

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی داربست نانوکلینوپتیلولیت، β -TCP، ژلاتین و کاربرد آن در مهندسی بافت پرودنتال

دکتر هادی تابش^{#۱}، سعید غلامی چهارشاهی^۲، مریم رضایی^۳، دکتر بهزاد هوشمند^۳

۱-استادیار گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران

۲-کارشناسی ارشد مهندسی شیمی-زیست پزشکی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران

۳-استاد گروه پرودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

وصول مقاله: ۹۹/۲/۱۹ اصلاح نهایی: ۹۹/۴/۱۷ پذیرش مقاله: ۹۹/۶/۱۵

Physicochemical Characterization of nano-clinoptilolite/ β -TCP /gelatin Scaffold and its Application in Periodontics

Hadi Tabesh^{#1}, Saeed gholami², Maryam rezaie², Behzad Houshmand³

¹Assistance professor, Life Science Engineering Dept, New Science and Technologies Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran.

²Graduated Student, Life Science Engineering Dept, New Science and Technologies Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran.

³Professor, Periodontics Dept, Dental School, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: May 2020 Accepted: August 2020

Background and aim: Due to the composite structure of the jaw bone, gelatin and beta-calcium phosphate (β -TCP) biomaterials have been used repeatedly in bone tissue engineering. Despite the desirable properties of scaffolds made, their application has been limited due to their poor mechanical properties and high degradability. The aim of this study was to investigate the effect of clinoptilolite biomaterial with unique mechanical properties such as remarkable mechanical properties, low degradation rate and highly favorable biocompatibility properties in gelatin and β -TCP scaffolds.

Material and Method: Preparation of porous scaffold as a template was made leading to freeze drying method using weight percent of 50 for gelatin, 25 β -TCP and 25 Clinoptilolite. SEM analysis and image j software was used in order to evaluation of scaffold surface and finding of porosity frequency. Finally, compressive strength of scaffold was evaluated.

Results: In clinoptilolite / β -TCP / Gelatin scaffolds, porosity up to 250 nanometers was recorded which was the best for angiogenesis. In addition to gelatin, clinoptilolite also had a positive effect on porosity. Using compressive strength analysis, increasing of Young's modulus was also observed from 100 to 166 mega Pascal by that Clinoptilolite is the most effective agent in modifying this modulus.

Conclusion: Considering the results, clinoptilolite that in addition to improving and enhancing the mechanical properties of composite scaffolds, had a significant effect on the increase in the size and porosity of jaw bone tissue engineering scaffolds. According to the obtained characteristics it can be said that the sample presented is in accordance with the properties of extracellular scaffold (ECM) of jaw bone tissue and would be a suitable choice in tissue engineering of this type of bone.

Key words: Clinoptilolite, Composite scaffold, Compressive strength, Porosity.

*Corresponding Author: hadi.tabesh@ut.ac.ir

J Res Dent Sci. 2021; 17(4):279-286

خلاصه:

سابقه و هدف: با توجه به ساختار کامپوزیتی استخوان طبیعی فک، از دو زیست ماده‌ی ژلاتین و بتاتری کلسیم فسفات (β -TCP) در مهندسی بافت استخوان به کرات استفاده شده است. با وجود ویژگی‌های مطلوب داربست‌های ساخته شده بدلیل خواص مکانیکی ضعیف و تخریب پذیری بالا کاربرد آن‌ها محدود شده است. هدف این پژوهش بررسی تاثیر حضور زیست ماده کلینوپتیلولیت با ویژگی‌های منحصر به فردی چون خواص مکانیکی قابل توجه، نرخ پایین تخریب پذیری و ویژگی‌های زیست سازگاری بسیار مطلوب در داربست‌های ژلاتین و β -TCP است.

مواد و روش‌ها: ساخت داربست متخلخل به صورت نمونه‌ای با درصد وزنی ۵۰ ژلاتین، ۲۵ β -TCP و ۲۵ کلینوپتیلولیت با روش خشکایش انجمادی انجام گرفت. از آنالیز SEM و نرم افزار image j جهت بررسی مورفولوژی سطح داربست و یافتن فراوانی تخلخل داربست‌ها استفاده شد. در پایان کار آنالیز استحکام فشاری داربست‌ها نیز ارزیابی شد.

یافته‌ها: در داربست‌های clinoptilolite/ β -TCP/Gelatin اندازه حفراتی با میانگین اندازه ۲۵۰ نانومتر ثبت شده است، که بهترین سایز برای رگ‌زایی است. علاوه بر ژلاتین، کلینوپتیلولیت نیز بر تخلخل اثر مثبت داشته است. با انجام آنالیز استحکام فشاری، مدول یانگ نیز پس از افزودن کلینوپتیلولیت از ۱۰۰ به ۱۶۶ مگاپاسکال افزایش داشته، که کلینوپتیلولیت موثرترین عامل در تغییر این مدول است.

