خواص فیزیکی مهم در داربست الکتروریسی‌شده می‌باشد که به‌طورمستقیم روی فعالیت‌های سلولی تاثیر می‌گذارد. در تحقیقی که توسط Hassan و همکاران انجام گرفت نشان دادند که زاویه تماس آب در نمونه PCL-هیدروکسی آپاتیت در مقایسه با PCL سیر نزولی داشته و میزان آب‌دوستی در الیاف کامپوزیت شده به دلیل خاصیت ترشوندگی بالای فاز کلسیم فسفات افزایش یافته است [۱۸]. Ren و همکاران کامپوزیتی از PCL/ ژلاتین به کمک الکتروریسی ساختند. حضور ژلاتین منجر به بهبود جذب آب و متعاقب آن افزایش زیست پذیری سلول‌های استئوبلاست را به‌دنبال داشت ولی استحکام کامپوزیت در مقایسه با نمونه خالص کاهش یافت [۲۵].

ازسوی دیگر، آنالیز حرارتی داربست به‌منظور ارزیابی خواص فیزیکی-شیمیایی داربست اهمیت دارد. Liverani و همکاران، خواص حرارتی نانوالیاف را به کمک ترموگراویمتری بررسی و بیان کردند که حضور کیتوزان خواص حرارتی PCL خالص را تحت تاثیر قرارمی‌دهد. نتایج آزمون حرارتی به‌دست آمده از نمونه‌های PCL خالص، PCL-کیتوزان و PCL-کیتوزان-شیشه‌های فعال زیستی نشان داد تمامی نمونه‌ها در دماهای متفاوتی ۵۰ درصد وزن خود را کاهش دادند. PCL خالص بالاترین مقدار را حدود ۴۰۰ درجه سانتی گراد نشان داد. این مقدار برای نمونه دوجزئی و سه جزئی کاهش یافت که احتمالا به‌دلیل کلوخه شدن ذرات، خواص حرارتی

ویرایش نشده

داربست تغییر کرده است [۲۶]. Shalumon و همکاران پایداری حرارتی دو گروه از نمونه‌های الکتروریسی‌شده PCL-کیتوزان حاوی نانوذرات شیشه‌های فعال زیستی و هیدروکسی آپاتیت را بررسی کردند (شکل. ۴). افزایش غلظت نانوذرات دمای تجزیه را کاهش می‌دهد (تخریب در دمای پایین‌تری اتفاق می‌افتد). نمونه‌های ۰٪ و ۱/۵٪ وزنی شیشه به‌علت دارا بودن ساختاری همگن و فاقد تجمع یافتگی نانوذرات در داربست تقریبا مشابه همدیگر و متفاوت با نمونه ۳ درصد وزنی گزارش شد از طرفی چسبندگی و تکثیر سلولی مناسب‌تری در داربست‌های ۳٪ ذرات سرامیکی به‌دلیل بهبود آب‌دوستی و جذب آب بیشتر مشاهده شد [۳۹].

شکل(۴) نمودار آنالیز حرارتی از نمونه‌های PCL-کیتوزان حاوی الف) ۰٪ ب) ۱/۵٪ ج) ۳٪ وزنی شیشه‌های زیستی [۳۹].

بررسی‌های کشت سلول‌های استئوبلاست روی داربست حاوی کلسیم‌کربنات تعلق و چسبندگی سلول‌ها و تعامل مطلوب الیاف با سلول را تایید کرد. درنتیجه گرانول‌هایی که بیانگر فرآیند معدنی شدن می‌باشد روی سطح سلول یافت شد. از این رو، این کامپوزیت کاندید مناسبی برای کاربردهای ترمیم بافت استخوان است [۱۷].

حیدری و همکاران دریافتند که تعداد سلول‌های استئوبلاست بیشتری روی داربست PCL/اکتاکلسیم فسفات نسبت به نمونه پلیمر خالص زنده ماندند. درنتیجه داربست کامپوزیتی رشد سلولی را ارتقاء می‌بخشد و از طریق جذب کلسیم بیشتر به سلول‌های استخوانی منجر به ترمیم هر چه بیشتر استخوان می‌شود [۲۲].

