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

Mahya Baradaran, Ameneh Seddighian, Fariba Ganji*

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

Abstract

Tissue engineering is a novel approach in treatment, in which, three important factors of cell, molecule signals, and scaffolds play a vital role. Nowadays, tissue engineering scientists use nanofibrous scaffolds to treat different diseases, regenerate and replace different body tissues, so as to simulate native tissues, as well as making progress and development in nano fibrous scaffolds engineering studies. To conduct the aforementioned studies, electrospinning is preferred out of various routs**,** due to its simplicity and cost-effectiveness in fabrication of structures that make the production of micro/nanofibers with a wide range of compositions and forms feasible. Moreover, using various types of biomolecules, biodrugs, and growth factors that are incorporated with in these fibers, would make it possible to improve cell response and treatment yield in tissue engineering processes, along with a suitable control and conduction of the process by selecting a suitable method of molecule loading. Although, there are many challenges regarding loading and controlled delivery of biomolecules through electrospun micro/nanofibers, but they have the potential ability to enhance the drug and growth factor delivery for tissue engineering and drug therapy. In addition, these micro/nanofibers can also be utilized as releasing scaffolds in engineering and medical science.

.

Keywords: Electrospinning, Tissue Engineering, Controlled Delivery, Scaffold, Growth Factor.

* **Email**: fganji@modares.ac.ir

کاربرد الیاف الکتروریسی شده در مهندسی بافت:

داربستهایی با خاصیت رهایش آهسته عوامل رشد

محیا برادران، آمنه صدیقیان، فریبا گنجی*

گروه مهندسی زیست پزشکی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، صندوق پستی ۱۴۱۵۵۱۴۳

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 بافت-های بدن، به منظور تقلید از ساختار بافت طبیعی و به عنوان راه‌حلی برای پیشرفت و توسعه داربست‌های مهندسی بافت، از داربست‌های نانولیفی استفاده می‌کنند. به این منظور، در بین تمام روش‌های موجود، معمولا الکتروریسی که روشی آسان و مقرون به صرفه برای تولید این سازه‌هاست انتخاب می‌شود تا با تنوعی که در فرآیند و سازه‌های دستگاهی دارد، امکان تولید میکرو/نانوالیافی با گستره‌ی وسیعی از ترکیب و شکل را فراهم کند. علاوه برآن، با استفاده از انواع مولکول‌های زیستی و عوامل رشد به همراه این الیاف، می‌توان پاسخ سلولی و بازدهی درمانی را در فرآیندهای مهندسی بافت ارتقا داده و با انتخاب روش مناسب برای بارگذاری این مولکول‌ها فرآیند را در بافت مورد نظر به خوبی کنترل و هدایت کرد. اگرچه هنوز چالش‌های زیادی برای انتقال و رهایش کنترل شده‌ی **عوامل رشد** وجود دارد، اما الیاف الکتروریسی‌شده می‌توانند یک روزنه‌ی پیشرفت در انتقال هدفمند و تحت کنترل داروها و عوامل رشد برای مهندسی بافت باشند و به عنوان داربست‌های رهایش کننده، در علوم پزشکی و مهندسی، مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: الکتروریسی، مهندسی بافت، داربست، عامل رشد، رهایش کنترل‌شده

مسوول مکاتبات: fganji@modares.ac.ir

ویرایش نشده

مقدمه

یکی از اساسی‌ترین قسمت‌های مهندسی بافت، داربست‌های زیست‌تخریب‌پذیر هستند که یک چارچوب اولیه را برای چسبیدن، تکثیر و تمایز سلول‌ها و ایجاد ماده‌ی زمینه‌ای برون سلولی[1](ECM) فراهم می‌کنند و همچنین وظیفه‌ی حمل سلول، فاکتورهای رشد و یا سیگنال‌های مولکول‌های زیستی را در محل پیوند ایفا می‌کنند. در بافت طبیعی، کوچک‌تر بودن ساختار پروتئین‌های ECM در مقایسه با سلول، منجر می‌شود که سلول در تماس مستقیم با الیاف ECM باشد و یک ساختار سه بعدی فراهم آورد. این ویژگی در موفقیت و یا عدم موفقیت سازه‌های مهندسی بافت نیز اهمیت دارد. از این رو پژوهشگران مهندسی بافت به فناوری نانو، به ویژه نانوالیاف، به عنوان راه‌حلی برای توسعه‌ی داربست های مهندسی بافت روی آورده‌اند. در حال حاضر نانوالیاف پلیمری با توجه به جنس، شکل و اندازه‌ی نهایی می‌توانند توسط چندین روش از قبیل روش طراحی (کشیدن)، سنتز قالب، جدایش فازی، خودآرایی مولکولی و الکتروریسی تهیه شوند [۱]. با توجه به لزوم حضور فاکتورهای رشد در کنار سلول ها، رویکردی جدید با عنوان "داربست های رهایش کننده" در مهندسی بافت مطرح شد [۲]. این داربست‌ها با انتقال موضعی عوامل محرک تمایزی، فرایند تشکیل بافت را در شرایط درون تنی سرعت می بخشند و نیاز به مقدار زیاد مولکولهای زیستی را در مقایسه با تزریق مستقیم بسیار کم می کنند. این مقاله به بررسی الکتروریسی به عنوان روشی برای ساخت داربست‌های مهندسی بافت و انواع روش‌های بارگذاری مولکولهای زیستی در آنها پرداخته می شود.

۱- الکتروریسی[2]

در میان روش‌های تولید نانوالیاف، الکتروریسی به دلیل سادگی فرآیند، مقرون به صرفه بودن و امکان تولید نانوالیافی با گستره‌ی وسیعی از ترکیب و شکل‌شناسی، برای آماده کردن نانوالیاف چه در مقیاس آزمایشگاهی و چه در مقیاس صنعتی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است [۴-۳].

