





دانشگاه صنعتی امیرکبیر

(پلی تکنیک تهران)

دانشکده مهندسی پزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته مهندسی پزشکی - گرایش بیومتریال

ساخت و بررسی زیست داربست حاوی نانوالیاف الکترواسپین شده پایه
کیتوسان - ژلاتین و تعیین زیست سازگاری آن با فیبروبلاست های پوست
انسان

نگارش:

جواد جعفری

استاد راهنما:

دکتر شهریار حجتی امامی

دکتر علی صمدی کوچکسرای

استاد مشاور:

دکتر محمدعلی بهار

دی ماه ۱۳۸۷



دانشگاه صنعتی امیرکبیر
(پلی تکنیک تهران)

بسمه تعالی

تاریخ:
شماره:

فرم اطلاعات پایان نامه
کارشناسی - ارشد و دکترا

معاونت پژوهشی
فرم پروژه تحصیلات تکمیلی ۷

مشخصات دانشجو:

نام و نام خانوادگی: جواد جعفری
شماره دانشجویی: ۸۵۱۳۳۰۱۶
دانشجوی آزاد / بورسیه / معادل
دانشکده: مهندسی پزشکی / رشته تحصیلی: مهندسی پزشکی / گروه: بیومتریال

مشخصات استاد راهنما:

نام و نام خانوادگی: دکتر شهریار حجتی امامی
نام و نام خانوادگی: دکتر علی صمدی کوچکسرای

مشخصات استاد مشاور:

نام و نام خانوادگی: دکتر محمدعلی بهار
نام و نام خانوادگی: -
درجه و رتبه: دانشیار / درجه و رتبه: -

عنوان پایان نامه به فارسی: ساخت و بررسی زیست‌داربست حاوی نانوالیاف الکترواسپین شده پایه کایتوسان - ژلاتین و تعیین زیست‌سازگاری آن با فیبروبلاست‌های پوست انسان
عنوان پایان نامه به انگلیسی:

Preparation and characterization of bioscaffold based on electrospun chitosan-gelatin nonofibers and determination of its biocompatibility with human skin fibroblasts .

نوع پروژه: کارشناسی / ارشد / دکتری
کاربردی / بنیادی / توسعه‌ای / نظری
سال تحصیلی: ۱۳۸۵

تاریخ شروع: ۱۳۸۶/۹/۱۹ / تاریخ خاتمه: ۱۳۸۷/۱۰/۲۹ / تعداد واحد: ۹ / سازمان تأمین کننده اعتبار:

واژه‌های کلیدی به فارسی: جایگزین پوستی، ژلاتین، کایتوسان، الکترواسپینینگ، نانوالیاف
واژه‌های کلیدی به انگلیسی: Skin substitute, gelatin, chitosan, electrospinning, nanofibers

مشخصات ظاهری	تعداد صفحات	تصویر <input checked="" type="radio"/> / جدول <input checked="" type="radio"/> / نمودار <input checked="" type="radio"/> / نقشه <input type="radio"/> / واژه‌نامه <input type="radio"/>	تعداد مراجع	تعداد صفحات ضمیمه
زبان متن	فارسی <input checked="" type="radio"/> / انگلیسی <input type="radio"/>	چکیده	فارسی <input checked="" type="radio"/> / انگلیسی <input type="radio"/>	۹۴
یادداشت				

نظرها و پیشنهادهای به منظور بهبود فعالیت‌های پژوهشی دانشگاه
استاد:

دانشجو:

تاریخ:

۸۳/۳/۴

امضاء استاد راهنما:

تقدیم:

به خداوندگارم، یگانه بی‌همتا، قادر مطلق، دانای بی‌نیاز و صانع کل مصنوعات

به روح بلند پدرم، یگانه همنشین لحظات تنهاییم

به مادرم، معلم اول و ثانی و نوازشگر لحظه‌های بیتابی من

به برادرانم، چهار ستون استوار و پابرجای زندگی من

به خواهرم، او که ترانه مادری را برایم سرود

و... به همه آنان که با قطره‌ای هرچند ناچیز از دنیای بی‌کران دانستن، مرا از عطش ندانستن

رها ساختند.

