Review Article

Polymerization
Quarterly, 2021
Volume 11, Number 2
Pages 31-41
ISSN: 2252-0449

Application of Electrospun Nanofibers in Tissue Engineering: Scaffolds with Sustained Release of Growth Factors

Mahya Baradaran, Ameneh Seddighian, and Fariba Ganji*

Biomedical Engineering Group, Chemical Engineering Faculty, Tarbiat Modares University, P.O. Box 14155-143, Tehran, Iran

Received:12 November 2020, Accepted: 19 January 2021

Abstract

Tissue engineering, a novel therapeutic approach in which three important factors of cells, molecule signals, and scaffolds play an important role. Today, tissue engineering scientists use nanofibrous scaffolds to treat various diseases and to regenerate and place different body tissues in order to mimic the structure of natural tissue and as a solution for the development of tissue engineering scaffolds. For this purpose, electrospinning is usually selected from all available methods, which is a simple and cost-effective method for fabrication of these structures, that make possible the production of micro-nanofibers with a wide range of composition and forms. In addition, by using a variety of biomolecules and growth factors along with these fibers, cellular response and therapeutic efficiency can be improved in tissue engineering processes. It also controlled and guided the process well in the target tissue by selecting the appropriate method for loading these molecules. In addition, by using various types of incorporated biomolecules and growth factors in these fibers, cell response and therapeutic efficiency can be improved in tissue engineering processes. It also controlled and conducted the process in the target tissue by selecting the appropriate method for molecule loading. Although loading controlled delivery of growth factors still faces many challenges, electrospun fibers can be a breakthrough for the targeted and controlled transfer of drugs and growth factors in tissue engineering, that use as release scaffolds in the engineering and medical sciences.

Key Words

electrospinning,
tissue engineering,
controlled delivery,
scaffold,
growth factor

(*) To whom correspondence should be addressed.
E-mail: fganji@modares.ac.ir

مقاله مروری

کاربرد نانوالیاف الکتروریسی‌شده در مهندسی بافت: داربست‌هایی با رهایش آهسته عامل‌های رشد

بسپارش
فصلنامه علمی
سال یازدهم، شماره ۲
صفحه ۴۱-۳۱، ۱۴۰۰
ISSN: 2252-0449

محیا برادران، آمنه صدیقیان، فریبا گنجی*
تهران، گروه مهندسی زیست‌پزشکی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس،
صندوق پستی ۱۴۳-۱۴۱۵۵

دریافت: ۱۳۹۹/۸/۲۲، پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۳۰

چکیده

مهندسی بافت، یک رویکرد نوین درمانی است که در آن سه عامل سلول، محرک‌های مولکولی و داربست نقش مهمی دارند. امروزه پژوهشگران مهندسی بافت، برای درمان بیماری‌های مختلف و بازتولید و جای‌گذاری انواع بافت‌های بدن، از داربست‌های نانولیفی به‌منظور تقلید از ساختار بافت طبیعی و به‌عنوان راه حلی برای پیشرفت و توسعه داربست‌های مهندسی بافت، استفاده می‌کنند. بدین منظور، از میان تمام روش‌های موجود، معمولا الکتروریسی انتخاب می‌شود که روش آسان و مقرون به‌صرفه‌ای برای تولید این سازه‌هاست. زیرا، تنوع و سازه‌های دستگاهی این فرایند، تولید میکرو-نانوالیاف را با گستره وسیعی از ترکیب و شکل امکان‌پذیر می‌سازد. افزون بر این، با استفاده از انواع مولکول‌های زیستی و عامل‌های رشد به‌همراه این الیاف، می‌توان پاسخ سلولی و بازدهی درمانی را در فرایندهای مهندسی بافت ارتقا داد. همچنین، با انتخاب روش مناسب برای بارگذاری این مولکول‌ها، فرایند را در بافت مدنظر به‌خوبی کنترل و هدایت کرد. اگرچه انتقال و رهایش کنترل‌شده عامل‌های رشد هنوز با چالش‌های بسیاری مواجه است، اما الیاف الکتروریسی‌شده می‌توانند روزنه پیشرفتی برای انتقال هدفمند و کنترل‌شده داروها و عامل‌های رشد در مهندسی بافت باشند که به‌عنوان داربست‌های رهایش در علوم پزشکی و مهندسی، استفاده می‌شوند.

محیا برادران

آمنه صدیقیان

فریبا گنجی

واژگان کلیدی

الکتروریسی،
مهندسی بافت،
رهایش کنترل‌شده،
داربست،
عامل رشد

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:
fganji@modares.ac.ir

مقدمه

داربست‌های زیست‌تخریب‌پذیر از اساسی‌ترین بخش‌های مهندسی بافت هستند. این داربست‌ها، چارچوب اولیه را برای چسبیدن، تکثیر و تمایز سلول‌ها و ایجاد ماتریس برون‌یاخته‌ای (extracellular matrix, ECM) فراهم می‌کنند. همچنین، وظیفه حمل سلول، عامل‌های رشد یا سیگنال‌های مولکول‌های زیستی را در محل پیوند ایفا می‌کنند. در بافت طبیعی، کوچک‌تربودن ساختار پروتئین‌های ECM در مقایسه با سلول، موجب می‌شود تا سلول در تماس مستقیم با الیاف ECM باشد و نوعی ساختار سه‌بعدی فراهم آورد. این ویژگی در موفقیت یا عدم موفقیت سازه‌های مهندسی بافت نیز اهمیت دارد. از این رو، پژوهشگران مهندسی بافت به فناوری نانو، به‌ویژه نانوالیاف، به‌عنوان راه حلی برای توسعه داربست‌های مهندسی بافت روی آورده‌اند. در حال حاضر، نانوالیاف پلیمری با توجه به جنس، شکل و اندازه نهایی می‌توانند با چند روش از قبیل روش طراحی (کشیدن)، سنتز قالب، جدایش فازی، خودگردایش مولکولی و الکتروریسی تهیه شوند [۱]. با توجه به لزوم وجود عامل‌های رشد در کنار سلول‌ها، رویکرد جدیدی با عنوان داربست‌های رهایش در مهندسی بافت مطرح شده است [۲]. این داربست‌ها با انتقال موضعی عامل‌های محرک تمایزی، فرایند تشکیل بافت را در شرایط درون‌تنی سرعت می‌بخشند. همچنین، نیاز به مقدار زیاد مولکول‌های زیستی را در مقایسه با تزریق مستقیم بسیار کم می‌کنند. در این مقاله، الکتروریسی به‌عنوان روشی برای ساخت داربست‌های مهندسی بافت و انواع روش‌های بارگذاری مولکول‌های زیستی در آن‌ها بررسی می‌شود.

