

Production of Polycaprolactone / Gelatin / Polydimethylsiloxane Hybrid Nanofibers with Different Morphologies as Potential Scaffolds for Tissue Engineering

Mahdieh Dehghan¹, Mohammad Khajeh Mehrizi², Hbib Nikukar³

1. Textile Engineering Department, Faculty of Engineering, Yazd University, Yazd, Iran. ORCID ID: 0000-0002-3140-0969

2. Textile Engineering Department, Faculty of Engineering, Yazd University, Yazd, Iran, Tel: +98-353 31232591, Email: mkhajeh@yazd.ac.ir. ORCID ID: 0000-0001-6339-7728

3. Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran. ORCID ID: 0000-0001-9225-6019

ABSTRACT

Background and Aim: Nowadays, research in the field of tissue engineering has increased widely. Scaffold production is important for regulation of the morphology of the tissues. The purpose of producing these scaffold is to make a uterine endometrial scaffold. Therefore, the fibers with different diameters and morphology were synthesized to produce an optimal scaffold.

Materials and Methods: In this study, electrospun hybrid fiber scaffolds made of polycaprolactone (PCL), gelatin (G) and polydimethylsiloxane (PDMS) with different optimal ratios and different morphologies were produced by electrospinning collector changing for tissue engineering applications. Physicochemical properties of fabricated scaffolds were evaluated using scanning electron microscopy, the immersion of scaffold samples, attenuated total reflectance Fourier transform infrared and tensile strength analysis. Cytotoxicity analysis of scaffolds and human foreskin fibroblasts on the scaffolds were assessed by 3-(4, 5-dimethylthiazoyl-2-yl) 2, 5-diphenyltetrazolium bromide assay. Proliferation and growth of the cells on the scaffolds were evaluated by hematoxylin-eosin staining.

Results: Layer-by-layer scaffold, cotton-like scaffold, mixed cell scaffold, flat scaffold and control sample showed reduced cell growth and proliferation. Therefore, layer-by-layer scaffold and cotton-like scaffolds are the best options for cell growth and proliferation. Also, the mechanical properties of layer-by-layer scaffold and cotton-like scaffolds were better than those of other scaffolds. The cotton-like scaffold was better than other scaffolds in terms of porosity and was suitable for cell penetration into the scaffold. Although layer-by-layer and cell-mixed scaffolds showed suitable cell penetration due to placement of the cells among the fibers.

Conclusion: The morphology and characteristics of the PCL / G / PDMS hybrid scaffolds are adjustable by inducing change in the electrospinning collector. The PCL/ G/ PDMS hybrid scaffolds characteristics showed that these scaffolds were suitable for tissue engineering applications especially engineering of elastic tissues.

Keywords: Scaffold morphology, Nanofibers, Fibroblasts, Tissue engineering, Electrospinning collector

Received: May 2, 2021

Accepted: Dec 20, 2021

How to cite the article: Mahdieh Dehghan, Mohammad Khajeh Mehrizi, Hbib Nikukar .Production of Polycaprolactone / Gelatin / Polydimethylsiloxane Hybrid Nanofibers with Different Morphologies as Potential Scaffolds for Tissue Engineering .SJ KU 2023;27(6): 37-53.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

تولید نانو الیاف هیبریدی پلی کاپرولاکتون / ژلاتین / پلی دی متیل سیلوکسان با مورفولوژی های مختلف به عنوان داربست های بالقوه برای مهندسی بافت

مهديه دهقان^۱، محمد خواجه مهریزی^۲، حبیب نیکوکار^۳

۱. فارغ التحصیل دکتری، دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه یزد، یزد، ایران، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۳۱۴۰-۰۹۶۹

۲. دانشیار، دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه یزد، یزد، ایران، پست الکترونیک: amkhajeh@yazd.ac.ir، تلفن: ۰۳۵-۳۱۲۳۲۵۹۱، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۶۳۳۹-۷۷۲۸

۰۰۰۰

۳. استادیار، گروه نانو پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۹۲۲۵-۶۰۱۹

چکیده

زمینه و هدف: امروزه پژوهش در زمینه‌ی مهندسی بافت به‌طور گسترده‌ای افزایش یافته است. تولید داربست با توجه به مورفولوژی بافت‌ها حائز اهمیت است. هدف از تولید این داربست‌ها ساخت داربست اندومتر رحم است؛ بنابراین تغییر در قطر فیبرهای سنتز شده جهت تولید داربست بهینه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، داربست‌های الیاف هیبریدی الکترورسی شده از پلی کاپرولاکتون (PCL)، ژلاتین (G) و پلی دی متیل سیلوکسان (PDMS) با نسبت‌های مختلف بهینه و با مورفولوژی‌های مختلف توسط تغییر جمع‌کننده الکترورسی جهت کاربردهای مهندسی بافت تولید شده است. خواص فیزیکی و شیمیایی داربست‌های ساختاری با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، غوطه‌وری نمونه‌های داربست، بازتاب کلی تبدیل فوریه فروسرخ (ATR-FTIR) و استحکام کششی مورد بررسی قرار گرفت. سمیت سلولی داربست‌ها و رشد فیبروبلاست‌های پوست ختنه انسان بر روی داربست‌ها با استفاده از MTT بررسی شد. رشد و تکثیر سلول‌ها روی داربست‌ها با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین (H&E) ارزیابی شدند.

یافته‌ها: داربست لایه به لایه، داربست پنبه مانند، داربست مخلوط با سلول، داربست مسطح و نمونه کنترل به ترتیب از نظر رشد و تکثیر سلول حالت کاهشی داشته است؛ بنابراین داربست لایه به لایه و داربست پنبه مانند بهترین گزینه جهت رشد و تکثیر سلول است. همچنین خواص مکانیکی داربست لایه به لایه و داربست پنبه مانند نسبت به داربست‌های دیگر بهتر است. تخلخل داربست پنبه مانند نسبت به بقیه داربست‌ها بهتر است و برای نفوذ سلول به داخل داربست مناسب است هر چند داربست لایه به لایه و داربست مخلوط با سلول به دلیل قرارگیری سلول بین الیاف نفوذ سلول در آن‌ها هم به‌خوبی صورت می‌گیرد.

نتیجه‌گیری: مورفولوژی و ویژگی‌های داربست هیبریدی PCL/ G/ PDMS با تغییر جمع‌کننده الکترورسی قابل تنظیم است. خصوصیات داربست‌های تولید شده از سه پلیمر PCL/ G/ PDMS نشان می‌دهد که این داربست‌ها می‌تواند جهت کاربردهای مهندسی بافت از جمله اندام‌های الاستیک مناسب باشد.

کلمات کلیدی: مورفولوژی داربست، نانو الیاف، فیبروبلاست، مهندسی بافت، جمع‌کننده الکترورسی

وصول مقاله: ۱۴۰۰/۲/۱۲ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۰/۹/۲۱ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۲۹

مقدمه

استراتژی‌های مهندسی بافت در بازسازی بافت پاتولوژیک با داربست‌های حمایتی و مولکول‌ها و سلول‌های بیولوژیکی بنا شده است. داربست‌های فعال بیولوژیکی بر اساس آنالوگ‌های ماتریس خارج سلولی (ECM) ساخته شده‌اند که سنتز بافت‌ها و اندام‌ها را ایجاد کرده‌اند (۱). ساختارهای نانو برای بسیاری از کاربردهای پزشکی مانند مهندسی بافت و بازسازی جذاب هستند (۲).

ساختارهای نانو خواص مکانیکی، زیست سازگاری و تجزیه بیولوژیکی مشابه ECM داشته و تمایل به چسبندگی و تکثیر سلول‌ها برای ترمیم بافت‌های آسیب دیده دارد. ساختارهای نانو مواد بیولوژیک ترکیبی به عنوان ساختارهای مؤثر برای مهندسی بافت شناخته شده‌اند (۳). معیارهای انتخاب مواد بیولوژیکی بر اساس وزن مولکولی، حلالیت، شکل و ساختار، آبگریزی، روانکاری، انرژی سطح، تخریب جذب آب و مکانیسم فرسایش است (۱) که پلیمرها در زمینه مواد بیولوژیکی به طور قابل توجهی در ساخت داربست مهندسی بافت مورد توجه قرار گرفته‌اند (۴). داربست‌های پلیمری به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، تجزیه بیولوژیکی، زیست سازگاری، تخلخل زیاد با اندازه منافذ بسیار کوچک، خواص مکانیکی و بیولوژیکی مناسب برای کاربردهای مهندسی بافت مناسب هستند.

