

داربست‌های نانوالیافی ساخته شده به روش الکتروریسی برای بازسازی عروق آسیب‌دیده

Electrospun Nanofibrous Scaffolds for Regeneration of Diseased Vessels

سحر جعفری^۱، داود صادقی^۱، مریم یوسف‌زاده^۲، عاطفه سلوک^{۱*}

تهران، دانشگاه صنعتی امیر کبیر، صندوق پستی ۴۴۳۳-۱۵۸۷۵:
 ۱- دانشکده مهندسی پزشکی، ۲- دانشکده مهندسی نساجی

چکیده

تقاضای روزافزونی برای پیوندهای عروقی مهندسی بافت شده با اثر بخشی طولانی مدت برای جایگزینی یا بای‌پس عروق آسیب‌دیده در بیماری‌های مختلف قلبی و عروقی وجود دارد. عروق مهندسی بافت شده ایده‌آل باید زیست‌سازگار، خون‌سازگار و مقاوم در برابر اتساع آنوریسم بوده و نیز به آسانی قابل کاشت در بدن باشند. حوزه مهندسی بافت عروق امکان طراحی و ساخت پیوندهای مصنوعی ایده‌آل را فراهم می‌کند و تاکنون پژوهشگران این عرصه، انواع روش‌ها و مواد را بدین منظور مطالعه کرده‌اند. از جمله پژوهش‌های انجام شده می‌توان به ساخت داربست‌هایی از جنس بافت طبیعی سلول‌زایی شده یا زیست‌پلیمرها و پلیمرهای مصنوعی زیست‌تخریب‌پذیر برای ساخت پیوندهای عروقی مهندسی بافت شده اشاره کرد. با وجود این، هنوز چالش‌هایی نظیر عدم قابلیت داربست‌ها در تقلید خواص مکانیکی بافت طبیعی و قابلیت بازبودن طولانی مدت و نیز رشد کافی بافت جدید درون داربست‌ها برای تضمین عملکرد مناسب در داخل بدن، پیش روی پژوهشگران است. الکتروریسی، از جمله روش‌های متداول برای تولید داربست‌های مهندسی بافت است که قابلیت مناسبی برای حل این مشکلات دارد. در این مقاله، مطالعات انجام شده روی ساخت داربست‌های عروقی الکتروریسی شده مرور شده است.

مقدمه

آنژیوپلاستی استفاده می‌شود. اما برای عروق مسدودتر، از عمل جراحی بای‌پس استفاده می‌شود که به پیوند عروقی نیاز دارد تا جریان خون را از محل آسیب‌دیده دور کند. پیوندهای شریانی برای دسترسی عروقی (vascular access) در درمان دیالیز در بیماران مبتلا به مرحله نهایی بیماری کلیوی (ESRD) نیز استفاده می‌شود. در سندروم کسودکان آبی، فقط یکی از دو بطن نوزاد به‌درستی کار می‌کند که برای رفع این مشکل عمل فونتان (Fontan) انجام می‌شود [۲]. در این عمل، رگ خونی طراحی شده‌ای نیاز است تا شریان ریوی سمت راست را به ورید اجوف تحتانی اتصال دهد، به طوری که خون دارای اکسیژن بتواند قلب را دور بزند و به‌طور مستقیم به ریه‌ها برود.

بیماری‌های قلبی عروقی از علل اصلی مرگ‌ومیر در سراسر جهان به‌شمار می‌روند [۱]. از این‌رو، نیاز فراوانی برای پیوندهای عروقی وجود دارد. بخش عمده‌ای از بیماری‌هایی که به بای‌پس عروقی نیاز دارند مرتبط به آترواسکلروز (بیماری عروقی که منجر به تنگ‌شدن مجرا، کاهش جریان و ایسکمی بافت دیستال می‌شود) است. آترواسکلروز شریان‌های کرونر، شکل‌کننده آترواسکلروز است. آترواسکلروز عروق بزرگ (شریان آئورت، خاصره، فمورال و پولیتیه) نیز یکی از دلایل اصلی مرگ‌ومیر به‌شمار می‌رود. در آسیب‌های آترواسکلروتیک زمانی که انسداد عروق کرونر کمتر از ۷۰٪ باشد از استنت‌گذاری و

کلمات کلیدی

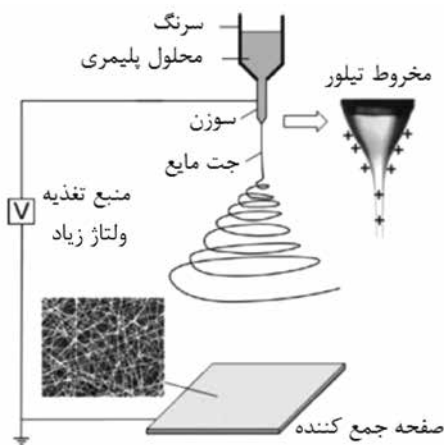
پیوند عروقی،
 مهندسی بافت،
 الکتروریسی،
 داربست‌های لوله‌ای

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار: atefeh.solouk@aut.ac.ir

انسانی برای مهندسی بافت عروق خونی [۱۴] انجام شده است. روش‌های اصلی برای ساخت داربست‌ها شامل خودگردهمایی مولکولی (molecular self-assembly)، تهیه هیدروژل، ریخته‌گری حلال، شست‌وشوی ذرات، جدایی فاز القای گرمایی و فرایند الکتروریسی است. الکتروریسی روشی مناسب برای ساخت نانوالیاف و میکروالیاف است که قابلیت بسیار زیادی برای تقلید از ریزمحیط ECM طبیعی دارد. موفقیت پیوند عروقی مهندسی بافت شده قابل کاشت، افزون بر سایر عوامل به تقلید آن از ECM طبیعی وابسته است [۱۵]. مشخص شده است، در بافت طبیعی، ECM شبکه‌ای سه‌بعدی از الیاف پلی‌ساکارید و پروتئین ساختاری با قطر ۵۰ nm تا ۵۰۰ nm است. روش الکتروریسی امکان ساخت داربست‌های نانوالیافی در این محدوده اندازه یا بیشتر را فراهم می‌سازد [۱۶].

روش الکتروریسی در ساخت داربست‌های مهندسی بافت

فرایند الکتروریسی بر پایه کشش محلولی گرانه و کشسان با استفاده از اعمال میدان الکتریکی زیاد است. به‌طور خلاصه، موادی که قرار است الکتروریسی شوند، درون سرنگ بارگذاری می‌شوند و با سرعت جریان آهسته به‌وسیله پمپ سرنگ تزریق می‌شوند. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، ولتاژ مستقیم زیاد به محلول وارد می‌شود تا به‌وسیله آن سیال باردار شود. در میدان الکتریکی اعمال شده ولتاژ زیاد، نوک قطره مایع شکل مخروطی می‌سازد که مخروط تیلور نامیده می‌شود. هنگامی که ولتاژ اعمالی به اندازه کافی زیاد باشد تا بر نیروی سطح عامل مخروط تیلور غلبه کند، جریان شتاب‌دار محلول که جت نامیده می‌شود، از نوک مخروط تیلور با شتاب خارج می‌شود. جت الکتروریسی شده به سمت منطقه با پتانسیل کمتر (در بیشتر موارد صفحه جمع‌کننده‌ای که به زمین متصل شده) حرکت می‌کند. زمانی که جت مایع در فاصله الکتروریسی به سمت جمع‌کننده می‌رود، حلال از جت تبخیر شده و الیاف جامد روی جمع‌کننده قرار می‌گیرد. طرح‌واره‌ای از این فرایند در شکل ۱ آمده است. شکل‌شناسی الیاف الکتروریسی شده تحت تأثیر پارامترهای مختلف از جمله چگالی، گرانی، رسانایی الکتریکی، وزن مولکولی، کشش سطحی، ولتاژ اعمالی، سرعت جریان، فاصله جمع‌کننده از نوک سوزن و پارامترهای محیطی مانند رطوبت و دماست [۲۰-۱۷].



شکل ۱- طرح‌واره فرایند الکتروریسی.

در چنین مواردی اغلب به جایگزینی عروق خونی آسیب دیده نیاز است [۳]. در حال حاضر، گزینه‌های در دسترس برای این گونه پیوندها، پیوندهای اتولوگ (به‌عنوان مثال پیوند بای‌پس عروق کرونر با استفاده از عروق پستان و وریدهای صافن (saphenous vein)، اتولوگ، آلوگراف (اهدانکننده جسد)، زوگرافت (به‌عنوان مثال مجرای دریچه ریوی گاو یا خوک)، پروتز مصنوعی یا پیوند عروقی مصنوعی ساخته شده از پلی‌تترافلورواتیلن (ePTFE) و پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) است [۴].

