
วัสดุที่ย่อยสลายด้วยกระบวนการชีวภาพสำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

Biodegradable Materials for Tissue Engineering

ประสงค์ สีหนาม*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Prasong Srihanam*

Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahasarakham University

บทคัดย่อ

วิศวกรรมเนื้อเยื่อ เป็นวิธีการใหม่ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อทดแทนเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหายหรือเนื้อเยื่อที่หลุดหาย เป็นวิธีที่สามารถสร้างเนื้อเยื่อทดแทนส่วนที่ได้รับความเสียหายซึ่งมีมากเกินกว่าร่างกายจะสามารถสร้างได้ให้กลับมีสภาพเดิม วัสดุที่เป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อโดยทำหน้าที่เป็นตัวค้ำจุนเนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นใหม่ วัสดุที่ไม่ใช่ชีวภาพ เช่น โลหะ เซรามิกส์ และพอลิเมอร์สังเคราะห์ เป็นวัสดุกลุ่มแรกๆ ที่นำมาใช้กับร่างกายสำหรับสร้างเนื้อเยื่อทดแทนส่วนที่ได้รับความเสียหาย ปัจจุบัน วัสดุที่สามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการชีวภาพและพอลิเมอร์ที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ของร่างกาย เป็นวัสดุค้ำจุนที่ได้รับความนิยมอย่างมาก สำหรับเตรียมให้มีโครงสร้างสามมิติและเชื่อมต่อการเกิดปฏิกิริยากับร่างกาย โดยวัสดุค้ำจุนที่ดีควรมีลักษณะที่ประกอบด้วย สามารถเข้ากับเซลล์ร่างกายได้โดยไม่ก่อให้เกิดอาการอักเสบ สลายตัวได้ด้วยกระบวนการชีวภาพ รวมทั้งลักษณะอื่นๆ เช่น ความพรุนพื้นผิวสำหรับการเกาะของเซลล์และความสามารถในการรองรับน้ำหนักของเซลล์ที่จะสร้างใหม่ โดยเซลล์ที่สร้างบนวัสดุค้ำจุนควรมีสสมบัติเชิงกลใกล้เคียงกับสภาพธรรมชาติของเนื้อเยื่อเดิม ขณะนี้ มีการทดลองและการประยุกต์ใช้วัสดุมากมาย สำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

คำสำคัญ : วิศวกรรมเนื้อเยื่อ วัสดุที่ย่อยสลายด้วยกระบวนการชีวภาพ วัสดุค้ำจุน เนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหาย

Abstract

Tissue engineering is an emerging new biotechnology method for replacing injured tissue or tissue lost. It is beginning to provide promising means of replacing irreversible tissue lost. Biomaterials are an important factor in tissue engineering. It is used as scaffold to provide support for engineered tissues. Non-biological materials such as metals, ceramics and synthetic polymers are the first generation technology in biomaterial that focuses on restoring damaged tissues. Recently, biodegradable materials and biocompatible polymers have been attractive candidates for scaffolding material. The scaffold is created its biological inertness, as well as its overall three-dimensional structure. An ideal scaffold should possess of biocompatibility and biodegradability, including other characteristics such as porosity and sufficient surface area for cell attachment and geometry that imparts important for new tissue generate. The cell-scaffold construct should closely simulate the mechanical properties of the nature tissue. To date, studies of tissue engineering based on biodegradable materials have been applied and reported for a various cases of experiment.

Keywords : tissue engineering; biodegradable materials, scaffold, tissue injury

*E-mail : srihanam_prasong@yahoo.com; prasong.s@msu.ac.th

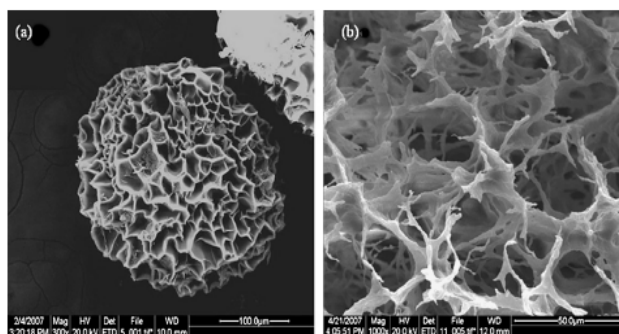
วิศวกรรมเนื้อเยื่อ เป็นวิธีที่กำลังได้รับความสนใจอย่างยิ่งในการฟื้นฟูและซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย (Kim *et al.*, 2008) เป็นงานที่อาศัยความรู้หลากหลายสาขา (multidisciplinary field) โดยมีจุดมุ่งหมายคือสร้างเครื่องมือหรือชีววัสดุ (biomaterials) เพื่อซ่อมแซมหรือเปลี่ยนถ่ายอวัยวะที่ไม่สามารถทำงานได้ (Meinel *et al.*, 2006) ปัจจุบันมีรายงานเกี่ยวกับการสูญเสียและการซ่อมแซมเนื้อเยื่อมากขึ้นสืบเนื่องจากความก้าวหน้าทางการแพทย์ซึ่งส่งผลให้ช่วงชีวิตของมนุษย์ยาวขึ้น (Vunjak-Novakovic *et al.*, 2004) หนึ่งในส่วนประกอบสำคัญของวิทยาการฟื้นฟูทางการแพทย์คือวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยทั่วไปแล้ว กลยุทธ์ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อแบ่งเป็น 2 กระบวนการคือ การแยกเอาเนื้อเยื่อของผู้ป่วยมาเลี้ยงบนวัสดุที่เตรียมจากอวัยวะของร่างกาย แล้วค่อยนำกลับไปปลูกถ่ายตรงตำแหน่งเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหาย (acellular matrices) และการเลี้ยงเซลล์บนวัสดุเพื่อให้เซลล์เจริญจนสามารถสร้างเนื้อเยื่อที่ต้องการก่อนแล้วค่อยนำไปปลูกถ่ายตรงตำแหน่งเนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บ (matrices with cells) (Koh and Atala, 2004) ดังนั้น สิ่งสำคัญอย่างยิ่งในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อจึงประกอบด้วยปัจจัยอย่างน้อย 2 อย่าง คือ วัสดุค้ำจุน (scaffold หรือ matrix) และเซลล์ที่จะนำมาปลูกบนวัสดุค้ำจุน (Unger *et al.*, 2004) โดยทั่วไป การเตรียมชีววัสดุมักเริ่มต้นด้วยวัสดุที่เฉื่อยต่อการเกิดปฏิกิริยาต่อร่างกาย (bioinert materials) เช่น โลหะ เซรามิกส์ และซิลิโคน เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ชีววัสดุในอุดมคติ ควรมีสสมบัติสำคัญได้แก่ ต้องเข้ากับเซลล์ร่างกายได้ดี สามารถย่อยสลายด้วยกระบวนการชีวภาพโดยปราศจากอาการอักเสบ ควรก่อให้เกิดสภาพที่เหมาะสมต่อพฤติกรรมของเซลล์ เช่น การเกาะติด การขยายขนาด การเคลื่อนย้าย และการเปลี่ยนแปลงร่างกาย (Cheung *et al.*, 2008) นอกจากนี้ ควรมีความแข็งแรงสูงแต่สามารถสลายตัวในอัตราที่เหมาะสมคือ เมื่อเซลล์เริ่มสร้างเนื้อเยื่อ ชีววัสดุควรค่อยๆ สลายตัวจนหมดเมื่อเนื้อเยื่อสร้างเสร็จสมบูรณ์ (Koh & Atala, 2004) ชีววัสดุที่นำมาใช้ทางการแพทย์จำแนกออกเป็น 6 หมวดหมู่หลัก ได้แก่ การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ การสร้างเนื้อเยื่อ การป้องกันการเกาะติดของเนื้อเยื่อ การปิดบาดแผล การตกแต่งบาดแผล และระบบขนส่งยา (Cheung *et al.*, 2008) ส่วนเซลล์ ประกอบด้วยเซลล์ของผู้ป่วย เซลล์ที่ได้รับจากแหล่งอื่นซึ่งสามารถเข้ากับร่างกายผู้ป่วย หรือ เซลล์ที่ปลูกบนวัสดุค้ำจุนก่อนแล้วค่อยนำมาปลูกถ่ายให้กับผู้ป่วย (Vunjak-Novakovic *et al.*, 2004) บทความฉบับนี้