الکتروریسی

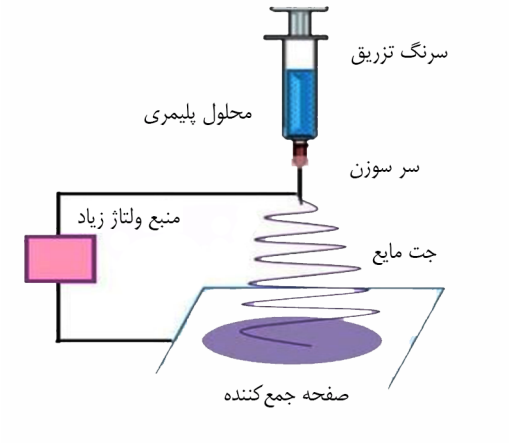
از میان روش‌های تولید نانوالیاف، الکتروریسی به‌دلیل سادگی فرایند، مقرون به‌صرفه‌بودن و امکان تولید نانوالیافی با گستره وسیعی از ترکیب و شکل‌شناسی، برای آماده‌سازی نانوالیاف چه در مقیاس آزمایشگاهی و چه در مقیاس صنعتی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است [۳،۴].

یک دستگاه الکتروریسی معمولی از چهار جزء اصلی تشکیل شده است (شکل ۱):

۱- پمپ سرنگ، سرعت خوراک‌دهی محلول پلیمری را کنترل می‌کند که باید الکتروریسی شود.

۲- یک سوزن که از طریق آن محلول در میدان الکتریکی قوی قرار می‌گیرد.

۳- منبع ولتاژ که محلول پلیمری تحت میدان حاصل از آن



شکل ۱- نمای کلی از فرایند الکتروریسی و اجزای آن.

به‌شکل الیاف درمی‌آید.

۴- یک جمع‌کننده که الیاف الکتروریسی‌شده به‌طور پایا یا پویا روی آن جمع می‌شوند.

زمانی که ولتاژ بسیار زیاد اعمال می‌شود، قطره محلول پلیمری در سر سوزن تمایل دارد، شکل مخروطی معروف به مخروط تیلور را با توجه به تنش سطحی مایع و نیروی میدان الکتریکی تشکیل دهد. به محض گذشتن میدان الکتریکی از آستانه مشخص، نیروی الکتریکی بر تنش سطحی و نیروی گرانروکشسان قطره پلیمری غلبه می‌کند. این حالت، موجب تشکیل جت بارداری از سر مخروط تیلور شده و سپس جت به‌شکل لیف پیوسته بسیار باریک افشانده می‌شود. حلال در فاصله رسیدن به جمع‌کننده تبخیر شده و درنهایت الیاف پلیمری جامد روی جمع‌کننده تشکیل می‌شود. بسته به کاربرد این الیاف، شکل‌های مختلفی از جمع‌کننده همچون صفحه ساکن، استوانه چرخان و غیره استفاده می‌شود. صفحه ساکن می‌تواند موجب تشکیل الیاف نامنظم و تصادفی شود و جمع‌کننده چرخان معمولا الیاف منظم را تشکیل می‌دهد [۵]. الیاف الکتروریسی‌شده تحت تأثیر عامل‌های متفاوتی قرار دارند که به‌طور کلی آن‌ها را می‌توان به سه دسته عامل های مربوط به محلول پلیمری و دستگاه و عامل‌های محیطی تقسیم کرد. جدول ۱، اثر هر یک از این عامل‌ها را بر الیاف تشکیل‌شده ارائه می‌کند.

روش‌های بارگذاری مولکول‌های زیستی

به‌طور عمومی، مولکول‌های زیستی می‌توانند به‌طور مستقیم از نانوالیاف یا سامانه‌های جداگانه اضافه‌شده به داربست، یعنی میکرو-نانوذرات رهایش یابند. در این سامانه‌ها، داربست

جدول ۱- عامل‌های اثرگذار بر الیاف حاصل از الکتروریسی.

عامل‌های مربوط به خواص محلول	تأثیر
گرانروی	با افزایش غلظت، قطر الیاف افزایش می‌یابد.
رسانندگی	با افزایش رسانندگی محلول، قطر الیاف کاهش می‌یابد.
فراریت حلال	با افزایش میزان فراریت حلال، حفره‌هایی روی سطح الیاف ایجاد می‌شود که سطح دردسترس را افزایش می‌دهد.
عامل‌های فرایندی	**تأثیر**
ولتاژ اعمالی	قطر الیاف با افزایش ولتاژ، ابتدا کاهش و سپس افزایش می‌یابد.
فاصله بین جمع‌کننده و نازل	با افزایش فاصله، قطر الیاف کاهش می‌یابد. در فاصله‌های بسیار نزدیک یا بسیار دور، دانه‌هایی روی الیاف تشکیل می‌شود.
سرعت خوراک‌دهی	با کاهش سرعت جریان، قطر الیاف کاهش می‌یابد. در سرعت‌های زیاد جریان، دانه‌هایی روی الیاف تشکیل می‌شود.
عامل‌های محیطی	**تأثیر**
رطوبت	در رطوبت‌های زیاد، حفره‌های کروی روی الیاف تشکیل می‌شود.
دما	با افزایش دما، الیاف با قطرهای کوچک‌تر ایجاد می‌شود.

الکتروریسی‌شده تنها به‌عنوان یک ساختار پشتیبان عمل می‌کند. در شکل ۲، دسته‌بندی روش‌های رایج بارگذاری در داربست‌های الکتروریسی‌شده نشان داده شده است.

بارگذاری روی سطح داربست

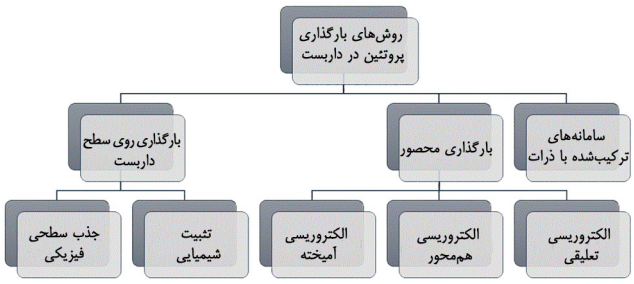
جذب سطحی فیزیکی

ساده‌ترین راه برای بارگذاری مولکول‌های زیستی در داربست‌های الکتروریسی‌شده، غوطه‌وری داربست در محلول آبی حاوی این مولکول‌هاست. در این روش، مولکول‌ها می‌توانند به حالت محلول خالص یا امولسیون باشند و با نیروهای الکتروستاتیکی به داربست متصل شوند.

