



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده مهندسی شیمی

ساخت و بررسی مشخصات داربست‌های آلیاژی  
پلی(هیدروکسی بوتیرات)/کیتوزان به منظور استفاده در مهندسی بافت

پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی پلیمر

سمیه ابراهیمی

اساتید راهنما

دکتر سعید نوری خراسانی

دکتر سعید کرباسی



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده مهندسی شیمی

ساخت و بررسی مشخصات داربست‌های آلیاژی  
پلی(هیدروکسی بوتیرات)/کیتوزان به منظور استفاده در مهندسی بافت

پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی پلیمر

سمیه ابراهیمی

اساتید راهنما

دکتر سعید نوری خراسانی

دکتر سعید کرباسی



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده مهندسی شیمی

پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی پلیمر خانم سمیه ابراهیمی  
تحت عنوان

ساخت و بررسی مشخصات داربست‌های آلیاژی  
پلی(هیدروکسی بوتیرات)/کیتوزان به منظور استفاده در مهندسی بافت

در تاریخ ۹۰/۲/۱۹ توسط کمیته‌ی تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان‌نامه دکتر سعید نوری خراسانی

۲- استاد راهنمای پایان‌نامه دکتر سعید کرباسی

۳- استاد داور دکتر مرتضی صادقی

۴- استاد داور دکتر اکرم زمانی

سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده دکتر حمید زیلویی

## تشکر و قدردانی

با حمد و سپاس به درگاه حق تعالی و امید به رحمت بی منتهایش، تفتیق هاضم را بهانه‌ای می‌دانم تا از تمامی اساتید و بزرگوارانی که در طول دوران تحصیل بنده را از حمایت‌های خود بهره‌مند نمودند سپاسگزاری نمایم.

در ابتدا بر خود لازم می‌دانم از استاد ممتزم جناب آقای دکتر نوری فراسانی که برای اینجانب همواره الگوی علم، اخلاق و صبر بوده‌اند، به فاطم راهنمایی‌ها و پیشنهادات گرانبهایشان در طول مراحل اجرای پایان‌نامه تشکر نمایم.

از استاد ممتزم جناب آقای سعید کرباسی به فاطم راهنمایی‌های ارزنده و راهگشایشان در طول این پژوهش سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر صادقی و سرکار خانم دکتر زمانی که زحمت دآوری این پایان‌نامه را بر عهده داشتند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

در پایان از حمایت‌های بی‌دریغ خانواده‌ی عزیزم که همواره در این مدت از هیچ کوششی جهت انجام هرچه بهتر این اثر فروگذار ننمودند سپاسگزاری می‌نمایم و برای همه این عزیزان توفیقات الهی و طول عمر با عزت را بیش از پیش از درگاه فدای

متعال فواستارم.

کلیه ی حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،  
ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع  
این پایان نامه (رساله) متعلق به دانشگاه صنعتی  
اصفهان است

تقدیرم به:

قلب مهربان،

نگاه نگران

مادرم

و دستان روبه آسمان

تقدیرم به:

روح بلند

پدرم

و

به فواهران و برادران عزیزم

بزرگترین دلفوشی‌های زندگی من



## فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
هشت	فهرست مطالب.....
۱	چکیده.....
	<b>فصل اول: مقدمه</b>
	<b>فصل دوم: مروری بر پژوهش‌های انجام شده</b>
۷	۱-۲ مهندسی بافت.....
۱۰	۲-۲ مواد مورد استفاده در مهندسی بافت.....
۱۱	۱-۲-۲ پلیمرهای طبیعی.....
۱۶	۲-۲-۲ پلیمرهای سنتزی.....
۱۹	۳-۲ روش‌های ساخت داربست در مهندسی بافت.....
۱۹	۱-۳-۲ قالب‌گیری محلولی/شستن ذرات.....
۲۰	۲-۳-۲ روش جدایی فاز با حرارت القایی.....
۲۰	۳-۳-۲ روش جدایی فاز با انعقاد غوطه‌وری.....
۲۱	۴-۳-۲ خشک کردن سرمایشی امولسیون.....
۲۲	۵-۳-۲ استفاده از عوامل پفزا.....
۲۳	۶-۳-۲ روش الکترورسی.....
۲۳	۷-۳-۲ روش الگوبرداری سریع.....
۲۴	۴-۲ خصوصیات داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت.....
۲۴	۱-۴-۲ ساختار متخلخل با اندازه و مقدار حفرات مناسب.....
۲۵	۲-۴-۲ تخریب پذیری.....
۲۶	۳-۴-۲ خواص مکانیکی.....
۲۶	۴-۴-۲ زیست‌سازگاری.....
۲۶	۵-۴-۲ قابلیت استریل شدن.....
۲۷	۵-۲ غضروف مفصلی.....
۲۸	۶-۲ آلیاژهای بر پایه پلی (۳-هیدروکسی بوتیرات).....
۲۹	۱-۶-۲ آلیاژهای PHB با پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر.....
۳۴	۲-۶-۲ آلیاژهای PHB با پلیمرهای زیست تخریب‌ناپذیر.....
۳۶	۷-۲ آلیاژهای کیتوزان با پلی استرهای خطی.....
۳۸	۱-۷-۲ آلیاژهای کیتوزان/PLA.....
۳۸	۲-۷-۲ آلیاژهای PHB/کیتوزان و کیتین/PHB.....
	<b>فصل سوم: مواد و روش‌ها</b>
۴۲	۱-۳ مواد اولیه.....
۴۳	۲-۳ طراحی آزمایش.....