มีจุดมุ่งหมายเพื่อนำเสนอรายงานวิจัยที่มีเนื้อหาเกี่ยวข้องกับ การประยุกต์ใช้ชีววัสดุในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อโดยเน้นที่ชีววัสดุที่สามารถย่อยสลายด้วยกระบวนการชีวภาพ

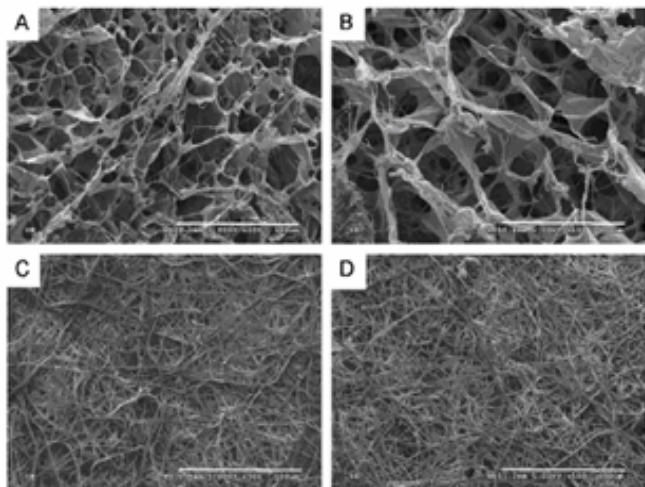
การออกแบบวัสดุค้ำจุนจากชีววัสดุ (Scaffold design from biomaterials)

การออกแบบชีววัสดุให้มีโครงสร้างที่เหมาะสมก่อนที่จะนำไปใช้เป็นวัสดุค้ำจุนในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อมีความสำคัญมาก เนื่องจากโครงสร้างของวัสดุเหล่านั้นจะส่งผลต่อพฤติกรรมของเซลล์ นอกจากนี้พื้นฐานวิทยา รวมทั้งรูปแบบของวัสดุต้องเหมาะสมกับการนำไปใช้งาน โดยรูปแบบวัสดุที่พบ ได้แก่ ฟิล์ม เจล แผ่น พง เส้นใย และ เม็ด เป็นต้น การเลือกใช้ควรต้องพิจารณาถึงวัตถุประสงค์ อย่างเช่น หากใช้กับเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหายบริเวณกว้าง ควรใช้วัสดุแบบฟิล์ม แผ่น หรือ เส้นใย เพื่อให้สามารถปิดและซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหายนั้นได้หมด ส่วนรูปแบบเจล เหมาะสำหรับการใช้เป็นวัสดุปิดแผลจะดีกว่า รูปแบบ พง หรือ เม็ด เหมาะสำหรับการใช้ตรึงสารหรือบรรจุสาร เช่น ยา หรือ โปรตีน เป็นต้น สิ่งที่ต้องพิจารณาอีกอย่างหนึ่ง คือ สมบัติเฉพาะของวัสดุ ที่จะต้องเลือกใช้ให้เหมาะสม หากใช้สำหรับเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่ต้องการความแข็งแรงสูง อย่างเช่นกระดูกหรือเส้นเอ็น วัสดุที่ใช้ควรเป็นโหมจากธรรมชาติ หรือ โหมละลายที่ทำมาจากพอลิเมอร์สังเคราะห์ เนื่องจากวัสดุดังกล่าวมีสมบัติเชิงกลที่ดีมาก เมื่อเทียบกับวัสดุอื่น เช่น คอลลาเจน หรือ ไคโตซาน ซึ่งเหมาะกับเนื้อเยื่อที่ต้องการความยืดหยุ่นและเข้ากับเซลล์ร่างกายได้ดี ลักษณะทั่วไปที่ต้องพิจารณา ได้แก่ ขนาดรูพรุน ความพรุน ขนาด ความแข็งแรง และความยืดหยุ่น (Horan *et al.*, 2005) ชีววัสดุที่นำมาใช้เริ่มแรกจะเป็นกลุ่มวัสดุสังเคราะห์ (synthetic materials) และพอลิเมอร์ธรรมชาติ (natural polymers) การออกแบบมีการพัฒนาเรื่อยมาจนกระทั่งยุคปัจจุบัน พบว่า โครงสร้างที่เหมาะสมสำหรับเป็นวัสดุค้ำจุนควรมีสสมบัติ 3 มิติ (Li *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2005) อย่างที่ทราบกันดีแล้วว่า ชีววัสดุที่ดีควรมีสสมบัติที่เหมาะสมต่อเซลล์ทั้งด้านชีววิทยา (biology) สมบัติเชิงกล (mechanical properties) รวมถึงผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immune responses) ดังนั้น ขั้นตอนการเลือกชีววัสดุจึงมีความสำคัญเช่นกัน โดยทั่วไปชีววัสดุที่สามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการชีวภาพ ที่นำมาใช้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อแบ่งออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ คือ วัสดุ

