

Three-Dimensional Printing of a Polycaprolactone-Fluorapatite Nanocomposite Scaffold and Simulation of Its Mechanical Properties

Mojtaba Momeni¹ 
Kamran Amini² 
Ali Heidari³ 
Mohammad Khodaei⁴ 

1. PhD Student, Department of Mechanical Engineering, Khomeinishahr Branch, Islamic Azad University, Khomeinishahr, Isfahan, Iran.
2. **Corresponding Author:** Associate Professor, Department of Mechanical Engineering, Khomeinishahr Branch, Islamic Azad University, Khomeinishahr, Isfahan, Iran.
Email: amini@khsh.ac.ir
3. Assistant Professor, Department of Mechanical Engineering, Khomeinishahr Branch, Islamic Azad University, Khomeinishahr, Isfahan, Iran.
4. Assistant Professor, Materials Engineering Group, Golpayegan College of Engineering, Isfahan University of Technology, Golpayegan, 87717-67498, Iran.

Abstract

Introduction: The use of porous nanobiocomposite scaffolds for maxillofacial fractures and internal surface optimization of artificial grafts utilizing nanotechnology can improve cell adhesion, mechanical properties, and adsorption rate. Porous scaffolds have been the subject of numerous investigations, especially for broken and damaged parts of the facial bone. The goal of this study was to look into the biological, experimental, and numerical study of the mechanical properties of porous scaffolds under static loading conditions.

Materials & Methods: In this study, a bone scaffold of polycaprolactone- Fluorapatite (PCL / nFA) nanocomposite materials containing (0, 10, 20, 30 %wt.) Fluorapatite nanoparticles was designed and manufactured using a 3D printer with Fused Deposition Modelling (FDM) process. The scaffolds were designed in SolidWorks software with 70% porosity and then transferred to Abaqus software for simulation.

Results: In addition, following 28 days of immersion in the simulated body fluid, the bioactivity test of pure and composite scaffolds showed that the PCL /20nFA composite sample produced the most apatite on the surface. DAPI staining and fluorescent microscopy observation, confirm cell viability on the 3D printed scaffold.

Conclusion: The Von Mises stress and compressive test simulations revealed that the porous scaffold model may be used for maxillofacial bone replacement and has good mechanical strength and stability.

Key words: Scaffold; 3D printing; Finite element analysis.

Received: 03.08.2022

Revised: 26.10.2022

Accepted: 29.11.2022

How to cite: Momeni M, Amini K, Heidari A, Khodaei M. Three-Dimensional Printing of a Polycaprolactone-Fluorapatite Nanocomposite Scaffold and Simulation of Its Mechanical Properties. J Isfahan Dent Sch 2022; 18(4): 365-77.

ساخت داربست نانوکامپوزیتی پلی کاپرولاکتون - فلوئور آپاتیت توسط پرینت سه بعدی و شبیه سازی خواص مکانیکی آن

۱. دانشجوی دکتری، گروه مهندسی مکانیک، واحد خمینی شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، خمینی شهر، اصفهان، ایران.
 ۲. نویسنده مسئول: دانشیار، گروه مهندسی مکانیک، واحد خمینی شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، خمینی شهر، اصفهان، ایران.
 Email: amini@khsh.ac.ir
 ۳. استادیار، گروه مهندسی مکانیک، واحد خمینی شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، خمینی شهر، اصفهان، ایران.
 ۴. استادیار، گروه مهندسی مواد، دانشکده فنی گلیپایگان، گلیپایگان ۸۷۷۱۷-۶۷۴۹۸، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران.

مجتبی مؤمنی^۱ 

کامران امینی^۲ 

علی حیدری^۳ 

محمد خدائی^۴ 

چکیده

مقدمه: مزایای استفاده از داربست های متخلخل نانوبیوکامپوزیت برای کاربرد شکستگی های فک و صورت و بهینه سازی سطوح داخلی گرافت های مصنوعی با استفاده از فناوری نانو می تواند چسبندگی سلول های استخوانی، خواص مکانیکی و سرعت جذب را بهبود بخشد. مطالعات مختلفی بر روی داربست متخلخل به ویژه برای قسمت های شکسته و تخریب شده ی استخوان های صورت انجام شده است. هدف از این مطالعه، بررسی رفتار زیستی، تجربی و عددی خواص مکانیکی داربست متخلخل است که شرایط بارگذاری استاتیکی را بر عهده دارد.

مواد و روش ها: در این مطالعه ی عددی- آزمایشگاهی (دانشکده ی مکانیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد خمینی شهر، زمستان ۱۴۰۰)، یک داربست استخوانی با استفاده از دستگاه چاپگر سه بعدی (Three- Dimensional Printing) با فرایند مدل سازی لایه نشانی مذاب (Fused Deposition Modelling) FDM، برای استفاده در قسمتی از استخوان فک از مواد نانوکامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- فلوئور آپاتیت (Polycaprolactone- Fluorapatite) PCL/nFA که حاوی (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی) نانوذرات سرامیک بوده طراحی و ساخته شده است. داربست ها با تخلخل ۷۰ درصد در نرم افزار سالیدورک طراحی گردید و به نرم افزار آباکوس برای فرایند شبیه سازی انتقال داده شد. سطح معنی داری متغیرهای کمی ($p \text{ value} < 0/05$) نیز توسط نرم افزار تعیین شد.

یافته ها: آزمون زیست فعالی داربست های خالص و کامپوزیتی پس از غوطه وری در محلول شبیه سازی شده ی بدن به مدت ۲۸ روز نشان دادند که در نمونه ی کامپوزیتی PCL/20nFA بیشترین آپاتیت بر روی سطح تشکیل شده است. زنده ماننی سلول ها بر روی داربست توسط رنگ آمیزی DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) و میکروسکوپ فلورسنت تأیید شد.

نتیجه گیری: نتایج شبیه سازی آزمون فشار و میزان تنش فون میسر نشان داد که می توان از مدل داربست متخلخل برای جایگزینی در استخوان فک و صورت استفاده کرد که از استحکام و پایداری مکانیکی مناسبی برخوردار است.

کلید واژه ها: داربست؛ چاپ سه بعدی؛ آنالیز المان محدود.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۸

تاریخ اصلاح: ۱۴۰۱/۸/۴

تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۵/۱۲

استناد به مقاله: مؤمنی مجتبی، امینی کامران، حیدری علی، خدائی محمد. ساخت داربست نانوکامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- فلوئور آپاتیت توسط پرینت سه بعدی و شبیه سازی خواص مکانیکی آن. مجله دانشکده دندان پزشکی اصفهان. ۱۴۰۱؛ ۱۸ (۴): ۳۶۵-۳۷۶.

مقدمه

استخوان فک و صورت، یک بافت مهم در اسکلت انسان است که برای زنده ماندن و تعامل با قسمت‌های اطراف خود به مواد مغذی، اکسیژن، گرما و فشار نیاز دارد. استخوان‌ها قابلیت ذاتی برای ترمیم خود دارند و به صورت ساختاری عمل می‌کنند که تمام قسمت‌های بدن را کاملاً نگه می‌دارند (۱، ۲). به طور کلی، استخوان از یک ماده‌ی آلی مانند کلاژن و ماده‌ی معدنی مانند فسفات کلسیم (Calcium phosphate) CaPs تشکیل شده است (۳، ۴).