نتیجه گیری: با در نظر گرفتن نتایج می‌توان این گونه استنتاج کرد که کلینوپتیلولیت علاوه بر بهبود و ارتقای خواص مکانیکی داربست‌های کامپوزیتی تاثیر قابل توجهی بر روی افزایش سایز و فراوانی تخلخل داربست‌های مهندسی بافت استخوان فک داشته است. طبق خصوصیات بدست آمده می‌توان گفت که نمونه‌ی معرفی شده متناسب با خصوصیات داربست خارج سلولی (ECM) بافت استخوان فک می‌باشد و انتخاب مناسبی در مهندسی بافت این نوع استخوان خواهد بود.

کلید واژه‌ها: کلینوپتیلولیت، داربست کامپوزیتی، استحکام فشاری، تخلخل

مقدمه:

نیز وجود دارد. بهترین یا به تعبیری استاندارد طلایی بهره-گیری از استخوان خود فرد (Auto graft) به منظور پیوند در آن ناحیه از ناحیه‌ای دیگر از بدن فرد است، که مزیت آن استئوکاندکتیو (Osteoconductive) و استئواینداکتیو (Osteoinductive) بودن آن و همینطور عدم مشکل ایمنی در بدن است؛ البته محدودیتی نظیر انجام جراحی ثانویه و کمبود میزان قابل دسترسی در آن است که درمان را با مشکل مواجه می‌کند.^(۱،۲) در سال‌های اخیر به دلیل مشکلات ذکر شده، توجه چشم‌گیری به مهندسی بافت استخوان معطوف شده است. داربست از عناصر اصلی مهندسی بافت استخوان است که نقش ماتریکس خارج سلولی استخوان را ایفا می‌کند و پیش‌نیاز عناصر دیگر است؛ چرا که داربست محل مناسبی برای رشد و تمایز سلول‌ها و ساخت استخوان هدف است. بنابراین داربست‌های ساخته شده بدین مضمون، باید دارای ویژگی‌های منحصر به فرد فیزیکی و شیمیایی باشد.

یکی از اصلی‌ترین چالش‌های متخصصان رشته پرئودانتیکس، تحلیل استخوان فک و ضایعات استخوانی پرئودانتال است که نیاز به پیوند استخوان را دو چندان کرده است. در دهه اخیر به منظور ترمیم ناحیه‌ای که بخشی از استخوان خود را از دست داده است، از چندین راه حل استفاده کرده‌اند. در سال‌های گذشته استفاده از استخوان انسانی دیگر که از سلول تهیه شده است (Allograft) بسیار رایج بوده است؛ هرچند در فرآیند آماده سازی آن توجه کافی می‌شود تا هیچ گونه آلودگی از مبدا به دریافت ننده منتقل نشود ولی این امر را هیچ گاه نمی‌توان صفر در نظر گرفت و همینطور احتمال رد پیوند به علت مقاومت سیستم ایمنی بدن وجود دارد^(۱) از دیگر راه‌ها استفاده از بافت استخوان در حیواناتی نظیر خوک یا گاو است (Xenograft) که ساختاری مشابه بافت استخوان در انسان را دارند. در این مورد تطابق نداشتن کامل و همینطور امکان انتقال عوامل بیماری‌زا از مبدا به دریافت کننده پیوند استخوان

حداقل در واکنش و عوارض جانبی منجر به افزایش چسبندگی، تکثیر و تمایز سلول‌ها شوند^(۷).

جدول ویژگی‌های مورد نیاز در داربست استخوان

ویژگی داربست	توضیحات
زیست سازگاری (Biocompatibility)	توانایی انجام عملکرد آن در بافت میزبان بدون ایجاد هر گونه پاسخ ایمنی
تجزیه زیستی (Biodegradability)	میزان قابل انطباق تخریب برای مطابقت با رشد بافت استخوانی جدید به عنوان داربست تا با استخوان در حال شکل گیری جایگزین شود
ویژگی‌های مکانیکی (Mechanical Properties)	تأمین مکانیکی کافی برای مدت زمان موقت به منطقه نقص و مقاومت در برابر نیروهای بارگیری
معماری میکرو (Micro) architecture	ایجاد ساختارهای میکرو بهم متصل تا پخش تنش بر داربست به شکل یکنواخت شود
خواص سلولی (&Osteoinductivity) Osteoconductivity	خواصی که سبب مهاجرت سلولی بین داربست و محیط قرارگیری آن می شود.
تخلخل (Porosity)	فضاهای خالی داربست که سبب رگزایی، مهاجرت سلولی، انتقال مواد مورد نیاز بافت و در نهایت رشد بافت می‌شود.
ویژگی‌های سطحی (Surface properties)	مناسب بودن مواد شیمیایی و توپوگرافی برای تاثیر چسبندگی سلولی، تکثیر و تمایز