تشکر و قدردانی

از آغاز انجام این پروژه، تصورم از انجام این کار و آرزو و خواسته‌ام از خداوند متعال این بوده که روزی شاهد اشک شادی کودکی باشم که با این جایگزین پوستی، پدرش از مرگ و تخت بیمارستان رها شده و به آغوش او بازگشته و سوز فقدان پدر به رایحه وصال او تبدیل شود. بی‌شک رسیدن به چنین هدف بزرگی، جدای از محبت و کمک خالق مطلق، نیاز به برخورداری از حمایت دست‌هایی است که حضرت احدیت توانش را در آن‌ها قرار داده تا بندگان را نویدبخش روزهای بهتر و سالم‌تر باشند.

در این میان لازم می‌دانم از استاد راهنمای اول خود، جناب آقای دکتر شهریار حجتی امامی - استادیار دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه امیرکبیر - که در طول مدت انجام این کار مرا با اطمینان و دانش خود مورد حمایت و تشویق قرار دادند، کمال تشکر و قدردانی داشته باشم.

تشکر گرم خود را به جناب آقای دکتر علی صمدی کوچکسرای - استادیار دانشکده پیراپزشکی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران - ، استاد راهنمای دوم اینجانب، به دلیل ایجاد شرایط مناسب برای انجام این پروژه و همچنین راهنمایی‌های ارزشمند ایشان، تقدیم می‌کنم.

همچنین از استاد مشاور اینجانب، جناب آقای دکتر محمدعلی بهار - دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران و مرکز تحقیقات سوختگی - که به اشکال مختلف مرا مورد حمایت خود قرار داده و زمینه را برای به ثمرنشتن این پروژه فراهم ساختند، کمال قدردانی و تشکر به عمل می‌آورم.

از داوران عزیز و گرانقدر جناب آقای دکتر سید هژیر بهرامی و جناب آقای دکتر حمید کشوری که با سئو صدر و حوصله این پروژه را مورد ارزیابی قرار داده و با راهنمایی‌های خود شرایط را برای هرچه بهتر و پربارتر شدن این کار رقم زدند، سپاسگذاری می‌کنم.

همچنین خود را مدیون دوستانم می‌دانم که به اشکال مختلف اینجانب را مورد عنایت خود قرار داده و از اطلاعات، دانسته‌ها و امکانات خود مرا بهرمنند ساخته و باعث بهبود و کوتاه‌تر شدن مسیری شده برای رسیدن به هدف شدند. در این بین، از سرکار خانم مهندس عادلہ قلی‌پور که برایم در مقام استادی قرار گرفته و با وقت و دانسته‌های خود، مرا در طول انجام این پروژه کمک و یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورم.

بی‌گمان در طول سال‌های سپری‌شده زندگی‌م و در مواجهه با تمامی موانع پیش رو، همواره برخورداری از حمایت قدرتی بودم که مرا امیدوارتر از گذشته به سوی جلو پیش برد و اکنون در مقامی

قرار گرفتم که به عنوان دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی امیرکبیر از این پروژه دفاع کنم. با تمام وجود و احساسی که در خود سراغ دارم از حمایت‌های ارزشمند خانواده‌ام، به عنوان حامیان واقعی اینجانب، سپاسگذاری می‌کنم.

بی‌شک پروژه حاضر هنوز در مراحل اولیه کار خود قرار دارد و برای رسیدن به هدف نهایی، تلاش‌ها و آزمایشات متعددی مورد نیاز می‌باشد. اما روز موعود بسیار نزدیک است، اگر همچنان از حمایت‌های جویندگان علم بهره‌مند باشم.

جواد جعفری، دی‌ماه ۱۳۸۷

چکیده:

داربست غیربافته شده حاوی نانوالیاف کیتوسان-ژلاتین، توسط فرایند الکتروریسی تولید شد. هر دو پلیمر در حلال مشابه پایه آبی اسیداستیک با غلظت‌های مختلف حل شدند. برای دستیابی به لیاف با مورفولوژی یکنواخت و عاری از قطره، نسبت‌های مختلف کیتوسان به ژلاتین، مورد بررسی قرار گرفتند. با مشاهده تصاویر میکروسکوپ الکترونی مشخص شد که نسبت کیتوسان به ژلاتین ۷۰/۳۰ یکنواخت‌ترین لیاف را ارائه می‌کند. از طرفی برای تعیین اثر پارامترهای دستگاه بر روی مورفولوژی لیاف، ولتاژ، نرخ تغذیه و فاصله نوک سوزن تا جمع‌کننده، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که افزایش ولتاژ و نرخ تغذیه باعث کاهش قطر لیاف حاصله شده، در حالی که افزایش فاصله نوک سوزن تا جمع‌کننده اثر معکوس به جا خواهد گذاشت. همچنین افزایش ولتاژ، غیریکنواختی لیاف ایجاد شده و افزایش نرخ تغذیه، افزایش قطرات تولیدی را در پی خواهد داشت. این در حالی است که افزایش فاصله نوک سوزن تا جمع‌کننده اثر قابل توجهی بر روی مورفولوژی لیاف نخواهد داشت. با انتخاب پارامترهای بهینه، داربست، تولید شده و برای بررسی زیست-سازگاری، تحت فرایند کشت سلولی توسط سلول‌های فیروبلاست پوستی و نیز تست MTT قرار گرفت. نتایج حاصله، بیان‌گر زیست‌سازگاری مناسب داربست تولیدی می‌باشد.