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

[1] Extra Cellular Matrix
[2] Electrospinning

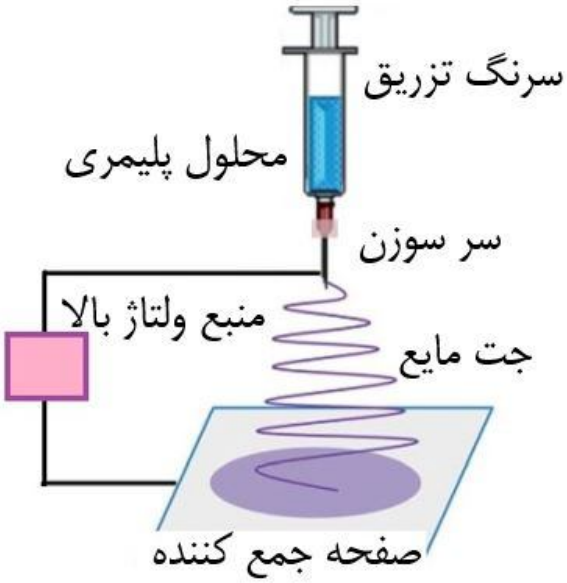
ویرایش نشده

۱) پمپ سرنگ نرخ خوراک‌دهی محلول پلیمری را که باید الکتروریسی شود کنترل می کند.

۲) یک سوزن که از طریق آن محلول در یک میدان الکتریکی بالا قرار می گیرد.

۳) منبع ولتاژ که محلول پلیمری تحت میدان حاصل از آن به صورت الیاف در می آید.

۴) یک جمع آوری کننده که الیاف الکتروریسی شده به صورت استاتیک یا دینامیک بر روی آن جمع می‌شوند.



شکل ۱- شماتیک کلی فرآیند الکتروریسی و اجزای آن

زمانی که ولتاژ بسیار بالا اعمال می‌شود، قطره‌ی محلول پلیمری در سر سوزن تمایل دارد یک شکل مخروطی معروف به مخروط تیلور را با توجه به تنش سطحی مایع و نیروی میدان الکتریکی تشکیل دهد؛ به محض این که میدان الکتریکی از یک آستانه‌ی مشخص گذشت نیروی الکتریکی بر تنش سطحی و نیروی ویسکوالاستیک قطره‌ی پلیمری غلبه کرده و موجب تشکیل یک جت باردار از سر مخروط تیلور می‌شود و سپس جت به صورت یک فیبر پیوسته‌ی فوق باریک اسپری می‌شود. حلال در فاصله‌ی رسیدن به جمع آوری‌کننده تبخیر می‌شود و درنهایت الیاف پلیمری جامد بر روی جمع‌آوری‌کننده تشکیل می‌شوند. بسته به کاربرد این الیاف، شکل‌های مختلفی از جمع‌آوری‌کننده همچون صفحه‌ی ساکن، استوانه‌ی چرخان و ...

استفاده می‌شود. یک صفحه‌ی ساکن می‌تواند موجب تشکیل الیاف نامنظم و تصادفی شود و یک جمع آوری‌کننده‌ی چرخان معمولا الیاف منظم را تشکیل می‌دهد[۵]. الیاف الکتروریسی‌شده تحت تاثیر عوامل متفاوتی قرار دارند که به طور کلی آن‌ها را می‌توان به سه دسته تقسیم کرد: عوامل مربوط به محلول پلیمری، عوامل مربوط به دستگاه و عوامل محیطی. جدول (۱) تاثیر هر یک از عوامل را بر الیاف تشکیل شده بیان می‌کند.

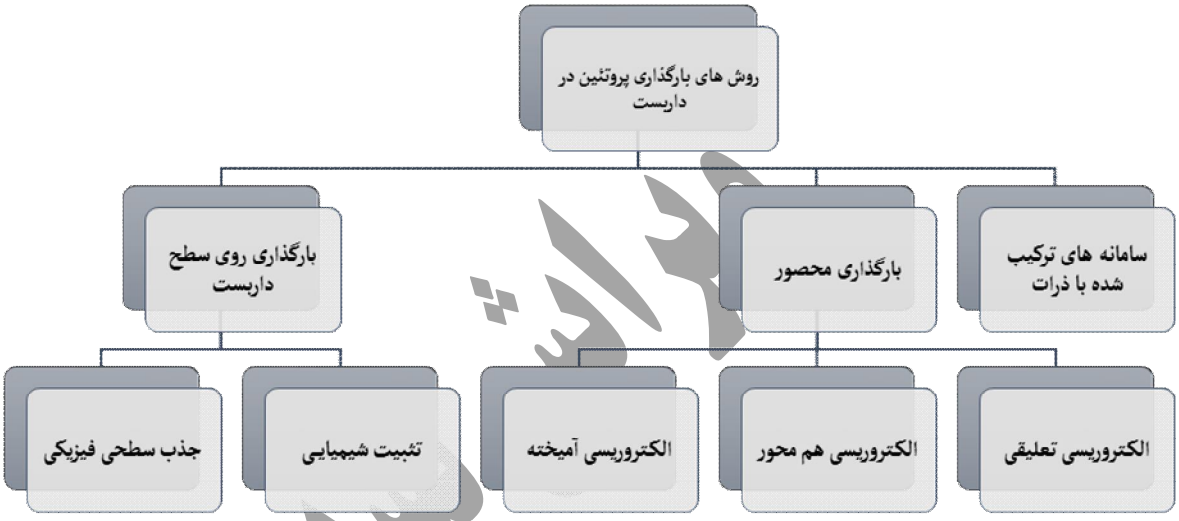
جدول ۱- عوامل تاثیرگذار بر روی الیاف حاصل از الکتروریسی