داربست‌های ژلاتین/کلسیم فسفات سال‌ها است که توسط پژوهشگران مورد بررسی قرار گرفته‌است^(۸،۹). ترکیبات مختلف کلسیم فسفات‌ها با پلیمرهایی چون پلی‌لاکتیک‌اسید، پلی-گلائیگولیک‌اسید، کوپلیمر پلی‌لاکتیک - گلائیگولیک‌اسید، کیتوسان، کلاژن، ژلاتین، پلی‌متیل متاکریلات و ... جهت دستیابی به داربست‌های استخوانی مورد استفاده قرار می‌گیرند که هر یک در یک نوع از خواص مطلوب یک داربست استخوانی، بارزتر است^(۱۰،۱۱). اصلی‌ترین چالش در زمینه داربست‌های ساخته شده، ساختاری متخلخل با استحکام مکانیکی مشابه ماتریکس خارج سلولی استخوان فک است. استفاده از ژلاتین در ساخت داربست‌ها، خلل و فرج‌هایی برای نفوذ و تکثیر سلول‌ها را فراهم می‌کند، اما از استحکام کافی برخوردار نیست.

داربست‌ها یکی از اجزاء کلیدی در مهندسی بافت هستند که در فرآیند ترمیم و شکل محیطی مانند ماتریکس خارج سلولی نقش مهمی ایفا می‌کنند.^(۳) در مهندسی بافت استخوان، یک داربست سه بعدی زیست فعال، متخلخل و زیست تخریب-پذیر جهت حمایت از سلول‌های کشت شده در خلال بازسازی استخوان و همچنین هدایت سه بعدی تشکیل بافت استخوانی جدید استفاده می‌شود. داربست‌های متخلخل در مهندسی بافت استخوان، نقش کلیدی در تبدیل سلول‌های کشت شده به بافت استخوانی جدید و رگزایی دارند.^(۴) در بازسازی بافت استخوان، انتخاب صحیح زیست ماده مورد استفاده از داربست-ها، بازسازی بافت‌های بدن است. هر بافت ویژگی‌های بیولوژیکی و فیزیکی مانند اندازه و شکل خاص خود را دارد، بنابراین هر داربست باید در عمل، توانایی وارد کردن آثار بیولوژیکی و مکانیکی خاص را به منظور بهبود و تغییر رفتار سلولی دارا باشد. بدین منظور داربست‌ها بر اساس خواص بافت هدف طراحی می‌شوند. انتخاب نوع ماده داربست مهم‌ترین بخش کار است. از طرف دیگر، توزیع و پیوستگی تخلخل‌ها در داربست نیز حائز اهمیت هستند؛ چرا که نه تنها امکان اتصال سلول‌ها را میسر می‌سازد بلکه باعث مهاجرت سلول‌ها، نقل و انتقال فاکتورهای بیوشیمیایی، انتشار مواد غذایی، حذف مواد زائد و نیز مواد تولیدی سلول‌ها می‌شود. برای رسیدن به این هدف، داربست‌ها باید از ویژگی‌ای ساختاری ویژه‌ای برخوردار باشند^(۵). ویژگی‌های داربست شبیه به ماتریکس خارج سلولی است که نقش مهمی در انتقال سیگنال‌های فیزیکی و شیمیایی دارد.^(۶)

داربست‌های ساخته شده سه بعدی متخلخل، با توجه به سیگنال‌های فیزیکی و شیمیایی که از محیط اطراف به آن‌ها می‌رسد، شروع به رشد و تکثیر کرده و در صورت فراهم بودن شرایط محیطی مناسب، بافت جدید روند بهبودی را طی می‌کند. در طول فرآیند ترمیم به منظور پشتیبانی مداوم از سلول‌ها نرخ تخریب ماده داربست باید مطابق با نرخ تکثیر و تمایز سلول و نیز نرخ رسوب ماتریکس خارج سلولی در ناحیه لانه‌گزینی باشد. بدین ترتیب زیست ماده استفاده شده برای ساخت داربست باید به طور مناسب انتخاب شوند به طوری که

شده به مدت ۲۴ ساعت در فریزر قرار گرفت؛ سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۸۳- درجه سانتی گراد و فشار ۰/۹۱۳ mbar در فریزدرایر

Operon- FDB-5503 model (KOREA) گذاشته شد. در نهایت پس از خروج از فریز درایر سه بار با آب دیونیزه شست و شو داده شده و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه وسیله آون (Behdad (IRAN خشک شدند. به منظور بررسی اثر کلینوپتیلولیت، یک داربست دیگر طبق روش گفته شده بدون استفاده از این ماده نیز ساخته شد.

