





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 نانو کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون - فلئورآپاتیت 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 مسؤل: 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 گلپایگان، گلپایگان ۸۷۷۱۷-۶۷۴۹۸، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران.

مجتبی مؤمنی^۱ ID

کامران امینی^۲ ID

علی حیدری^۳ ID

محمد خدائی^۴ ID

چکیده

مقدمه: مزایای استفاده از داربست‌های متخلخل نانویوکامپوزیت برای کاربرد شکستگی‌های فک و صورت و بهینه‌سازی سطوح داخلی گرافت‌های مصنوعی با استفاده از فناوری نانو می‌تواند چسبندگی سلول‌های استخوانی، خواص مکانیکی و سرعت جذب را بهبود بخشد. مطالعات مختلفی بر روی داربست متخلخل به ویژه برای قسمت‌های شکسته و تخریب شده‌ی استخوان‌های 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 روش‌ها: در این مطالعه‌ی عددی- آزمایشگاهی (دانشکده‌ی 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 لایه‌نشانی مذاب (Fused Deposition Modelling) FDM، برای استفاده در قسمتی از استخوان فک از مواد نانو کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- فلئورآپاتیت (Polycaprolactone- Fluorapatite) PCL/nFA که حاوی (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی) نانوذرات سرامیک بوده طراحی و ساخته شده است. داربست‌ها با تخلخل ۷۰ درصد در نرم‌افزار سالدورک طراحی گردید و به نرم‌افزار آباکوس برای فرایند شبیه‌سازی انتقال داده شد. سطح معنی‌داری متغیرهای کمی ($p \text{ value} < 0/05$) نیز توسط نرم‌افزار تعیین شد.

یافته‌ها: آزمون زیست‌فعالی داربست‌های خالص و کامپوزیتی پس از غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده‌ی بدن به مدت ۲۸ روز نشان دادند که در نمونه‌ی کامپوزیتی PCL/20nFA بیشترین آپاتیت بر روی سطح تشکیل شده است. زنده‌مانی سلول‌ها بر روی داربست توسط رنگ‌آمیزی DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) و میکروسکوپ فلورسنت تأیید شد.

نتیجه‌گیری: نتایج شبیه‌سازی آزمون فشار و میزان تنش فون میسر نشان داد که می‌توان از مدل داربست متخلخل برای جایگزینی در استخوان فک و صورت استفاده کرد که از استحکام و پایداری مکانیکی مناسبی برخوردار است.

کلید واژه‌ها: 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 نانو کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- فلئورآپاتیت توسط پرینت سه بعدی و شبیه‌سازی خواص مکانیکی آن. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان. ۱۴۰۱؛ ۱۸(۴): ۳۶۵-۳۷۷.

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 تراپکولار 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 نیمه کریستالی، 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. نانوفلوئورآپاتیت 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 میکرو سی‌تی 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 پلی کاپرولاکتون گردد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه و مراحل ساخت پودر نانوفلئوئورآپاتیت: در این مطالعه‌ی عددی - آزمایشگاهی (پایان‌نامه‌ی شماره‌ی ۱۸۴۸۰۰۷۰۷۸۵۱۵۵۱۸۵۱۲۱ که در سال ۱۴۰۱ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد خمینی شهر انجام شد) از پلی کاپرولاکتون (PCL800C- Esun) و (Mw = ۸۰۰۰۰ 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 ۱:۳:۹ به عنوان نسبت مولی $Ca(OH)_2$ به CaF_2 و P_2O_5 واکنش مکانیکوشیمیایی در یک آسیاب گلوله‌ای با زمان آسیاب کاری ۶ ساعت انجام شد. جزئیات شرایط آسیاب کاری گلوله‌ای در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: متغیرهای مکانیکی استفاده شده برای آسیاب کاری 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 آسیاب کاری
۱۲۵ میلی‌لیتر	ظرفیت باکس (ویال)
۲۰ میلی‌متر	قطر گلوله

ساخت و چاپ نانو کامپوزیت‌های پلی کاپرولاکتون - فلورآپاتیت: ابتدا ۵۰ سی‌سی

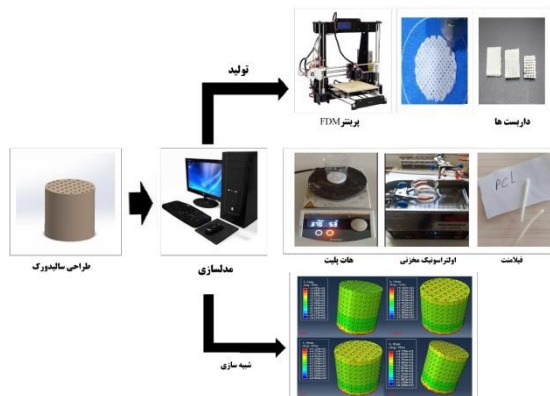
زیست تخریب‌پذیری ممکن است باعث کاهش یا افزایش مقدار ترکیدگی مغز استخوان متخلخل ناشی از تخریب پلیمر بر استحکام مکانیکی استخوان شود (۱۱، ۱۲).

