

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ



دانشکده مهندسی شیمی و مواد

رشته‌ی مهندسی مواد-مواد مرکب

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

ساخت و بررسی خواص میکرو ساختاری، فیزیکی، مکانیکی و بیولوژیکی نانو کامپوزیت

پلی وینیل الکل-فیبرین

نگارنده: فهیمه سادات حسینی

استاد راهنمای اول:

دکتر رضا طاهریان

استاد راهنمای دوم:

دکتر امیر آتشی

استاد مشاور:

دکتر مهدی منوچهری

بهمن ۹۵

ب



مدیریت تحصیلات تکمیلی

بسمه تعالی

شماره: ۹۵/۴۵
تاریخ: ۸۵/۱۲/۲۳
ویرایش:

فرم شماره ۷: صورتجلسه دفاع از پایان نامه تحصیلی دوره کارشناسی ارشد

با تأییدات خداوند متعال و با استعانت از حضرت ولی عصر (عج) ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم فهیمه سادات حسینی به شماره دانشجویی ۹۳۰۶۲۸۴ رشته مهندسی مواد گرایش مواد مرکب تحت عنوان ساخت و بررسی خواص میکرو ساختاری، فیزیکی، مکانیکی و بیولوژیکی نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین که در تاریخ ۹۵/۱۱/۲۱ با حضور هیأت محترم داوران در دانشگاه صنعتی شاهرود برگزار گردید به شرح ذیل اعلام می گردد:

قبول (با درجه: عالی - امتیاز: ۱۹/۱۲) دفاع مجدد مردود

- ۱- عالی (۲۰ - ۱۹)
- ۲- بسیار خوب (۱۸ - ۱۸/۹۹)
- ۳- خوب (۱۶ - ۱۷/۹۹)
- ۴- قابل قبول (۱۴ - ۱۵/۹۹)
- ۵- نمره کمتر از ۱۴ غیر قابل قبول

امضاء	مرتبه علمی	نام و نام خانوادگی	عضو هیأت داوران
	استادیار	دکتر رضا طاهریان	۱- استاد راهنمای اول
	استادیار	دکتر امیر آنتشی	۲- استاد راهنمای دوم
	استادیار	دکتر مهدی متوجهی	۳- استاد مشاور
	استادیار	دکتر مجید محمدی	۲- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی
	استادیار	دکتر آرش یزدانی	۳- استاد ممتحن اول
	استادیار	دکتر رضا مسکنی	۴- استاد ممتحن دوم

رئیس دانشکده:



تقدیم به مهربان فرشتگانی که:

لحظات ناب باور بودن،

لذت و غرور دانستن،

جسارت خواستن،

عظمت رسیدن و تمام تجربه‌های یکتا و زیبای زندگی‌ام،

مدیون حضور سبز آن‌هاست

تقدیم به خانواده عزیزم.

سپاس خدای را که هر چه دارم از اوست

به امید آنکه توفیق یابم جز خدمت به خلق او نکوشم.

با سپاس از!

اساتید راهنمای ارجمند جناب آقای دکتر رضا طاهریان و دکتر امیر آتشی که در راستای این پایان نامه از هیچ کمکی بر من دریغ نمودند و همچنین جناب آقای دکتر مهدی منوچهری که زحمت مشاوره این پژوهش را به عهده داشتند کمال سپاس دارم.

پدر مادر مهربانم که هر لحظه وجودم را از چشمه سار پر از عشق چشمانشان سیراب می کنند....

خواهران و برادر عزیزم که در دشواری های زندگی یآوری دلسوز و فداکار برایم بوده اند.

باشد که این خردترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید.

تعهد نامه

اینجانب فهیمه سادات حسینی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته مهندسی مواد مرکب دانشکده شیمی و مواد دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه ساخت و بررسی خواص میکرو ساختاری، فیزیکی، مکانیکی و بیولوژیکی نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین تحت راهنمایی دکتر رضا طاهریان متعهد می شوم:

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

* متن این صفحه نیز باید در ابتدای نسخه های تکثیر شده پایان نامه وجود داشته باشد.