برای بسیاری از فرایندهای بای‌پس عروقی، پیوند انتخابی جراح، بافت عروقی اتولوگ است. بافت اتولوگ به این دلیل مفید است که بافتی زنده است و نیز اندوتلیوم ضدلخته و زیست‌سازگاری مناسب دارد و عمل جراحی آن دشوار نیست. با وجود این، استفاده از اتوگرافت و آلوگرافت به سبب کمبود بافت در دسترس و اهداکنندگان بافت و تغییرات آناتومی با محدودیت روبه‌روست [۵،۶]. افزون بر این، نگرانی‌هایی برای عملکرد طولانی مدت آن‌ها به سبب استفاده از مواد شوینده قوی و عوامل سلول‌زدایی وجود دارد. مشکل زوگرافت طول عمر نسبتاً کوتاه آن است. به‌عنوان مثال، پیوند خوکی یا گاوی می‌تواند تا ۱۵ سال دوام داشته باشد که مسئله‌ای مهم برای کودکان بیمار به‌شمار می‌آید، زیرا به تعویض کاشتنی (implant) در فواصل ۱۰-۱۵ سال نیاز دارد. از جمله معایب دیگر آن، کنترل ضعیف بر خواص مکانیکی و فیزیکی، التهاب و کلسینه‌شدن است [۷،۸].

در این مواقع، جراح باید از مجرای عروقی مصنوعی مانند تترافلورواتیلن انبساط‌یافته (ePTFE) مانند Gortex® یا پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) مانند Dacron® استفاده کند [۹]. این دو ماده از ۱۹۵۶ به صورت بالینی استفاده می‌شوند و موفقیت‌هایی را در مجراهایی که به‌عنوان عروق بزرگ کاربرد دارند، کسب کرده‌اند. چرا که در این مجراها مقدار کمتر ترومبوز (thrombosis) به بازبودن (patency) طولانی مدت منجر شده است [۱۰]. مقدار بازبودن کاشتنی‌های قلبی عروقی به قابلیت آن‌ها در مهار ترومبوز، هیپرپلازی انتیما (Hyperplasia antima) و کلسینه‌شدن ارتباط دارد.

مهندسی بافت روشی جایگزین برای ایجاد پیوندهای عروقی جدید است. در این روش، سلول‌ها روی داربست ساخته شده از پلیمری تخریب‌پذیر، بذرافشانی شده یا کپسولی می‌شوند. در مهندسی بافت، انتظار می‌رود، سلول‌ها، ماتریس خارج سلولی (ECM) را در حالی که پلیمر تخریب می‌شود بسازند و به تدریج بافت مدنظر را تولید کنند.

مهندسی بافت پیوندهای عروقی

مهندسی بافت علمی چند دانشی است که اصول مهندسی و علوم طبیعی را برای ساخت و توسعه جایگزین‌های زیستی به کار می‌برد تا بافت‌های آسیب‌دیده بدن را ترمیم یا بازسازی کند، عملکرد آن‌ها را بازگرداند یا بهبود بخشد. با توجه به تعریف مهندسی بافت، داربست، ساختار سه‌بعدی و متخلخل است که به‌طور موقت سلول‌های بذرافشانی شده را حمایت کرده تا بافت جدید رشد کند. داربست‌ها به مرور زمان تخریب می‌شوند و در نهایت از مسیرهای طبیعی جذب و از بدن دفع می‌شوند.

در حال حاضر مطالعات زیادی روی روش‌های مختلف برای مهندسی بافت پیوندهای عروقی [۱۱، ۱۲]، طراحی شریان‌های طبیعی و مصنوعی و نیز شبکه‌های عروقی [۱۳] و استفاده از سلول‌های بنیادی و سایر سلول‌های

آمیخته‌های پلی‌یورتان قطعه‌ای (SPU)، ژلاتین استیرنی شده و کلاژن نوع I، افزون بر SPU و پلی‌اتیلن اکسید (PEO) [۲۳] و الاستین، کلاژن نوع ۱ و پلی (D,L-لاکتید-کو-گلیکولید)، PLGA [۲۴] هستند. پیوند کامپوزیتی PLGA شامل زیست‌سازگاری زیاد، ترکیب بافت مطلوب و خواص مکانیکی خوب به‌ویژه برای کاربرد در عروق خونی است [۲۴].

پیوندهای پلی ۴-کاپرولاکتون (PCL)، کلاژن، PEO، ژلاتین و هیپراسیل (heprasil) نیز ساخته شده‌اند. با وجود این، خواص مکانیکی آن‌ها گزارش نشده است [۲۵]. افزون بر این، پلیمرهای طبیعی به‌طور قابل ملاحظه‌ای اتصال و نفوذ سلولی را بهبود می‌بخشند.

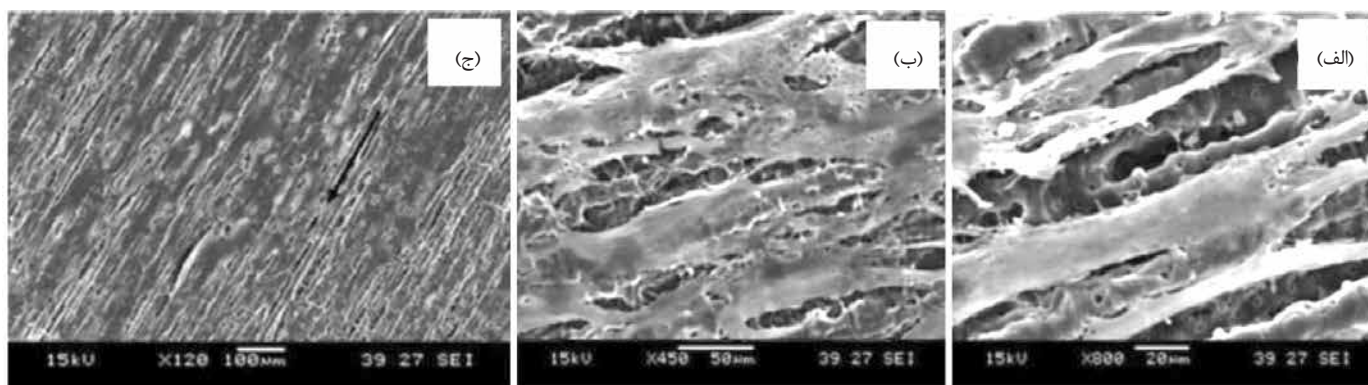
Zhu و همکاران [۲۶] نشان دادند، الیاف منظم شده PCL پوشش یافته با فیبرین، باعث منظم شدن سلول‌های عضله‌ای صاف انسان (human smooth muscle cells, HSMCs) در طول این الیاف می‌شود که در شکل ۲ نشان داده شده است. این داربست مدوله کردن سلول عضله‌ای صاف به فوتوتیپی انقباضی را ترویج می‌دهد و بقا و عملکرد زیستی آن‌ها را حمایت می‌کند. پیوندهای فیبروئین ابریشم (silk fibroin) پوشش یافته با اسفنج ابریشم نیز برای کاربردهای پیوند عروقی استفاده شده‌اند [۲۷]. گزارش Uttayarat و همکاران درباره پیوند پلی‌یورتان (PU) با قطر کوچک نیز قابل توجه است. آن‌ها الکتروروسی را با روش ریخته‌گری چرخشی ترکیب کردند تا میکروالیاف و شیارها را روی داربست لوله‌ای پلی‌یورتانی (PU) الکتروروسی شده الگودهی کنند که جهت‌گیری سلول‌های اندوتلیال (EC) روی این سطوح الگودهی شده مشاهده شدند. این پیوندها، منظم شدن EC و تشکیل تک‌لایه EC پاسخ‌دهنده به سیتوکین (cytokine) را القا می‌کنند. افزون بر این، مدول کشسانی پیوندها در جهت محوری نیز در محدوده مشابه آن در پیوندهای عروقی طبیعی بود [۲۸]. داربست‌های کامپوزیتی از جنس پلی (استر-یورتان) اوره (PEUU) ساخته شده با فرایندهای الکتروروسی و جدایی فاز القای گرمایی (TIPS) [۲۹-۳۱] داربست‌های دولایه ترکیب کلاژن-PCL [۳۲] و داربست دولایه از لایه خارجی PLA با الیاف منظم شده محیطی سفت با لایه داخلی PCL کشسان با جهت‌گیری تصادفی [۳۳] نیز به روش الکتروروسی ساخته شده‌اند. این مطالعات، امکان ساخت داربست‌های الکتروروسی شده انعطاف‌پذیر و محکم با ساختاری چندلایه را نشان دادند. مشابه آنچه در عروق خونی طبیعی است کاری دیگر با استفاده

بررسی‌ها قابلیت روش الکتروروسی برای ساخت الیاف، امکان استفاده از محدوده گسترده از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی و مخلوط حاوی مکمل‌های ECM و ترکیبات بینابین از عصاره ارگان خاص را نشان می‌دهد [۱۷،۲۱،۲۲].