بررسی مورفولوژی و تخلخل داربست: آنالیز SEM با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مدل AIS2100 (Scanning Electron Microscope) جهت بررسی مورفولوژی سطح بیرونی، ساختار کریستالی و جهت یافتگی موادی که نمونه را تشکیل می دهند، انجام شد. به منظور بررسی درصد تخلخل در داربست ها از نرم افزار Image j استفاده شد.

بررسی استحکام فشاری: از آنالیز استحکام فشاری برای اندازه گیری حداکثر استحکام فشاری قابل تحمل برای نمونه، مدول یانگ و استحکام تسلیم استفاده شده است. برای انجام آزمون دستگاه Zwick/Roel مدل HCT 400/25 استفاده شده است.

یافته‌ها

بررسی مورفولوژی سطح نمونه‌ها با استفاده از آنالیز SEM - تصاویر SEM شکل ۱ به خوبی نشان‌دهنده تخلخل داربست است. اندازه تخلخل‌ها و فراوانی آن‌ها با استفاده از نرم افزار Image j در شکل ۲ ارزیابی شد. با توجه به شکل ۱ در داربست بدون حضور کلینوپتیلولیت (GT) ارتباط بین منافذ به خوبی قابل مشاهده نیست و سطح داربست ساخته شده به اندازه کافی متخلخل نمی‌باشد؛ که این موضوع در داربست حاوی کلینوپتیلولیت (GTZ) رفع شده است و تخلخل در سطح داربست قابل مشاهده است. در داربست حاوی کلینوپتیلولیت ساختار حفره‌ها از نوع لانه زنبوری و به هم پیوسته است که اکثر تخلخل‌ها از نوع تخلخل باز هستند و با

در این پژوهش با استفاده از روش خشک‌کایش انجمادی (freeze dryer)، داربست‌هایی از جنس ژلاتین و کلسیم فسفات به منظور کاربرد در مهندسی بافت استخوان فک تهیه گردیده است. همچنین اثر کلینوپتیلولیت بر بهبود خواص ساختاری داربست چون استحکام فشاری و تخلخل بررسی شده است؛ که بتواند بستری مناسب برای رشد و تکثیر سلول‌ها را فراهم کند.

مواد و روش‌ها:

مواد اولیه و تجهیزات مورد نیاز برای تهیه ژئولیت طبیعی نانو ساختار

مواد اولیه جهت ساخت ژئولیت طبیعی نانو ساختار

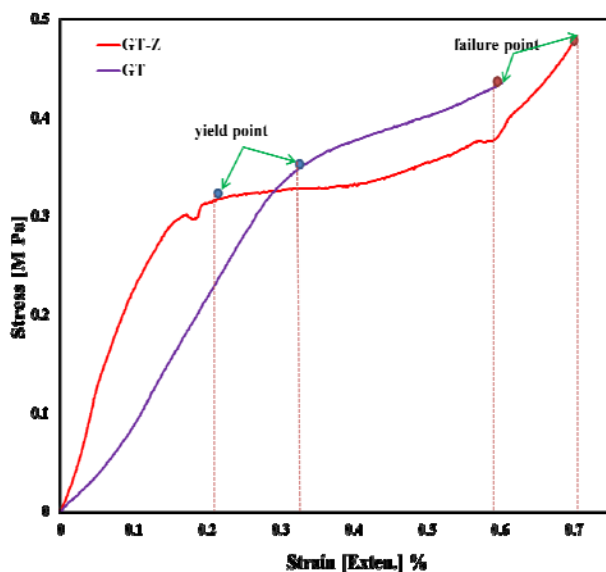
ماده شیمیایی	فرمول شیمیایی	شرکت سازنده
پودر ژئولیت کلینوپتیلولیت	$(\text{NaKCa})_{2-3}[\text{Al}_3(\text{AlSi})_2\text{Si}_3\text{O}_{36}].12\text{H}_2\text{O}$	ماده معدنی

دستگاه‌های مورد نیاز جهت تهیه ژئولیت طبیعی نانو ساختار

دستگاه	هدف از استفاده	شرکت سازنده
BALL MILL	نانو و میکرونایز کردن	Retsch MM-400 ، آلمان
سیوا(الک)	صافی کردن اولیه	آزمون ساز مینا