مقاله‌های برگرفته از پایان‌نامه:

۱. قهیمه سادات حسنی، رضا طاهریان، امیر آتشی، مهدی منوچهری؛ "مطالعه نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل همراه با فیبرین و بررسی خواص میکروساختاری آن، سومین کنفرانس بین‌المللی یافته‌های نوین علوم و تکنولوژی"، تهران، دی ۱۳۹۵
۲. قهیمه سادات حسنی، رضا طاهریان، امیر آتشی، مهدی منوچهری؛ "بررسی عملکرد چسب فیبرینی به عنوان یک نوع چسب بافتی طبیعی به عنوان بندآورنده خون و خواص میکروساختاری آن"، سومین کنفرانس بین‌المللی یافته‌های نوین علوم و تکنولوژی، تهران، دی ۱۳۹۵

چکیده

امروزه مهندسی بافت یک استراتژی نویدبخش برای درمان بیماران دارای آسیب‌های بافتی توسط سلول‌ها در ترکیب با داربست‌های پلیمری است. تاکنون بیومواد طبیعی و مصنوعی مختلفی برای ساخت داربست‌های مهندسی بافت پیشنهاد شده است. در این میان، پلی وینیل الکل به‌عنوان یک زیست پلیمر، در ساخت داربست‌های مهندسی بافت زخم مورد استفاده قرار گرفته است. هدف از این پژوهش، ساخت داربست نانو کامپوزیتی پلی وینیل الکل-فیبرین با خواص مکانیکی و زیستی مناسب برای کاربرد در پانسمان زخم است. برای ساخت داربست‌ها از روش الکتروریسی نانو فیبری پلی وینیل الکل استفاده شد. همچنین از غلظت‌های مختلف ترومبین و فیبرینوژن به‌منظور تهیه داربست‌های فیبرینه استفاده گردید. نتایج بررسی مکانیکی داربست‌ها حاکی از استحکام کششی مناسب داربست پلی وینیل الکل (4Mpa) بود. به‌منظور بررسی خواص میکرو ساختاری از آنالیز میکروسکوپی روبشی استفاده شد و نتایج قطر فیبرها حدود 300-400 تخمین زده شد. همچنین میزان تخلخل‌ها بین 10-20 μm بود که با افزایش فیبرین این میزان تخلخل کاهش یافت. آزمون تر شوندگی به‌منظور بررسی میزان آب‌دوست بودن انجام شد که نتایج افزایش آب‌دوستی داربست پلی وینیل الکل-فیبرین را نشان داد این نتایج مطابق با سلول‌های شمارش شده توسط تصاویر گرفته شده توسط میکروسکوپ فلورسانس بود. همچنین آزمون کشت سلولی توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌منظور بررسی میزان تکثیر سلول با روش MTT به مدت چهار روز انجام شد. نتایج افزایش تکثیر سلول‌ها بعد از کامپوزیت شدن را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان از این داربست به‌منظور کاربردهای مهندسی بافت در پانسمان زخم استفاده کرد.

واژگان کلیدی: مهندسی بافت، داربست، پلی وینیل الکل، فیبرین، نانو کامپوزیت،

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل اول: مقدمه و کلیات
۲	۱-۱- مقدمه
۷	فصل دوم: پیشینه تحقیق
۸	۱-۲- چسب‌های بافتی
۹	۱-۱-۲- چسب‌های مصنوعی
۹	۲-۱-۲- چسب‌های سیانو اکرلایت
۱۲	۳-۱-۲- چسب‌های طبیعی
۱۳	۴-۱-۲- چسب‌های فیبرینی
۲۱	۲-۲- نانو کامپوزیت‌ها
۲۲	۱-۲-۲- روش تولید نانو کامپوزیت‌ها
۲۳	۲-۲-۲- نانو کامپوزیت‌ها در مهندسی پزشکی
۲۶	۳-۲- پلیمرهای زیست تخریب پذیر
۲۷	۱-۳-۲- دسته‌بندی پلیمرهای زیست تخریب پذیر
۲۸	۲-۳-۲- ساختار، سنتز و خواص پلیمرهای زیست تخریب پذیر
۳۰	۴-۲- پلی وینیل الکل
۳۱	۱-۴-۲- ساختار پلی وینیل الکل
۳۲	۲-۴-۲- مکانیسم‌های زیست تخریب پذیری پلی وینیل الکل
۳۴	۳-۴-۲- خواص فیزیکی پلی وینیل الکل
۳۴	۴-۴-۲- خواص شیمیایی پلی وینیل الکل
۳۵	۵-۴-۲- کاربردهای پزشکی پلی وینیل الکل
۳۶	۶-۴-۲- پیوند عرضی پلی وینیل الکل
۳۷	۵-۲- روش‌های تولید الیاف نانو
۳۷	۱-۵-۲- کشش

