



بررسی خواص مکانیکی و زیستی داربست های زیستی استوانه ای ساخته شده با چاپ گر سه بعدی

چکیده: امروزه، استفاده از داربست های زیستی در مهندسی بافت به منظور ترمیم بافت های آسیب دیده با ایجاد یک بستر مناسب برای رشد سلول ها در بدن موجودات زنده مورد توجه قرار گرفته است. این داربست ها باید بتوانند اکسیژن و مواد مغزی را به راحتی به سلول ها برسانند و همچنین، خواص مکانیکی متناسب با بافت هدف را داشته باشند. جنس داربست به همراه شکل و اندازه تخلخل آن از جمله عوامل تاثیرگذار بر این ویژگی ها هستند. از آنجا که داربست های مربعی و مستطیلی برای آسیب های دایره ای شکل مناسب نیستند لازم است داربست هایی استوانه ای شکل با استحکام و تخلخل مناسب برای این کاربردها ساخته شوند. در این مطالعه، تاثیر جنس و شکل تخلخل بر خواص مکانیکی و زیستی داربست های استوانه ای بررسی شده است. طبق نتایج ارائه شده در پژوهش های پیشین، داربست های دارای شکل های تخلخل سینوسی و دایره ای هم مرکز و کاگوم خواص مکانیکی و زیستی بهتری نسبت متعام دارند. با افزایش درصد ماده اسید آلژینیک و اکسید گرافن به داربست تری کلسیم فسفات، تخلخل و چسبندگی سلول ها افزایش می یابد. با افزودن هیدروکسی آپاتیت به داربست PCL، مدول و استخوان سازی نسبت به PCL خالص بهبود می یابد.

واژه های راهنما: مهندسی بافت، خواص مکانیکی، خواص زیستی، داربست استوانه ای، تخلخل

مهدی گیوه ای

دانشجوی کارشناسی ارشد

روح اله عزیزی تفتی*

استادیار،

دانشکده مهندسی مکانیک،

دانشگاه یزد، یزد

مقاله علمی پژوهشی

دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۱

بازنگری: ۱۴۰۳/۰۱/۲۰

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۱

Mehdi Givehee
MSc Student

Roohallah Azizi
Tafti*

Assistant Professor,
Faculty of Mechanical
Engineering,
Yazd University, Yazd

Investigating the mechanical and biological properties of cylindrical bioscaffolds made with a 3D printer

Abstract: Today, the use of biological scaffolds in tissue engineering is being considered in order to repair damaged tissues by creating a suitable substrate for the growth of cells in the body of living organisms. These scaffolds should be able to deliver oxygen and brain materials easily to the cells and also have mechanical properties appropriate to the target tissue. The type of scaffold along with the shape and size of its porosity are among the factors affecting these characteristics. Since square and rectangular scaffolds are not suitable for circular damages, it is necessary to build cylindrical scaffolds with suitable strength and porosity for these applications. In this study, the effect of the type and shape of porosity on the mechanical and biological properties of cylindrical scaffolds has been investigated. According to the results presented in previous researches, scaffolds with concentric sinusoidal and circular porosity shapes and Kagome have better mechanical and biological properties than orthogonal ones. By increasing the percentage of alginate acid and graphene oxide to the tricalcium phosphate scaffold, the porosity and adhesion of cells increases. By adding hydroxyapatite to the PCL scaffold, the modulus and bone formation are improved compared to pure PCL.

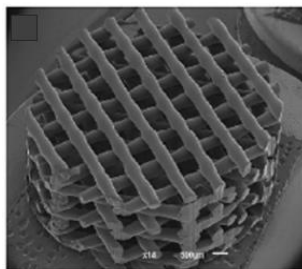
Keywords: Bioscaffold, Tissue engineering, Mechanical properties, Biological properties, Cylindrical scaffold, Porosity

۱- مقدمه

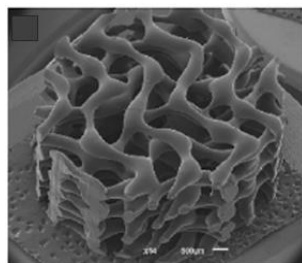
مرور پژوهش‌های پیشین، اثر تخلخل‌های گوناگون بر استحکام و رشد سلولی در داربست‌های استوانه‌ای مطالعه گردید.

۲- خواص مکانیکی

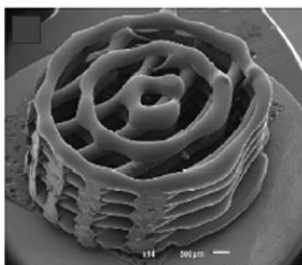
در پژوهشی که توسط فونسکا و همکاران انجام شد [۱۲]، داربست‌هایی استوانه‌ای از جنس پلی‌کاپرولاکتون (PCL) با تخلخل‌های متعامد، سینوسی و دایره‌ای هم‌مرکز مقایسه شدند. در حالی که در تخلخل متعامد، لایه‌ها با جهت‌گیری صفر و ۹۰ درجه به‌صورت متناوب روی هم چاپ شدند، در تخلخل سینوسی، لایه‌ها به‌صورت متناوب زاویای صفر، ۴۵ و ۹۰ درجه داشتند. در تخلخل سوم، لایه‌هایی متناوب به‌صورت دایره‌های هم‌مرکز و خطوط مستقیم با زاویه‌ی صفر درجه روی هم قرار گرفتند (شکل ۱).



متعامد
(الف)



سینوسی
(ب)



دایره‌ای
(ج)

شکل ۱ داربست‌های الف- استوانه‌ای با تخلخل‌های متعامد، ب- سینوسی و ج- دایره‌ای [۱۲]

چاپ سه‌بعدی یکی از نویدبخش‌ترین روش‌ها برای ساخت داربست برای مهندسی بافت است. یک داربست خالص ممکن است به دلیل نداشتن خواص بافت هدف برای عملکردهای زیستی محدود شود [۱].

صدمات و نقص‌های استخوانی ناشی از شکستگی، پوکی استخوان، شکستگی‌های پاتولوژیک و تومورها منجر به هزاران عمل جراحی می‌شود. هر چند پیوند استخوان یکی از بهترین روش‌های درمان است اما این شیوه را نمی‌توان بهترین درمان برای آسیب‌ها و نقایص استخوانی بزرگ دانست. مهندسی بافت یک زمینه بین‌رشته‌ای است که در آن، راهکارهایی برای بازسازی اندام‌ها یا بافت‌ها اجرا می‌شود [۲]. مهندسی بافت استخوان که شامل داربست، سلول‌های روی داربست و عوامل تاثیرگذار برای رشد است اکنون رویکردی مقرون‌به‌صرفه‌تر و مؤثرتر نسبت به عمل جراحی، برای درمان آسیب‌ها و نقص‌های استخوانی به شمار می‌رود [۳]. در مواردی که آسیب کوچک باشد و بافت با خودبازسازی ترمیم شود نیازی به مداخله پزشک نیست. با این حال، در نقص‌های بزرگ اغلب خودبازسازی و عملکرد طبیعی بدن جوابگو نیست و روش‌های درمانی موثرتری مورد نیاز است [۴]. داربست باید ساختار و خواص مکانیکی مربوط به بافت را فراهم کند. با این حال، روش‌های سنتی ساخت داربست (مانند قالب‌گیری ذوبی^۱، جداسازی فاز^۲، پیوند فیبر^۳ و فرم‌دهی با گاز^۴) که کنترل محدودی بر معماری و اتصال منافذ داربست دارند نمی‌توانند داربست‌های پلیمری مناسبی را برای بافت هدف بسازند [۵]. با توسعه‌ی سریع روش‌های چاپ سه‌بعدی، داربست‌های سه‌بعدی چاپ‌شده نیز به تدریج جایگزین داربست‌های سنتی در بازسازی غضروف و استخوان می‌شوند [۶ و ۷]. این داربست‌ها بسیار متخلخل بوده و با داشتن ساختار منافذ به‌هم‌پیوسته می‌توانند مواد مغذی را انتقال دهند. این داربست‌ها باید سطوح مناسبی برای اتصال به سلول‌ها داشته باشند تا بتوانند رشد سلولی مناسبی را نتیجه دهند. داربست سه‌بعدی چاپ‌شده می‌تواند فضای مناسبی را برای بازسازی استخوان ایجاد کند [۸] و در طراحی و ساخت آن باید مقدار تخلخل، اندازه منافذ، نحوه اتصال لایه‌ها، خواص مکانیکی و هندسه مناسبی در نظر گرفته شود [۹-۱۱].