نانوالیاف به‌خاطر مساحت سطحی بزرگ‌تر، مقدار بیشتری از عامل‌های رشد را نسبت به سایر داربست‌های کنترل می‌توانند جذب کنند. البته جذب سطحی اغلب شامل برهم‌کنش‌های الکتروستاتیکی، پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های آب‌گریز پروتئین‌ها و داربست است که به تغییر آرایش فضایی پروتئین و ازدست‌رفتن زیست‌فعالی آن منجر می‌شود [۶]. این روش به‌ندرت برای بارگذاری پروتئین‌ها روی داربست‌ها استفاده می‌شود، چرا که نیم‌رخ کنترل‌ناپذیر و انفجاری دارد [۷]. به‌طور مثال، در پژوهش Nie و همکاران، رهایش BMP-2 جذب‌شده بر داربست PLGA در طول ۵ day به ٪۷۵ رسید و رهایش کامل، تقریبا در طول ۲۰ day رخ داد. این سرعت رهایش خیلی بیشتر از سرعت رهایش همان مقدار پروتئین بارگذاری‌شده در داربست PLGA با استفاده از الکتروریسی آمیخته است [۸].

تثبیت شیمیایی

عامل‌های زیست‌فعال می‌توانند با تثبیت شیمیایی روی نانوالیاف قرار گیرند و با قطع پیوندهای اتصالی رهایش یابند. این رویکرد اغلب برای بهبود خواص سطحی نانوالیاف الکتروریسی‌شده، استفاده می‌شود. اما برخی از پژوهشگران از این روش برای انتقال پروتئین‌ها و دست‌یابی به نیم‌رخ رهایش کنترل‌شده پروتئین‌ها



شکل ۲- دسته‌بندی روش‌های رایج بارگذاری پروتئین در داربست الکتروریسی‌شده.

استفاده می‌کنند [۷]. برای تثبیت شیمیایی مولکول‌های زیستی بر سطح نانوالیاف الکتروریسی‌شده باید اصلاحات شیمیایی انجام شده تا گروه‌های عاملی فعال ایجاد شود. از جمله روش‌های اصلاح سطح می‌توان به اصلاح با پلاسما، ترکردن شیمیایی یا پلیمرشدن پیوندی اشاره کرد. از آنجا که مولکول‌ها به‌طور هم‌آرا به سطح متصل شده‌اند، به‌آسانی از سطح اصلاح‌شده نانوالیاف جدا نمی‌شوند. در این روش، سرعت رهایش مولکول‌های زیستی را می‌توان با استفاده از آنزیم‌های خارجی کنترل کرد [۷]. در کاربردهای مهندسی بافت معمولا تثبیت شیمیایی مولکول‌ها نسبت به جذب فیزیکی مطلوب‌تر است.

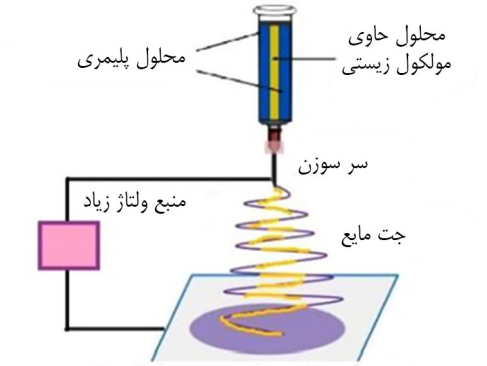
Choi و همکاران برای درمان زخم‌های دیابتی با تولید نانوالیاف کوپلیمر پلی‌کاپرولاکتون و پلی‌اتیلن گلیکول با گروه‌های آمین فعال روی سطح، عامل رشد پوستی (EPG) را به‌صورت شیمیایی تثبیت کردند. نتایج آزمون درون‌تنی حاکی از عملکرد بهتر در ترمیم زخم این نانوالیاف نسبت به محلول EGF و سایر گروه‌های کنترل بود [۹].

تثبیت هم‌آرا به‌خاطر پیچیدگی‌های آن، روش معمولی برای انتقال پروتئین‌ها از داربست‌های الکتروریسی نیست. افزون بر این برخی پژوهشگران معتقدند، داربست در حین فرایندهای اصلاح سطح ممکن است، یکنواختی را از دست بدهد که این مسئله می‌تواند بر خواص مکانیکی داربست اثر بگذارد [۷]. Aguirre و همکاران موفق به ساخت اسکلتی از کلاژن به‌همراه الاستین با روش الکتروریسی تثبیت شیمیایی شدند. برتری این پژوهش، افزایش فعالیت زیستی این اسکلت با افزایش خواص فیزیکی و مکانیکی نسبت به سایر روش‌های ساخت است که باعث ایجاد قابلیت بسیار زیادی برای کاربرد در حوزه مهندسی بافت می‌شود [۱۰]. در پژوهشی، Deliormanl و همکاران زیست‌شیشه فعال و هیدروکسی آپاتیت را به ماتریس پلی‌کاپروکتون (PCL) با روش الکتروریسی تثبیت شیمیایی کردند و الیاف نانوکامپوزیتی تشکیل یافت [۱۱]. در بررسی نتایج دیده شد، درصد تخلخل، زاویه تماس و فعالیت زیستی ماتریس PCL با افزایش مقدار مواد اضافه‌شده، افزایش می‌یابد. همچنین مطالعات درون‌تنی نشان داد، این الکتروریسی ماتریس در مقایسه با سایر روش‌های ساخت، قابلیت بسیار خوبی در جوش‌دهی استخوان شکسته، شبیه‌سازی بافت استخوانی و استفاده به‌عنوان پوشش استخوان دارد [۱۱].

بارگذاری محصور

الکتروریسی آمیخته

در الکتروریسی آمیخته، مولکول‌های زیستی در محلول پلیمری



شکل ۳- نمایی از الیاف حاصل از الکتروریسی آمیخته.

مخلوط می‌شوند. سپس، مخلوط در فرایند الکتروریسی برای ساخت داربست ترکیبی استفاده می‌شود (شکل ۳) [۱۲]. از آنجا که در این روش، مولکول‌ها درون الیاف داربست قرار می‌گیرند، به‌نظر می‌رسد، نیم‌رخ رهایش پایدارتری را در مقایسه با جذب سطحی فیزیکی داشته باشند [۷]. اگرچه الکتروریسی آمیخته روش ساده‌ای به‌نظر می‌رسد، اما با مشکل ازدست‌رفتن فعالیت مولکول‌های گنجانده‌شده روبه‌رو است. این مسئله، به‌ویژه برای پروتئین‌ها مشکل‌ساز است. چرا که فعالیت زیستی پروتئین‌ها به‌خاطر تغییر آرایش فضایی آن‌ها در محلول‌های آلی از دست می‌رود. از سوی دیگر، پروتئین‌های محدودی می‌توانند به‌خوبی درون محلول پلیمری پخش شوند [۶].