قسمت بالایی استخوان‌های بلند دارای یک نانوساختار نفوذپذیر کریستالی به نام ترابکولار است که مستقیماً به رگ‌های خونی مغز استخوان متصل می‌شود و همچنین سطح کلسیم آن را با تأمین یون‌های کلسیم تنظیم می‌کند (۵). تاکنون مهندسی بافت برای ترمیم بسیاری از بافت‌ها مانند استخوان، غضروف، رگ خونی و پوست به کار رفته است که در مهندسی بافت برای ترمیم آن از داربست استفاده می‌شود. ساختمان داربست به صورت ماتریکس متخلخلی است که به چسبندگی و جایگزینی بهتر سلول‌ها کمک می‌کند (۶). داربست ایده‌آل برای مهندسی بافت استخوان باید تعدادی از الزامات مانند (۱) یک ساختار سه‌بعدی متخلخل با سطوح شیمیایی مناسب برای حمایت از اتصال و تکثیر سلول، (۲) یک ساختار منافذ به هم پیوسته برای انتقال (مواد مغذی و زائد)، (۳) یک بستر زیست‌سازگار و قابل جذب با نرخ تخریب متعادل با رشد بافت و حفظ یکپارچگی در طول تخریب و (۴) دارای خواص مکانیکی مشابه بافت در محل کاشت را برآورده کند (۷). علاوه بر این، اندازه‌ی منافذ مناسب برای عروق و تولید ماتریکس خارج سلولی مهم است (۷).

روش‌های متداول ساخت داربست استخوان متخلخل استفاده از روش نگهدارنده‌ی فضا، خشک کردن یخی، الکترواسپینینگ و روش چاپ سه‌بعدی پیشرفته است (۸، ۹). امروزه روش چاپ سه‌بعدی که برای داربست‌های نانو کامپوزیت متخلخل مورد استفاده قرار گرفته است در

جوامع علمی باعث جذب مؤثر شده است، اما محدودیت‌هایی مانند استفاده از کامپوزیت‌های ماتریس سرامیکی دارند.

پلی‌کاپرولاکتون PCL (Polycaprolactone) یک پلی‌استر قابل تجزیه‌ی نیمه‌کریستالی، به دلیل زیست‌سازگاری مطلوب و دمای ذوب پایین در مهندسی بافت به شدت مورد استفاده قرار گرفته است. با این وجود، مقاومت مکانیکی نسبتاً ضعیف PCL و آب‌گریزی بالا و زیست‌فعالی پایین را نشان می‌دهد (۷). یکی از راهکارها برای بهبود خواص پلیمر PCL افزودن نانوذرات به زمینه‌ی آن و ساخت نانوبیوکامپوزیت توسط محققین بوده است. نانوفلئورآپاتیت nFA (Nano-Flourapatite)، با ترکیب شیمیایی $(Ca_{10}(PO_4)_6F_2)$ که با سرعت انحلال کمتر نسبت به هیدروکسی‌آپاتیت، به عنوان سرامیکی امیدوارکننده به منظور بهبود زیست‌فعالی به عنوان یک جزء اصلی معدنی بافت استخوان انسان به پلیمر اضافه می‌شود که توزیع فلوراید آن منجر به بازسازی استخوان می‌گردد (۷).

اندازه‌گیری استحکام در بخشی از استخوان بدون دخالت سایر قسمت‌های ساختاری سلسله‌مراتبی ضروری است. پیشرفت روش‌های عددی باعث می‌شود محققان با استفاده از روش المان محدود (Finite Element) FEM (Modeling) بر اساس داده‌های CT اسکن (CT Scan)، عملکرد داربست‌ها را بررسی کنند. استفاده از داده‌های میکروسی‌تی اسکن برای شبیه‌سازی دقیق ساختار داخلی داربست توسط Yang انجام شده است (۱۰). علاوه بر این، خصوصیات استخوان در مکان‌های مختلف متفاوت است، به عنوان مثال، استخوان کورتیکال فک دارای استحکام حدود ۱۴/۷ گیگاپاسکال است، در حالی که استخوان اسفنجی ۵۰۰ مگاپاسکال می‌باشد.

با این حال، بهتر است خواص مکانیکی داربست‌های پلیمری زیست‌تخریب‌پذیر را افزایش داده و بهینه‌سازی گردد که می‌تواند تعداد عمل‌های جراحی را کاهش داده و همچنین باعث کاهش زمان بهبودی عضو آسیب‌دیده شود.

میزان چسبندگی سلول‌ها بر روی داربست‌ها به دست آمد. فرض می‌شود افزودن نانوذرات فلئوئورآپاتیت سبب تغییر خواص پلیمر پلی‌کاپرولاکتون گردد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه و مراحل ساخت پودر نانوفلئوئورآپاتیت: در این مطالعه‌ی عددی-آزمایشگاهی (پایان‌نامه‌ی شماره‌ی ۱۸۸۴۸۰۰۷۰۷۸۵۱۵۵۱۸۵۱۲۱ که در سال ۱۴۰۱ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد خمینی شهر انجام شد) از پلی‌کاپرولاکتون (PCL800C- Esun) و $(Mw = 80000 \text{ g/mol})$ به عنوان ماتریس کامپوزیت استفاده شده است. پودرهای نانوفلئوئورآپاتیت $(Ca_{10}(PO_4)_6F_2)$ از طریق فرایند مکانیکی خشک با روش زیر سنتز شد: مخلوط کردن هیدروکسید کلسیم $(Ca(OH)_2)$ ؛ شرکت مرک، آلمان، پنتوکسید فسفر (P_2O_5) ؛ شرکت مرک، آلمان و کلسیم فلوراید (CaF_2) ؛ شرکت مرک، آلمان، با ۹:۳:۱ به عنوان نسبت مولی $Ca(OH)_2$ به CaF_2 و P_2O_5 واکنش مکانیکوشیمیایی در یک آسیاب گلوله‌ای با زمان آسیاب‌کاری ۶ ساعت انجام شد. جزئیات شرایط آسیاب‌کاری گلوله‌ای در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: متغیرهای مکانیکی استفاده شده برای آسیاب‌کاری پودرهای نانوفلئوئورآپاتیت

مقدار	متغیر
۲۵۰ دور در دقیقه	سرعت دوران
۳۵:۱	نرخ وزن گلوله به پودر
زیرکونیا	جنس گلوله و ویال (ظرف)
۱۰ گرم	جرم پودر
۶ ساعت	زمان آسیاب‌کاری
۱۲۵ میلی‌لیتر	ظرفیت باکس (ویال)
۲۰ میلی‌متر	قطر گلوله

ساخت و چاپ نانوکامپوزیت‌های پلی‌کاپرولاکتون-فلورآپاتیت: ابتدا ۵۰ سی‌سی

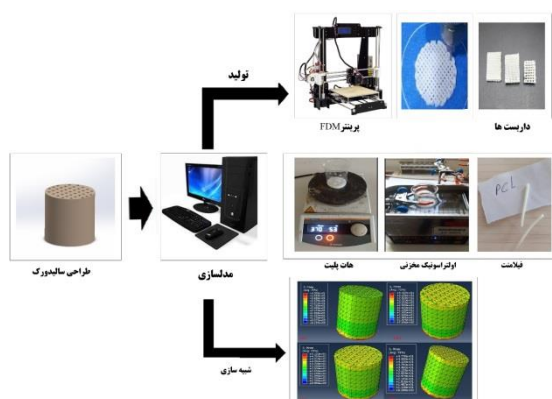
زیست تخریب‌پذیری ممکن است باعث کاهش یا افزایش مقدار ترکیدگی مغز استخوان متخلخل ناشی از تخریب پلیمر بر استحکام مکانیکی استخوان شود (۱۱، ۱۲).