تطبيق پذیری روش مزبور، این امکان را برای فرایند کردن دسته‌های مختلف مواد غیر پلیمری، از جمله سرامیک‌ها و کامپوزیت آن‌ها با پلیمر ایجاد می‌کند [۲۴]. الکتروروسی روشی انعطاف‌پذیر است که در آن خواص مکانیکی و زیستی الیاف را به راحتی می‌توان با تغییر ترکیب مخلوط تنظیم کرد که در سایر روش‌های ساخت داربست به راحتی امکان‌پذیر نیست. با توجه به این مزایا، در سال‌های اخیر، علاقه‌مندی دانشمندان به روش الکتروروسی برای ساخت داربست‌های مهندسی بافت بسیار افزایش یافته است. الکتروروسی امکان کنترل دقیق خواص مکانیکی را در طول فرایند ساخت ارائه می‌دهد، در حالی که ساختار پیوندهای مهندسی شده را نیز کنترل می‌کند. قابلیت روش الکتروروسی در ترکیب مزایای مواد طبیعی و مصنوعی، آن را به‌ویژه برای پیوندهای عروقی مهندسی بافت شده جذاب می‌کند که در آن مقاومت مکانیکی مناسب، به‌ویژه استحکام ترکیدگی زیاد و انطباق (compliance) با شرایط محیط مورد نیاز است. افزون بر این، اختلاط پلیمرهای طبیعی با وافر محل‌های اتصال سلولی، می‌تواند تشکیل تک‌لایه پیوسته سلول‌های اندوتلیال را در مجرا و تکثیر انواع سلول‌های دیگر را در ماتریس دیواره پیوند توسعه دهد. همچنین، روش الکتروروسی کنترل دقیق بر ترکیب، ابعاد و امتداد الیاف را ارائه می‌دهد که بر تخلخل، توزیع اندازه منافذ و معماری داربست اثر دارد. این روش اجازه مهندسی طیف گسترده‌ای از خواص مکانیکی و ساختاری تنظیم‌پذیر را می‌دهد که برای کاربردهای ویژه مورد نیاز است. افزون بر این، الیاف منظم شده می‌تواند برای قرارگیری سلول‌ها در جهت‌ی ویژه استفاده شوند که برای ایجاد ناهمسانگردی در اندام‌های معین از جمله عروق خونی برای تقلید از ساختار طبیعی مورد نیاز است.

داربست‌های الکتروروسی شده برای کاربرد در بازسازی عروق

روش الکتروروسی به‌طور گسترده در ساخت داربست‌ها استفاده می‌شود. با وجود این، به‌جز چند مورد، اکثر مطالعات به پژوهش‌های آزمایشگاهی محدود شده است. داربست‌های لوله‌ای با استفاده از طیف گسترده‌ای از مواد الکتروروسی می‌شوند. زیست‌موادی که تاکنون مطالعه شده‌اند، شامل



شکل ۲- تصاویر SEM از شکل‌شناسی HSMCs جهت‌گیری سلول‌ها در راستای الیاف (فلش سیاه رنگ) با بزرگ‌نمایی‌های متفاوت.

همکاران [۴۰] مطالعات حیوانی را روی داربست‌های الکترورسی شده بذر افشانی شده با سلول انجام دادند. Boland و همکاران [۳۹] داربست‌های پلی‌گلیکولیک اسید (PGA) تشکیل شده از الیاف با قطر کم را به روش الکترورسی ساختند و با استفاده از پیش عملیات اسیدی برای بهبود زیست‌سازگاری آن‌ها اقدام کردند. سلول‌های فیبروبلاست قلبی در داربست‌ها بذر افشانی شد و این داربست‌ها برای ارزیابی پاسخ میزبان، داخل بدن موش کاشته شدند. نتایج، زیست‌سازگاری بهبود یافته PGA را به‌عنوان نتیجه‌ای از پیش عملیات اسیدی نشان داد. افزون بر این، De Valence و همکاران [۴۰] پیوندهای الیافی و میکروالیافی PCL را در مدل موش جایگزینی آئورت شکمی برای مدت ۱۸ ماه بررسی کردند. آن‌ها پیوندها را برای تطابق، بازبودن، تخریب مواد و بازسازی بافت ارزیابی کردند. نتایج گزارش شده نشان‌دهنده اندوتلیال‌زایی سریع و خواص مکانیکی و بازبودن خوب بود. با وجود این، بازسازی دیواره عروق ضعیف بود.

Vorp و همکاران بررسی‌های متعدد درون تنی (in vivo) روی داربست‌های دولایه‌ی لوله‌ای شکل از جنس PEUU بذر افشانی شده با سلول را به‌عنوان پیوندهای واسطه آئورت در موش‌ها انجام دادند [۳۰، ۳۱]. در یکی از مطالعات آن‌ها [۳۰] سلول‌های بنیادی مشتق شده از عضله به‌دست آمده از موش لوئیس را وارد کردند، در حالی که دیگری [۳۱] شامل استفاده از سلول‌های پری‌سیت (pericyte) انسانی بود. در هر دو مطالعه، بررسی شکل‌شناسی و آنژیوگرافی درون تنی، مقدار بیشتری از بازبودن پیوندهای بذرافشانی شده با سلول را در مقایسه با هم‌تایان بدون سلول آن‌ها نشان داد. مطالعات بافت‌شناسی، شواهدی از بازسازی بافت را در سمت مجرای پیوندها (به تقلید از ساختار رگ‌های خونی واقعی) نشان داد. همچنین نشان داده شده است، پیوند بر پایه سلول بنیادی هم از لحاظ مکانیکی برای چپن گردش خون سیستماتیک مناسب است.

Ju و همکاران [۳۲] از روش الکترورسی هم‌زمان برای ساخت داربست‌های دولایه کلژن-PCL با لایه خارجی شامل تخلخل‌های بزرگ که نفوذ SMC را بهبود دهد و لایه داخلی با تخلخل‌های کوچک‌تر استفاده کردند که چسبندگی EC را تسهیل کند تا خواص مکانیکی داربست را به منظور تنظیم حیات، مهاجرت و تکثیر سلول در طول شکل‌گیری بافت کنترل کنند. افزایش قطر الیاف از $0.27 \mu\text{m}$ به $4.45 \mu\text{m}$ ، تخلخل داربست را افزایش داد و مدول یانگ آن را از $2/0.3 \text{ MPa}$ به $0/26 \text{ MPa}$ کاهش داد. داربست دولایه از نفوذ و رشد سلول‌های SMC در لایه بیرونی و اندوتلیال‌زایی سلول‌های EC در لایه داخلی روی سطح مجرا حمایت کرد [۳۲]. در مطالعه‌ای دیگر Chen و همکاران [۴۱]، داربست‌های نانوالیافی TPU-کیتوسان-کلژن با خواص ساختاری و عملکردی شبیه ECM طبیعی را ساختند که در آن کیتوسان و کلژن برای بهبود رفتار سلولی استفاده شد و TPU برای بهبود خواص مکانیکی مواد حاصل استفاده شد. نتایج نشان داد، جهت‌گیری الیاف در این کامپوزیت، خواص مکانیکی داربست را تحت تأثیر قرار داد. استحکام کششی داربست با الیاف تصادفی و همگن به ترتیب $4/6 \text{ MPa}$ و $10/3 \text{ MPa}$ بود. افزون بر این، خواص مکانیکی حاصل به‌طور قابل توجهی با اتصالات عرضی الیاف بهبود یافت. استحکام کششی داربست شبکه‌ای شده با گلوآرالدهید (GA) با الیاف تصادفی، دو برابر بیشتر از نمونه‌های شبکه‌ای نشده بود. داربست ساخته

از داربست‌های نانوالیافی پلی‌یورتان-کیتوسان-کلژن، گرمانرم (TPU) شبکه‌ای شده با بخار گلوآرالدهید (GTF)، خواص مکانیکی انعطاف‌پذیر با درجه زیاد از استحکام کششی و زیست‌سازگاری رضایت‌بخش را برای سلول‌های شوان (schwann) و سلول‌های اندوتلیال نشان داد [۳۴]. در نهایت، داربست چندلایه (کلژن نوع ۱، ژلاتین استیرنی شده، پلی‌یورتان قطعه‌ای و پلی‌اتیلن اکسید) [۲۲] رویکردهای نو و جالب برای مهندسی بافت پیوندهای عروقی ارائه داد.

افزون بر این مجموعه‌ای از مطالعات، همچنین اتصال سلول‌های مختلف از جمله درشت‌خوارها (macrophage) [۳۵] و ماست سل‌ها (mast cells) [۳۶] را در داربست‌های الکترورسی شده بررسی کردند. به‌ویژه خواص جذب‌زیستی از پلیمرهای ویژه و کاربرد آن‌ها در ساخت پیوندهای عروقی، بازسازی و احیای ECM را ترویج می‌کند. با وجود این، به غیر از چند استثنا، بیشتر این داربست‌ها، برای ارزیابی عملکرد آن‌ها در حیوانات و کارگذاری کلینیکی در داخل بدن بررسی نشده‌اند.