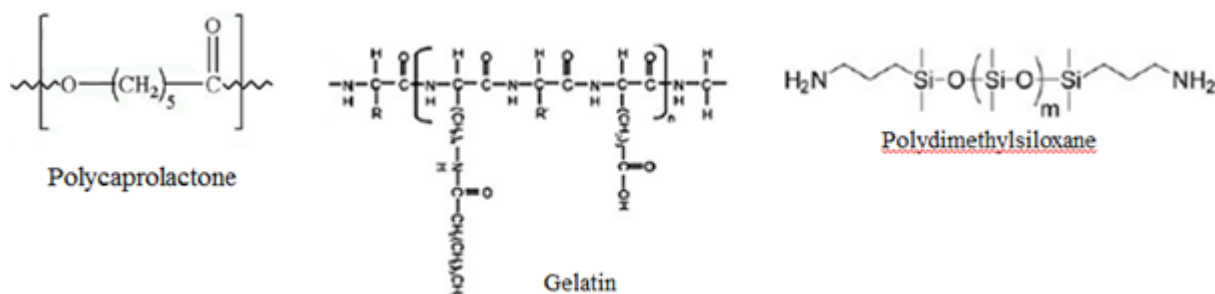
پلیمرهای الاستومر مصنوعی اغلب فاقد زیست سازگاری مناسب و پلیمرهای طبیعی فاقد خصوصیات مکانیکی لازم برای مهندسی بافت هستند؛ بنابراین ترکیب مواد طبیعی و مصنوعی برای ایجاد داربست‌های کامپوزیت می‌تواند این چالش‌ها را حل کند. ساختارهای ترکیبی پروتئین‌ها و پلیمرهای مصنوعی دارای کشش مناسب در ساختارهای مهندسی بافت هستند (۵). پلی کاپرولاکتون (Polycaprolactone, PCL) یک پلیمر بیولوژیکی خطی آلیفاتیک است (۶) و به دلیل زیست سازگاری، حلالیت، توانایی حفظ خواص مکانیکی و فیزیکی و نفوذپذیری سلول و دارو برای کاربردهای

مهندسی بافت مورد توجه قرار گرفته است (۷). وقتی نیرویی به PCL وارد می‌شود، در برابر نیروهای برشی و فشار خطی مقاومت می‌کند و وقتی نیرو برداشته می‌شود، به حالت اولیه خود برمی‌گردد و از خاصیت ارتجاعی خوبی برخوردار است (۸)؛ بنابراین، پلیمر مصنوعی PCL کاندیدای بالقوه‌ای برای کاربردهای مهندسی بافت است (۹). طی سال‌های

گذشته به ترکیب مواد زیست فعال و PCL برای مهندسی بافت و داروهای درمانی از طریق ترکیب با اسید پلی لاکتیک (۱۰)، فسفات (۱۱)، آلزینات (۱۲)، کلاژن (۱۳) توجه زیادی شده است و داربست‌های PCL، ژلاتین (۱۴)، کیتوزان (۱۵) شخصیت‌های خاصی را نشان دادند. ژلاتین یک بیوپلیمر طبیعی است که از هیدرولیز کنترل شده کلاژن ساخته می‌شود و یکی از اجزای اصلی ECM بومی است. ژلاتین دارای خواص بیولوژیکی، تجزیه‌پذیر و زیست سازگاری است و از نظر تجاری کم هزینه است و کاربردهای زیادی در داروسازی و پزشکی دارد. ژلاتین سیگنال‌های اطلاعاتی از اسید آرژنین-گلیسین-آسپارتیک (RGD) را که باعث چسبندگی، تکثیر و تمایز سلول می‌شود، حفظ می‌کند؛ بنابراین، ژلاتین را می‌توان با پلیمرهای بیولوژیکی مخلوط کرد و داربست‌های مهندسی بافت را ساخت. همچنین، ژلاتین باعث افزایش یکنواختی جذب در الیاف نانو می‌شود و این خاصیت ژلاتین ممکن است برای یکنواختی چسبندگی سلول مفید باشد (۱۶). پلی دی متیل سیلوکسان (Polydimethylsiloxane, PDMS) یک پلیمر ویسکوالاستیک است، به این معنی که در زمان جریان طولانی (یا دمای بالا)، مانند یک مایع چسبناک، شبیه عسل عمل می‌کند. با این حال، در زمان جریان کوتاه (یا دمای پایین)، مانند یک ماده جامد الاستیک، شبیه لاستیک عمل می‌کند. خاصیت الاستیسیته نوعی کشش غیرخطی است که در بین پلیمرهای غیرکریستالی رایج است (۱۷). خصوصیات مکانیکی PDMS این پلیمر را قادر می‌سازد تا با سطح متنوعی سازگار شود. از آنجا که این خصوصیات تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارند، تنظیم این پلیمر

عنوان بستری برای کشت سلول‌های عضلانی و کاشت بیشتر برای مهندسی بافت عضلانی استفاده شود (۲۳). داربست ماکرو متخلخل PDMS می‌تواند به عنوان یک ماده امیدوارکننده برای پانسمان بافت پوست بدون سلول و با سلول عمل کند (۲۴) خواص مکانیکی پیشرفته، ویژگی‌های حافظه شکل و زیست سازگاری این الیاف PDMS/ PCL به آن‌ها اجازه می‌دهد تا گزینه‌های امیدوارکننده‌ای برای بازسازی بافت شوند (۲۵).

در این مطالعه، داربست‌های الیافی ترکیبی PCL/ G/ PDMS با استفاده از الکتروریسی با مورفولوژی‌های مختلف با تغییر جمع کننده الکتروریسی ساخته شدند. سپس مورفولوژی، تخلخل، خصوصیات مکانیکی و زیست سازگاری داربست‌های مورد بررسی قرار گرفت. رشد، تکثیر و مورفولوژی سلول‌های فیبروبلاست روی داربست‌ها نیز ارزیابی شد تا بهترین مورفولوژی جهت مهندسی بافت رحم تعیین گردد. بافت رحم باید از استحکام و الاستیسیته خوبی برخوردار باشد جنس بافت اصلی رحم کلاژن است. کلاژن پلیمری هست که هم خواص مکانیکی خوبی دارد و هم جهت تکثیر و رشد سلول مناسب است؛ اما به دلیل هزینه بسیار زیاد کلاژن مقرون به صرفه نیست؛ بنابراین از پلیمر مصنوعی PCL جهت برآورده کردن استحکام بالا، از پلیمر مصنوعی PDMS به دلیل خواص الاستیک خوب و از پلیمر ژلاتین جهت تکثیر و رشد بهتر سلول استفاده شد. فرمول ساختاری سه پلیمر در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱. فرمول ساختاری سه پلیمر پلی کاپرولاکتون، ژلاتین و پلی دی متیل سیلوکسان.

منحصر به فرد نسبتاً آسان است (۱۸). طور کلی، PDMS شبیه لاستیک به شکل جامد است. به طور گسترده‌ای شناخته شده است که به راحتی قابل کشش، خم شدن و فشرده سازی در تمام جهات است. بسته به برنامه و فیلد، کاربر می‌تواند خواص را بر اساس خواسته تنظیم کند. شبکه PDMS می‌تواند به عنوان بستر برای رشد سلول‌ها مورد استفاده قرار گیرد. متفاوت بودن تراکم پیوند عرضی در شبکه پلیمری باعث می‌شود که خصوصیات مکانیکی در محدوده‌ای مشابه بافت‌های زنده تنظیم شود. داربست‌های مهندسی بافت باید به گونه‌ای طراحی شوند که از ویژگی‌های مکانیکی بافت‌ها برخوردار باشند و خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی را برای زندگی خوب و هدایت سلول‌ها به بافت‌های عملکردی از طریق مهاجرت، چسبندگی و تمایز سلول ایجاد کنند (۱۹). الکتروریسی یک تکنیک همه کاره به عنوان یک فناوری قدرتمند برای تولید الیاف نانو با ترکیبات، ساختارها و خواص متنوع است (۲۰). همچنین، الکتروریسی به عنوان پتانسیل بالای آن برای انواع کاربردها از جمله داربست‌های زیست پزشکی، به عنوان یک روش تولید الیاف متنوع در نظر گرفته شده است (۲۱). بسته به نوع مواد و کاربرد داربست، نانوالیاف می‌توانند سطح مورد نیاز برای فعالیت سلول و خواص مکانیکی و بیولوژیکی قابل تنظیم را فراهم کنند (۲۲).