Li و همکاران در پژوهش خود با فرایند چاپگر سه بعدی (Three-dimensional printing) برای ساخت داربست‌های کامپوزیتی استخوانی متخلخل با پلی‌لاکتیک‌اسید PLA (Polylactic acid) با مقادیر مختلف هیدروکسی‌آپاتیت HA (Hydroxyapatite) چاپ شده توسط مدل‌سازی لایه‌نشانی مذاب (FDM) (Fused deposition modeling) استفاده کردند. علاوه بر این، رفتار مکانیکی داربست و خصوصیات مواد با آزمون سختی‌سنجی نانو و فشرده‌سازی تک‌محوری توسط فرایندهای عددی و تجربی مورد بررسی قرار گرفت. در پایان، پس از مقایسه‌ی نتایج عددی و تجربی، نمونه‌ی بهینه شده به عنوان نمونه‌ی انتخابی برای کاربردهای پزشکی گزارش می‌شود (۱۳).

Kim و همکاران در پژوهش خود داربست‌هایی برای مهندسی بافت استخوان با استفاده از ترکیبی از پلی‌کاپرولاکتون تجزیه‌پذیر و هیدروکسی‌آپاتیت با (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد وزنی) با فرایند (FDM) مورد ارزیابی قرار دادند. در پایان کامپوزیت بهینه از نظر خواص مکانیکی و بیولوژیکی را معرفی کردند (۱۴).

هدف از پژوهش حاضر، ساخت داربست استخوانی متخلخل زیست‌سازگار با استفاده از چاپگرهای سه بعدی (3D) به روش مدل‌سازی لایه‌نشانی مذاب با ترکیبی از پلیمرهای پلی‌کاپرولاکتون و نانوذرات فلئوئورآپاتیت با درصدهای وزنی (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) به عنوان تقویت‌کننده متمرکز شده است. به منظور شبیه‌سازی آزمون فشار و محاسبه‌ی میزان تنش، نمونه‌ها در نرم‌افزار سالدورکس طراحی و سپس به نرم‌افزار آباکوس انتقال داده شد. میزان آب‌دوست بودن نمونه‌ها توسط تست ترشوندگی به دست آمد. در پایان میزان تشکیل آپاتیت پس از غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی بدن SBF (Simulated Body Fluid: Chakad Sanat, Iran) و

مدل ابتدا توسط نرم افزار سالدورکس Solidworks 2018 رسم شده و سپس توسط نرم افزار CURA به G-code تبدیل شده و فایل حاصل برای چاپگر ارسال شد. شکل ۱ فرایند طراحی یک کامپوزیت متخلخل حاوی نانوذرات سرامیکی در یک ساختار پلیمری در یک چاپگر سه بعدی را نشان می دهد.



شکل ۱: شماتیکی از ساخت داربست استخوانی متخلخل چاپ شدهی سه بعدی از نانوکامپوزیت زیستی PCL-nFA با استفاده از فناوری FDM

مدل سازی و شبیه سازی با نرم افزار آباکوس:

مدل سازی اجزاء محدود یک روش عددی برای حل معادلات دیفرانسیل تقریبی و حل معادلات انتگرالی است. اساسی ترین بخش این کار ساده سازی معادلات دیفرانسیل پیچیده برای معادلات دیفرانسیل معمولی است که می توان با روش های عددی مانند اویلری حل کرد. در حل معادلات دیفرانسیل جزئی مشکل اساسی این است که خطا در داده های اولیه و در طول راه حل برای نتایج نادرست کافی نیست. روش هایی با مزایا و معایب مختلف برای این راه حل وجود دارد که روش المان محدود یکی از بهترین روش ها برای حل این مشکلات است. این روش برای حل معادلات تفاضلی جزئی در حوزه های پیچیده بسیار مفید است. چندین نرم افزار در این زمینه وجود دارد، از جمله نرم افزار آباکوس برای مدل کردن یک استوانه با شعاع ۸ میلی متر و ارتفاع ۸ میلی متر به گونه ای که ابعاد حفره های آن در فاصله ی حدودی ۱ میلی متر می باشد.

کلروفورم را درون ارلن در دمای محیط ریخته و پلی کاپرولاکتون را در حالی که محلول با مگنت با سرعت ۲۰۰ rpm در حال هم زدن است، کم کم به آن اضافه شد. محلول حاصله به مدت ۳ ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی به هم زده شد تا پلیمر حل شده و محلول یکنواختی حاصل شود. از طرف دیگر پودر فلوتورآپاتیت درون ارلن دیگری که حاوی ۵۰ سی سی کلروفورم بود ریخته شد. مخلوط حاصله با استفاده از دستگاه اولتراسونیک حمامی ساخت کشور انگلستان مدل (Grant XB6; UK) به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد تا ذرات فلوتورآپاتیت از یکدیگر جدا و در محلول پراکنده شود. مخلوط به دست آمده بلافاصله به محلول پلی کاپرولاکتون که در حال هم زدن است به صورت قطره قطره اضافه و پس از آن نیز به مدت ۳۰ دقیقه عمل هم زدن ادامه یافت تا مخلوط یکنواختی از پلیمر و ذرات نانوفلوتورآپاتیت حاصل شود. مخلوط کامپوزیت (PCL/ nFA) بلافاصله درون یک ظرف از جنس استیل در دمای محیط تا خشک شدن کامل ریخته شد. درصد ذرات نانوفلوتورآپاتیت در کامپوزیت تهیه شده (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی) بود. سپس از این کامپوزیت ها به روش ذوبی و با استفاده از چاپگر سه بعدی با استفاده از دستگاه چاپگر سه بعدی زیستی مدل (3D Bioprinter: Chakad, CSS1, Iran) داربست هایی با ۷۰ درصد حجمی تخلخل تهیه شد. مشخصات کاری چاپگر در جدول ۲ آورده شده است.

