

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی اصفهان



دانشگاه صنعتی اصفهان

ساخت و ارزیابی خواص ساختاری، استحکام و زیست فعالی داربست نانو کامپوزیت

فیبروین ابریشم-دیووسید جهت استفاده در مهندسی بافت

رساله دکتری تخصصی بیومواد

لیلا قربانیان

اساتید راهنما

دکتر رحمت اله عمادی

دکتر سید محمد رضوی

۱۳۹۲

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،
ابتکارات و نوآوریهای ناشی از تحقیق موضوع
این پایان نامه (رساله) متعلق به دانشگاه صنعتی
اصفهان است.

فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
هشت	فهرست مطالب
۱	چکیده
۲	فصل اول: مقدمه
۶	فصل دوم: مروری بر منابع
۶	۱-۲- ساختار و عملکرد استخوان
۷	۲-۲- بازسازی بافت استخوان
۱۲	۳-۲- اهمیت طراحی و ساخت داربست در مهندسی بافت
۱۵	۴-۲- کاربرد مواد آلی درشت مولکول قابل جذب در جراحی استخوان
۱۶	۲-۴-۱- پیشینه کاربرد مواد آلی درشت مولکول قابل جذب در جراحی استخوان
۱۹	۲-۵- روش تولید داربست در مهندسی بافت
۱۹	۲-۵-۱- خشک کردن انجمادی
۲۱	۲-۵-۲- حل و شستشوی ذرات
۲۲	۲-۵-۳- الکتروریسی
۲۳	۲-۵-۴- فوم سازی
۲۳	۲-۵-۵- تفجوشی
۲۴	۲-۶- بیوماده فیبرین ابریشم
۲۷	۲-۶-۱- خواص مولکولی ابریشم
۲۸	۲-۶-۲- خواص فیزیکی ابریشم
۲۸	۲-۶-۲- الف- وزن مولکولی
۲۹	۲-۶-۲- ب- بلورینگی و غیر قابل حل بودن در آب
۲۹	۲-۶-۲- ج- حلالیت
۳۰	۲-۶-۲- د- پایداری
۳۱	۲-۶-۲- ه- خواص تورمی ابریشم
۳۱	۲-۶-۳- خواص مکانیکی ابریشم
۳۲	۲-۶-۴- زیست تخریب پذیری
۳۴	۲-۶-۵- واکنش ایمنی و زیست سازگاری
۳۵	۲-۶-۶- استریل داربست ها
۳۵	۲-۷- مصارف پزشکی فیبرین ابریشم
۳۶	۲-۷-۱- نخ بخیه
۳۶	۲-۷-۲- رهایش دارو
۳۷	۲-۷-۳- پوشش های زیست سازگار
۳۸	۲-۷-۴- داربست مهندسی بافت

۴۱	۸-۲- کنترل مورفولوژی بیومواد ابریشمی
۴۱	۸-۲-۱- الیاف ابریشم
۴۱	۸-۲-۲- نمدهای فیبروین ابریشمی نافته
۴۴	۸-۲-۳- فیلم های فیبروین ابریشم
۴۶	۸-۲-۴- هیدروژل های فیبروین ابریشم
۴۶	۸-۲-۵- اسفنج های متخلخل فیبروین ابریشم
۴۸	۸-۲-۹- سرامیک های زیست فعال
۵۵	۸-۲-۱۰- ویژگی های استفاده از ذرات سرامیکی در مقیاس نانو
۵۵	۸-۲-۱۱- خواص مکانیکی داربست های نانو کامپوزیتی
۶۰	فصل سوم: مواد و روش انجام فعالیت های پژوهشی
۶۰	۳-۱- مواد مصرفی
۶۰	۳-۱-۱- مواد لازم جهت تولید پودر دیوپسید
۶۱	۳-۱-۲- مواد لازم جهت تهیه محلول ابریشم بازسازی شده
۶۱	۳-۱-۳- مواد مورد نیاز در بررسی زیست فعالی توسط محلول شبیه سازی شده بدن
۶۱	۳-۱-۴- مواد مورد نیاز در آزمون کشت سلول
۶۲	۳-۲- ابزارها و روش های مورد استفاده برای ساخت و ارزیابی داربست ها
۶۲	۳-۲-۱- دستگاه خشک کننده انجمادی
۶۲	۳-۲-۲- دستگاه آسیاب گلوله ای
۶۲	۳-۲-۳- دستگاه سانتریفوژ
۶۲	۳-۲-۴- دستگاه پراش پرتو ایکس
۶۲	۳-۲-۵- دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی
۶۳	۳-۲-۶- دستگاه طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه
۶۳	۳-۲-۷- طیف سنجی نشر اتمی القایی پلاسما
۶۴	۳-۲-۸- دستگاه اندازه گیری زاویه تماس آب
۶۴	۳-۲-۹- دستگاه اندازه گیری چگالی نوری
۶۴	۳-۲-۱۰- دستگاه کروماتوگرافی نفوذ ژل
۶۴	۳-۲-۱۱- دستگاه آنالیز حرارتی TGA و DSC
۶۵	۳-۲-۱۲- دستگاه تخلخل سنجی جیوه ای
۶۶	۳-۲-۱۳- دستگاه آزمون خواص مکانیکی
۶۷	۳-۳- شرح فعالیت های انجام شده
۶۷	۳-۳-۱- تهیه پودر بیوسرامیکی دیوپسید
۶۷	۳-۳-۲- استخراج فیبروین ابریشم
۷۳	۳-۳-۳- ارزیابی صحت مراحل تهیه محلول فیبروین
۷۳	۳-۳-۴- آماده کردن داربست کامپوزیتی فیبروین ابریشم/دیوپسید

۷۴ ۳-۳-۵-ساخت فیلم غیرمتخلخل پلیمری و کامپوزیتی
۷۵ ۳-۳-۶-تهیه محلول شبیه سازی شده بدن و غوطه وری داربست ها جهت بررسی زیست فعالی نمونه ها
۷۵ ۳-۳-۷-بررسی رفتار سلولی در تماس با داربست ها
۷۷ ۳-۳-۸-آنالیز آماری
۷۹ فصل چهارم: نتایج و بحث
۷۹ ۴-۱-بررسی نمونه پودر بیوسرامیکی دیوپسید
۸۳ ۴-۲-ارزیابی صحت مراحل تهیه محلول فیروین
۸۴ ۴-۳-بررسی ساختار فازی داربست پلیمری فیروین و داربست کامپوزیتی فیروین-دیوپسید
۸۶ ۴-۴-طیف سنجی مادون قرمز داربست پلیمری فیروین و داربست کامپوزیتی فیروین-دیوپسید
۸۸ ۴-۵-بررسی داربست ها توسط حرارت دهی در دستگاه آنالیز TGA
۹۰ ۴-۶-بررسی مورفولوژی داربست های ساخته شده
۱۰۴ ۴-۷-ارزیابی میزان تخلخل داربست ها
۱۰۵ ۴-۸-بررسی میزان آبدوستی و آبگریزی
۱۰۵ ۴-۸-۱-ظرفیت جذب آب
۱۰۶ ۴-۸-۲-زاویه تماس سطحی آب
۱۰۹ ۴-۹-ارزیابی زیست فعالی برون تنی با غوطه وری در مایع شبیه سازی شده بدن
۱۱۹ ۴-۱۰-نتایج آزمون خواص مکانیکی داربست ها
۱۲۴ ۴-۱۱-بررسی رفتار سلولی در تماس با داربست های تهیه شده
۱۳۳ فصل پنجم: نتیجه گیری
۱۳۶ فصل ششم: منابع

