

## تأثیر نانوذرات بایوسرامیکی دی کلسیم فسفات دی هیدرات بر نانوالیاف پلی کاپرولاکتون الکترورسی شده با هدف مهندسی بافت استخوان

میلااد انگورج تقوی<sup>۱\*</sup>، سید محمود ربیعی<sup>۱</sup>، محسن جهانشاهی<sup>۲</sup>، فاطمه نصیری<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشکده مهندسی مواد و صنایع، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران  
<sup>۲</sup> پژوهشکده فناوری نانو، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران  
<sup>۳</sup> دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران  
<sup>۴</sup> دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

\* Milad.a.taghavi133@gmail.com

### چکیده:

نانوالیاف کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون (PCL)/ دی کلسیم فسفات دی هیدرات (DCPD) در حلال مناسب کلروفرم/متانول (۷۵:۲۵) با روش الکترورسی تهیه شدند. نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان دهنده یکنواختی مناسب الیاف و عدم نقص گره با تغییر پارامتر الکترورسی می‌باشد. همچنین نتایج نقشه برداری عنصری حضور و توزیع مناسب نانوذرات DCPD در ماتریس PCL تایید می‌کند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری زاویه تماس نشان‌دهنده کاهش زاویه تماس دابست با میانگین قطر الیاف بالاتر در مقایسه با دابست با میانگین قطر الیاف کم‌تر می‌باشد. ارزیابی زیستی (حیات سلولی) با آزمون MTT انجام شد و عدم سمیت داربست‌ها برای سلول‌های لته‌ای انسانی (HGF) آشکار شد. همچنین ترشوندگی و آبدوستی بهتر، شرایط مطلوب‌تری برای چسبندگی، رشد و تکثیر سلول‌ها فراهم کرده است و کامپوزیت زیست‌سازگارتری حاصل شده است. این نتایج نشان می‌دهد که داربست کامپوزیتی PCL-DCPD می‌تواند بستری مناسب برای رشد سلول‌های استخوانی فراهم نماید.

### اطلاعات مقاله:

دریافت: ۵ دی ۱۳۹۷  
 پذیرش: ۲۵ دی ۱۳۹۷

### کلید واژه:

نانوالیاف، پلی کاپرولاکتون (PCL)، دی کلسیم فسفات دی هیدرات (DCPD)، الکترورسی، داربست‌ها

### ۱- مقدمه

الکترورسی به دلیل مشابهت با ساختار طبیعی ماتریکس خارج سلولی<sup>۱</sup> (ECM)، داشتن تخلخل مناسب برای چسبندگی و رشد سلول‌ها، سادگی و سرعت بالای فرآیند مورد استقبال پژوهشگران قرار گرفته است [۱-۴]. تکنیک

در کشور ما سالانه میلیون‌ها نفر دچار آسیب دیدگی و صدمات بافت استخوان می‌شوند. مهندسی بافت استخوان با رویکردی جدید در جهت ترمیم و بهبود بافت آسیب دیده شکل گرفته است. تهیه‌ی داربست‌های نانولیفی به روش

<sup>۱</sup> Extra Cellular Matrix (ECM)



زیست تخریب پذیری می باشند. در حوزه بایومواد سرامیکی، کلسیم فسفات‌هایی مانند هیدروکسی آپاتیت، بتاتری کلسیم فسفات و... به دلیل شباهت ساختاری با فاز معدنی استخوان، هدایت رشد استخوانی و عدم تشکیل واکنش التهابی، توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده‌اند. در زمینه تحقیقاتی بیش‌ترین تمرکز روی کاربرد هیدروکسی آپاتیت بوده ولی با همه مزایای هیدروکسی آپاتیت، به دلیل غیرقابل جذب بودن آن نگرانی‌هایی برای جایگزین شدن کامل بافت استخوان ایجاد کرده است. در این تحقیق از دی کلسیم فسفات دی هیدرات<sup>۸</sup> (براشیت) یا DCPD که حلالیت بیشتری نسبت به هیدروکسی آپاتیت دارد، استفاده شده است. DCPD از سرعت تخریب پذیری بیشتری نسبت به هیدروکسی آپاتیت برخوردار است و پس از مدتی شروع به حل شدن در محیط فیزیولوژیکی بدن می کند و در ضمن این حلالیت، ماتریکس استخوانی متناسب با چسبندگی بهتر سلول‌های استخوانی فراهم می‌سازد [۱۷-۱۳]. از طرفی DCPD همانند سایر سرامیک‌ها به طور ذاتی ترد و شکننده هستند [۱۸]. از این رو برای رفع این مشکل آن‌ها را با پلیمرها که انعطاف پذیری مطلوبی دارند، کامپوزیت می‌کنند. در این تحقیق؛ یک داربست مناسب مشابه ماتریس خارج سلولی با هدف ایجاد یک بستر مناسب مهاجرت، چسبندگی، رشد و تکثیر سلول‌ها تهیه گردید و تاثیر حضور دی کلسیم فسفات دی هیدرات بر نانوالیاف پلی کاپرولاکتون الکتروریسی شده برای مهندسی بافت استخوان مورد مطالعه قرار گرفته است.