Li و همکاران در پژوهش خود با فرایند چاپگر سه بعدی (Three-dimensional printing) برای ساخت داربست‌های کامپوزیتی استخوانی متخلخل با پلی لاکتیک اسید (PLA) (Polylactic acid) با مقادیر مختلف هیدروکسی آپاتیت (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 سختی سنجی 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 پلی کاپرولاکتون تجزیه‌پذیر و هیدروکسی آپاتیت 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 پلی کاپرولاکتون 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 نرم‌افزار سالدورکس Solidworks 2018 رسم شده و سپس توسط نرم‌افزار 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 سه‌بعدی را نشان می‌دهد.



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

مدل‌سازی و شبیه‌سازی با نرم‌افزار آباکوس:

مدل‌سازی اجزاء محدود یک روش عددی برای حل معادلات دیفرانسیل تقریبی و حل معادلات انتگرالی است. اساسی‌ترین بخش این کار ساده‌سازی معادلات دیفرانسیل پیچیده برای معادلات دیفرانسیل معمولی است که می‌توان با روش‌های عددی مانند اویلری حل کرد. در حل معادلات دیفرانسیل جزئی مشکل اساسی این است که خطا در داده‌های اولیه و در طول راه حل برای نتایج نادرست کافی نیست. روش‌هایی با مزایا و معایب مختلف برای این راه حل وجود دارد که روش المان محدود یکی از بهترین روش‌ها برای حل این مشکلات است. این روش برای حل معادلات تفاضلی جزئی در حوزه‌های پیچیده بسیار مفید است. چندین نرم‌افزار در این زمینه وجود دارد، از جمله نرم‌افزار آباکوس برای مدل کردن یک استوانه با شعاع ۸ میلی‌متر و ارتفاع ۸ میلی‌متر به گونه‌ای که ابعاد حفره‌های آن در فاصله‌ی حدودی ۱ میلی‌متر می‌باشد.

کلروفورم را درون ارلن در دمای محیط ریخته و پلی‌کاپرولاکتون 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 فلئوئورآپاتیت درون ارلن دیگری که حاوی ۵۰ سی‌سی 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 فلئوئورآپاتیت از یکدیگر جدا و در محلول پراکنده شود. مخلوط به دست آمده بلافاصله به محلول پلی‌کاپرولاکتون 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 نانوفلئوئورآپاتیت حاصل شود. مخلوط کامپوزیت (PCL/nFA) بلافاصله درون یک ظرف از جنس استیل در دمای محیط تا خشک شدن کامل ریخته شد. درصد ذرات نانوفلئوئورآپاتیت در کامپوزیت تهیه شده (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی) بود. سپس از این کامپوزیت‌ها به روش ذوبی و با استفاده از چاپگر سه‌بعدی با استفاده از دستگاه چاپگر سه‌بعدی زیستی مدل (3D Bioprinter: Chakad, CSS1, Iran) داربست‌هایی با ۷۰ درصد حجمی تخلخل تهیه شد. مشخصات کاری چاپگر در جدول ۲ آورده شده است.

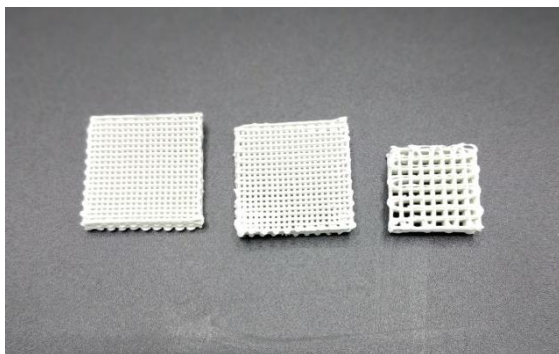
جدول ۲: مشخصات چاپگر مورد استفاده در ساخت داربست به روش FDM

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 صفحه‌ی 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، 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