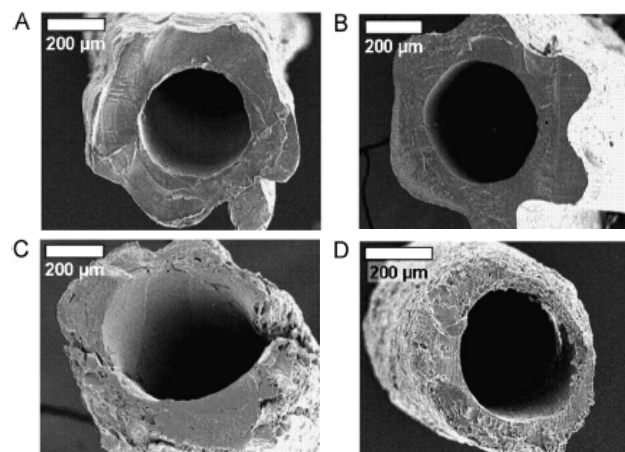
ที่ได้จากธรรมชาติ (naturally derived materials) วัสดุที่เตรียมได้จากอวัยวะในร่างกาย (acellular tissue matrices) และพอลิเมอร์สังเคราะห์ (synthetic polymers) ข้อดีของชีววัสดุ 2 ประเภทแรกคือ เข้ากับร่างกายได้ดี จึงไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกาย เช่น การอักเสบ หรืออาการแพ้ (allergic symptom) ส่วนพอลิเมอร์สังเคราะห์มีข้อดีตรงที่สามารถผลิตซ้ำ (reproducibility) และผลิตในปริมาณมากได้ (Koh & Atala, 2004) ตัวอย่างรูปแบบของวัสดุค้ำจุนที่ใช้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อแสดงดังภาพที่ 1-5



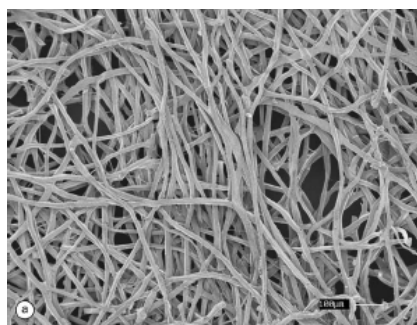
ภาพที่ 3 วัสดุค้ำจุนแบบเม็ด (particle) ที่เตรียมจากเจลาติน: รูพรุนที่ผิวหน้า (a) และภายในเม็ด (b) (Huang *et al.*, 2008)



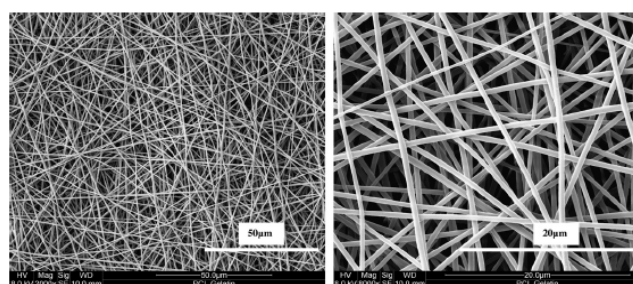
ภาพที่ 1 วัสดุค้ำจุนที่เตรียมจากคอลลาเจนด้วยวิธี freeze-dried (A, B) และการปั่นด้วยกระแสไฟฟ้า (C, D) (Powell *et al.*, 2008)



ภาพที่ 4 วัสดุค้ำจุนลักษณะท่อขนาดไมโครเมตรของไหมไฟโบรอิน (A) และส่วนผสมระหว่างไหมไฟโบรอินกับ PEO: 99/1 wt% (B), 98/2 wt% (C) และ 90/10 wt% (D) (Lovett *et al.*, 2007)



ภาพที่ 2 วัสดุค้ำจุนที่ไม่มีการถักทอของไหมไฟโบรอินที่เตรียมด้วยวิธีการปั่นด้วยกระแสไฟฟ้า (Unger *et al.*, 2004)



ภาพที่ 5 วัสดุค้ำจุนขนาดนาโนเมตรของวัสดุผสมระหว่าง poly-caprolactone (PCL) และ เจลาติน ที่เตรียมด้วยวิธีการปั่นด้วยกระแสไฟฟ้า (Chong *et al.*, 2007)

นักวิจัยให้ความสนใจชีววัสดุที่ได้จากธรรมชาติและวัสดุที่เตรียมได้จากอวัยวะในร่างกาย เช่น คอลลาเจน เจลลาติน ไคติน-ไคโตซาน เซลลูโลส ไหม ไกลโคซามิโนไกลแคน และกรดไฮยาลูโรนิกอย่างมาก เนื่องจากไม่ต้องกังวลเกี่ยวกับการต่อต้านจากเซลล์ของร่างกาย อย่างไรก็ตาม พอลิเมอร์สังเคราะห์ที่สามารถย่อยสลายได้ เป็นอีกกลุ่มหนึ่งที่มีความสนใจอย่างมาก เนื่องจากมีสมบัติที่ดีเทียบเท่ากับชีววัสดุที่ได้จากธรรมชาติ นอกจากนี้ ยังสามารถดัดแปลงสมบัติและรูปแบบ เพื่อให้ตรงกับการใช้งานได้ง่าย ในปัจจุบัน มีการค้นคว้าและวิจัยอย่างกว้างขวาง จึงทำให้มีรายงานเกี่ยวกับชีววัสดุสำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อจำนวนมาก ตัวอย่างชีววัสดุที่ได้รับความนิยม ได้แก่

ชีววัสดุที่ได้จากธรรมชาติ (Naturally derived biomaterials) และวัสดุที่เตรียมได้จากอวัยวะในร่างกาย (Acellular tissue matrices)

คอลลาเจน (Collagen)

คอลลาเจน เป็นโปรตีนเส้นใย มีปริมาณมากที่สุดในการบรรดาโปรตีนที่พบในร่างกายมนุษย์ คอลลาเจน เป็นชีววัสดุที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายสำหรับใช้เป็นวัสดุค้ำจุนเซลล์ ทั้งนี้เป็นเพราะคอลลาเจนนั้นเป็นหนึ่งในโปรตีนที่อยู่แวดล้อมเซลล์ (extracellular matrix, ECM) ซึ่งไม่เกิดปฏิกิริยาต่อต้านจากเซลล์ ในปัจจุบัน คอลลาเจน ได้นำไปใช้ในทางการแพทย์มากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับคอลลาเจนในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อมากมายเช่นกัน ได้แก่ วิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก (bone tissue engineering) (Ochi *et al.*, 2003) วิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนัง (skin tissue engineering) (Croce *et al.*, 2004; Dai *et al.*, 2004) การซ่อมแซมเส้นเอ็น (tendon repair) (Young *et al.*, 1998) วิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน (cartilage tissue engineering) (Stark *et al.*, 2006) กระบวนการสร้างเซลล์ประสาท (nerve regenerative enhancement) (Archibald *et al.*, 1995) หรือ การเลี้ยงและการแสดงออกของยีน (cultivation and gene expression) (Bruns *et al.*, 2007) ผลการศึกษาสรุปได้ว่า คอลลาเจนเป็นชีววัสดุที่ดี ช่วยส่งเสริมให้เซลล์มีการเกาะติด การขยายขนาดและสร้างเนื้อเยื่อที่ดีอย่างดียิ่ง ดังนั้น คอลลาเจนจึงนับว่าเป็นชีววัสดุที่มีประโยชน์อย่างยิ่งในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