روش ساخت داربست: برای ساخت داربست در این پژوهش از روش خشک‌کایش انجمادی استفاده شده است. ابتدا میزان ۰/۹۹ گرم ژلاتین در ۱۰ سی سی آب دیونیزه دوبار تقطیر حل شد و به مدت ۲ ساعت بر روی استیرر IKA (GERMANY) با سرعت ۵۰ دور بر دقیقه قرار گرفت. به منظور انحلال بهتر کلینوپتیلولیت و تری کلسیم فسفات هر کدام در بشرهای جداگانه به میزان ۰/۵ گرم در ۱۵ سی سی آب دیونیزه در دستگاه اولتراسونیک حل شدند. سپس مواد به ترتیب با یکدیگر اختلاط یافتند و گلاتار آلدهید به میزان ۰/۵ درصد حجمی-حجمی به آن‌ها اضافه شد. مواد داربست تهیه

به شکل دیسک‌های با قطر یک سانتی‌متر، نمودار شکل ۳ از فشار وارده بر داربست بدست آمده‌است. با توجه به نمودار شکل ۳ مدول یانگ داربست بدون حضور کلینوپتیلولیت (GT) در حدود ۱۰۰ مگا پاسکال اندازه‌گیری شده است؛ با افزودن کلینوپتیلولیت به داربست مذکور مدول یانگ ۶۶٪ افزایش یافته و به ۱۶۶ مگا پاسکال رسیده است. نقطه شکست (استحکام تسلیم) داربست‌ها در حدود ۴۲ و ۴۸ به ترتیب دیده شده است.

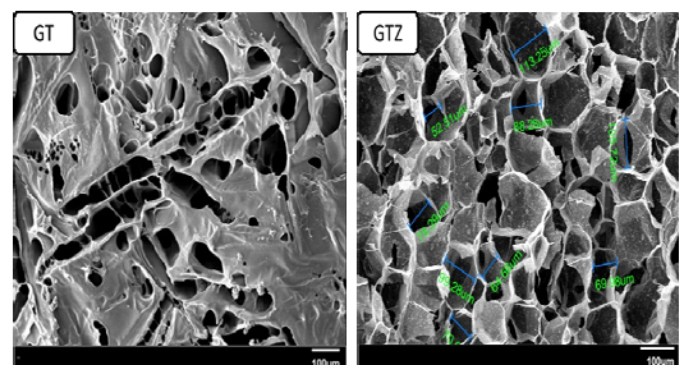


شکل ۳- نمودار استحکام کششی داربست‌های ساخته شده

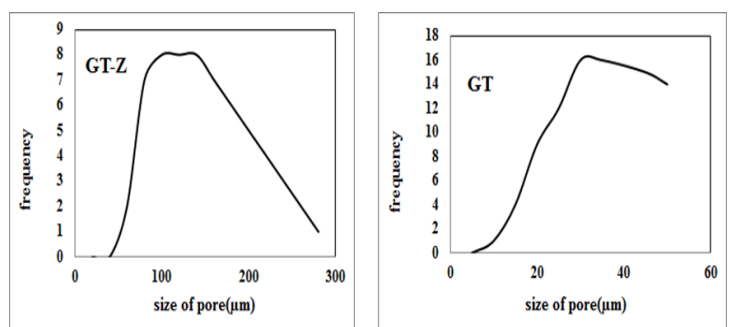
بحث

نتایج SEM بدست آمده از داربست‌ها گویای تخلخل بالا و اندازه حفرات مناسب است. با توجه به پژوهش‌های اخیر در این زمینه، سایز حفرات ۳۰-۳۵ میکرومتر برای ورود سلول‌های اندوتلیال ضروری است و داربستی که اندازه حفرات آن زیر این مقدار باشد، نفوذ سلولی به بخش‌های داخل داربست محدود شده و چسبندگی سلول‌ها فقط بر روی سطح داربست صورت می‌گیرد. در نتیجه بافت هدف به خوبی بازسازی نخواهد شد. بنابراین سایز حفرات مشاهده شده در داربست ژلاتین-کلسیم فسفات به اندازه کافی رشد و تمایز سلول‌ها و همچنین تشکیل عروق خونی مناسب نیست.^(۱۳) داربست متخلخل با خلل و فرج ریز، موجب کاهش انتقال مواد ضروری و دفع پسماند، تشکیل ناحیه‌ای فقیر از اکسیژن و در نتیجه مرگ

یکدیگر ارتباط دارند. این ویژگی یکی از خصوصیات بارز یک داربست مناسب است؛ چراکه ارتباط بین سلولی فراهم شده، نقش عمده‌ای در تغذیه سلولی و دفع پسماند سلول‌ها دارد بر اساس شکل ۲ در داربست ساخته شده، اندازه تخلخل عمدتاً ۲۵۰ میکرومتر و کمتر است که بنا بر پژوهش‌های انجام شده در گذشته حداقل حفراتی با اندازه منافذ ۱۲۵-۲۵۰ میکرومتر، حتی کمتر از ۳۰۰ میکرومتر، می‌تواند رشد مویرگی و رگ‌زایی را برای تشکیل استخوان بالغ در داربست‌های ساخته شده فراهم کنند^(۱۲).