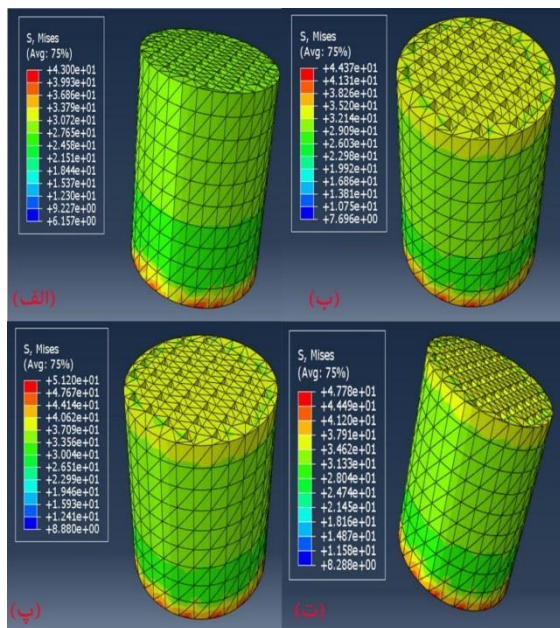
آزمون زیست‌فعالی داربست‌ها: زیست‌فعالی در شرایط آزمایشگاهی، تشکیل آپاتیت روی داربست‌های PCL/nFA متخلخل تولید شده با مقادیر مختلف (۰ و ۲۰ درصد وزنی) با استفاده از غوطه‌وری در مایع بدن شبیه‌سازی شده (SBF) مشخص شد. داربست‌های متخلخل در محلول‌های (SBF) غوطه‌ور شدند و سپس به مدت ۲۸ روز در داخل دستگاه انکوباتور 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 CO_2 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 شبیه‌سازی داربست‌ها نشان داد که با اعمال نیرو به سطح داربست‌ها، نمونه‌ها به شکل بشکته‌ای در آمدند که این به دلیل استوانه‌ای بودن داربست‌ها قابل پیش‌بینی بود و می‌تواند نتایج به دست آمده را پشتیبانی کند. شکل ۳، شبیه‌سازی آزمون فشاری برای استوانه‌هایی با ساختار منافذ مربعی شکل بارگذاری شده با نیروی فشار ۲۰۰ نیوتن را نشان می‌دهد. همچنین بررسی سطح مقطع و قسمت‌های داخلی داربست، میزان تنش فون میسز که در لبه‌ی استوانه‌ی متخلخل رخ داده را توصیف کرده است. علاوه بر این می‌توان گفت بیشترین تنش در لبه‌های خارجی داربست نیز وجود داشت. این کار تجزیه و تحلیل شبیه‌سازی را تأیید می‌کند که داربست نانوکامپوزیت PCL/nFA می‌تواند از نظر مکانیکی قابل قبول باشد.



شکل ۳: شبیه‌سازی معماری استوانه‌ای با ساختار منافذ مربعی توسط نرم‌افزار 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 میسز نتایج شبیه‌سازی شده با نرم‌افزار آباکوس را نشان داده است. همان‌طور که در نمودار مشاهده

فرایند FDM، برای مدل‌های مکعبی PCL خالص در (۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) چاپ گرفتند. همگن بودن مدل‌های چاپ شده‌ی PCL در دمای ۸۰ و ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بیشتر از دمای ۷۰ و ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. هنگامی که دمای چاپ کمتر از ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد شد مایع بودن مواد کم و عبور از نازل دشوار بود. در دمای چاپ بالاتر از ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، منجر به فروپاشی لایه‌های مدل چاپ شده می‌شد. بنابراین بهترین دمای چاپ بین ۸۰ و ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد را معرفی کردند (۱۶).

نتایج شبیه‌سازی داربست‌ها: 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 مقایسه‌ی 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 کرده‌اند (۱۷).