ไหม (Silk)

ไหม เป็นเส้นใยธรรมชาติ ที่สร้างโดยหนอนไหม (Kim *et al.*, 2005) ประกอบด้วยโปรตีนหลักอย่างน้อย 2 ชนิด คือ

ไฟโบรอิน และเซอรีซิน (Altman *et al.*, 2003; Meinel *et al.*, 2005) ปัจจุบัน ไหมเป็นชีววัสดุที่ใช้ในทางการแพทย์อย่างกว้างขวาง ทั้งนี้ เป็นเพราะไหมมีคุณสมบัติที่เหมาะสมหลายอย่าง ได้แก่ ระบายอากาศและน้ำได้ดี สามารถย่อยสลายด้วยกระบวนการชีวภาพ เข้ากับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ดีจึงก่อให้เกิดอาการอักเสบน้อยมาก (Chiarini *et al.*, 2003) ที่สำคัญคือ ไหมมีความแข็งแรงสูงซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว ข้อดีอีกประการคือ ไหมสามารถนำไปใช้งานได้หลากหลายรูปแบบ เช่น เจล ผง ฟิล์ม ฟองน้ำ เส้นใยหรือแผ่นขึ้นอยู่กับการใช้ประโยชน์ จึงมีนักวิจัยได้ทดลองนำไหมโดยเฉพาะส่วนไฟโบรอินไปใช้เป็นวัสดุค้ำจุนเซลล์ และพบว่า วัสดุที่ทำจากไหมหรือมีไหมเป็นองค์ประกอบช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ชนิดต่างๆ ได้เป็นอย่างดี (Chiarini *et al.*, 2003; Sofia *et al.*, 2001) ตัวอย่างการศึกษาเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ไหมเป็นชีววัสดุในการเลี้ยงเซลล์สำหรับการรักษาหรือทดแทนเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายหรือเสื่อมสภาพ ได้แก่ วิศวกรรมหลอดเลือด (blood vessel engineering) (Lovett *et al.*, 2007) วิศวกรรมเนื้อเยื่อเส้นเอ็นและข้อต่อ (tendon/ligament tissue engineering) (Liu *et al.*, 2008) พัฒนาการของเซลล์กระดูก (guiding bone regeneration) (Meinel *et al.*, 2006) การฟื้นฟูเนื้อเยื่อประสาท (peripheral nerve repair) (Yang *et al.*, 2007) และวิศวกรรมผิวหนัง (Inouye *et al.*, 1998) ผลการทดลองโดยสรุป พบว่า ไหมเป็นอีกชีววัสดุที่สามารถนำไปใช้ได้จริงและมีคุณสมบัติที่เหมาะสมอย่างยิ่งต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เทียบเท่าหรือใกล้เคียงกับคอลลาเจน

ไคติน-ไคโตซาน (Chitin - Chitosan)

เนื่องจากไคตินและไคโตซานเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ดังนั้น ร่างกายมนุษย์มักจะไม่ทำการต่อต้าน นอกจากนี้ไคตินและไคโตซานยังสามารถป้องกันการติดเชื้อ จึงสามารถนำไคตินและไคโตซานมาใช้ในงานในส่วนของวัสดุทางการแพทย์ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากข้อจำกัดที่ว่าด้วยลักษณะที่ดีของวัสดุค้ำจุนอย่างหนึ่งคือ ความเหมือนหรือใกล้เคียงกับโปรตีนที่สร้างโดยเซลล์ในร่างกาย (ECM) เช่น คอลลาเจนและไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycans, GAGs) (Yoo *et al.*, 2008) ดังนั้น ไคตินจึงมีลักษณะพิเศษจากข้อจำกัดดังกล่าว เนื่องจากไคติน (chitin) มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีคล้าย GAGs บางชนิด เช่น คอนดรอยติน ซัลเฟต (chondroitin sulfates) และ กรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) ใน ECM ทำให้ไคตินสามารถเข้ากันกับเซลล์ร่างกายได้ดี และถูกย่อยสลายด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (Yusof *et al.*, 2003) นอกจากนี้ยังสามารถออกแบบให้มีโครงสร้าง

3 มิติได้ง่าย (Park *et al.*, 2006) จึงถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์มากมาย เช่น เพิ่มระบบภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับความสมดุลของร่างกาย (hemostatic immunity enhancing) และการรักษาบาดแผล (Yusof *et al.*, 2003) เมื่อทดลองใช้เป็นวัสดุค้ำจุนพบว่าโคตินสามารถเพิ่มการเกาะติดและการขยายขนาดของเซลล์ได้ดี (Yoo *et al.*, 2008) ส่วนโคโตซาน เป็นอนุพันธ์ของโคติน มีความเป็นขี้ผึ้งมากกว่าและสามารถสร้างพันธะกับวัสดุหรือสารอื่นได้ดี รายงานการศึกษาเกี่ยวกับโคโตซานมีมาก (Griffon *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2004; Yuan *et al.*, 2004) ที่เกี่ยวข้องในทางการแพทย์ได้แก่ การใช้โคโตซานเป็นวัสดุค้ำจุนสำหรับเลี้ยงเซลล์ผิวหนังเพื่อนำไปปลูกถ่ายให้แก่ผู้ป่วยที่เกิดบาดแผลจากไฟไหม้ขั้นรุนแรง (Boucard *et al.*, 2007) การห่อหุ้มเซลล์ (encapsulation of cells) และการขนส่งยา (drug delivery) (Risbud *et al.*, 2000) การซ่อมแซมกระดูกอ่อน (cartilage repair) (Montebault *et al.*, 2006) การซ่อมเสริมกระดูก (bone reconstruction) (Muzzarelli *et al.*, 1989) และการรักษาบาดแผล (Ueno *et al.*, 1999) นอกจากนี้ มีรายงานและยืนยันว่าโคโตซานเป็นชีววัสดุที่ช่วยส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์หลายชนิด (Noh *et al.*, 2006)

เจลาติน (Gelatin)