در مطالعات انجام‌شده، روش‌های مختلفی برای ارتقای پایداری پروتئین به‌کار برده شده است. یک روش، استفاده از ترکیبات نمکی برای ارتقای حل‌پذیری پروتئین در حلال‌های آلی است. Li و همکاران ترکیب لیزوزیم-اولئات را استفاده کردند. نتایج آن‌ها نشان داد، ٪۹۰ از فعالیت لیزوزیم رهایش‌یافته حفظ شده است [۱۲].

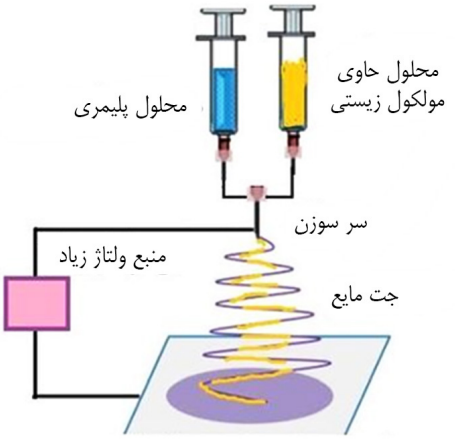
یکی از نیم‌رخ‌های رایج رهایش پروتئین از داربست‌های الکتروریسی‌شده به روش آمیخته، رهایش انفجاری اولیه و به‌دنبال آن، رهایش پایدار نزدیک به خطی است. رهایش انفجاری بدون توجه به نوع پلیمر استفاده‌شده برای ساخت داربست معمولا در h ۲۴ اولیه رخ می‌دهد [۱۳]. این رهایش انفجاری ممکن است، به‌خاطر مهاجرت پروتئین در حین خشک‌کردن و مرحله ذخیره‌سازی باشد که کسر مشخصی از مولکول‌های پروتئین را نزدیک سطح الیاف قرار می‌دهد. البته حل‌پذیری زیاد و ضریب توزیع پروتئین‌های گنجانده‌شده نیز می‌تواند موجب رهایش سریع از طریق مسیرهای کوتاه نفوذ شود. اضافه‌کردن افزودنی‌های آب‌دوست مانند ذرات هیدروکسی آپاتیت و پلی‌اتیلن گلیکول

(PEG)، آب‌دوستی داربست را ارتقا می‌بخشد. بنابراین، مقدار جذب آب داربست و همین‌طور رهایش پروتئین از آن افزایش می‌یابد [۷].

جهانمردی و همکاران انواع نانوالیاف‌های ساخته‌شده از پلیمرهای سنتزی را با بارگذاری دارو بررسی کردند که بعضی زیست‌تخریب‌پذیر و برخی زیست‌تخریب‌ناپذیر بودند. آن‌ها نشان دادند، در حالت نانوالیاف آمیخته نسبت به حالت هسته-پوسته و سه‌لایه، به‌دلیل قرارگیری دارو در تمام لایه‌های نانوالیاف، رهایش آن سریع‌تر است. بدین منظور، از پلی‌کاپرولاکتون در ترکیب با سایر پلیمرهای سنتزی برای رهایش دارو استفاده شد. نانوالیاف آمیخته نسبت به سه‌لایه و هسته-پوسته به‌علت پراکنش دارو در سرتاسر شبکه الیافی، رهایش اولیه سریع ٪۹۰ را در ۴ h اولیه نشان داد، در حالی که نانوالیاف هسته-پوسته در ابتدا یک رهایش اولیه و سپس رهایش پیوسته (در حدود ۴ day تا ۷ day) داشته است [۱۴].

الکتروریسی هم‌محور

الکتروریسی هم‌محور یکی دیگر از روش‌های توسعه‌یافته برای انتقال عامل‌های رشد است. Sun و همکاران نخستین بار این روش را استفاده و معرفی کردند. در الکتروریسی هم‌محور، دو محلول یعنی محلول‌های پلیمری و زیستی به‌طور هم‌محور و هم‌زمان از طریق کانال‌های خوراک‌دهی متفاوت از یک سوزن، الکتروریسی می‌شوند تا نانوالیاف کامپوزیت با ساختار پوسته-هسته تولید شوند [۱۵،۱۶]. الکتروریسی هم‌محور (شکل ۴) فرایندی پویاست و عامل‌های زیادی مثل سرعت خوراک‌دهی سیال داخلی و خارجی،



نانوالیاف‌های حاوی مولکول زیستی

شکل ۴- نمایی از بارگذاری عامل رشد در الیاف به روش الکتروریسی هم‌محور.

تنش سطحی بین آن‌ها و گرانروکشسانی دو محلول بر نگه‌داشتن اجزا در بخش هسته اثر دارد [۷،۱۷]. اگرچه این روش بیش از ده سال پیش توسعه یافت، اما تنها پنج سال است که استفاده از الکتروریسی هم‌محور برای انتقال مولکول‌های زیستی به‌علت پیچیدگی آن، بررسی شده است. اخیرا الکتروریسی هم‌محور، به‌خاطر تولید الیاف هسته-پوسته که پتانسیل زیادی برای حفظ پروتئین دارد، محبوبیت زیادی را در زمینه انتقال پروتئین یافته است. افزون بر این، توزیع همگنی از پروتئین با این الیاف به‌دست می‌آید و پروتئین‌ها می‌توانند به‌دلیل وجود پوسته به‌عنوان سدگر به‌طور کنترل‌شده منتقل شوند.

پژوهشگران انواع مختلفی از پروتئین‌ها و عامل‌های رشد را در این داربست‌ها محصور کردند [۱۸،۱۹]. به‌تازگی نیز تلاش‌هایی برای استفاده از این روش برای انتقال هم‌زمان دو یا چند عامل صورت گرفته است [۲۰]. این مطالعات نشان داد، عامل‌های رشد رهایش‌یافته، فعالیت زیستی مناسب داشته‌اند، چرا که توانستند رشد سلولی را تحریک کنند. برخی پژوهشگران این حفظ فعالیت را بدین مسئله مرتبط دانستند که در حین فرایند الکتروریسی هم‌محور، بارهای الکتریکی اغلب بر سطح خارجی الیاف قرار می‌گیرند، بنابراین محلول پلیمری اصلا باردار نمی‌شود. البته Ji و همکاران اثر الکتروریسی‌های آمیخته و هم‌محور را بر فعالیت پروتئین با استفاده از ALP به‌عنوان پروتئین مدل بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند، هر دو روش فعالیت زیستی ALP را کاهش داده است. این مسئله نشان می‌دهد، ولتاژ زیاد و تماس با حلال آلی برای مولکول‌های زیستی بارگذاری‌شده مضر است. همچنین، ALP بارگذاری‌شده با روش الکتروریسی هم‌محور بدون PEG فعالیت آنزیمی بسیار کمتری نسبت به حالت همراه با PEG بدون توجه به نوع الکتروریسی نشان می‌دهد [۷].