الکتروریسی در ساده ترین شکل شامل یک نازل برای خروج سیال پلیمری (سرنگ و پمپ سرنگ)، یک منبع جریان ولتاژ بالا، دو الکتروود مثبت و منفی و صفحه جمع کننده می‌باشد [۷-۵]. با توجه به ساختار کامپوزیتی استخوان که شامل الیاف کلاژنی، آب، هیدروکسی آپاتیت و... می‌باشد، بیومواد مختلفی نظیر پلی لاکتیک اسید<sup>۱</sup>، پلی متیل متا اکریلیت<sup>۲</sup>، پلی کاپرولاکتون<sup>۳</sup> هیدروکسی آپاتیت (HA)<sup>۴</sup>، بتاتری کلسیم فسفات (β-TCP)<sup>۵</sup>، دی کلسیم فسفات و شیشه‌های زیستی<sup>۶</sup> مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۹،۸].

از میان پلیمرهای به کار رفته، پلی کاپرولاکتون (PCL) به عنوان پلی استری با خصوصیات آب گریزی و نقطه ذوب پایین (۶۰°C) دارای زیست سازگاری خوب، خصوصیات مکانیکی عالی (انعطاف پذیری بالا)، فرآیند پذیری آسان و ساده، سرعت زیست تخریب پذیری پایین و محصول حاصل از تخریب آن غیر سمی است [۱۰، ۱۱]. اما مشکل اصلی این پلیمر زیستی، عدم زیست مقلدی<sup>۷</sup> و زیست فعالی لازم برای برهم کنش سلول-داربست می‌باشد [۱۲]. از طرفی این ماده علیرغم داشتن انعطاف پذیری بالا در قیاس با استخوان، استحکام مناسبی ندارد. از این رو ترکیب آن با سرامیک‌هایی که بتواند این خصوصیات را بهبود ببخشد، راه حل مناسبی محسوب می‌شود. کلسیم فسفات‌ها دارای خواص بی نظیری از نظر زیست سازگاری، زیست فعالی و

<sup>1</sup> Poly (lactic acid) (PLA)

<sup>2</sup> Poly (methyl methacrylate) (PMMA)

<sup>3</sup> Poly (ε-caprolactone) (PCL)

<sup>4</sup> Hydroxyapatite (HA)

<sup>5</sup> β- Tricalcium phosphate (β-TCP)

<sup>6</sup> Bioactive glass

<sup>7</sup> Biomimetic

<sup>8</sup> dicalcium phosphate dihydrate (DCPD)



## ۲- فعالیت‌های تجربی

### ۲-۱- مواد

نسبت‌های انجام شده بهینه نسبت حلال‌ها و غلظت پلیمر به ترتیب نسبت ۷۵:۲۵ و ۱۲ درصد وزنی بوده است. (سایر نسبت‌ها در تشکیل الیاف با عدم موفقیت همراه بوده است و صرفاً تعدادی قطرات به سمت صفحه جمع‌کننده پرتاب می‌گردید). در نهایت برای توزیع مناسب نانوذرات DCPD درون پلیمر PCL، محلول به مدت ۲۴ ساعت با سرعت ثابت و در دمای محیط هم‌زده شد تا محلول هم‌ژنی تهیه گردد. همچنین کامپوزیت PCL-DCPD با نسبت ۱۰:۹۰ در حلال کلروفرم و متانول با نسبت ۷۵:۲۵ تهیه شد. کامپوزیت پلیمر/سرامیک همانند قبل برای هم‌ژن شدن به مدت ۲۴ ساعت با سرعت ثابت و در دمای محیط هم‌زده شد.

### ۲-۲-۳- ساخت داربست الیافی با استفاده از

#### الکتروریسی

محلول آماده شده به سرنگ ۲ml با سوزن ۲۲ گیج انتقال پیدا کرد. فاصله بین نوک سوزن تا صفحه جمع‌کننده ۱۸-۱۴cm انتخاب شد. منبع ولتاژ بالا ۱۸ KV به سوزن سرنگ اعمال شد و نرخ جریان ۰/۵ ml/h به پمپ سرنگ در نظر گرفته شد.

### ۲-۲-۴- آزمون میکروسکوپ الکترونی

#### روبشی

مورفولوژی الیاف الکتروریسی شده پس از پوشش آن با ورقه‌ای از طلا، توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (VEGA\TESCAN-XMU- Czech Republic) بررسی گردید. قطر الیاف با استفاده از نرم افزار Image اندازه‌گیری شد. همچنین از طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس برای تایید حضور و توزیع DCPD در پلیمر PCL استفاده شد.