داربست نانوالیاف کامپوزیتی PCL/ Gelatin با روش الکتروریسی می‌تواند باعث سازگاری زیستی و تکثیر سلول شد (۱۶). همچنین، نانوالیاف PCL/ Gelatin می‌تواند به

مواد و روش‌ها

PCL، PDMS، G، (4،5-dimethylthiazoyl-2-yl)-3-MTT، 2،5-diphenyltetrazolium bromide و دی متیل سولفو کسید (DMSO) از Sigma-Aldrich® و تری فلورو استیک اسید (TFA) (C₂H₃FO₂)، گلو تار آلدئید و هماتو کسین-اٹوزین (H&E) از شرکت Merck® خریداری شدند. Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)، سرم جنین گاو (FBS) از Gibco®، نمک بافر فسفات (pH = 7.4، PBS)، اتیلن دیامین تتر استیک اسید (تریپسین / EDTA) از Bio-Idea® خریداری شدند. سلول‌های فیرو بلاست انسانی (فیرو بلاست پوست ختنه انسان یزد؛ YhFF # 8؛ پاساژ ۲۰) از مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی پژوهشکده علوم تولید مثل یزد گرفته شد. PCL با ۱۰ درصد وزنی، G با ۵ درصد وزنی و PDMS با ۷ درصد وزنی با همزن مغناطیسی در ۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق (۱ ± ۲۸ درجه سانتی گراد) در TFA حل شد. پس از تهیه محلول پلیمری، درصد پلیمرهای PCL: G: PDMS در حلال TFA با نرم افزار RSM بهینه شدند (۲۶، ۲۷) و بهترین درصد به دست آمده که در این مطالعه از آن استفاده شد PCL با ۳۰ درصد، ژلاتین با ۵۰ درصد و PDMS با ۲۰ درصد حجمی بود (C3G5D2). پارامترهای مختلف الکترو ریزی مانند ولتاژ اعمال شده، میزان تغذیه، کالیبر سوزن و فاصله کلکتور برای تولید نانوالیاف هیبریدی نیز بهینه شدند. شرایط مطلوب الکترو ریزی، با سرعت تغذیه محلول پلیمر در ۰/۱ میلی لیتر در ساعت، ولتاژ ۲۲ کیلو ولت و نوک سوزن تا فاصله جمع کننده ۱۶ سانتی متر به دست آمد. ۴ نوع جمع کننده ثابت صفحه‌ای جهت تولید داربست مسطح، سوراخ دار جهت تولید داربست لایه به لایه، زاویه دار حاوی سوزن جهت تولید داربست پنبه مانند و مسطح جهت تولید داربست

مخلوط با سلول جهت تغییر مورفولوژی نانو الیاف استفاده گردید.

جمع کننده های الکترو ریزی:

داربست مسطح دارای جمع کننده صفحه‌ای، داربست دارای لایه به لایه جمع کننده سوراخ دار با کاور اسلیپ حلقه‌ای، داربست پنبه مانند دارای جمع کننده زاویه دار حاوی سوزن و داربست مخلوط با سلول دارای جمع کننده صفحه‌ای است.

جمع کننده صفحه‌ای که یک صفحه مسطح رسانا است. جمع کننده سوراخ دار همان جمع کننده صفحه‌ای رسانا است با درج سوراخ به قطر یک سانت روی آن و کاور اسلیپ مربوطه حلقه نارسانا که قطر حلقه مساوی قطر سوراخ است و موقع الکترو ریزی حلقه روی سوراخ قرار می گیرد تا الیاف روی حلقه جمع آوری شود. موقع کشت سلول یک لایه داربست و سپس سلول روی داربست ریخته می شود و بعد مجدداً داربست و بعد سلول و به همین ترتیب ادامه می یابد تا داربست لایه به لایه به وجود بیاید. جمع کننده زاویه دار حاوی سوزن یک صفحه زاویه دار نارسانا هست که سوزن‌های رسانا در آن تعبیه شده و الیاف بین سوزن‌های رسانا به صورت پنبه مانند جمع می شوند. داربست‌های حاوی سلول از همان جمع کننده صفحه‌ای استفاده شده با این تفاوت که حین الکترو ریزی الیاف، محیط کشت حاوی سلول هم در حین تولید الیاف روی الیاف اسپری می شود و به این ترتیب داربست حاوی سلول تولید می شود. برای تولید الیاف حاوی سلول شرایط محیط تقریباً مشابه شرایط انکوباتور ایجاد شد.

تبدیل فوریه فرو سرخ (ART-FTIR):

طیف ATR-FTIR از درصد اختلاط سه پلیمر که با استفاده از ترمونیکول ATR-FTIR ثبت شده بودند طیف وسیعی از موج‌های (Equinox 55, Bruker, Germany) از ۴۰۰۰ تا ۶۰۰ cm⁻¹ بود. طیف PCL ATR-FTIR (C)،

میلی متر بریده شد. حداقل شش نمونه برای هر نوع نانو الیاف الکتروریسی مورد آزمایش قرار گرفت.
کشت سلول:

فیروبلست ها در DMEM با ۱۰٪ FBS و ۱٪ پنی سیلین / استرپتومایسین در پتری دیش کشت بافت (TPP، Biochrom AG، آلمان) در انکوباتور با رطوبت استاندارد در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵٪ غلظت دی اکسید کربن رشد کردند. در پیوستگی سلول ۸۰٪ (confluency)، سلول ها با PBS شسته شدند، با محلول trypsin/ EDTA با ۰/۰۲ / ۰/۰۵ درصد (V/ V) جداسازی شدند و در فالكون با روش سانتریفیوژ در سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه رسوب کردند. محیط کشت تازه به رسوب سلولی به دست آمده پس از سانتریفیوژ اضافه شد و تعداد سلول شمارش شدند.

پس از استریل داربست ها در زیر نور UV به مدت ۳۰ دقیقه، نانو الیاف در ۲۴ چاهک قرار گرفتند، سلول های فیروبلست با تراکم ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک کشت شدند. سلول ها در انکوباتور رطوبتی در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با ۵٪ CO2 نگهداری و محیط کشت ها هر ۳ روز عوض شدند. نمونه ها پس از ۱، ۳ و ۷ روز برای رنگ آمیزی H&E جمع آوری شدند. سپس محیط کشت از چاهک ها خارج و گلو تار آل دئید ۲/۵ درصد به چاهک ها جهت تثبیت سلول ها روی داربست ها اضافه شد و چاهک ها برای ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. چسبندگی سلولی در داربست های کامپوزیت PCL / G / PDMS توسط SEM مورد بررسی قرار گرفت. سلول های فیروبلست با تراکم ۱۰،۰۰۰ سلول / چاه در داربست کشت شدند. سلول ها در یک انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با غلظت ۵ درصد CO2 قرار گرفتند. سپس محیط کشت از چاهک ها خارج و گلو تار آل دئید ۲/۵ درصد به چاهک ها جهت تثبیت سلول ها روی داربست ها اضافه شد و چاهک ها برای ۲ ساعت در دمای ۴ درجه

Gelatin (Gel)، PCL30%/ Gel50%
PDMS20% / (C3G5D2) و PCL70%/ PDMS30%
(C7D3) تست شد.

مورفولوژی داربست ها:

مورفولوژی نانو الیاف کامپوزیت با SEM (ZEISS®) DSM 960A Oberkochen، آلمان) با ولتاژ شتاب دهنده ۸ کیلو ولت بررسی شده است. قبل از تصویربرداری، داربست ها با طلا روکش شدند، قطر الیاف نانو از تصاویر SEM با استفاده از یک نرم افزار تحلیل تصویر (ImageJ, version 2018) محاسبه شد. قطر متوسط حداقل ۱۰۰ نانو الیاف در هر تصویر (سه تصویر تصادفی برای هر نمونه) برای هر نمونه تعیین شد و به عنوان میانگین انحراف استاندارد (SD) گزارش شد.