عوامل مربوط به خواص محلول	
غلظت (ویسکوزیته)	با افزایش غلظت، قطر الیاف افزایش می یابد.
رسانایی	با افزایش رسانندگی محلول، قطر الیاف کاهش می یابد.
فراریت حلال	با افزایش میزان فراریت حلال، حفره هایی بر روی سطح الیاف ایجاد می شود که سطح در دسترس را افزایش می دهد.
عوامل مربوط به فرایند	
ولتاژ اعمالی	قطر الیاف با افزایش ولتاژ، ابتدا کاهش و سپس افزایش می یابد.
فاصله ی بین جمع آوری کننده و نازل	با افزایش فاصله، قطر الیاف کاهش می یابد. در فاصله های بسیار نزدیک و یا بسیار دور، دانه هایی بر روی الیاف تشکیل می شود.
نرخ خوراک دهی	با کاهش نرخ جریان، قطر الیاف کاهش می یابد. در نرخ های بالای جریان، دانه‌هایی بر روی الیاف تشکیل می شود.
عوامل محیطی	
رطوبت	در رطوبت های بالا، حفره های کروی بر روی الیاف تشکیل می شود.
دما	با افزایش دما، الیاف با قطرهای کوچک تر ایجاد می شود.

ویرایش نشده

۲- روش های بارگذاری مولکول های زیستی

به طور عمومی مولکول‌های زیستی می‌توانند به طور مستقیم از خود نانوالیاف و یا از سامانه‌های جداگانه‌ی اضافه‌شده به داربست؛ یعنی میکرو/نانوذرات رهایش یابند. در این سامانه‌ها، داربست الکتروریسی شده تنها به عنوان یک ساختار حمایتی عمل می‌کند. در شکل (۲) دسته‌بندی روش‌های رایج بارگذاری در داربست‌های الکتروریسی شده آورده شده است.



شکل ۲- دسته بندی روش های رایج بارگذاری پروتئین در داربست الکتروریسی شده

۲-۱- بارگذاری روی سطح داربست

الف- جذب سطحی فیزیکی[3]

ساده‌ترین راه برای بارگذاری مولکول‌های زیستی در داربست‌های الکتروریسی‌شده، غوطه‌ور کردن داربست در یک محلول آبی حاوی مولکول‌های زیستی است. در این روش مولکول‌ها می‌توانند به فرم محلول خالص یا امولسیون باشند و با نیروهای الکتروستاتیکی به داربست متصل شوند. نانوالیاف به خاطر مساحت سطحی بزرگ‌تر، مقدار بیشتری از عوامل رشد را نسبت به داربست‌های کنترل دیگر می‌توانند جذب کنند. البته جذب سطحی اغلب شامل تعاملات الکترواستاتیکی، پیوندهای

[3] Physical Adsorption

هیدروژنی، و تعاملات آب گریز بین پروتئین‌ها و داربست است که منجر به تغییر آرایش فضایی پروتئین و از دست رفتن زیست فعالی آن می‌شود [۶]. این روش به ندرت برای بارگذاری پروتئین‌ها بر روی داربست‌ها استفاده می‌شود چرا که پروفایل غیر قابل کنترل و انفجاری دارد [۷]. به طور مثال در پژوهشی که توسط نی[1] و همکارانش انجام شد رهایش BMP-2 جذب شده بر روی داربست PLGA در طول ۵ روز به ۷۵٪ رسید و رهایش کامل، تقریبا در طول ۲۰ روز رخ داد که این نرخ رهایش خیلی سریع تر از رهایش همان مقدار پروتئین بارگذاری شده در داربست PLGA با استفاده از الکتروریسی آمیخته است [۸].

ب- تثبیت شیمیایی[4]

عوامل زیست فعال می‌توانند از طریق تثبیت شیمیایی بر روی نانوالیاف قرار گرفته و با قطع پیوندهای اتصالی رهایش یابند. این رویکرد اغلب برای بهبود خواص سطحی نانو الیاف الکتروریسی شده استفاده می‌شود. اما برخی از محققان از این روش برای انتقال پروتئین‌ها و برای رسیدن به پروفایل رهایش کنترل شده‌ای از پروتئین‌ها استفاده می کنند [۷]. برای تثبیت شیمیایی مولکول‌های زیستی بر روی سطح نانو الیاف الکتروریسی شده باید اصلاحات شیمیایی صورت گیرد تا گروه‌های عاملی فعال ایجاد شود. از جمله‌ی روش‌های اصلاح سطح می‌توان به اصلاح با پلاسما، خیس‌کردن شیمیایی یا پلیمریزاسیون گرافت اشاره کرد. از آنجا که مولکول‌ها به صورت کووالانسی به سطح متصل شده‌اند به آسانی از سطح اصلاح شده‌ی نانوالیاف جدا نمی‌شوند. نرخ رهایش مولکول‌های زیستی را در این روش می‌توان با استفاده از آنزیم‌های خارجی کنترل کرد [۷]. در کاربردهای مهندسی بافت معمولا تثبیت شیمیایی مولکول‌ها نسبت به جذب فیزیکی مطلوب‌تر است.

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

[4] Chemical Stabilization

تثبیت کووالانسی به خاطر پیچیدگی‌های آن، یک روش معمول برای انتقال پروتئین‌ها از داربست‌های الکتروریسی نیست. علاوه بر آن برخی محققان معتقدند که داربست در حین فرآیندهای اصلاح سطح ممکن است یکنواختی‌اش را از دست بدهد که این مسئله می‌تواند بر خواص مکانیکی داربست اثر بگذارد [۷]. آگوری و همکاران موفق به ساخت اسکلتی از کلاژن به همراه الاستین با روش الکتروریسی تثبیت شیمیایی شده‌اند که برتری این پژوهش، افزایش فعالیت زیستی این اسکلت با افزایش خواص فیزیکی و مکانیکی نسبت به سایر روش‌های ساخت بوده که باعث ایجاد پتانسیل بسیار بالایی برای کاربردهایی در حوزه مهندسی بافت می‌شود. در پژوهشی، آیلین و همکارانش شیشه فعال و هیدروکسی آپاتیت را به ماتریس پلی‌کربولاکتون (PCL) با روش الکتروریسی تثبیت شیمیایی کرده و فیبرهای نانوکامپوزیتی تشکیل داده شد [۱۰]. در بررسی نتایج دیده می‌شود که درصد تخلخل، زاویه تماس و فعالیت زیستی ماتریس PCL با افزایش میزان مواد اضافه‌شونده، افزایش می‌یابد. همچنین مطالعات درون‌تنی نشان می‌دهد که این ماتریس در مقایسه با دیگر روش‌های ساخت، توانایی بسیارخوبی در جوش دادن استخوان شکسته، شبیه‌سازی بافت استخوانی و استفاده به عنوان کاور استخوانی دارد [۱۱].

