فناوری پلیمر ایران

فصلنامه علمی - ترویجی
سال دوم، شماره۳، شماره پیاپی ۷، پاییز ۱۳۹۶
Vol. 2, No. 3, Issue No. 7, Autumn 2017, Quarterly
صفحه ۲۶ - ۱۷

Iran Polymer Technology: Research and Development

داربست‌های پلیمری حاوی نانولوله‌های کربنی در مهندسی بافت استخوان

فاطمه کشمیرشکن، میترا توکلی*

یزد، دانشگاه یزد، پردیس فنی و مهندسی، گروه مهندسی شیمی و پلیمر

چکیده ...

مهندسی بافت، دانش طراحی و ساخت بافت جدید برای بازیابی عملکرد عضوهای معیوب یا بافت‌های از دست رفته، است. سلول‌ها و داربست‌ها دو جزء اصلی در مهندسی بافت هستند. داربست، بستر موقتی برای رشد سلول است که محیط مناسبی را برای رسیدن به سلول یا بافت مورد نظر فراهم می‌کند و موجب تسهیل چسبندگی، رشد و تمایز سلول‌ها می‌شود. ساخت داربست مناسب یکی از اهداف همیشگی پژوهشگران مهندسی بافت است. ارائه بسترهای زیستی با خواص مطلوب می‌تواند نقش مهمی در ترمیم بافت استخوان داشته باشد. از آنجا که نانولوله‌های کربنی دارای خواص مکانیکی، الکتریکی و گرمایی بی‌نظیری هستند به شدت مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند. در این مقاله، به ساختار نانولوله کربنی، روش‌های تولید داربست‌های تقویت‌شده و ساخته شده با نانولوله کربنی در مهندسی بافت استخوان، مزایا و معایب استفاده از آن‌ها در داربست‌های مهندسی بافت استخوان به همراه مثال‌هایی از نتایج انتشار یافته در مقالات پرداخته شده است. این موارد شامل طراحی‌های جدید داربست‌های نانوساختار دو و سه‌بعدی، خصوصیات و پاسخ‌های سلولی آن‌ها و همچنین برخی از عوامل مؤثر در ارتقای برهم کنش‌های سلولی‌مانند چسبندگی، تکثیر و تمایز می‌شود.

واژه‌های کلیدی:

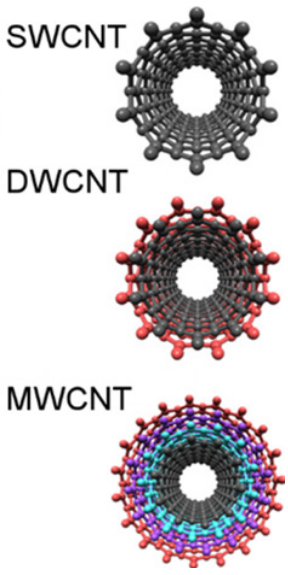
نانولوله‌های کربنی
داربست
مهندسی بافت استخوان
دوبعدی
سه‌بعدی

*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:
mtavakoli@yazd.ac.ir

۱ مقدمه

پس از کشف نانوالیاف کربنی و لایه های ریز گرافیتی در سال ۱۹۵۰، نانولوله‌های کربنی (CNTs) موضوع تحقیق بسیاری از پژوهشگران قرار گرفت تا در سال ۱۹۹۱، ایجیما موفق به کشف ساختار اتمی این ماده شد. CNTs، نانوذراتی با ساختارهای حلقوی تو خالی و متشکل از اتم‌های کربن به همراه کربن با هیبرید SP^2 هستند که با توجه به تعداد لایه‌های گرافیتی آن‌ها، به سه دسته، نانولوله‌های کربنی تک جداره (SWCNTs)، نانولوله‌های کربنی دو جداره (DWCNTs) و نانولوله‌های کربنی چند جداره (MWCNTs) تقسیم می‌شوند (شکل ۱). SWCNTs از یک لایه گرافنی، به قطر داخلی ۲/۵ nm– ۰/٤ و طولی در محدوده میکرون تا میلیمتر و MWCNTs از تعداد زیادی لایه‌های گرافنی (تقریبا ۵۰ عدد) به قطر ۲۵ nm–۲ و فاصله بین صفحات تقریبا ۰/۳٤ nm تشکیل شده‌اند. DWCNTs گونه‌ای عجیب از MWCNTs هستند که متشکل از دو لایه گرافنی هستند. CNTs دارای خواص شیمیایی، فیزیکی و الکتریکی منحصر به فردی هستند که خلاصه‌ای از خواص اصلی آن‌ها در جدول شماره ۱ آورده شده است [۱]. CNTs جایگاه ویژه‌ای را در صنایع مختلف مانند انواع برنامه‌های کاربردی در الکترونیک، فوتونیک، الکترومغناطیس، انرژی‌های تجدیدپذیر، تحویل دارو و بخش پزشکی به خود اختصاص داده‌اند. روش‌های متعددی مانند تخلیه قوس الکتریکی، تبخیر لیزری و رسوب‌گذاری بخار شیمیایی (CVD) برای سنتز CNTs وجود دارد. رسوب بخار شیمیایی که شامل تجزیه حرارتی هیدروکربن‌ها به کمک کاتالیزور است، به دلیل امکان کنترل ریخت‌شناسی، چگالی، هم‌ترازی و کایرالیتی نانولوله‌های‌کربنی یکی از بهترین روش‌ها برای تولید این نانوذرات است. در شکل ۲ روش‌های سنتز نانولوله‌های کربنی آورده شده است [۲]. استخوان‌ها جزء اجزای سخت و محکم بدن هستند که از دو لایه سخت بیرونی به نام استخوان متراکم و نرم داخلی به نام استخوان اسفنجی تشکیل شده‌اند و از نظر شکل و اندازه بسیار متفاوت هستند [۲]. هنگامی که بافت استخوانی دچار آسیب می‌شود، تغییرات قابل توجهی در کیفیت زندگی شخصی و اجتماعی بیماران رخ می‌دهد. بنابراین مطالعات زیادی پیرامون درمان آن‌ها صورت گرفته است. امروزه، با توجه به محدودیت‌های ناشی از روش‌های جراحی، دانش مهندسی بافت استخوان بسیار مورد توجه قرار گرفته است. نادیده گرفتن برخی از خصوصیات مهم بافت مورد نظر یکی از محدودیت‌های اصلی در داربست‌های مهندسی بافت فعلی است. مقاومت مکانیکی بالا و خاصیت پیزوالکتریکی دو مورد از ویژگی‌های مهم بافت استخوان در تهیه داربست است [۳]. CNTs با توجه به خواص بی‌نظیر فیزیکی مانند استحکام مکانیکی بالا (استحکام کششی آن‌ها ۳ برابر استخوان است)، امکان سنتز آن‌ها در ابعاد قابل مقایسه با پروتئین بستر خارج سلولی که نتیجه آن، افزایش تعامل با پروتئین‌های رشد است و همچنین خواص الکتریکی آن‌ها که موجب ایجاد تحریک‌های الکتریکی در راستای بهبودی بافت استخوان می‌شود، در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران در زمینه مهندسی بافت شده است [٤].