۴۴	تعیین عوامل موثر	۱-۲-۳
۴۵	انتخاب نرم افزار	۲-۲-۳
۴۵	آزمایش‌های طراحی شده	۳-۲-۳
۴۷	روش انجام کار	۳-۳
۴۸	بررسی مشخصات و مطالعه داربست‌ها	۴-۳
۴۸	بررسی ریخت‌شناسی داربست‌ها به وسیله میکروسکوپی الکترونی روبشی (SEM)	۱-۴-۳
۴۸	آزمون آب‌دوستی	۲-۴-۳
۵۰	آزمون FTIR	۳-۴-۳
۵۱	اندازه‌گیری درصد تخلخل	۴-۴-۳
۵۱	آزمون تخریب	۵-۴-۳

#### فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۵۳	آماده‌سازی نمونه‌ها	۱-۴
۵۴	آلیاژ سازی	۱-۱-۴
۵۹	انتخاب غلظت اولیه مناسب برای محلول PHB	۲-۱-۴
۶۱	بررسی مشخصات داربست‌های آلیاژی	۲-۴
۶۱	بررسی طیف‌های FT-IR	۱-۲-۴
۶۴	محاسبه درصد تخلخل	۲-۲-۴
۶۶	بررسی ساختار و پراکندگی تخلخل‌ها در داربست‌های آلیاژی	۳-۲-۴
۶۹	مطالعه آب‌دوستی داربست‌ها	۴-۲-۴
۷۲	بررسی میزان تخریب داربست‌های آلیاژ پلیمری با اندازه‌گیری وزن نمونه‌ها	۵-۲-۴
۷۵	تعیین شرایط بهینه	۶-۲-۴

#### فصل پنجم: نتایج و پیشنهادات

۸۱	نتیجه‌گیری	۱-۵
۸۱	نتایج حاصل از ساخت داربست‌های آلیاژ پلیمری	۱-۱-۵
۸۲	نتایج حاصل از مطالعه ریخت‌شناسی و ساختار داربست‌های آلیاژ پلیمری	۲-۱-۵
۸۳	نتایج حاصل از مطالعات آب‌دوستی و تخریب‌پذیری داربست‌ها	۳-۱-۵
۸۴	نتایج حاصل از تحلیل آماری	۴-۱-۵
۸۴	پیشنهادها	۲-۵
۸۶	پیوست‌ها	
۸۷	مراجع	