کلید واژه‌ها: نانوالیاف (Nanofibers)، الکتروریسی (Electrospinning)، کیتوسان (Chitosan)، ژلاتین (Gelatin)، جایگزین پوستی (Skin Substutute).

فهرست مطالب

۱	فصل ۱- مروری بر منابع مطالعاتی
۲	۱-۱- مقدمه
۴	۲-۱- کاربرد نانوتکنولوژی در ساخت داربستهای مهندسی بافت
۴	۱-۲-۱- لزوم استفاده از داربستهای نانوالیافی
۵	۲-۲-۱- روشهای مختلف تولید نانوالیاف
۶	۳-۲-۱- Self-assembly
۶	۴-۲-۱- جدایش فازی
۶	۵-۲-۱- الکتروریسی
۸	۳-۱- الکتروریسی
۸	۱-۳-۱- تاریخچه فرایند الکتروریسی
۱۰	۲-۳-۱- مشخصات دستگاه الکتروریسی
۱۱	۳-۳-۱- مکانیزم الکتروریسی
۱۲	۴-۳-۱- پارامترهای موثر در فرایند الکتروریسی
۱۵	۵-۳-۱- نانوالیاف تولیدی به وسیله الکتروریسی
۱۵	۱-۵-۳-۱- مورفولوژی نانوالیاف
۱۵	۲-۵-۳-۱- خواص نانوالیاف
۱۶	۶-۳-۱- کاربردهای نانوالیاف
۱۷	۱-۶-۳-۱- مهندسی بافت
۱۸	۲-۶-۳-۱- انتقال و رهایش دارو
۱۸	۳-۶-۳-۱- سنسورها
۱۹	۷-۳-۱- بیومواد حاوی نانوالیاف الکتروریسی شده، در حال حاضر
۱۹	۱-۷-۳-۱- پلیمرهای طبیعی
۱۹	۲-۷-۳-۱- پلیمرهای مصنوعی
۱۹	۴-۱- پوست و جایگزین های پوستی
۱۹	۱-۴-۱- بافت پوست
۲۱	۲-۴-۱- مهندسی بافت پوست
۲۳	۳-۴-۱- انواع جایگزین های پوستی
۲۶	۵-۱- کیتوسان
۲۶	۱-۵-۱- منبع کیتین و کیتوسان
۲۷	۲-۵-۱- ساختار شیمیایی

۲۸ ۳-۵-۱- خواص
۲۹ ۴-۵-۱- تخریب
۳۰ ۵-۵-۱- کاربردها
۳۰ ۱-۵-۵-۱- کاربرد کشاورزی
۳۰ ۲-۵-۵-۱- کاربرد در تصفیه فاضلاب
۳۰ ۳-۵-۵-۱- کاربرد در صنایع غذایی
۳۱ ۴-۵-۵-۱- کاربردهای پزشکی
۳۵ ۶-۵-۱- الکتروریسی کیتوسان
۳۶ ۶-۱- ژلاتین
۳۷ ۱-۶-۱- ساختار شیمیایی
۳۸ ۲-۶-۱- خواص فیزیکی و شیمیایی
۳۸ ۱-۲-۶-۱- ژل شدن
۳۸ ۲-۲-۶-۱- حلالیت پذیری
۳۹ ۳-۲-۶-۱- خصوصیت آمفوتری
۳۹ ۴-۲-۶-۱- ویسکوزیته
۳۹ ۵-۲-۶-۱- خواص کلوییدی و تعلیق کننده
۴۰ ۳-۶-۱- انواع ژلاتین
۴۰ ۴-۶-۱- کاربردهای ژلاتین
۴۰ ۱-۴-۶-۱- صنعت غذایی
۴۱ ۲-۴-۶-۱- محصولات دارویی
۴۱ ۳-۴-۶-۱- صنعت عکاسی
۴۱ ۴-۴-۶-۱- کاربردهای پزشکی
۴۳ ۵-۶-۱- الکتروریسی ژلاتین
۴۳ ۷-۱- ترکیب کیتوسان- ژلاتین
۴۴ ۸-۱- انگیزه انجام پروژه
۴۵ فصل ۲- فعالیتهای عملی و آزمایشگاهی
۴۶ ۱-۲- مواد اولیه و تجهیزات مورد استفاده
۴۷ ۲-۲- انتخاب حلال و آماده سازی محلولها
۴۸ ۳-۲- فرایند الکتروریسی
۴۹ ۴-۲- میکروسکوپ الکترونی (SEM)
۵۰ ۵-۲- ویسکومتری
۵۰ ۶-۲- آنالیز انتقال فوریه فرسرخ (FTIR)
۵۰ ۷-۲- کراس لینک