Wei و همکاران [۳۷] داربست‌های پلی-L-لاکتیک اسید-کاپرولاکتون (PLL-CL) لوله‌ای با قطر ۳ mm را ساختند و آن‌ها را داخل بدن خرگوش‌ها به مدت ۷ هفته کاشتند. مشاهدات نشان داد، یکپارچگی ساختاری این داربست‌ها و بازبودن پیوندها حفظ شد. همچنین، آن‌ها سلول‌های EC (به‌دست آمده از عروق انسان) را در داربست‌های پوشش داده شده با کلژن ادغام کردند. نتایج نشان داد، سلول‌های EC استفاده شده به‌طور مساوی و به‌خوبی در سراسر مجرای داربست پس از ۱۰ روز از کشت توزیع شد [۳۷]. Wise و همکاران [۵] مجرای تروپوالاستین-PCL انسانی نو ترکیب به کمک الکترورسی محلول ۱۰٪ کل غلظت تروپوالاستین و PCL را در $1.1, 1.3, 2$ هگزافلوئورو-۲-پروپانول ساختند. آن‌ها خواص مکانیکی داربست‌ها را برای تقلید از مدول کشسانی، انطباق، نفوذپذیری و فشار انفجاری عروق پستانی داخلی انسان، شبیه‌سازی کردند. چسبندگی سلولی و رفتار تکثیری با استفاده از سلول‌های اندوتلیال ورید نافی انسان (HUVECs) بررسی شد. داربست بدون سلول نیز در مدل خرگوش کاشته و پس از یک ماه خواص مکانیکی آن بررسی شد. افزایش سازگاری عروقی با کاهش چسبندگی پلاکت و افزایش اندوتلیال‌زایی برای مجراهای PCL-الاستین مصنوعی الکترورسی شده در مقایسه با پیوند مصنوعی (PCL) فاقد الاستین مشاهده شد. نتایج نشان داد، افزودن تروپوالاستین به‌طور قابل ملاحظه‌ای چسبندگی و تکثیر EC را بهبود می‌دهد. افزودن تروپوالاستین ۵-۹٪ به PCL ۱-۵٪ (حفظ ۱۰٪ غلظت محلول کل)، امکان توسعه TEVG را فراهم می‌کند که از خواص پیوند عروقی ذاتی از جمله مدول کشسانی، انطباق، نفوذپذیری و فشار انفجاری آن‌ها در عروق پستانی داخلی انسان تقلید می‌کند. Soletti و همکاران [۳۸] پیوندهای PEUU بدون سلول را در مدل موش صحرایی بالغ به‌عنوان پیوندهای واسطه‌ای آئورت به مدت ۲۴ هفته کاشتند. لایه داخلی پیوند با کوپلیمر غیرلخته‌زا ۲-متاکریلوکسی‌اتیل فسفریل کلرید پوشش داده شد. نتایج نشان داد، پیوندهای پوشش‌یافته با فسفولیپید، به‌طور قابل توجهی کاهش چسبندگی پلاکت و بهبود بازبودن را در مقایسه با پیوندهای پوشش داده نشده PEUU منجر می‌شوند. خواص مکانیکی پیوندها هم با مجراهای شریانی بومی سازگار بود. Boland و همکاران [۳۹] و De Valence و

جدول ۱ - خلاصه کارهای انجام شده در داربست‌های الکتروریسی شده برای کاربرد در بازسازی عروق.

مرجع	نتیجه	اصلاحات	روش	زیست‌ماده
۲۶	منظم‌شدن سلول‌های عضله‌ای صاف در طول الیاف، ترویج مدوله‌کردن سلول عضله‌ای صاف به فنوتیپی انقباضی و حمایت از بقا و عملکرد زیستی آن‌ها	الیاف منظم با پوشش فیبرین	الکتروریسی	PCL
۲۷	-	پوشش اسفنج ابریشم	الکتروریسی	فیبروئین ابریشم
۲۸	جهت‌گیری سلول‌های اندوتلیال، تشکیل تک‌لایه سلول‌های اندوتلیال، مدول کشسانی در جهت محوری در محدوده عروق طبیعی	الگودهی میکروالیاف و شیارها روی داربست	ترکیب الکتروریسی و ریخته‌گری چرخشی	PU
۳۱-۲۹	داربست‌های الکتروریسی شده انعطاف‌پذیر و محکم با ساختاری چندلایه مشابه آنچه در عروق خونی طبیعی است.	-	الکتروریسی و جدایی فاز القای گرمایی	PEUU
۳۳	داربست‌های الکتروریسی شده انعطاف‌پذیر و محکم با ساختاری چندلایه مشابه آنچه در عروق خونی طبیعی است.	داربست دولایه با لایه خارجی: الیاف PLA منظم شده محیطی و لایه داخلی: الیاف PCL با جهت‌گیری تصادفی	الکتروریسی	PLA/PCL
۳۴	خواص مکانیکی انعطاف‌پذیر با درجه زیاد از مقاومت کششی و زیست‌سازگاری رضایت‌بخش برای سلول‌های شوان و سلول‌های اندوتلیال	شبه‌کله‌ای شده با بخار گلو تار آلدئید (GTF)	الکتروریسی	TPU-کیتوسان-کلاژن
۳۷	حفظ یکپارچگی ساختاری و بازبودن این پیوندها در داخل بدن خرگوش	-	الکتروریسی	PLL-CL
۵	سازگاری عروقی ارتقا یافته، کاهش چسبندگی پلاکت و افزایش اندوتلیال‌زایی این پیوندها در مقایسه با PCL فاقد الاستین	الکتروریسی شده با الاستین	الکتروریسی	PCL
۳۸	کاهش چسبندگی پلاکت و بهبود بازبودن در مقایسه با پیوندهای پوشش داده نشده، سازگاری خواص مکانیکی پیوندها با مجراهای شریانی بومی	پوشش ۲-متاکریلوکسی-اتیل فسفریل کلرید	الکتروریسی	PEUU
۳۹	زیست‌سازگاری بهبود یافته	پیش عملیات اسیدی	الکتروریسی	PGA
۴۰	اندوتلیال‌زایی سریع و خواص مکانیکی و بازبودن خوب، بازسازی دیواره عروق ضعیف	-	الکتروریسی	PCL
۳۰،۳۱	مقدار بیشتری از بازبودن پیوند در مقایسه با هم‌تایان بدون سلول	بذرافشانی با سلول	الکتروریسی	PEUU
۳۲	داربست دولایه از نفوذ و رشد سلول‌های SMC در لایه بیرونی و اندوتلیال‌زایی حمایت از سلول‌های EC در لایه داخلی روی سطح مجرا کوچک	لایه خارجی با تخلخل‌های بزرگ و لایه داخلی با تخلخل‌های کوچک	الکتروریسی هم‌زمان	PCL-کلاژن
۴۱	اثر جهت‌گیری الیاف بر خواص مکانیکی داربست، حمایت از رشد و جهت‌گیری سلول‌های EC	استفاده از کیتوسان و کلاژن برای بهبود رفتار سلولی	الکتروریسی	TPU-کیتوسان-کلاژن
۴۲	افزایش سرعت چرخش درام، سختی و استحکام گسیختگی داربست ساخته شده	تغییر جهت‌گیری الیاف	الکتروریسی	پلی‌کاپرولاکتون-پلی دی‌اکسانون-فیبروئین ابریشم

۵۰۰-۱۰ μm تولید می‌کنند [۵۲]. در این روش، دستگاه جمع‌آوری الیاف، رطوبتی کنترل شده که در دمای کم نگهداری می‌شود، اجازه رسوب ذرات یخ و نانو/میکروالیاف پلیمری را به‌طور هم‌زمان می‌دهد. ذرات یخ نهفته در داربست به‌عنوان قالب برای منافذ به کار می‌روند. این روش به‌طور موفقیت‌آمیزی برای الکتروریسی پلی‌استر و پلی‌یورتان استفاده شده است، طیف گسترده‌ای از کاربرد برای این روش ارائه شده است که به نوع مواد وابسته نیست.

توزیع یکنواخت سلول با استفاده از روش ترکیبی: الکتروریسی و الکتروافشاندن هم‌زمان سلول‌ها

به‌طور سنتی، داربست‌های لیفی با روش الکتروریسی تهیه و به دنبال آن با سلول بذر افشانی می‌شود. اما، نفوذ سلول به داخل داربست نسبتاً ضعیف بود. برای غلبه بر این چالش، روشی ترکیبی معرفی شده است که شامل ادغام این دو مرحله است. در این روش سلول‌ها به‌طور هم‌زمان با شکل‌گیری الیاف بذر افشانی می‌شوند [۴۴، ۵۳]. Stankus و همکاران [۴۴]، از الکتروافشاندن سلول‌های عضله‌ای صاف عروقی به‌طور هم‌زمان با الکتروریسی PEUU الاستومری در حلال ۱،۱،۱،۳-هگزافلئوروپروپانول (HFIP) استفاده کردند که طرح‌واره‌ای از این فرایند در شکل ۳ آمده است.