مواد مورد استفاده در انجام این آزمایش شامل: پلیمر پلی‌کاپرولاکتون (PCL) با وزن مولکولی ۸۰,۰۰۰ (no. ۴۴۰۷۴۴) (شرکت Sigma-Aldrich)، بایوسرامیک دی‌کلسیم فسفات دی‌هیدرات (no. ۲۱۴۴, DCPD) و حلال دی‌متیل سولفوکساید<sup>۱</sup> (شرکت Merck آلمان)، حلال‌های کلروفرم و متانول (شرکت میکروطب ایران). پودر MTT<sup>۲</sup>، فسفات بافر سالین<sup>۳</sup> و آنتی‌بیوتیک (شرکت Sigma آمریکا)، سرم جنین گاوی<sup>۴</sup> (شرکت GIBCO آمریکا) می‌باشد. علاوه بر این سلول فیبروبلاست لثه‌ای انسانی<sup>۵</sup> از بانک سلولی ایران تهیه گردید.

### ۲-۲-۲- روش

#### ۲-۲-۱- انتخاب حلال مناسب الکتروریسی

از حلال آلی کلروفرم ( $\text{CHCl}_3$ ) برای انحلال PCL و از حلال قطبی متانول ( $\text{CH}_4\text{O}$ ) برای پراکنده‌سازی مناسب نانوذرات سرامیکی DCPD درون PCL استفاده شد.

#### ۲-۲-۲- ساخت محلول مناسب الکتروریسی

برای تهیه محلول الکتروریسی، حلال‌های کلروفرم و متانول با نسبت ۵۰:۵۰، ۷۵:۲۵ و ۷۵:۲۵ انتخاب و به ظرف شیشه‌ای انتقال پیدا کرد. محلول پلیمر با غلظت ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴ درصد وزنی در حلال با نسبت‌های فوق تهیه گردید. با توجه به

<sup>۱</sup>Dimethyl sulfoxide (DMSO)

<sup>۲</sup>3-3-3-(4,5-Dimethylthiazol-2-YI)-2,5-

Diphenyltetrazolium Bromide (MTT)

<sup>۳</sup> Phosphate-buffered saline (PBS)

<sup>۴</sup> Fetal Bovine Serum (FBS)

<sup>۵</sup> Human gingival fibroblast cells (HGF)



## ۲-۲-۵- آنالیز زاویه تماس

برای تعیین ترشوندگی الیاف، آنالیز زاویه تماس، با رها کردن ۵ میکرولیتر آب مقطر و از سوزن ۲۸ G در مناطق مختلفی از سطوح با استفاده از ابزار اندازه‌گیری زاویه (CA-500M-Iran) صورت پذیرفت.

## ۲-۲-۶- بررسی زیست سازگاری کامپوزیت PCL-DCPD و کشت سلول

برای ارزیابی میزان بقا سلول‌ها روش سنجش تترازولیوم (روش رنگ‌آمیزی MTT) استفاده شد. پودر MTT را با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در PBS تهیه شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری گردید. پس از قراردادن داربست‌ها در چاهک‌های پلیت ۲۴ خانه، سلول‌های فیبروبلاست HGF موجود در مرکز تحقیقات سلولی پژوهشگاه مواد و انرژی با تراکم  $3 \times 10^4$  cell/mL برای هر چاهک روی داربست‌ها کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۰٪ نگهداری شد. (محیط کشت RPMI 1640، حاوی ۱۰٪ سرم FBS و یک درصد آنتی‌بیوتیک (Penicillin/streptomycin)).

پس از گذشت ۲۴ ساعت، محیط کشت حاوی عصاره‌های تحت تیمار از سلول‌ها خارج شده و به هر خانه ۱ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی ۱۰٪ محلول MTT اضافه کرده و به مدت ۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس محیط MTT را خارج کرده و ۱۰۰ میکرولیتر حلال دی‌متیل سولفوکساید اضافه گردید تا کریستال‌های آبی رنگ تشکیل شده در آن حل شوند. بعد از گذشت ۱۵ دقیقه حلال موجود در هر یک از خانه‌ها را پیتاژ

کرده و سپس توسط دستگاه الیزاریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانش شد.

با استفاده از کشت سلول‌های فیبروبلاستی بروی داربست‌های تهیه شده، میزان زیست‌پذیری کامپوزیت‌های PCL-DCPD در مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. خانه‌هایی شامل همین تعداد سلول، اما بدون داربست به عنوان کنترل در نظر گرفته شد.

## ۲-۲-۷- رشد سلول

پس از پوشش‌دهی داربست‌ها با طلا، چسبندگی، رشد و تکثیر سلول‌های HGF قرار گرفته روی داربست‌ها توسط SEM مورد مطالعه قرار گرفتند (تصاویر مربوط با اعمال ولتاژ ۲۰KV تهیه شده‌اند).

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- مشخصه‌یابی داربست کامپوزیتی الکترورسی شده

با توجه به آزمایش‌های اولیه، نسبت غلظت بهینه پلیمر پلی‌کاپرولاکتون جهت الکترورسی ۱۲ درصد وزنی در نظر گرفته شد. این درصد وزنی از PCL در حلال مناسبی از کلروفورم/متانول با نسبت ۲۵:۷۵ حل شده و الکترورسی با این محلول صورت گرفت.

