

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱-۱-۱- مقدمه ..... ۱

### فصل ۲ - مروری بر منابع مطالعاتی

۱-۲-۱- بیومواد ..... ۴

۲-۲- بیوسرامیک ..... ۵

۳-۲- بیومواد پلیمری ..... ۵

۱-۳-۲- انواع پلیمرهای طبیعی ..... ۶

۴-۲- کلسیم فسفات ..... ۷

۵-۲- هیدروکسی آپاتیت ..... ۸

۱-۵-۲- کاربرد های هیدروکسی آپاتیت ..... ۸

۲-۵-۲- اشکال هیدروکسی آپاتیت ..... ۹

۶-۲- ساختار استخوان ..... ۱۰

۷-۲- مهندسی بافت ..... ۱۱

۱-۷-۲- اهمیت داربست ها در مهندسی بافت ..... ۱۲

۲-۷-۲- طبقه بندی داربستها ..... ۱۳

۳-۷-۲- ویژگیهای لازم برای ماده داربستی ..... ۱۳

۴-۷-۲- طراحی داربست ..... ۱۴

۵-۷-۲- اهمیت تخلخل در داربست ها ..... ۱۶

۶-۷-۲- اهمیت داربست در رهایش دارو ..... ۱۷

۸-۲- روش های ساخت داربست های متخلخل ..... ۱۷

۱-۸-۲- روش ریخته گری حلال/شستشوی ذره ..... ۱۸

۱-۱-۸-۲- انتخاب نوع حلال ..... ۱۸

۲-۱-۸-۲- انتخاب نوع قالب ..... ۲۰

۲-۸-۲- شستشوی نمک ..... ۲۱

۳-۸-۲- فرایند لایه چینی ..... ۲۲

۴-۸-۲- اکستروژن ..... ۲۳

- ۲۳..... ۵-۸-۲ جدایش فازی
- ۲۵..... ۱-۵-۸-۲ جدایش فازی جامد- مایع
- ۲۶..... ۲-۵-۸-۲ جدایش فازی مایع- مایع
- ۲۷..... ۶-۸-۲ روش خشک کردن انجمادی امولسیون
- ۲۹..... ۷-۸-۲ ایجاد فوم به روش گازی
- ۳۰..... ۱-۷-۸-۲ گسترش تخلخل به کمک دی اکسید کربن تحت فشار
- ۳۰..... ۲-۷-۸-۲ استفاده از عوامل ایجاد کننده فوم
- ۳۱..... ۸-۸-۲ نمونه سازی سریع
- ۳۲..... ۹-۲ کیتین و کیتوسان
- ۳۴..... ۱-۹-۲ روش های تولید کایتوسان از کیتین
- ۳۵..... ۲-۹-۲ فعالیت های ضد میکروبی و تخریب پذیری کایتوسان
- ۳۶..... ۱۰-۲ ویژگی های ژلاتین
- ۳۷..... ۱۱-۲ سیلیس کلوئیدی
- ۴۰..... ۱۲-۲ بررسی خواص چند داربست کامپوزیتی هیدروکسی آپاتیت - کایتوسان
- ۴۰..... ۱-۱۲-۲ اثر افزودن نانو هیدروکسیآپاتیت و ژلاتین
- ۴۳..... ۲-۱۲-۲ مقایسه داربست کایتوسان و داربست کامپوزیتی کایتوسان - هیدروکسی آپاتیت
- ۴۵..... ۳-۱۲-۲ اثر افزودن سیلیکا در تشکیل آپاتیت
- ۴۸..... ۱۳-۲ هدف از انجام این پژوهش

### فصل ۳ - فعالیت های تجربی

- ۵۰..... ۱-۳ مواد اولیه
- ۵۱..... ۲-۳ تجهیزات و دستگاه ها
- ۵۲..... ۳-۳ ساخت داربست کایتوسان- ژلاتین به روش خشک کردن انجمادی
- ۵۲..... ۴-۳ پوشش دهی داربست
- ۵۲..... ۱-۴-۳ پوشش دهی با دوغاب کلسیم فسفاتی
- ۵۳..... ۲-۴-۳ پوشش دهی با سیلیس کلوئیدی
- ۵۴..... ۵-۳ بررسی زیست فعالی داربست ها (آزمون IN-VITRO درون محلول شبیه ساز بدن SBF)
- ۵۴..... ۱-۵-۳ ساخت محلول SBF
- ۵۵..... ۲-۵-۳ انجام مرحله غوطه وری
- ۵۵..... ۶-۳ آزمایشات انجام شده جهت بررسی خواص

۵۵.....	۳-۶-۱- بررسی فازی به روش پراش پرتو ایکس (XRD)
۵۶.....	۳-۶-۲- آزمون FTIR
۵۶.....	۳-۶-۳- بررسی های میکروسکوپی
۵۶.....	۳-۶-۴- آنالیز عنصری EDXA
۵۶.....	۳-۶-۵- استحکام
۵۷.....	۳-۶-۶- آنالیز عنصری ICP از محلول های SBF
۵۷.....	۳-۷- آزمون تخریب پذیری

#### فصل ۴- نتایج

۵۹.....	۴-۱- بررسی مشخصات داربست کایتوسان - ژلاتین
۵۹.....	۴-۱-۱- آنالیز فازی
۵۹.....	۴-۱-۲- بررسی طیف حاصل از آزمون FTIR
۶۱.....	۴-۱-۳- مورفولوژی داربست
۶۲.....	۴-۱-۴- استحکام داربست
۶۳.....	۴-۱-۵- بررسی زیست فعالی داربست کایتوسان-ژلاتین
۶۳.....	۴-۱-۵-۱- آنالیز فازی (XRD)
۶۴.....	۴-۱-۵-۲- آنالیز FTIR
۶۵.....	۴-۱-۵-۳- بررسی میکروسکوپی (SEM)
۶۸.....	۴-۱-۵-۴- آنالیز عنصری محلول SBF داربست بدون پوشش
۶۹.....	۴-۲- داربست های پوشش داده شده با دوغاب کلسیم فسفات
۷۰.....	۴-۲-۱- آنالیز فازی
۷۱.....	۴-۲-۲- آنالیز FTIR
۷۲.....	۴-۲-۳- بررسی میکروسکوپی (SEM و EDXA)
۷۸.....	۴-۲-۴- آنالیز عنصری محلول SBF داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات
۷۹.....	۴-۲-۵- استحکام داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات
۸۰.....	۴-۲-۵-۱- مقایسه استحکام داربست بدون پوشش و پوشش داده شده با کلسیم فسفات
۸۱.....	۴-۳- داربست کایتوسان - ژلاتین پوشش داده شده با سیلیس کلئیدی
۸۱.....	۴-۳-۱- آنالیز فازی (XRD)
۸۱.....	۴-۳-۲- آنالیز FTIR
۸۲.....	۴-۳-۳- بررسی میکروسکوپی (SEM و EDXA)