تجزیه و تحلیل مورفولوژیکی سلول‌های بنیادی جنینی کشت داده شده روی داربست PCL/ هیدروکسی آپاتیت نشان داد که رشد کمتری از سلول‌ها در مقایسه با نمونه بدون داربست مشاهده شد که ممکن است به‌علت عدم لانه گزینی سلول‌ها باشد. از طرفی دیگر تکثیر سلولی در نمونه حاوی نانوذرات ضعیف‌تر از دیگر نمونه‌ها گزارش شد [۱۶].

زبری سطح یکی از عوامل مهم و تاثیرگذار در واکنش بین سلول و داربست‌های مهندسی بافت و تغییر رفتار سلولی می‌باشد. زبری نانومتری سوبسترا به‌دلیل شباهت آن با ECM طبیعی بدن، منجر به افزایش جذب پروتئین‌هایی همچون فیبرونکتین، ویترونکتین می‌شود و تکثیر و زیست پذیری سلولی را افزایش می‌دهد. تعیین ناهمواری سطح به نوع سلول، مواد داربست و بافت موردنظر بستگی دارد که می‌توان با تغییر پارامترهای دستگاه الکتروریسی به مقدار بهینه دست پیدا کرد [۴۰]. همانطورکه در شکل (۵) می‌بینیم سطح ناهموار و متخلخل نسبت به سطح صاف، مساحت رویه‌ای بیشتری را ایجاد می‌کند که فرایندهای اتصال و مهاجرت سلولی را نیز فراهم خواهد کرد. همچنین ناهمواری‌های کوچک، عملکرد بیولوژیکی داربست را در محیط بدن بهبود می‌بخشد [۴۱].

ویرایش شده

شکل(۵) شماتیکی از رفتار بین سلول و ناهمواری سطح در داربست مهندسی بافت [۴۱].

Song و همکاران بیان کردند افزودن گرافن اکساید به‌دلیل افزایش هدایت الکتریکی محلول موجب کاهش قطر الیاف و زبری سطحی کامپوزیت PCL-گرافن اکساید شده است. پس از قرارگیری سلول‌های مزانشیمی روی نانوالیاف، میزان تکثیر سلول‌ها در نمونه‌های ۰/۱٪ نسبت به ۱٪ ماده سرامیکی در اثر زبری سطحی بالاتر (اختلاف درحدود ۱۰۰ نانومتر) به شدت افزایش یافت. البته غیریکنواختی الیاف در نمونه ۱٪ بر روی رفتار سلولی بی‌تاثیر نبوده است [۴۲].

نتیجه‌گیری

انتخاب مواد، روش ساخت داربست و نوع سلول مناسب فاکتورهای کلیدی در موفقیت مهندسی بافت است. پلیمرها، سرامیک‌ها و کامپوزیت پلیمر/سرامیک در تهیه و ساخت داربست‌ها استفاده می‌شوند. الیاف الکتروریسی‌شده برپایه PCL به‌دلیل خواص منحصر به فردش نسبت به PLA و PGA بطورگسترده‌ای در مهندسی بافت استخوان کاربرد دارند. غشای ایده‌آل باید زیست سازگار، زیست تخریب‌پذیر، مستحکم بوده 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 پلی‌کاپرولاکتون اضافه می‌کنند. البته بکارگیری غلظت‌های زیاد از سرامیک‌ها موجب کلوخه‌شدن ذرات و کاهش خواص مکانیکی داربست می‌شود. از طرفی دیگر، جذب بالای آب، تعامل سلول با الیاف را ترویج می‌بخشد. بطورکلی داربست‌های کامپوزیتی خواص بهتر و مناسب‌تری نسبت به نمونه‌های خالص داشتند. ارزیابی‌ها برای هرچه بهتر کردن خواص داربست‌ها و نزدیک سازی آن با شرایط بدن ادامه دارد.

ویرایش نشده

منابع

[1] Balagangadharan K., Dhivya S., and Selvamurugan N., Chitosan Based Nanofibers in Bone Tissue Engineering, *Inter. J. Biol. Macromol.*, **104**, 1372-1382, 2017.

[2] Nyary T. and Scammell B.E., Principles of Bone and Joint Injuries and Their Healing, *Surgery.*, **33**, 7-14, 2015.

[3] 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.

[4] 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.