۵۱	۸-۲- بررسی زیست‌سازگاری
۵۲	فصل ۳- نتایج و بحث
۵۳	۱-۳- انتخاب حلال مناسب:
۵۵	۲-۳- دستیابی به غلظت‌های مناسب
۵۵	۳-۳- آنالیز انتقال فوریه فروسرخ (FTIR)
۵۷	۴-۳- ویسکومتری
۵۹	۵-۳- تصاویر SEM نمونه‌ها
۵۹	۱-۵-۳- انتخاب ترکیب بهینه کیتوسان / ژلاتین
۶۳	۲-۵-۳- اثر تغییرات نرخ تغذیه بر مورفولوژی الیاف
۶۷	۳-۵-۳- اثر تغییرات ولتاژ بر مورفولوژی الیاف
۷۰	۴-۵-۳- اثر تغییرات فاصله سوزن تا جمع‌کننده بر مورفولوژی الیاف
۷۳	۶-۳- کراس‌لینک
۷۶	۷-۳- بررسی زیست‌سازگاری
۷۹	فصل ۴- نتایج و پیشنهادات
۸۲	مراجع

فهرست شکل‌ها و نمودارها

- شکل (۱-۱): رشد تعداد مقالات و اختراعات به ثبت‌رسیده با کلمه کلیدی "الکتروریسی" از سال ۱۹۹۴. ۷
- شکل (۲-۱): توزیع موارد منتشرشده در مورد الکتروریسی در سراسر جهان. ۷
- شکل (۳-۱): مقایسه اندازه قطر موی انسان با الیاف الکتروریسی شده PVA. ۷
- شکل (۴-۱): تصویر شماتیک دستگاه الکتروریسی. ۱۱
- شکل (۵-۱): تشکیل مخروط تیلور. ۱۲
- شکل (۶-۱): نانوالیاف الکتروریسی شده کلاژن نوع I. ۱۵
- شکل (۷-۱): ارتباط بین سطح تماس و قطر الیاف. ۱۶
- شکل (۸-۱): تخمینی از میزان تحقیقات انجام‌شده بر حسب تعداد اختراعات ثبت‌شده در زمینه نانوالیاف الکتروریسی شده. ۱۷
- شکل (۹-۱): شماتیک ساختار پوست انسان. ۲۰
- شکل (۱۰-۱): نمونه‌های از استفاده کلینیکی از پوست تولیدی در مهندسی بافت. ۲۳
- شکل (۱۱-۱): ساختار شیمیایی کیتین. ۲۷
- شکل (۱۲-۱): ساختار شیمیایی کیتوسان. ۲۷
- شکل (۱۳-۱): تبدیل کیتین پوشش سختپوستان به کیتوسان. ۲۸
- شکل (۱۴-۱): ساختار شیمیایی ژلاتین؛ R: سه‌جزئی گلايسين-Y-X، X و Y که پرولین و هیدروکسی‌پرولین می‌باشند. ۳۷
- شکل (۱-۲): نحوه آماده‌سازی محلولها به طور خلاصه. ۴۸
- شکل (۱-۳): یونیزاسیون ژلاتین در محلول آبی. ۵۳
- شکل (۲-۳): آنالیز FTIR مربوط به کیتوسان. ۵۶
- شکل (۳-۳): آنالیز FTIR مربوط به ژلاتین. ۵۶
- شکل (۴-۳): آنالیز FTIR مربوط به درصد‌های مختلف کیتوسان به ژلاتین. ۵۷
- شکل (۵-۳): بررسی تغییرات ویسکوزیته نمونه‌ها. ۵۸
- شکل (۶-۳): تصویر SEM نمونه ۱ (CS/Ge: ۷۰/۳۰؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$. ۵۹
- شکل (۷-۳): تصویر SEM نمونه ۲ (CS/Ge: ۶۰/۴۰؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 10000$. ۵۹
- شکل (۸-۳): تصویر SEM نمونه ۳ (CS/Ge: ۵۰/۵۰؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$. ۶۰
- شکل (۹-۳): تصویر SEM نمونه ۴ (CS/Ge: ۴۰/۶۰؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$. ۶۰
- شکل (۱۰-۳): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$. ۶۰
- شکل (۱۱-۳): تغییرات اندازه قطر الیاف در نمونه ۳ در بزرگنمایی $\times 30000$. ۶۱
- شکل (۱۲-۳): تغییرات اندازه قطر الیاف در نمونه ۴ در بزرگنمایی $\times 30000$. ۶۲
- شکل (۱۳-۳): تغییرات اندازه قطر الیاف در نمونه ۵ در بزرگنمایی $\times 30000$. ۶۲
- شکل (۱۴-۳): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰) با نرخ تغذیه ۰/۴ ml/hr؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$. ۶۳
- شکل (۱۵-۳): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰) با نرخ تغذیه ۰/۶ ml/hr؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$. ۶۳