نیم‌رخ رهایش پروتئین از الیاف الکتروریسی‌شده هم‌محور نیز با یک رهایش انفجاری اولیه همراه است که به دنبال آن یک مرحله رهایش پایدار وجود دارد. این روش مشابه داربست‌های الکتروریسی‌شده با روش آمیخته است. البته در مقایسه با روش آمیخته، رهایش انفجاری از این الیاف به‌طور درخور توجهی کمتر بوده و نیم‌رخ رهایش کلی پایدارتر است. چرا که ساختار هسته-پوسته، یک سامانه مخزنی پروتئین را با یک غشا فراهم می‌سازد که سرعت نفوذ پروتئین را کنترل می‌کند [۱۳].

Zhu و همکاران رهایش rhBMP-2 را از ساختار هسته-پوسته بررسی کردند. در این پژوهش، rhBMP-2 در PEG گنجانده شد و به‌عنوان هسته در ساختار وجود داشت. PCL نیز به عنوان پوسته

به دور هسته انتخاب شد. درنتیجه در حین این انتقال، BMP-2 ساختار را حفظ کرد و مطالعات آزمایشگاهی و درون‌تنی، افزایش بیان ژن استخوان‌زایی را در حین کشت نشان داد [۱۲،۱۳].

در پژوهشی دیگر، Jin و همکاران از دو پلیمر پلی‌کاپرولاکتون و PVP برای تولید داربست سه‌بعدی به روش الکتروریسی هم‌محور استفاده کردند. در این پژوهش، پلیمر آب‌دوست و آب‌گریز به‌طور موازی بوده و با پلیمر آب‌دوست شبکه‌ای شده‌اند که به تشکیل داربست سه‌بعدی با تخلخل بسیار زیاد منجر شد. همچنین، استفاده از این روش و هماهنگی رشته‌های انعطاف‌پذیر پلیمر PCL با لایه‌های نرم هیدروژل PVP باعث تشکیل اسکلتی با خاصیت چکش‌خواری بیشتر شده‌اند که می‌تواند به‌طور مکانیکی در برابر نیروهای انقباضی سلولی در کشت درون‌تنی مقاومت کند [۲۱].

الکتروریسی امولسیونی

الکتروریسی امولسیونی، روش به‌نسبت ساده برای ساخت نانوالیاف با ساختار هسته-پوسته است .مولکول‌ها و داروهای آب‌دوست حل‌شده در فاز آبی می‌توانند در امولسیون آب در روغن گنجانده شوند و از تماس با حلال آلی حفظ شوند. در این روش، اغلب مولکول‌ها در هسته الیاف قرار می‌گیرند. انتظار می‌رود، این الیاف رهایش کنترل‌شده و آهسته‌ای را نشان دهند [۲۲]. این روش برای بهبود پراکنش مولکول‌های آب‌دوست در حلال‌های آلی معرفی شده است [۷].

در یک نمونه از کاربرد این روش، Briggs و همکار عامل رشد PDGF-BB را برای بهبود تمایز سلول‌های مزانشیمی به سلول‌های استخوان در نانوالیاف PEO/PCL محصور کردند. آن‌ها توانستند نیم‌رخ رهایش را نسبت به حالت آمیخته بهبود بخشند. این پژوهشگران برای کاهش تنش سطحی بین فازهای نامحلول، از مواد فعال سطحی استفاده کردند تا ایجاد امولسیون فاز آبی در فاز حلال آلی آسان شود [۲۳].

Yang و همکاران نانوالیاف هسته-پوسته بارگذاری‌شده با عامل رشد فیبروبلاستی را از طریق الکتروریسی امولسیون آماده کردند. نتایج نشان داد، داربست با رهایش انفجاری کم و رهایش آهسته و پایدار توانست چسبندگی، تکثیر، تمایز و ترشح طبیعی ECM سلولی را بهبود بخشد [۲۴]. البته باید توجه داشت، فرایند آماده‌سازی امولسیون پروتئین که با مخلوط‌کردن مکانیکی، همگن‌سازی یا فراصوت‌دهی همراه است، می‌تواند به عملکرد پروتئین آسیب بزند [۷].

Li و همکاران در استفاده از این روش نانوالیافی از پلی‌کاپرولاکتون با ساختار پوسته-هسته تولید کردند که در مدل اول پوسته آن از نانوالیاف PCL-NCY و در دیگری هسته آن پلی‌گلیکولیک اسید (PGA-MFS) است. با استفاده از فیبروبلاست‌های گرفته‌شده از دم موش مشخص شد، ماتریس PCL-NCY در مقایسه با PGA-MFS دارای خواص مکانیکی بهتر، تخلخل بیشتر (۴ برابر)، استحکام کششی بیشتر و همچنین کشت سلول روی این ماتریس راحت‌تر بوده است [۲۵].