ایجاد خواص سطحی مساعد با سلول

هرچند پلیمرهای معمول استفاده شده در الکتروریسی دارای خواص

شده توانست رشد و جهت‌گیری سلول‌های EC را حمایت کند و برای شکل‌دهی پیوند عروقی در آزمایشگاه استفاده شد [۴۱]. به‌طور مشابه Mc-Clure و همکاران [۴۲] داربستی لوله‌ای از الیاف منظم شده و نامنظم متشکل از ترکیبات مختلف پلی‌کاپرولاکتون-پلی‌دی‌اکسانون-فیبروئین ابریشم ساختند. جهت‌گیری الیاف با تغییر سرعت چرخش و قطر درام کنترل شد که به تشکیل داربست با خواص مکانیکی مختلف منجر شد. مشخص شد، افزایش سرعت چرخش درام، سختی و استحکام گسیختگی داربست ساخته شده را افزایش داد [۴۲]. خلاصه‌ای از پژوهش‌های انجام شده در جدول ۱ آمده است.

چالش‌ها و راهکارها

اگرچه فرایند الکتروریسی مزایای زیادی نسبت به سایر روش‌های دارد، هنوز هم چالش‌هایی باقی مانده که پیش از استفاده بالینی الکتروریسی در TEVGs باید برطرف شود.

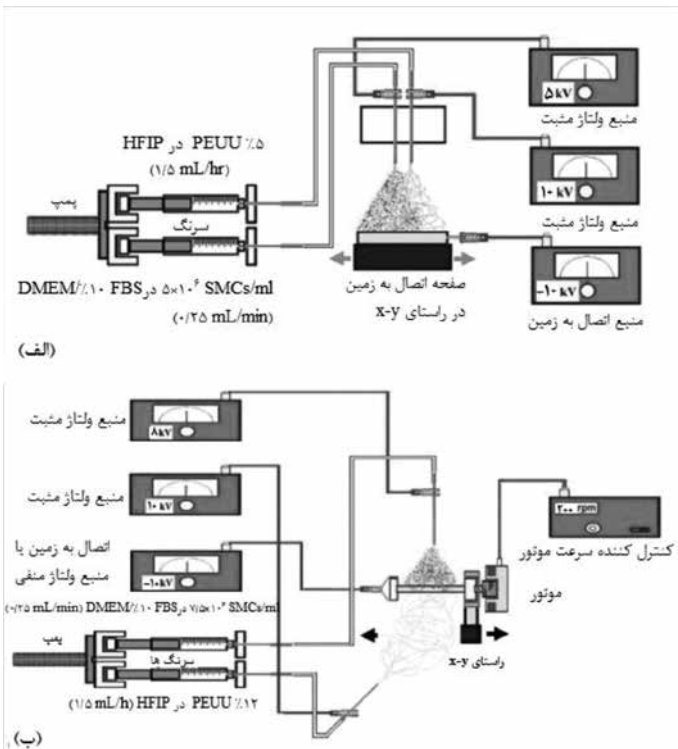
عدم نفوذ کافی سلول

مسئله اصلی درباره کاربرد داربست‌های الکتروریسی شده، به‌ویژه برای TEVGs، شامل عدم نفوذ کافی سلول در الیاف به سبب اندازه تخلخل کوچک، خواص سطحی ضعیف که می‌تواند اثر منفی بر زنده ماندن، تکثیر و رشد سلول‌ها داشته باشد، کمبود سلول‌های مناسب [۴۳، ۴۴]، کنترل ضعیف بر خواص مکانیکی و تخریبی و پاسخ زیستی بافت‌ها و سلول‌ها در بدن به TEVGs است.

اطمینان از نفوذ کافی سلول با افزایش اندازه منافذ و تخلخل

نفوذ سلولی و فرایندهایی مانند نفوذ مواد مغذی و مواد زائد حاصل از متابولیسم سلولی اغلب به علت اندازه منافذ کوچک داربست‌های الکتروریسی شده محدود می‌شود. چگالی منافذ و اندازه منافذ داربست‌های الکتروریسی شده را می‌توان با تنظیم پارامترهای فرایند در طول تولید الیاف کنترل کرد [۴۵-۴۷]. محدوده اندازه نانو، برخلاف الیافی با قطر بزرگ‌تر، چسبندگی و تکثیر سلول را بهبود می‌بخشد [۴۸، ۴۹].

Soliman و همکاران مشاهده کردند، از میان سه قطر مختلف الیاف PCL شامل ۲/۶، ۵/۲ و ۵/۳ μm چسبندگی و دوام سلول‌های بنیادی مزانشیمی موش (mTERT-MSC) در قطر الیاف ۲/۶ μm بیشتر بود [۵۰]. به غیر از کنترل پارامترهای فیزیکی در طول تولید داربست‌های الکتروریسی شده، عمل‌آوری پس از فرایند ساخت مانند، شست‌وشوی نمک یا روش شست‌وشوی الیاف فداشونده برای افزایش تخلخل استفاده می‌شود. در این روش، ذرات نمک یا برخی انواع دیگر پلیمرهای فداشونده در ابتدا اضافه شده و پس از ایجاد شبکه پلیمری، حل شده یا شسته می‌شوند [۴۷، ۵۱]. با وجود این، اشکالات عمده این روش شامل عدم توانایی در دقت بسیار زیاد کنترل رهایش ذرات نمک است. از این‌رو، باعث توزیع نایکنواخت منافذ و در نتیجه پراکندگی ناهمگن سلول می‌شود. در کنار حل کردن پلیمرها یا ذرات فداشونده یا الکتروریسی هم‌زمان که مرسوم هستند، الکتروریسی برودتی شامل خشکاندن انجمادی (lyophilizing) است که در آن بلورهای یخ در طول فرایند الکتروریسی منافذی با اندازه



شکل ۳- روش‌هایی مربوط به ادغام میکرونی سلولی (microintegration) با استفاده از پیکرندی مویرگی جانبی برای الکتروریسی پلیمر و الکتروافشاندن سلول‌ها: (الف) روی صفحه‌ای مسطح که در جهت X-Y در حال حرکت است و (ب) روی درام دوار در حال حرکت در راستای خطی.

ساختند و افزایش قابل توجهی در مقدار اندوتلیال‌زایی و سطح نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیال را در مقایسه با پیوندهای کنترل گزارش کردند [۶۷،۶۸].

Zheng و همکاران، PCL الکتروریسی شده پوشش یافته با مولکول حاوی (RGD) اسپاریک اسید-گلیسین-آرژنین را بررسی کردند و دریافتند، مقدار اندوتلیال‌زایی و نفوذ سلولی را افزایش می‌دهد در حالی که مقدار بازبودن را بهبود می‌بخشد [۶۹].

لایه SMC و ECM حمایت‌کننده برای جایگزینی استحكام پلیمر از دست رفته در تخریب ضروری است. عروق جدید نهایی قادر به حمایت کامل از بارگذاری فیزیولوژی است و نیز قادر به رشد، ترمیم و تغییر حالت مشابه بافت طبیعی است. کل این مراحل به قابلیت سلول‌ها به جمع شدن در سطح پیوند و مهاجرت در دیواره پیوند بستگی دارد بنابراین به تخلخل داربست و قابلیت فضای خالی برای نفوذ و تکثیر سلولی و تشکیل بافت متکی است. برای داربست‌های الکتروریسی شده، داشتن منافذ با اندازه مناسب که باعث تسهیل نفوذ سلولی شود، یک چالش است. محصولات در سه بعد نسبتاً متراکم هستند با اندازه تخلخل محدود به فضای خالی نانوالیافی روی هم افتاده که می‌تواند نفوذ سلولی را مهار کند و مقدار ECM ته‌نشین شده را محدود کند [۷۰]. Ju و همکاران نشان دادند، قطر الیاف الکتروریسی شده $< 1 \text{ mm}$ نفوذ SMCs را مهار می‌کند و توسعه پیوند دولایه برای ارائه تخلخل کافی را ضروری می‌کند [۳۲]. در مطالعه الیاف الکتروریسی شده PCL با جهت‌گیری تصادفی، Lowery و همکاران از تخلخل‌سنجی حیوه استفاده کردند تا نشان دهند، پیک قطر تخلخل به‌طور خطی با قطر لیف با ضریب $3/44$ ($R_2 = 0/97$) در تعادل است [۷۱]. این به معنی این است که الیاف الکتروریسی شده همگن با جهت‌های تصادفی با قطر 1 mm سازه‌ای با بیشترین قطر تخلخل $3/44 \text{ mm}$ (کوچک‌تر از متوسط قطر سلول گرد $20-5 \text{ mm}$) ایجاد می‌کند [۷۱، ۷۲]. پیوندهای PCL الکتروریسی شده Moeller و Walpoth که با سلول‌های بذرافشانی نشده بودند با قطر لیف $2/2-1/9 \text{ mm}$ (یک اندازه تخلخل $6/5-7/6 \text{ mm}$ تخمین زده شده) در بدن کاشته شد و پیوندها به‌طور کامل باز بودند، با درشت‌خوارها و فیبروبلاست‌ها نفوذ داده شدند و پس از ۱۲ هفته به‌طور کامل با لایه اندوتلیال پوشیده شدند. افزون بر این، پیوند PCL الکتروریسی شده، نفوذ سلولی بیشتر و پوشش سریع‌تر اندوتلیال (۹۷٪ در ۶ هفته) را در مقایسه با پیوند ePTFE معمولی مهار کرد (به احتمال زیاد به دلیل افزایش میل سلولی برای مواد الکتروریسی شده) [۵۷]. جالب توجه که این گروه همچنین پیوندهای PCL الکتروریسی شده دولایه شامل لایه با تخلخل کمتر (قطر الیاف $0/83 \text{ mm}$) و لایه متخلخل‌تر (قطر الیاف $2/21 \text{ mm}$) را بررسی کردند [۷۳]. روش‌های ترکیبی مختلفی برای افزایش اندازه تخلخل بدون افزایش قطر الیاف در داربست‌های الکتروریسی شده، بررسی شده‌اند که شامل دولایه (bilayers)، شست‌وشوی نمک، الیاف فداشونده، امپدانس جریان هوا و ریسندگی برودتی است [۷۷-۷۲، ۷۰، ۵۹، ۳۲، ۵۳، ۵۴].