ویرایش نشده

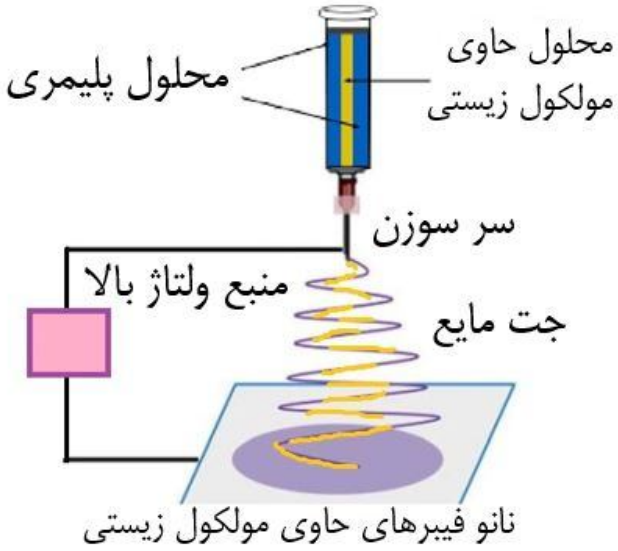
۲-۲- بارگذاری محصور

الف- الکتروریسی آمیخته[5]

در الکتروریسی آمیخته مولکول‌های زیستی در محلول پلیمری مخلوط می‌شوند و سپس مخلوط در فرایند الکتروریسی برای ساخت یک داربست ترکیبی استفاده می‌شود (شکل ۳) [۱۲]. از آنجایی که در این روش مولکول‌ها درون الیاف داربست قرار می‌گیرند، به نظر می‌رسد که پروفایل رهایش پایدارتری را در مقایسه با جذب سطحی فیزیکی داشته باشند [۷]. اگرچه الکتروریسی آمیخته روش ساده‌ای به نظر می‌رسد اما با مشکل از دست رفتن فعالیت مولکول‌های گنجانده شده روبه رو است. این مسئله به خصوص برای پروتئین‌ها مشکل‌ساز است چرا که آن‌ها فعالیت زیستی خودشان را به خاطر تغییر آرایش

[5] Blend Electrospinning

فضایی در محلول‌های آلی از دست می‌دهند. از سوی دیگر پروتئین‌های محدودی می‌توانند به خوبی داخل محلول پلیمری پخش شوند [۶].



شکل ۳- شمای الیاف حاصل از الکتروریسی آمیخته

در مطالعات صورت گرفته روش‌های مختلفی برای ارتقای پایداری پروتئین به کار برده شده است. یک روش، استفاده از ترکیبات نمکی برای ارتقای حلالیت پروتئین در حلال‌های آلی است. لی و همکارانش ترکیب لیزوزیم-اولئات را استفاده کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که لیزوزیم رهایش یافته، ۹۰٪ فعالیت خودش را حفظ کرده است [۱۲].

یکی از پروفایل‌های رایج رهایش پروتئین از داربست‌های الکتروریسی شده به روش آمیخته، رهایش انفجاری اولیه و به دنبال آن یک رهایش پایدار نزدیک به خطی است. رهایش انفجاری بدون توجه به نوع پلیمر استفاده شده برای ساخت داربست معمولا در ۲۴ ساعت اولیه رخ می‌دهد [۱۳]. این رهایش انفجاری ممکن است به خاطر مهاجرت پروتئین در حین خشک کردن و گام ذخیره باشد که کسر مشخصی از مولکول‌های پروتئین را نزدیک سطح الیاف قرار می‌دهد. البته حلالیت بالا و ضریب توزیع پروتئین‌های گنجانده شده نیز می‌تواند موجب یک رهایش سریع از طریق مسیرهای کوتاه نفوذ شود.

اضافه کردن افزودنی‌های آب‌دوست مانند ذرات هیدروکسی آپاتیت و PEG، آب‌دوستی داربست را ارتقا می‌بخشد و بنابراین میزان جذب آب داربست و همین طور رهایش پروتئین از داربست افزایش می‌یابد [۷].

جهانمردی و همکارانش انواع نانوالیاف‌های ساخته شده از پلیمرهای سنتزی که بعضی زیست‌تخریب‌پذیر و برخی زیست‌تخریب‌ناپذیر بوده‌اند را با بارگذاری دارو بررسی کرده و نشان دادند که در حالت نانوالیاف آمیخته نسبت به حالت هسته-پوسته و سه لایه، به دلیل قرارگیری دارو در تمام لایه‌های نانوالیاف، رهایش آن سریع‌تر است. بدین منظور از پلی-کاپرولاکتون (PCL) در ترکیب با دیگر پلیمرهای سنتزی برای رهایش دارو استفاده شد که در حالت آمیخته نسبت به سه لایه و هسته-پوسته به علت اینکه دارو در سرتاسر شبکه الیافی پخش شده است؛ رهایش اولیه سریع ۹۰٪ را در ۴ ساعت اولیه از خود نشان داده است، در حالیکه نانوالیاف هسته-پوسته در ابتدا یک رهایش اولیه و سپس یک رهایش پیوسته (در حدود ۴ تا ۷ روز) داشته است [۱۴].