[5] Murugan A., and Ramakrishna S., Design Strategies of Tissue Engineering Scaffolds with Controlled Fiber Orientation, *Tissue. Eng.*, **13**, 1845-1866, 2007.

[6] Puppi D., Chiellini F., Piras A.M., and Chiellini E., Polymeric Materials for Bone and Cartilage Repair, *Prog. Polym. Sci.*, **35**, 403–440, 2010.

[7] 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.

[8] Liu X., and Ma P.X., Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering, *Ann. Biomed. Eng.*, **32**, 477-486, 2004.

[9] Beachley V. and Wen X., Polymer Nanofibrous Structures: Fabrication, Biofunctionalization, and Cell Interactions, *Prog. Polym. Sci.*, **35**, 868–892, 2010.

[10] Holzwarth J.M. and Ma P.X., Biomimetic Nanofibrous Scaffolds 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 Electrospraying Techniques, *Mater. Sci. Eng., C.*, doi: 10.1016/j.msec.2017.11.007, 2017.

[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(ε-caprolactone)/Ca-Deficient Hydroxyapatite Nanohybrids: Microstructure, Mechanical Properties and Cell Response by Murine Embryonic Stem Cells, *Mater. Sci. Eng. C.*, **29**, 2063–2071, 2009.

ویرایش شده

[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., Walboo-mers 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.*, **93**A, 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] Erisken C., Kalyon D.M., and Wang H., Functionally Graded Electrospun Polycaprolactone and β-Tricalcium Phosphate Nanocomposites for Tissue Engineering Applications, *Biomaterials.*, **29**, 4065–4073, 2008.

[22] Heydari Z., Mohebbi-Kalhori 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 Monique., 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. Biomaterialia.*, **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, *Bioactive 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] *Designing and Modeling Pore Size Distribution in Tissue Scaffolds,* Elsayed Y., and Lekakou C., in: Tomlins Paul (Ed.), Characterisation Des. Tissue Scaffolds, Woodhead Publishing, 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(ε-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 Electrospun 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 $CaCO_3$ 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.

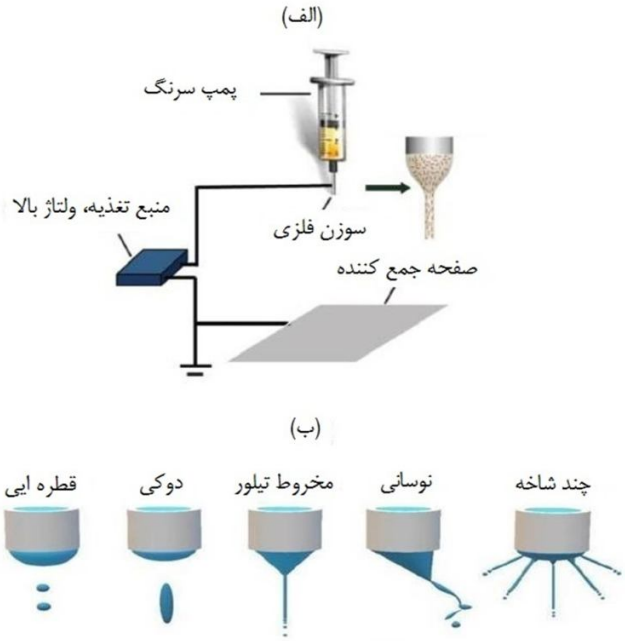
[37] Lee C.H., Shina H.J., Choa I.H., Kanga Y.M., Kima I.A., Parkb K.D., and Shin J.W., Nanofiber Alignment and Direction of Mechanical Strain Affect the ECM Production of Human ACL Fibroblast, *Biomaterials.*, **26**, 1261–1270, 2005.