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۳۸	۲-۵-۲- خودآرایی.....
۳۹	۲-۵-۳- تولید از قالب.....
۳۹	۲-۵-۴- جدایش فازی.....
۴۰	۲-۵-۵- الکتروریسی.....
۴۴	۲-۶- نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین.....
۴۹	فصل سوم: فعالیت‌های آزمایشگاهی.....
۵۰	۳-۱- مواد اولیه مصرفی.....
۵۳	۳-۲- الکتروریسی پلی وینیل الکل.....
۵۴	۳-۳- استحکام کششی نمونه.....
۵۵	۳-۴- پیوند بین زنجیره پلی وینیل الکل.....
۵۵	۳-۵- آنالیز میکرو ساختاری.....
۵۷	۳-۶- آزمون تر شوندگی.....
۵۸	۳-۷- آزمون چسبندگی سلولی.....
۵۹	۳-۸- آزمون مواد زیستی در آزمایشگاه.....
۵۹	۳-۸-۱- کشت و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی.....
۵۹	۳-۸-۲- مواد و وسایل موردنیاز.....
۶۰	۳-۸-۳- بررسی تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی توسط روش MTT.....
۶۱	۳-۸-۴- اساس آزمایش MTT.....
۶۱	۳-۸-۵- آماده‌سازی بافر فسفات سالین.....
۶۳	فصل چهارم: تحلیل نتایج.....
۶۴	۴-۱- خواص مکانیکی.....
۶۴	۴-۱-۱- استحکام کششی.....

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۶۸	۴-۲- آنالیز میکرو ساختاری.....
۶۸	۴-۲-۱- آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی.....
۷۵	۴-۳- آزمون چسبندگی سلولی.....
۸۰	۴-۴- آزمون زاویه تماس یا تر شوندگی.....
۸۳	۴-۵- آزمون تکثیر کشت سلولی.....
۸۳	۴-۵-۱- آزمون MTT.....
۹۱	فصل پنجم: نتیجه گیری.....
۹۲	۵-۱- نتیجه گیری.....
۹۴	۵-۲- پیشنهادها.....
۹۵	منابع و مراجع.....
۱۰۵	پیوست.....

فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۹	شکل ۱-۲: انواع استحکام چسب: استحکام چسب بین چسب و بافت (فلش سیاه)
۱۰۳	شکل ۲-۲: ساختار شیمیایی مونومرهای سیانواکرلایت
۱۰	شکل ۳-۲: ساختار مونومر سیانو اکرلایت
۱۱	شکل ۴-۲: پلیمریزاسون ژل بافتی سیانواکرلایت
۱۷	شکل ۵-۲: شماتیک ساختار مونومرهای فیبرین و چسبیدن آن‌ها به اولین فیبر
۱۷	شکل ۶-۲: تشکیل فیبرین کراس لینک شده از فیبرینوزن
۱۹	شکل ۷-۲: مکانیسم فعالسازی برای تشکیل پلیمر فیبرین
۲۳	شکل ۸-۲: انواع مختلف رشد از واکنش سیلیکات‌های لایه‌ای شده
۲۸	شکل ۹-۲: دستهبندی پلیمرهای زیست تخریب پذیر
۳۰	شکل ۱۰-۲: ساختار شیمیایی برخی از پلیمرهای زیست تخریب پذیر
۳۳	شکل ۱۱-۲: مسیر پلیمر زیست تخریب پذیر پلی وینیل الکل با قسمتی از اکسیداس الکل ثانویه
۳۳	شکل ۱۲-۲: مکانیسم زیست تخریب پذیری پلی وینیل الکل حاوی استات‌های استر
۳۶	شکل ۱۳-۲: کراس لینک پلی وینیل الکل با فرمیک اسید
۳۷	شکل ۱۴-۲: تولید نانو فیبرها به روش کشش
۳۸	شکل ۱۵-۲: تولید نانو فیبرها به روش خودآرایی
۳۹	شکل ۱۶-۲: تولید نانو فیبرها به روش جدایی از قالب
۴۰	شکل ۱۷-۲: تولید نانو فیبرها به روش جدایش فازی
۴۱	شکل ۱۸-۲: تولید نانو فیبرها به روش الکترواسپینینگ
۴۲	شکل ۱۹-۲: ریسندهی تر برای تولید نانو فیبرها
۴۴	شکل ۲۰-۲: نانو فیبرها برای پانسمان زخم

فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۵۲	شکل ۳-۱: نمایی از الف) چسب فیبرین ب) داربست پلی وینیل الکل
۵۲	شکل ۳-۲: فلوجارت فرایند انجام پژوهش
۵۳	شکل ۳-۳: دستگاه الکترورسی برای ساخت داربست پلی وینیل الکل
۵۴	شکل ۳-۴: دستگاه آزمون کشش
۵۶	شکل ۳-۵: دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی
۵۷	شکل ۳-۶: دستگاه اندازه‌گیری آزمون تر شوندگی
۵۸	شکل ۳-۷: میکروسکوپ نوری مجهز به فلورسانس
۶۲	شکل ۳-۸: الف) چاهکهای مورد استفاده در آزمون MTT و ب) دستگاه الایزایدر
۶۵	شکل ۴-۱: نمودار تنش - کرنش نمونه اول و دوم پلی وینیل الکل
۶۶	شکل ۴-۲: نمودار تنش کرنش نمونه‌های پلی وینیل الکل آزمون شده
۶۹	شکل ۴-۳: الف) تصویر میکروسکوپی پلی وینیل الکل با بیشترین بزرگنمایی
	شکل ۴-۴: الف) تصویر میکرو سکویی روبشی داربست نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با غلظت پایین و با بیشترین بزرگنمایی
۷۰	
	شکل ۴-۵: الف) تصویر میکرو سکویی روبشی داربست نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با غلظت متوسط و با بیشترین بزرگنمایی
۷۱	
	شکل ۴-۶: الف) تصویر میکروسکوپی روبشی داربست نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با غلظت زیاد و با بیشترین بزرگنمایی
۷۲	
	شکل ۴-۷: تصویر فلورسانس قرارگیری سلول‌ها روی پلیت
۷۵	
	شکل ۴-۸: الف و ب: تصویر فلورسانس از داربست پلی وینیل الکل
۷۶	
	شکل ۴-۹: الف و ب: تصویر فلورسانس از نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین
۷۷	

فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۸۱	شکل ۴-۱۰: تصویر میکروسکوپی تست تر شوندگی روی داربست پلی وینیل الکل.....
۸۱	شکل ۴-۱۱: تصویر میکروسکوپی آزمون تر شوندگی روی نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین.....
	شکل ۴-۱۲: نمودار ستونی مقایسه چگالی نوری داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل
۸۵	الکل- فیبرین در روزهای اول تا چهارم.....

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲: اجزای تشکیل‌دهنده ژل فیبرین	۱۷
جدول ۱-۳: مشخصات مواد اولیه مورد استفاده.	۵۰
جدول ۲-۳: ترکیب چسب فیبرین و غلظت هریک از آن‌ها	۵۰
جدول ۳-۳: غلظت‌های مختلف استفاده در این پژوهش	۵۱
جدول ۳-۴: نحوه آبیگری نمونه‌ها برای آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی	۵۶
جدول ۱-۴: ویژگی‌های ظاهری نمونه‌های اول و دوم	۶۴
جدول ۲-۴: نتایج به‌دست‌آمده از آزمون کشش نمونه‌های پلی وینیل الکل	۶۶
جدول ۳-۴: بررسی میزان تخلخل-ها در داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت	۷۳
جدول ۴-۴: تعداد سلول‌های چسبیده شده به داربست و نانو کامپوزیت	۷۸
جدول ۵-۴: زاویه تماس چپ و راست پلی وینیل الکل و فیبرین-پلی وینیل الکل	۸۰
جدول ۶-۴: دانسیته نوری داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با سه تکرارپذیری در روزهای اول تا چهارم	۸۴
جدول ۷-۴: میانگین چگالی نوری سه تکرار برای داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین در روزهای اول تا چهارم	۸۴
جدول ۸-۴: انحراف معیار داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین در روزهای اول تا چهارم	۸۵
جدول ۹-۴: عدد P-value اعداد حاصل شده برای نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین و داربست پلی وینیل الکل در روزهای اول تا چهارم	۸۶
اعداد نیرو - طول شدگی نمونه‌ها	۱۰۶