در این پژوهش، خواص مکانیکی و زیستی داربست‌های استوانه‌ای با تخلخل‌های متعامد و غیرمتعامد بررسی شد و با

³ fibre bonding

⁴ Gas foaming

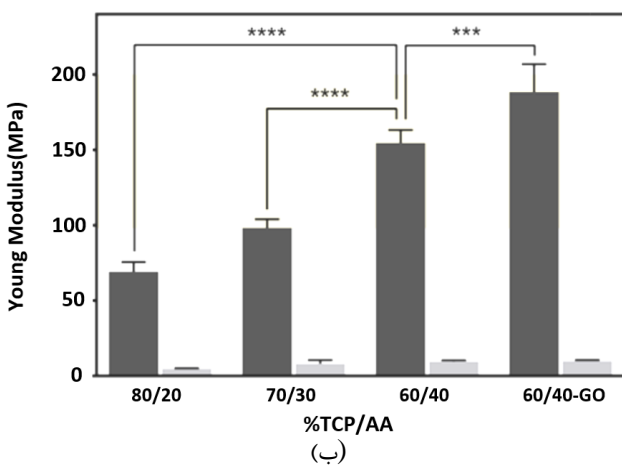
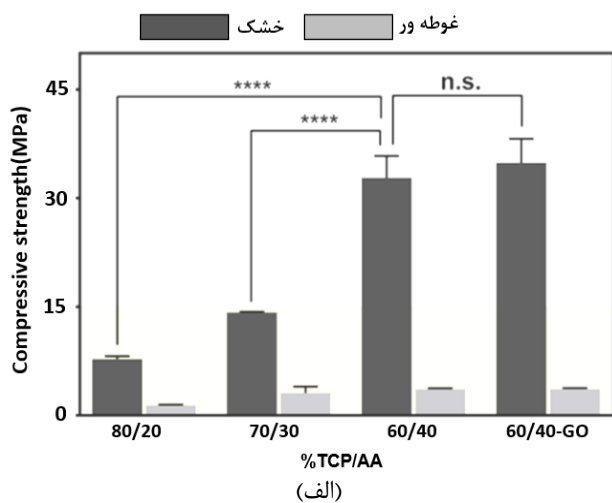
¹ Melt moulding

² Phase separation

بوگا و همکاران [۱۳] با تقلید از معماری طبیعی استخوان‌ها، داربست‌هایی استوانه‌ای را متشکل از لایه‌های متناوب با نام‌های α و β با شکل‌های متفاوت به کمک چاپگر سه‌بعدی ساختند که سلول‌ها بتوانند روی آن‌ها بچسبند، تکثیر شوند و تمایز پیدا کنند (شکل ۴).



شکل ۴ روش چاپ داربست‌های استوانه‌ای در مطالعه‌ی بوگا و همکاران [۱۳]

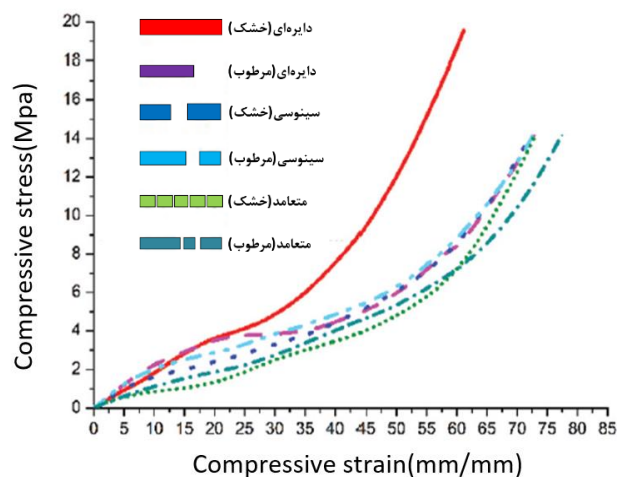


شکل ۵ الف- استحکام فشاری ب- مدول یانگ داربست‌های استوانه‌ای در شرایط خشک و غوطه‌ور برای درصدهای مختلف ماده TCP/AA [۱۳]

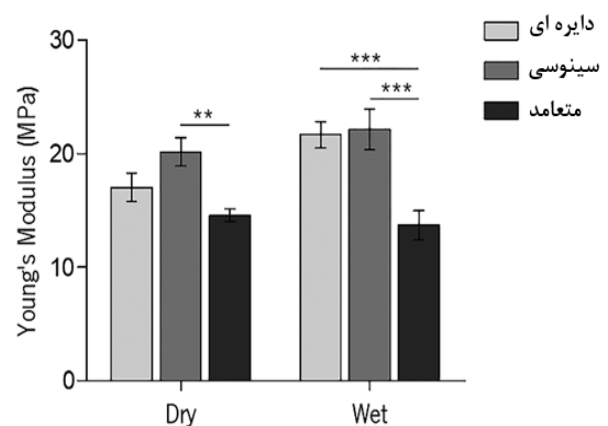
در این داربست‌ها، هر لایه به عنوان تکیه‌گاه برای لایه بعدی عمل می‌کند تا یکپارچگی ساختاری داربست‌ها در حین چاپ حفظ شود. بدین ترتیب، داربست‌هایی شامل ۹ لایه با قطر ۱۶

از آن جایی که درصد تخلخل به شدت بر عملکرد مکانیکی و زیستی داربست‌ها تأثیر می‌گذارد، برای چاپ داربست‌ها درصد تخلخل‌های گوناگون در نظر گرفته شد. داربست‌های متعادل دارای اندازه متوسط منافذ ۰/۴۸ میکرومتر بودند که کوچک‌تر از دو شکل تخلخل دیگر بود (اندازه منافذ در تخلخل‌های دایره‌ای و سینوسی به ترتیب ۰/۵۵ و ۰/۵۷ میکرومتر بود). بنابراین، با داشتن اثر تخلخل، اندازه منافذ و سطح، اگر رفتار سلولی متفاوتی در زمان کاشت در داربست مشاهده شود، به دلیل جنبه‌هایی غیر از اثر تخلخل خواهد بود.

با توجه به شکل‌های (۲) و (۳)، شکل‌های تخلخل دایره‌ای و سینوسی چه در شرایط خشک و چه در زمان غوطه‌وری در محلول بافر فسفات سالین (PBS^۱) که این محلول به ثابت ماندن Ph کمک می‌کند و مشابه شرایط بدن انسان است، استحکام فشاری و مدول یانگ بالاتری نسبت به تخلخل متعادل دارند.



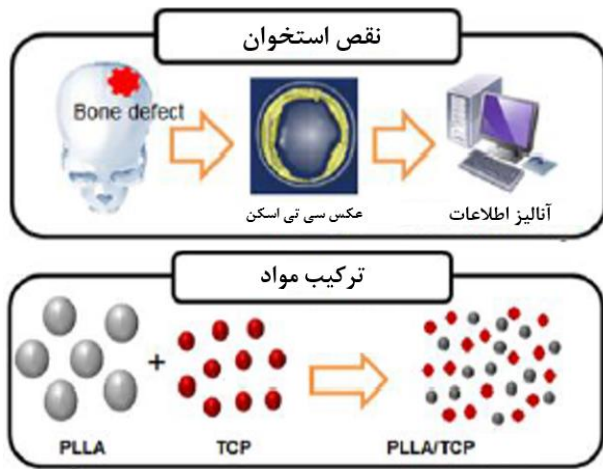
شکل ۶ منحنی تنش - کرنش فشاری داربست‌های استوانه‌ای با تخلخل‌های دایره‌ای، سینوسی و متعادل [۱۲]



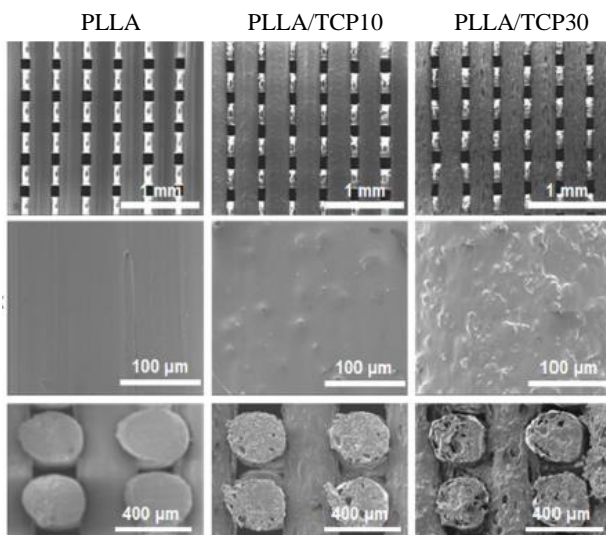
شکل ۷ مدول یانگ داربست‌های استوانه‌ای با تخلخل‌های دایره‌ای، سینوسی و متعادل [۱۲]

^۱ Phosphate buffered saline

PLLA+TCP30 به دلیل وجود TCP سطوح ناهموار و متخلخلی داشتند (شکل ۷).