## چکیده

پلی(هیدروکسی بوتیرات) (PHB) پلیمری نیمه بلورین است که در حالت خالص از آب دوستی و تخریب پذیری بالایی برخوردار نیست، در این پژوهش داربست‌های آلایژی PHB/کیتوزان به روش آلایزسازی محلولی/نمک‌شویی، به منظور استفاده در مهندسی بافت ساخته شد. ابتدا نمونه‌ها با درصدها متفاوت کیتوزان؛ ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد وزنی، و نمک؛ ۸۰ و ۹۰ درصد وزنی، در دو غلظت PHB؛ ۳ و ۴g/dl بر اساس طراحی آزمایش به روش تاگوچی با آرایه L<sub>8</sub> تهیه شد. خروج حلال از داربست‌های آلایژی، به روش انعقاد غوطه‌وری درون حمام ضدحلال Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> انجام شد که نقش خنثی‌کننده نمک‌های محلول را نیز داشت. سپس ریخت‌شناسی، آب‌دوستی و تخریب‌پذیری این داربست‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. درصد تخلخل هر یک از داربست‌ها به روش نفوذ آب بدون یون درون تخلخل-ها محاسبه گردید، سپس ریخت‌تخلخل‌ها و پراکنندگی آنها با آزمون‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد مطالعه قرار گرفت. طیف‌های FT-IR نشان دادند که بلورینگی در داربست‌های آلایژی با افزایش درصد کیتوزان در آلایژ، کاهش یافته است. همچنین بر اساس این طیف‌ها هیچ برهمکنش خاصی بین زنجیرهای PHB با کیتوزان به وجود نیامده است. تصاویر SEM نشان داد که سطح زیرین داربست‌ها دارای حفره‌های باز و سطح رویی دارای حفره‌های بسته و ساختاری گره‌دار است. با افزایش مقدار کیتوزان در داربست‌های آلایژی، حفره‌ها ساختار مکعبی خود را از دست داده‌اند و ارتباط بین حفره‌ها افزایش یافته است. نتایج SEM، حفره‌های با ابعاد ۳۰۰-۲۵۰ میکرومتر ناشی از خروج ذرات نمک و حفره‌های استوانه‌ای شکل با ابعاد زیر ۱۰ میکرومتر ناشی از خروج حلال توسط ضدحلال، را نشان می‌دهد. نتایج آزمون زاویه تماس، حاکی از افزایش زاویه تماس با افزایش مقدار نمک و کاهش نامحسوس زاویه تماس با افزایش مقدار کیتوزان می‌باشد. براساس آزمون جذب آب، با افزایش مقدار کیتوزان جذب آب نمونه‌ها به طرز مشهودی افزایش یافته است. مطالعه تخریب داربست‌ها در خارج از بدن در محلول بافر فسفات (PBS) و دمای ۳۸±۲ °C به مدت ۱۴ هفته نشان داد که بیشترین مقدار تخریب برای نمونه‌های داربستی تهیه شده با ۹۰٪ نمک و ۴۰٪ کیتوزان می‌باشد. براساس تحلیل‌های آماری انجام شده بر روی نتایج، توسط نرم‌افزار آماری Qualitek داربست‌های تهیه شده با ۹۰٪ نمک و ۴۰٪ کیتوزان دارای خواص بهینه می‌باشند. با توجه به نتایج این پژوهش، می‌توان از داربست‌های آلایژی سه‌بعدی PHB/کیتوزان در مهندسی بافت غضروف استفاده کرد.

کلمات کلیدی: ۱- داربست ۲- آلایژ ۳- پلی(هیدروکسی بوتیرات) ۴- کیتوزان ۵- مهندسی بافت

## فصل اول

### مقدمه

از دست رفتن بافت‌ها یا اعضای بدن انسان مشکلی بسیار زیانبار برای فرد بیمار است. تخمین زده می‌شود که همه ساله تنها در ایالات متحده، حدود ۴۰۰ میلیون دلار آمریکا صرف هزینه‌های ناشی از نقص عضو یا از دست رفتن بافت می‌شود. از سوی دیگر تعداد بیمارانی که در صف انتظار برای پیوند عضو هستند نیز رو به افزایش است. با وجود رقم قابل توجه پیشرفت‌های فناوری در زمینه مهندسی بیومواد به خاطر افزایش امید به زندگی در کشورهای توسعه یافته و نیز با افزایش تعداد بلایایی مانند زلزله، شیوع بیماری و جنگ نیاز برای جایگزین کردن اعضا و بافت‌ها به شدت افزایش یافته است [۱].

تکنولوژی رایج برای جایگزین کردن بافت و اعضاء محدودیت‌هایی دارد، محدودیت‌هایی که شامل کمبود اهداکننده، پاسخ‌های ایمنی مخرب از بافت میهمان، زیست‌ناسازگاری، عفونت، انتقال بیماری و قیمت زیاد برای بیمار می‌شود. از سوی دیگر نیز ناکارآمدی مواد سنتزی برای پوشش فعالیت‌های چندگانه عضو، همواره وجود دارد، به عنوان مثال استخوان تنها یک عنصر ساختاری نیست بلکه یک کارخانه تولید مغز استخوان نیز هست. محدودیت‌های ذکر شده، دانشمندان تمام دنیا را برآن داشت که تکنولوژی‌های دیگری را نیز بررسی نمایند، که در این میان مهندسی بافت<sup>۱</sup> منادی پاسخی امیدوارکننده به این مشکلات شده است [۱].