از آن‌جا که مقاومت و تخلخل دو ویژگی مطلوب و اساسی برای داربست‌ها در کاربردهای مهندسی بافت می‌باشند، بنابراین طراحی داربست در نرم‌افزار سالدورک با تخلخل ۷۰ درصد انجام شده و سپس مدل به نرم‌افزار آباکوس منتقل می‌شود. در این مطالعه، بارگذاری از نوع استاتیک عمومی در نرم‌افزار 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 میسز داربست‌ها، نیروی عمودی ۲۰۰ نیوتن به بالای منطقه‌ی داربست وارد می‌شود. حالت Tet برای داربست‌ها به عنوان مش‌بندی تنظیم شده و سپس فرایند تجزیه و تحلیل انجام

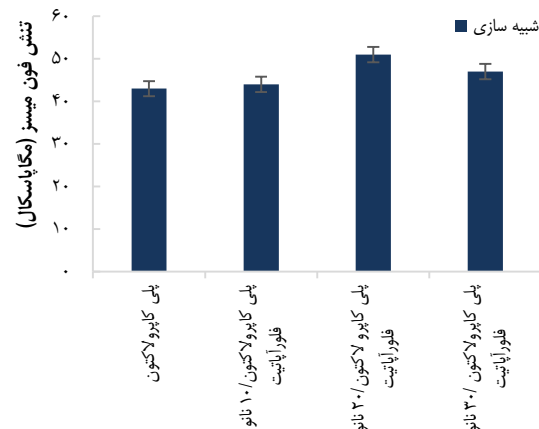
نمونه‌ی خالص از ۴۲ به ۵۲ مگاپاسکال برای نمونه‌ی کامپوزیتی ۲۰ درصد افزایش یافته است، این در حالی است که مدول الاستیک نمونه‌ها با افزودن مواد بیوسرامیکی بیش از دو برابر افزایش می‌یابد. در مطالعات قبلی مقایسه‌ی بین درصد تخلخل و مقدار استحکام نهایی نشان داد که نمونه با ۲۰ درصد وزنی نانوفلوئورآپاتیت دارای 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 زیست‌نانو کامپوزیتی، مانند تنش‌ها، مدول الاستیک و چقرمگی شکست در چندین تحقیق مورد بررسی قرار گرفت (۲۱).

زیست‌نانو کامپوزیت‌های تقویت شده با اکسید روی، اکسید مس، نانولوله‌ی کربن (CNT (carbon nanotube)، دی‌پوسید، اکسید منیزیم (MgO (Magnesium oxide) و نانوذرات مگنتیت (Magnetic nanoparticles) (MNPs) از نظر ارتعاش و مقاومت خمشی قسمت مورد استفاده برای کاربردهای مختلف ارتوپدی، استخوان فک و صورت مورد ارزیابی قرار گرفتند (۲۲). مدل میکرومکانیکی با یونانو کامپوزیت با استفاده از تئوری‌های دیوی و گیسون برای رویکردهای دندان پزشکی مورد استفاده در جراحی فک به صورت آزمایشگاهی و آزمایش 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 فون میسر 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.



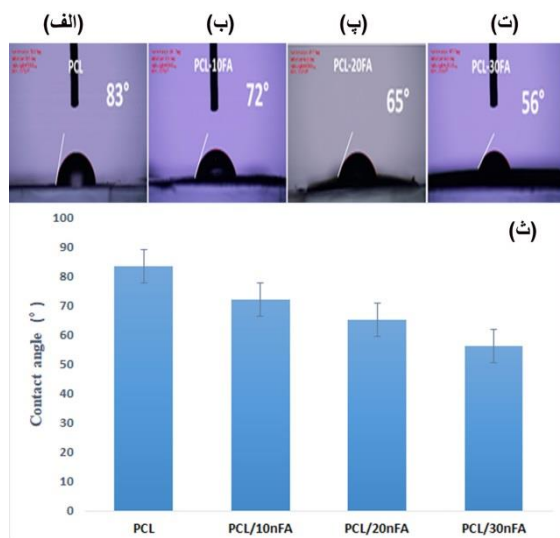
نمودار ۱: بیشترین و کمترین تنش فون میسر از داربست‌های متخلخل شبیه‌سازی شده با نرم‌افزار آباکوس

همان‌طور که در نمودار ۱ نشان می‌دهد، تنش فون میسر 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 فون میسر