شکل ۶ فرایند اسکن و ترکیب مواد PLLA و TCP [۱۴]



شکل ۷ تصاویر SEM از داربست‌های چاپ‌شده از جنس‌های PLLA، PLLA/TCP10 و PLLA/TCP30 [۱۴]

مدول فشاری داربست‌های PLLA، PLLA/TCP10 و PLLA/TCP30 اندازه‌گیری شد تا با مدول فشاری استخوان جمجمه انسان که ۴۵۰ مگاپاسکال است مقایسه شود. در حالی که مدول فشاری داربست پلی آل لاکتیک اسید خالص 258 ± 102 مگاپاسکال است، داربست‌های PLLA/TCP10 و PLLA/TCP30 مدول فشاری بیش‌تری را نشان دادند (به ترتیب 40 ± 310 و 349 ± 51 مگاپاسکال). هر چند این داده‌ها نشان داد که TCP مدول فشاری داربست PLLA را افزایش می‌دهد، اما داربست PLLA/TCP30 هم مدول فشاری کم‌تری نسبت به استخوان جمجمه انسان دارد.

میلی‌متر و ارتفاع ۱۰/۵ میلی‌متر به صورت یک شبکه منافذ بهم‌پیوسته با هدف دستیابی به تخلخل و استحکام مکانیکی کافی چاپ شدند.

جنس این داربست‌ها از تری‌کلسیم فسفات (TCP) و اسید آلژینیک (AA) بود. علاوه بر این، به منظور ارتقای خواص مکانیکی برخی از داربست‌ها، اکسیدگرافن (GO) در ساختار آن‌ها گنجانده شد. شکل (۴) مراحل تکمیل شدن داربست در حین چاپ سه‌بعدی را نشان می‌دهد. لایه‌ی آلفا به صورت دایره‌های هم‌مرکز و لایه‌ی بتا به صورت شعاعی به ترتیب چاپ شدند.

خواص مکانیکی داربست‌ها در شرایط خشک و غوطه‌ور به منظور مقایسه استحکام و مدول یانگ در بیرون و داخل بدن انسان ارزیابی شد (شکل ۵). برای این کار، داربست‌ها به مدت یک ساعت در محلول SBF^۱ با غلظت یونی مشابه با پلاسما یی خون انسان که تحت شرایط دمایی و PH بدن نگهداری می‌شود به عنوان مایعی شبیه‌سازی‌شده از محیط بدن غوطه‌ور شدند.

جنس داربست‌ها می‌تواند خالص و یا ترکیب چند ماده باشد. در این پژوهش، چهار جنس برای داربست بررسی شده که درصد ترکیب تری‌کلسیم فسفات (TCP) و اسید آلژینیک (AA) در آن‌ها متفاوت بوده است (TCP/AA = 80/20, 70/30, 60/40). در داربست چهارم، اکسیدگرافن (GO) نیز به TCP/AA = 60/40 اضافه شده است.

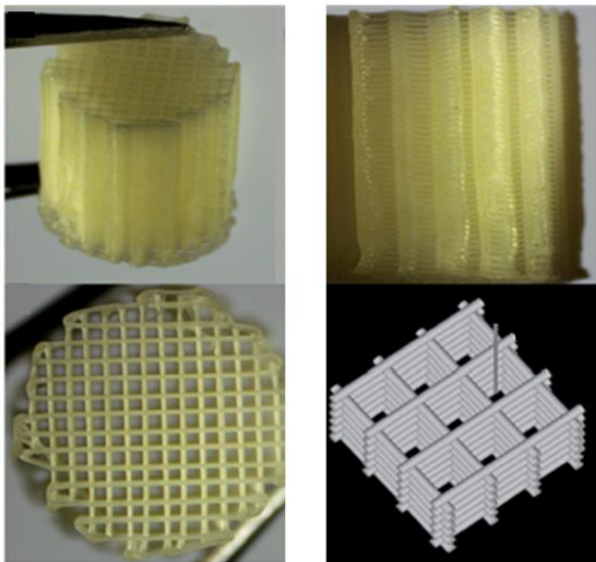
در حالی که تخلخل بیش‌تری در داربست‌های حاوی GO مشاهده شد، خواص مکانیکی آن‌ها (استحکام فشاری و مدول یانگ) نسبت به داربست‌های دیگر بالاتر بود (شکل ۵). این داربست‌ها، هم‌چنین، ظرفیت زیست‌کانی‌سازی را افزایش دادند و قادر به افزایش فعالیت آلکالین فسفات از (ALP) بودند که باعث می‌شود داربست‌های TCP/AA حاوی GO برای کاربردهای مهندسی بافت استخوان کاربردی شوند.

وون و همکاران [۱۴]، از یک داربست سه‌بعدی از جنس پلی‌ال‌لاکتیک اسید (PLLA) و TCP برای ایجاد استخوان جدید در یک نقص استخوانی استفاده کردند. آن‌ها با اسکن نقص و آنالیز اطلاعات و سپس ترکیب مواد، داربست‌های استوانه‌ای PLLA/TCP با قطر ۵ میلی‌متر و ارتفاع ۱ میلی‌متر با تخلخل‌های متعامد و اندازه‌ی منافذ ۱۰۰ میکرومتری با درصد‌های وزنی ۱۰ و ۳۰ را ساختند (شکل ۶). میانگین تخلخل داربست‌های چاپ‌شده از جنس‌های PLLA، PLLA/TCP10 و PLLA/TCP30 حدود ۶۲ درصد بود. در حالی که داربست PLLA سطوح صافی داشت، داربست‌های PLLA+TCP10 و

^۱ Simulated body fluid

پس از انجام آزمون‌های مکانیکی روی داربست‌ها، همان‌طور که در شکل (۹) نشان داده شده است، استحکام فشاری تخلخل‌های متعامد و کاگوم به ترتیب $42/73 \pm 5/89$ و $59/95 \pm 2/91$ مگاپاسکال بود. همچنین، مدول خمشی تخلخل‌های متعامد و کاگوم به ترتیب $73/32 \pm 12/89$ و $171/89 \pm 17/75$ مگاپاسکال بود. این نتایج نشان می‌دهد، تخلخل کاگوم خواص مکانیکی برتری نسبت به تخلخل متعامد دارد.

ما و همکاران [۱۷] داربست‌هایی استوانه‌ای با شکل تخلخل متعامد را از چهار جنس PCL، PCL/PVAc، PCL/HA و PCL/PVAc/HA چاپ کردند و از نظر ریخت‌شناسی، خواص مکانیکی و ویژگی‌های زیستی مقایسه نمودند. شکل (۱۰) داربست چاپ‌شده از جنس PCL/PVAc/HA را نشان می‌دهد.