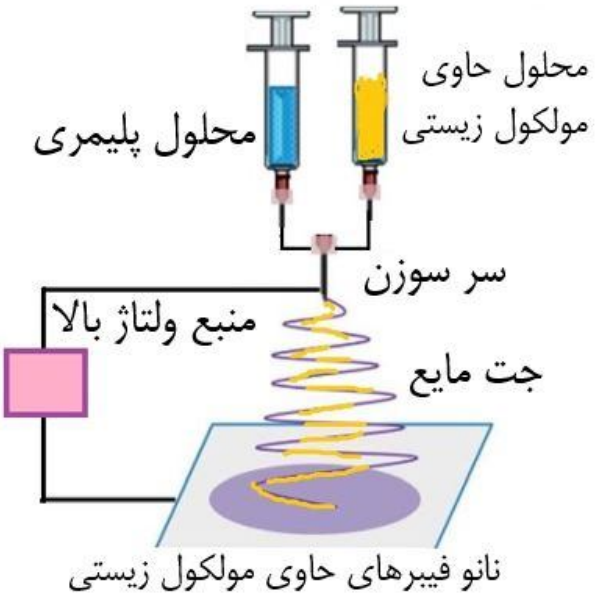
ویرایش نشده

ب- الکتروریسی هم محور[6]

الکتروریسی هم محور یکی دیگر از روش‌هایی است که برای انتقال عوامل رشد توسعه یافته است. این روش اولین بار توسط سان و همکارانش مورد استفاده قرار گرفت و معرفی شد. در الکتروریسی هم‌محور، دو محلول یعنی محلول پلیمری و محلول زیستی به صورت هم‌محور و هم‌زمان از طریق کانال‌های خوراک‌دهی متفاوت از یک سوزن، الکتروریسی می‌شوند تا نانوالیاف کامپوزیت با ساختار پوسته-هسته تولید شود [۱۵،۱۶]. الکتروریسی هم‌محور (شکل ۴) فرایندی دینامیک است و عوامل زیادی مثل نرخ خوراک‌دهی سیال داخلی و خارجی، تنش سطحی بین آن‌ها و ویسکوالاستیسیته‌ی دو محلول، بر روی نگه داشتن اجزا در بخش هسته اثر دارد [۷, ۱۷]. اگرچه این روش بیش از ده سال پیش توسعه یافت اما استفاده از الکتروریسی هم‌محور برای انتقال مولکول‌های زیستی تنها پنج سال است که مورد بررسی قرار می‌گیرد که علت آن هم پیچیدگی این روش است. اخیرا الکتروریسی هم محور به خاطر تولید الیاف هسته-پوسته که پتانسیل زیادی برای حفظ پروتئین دارد،

[6] Coaxial Electrospinning

محبوبیت زیادی را در زمینه ی انتقال پروتئین کسب کرده است. علاوه بر آن توزیع همگنی از پروتئین را از طریق الیاف فراهم می‌آورد و پروتئین‌ها می‌توانند به دلیل حضور پوسته به عنوان یک مانع به صورت کنترل شده منتقل شوند.



شکل ۴- شمای بارگذاری فاکتور رشد در الیاف به روش الکتروریسی هم محور

محققان انواع مختلفی از پروتئین‌ها و فاکتورهای رشد را در این داربست‌ها محصور کردند [۱۸, ۱۹] .به تازگی نیز تلاش‌هایی برای استفاده از این روش برای انتقال همزمان دو یا چند عامل صورت گرفته است [۲۰]. این مطالعات نشان داد که عوامل رشد رهایش یافته، فعالیت زیستی مناسب داشته‌اند چرا که توانستند رشد سلولی را تحریک کنند. برخی محققان این حفظ فعالیت را به این مسئله مرتبط دانستند که در حین فرایند الکتروریسی هم‌محور، بارهای الکتریکی اغلب بر روی سطح خارجی الیاف قرار می‌گیرند؛ بنابراین محلول پلیمری اصلا باردار نمی‌شود. البته جی و همکارانش اثر الکتروریسی آمیخته و الکتروریسی هم‌محور را بر روی فعالیت پروتئین با استفاده از ALP به عنوان یک پروتئین مدل بررسی کردند و نشان دادند که هر دو روش، فعالیت زیستی ALP را کاهش داده است که نشان می‌دهد ولتاژ بالا و تماس با حلال آلی برای مولکول‌های

زیستی بارگذاری شده مضر است و همچنین ALP بارگذاری شده به روش الکتروریسی هم‌محور بدون PEG فعالیت آنزیمی خیلی پایین‌تری را نسبت به حالت همراه با PEG بدون توجه به نوع الکتروریسی داشت [۷].

پروفایل رهایش پروتئین از الیاف الکتروریسی شده‌ی هم محور نیز با یک رهایش انفجاری اولیه همراه است که به دنبال آن یک مرحله‌ی رهایش پایدار وجود خواهد داشت. این روش مشابه داربست‌های الکتروریسی شده به روش آمیخته است. البته در مقایسه با روش آمیخته، رهایش انفجاری از این الیاف به طور قابل توجهی کمتر است و پروفایل رهایش کلی پایدارتر است چرا که ساختار هسته-پوسته، یک سامانه‌ی مخزنی پروتئین را با یک غشا فراهم می‌سازد که نرخ نفوذ پروتئین را کنترل می‌کند [۱۳].

ژو و همکارانش رهایش rhBMP-2 را از ساختار هسته-پوسته بررسی کردند. در این پژوهش rhBMP-2 در PEG گنجانده شد و به عنوان هسته در ساختار حضور داشت؛ PCL نیز به عنوان پوسته به دور هسته انتخاب شد. در نتیجه، در حین این انتقال، BMP-2 ساختار خود را حفظ کرد و مطالعات آزمایشگاهی و درون‌تنی، افزایش بیان ژن استخوان زایی را در حین کشت نشان داد [۱۲, ۱۳].