ویرایش شده

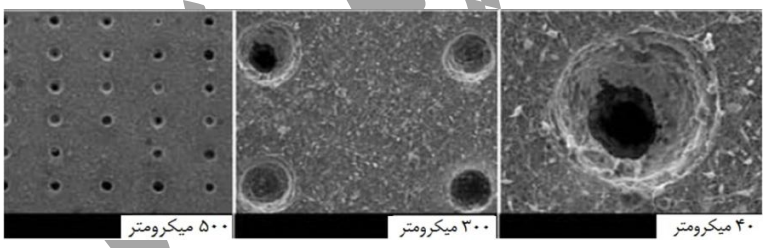
[38] Yang D., Lu B., Zhao Y., and Jiang X., Fabrication of Aligned Fibrous Arrays by Magnetic Electrospinning, *Adv. Mater.*, **19**, 3702–3706, 2007.
[39] Shalumon K.T., Sowmya S., Sathish D., Chennazhi K.P., Nair S.V., and Jayakumar R., Effect of Incorporation of Nanoscale Bioactive Glass and Hydroxyapatite 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.

ویرایش نشده

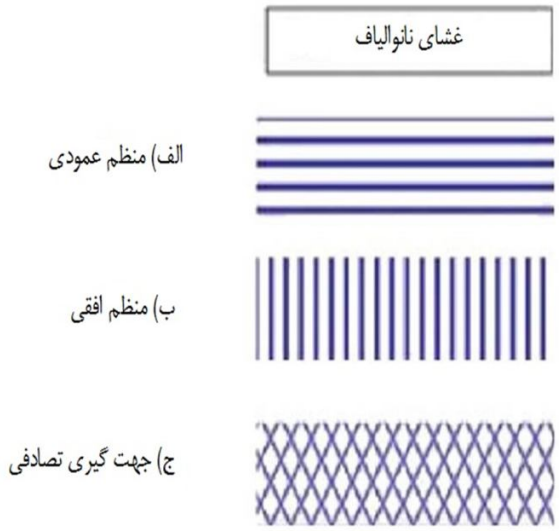
شکل ۱


(الف)
پمپ سرنگ
منبع تغذیه، ولتاژ بالا
سوزن فلزی
صفحه جمع کننده
(ب)
قطره ایی
دوکی
مخروط تیلور
نوسانی
چند شاخه

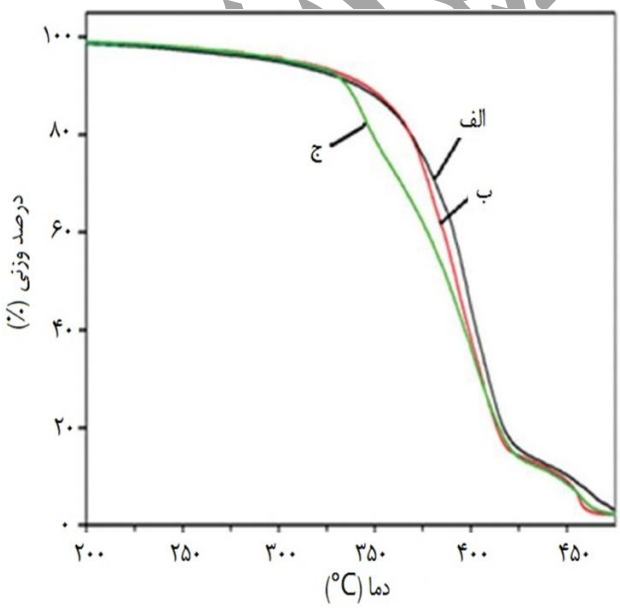
شکل ۲


۵۰۰ میکرومتر
۳۰۰ میکرومتر
۴۰ میکرومتر

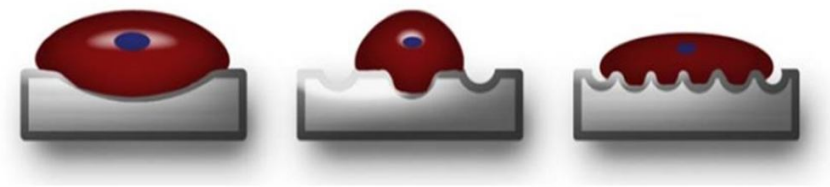
شکل ۳


غشای نانوالیاف
الف) منظم عمودی
ب) منظم افقی
ج) جهت گیری تصادفی

شکل ۴


۱۰۰
۸۰
۶۰
۴۰
۲۰
۰
درصد وزنی (٪)
۲۰۰
۲۵۰
۳۰۰
۳۵۰
۴۰۰
۴۵۰
دما (°C)
الف
ب
ج

شکل ۵



ویرایش نشده