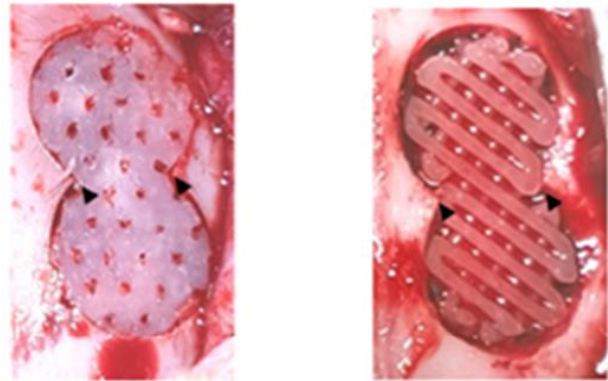


شکل ۱۰ داربست چاپ‌شده با تخلخل متعامد از جنس PCL/PVAc/HA [۱۷]

آن‌ها از PCL به عنوان یک ماتریس چاپ سه‌بعدی برای تهیه داربست‌های ترکیبی PCL/HA استفاده کردند که پشتیبانی قابل انعطاف برای داربست بوده و HA استحکام و زیست‌فعالی آن را تقویت می‌کند. PCL، از یک طرف، یک ماده آب‌گریز است که چسبندگی مناسبی با سلول‌ها ندارد و از طرف دیگر، سرعت تخریب آن بسیار کند است. سه دلیل برای افزودن پلی‌وینیل‌استات (PVAc) به داربست PCL وجود دارد:

- ۱- PVAc می‌تواند آب‌دوستی ماتریس PCL را برای تقویت اتصال پروتئین‌ها و سلول‌ها بهبود بخشد.
- ۲- نقطه ذوب PVAc پایین بوده و می‌تواند به قالب‌گیری داربست در دمای مناسب و نزدیک به کاربردهای بالینی کمک کند.

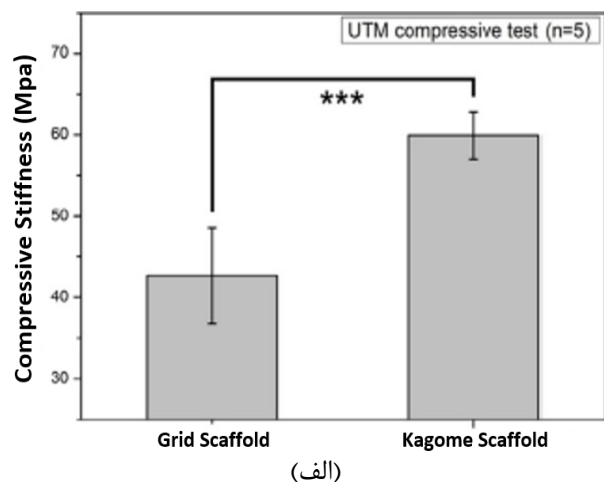
لی و همکاران [۱۶] یک داربست سفارشی با شکل پیچیده و تخلخل کاگوم را در داخل بدن مورد ارزیابی قرار دادند. کاگوم یک تخلخل سه‌بعدی اختصاصی برای یک ناحیه نقص است که با توجه به داده‌های توموگرافی سه‌بعدی طراحی شد. آن‌ها داربست‌های با تخلخل‌های کاگوم و متعامد (به عنوان یک گروه کنترل) را با استفاده از یک چاپگر سه‌بعدی از جنس PCL تولید کردند (شکل ۸).



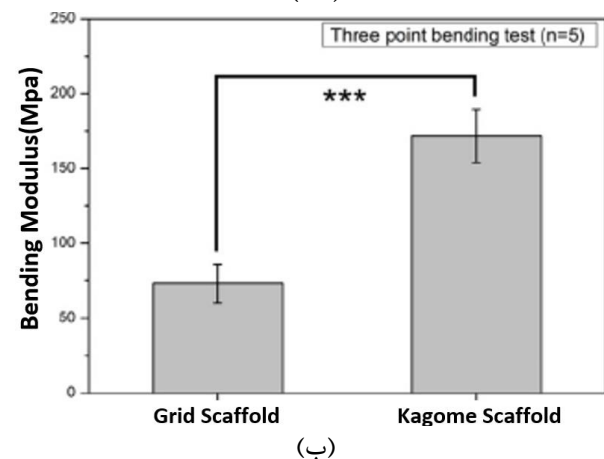
داربست کاگوم

داربست متعامد

شکل ۸ داربست متعامد و کاگوم



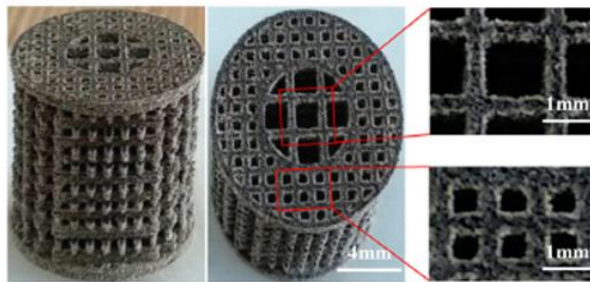
(الف)



(ب)

شکل ۹ الف- استحکام فشاری و ب- مدول خمشی داربست‌هایی با تخلخل‌های متعامد و کاگوم [۱۶]

متعامد با منافذ ریز در اطراف و منافذ بزرگتر در وسط چاپ شد. جهت انجام آزمون‌های زیستی، داربست‌ها در نقص ایجادشده در استخوان دست یک خرگوش قرار داده شد (شکل ۱۱).

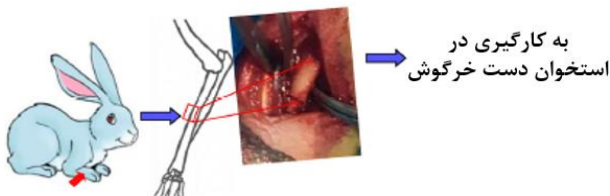


داربست PEEK/PVA/GO



داربست PEEK/PVA

(الف)



(ب)

شکل ۱۱ الف- داربست‌های کامپوزیتی PEEK/PVA/GO و ب- جایگذاری داربست چاپ‌شده در استخوان دست خرگوش [۱۸]

برای بررسی توزیع فاز PVA در کامپوزیت PEEK/PVA/GO، داربست‌ها در محلول SBF قرار داده شد تا فاز PVA حذف و حل شود که در نتیجه، جای خالی PVA به شکل کره‌هایی توخالی در ماتریس PEEK ظاهر شد. در شکل (۱۲) می‌توان مشاهده کرد که کره‌های توخالی در داربست‌های PEEK/PVA-1GO (دارای ۱٪ وزنی GO) بسیار ظریف‌تر و یکنواخت‌تر از داربست‌های PEEK/PVA و PEEK/PVA-0.5GO (دارای ۰.۵٪ وزنی GO) هستند که نشان از افزایش سازگاری بین PEEK و PVA با افزودن GO دارد. با افزودن بیش‌تر GO تا ۱/۵ و ۲ درصد یکنواختی و ظرافت داربست به هم

۳- تخریب سریع PVAc می‌تواند قرارگرفتن در معرض ذرات زیست‌فعال HA را در مقایسه با PCL بهبود بخشد و فعالیت زیستی سلول‌ها را ارتقا دهد.

هم بهبود آب‌دوستی و هم جذب و تخریب داربست برای بازسازی استخوان مفید خواهد بود. نتایج نشان می‌دهد که PVAc استحکام مکانیکی داربست‌ها را کاهش می‌دهد. تخلخل، استحکام فشاری و مدول یانگ داربست‌ها در جدول (۱) آورده شده است. مشاهده می‌شود که هر چند همه‌ی داربست‌ها دارای تخلخل مشابهی از ۷۴/۱٪ تا ۷۶/۱٪ هستند، تفاوت آشکاری بین خواص مکانیکی آن‌ها وجود دارد. اگر چه استحکام فشاری و مدول یانگ داربست سه‌جزئی PCL/PAVc/HA کم‌تر از داربست‌های PCL/HA و PCL است، اما هنوز در محدوده خواص مکانیکی استخوان اسفنجی انسان قرار دارند (استحکام فشاری ۱۱-۰/۸ مگاپاسکال و مدول یانگ ۱۲-۱۴۰ مگاپاسکال است).