چکیده

کاربرد کامپوزیت ها به عنوان بیوماده در مصارف بازسازی بافت های زنده آسیب دیده موضوع بسیاری از تحقیقات جدید در کاربردهای پزشکی و دندانپزشکی است. در این پژوهش، تلاش جهت تولید داربست نوین نانو کامپوزیتی فیبروین ابریشم-دیووسید و بررسی خواص آن از نظر کاربرد مهندسی بافت استخوان صورت گرفت. ابتدا با استخراج فیبروین ابریشم از پيله کرم ابریشم، محلول آبی فیبروین ابریشم ساخته شد. صحت فرایند چسب زدایی و دستیابی به فیبروین با خواص مطلوب جهت کاربرد مورد نظر بررسی شد. همچنین به روش سل-ژل اصلاح شده، نانو بیوسرامیک دیووسید برای اولین بار ساخته شد و مشخصه یابی های لازم جهت تایید نانو بودن اندازه ذرات صورت پذیرفت. سپس ساخت بهترین داربست کامپوزیتی از نظر ساختاری، مورفولوژیک و بیولوژیک به روش خشک کردن انجمادی¹ مدنظر قرار گرفت. داربست های مختلفی با نسبت های مختلف پلیمر-سرامیک (۲۰٪، ۳۰٪ و ۴۰٪ وزنی) و با اصلاح روش تولید، تهیه و مقایسه شدند. آزمون های متعددی ترتیب داده شد و از آن جمله مورفولوژی داربست ها توسط تصاویر ساخته شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، آبدوستی داربست ها توسط زاویه تماس آب و گنجایش جذب آب، وضعیت تخلخل نمونه ها توسط دستگاه تخلخل سنج جیوه ای، زیست فعالی با غوطه وری در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF) و رفتار سلول های پراستوبلاست² در تماس با این داربست ها مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین از آزمون پراش پرتو ایکس، تصویربرداری توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، آنالیز عنصری EDS، طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)، آنالیز حرارت سنجی (TGA) نیز بهره گرفته شد و خواص مکانیکی داربست ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نانو سرامیک دیووسید با ابعاد نانومتری (حدود ۴۰ نانومتر) به همراه محلول فیبروین ابریشم با غلظت مناسب (۵/۵ تا ۶/۵ درصد)، بدون استفاده از روش های مخاطره آمیز و تنها با کنترل پارامترهای تولید، مناسب ترین داربست ها از نظر دارا بودن ساختار صفحه بتایی (بدون استفاده از متانول و سایر القاء کننده ها)، خواص سطحی مناسب (اصلاح سازی سطح توسط افزودن پرکننده)، توزیع ذرات در زمینه (بدون استفاده از سورفاکتانت) و با تخلخل کافی (بدون استفاده از تخلخل ساز) تولید شد. نتایج حاصل از ارزیابی های مختلف، موید مناسب بودن داربست کامپوزیتی جدید از نظر ساختاری، زیست فعالی، زیست سازگاری و خواص مکانیکی برای مصارف مهندسی بافت استخوان است. میانگین میزان تخلخل ها در نمونه های کامپوزیتی حداقل ۷۰٪ به دست آمد. گنجایش جذب آب در داربست های کامپوزیتی متناسب با محتوای نانو سرامیک موجود در آن ها افزایش نشان داد (به طور میانگین ۷۰۸٪ درصد در مورد کامپوزیت های ۴۰٪ دیووسید-فیبروین) و این ویژگی به همراه کاهش زاویه تماس آب (تا حد ۵۷ درجه)، تاثیر مناسبی بر چسبندگی و رشد سلول های MC₃T₃-E₁ نشان داده است. زیست فعالی داربست ها با مشاهده سطح داربست های غوطه ور شده در زیر میکروسکوپ الکترونی و بررسی توسط پراش پرتو ایکس و طیف سنجی مادون قرمز و تغییرات pH و غلظت یون موید بیشترین خاصیت زیست فعالی در داربست های ۴۰٪ است. با این حال در میان داربست های ساخته شده به روش مذکور، بهترین داربست کامپوزیتی، داربست نانو کامپوزیتی فیبروین ابریشم/دیووسید ۲۰٪ است زیرا حاوی مقادیری از عامل تقویت کننده زیست فعال است و در عین حال بیشترین تخلخل را در میان داربست های مختلف کامپوزیتی داراست (حدود ۸۷٪) و همچنین نسبت به داربست های خالص فیبروین ابریشم ترشوندگی و خواص مکانیکی (مدول فشاری ۳/۵ مگاپاسکال و استحکام فشاری حدود ۰/۳۹ مگاپاسکال) بسیار بهتری دارد.

کلمات کلیدی: داربست مهندسی بافت استخوان، نانو کامپوزیت، فیبروین ابریشم، دیووسید

¹ Freeze drying

² Preosteoblast

فصل اول

مقدمه

سالانه بیش از ۵۰۰ هزار پیوند استخوان در آمریکا انجام می شود که از نظر اقتصادی در سال ۲۰۰۹ معادل یک و نیم میلیارد دلار هزینه در بر داشته است و تخمین زده می شود که در سال ۲۰۱۵ این مبلغ به بیش از سه میلیارد دلار برسد [۱]. فرایند وقت گیر ترمیم نواقص و آسیب های استخوانی همچنان به صورت چالشی عمده در پزشکی بازسازی بافت باقی مانده است. استخوان به عنوان مجموعه ای با زمینه خارج سلولی معدنی دارای استحکام و انعطاف بالایی است که بخش استخوان کورتیکال (متراکم) برای حمایت و حفاظت مکانیکی از بدن ضروری است. به علاوه استخوان اسفنجی^۱ به عنوان منبعی حیاتی از یون های غیر آلی در تعادل کلسیم، عملکردی متبولیکی دارد. پیچیدگی استخوان از نظر ساختاری و عملکردی، بازسازی استخوان های آسیب دیده را مشکل ساخته است. به غیر از مزیت تناسب ایمنی بافت های با منشأ خود فرد، بهترین گزینه برای جایگزینی بافت های استخوانی محسوب نمی شوند. زیرا محدودیت هایی عدیده همچون دسترسی ناکافی به بافت اهدا دهنده، نیاز به جراحی اضافی در ناحیه اهداکننده استخوان، ناتوانی، درد و بازتوانی طولانی تر مربوط به آن ناحیه پس از فرایند جراحی وجود دارد [۲]. اخیراً مهندسی بافت رویکرد تازه ای در ارتباط با ساخت داربست های با اشکال متنوع از فیبرین ابریشم در اختیار گذاشته است و امروزه مهندسی بافت، به عنوان درمان امیدبخش از سوی محققین، مطرح شده است. مهندسی بافت و تهیه جایگزین های بافتی در محیط آزمایشگاه، امکان استفاده کلینیکی مطمئن و نامحدود از پیوندهای زنده را ایجاد می کند. به طور کلی موادی که در سیستم های

¹ Cancellous (spong)

درمانی و تشخیصی در تماس مستقیم با مایعات زیستی^۱ قرار می‌گیرند، تحت عنوان بیومواد، تعریف می‌شوند [۲]. در مهندسی بافت استخوان، داربست محیط سه بعدی مناسب جهت چسبیدن سلول‌ها، رشد، متابولیسم، تولید زمینه^۲ و تشکیل بافت جدید را تامین می‌کند. بخش آلی استخوان، عمدتاً کلاژن است که به عنوان بخش زمینه در مهندسی بافت استخوان و غضروف کاربرد دارد. اما کلاژن خالص از طریق استخراج از بافت‌های حیوانی مثل پوست گاو (که با واکنش حساسیتی^۳ و انتقال عفونت همراه است) و یا روش انتقال ژنی^۴ (که گران قیمت است) به دست می‌آید و نیاز به یک منبع جایگزین مقرون به صرفه به جای کلاژن که در مقیاس بالا قابل تولید باشد، احساس می‌شود. انواع مختلفی از داربست‌های پلیمری متخلخل جذب شونده، با هدف رفع نیاز به جراحی ثانویه و به منظور تضمین التیام مداوم بافت، مورد توجه و مطالعه قرار گرفته‌اند [۵-۲].