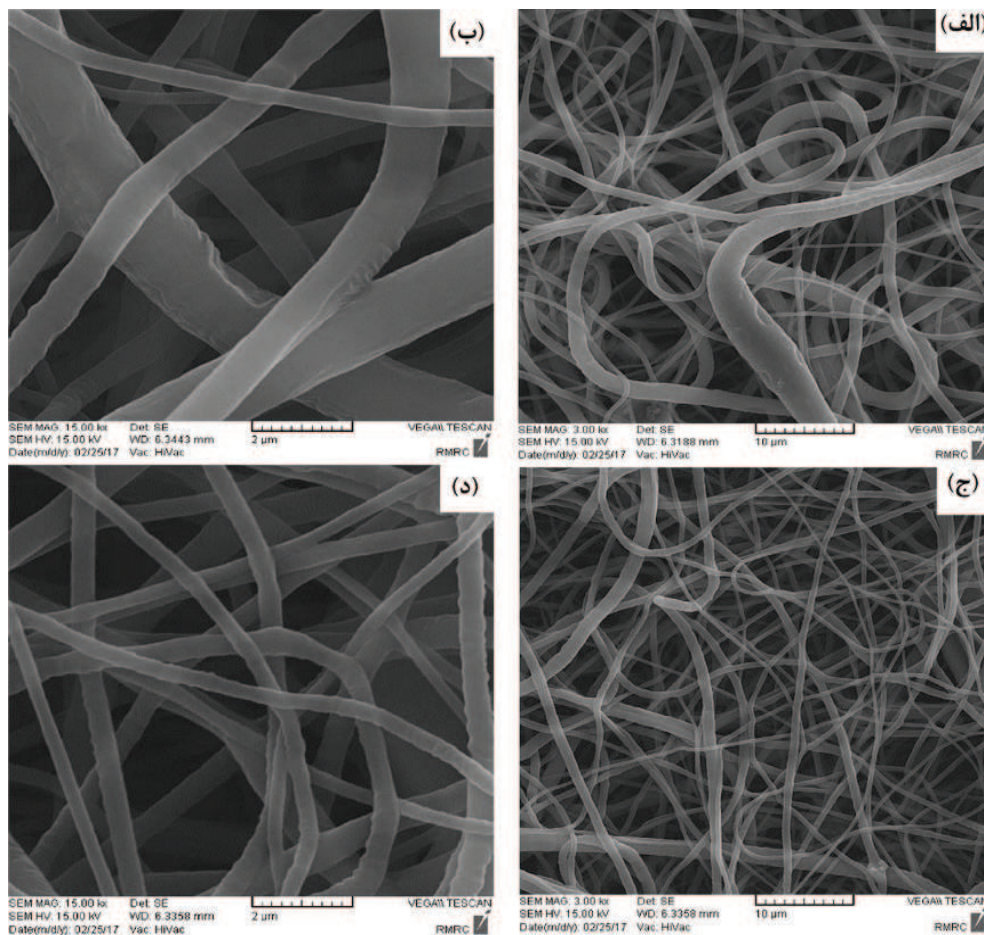
شکل (۱ الف و ب) تصاویر SEM الیاف کامپوزیت PCL-DCPD(90:10) الکترورسی شده را نشان می‌دهد. در این شکل هیچگونه گره و عیبی مشاهده نمی‌شود و الیاف قطری در حدود ۵۰۰-۹۰۰ نانومتر دارند. اگرچه الیاف بدون گره بوده‌اند اما متوسط قطر الیاف زیاد بوده و عدم یکنواختی قطر الیاف نیز دیده شده است. مطابق بررسی‌های انجام



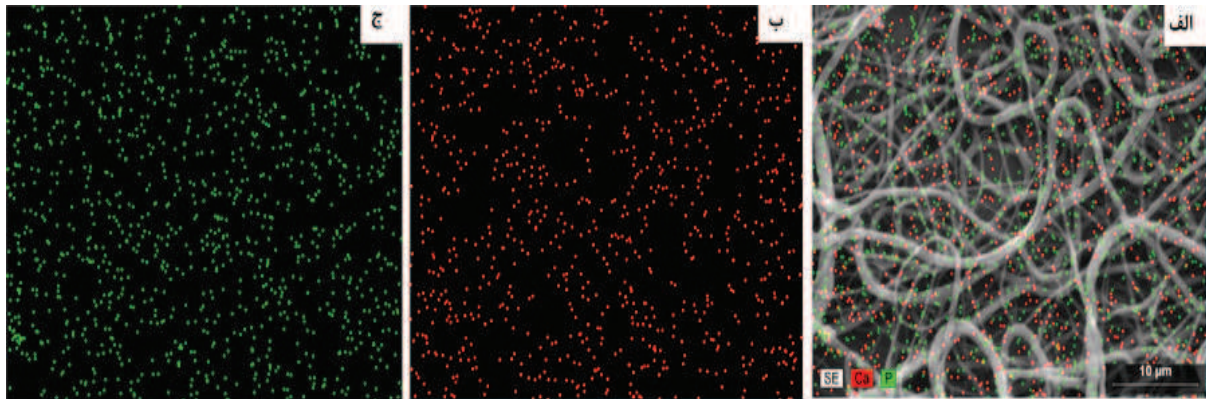
شکل (۲) توزیع مناسب ذرات DCPD را در ماتریس نانولیفی PCL تایید می‌کند. تجزیه و تحلیل نقشه برداری عنصری (EDX) از مکان‌های مختلف الیاف کامپوزیتی نشان می‌دهد؛ عناصر کلسیم و فسفر به طور یکنواخت در الیاف پخش شده‌اند. تولید الیاف بدون نقص گره، لازمه توزیع عنصری مناسب می‌باشد که این خود نشان دهنده اختلاط و توزیع یکنواخت ذرات DCPD با الیاف پلیمری بوده است [۲۰].