---

<sup>۱</sup> Tissue Engineering

مهندسی بافت رشته‌ای نوظهور است که با استفاده از آن بازسازی یا جایگزین کردن بافت‌های آسیب‌دیده با اجزاء رشد یافته در آزمایشگاه نظیر استخوان، غضروف، رگ‌های خونی و پوست امکان‌پذیر است. رایج‌ترین مفهوم مهندسی بافت ترکیب یک داربست<sup>۱</sup>/ماتریس، سلول‌های زنده و یا مولکول‌های بیولوژیکی فعال به منظور تشکیل یک "ساختار مهندسی بافت" به منظور ترمیم و بازسازی اعضا است. از یک داربست انتظار می‌رود تجمع، مهاجرت، رشد و تقسیم سلول‌ها را به عنوان یک تکیه‌گاه تقویت نموده و رشد بافت مورد نیاز را هدایت نماید یا به عنوان محمل رهایش دارو عمل کند [۲].

در مهندسی بافت سلول‌ها بر روی داربستی کشت می‌شوند که سرانجام به طور کامل تخریب می‌شود، بنابراین خطر وجود یک جسم خارجی در محل کاشت و التهابات شدید ناشی از آن از بین می‌رود. در نهایت استفاده از سلول‌های خود شخص مشکل واپس‌زنی و عفونت را نیز از بین خواهد برد. دلایل متعددی برای برتری مواد زیست‌تخریب‌پذیر بر مواد زیست‌پایدار وجود دارد، که مهم‌ترین آنها، پی‌آمدهای زیست‌سازگاری بلند مدت با بسیاری از کاشتنی‌های دائمی موجود و سطوح بالای پی‌آمدهای فنی و روانی مربوط به اعمال جراحی مجدد است [۳].

زیست‌تخریب‌پذیرهای پلیمری قطعاتی هستند که در اثر تخریب ماکرومولکولی تجزیه می‌شوند و در بافت زنده پخش می‌گردند. قطعات یا سیستم‌های پلیمری زیست‌تخریب‌پذیر می‌توانند به وسیله عوامل زیستی مورد حمله قرار گیرند که در نتیجه آن تمامیت سیستم از بین می‌رود [۴].

سه نوع ماده اصلی وجود دارد که تا کنون به نحو موفقیت‌آمیزی در ساخت داربست‌ها به کار رفته‌است شامل: ۱- پلیمرهای طبیعی مانند کلاژن، گلیکوزآمینوگلیکان، نشاسته، کیتین و کیتوزان ۲- پلیمرهای سنتزی بر پایه پلی لاکتیک اسید (PLA)، پلی گلایکولیک اسید (PGA) و کوپلیمرهای آنها (PLGA) و یا پلیمرهای سنتز شده از میکروارگانسیم‌ها مانند پلی (هیدروکسی آلکانوات‌ها) (PHA) و ۳- سرامیک‌ها، نظیر هیدروکسی آپاتیت (HA) و بتا-تری کلسیم فسفات ( $\beta$ -TCP) [۵].

مکانیزم تخریب این پلیمرها در بدن با توجه به ساختار مولکولی متفاوت بوده ولی در همه موارد، تخریب این پلیمرها منجر به تولید موادی می‌شود که سازگار با بدن بوده و آسیبی به بافت اصلی نمی‌رساند. از انواع این تخریب‌ها می‌توان به تخریب توده‌ای<sup>۲</sup> و تخریب سطحی<sup>۳</sup> اشاره کرد. در تخریب توده‌ای پلیمر از درون شروع به تخریب می‌کند در حالی که در مورد تخریب سطحی، پلیمر به مرور زمان لایه لایه از سطح تخریب می‌شود [۶، ۷].

<sup>۱</sup> Scaffold

<sup>۲</sup> Bulk degradation

<sup>۳</sup> Surface degradation

در بین این مواد گروه پلی هیدروکسی آلکانوات‌ها به دلیل زیست تخریب پذیری و سازگاری بهتر همراه با خواص فیزیکی و مکانیکی مناسب بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. ساختار کلی این گروه پلی استری به صورت زیر است که توسط میکروارگانیزم‌ها به روش‌های متفاوت سنتز و تولید می‌شود [۸، ۹].



در ساختار بالا اگر  $m=1$  و  $R = \text{CH}_3$  باشد، پلیمر مورد نظر پلی (۳-هیدروکسی بوتیرات)<sup>۱</sup> خواهد بود که از پلیمرهای جدید این دسته بوده و اخیراً مورد توجه مهندسين بافت قرار گرفته است [۱۰].