پلیمرها، منبع اصلی مواد برای تولید سازه‌های مهندسی بافت هستند، اما پلیمرها خواص مکانیکی ضعیفی دارند و تهیه کامپوزیت یکی از راه‌های بهبود بخشیدن به خواص مکانیکی آن‌ها می‌باشد. کاربرد کامپوزیت‌ها به عنوان بیوماده در مصارف بازسازی بافت‌های زنده آسیب دیده موضوع بسیاری از تحقیقات جدید در کاربردهای پزشکی و دندانپزشکی است. در این بین یکی از مورد توجه‌ترین مواد ابریشم است که پروتئین لیفی ساخته شده توسط عنکبوت‌ها و کرم‌های ابریشم است و در اشکال مختلف و مناسب برای کاربردهای متعدد زیست پزشکی و مهندسی بافت، می‌تواند فرایند شود. این ماده می‌تواند با اصلاح سازی سطحی و یا تلفیق با سایر مواد، خواص مکانیکی و شیمی سطح متفاوتی داشته باشد. بدین منظور، بیوماده مناسب برای کاربرد ویژه، از آن قابل تولید است. خواص منحصر به فرد فیروین ابریشم، نظیر تخریب پذیری کند، خواص مکانیکی فوق العاده، فرایندپذیری خوب، در ترکیب با زیست سازگاری عالی، باعث شده که کاربرد گسترده آن نه تنها در نساجی بلکه در کاربردهای زیست پزشکی نیز به صورت یک بیوماده پروتئینی بسیار بااهمیت، مطرح گردد [۵-۳]. بیومواد پایه ابریشم، زیست سازگاری و پاسخ التهابی مناسب و نیز پشتیبانی رشد سلولی عالی در مقایسه با بسیاری از مواد متداول مصرفی در این زمینه نظیر پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید دارند. رفتار زیست تخریبی آن‌ها، با توجه به کاربرد، از چند روز تا چندین ماه، قابل تنظیم و تغییر است. این مواد، در التیام زخم و داربست مهندسی بافت، به ویژه برای بافت‌های اسکلتی (استخوان، غضروف، رباط^۵ و زردپی^۶)، رگ مصنوعی و بازسازی عصب و تکثیر سلول‌های کبدی مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۳ و ۴]. نگرانی‌های متعددی در ارتباط با کاربرد داربست‌های مهندسی بافت وجود دارد که از آن جمله می‌توان به تخریب بسیار سریع تر از حد انتظار جراح (تا قبل از التیام زخم)، عدم تشکیل آپاتیت روی سطح سازه‌ها و عدم

¹ Biologic liquids

² Matrix

³ Allergic

⁴ Transgenic

⁵ Ligaman

⁶ Tendon

یکپارچگی با بافت میزبان اشاره کرد. با توجه به قابلیت طراحی و تنظیم نرخ تخریب ابریشم و نیز پایداری نسبی آن نسبت به سایر پلیمر های تخریب پذیر، کاربرد آن در مصارف بازسازی استخوان مطلوب به نظر می رسد. اگرچه علت اصلی توجه به فیروین ابریشم به عنوان زمینه کامپوزیت برای مصارف مهندسی بافت استخوان، در مقایسه با مواد تجاری موجود فعلی، ویژگی های منحصر به فرد این پلیمر آشنا و قدیمی اما با کاربردهای تازه در علم بیومواد است، هدایت استخوانی^۱ در داربست های خالص ابریشم، پایین تر از حد بهینه است. از سویی مطالعات اخیر، قابلیت استفاده از این پروتئین را به عنوان ماده جایگزین مناسب برای اهداف مهندسی بافت در ترکیب با بیوسرامیک ها اثبات کرده است [۴ و ۳]. استخوان طبیعی ۷۰٪ متشکل از بخش معدنی ترد است که عمدتاً از نانوبلورهای پهن هیدروکسی آپاتیت رسوب کرده در اطراف الیاف کلاژن زمینه آلی سرامیک زیست فعال تشکیل شده است. با توجه به اینکه استخوان در نوع خود کامپوزیت طبیعی بی نظیری از سرامیک (کلسیم فسفات یا هیدروکسی آپاتیت) - پلیمر (کلاژن) است، به نظر می رسد که افزودن بیوسرامیک های زیست فعال به زمینه فیروینی، باعث بهبود زیست فعالی و برقراری اتصال محکم ایمپلنت با بافت و حتی استخوان زایی کامپوزیت پایه ابریشم شود. دیوپسید با ترکیب شیمیایی $CaMgSi_2O_6$ دارای پایداری مکانیکی بیشتر و نرخ کندتر تخریب نسبت به شیشه زیستی و $CaSiO_3$ و یا سایر سرامیک های زیست فعال در سیستم های $CaO-SiO_2-MgO$ مثل بردیجیت و آکرمایت است [۶]. به علاوه این سرامیک از زیست سازگاری سلولی عالی (در حد هیدروکسی آپاتیت) و استحکام مکانیکی بالاتر از سرامیک های زیست فعال متداول برخوردار بوده و کاربرد آن برای مهندسی بافت استخوان به ویژه در موضعی که نرخ تخریب آهسته مطلوب است انتخاب مناسبی به نظر می رسد. از طرفی، تخریب پذیری، زیست فعالی، سازگاری سلولی، استحکام خمشی و چقرمگی^۲ فوق العاده دیوپسید و برتری آن نسبت به سرامیک های مشابه، با هدف کاربرد به عنوان بیوماده در محیط دهانی تایید شده است. دیوپسید در بزاق قادر به تشکیل لایه متراکم HA در حدفاصل دیوپسید/بزاق است و برای کاربردهای ویژه در دندانپزشکی مانند ترمیم استخوان فک در بیماری های پریدونتال و به عنوان بیوماده پرکننده ضایعات در اطراف ایمپلنت های دندانی، توصیه می شود [۶]. از این رو به منظور تامین فرایند بازسازی استخوان، افزودن بیوسرامیک زیست فعال دیوپسید به زمینه پلیمری فیروین ابریشم با هدف هسته گذاری فاز کربنات و آپاتیت در مایع شبیه سازی شده بدن مورد نظر قرار گرفت.