شده و گزارش‌های محققین، در ولتاژ و نرخ جریان ثابت می‌توان با افزایش فاصله بین نوک سوزن و صفحه جمع‌کننده، قطر الیاف را کاهش داد [۱۹].

شکل (۱ ج و د) تصاویر SEM الیاف کامپوزیتی PCL-DCPD(90:10) را با قطر متوسطی در حدود ۲۸۰ تا ۴۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. مطابق انتظار، با افزایش فاصله، نرخ جریان و غلظت پلیمر ثابت قطر الیاف کاهش پیدا کرده است. شکل‌گیری الیاف با یکنواختی مناسب و بدون هیچگونه گره همراه بوده است.



شکل ۱- الف و ب) تصویر SEM نانوالیاف کامپوزیت PCL-DCPD(90:10) الکتروریسی شده با پارامتر نرخ جریان ۰/۵ ml/h، ولتاژ ۱۸KV و فاصله ۱۴ cm (ج و د) نرخ جریان ۰/۵ml/h، ولتاژ ۱۸KV و فاصله ۱۸ cm (الف و ج) مقیاس ۱۰ μm و ب و د) مقیاس ۲ μm.



شکل ۲- الف) نقشه برداری عنصری (توزیع مناسب DCPD در ماتریس نانولیفی PCL) ب) کلسیم ج) فسفر در کامپوزیت PCL-DCPD(90:10).

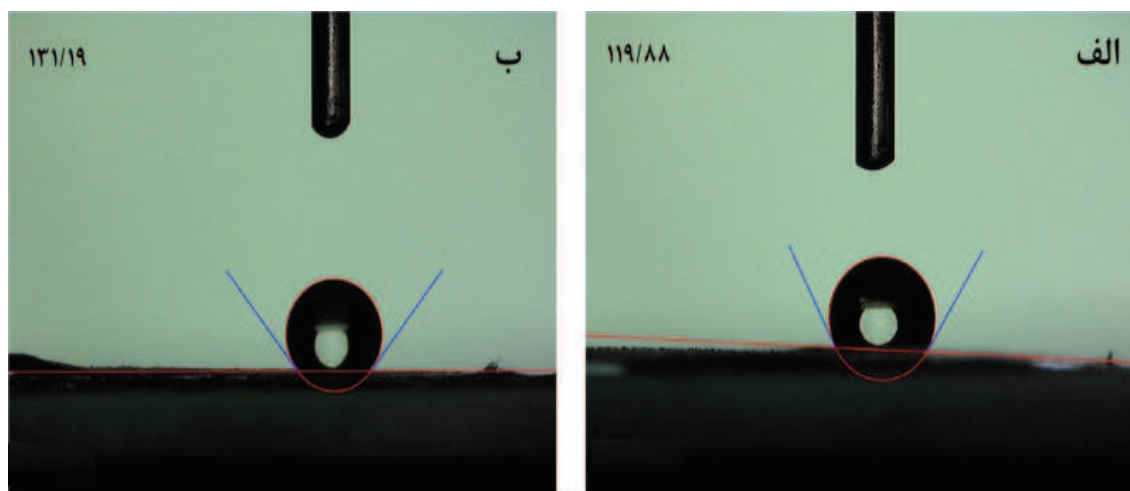
### ۳-۲- نتایج زاویه تماس

ترشوندگی یا آبدوستی الیاف کامپوزیتی تولید شده، با استفاده از زاویه تماس اندازه‌گیری شد. به طور کلی زاویه تماس کمتر به معنای افزایش آبدوستی می‌باشد. از آن جا که PCL پلیمری آب‌گریز است اضافه کردن ذرات DCPD، خواص آبدوستی و زبری سطح الیاف را افزایش می‌دهد. آبدوستی و زبری مناسب می‌تواند محیط مساعد را برای زیست‌تخریب‌پذیری داربست‌ها و چسبندگی سلول‌ها فراهم سازد. همچنین این افزایش، توانایی جذب الیاف کامپوزیتی PCL-DCPD را جهت رشد سلول‌های استخوانی فراهم می‌سازد [۲۱، ۲۲]. نتایج شکل (۳) نشان می‌دهد؛ تغییر میانگین قطر الیاف در میزان زاویه تماس موثر بوده است. به گونه‌ای که کاهش قطر الیاف با افزایش زاویه تماس همراه است (زاویه تماس از  $119/88^\circ$  به  $131/19^\circ$  افزایش می‌یابد). نتایج حاصل از اندازه‌گیری زاویه تماس نشان دهنده بهبود خاصیت ترشوندگی و آب