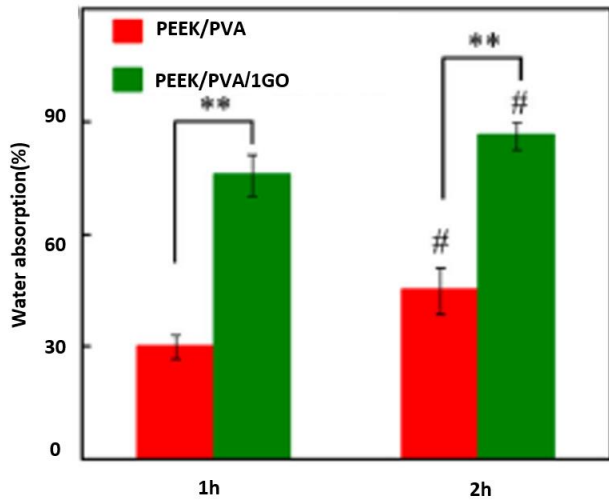
جدول ۱ بررسی اثر جنس داربست‌های دایره‌ای بر تخلخل، استحکام فشاری و مدول یانگ آن‌ها [۱۷]

داربست	درصد تخلخل	استحکام فشاری (MPa)	مدول یانگ (MPa)
PCL	76.1 ± 0.32	11.9 ± 1.57	72.3 ± 11.4
PCL/PVAc	74.9 ± 0.67	3.9 ± 0.28	26.6 ± 1.9
PCL/HA	74.1 ± 0.17	9.5 ± 0.98	125.4 ± 15.1
PCL/PVAc/HA	74.2 ± 0.54	6.3 ± 0.86	55.5 ± 15.4

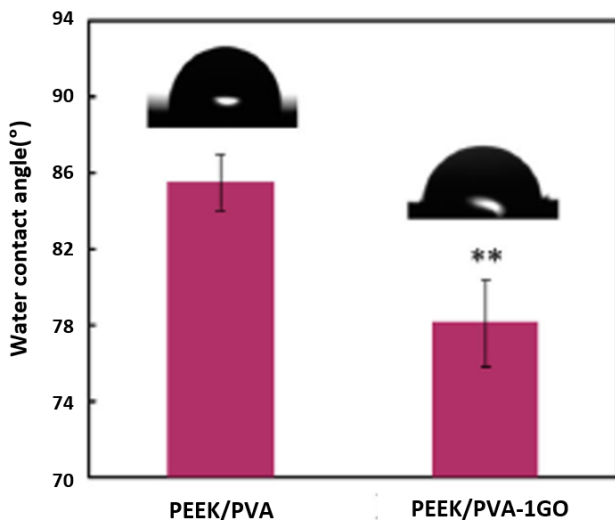
فنگ و همکاران [۱۸]، با ترکیب پلی‌اتراکتون (PEEK) با پلی‌وینیل‌الکل (PVA)، داربستی کامپوزیتی را ساختند که خواص بیومکانیکی عالی PEEK و تجزیه‌پذیری قابل توجه PVA را با هم داشت. با این حال، پیوند سطحی ضعیف بین غیرقطبی و PVA قطبی منجر به خواص مکانیکی ضعیفی برای داربست حاصل داشت. افزودن GO باعث تقویت پیوند سطحی بین PEEK و PVA در داربست‌های PEEK/PVA شد.

اگر چه پلی‌اتراکتون (PEEK) دارای خواص بیومکانیکی برتری مانند استحکام و مدول یانگ بالا و زیست‌سازگاری مطلوب است که آن را برای کاربرد ایمپلنت استخوانی مناسب می‌کند، اما آب‌گریزی و تخریب‌پذیری پایین آن به ترتیب برای چسبندگی سلولی و رشد بافت مفید نیست. PVA یک پلیمر زیست‌سازگار و آب‌دوست است که تخریب‌پذیری قابل‌توجهی دارد. بعد از تهیه کامپوزیت PEEK/PVA/GO، داربست توسط چاپ‌گر سه‌بعدی تف‌جوشی انتخابی با لیزر (SLS) با تخلخل‌های

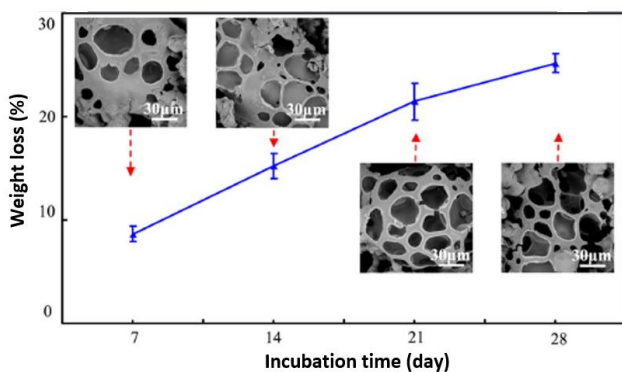
همان‌طور که در شکل (۱۴) دیده می‌شود، داربست PEEK/PVA/1GO رفتار جذب آب بالاتر و آبدوستی کم‌تری نسبت به داربست PEEK/PVA دارد و بر خلاف PEEK/PVA می‌تواند در PBS تخریب شوند.



(الف)



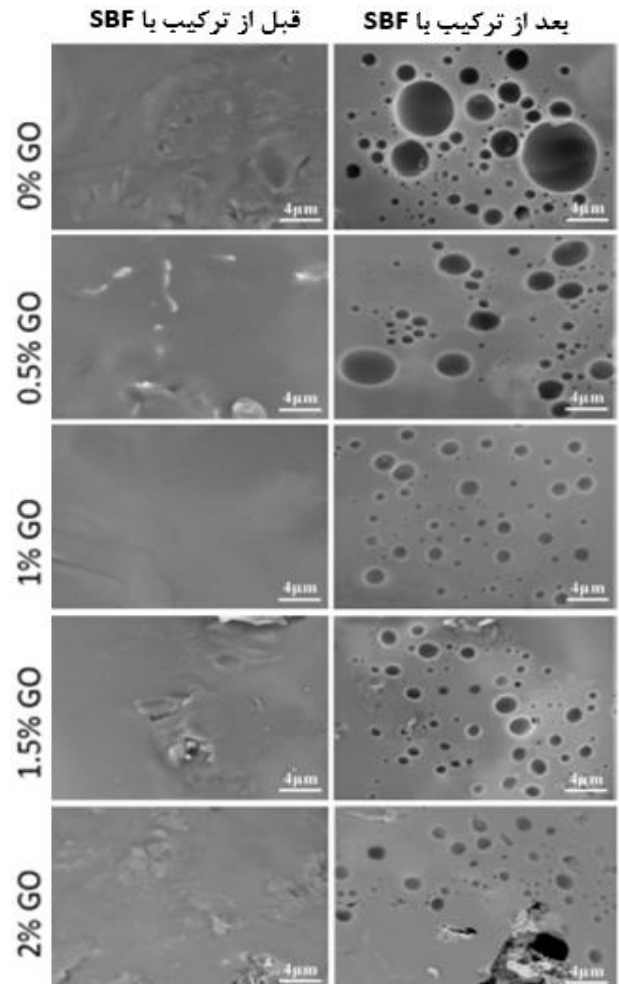
(ب)



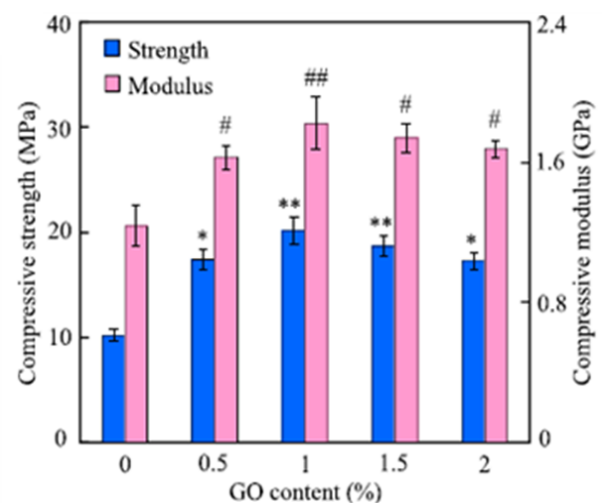
(ج)

شکل ۱۴ مقایسه الف- درصد جذب آب، ب- زاویه تماس با آب (آبدوستی) و ج- تخریب‌پذیری دو داربست PEEK/PVA-1GO و PEEK/PVA [۱۸]

می‌ریزد. بنابر این، ۱٪ بهترین درصد وزنی برای GO است. با توجه به شکل (۱۳)، با افزودن GO تا یک درصد وزنی، استحکام و مدول فشاری افزایش و سپس برای بیش‌تر از ۱٪ کاهش می‌یابد.