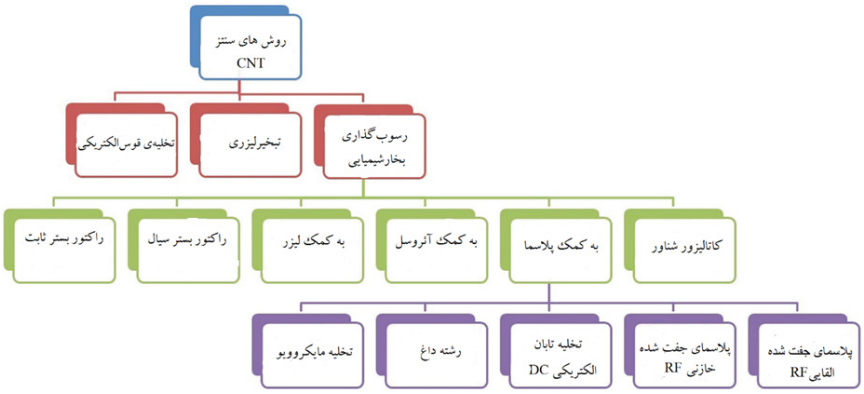
با توجه به خواص شگرف نانولوله‌ها چالش ساخت داربست‌های گوناگون با استفاده از این مواد عنوان شد. در این مقاله به برخی از چالش‌های استفاده از این مواد در مهندسی بافت استخوان پرداخته خواهد شد. در ادامه، پیشرفت‌های انجام شده در زمینه ساخت داربست‌های دوبعدی، داربست‌های سه‌بعدی متخلخل بر پایه نانولوله‌های کربنی، ساختارهای هیبریدی چند عاملی، خصوصیات سطح (مانند قطر و ضخامت، سختی، انرژی سطحی گروه‌های عاملی، جریان الکترواستاتیک)، مزایا و عیوب استفاده از این نانوساختارها در داربست‌های بافت استخوان و برخی از روش‌های کاهش یا رفع این عیوب شرح داده خواهد شد.



شکل ۱ ساختار نانولوله‌های کربنی [۱]

جدول ۱ خلاصه‌ای از خواص نانولوله‌های کربنی [۱]

ویژگی	مقدار	نشانه‌ها
تحرک ذاتی	بیش از $10^5 cm^2V^{-1}s^{-1}$ برای CNTs در دمای اتاق	تقریبا ۱۰۰ برابر بیشتر از سیلیکون در K ۳۰۰ با با غلظت دپانت در $10^{17}cm^{-3}$
غلظت حامل‌های آزاد	$\sim10^{17}cm^{-3}$	کمتر از گرافن ($\sim10^{20}cm^{-3}$) و بیشتر فلزات مانند نقره ($\sim10^{22}cm^{-3}$)
ظرفیت حمل جریان	بیش از 10^9Acm^{-2} برای CNT	۱۰۰۰ مرتبه بالاتر از مس
هدایت الکتریکی	10^4-10^6	شبیه به برخی از فلزات، مانند جیوه
هدایت حرارتی	بالاتر از $3500Wm^{-1}k^{-1}$	تقریبا $1500Wm^{-1}k^{-1}$ بالاتر از الماس
مدول یانگ	۱-۲ TPa	قابل مقایسه با الماس تک بلور در دمای اتاق است
تنش شکست	۵۰ GPa	تقریبا ۵۰ مرتبه بزرگتر از سیم فولادی پس از نرمال کردن چگالی
مساحت سطح	$1600m^2g^1$	بالاتر از کربن فعال است ($1200m^2g^1$)



شکل ۲ طبقه‌بندی روش‌های سنتز CNT [۲]

۲ داربست‌های دو بعدی

از جمله روش‌های ساده و کاربردی برای ساخت داربست‌های دو بعدی بر پایه نانولوله کربنی می‌توان، پاشش (spraying)، فشرده‌سازی (compressing)، پوشش‌دهی چرخشی (spin-coating)، پوشش‌دهی قطره‌ای (drop-coating)، صاف کردن خلأ (vacuum filtration)، رسوب‌گذاری بخار شیمیایی (CVD)، غوطه‌وری (dip coating) را نام برد. لازم به ذکر است، رسوب‌گذاری بخار شیمیایی و صاف کردن خلأ از رایج‌ترین روش‌ها به شمار می‌روند [۵-۷].