شکل ۱- تصاویر SEM داربست. داربست GT-Z حاوی کلینوپتیلولیت و داربست GT بدون حضور کلینوپتیلولیت



شکل ۲- نمودار فراوانی حفرات داربست سمت راست داربست بدون کلینوپتیلولیت (GD) و داربست سمت چپ با کلینوپتیلولیت (GT2)

استحکام فشاری داربست

یکی از اصلی‌ترین مشکلات در زمینه داربست‌های استخوانی فک، رسیدن به درصد تخلخل بالا با اندازه سایز حفرات مناسب و در عین حال با استحکام کششی استخوان هدف است. پس از انجام آزمایش استحکام فشاری بر روی داربست‌های بریده شده

سلولی می‌گردد. عدم خروج سلول‌های مرده در داخل و یا روی ساختار داربست، ممکن است بر سلامت سلول‌های مجاور اثر نامطلوب بگذارد. از سوی دیگر نفوذ سلولی اندک، توزیع نامناسب و پراکنده سلول‌ها در داربست موجب کاهش رگ‌زایی و بازسازی بافت استخوان فک می‌شود.^(۱۴)

مشخص شده است که رگ‌زایی نقش مهمی در تعیین زیست‌سازگاری داربست و همچنین بازسازی استخوان ایفا می‌کند و انتشار عوامل رشد رگ‌زا و استخوان‌زا می‌تواند تشکیل و بازسازی استخوان را افزایش دهد. از طرفی پس از ورود سلول به داخل داربست، به‌منظور رشد و تمایز، نیاز به مواد غذایی و اکسیژن دارد و بنا بر پژوهش‌های انجام شده به اندازه حفرات ۵۰ میکرومتر به بالا نیاز است. بنابراین داربست ساخته شده در مطالعه حاضر علاوه بر نفوذ سلول‌ها به داخل، رفت و آمد سلولی را نیز فراهم کرده و بافت مورد نظر به خوبی می‌تواند بازسازی شود. منافذ موجود در داخل داربست‌ها نیز بایستی تا جایی که امکان دارد یک اندازه بوده و اندازه منافذ در حد ۱۰۰ میکرون و بالاتر باشد. وجود تخلخل در داربست‌ها و ارتباط بین منافذ موجود در داربست‌ها موجب انتشار مواد غذایی، راحتی در انتقال و مهاجرت سلول‌ها و در نتیجه تسریع در رشد بافت هدف بر روی داربست می‌شود. با توجه به شکل ۲ بازه ماکسیمم فراوانی حفرات بین ۹۰-۱۵۰ میکرومتر است و تخلخل‌هایی با اندازه حفرات ۲۸۰ میکرومتر هم در داربست مشاهده شده است. این پراکندگی در اندازه سایز حفرات در داربست، یکی از نقاط قوت داربست است که به تمایز سلولی کمک شایانی می‌کند.

از نگاه دیگر به داربست‌های استخوانی، مدول یانگ فاکتور اساسی دیگری است. با توجه به جدول ۲ همزمانی تخلخل یک داربست با استحکام فشاری مشابه بافت هدف، عملکرد بسیار سختی است؛ چرا که در اکثر مواقع افزایش تخلخل از استحکام داربست می‌کاهد. در بسیاری از داربست‌های ساخته شده از مواد پلیمری و معدنی، عدم موفقیت در یکی از فاکتورهای اساسی را دارا است.^(۱۵) شکل ۳ گویای تاثیر مثبت کلینوپتیلولیت در ساختار داربست است که سبب افزایش استحکام مکانیکی می‌گردد؛ چرا که کلینوپتیلولیت‌ها

تخلخل‌های بسیار ریزی دارند و با کامپوزیت کردن، ذرات داخل این تخلخل‌ها گیر کرده و مستحکم‌تر از قبل می‌شود؛ در نتیجه منجر به افزایش استحکام داربست می‌شود. البته گفتنی است نمی‌توان به هر میزانی مقدار کلینوپتیلولیت را افزایش داد چرا که می‌تواند سبب افت انعطاف‌پذیری و ترد شدن کامپوزیت گردد. در داربست‌های استخوانی فک، توجه به این نکته که ضریب استحکام داربست‌ها باید متناسب با بافت هدف باشد، بگونه‌ای که نه زودتر تخریب شود و نه اینکه دیر تخریب شدن آن موجب ایمنی زایی برای بافت هدف شود، یک اصل فراموش نشدنی است.^(۱۶) داربست ساخته شده در این پژوهش دقیقاً در بهترین مقدار مدول یانگ همراه با فراهم کردن تخلخل مناسب جهت تمایز سلولی، قرار گرفته است.