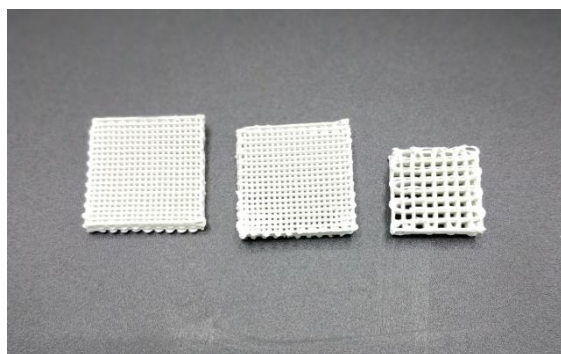
جدول ۲: مشخصات چاپگر مورد استفاده در ساخت داربست

به روش FDM	
ویژگی	مقدار
قطر نازل	۴۰۰ μm
ضخامت لایه	۳۵۰ μm
قطر ورودی فیلامنت (mm)	۱/۷۵
نسبت پر کردن	۱۰۰
دمای نازل	۲۱۰°C
دمای صفحه ی کار	۵۵°C
سرعت پرینت	۴۰ mm/s

شد. در ابتدا نمونه‌ها با استفاده از محلول اتانول (۷۰ درصد) به مدت ۱ ساعت استریل شدند. آزمون رسازورین بر اساس کاهش رسازورین، معمولاً یک ترکیب غیر فلورسنت به رسورین، یک متابولیت فلورسنت، به دلیل محیط بسیار کاهنده‌ی سلول‌های زنده می‌باشد. تعداد مشخصی سلول MG-63 (۱۰۰۰۰) روی هر نمونه کشت داده شد و سپس در نقاط زمانی معین (۱، ۳ و ۵ روز) محیط کشت از نمونه‌ها تخلیه شده، به هر نمونه محلول رسازورین (غلظت ۱۰ گرم در میلی‌لیتر در PBS کامل) اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در دستگاه انکوباتور نگهداری شد تا این که رنگ محلول رسازورین تغییر کند. پس از آن، جذب هر محلول در ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر خوانده شد.

یافته‌ها

ساخت داربست‌های کامپوزیتی PCL-nFA در شکل ۲ فرایند ساخت داربست‌های نانوکامپوزیتی PCL-nFA به شکل مکعبی متخلخل با استفاده از روش FDM را نشان می‌دهد. همچنین در شکل ۲ معماری‌های مکعبی کوچک، متوسط و بزرگ طراحی شده با شکل مربع از نمای بالا را نشان می‌دهد. با توجه به مطالعات قبلی و مقالات سایر محققین دمای بهینه برای چاپ داربست‌ها، ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انتخاب شد (۱۵).



شکل ۲: معماری داربست‌های استخوانی متخلخل سه‌بعدی چاپ شده در اندازه‌های مختلف با استفاده از فرایند FDM

Zhao و همکاران بر روی مواد PCL دامنه‌ی دمای

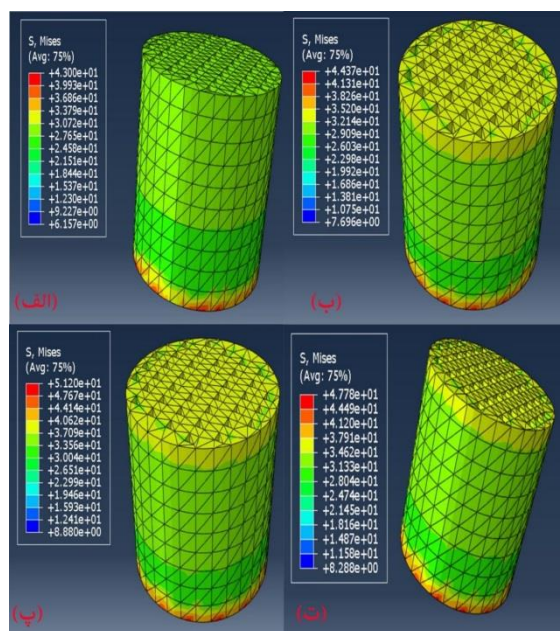
آزمون زیست‌فعالیت داربست‌ها: زیست‌فعالیت در شرایط آزمایشگاهی، تشکیل آپاتیت روی داربست‌های PCL/nFA متخلخل تولید شده با مقادیر مختلف (۰ و ۲۰ درصد وزنی) با استفاده از غوطه‌وری در مایع بدن شبیه‌سازی شده (SBF) مشخص شد. داربست‌های متخلخل در محلول‌های (SBF) غوطه‌ور شدند و سپس به مدت ۲۸ روز در داخل دستگاه انکوباتور در دمای کنترل شده ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای هر ترکیب دو نمونه آزمایش شد. تشکیل لایه‌های آپاتیت در داربست‌های متخلخل توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی FE-SEM (Field Emission Scanning Electron Microscope) مورد بررسی قرار گرفت.

تر شونده‌گی: زاویه‌ی تماس آب با سطح کامپوزیت‌ها برای ارزیابی قابلیت تر شونده‌گی سطح اندازه‌گیری شد. برای این منظور تصویربرداری پس از قطره‌گذاری ۴ میکرولیتر آب مقطر، در سطح کامپوزیت و گذشت ۴ ثانیه به وسیله‌ی سیستم اندازه‌گیری زاویه‌ی تماس انجام شد. این آزمون برای هر یک از نمونه‌های مورد مطالعه با سه تکرار (در سه نقطه‌ی متفاوت) انجام شد و سطح معنی‌داری ($p \text{ value} < 0.05$) تعیین گردید.

کشت سلول: قبل از کشت سلول، داربست‌ها به مدت ۱ ساعت در اتانول ۷۰ درصد (v/v) و ۳۰ دقیقه تحت نور ماوراء بنفش UV (Ultraviolet) استریل شدند و نمونه‌ها در پلیت ۲۴ خانه‌ای در محیط کشت کامل (DMEM- Low + 10% FBS + 1% penestrep) به مدت ۲۴ ساعت غوطه‌ور شدند. سلول‌های MG63 در سطح داربست‌ها به میزان 1×10^4 کاشته شدند و در انکوباتور CO₂ در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. محیط کشت رویی داربست‌ها هر دو روز یک بار تعویض شد. آزمون رسازورین در روزهای (۱، ۳، ۵) و چسبندگی سلولی در روزهای (۱ و ۵) انجام شد.

آزمون رسازورین: تکثیر سلول‌های MG-63 در نمونه‌های مختلف با استفاده از آزمون رسازورین بررسی

شد. نتایج شبیه سازی داربست ها نشان داد که با اعمال نیرو به سطح داربست ها، نمونه ها به شکل بشکته ای در آمدند که این به دلیل استوانه ای بودن داربست ها قابل پیش بینی بود و می تواند نتایج به دست آمده را پشتیبانی کند. شکل ۳، شبیه سازی آزمون فشاری برای استوانه هایی با ساختار منافذ مربعی شکل بارگذاری شده با نیروی فشار ۲۰۰ نیوتن را نشان می دهد. همچنین بررسی سطح مقطع و قسمت های داخلی داربست، میزان تنش فون میسر که در لبه ای استوانه ای متخلخل رخ داده را توصیف کرده است. علاوه بر این می توان گفت بیشترین تنش در لبه های خارجی داربست نیز وجود داشت. این کار تجزیه و تحلیل شبیه سازی را تأیید می کند که داربست نانوکامپوزیت PCL/nFA می تواند از نظر مکانیکی قابل قبول باشد.



شکل ۳: شبیه سازی معماری استوانه ای با ساختار منافذ مربعی توسط نرم افزار آباکوس برای داربست تهیه شده توسط تکنولوژی FDM مورد استفاده برای جایگزینی استخوان فک و صورت (الف) PCL خالص، (ب) PCL/10 nFA، (پ) PCL/20 nFA و (ت) PCL/30 nFA

نمودار ۱ تنش فون میسر نتایج شبیه سازی شده با نرم افزار آباکوس را نشان داده است. همان طور که در نمودار مشاهده

فرایند FDM، برای مدل های مکعبی PCL خالص در (۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درجه ی سانتی گراد) چاپ گرفتند. همگن بودن مدل های چاپ شده ی PCL در دمای ۸۰ و ۹۰ درجه ی سانتی گراد بیشتر از دمای ۷۰ و ۱۰۰ درجه ی سانتی گراد بود. هنگامی که دمای چاپ کمتر از ۸۰ درجه ی سانتی گراد شد مایع بودن مواد کم و عبور از نازل دشوار بود. در دمای چاپ بالاتر از ۹۰ درجه ی سانتی گراد، منجر به فروپاشی لایه های مدل چاپ شده می شد. بنابراین بهترین دمای چاپ بین ۸۰ و ۹۰ درجه ی سانتی گراد را معرفی کردند (۱۶).