تخلخل:

تخلخل کل نانو الیاف هیبریدی با استفاده از روش جابجایی مایع اندازه گیری شد (۲۹). یک سیلندر حاوی حجم از پیش تعیین شده اتانول (V1) برای غوطه وری نمونه ها استفاده شد. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در اتانول ۹۶٪ به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر نگهداری شدند تا امکان نفوذ به منافذ وجود داشته باشد. سپس حجم کل اتانول با نمونه غوطه ور اندازه گیری شد (V2). داربست ها از سیلندر خارج شده و حجم باقیمانده اتانول اندازه گیری شد (V3). درصد تخلخل (ε) با تقسیم حجم منافذ (V1 - V3) به حجم کل نمونه (V2 - V3) محاسبه شد (۳۰).

$$\varepsilon = [(V1 - V3)/(V2 - V3)] \times 100$$

خواص مکانیکی:

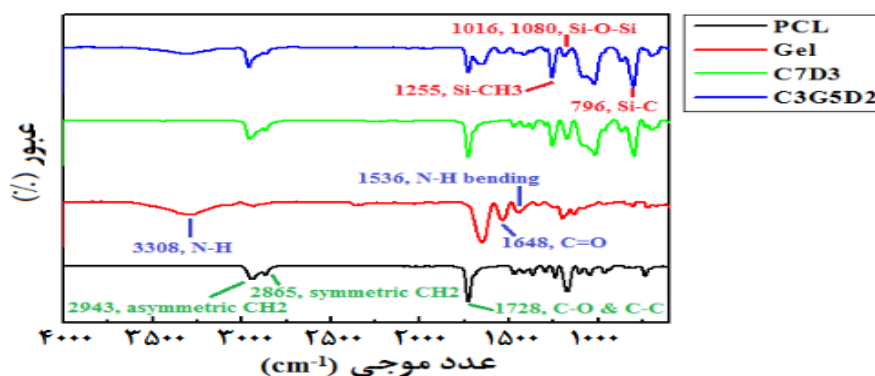
کشش داربست های نانو الیافی با استفاده از یک دستگاه تست یک طرفه Tabletop (دستگاه تست Instron SANTAM-STM-20) تعیین شد. لود سل N20 برای تست های کششی ۳ میلی متر در دقیقه در شرایط محیط استفاده می شود. نمونه های داربست در ابعاد ۱۰ × ۳۰

تبدیل فوریه فروسرخ (ART-FTIR):

شکل ۲ FT-IR داربست‌های هیبریدی PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی‌های مختلف را نشان می‌دهد. به علت کشش CH_2 نامتقارن، کشش CH_2 متقارن، کشش کربونیل، کشش CO و CC ، کشش COC نامتقارن و کشش COC متقارن چندین باند مشخص PCL در 2943 cm^{-1} ، 2865 cm^{-1} ، 2845 cm^{-1} ، 1728 cm^{-1} ، 1700 cm^{-1} ، 1255 cm^{-1} و 1016 cm^{-1} به ترتیب مشاهده شد. برای کشش NH پیوند آمید، کشش $\text{C}=\text{O}$ ، باندهای NH به ترتیب در 3308 cm^{-1} ، 1648 cm^{-1} و 1536 cm^{-1} مشاهده شد. باندهای مشخصه PDMS در داربست‌ها در 1255 cm^{-1} ، 1016 cm^{-1} و 796 cm^{-1} (ارتعاش کششی Si-C) (ارتعاش کششی Si-O-Si)، 1255 cm^{-1} و 1016 cm^{-1} (ارتعاش کششی Si-CH₃) مشاهده شد (۳۱). تمام پیک‌های موجود در طیف FTIR پلیمرهای PCL، G، PDMS در طیف FTIR نانو الیاف PCL/ G/ PDMS مشاهده شد. همان قله‌های جذب داربست PCL/ G/ PDMS نشان می‌دهد که PCL، ژلاتین و PDMS ساختار مولکولی آن‌ها را در مخلوط‌ها تغییر نمی‌دهد.

سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از آن با PBS شسته شدند و با الکل ۷۰٪، ۹۶٪ و ۱۰۰٪ به مدت ۵ دقیقه خشک شدند. داربست‌ها با طلا پوشانده شده و توسط SEM مورد بررسی قرار گرفتند. قابلیت زنده ماندن سلول: میزان زنده ماندن سلول‌های فیروبلاست کشت شده روی داربست‌ها با استفاده از MTT در روزهای ۱، ۵ و ۷ بررسی شدند. سلول‌ها در ۹۶ چاهک با چگالی سلول‌های ۱۰۰۰۰ کشت شدند و در انکوباتور رطوبتی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵٪ CO_2 نگهداری شدند. ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول MTT (۵ میلی گرم در میلی لیتر) به هر چاهک به محیط کشت اضافه شد. پس از گذاشتن در انکوباتور به مدت ۴ ساعت، محلول MTT برداشته و هم حجم محلول MTT، ایزوپروپانول و هیدروکلریک اسید ۰/۱ نرمال به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور قرار گرفت. میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه خوانش ELISA در طول موج ۵۷۰ - ۶۳۰ نانومتر انجام شد (EcAustria, Asys Hitch, Expert 96).

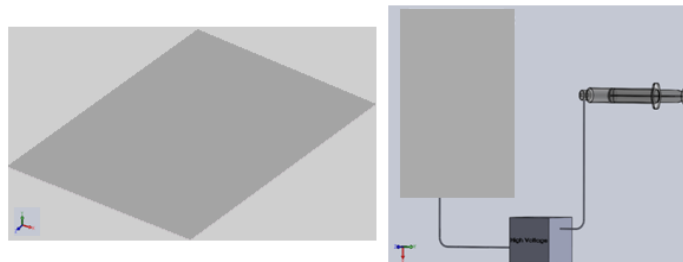
یافته‌ها



شکل ۲. طیف‌های ATR-FTIR داربست‌های الیاف PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی‌های مختلف.

مورفولوژی داربست‌های هیبریدی: جمع کننده سوراخ دار با کاور اسلیپ حلقه ای (شکل ۴)، داربست پنبه مانند دارای جمع کننده زاویه دار حاوی سوزن (شکل ۵) و داربست مخلوط با سلول دارای جمع کننده صفحه‌ای (شکل ۶) است.

داربست PCL/ G/ PDMS با استفاده از الکتروریسی با مورفولوژی‌های مختلف ساخته شد. داربست مسطح دارای جمع کننده صفحه‌ای (شکل ۳)، داربست دارای لایه به لایه