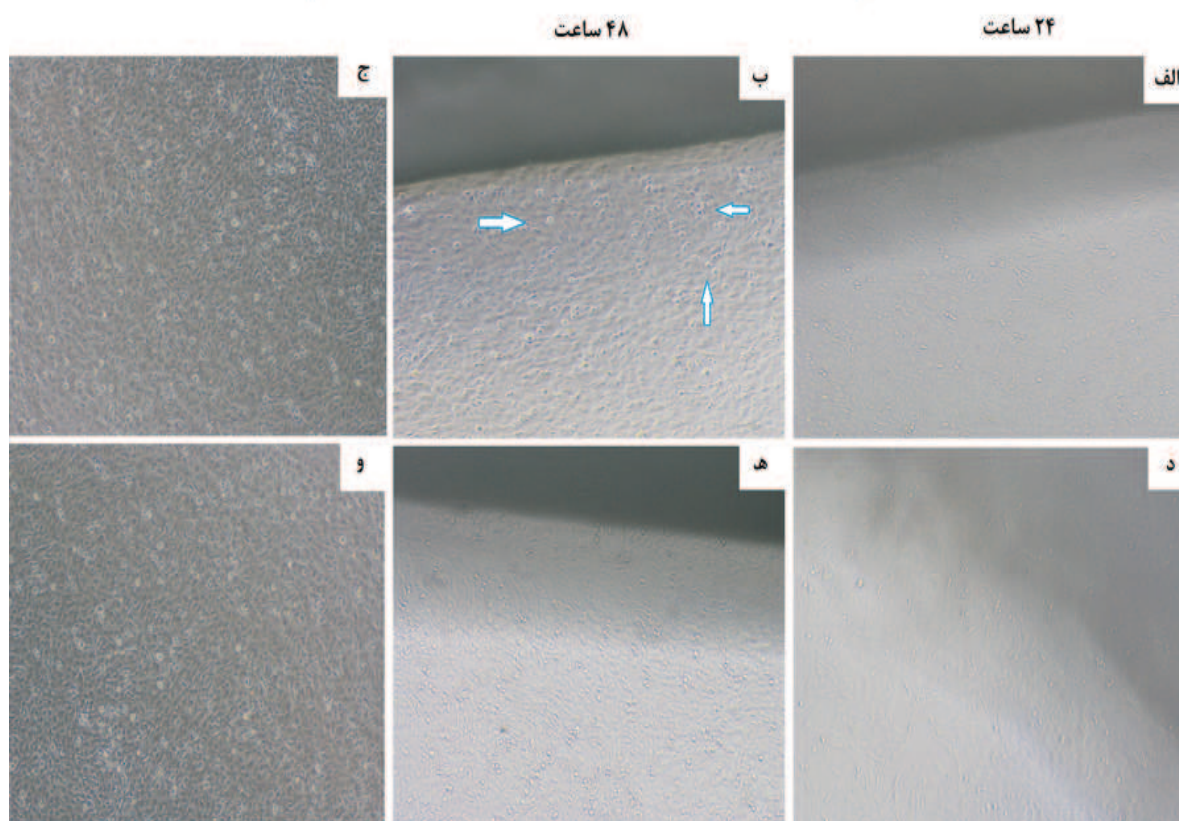
دوستی کامپوزیت با میانگین قطر الیاف بالاتر در مقایسه با قطر الیاف کمتر می‌باشد. یکی از دلایل احتمالی آن می‌تواند حضور بیشتر ترکیبات کلسیم فسفاتی در واحد قطر الیاف آب‌گریز PCL باشد. به نحوی که با کاهش قطر، میزان حضور DCPD در واحد سطح کمتر شده و در نتیجه آبدوستی کاهش می‌یابد.

### ۳-۳- ارزیابی زیست‌سازگاری کامپوزیت PCL-DCPD

شکل ۴ ارزیابی زیست‌سازگاری کامپوزیت‌ها در ۲۴ و ۴۸ ساعت را نشان می‌دهد. در ۴۸ ساعت بیش‌ترین میزان تکثیر سلول‌ها بر روی داربست کامپوزیتی با میانگین قطر الیاف بیش‌تر نسبت به داربست با میانگین قطر الیاف کم‌تر رخ داده است که نمایانگر عملکرد بهتر این داربست به دلیل ترشوندگی و آبدوستی مناسب‌تر بوده است (میزان تکثیر سلول با پیکان مشخص شده است).



شکل ۳- آنالیز زاویه تماس داربست کامپوزیتی (الف) با پارامتر فاصله ۱.۴Cm (میانگین قطر الیاف بیش تر) (ب) با پارامتر فاصله ۱.۸Cm (میانگین قطر الیاف کم تر).