- شکل (۳-۱۶): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰) با نرخ تغذیه ۱ ml/hr؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$ ۶۴
- شکل (۳-۱۷): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰) با نرخ تغذیه ۱/۵ ml/hr؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$ ۶۴
- شکل (۳-۱۸): تغییرات اندازه قطر الیاف در نرخ تغذیه ۰/۴ ml/hr و بزرگنمایی ۳۰۰۰۰ ۶۵
- شکل (۳-۱۹): تغییرات اندازه قطر الیاف در نرخ تغذیه ۰/۶ ml/hr و بزرگنمایی ۳۰۰۰۰ ۶۵
- شکل (۳-۲۰): تغییرات اندازه قطر الیاف در نرخ تغذیه ۱ ml/hr و بزرگنمایی ۳۰۰۰۰ ۶۶
- شکل (۳-۲۱): تغییرات اندازه قطر الیاف در نرخ تغذیه ۱/۵ ml/hr و بزرگنمایی ۳۰۰۰۰ ۶۶
- شکل (۳-۲۲): درصد الیاف با قطر زیر ۱۰۰ nm با تغییرات ولتاژ ۶۷
- شکل (۳-۲۳): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰) با ولتاژ ۱۰ kV؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$ ۶۷
- شکل (۳-۲۴): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰) با ولتاژ ۲۰ kV؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$ ۶۸
- شکل (۳-۲۵): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰) با ولتاژ ۲۵ kV؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$ ۶۸
- شکل (۳-۲۶): تغییرات اندازه قطر الیاف در ولتاژ ۱۰ kV و بزرگنمایی ۳۰۰۰۰ ۶۹
- شکل (۳-۲۷): تغییرات اندازه قطر الیاف در ولتاژ ۲۰ kV و بزرگنمایی ۳۰۰۰۰ ۶۹
- شکل (۳-۲۸): تغییرات اندازه قطر الیاف در ولتاژ ۲۵ kV و بزرگنمایی ۳۰۰۰۰ ۷۰
- شکل (۳-۲۹): درصد الیاف با قطر زیر ۱۰۰ nm با تغییرات ولتاژ ۷۰
- شکل (۳-۳۰): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰) با فاصله ۱۰ cm؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$ ۷۱
- شکل (۳-۳۱): تصویر SEM نمونه ۵ (CS/Ge: ۳۰/۷۰) با فاصله ۲۰ cm؛ الف) $\times 2000$ ، ب) $\times 30000$ ۷۱
- شکل (۳-۳۲): تغییرات اندازه قطر الیاف در ولتاژ ۱۰ cm و بزرگنمایی ۳۰۰۰۰ ۷۲
- شکل (۳-۳۳): تغییرات اندازه قطر الیاف در ولتاژ ۲۰ cm و بزرگنمایی ۳۰۰۰۰ ۷۲
- شکل (۳-۳۴): درصد الیاف با قطر زیر ۱۰۰ nm با تغییرات فاصله سوزن تا جمع کننده ۷۳
- شکل (۳-۳۵): نمونه داربست ساخته شده حاوی نانوالیاف کیتوسان-ژلاتین ۷۳
- شکل (۳-۳۶): نحوه کراس لینک کردن نمونه‌ها در محفظه کاملاً مسدود شده ۷۵
- شکل (۳-۳۷): طیف FTIR ساختار کراس لینک شده توسط بخار گلوترالدئید ۷۵
- شکل (۳-۳۸): غوطه‌وری نمونه در آب دوبار یونیزه شده ۷۶
- شکل (۳-۳۹): تصویر میکروسکوپ نوری از داربست در (الف): حالت بدون سلول، (ب) و (ج): دارای سلول کشت داده-
شده ۷۷
- شکل (۳-۴۰): تصویر SEM سلولهای فیبروبلاست کشت داده شده بر روی داربست نانوالیافی ۷۷
- شکل (۳-۴۱): نتایج تست MTT بر روی داربست و کنترل منفی در طول موج ۵۷۰ nm بعد ۴ روز کشت ۷۸