เจลาติน เป็นอนุพันธ์ของคอลลาเจน จึงมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับไกลโคซามิโนไกลแคน และ คอลลาเจน ซึ่งเป็น ECM ในร่างกาย ดังนั้น จึงมีผู้สนใจนำเอาเจลาตินไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุค้ำจุนสำหรับการเลี้ยงเซลล์โดยเฉพาะเซลล์ผิวหนัง (Hamid *et al.*, 2000) เจลาติน สามารถย่อยสลายด้วยกระบวนการชีวภาพได้ จึงถูกนำไปใช้เป็นตัวพา (carrier) เซลล์ที่ต้องการปลูกถ่ายลงบนร่างกาย (Gustafson *et al.*, 2007) จากการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เจลาตินเป็นวัสดุค้ำจุนเซลล์ พบว่าเจลาตินที่ออกแบบให้มีรูปร่างเป็นทรงกลม (spheres) ช่วยเพิ่มอัตราการอยู่รอดของเซลล์รวมถึงการเพิ่มปริมาณและขนาดของเซลล์ได้อย่างดีเยี่ยม (Del Guerra *et al.*, 2001; Hamid *et al.*, 2000) เซลล์ที่นิยมเลี้ยงบนเจลาติน ได้แก่ เคอราติโนไซต์ (human keratinocytes) (Gustafson *et al.*, 2007) ไฟโบรบลาสต์ (human fibroblast) (Huang *et al.*, 2008) ไฟโบรบลาสต์เส้นเอ็น (ligament fibroblast) (Fan *et al.*, 2008) เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้เจลาตินเป็นวัสดุสำหรับขนส่งยาหรือสารบางอย่าง (Young *et al.*, 2005) หรือ เป็นปัจจัยที่ช่วยในการเจริญเติบโต (growth factors) (Yamamoto *et al.*, 2001)

พอลิเมอร์สังเคราะห์ (Synthetic polymers)

การศึกษาเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้วัสดุในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อพบว่า กลุ่มของวัสดุที่ย่อยสลายยากมีการใช้งานเป็นลำดับแรก ต่อมา พอลิเมอร์สังเคราะห์ หรือที่รู้จักกันดีคือ โหมละลาย ได้รับความนิยมมากกว่า ที่พบมากได้แก่ กลุ่มพอลิเอสเทอร์ (Polyesters) (Goh *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 1997) ได้แก่ poly(glycolic acid) (PGA) (Freed *et al.*, 1993), poly(lactic acid) (PLA) (Kim *et al.*, 1999), poly-ε-caprolactone (PCL) (Honda *et al.*, 2003), poly(ethylene glycol) (PEG) (Gotoh & Tsukada, 1997) และพอลิเมอร์ร่วม (copolymers) ของพอลิเมอร์ที่กล่าวมา เช่น poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) (Wang *et al.*, 2007) หรือ poly(L-lactide) (PLL), poly(D,L-lactide) (PDLL), poly(glycolide) (PG) (Peltoniemi *et al.*, 2002) วัสดุเหล่านี้ถูกย่อยสลายได้ง่ายโดยไม่ต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ (non-enzymatic hydrolysis) ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย และสามารถกำจัดออกจากร่างกายได้ด้วยระบบเมตาบอลิซึมของร่างกาย (Koh and Atala, 2004) ซึ่งโหมละลายที่ใช้ในปัจจุบันแต่ละชนิด มีข้อดีแตกต่างกันไป ช่วงแรก นิยมใช้ PGA แต่ข้อเสียของพอลิเมอร์ชนิดนี้คือ ย่อยสลายเร็วเกินไป ซึ่งไม่เหมาะกับงานบางประเภท จึงได้เปลี่ยนและพัฒนาเป็น PLGA ซึ่งเป็นโคพอลิเมอร์ของ PGA และ PLA ต่อมาได้มีการพัฒนาพอลิเมอร์เพื่อให้มีสมบัติที่เหมาะสมตามการใช้งานมากขึ้น ทำให้พอลิเมอร์มีมากขึ้น ช่วยให้เลือกใช้ได้หลากหลายและตรงกับจุดมุ่งหมายมากขึ้น ผลการศึกษาพบว่าพอลิเมอร์สังเคราะห์ มีความเข้ากันได้กับเซลล์ร่างกายได้ดีมาก สามารถย่อยสลายด้วยกระบวนการชีวภาพ จึงไม่ก่อให้เกิดการตกค้างหรืออาการที่ไม่พึงประสงค์ต่อร่างกาย เช่น อาการอักเสบและอาการแพ้ (Chun *et al.*, 2008) ตัวอย่างการศึกษาพอลิเมอร์สังเคราะห์ หรือวัสดุที่มีพอลิเมอร์สังเคราะห์เป็นองค์ประกอบในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อได้แก่

PGA ใช้เป็นวัสดุสำหรับงานผ่าตัดในช่องปาก (Sortino *et al.*, 2008) เป็นวัสดุค้ำจุนไฟโบรบลาสต์ (Lin *et al.*, 1999) หรือช่วยเพิ่มความแข็งแรงและลักษณะที่ดีของเซลล์เส้นเอ็น (Liu *et al.*, 2000), PCL มีการประยุกต์ใช้สำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ เช่น กระดูกอ่อน (cartilage) (Li *et al.*, 2005), ตับ (liver) (Kim *et al.*, 1999), ผิวหนัง (skin) (Dai *et al.*, 2004), กระดูก (bone) (Coombes *et al.*, 2004), และ เซลล์ประสาท (nerve) (Dunnen *et al.*, 2000) ส่วน PLGA มีรายงานเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้สำหรับเซลล์มนุษย์หลายชนิดโดยเฉพาะ

เซลล์กระดูก (Simon *et al.*, 2002) และเซลล์เส้นเอ็น (Ouyang, *et al.*, 2003)

PLA มีการศึกษาเพื่อให้มีคุณสมบัติเหมาะสมโดยเฉพาะความแข็งแรงด้วยการผสมกับวัสดุชนิดอื่นเช่น ไหม (Cheung *et al.*, 2008), คอลลาเจน (Dunn *et al.*, 1997) หรือ เส้นใยจากพืช เช่น ไยไม้ไผ่ (Lee and Wang, 2006), กระดาษหนังสือพิมพ์ (Huda *et al.*, 2006) ก่อนที่จะนำไปทดสอบกับเซลล์ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ตัวอย่างการศึกษา พบว่า PLA ช่วยส่งเสริมการสร้างโปรตีนเส้นใยของเซลล์เส้นเอ็นได้ดี (Sato *et al.*, 2000),