شکل ۱۲ تصاویر SEM از داربست‌های PEEK/PVA/GO قبل و بعد از قرارگیری در محلول SBF [۱۸]

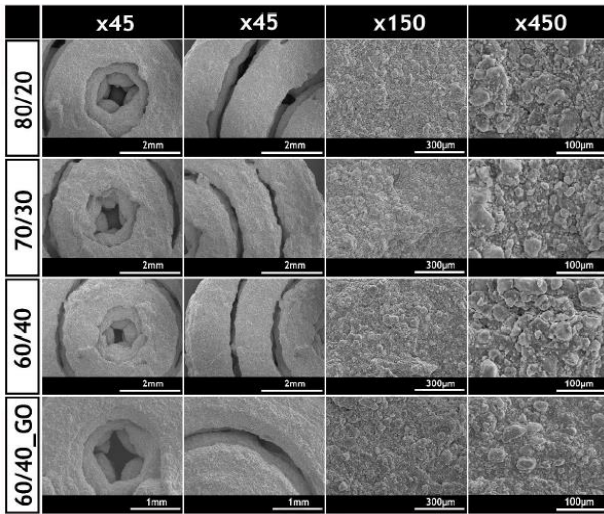


شکل ۱۳ استحکام و مدول فشاری داربست‌های استوانه‌ای PEEK/PVA-GO [۱۸]

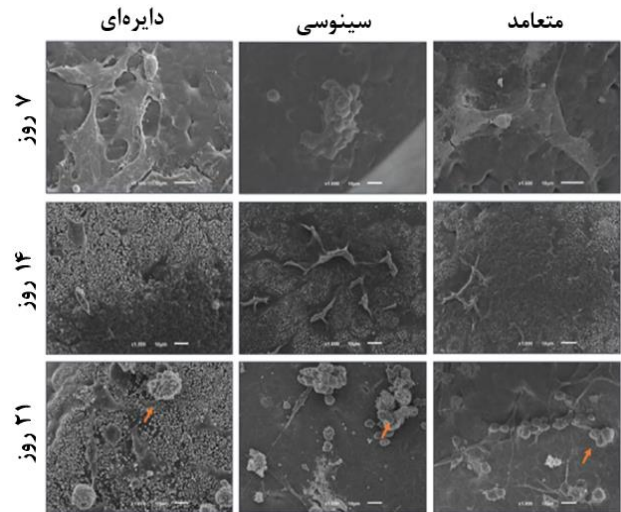
۳- خواص زیستی

استخوانی گسترده‌ای را در هفته‌های ۸ و ۱۲ پس از کاشت نشان داد (شکل ۱۷).

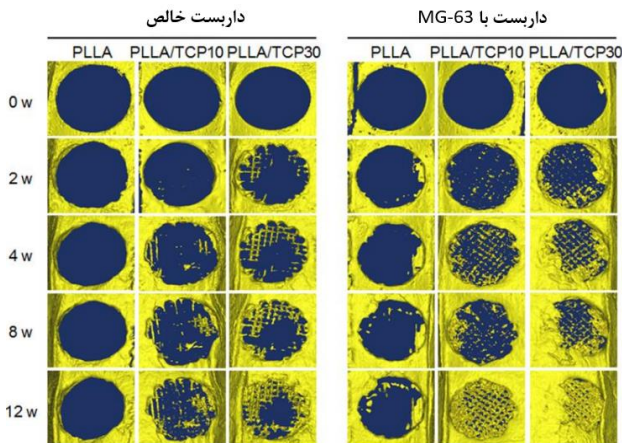
فونسکا و همکاران [۱۲] با بررسی تصاویر SEM نشان دادند که تخلخل‌های غیرمتعامد (سینوسی و دایره‌ای) تأثیر مثبتی بر عملکرد زیستی سلول‌ها در هنگام کشت در این داربست‌ها دارند و به تکثیر سلولی بیشتری نسبت به تخلخل متعامد منجر می‌شوند (شکل ۱۵).



شکل ۱۶ تصویر SEM از داربست‌های TCP/AA با مقادیر ۳۰، ۲۰ و ۴۰ درصد از ماده AA و افزودن ماده GO [۱۳]



شکل ۱۵ تصاویر SEM مربوط به سه داربست با تخلخل‌های متعامد، سینوسی و دایره‌ای پس از کشت سلول در مدت ۲۱ روز [۱۲]



شکل ۱۷ تصویر میکروسی‌تی از رشد سلولی در داربست‌ها طی ۱۲ هفته با و بدون سلول MG-63 [۱۴]

سلول‌های MG-63 (استئوبلاستوم انسانی) به خوبی به داربست PLLA/TCP چسبیده و تکثیر شدند. برای ارزیابی تشکیل استخوان جدید در داخل بدن، داربست چاپی PLLA/TCP در یک نقص استخوان جمجمه در موش‌ها کاشته شد.

جوندالی و همکاران [۱۵] با چاپ داربست‌های سه‌بعدی PCL (شکل ۱۸) و روکش آن‌ها با پلاسمای غنی از پلاکت (PRP^۱) به دو روش سنتی و خشک‌شده با انجام، خواص زیستی آن‌ها را بررسی کردند. PRP یک درمان پزشکی است که از خون خود بیمار برای کمک به بهبودی و بازسازی بافت استفاده می‌کند.

بوگا و همکاران [۱۳] با تجزیه و تحلیل تصاویر SEM داربست‌ها به بررسی ریخت‌شناسی، تخلخل و ویژگی‌های سطح آن‌ها پرداختند (شکل ۱۶). آن‌ها دریافتند با افزایش درصد ماده AA و افزودن GO، تخلخل داربست افزایش می‌یابد که این امر برای چسبندگی سلول‌ها به داربست مفید خواهد بود.

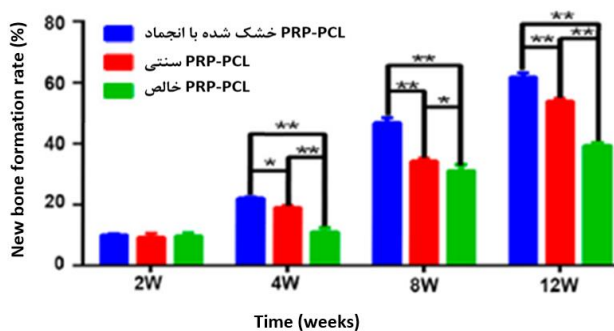
وون و همکاران [۱۴] با بررسی داربست PLLA/TCP مشاهده کردند داربست خالص PLLA تقریباً هیچ استخوان‌سازی را در نقایص استخوان جمجمه نشان نمی‌دهد، اما داربست PLLA همراه با سلول‌های MG-63 مقدار کمی استخوان‌سازی را در ناحیه مرزی نقص استخوان جمجمه نشان می‌دهد. داربست‌های PLLA+TCP10 و PLLA+TCP30 بدون سلول‌های MG-63، مواد معدنی استخوانی بیشتری نسبت به PLLA به تنهایی نشان دادند. تراکم مواد معدنی استخوان داربست‌های PLLA+TCP10 و PLLA+TCP30 با سلول‌های MG-63 به طور قابل توجهی بیشتر از داربست‌های بدون سلول‌های TCP و MG-63 بود. به طور کلی، نمای جمجمه داربست PLLA+TCP30 با سلول‌های MG-63 رشد‌های

^۱ Platelet Rich Plasma

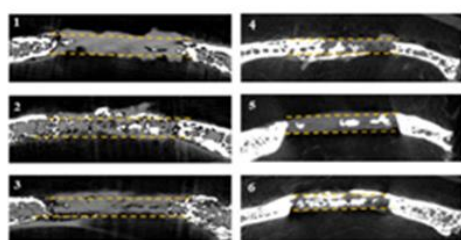
در این مطالعه، داربست PCL با پوشش دادن با PRP از طریق غوطه‌وری در محلول و سپس خشک کردن انجمادی آماده و سپس جهت آزمون‌های زیستی و مقایسه با روش سنتی در نقص ایجاد شده در استخوان موش قرار داده شد.

تصاویر SEM در شکل (۱۹) نشان می‌دهد که داربست خشک شده با انجماد سطح متخلخل‌تر دارد که برای اتصال و رشد سلولی مناسب‌تر است.