۴-۳-۴- آنالیز عنصری محلول SBF داربست پوشش داده شده با سیلیس کلونیدی ..... ۸۵

۴-۴- تخریب پذیری داربست ..... ۸۶

۴-۵- بحث کلی ..... ۸۸

#### فصل ۵- نتیجه گیری و پیشنهادها

۵-۱- نتیجه گیری ..... ۹۲

۵-۲- پیشنهادها ..... ۹۳

#### فصل ۶- مراجع

۶- مراجع ..... ۹۵

## فهرست جدول‌ها

صفحه

عنوان

### فصل ۲- مروری بر منابع

- جدول ۲-۱: عمده ترین کلسیم فسفات‌های دارای کاربرد بیولوژیک ..... ۷
- جدول ۲-۲: ترکیبات تشکیل دهنده استخوان ..... ۱۰
- جدول ۲-۳: مقایسه قدرت حلالها ..... ۱۹
- جدول ۲-۴: ویژگیهای مربوط به چند نوع حلال معروف ..... ۲۰

### فصل ۳- فعالیت های تجربی

- جدول ۳-۱: مواد مورد نیاز برای ساخت داربست و پوشش دهی آن ..... ۵۰
- جدول ۳-۲: مواد مورد نیاز برای آماده سازی محلول شبیه سازی شده به سیالات بدن (SBF) ..... ۵۱
- جدول ۳-۳: مواد مورد استفاده برای ساخت یک لیتر SBF ..... ۵۴
- جدول ۳-۴: غلظت یونی SBF و پلاسمای خون انسان (mm) ..... ۵۵

### فصل ۴- نتایج و بحث

- جدول ۴-۱: پیک های مشخصه طیف FTIR پودر ژلاتین، پودر کایتوسان و داربست کایتوسان- ژلاتین ..... ۶۰
- جدول ۴-۲: اعداد به دست آمده برای محاسبه استحکام فشاری داربست بدون پوشش ..... ۶۲
- جدول ۴-۳: اعداد به دست آمده برای محاسبه استحکام فشاری داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات ..... ۸۰
- جدول ۴-۴: درصد تخریب پذیری داربست بدون پوشش طی روزهای مختلف غوطه وری در محلول SBF ..... ۸۶
- جدول ۴-۵: درصد تخریب پذیری داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات طی روزهای مختلف غوطه وری در محلول SBF ..... ۸۶
- جدول ۴-۶: درصد تخریب پذیری داربست پوشش داده شده با سیلیس کلوئیدی طی روزهای مختلف غوطه وری در محلول SBF ..... ۸۷

فصل ۲- مروی بر منابع

- شکل ۲-۱: پلیمرهای مورد استفاده برای ساخت داربست ..... ۶
- شکل ۲-۲: ساختار کریستالی هیدروکسی آپاتیت ..... ۸
- شکل ۲-۳: تصویر مقطع استخوان (قسمت فشرده و اسفنجی) ..... ۱۱
- شکل ۲-۴: اساس روش شستشوی نمک ..... ۲۱
- شکل ۲-۵: تصویر شماتیک از مراحل ساخت یک داربست سه‌بعدی از طریق لایه چینی ..... ۲۳
- شکل ۲-۶: تصویر SEM از داربست PLLA تهیه شده به روش جدایش فازی حرارتی جامد-مایع ..... ۲۴
- شکل ۲-۷: نمایش شماتیک نحوه ساخت داربست با فرایندهای جدایش فازی: (A) پودر، (B) داربست با شبکه پیوسته، (C) فوم با حفرات بسته ..... ۲۵
- شکل ۲-۸: تصویر SEM از یک داربست کامپوزیتی PLLA/HA تهیه شده به روش جدایش فازی حرارتی جامد-مایع ..... ۲۶
- شکل ۲-۹: مراحل ساخت یک داربست متخلخل PLGA به روش خشک کردن تبریدی امولسیون ..... ۲۸
- شکل ۲-۱۰: نمونه ای از دستگاه فریز درایر ..... ۲۹
- شکل ۲-۱۱: (a) نمای فوقانی، (b) مقطع عرضی داربست کایتوسان تهیه شده به روش خشک کردن انجمادی ..... ۲۹
- شکل ۲-۱۲: تصویر SEM از یک داربست PLGA تهیه شده از روش گازی ..... ۳۰
- شکل ۲-۱۳: طرح شماتیک روش تولید داربست به روش 3DF ..... ۳۲
- شکل ۲-۱۴: کاربردهای کایتوسان (الف) چسب زخم، (ب) لنز چشم ..... ۳۴
- شکل ۲-۱۵: نحوه تشکیل کایتوسان از کیتین ..... ۳۵
- شکل ۲-۱۶: ساختار کیتین و کایتوسان ..... ۳۵
- شکل ۲-۱۷: تصویر شماتیک یک ذره سیلیس کلونیدی ..... ۳۸
- شکل ۲-۱۸: الگوی پراش اشعه X ذرات سیلیس ..... ۳۹
- شکل ۲-۱۹: الگوی EDXA ذرات سیلیس ..... ۳۹
- شکل ۲-۲۰: طیف FTIR ذرات سیلیس کلونیدی ..... ۳۹