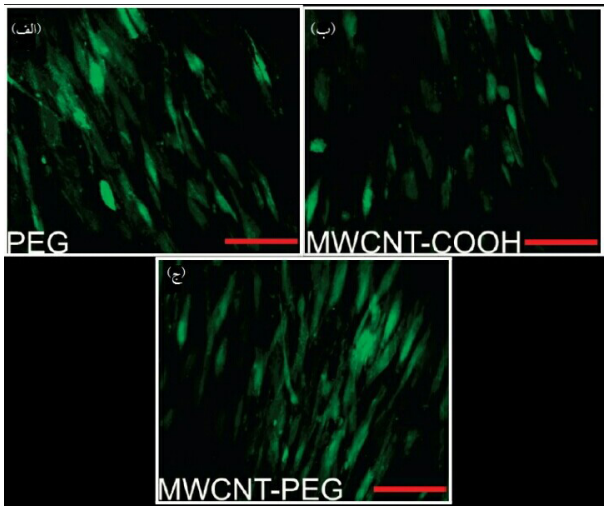
وبستر و همکارانش در مطالعاتشان، اثر متقابل سلول‌های استخوانی بر روی فیلم‌های نازک را بررسی کردند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد، حضورCNTs در داربست، موجب تسریع تشکیل استخوان از استئوبلاست و همچنین هدایت تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی در استخوان‌سازی می‌شوند. آن‌ها دریافتند، نوع، اندازه، ویژگی‌های سطح و طول CNTs نقش مؤثری در فرایند رشد سلول دارد. به طور مثال، آن‌ها در آزمایشی لایه‌های نازک حاوی CNT با اندازه قطرهای متفاوت را با استفاده از روش فشرده‌سازی تک‌محوره تولید کردند و سپس سلول‌های استخوانی انسانی (CRL-۱۱۳۷۲) را بر روی آن‌ها کشت داده و دریافتند، رشد

و فعالیت سلول‌ها بر روی داربست‌های حاوی CNT با قطر کمتر، بیشتر است [۱۰-۸].

واتاری و همکارانش، فیلم‌های نازک حاوی MWCNT و گرافن اصلاح نشده را تهیه و شرایط مناسب رشد سلول‌های استخوانی (saos-۲ cells) را بر روی آن‌ها فراهم کرده و آزمون‌های استئونکتین، استئوپنتین، ژن استئوکلسین و کلسیم‌فسفاتاس سلول‌های کشت شده بر روی نمونه‌ها را بررسی و میزان بالاتری از استئونکتین، استئوپنتین، ژن استئوکلسین و کلسیم‌فسفاتاس را بر روی نمونه‌های حاوی MWCNT گزارش کردند. در نهایت نتایج حاکی از آن بود که، نانولوله‌های کربنی به واسطه جذب بیشتر پروتئین‌های خاص می‌توانند موجب القای تمایز استخوان و مناسب بودن این ماده برای مهندسی بافت استخوان شوند [۱۱]. از طرف دیگر انرژی سطحی و سختی لایه‌های حاوی CNT نیزمی‌توانند بر روی فعالیت زیستی و سلول‌های استخوانی اثر بگذارند.

توتاک و همکارانش در پژوهشی، با استفاده از روش صاف کردن خلأ، لایه‌های SWCNTs را بر روی غشای استری مولتی‌سلولوز (MSE) تهیه و نوعی از سلول‌های استخوانی (MC۳T۳-E۱) را بر روی آن‌ها کشت دادند. نتایج پژوهش نشان داد، انرژی سطحی مورد نیاز برای چسبندگی اولیه سلول‌ها بر روی لایه‌ها، بسیار حائز اهمیت است [۱۲].

نایکاد و همکارانش، داربست‌های حاوی CNT را با استفاده از چندین گروه عاملی سطحی متفاوت مانند گروه عاملی کربوکسیل (COOH-)، هیدروکسیل (OH-) و پلی‌اتیلن‌گلایکول (PEG) تهیه و رفتار سلول‌های hMSCs را بر روی آن‌ها بررسی کردند (شکل ۳). آن‌ها گزارش کردند که سرعت تمایز و القای مواد معدنی استخوانی در داربست حاوی CNT اصلاح شده با گروه عاملی پلی‌اتیلن‌گلایکول در مقایسه با گروه عاملی کربوکسیل، بیشتر است. همچنین رشد سلول بر روی داربست‌های اصلاح شده با گروه عاملی پلی‌اتیلن‌گلایکول، دارای نظم بیشتری نسبت به گروه عاملی کربوکسیل است (ریخت‌شناسی سلول‌ها بر روی داربست‌های حاوی گروه عاملی پلی‌اتیلن‌گلایکول شبیه سلول‌های فیبروبلاست است). لازم به ذکر است، نتایج به دست آمده از این پژوهش مطابق با نتایج به دست آمده توسط لیو و همکارانش است [۷،۱۳]. بار الکتریکی سطحی، یکی دیگر از عوامل مؤثر در اثر متقابل سلول و CNT است. زانلو و همکارانش لایه‌های نازک حاوی SWCNT را با گروه‌های عاملی حاوی جریان الکتریکی



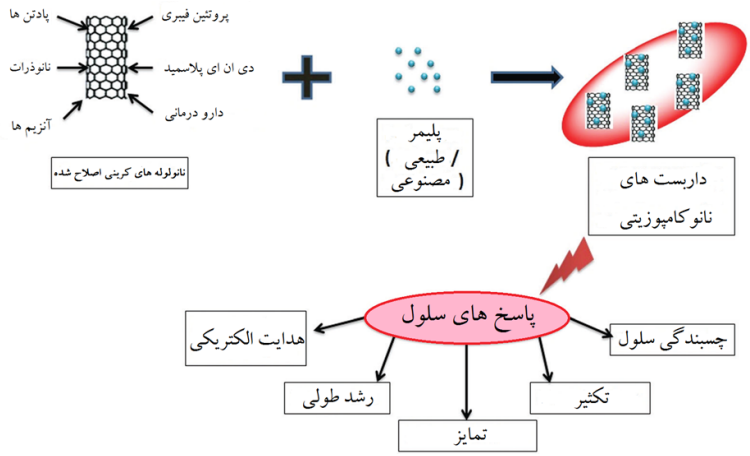
شکل۳ تصاویر فلورسانس از رشد سلول بر روی داربست‌های حاوی (الف) PEG (ب) MWCNTs-COOH (ج) MWCNTs-PEG [۷]

مثبت، منفی و خنثی تهیه کردند و نوعی سلول استخوانی (Osteosarcoma ROS ۱۷/۲.۸) بر روی آن‌ها کشت دادند. آن‌ها گزارش کردند، رشد سلول و تولید هیدروکسی‌آپاتیت بر روی داربست‌های حاوی CNT با بار خنثی بیشتر است [۱٤].