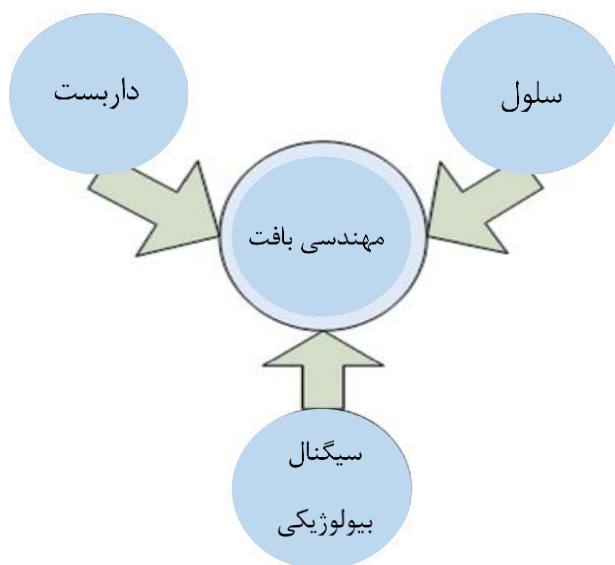
فصل اول:

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

انسداد بافت‌های مجروح در حین جراحی مرحله مهمی در بازگشت بافت به ساختار اولیه است. روش‌های سنتی برای بستن یک زخم جراحی شامل استفاده از بخیه‌ها و گیره‌هاست؛ بنابراین، علی‌رغم استفاده گسترده از آن‌ها، این روش دارای چندین محدودیت است. برای مثال، آن‌ها دارای دوره مصرف هستند، ممکن است باعث شک‌های بافتی شوند و خطر آلودگی را افزایش دهند و همچنین استفاده در محل‌های جراحی مشکل است. یک روش نویدبخش برای روش‌های انسداد سنتی درزگیرهای جراحی هستند علاوه بر این، هیچ‌یک از این روش‌ها چسبندگی مناسبی ایجاد نمی‌کند [۱]. مشکل اصلی در داربست‌های مهندسی بافت شامل خطرات مسمومیت، ایمنی، عدم مسیره‌های تخریب سازگار و عملکرد مکانیکی نامناسب است، پلی استرهای مهندسی بافت رایج مانند پلی لاکتیک اسید و پلی گلیولیک اسید برای تولید محصولات اسیدی تخریب می‌شوند و تخریب سینتیکی تخریب‌پذیر نامنظمی منجر به بدتر شدن ناگهانی خواص مکانیکی ساختار و سخت‌تر شدن از بافت قلب شود [۲]. در حال حاضر چسب بافت جراحی موجود را می‌توان به صورت چسب بافت فیبرین و یا سیانواکریلات دسته‌بندی کرد. اگر چه چسب بافت فیبرین و سیانواکریلات اغلب تحت عنوان کلی چسب بافت جراحی مورد بحث قرار می‌گیرند، اما این دو ماده دارای نشانه‌ها و مکانیسم عمل مختلف هستند. فیبرین چسب بافت طبیعی است که بخشی از مکانیسم لخته شدن طبیعی را برعهده دارد. در مقابل، چسبندگی به دست آمده توسط سیانواکریلات از ترکیبات مصنوعی در بدن انسان حاصل می‌شود [۳]. در بسیاری از کاربردها مانند مهندسی در بافت‌های الاستیک استفاده از هیدروژل‌ها به علت خواص مکانیکی و الاستیک آن محدود شده است که خواص مکانیکی نامناسب می‌تواند منجر به آزاد سازی ناگهانی سلول و مرگ شود همچنین چقرمگی کم دوام را محدود می‌کند [۴]، از این‌رو استفاده از داربست‌های کامپوزیتی می‌تواند روشی نویدبخش درمان بیمار دارای آسیب‌های بافتی توسط سلول‌ها در ترکیبات با داربست پلیمری باشد.