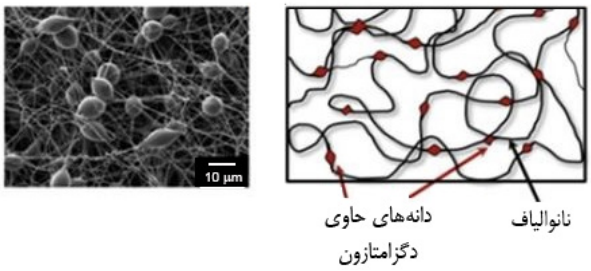
سامانه‌های ترکیب‌شده با ذرات

نانوذرات و میکروذرات مدت‌ها برای انتقال پروتئین‌ها استفاده می‌شدند. روش‌های مختلف برای حفظ زیست‌فعالی و کنترل نیم‌رخ رهایش پروتئین‌های گنجانده‌شده در آن‌ها معرفی شده‌اند. یک روش، همراه کردن این نانوذرات و میکروذرات درون نانوالیاف مختلف برای دست‌یابی به رهایش کنترل‌شده عامل‌های رشد است که از جمله مزایای آن داشتن شبکه متخلخل به‌هم پیوسته است. داربست‌های همراه با نانوذرات و میکروذرات تثبیت‌شده، رهایش انفجاری را کاهش می‌دهند. افزون بر این، عامل‌های زیستی متعددی می‌توانند در مدل کنترل‌شده زمانی و فضایی انتقال داده شوند که سینتیک رهایش هر عامل به‌طور جداگانه از طریق فرمول‌بندی مجزای نانوذرات و میکروذرات کنترل می‌شود. از مزایای این نوع سامانه‌ها می‌توان به مواردی نظیر کنترل‌پذیری رهایش ذرات در گستره وسیعی از الزامات، به‌حداقل‌رسیدن برهم‌کنش ذرات و داربست پلیمری و همچنین قابلیت بارگذاری مولکول‌های زیستی حساس به شرایط سخت الکتروریسی، به‌دلیل جدابودن مرحله بارگذاری ذرات اشاره کرد. Ionescu و همکاران میکروذرات PLGA بارگذاری‌شده با سرم آلبومین گاوی (BSA) یا کندرویتین سولفات را درون پلیمر PEG الکتروریسی کردند. فرایند الکتروریسی این مخلوط، هم‌زمان با PCL بود، به‌طوری که با حذف PEG، این ذرات میان الیاف PCL قرار گرفتند. روند رهایش از این میکروذرات محصورشده میان الیاف، مشابه با رهایش از میکروذرات آزاد بود [۲۶].

رویکردهای جدید در تولید داربست‌های الکتروریسی‌شده

داربست‌های دانه‌دار

در سال ۲۰۱۴، ایده استفاده از داربست‌های دانه‌دار به‌عنوان مخزنی برای ذخیره مولکول‌های زیستی مطرح شد (شکل ۵). تا پیش از آن، تشکیل دانه هنگام الکتروریسی، امری نامطلوب تلقی می‌شد. سعی بر آن بود تا با تنظیم شرایط حاکم بر الکتروریسی، از تشکیل

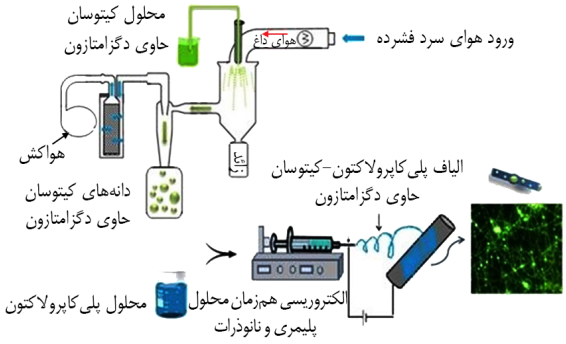


(الف) (ب)

شکل ۵- تصویر: (الف) نمایی و (ب) میکروسکوپ الکترونی ذخیره دگزامتازون در داربست دانه‌دار [۲۷].

این دانه‌ها جلوگیری به‌عمل آید و محصول الکتروریسی، الیافی یک‌دست باشد. Gaharwar و همکاران از دانه‌های ایجادشده طی فرایند الکتروریسی، برای ذخیره کنترل‌شده عامل تمایز دگزامتازون درون الیاف PEOT/PBT و رهایش پایدار آن استفاده کردند [۲۷]. با بارگذاری دگزامتازون، دانه‌های متعدد و یکنواختی درون الیاف تشکیل شد (شکل ۵). نتایج آن‌ها نشان داد، با افزایش مقدار بارگذاری، تعداد دانه‌ها در داربست افزایش یافته، اما خواص مکانیکی داربست کاهش می‌یابد. رهایش دگزامتازون از این الیاف دانه‌دار نسبتا پایدار بود و در مدت ۲۸ day به حدود ٪۷۰ مقدار بارگذاری‌شده رسید. رهایش دگزامتازون، باعث بهبود رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی کشت‌یافته روی الیاف شد و فعالیت آلکالین فسفاتازی آن‌ها را افزایش داد تا این داربست‌ها را بتوان به‌عنوان گزینه‌ای در درمان نقص‌های استخوانی معرفی کرد [۲۷].

در کاری مشابه، امیدوار و همکاران کارایی الیاف الکتروریسی شده پلی‌کاپرولاکتون را همراه با میکروذرات کیتوسان بارگذاری‌شده با دگزامتازون در محیط کشت تمایزی، مطالعه کردند [۲۸]. در این پژوهش، میکروذرات کیتوسان حاوی دگزامتازون تهیه‌شده به روش خشک‌کردن پاششی، همراه با محلول پلی‌کاپرولاکتون الکتروریسی شدند (شکل ۶). مطالعه مقدار آب‌دوستی داربست‌ها نشان داد، وجود کیتوسان درون الیاف، مقدار آب‌دوستی آن‌ها را به‌طور درخور توجهی افزایش می‌دهد و بارگذاری دارو درون میکروذرات با حذف رهایش انفجاری همراه است. همچنین، کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان روی این داربست‌ها نشانگر افزایش فعالیت آلکالین فسفاتازی بود. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد، الیاف ترکیبی پلی‌کاپرولاکتون و ذرات کیتوسان حاوی دگزامتازون می‌تواند به‌عنوان داربستی زیست‌فعال برای مهندسی بافت استخوان استفاده شود [۲۸].



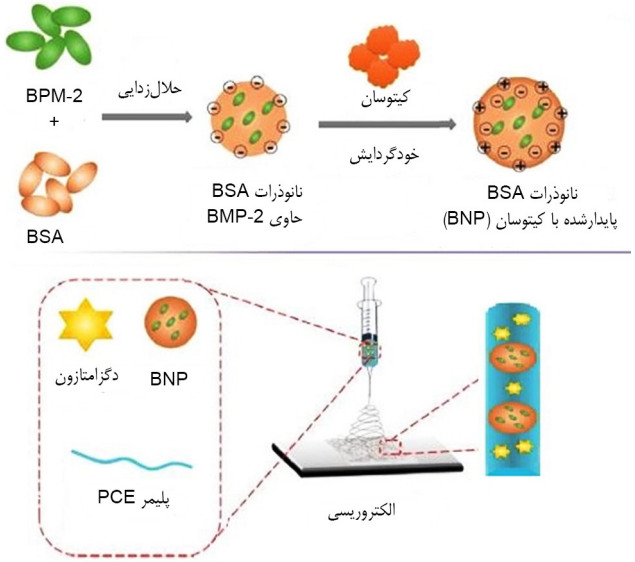
شکل ۶- مراحل ساخت داربست کیتوسان-پلی‌کاپرولاکتون [۲۸].