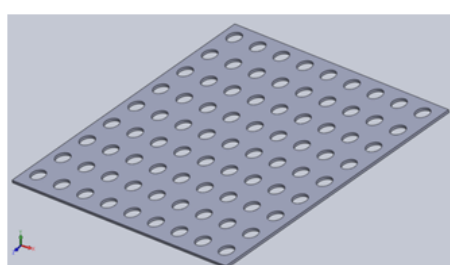


جمع کننده صفحه ای

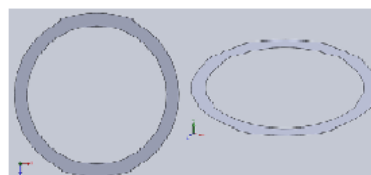
قرار گیری جمع کننده

روی دستگاه الکتروریسی

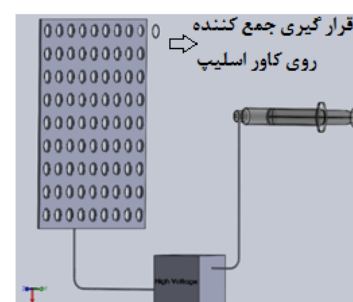
شکل ۳. جمع کننده صفحه ای



جمع کننده سوراخ دار



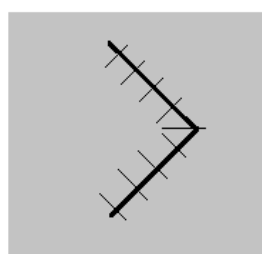
کاور اسلیپ حلقه ای



قرار گیری جمع کننده

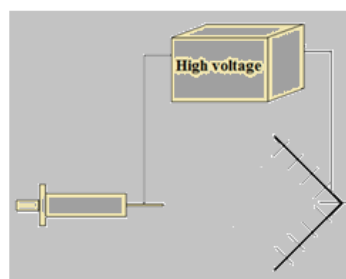
روی دستگاه الکتروریسی

شکل ۴. جمع کننده سوراخ دار با کاور اسلیپ حلقه ای



جمع کننده زاویه دار

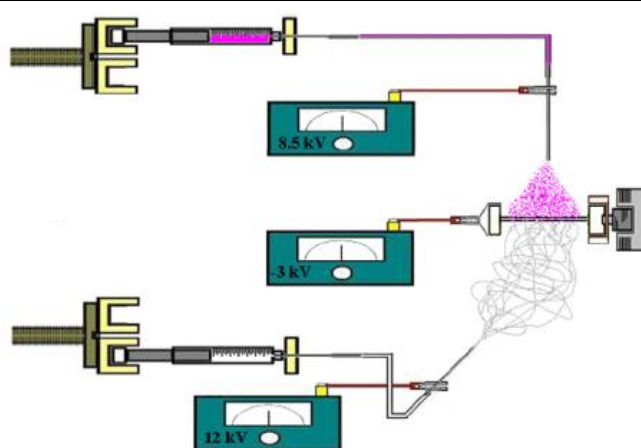
با سوزن



قرار گیری جمع کننده

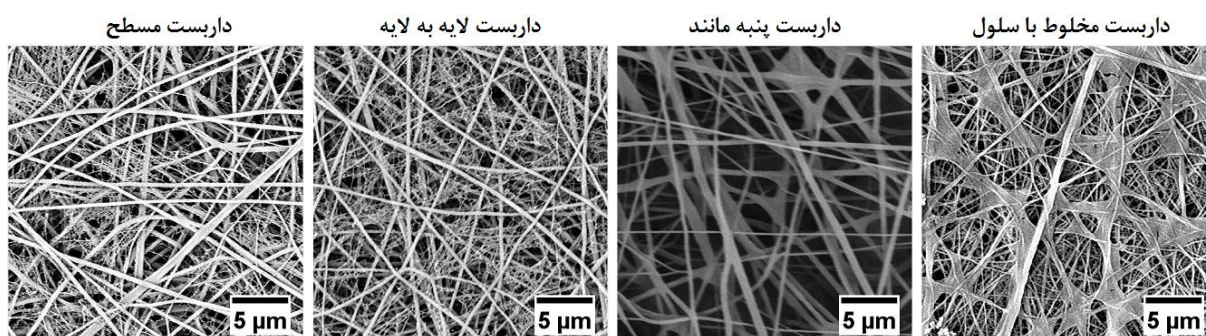
روی دستگاه الکتروریسی

شکل ۵. جمع کننده زاویه دار حاوی سوزن



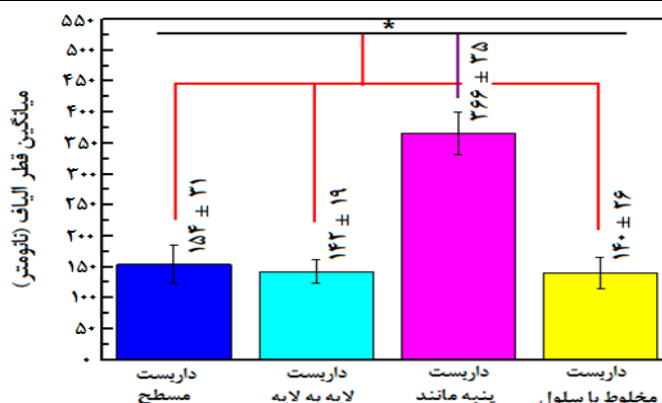
شکل ۶. شماتیک برای نشان دادن روند تولید داربست مخلوط با سلول (۲۸)

سه تصویر در مکان‌های مختلف داربست گرفته شده است. در هر تصویر صد قطر اندازه‌گیری و میانگین قطر آنالیز شد. در شکل ۷ تصاویر SEM از مورفولوژی متفاوت از داربست‌ها نشان داده شده است.



شکل ۷. تصاویر SEM از داربست‌های ترکیبی PCL/ G/ PDM با مورفولوژی‌های مختلف الکترورسی شده.

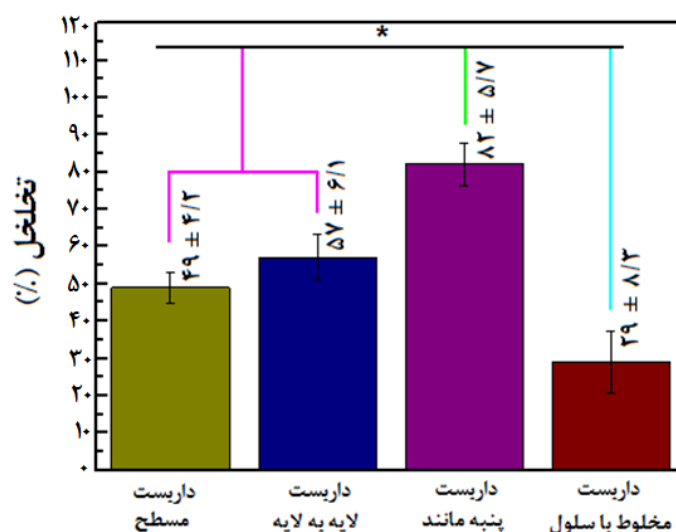
قطر متوسط الیاف PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی‌های مختلف در شکل ۸ نشان داده شده است ($P < 0.05$). همان‌طوری که از نمودار مشخص است داربست پنبه مانند حاوی بالاترین قطر الیاف است.



شکل ۸. نمودارهای قطر الیاف PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین ($P < 0.05$) $\pm$ SD بیان شده است.

تخلخل داربست‌های هیبریدی:

تخلخل الیاف هیبریدی با استفاده از روش جابجایی مایع اندازه‌گیری شد. شکل ۹ نتایج تخلخل الیاف با مورفولوژی‌های مختلف را نشان می‌دهد.



شکل ۹. نمودار تخلخل الیاف PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین ($P < 0.05$) $\pm$ SD بیان شده است.

داربست مخلوط با سلول بعد از داربست پنبه مانند به ترتیب دارای بیشترین تخلخل می‌باشند. هرچه تخلخل داربست بیشتر باشد نفوذ سلول داخل داربست راحت‌تر صورت می‌گیرد. در داربست مخلوط با سلول به دلیل قرارگیری سلول بین داربست تخلخل کاهش یافته است و نفوذ سلول هم که به‌خوبی صورت گرفته است. داربست لایه به لایه هم

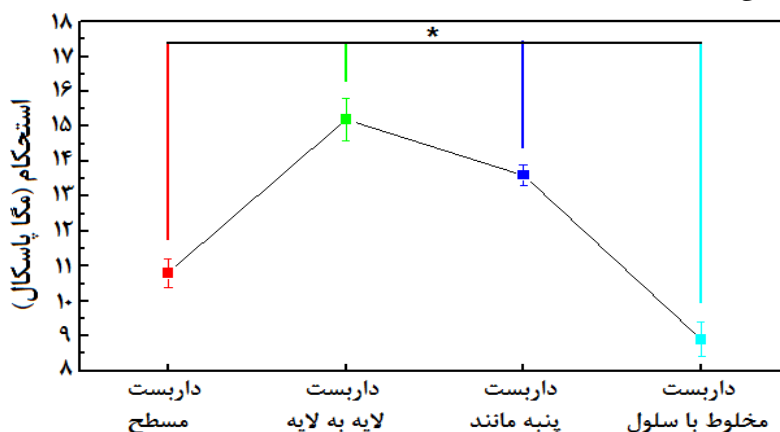
علل تخلخل در داربست ممکن است به علت تبخیر سریع TFA و جامد سازی سریع PCL/ G/ PDMS در طی فرآیند تولید الیاف باشد. همان‌طور که در شکل ۸ نشان داده شده است، تخلخل داربست پنبه مانند از بقیه داربست‌ها بیشتر است و این به دلیل قطر بیشتر الیاف در این نوع داربست است. داربست لایه به لایه، داربست مسطح و

دلیل قرارگیری چند داربست روی هم و داربست پنبه مانند به دلیل زیاد بودن قطر الیاف نسبت به دو داربست دیگر دارای استحکام و ازدیاد طول بالاتری می باشند. داربست مخلوط با سلول به دلیل قرارگیری محیط کشت در حین الکترورسی استحکام و ازدیاد طول آن کاهش می یابد. در شکل ۱۲ مشخص است که مدول یانگ داربست لایه به لایه، داربست پنبه مانند، داربست مسطح و داربست مخلوط با سلول به ترتیب افزایش می یابد.