پلی (هیدروکسی آلکانوات)ها، دسته‌ای جدید از بیوپلیمرهای میکروبی هستند، که امروزه به عنوان موادی با پتانسیل پزشکی و دارویی توجه بسیاری از مهندسين بافت را به خود جلب کرده اند. این پلیمرها ترموپلاستیک-های غیرسمی، زیست سازگار و زیست تخریب پذیر هستند که می‌توان آنها را از منابع تجدیدپذیر تولید کرد. آنها دارای درجه پلیمریزاسیون بالا، بلورینگی بالا، فعالیت نوری و ایزوتاکتیسیته (نظم فضایی در واحدهای تکرار-شونده) هستند و در آب غیر قابل حل می‌باشند؛ که این خواص آنها، با پلی پروپیلن که از پلاستیک‌های مشتق نفتی است قابل مقایسه می‌باشد [۱۱].

با این که تاکنون تحقیقات زیادی روی بیوسنتز، خواص فیزیکی و رفتارهای زیست تخریب پذیری پلی استر-های میکروبی گزارش شده است، ولی شکنندگی ذاتی و قیمت بالای تولید آنها کاربردهای عملی و متنوع آنها را محدود می‌کند. بلورینگی P(3HB) نسبتاً بالاست که به همین علت این پلیمر بسیار شکننده است، همچنین دارای دمای ذوب بالایی می‌باشد و تخریب حرارتی آن معمولاً در دماهای نزدیک به دمای ذوب رخ می‌دهد. بنابراین فرآیندپذیری P(3HB) در حالت مذاب بسیار مشکل است. به همین دلیل دو روش برای بهبود خواص فیزیکی P(3HB) مورد مطالعات گسترده ای قرار گرفته است. یک روش، سنتز میکروبی کوپلیمرهای حاوی واحدهای مونومری هیدروکسی آلکانوات‌هایی به جز واحد P(3HB) است. خواص فیزیکی و حرارتی کوپلی استرهای میکروبی با تغییر ساختار مولکولی و ترکیب درصد کوپلیمر قابل تنظیم است. روش دوم آلیاژ کردن P(3HB) با پلیمرهای دیگر است. تاکنون مقالات زیادی در این زمینه منتشر شده است، که بر اساس گزارشات منتشر شده جزء دوم آلیاژ می‌تواند پلیمر زیست تخریب ناپذیری مثل پلی (وینیل استات) و پلی (متاکریلات) یا پلیمر زیست تخریب-پذیری مانند پلی (اتیلن اکساید)، پلی (ε-کاپرولاکتون) و پلی ساکاریدها باشد. خواص فیزیکی و حرارتی و نرخ تخریب پذیری در آلیاژهای فوق به طرز محسوسی از طبیعت جزء دوم آلیاژ مثل قابلیت زیست تخریب پذیری، و یا

<sup>3</sup> Poly(3-hydroxybutyrate) or P(3HB)

امتزاج پذیری با P(3HB) متاثر می‌شود. با این حال روش آلیاژسازی در مقایسه با روش سنتز کویلی استرهای جدید، دارای مزایای فنی بیشتری شامل فرآیندپذیری آسان، قیمت و خواص متعادل تر است [۱۲].

علاوه بر خواص مکانیکی و زیست‌سازگاری، موادی که به عنوان کاشتنی‌های موقتی استفاده می‌شوند، لازم است که در یک دوره زمانی که از نظر بالینی منطقی باشد، تخریب شوند. در مطالعاتی که روی تخریب آزمایشگاهی<sup>۱</sup> فیلم‌های P(3HB) در محلول بافر انجام شد، پیش از ۱۸۰ روزهیچ کاهش وزنی مشاهده نشده است؛ که این به معنای نرخ تخریب پایین این پلیمر است. این دوره بدست آمده مربوط به زمان لازم برای نفوذ آب به درون ماتریس پلیمر است. شتاب دادن به نرخ تخریب PHB با افزودن یک پلیمر یا نرم‌کننده به آن امکان‌پذیر است، زیرا افزودنی‌های آمورف یا آب‌دوست سبب افزایش جذب آب و افزایش سرعت هیدرولیز می‌شوند [۱۳].

کیتوزان؛ پلی(β-(۱,۴)-۲-آمینو-۲-دی‌اکسی-D-گلوکز) نمونه بسیار خوبی از پلی‌ساکاریدهای طبیعی و آب‌دوست است که از دی‌استیلاسیون قلیایی کیتین به دست می‌آید. کیتین از نظر فراوانی دومین پلی‌ساکارید است که عمدتاً به عنوان محصولی جانبی از سخت‌پوستانی نظیر خرچنگ و میگو بدست می‌آید. کیتوزان خواص مطلوبی مانند سمیت پایین، زیست‌سازگاری بالا، زیست‌تخریب‌پذیری، مخاط‌چسبی و غیره از خود نشان می‌دهد. زیست-سازگاری ممتاز آن مربوط به شباهت ساختاری آن با گلیکوزآمینو گلیکان‌هاست که به صورت طبیعی در ماتریس خارج سلولی غضروف یافت می‌شوند. دیگر مزیت بالقوه‌ی استفاده از کیتوزان خواص ضد میکروبی آن است که از فعالیت و مهاجرت زیاد نوتروفیل‌ها ناشی می‌شود [۱۴].