نتایج شبیه سازی داربست ها: قبل از انجام هر گونه تجزیه و تحلیل آباکوس روی استخوان فک، باید اطمینان حاصل شود که پاسخ مکانیکی مدل تحت بارگذاری با استخوان واقعی قابل مقایسه است. به منظور بررسی پاسخ مکانیکی مدل و مقایسه ی آن با استخوان واقعی، این مدل در شرایط بارگذاری تحمیل شده توسط Wieja و همکاران قرار گرفته که ایشان روی کامپوزیت استخوان واقعی فک پایین کار کرده اند (۱۷).

از آن جا که مقاومت و تخلخل دو ویژگی مطلوب و اساسی برای داربست ها در کاربردهای مهندسی بافت می باشند، بنابراین طراحی داربست در نرم افزار سالدورک با تخلخل ۷۰ درصد انجام شده و سپس مدل به نرم افزار آباکوس منتقل می شود. در این مطالعه، بارگذاری از نوع استاتیک عمومی در نرم افزار آباکوس تعیین شد. طبق اطلاعات به دست آمده از ارزیابی مقاومت فشاری، نسبت پواسون ۰/۴ (۱۸) تنظیم شده و مدول الاستیک از نتایج تست کشش به دست آمده که برای PCL خالص و PCL/nFA با درصدهای (۱۰، ۲۰، ۳۰ درصد وزنی) به ترتیب ۲۱۵، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۴۸۰ مگاپاسکال از کار قبلی تنظیم شده است (۱۵). برای بررسی میزان تنش فون میسر داربست ها، نیروی عمودی ۲۰۰ نیوتن به بالای منطقه ی داربست وارد می شود. حالت Tet برای داربست ها به عنوان مش بندی تنظیم شده و سپس فرایند تجزیه و تحلیل انجام

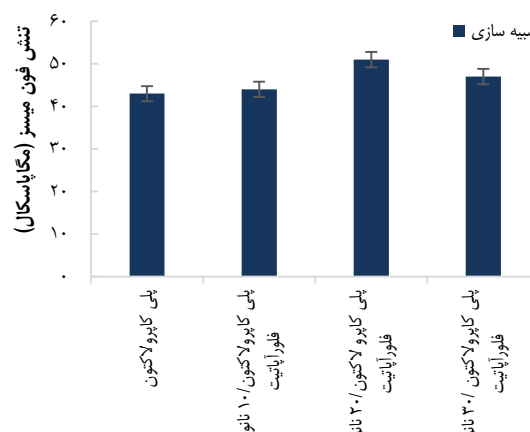
نمونه‌ی خالص از ۴۲ به ۵۲ مگاپاسکال برای نمونه‌ی کامپوزیتی ۲۰ درصد افزایش یافته است، این در حالی است که مدول الاستیک نمونه‌ها با افزودن مواد بیوسرامیکی بیش از دو برابر افزایش می‌یابد. در مطالعات قبلی مقایسه‌ی بین درصد تخلخل و مقدار استحکام نهایی نشان داد که نمونه با ۲۰ درصد وزنی نانوفلوئورآباتیت دارای ارتباط نزدیکی بین مقدار تخلخل و مقدار استحکام نهایی است (۱۵). ترکیب فوق از خصوصیات مکانیکی مناسب و پایداری شیمیایی، استحکام و مقاومت استخوان در برابر هر بارگذاری خارجی یا محوری را تقویت می‌کند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استحکام استخوان با معماری متخلخل پایین، انرژی را بدون تشکیل ترک‌های بزرگ که باعث شکستگی می‌شوند را تجزیه می‌کند.

بیشترین تنش برشی در موازات و عمود بر محور خنثی و همچنین حداکثر تنش نیروهای فشاری و کششی نیز در صفحات مورب با محور خنثی رخ می‌دهد (۲۰). هنگامی که مواد تحت فشار یا بارگذاری کششی قرار داشتند، تنش برشی نیز ایجاد شده است. خواص مکانیکی داربست‌های متخلخل زیست‌نانوکامپوزیتی، مانند تنش‌ها، مدول الاستیک و چقرمگی شکست در چندین تحقیق مورد بررسی قرار گرفت (۲۱).

زیست‌نانوکامپوزیت‌های تقویت شده با اکسید روی، اکسید مس، نانولوله‌ی کربن (CNT (carbon nanotube)، دی‌اکسید، اکسید منیزیم (MgO (Magnesium oxide) و نانوذرات مگنتیت (MNP (Magnetic nanoparticles) از نظر ارتعاش و مقاومت خمشی قسمت مورد استفاده برای کاربردهای مختلف ارتوپدی، استخوان فک و صورت مورد ارزیابی قرار گرفتند (۲۲). مدل میکرومکانیکی بایونانوکامپوزیت با استفاده از تئوری‌های دیوی و گیسون برای رویکردهای دندان‌پزشکی مورد استفاده در جراحی فک به صورت آزمایشگاهی و آزمایش داخل بدن توسط سایر محققین نیز مورد بررسی قرار گرفته است (۲۳-۲۶).

نتایج زیست‌فعالی داربست‌ها: برای ارزیابی پتانسیل

می‌شود تفاوت بسیار اندکی از میزان تنش فونمیسز بین داربست‌های کامپوزیتی به دست آمده ولی نمونه‌ی PCL خالص تفاوت بسیاری با نمونه‌های کامپوزیتی دارند. حال می‌توان اثبات کرد که با توجه به نتایج شبیه‌سازی، داربست‌های کامپوزیتی جایگزینی مناسبی برای گرفت بافت استخوانی فک و صورت می‌باشند.



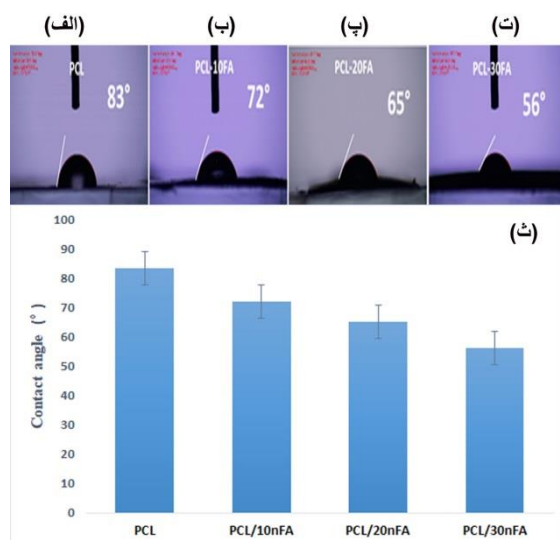
نمودار ۱: بیشترین و کمترین تنش فونمیسز از داربست‌های متخلخل شبیه‌سازی شده با نرم‌افزار آباکوس

همان‌طور که در نمودار ۱ نشان می‌دهد، تنش فونمیسز نمونه‌ی PCL/20 nFA نسبت به سایر نمونه‌ها بیشتر بود. با این حال می‌توان گفت که نمونه‌ی داربست کامپوزیتی PCL/20 nFA از خواص مکانیکی بهتری نسبت به دیگر نمونه‌ها برخوردار است و می‌تواند جایگزین مناسبی برای بافت‌های استخوانی باشد.