PEG ช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์และการสร้างแร่ธาตุของเซลล์ periosteal เมื่อศึกษาในห้องปฏิบัติการ (Karageorgion and Kaplan, 2005) และวัสดุที่เกิดจากการผสมระหว่าง PEG-PLA ยังสามารถส่งผ่าน DNA เข้าไปภายในเซลล์ได้ (Luu *et al.*, 2003)

มีรายงานการนำวัสดุที่เตรียมจาก poly(L-lactide), poly(D,L-lactide) และ poly(glycolide) ไปใช้เป็นอุปกรณ์ยึดกระดูก รวมทั้งการศึกษาระยะเวลาการสลายตัวทางชีวภาพ พบว่าพอลิเมอร์ทั้งสามชนิดมีระยะเวลาการสลายตัวทางชีวภาพอย่างสมบูรณ์ภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิตแตกต่างกันโดย poly(D,L-lactide) มีการสลายตัวช้าที่สุด (3 ปี) ดังนั้น การเลือกใช้จึงต้องพิจารณาระยะเวลารักษาด้วย (Peltoniemi *et al.*, 2002)

โดยภาพรวมจะเห็นว่า วัสดุที่สามารถสลายด้วยกระบวนการชีวภาพมีความเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำไปเป็นวัสดุค้ำจุนสำหรับเซลล์ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ทั้งนี้เป็นเพราะชีววัสดุมีสมบัติที่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งคือความสามารถเข้ากันได้กับเซลล์และการส่งเสริมพฤติกรรมที่พึงประสงค์ ดังปรากฏจากรายงานของนักวิจัยที่ยกตัวอย่างในเบื้องต้น อย่างไรก็ตาม การศึกษาเกี่ยวกับชีววัสดุที่สามารถย่อยสลายได้ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อยังมีอีกมาก ซึ่งสามารถที่จะค้นหาได้จากสื่อหรือหนังสือเกี่ยวกับชีววัสดุทั่วไป

เอกสารอ้างอิง

Altman, G.H., Diaz, F., Jakuba, C., Calabro, T., Horan, R.L., Chen, J., Lu, H.H., Richmond, J., & Kaplan, D.L. (2003). Silk-based biomaterials. *Biomaterials*, 24, 401-416.

Archibald, S.J., Shefner, J., Krarup, C., & Madison, R.D. (1995). Monkey median nerve repaired by nerve graft or collagen nerve guide tube. *The Journal of Neuroscience*, 15, 4109-4123.

Boucard, N., Viton, C., Agay, D., Mari, E., Roger, T., Chancerelle, Y., & Domard. (2007). The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns. *Biomaterials*, 28, 3478-3488.

Bruns, S., Stark, Y., Roker, S., Wieland, M., Drager, G., Kirschning, A., Stahl, F., Kasper, C., & Scheper, T. (2007). Collagen biomaterial doped with colominic acid for cell culture applications with regard to peripheral nerve repair. *Journal of Biotechnology*, 131, 335-345

Cheung, H.-Y., Lau, K.-T., Tao, X.-M., & Hui, D. (2008). A potential material for tissue engineering: Silkworm silk/PLA biocomposite. *Composites Part B*, 39, 1026-1033.

Chiarini, A., Petrini, P., Bozzini, S., Dal Pra, I., & Armato, U. (2003). Silk fibroin/poly(carbonate)-urethane as a substrate for cell growth: in vivo interactions with human cells. *Biomaterials*, 24, 789-799.

Chong, E.J., Phan, T.T., Lim, I.J., Zhang, Y.Z., Bay, B.H., Ramakrishna, S., Lim, C.T. (2007). Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Biomaterialia*, 3, 321-330.

Chun, S., Huang, Y., Xie, W.J., Hou, Y., Huang, R.P., Song, Y.M., Liu, X.M., Zheng, W., Shi, Y., & Song, C.F. (2008). Adhesive growth of pancreatic islet cells on a polyglycolic acid fibrous scaffold. *Transplantation Proceedings*, 40, 1658-1663.

Coombes, A.G.A., Rizzi, S.C., Williamson, M., Barralet, J.E., Downes, S., & Wallace, W.A. (2004). Precipitation casting of polycaprolactone for applications in tissue engineering and drug delivery. *Biomaterials*, 25, 315-325.

Croce, M.A., Silvestri, C., Guerra, D., Carnevali, E., Boraldi, F., & Tiozzo, R. (2004). Adhesion and proliferation of human dermal fibroblasts on collagen matrix. *Journal of Biomaterials Applications*, 18, 210-222.