هدف از این پژوهش، بهبود خواص آب‌دوستی و زیست‌تخریب‌پذیری PHB از طریق آلیاژ کردن آن با کیتوزان و تهیه داربست به روش انعقاد غوطه‌وری و نمک‌شویی<sup>۲</sup> با درصد تخلخل‌های متفاوت و درصدهای مختلف کیتوزان است. سپس ریخت، ساختار و پراکندگی تخلخل‌ها همچنین بلورینگی و برهمکنش‌های خاص بین دو پلیمر با عکس‌برداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و آنالیز تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) بررسی می‌شود. میزان آب‌دوستی داربست‌های ساخته شده نیز توسط آزمون زاویه تماس<sup>۳</sup> و جذب آب مورد مطالعه قرار می‌گیرد. در نهایت با اندازه‌گیری کاهش وزن و تغییرات pH تخریب این داربست‌ها در یک محیط بافر و دمای حدود ۳۸°C بررسی خواهد شد.

در فصل دوم تعاریف و مفاهیم مورد نیاز در این حوزه به همراه پژوهش‌های انجام شده مرور می‌گردد. فصل سوم به توضیح روش کار و انجام آزمایش‌های تجربی اختصاص داده می‌شود و در فصل چهارم نتایج حاصل

<sup>۱</sup> In Vitro

<sup>۲</sup> Solvent Casting/Salt Leaching

<sup>۳</sup> Contact Angle

از آزمایش‌ها به همراه بحث بر روی این نتایج آورده می‌شود. نهایتاً در فصل پنجم نتیجه‌گیری به همراه جمع‌بندی نهایی ارائه می‌گردد.



## فصل دوم

### مروری بر پژوهش های انجام شده

#### ۱-۲ مهندسی بافت

رشته مهندسی بافت با این هدف توسعه یافت که پاسخ گوی مشکلات متعدد مربوط به جایگزینی بافت از دست رفته، در اثر بیماری ها یا صدمات باشد. جایگزین های بافت باید بر چالش های مهمی نظیر واپس زنی، التهابات مزمن و کمبودهای شدید دهنده عضو غلبه کنند [۱۵]. هر ساله هزاران بیمار در لیست های انتظار برای انتقال عضو جان خود را از دست می دهند. دلیل رشد مهندسی بافت، پرهیز از این مشکلات توسط تولید جایگزین های زیستی با قابلیت بازسازی بافت آسیب دیده می باشد [۱۶].

امروزه بافت های آسیب دیده توسط زانوگرافت ها<sup>۱</sup>، آلوگرافت ها<sup>۲</sup> و اتوگرافت ها<sup>۳</sup> قابل جایگزین می باشند. زانوگرافت بافتی است که از یک گونه زنده دیگر به دست آمده است. مزیت زانوگرافت ها این است که در شکل ها و اندازه های متنوع در دسترس می باشند، اما آنها خطرات غیرقابل چشم پوشی واکنش های ایمنی و عفونی را نیز به همراه دارند. آلوگرافت ها به پیوندهایی گفته می شود که از یک دهنده انسانی و معمولاً پس از مرگ گرفته می شود. محدودیت های آن شامل کمبود اهداکننده عضو و خطرات عفونی است. اتوگرافت از بافت به دست آمده از خود

---

<sup>۱</sup> Xenografts

<sup>۲</sup> Allografts

<sup>۳</sup> Autografts

شخص بیماری که پیوند را دریافت می کند ساخته می شود، به عبارت دیگر پیوندی از خود شخص بیمار است. اتوگرافت از جهات مختلف، روشی طلایی محسوب می شود زیرا از اغلب مشکلات مربوط به پیوند و واپس زنی پیشگیری می کند. اما این پیوندها نیز با مشکلاتی نظیر درد قابل توجه موضع دهنده و کمبود دهنده مواجه است، به عنوان مثال در مورد پیوند از استخوان لگن خاصره، اغلب بیماران از درد ناحیه ی لگن، بیش از درد موضع پیوند شکایت دارند.