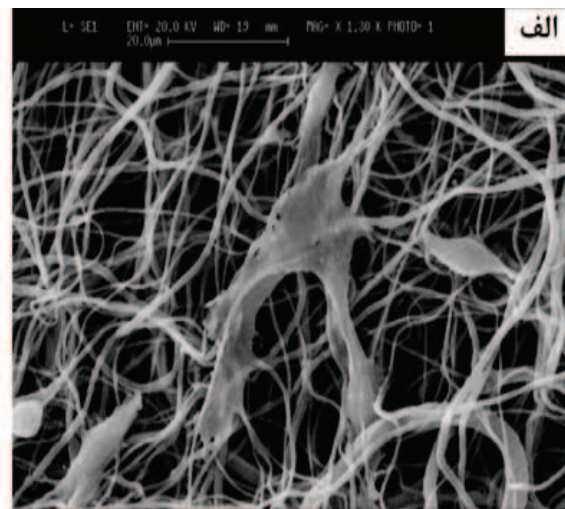
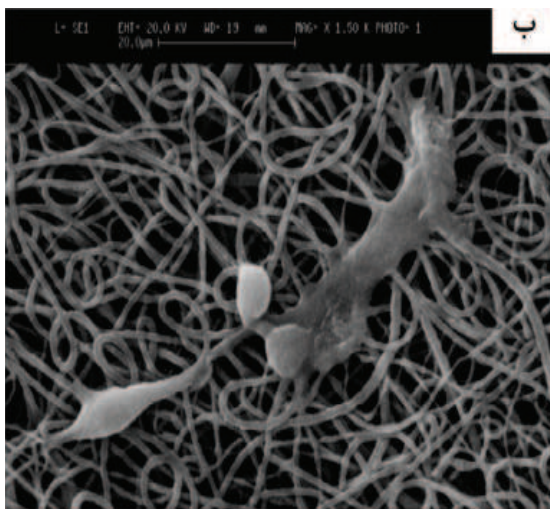
شکل ۴- تصاویر تهیه شده از رشد سلول‌های HGF در کنار داربست‌ها الف و ب) با میانگین قطر الیاف بیش تر د و ه) با میانگین قطر الیاف کم تر پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت ج و و) کنترل ( کف پلیت بدون داربست).



همچنین ترشوندگی و آبدوستی بهتر شرایط مطلوب‌تری برای چسبندگی، رشد و تکثیر سلول‌ها را فراهم کرده است و کامپوزیت زیست‌سازگارتری حاصل شده است. داربست ب با توجه به یکنواختی در قطر الیاف (منافذ زیاد و نسبت سطح به حجم بالا) شرایط مطلوب برای انتقال اکسیژن، مواد غذایی و رشد سلولی فراهم کرده است. این نتایج نشان می‌دهد که داربست نانولیفی کامپوزیتی PCL-DCPD بستری مناسب برای رشد سلول‌های استخوانی فراهم می‌نماید.

### ۳-۴- تصاویر میکروسکوپی کشت سلول فیبروبلاست بروی داربست‌ها

در شکل ۵ تصاویر SEM حاصل از کشت سلول فیبروبلاست HGF بر روی الیاف کامپوزیتی پس از ۴۸ ساعت نشان می‌دهد. در ابتدا چسبندگی سلولی به عنوان اولین رویداد پاسخ سلولی به طور مطلوبی رخ داده است. در ادامه توانایی‌های رشد و تکثیر سلولی داربست برای ایجاد بستر مناسب فراهم شده است. داربست الف با توجه به زبری سطح الیاف بالاتر و



شکل ۵- تصویر SEM رشد سلول HGF در کنار داربست نانولیفی کامپوزیتی PCL-DCPD(90:10). الف) با پارامتر فاصله ۱۴Cm (میانگین قطر الیاف بیش تر) ب) با پارامتر فاصله ۱۸Cm (میانگین قطر الیاف کم تر).

گه حاصل شده است. همچنین نتایج EDX حضور و توزیع مناسب نانوذرات DCPD در ماتریس PCL تایید می‌کند. خاصیت ترشوندگی همراه با کشت سلول بروی داربست با میانگین قطر الیاف بالاتر شرایط مطلوب تری برای زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری و در نتیجه رشد و تکثیر سلول HGF فراهم کرده است. در نتیجه نانوالیاف کامپوزیتی PCL-DCPD می‌تواند داربست مناسبی برای بازسازی بافت استخوان باشد.

### ۴- نتیجه‌گیری

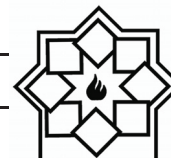
در پژوهش حاضر داربست سه‌بعدی نانوالیاف کامپوزیتی PCL-DCPD با تکنیک الکتروریسی تهیه شد و آزمایش‌هایی به منظور بررسی مورفولوژی، ترشوندگی و آبدوستی داربست‌ها و همچنین ارزیابی زیستی با آزمون MTT و کشت سلولی صورت گرفت. نتایج حاصل از SEM بیان کننده این مطلب می‌باشد که با تغییر پارامتر الکتروریسی، همواری، یکنواختی مناسب الیاف و عدم نقص