در بسیاری از موارد CNT را به همراه مواد پرکاربرد دیگر مانند، پلیمرهای مصنوعی، برای دست‌یابی به داربست‌های مناسب و زیست‌سازگار مخلوط می‌کنند. شکل ٤ نمایی از نقش CNT در تشکیل داربست‌ها و پاسخ‌های سلولی را نشان می‌دهد. وبستر و همکارانش، نانوکامپوزیت پلی‌کربنات‌یورتان (PCU)/نانوالیاف کربنی (CNF) را تهیه کردند. سپس داربست‌ها را با سلول‌های استخوانی و فیبروبلاست، رشد داده، در نهایت افزایش چسبندگی تعداد سلول‌های استخوانی و کاهش چسبندگی تعداد سلول‌های فیبروبلاست را گزارش کردند [۱۵]. پژوهشگران دیگری، داربست‌های کامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتو/نانولوله کربنی را تهیه و در نهایت ثابت کردند، علاوه بر افزایش CNT، توپولوژی داربست‌های کامپوزیتی CNT در رسیدن به مقاومت مکانیکی مناسب برای مهندسی بافت استخوان حائز اهمیت است [۱٦].

۳ داربست‌های سه بعدی نانو متخلخل

استخوان نوعی کامپوزیت زیستی متخلخل است که از مواد آلی مانند کلاژن، گلیکوپروتئین‌ها، گلیکوزآمینوگلیکان‌ها و



شکل ٤ نمایی از نقش CNT در تشکیل داربست‌ها و پاسخ‌های سلول [۲]

مواد غیرآلی مانند هیدروکسی‌آپاتیت تشکیل شده است. تقریباً تمام سلول‌های بافت بدن در ریز محیط سه‌بعدی تعبیه شده‌اند [۱۷]. داربست‌های سه‌بعدی متخلخل به دلیل شباهت ساختاری به بسترهای برون سلولی طبیعی بدن، به‌عنوان سامانه‌های داربستی مناسب در نظرگرفته می‌شوند. به طور کلی، توانایی داربست‌های سه‌بعدی در برقراری پیوند میان سلول‌های تکی و عضوها به دلیل سازمان‌دهی فضایی سلول‌ها، بیشتر از داربست‌های دوبعدی است. داربست‌های سه بعدی به چهار دسته اصلی داربست‌های آمورف اسفنج شکل، داربست‌های ژل شکل، داربست‌های لیفی و داربست‌های با هندسه و سازه تحت کنترل، تقسیم می‌شوند. در جدول ۲ برخی از روش‌های ساخت داربست‌های سه بعدی با منافذ میکرومتری آورده شده است [۱۸،۱۹]. ساختارهای سه‌بعدی، علاوه بر ایجاد حمایت مکانیکی مورد نیاز، چسبندگی سلولی و علامت (signal) دهی را افزایش می‌دهند. داربست‌های سه‌بعدی در مقایسه با داربست‌های دو بعدی به دلیل اضافه شدن عواملی مانند، تخلخل، اندازه و شکل حفرات، بعد و ترکیب داربست‌ها، می‌توانند فعالیت‌های سلولی را کنترل کنند [۱۷].

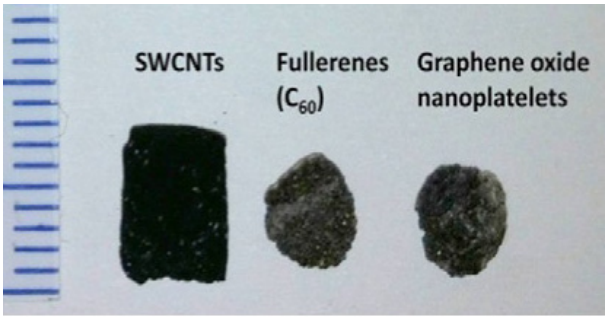
نانولوله‌های کربنی به‌دلیل توانایی ایجاد داربست‌های سه‌بعدی، در زمینه مهندسی بافت بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. با توجه به مطالعات صورت گرفته، داربست نانولوله کربنی سه‌بعدی را می‌توان با استفاده از روش‌های پوشش‌دهی پاششی (spray coating) روش خودآرایی بر پایه مویینگی (capillary-based self-assembly)، خورندگی قالب (template etching) و جداسازی یخ با القا خودآرایی (ice-segregation-induced-self-assembly)، رسوب‌گذاری بخارشیمیایی (CVD)، انباشت بخار شیمیایی پلاسمایی (PECVD)، تهیه کرد. لازم به ذکر است، زمانی‌که نانولوله‌ها داخل محلول مایع غوطه‌ور می‌شوند، فرآیند خودآرایی اتفاق می‌افتد و پس از تبخیر حلال، ساختار سه‌بعدی تشکیل می‌شود [۵،۲۰].