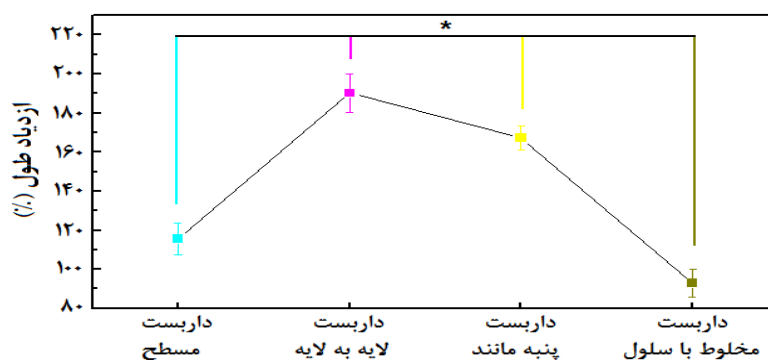
به دلیل اینکه سلول بین هر لایه داربست قرار می گیرد نفوذ سلول در این داربست ایجاد می شود.

خواص مکانیکی داربست های هیبریدی

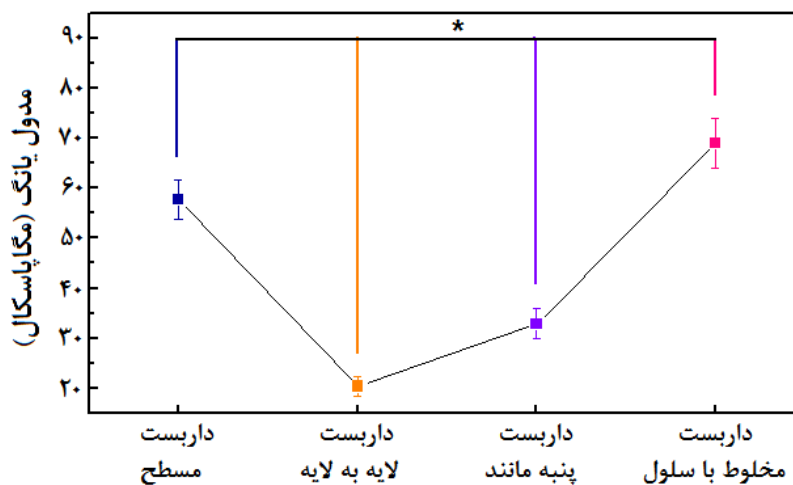
شکل ۱۰ استحکام کششی نهایی، شکل ۱۱ کرنش در هنگام شکست و شکل ۱۲ مدول یانگ داربست ها با مورفولوژی های مختلف را نشان می دهد. در شکل ۱۰ و ۱۱ مشخص است که استحکام و ازدیاد طول داربست لایه به لایه، داربست پنبه مانند، داربست مسطح و داربست مخلوط با سلول به ترتیب کاهش می یابد. داربست لایه به لایه به



شکل ۱۰. استحکام کششی الیاف PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی های مختلف. نتایج به صورت میانگین ($P < 0.05$) $\pm$ SD بیان شده است.



شکل ۱۱. ازدیاد طول الیاف PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی های مختلف. نتایج به صورت میانگین ($P < 0.05$) $\pm$ SD بیان شده است.

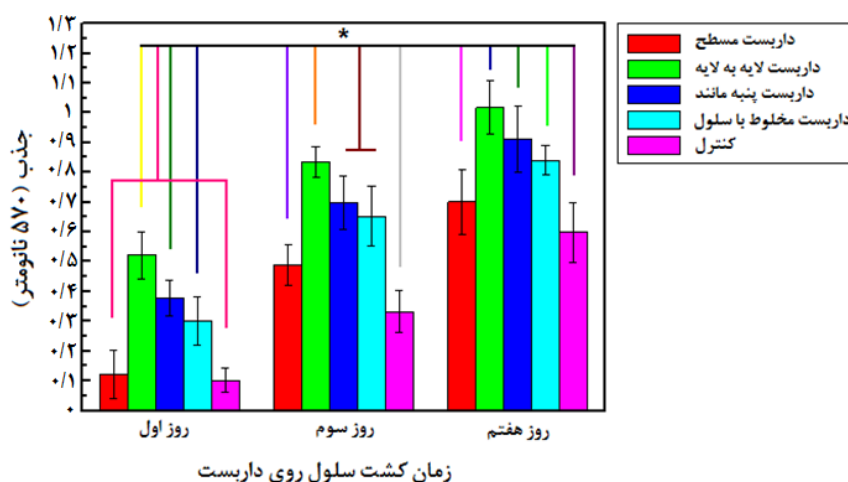


شکل ۱۲. مدول ینگ الیاف PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین $\pm$ SD ($P < 0.05$) بیان شده است.

حاوی سلول‌ها در ۱، ۵ و ۷ روز انجام شد. کاور اسلیپ‌های شیشه‌ای فاقد داربست به عنوان شاهد استفاده شد (شکل ۱۳).

زنده ماندن و تکثیر سلولی در داربست‌های PCL/ G/ PDMS:

به منظور ارزیابی عدم سمیت داربست‌ها و تعامل سلول‌های فیبروبلاست با داربست‌های ترکیبی PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی‌های مختلف، آزمایش MTT روی داربست‌های



شکل ۱۳. زنده ماندن و تکثیر سلولی در داربست‌های PCL/ G/ PDMS و نمونه کنترل (کاور اسلیپ شیشه‌ای). نتایج به صورت میانگین $\pm$ SD ($P < 0.05$) بیان شده است.

و پنبه مانند کمتر است. داربست مسطح نسبت به کنترل رشد و تکثیر بهتری دارد. سنجش MTT برای ارزیابی سازگاری سلولی با داربست‌ها و مقایسه آن با نمونه شاهد نشان داد که داربست‌های نانو هیبریدی سمی نبودند.

اتصال، گسترش سلول‌های فیروبلست روی داربست‌های PCL/ G/ PDMS با مورفولوژی‌های مختلف:

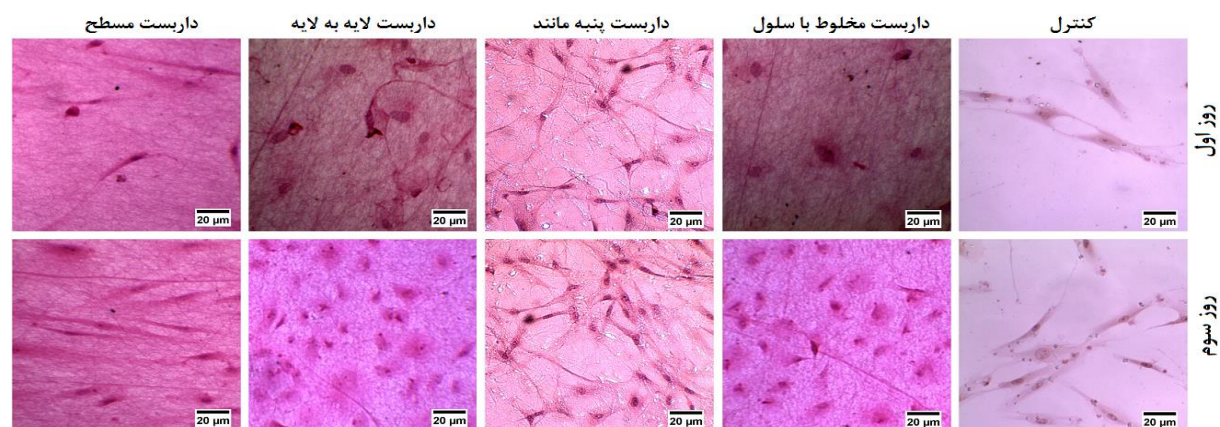
پیوستگی، تکثیر و رشد سلول‌ها بر روی داربست‌ها با مورفولوژی‌های مختلف با رنگ آمیزی H&E پس از ۱ و ۳ روز مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که از شکل ۱۴ مشخص است در تمام داربست‌ها با مورفولوژی‌های مختلف چسبندگی و تکثیر سلولی رخ داده است.

همان‌طور که در میکروگراف‌های SEM نشان داده شده است (شکل ۱۵)، فیروبلست‌ها پس از ۵ روز روی داربست‌های هیبریدی چسبیده و رشد کرده‌اند.

مقایسه پارامترهای اندازه‌گیری شده در مقاله با پارامترهای مقاله‌های مشابه در جدول ۱ آمده است.