## مراجع

- [11] Cipitria, A., Skelton, A., Dargaville, T.R., Dalton, P.D. and Hutmacher, D.W., "Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds – a review", *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 21, PP. 9419–9453, 2011.
- [12] Elbert, D.L. and Hubbell, J.A., "Surface Treatments of Polymers for Biocompatibility. Annual Reviews", *Material Science*, Vol. 26, PP. 294-365, 1996.
- [13] Rabiee, S. M., "Bioactive Ceramics as Bone Morphogenetic Proteins Carriers", In book: *Biomaterials Applications for Nanomedicine* (Pignatello, R., ed), InTech: pp. 1–15, 2011.
- [14] Rabiee, S. M., Moztarzadeh, F., Salimi-Kenari, H., Solati-Hashjin, M. and Mortazavi, S.M. J., "Study of biodegradable ceramic bone graft substitute", *Advances in Applied Ceramics*, Vol.107, PP. 199-202, 2008.
- [15] Chuanglong, H., Xiao, B. J. and Peter, X. M., "Calcium phosphate deposition rate, structure and osteoconductivity on electrospun poly (L-lactic acid) matrix using electrodeposition or simulated body fluid incubation", *Acta Biomaterialia*, Vol.10, PP.419-427, 2014.
- [16] Yang, F., Wolke, J.G.C. and Jansen, J.A., "Biomimetic calcium phosphate coating on electrospun poly ( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds for bone tissue engineering", *Chemical Engineering Journal*, Vol.137, PP.154-161, 2008.
- [17] Zhao, X., Lui, Y. S., Choo, C. K., Sow, W.T., Huang, C. L., Woei, N.K., Tan, L. P. and Loo, J. S. C., "Calcium phosphate coated Keratin-PCL scaffolds for potential bone tissue regeneration", *Materials Science and Engineering: C*, Vol.49, PP. 746–753, 2015.
- [18] Hakami Vala, A. H., Omidfar, K., mobini, S., Falah, A., and Solati-Hashjin, M., "Chitosan-Gelatin/Biphasic calcium phosphate composite scaffold for bone tissue engineering: Optimization of mechanical properties with the statistical
- [1] Hollister, S. J., "Porous scaffold design for tissue engineering", *Nature materials*, Vol.4, PP.518-524, 2005.
- [2] Leung, V. and Ko, F., "Biomedical applications of nanofibers", *Polymers for Advanced Technologies*, Vol.22, PP. 350–365, 2011.
- [3] Cunha, C., Panseris, S. and Antonini, S., "Emerging nanotechnology approaches in tissue engineering for peripheral nerve regeneration", *Nanomedicine*, Vol 7(1), PP.50-59, 2011.
- [4] Frey, M.W., "Electrospinning Cellulose and cellulose Derivatives," *Polymer Reviews*, Vol. 48(2), PP. 378-391, 2008.
- [5] Liu, H., Ding, X., Zhou, G., Li, P., Wei, X. and Fan, Y., "Electrospinning of Nanofibers for Tissue Engineering Applications", *Journal of Nanomaterials*, Vol.2013, PP. 1-11, 2013.
- [6] Beachley, V. and Wen, X., "Polymer nanofibrous structures: Fabrication, biofunctionalization and cell interactions", *Progress in Polymer Science*, Vol. 35, PP. 868–892, 2010.
- [7] Bhardwaj, N. and Kundu, S.C., "Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique *Biotechnology*", *Advances*, Vol.28, PP. 325-347, 2012.
- [8] Gunatilake, A.P. and Adhikari, R., "Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering", *European Cells and Material*, Vol.5, PP.1-16, 2003.
- [9] Huang, Z.M., Zhang, Y.Z, Kotaksi, M. and Ramakrishna, S., "A review on polymer Nanofibers by electrospinning & their application in Nano composites", *Composites Science and Technology*, Vol.63, PP.2223-2253, 2003.
- [10] Fereshteh, Z., Fathi, M.H. and Mozaffarinia, R., "Development and characterization of electrospun Mg-doped fluorapatite nanoparticles PCL nanocomposite scaffold for bone tissue engineering", *Iranian Journal of Biomedical Engineering*, Vol.6, PP. 177-193, 2012.



- model”, Iranian Journal of Ceramic Science & Engineering. Vol. 2, PP. 1-23, 2013.
- [19] Yang, Y. and Leong, K. W., “Nanoscale surfacing for regenerative medicine, Wiley Reviews Interdisciplinary” .Nanomedicine and Nanobiotechnology, Vol.2, PP. 478-495, 2010.
- [20] Hassan, M.I., Sun, T. and Sultana, N., “Fabrication of Nanohydroxyapatite/Poly-(caprolactone) Composite Microfibers Using Electrospinning Technique for Tissue Engineering Applications”, Journal of Nanomaterials, Vol. 2014, 1-7, 2014.
- [21] Hassan, M.I., Sultana, N. and Hamdan, S., “Bioactivity Assessment of Poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/Hydroxyapatite Electrospun Fibers for Bone Tissue Engineering Application”, Journal of Nanomaterials, Vol. 2014, PP.1-6, 2014.
- [22] Linh, N. T. B., Min, Y. K. and Lee, B. T., “Hybrid hydroxyapatite nanoparticles-loaded PCL/GE blend fibers for bone tissue engineering”. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, Vol.24, PP. 520–538, 2013.