مهندسی بافت حرفه‌ای بین اصول مهندسی و علوم زیستی در جهت توسعه جایگزین بیولوژیکی، حفظ و یا بهبود عملکرد بافت اعمال می‌شود. هدف اصلی از تمامی روش‌ها در مهندسی بافت ترمیم عملکرد توسط تحویل از عناصر زنده جمع شده به صورت یکپارچه در بیمار یکپارچه است. مهندسی بافت دارای سه رآس داربست، سلول و سیگنال بیولوژیکی است. بسیاری از مواد به عنوان مواد سوبسترا یا کپسوله سازی، مواد مصنوعی مانند اسید لاکتیک-گلیکولیک یا اکریلیک پی وی سی و مواد طبیعی مانند کلاژن، هیدروکسی آپاتیت، یا آلزینات سلول‌های پستانداران استفاده می‌شود [۵]. سلول‌های بلوک‌های ساختمان از بافت‌ها و اندام می‌باشد. بنابراین، منبع سلول یک مسئله حیاتی برای مهندسی بافت است. مهندسی بافت با استفاده از سلول‌های بنیادی یک میدان در حال ظهور و رشد سریع است [۶].



شکل ۱-۱: مثلث مهندسی بافت [۷]

هر بافت ویژگی‌های بیولوژیکی و نیز فیزیکی مانند اندازه و شکل خاص خود را دارد. داربست‌های تولید شده از انواع مواد زیستی و تولیدشده با استفاده از تکنیک‌های ساخت در این زمینه در تلاش برای بازسازی بافت‌ها و اندام‌های مختلف در بدن استفاده شده است. بنابراین هر داربست باید دارای خواص بیولوژیکی، مکانیکی، زیست‌تخریب‌پذیری، زیست‌سازگاری، ساختار و تکنولوژی ساخت مناسبی باشد. بدین

منظور هر داربست بر اساس خواص بافت هدفش طراحی می‌شود. بدین منظور نوع و جنس داربست یکی از مهمترین بخش در مهندسی بافت است. داربست نه تنها اجازه اتصال سلول‌ها را به خود می‌دهد، بلکه باعث مهاجرت سلول‌ها، نقل و انتقال فاکتورهای بیوشیمیایی، انتشار مواد غذایی، مواد زائد و نیز مواد تولیدی سلول‌ها می‌شود [۷]. خواصی مانند میزان بالای آب، طبیعت الاستیک، زیست سازگاری و تورم بافت‌ها، هیدروژل پلی وینیل الکل را تبدیل به یک ماده قوی برای مواد جایگزین بافت می‌کند. هیدروژل‌های پلی-وینیل الکل به‌عنوان ماده‌ی لنز، واشرهای قلب مصنوعی، غضروف‌های مصنوعی، کاتتر^۱، غشای پانکراس^۲ و به‌عنوان پانسمن زخم مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۰]. برای ساخت هر بافت نیاز به سلول‌های اختصاصی آن بافت است برخی از بافت‌های بدن توانایی تکثیر به میزان لازم را ندارند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی سلول‌های استرومایی چندتوانی^۳ هستند که با سلول‌ها میان‌پوستی^۴ مانند سلول‌های چربی، استخوان‌ساز یا استئوبلاست^۵، غضروف، یاخته ماهیچه‌ای یا میوسیت^۶، اسکلتی متمایز هستند. این سلول‌ها از مغز استخوان، بافت چربی و بند ناف استخراج می‌شوند [۸]. بنابراین سلول‌های مزانشیمی نتایج مناسبی در داربست‌ها به‌منظور استفاده در پانسمن زخم را دارند. همچنین فیبرین که استخراج‌شده از پلاسمای خون است یک محرک قوی در بند آوردن خون هست و گزینه مناسبی در انتخاب به‌عنوان سیگنال‌های بیولوژیکی است [۹].