Monshi و همکاران در مطالعه‌ی خود بر روی داربست EC-PLA با پوشش HA، نتایج به دست آمده از شبیه‌سازی آباکوس که نشانگر مزایای اشکال استوانه‌ای در مقایسه با سایر مدل‌ها بود را بررسی کردند. بررسی مقطع و قسمت‌های داخلی داربست، مقاومت کششی نهایی را که در لبه‌ی استوانه‌ی متخلخل رخ داده است، توصیف کردند. علاوه بر این اثبات کردند که بیشترین تنش در لبه‌های خارجی داربست نیز وجود داشت (۱۹).

همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده تنش فونمیسز

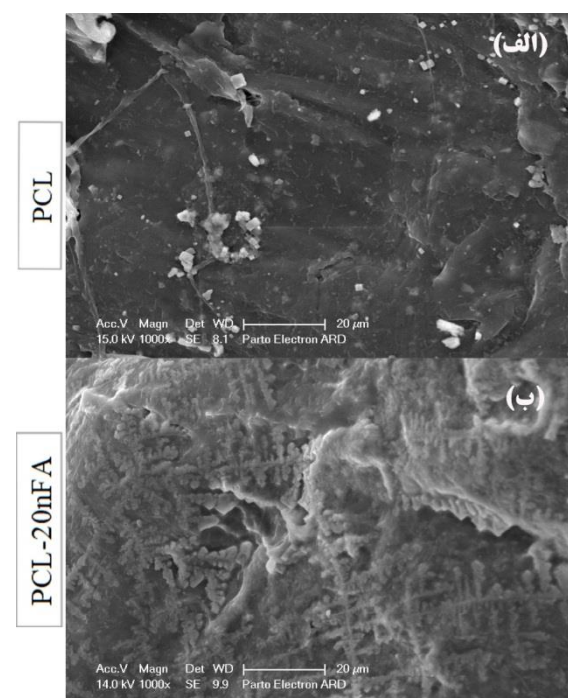
پروتئین‌های زیستی بهتری در سطح خواهد داشت. نتایج اندازه‌گیری زاویه‌ی تماس آب در سطح نمونه‌های PCL، PCL-10FA، PCL-20FA، PCL-30FA در نمودار ۲ نشان داده شده است. ملاحظه می‌شود که با افزایش میزان نانوذرات در کامپوزیت، زاویه‌ی تماس کاهش یافته و یا به عبارتی نمونه آب‌دوست‌تر شده است. بنابراین می‌توان گفت که افزودن نانوذرات سبب بهبود رفتار سطحی کامپوزیت شده است. همان‌طور که در نمودار ۲ نشان داده شده است، PCL، PCL/10 nFA، PCL/20 nFA و PCL/30nFA به ترتیب زاویه‌ی تماس با آب $(۸۳/۵۹ \pm ۳/۸۸)$ ، $(۷۲/۱ \pm ۲/۴۵)$ ، $(۶۵/۱۵ \pm ۴/۴)$ و $(۵۶/۳ \pm ۲/۸)$ را نشان دادند. داربست‌های PCL چاپ برودتی بدون nFA زاویه‌ی تماس بیشتری نسبت به نمونه‌های کامپوزیتی PCL/nFA در آزمایش‌ها نشان دادند که ممکن است به مورفولوژی سطح ویژه‌ی آن‌ها ناشی از دمای بسیار پایین نسبت داده شود.



نمودار ۲: تصویر قطرات آب که زاویه‌ی تماس آب اندازه‌گیری شده را نشان می‌دهد. (الف) PCL، (ب) PCL/10 nFA، (پ) PCL/20 nFA، (ت) PCL/30nFA. (ث) زاویه‌ی تماس داربست‌ها با آب ($p \text{ value} < ۰/۰۵$)

Feng و همکاران در پژوهش خود، تر شوندگی غشاها با اندازه‌گیری زاویه‌ی تماس را مورد بررسی قرار دادند. در

داربست‌های نمونه‌ی خالص و کامپوزیت بهینه، PCL/20nFA متخلخل برای استفاده در بازسازی بافت استخوان، توانایی تشکیل آپاتیت در شرایط آزمایشگاهی با آزمون مایع شبیه‌سازی شده‌ی بدن (SBF)، شاخص مواد زیستی از جمله زیست‌فعالی در بدن مورد بررسی قرار گرفته است. شکل ۴، تصاویر SEM داربست‌های خالص و کامپوزیت بهینه‌ی PCL/20nFA متخلخل پس از غوطه‌وری در محلول SBF به مدت ۲۸ روز را ارائه می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۴-الف مشاهده می‌شود بر روی سطح نمونه‌ی PCL خالص آپاتیتی تشکیل نشده ولی شکل ۴-ب سطح داربست کامپوزیتی PCL/20nFA را نشان داده که کاملاً با کریستال‌های آپاتیت پوشانده شده است.



شکل ۴: میکروگراف‌های SEM سطح نمونه‌ی PCL خالص کامپوزیت PCL/20 nFA بعد از ۴ هفته غوطه‌وری؛ تشکیل مواد معدنی به طور یکنواخت سطح کامپوزیت را پوشانده است

تر شوندگی: زاویه‌ی تماس آب در سطح نمونه، مبین میزان آب‌دوستی آن است به گونه‌ای که نمونه با زاویه‌ی تماس کمتر، آب‌دوست‌تر می‌باشد. چنین نمونه‌ای، جذب ملکول آب در سطح و در نتیجه جذب سلول‌ها و

سلول‌ها بر روی نانو الیاف اتفاق می‌افتد و تست چسبندگی تعیین‌کننده‌ی بخشی از سلول است که به سطح ماتریکس متصل می‌شود و در برابر شستشو مقاومت می‌کند. از آنجا که چسبندگی سلولی تأثیر زیادی بر سایر فعالیت‌های سلولی دارد، ممکن است مهم‌ترین مرحله‌ی تعامل سلولی با یک ماده‌ی زیستی باشد.