منبع‌بایی انواع سلول‌های لازم سلول‌های بنیادی در داربست‌های لوله‌ای الکتروریسی شده

چالش دیگری که با مهندسی بافت جایگزین‌های رگ خونی باقی مانده

مکانیکی مطلوب هستند، اما معمولاً خواص چسبندگی، گسترش، مهاجرت و تکثیر سلولی آن‌ها نسبتاً ضعیف است. این خواص سطحی ضعیف از این واقعیت نشأت می‌گیرد که بسیاری از حلال‌های استفاده شده در فرایند الکتروریسی دارای سمیت سلولی هستند و آن‌ها سطوح داربست را نسبت به سلول‌ها غیر چسبیده می‌کنند. خوشبختانه، اثر سمی حلال را می‌توان با جداکردن کامل حلال از بین برد و خواص سطح می‌تواند با استفاده از برخی مولکول‌های زیست‌فعال یا انواع دیگر اصلاحات بهبود داده شود. روش معمول برای اصلاح سطح نانوالیاف شامل عملیات پلازما [۵۴]، اصلاح شیمیایی مرطوب، پلیمرشدن سطح پیوند و الکتروریسی هم‌زمان عوامل سطح فعال با پلیمرهاست [۵۵، ۵۶].

پیشگیری از ترومبوز و انسداد

علت اصلی شکست TEVG در گردش خون فعال به علت ترومبوز یا تنگ‌شدن مجراست. ترومبوز پیوند اغلب به علت جریان خون متلاطم یا یک سطح مجرای ترومبوژنز است. تنگی پیوند مشکلی مزمن‌تر است و اغلب هم به علت دوره‌های عود ترومبوز جزئی پیوند که به باریک‌شدن مجرا منجر می‌شود و نیز هیپرپلازی انتیماست. هیپرپلازی انتیما علل مختلف از جمله عدم انطباق بین پیوند و عروق طبیعی و حالت‌های طولانی مدت التهاب دارد [۴۰، ۵۷]. هدف اصلی از TEVG به‌طور منطقی طراحی شده، کاهش بروز انسداد پیوند هم به سبب ترومبوز و هم تنگی برای فعال کردن خون‌رسانی دیستال مناسب و توسعه عروق جدید است. راه کارهای استفاده شده برای به حداقل رساندن ترومبوز پیوند شامل استفاده از مواد داربست مقاوم در برابر ترومبوز که به‌طور تجربی تعیین شده‌اند، پلیمرهای همراه با داروی ضدپلاکت یا ضدانعقاد، اصلاح شیمیایی سطح مجرای TEVG و تسریع ایجاد لایه‌های اندوتلیال هم‌ریز است. سطوح PCL الکتروریسی شده در برابر ترومبوز مقاوم است و تولید لایه EC هم‌ریز در اولین ۶ تا ۱۲ هفته پس از کاشت سریع‌تر از آنچه در پیوندهای ePTFE دیده می‌شود، نشان داده شده است [۴۰، ۵۷].

با وجود این، اکثر مواد دیگر که کاشته شده‌اند، شامل اصلاح مواد یا سطح مجرا مانند بذرافشانی سلول، اتصال سطح مجرا هیپارین یا مهارکننده ترومبین یا ترکیب پلیمرهای ضد ترومبوژنز (کلاژن، الاستین مصنوعی یا پلیمرهای حاوی MPC) به داربست هستند [۶۳-۳۸، ۵۸]. در حالت مطلوب، TEVG باید در برابر ترومبوز مقاومت کند تا زمانی که سلول‌ها از بافت عروقی مجاور بتوانند مهاجرت کنند و لایه مجرای هم‌ریز تشکیل دهند [۶۴]. در واقع، وجود تک‌لایه سلول‌های EC پیوسته، مؤثرترین و طولانی‌مدت‌ترین راه کار برای مقاومت در برابر ترومبوز فراهم می‌کند. بنابراین، هر سازه TEVG باید به‌طور ایده‌آل توسعه سریع لایه EC را تشویق کند. یکی از مزیت‌های قابل توجه TEVG الکتروریسی شده این است که نانوالیاف از ساختار کلاژن فیبری در ECM طبیعی تقلید می‌کنند و در نتیجه مهاجرت و تکثیر سریع EC در حالی که فنوتیپ‌های سلولی را حفظ می‌کنند، ترویج می‌دهند [۶۵، ۶۶]. در تلاش برای تسریع اندوتلیال‌زایی، پژوهشگران پیوندهای PCL الکتروریسی شده ($0/7 \text{ mm}$ قطر داخلی) شامل پپتید CAG (cysteine-alanine-glycine) را

زیست‌فعالی و ضدانعقادی داشته باشد. پژوهش‌های گسترده‌ای روی داربست‌های الکتروریسی شده در سال‌های اخیر انجام شده است. با وجود این، TEVG قابل کاشت در بدن انسان با داربست الکتروریسی شده هنوز هم باید به‌دست آورده شود. تنها تعداد محدودی از مطالعات وجود دارد که به بررسی داربست‌های الکتروریسی شده بذرافشانی شده با سلول یا داربست‌های الکتروریسی شده بدون سلول در حیوانات پرداخته‌اند و هیچ کدام به آزمون‌های بالینی نزدیک نشده‌اند. در آزمون‌های برون‌تنی (in vitro)، با استفاده از حلقه جریان سیال ضربان دار، جریان خون واقعی در رگ‌ها شبیه‌سازی می‌شود و می‌تواند برای ارزیابی عملکرد داربست و پیوندهای عروقی مهندسی بافت شده پیش از مطالعات حیوانی استفاده شود تا ریسک شکست کمینه شود و ترکیب و خواص TEVG طراحی شده با الکتروریسی مواد مختلف بهینه شود.

از آنجا که از نیازهای اولیه برای TEVG، طراحی داربستی ضدلخته و توانا در ترویج بازسازی عروق است، کارهای آینده باید شامل کاشت طولانی مدت با مطالعات کامل در مورد سلول‌سازی، نحوه برهم‌کنش سلول-داربست و تولید ECM باشد.

در حالی که برخی از محدودیت‌های ذاتی داربست‌های الکتروریسی شده مانند اندازه منافذ کافی، پیوست و گسترش سلولی ضعیف وجود دارد، اما، می‌توان با استفاده از روش‌های اصلاح سطح مختلف پس از ساخت بر این محدودیت‌ها غلبه کرد. این امکان نیز وجود دارد که با استفاده از داربست‌های هیبریدی و ترکیبی از الکتروریسی چند لایه هم‌زمان یا در ساختار چندلایه، بر برخی از این محدودیت‌ها غلبه کرد. با وجود این، مهم است که برای غلبه بر بسیاری از این محدودیت‌ها به‌ویژه موضوع افزایش تخلخل با حداقل تأثیر بر قطر الیاف داربست بررسی‌های بیشتر انجام شود. الکتروفشاندن هم‌زمان سلول‌ها با الیاف موفقیت‌آمیز بوده است و چشم‌انداز قوی برای استفاده در مهندسی بافت پیوند عروقی دارد. استفاده از سلول‌های بنیادی و سلول‌های پیش‌ساز در داربست الکتروریسی و تمایز آن‌ها در محل به سلول‌های مختلف عروق مانند ECs یا SMCs به‌طور بالقوه می‌تواند موضوع منبع سلولی را حل کند و به پژوهش‌های بیشتری نیاز دارد.

به‌طور خلاصه روش الکتروریسی قابلیت بسیار زیادی برای پاسخ‌گویی به داربست مناسب برای TEVG نیاز دارد. با وجود این، پژوهش‌های بیشتری مورد نیاز است تا بتوان استانداردی طلایی برای کاشتنی انسانی عروق خونی مهندسی بافت شده با اندازه متوسط و کوچک تدوین کرد.