در پژوهشی دیگر، جین و همکاران از دو پلیمر پلی‌کاپرولاکتون (PCL) و PVP برای تولید داربست سه‌بعدی به روش الکتروریسی هم‌محور استفاده کردند. در این تحقیق، پلیمر آب‌دوست و آب‌گریز به صورت موازی بوده و با پلیمر آب-دوست شبکه‌بندی شده است که منجر به تشکیل داربست سه‌بعدی با تخلخل بسیار بالایی شد. همچنین با استفاده از این روش و هماهنگی رشته‌های انعطاف‌پذیر پلیمر PCL با لایه‌های نرم هیدروژل PVP باعث تشکیل یک اسکلت با خاصیت چکش-خواری بیشتر شده‌اند که می‌توانند به صورت مکانیکی در برابر نیروهای انقباض‌شونده سلولی در کشت درون‌تنی مقاومت کنند [۲۱].

ج-الکتروریسی تعلیقی[۷]

[۷] Emulsion Electrospinning

ویرایش نشده

الکتروریسی تعلیقی یک روش به نسبت ساده برای ساخت نانوالیاف با ساختار هسته-پوسته است. مولکول‌ها و داروهای آب‌دوست حل شده 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 هسته‌ی الیاف قرار خواهند گرفت. انتظار می‌رود که این الیاف رهایش کنترل شده و آهسته‌ای را از خود نشان دهند [۲۲]. این روش برای بهبود پخش شدن مولکول‌های آب‌دوست در حلال‌های آلی معرفی شد [۷].

در یک نمونه از کاربرد این روش، بریگس و همکارش فاکتور رشد PDGF-BB را برای بهبود تمایز سلول‌های مزانشیمی به سلول‌های استخوانی در نانوالیاف PEO/PCL محصور کردند که توانستند پروفایل رهایش را نسبت به حالت آمیخته بهبود ببخشند. آن‌ها برای کاهش تنش سطحی بین فازهای نامحلول، از مواد فعال سطحی استفاده کردند تا ایجاد تعلیق فاز آبی در فاز حلال آلی تسهیل شود [۲۳].

یانگ و همکارانش نانوالیاف هسته-پوسته‌ی بارگذاری شده با فاکتور رشد فیبروبلاستی را از طریق الکتروریسی امولسیون آماده کردند. نتایج نشان داد که داربست با رهایش انفجاری کم و رهش آهسته و پایدار، توانست چسبندگی، تکثیر، تمایز و ترشح طبیعی ECM سلولی را بهبود ببخشد [۲۴]. البته باید توجه داشت که فرایند آماده‌سازی امولسیون پروتئین که با مخلوط کردن مکانیکی، همگن‌سازی یا اولتراسونیکیشن همراه است، می‌تواند به عملکرد پروتئین آسیب بزند [۷].

لی و همکاران در استفاده از این روش به تولید نانوالیافی از پلی‌کاپرولاکتون(PCL) با ساختار پوسته-هسته پرداخته‌اند که در مدل اول پوسته آن از الیاف نانوفیبر (PCL-NCY) و در دیگری هسته آن پلی‌گلیکولیک‌اسید (PGA-MFS) است. با استفاده از فیبروبلاست‌های گرفته شده از دم موش مشخص شد که ماتریس PCL-NCY در مقایسه با PGA-MFS دارای خواص مکانیکی بهتر، تخلخل بیشتر(۴ برابر)، قدرت کششی بیشتر و همچنین کشت سلول بر روی این ماتریس راحت‌تر بوده است [۲۵].

۳- سامانه‌های ترکیب شده با ذرات

ویرایش نشده

نانوذرات و میکروذرات مدت‌ها برای انتقال پروتئین‌ها استفاده می‌شوند. روش‌های مختلفی برای حفظ زیست فعالی و کنترل پروفایل رهایش پروتئین‌های گنجانده شده در آن‌ها معرفی شده‌اند. یک روش، همراه کردن این نانو ذرات و میکروذرات درون نانوالیاف مختلف برای رسیدن به رهایش کنترل شده‌ی فاکتورهای رشد است که از جمله مزایای آن داشتن یک شبکه‌ی متخلخل به هم پیوسته است. داربست‌های همراه با نانوذرات و میکروذرات تثبیت شده، رهایش انفجاری را کاهش می‌دهند. علاوه بر آن، فاکتورهای زیستی متعددی می‌تواند در یک مدل کنترل‌شده‌ی زمانی و فضایی که سینتیک رهایش هر فاکتور به طور جداگانه از طریق فرمولاسیون مجزای نانوذرات و میکروذرات کنترل می‌شود، انتقال داده شوند. از فواید این نوع سامانه‌ها می‌توان به مواردی نظیر قابل کنترل بودن رهایش ذرات در گستره وسیعی از نیازها، حداقل شدن برهمکنش بین ذرات و داربست پلیمری و همچنین قابلیت بارگذاری مولکول‌های زیستی حساس به شرایط سخت الکتروریسی به دلیل جدا بودن مرحله بارگذاری ذرات اشاره کرد. یونسکو و همکارانش میکروذرات PLGA بارگذاری شده با سرم آلبومین گاوی (BSA) و یا کندرویتین سولفات را درون پلیمرPEG الکتروریسی کردند .فرایند الکتروریسی این مخلوط، همزمان با PCL بود به طوری که با حذف PEG این ذرات در بین الیاف PCL قرار گرفتند .روند رهایش از این میکروذرات محصورشده بین الیاف، مشابه با رهایش از میکروذرات آزاد بود [۲۶].