- شکل ۲-۲۱: A طیف FTIR (a) کایتوسان - ژلاتین (b) کایتوسان - ژلاتین و نانو هیدروکسی آپاتیت (c) نانو هیدروکسی آپاتیت، B الگوی XRD (a) کایتوسان - ژلاتین ژلاتین (b) نانو هیدروکسی آپاتیت (c) داربست کامپوزیتی ..... ۴۱
- شکل ۲-۲۲: تصاویر SEM (b,a) داربست های کایتوسان - ژلاتین و (c,d) داربست های کایتوسان - ژلاتین و نانو هیدروکسی آپاتیت ..... ۴۱
- شکل ۲-۲۳: رفتار تخریب پذیری داربست ها در PBS حاوی لیزوزیم ..... ۴۲
- شکل ۲-۲۴: A تصاویر SEM داربست های کامپوزیتی پس از غوطه وری در SBF (a,b) ۷ روز (c,d) ۱۴ روز B طیف FTIR داربست های کامپوزیتی پس از غوطه وری در محلول SBF (a) کنترل (b) ۷ روز (c) ۱۴ روز ..... ۴۳
- شکل ۲-۲۵: (a) ساختار متخلخل کایتوسان، (b) داربست کامپوزیتی کایتوسان / نانو هیدروکسی آپاتیت با ۱۲٪ HA ..... ۴۳
- شکل ۲-۲۶: الگوی XRD داربست کایتوسان و داربست کامپوزیتی پس از غوطه وری در محلول ۵×SBF ..... ۴۴
- شکل ۲-۲۷: طیف FTIR داربست های کایتوسان و کامپوزیتی پس از غوطه وری در محلول ۵×SBF ..... ۴۴
- شکل ۲-۲۸: تصویر SEM (a) داربست کایتوسان (b) داربست کامپوزیتی پس از غوطه وری در محلول ۵×SBF ..... ۴۵
- شکل ۲-۲۹: (i) طیف FTIR، (ii) الگوی XRD کامپوزیت های هیدروکسی آپاتیت و TEOS با محلول کایتوسان با درصد های مختلف پس از غوطه وری در محلول SBF ..... ۴۷
- شکل ۲-۳۰: (a) تصویر SEM از نانو کامپوزیت تولید شده پس از غوطه وری در محلول SBF، (b) الگوی EDXA نمونه در سطح میزبان، (c) الگوی EDXA ذرات تشکیل شده روی سطح، (d و e) فرایند مکانیکی تشکیل لایه آپاتیتی پس از غوطه وری در محلول SBF ..... ۴۸

### فصل ۳- فعالیت های تجربی

- شکل ۳-۱: طرح اجمالی نحوه تهیه نانو کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت/ کایتوسان ..... ۵۳

### فصل ۴- نتایج و بحث

- شکل ۴-۱: الگوی پراش پرتو ایکس پودر ژلاتین، پودر کایتوسان و داربست کایتوسان - ژلاتین ..... ۵۹
- شکل ۴-۲: طیف FTIR مربوط به پودر ژلاتین، پودر کایتوسان و داربست کایتوسان - ژلاتین ..... ۶۰
- شکل ۴-۳: تصویر SEM از مقطع فوقانی داربست کایتوسان - ژلاتین با بزرگنمایی های مختلف ..... ۶۱
- شکل ۴-۴: تصویر SEM از مقطع عرضی داربست کایتوسان - ژلاتین با بزرگنمایی های مختلف ..... ۶۱

شکل ۴-۵: نمودار جابجایی/ بار برای تعیین استحکام داربست بدون پوشش ..... ۶۲

شکل ۴-۶: الگوی پراش پرتو X داربست کایتوسان-ژلاتین پس از غوطه وری در محلول SBF به مدت زمان های مختلف پس از ۱ دقیقه شستشو در آب مقطر ..... ۶۳

شکل ۴-۷: الگوی پراش پرتو X مرجع NaCl ..... ۶۳

شکل ۴-۸: الگوی پراش پرتو X داربست کایتوسان-ژلاتین پس از غوطه وری در محلول SBF به مدت ۷ و ۱۴ روز پس از ۳ ساعت شستشو در آب مقطر ..... ۶۴

شکل ۴-۹: طیف FTIR داربست کایتوسان-ژلاتین پس از غوطه وری در محلول SBF به مدت زمان های مختلف ..... ۶۴

شکل ۴-۱۰: تصویر SEM داربست کایتوسان - ژلاتین قبل از غوطه وری ..... ۶۶

شکل ۴-۱۱: الگوی EDXA داربست بدون پوشش پس از ۱ روز غوطه وری در SBF ..... ۶۶

شکل ۴-۱۲: الگوی EDXA داربست بدون پوشش پس از ۳ روز غوطه وری در SBF ..... ۶۷

شکل ۴-۱۳: الگوی EDXA داربست بدون پوشش پس از ۷ روز غوطه وری در SBF ..... ۶۷

شکل ۴-۱۴: الگوی EDXA داربست بدون پوشش پس از ۱۴ روز غوطه وری در SBF ..... ۶۷

شکل ۴-۱۵: تصویر SEM داربست بدون پوشش پس از (a,b) ۷ روز (c,d) ۱۴ روز غوطه وری در محلول SBF (عملیات شستشو پس از خروج از محلول SBF به مدت ۳ ساعت انجام شده است) ..... ۶۸

شکل ۴-۱۶: آنالیز عنصری محلول SBF داربست بدون پوشش ..... ۶۹

شکل ۴-۱۷: الگوی پراش پرتو X برای (a) پودر کلسیم فسفات، (b) داربست پوشش یافته، (c,d,e) داربست غوطه ور شده در SBF پس از ۱، ۷ و ۱۴ روز ..... ۷۱

شکل ۴-۱۸: طیف FTIR مربوط به (a) پودر کلسیم فسفات، (b) داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات، (c تا f) داربست پوشش داده شده پس از غوطه وری در محلول SBF برای مدت زمان های ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز ..... ۷۲

شکل ۴-۱۹: تصویر SEM داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات (a) با بزرگنمایی کم و (b,c) با بزرگنمایی بیشتر ..... ۷۳

شکل ۴-۲۰: تصویر SEM داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات: (a,b) پس از ۱ روز غوطه وری در SBF، (c,d,e) پس از ۳ روز غوطه وری در SBF در بزرگنمایی های مختلف ..... ۷۴

شکل ۴-۲۱: تصویر SEM داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات پس از ۷ روز غوطه وری در SBF ..... ۷۵

شکل ۴-۲۲: تصویر SEM داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات: (a,b) پس از ۷ روز غوطه وری در SBF، (c,d) پس از ۱۴ روز غوطه وری در SBF در بزرگنمایی های مختلف ..... ۷۶



شکل ۴-۲۳: تصویر SEM داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات پس از ۱۴ روز غوطه وری در SBF  
 ۷۷.....