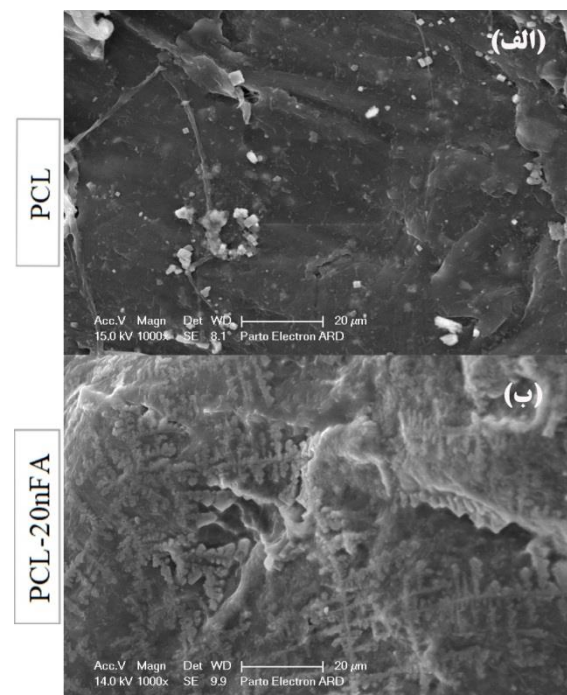
پروتئین‌های زیستی بهتری در سطح خواهد داشت. نتایج اندازه‌گیری زاویه‌ی تماس آب در سطح نمونه‌های PCL، PCL-10FA، PCL-20FA، PCL-30FA در نمودار ۲ نشان داده شده است. ملاحظه می‌شود که با افزایش میزان نانوذرات در کامپوزیت، زاویه‌ی تماس کاهش یافته و یا به عبارتی نمونه آب‌دوست‌تر شده است. بنابراین می‌توان گفت که 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 $(۷۲/۱ \pm ۲/۴۵)$ ، $(۸۳/۵۹ \pm ۳/۸۸)$ و $(۶۵/۱۵ \pm ۴/۴)$ 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، ترشوندگی 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

ترشوندگی: 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 سه بعدی است (۲۷).

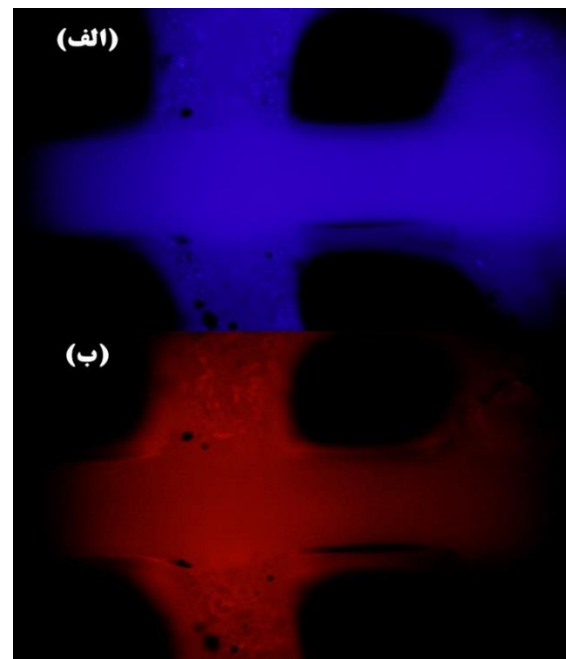
Saberi و همکاران، سلول‌های استئوبلاست MG-63 را بر روی کامپوزیت پلی‌کاپرولاکتون/ بریدیجیت (bredigite) با درصدهای مختلف وزنی (۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد) پوشش داده شده با نانوکامپوزیت Mg-Zn-Ca-GNPs کشت داده‌اند. نتایج چسبندگی سلولی با میکروسکوپ فلورسنت در این پژوهش نشان داد که میزان سلول‌های متصل شده بر روی سطح 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 (۲۷-۲۹).

رنگ‌آمیزی فلوئورسانس هسته و پوسته

(رشته‌های 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

بعدی با تکنولوژی FDM استفاده شد. اشکال ساختاری مکعبی و استوانه‌ای با طرح لایه‌بندی داخلی مربعی برای ساخت داربست مصنوعی انتخاب شده است. نانوبیوکامپوزیت 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 PCL/20nFA 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 پلی‌کاپرولاکتون یک پلیمر آب‌گریز بوده و مشاهده می‌شود که افزودن نانوذرات فلئور آپاتیت توانسته تا حدی سبب بهبود آب‌دوستی آن گردد. در پایان نتایج ثابت کرد که خصوصیات مکانیکی و زیستی نمونه‌های نانوکامپوزیتی افزایش یافته nFA نسبت به نمونه‌ی بدون nFA بهتر است.

سپاسگزار

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 می‌نماییم.

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 نانوکامپوزیت‌های PCL/20nFA که با چاپگر سه‌بعدی طراحی شده‌اند، در مقایسه با رفتار طبیعی استخوان فک جایگزین خوبی برای آن هستند.

در پژوهش حاضر ابتدا به روش حلالی نانوبیوکامپوزیت پلی‌کاپرولاکتون/فلئور 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

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.