الکتروریسی دولایه

الکتروریسی دولایه روش نوین دیگری است که در برهه اخیر، برای ساخت داربست‌های مهندسی بافت از آن استفاده می‌شود. بهره‌گیری از خواص مطلوب هر لایه و امکان بارگذاری جداگانه داروها و مولکول‌های زیستی در هر یک از لایه‌ها، عمده‌ترین مزیت استفاده از این داربست‌هاست. Rajzer و همکاران در سال ۲۰۱۴، لایه‌ای از ژلاتین را روی لایه الکتروریسی‌شده‌ای از پلی‌کاپرولاکتون الکتروریسی کردند تا هم از خواص مطلوب هر دو ماده بهره‌مند شوند و هم امکان اصلاحات جداگانه در هر لایه را داشته باشند [۲۹]. سطح ژلاتین پیش از الکتروریسی، به ذرات کلسیم فسفات آغشته شد تا این ذرات، هسته‌های اولیه آغاز فرایند معدنی‌زایی باشند و تمایز استخوانی را ایجاد کنند. ژلاتین ساختاری بسیار شبیه به کلاژن دارد که قسمت عمده ECM استخوانی را تشکیل می‌دهد. بنابراین، سلول‌ها تمایل زیادی به چسبیدن بر لایه ژلاتینی و رشد و تکثیر روی آن دارند. اما، ژلاتین خواص مکانیکی مطلوبی برای کاربرد در مهندسی بافت استخوان ندارد. استفاده از لایه پلی‌کاپرولاکتون، خواص مکانیکی داربست را به‌طور چشمگیری بهبود می‌بخشد تا شرایط لازم را برای داربست استخوانی مطلوب داشته باشد. وجود ذرات کلسیم فسفات در این داربست، باعث افزایش فعالیت آلکالین فسفاتازی و تمایز استخوانی در چهاردهمین روز پس از کشت سلول‌ها شده است [۲۹].

داربست‌هایی با بیش از یک نیم‌رخ رهایش

رهایش پایدار و کنترل‌شده دو یا چند عامل رشد و تمایز از داربست‌ها، مسئله‌ای است که اخیرا بسیاری از پژوهشگران مهندسی بافت بدان توجه کرده‌اند. با داشتن داربستی با امکان رهایش دو عامل رشد و تمایز با دو دوره رهایش متفاوت، می‌توان کنترل بهتر و بیشتری روی رشد، تکثیر و تمایز سلول‌ها داشت. Li و



شکل ۷- الکتروریسی طراحی مستقیم با دو منبع تغذیه [۳۰].

همکاران برای تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی و رفع نقص استخوان جمجمه موش، از دو داروی دگزامتازون و BMP-2 به‌طور هم‌زمان در نوعی داربست نانولیفی الکتروریسی شده استفاده کردند [۳۰]. همان‌طور که در شکل ۷ دیده می‌شود، آن‌ها BMP-2 را ابتدا درون نانوذرات BSA بارگذاری کردند. سپس، ذرات را درون الیاف وارد کردند تا هم فعالیت زیستی BMP-2 از دست نرود و به‌وسیله BSA محافظت شود و هم رهایش آرام‌تری را نتیجه دهد. داروی دگزامتازون به‌شکل آمیخته درون الیاف بارگذاری شد تا دوره رهایش کوتاه‌تری را همراه با رهایش انفجاری اولیه، بروز دهد. دگزامتازون برای کاهش التهاب اولیه و آغاز فرایند تمایز استخوانی باید رهایش انفجاری داشته باشد. اما BMP-2، برای تکمیل فرایند تمایز سلول‌ها به سلول استخوان باید رهایش آرام و پایداری را نتیجه دهد. نمودارهای رهایش این دو دارو، نشانگر رهایش انفجاری دگزامتازون و رهایش پایدار و خطی BMP-2 است. آزمون‌های سلولی انجام‌شده، نمایانگر قابلیت داربست در زنده‌مانی و رشد و تکثیر سلول‌ها بوده و افزایش معنی‌دار فعالیت آلکالین فسفاتازی در روز چهاردهم نشانگر موفقیت سازه در القای تمایز استخوانی است [۳۰].

نتیجه‌گیری

داربست‌های نانولیفی الکتروریسی‌شده به‌دلیل سادگی فرایند تولید، مقرون به‌صرفه‌بودن روش الکتروریسی و امکان تولید الیافی با گستره وسیعی از ترکیب و شکل، امروزه مورد توجه پژوهشگران مهندسی بافت قرار گرفته است. با انتخاب روش مناسب بارگذاری مولکول‌های زیستی در این داربست‌ها، می‌توان فرایند مدنظر در محل بافت هدف را به‌خوبی کنترل کرد. روش‌های مرسوم جذب سطحی، تثبیت شیمیایی و الکتروریسی‌های آمیخته، هم‌محور و تعلیقی برای بارگذاری عامل‌های تمایز و رشد استفاده می‌شود. به‌تازگی نیز روش‌هایی برای کنترل ساخت الیاف و بارگذاری هدفمند این عامل‌های درون الیاف برای دست‌یابی به رهایش کنترل‌شده، به‌کار گرفته شده‌اند. از میان این روش‌ها، می‌توان به داربست‌های دانه‌دار، الکتروریسی دولایه، داربست‌های حاوی دو یا چند عامل رشد اشاره کرد. با توجه به مطالب پیش‌گفته به‌نظر می‌رسد، روش الکتروریسی و الیاف حاصل از این روش می‌توانند نقش اساسی را در مهندسی بافت ایفا کنند.

مراجع

1. Xue J., Wu T., Dai Y., and Xia Y., Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications, *Chem. Rev.*, **119**, 5298–5415, 2019.
2. Sheikholeslami Kandelousi P., Polycaprolactone-Based Electrospun Composites in Bone Tissue Engineering, *Polymerization (Persian)*, **8**, 26-35, 2018.
3. Mashayekhi M.S. and Daemi H., Melt Electrospinning: An Overview on History, Methodes and Applications, *Polymerization (Persian)*, **6**, 107-115, 2015.
4. Asadi Korayem M., and Daemi H., Alginate Electrospinning: Challenges and Solutions, *Polymerization (Persian)*, **9**, 33-43, 2019.
5. Ghanian M.H., Barzin J., Zandi M., Ehsani M., and Kazemi-Ashtiani M., Controlling the Orientation of Electrospun Nanofibers by Conductive-Insulating Hybrid Collectors, *Polymerization (Persian)*, **2**, 51-58, 2014.
6. Zhang Z., Hu J., and Ma P. X., Nanofiber-Based Delivery of Bioactive Agents and Stem Cells to Bone Sites, *Adv. Drug*

Deliv. Rev., **64**, 1129-1141, 2012.