در فصل دوم این رساله به مطالعه مروری یافته های قبلی در زمینه روش های درمانی مختلف نواقص استخوانی، با تاکید بر روش جدید مهندسی بافت استخوان و چالش های پیش روی آن، پیشرفت های به دست آمده در کاربرد داربست ها در درمان ضایعات استخوانی، خواص و سوابق کاربرد ابریشم و سرامیک دیوپسید، مزایای استفاده از نانو کامپوزیت های متخلخل و جمع بندی نتایج جهت حصول روشی بهینه برای ساخت داربست کامپوزیتی جدید

¹ Osteoconductivity

² Toughness

پرداخته شده است. در این مطالعه ساخت داربست کامپوزیتی متخلخل جدید از فیبروین ابریشم و دیوپسید مورد توجه قرار گرفته است که روش ساخت آن و مواد و تجهیزات لازم برای ساخت و ارزیابی این داربست ها به اجمال در فصل سوم آورده شده است. در این پژوهش ابتدا جداسازی فیبروین از پيله های ابریشم و همچنین سنتز پودر سرامیکی دیوپسید انجام شد و در ادامه داربست متخلخل کامپوزیتی فیبروین ابریشم/دیوپسید به روش خشک کردن انجمادی با اندازه تخلخل های مختلف و مقادیر مختلف تقویت کننده تهیه شد. پس از تهیه داربست های بهینه از نقطه نظر مورفولوژیکی و ساختاری مورد ارزیابی قرار گرفته اند تا بهترین آن ها از نظر مقدار، شکل، خواص، واکنش، اندازه و چسبندگی ذرات در زمینه پلیمری معرفی شود. همچنین خواص زیست فعالی و خواص مکانیکی در نهایت بررسی سلولی از نظر سمیت و یا زیست سازگاری و نیز توانایی استخوانزایی داربست ها توسط کشت و تکثیر سلول های پراستئوبلاست $MC_3T_3-E_1$ مورد نظر قرار گرفت. نتایج بررسی ها حاکی از آن بود که داربست جدید کامپوزیتی با پایه فیبروین ابریشم به همراه سرامیک زیست فعال دیوپسید، برای مصارف مهندسی بافت استخوان مناسب است. این نتایج در فصل چهارم مورد بحث قرار گرفته اند. در فصل آخر این نتایج ارایه شده اند و نهایتاً پیشنهاداتی برای تحقیق در این زمینه بیان شده است.

فصل دوم

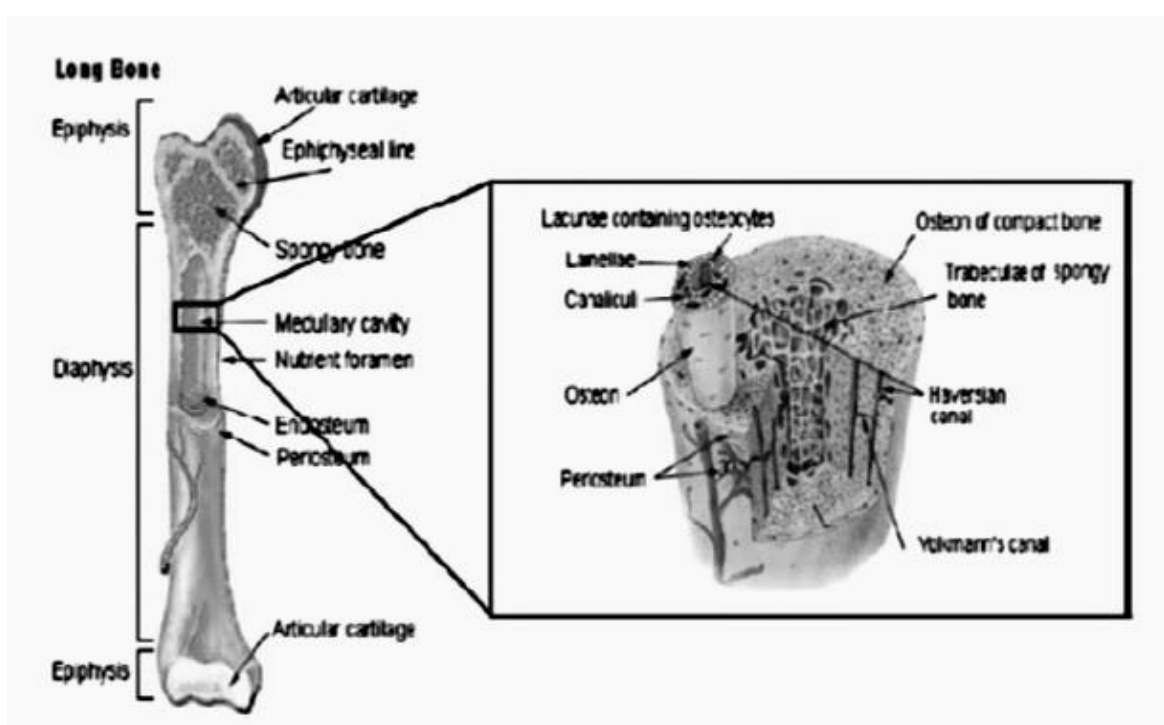
مروری بر منابع

۲-۱- ساختار و عملکرد استخوان

استخوان سخت ترین بافت بدن است که در عین حال از انعطاف مناسبی نیز برخوردار است. استخوان از دو نوع بافت مختلف تشکیل شده است. قسمت خارجی متراکم و بخش داخلی اسفنجی که مقدار ماده جامد موجود در فضاهای آن ها متفاوت است. استخوان توسط لایه ای فیبروز بنام پریوستوم که در خارج از لایه بافت همبندی و در داخل از لایه ای الاستیک تشکیل شده است. عروق خونی، اعصاب و رگ های لنفاوی از طریق پریوستوم به استخوان نفوذ می کنند. بسته به محل استخوان داخل استخوان از مغز استخوان زرد یا قرمز پر شده است که نوع زرد آن سلول های چربی بیشتری دارد و مغز استخوان قرمز حاوی سلول های مربوط به سیستم هماتوپویتیک است. در زیر میکروسکوپ نواحی دواری به نام سیستم های هاورسین دیده می شود که در مرکز آن کانال هاورسین و در اطراف دایره های متحدالمرکز لاملا وجود دارد. در لاملاها نقاط سیاهرنگی به نام لاکونا وجود دارد که خطوط سیاه باریک کانالیکول اشعه وار از آن جدا شده اند.

استخوان ساختاری کامپوزیتی است و از مواد معدنی، زمینه آلی، سلول ها و آب تشکیل شده است. از نظر شیمیایی استخوان حاوی ۵۸٪ فسفات کلسیم، ۷٪ کربنات کلسیم، ۱-۲٪ فلورید کلسیم، ۱-۲٪ فسفات منیزیم و نیز ۱٪ کلرید سدیم می باشد. بخشی از این مواد معدنی در مجموعه هایی بلوری، هیدروکسی آپاتیت $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ را تشکیل می دهند. سایر قسمت های استخوان عمدتاً آب، سلول ها و زمینه خارج سلولی است. مواد معدنی استخوان مسئول سختی و تردی استخوان هستند در حالی که بخش بیولوژیک آن مانند سلول ها و زمینه باعث انعطاف پذیری

آن هستند. سلول های استخوانی در لاکوناها قرار دارند و سه نوع سلول استخوانی وجود دارد. استئوبلاست ها که از سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق می شوند و سازنده استخوان هستند و ماتریکس استخوانی را می سازند. استئوسیتها سلول های استئوبلاست بالغ شده اند و توسط ماتریکس استخوان محاصره شده اند و تغذیه استخوان را بر عهده دارند. استئوکلاست ها سلول های چند هسته ای غول آسا هستند که از ماکروفاژها نشأت گرفته و به جذب استخوان و شکل گیری مجدد آن کمک می کنند. کلاژن نوع I ۹۰٪ ماتریکس استخوانی را تشکیل داده است. کلاژن ساختاری شبکه ای فیروز می سازد که سلول ها را از نظر ساختاری حمایت می کند. پروتئین های غیر کلاژنی ماتریکس مانند پروتئوگلیکان ها و گلیکوپروتئین ها ۱۰ درصد باقیمانده زمینه استخوان را می سازند. استخوان نقش مهمی به عنوان تامین کننده تعادل یونی و معدنی در بدن، منبع یون های کلسیم، منیزیم و فسفات و نیز حفاظت از اندام های داخلی دارد. شکل ۲-۱ ساختار داخلی یک استخوان بلند را نشان می دهد [۸و۷].