- Dai, N.T., Williamson, M.R., Khammo, N., Adams, E.F., & Coombes, A.G. (2004). Composite cell support membranes based on collagen and polycaprolactone for tissue-engineering of skin. *Biomaterials*, *25*, 4263-4271.
- Del Guerra, S., Bracci, C., Nilsson, K., Belcourt, A., Kessler, L., Lupi, R., Marselli, L., De Vos, P., & Marchetti, P. (2001). Entrapment of dispersed pancreatic islet cells in CultiSpher-Smacroporous gelatin microcarriers: preparation, in vitro characterization, and microencapsulation. *Biotechnology and Bioengineering*, *75*, 741-744.
- Dunn, M.G., Bellincampi, L.D., Tria, A.J., & Zawadsky, J.P. (1997). Preliminary development of a collagen-PLA composite for ACL reconstruction. *Journal of Applied Polymer Science*, *63*, 1423-1428.
- Dunnen, W.F.A., Meek, M.F., Grijpma, D.W., Robinson, P.H., & Schakenraad, J.M. (2000). In vitro and in vivo degradation of p(DLLA- ϵ -CL) and the impact on nerve regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research*, *51*, 575-585.
- Fan, H., Liu, H., Toh, S.L., Goh, J.C.H. (2008). Enhanced differentiation of mesenchymal stem cells co-cultured with ligament fibroblasts on gelatin/silk fibroin hybrid scaffold. *Biomaterials*, *29*, 1017-1027.
- Freed, L.E., Marquis, J.C., Nohria, A., Emmanuel, J., Mikos, A.G., & Langer, R. (1993). Neocartilage formation in vitro and in vivo using cells cultured on synthetic biodegradable polymers. *Journal of Biomedical Materials Research*, *27*, 11-23.
- Goh, J.C.-H., Ouyang, H.-W., Teoh, S.-H., Chan, C.K.C., & Lee, E.-H. (2003). Tissue-engineering approach to the repair and regeneration of tendons and ligaments. *Tissue Engineering*, *9*, S31-S44.
- Gotoh, Y., Tsukada, M. and Minoura, N. (1998). Effect of the chemical modification of the arginyl residue in Bombyx mori silk fibroin on the attachment and growth of fibroblasts cells. *Journal of Biomedical Materials Research*, *39*, 351-357.
- Gotoh, Y. and Tsukada, M. (1997). Physical properties and structure of poly(ethylene glycol)-silk fibroin conjugate films. *Polymer*, *38*, 487-490.
- Griffon, D.J., Sedighi, M.R., Schaeffer, D.V., Eurell, J.A., Johnson, A.L. (2006). Chitosan scaffolds: Interconnective pore size and cartilage engineering. *Acta Biomaterialia*, *2*, 313-320.
- Gustafson, C.-J., Birgisson, A., Junker, J., Huss, F., Salemark, L., Johnson, H., & Kratz, G. (2007). Employing human keratinocytes cultured on macroporous gelatin spheres to treat full thickness-wounds: An in vivo study on athymic rats. *Burns*, *33*, 726-735.
- Hamid, M., McCluskey, J.T., McClenaghan, N.H., & Flatt, P.R. (2000). Culture and function of electrofusion-derived clonal insulin-secreting cells immobilized on solid and microporous microcarrier beads. *Bioscience Reports*, *20*, 167-176.
- Honda, M., Morikawa, N., Hata, K., Yada, T., Morita, S., Ueda, M., & et al. (2003). Rat constochondral cell characteristics on poly(L-lactide-co-epsilon-caprolactone) scaffolds. *Biomaterials*, *24*, 3511-3519.
- Horan, R.L., Antle, K., Collette, A.L., Wang, Y., Huang, J., Moreau, J.E., Volloch, V., Kaplan, D.L., & Altman, G.H. (2005). In vitro degradation of silk fibroin. *Biomaterial*, *26*, 3385-3393.
- Huang, S., Deng, T., Wang, Y., Deng, Z., He, L., Liu, S., Yang, J., & Jin, Y. (2008). Multifunctional implantable particles for skin tissue regeneration: Preparation, Characterization, in vitro and in vivo studies. *Acta Biomaterialia*, *4*, 1057-1066.
- Huda, M.S., Drzal, L.T., Mohanty, A.K., & Misra, M. (2006). Chopped glass and recycled newspaper as reinforcement fibers in injection molded poly(lactic acid) (PLA) composites: a comparative study. *Composites Science and Technology*, *66*, 1813-1824.
- Inouye, K., Kurokawa, M., Nishikawa, S., & Tsukada, M. (1998). Use of Bombyx mori silk fibroin as a substratum for cultivation of animal cells. *Journal Biochemical and Biophysical Methods*, *37*, 159-164.

- Karageorgiou, V. and Kaplan, D. (2005). Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, 61, 494-506.
- Kim, B.S., Nikolovski, J., Bonadio, J., Smiley, E., & Mooney, D.J. (1999). Engineered smooth muscle tissue: regulating cell phenotype with the scaffold. *Experimental Cell Research*, 251, 318-328.
- Kim, H.J., Kim, U.-J., Kim, H.S., Li, C., Wada, M., Leisk, G.G., & Kaplan, D.L. (2008). Bone tissue engineering with premineralized silk scaffolds. *Bone*, 42, 1226-1234.
- Kim, K.-H., Jeong, L., Park, H.-N., Shin, S.-Y., Park, W.H., Lee, S.-C., Kim, T.-I., Park, Y.J., Seol, Y.-J., Lee, Y.M., Ku, Y., Rhyu, I.-C., Han, S.-B., & Chung, C.P. (2005). Biological efficacy of silk fibroin nanofiber membranes for guided bone regeneration. *Journal of Biotechnology*, 120, 327-339.
- Koh, C.J. & Atala, A. (2004). Tissue engineering, stem cells, and cloning: Opportunities for regenerative medicine. *Journal of the American Society Nephrology*, 15, 1113-1125.
- Lee, S.H. & Wang, S. (2006). Biodegradable polymers/bamboo fiber biocomposite with bio-based coupling agent. *Composite: Part A*, 37, 80-89.
- Li, W.-J., Tuli, R., Okafor, C., Derfoul, A., Danielson, K.G., Hall, D.J., & Tuan, R.S. (2005). A three-dimensional nanofibrous scaffold for cartilage tissue engineering using human mesenchymal stem cells. *Biomaterials*, 26, 599-609.
- Lin, V.S., Lee, M.C., O'Neal, S., Mckean, J., & Sung, K.L. (1999). Ligament tissue engineering using synthetic biodegradable fiber scaffolds. *Tissue Engineering*, 5, 443-451.
- Liu, H., Fan, H., Toh, S.L., & Goh, J.C.H. (2008). A comparison of rabbit mesenchymal stem cells and anterior cruciate ligament fibroblasts responses on combined silk scaffolds. *Biomaterials*, 29, 1443-1453.
- Liu, Y.T., Zhang, Z.F., Wu, J.J., Shang, Q.X., & Cao, Y.L. (2000). An experimental study on repair of tendon defect using tissue-engineered tendon. *Tissue Engineering*, 6, 677-680.
- Lovett, M., Cannizzaro, C., Daheronc, L., Messmer, B., Vunjak-Novakovic, G., & Kaplan, D.L. (2007). Silk fibroin microtubes for blood vessel engineering. *Biomaterials*, 28, 5271-5279.
- Luu, Y.K., Kim, K., Hsiao, B.S., Chu, B., & Hadjiargyrou, M. (2003). Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA-PEG block copolymers. *Journal of Controlled Release*, 89, 341-353.
- Meinel, L., Betz, O., Fajardo, R., Hofmann, S., Nazarian, A., Cory, E., Hilbe, M., McCool, J., Langer, R., Vunjak-Novakovic, G., Merkle, H.P., Rechenberg, B., Kaplan, D.L., & Kirker-Head, C. (2006). Silk based biomaterials to heal critical sized femur defects. *Bone*, 39, 922-931.
- Meinel, L., Hofmann, S., Karageorgiou, V., Carl, K.-H., McCool, J., Gronowicz, G., Zichner, L., Langer, R., Gordana, V.-N., & Kaplan, D.L. (2005). The inflammatory responses to silk films in vitro and in vivo. *Biomaterials*, 26, 147-155.
- Montembault, A., Tahiri, K., Korwin-Zmijowska, C., Corvol, M.T., & Domard, A. (2006). A chitosan physical hydrogel as a decoy for cartilage tissue engineering. *Biochimic*, 88, 551-564.
- Muzzarelli, R.A.A., Biagini, G., Pugnali, A., Filipini, O., Baldassarre, V., Castaldini, C., & Rizzoli, C. (1989). Reconstruction of periodontal tissue with chitosan. *Biomaterials*, 10, 598-603.
- Noh, H.K., Lee, S.W., Kim, J.-M., Oh, J.-E., Kim, K.-H., Chung, C.-P., Choi, S.-C., Park, W.H., & Min, B.-M. (2006). Electrospinning of chitin nanofibers: degradation behavior and cellular response to normal human keratinocytes and fibroblasts. *Biomaterials*, 27, 3934-3944.