ویرایش نشده

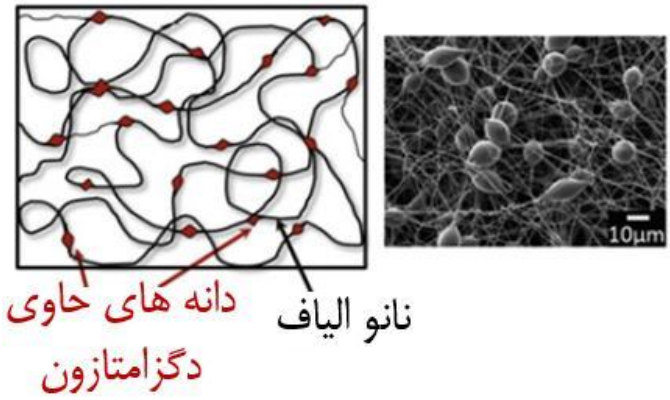
۳- رویکردهای جدید در تولید داربست های الکتروریسی شده

۳-۱- داربست های دانه دار

در سال ۲۰۱۴، ایده‌ی استفاده از داربست‌های دانه‌دار به عنوان مخزنی برای ذخیره‌ی مولکول های زیستی مطرح شد (شکل ۵). تا قبل از آن، تشکیل دانه[8]هنگام الکتروریسی، امری نامطلوب تلقی می‌شد و سعی برآن بود تا با تنظیم شرایط حاکم بر الکتروریسی، از تشکیل این دانه‌ها جلوگیری به عمل آید و محصول الکتروریسی، الیافی یک دست باشد. گاهاروا[9] و همکارانش از دانه های ایجاد شده طی فرایند الکتروریسی، برای ذخیره‌ی کنترل شده‌ی عامل تمایزی دگزامتازون درون

[8] Bead
[9] Gaharwar

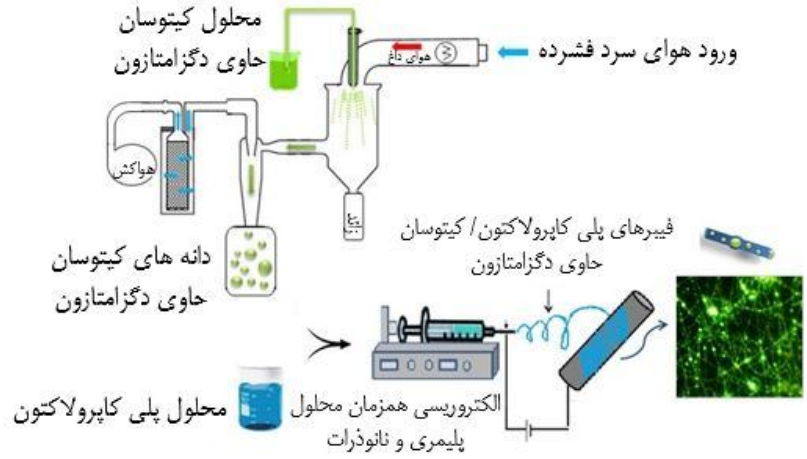
الیاف PEOT/PBT و رهایش پایدار آن استفاده کردند [۲۷]. با بارگذاری دگزامتازون، دانه های متعدد و یکنواختی درون الیاف تشکیل شد (شکل۶). نتایج آن ها نشان داد با افزایش میزان بارگذاری، تعداد دانه ها در داربست افزایش می یابد، اما خواص مکانیکی داربست افت می‌کند. رهایش دگزامتازون از این الیاف دانه دار طی یک رهایش نسبتا پایدار، در مدت ۲۸ روز به حدود ۷۰ درصد مقدار بارگذاری شده رسید. رهایش دگزامتازون، باعث بهبود رشد و تکثیر سلول های بنیادی مزانشیمی کشت داده شده روی الیاف شد و فعالیت آلکالین فسفاتازی آن ها را افزایش داد تا این داربست ها را بتوان به عنوان گزینه ای در درمان نقص های استخوانی معرفی کرد [۲۷].



شکل ۵- تصویر شماتیک و میکروسکوپ الکترونی ذخیره ی دگزامتازون در داربست دانه دار [۲۷]

در کاری مشابه، امیدوار و همکاران کارایی الیاف الکتروریسی شده ی پلی کاپرولاکتون همراه با میکروذرات کیتوسان بارگذاری شده با دگزامتازون را در محیط کشت تمایزی مطالعه شد [۲۸]. در این تحقیق، میکروذرات کیتوسان حاوی دگزامتازون که به روش خشک کن پاششی تهیه شدند همراه با محلول پلی کاپرولاکتون الکتروریسی شدند (شکل ۶). مطالعه میزان آب دوستی داربست ها نشان داد که حضور کیتوسان درون الیاف، میزان آبدوستی آنها را در حد قابل توجهی افزایش می دهد و بارگذاری دارو درون میکروذرات با حذف رهایش انفجاری همراه است. همچنین کشت سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان روی این دربستها نشان دهنده افزایش فعالیت آلکالین فسفاتازی بود. در مجموع نتایج این

پژوهش نشان داد که الیاف ترکیبی پلی کاپرولاکتون و ذرات کیتوسان حاوی دگزامتازون می تواند به عنوان یک داربست زیست فعال برای مهندسی بافت استخوان استفاده شود [۲۸].



شکل ۶- مراحل ساخت داربست کیتوسان/پلی کاپرولاکتون [۲۸]

۳-۲- الکتروریسی دولایه

الکتروریسی دو لایه روش جدید دیگری است که اخیرا برای ساخت داربست های مهندسی بافت از آن استفاده می شود. بهره گیری از خواص مطلوب هر لایه و امکان بارگذاری جداگانه‌ی داروها و مولکول های زیستی در هرکدام از لایه-ها، عمده‌ترین مزیت استفاده از این داربست‌ها است. راجزر[1] و همکارانش در سال ۲۰۱۴ یک لایه ژلاتین را روی یک لایه ی الکتروریسی شده از پلی کاپرولاکتون 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 قبل از الکتروریسی، به ذرات کلسیم فسفات آغشته شد تا این ذرات، هسته های اولیه ای برای شروع فرایند معدنی زایی باشند و تمایز استخوانی را ایجاد کنند. ژلاتین ساختاری بسیار شبیه به کلاژن دارد که قسمت عمده‌یECM استخوانی را تشکیل می‌دهد. بنابراین سلول‌ها تمایل زیادی به چسبیدن روی