شکل ۴-۲۴: الگوی EDXA داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات پس از ۷ روز غوطه وری در SBF  
 ۷۷.....

شکل ۴-۲۵: الگوی EDXA داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات پس از ۱۴ روز غوطه وری در  
 SBF..... ۷۸

شکل ۴-۲۶: تغییر در غلظت یونی محلول SBF در طی زمان غوطه وری برای داربست پوشش داده شده  
 با کلسیم فسفات ..... ۷۹

شکل ۴-۲۷: نمودار جابجایی/بار برای تعیین استحکام داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات ..... ۷۹

شکل ۴-۲۸: نمودار مقایسه استحکام داربست بدون پوشش و پوشش داده شده با کلسیم فسفات ..... ۸۰

شکل ۴-۲۹: الگوی پراش پرتو X برای داربست قبل از پوشش، داربست پوشش یافته با سیلیس  
 کلونیدی، داربست پوشش یافته و غوطه ور شده در SBF پس از ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز ..... ۸۱

شکل ۴-۳۰: طیف FTIR برای داربست قبل از پوشش، داربست پوشش یافته با سیلیس کلونیدی،  
 داربست پوشش یافته و غوطه ور شده در SBF پس از ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز ..... ۸۲

شکل ۴-۳۱: تصویر SEM (a) داربست پوشش داده شده با سیلیس کلونیدی ..... ۸۳

شکل ۴-۳۲: تصویر SEM داربست پوشش داده شده با سیلیس کلونیدی (a,b) پس از ۱ روز غوطه وری  
 در محلول SBF، (c,d) پس از ۱۴ روز غوطه وری در محلول SBF ..... ۸۳

شکل ۴-۳۳: الگوی EDXA داربست پوشش داده شده با سیلیس کلونیدی پس از ۱ روز غوطه وری در  
 محلول SBF ..... ۸۴

شکل ۴-۳۴: الگوی EDXA داربست پوشش داده شده با سیلیس کلونیدی پس از ۳ روز غوطه وری در  
 محلول SBF ..... ۸۴

شکل ۴-۳۵: الگوی EDXA داربست پوشش داده شده با سیلیس کلونیدی پس از ۷ روز غوطه وری در  
 محلول SBF ..... ۸۴

شکل ۴-۳۶: الگوی EDXA داربست پوشش داده شده با سیلیس کلونیدی پس از ۱۴ روز غوطه وری در  
 محلول SBF ..... ۸۵

شکل ۴-۳۷: تغییر در غلظت یونی محلول SBF در طی زمان غوطه وری برای داربست پوشش داده شده  
 با سیلیس کلونیدی ..... ۸۵

شکل ۴-۳۸: نمودار مقایسه میزان تخریب پذیری داربست بدون پوشش، داربست پوشش داده شده با  
 کلسیم فسفات و داربست پوشش داده شده با سیلیس کلونیدی ..... ۸۸

# فصل ۱

## مقدمه

## ۱-۱- مقدمه

مهندسی بافت رویکرد نسبتاً جدیدی است که با استفاده از داربستهای طراحی شده، فاکتورهای رشد و سلولهای ویژه به بازسازی بافت مورد نظر می‌پردازد. داربست‌هایی که برای بازسازی بافت استخوانی مورد استفاده قرار می‌گیرند باید دارای ویژگی‌هایی باشند که از مهمترین آنها می‌توان به وجود تخلخلهای درشت (با ابعاد بیشتر از  $50 \mu\text{m}$ ) و مرتبط با هم، همچنین قابلیت تشویق استخوان‌سازی اشاره نمود. بنابراین داربست‌هایی از جنس بیوسرامیکهای کلسیم فسفاتی خصوصاً هیدروکسی آپاتیت مناسبترین گزینه برای استفاده به عنوان داربست مهندسی بافت استخوان می‌باشند [۱].

استخوان ترکیبی از اجزاء آلی و غیرآلی می‌باشد که ترکیبات غیرآلی شامل کریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت و ترکیبات آلی شامل درصدهای زیادی کلاژن و مقادیر کمتری از گلیکوزامینوگلیکان‌ها، پروتئوگلیکان‌ها و گلیکوپروتئین‌ها می‌باشند. لذا از آنجا که استخوان یک نانوکامپوزیت از مواد معدنی و پروتئینی است ساخت نانوکامپوزیتی مشابه استخوان طبیعی مورد توجه قرار می‌گیرد [۲].

کامپوزیت‌های بایومیمتیک شامل ترکیبی از پلیمر آلی و سرامیک غیرآلی می‌باشند که در ساختار و ترکیب مشابه استخوان بوده و بطور موفقیت آمیزی بعنوان داربست برای کاشت استخوان بکار می‌روند. این داربست‌ها بستر لازم برای سلول‌های استخوان ساز جهت تکثیر، افزایش چسبندگی، گسترش و رشد را فراهم می‌کنند و سبک معماری آنها شکل نهایی استخوان‌های تشکیل شده جدید را تعریف می‌کند [۳].

بسیاری از سرامیک‌ها مانند هیدروکسی‌آپاتیت، تری کلسیم فسفات (TCP) و کلسیم فسفات‌های دوفازی و پلیمرهای زیست تخریب پذیر مانند پلی لاکتیک اسید، پلی گلیکولیک اسید و غیره بطور گسترده ای بعنوان مواد کاشتنی استخوان استفاده می‌شوند. در میان این پلیمرها، کایتوسان بعلاوه خواص زیست سازگاری، غیر سمی بودن، و قابل جذب بودن معروف می‌باشد. کایتوسان شامل گلوکزآمین و N-acetyl گلوکزآمین، یک پلی ساکارید است که از داستیله کردن پلیمر کیتین به دست می‌آید ساختار کایتوسان مانند گلوکزآمینوگلیکان، هنگامیکه در استخوان هستند می‌باشد، بنابراین می‌تواند بعنوان یک ماده جانشین استخوان استفاده شود. سطح پلیمر کایتوسان آبدوست است، بنابراین چسبندگی، تکثیر و افتراق سلول را افزایش می‌دهد و سبب حداقل واکنش ماده کاشتنی و بدن می‌شود [۴].