بافت های داخل بدن از سلول ها و ماتریس خارج سلولی تشکیل شده اند. ماتریس خارج سلولی در داخل بدن دارای کارکردهایی از قبیل ایجاد حفاظت مکانیکی سلول ها، انتقال مواد غذایی به سلول ها و از میان برداشتن کاتابولیت ها و فرآورده های ثانویه می باشد. علاوه بر این در سطح ماتریس خارج سلولی، مولکول هایی وجود دارد که توسط گیرنده های موجود بر سطح سلول، شناسایی و باعث چسبندگی سلول به ماتریس خارج سلولی می گردد [۱۷].

تحقیقات انجام شده نشان می دهد که در سیستم های زنده، ماتریس خارج سلولی نقش مهمی در کنترل رفتار سلول ها بازی می کند و بنابراین از اهمیت زیادی برخوردار است [۱۸]. برای ایجاد بافت جدید در خارج از بدن نیاز به یک بستر جهت قرار گرفتن سلول ها بر آن و تقلید ماتریس خارج سلولی در داخل بدن می باشد که اصطلاحاً به آن داربست گفته می شود. در مهندسی بافت برای ایجاد بافت سلول بر روی داربست قرار داده شده و مجموعه سلول ها و داربست در محلول های پیچیده ای از ترکیبات شناخته شده (نمک ها، آمینواسیدها و ویتامین ها) که غالباً اجزای سرم به آنها اضافه می شود و محیط کشت نام دارد، رشد داده می شوند. بنابراین داربست مورد استفاده در مهندسی بافت به عنوان تقلیدی از ماتریس خارج سلولی نقش مهمی را دارا می باشد [۱۹].

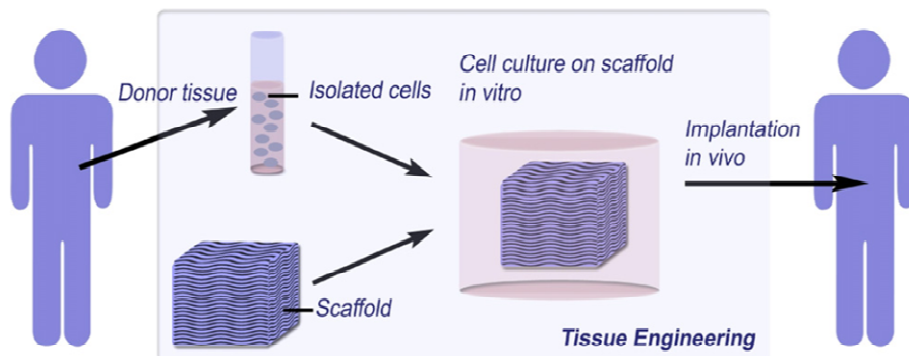
ایده ای که در پس مهندسی بافت قرار دارد ساخت دو نوع اتوگرافت مهندسی است، یکی با رشد دادن سلول های خود شخص در محیط آزمایشگاه<sup>۱</sup> که بر روی یک داربست انجام می شود و دیگری با کاشت یک داربست غیر سلولی در داخل بدن<sup>۲</sup>، تا سلول های بدن بیمار، بافت آسیب دیده را با هدایت داربست ترمیم نمایند. در هر دو مورد، داربست باید همزمان با رشد بافت تخریب شود، بنابراین پس از تکامل و رشد بافت، داربست دیگر وجود نخواهد داشت و بافت تازه تولید شده، می تواند مانند بافت از دست رفته عمل کند [۲۰].

این روش از برخی از معایب دیگر روش های پیوند که قبلاً بحث شد پیشگیری می کند، یعنی تعداد کمی از سلول ها از بیمار برداشته می شود، بنابراین از مشکلاتی نظیر کمبود بافت و ناراحتی موضع دهنده جلوگیری می نماید.

<sup>۱</sup> In Vitro

<sup>۲</sup> In Vivo

سلول‌ها روی داربستی کاشته می‌شوند که سرانجام به طور کامل تخریب می‌شود، در نتیجه خطر وجود یک جسم خارجی در محل کاشت و التهابات شدید ناشی از آن از بین می‌رود. نهایتاً نیز استفاده از سلول‌های خود شخص مشکل واپس‌زنی و عفونت را هم از بین می‌برد. بنابراین ساخت یک جایگزین مهندسی بافت در خارج از بدن روش بهتری نسبت به پیوند مستقیم از اعضای دهنده محسوب می‌شود. به همین خاطر شمار زیادی از گروه‌های تحقیقاتی، بر روی مهندسی بافت متمرکز شده‌اند. یکی از مهم‌ترین زمینه‌های تحقیق در مهندسی بافت، ساخت داربست است. هر داربست ساختاری سه بعدی است که به عنوان یک نگهدارنده موقت برای سلول‌های جدا شده به کار می‌رود تا به شکل بافتی جدید قبل از انتقال به بافت میزبان، رشد کند (شکل ۲-۱) [۲۱].