فهرست جداول

۱

Table

خ

فصل ۱- مروری بر منابع مطالعاتی

۱-۱- مقدمه

مهندسی بافت، به عنوان زمینه بدیع و به سرعت در حال رشد، توجه زیادی را به خود اختصاص داده است [۱-۴]. هدف نهایی مهندسی بافت در مفهوم درمانی، جایگزینی یا احیاء ساختار آناتومیک و عملکرد بافت یا عضو تخریب یافته، مجروح شده و یا از دست رفته در پی هرگونه جراحی یا فرایند پاتولوژیک می باشد که با به کارگیری بیومواد، سلول یا بافت، مولکول های از نظر بیولوژیک فعال و یا نیروهای مکانیکی تحریک کننده محیط بافت، این مهم صورت می پذیرد [۵ و ۱۵]. بیومواد به صورت داربست های سه بعدی آرایش یافته تا هم از نظر مکانیکی حمایت را انجام دهند و هم رشد سلول ها را درون بافت یا عضو جدید هدایت کنند. داربست ها باید دارای تخلخل بالا بوده تا اجازه کشت سلول ها در دانسیته بالا، در لحظه کاشت در بدن، را داده و نفوذ و تشکیل میزان قابل توجه رگ های خونی برای تامین تغذیه سلول ها و حذف مواد زائد را تسریع کنند. ماتریس خارج سلولی^۱ (ECM) ایجاد شده توسط سلول ها، خواص فیزیکی، مکانیکی و عملکردی بافت یا ارگان را فراهم می آورد. سیگنال های تولید شده

^۱ ExtraCellular Matrix

از بستر زیرین و محیط اطراف، پاسخ سلول‌ها و نیز چیدمان آن‌ها را در ساختار مناسب کنترل می‌کنند [۵۱].

هرچند، مهندسی بافت به عنوان یک رشته علمی بسیار جوان می‌باشد و تنها در مراحل اولیه رشد قرار دارد، اما به طور شگفت‌آور، بعد از حدود تنها ۴ دهه رشد، این زمینه کاری نه تنها به آزمایشگاه‌های آکادمیک محدود نشده، بلکه به سرعت در بُعد صنعتی نیز در حال رشد و گسترش می‌باشد. به عنوان مثال، پوست حاصله از مهندسی بافت در قفسه‌های بازار بسیاری از کشورها مانند انگلستان و ایالات متحده به چشم می‌خورد [۱]. از طرفی غضروف، وسایل موقت کمک‌کننده کبد و پانکراس، آزمایشات کلینیکی را پشت سر می‌گذارند [5][۵]. تاکنون، محققان تلاش کرده‌اند تا استخوان [۱]، کبد [۵۱]، سرخ‌رگ [۱]، مثانه [۶]، پانکراس [۱]، عصب [۷]، غضروف [۵]، رگ‌های قلبی [۱]، قرنیه [۸] و بسیاری از بافت‌های نرم [۱] را تولید کنند.