در روز اول بعد از کشت سلول روی داربست، سازگاری سلولی با داربست در ۵۷۰ جذب (میزان رنگ تولید شده با درصد جذب و تعداد سلول‌هایی که از نظر متابولیک فعال هستند) (سلول‌های زنده) رابطه‌ی مستقیم دارد) تأیید شده بود و داربست لایه به لایه و داربست پنبه مانند باعث افزایش تکثیر سلولی در داربست‌ها شده است و درصد جذب در طول موج ۵۷۰ افزایش یافته است.

درصد افزایش تکثیر سلولی در مقابل غلظت ترکیب (جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر) در داربست‌های لایه به لایه به دلیل قرارگیری سلول بین داربست‌ها و نفوذ بهتر سلول است. همچنین داربست پنبه مانند به دلیل تخلخل زیاد و نفوذ بهتر سلول رشد و تکثیر سلولی روی داربست و همچنین درصد جذب در طول موج ۵۷۰ به خوبی صورت می‌گیرد. داربست مخلوط با سلول علیرغم نفوذ خوب سلول چون سلول‌ها در معرض ولتاژ قرار می‌گیرند رشد و تکثیر سلول‌ها و درصد جذب در طول موج ۵۷۰ از دو داربست لایه به لایه



شکل ۱۴. رنگ آمیزی H&E سلول‌های فیروبلست روی داربست‌ها با مورفولوژی‌های مختلف



شکل ۱۵. تصاویر SEM سلول‌های فیروبلست روی داربست‌ها با مورفولوژی‌های مختلف

جدول ۱. مقایسه پارامترهای اندازه‌گیری شده در مقاله با پارامترهای مقاله‌های مشابه

داربست مسطح	قطر (nm)	تخلخل (%)	استحکام (Mpa)	ازدیاد طول (%)	تکثیر سلولی (درصد جذب)
الیاف PCL60/ Gel40 (۱۶)	۱۵۰	-	-	-	۰/۷۴
الیاف PCL50/ Gel50 (۲۳)	۲۲۰	-	۵۰	۱۱۰	-
الیاف PCL70/ PDMS30 (۲۵)	۶۲۶	-	۱۱	۳۰۰	۰/۸
الیاف PCL90/ Gel10 (۳۱)	۴۷۰	۶۸	-	-	۰/۷
الیاف PCL70/ Gel70 (۳۲)	۲۲۰	۱۰۰	۱	۱۸۰	۱
الیاف PCL50/ Gel50 (مقاله حاضر)	۱۵۴	۴۹	۱۰/۸	۹۰	۰/۷

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد با توجه به خواص فیزیکوشیمیایی داربست‌ها، این داربست‌ها با توجه به خصوصیات بافت می‌تواند جهت مهندسی بافت مناسب باشد. در مطالعه حاضر قله‌های جذب داربست‌های PCL/ PDMS نشان می‌دهد که ساختار مولکولی PCL، G و PDMS در ترکیب PCL/ G/ PDMS تغییر نکرده است (۳۳). جهت بررسی قطر الیاف داربست پنبه مانند حاوی بالاترین قطر الیاف است. علل تخلخل در داربست ممکن است به علت تبخیر سریع TFA و جامد سازی سریع PCL/ G/ PDMS در طی فرآیند تولید الیاف باشد. قطر

بیشتر الیاف داربست پنبه مانند باعث افزایش تخلخل نسبت به سایر داربست‌ها شده است. تخلخل بیشتر داربست باعث نفوذ بهتر سلول به داخل داربست می‌شود. قرارگیری سلول بین داربست مخلوط با سلول باعث کاهش تخلخل و نفوذ بهتر سلول شده است. در داربست لایه به لایه، سلول بین هر لایه داربست قرار و نفوذ سلول در داربست صورت می‌گیرد. داربست‌های متخلخل برای ترمیم بافت باید به اندازه کافی قوی باشد که در هنگام جراحی و رشد بافت‌ها در برابر نیروها مقاومت کند (۳۲). خصوصیات مکانیکی داربست‌ها با استفاده از الکتروریسی به مواد شیمیایی و مورفولوژی شیمیایی نانو الیاف بستگی دارد (۲۵). PCL و PDMS از

الیاف ترکیبی PCL/ G/ PDMS برای تأثیر آن‌ها بر رشد سلول، تکثیر و مورفولوژی آن‌ها برای داربست‌های بالقوه برای مهندسی بافت بررسی شد. نتایج نشان داده است که خصوصیات مکانیکی، ساختاری و مورفولوژی داربست‌های PCL/ G/ PDMS از جمله عوامل اصلی رشد و تکثیر سلول در داربست‌ها هستند. داربست لایه به لایه و داربست پنبه مانند از نظر خواص مکانیکی از داربست مسطح و داربست حاوی سلول بهتر می‌باشند. در تمام داربست‌ها با توجه به پلیمرهای انتخابی، سلول‌های موجود به طور گسترده‌ای به تمام سطح داربست‌ها متصل شده و به خوبی گسترش می‌یابند و در مقایسه با نمونه کنترل رشد و تکثیر بهتری دارند.

با توجه به مورفولوژی، خواص مکانیکی، زیست سازگاری و تخلخل داربست‌ها، این داربست‌ها ممکن است هم برای برنامه‌های مهندسی بافت از جمله اندام‌های الاستیک مانند رحم، رگ‌های خونی، مثانه، نای، دریچه‌های قلب، ورید، واژن و سایر موارد مفید باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از صندوق حمایت از پژوهشگران و فن‌آوران کشور که حمایت مالی (شماره طرح ۹۷۰۱۴۴۶۶) این پروژه را بر عهده داشتند سپاسگزاری می‌کنند. همچنین از مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی پزشکی و مهندسی بافت و مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی پژوهشکده علوم تولید مثل یزد و مرکز تحقیقات دانشکده نساجی دانشگاه یزد برای همکاری در این تحقیق تشکر می‌کنند.

خصوصیات مکانیکی خوبی برخوردار است (۳۵، ۳۶). در داربست‌های لایه به لایه به دلیل قرارگیری سلول‌ها بین داربست‌ها و نفوذ بهتر سلول‌ها اتصال و تکثیر سلول‌ها روی داربست بهتر است. داربست پنبه مانند به دلیل تخلخل زیاد و نفوذ بهتر سلول‌ها رشد و تکثیر سلولی بهتری روی داربست دارند. داربست مخلوط با سلول علیرغم نفوذ خوب سلول‌ها، چون سلول‌ها در معرض ولتاژ قرار می‌گیرند رشد و تکثیر آن‌ها از دو داربست لایه به لایه و پنبه مانند کمتر است. اتصال و تکثیر سلول‌ها به داربست مسطح نسبت به کنترل بهتر است. مجدد می‌توان گفت داربست لایه به لایه و داربست پنبه مانند به دلیل نفوذ بهتر سلول رشد و تکثیر خوبی نسبت به دو داربست دیگر دارند. هر چند داربست حاوی سلول هم با توجه به مکانیسم تولید نفوذ سلول در آن صورت می‌گیرد؛ اما به دلیل قرارگیری سلول در معرض ولتاژ مقداری از سلول‌ها ممکن است بمیرند (۲۸)؛ ولی با این حال رشد و تکثیر از نمونه کنترل بیشتر است. در داربست‌های ترکیبی با سلول‌ها، تخریب به طور قابل توجهی تسریع می‌شود، که به افزایش تخریب نانو الیاف به دلیل ترکیب پروتئین کمک می‌کند [۳۷، ۳۸، ۳۹]. چنین الیافی که به صورت آزاد رسوب کرده‌اند ممکن است چگالی کمتر یا کریستالی کمتری داشته باشند و ممکن است با سرعت بیشتری هیدرولیز شوند [۴۰].

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، داربست‌های الیافی ترکیبی PCL، ژلاتین و PDMS با ۴ نوع مختلف از آرایش یافتگی توسط الکتروریسی ساخته شدند. خصوصیات فیزیکیو شیمیایی

منابع

1. Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Kumar DS. Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. Int J Polym Sci. 2011;2011:1-19.
2. Habibi N, Kamaly N, Memic A, Shafiee H. Self-assembled peptide-based nanostructures: Smart nanomaterials toward targeted drug delivery. Nano Today. 2016;11(1):41-60.