7. Ji W., Sun Y., Yang F., Van den Beucken J.J., Fan M., Chen Z., and Jansen J.A., Bioactive Electrospun Scaffolds Delivering Growth Factors and Genes for Tissue Engineering Applications, *Pharmaceut. Res.*, **28**, 1259-1272, 2011.
8. Nie H., Soh B.W., Fu Y.C., and Wang C.H., Three-Dimensional Fibrous PLGA/HAp Composite Scaffold for BMP-2 Delivery, *Biotech. Bioeng.*, **99**, 223-234, 2008.
9. Choi J.S., Leong K.W., and Yoo H.S., In Vivo Wound Healing of Diabetic Ulcers Using Electrospun Nanofibers Immobilized with Human Epidermal Growth Factor (EGF), *Biomaterials*, **29**, 587-596, 2008.
10. Aguirre-Chagala Y.E., Altuzar V., León-Sarabia E., Tinoco-Magaña J.C., Yañez-Limón J.M., and Mendoza-Barrera C., Physicochemical Properties of Polycaprolactone/Collagen/Elastin Nanofibers Fabricated by Electrospinning, *Mater. Sci. Eng. C*, **76**, 897-907, 2017.
11. Deliormanl A.M., and Konyal R., Bioactive Glass/Hydroxyapatite-Containing Electrospun Poly(ε-caprolactone) Composite Nanofibers for Bone Tissue Engineering, *J. Aust. Ceram. Soc.*, **55**, 247-256, 2019.
12. Zhu H., Yu D., Zhou Y., Wang C., Gao M., Jiang H., and Wang H., Biological Activity of a Nanofibrous Barrier Membrane Containing Bone Morphogenetic Protein Formed by Core-Shell Electrospinning as a Sustained Delivery Vehicle, *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, **101**, 541-552, 2013.
13. Ji W., Yang F., Van den Beucken J.J., Bian Z., Fan M., Chen Z., and Jansen J.A., Fibrous Scaffolds Loaded with Protein Prepared by Blend or Coaxial Electrospinning, *Acta Biomater.*, **6**, 4199-4207, 2010.
14. Jahanmardi Y., Tavanaie M.A., and Bagha A.R.T., Drug Delivery of Nanofibers Based on Biodegradable Synthetic Polymer Blends: A Review, *Polymerization (Persian)*, **7**, 13-29, 2016.
15. Liu J.J., Wang C.Y., Wang J.G., Ruan H.J., and Fan C.Y., Peripheral Nerve Regeneration Using Composite Poly(lactic acid-caprolactone)/Nerve Growth Factor Conduits Prepared by Coaxial Electrospinning, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **96**, 13-20, 2011.
16. Haghighat F., Ravandi S.A.H., Esfahany M.N., and Valipouri A., A Comprehensive Study on Optimizing and Thermoregulating Properties of Core–Shell Fibrous Structures through Coaxial Electrospinning, *J. Mater. Sci.*, **53**, 4665-4682, 2018.
17. Nie J., Wang Z.L., Li J.F., Gong Y., Sun J.X., and Yang S.G., Interface Hydrogen-Bonded Core-Shell Nanofibers by Coaxial Electrospinning, *Chin. J. Polym. Sci.*, **35**, 1001-1008, 2017.
18. Lee J.S., Kim S.K., Jung B.J., Choi S.B., Choi E.Y., and Kim C.S., Enhancing Proliferation and Optimizing the Culture Condition for Human Bone Marrow Stromal Cells Using Hypoxia and Fibroblast Growth Factor-2, *Stem Cell. Res.*, **28**, 87-95, 2018.
19. Hu X., Xiong Q., Xu Y., Zhang X., Pan X., Ma X., and Jia W., Association of Serum Fibroblast Growth Factor 19 Levels with Visceral Fat Accumulation is Independent of Glucose Tolerance Status, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, **28**, 119-125, 2018.
20. Zhang H., Jia X., Han F., Zhao J., Zhao Y., Fan Y., and Yuan X., Dual-Delivery of VEGF and PDGF by Double-Layered Electrospun Membranes for Blood Vessel Regeneration, *Biomaterials*, **34**, 2202-2212, 2013.
21. 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.
22. Wang C., Tong S.N., Tse Y.H., and Wang M., Conventional Electrospinning vs. Emulsion Electrospinning: A Comparative Study on the Development of Nanofibrous Drug/Biomolecule Delivery Vehicles, *Adv. Mater. Res.*, **410**, 118-121, 2012.
23. Briggs T. and Arinzeh T.L., Examining the Formulation of Emulsion Electrospinning for Improving the Release of Bioactive Proteins from Electrospun Fibers, *J. Biom. Mater. Res. A*, **102**, 674-684, 2014.
24. Yang Y., Xia T., Zhi W., Wei L., Weng J., Zhang C., and Li X., Promotion of Skin Regeneration in Diabetic Rats by Electrospun Core-Sheath Fibers Loaded with Basic Fibroblast Growth Factor, *Biomaterials*, **32**, 4243-4254, 2011.
25. Li B., Liu C., Zhou F., Mao X., and Sun R., Preparation of Electrospun Core–Sheath Yarn with Enhanced Bioproperties for Biomedical Materials, *Biotechnol. Lett.*, **40**, 279-284, 2018.
26. Ionescu L.C., Lee G.C., Sennett B.J., Burdick J.A., and Mauck R.L., An Anisotropic Nanofiber/Microsphere Composite with Controlled Release of Biomolecules for Fibrous Tissue Engineering, *Biomaterials*, **31**, 4113-4120, 2010.
27. Gaharwar A.K., Mihaila S.M., Kulkarni A.A., Patel A., Di Luca A., Reis R.L., and Khademhosseini A., Amphiphilic

Beads as Depots for Sustained Drug Release Integrated into Fibrillar Scaffolds, *J. Controll. Release*, **187**, 66-73, 2014.

28. Omidvar N., Ganji F., and Baghban-Eslaminejad M.R., In vitro Osteogenic Induction of Human Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells by PCL fibrous Scaffolds Containing Dexamethazone-Loaded Chitosan Microspheres, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 1-11, 2016.
29. Rajzer I., Menaszek E., Kwiatkowski R., Planell J.A., and Castano O., Electrospun Gelatin/Poly(ε-caprolactone) Fibrous Scaffold Modified with Calcium Phosphate for Bone Tissue Engineering, *Mater. Sci. Eng. C*, **44**, 183-190, 2014.
30. Li L., Zhou G., Wang Y., Yang G., Ding S., and Zhou S., Controlled Dual Delivery of BMP-2 and Dexamethasone by Nanoparticle-Embedded Electrospun Nanofibers for the Efficient Repair of Critical-Sized Rat Calvarial Defect, *Biomaterials*, **37**, 218-229, 2015.