امروزه، عمده مطالعات مهندسی بافت بر روی تحقیقات در ساختارهای با اندازه میکرون متمرکز شده (به عنوان مثال اندازه فراسلولی $100 \mu\text{m} <$ و ساختارهای سلولی $10 \mu\text{m} <$) تا مورفولوژی مناسب ایجاد و سیستم‌های بافتی در اندازه واقعی تولید شوند. هرچند، به منظور مهندسی واحدهای عملکردی بافت، نه تنها ساختارهای در اندازه فراسلولی و سلولی بلکه ساختارهای در اندازه زیرسلولی^۲ ($10 \mu\text{m}$) - $0/1$) و نانو ساختارها ($100 \text{nm} - 1$) مورد نیازند تا محیط سلولی، تعاملات سلولی - مولکولی و سلولی - سلولی، کنترل شوند [۱]. آینده مهندسی بافت به شدت وابسته به دانش عمیق ما می‌باشد که چگونه ساختارهای زیرسلولی و حتی کوچکتر بر عملکرد سلول و ایجاد ساختارهای در اندازه عضو با دقت زیرسلولی یا نانو - به عنوان مثال، یکپارچگی سلول‌ها بر روی ساختار سه‌بعدی با دقت نانو برای افزایش کارایی بافت - تاثیر می‌گذارند. بنابراین، مهندسی بافت توسط مینیاتورسازی در اندازه نانو به منظور طراحی دقیق اجزاء درون بافت بازسازی شده، یکی از مسیرهای امیدبخش این زمینه کاری به حساب می‌آید. به منظور تقلید ساختارهای بافت طبیعی در پیوندهای مهندسی بافت، داربست‌های بیوموادی که با دقت مولکولی یا اتمی طراحی و ساخته شده‌اند، مورد نیازند. نانوتکنیک‌ها به منظور مدیریت مواد و وسایل در اندازه اتمی، مولکولی و زیرمولکولی ($100 \text{nm} - 1$) باید مورد استفاده قرار بگیرند. با استفاده از نانوتکنولوژی، محصولات حاصله از مهندسی بافت با خواص فیزیکی و بیولوژیک، با قابلیت بالای پیش‌بینی، قابل دسترسی می‌باشند [۱].

¹ Supercellular

² Subcellular

۲-۱- کاربرد نانوتکنولوژی در ساخت داربست‌های مهندسی بافت

داربست مهندسی بافت محیطی ایجاد می‌کند که سلول‌ها در آن تحت شرایط کنترل‌شده رشد کرده تا بافت یا عضو ایجاد شود [۴۱]. نقش کلیدی داربست، هدایت رفتار سلول‌ها از قبیل انتقال، انجام وظایف خاص، حفظ ظاهر^۱ و مرگ برنامه‌ریزی‌شده^۲، با تسریع فرایند دریافت و پاسخ به محیط از طریق ارتباطات سلول- ماتریس و سلول- سلول، می‌باشد. بنابراین، مشخصات فیزیکی مطلوب داربست برای کاربردهای مهندسی بافت، تخلخل بالا، سطح ویژه زیاد، اندازه تخلخل بزرگ و پخش‌بودن یکنواخت تخلخل‌های راه‌بر در کل ماتریس، را شامل می‌شوند [۶۱]. به علاوه، داربست باید سیگنال‌های سه- بعدی برای تعدیل چیدمان سلول‌ها، به خوبی ماتریس خارج سلولی که این سلول‌ها از آن استخراج شده‌اند، ایجاد کند [۵۱].

با به‌کارگیری نانوتکنولوژی، داربست‌ها می‌توانند در اندازه‌های اتمی، مولکولی و ماکرومولکولی به کار رفته و در ساختارهای هندسی و توپولوژیک مشخص در اندازه‌های ۱۰۰-۱ nm، ساخته شوند. ساخت داربست‌های مهندسی بافت در اندازه نانو ممکن است خواص پیش‌بینی‌نشده جدیدی از قبیل خواص مکانیکی (استحکام بیشتر)، خواص فیزیکی (سبکی و تخلخل بیشتر)، نوری (گسیل اپتیکی موزون)، رنگ، واکنش‌پذیری شیمیایی (فعال‌تر و خوردگی کمتر)، خواص الکترونیکی (رسانایی بیشتر الکترونیکی) یا مغناطیسی (ابرمغناطیس) و از طرفی احتمالاً عملکردهای تازه که در اندازه‌های میکرون یا ماکرو در دسترس نیست، را برای ماده به ارمغان آورد [۹-۱۱]. سایر مزایای استفاده از نانوتکنولوژی برای ساخت داربست شامل افزایش زیست‌سازگاری، بهبود چسبندگی، کاهش اصطکاک و سایش در مفاصل، کاهش نیاز به جراحی مجدد، تغییر خواص فیزیکی و شیمیایی داربست و بهبود رشد بافت در اطراف ایمپلنت، به حساب می‌آیند.