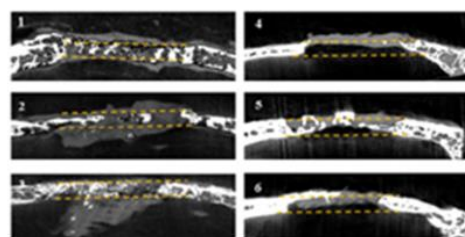
در داربست PCL خالص به دلیل عیوبی مثل عدم وجود خواص بیولوژیکی و آبدوستی استخوان‌سازی بیش‌تر در لبه‌های معیوب یا مرکز داربست تشکیل می‌شود که با افزودن PRP سعی در بهبود این خواص شده است. با توجه به شکل‌های (۲۰) و (۲۱) می‌توان نتیجه گرفت که در مقایسه با داربست‌های PRP-PCL سنتی یا داربست‌های PCL خالص، داربست‌های PRP-PCL خشک‌شده با انجماد باعث افزایش استخوان‌سازی به‌طور قابل توجهی می‌شوند.



شکل ۲۱ نمودار رشد سلول در داربست‌های PCL خالص، PRP-PCL سنتی و خشک‌شده با انجماد [۱۵]



داربست کاگوم

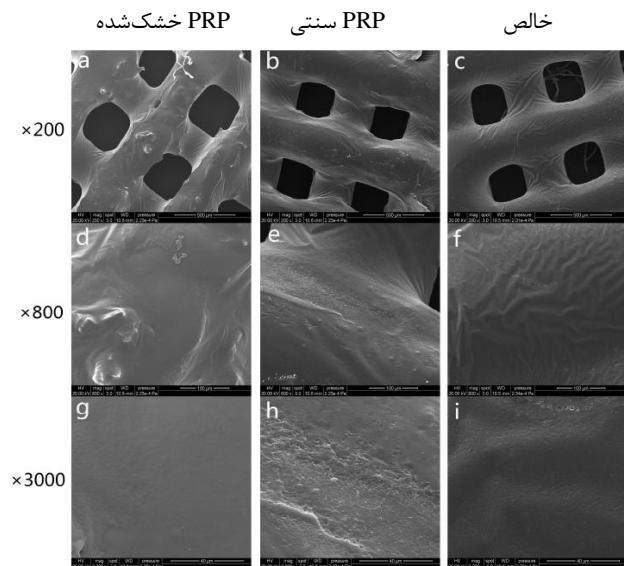


داربست متعامد

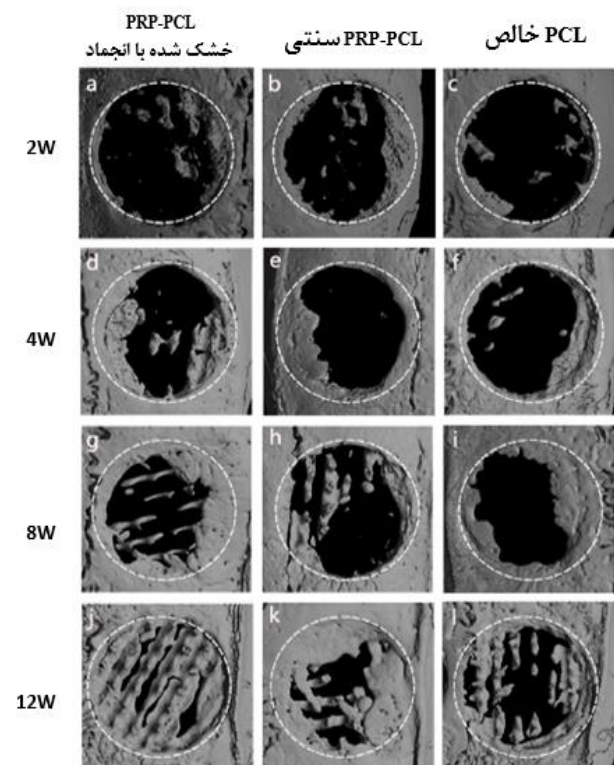
شکل ۲۲ تشکیل استخوان در داربست‌های با تخلخل‌های کاگوم و متعامد [۱۶]



شکل ۱۸ داربست پرینت‌شده از جنس PCL [۱۵]



شکل ۱۹ تصاویر SEM از داربست PCL با پوشش‌های PRP خالص، سنتی و خشک‌شده [۱۵]



شکل ۲۰ تصاویر SEM از تشکیل استخوان طی ۱۲ هفته در داربست‌های PCL خالص، PRP-PCL سنتی و PRP-PCL خشک‌شده با انجماد [۱۵]

در داربست سه جزئی نیز نسبت به داربست PCL/HA برتر است. این نتایج را می‌توان به افزودن PVAc به داربست نسبت داد زیرا ماده PVAc به آبدوستی داربست کمک می‌کند. علاوه بر این، تخریب سریع جزء PVAc می‌تواند باعث شود هیدروکسی آپاتیت فعالیت زیستی بیشتری را در سطح داربست برای چسبندگی سلولی و تشکیل استخوان مناسب نشان دهد.

۳- نتیجه‌گیری و جمع‌بندی

در این مطالعه، خواص مکانیکی و رشد داربست‌های استوانه‌ای با تخلخل و مواد گوناگون بررسی شده است که جمع‌بندی نتایج ارائه شده در پژوهش‌های پیشین را می‌توان به صورت زیر خلاصه کرد:

۱- داربست‌های استوانه‌ای با تخلخل دایره‌ای و سینوسی (غیر متعامد) نسبت به متعامد، خواص مکانیکی بالاتری نشان دادند. همچنین در بررسی زیستی داربست‌ها توسط SEM، ساختار غیرمتعامد تاثیر مثبتی بر عملکرد زیستی سلول‌ها هنگام کشت دارد و سلول‌سازی بیشتری در این ساختار مشاهده شد.

۲- با افزایش درصد ماده AA و افزودن اکسیدگرافن به داربست TCP با تخلخل دایره‌ای هم مرکز، تخلخل بیشتری را نشان می‌دهد بدون اینکه خواص مکانیکی مختل شود که این ویژگی‌ها برای چسبندگی سلول مفید خواهد بود.

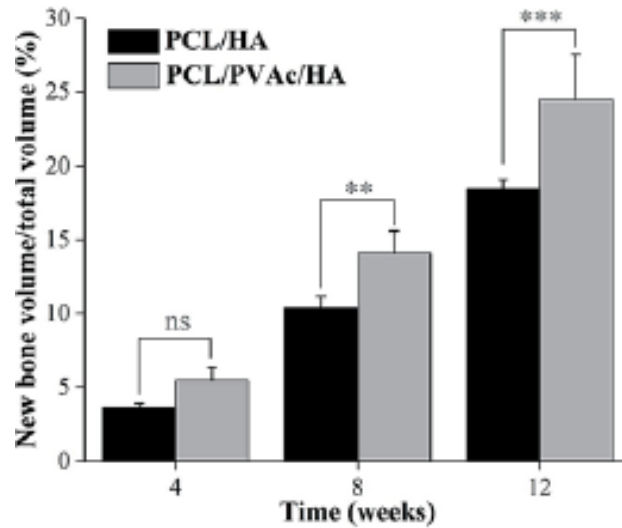
۳- داربست دایره‌ای PLLA-TCP با تخلخل متعامد و جهت گیری لایه به لایه، با افزایش مقدار TCP، سطح داربست ناهموار و متخلخل شد. همچنین مدول فشار داربست‌ها با TCP10 و TCP30 به مراتب از داربست خالص PLLA بیش‌تر بود.

۴- داربست PCL خالص از برخی معایب رنج می‌برد که با پوشش دادن PRP خشک شده با انجماد باعث تشکیل استخوان به صورتی قابل توجه می‌شود.

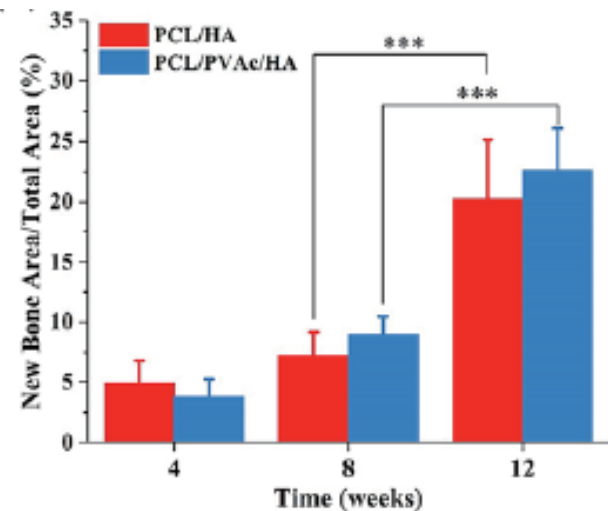
۵- دو ساختار با شبکه معمولی و کاگوم برای داربست PCL-HA در نظر گرفته شد. مدول خمشی و سختی فشاری داربست کاگوم به مرتب بیش‌تر از شبکه معمولی بود. همچنین داربست ساختار کاگوم رسانایی استخوان بهتری نشان داد. بنابر این داربست ساختار کاگوم را می‌توان برای نقص‌های پیچیده استخوانی به کار برد.