3. Wang P, Zhao L, Liu J, Weir MD, Zhou X, Xu HHK. Bone tissue engineering via nanostructured calcium phosphate biomaterials and stem cells. *Bone Res.* 2014;2(1):14017.
4. Piskin E. Biodegradable polymers as biomaterials. *J Biomater Sci Polym Ed.* 1995;6(9):775-795.
5. Coenen AMJ, Bernaerts KV, Harings JAW, Jockenhoevel S, Ghazanfari S. Elastic materials for tissue engineering applications: Natural, synthetic, and hybrid polymers. *Acta Biomater.* 2018;79:60-82.
6. Hajiali F, Tajbakhsh S, Shojaei A. Fabrication and Properties of Polycaprolactone Composites Containing Calcium Phosphate-Based Ceramics and Bioactive Glasses in Bone Tissue Engineering: A Review. *Polym Rev.* 2018;58(1):164-207.
7. Han J, Branford-White CJ, Zhu LM. Preparation of poly(ϵ -caprolactone)/ poly(trimethylene carbonate) blend nanofibers by electrospinning. *Carbohydr. Polym.* 2010;79(1):214-218.
8. Hench LL. Bioceramics: From Concept to Clinic. *J Am Ceram Soc.* 1991;74(7):1487-1510.
9. Bhat S, Chen C, Day DA. Effects of a Polycaprolactone (PCL) Tissue Scaffold in *Rattus norvegicus* on Blood Flow. *MRS Proc.* 2013;1498:27-31.
10. Zhao P, Gu H, Mi H, Rao C, FuJ, Turng L. Fabrication of scaffolds in tissue engineering: A review. *Front Mech Eng.* 2018;13(1):107-119.
11. Heydari Z, Mohebbi-Kalhor D, Afarani MS. Engineered electrospun polycaprolactone (PCL)/octacalcium phosphate (OCP) scaffold for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C.* 2017;81:127-132.
12. Kundu J, Shim JH, Jang J, Kim SW, Cho DW. An additive manufacturing-based PCL-alginate-chondrocyte bioprinted scaffold for cartilage tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015;9(11):1286-1297.
13. Zhang YZ, Venugopal J, Huang ZM, Lim CT. Characterization of the Surface Biocompatibility of the Electrospun PCL-Collagen Nanofibers Using Fibroblasts. *Biomacromolecules.* 2005;6(5):2583-2589.
14. Ren K, Wang Y, Sun T, Yue W, Zhang H. Electrospun PCL/gelatin composite nanofiber structures for effective guided bone regeneration membranes. *Mater Sci Eng C.* 2017;78:324-332.
15. Jing X, Mi HY, Wang XC, Peng XF, Turng LS. Shish-Kebab-Structured Poly(ϵ -Caprolactone) Nanofibers Hierarchically Decorated with Chitosan–Poly(ϵ -Caprolactone) Copolymers for Bone Tissue Engineering. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2015;7(12):6955-6965.
16. Gautam S, Dinda AK, Mishra NC. Fabrication and characterization of PCL/gelatin composite nanofibrous scaffold for tissue engineering applications by electrospinning method. *Mater Sci Eng C.* 2013;33(3):1228-1235.
17. TH. Courtney, Mechanical Behavior of Materials. New Delhi: McGraw Hill Education (India) 2013.
18. Rogers JA, Nuzzo RG. Recent progress in soft lithography. *Mater Today.* 2005;8(2):50-56.
19. Nalwa HS, Ed. Handbook of photochemistry and photobiology. Stevenson Ranch, Calif: American Scientific Publishers 2003.
20. Xue J, Wu T, Dai Y, Xia Y. Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. *Chem Rev.* 2019;119(8):5298-5415.
21. Sagitha P, Reshmi CR, Sundaran SP, Sujith A. Recent advances in post-modification strategies of polymeric electrospun membranes. *Eur Polym J.* 2018;105:227-249.
22. Hasan A, Memic A, Annabi N, Hossain M, Paul A, Dokmeci MR, Dehghani F, Khademhosseini A. Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. *Acta Biomater.* 2014;10(1):11-25.
23. Kim MS, Jun I, Shin YM, Jang W, Kim SI, Shin H. The Development of Genipin-Crosslinked Poly(caprolactone) (PCL)/Gelatin Nanofibers for Tissue Engineering Applications. *Macromol Bioscience.* 2010;10:91-100.
24. Varshney N, Sahi AK, Vajanthri KY, Poddar S, Balavigneswaran CK, Prabhakar A, et.al. Culturing melanocytes and fibroblasts within three-dimensional macroporous PDMS scaffolds: towards skin dressing material. *Cytotechnology.* 2019;71:287-303.

25. Kai D, Prabhakaran MP, Chan BQY, Liow SS, Ramakrishna S, Xu F, et.al. Elastic poly(ϵ -caprolactone)-polydimethylsiloxane copolymer fibers with shape memory effect for bone tissue engineering. *Biomed Mater*. 2016;11(1):015007.
26. Dehghan M, Khajeh Mehrizi M, Nikukar H. Modeling and optimizing a polycaprolactone/ gelatin/ polydimethylsiloxane nanofiber scaffold for tissue engineering: using response surface methodology. *J Text Inst*. 2021;112(3):482-493.
27. Dehghan M, Nikukar H, Khajeh Mehrizi M. Optimizing the physical parameters of Polycaprolactone-Gelatin- Polydimethylsiloxane composite nanofibr scaffold for tissue engineering application. *J Industrial Textiles*. 2022;51(9):1445-1466.
28. J. Stankus J, Soletti L, Fujimoto K, Hong YA, Vorp DR, Wagner W. Fabrication of cell microintegrated blood vessel constructs through electrohydrodynamic atomization. *Biomaterials*. 2007;28:2738-2746.
29. Guan J, Fujimoto KL, Sacks MS, Wagner WR. Preparation and characterization of highly porous, biodegradable polyurethane scaffolds for soft tissue applications. *Biomaterials*. 2005;26(18):3961-3971.
30. Gryshkov O, Klyui NI, Temchenko VP, Kyselov VS, Chatterjee A, Belyaev AE, et.al. Porous biomorphic silicon carbide ceramics coated with hydroxyapatite as prospective materials for bone implants. *Mater Sci Eng C*. 2016;68:143-152.
31. Chang EJ, Phan TT, Lim IJ, Zhang YZ, Bay BH, Ramakrishna S, et.al. Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Biomaterialia*. 2007; 3:321-330.
32. Ghasemi-Mobarakeh L, Prabhakaran MP, Morshed M, Nasr-Esfahani MH, Ramakrishna S. Electrospun poly(3-caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. *Biomaterials*. 2008;29:4532-4539.
33. Pereira RF, Carvalho A, Gil MH, Mendes A, Bártolo PJ. Influence of Aloe vera on water absorption and enzymatic in vitro degradation of alginate hydrogel films. *CarbohydrPolym*. 2013. 98(1):311-320.
34. Xue J, He M, Liang Y, Crawford A, Coates Ph, et.al. Fabrication and evaluation of electrospun PCL–gelatin micro-/nanofiber membranes for anti-infective GTR implants. *J Mater Chem B*. 2014;2(39):6867-6877.
35. Ren K, Wang Y, Sun T, Yue W, Zhang H. Electrospun PCL/gelatin composite nanofiber structures for effective guided bone regeneration membranes. *Mater Sci Eng C*. 2017;78:324-332.
36. Chiono V, Tonda-Turo C, Trends in the design of nerve guidance channels in peripheral nerve tissue engineering. *Prog Neurobiol*. 2015;131:87-104.
37. Stankus JJ, Freytes DO, Badylak SF, Wagner WR. Hybrid nanofibrous scaffolds from electrospinning of a synthetic biodegradable elastomer and urinary bladder matrix. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2008;19:635-652.
38. El-Kurdi MS, Hong Y, Stankus JJ, Soletti L, Wagner WR, Vorp DA. Transient elastic support for vein grafts using a constricting microfibrillar polymer wrap. *Biomaterials*. 2008;29:3213-3220.
39. Sell SA, McClure MJ, Garg K, Wolfe PS, Bowlin GL. Electrospinning of collagen/ biopolymers for regenerative medicine and cardiovascular tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009;61:1007-1019.
40. Hashizume R, Fujimoto KL, Hong Y, Amoroso NJ, Tobita K, Miki T, et.al. Morphological and mechanical characteristics of the reconstructed rat abdominal wall following use of a wet electrospun biodegradable polyurethane elastomer scaffold. *Biomaterials*. 2010;31:3253-3265.