شکل ۲-۱ نمای ساختار طبیعی استخوان [۸].

۲-۲- بازسازی بافت استخوان

تعریف دقیق پیوند استخوان، کاربرد هر گونه ماده کاشتنی در بدن است که به تنهایی یا در ترکیب با سایر مواد قادر به ایجاد پاسخ التیامی و ترمیم آسیب های وارد شده با فعالیت استخوان زایی^۱ (کلسیفیه کردن ماتریکس کلاژنی به سوبسترای استخوان جدید توسط استئوبلاست ها)، تهییج استخوان سازی^۲ (پروتئین ها و فاکتورهای رشد جهت تمایز سلول های اجدادی به استئوبلاست) و هدایت استخوانی^۳ (تخلخل های مرتبط به هم جهت چسبندگی، تکثیر و

^۱ Osteogenic activity

^۲ Osteoinductive

^۳ Osteoconductive

مهاجرت سلولی و تبادل مواد غذایی و فضولات و نیز نفوذ رگ جدید) در موضع باشد. در بیشتر موارد، تامین پیوند از خود بیمار و کاشتن در همان فرد به عنوان استاندارد طلایی درمان شناخته می شود، مثلا پیوند خودی^۱ استخوان اسفنجی شامل هیدروکسی آپاتیت و کلاژن به عنوان هدایت استخوانی، سلول استرومایی به عنوان سلول های استخوانزا و فاکتورهای رشد به عنوان تهییج کننده استخوان سازی می باشد [۱]. در هر حال بزرگترین عیب پیوند از خود فرد، محدودیت دسترسی به بافت کافی، نیاز به جراحی دوم، آسیب به ناحیه دهنده بافت و خونریزی است. پیوند غیر خودی^۲ که به معنی گرفتن پیوند از فرد دیگر و کاشت بافت به فردی از گونه مشابه است، نزدیک به یک سوم پیوندهای استخوانی در آمریکا را شامل می شود. اگرچه دسترسی به این نوع پیوند بیشتر است و بیمار جراحی دوم را متحمل نمی شود اما اشکال این نوع پیوندها، پاسخ ایمنی میزبان و انتقال بیماری های عفونی مانند ایدز و هپاتیت و مجددا محدودیت در تامین بافت است. برای رفع مشکل، فرایندهایی همچون خشک کردن انجمادی، غیرمعدنی کردن، پرتوتابی و گاز اتیلن اکساید استفاده شده است اما همه این فرایندها باعث کاهش قابلیت استخوان زایی و هدایت استخوانی و خواص مکانیکی پیوند می شوند. در پیوند از گونه دیگر^۳ نیز مشکلات جدی ایمنی و پس زدن پیوند وجود دارد و حذف پروتئین ها و چربی ها هم هدایت استخوانی این پیوندها را از بین می برد. به دلیل این محدودیت ها استفاده از سرامیک ها و فلزات به عنوان جایگزین بافت استخوانی مورد نظر قرار می گیرد. مواد مصنوعی مختلف بسته به نوع واکنش بافتی که از سوی بدن دریافت می کنند به انواع زیست خنثی، زیست تخریب پذیر، زیست فعال تقسیم بندی می شوند [۹ و ۱۰]. در شکل ۲-۲ سیر تکاملی این مواد نشان داده شده است.

برخورداری از ویژگی های مناسب با توجه به کاربرد، ضرورت مهمی در ساخت و طراحی بیومواد است. از آن جمله می توان زیست سازگاری، خواص مکانیکی، اندازه و شکل مناسب را نام برد [۵].

گروه بندی و خواص بیومواد مختلف مورد استفاده و تحقیق در پیوند استخوان در جدول ۲-۱ بیان شده است. کاشتنی های فلزی مانند فولاد ضدزنگ، تیتانیوم و کبالت در شکستگی استخوان و التیام آن به کار می روند. این فلزات نه تنها باعث تهییج استخوان سازی نمی شوند بلکه هدایت استخوانی نیز در پی نخواهند داشت. ضمنا خواص مکانیکی آن ها بسیار بالاتر از استخوان است و پدیده سپر تنشی^۴ رخ می دهد. بیوسرامیک ها گروه دیگری از مواد جایگزین کننده بافت هستند که در واقع غیر آلی هستند و اغلب در حرارت بالا قابل تولید می باشند و از جمله آنها می توان از فسفات کلسیم، سولفات کلسیم و هیدروکسی آپاتیت نام برد. هدایت استخوانی آن ها برای تشکیل استخوان مفید است اما از نظر خواص مکانیکی برای کاربرد در نواحی تحت بار، تردی و جذب شدن سرامیک ها نامطلوب است. تری کلسیم فسفات با نسبت کلسیم به فسفر ۱/۵ سریعاً جذب می شود و هیدروکسی آپاتیت با نسبت کلسیم به فسفر ۱/۶۷ نرخ تخریب بسیار کندی دارد. از سوی دیگر استفاده از پلیمرهای تخریب پذیر طی دو دهه اخیر سبب شده که نیاز به جراحی ثانویه برای برداشتن کاشتنی در اغلب موارد مرتفع شود و خواص مکانیکی مناسب تری

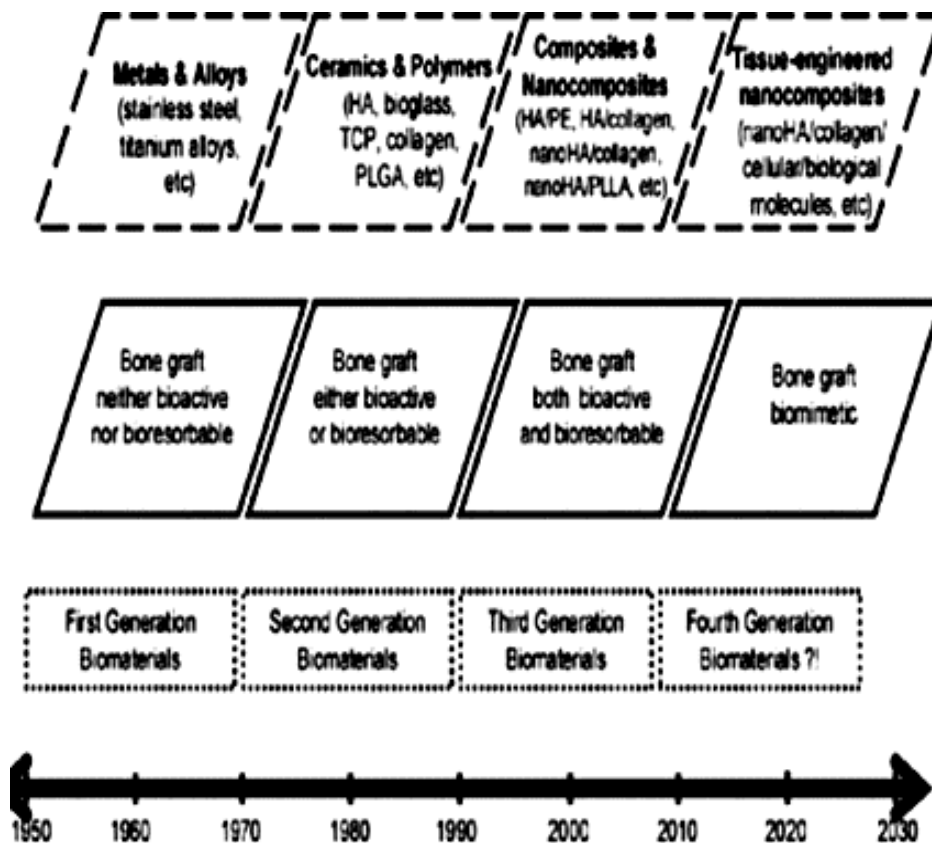
¹ Autograft

² Allograft

³ Xenograft

⁴ Stress- shielding

برای مصارف ارتوپدی و دندانپزشکی (پیچ های تثبیت کننده، پرکننده فضای ضایعات و مهندسی بافت استخوان) فراهم شود [۱].