۶- با افزودن ماده PVAc و HA به داربست PCL استوانه‌ای با تخلخل متعامد که یک ماده آبریز و سرعت تخریب آن پایین است، استحکام و زیست‌فعالی افزایش می‌یابد. داربست سه‌جزئی PCL-PVAc-HA اگرچه استحکام فشاری و مدول کم‌تری نسبت به دو داربست PCL و PCL-PVAc دارد اما در محدوده

لی و همکاران [۱۶]، با کارگذاری داربست‌های سفارشی با شکل‌های تخلخل کاگوم و متعامد در یک نقص استخوانی در بدن یک خرگوش، در مدت ۱۶ هفته استخوان‌سازی را ارزیابی کردند. با توجه به شکل (۲۲)، داربست دارای تخلخل کاگوم رسانایی استخوان‌سازی بهتری را نشان می‌دهد که بنابراین، تخلخل کاگوم را می‌توان برای نقایص پیچیده استخوانی به کار برد.



(الف)



(ب)

شکل ۲۳ الف- درصد سطح تشکیل استخوان به سطح کل و ب- حجم تشکیل استخوان به حجم کل داربست‌های PCL/PAVc/HA و PCL/HA در مدت ۱۲ هفته [۱۷]

ما و همکاران [۱۷] برای مطالعه خواص زیستی، نقصی ۶ میلیمتری را در استخوان ایجاد کردند و داربست‌هایی را در آن‌ها قرار دادند. داربست سه‌جزئی PCL/PAVc/HA در مقایسه با سه داربست دیگر (PCL، PCL/PVAc و PCL/HA) تکثیر سلولی بهتری نشان می‌دهد (شکل ۲۳). علاوه بر این، تشکیل استخوان

- [7] J. M. Kempainen and S. J. Hollister, "Differential effects of designed scaffold permeability on chondrogenesis by chondrocytes and bone marrow stromal cells," (in eng), *Biomaterials*, vol. 31, no. 2, pp. 279-87, Jan 2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.041>.
- [8] D. W. Hutmacher, "Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage," (in eng), *Biomaterials*, vol. 21, no. 24, pp. 2529-43, Dec 2000, doi: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00121-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00121-6).
- [9] D. F. Williams, "The biomaterials conundrum in tissue engineering," (in eng), *Tissue Eng Part A*, vol. 20, no. 7-8, pp. 1129-31, Apr 2014, doi: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2013.0769>.
- [10] S. J. Hollister, "Porous scaffold design for tissue engineering," (in eng), *Nat Mater*, vol. 4, no. 7, pp. 518-24, Jul 2005, doi: <https://doi.org/10.1038/nmat142110>.
- [11] R. C. Dutta and A. K. Dutta, "Cell-interactive 3D-scaffold; advances and applications," (in eng), *Biotechnol Adv*, vol. 27, no. 4, pp. 334-9, Jul-Aug 2009, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.02.00210>.
- [12] D. R. Fonseca, R. Sobreiro-Almeida, P. C. Sol, and N. M. Neves, "Development of non-orthogonal 3D-printed scaffolds to enhance their osteogenic performance," *Biomaterials*
- [13] *Science*, 10.1039/C8BM00073E vol. 6, no. 6, pp. 1569-1579, 2018, doi: <https://doi.org/10.1039/C8BM00073E>.
- [14] J. C. Boga, S. P. Miguel, D. de Melo-Diogo, A. G. Mendonça, R. O. Louro, and I. J. Correia, "In vitro characterization of 3D printed scaffolds aimed at bone tissue regeneration," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 165, pp. 207-218, 2018/05/01/2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.02.038>.
- [15] D. Y. Kwon *et al.*, "Bone regeneration by means of a three-dimensional printed scaffold in a rat cranial defect," (in eng), *J Tissue Eng Regen Med*, vol. 12, no. 2, pp. 516-528, Feb 2018, doi: <https://doi.org/10.1002/term.2532>.
- [16] J. Li, M. Chen, X. Wei, Y. Hao, and J. Wang, "Evaluation of 3D-Printed Polycaprolactone Scaffolds Coated with Freeze-Dried Platelet-Rich Plasma for Bone Regeneration," (in eng), *Materials (Basel)*, vol. 10, no. 7, Jul 19 2017, doi: <https://doi.org/10.3390/ma10070831>.
- [17] S.-H. Lee *et al.*, "Evaluation of mechanical strength and bone regeneration ability of 3D printed kagome-structure scaffold using rabbit calvarial defect model," (in eng), *Mater Sci Eng C Mater Biol*

استخوان اسفنجی انسان قرار دارد. از این رو می‌توان در کاربردهای بالینی و استخوان‌سازی استفاده کرد.

۷- PEEK دارای خواص بیومکانیکی برتر و زیست سازگاری است که برای کاربرد ایمپلنت استخوانی امیدوارکننده است اما آبگریزی و عدم تخریب آن برای چسبندگی و رشد سلولی مناسب نیست. بنابراین PVA برای جبران این کمبود به PEEK اضافه می‌شود اما پیوند ضعیف بین این دو ماده باعث می‌شود ماده GO به عنوان ماده سوم برای تقویت پیوند اضافه شود. با افزایش مقدار GO تا یک درصد خواص مکانیکی و زیستی بهبود می‌یابد. بنابراین بهترین عملکرد از نظر مکانیکی و بیولوژیکی را ماده سه جزئی PLLA/PVA/1GO از خود نشان می‌دهد.

۴- مراجع

- [1] J. Li, M. Chen, X. Wei, Y. Hao, and J. Wang, "Evaluation of 3D-Printed Polycaprolactone Scaffolds Coated with Freeze-Dried Platelet-Rich Plasma for Bone Regeneration," *Materials*, vol. 10, no. 7, p. 831, 2017, doi: <https://doi.org/10.3390/ma10070831>.
- [2] J. P. Vacanti and R. Langer, "Tissue engineering: the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation," (in eng), *Lancet*, vol. 354 Suppl 1, pp. S132-4, Jul 1999, doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)90247-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)90247-7).
- [3] A. Atala, F. K. Kasper, and A. G. Mikos, "Engineering complex tissues," (in eng), *Sci Transl Med*, vol. 4, no. 160, p. 160rv12, Nov 14 2012, doi: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004890>.
- [4] D. F. Williams, "To engineer is to create: the link between engineering and regeneration," (in eng), *Trends Biotechnol*, vol. 24, no. 1, pp. 4-8, Jan 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.10.006>.
- [5] E. Sachlos and J. T. Czernuszka, "Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds," (in eng), *Eur Cell Mater*, vol. 5, pp. 29-39; discussion 39-40, Jun 30 2003, doi: <https://doi.org/10.22203/ecm.v005a03>.
- [6] C. G. Jeong and S. J. Hollister, "A comparison of the influence of material on in vitro cartilage tissue engineering with PCL, PGS, and POC 3D scaffold architecture seeded with chondrocytes," *Biomaterials*, vol. 31, no. 15, pp. 4304-4312, 2010/05/01/2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.01.145>.

- [19] P. Feng, J. Jia, S. Peng, W. Yang, S. Bin, and C. Shuai, "Graphene oxide-driven interfacial coupling in laser 3D printed PEEK/PVA scaffolds for bone regeneration," *Virtual and Physical Prototyping*, vol. 15, pp. 1-16, 02/12 2020, doi: <https://doi.org/10.1080/17452759.2020.1719457>.
- [18] J. Ma *et al.*, "Modification of 3D printed PCL scaffolds by PVAc and HA to enhance cytocompatibility and osteogenesis," *RSC Advances*, 10.1039/C8RA06652C vol. 9, no. 10, pp. 5338-5346, 2019, doi: <https://doi.org/10.1039/C8RA06652C>.
- Appl*, vol. 98, pp. 949-959, 2019/05// 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.050>.