۲-۱-۱- لزوم استفاده از داربست‌های نانوالیافی

از آنجایی که بدن انسان در ترکیب پیچیده‌ای از تخلخل‌ها، برآمدگی‌ها و فیبرهای ماتریس خارج سلولی با ابعاد نانو زندگی می‌کند، از این‌رو گمان می‌رود که یکی از شرایط مناسب برای رشد سلول‌ها و متعاقب آن رشد بافت، تشکیل محیطی با ابعاد نانو باشد. شاید ساخت داربستی که توانایی تسهیل تعامل با ماتریس سلولی را داراست، تنها فاکتور بحرانی موثر بر رفتار رشد سلول نباشد، اما این پارامتر به عنوان

¹ Phenotype

² Apoptosis

یک پیش‌نیاز بحرانی در موفقیت عملکرد فیزیولوژیکی بافت مطرح است [۱۲]. مهندسی داربست‌های نانوالیافی با مشخصات ساختاری مشابه با ماتریس خارج سلولی طبیعی، فرایند چالش‌برانگیز و مورد نیاز برای موفقیت مهندسی بافت می‌باشد. در طول سال‌های گذشته تلاش‌های گسترده‌ای برای تحقیق در مورد امکان ساخت داربست‌های مشابه با ماتریس خارج سلولی طبیعی صورت گرفته است. ماتریس‌های خارج سلولی طبیعی بدن عمدتاً از دو کلاس ماکرومولکول‌های خارج سلولی که شامل پروتوکلاکین‌ها و پروتئین‌های فیبری با قطر فیبر در حد ۵۰ تا ۱۵۰ نانومتر، براساس نوع بافت، می‌باشد تشکیل شده‌اند. تحقیقات نشان داده که ابعاد ترکیبات بر مورفولوژی و عملکرد سلول‌های رشدیافته بر روی ماتریس خارج سلولی تاثیر می‌گذارد، به طوری که این سلول‌ها اتصال و گسترش بهتری در ساختارهای با ابعاد میکرون و نانو از خود نشان می‌دهند [۱۳].

برای کمک به تصور، چند مثال برای مقایسه الیاف با قطر میکرو و نانومتر بیان می‌شود. اگر قطر فیبری $10 \mu\text{m}$ باشد، فیبرهایی با طول کلی 130 km می‌تواند از 1 kg پلی‌اتیلن تولید شود. در واقع، قطر 100 nm منجر به تولید فیبرهایی به طول 139000 km می‌شود. در مورد اول، سطح مقطع ویژه الیاف $0.4 \text{ m}^2/\text{g}$ است در حالیکه در مورد دوم، $40 \text{ m}^2/\text{g}$ است. در تکنولوژی فیبر، واحد denier که جرم یک فیبر با طول 9000 m را مشخص می‌کند، برای محاسبه نازکی الیاف به کار می‌رود. برای فیبر $10 \mu\text{m}$ قطر، نازکی 1 denier است در حالیکه برای فیبر 100 nm قطر، 10^{-4} denier می‌باشد [۱۴]. بنابراین داربست‌های نانوالیافی، اندازه سطح بالا، نسبت ابعادی زیاد، تخلخل بالا، اندازه تخلخل کم و دانسیته پایین را دارا هستند. این خصیصه‌ها به منظور بهبود چسبندگی سلولی که نقش مهمی در مرحله اولیه مهندسی بافت ایفا می‌کند، مناسب‌اند؛ زیرا انتقال، گسترش و تکثیر سلولی معمولاً وابسته به چسبندگی سلول هستند.

با توجه به مسائل مطرح شده فوق، در این پروژه سعی شده با به‌کارگیری ساختار نانوالیافی، که هر روزه جذابیت بیشتری را در محافل علمی و صنعتی به خود اختصاص می‌دهد، داربست مناسب برای جایگزین پوستی طراحی و مورد بررسی ساختاری و زیست‌سازگاری قرار گیرد.

۱-۲-۲- روش‌های مختلف تولید نانوالیاف

از میان روش‌های مختلفی که برای ساخت داربست‌های بافت در دسترس هستند، تنها تعدادی قادر به تولید ماتریس‌های حاوی فیبر در ابعاد میکرو و نانومتر بوده که شامل self-assembly ، جدایش فازی^۱ و الکترورسی^۱ می‌باشند که در ادامه به طور خلاصه به آن‌ها پرداخته می‌شود.

^۱ Phase separation