روش‌های فوق ممکن است برای رسوب نانومواد مناسب باشند اما به دلیل وابستگی ساختار دوبعدی و سه‌بعدی به گره‌خوردگی فیزیکی یا نیروی ضعیف واندروالسی بین نانومواد، اطمینان از تمامیت ساختار دوبعدی و سه‌بعدی

جدول۲ برخی از روش‌های تولید داربست‌های سه‌بعدی [۵]

روش تولید	ساختار بستر	تخلخل ٪
چاپ سه بعدی	شبکه با کنترل منافذ	۵۰
الکتروریسی	الیاف	۰ - ۹۰
اتصال رشته‌ای	الیاف	۸۱
سوزن زنی	الیاف	۹۳
جدایش فازی	تخلخل	۹۰
اسفنج‌شدن گازی	اسفنجی	۹۳
حلال‌شویی ذرات	اسفنجی	۸۷

وجود ندارد. بنابراین، تلاش‌های اخیر روی روش‌هایی است که می‌توانند این نانومواد را به طور شیمیایی در ترکیب پیوند دهند. در این روش ابتدا رادیکال شروع کننده با استفاده از حلال مناسب با نانومواد کربنی مخلوط شده، در قالب‌های ساخته شده از تفلون ریخته می‌شوند و تحت پیوند حرارتی قرار می‌گیرند. این فرایند منجر به تشکیل پیوندهای کووالانسی بین نانومواد کربن می‌شود که نتیجه آن تولید ساختارهای دوبعدی یا سه‌بعدی با ابعاد ماکرو، میکرو یا نانومتر و همچنین منافذ متصل به هم است [۵]. با توجه به نکته ذکر شده، در پژوهشی لالوانی و همکارانش با ارائه روشی ساده و کاربردی موفق به ساخت داربست‌های سه‌بعدی ماکروسکوپیک تمام کربن شدند. در این روش آن‌ها داربست‌های تمام کربن را با استفاده از SWCNT، MWCNT، گرافن و فولرن، به عنوان مواد اولیه و پروکسیدبنزوئیل به عنوان شروع کننده و با استفاده از اتصالات عرضی گرمایی و همچنین گرم و سرد کردن کنترل شده، تهیه کردند. از پروکسیدبنزوئیل در واکنش‌های پلیمری‌شدن رادیکال آزاد استفاده می‌شود و پس از تجزیه حرارتی به رادیکال‌های آزاد فنیل یا بنزوئیل اکسیل و گاز CO_2 تبدیل می‌شوند، همچنین می‌توان در جهت عامل‌دارکردن کووالانسی نانولوله‌های کربنی از آن استفاده کرد. در این پژوهش، ابتدا مخلوط نانومواد و پروکسیدبنزوئیل با استفاده از حمام فراصوتی تهیه و به قالب‌های تفلونی اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۶۰ درجه سانتی‌گراد داخل انکوباتور قرار گرفت و در نهایت برای خروج پروکسیدبنزوئیل واکنش نداده و همچنین سایر مواد تولید شده در واکنش شبکه‌ای شدن رادیکالی، از فرآیند تاب‌کاری در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه استفاده و نمونه‌ها مطابق با شکل ۵ تهیه شدند.



شکل ۵ تصویر نوری از استوانه و قرص‌های ماکروسکوپیک سه بعدی خالص به روش شبکه‌ای کردن گرمایی با استفاده از SWCNTs (قطر ۵ میلی‌متر و ضخامت ۸ میلی‌متر)، فولرن و گرافن (قطر ۵ میلی‌متر و ضخامت ۳ میلی‌متر) [۲۱]

با توجه به گزارش‌های اعلام شده، داربست‌های تهیه شده دارای منافذ متصل به هم، ساختار قوی، ثبات و استحکام و هدایت هستند. با به کارگیری این روش می‌توان، تخلخل ساختار سه‌بعدی را با تغییر میزان رادیکال شروع کننده، کنترل و همچنین داربست‌های سه‌بعدی با استفاده از سایر مواد نانوکربنی مانند SWCNTs ، فولرن‌ها و گرافن‌ها تهیه کرد. درنهایت آن‌ها اثبات کردند، روش ذکر شده می‌تواند به عنوان روشی چندمنظوره برای ساخت نانوساختارهای سه‌بعدی کربنی با استفاده از شبکه‌های پیوند π باشد. علاوه بر این، با استفاده از این روش می‌توان داربست‌های سه‌بعدی سریع، ارزان، مقیاس‌پذیر و سازگار با هندسه مورد نظر (مانند استوانه، صفحه) تهیه کرد [۲۱].

روش پوشش‌دهی پاششی برخلاف سایر روش‌ها، به دلیل نیاز نداشتن به بستر صاف، فشار یا دمای بالا بر روی بستر، یکی از ارزان‌ترین و منعطف‌ترین روش‌ها برای تولید پوششی ضخیم از نانومواد است. پوشش‌دهی پاششی به وسیله هوا (airbrush spray coating) و پوشش‌دهی پاششی فراصوت (ultrasonic spray coating) دو روش اصلی برای استفاده از این فن است [۲۲].

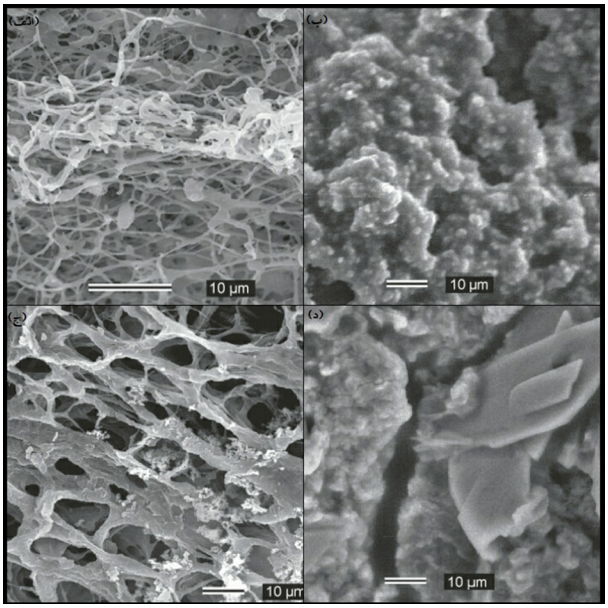
پوشش‌دهی پاششی به وسیله هوا، توزیع ذرات به وسیله گاز حامل تحت فشار (به‌عنوان مثال: گاز نیتروژن، هوا) است که کاربرد آن در تهیه پوشش‌های نانولوله کربنی به عنوان بستر برای تمایز سلول‌های بنیادی و الکترود سلول‌های خورشیدی ثابت شده است [۲۲،۲۳].