در این پژوهش چسب‌های جراحی بر پایه پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر ساخته شد خواص فیزیکی و استحکام چسبندگی این مواد جراحی می‌تواند توسط ترکیبات و مواد شیمیایی استفاده‌شده برای کراس لینک بیوپلیمر تغییر دهد. علی‌رغم خواص چسبندگی و ساختاری عالی مشخص شد که ساختار متخلخل

1 - Catheter

2 - Pancreas

3 - multipotent stromal

4 - mesodermal

5 - osteoblast

6 - Myocyt

این ترکیب اجازه می‌دهد سلول‌ها درون زخم نفوذ و رشد کنند. ابتدا در فصل دوم به معرفی انواع چسب‌های بافتی طبیعی و مصنوعی همراه با خواص رایج‌ترین این نوع چسب‌ها و معرفی انواع پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر، مکانیسم تخریب‌پذیری آن، معرفی پلی وینیل الکل همراه با خواص فیزیکی، شیمیایی و بیومواد و کاربردها در مهندسی بافت پرداختیم همچنین در این فصل مرور کوتاهی به نانو کامپوزیت‌ها و روش‌های تولید آن و معرفی روش مورداستفاده در تولید داربست انجام شد. در فصل سوم به معرفی مواد مصرفی، روش نمونه‌سازی و در نهایت بررسی آنالیزهای مکانیکی، سطحی و بیولوژیکی از جمله آزمون کشش، چسبندگی، کشت سلولی، تر شوندگی و SEM پرداخته شد. در نهایت در فصل آخر نتایج حاصل‌شده از هریک از آنالیزهای انجام‌شده به‌صورت مجزا بررسی و با نتایج پژوهش‌های مشابه و همچنین برخی از قسمت‌های مرتبط به یکدیگر در این پژوهش مقایسه شد.

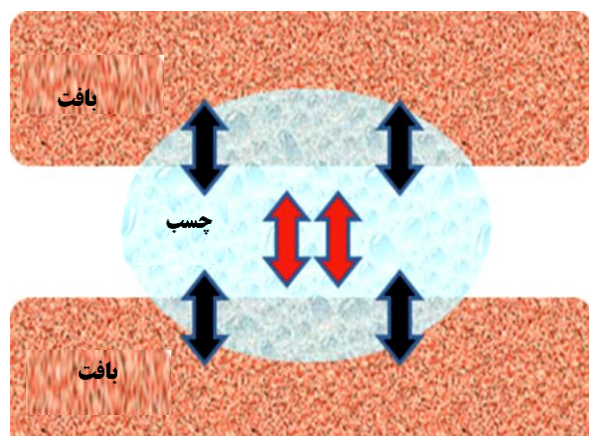
فصل دوم:

پیشینه تحقیق

۲-۱- چسب‌های بافتی

چسب‌های بافتی، بافت‌ها را کنار یکدیگر نگه می‌دارند، علاوه بر این وقتی برای انسداد زخم استفاده شوند، به‌عنوان مانعی (درزگیر) برای نشت عمل می‌کنند. وجود پیوند مقاوم در چسب بافتی به اتصال قوی بین بافت‌ها برای ایجاد چسبندگی (استحکام) و همچنین یکپارچگی چسب (چسبندگی ماده) وابسته است. شکل (۱-۲) جزئیات تعداد ترکیبات استفاده‌شده در چسب‌ها را نشان می‌دهد. در نتیجه، دلایل شکست چسب شامل: شکست چسب (محلی که ماده از بافت جدا می‌شود)، شکست چسبندگی (محلی که چسب داخل خود می‌شکند). حتی اگر چسب به‌خوبی عمل کند، بافت ممکن است خودش را پاره کند، این احتمالاً هنگامی که دنیروی چسب و چسبندگی بسیار قوی باشد رخ می‌دهد. چسب‌های بافتی به سه دسته‌ی شیمیایی اصلی تقسیم‌بندی می‌شوند: سیانواکرات^۱ (چسب‌های مصنوعی)، درزگیر فیبرین (چسب‌های طبیعی) و دیگری پلیمرهای پیوند عرضی [۱۰].