گزارش شده است که تلفیق کلسیم فسفات‌ها درون یک زمینه پلیمری خواص مکانیکی را افزایش می‌دهد و توانایی پیوند استخوان به پلیمر را افزایش می‌دهد و زیست تخریب پذیری و خواص جذب

زمینه پلیمری را کنترل می‌کند [۴]. همچنین تشکیل آپاتیت بر روی مواد زیست فعال در محیط بدن، می‌تواند در محلول شبیه ساز سیالات بدن (SBF) <sup>۱</sup> صورت پذیرد یعنی زیست فعالی مواد درون تنی <sup>۲</sup> می‌تواند بوسیله تشکیل آپاتیت بر روی سطح آنها پیش بینی شود. بعلاوه پوشش دهی با آپاتیت، روشی برای تولید داربست با سطح فعال، بمنظور کاربرد در مهندسی بافت استخوان می باشد. روش بیومیمتیک با استفاده از محلول SBF، بدون استفاده از تجهیزات خاص و یا فرایندهای دما بالا، یک لایه آپاتیته بر روی زیر لایه را فراهم می کند. این روش آسان و سریع می باشد و دارای برتری های زیادی نسبت به سایر روش ها، از جمله پاشش پلاسما <sup>۳</sup> و رسوب همراه یون <sup>۴</sup> می باشد [۵].

در این پژوهش داربست های کایتوسان با افزودنی ژلاتین بوسیله روش خشک کردن انجمادی <sup>۵</sup> فراهم شده اند که دارای ساختار متخلخل و حالت آوندی مناسبی هستند ولی این داربست ها دارای خواص مکانیکی نسبتا ضعیف و ناپایداری می باشند. لذا ابتدا یک پوشش کلسیم فسفاتی بر روی داربست اعمال می شود و با استفاده از روش بیومیمتیک درون محلول SBF به نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت تبدیل می - شود که شباهت زیادی به بافت مینرالی استخوان و همچنین جذب بیشتری نسبت به هیدروکسی آپاتیت کاملا بلورین دارد. به این ترتیب هم استحکام داربست ها و هم زیست فعالی آنها افزایش می یابد.

---

<sup>1</sup> . Simulated Body Fluid

<sup>2</sup> . In vivo

<sup>3</sup> . plasma spraying

<sup>4</sup> . ion-assisted deposition

<sup>5</sup> . freeze drying

## فصل ۲

### مروری بر منابع مطالعاتی

## ۲-۱- بیومواد

بیوماده یا ماده زیستی به ماده‌ای با منشا مصنوعی یا طبیعی گفته می‌شود، که به منظور بهبود، درمان، التیام و یا جایگزینی بافت موجودات زنده به کار می‌رود. استخوان دارای قابلیت خود ترمیمی بوده و قادر است به صورت خودبه‌خود جوش خورده و التیام یابد، مگر آنکه شدت آسیب وارده به حدی باشد که این قابلیت از آن سلب گردد [۶]. سابقه تلاش برای دست یافتن به موادی که بتوانند جایگزین اعضای ناسالم یا از دست رفته بدن انسان شوند به روزهای آغازین جراحی باز می‌گردد. در قرون متمادی تلاش‌های فراوانی در به کارگیری مواد با قابلیت جایگزینی با اعضای طبیعی بدن صورت گرفته است [۷].

عمل جایگزینی در جراحی استخوان به سه طریق امکان پذیر است:

- ۱- پیوندهای اوتوگرافت: که در آن پیوند از بدن خود فرد بیمار گرفته می‌شود.
- ۲- پیوندهای الوگرافت: که به پیوندهایی اطلاق می‌گردد که از بدن شخص دیگر گرفته شده و به بدن بیمار پیوند زده می‌شود.
- اگر چه این دو پیوند هنوز از موثرترین روش‌ها جهت ترمیم استخوان در عمل‌های ارتوپدی می‌باشد، اما محدودیت‌ها و معایبی چون عمل ثانویه بر روی بیمار، کمیاب بودن دهنده عضو، پس زدن سیستم ایمنی بدن و انتقال عوامل بیماری‌زا، جراحان را به استفاده از روش سوم تشویق کرد [۶].

## ۳- استفاده از بیومتریال‌ها

بیومتریال‌ها به موادی اطلاق می‌گردند که به‌طور متناوب یا پیوسته در تماس با بافت بدن قرار می‌گیرند، که دو گروه می‌باشند: یکی با منشا طبیعی و دیگری مصنوعی نظیر فلزها، آلیاژها، سرامیک‌ها و پلیمرها که می‌توانند قابلیت جذب بیولوژیکی داشته باشند و یا این‌که تجزیه نگردند، که در بین آن‌ها سرامیک‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند [۸، ۹].

مواد مصنوعی باید دارای پایداری بلندمدت شیمیایی و مکانیکی باشد. ویژگی‌های لازم برای این مواد عبارتند از:

- عدم ایجاد مسمومیت
- پایداری مکانیکی
- مقاومت در برابر شکست و تغییر شکل
- نداشتن واکنش‌های ناسازگار با بدن