پوشش‌دهی پاششی فراصوت، روشی جدید برای تولید قطرات همگن با استفاده از بسامد بالا است. در این روش برخلاف روش پوشش‌دهی به وسیله هوا، کلوخه شدن نانولوله به دلیل حضور ارتعاشات فراصوتی، رخ نمی‌دهد و قطرات از لحاظ ابعاد و حجم، یکنواخت‌تر تولید می‌شوند. اما عدم وجود اتصالات قوی شیمیایی بین ذرات ساختارهای تولید شده، بسیار قابل تأمل است. لزوم استفاده از ساختارهای دو یا سه بعدی ساخته شده از نانومواد کربنی برای برخی از کاربردهای فتوولتائیک مانند صفحات خورشیدی و یا دستگاه‌های ارتوپدی، وجود توانایی مقاومت در برابر تنش‌های مختلف مکانیکی است. در نتیجه، اتصال شیمیایی بین نانومواد که پایداری ساختاری اجزا را بهبود می‌بخشد، می‌تواند مفید باشد. به این منظور پژوهشگران با استفاده از رادیکال آزاد شروع‌کننده برای ایجاد اتصالات عرضی، داربست‌های سه‌بعدی حاوی نانولوله کربنی متخلخل را تهیه کردند. در پژوهشی دیگر، با استفاده از اصول شیمیایی

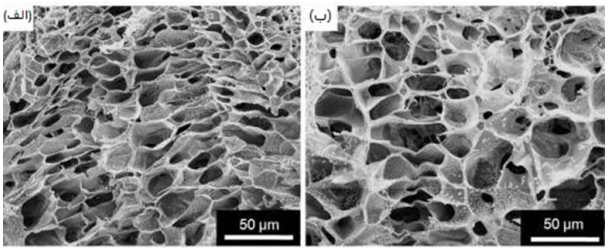
ایجاد اتصالات عرضی در پژوهش قبل، فن پوشش پاششی نانولوله‌کربنی چند جداره از طریق هوا به جای پوشش شیمیایی را بیان کردند. اما نیاز به فشار تقریباً بالا (۲۰Psi) برای حمل حلال و تشکیل قطرات که موجب ایجاد نایکنواختی و زبری بالای سطح می‌شود و همچنین تولید قطرات نایکنواخت در اندازه و حجم، استفاده از این روش را با محدودیت‌هایی همراه می‌کند. با توجه به محدودیت‌های بیان شده، پژوهشگران در سال ۲۰۱۶، روش ایجاد اتصالات عرضی نانومواد کربنی را با روش پوشش‌دهی پاششی فراصوت ترکیب کرده، پوشش صاف‌تر و یکنواخت‌تری از نانومواد کربنی را ایجاد کردند. با استفاده از این روش می‌توان ضخامت پوشش را کنترل و پوشش ماکروسکوپیک ضخیم ایجاد کرد. از سوی دیگر، می‌توان ساختارهای شبکه‌ای شده لایه‌ای نانولوله کربنی با ساختار سه بعدی را تولید کرد [۲۲].

(PFF) / نانولوله کربنی (CNT) را با استفاده از تلفیق روش اتصال‌حرارتی و پژوهش‌های زیادی پیرامون داربست‌های هیبریدی متشکل از نانولوله‌ها و پلیمرها در قیاس با داربست‌های تشکیل شده از نانولوله خالص، انجام شده است. شی و همکارانش، نانوکامپوزیت‌های سه‌بعدی پلی‌پروپیلن‌فورمات را با روش استخراج -ذرات (thermal-crosslinking particulated-leaching)، تهیه کردند. مطالعات بر روی خواص مکانیکی آن‌ها نشان داد که برهم‌کنش‌های قوی بین CNT و PFF تشکیل شده است و همچنین، افزایش چگالی اتصالات عرضی با افزایش نسبت کمی از CNT امکان‌پذیر است [۲۴]. لین و همکارانش، نانوکامپوزیت‌های زیست‌سازگار پلی‌لاکتیک‌گلایگولیک‌اسید/نانولوله کربنی چندجداره عامل‌دار شده با گروه کربوکسیل را با استفاده از روش قالب‌ریزی (casting)، در مقادیر متفاوت نانولوله تهیه کرده و پس از انجام مطالعات زیستی با استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی موش دریافتند، چسبندگی و زنده‌مانی سلول‌ها و همچنین تولید میزان چشمگیری آلکالین‌فسفاتاس بر روی نانوکامپوزیت‌های حاوی نانولوله‌ها، بیشتر از داربست‌های پلی‌لاکتیک‌گلایکولیک اسید خالص است [۲۵]. ساختارهای هیبریدی سه‌بعدی را می‌توان با روش خشک‌کردن انجمادی (lyophilization) نیز تهیه کرد. در این روش کامپوزیت‌های پلیمر/نانولوله کربنی را در محیط مایع منجمد و سپس در خلأ خشک می‌کنند. داسیلوا و همکارانش، کامپوزیت سه‌بعدی کلاژن/ نانولوله کربنی را به روش خشک‌کردن انجمادی تهیه و با سلول‌های استخوانی انکوبه کردند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد، حضور نانولوله کربنی باعث افزایش تولید مواد معدنی و هیدروکسی‌آپاتیت بر روی داربست‌ها (شکل ٦) و همچنین رفع مشکل انقباض داربست کلاژن خالص می‌شود [۲٦]. همچنین نتایج نشان داد، حضور نانولوله‌کربنی در داربست‌های اسفنجی کلاژن علاوه بر مزیت‌های ذکر شده، موجب افزایش چشمگیر نشانه‌های تمایز سلول، مانند افزایش میزان آلکالین‌فسفاتاز، کلسیم و استئوپنتین می‌شود [۲۷].