شکل ۲-۲ تحول بیومواد در پیوند استخوان [۱۰]

طبق استاندارد ASTM-F2150 داربست ها عبارتند از تکیه گاه، وسیله رهایش دارو یا زمینه ای مناسب جهت مهاجرت، پیوند، حرکت سلول ها یا حرکت مولکول های زیست فعال که به منظور جایگزینی، ترمیم و یا بازسازی بافت آسیب دیده به کار می روند. داربست های متخلخل، نقش مهمی در تغییر عملکرد سلولی دارند. داربست ایده ال می بایست زیست سازگار، زیست فعال، زیست تخریب پذیر، با تخلخل زیاد و به هم مرتبط، با نسبت سطح به حجم بالا بوده و از نظر مکانیکی مناسب و قابل شکل دهی به فرم دلخواه باشد [۳-۸]. لازمه یک ماده زیست تخریب پذیر مناسب برای کاشت در نواحی آسیب دیده استخوانی آن است که هیچ واکنش پس زدن از سوی ناحیه در تماس با بافت توسط سیستم ایمنی رخ ندهد. همچنین نرخ انحلال کنترل شده داشته باشد و نیز بتواند اتصال سریع با استخوان پس از کاشت در ناحیه پیدا کند. در تعریف بلاک^۱ [۹]، زیست سازگاری به معنای ایفای نقش زیستی ماده است که بایستی با پذیرش و مناسبت آن با کاربرد مورد نظر همراه باشد. امروزه بسیاری از محققین، زیست سازگاری

¹ J.Black

را به عنوان ایفای نقش زیستی یا فعل و انفعال^۱ بین ماده و سیستم زنده به شمار می آورند و بیومواد مصرفی باید از هر نوع عفونت و پاسخ ایمنی و یا سایر پاسخ های زیستی که خواص مایع و متعاقبا بیمار را تحت تاثیر قرار می دهد، جلوگیری کنند. بنابراین باید برای هر بیوماده خاص، ضرورتا هم پاسخ میزبان و هم ماده را بشناسیم. پاسخ میزبان معمولا مربوط به التهاب، ایجاد بافت فیبروزه، لخته شدن و همولیز است. پاسخ ماده مرتبط با شکستن، سایش، خوردگی، انحلال، ورم کردن و نشت مونومر^۲ است [۳]

داربست ها باید مشخصا غیر سمی، زیست سازگار، تخریب پذیر و با ساخت آسان و تخلخل های مناسب باشند. تخلخل های کوچکتر از ۱۰ میکرومتر تنها توسط بافت فیروز پر می شوند و تخلخل های بین ۷۵ تا ۱۰۰ میکرومتر بافت استنویید غیر معدنی می سازد. رشد بافتی مناسب به درون تخلخل های با اندازه بهینه باعث اتصال محکم تر بافت و کاشتنی می شود. از طرفی افزایش زیاد تخلخل باعث افت خواص مکانیکی می شود و باید حد بهینه رشد سلولی و خواص مکانیکی تامین شود. ضمن اینکه تخلخل های با بزرگی بیش از ۵۰۰ میکرومتر نیز پاسخ رشد بافتی مناسبی ندارد.

جدول ۱-۲ گروه بندی و خواص بیومواد مختلف در پیوند استخوان [۵]

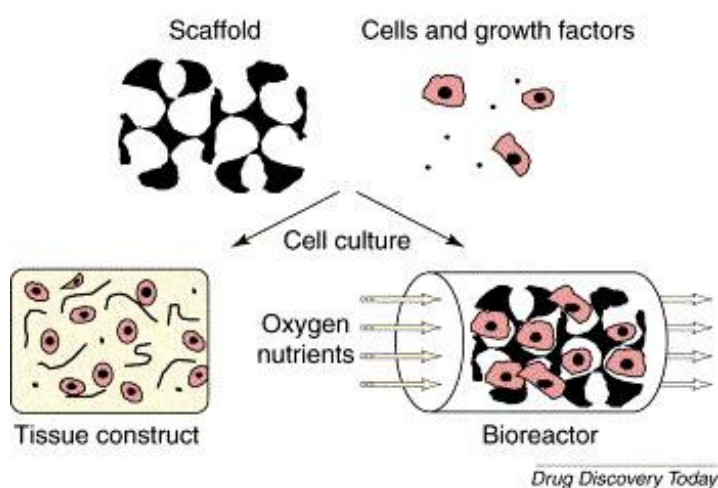
بیوماده	فلزات و آلیاژها	سرامیک ها	پلیمرها	کامپوزیت ها	نانو کامپوزیت ها
خواص مکانیکی	ضریب کشسانی ۲۱۰-۱۱۰ مگاپاسکال	ضریب کشسانی ۸۰-۳۹۰ مگاپاسکال	ضریب کشسانی ۰/۴-۲/۸۵ مگاپاسکال		
مزیت	با استحکام، چقرمه، باانعطاف	مقاوم به سایش زیست خنثی (آلومینا و زیر کونیا)، زیست فعال (HA)، زیست جذب شونده (TCP)	با انعطاف، انتخاب گروه های فعال، اصلاح سازی سطحی، مقاوم	قوی، امکان طراحی انعطاف پذیری، قابل اعتماد	سطح بیشتر، اتصال محکم، خواص مکانیکی برتر، طراحی خواص
عیب	متراکم، خوردگی احتمالی	انعطاف کم و تردی	استحکام ناکافی، رهایش محصولات تخریب	خواص بسته روش ساخت متغیر است	تکنولوژی بهینه برای ساخت وجود ندارد
کاربرد	صفحه استخوانی، ایمپلنت های تحت بار، سیم و براکتهای ارتودنسی،	پرکننده ضایعات استخوانی، مفصل لگن، پوشش ایمپلنت، بازسازی حدقه چشم و لبه	داربست استخوانی ، پیچ و پین استخوانی، صفحه استخوانی، رهایش دارو، پرکننده	رهایش دارو، داربست مهندسی بافت، پیوند استخوان	ارتوپدی، مهندسی بافت، رهایش دارو

¹ Interaction

² Monomer leaching

		فک			
مثال	تیتانیوم، فولاد ضد زنگ، آلیاژ کروم کبالت	بیوگلاس، HA	کلاژن، ژلاتین، PLA، PCL، کیتوسان،	HA/PLGA HA/PE HA/PLA	nanoHA/PLLA