- Ochi, K., Chen, G., Ushida, T., Gojo, S., Segawa, K., Tai, H., Ueno, K., Ohkawa, H., Mori, T., Yamaguchi, A., Toyama, Y., Hata, J.-J., & Umezawa, A. (2003). Use of isolated mature osteoblasts in abundance acts as desired-shaped bone regeneration in combination with a modified poly-DL-lactide-co-glycolic acid (PLGA)-collagen sponge. *Journal of Cellular Physiology*, *31*, 27-33.
- Ouyang, H.W., Goh, J.C.H., Thambyah, A., Teoh, S.H., & Lee, E.H. (2003). Knitted polylactide-co-glycolide scaffold loaded with bone marrow stromal cells in repair and regeneration of rabbit Achilles tendon. *Tissue Engineering*, *9*, 431-439.
- Park, W.H., Jeong, L., Yoo, D.I., & Hudson, S. (2004). Effect of chitosan on morphology and conformation of electrospun silk fibroin nanofibers. *Polymer*, *45*, 7151-7157.
- Park, E.P., Jung, S.Y., Lee, S.J., Min, B.-M., & Park, W.H. (2006). Biomimetic nanofibrous scaffolds: Preparation and characterization of chitin/silk fibroin blend nanofibers. *International Journal of Biological Macromolecules*, *38*, 165-173.
- Peltoniemi, H., Ashammakhi, N., Kontio, R., Waris, Timo., Salo, A., Lindqvist, C., Gratz, K., & Suuronen, R. (2002). The use of bioabsorbable osteofixation devices in craniomaxillofacial surgery. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology & Endodontics*, *94*, 5-14.
- Powell, H.M., Supp, D.M., & Boyce, S.T. (2008). Influence of electrospun collagen on wound contraction of engineered skin substitutes. *Biomaterials*, *29*, 834-843.
- Risbud, M., Hardikar, A., & Bhone, R. (2000). Chitosan-polyvinyl pyrrolidone hydrogels as candidate for islet immunoisolation: in vitro biocompatibility evaluation. *Cell Trans.*, *9*, 25-31.
- Sato, M., Maeda, M., Kurosawa, H., Inoue, Y., Yamauchi, Y., & Iwase, H. (2000). Reconstruction of rabbit Achilles tendon with three bioabsorbable materials: Histological and biomechanical studies. *Journal of Orthopaedic Science*, *5*, 256-267.
- Simon, Jr.C.G., Khati, C.A., Wight, S.A., & Wang, F.W. (2002). Preliminary report on the biocompatibility of a moldable, resorbable, composite bone graft consisting of calcium phosphate cement and poly(lactide-co-glycolide) microspheres. *Journal of Orthopaedic Research*, *20*, 473-482.
- Sofia, S., McCarthy, M.B., Gronowicz, G., & Kaplan, D.L. (2001). Functionalized silk-based biomaterials for bone formation. *Journal of Biomedical Material Research*, *54*, 139-148.
- Sortino, F., Lombardo, C., & Sciacca, A. (2008). Silk and polyglycolic acid in oral surgery: A comparative study. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology & Endodontics*, *105*, e15-e18.
- Stark, Y., Suck, K., Kasper, C., Wieland, M., van Mriensven, M., & Scheper, T. (2006). Application of collagen matrices for cartilage tissue engineering. *Experimenta Toxicologic Pathology*, *57*, 305-311.
- Ueno, H., Yamada, H., Tanaka, J., Kaba, N., Matsuura, M., Okumura, M., Kadosawa, T., & Fujinaga, T. (1999). Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs. *Biomaterials*, *20*, 1407-1414.
- Unger, R.E., Peters, K., Wolf, M., Motta, A., Migliaresi, C., & Klikpatrick, C.J. (2004). Endothelialization of a non-woven silk fibroin net for use in tissue engineering: growth and gene regulation of human endothelial cells. *Biomaterials*, *25*, 5137-5146.
- Vunjak-Novakovic, G., Altman, G., Horan, R., & Kaplan, D.L. (2004). Tissue engineering of ligaments. *Annual Review of Biomedical Engineering*, *6*, 131-156.

- Wang, X., Wenk, E., Hu, X., Castro, G.R., Meinel, L., Wang, X., Li, C., Merkle, H., & Kaplan, D.L. (2007). Silk coatings on PLGA and alginate microspheres for protein delivery. *Biomaterials*, *28*, 4161-4169.
- Wang, Y., Kim, U.-J., Blasioli, D.J., Kim, H.-J., & Kaplan, D.L. (2005). In vitro cartilage tissue engineering with 3D porous aqueous-derived silk scaffolds and mesenchymal stem cells. *Biomaterials*, *26*, 7082-7094.
- Yamamoto, M., Ikada, Y., & Tabata, Y. (2001). Controlled release of growth factors based on biodegradation of gelatin hydrogel. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, *12*, 77-88.
- Yang, Y., Chen, X., Ding, F., Zhang, P., Liu, J., & Gu, X. (2007). Biocompatibility evaluation of silk fibroin with peripheral nerve tissue and cells in vitro. *Biomaterials*, *28*, 1643-1652.
- Yoo, C.R., Yeo, I.-S., Park, K.E., Park, J.H., Lee, S.J., Park, W.H., & Min, B.M. (2008). Effect of chitin/silk fibroin nanofibrous bicomponent structures on interaction with human epidermal keratinocytes. *International Journal of Biological Macromolecules*, *42*, 324-334.
- Young, R.G., Butter, D.L., Weber, W., Caplan, A.I., Gordon, S.L., & Fink, D.J. (1998). Use of mesenchymal stem cells in a collagen matrix for achilles tendon repair. *Journal of Orthopaedic Research*, *16*, 406-413.
- Young, S., Wong, M., Tabata, Y., & Mikos, A.G. (2005). Gelatin as a delivery molecules. *Journal of Controlled Release*, *109*, 256-274.
- Yuan, Y., Zhang, P., Yang, Y., Wang, X., & Gu, X. (2004). The interaction of Schwann cells with chitosan membranes and fibers in vitro. *Biomaterials*, *25*, 4273-4278.
- Yusof, N.L.B.M., Wee, A., Lim, L.Y., & Khor, E. (2003). Flexible chitin films as potential wound-dressing materials: Wound model studies *Journal of Biomedical Materials Research*, *66*, 224-232.
- Zhang, Y., Zale, S., Sawyer, L., & Bernstein, H. (1997). Effect of metal salts on poly(D,L-lactide-co-glycolide) polymer hydrolysis. *Journal of Biomedical Materials Research*, *34*, 531-538.