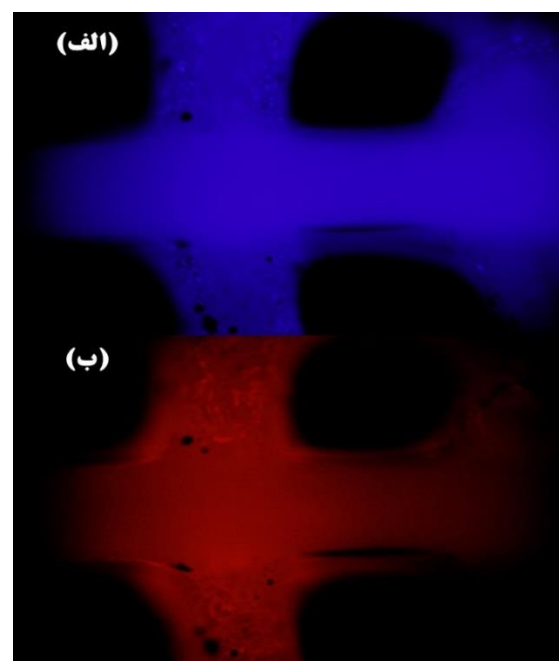
Ji و همکاران، تأثیر گنجاندن نانوفیبریل کیتین (Chitin Nanofibril) در ماتریکس PCL بر چسبندگی و تکثیر سلولی با کاشت فیروبلست‌های پوستی انسان روی بافت‌های الیافی به مدت ۱ و ۱۴ روز در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار دادند. برای متقاعد کردن بیشتر از میکروسکوپ فلورسنت برای بررسی وجود سلول‌ها استفاده کردند. در مقابل هیچ شواهدی مبنی بر نفوذ سلول‌ها به داخل داربست میکروسکوپ فلورسانس داربست PCL خالص که برای دوره‌های ۱ و ۱۴ روز کشت داده شده است وجود نداشت. بنابراین نتایج ایشان نشان داد، افزودن نانوفیبریل کیتین به ماتریس PCL می‌تواند نفوذ سلولی، چسبندگی سلولی و مهاجرت را نیز بسیار بهبود بخشد و نشان‌دهنده‌ی رشد سلول سه‌بعدی است (۲۷).

Saberi و همکاران، سلول‌های استئوبلاست MG-63 را بر روی کامپوزیت پلی‌کاپرولاکتون/ بریدیجیت (bredigite) با درصدهای مختلف وزنی (۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد) پوشش داده شده با نانوکامپوزیت Mg- Zn- Ca- GNPs کشت داده‌اند. نتایج چسبندگی سلولی با میکروسکوپ فلورسنت در این پژوهش نشان داد که میزان سلول‌های متصل شده بر روی سطح با افزایش ذرات بریدیجیت باعث رشد قابل توجه سلول‌های استئوبلاست MG-63 می‌شود (۲۸).

داربست نانوکامپوزیتی سه بعدی حاوی پلیمر PCL با نانوذرات سرامیکی ۲۰ درصد وزنی nFA می‌تواند فراهمی زیستی و خواص مکانیکی خوبی را داشته باشد. علاوه بر این، nFA قادر به اتصال به چسبندگی و رشد سلول‌های مغز استخوان در اسپاسم استخوان است. با این حال در این مقاله

ابتدا غشاهای PCL خالص، سطح آب‌گریز با زاویه‌ی تماس آب ($133/6 \pm 3/3$) درجه را نشان دادند و به آرامی در عرض ۴۰ ثانیه کاهش یافت. پس از ترکیب با ECM (extracellular matrix)، زاویه‌ی تماس آب به شدت کاهش یافت. زاویه‌ی تماس اولیه با آب ($35/8 \pm 2/6$) درجه بود و آب به سرعت در غشاهای فیبری جذب شد (۲۹-۲۷).

رنگ‌آمیزی فلوئورسانس هسته و پوسته
(**ورشته‌های اکتین در اسکلت سلول:** به منظور بررسی و تأیید حضور زنده ماندن میزان سلول‌ها بر روی داربست از رنگ‌آمیزی DAPI استفاده شد. با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت تصاویری مطابق شکل ۵ تهیه شد. همان‌طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود که در سطح نمونه، هسته و سیتوپلاسم سلولی زنده و فعال وجود دارد. نقاط آبی روشن، مبین هسته‌ی سلول زنده هستند.



شکل ۵: تصویر میکروسکوپ فلورسنت (الف) تصویر رنگ‌آمیزی DAPI و (ب) تصویر Phalloidin

بحث

چسبندگی، اولین رویدادی است که پس از انتقال

از روش چاپ سه بعدی به دلیل خواص مکانیکی بالا و درصد تخلخل بهینه (که برای داربست‌های سرامیکی حدوداً ۶۵-۷۰ درصد است) استفاده شد. داربست‌های پایه‌ی پلیمری و سرامیکی از مقاومت مکانیکی متوسطی برخوردار هستند و می‌توانند به تنهایی در احیاء استخوان مورد استفاده قرار گیرند. اگرچه این یک تحقیق اولیه در این بخش است و شواهد بسیاری لازم دارد، با توجه به نتایج این پژوهش، زیست نانو کامپوزیت‌های PCL/20nFA که با چاپگر سه بعدی طراحی شده‌اند، در مقایسه با رفتار طبیعی استخوان فک جایگزین خوبی برای آن هستند.

در پژوهش حاضر ابتدا به روش حلالی نانویو کامپوزیت پلی کاپرولاکتون/فلئوئور آپاتیت به روش ذوبی چاپ گرفته شده است ولی به علت این که حلال کلروفرم بوده، ممکن است خاصیت سمی بودن داشته باشد و بقایای آن مضر باشد. به همین دلیل برای به حداقل رساندن اثرات جانبی کلروفرم پیشنهاد می‌شود که کامپوزیت‌ها به روش ذوبی ساخته شوند. همچنین در این مطالعه آزمون‌های مکانیکی از جمله کشش، ضربه و فشار و آزمون‌های بیولوژیکی از جمله زیست‌فعالی، زیست‌تخریب‌پذیری و چسبندگی انجام نشده است که پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

تولید افزودنی می‌تواند داربست‌های متخلخل با اشکال مختلف و ساختار ریز متنوع تولید کند. در مطالعه‌ی حاضر، از فیلم‌های کامپوزیتی PCL/nFA توسط دستگاه چاپگر سه

بعدی با تکنولوژی FDM استفاده شد. اشکال ساختاری مکعبی و استوانه‌ای با طرح لایه‌بندی داخلی مربعی برای ساخت داربست مصنوعی انتخاب شده است. نانویو کامپوزیت PCL/nFA با استفاده از دستگاه چاپ سه بعدی به عنوان جایگزین استخوان فک و صورت حاوی (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ درصد وزنی) از نانوذرات سرامیکی ساخته شد. نتایج شبیه‌سازی نشان داد که نمونه‌ی کامپوزیت PCL/20nFA می‌تواند برای جایگزینی در بدن به عنوان قسمتی از استخوان فک استفاده شود. در آزمون زیست‌فعالی نیز نشان داد که نمونه‌ی کامپوزیت بهینه PCL/20nFA نسبت به نمونه‌ی خالص میزان آپاتیت بسیار زیادی بر روی سطح تشکیل شده است. با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت نشان داد که در سطح نمونه، هسته و سیتوپلاسم سلولی زنده و فعال وجود دارد. نتایج ترشوندگی اثبات کرد که پلیمر پلی کاپرولاکتون یک پلیمر آب‌گریز بوده و مشاهده می‌شود که افزودن نانوذرات فلئوئور آپاتیت توانسته تا حدی سبب بهبود آب‌دوستی آن گردد. در پایان نتایج ثابت کرد که خصوصیات مکانیکی و زیستی نمونه‌های نانو کامپوزیتی افزایش یافته nFA نسبت به نمونه‌ی بدون nFA بهتر است.

سپاسگزاری

مقاله‌ی حاضر مستخرج از پایان‌نامه‌ی دانشجویی در دانشکده‌ی مکانیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد خمینی‌شهر می‌باشد. بدین وسیله از تمامی کسانی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند، سپاسگزاری می‌نمایم.