Sadeghinia و همکاران یک ساختار کامپوزیتی جدید از کلینوپتیلولیت-نانوهیدروکسی آپاتیت / کیتوزان-ژلاتین به منظور استفاده در مهندسی بافت استخوان، با استفاده از روش خشک‌کایش را انجام دادی سنتز کرده‌اند. اندازه تخلخل این داربست بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرومتر است. در این ساختار حضور کلینوپتیلولیت-نانوهیدروکسی آپاتیت موجب افزایش سطح ویژه داربست، افزایش زیست‌سازگاری و همچنین سرعت پایین تخریب در محلول شبیه سازی شده مایع بدن (SBF) و افزایش استحکام مکانیکی داربست شده است.^(۱۷)

در پژوهش دیگری Hubner و همکاران یک فیلم بر پایه ژلاتین به عنوان چسب زخم که از نقره و کلینوپتیلولیت تشکیل شده بود را طراحی کردند. در این پژوهش از ژلاتین به عنوان پلاستیسایزر همراه با گلیسرول استفاده شد که پس از آن غلظت‌های مختلف کلینوپتیلولیت که با نقره آغشته شده بود به ساختار افزوده شدند. حضور ساختار نقره به همراه کلینوپتیلولیت یک خاصیت انتی‌باکتریال خارق العاده به داربست ساخته شده داده است.^(۱۸)

جدول ۴-داریست‌های ساخته شده در پژوهش‌های گذشته (۲۲-۱۸،۱۶)

مرجع	اندازه حفرات	مدول یانگ	استخوان/اجزا سازنده داریست
[۱۸]	-	24.9 to 240 MPa	cortical bone was present
		3.5- 125.6 MPa	cortical bone was absent
[۱۶]		3.5- 240 MPa	Mandible
[۱۹]	80- 400 μ M	10 GPa	Hydroxyapatite-gelatin
[۲۰]	Å	3.5 GPa-4 GPa	zeolite and poly(lactic acid)
[۲۱]	30- 160 μ M	(13.6±1.2) MPa	CPC-chitosan composite
[۲۲]	100-300 μ m	8.16±1.57 Mpa	chitosan-alginate
[۲۳]	958 ± 49 μ m	2.7 ± 0.8 GPa	Porous titanium scaffold
پژوهش حاضر	30-280 μ m	100-166 Mpa	GT-Z

تشکر و قدردانی:

این مقاله در قالب طرح تحقیقاتی مصوب و با حمایت پارک علم و فناوری دانشگاه تهران با شماره گرنت پژوهشی ۵۸۸۴۹۲۲ و مرکز فناوری‌های همگرا دانشگاه تهران طی گرنت پژوهشی ۵۶۸۸۶۲۵ انجام شد. نگارندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از نهادهای ذکر شده به خاطر حمایت‌های مالی در جهت انجام این طرح، تشکر نمایند.

References:

- Rose, F.R. and R.O. Oreffo, *Bone tissue engineering: hope vs hype*. Biochemical and biophysical research communications, 2002. **292**(1): p. 1-7.
- Giannoudis, P.V., Calori, GM, Begue , T, Schmidmaier, G, 2013. **44**: p. S1-S2.
- ATALA, A., Tissue engineering of artificial organs. Journal of Endourology, 2000. **14**(1): p. 49-57.
- Azami, M., Tavakoli, SH., Samadikuchaksaraei, A., Solati Hashjin , M., Baheiraei, N., Kamali , M. A porous hydroxyapatite/gelatin nanocomposite scaffold for bone tissue repair: in vitro and in vivo evaluation. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 2012. **23**(18): p. 2353-2368.
- Bose, S., M. Roy, and A. Bandyopadhyay, Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. Trends in biotechnology, 2012. **30**(10): p. 546-554.
- Bramfeld, H., Bramfeld, H.; Sabra, G.; Centis, V.; Vermette, P., Scaffold vascularization: a challenge for three-dimensional tissue engineering. Current medicinal chemistry, 2010. **17**(33): p. 3944-3967.
- Gingras, M., I. Paradis, and F. Berthod, Nerve regeneration in a collagen–chitosan tissue-engineered skin transplanted on nude mice. Biomaterials, 2003. **24**(9): p. 1653-1661.
- Udhayakumar, S., Krishnakumar Gopal Shankar, a Sampath Sowndarya, ORCID logo a Sankar Venkatesh, a Chellappa Muralidharana and Chellan Rose ORCID logo. l-Arginine intercedes bio-crosslinking of a collagen–chitosan 3D-hybrid scaffold for tissue engineering and regeneration: in silico, in vitro, and in vivo studies. Rsc Advances, 2017. **7**(40): p. 25070-25088.
- Sun, Y., Cheng Yang, Xu Zhu, Jing-Jing Wang I, Xiao-Yin Liu, Xi-Ping Yang, Xing-Wei An, et al. J3D printing collagen/chitosan scaffold ameliorated axon regeneration and neurological recovery after spinal cord injury. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2019. **107**(9): p. 1898-1908.
- Su, J.-Y Shi-Hui Chen, Yu-Pin Chen, Wei-Chuan Chen. Evaluation of magnetic nanoparticle-labeled chondrocytes cultivated on a type II collagen–chitosan/poly (Lactic-co-glycolic) acid biphasic scaffold. International journal of molecular sciences, 2017. **18**(1): p. 87.
- Ma, L., Lie ,Ma, Changyou ,Gao, Zhengwei, Mao, Jie ,Zh, Jiacong Sh, Xueqing , H., et al., Collagen/chitosan porous scaffolds with improved biostability for skin tissue engineering. Biomaterials, 2003. **24**(26): p. 4833-4841.
- Pazarçeviren, E., Erdemli, O, Keskin, D, Tezcaner, A., Clinoptilolite/PCL–PEG–PCL composite scaffolds for bone tissue engineering applications. Journal of biomaterials applications, 2017. **31**(8): p. 1148-1168.
- Peng, L., Rong ,X, Wang, J, Xu, D, Wang, G, Preparation and evaluation of porous chitosan/collagen scaffolds for periodontal tissue engineering. Journal of bioactive and compatible polymers, 2006. **21**(3): p. 207-220.
- Rajasree, S.R Gobalakrishnan M, Aranganathan L, Karthih MG. Fabrication and characterization of chitosan based collagen/gelatin composite scaffolds from big eye snapper Priacanthus hamrur skin for antimicrobial and anti oxidant applications. Materials Science and Engineering: C, 2020. **107**: p. 110270.
- Gupte, M.J, Swanson ,W.B., Hu ,J., Jin X., Ma H., Zang Zh., et al., Pore size directs bone marrow stromal cell fate and tissue regeneration in nanofibrous macroporous scaffolds by mediating vascularization. Acta Biomaterialia, 2018. **82**: p. 1-11.
- O'Brien, F.J., Brendan A Harley, Mary A Waller, Ioannis V Yannas, Lorna J Gibson, Patrick J Prendergast. The effect of pore size on permeability and cell attachment in collagen scaffolds for tissue engineering. Technology and Health Care, 2007. **15**(1): p. 3-17.
- Roosa, S.M.M., Jessica M Kemppainen, Erin N Moffitt, Paul H Krebsbach, Scott J Hollister. The pore size of polycaprolactone scaffolds has limited influence on bone regeneration in an in vivo model. Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 2010. **92**(1): p. 359-368.
- Li, Z., Ramay , H., Hauch , K.D., Xiao , D., Zang, M., Chitosan–alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. Biomaterials, 2005. **26**(18): p. 3919-3928.
- Odin, G., Savoldelli, Ch. , Bouchard ,P.O., Tillier, Y. , Determination of Young's modulus of mandibular bone using inverse analysis. Medical engineering & physics, 2010. **32**(6): p. 630-637.
- Sadeghinia, A., Soltani S, Aghazadeh M, Khalilifard J, Davaran S. Design and fabrication of clinoptilolite–nanohydroxyapatite/chitosan–gelatin composite scaffold and evaluation of its effects on bone tissue engineering. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2020. **108**(2): p. 221-233.
- Hubner, P., Nicoloy Donati, Luci Kelin de Menezes Quines, Isabel Cristina Tessaro, Nilson Romeu Marcilio. Gelatin-based films containing clinoptilolite-Ag for application as wound dressing. Materials Science and Engineering: C, 2020. **107**: p. 110215.
- Kazemzadeh Narbat, M., Orang ,F., Solati Hashtjian, M., Goudarzi A., Fabrication of Porous Hydroxyapatite-Gelatin Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. Iranian Biomedical Journal, 2006. **10**(4): p. 215-223.
- Bendahou, D., Bendahou, A., Grohens, Y., Kaddami, H., *New nanocomposite design from zeolite and poly(lactic acid)*. Industrial Crops and Products, 2015. **72**: p. 107-118.
- Xu, H.H.K. and C.G. Simon, Fast setting calcium phosphate–chitosan scaffold: mechanical properties and biocompatibility. Biomaterials, 2005. **26**(12): p. 1337-1348.
- Li, Z., Ramay , H., Hauch , K.D., Xiao , D., Zang, M., Chitosan–alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. Biomaterials, 2005. **26**(18): p. 3919-3928.
- Lopez-Heredia, M.A., Sohier , J., Gaillard ,C., Quillard , S., Dorget , M., Layrolle , P., Rapid prototyped porous titanium coated with calcium phosphate as a scaffold for bone tissue engineering. Biomaterials, 2008. **29**(17): p. 2608-2615.