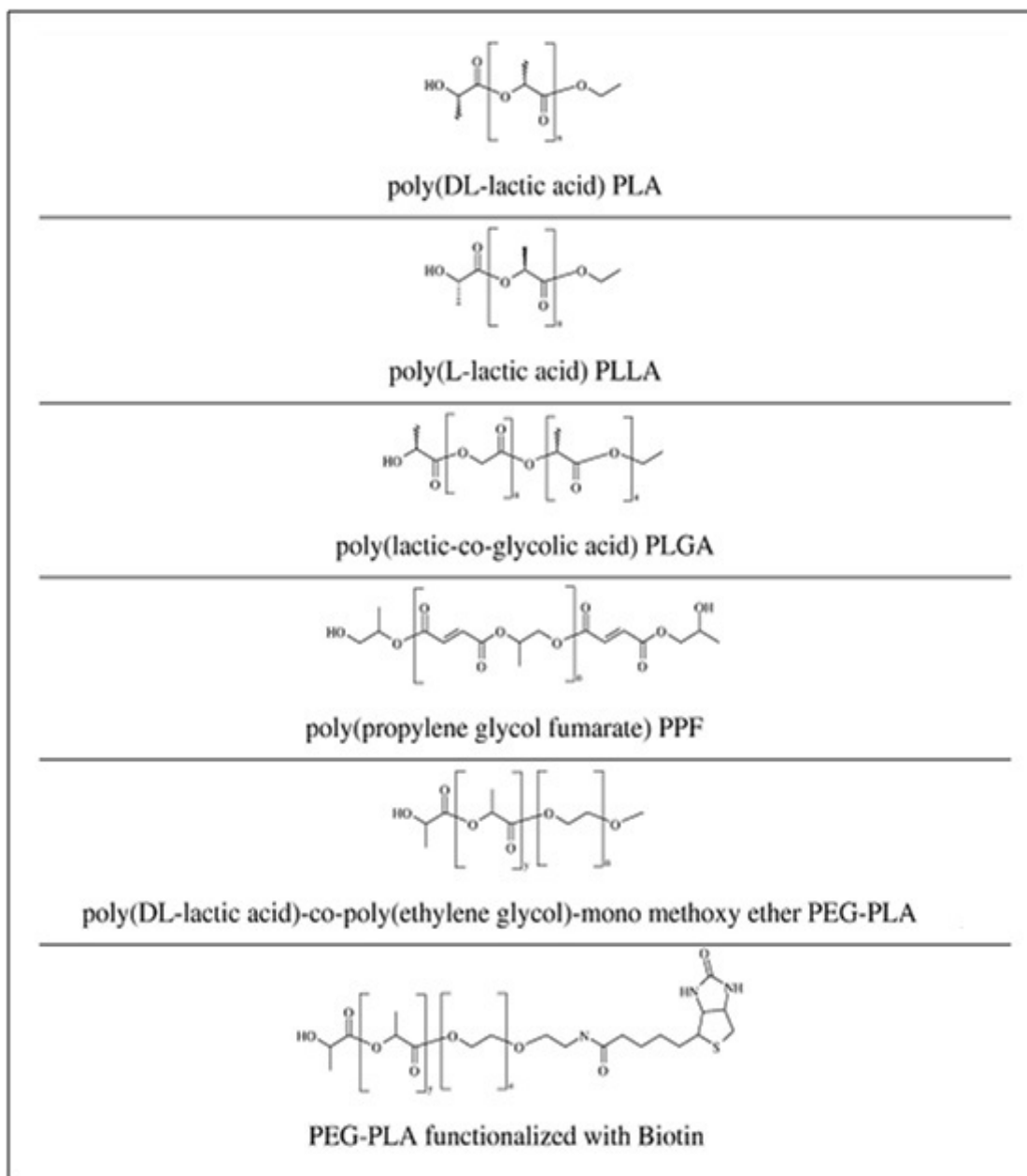
- عدم رشد یا واکنش های نامطلوب در مایعات و بافت های بدن
- حل نشدن یا جذب شدن با سرعت مطلوب

## ۲-۲- بیوسرامیک

سرامیک هایی که برای درمان بیماری و بازسازی صدمات وارد شده به بدن و ترمیم اعضای سایش یافته بر اثر حرکت به کار می روند، به بیوسرامیک ها معروفند [۱۰]. بیوسرامیکها، موادی مرکب از فلزات و غیر فلزات است که با پیوندهای یونی یا کووالانسی با هم ترکیب شده اند. این مواد سخت، ترد با خواص کششی ضعیف اما استحکام فشاری عالی، مقاومت سایشی بالا و اصطکاک پایین برای کاربردهای مفصلی است. بیوسرامیکها با توجه به خواص کاربرد و محل جایگذاری به صورت های مختلفی در بدن به کار می روند. شکل های مختلف آن شامل پودر (پودر کلسیم)، تک کریستال (یا قوت کبود)، پلی کریستال (آلومینا)، شیشه (شیشه های زیستی)، کامپوزیت ها و غیره می باشد [۸]. کامپوزیت های بیوسرامیک-پلیمر در بین همه بیومواد مناسب ترین گزینه برای جایگزینی بافت های سخت و نرم است.

## ۲-۳- بیومواد پلیمری

پلیمرهای طبیعی و سنتزی متعددی برای ساخت داربست های مهندسی بافت استفاده می شوند. الزامات مورد نیاز برای این مواد این است که آنها باید بطور ذاتی دارای خواصی همچون زیست-سازگاری، زیست تخریب پذیری و جذب سلول بالا باشند. بعلاوه باید دارای یک ساختار سه بعدی متخلخل دارای خواص مکانیکی پایدار با فرایندهای ساخت آسان باشند. اخیرا داربست های پلیمری هیبریدی ترکیب شده با پلیمرهای سنتزی و طبیعی بمنظور شبیه سازی زمینه خارج سلولی بافت طبیعی، مورد توجه قرار گرفته است [۱۱]. شکل ۲-۱ تعدادی از این پلیمرها را که برای ساخت داربست های مهندسی بافت بکار می روند نشان می دهد.



شکل ۲-۱: پلیمرهای مورد استفاده برای ساخت داربست [۱]

### ۲-۳-۱- انواع پلیمرهای طبیعی

پلیمرهای طبیعی شامل فیبرین، کلاژن، ژلاتین، کایتوسان، آلژینات و اسید هیالورونیک بطور گسترده‌ای در کاربردهای مهندسی بافت استفاده می‌شوند. فیبرین، بعنوان جزء اصلی تشکیل دهنده لخته خون، در ترکیب با منعقد کننده خون برای تولید یک ژل بصورت درجا استفاده می‌شود. کلاژن نوع I مشتق شده از بافت‌های حیوانی و همچنین ژلاتین که از هیدرولیز کلاژن به دست می‌آید، قادر به تشکیل شبکه ژل متخلخل می‌باشند که سابقاً بصورت تجاری بعنوان جایگزین پوست مورد استفاده بوده‌اند. کایتوسان، بعنوان یک پلیمر کاتیونی که از کیتین به دست آمده، می‌تواند یک داربست با سطح آبدوست



و جذب کننده سلول، با خواص متمایز تولید کند، زیرا دارای ماهیت استخوان سازی ذاتی برای استفاده در مهندسی بافت استخوان می‌باشد. آلژینات، یک پلی ساکارید آنیونی مشتق شده از جلبک دریایی قهوه ای می‌باشد، که وقتی با کاتیون‌های دو ظرفیتی مانند  $Ca^{2+}$  ترکیب می‌شود، قابلیت تشکیل ژل را از خود نشان می‌دهد. اسید هیالورونیک، یک گلیکوسامینوگلیکان غیرسولفاته، از تکرار واحدهای دی‌ساکاریدی می‌باشد که جزء اصلی ECM<sup>1</sup> طبیعی است و یک هیدروژل با قابلیت تشکیل اتصالات عرضی توسط اصلاح کننده‌های مختلف تشکیل می‌دهد [۱۱].