است، نیاز به اندوتلیال، عضله صاف و سایر منابع سلولی ضروری است [۴۳]. سلول‌های بنیادی و پیش‌ساز، به‌عنوان راه حلی بالقوه برای مسئله منبع سلول پدید آمده است. بررسی قابلیت استفاده مستقیم از سلول‌های بنیادی در داربست‌های الکتروریسی شده و تمایز آن‌ها به سلول‌های عروقی مختلف پس از بذرافشانی در داربست برای مجراهای مهندسی بافت شده، می‌تواند مشکل منبع سلول را حل کند. مطالعه‌ای که با سلول‌های بنیادی مشتق شده از بافت چربی انسانی (human adipose-derived stem cells) سروکار داشته را Zonari و همکاران گزارش کردند [۷۸]. هدف نویسندگان، ارتقای تشکیل شبکه‌ای عروقی با استفاده از سلول‌های اندوتلیال تمایز یافته برای مهندسی بافت استخوان بود. آن‌ها مشی الکتروریسی شده از پلی (۳-هیدروکسی بوتیرات-کو-۳-هیدروکسی والرات) و پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها ایجاد کردند که پلیمرهای زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر به منظور کمک به تمایز سلول‌های بنیادی به EC بودند. با کشت در محیط حاوی VEGF و bFGF، آن‌ها تمایز بهبود یافته و بیان مارکرهای EC به‌عنوان مثال vWF و VE-cadherin را با استفاده از این داربست‌ها نشان دادند. در مطالعه جالب دیگر، Zhang و همکاران [۷۹]، MSCs مشتق شده از مغز استخوان را در داربست‌های پلی‌پروپیلن کربنات (PPC) الکتروریسی شده (۲ mm قطر مجرا) کشت دادند و آن‌ها را با استفاده از SEM و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اتوزین (H&E) بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند، در روز ۱۴ سلول‌ها به‌خوبی در داربست یکپارچه شدند و به شکل‌گیری شبکه سلولی سه‌بعدی منجر شدند که یادآوری می‌کند، سلول‌های عضله‌ای صاف تعامل مطلوب با داربست PPC مصنوعی داشته است. بر اساس بیان و رنگ‌آمیزی نیتریک اکسید سنتتاز اندوتلیال (endothelial nitric oxide synthase)، آن‌ها به این نتیجه رسیدند که سلول‌های بذرافشانی شده بر سطح داخلی قادر به مهاجرت به داخل داربست بوده است.

نتیجه‌گیری

الکتروریسی به روشی محبوب برای ساخت داربست‌های مهندسی بافت تبدیل شده است و قابلیت بسیار زیادی برای ساخت داربست TEVG با پیچیدگی ساختاری و عملکردی مورد نیاز دارد. این پیوند باید ساختار سه‌لایه با استحکام مکانیکی کافی و نیز خواص زیست‌سازگاری،

مراجع

1. Mensah G.A., et al., Comparable estimates of mortality and trends for cardiovascular diseases including congenital heart disease in 21 world regions in 1990 and 2010: The global burden of diseases, injuries and risk factors study, *J. Am. College Cardiol.*, 61, 10, 2013.
2. Dolgin E., Taking tissue engineering to heart, *Nature Medicine*, 17, 1032-1035, 2011.
3. Gong Z. and Niklason L.E., Blood vessels engineered from human cells, *Trends Cardiovas. Med.*, 16, 153-156, 2006.
4. Bouten C., et al., Substrates for cardiovascular tissue engineering, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 63, 221-241, 2011.
5. Wise S.G., et al., A multilayered synthetic human elastin/

- polycaprolactone hybrid vascular graft with tailored mechanical properties, *Acta Biomater.*, 7, 295-303, 2011.
6. Veith F.J., et al., Preoperative saphenous venography in arterial reconstructive surgery of the lower extremity, *Surgery*, 85, 253-256, 1979.
 7. McKenna K.A., et al., Mechanical property characterization of electrospun recombinant human tropoelastin for vascular graft biomaterials, *Acta Biomater.*, 8, 225-233, 2012.
 8. Steinhoff G., et al., Tissue engineering of pulmonary heart valves on allogenic acellular matrix conduits in vivo restoration of valve tissue, *Circulation*, 102, Iii-50-Iii-55, 2000.
 9. Dahl S.L., et al., Readily available tissue-engineered vascular grafts, *Sci. Translat. Med.*, 3, 68ra9-68ra9, 2011.
 10. De bakey M.E., et al., The fate of Dacron vascular grafts, *Archives of Surgery*, 89, 755-782, 1964.
 11. Ratcliffe A., Tissue engineering of vascular grafts, *Matrix Biol.*, 19, 353-357, 2000.
 12. McClure M., et al., Bioengineered vascular grafts: Improving vascular tissue engineering through scaffold design, *J. Drug Deliv. Sci. Tec.*, 21, 211-227, 2011.
 13. Shadwick R.E., Mechanical design in arteries, *J. Experiment. Biolog.*, 202, 3305-3313, 1999.
 14. Krawiec J.T. and Vorp D.A., Adult stem cell-based tissue engineered blood vessels: A review, *Biomaterials*, 33, 3388-3400, 2012.
 15. Barnes C.P., et al., Nanofiber technology: Designing the next generation of tissue engineering scaffolds, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 59, 1413-1433, 2007.
 16. Greenwald S. and C. Berry, Improving vascular grafts: The importance of mechanical and haemodynamic properties, *J. Patholog.*, 190, 292-299, 2000.
 17. Bhardwaj N. and Kundu S.C., Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique, *Biotechnolog. Adv.*, 28, 325-347, 2010.
 18. Sill T.J. and von Recum H.A., Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering, *Biomaterials*, 29, 1989-2006, 2008.
 19. Soliman S., et al., Controlling the porosity of fibrous scaffolds by modulating the fiber diameter and packing density, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 96, 566-574, 2011.
 20. Gaumer J., et al., Structure-function relationships and source-to-ground distance in electrospun polycaprolactone, *Acta Biomater.*, 5, 1552-1561, 2009.
 21. Heydarkhan-Hagvall S., et al., Three-dimensional electrospun ECM-based hybrid scaffolds for cardiovascular tissue engineering, *Biomaterials*, 29, 2907-2914, 2008.
 22. Simpson D.G. and Bowlin G.L., Tissue-engineering scaffolds: Can we re-engineer mother nature? *Expert Rev. Med. Devices*, 3, 9-15, 2006.
 23. Kidoaki S., Kwon I.K., and Matsuda T., Mesoscopic spatial designs of nano-and microfiber meshes for tissue-engineering matrix and scaffold based on newly devised multilayering and mixing electrospinning techniques, *Biomaterials*, 26, 37-46, 2005.
 24. Stitzel J., et al., Controlled fabrication of a biological vascular substitute, *Biomaterials*, 27, 1088-1094, 2006.
 25. Ekaputra A.K., et al., Combining electrospun scaffolds with electrosprayed hydrogels leads to three-dimensional cellularization of hybrid constructs, *Biomacromolecules*, 9, 2097-2103, 2008.
 26. Zhu Y., et al., Macro-alignment of electrospun fibers for vascular tissue engineering, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.*, 92, 508-516, 2010.
 27. Sato M., et al., Small-diameter vascular grafts of Bombyx mori silk fibroin prepared by a combination of electrospinning and sponge coating, *Mater. Lett.*, 64, 1786-1788, 2010.
 28. Uttayarat P., et al., Micropatterning of three-dimensional electrospun polyurethane vascular grafts, *Acta Biomater.*, 6, 4229-4237, 2010.
 29. Soletti L., et al., A bilayered elastomeric scaffold for tissue engineering of small diameter vascular grafts, *Acta Biomater.*, 6, 110-122, 2010.
 30. Nieponice A., et al., In vivo assessment of a tissue-engineered vascular graft combining a biodegradable elastomeric scaffold and muscle-derived stem cells in a rat model, *Tissue Eng. Part A*, 16, 1215-1223, 2010.
 31. He W., et al., Pericyte-based human tissue engineered vascular grafts, *Biomaterials*, 31, 8235-8244, 2010.
 32. Ju Y.M., et al., Bilayered scaffold for engineering cellularized blood vessels, *Biomaterials*, 31, 4313-4321, 2010.
 33. Vaz C., et al., Design of scaffolds for blood vessel tissue engineering using a multi-layering electrospinning technique, *Acta Biomater.*, 1, 575-582, 2005.
 34. Huang C., et al., Electrospun collagen-chitosan-TPU nanofibrous scaffolds for tissue engineered tubular grafts, *Colloid. Surf. B: Biointerfaces*, 82, 307-315, 2011.
 35. Garg K., et al., Angiogenic potential of human macrophages