با توجه به گزارش‌های اعلام شده، داربست‌های کیتوسان مقاومت مکانیکی کافی، به منظور استفاده در مهندسی بافت را ندارند. وانگ و همکارانش، داربست‌های سه‌بعدی کیتوسان/ نانولوله کربنی را تهیه کرده، خواص مکانیکی آن را مورد بررسی قرار دادند. طبق گزارش آن‌ها، با افزایش ۲ درصد وزنی MWCNT، مدول یانگ و مقاومت کششی، دو برابر می‌شود [۲۸]. دپان و همکارانش در پژوهشی، خواص داربست کیتوسان/SWCNT را مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها در این پژوهش از نانولوله کربنی عامل‌دار شده با گروه کربوکسیل استفاده کرده، ایجاد پیوند کووالانسی بین گروه آمینی کیتوسان و گروه عاملی نانولوله کربنی را مشاهده کردند. همچنین با توجه به مشاهدات آن‌ها، به دلیل ایجاد پیوند کووالانسی، برهم کنش‌های سلولی، نفوذ و تشکیل



شکل٦ تصویر SEM از تشکیل هیدروکسی‌آپاتیت بر روی (الف) کلاژن بعد از گذشت ۱ هفته (ب) کلاژن بعد از گذشت ٤ هفته (ج) کامپوزیت کلاژن بعد از گذشت ۱ هفته (د) کامپوزیت کلاژن بعد از گذشت ٤ هفته [۳]



شکل ۷ تصاویر SEM از سطح مقطع (الف) هیدروژل ژلاتین متاکریلات و (ب) ژلاتین متاکریلات/نانولوله‌کربنی [۲۹].

کلونی سلول‌های استخوانی داخل حفرات داربست‌های هیبریدی سه‌بعدی افزایش می‌یابد [۲۹]. تعدادی از پژوهشگران تلاش در ساخت داربست‌های تقویت‌شده با نانولوله کربنی، بدون کاهش تخلخل را داشتند و در نهایت، شین به همراه همکارانشان موفق به انجام این کار شد. آن‌ها توانستند با استفاده از پوشش نانولوله‌های‌کربنی توسط ژلاتین متاکریلات داربست‌های هیدروژلی تقویت شده با نانولوله کربنی و بدون کاهش تخلخل را بسازند (شکل ۷). سپس سلول‌های استخوانی را بر روی آن‌ها رشد داده، بهبود تکثیر و توزیع سلول‌ها را گزارش کردند [۳۰].

۴ نتیجه‌گیری

مهندسی بافت علمی است که به منظور ترمیم و بهبود بافت‌های آسیب دیده استفاده می‌شود. داربست یکی از اجزای اصلی در مهندسی بافت است که وظیفه آن ایجاد محیطی مناسب برای رشد سلول مورد نظر است. به همین دلیل تهیه داربست مناسب به‌عنوان چالش بسیار مهمی برای مهندسان بافت مطرح است. داربست‌ها در مهندسی بافت استخوان، علاوه بر وظیفه رساندن مواد حیاتی به سلول‌ها، دفع مواد زاید و سامان‌دهی سلول‌ها، باید از مقاومت مکانیکی مناسب نیز برخوردار باشند. نانولوله‌های کربنی به دلیل خواص متمایز نوری، مکانیکی و الکتریکی، علاقه بسیاری از محققان در زمینه نانوپزشکی و نانو فناوری را به خود جلب کرده‌اند. در این مقاله برخی از روش‌های استفاده از این ماده در مهندسی بافت استخوان، عوامل مؤثر در بهبود پاسخ سلولی، عیوب و مزایای آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از پژوهش‌های مرور شده در مقاله حاضر، حاکی از آن است که داربست‌های سه‌بعدی در مقایسه با داربست‌های دو بعدی به دلیل شباهت ساختاری با بسترهای برون‌سلولی طبیعی بدن، به ویژه اهمیت حضور تخلخل در مهندسی بافت استخوان، به‌عنوان سامانه‌های داربستی مناسب در نظرگرفته می‌شوند. با توجه به خواص نانولوله‌های کربنی و توانایی آن‌ها در ایجاد داربست‌های سه بعدی، با استفاده از این نانوماده و طراحی مناسب می‌توان به نتیجه دلخواه در مهندسی بافت استخوان رسید. البته لازم به ذکر است که سمیت و زیست‌سازگاری داربست‌های تهیه شده از نانولوله‌های کربنی چالش بسیار مهمی است که باید با دقت فراوان مورد بررسی قرار گیرد.

مراجع

1. Yu L., Shearer C., Shapter J., Recent Development of Carbon Nanotube Transparent Conductive Films, *Chem. Rev*., 116, 13413-13453, **2016**.

2. Kumar S., Rani R., Dilbaghi N., Tankeshwar K., Kim KH., Carbon Nanotubes: A Novel Material for Multifaceted Applications in Human Healthcare, *Chem. Soc. Rev.*, 46, 158-196, **2017**.

3. Gholizadeh S., Moztarzadeh F., Haghighipour N., Ghazizadeh L., Baghbani F., Shokrgozar MA., Allahyari Z., Preparation and Characterization of Novel Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes/chitosan/β-Glycerophosphate Scaffolds for Bone Tissue Engineering, *Int. J. Biol. Macromolec*., 97, 365-372, **2016**.

4. Newman P., Minett A., Ellis-Behnke R., Zreiqat H., Carbon Nanotubes: Their Potential and Pitfalls for Bone Tissue Regeneration and Engineering, *Nanomed Nanotech Biol Med*, 9, 1139-1158, **2013**.

5. Lalwani G., Patel SC., Sitharaman B., Two-and Three-dimensional All-carbon Nanomaterial Assemblies for Tissue Engineering and Regenerative Medicine, *Ann Biomed Eng*, 44, 2020-2035, **2016.**

6. Wu Z., Chen Z., Du X., Logan JM., Sippel J., Nikolou M., Kamaras K., Reynolds JR., Tanner DB., Hebard AF., and Rinzler AG., Transparent, Conductive Carbon Nanotube Films, *Science*, 305, 1273-1276, **2004**.

7. Nayak TR., Jian L., Phua LC., Ho HK., Ren Y., Pastorin G., Thin Films of Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes as Suitable Scaffold Materials for Stem Cells Proliferation and Bone Formation, *ACS. Nano*, 4, 7717-7725, **2010**.