## ۲-۴- کلسیم فسفات

از مهم‌ترین سرامیک‌های زیستی کلسیم فسفات‌ها می‌باشند. خواصی نظیر زیست سازگاری بالا، غیرسمی بودن، تشویق به استخوان سازی و ایجاد بافت جدید سبب کاربرد فراوان این مواد در پزشکی، ارتوپدی و ترمیم بافت استخوان شده است. به‌طور کلی واژه کلسیم فسفات به ترکیباتی اطلاق می‌گردد، که از یون‌های اصلی کلسیم و فسفات تشکیل شده‌اند. البته در اغلب موارد آب نیز در داخل این ترکیبات وجود دارد. هیچ یک از فازهای کلسیم فسفاتی واکنش مضر با محیط زنده ایجاد نمی‌کند، به‌همین علت در سیستم‌های بیولوژیک به‌طور وسیعی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. پایداری کلسیم فسفات‌ها در محیط‌های فیزیولوژیکی تا حد زیادی به ترکیب شیمیایی آن‌ها وابسته است و با توجه به آن به سه دسته دائمی، کمی تحلیل پذیر و کاملاً تحلیل پذیر تقسیم‌بندی می‌شوند [۸].

جدول ۲-۱: عمده ترین کلسیم فسفات‌های دارای کاربرد بیولوژیک

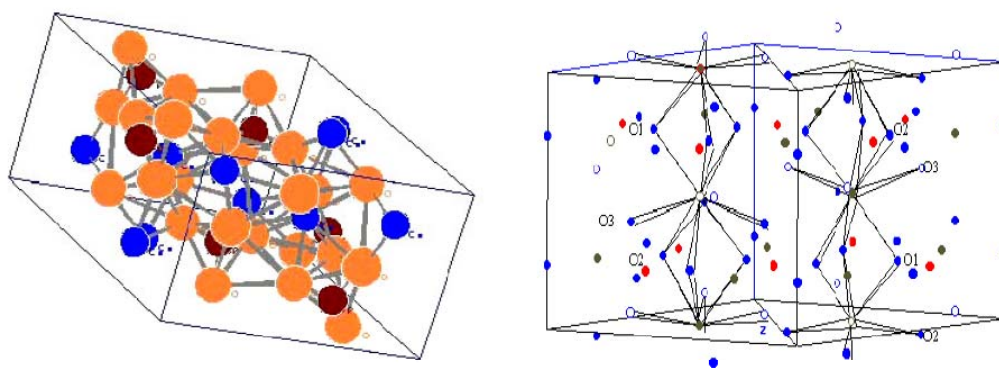
نام	نماد متداول	فرمول شیمیایی	نسبت اتمی Ca/P	نام فاز	ضریب حلالیت
مونوکلسیم فسفات هیدرات	MCP	$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$	۰/۵		$1/0 \times 10^{-3}$
دی کلسیم فسفات هیدرات	DCPD	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	۱	براشیت	$1/87 \times 10^{-7}$
دی کلسیم فسفات بدون آب	DCPA	$CaHPO_4$	۱	مونیت	$1/26 \times 10^{-7}$
اکتا کلسیم فسفات پنتا هیدرات	OCP	$Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$	۱/۳۳		$5/01 \times 10^{-15}$
بتا تری کلسیم فسفات	TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	۱/۵	بتاویت لوکیت	$2/83 \times 10^{-30}$
پنتا کلسیم هیدروکسیل فسفات	HA	$Ca_{10}(PO_4)_6OH_2$	۱/۶۷	هیدروکسی آپاتیت	$2/35 \times 10^{-59}$
تترا کلسیم فسفات مونوکسید	TCPM	$Ca_4O(PO_4)_2$	۲	هیلگنستوکیت	

<sup>1</sup> . Extra Cellular Matrices

## ۲-۵- هیدروکسی آپاتیت

استخوان انسان به صورت کامپوزیتی از ماده معدنی هیدروکسی آپاتیت و فاز آلی کلاژنی می باشد. مینرال هیدروکسی آپاتیت که به صورت تقویت کننده در ماتریس کلاژنی قرار گرفته است، در حدود ۷۰٪ وزنی استخوان را تشکیل می دهد [۶].

آپاتیت ها نام گروهی از کانی ها با فرمول عمومی  $A_{10}(BO_4)_6X_2$  می باشد، که با آرایش منشور شش گوش با وجوه متوازی الاضلاع متبلور می شود. مهم ترین عضو خانواده آپاتیت ها کلسیم هیدروکسی آپاتیت با فرمول کریستالی  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  است که در آن نسبت استوکیومتری Ca/P برابر ۱/۶۷ و چگالی محاسبه شده آن  $3/22 \text{ gr/cm}^3$  می باشد. ساختار هیدروکسی آپاتیت در حالت آرمانی هگزاگونال بوده و با جایگزینی های ایزومورفی امکان تبدیل ساختار هگزاگونال به مونوکلینیک نیز وجود دارد. هیدروکسی آپاتیت دارای سلول واحد پیچیده و نسبتاً بزرگی است که احتمال از دست رفتن یکپارچگی آن زیاد است [۵]. لیکن با توجه به امکان پذیر بودن تغییرات در ساختار و ترکیب که منجر به تشکیل هیدروکسی آپاتیت غیر استوکیومتریک می شود، می تواند به طور قابل توجهی از مقدار تئوری فاصله بگیرد. یون های  $PO_4^{3-}$  و  $Ca^{2+}$  و نیز  $OH^-$  می توانند با یون های دیگر جایگزین شوند. بسیاری از یون های جایگزین شونده در محیط های فیزیولوژی وجود دارند [۱۲ و ۱۳]. در شکل ۲-۲ ساختار بلوری هیدروکسی آپاتیت نشان داده شده است.