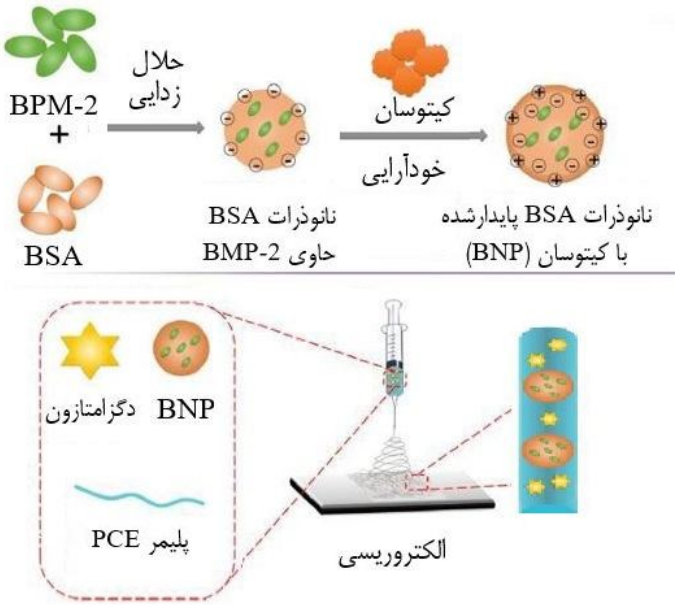
[1] Rajzer

لایه‌ی ژلاتینی و رشد و تکثیر روی آن دارند، اما ژلاتین خواص مکانیکی مطلوبی برای کاربرد در مهندسی بافت استخوان را دارا نیست. استفاده از لایه ی پلی کاپرولاکتون، خواص مکانیکی داربست را به طور چشمگیری بهبود می‌بخشد تا شرایط لازم را برای یک 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 سلول ها شده است [۲۹].

۳-۳- داربست هایی با بیش از یک پروفایل رهایش

رهایش پایدار و کنترل شده‌ی دو یا چند عامل رشد و تمایز از داربست‌ها، مساله‌ای است که اخیرا توسط بسیاری از پژوهشگران مهندسی بافت مورد توجه قرار گرفته است. با در دست داشتن داربستی با امکان رهایش دو عامل رشد و تمایز با دو دوره‌ی رهایش متفاوت، می توان کنترل بهتر و بیشتری روی رشد، تکثیر و تمایز سلول ها داشت. لی[1] و همکارانش برای تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی و رفع نقص استخوان جمجمه‌ی موش، از دو داروی دگزامتازون و BMP-2 به طور هم زمان در یک داربست نانولیفی الکتروریسی شده استفاده کردند [۳۰]. همان طور که در شکل ۷ دیده می شود، آن ها BMP-2 را ابتدا درون نانوذرات BSA بارگذاری کرده و سپس ذرات را درون الیاف وارد کردند تا هم فعالیت زیستی BMP-2 از دست نرود و توسط BSAمحافظت شود و هم رهایش آرام‌تری را نتیجه دهد. داروی دگزامتازون به صورت آمیخته درون الیاف بارگذاری شد تا دوره ی رهایش کوتاه تری را همراه با یک رهایش انفجاری اولیه، از خود بروز دهد. دگزامتازون برای کاهش التهاب اولیه و شروع فرایند تمایز استخوانی باید رهایش انفجاری داشته باشد اما BMP-2 برای تکمیل فرایند تمایز سلول‌ها به سلول استخوان باید یک رهایش آرام و پایدار را نتیجه دهد. نمودارهای رهایش این دو دارو، نشان دهنده ی رهایش انفجاری دگزامتازون و رهایش پایدار و خطی BMP-2 می باشد. تست های سلولی انجام شده، حکایت از توانایی بالا داربست در زنده مانی و رشد و تکثیر سلول ها دارد و افزایش معنی دار فعالیت آلکالین فسفاتازی در روز چهارد نشان دهنده ی موفقیت سازه در القای تمایز استخوانی است [۳۰].

[1] Li



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

ویرایش نشده

نتیجه‌گیری

داربست های نانولیفی الکتروریسی شده به دلیل سادگی فرایند تولید، مقرون به صرفه بودن روش الکتروریسی و امکان تولید الیافی با گستره‌ی وسیعی از ترکیب و شکل، امروزه مورد توجه پژوهشگران مهندسی بافت قرار گرفته است. با انتخاب روش مناسب بارگذاری مولکول های زیستی در این داربست‌ها می‌توان فرآیند موردنظر در محل بافت هدف را به خوبی کنترل نمود. روش‌های مرسوم جذب سطحی، تثبیت شیمیایی، الکتروریسی آمیخته، الکتروریسی هم محور و الکتروریسی تعلیقی برای بارگذاری عوامل تمایز و رشد استفاده می شود. به تازگی نیز روش‌هایی برای کنترل ساخت الیاف و بارگذاری هدفمند این عوامل داخل الیاف برای حصول رهایش کنترل شده، بکار گرفته شده‌اند. از میان این روش ها، می توان به

داربست های دانه دار، الکتروریسی دولایه، داربست های حاوی دو یا چند عامل رشد اشاره کرد. با توجه به مطالب گفته شده، به نظر می رسد روش الکتروریسی الیاف حاصل از این روش می تواند نقشی اساسی را در مهندسی بافت ایفا کنند.

منابع

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 (Persian), *Polymerization*, **8**, 26-35, 2018

3- Mashayekhi M.S. and Daemi H., Melt Electrospinning*:* An Overview on History, Methodes and Applications (Persian), *Polymerization*, 6, 107-115, 2015

4- Asadi Korayem M., and Daemi H., Alginate Electrospinning: Challenges and Solutions (Persian), *Polymerization*, **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 (Persian)*, Polymerization*, **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 Revi*, **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- Deliormanlı A. M., and Konyalı 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 Mate 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 (Persian), *Polymerization*, **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 Polymer 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

ویرایش نشده