پیوند از خود فرد مثلاً برداشتن از استخوان ایلیاک با ناراحتی زیاد بیمار همراه است و پیوند از فرد دیگر به همراه محدود کردن پاسخ ایمنی توسط روش های شیمیایی و فیزیکی نیز با خطر انتقال عفونت و کاهش ظرفیت استخوانزایی همراه است. جایگزین های مصنوعی بافت که معمولاً فلزات و سرامیک های فسفاتی هستند هدایت استخوانی را ترتیب می دهند اما تهییج کننده رشد استخوان نیستند و محدودیت در ترمیم بافت نشان می دهند. ضمن اینکه با بیمار رشد نمی کنند و شکلشان متناسب با بار اعمال شده تغییر نمی یابد. با توجه به این واقعیت که بیشترین توجه و نیاز به بازسازی بافت های آسیب دیده در ارتباط با وضعیت های پاتولوژیک استخوان و یا ضایعات وسیع استخوانی-غضروفی است و از سویی طی دو دهه اخیر با اقبال عمومی به مشکلات مربوط به افزایش سن متوسط جوامع بشری، درد، مرگ و میر و نیاز به کاهش هزینه های سیستم های سلامت عمومی، پیشرفت های سریعی در زمینه تکنیک های بازسازی اسکلتی صورت گرفته است. در شرایط بهینه سلول های بافت اهدا کننده سلول مانند سلول های بنیادی بالغ روی بیومواد زیست جذب شونده (داربست های مهندسی بافت) کشت داده می شوند و به بافت هدف آسیب دیده پیوند زده می شود (شکل ۲-۳) تا با بهترین تعامل بین ایمپلنت و بافت بازسازی بافت صورت گیرد، در حالی که نگرانی از واکنش منفی ایمنی، انتقال بیماری و واکنش بافت به پیوند وجود ندارد و تلاش در راستای التیام سریعتر بافت های استخوانی آسیب دیده منجر به معرفی و ارتقاء انواع مختلفی از سازه های مهندسی به عنوان تمپلت در ساخت زمینه خارج سلولی بافت شده است.



شکل ۲-۳ اجزای یک سازه مهندسی بافت [۱۵].

از نظر یوشیدا^۱ و ریس^۲ [۱۱ و ۱۲]، غالباً خواص سطحی می‌بایستی برای بهبود کنش و واکنش بین ماده با میزبان یا مایعات زیستی و سرکوب پاسخ ایمنی، اصلاح سازی شود. بیومواد پایه ابریشم، زیست سازگاری و پاسخ التهابی مناسب و نیز پشتیبانی رشد سلولی عالی در مقایسه با بسیاری از مواد متداول مصرفی در این زمینه نظیر پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید دارند. با توجه به قابلیت طراحی و تنظیم نرخ تخریب ابریشم و نیز پایداری نسبی آن نسبت به سایر پلیمرهای تخریب پذیر، کاربرد آن در مصارف بازسازی استخوان مطلوب به نظر می‌رسد [۱۳-۱۵].

سطح بیومواد می‌تواند یا به طور فیزیکی با روش‌هایی نظیر حکاکی پلاسمایی^۳، تخلیه الکتریکی، پرتوتابی اشعه ماوراءبنفش یا به طور شیمیایی و توسط اتصال کووالانسی اصلاح شود. در مورد اخیر، برخی راهکارهایی که برای کنترل پاسخ میزبان و افزایش زیست سازگاری سطح به کار گرفته می‌شود شامل پیوند کردن شیمیایی، پیوند کردن نوری، پلیمریزه کردن پلاسمای پیوند کردن با پرتوتابی یونیزه، تشکیل تک لایه خود سر هم شونده^۴ یا اصلاحات زیستی^۵ می‌باشد. خواص سطحی داربست‌ها مانند مورفولوژی سطحی، انرژی و بار سطحی، در محیط آزمایشگاهی چسبندگی، تکثیر، حفظ فنوتیپ و پیام‌رسانی بین سلولی و در داخل بدن التیام بافت در اثر واکنش‌های سلولی را کنترل می‌کند. واکنش سلول‌ها با سطح بیومواد مستقیماً صورت نمی‌گیرد و عمدتاً با واسطه محیط فیزیولوژیک است. چنین لایه‌ای در اثر جذب غیر اختصاصی پروتئین‌های زمینه خارج سلولی تولید می‌شود [۱۲ و ۱۳].

سرامیک‌ها، پلیمرها و کامپوزیت‌های مختلف قابل جذب و غیرقابل جذب بسیاری مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند اما اخیراً رویکرد تازه‌ای در رابطه با استفاده از مواد طبیعی مانند ماتریکس استخوانی معدنی زدایی شده^۶، فیبرین ابریشم، کلاژن، فیبرین، فسفات کلسیم، پلی لاکتیک اسید، پلی اتیلن گلیکول، پلی انهدریدها، هیدروکسی آپاتیت، گچ‌های دندانپزشکی و تیتانیوم تنها مثال‌هایی از موادی است که تا کنون محققان مختلف در این راستا مورد توجه قرار داده‌اند [۱۴].

۲-۳- اهمیت طراحی و ساخت داربست در مهندسی بافت

طراحی بیوماده یک عنصر مهم در مهندسی بافت است که مربوط به خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی برای هدایت سلول‌ها به سمت بافت‌های کارآمد از طریق مهاجرت، چسبندگی و تمایز سلولی می‌باشد. بیوماده بایستی با سرعت متناسب با تشکیل بافت جدید، تخریب شود و امکان رسوب در زمینه خارج سلولی جدید را به سلول‌ها بدهد و موجب نوسازی^۷ بافت جدید شود. در مجموع بیومواد مورد استفاده در مهندسی بافت، باید زیست سازگار و با حداقل واکنش ایمنی باشند، از سویی داشتن تخلخل هم در سطح و هم در لایه زیرین سازه‌ها برای تطابق سلولی و نفوذپذیری کافی مواد غذایی، ضروری می‌باشد [۱۲ و ۱۵]. بحث جایگزین کردن اعضای از دست رفته در اثر ضربه،