References

1. Pobloth AM, Checa S, Razi H, Petersen A, Weaver JC, Schmidt-Bleek K, et al. Mechanobiologically optimized 3D titanium-mesh scaffolds enhance bone regeneration in critical segmental defects in sheep. *Sci Transl Med* 2018; 10(423): eaam8828.
2. Kazemi A, Abdollahi M, Khajeh-Sharafabadi A, Khandan A, Ozada N. Study of in vitro bioactivity and mechanical properties of diopside nano-bioceramic synthesized by a facile method using eggshell as raw material. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2017; 71: 604-10.
3. Abel EW, Hilgers A, McLoughlin PM. Finite element analysis of a condylar support prosthesis to replace the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2015; 53(4): 352-7.
4. Bujtár P, Sándor GKB, Bojtos A, Szűcs A, Barabás J. Finite element analysis of the human mandible at 3 different stages of life. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 110(3): 301-9.
5. Farazin A, Akbari Aghdam H, Motififard M, Aghadavoudi F, Kordjamshidi A, Saber-Samandari S,

- et al. A polycaprolactone bio-nanocomposite bone substitute fabricated for femoral fracture approaches: Molecular dynamic and micromechanical Investigation. *J Nanoanalysis* 2019; 6(3): 172-84.
6. Cheung HY, Lau KT, Lu TP, Hui D. A critical review on polymer-based bio-engineered materials for scaffold development. *Compos B Eng* 2007; 38(3): 291-300.
 7. Park SA, Lee SH, Kim WD. Fabrication of porous polycaprolactone/hydroxyapatite (PCL/HA) blend scaffolds using a 3D plotting system for bone tissue engineering. *Bioprocess Biosyst Eng* 2011; 34(4): 505-13.
 8. Liu X, Rahaman MN, Hilmas GE, Bal BS. Mechanical properties of bioactive glass (13-93) scaffolds fabricated by robotic deposition for structural bone repair. *Acta Biomater* 2013; 9(6): 7025-34.
 9. Offeddu GS, Ashworth JC, Cameron RE, Oyen ML. Multi-scale mechanical response of freeze-dried collagen scaffolds for tissue engineering applications. *J Mech Behav Biomed Mater* 2015; 42: 19-25.
 10. Yang JP. Image-based procedure for biostructure modeling. *J Nanomech Micromech* 2014; 4(3): B4013001.
 11. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* 2006; 27(15): 2907-15.
 12. Chouzouri G, Xanthos M. In vitro bioactivity and degradation of polycaprolactone composites containing silicate fillers. *Acta Biomater* 2007; 3(5): 745-56.
 13. Li X, Saeed SS, Beni MH, Morovvati MR, Angili SN, Toghraie D, et al. Experimental measurement and simulation of mechanical strength and biological behavior of porous bony scaffold coated with alginate-hydroxyapatite for femoral applications. *Compos Sci Technol* 2021; 214: 108973.
 14. Kim CG, Han KS, Lee S, Kim MC, Kim SY, Nah J. Fabrication of biocompatible polycaprolactone-hydroxyapatite composite filaments for the FDM 3D printing of bone scaffolds. *Appl Sci* 2021; 11(14): 6351.
 15. Momeni M, Amini K, Heidari A, Khodaei M. Evaluation the properties of polycaprolactone/fluorapatite nano-biocomposite. *J Bionic Eng* 2022; 19(1): 179-87.
 16. Zhao YQ, Yang JH, Ding X, Ding X, Duan S, Xu FJ. Polycaprolactone/polysaccharide functional composites for low-temperature fused deposition modelling. *Bioact Mater* 2020; 5(2): 185-91.
 17. Wieja F, Jacobs G, Stein S, Kopp A, van Gaalen K, Kröger N, et al. Development and validation of a parametric human mandible model to determine internal stresses for the future design optimization of maxillofacial implants. *J Mech Behav Biomed Mater* 2022; 125: 104893.
 18. Lu L, Zhang Q, Wootton DM, Chiou R, Li D, Lu B, et al. Mechanical study of polycaprolactone-hydroxyapatite porous scaffolds created by porogen-based solid freeform fabrication method. *J Appl Biomater Funct Mater* 2014; 12(3): 145-54.
 19. Monshi M, Esmaeili S, Kolooshani A, Kamyab Moghadas B, Saber-Samandari S, Khandan A. A novel three-dimensional printing of electroconductive scaffolds for bone cancer therapy application. *Nanomed J* 2020; 7(2): 138-48.
 20. Joneidi Yekta H, Shahali M, Khorshidi S, Rezaei S, Montazeran AH, Samandari SS, et al. Mathematically and experimentally defined porous bone scaffold produced for bone substitute application. *Nanomed J* 2018; 5(4): 227-34.
 21. Sahmani S, Saber-Samandari S, Shahali M, Yekta HJ, Aghadavoudi F, Montazeran AH, et al. Mechanical and biological performance of axially loaded novel bio-nanocomposite sandwich plate-type implant coated by biological polymer thin film. *J Mech Behav Biomed Mater* 2018; 88: 238-50.
 22. Ayatollahi MR, Barbaz Isfahani R, Moghimi R. Effects of multi-walled carbon nanotube and nanosilica on tensile properties of woven carbon fabric-reinforced epoxy composites fabricated using VARIM. *J Compos Mater* 2017; 51(30): 4177-88.
 23. Khodaei M, Amini K, Valanezhad A. Fabrication and characterization of poly lactic acid scaffolds by fused deposition modeling for bone tissue engineering. *J Wuhan Univ Technol Mater Sci Ed* 2020; 35(1): 248-51.
 24. Aghadavoudi F, Golestanian H, Tadi Beni Y. Investigating the effects of CNT aspect ratio and agglomeration on elastic constants of crosslinked polymer nanocomposite using multiscale modeling. *Polym Compos* 2018; 39(12): 4513-23.
 25. Rouhani A, Elmi A, Aghdam HA, Panahi F, Dokht Ghafari Y. The role of fibular fixation in the treatment of tibia diaphysis distal third fractures. *Orthop Traumatol Surg Res* 2012; 98(8): 868-72.
 26. Safari MB, Tabrizi A, Hassani E, Akbari Aghdam H, Shariyate MJ. Painful scoliosis secondary to posterior rib osteoid osteoma: a case report and review of literature. *J Orthop Spine Trauma* 2017; 3(1): e62337.
 27. Ji Y, Liang K, Shen X, Bowlin GL. Electrospinning and characterization of chitin nanofibril/polycaprolactone nanocomposite fiber mats. *Carbohydr Polym* 2014; 101: 68-74.

28. Saberi A, Bakhsheshi-Rad HR, Karamian E, Kasiri-Asgarani M, Ghomi H. A study on the corrosion behavior and biological properties of polycaprolactone/bredigite composite coating on biodegradable Mg-Zn-Ca-GNP nanocomposite. *Prog Org Coat* 2020 Oct 1; 147: 105822.
29. Feng B, Ji T, Wang X, Fu W, Ye L, Zhang H, et al. Engineering cartilage tissue based on cartilage-derived extracellular matrix cECM/PCL hybrid nanofibrous scaffold. *Mater Des* 2020; 193: 108773.