- on electrospun bioresorbable vascular grafts, *Biomed. Mater.*, 4, 031001, 2009.
36. Garg K., Ryan J., and Bowlin G., Modulation of mast cell adhesion, proliferation, and cytokine secretion on electrospun bioresorbable vascular grafts, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 97, 405-413, 2011.
 37. He W., et al., Tubular nanofiber scaffolds for tissue engineered small-diameter vascular grafts, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 90, 205-216, 2009.
 38. Soletti L., et al., In vivo performance of a phospholipid-coated bioerodable elastomeric graft for small-diameter vascular applications, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 96, 436-448, 2011.
 39. Boland E.D., et al., Utilizing acid pretreatment and electrospinning to improve biocompatibility of poly(glycolic acid) for tissue engineering, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.*, 71, 144-152, 2004.
 40. de Valence S., et al., Long term performance of polycaprolactone vascular grafts in a rat abdominal aorta replacement model, *Biomaterials*, 33, 38-47, 2012.
 41. Chen, F., et al., Biocompatibility, alignment degree and mechanical properties of an electrospun chitosan-P (LLA-CL) fibrous scaffold, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, 20, 2117-2128, 2009.
 42. McClure M.J., et al., The use of air-flow impedance to control fiber deposition patterns during electrospinning, *Biomaterials*, 33, 771-779, 2012.
 43. Stegemann J.P., Kaszuba S.N., and Rowe S.L., Review: Advances in vascular tissue engineering using protein-based biomaterials, *Tissue Eng.*, 13, 2601-2613, 2007.
 44. Stankus J.J., et al., Microintegrating smooth muscle cells into a biodegradable, elastomeric fiber matrix, *Biomaterials*, 27, 735-744, 2006.
 45. Powell H. and Boyce S., Fiber density of electrospun gelatin scaffolds regulates morphogenesis of dermal-epidermal skin substitutes, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 84, 1078-1086, 2008.
 46. Liao S., et al., Biomimetic electrospun nanofibers for tissue regeneration, *Biomed. Mater.*, 1, R45, 2006.
 47. Khorshidi S., et al., A review of key challenges of electrospun scaffolds for tissue-engineering applications, *J. Tissue Eng. Rregenerat. Med.*, 2015.
 48. Chen M., et al., Role of fiber diameter in adhesion and proliferation of NIH 3T3 fibroblast on electrospun polycaprolactone scaffolds, *Tissue Eng.*, 13, 579-587, 2007.
 49. Badami A.S., et al., Effect of fiber diameter on spreading, proliferation, and differentiation of osteoblastic cells on electrospun poly(lactic acid) substrates, *Biomaterials*, 27, 596-606, 2006.
 50. Soliman S., et al., Multiscale three-dimensional scaffolds for soft tissue engineering via multimodal electrospinning, *Acta Biomater.*, 6, 1227-1237, 2010.
 51. Annabi N., et al., Controlling the porosity and microarchitecture of hydrogels for tissue engineering, *Tissue Eng. Part B: Rev.*, 16, 371-383, 2010.
 52. Simonet M., et al., Ultraporous 3D polymer meshes by low-temperature electrospinning: use of ice crystals as a removable void template, *Polym. Eng. Sci.*, 47, 2020-2026, 2007.
 53. López-Rubio A., et al., Encapsulation of living bifidobacteria in ultrathin PVOH electrospun fibers, *Biomacromolecules*, 10, 2823-2829, 2009.
 54. Solouk A., et al., Application of plasma surface modification techniques to improve hemocompatibility of vascular grafts: A review, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 58, 311-327, 2011.
 55. Yoo H.S., Kim T.G., and Park T.G., Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 61, 1033-1042, 2009.
 56. Solouk A., et al., Surface modification of POSS-nanocomposite biomaterials using reactive oxygen plasma treatment for cardiovascular surgical implant applications, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 58, 147-161, 2011.
 57. Pektok E., et al., Degradation and healing characteristics of small-diameter poly(ϵ -caprolactone) vascular grafts in the rat systemic arterial circulation, *Circulation*, 118, 2563-2570, 2008.
 58. Ye L., et al., The in vitro and in vivo biocompatibility evaluation of heparin-poly(ϵ -caprolactone) conjugate for vascular tissue engineering scaffolds, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 100, 3251-3258, 2012.
 59. Lu G., et al., Design and preparation of polyurethane-collagen/heparin-conjugated polycaprolactone double-layer bionic small-diameter vascular graft and its preliminary animal tests, *Chinese Med. J.*, 126, 1310-1316, 2013.
 60. Hashi C.K., et al., Antithrombogenic property of bone marrow mesenchymal stem cells in nanofibrous vascular grafts, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 11915-11920, 2007.
 61. Hashi C.K., et al., Antithrombogenic modification of small-diameter microfibrillar vascular grafts, *Arterioscle., Thromb.*,

- Vasc. Biol.*, 30, 1621-1627, 2010.
62. Tillman B.W., et al., The *in vivo* stability of electrospun polycaprolactone-collagen scaffolds in vascular reconstruction, *Biomaterials*, 30, 583-588, 2009.
 63. Hong Y., et al., A small diameter, fibrous vascular conduit generated from a poly(ester urethane) urea and phospholipid polymer blend, *Biomaterials*, 30, 2457-2467, 2009.
 64. Cleary M.A., et al., Vascular tissue engineering: The next generation, *Trends in Molecul. Med.*, 18, 394-404, 2012.
 65. Mo X., et al., Electrospun P (LLA-CL) nanofiber: A biomimetic extracellular matrix for smooth muscle cell and endothelial cell proliferation, *Biomaterials*, 25, 1883-1890, 2004.
 66. Xu C., et al., Electrospun nanofiber fabrication as synthetic extracellular matrix and its potential for vascular tissue engineering, *Tissue Eng.*, 10, 1160-1168, 2004.
 67. Kuwabara F., et al., Novel small-caliber vascular grafts with trimeric peptide for acceleration of endothelialization, *The Ann. Thorac. Surg.*, 93, 156-163, 2012.
 68. Kato R., et al., Peptide array-based interaction assay of solid-bound peptides and anchorage-dependant cells and its effectiveness in cell-adhesive peptide design, *J. Biosci. Bioeng.*, 101, 485-495, 2006.
 69. Zheng W., et al., Endothelialization and patency of RGD-functionalized vascular grafts in a rabbit carotid artery model, *Biomaterials*, 33, 2880-2891, 2012.
 70. Pham Q.P., Sharma U., and Mikos A.G., Electrospun poly(ϵ -caprolactone) microfiber and multilayer nanofiber/microfiber scaffolds: Characterization of scaffolds and measurement of cellular infiltration, *Biomacromolecules*, 7, 2796-2805, 2006.
 71. Lowery J.L., Datta N., and Rutledge G.C., Effect of fiber diameter, pore size and seeding method on growth of human dermal fibroblasts in electrospun poly(ϵ -caprolactone) fibrous mats, *Biomaterials*, 31, 491-504, 2010.
 72. Nam J., et al., Improved cellular infiltration in electrospun fiber via engineered porosity, *Tissue Eng.*, 13, 2249-2257, 2007.
 73. De Valence S., et al., Advantages of bilayered vascular grafts for surgical applicability and tissue regeneration, *Acta Biomater.*, 8, 3914-3920, 2012.
 74. Baker B.M., et al., The potential to improve cell infiltration in composite fiber-aligned electrospun scaffolds by the selective removal of sacrificial fibers, *Biomaterials*, 29, 2348-2358, 2008.
 75. McClure M.J., Simpson D.G., and Bowlin G.L., Tri-layered vascular grafts composed of polycaprolactone, elastin, collagen, and silk: Optimization of graft properties, *J. Mechan. behavior Biomed. Mater.*, 10, 48-61, 2012.
 76. Leong M.F., et al., In vitro cell infiltration and in vivo cell infiltration and vascularization in a fibrous, highly porous poly(D,L-lactide) scaffold fabricated by cryogenic electrospinning technique, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 91, 231-240, 2009.
 77. Wu W., Allen, R.A., and Wang Y., Fast-degrading elastomer enables rapid remodeling of a cell-free synthetic graft into a neoartery, *Nature Med.*, 18, 1148-1153, 2012.
 78. Zonari A., et al., Endothelial differentiation of human stem cells seeded onto electrospun polyhydroxybutyrate/polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate fiber mesh, *PLOS One*, 7, e35422, 2012.
 79. Zhang J., et al., Engineering of vascular grafts with genetically modified bone marrow mesenchymal stem cells on poly(propylene carbonate) graft, *Artificial Organs*, 30, 898-905, 2006.

Electrospun Nanofibrous Scaffolds for Regeneration of Diseased Vessels

Sahar Jafari¹, Davoud Sadeghi¹, Maryam Yousefzadeh², and Atefeh Solouk¹

1. Department of Biomedical Engineering, 2. Department of Textile Engineering; Amirkabir University of Technology,
P.O. Box: 15875-4413, Tehran, Iran

Abstract

There is an increasing demand for tissue-engineered vascular grafts (TEVGs) with long-term effectiveness in order to replace or bypass the diseased vessels. Ideal TEVGs should be biocompatible, blood-compatible and have resistance against aneurysm dilation as well as being easily implantable in the body. Tissue engineering field provides an opportunity for designing and fabrication of ideal synthetic grafts, and so far, researchers have studied several materials and methods for this aim. For example, some TEVGs have been made from decellularized natural tissues, biopolymers, and biodegradable synthetic polymers. However, the researchers still encounter some challenges including true mimicking the mechanical properties of natural tissues and enough neo-tissue ingrowth. Electrospinning is a conventional technique that has a great potential to solve these problems. In this paper, the performed studies on the fabrication of electrospun vascular scaffolds have been reviewed.

Keywords

vascular graft,
tissue engineering,
electrospinning,
vascular scaffolds

(*) Address Correspondence to A. Solouk, Email: atefeh.solouk@aut.ac.ir