شکل ۲-۲: ساختار کریستالی هیدروکسی آپاتیت [۱۴]

## ۲-۵-۱- کاربرد های هیدروکسی آپاتیت

هیدروکسی آپاتیت اصلی ترین ترکیب استخوان و دندان در بدن انسان می باشد. این ماده علاوه بر دارا بودن ویژگی های بیولوژیک مانند ایمپلنت های دندان پزشکی، در درمان بخش های اطراف دندان، تقویت شیارهای لثه، جراحی استخوان های آرواره ای و لگن و کاربرد در طب، کاندیدای خوبی بوده و در

کاربردهای کاتالیستی و مبادله‌کننده‌های یونی به دلیل دارا بودن ساختار سطحی و ظرفیت تعویض یونی، منحصر به فرد می‌باشد. هیدروکسی آپاتیت با نسبت  $Ca/P$  پایین‌ترین خواص الکتریکی حساس به محیط در دماهای بالا می‌باشد که قابلیت کاربرد به‌عنوان حسگرهای گازی و هدایت‌کننده‌های پروتونی را به آن می‌بخشد. سرامیک‌های هیدروکسی آپاتیت متراکم با خواص مکانیکی مطلوب در جایگزینی استخوان کاربرد دارد [۱۶ و ۱۵].

محققین عنوان کرده‌اند که کلسیم فسفات‌های متخلخل بیش از انواع متراکم مورد استفاده قرار می‌گیرند، زیرا دارای قابلیت تطابق با شکل ضایعات استخوانی هستند و نیز پس از کاربرد به‌علت نفوذ بافت در تخلخل‌ها، گیر مکانیکی بیشتری برای ماده فراهم می‌شود. اما ایمپلنت‌های متخلخل از مقاومت کمی برخوردارند و برای دستیابی به مقاومت بیشتر نیازمند نفوذ استخوان به درون تخلخل‌ها می‌باشند. بدین ترتیب و با توجه به روند آهسته استخوان‌سازی و پیشرفت آن به داخل تخلخل‌ها، توانایی و کیفیت ایمپلنت‌های متخلخل زیر سوال خواهد رفت [۱۷].

## ۲-۵-۲- اشکال هیدروکسی آپاتیت

به‌طور کلی هیدروکسی آپاتیت از لحاظ تراکم و تخلخل به دو صورت یافت می‌شوند:

۱- هیدروکسی آپاتیت متراکم: عاری از هر گونه تخلخل بوده و در نسوج کاملاً پایدار و بدون تجزیه می‌باشد.

۲- هیدروکسی آپاتیت متخلخل که خود سه نوع می‌باشد:

- هیدروکسی آپاتیت ماکرومتخلخل که اجازه رشد نسوج به داخل آن فراهم می‌شود و از لحاظ بیولوژیکی پایدار می‌باشد.
- هیدروکسی آپاتیت میکرومتخلخل که تخلخل آن کوچک بوده و به تدریج تحلیل می‌رود.
- هیدروکسی آپاتیتهی که دارای هر دو نوع تخلخل باشد، به نحوی که اجازه رشد نسوج را می‌دهد اما به تدریج تجزیه می‌شود [۱۷].

## ۲-۶- ساختار استخوان

شبکه های خارج سلولی (ECMs)<sup>۱</sup> بافت های سخت متشکل از فاز های آلی و غیر آلی می باشند. فازهای غیر آلی اصولاً شامل کریستال های هیدروکسی آپاتیت و فاز آلی بیشتر شامل کلاژن نوع I و مقدار کمی مواد دیگر از قبیل گلیکوزآمینوگلیکانها، پروتئوگلیکانها و گلیکو پروتئینها می باشد.

آنالیز استخوان مشکل است زیرا دارای قسمت های بسیاری می باشد. محتویات اصلی استخوان شامل کلاژن (۲۱٪ وزنی)، کلسیم فسفات (۶۹٪ وزنی) می باشد که در جدول ۲-۲ آورده شده است، بعلاوه آب و مواد معدنی مانند پروتئینها، پلی ساکاریدها و چربیها نیز در مقادیر اندک در ترکیب استخوان حضور دارند. کلاژن که می تواند بعنوان زمینه در نظر گرفته شود، به شکل میکرو رشته<sup>۲</sup> می باشد. تشخیص رشته های کلاژن بصورت جداگانه مشکل می باشد زیرا آنها بصورت توده شبکه ای شکل<sup>۳</sup> بنظر می رسند. قطر میکرو رشته ها از ۱۰۰ تا ۲۰۰۰ نانومتر تغییر می کند. کریستال های هیدروکسی آپاتیت بصورت صفحات یا سوزن هایی که در حدود ۴۰-۶۰ نانومتر طول، ۲۰ نانومتر عرض و ۱/۵-۵ نانومتر ضخامت دارند حضور دارند. آنها بصورت موازی با رشته های کلاژن به نحوی که قطر بزرگتر محور کریستالها در امتداد محور رشته قرار گیرد، آرایش یافته اند [۱۴].

جدول ۲-۲: ترکیبات تشکیل دهنده استخوان [۱۴]

مقدار (درصد وزنی)	ترکیبات
۶۹٪	هیدروکسی آپاتیت
۲۲٪	زمینه آلی
۹۰-۹۶٪ زمینه آلی	کلاژن
۴-۱۰٪ زمینه آلی	سایر مواد
۹٪	آب

استخوان شامل دو بخش اصلی است: استخوان فشرده که بعنوان استخوان بیرونی و استخوان سوراخ سوراخ که بعنوان استخوان میله میله یا اسفنجی معروف می باشد. استخوان فشرده، سطح بیرونی استخوان می باشد. این قسمت در مقایسه با قسمت اسفنجی سخت تر و متراکم تر می باشد. این رشته های حاوی

<sup>۱</sup> Extra Cellular Matrices

<sup>۲</sup> microfiber

<sup>۳</sup> net-like