¹ M.Yoshida

² R.L.Reise

³ Plasma etching

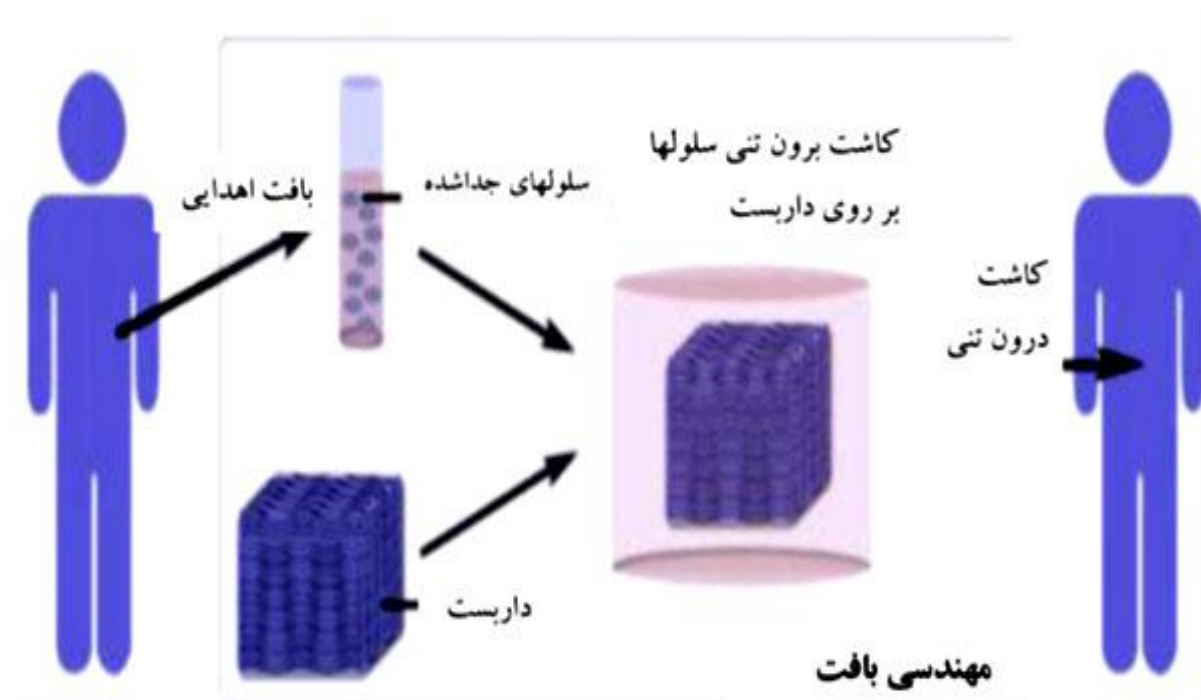
⁴ Self assembly

⁵ Biologic modifications

⁶ Demineralized

⁷ Regenerate

سرطان و بیماری، موضوع بحث برانگیز بسیار قدیمی است. شمار زیادی پیوند استخوان به علل مختلف اعم از شکستگی، بدشکلی، مسائل مربوط به مفاصل این استخوان ها، سرطان و درد صورت می گیرد. اما زمینه مهندسی بافت تنها در چند دهه اخیر مطرح شده است. جایگزینی بافت ها همان طور که قبلا اشاره شد، با محدودیت های بسیاری همچون پاسخ ایمنی و پس زده شدن، کمبود اعضاء دهنده کافی، سپر تششی و انتقال عفونت مواجه است. به دلیل مشکلات رد پیوند، آسیب ناحیه دهنده پیوند و انتقال عفونت، مهندسی بافت به سرعت جایگاه ویژه ای در جراحی استخوان یافته است و به عنوان راهکار مناسب، مهندسی بافت که از یک جراحی بازسازی منشا می گیرد، امکان انتقال بافت اهداکننده^۱ به منظور ترمیم عملکرد بافت آسیب دیده را تامین می کند (شکل ۲-۴). در صورت استفاده از سلول های خود بیمار (مهندسی بافت انتقال و کاشت بافت خودی^۲)، نگرانی انتقال بیماری عفونی و پس زدن پیوند مرتفع می شود. به علاوه، هیچ وابستگی به اهداکننده وجود ندارد. بنابراین تمرکز بسیاری از تحقیقات، مهندسی بافت سازه های جایگزین اندام های آسیب دیده است. مهم ترین بخش در مهندسی بافت، طراحی و ساخت داربست های سه بعدی است که به عنوان پشتوانه موقت بافت، برای رشد سلول های جدا شده می باشد، تا زمانی که به صورت یک بافت تازه آماده به درون ناحیه آسیب دیده برگردانده شود. طراحی داربست، تا حد زیادی عملکرد آن سازه را تعیین می کند. اگرچه نیازهای نهایی هر داربستی، بستگی به کاربرد ویژه همان داربست دارد، با این حال در طراحی همه داربست ها برخی نکات باید در نظر گرفته شود.



شکل ۲-۴ شکل شماتیک اصول مهندسی بافت [۵].

¹ Donor

² Autogenic tissue engineering transplant

سلول ها، داربست ها و فاکتورها پایه هر نوع درمان مبتنی بر مهندسی بافت هستند. مواد مورد استفاده برای مهندسی بافت استخوان باید برای رشد سلول ها مناسب باشند در واقع استئوکانداکتیو باشند و پیام هایی برای تهییج تمایز استخوان داشته باشند، یعنی به اصطلاح استئواینداکتیو باشند. سلول های بنیادی استرومایی مغز استخوان و استئوبلاست ها و سلول های پریوست بیش از همه مورد تحقیق قرار گرفته اند. فاکتورهای رشد مختلفی مانند BMP-2، FGF-2، BMP-7، IGF، PDGF، VEGF، VGF، $TGF-\beta$. نیز دارای قابلیت استخوانسازی شناخته شده اند [۷۱].

همچنین داربست باید متخلخل باشد و تخلخل ها به یکدیگر مرتبط باشند تا انتقال مناسب مواد مغذی به سمت سلول ها و بافت ها و حذف محصولات زائد، امکان پذیر شود. به علاوه، داربست باید خواص مکانیکی مناسبی داشته باشد تا با خواص بافتی که در درون آن کاشته می شود، همخوانی داشته باشد و بتواند بارهای فیزیولوژیک وارد شده را متحمل شود و نیز به راحتی با سیستم عروقی میزبان، ارتباط برقرار کند. ضمناً داربست باید زیست سازگار باشد و هماهنگ با بازخلق بافت و نو شدن زمینه خارج سلولی (ECM^۱)، تخریب شود. به علاوه، سطح داربست باید چسبیدن و تکثیر سلولی را ترغیب کند. داخل کردن ریزچیدمان^۲ به داربست، نظم گیری بافت را بهبود می بخشد و عملکرد بهتر بافت را موجب می شود. داربست بهینه، عروق زایی مناسبی خواهد داشت تا بتواند به طور موثر با بافت میزبان، یکی شود (شکل ۲-۱).

طراحی داربست قطعا می تواند کارایی آن برای رشد سلول ها را تحت تاثیر قرار دهد و شامل ماده، روش استفاده شده برای ساخت داربست و ظاهر داربست از نظر شکل و اندازه و ریزنقش^۳ است. اهمیت ریزنقش، از نظر کنترل رفتار سلول های چسبیده است. تنظیم طراحی چیدمان ریزنقش، می تواند بر نظم گیری^۴ بافت، تاثیر داشته باشد و با تقلید از ریزچیدمان محیط طبیعی اطراف سلول در داخل بدن، عملکرد رشد بافت، بهبود می یابد. شکل و اندازه سازه می تواند در برخی روش های ساخت، حین فرایند تولید قطعی شود. در روش های دیگر، ساختار نهایی داربست طی مرحله پس از فرایند، به دست می آید. یک راه، طراحی لایه ای است که اندازه و شکل سه بعدی نهایی از طریق ورقه ورقه چیدن^۵ لایه های دوبعدی به دست می آید. ابتدا با یکی از روش های توضیح داده شده، ساخت صفحات دوبعدی صورت می گیرد. سپس این صفحات توسط حرارت یا چسب های شیمیایی مثل حلال ماده به هم می چسبند. داربست ایده آل بایستی به اندازه کافی عروق زایی کند. فعل و انفعال بین ماده و محیط اطراف، نیاز به رشد کافی عروق و مویرگ ها دارد تا از انتقال مواد غذایی بین کاشتنی و بافت اطمینان حاصل شود. پس از ورقه گذاری، ریزنقش اعمال می شود تا از رشد سلولی و ایجاد عروق خونی و انتشار مایعات از طریق ریزکانال ها، برای تامین مواد مغذی اطمینان حاصل شود [۱۶-۱۸].

تا کنون کاربرد بسیاری از پلیمرهای تخریب ناپذیر نظیر پلی اتیلن ترفتالات (PET)، نایلون، پلی یورتان، پلی اتیلن، پلی تترافلورواتیلن، پلی سیلوکسان، پلی متیل متاکریلات، پلی اکریلونیتریل اصلاح شده و پلی اتر امید مورد توجه

¹ Extra cellular matrix

² Micro-architecture

³ Micropattern

⁴ Organization

⁵ Laminate