8. Khang D, Sato M., Price RL., Ribbe AE., Webster TJ., Selective Adhesion and Mineral Deposition by Osteoblasts on Carbon Nanofiber Patterns, *Int. J. Nanomed*., 1, 65-72, **2006**.

9. Stout DA., and Webster TJ., Carbon Nanotubes for Stem Cell Control, *Mater. Today*, 15, 312-318, **2012**.

10. Elias KL., Price RL., Webster TJ., Enhanced Functions of Osteoblasts on Nanometer Diameter Carbon Fibers, *Biomaterials,* 23, 3279-3287, **2002**.

11. Li X., Gao H., Uo M., Sato Y., Akasaka T., Abe S., Feng Q., Cui F., Watari F., Maturation of Osteoblast-like $SaoS_2$ Induced by Carbon Nanotubes, *Biomed. Mater*., 4, **2008**.

12. Tutak W., Chhowalla M., Sesti F., The Chemical and Physical Characteristics of Single-Walled Carbon Nanotube Film Impact on Osteoblastic Cell Response, *Nanotechnology*, 21, 315102, **2010**.

13. Liu D., Yi C., Zhang D., Zhang J., Yang M., Inhibition of Proliferation and Differentiation of Mesenchymal Stem Cells by Carboxylated Carbon Nanotubes, *ACS Nano*, 4, 2185-2195, **2010**.

14. Zanello LP., Zhao B., Hu H., Haddon RC., Bone Cell Proliferation on Carbon Nanotubes, *Nano Lett*., 6, 562-567, **2006**.

15. Price RL., Waid MC., Haberstroh KM., Webster TJ., Selective Bone Cell Adhesion on Formulations Containing Carbon Nanofibers, *Biomaterials*, 24, 1877-1887, **2003**.

16. Mattioli-Belmonte M., Vozzi G., Whulanza Y., Seggiani M., Fantauzzi V., Orsini G., Ahluwalia A., Tuning Polycaprolactone–carbon Nanotube Composites for Bone Tissue Engineering Scaffolds, *Mater. Sci. Eng., C*, 32, 152-159, **2012**.

17. Nisbet DR., Forsythe JS., Shen W., Finkelstein DI., Horne MK., Review Paper: A Review of the Cellular Response on Electrospun Nanofibers for Tissue Engineering, *J. Biomater. Appl,* 24, 7-29, **2009**.

18. Kumar S., Rani R., Dilbaghi N., Tankeshwar K., Kim KH., Carbon Nanotubes: A Novel Material for Multifaceted Applications in Human Healthcare, *Chem. Soc. Rev.*, 46, 158-196, **2017**.

19. Ng R., Zang R., Yang KK., Liu N., Yang St., Three-dimensional fibrous scaffolds with microstructures and nanotextures for tissue engineering, *Rsc. Advances*., 2, 10110-10124, **2012**.

20. Han Z., Tay B., Tan C., Shakerzadeh M., Ostrikov K., Electrowetting Control of Cassie-to-Wenzel Transitions in Superhydrophobic Carbon Nanotube-based Nanocomposites, *ACS Nano*, 3, 3031-3036, **2009**.

21. Lalwani G., Kwaczala AT., Kanakia S., Patel SC., Judex S., Sitharaman B., Fabrication and Characterization of Three-dimensional Macroscopic All-carbon Scaffolds, *Carbon*, 53, 90-100, **2013**.

22. Patel SC., Alam O., Zhang D., Grover K, Qin YX., Sitharaman B, Layer-by-layer, Ultrasonic Spray Assembled 2D and 3D Chemically Crosslinked Carbon Nanotubes and Grapheme, *J MATER RES*, 32, 370-382, **2016**.

23. Tait JG., Worfolk BJ., Maloney SA., Hauger TC., Elias AL., Buriak JM., Harris KD., Spray Coated High-conductivity PEDOT: PSS Transparent Electrodes for Stretchable and Mechanically-robust Organic Solar Cells, *Sol. Energ. Mat. Sol. Cells*, 110, 98-106, **2013**.

24. Shi X., Hudson JL., Spicer PP., Tour JM., Krishnamoorti R., Mikos AG., Injectable Nanocomposites of Single-walled Carbon Nanotubes and Biodegradable Polymers for Bone Tissue Engineering, *Biomacromolecules*, **7**, 2237-2242, **2006**.

25. Lin C., Wang Y., Lai Y., Yang W., Jiao F., Zhang H., Ye S., Zhang Q., Incorporation of Carboxylation Multiwalled Carbon Nanotubes Into Biodegradable Poly(lactic-co-glycolic acid) for Bone Tissue Engineering, *Colloids Surf., B*, 83, 367-375, **2011**.

26. Da Silva EE., Della Colleta HH., Ferlauto AS., Moreira RL., Resende RR., Oliveira S., Kitten GT., Lacerda RG., Ladeira LO., Nanostructured 3-D Collagen/nanotube Biocomposites for Future Bone Regeneration Scaffolds, *Nano Res*., 2, 462-473, **2010**.

27. 46. Hirata E., Uo M., Takita H., Akasaka T., Watari F., Yokoyama A., Multiwalled Carbon Nanotube-coating of 3D Collagen Scaffolds for Bone Tissue Engineering, *Carbon*, 49, 3284-3291, **2011**.

28. Wang SF., Shen L., Zhang WD., Tong YJ., Preparation and Mechanical Properties of Chitosan/carbon Nanotubes Composites, *Biomacromolecules*, 6, 3067-3072, **2005**.

29. Depan D., Misra RD., Processing–structure–functional property relationship in organic–inorganic nanostructured scaffolds for bone-tissue engineering: The response of preosteoblasts, *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, 100, 3080-3091, **2012**.

30. Shin SR., Bae H., Cha JM., Mun JY., Chen YC., Tekin H., Shin H., Farshchi S, Dokmeci MR., Tang S., Khademhosseini A., Carbon nanotube reinforced hybrid microgels as scaffold materials for cell encapsulation, *ACS Nano*, 6, 362-372, **2012**.