شکل ۲-۱- اساس مهندسی بافت [۲۱]

سلول‌های کشت شده می‌توانند سلول‌های ویژه آن بافت و یا سلول‌های بنیادی باشند. امروزه سلول‌های بنیادی یکی از جذاب‌ترین زمینه‌های تحقیق در علم زیست‌شناسی می‌باشند که دلیل آن را می‌توان در ویژگی‌های خاص این سلول‌ها جستجو کرد. در حقیقت سلول بنیادی سلولی با ویژگی خاص است که توانایی خودنوزایی و تمایز به انواع سلول‌های دیگر را داراست این خاصیت سلول‌های بنیادی امکان استفاده از این سلول‌ها را در پزشکی ترمیمی یا سلول درمانی فراهم می‌کند و به این دلیل این سلول‌ها در مهندسی بافت به میزان زیادی مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱۰].

مهم‌ترین نگرانی برای هر کاربرد مهندسی بافت، ایمنی بیمار است. مواد توده و مواد حاصل از تخریب یک داربست باید زیست‌سازگار و قابل پاک‌سازی و حذف به وسیله بدن باشند. به همان اندازه نیز مهم است که فرآیندی که برای شکل‌دهی انتخاب می‌شود، بر روی زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری مواد اولیه داربست اثر منفی نگذارد. وظیفه عمده یک داربست هدایت رشد و مهاجرت سلول‌ها از بافت‌های مجاور به سمت موضع معیوب یا تسهیل رشد سلول‌های کاشته شده بر روی داربست پیش از پیوند می‌باشد. مطلوب است که سطح از نظر

شیمیایی برای چسبندگی و تکثیر سلولی مساعد باشد. قطر بالای حفرات و ارتباط زیاد حفرات<sup>۱</sup> برای تشکیل بافت و انتقال مواد مغذی و پسماندهای متابولیک ضروری است. هر چه تخلخل و قطر حفرات افزایش یابد، منجر به افزایش نسبت سطح به حجم داربست یا به عبارتی سطح بیشتر برای چسبیدن سلول‌ها می‌شود [۱۶]. داربست تهیه شده باید در مدت زمان کاشت دارای استحکام مکانیکی کافی برای نگهداری سلول‌های کاشته شده باشد در عین اینکه از درصد تخلخل بهینه‌ای نیز برخوردار باشد [۱۷].

## ۲-۲ مواد مورد استفاده در مهندسی بافت

به طور کلی فلزات، سرامیک‌ها، پلیمرها و آلیاژ و کامپوزیت این مواد در مهندسی بافت استفاده می‌شوند. فلزات دارای استحکام مکانیکی بالایی بوده و در برابر تنش‌های تک‌بعدی مقاومت مناسبی نشان می‌دهند. ولی از طرفی فلزات در برابر تنش‌های گوناگون و غیر هم‌محور مقاومت مناسبی نداشته و در اغلب موارد دچار ترک و در نهایت شکست می‌شوند. همچنین در بسیاری از گزارش‌ها، انتقال یون فلزی از پیوند فلزی<sup>۲</sup> به بدن بیمار دیده می‌شود [۲۲].

سرامیک‌ها به لحاظ هدایت استخوانی، یکپارچگی و در برخی موارد القای استخوانی به عنوان یکی از گزینه‌های عالی جهت پیوند بافت تخریب شده به شمار می‌روند. از طرفی سرامیک‌ها استحکام مکانیکی مناسبی نداشته و در برابر تنش‌های معمولی نیز رفتاری شکننده دارند. با توجه به این نکته استفاده از این مواد به عنوان افزودنی در بستر پلیمرها به دلیل تنوع در خواص، بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. انتخاب ماده جهت تهیه داربست به میزان زیادی بستگی به نوع بافت مورد نظر دارد. به عنوان مثال سرامیک‌ها و کامپوزیت آنها با پلیمرها جهت بازسازی بافت‌های سخت و از پلیمرها جهت بازسازی بافت‌های نرم استفاده می‌شود [۱۰].

به طور کلی پلیمرهای مورد استفاده در مهندسی بافت را می‌توان به دو گروه پلیمرهای طبیعی و پلیمرهای سنتزی تقسیم نمود. در جدول ۱-۲ تقسیم‌بندی مواد مورد استفاده در مهندسی بافت با ذکر مثال نشان داده شده است.

<sup>۱</sup> Interconnectivity

<sup>۲</sup> Metal Graft