باتوجه به کیفیت و عملکرد، بافت چسب علاوه بر استحکام کافی باید انطاف‌پذیری خوبی داشته باشد و در بتواند این خواص را در شرایط مرطوب و خشک حفظ کند. چسب‌های مصنوعی به چهار نوع تقسیم می‌شوند: سیانواکرایت‌ها، پلی اتیلن گلیکون، چسب‌های برپایه‌ی پلی اورتان، پلی لاکتیک‌ها، این نوع چسب‌ها دارای استحکام بالایی هستند ولی احتمال مسمومیت دارند، چسب‌های بافتی که تقریباً شبیه بافت طبیعی هستند بر پایه‌ی اتصال عرضی از پروتئین هستند؛ نمونه‌های آن مانند درزگیرهای فیبرین، چسب بافت مبتنی بر آلبومین ژلاتین هستند، این چسب‌ها دارای استحکام پایینی هستند ولی مسمویت کمی دارند و علاوه بر آن دارای قدرت چسبندگی و بندآوری خون بسیار بالایی هستند عیب مهم این چسب‌ها هزینه زیاد تولید آن است [۱۱].



شکل ۱-۲: انواع استحکام چسب: استحکام چسب بین چسب و بافت (فلش سیاه)

استحکام چسبندگی در چسب (فلش قرمز) [۱۰]

۲-۱-۱- چسب‌های مصنوعی

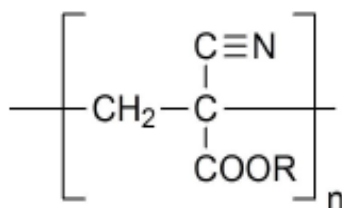
گرچه از گذشته، پلیمرهای طبیعی و مصنوعی در آماده‌سازی چسب‌های بافتی استفاده می‌شدند، استفاده از ماکرومولکول‌های مصنوعی مزایای مختلفی وجود دارد. در شرایط کلی، وقتی پلیمرها دست‌ساخت یا مصنوعی هستند، برخی ویژگی‌های ساختار پلیمری برای تولید مواد سفارشی ساخته‌شده مناسب به منظور کاربردهای بیولوژیک موردنظر را می‌توان کنترل کرد. همچنین، ساختار سه‌بعدی و ترکیب شیمیایی می‌تواند، به‌منظور تنظیم خواص مواد و جهت‌گیری گروه‌های عاملی و واکنش با بافت‌های بیولوژیکی کنترل شود؛ بنابراین، وزن مولکولی پلیمرهای مصنوعی زیست تخریب‌ناپذیر باید شناخته شود. سال‌های زیادی، پلیمرها با توانایی چسبندگی به بافت‌های نرم و سخت در جراحی و دندانپزشکی استفاده می‌شدند. معمولاً، اکثر پلیمرهای چسب زیستی مصنوعی مشتقات پلی‌آکریلیک اسید هستند [۱۲].

۲-۱-۲- چسب‌های سیانواکرلایت

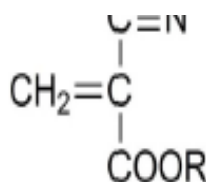
ژل بافتی سیانواکرلایت در سال ۱۹۷۸ به‌صورت موفقیت‌آمیز در اروپا و بسیاری از کشورهای دیگر برای درمان خونریزی رگ معده مورد استفاده قرار گرفت. استفاده از سیانواکرلایت برای درمان رگ‌های معده با تزریق زیرپوستی اولین بار توسط لوندکیوست و همکارش انجام شد [۱۳].

سیانواکرلایت‌ها به علت میزان چسبندگی بالا اولین مواد استفاده‌شده در چسب‌های مصنوعی بودند. این مواد به علت واکنش پلیمریزاسیون سریع و خواص چسبندگی قوی به سطح، در زمینه‌ی پزشکی کاربرد زیادی دارند. سیانواکرلایت‌ها چسب‌های مصنوعی هستند که در تماس با آب یا خون سریع پلیمریزه می‌شوند ساختار شیمیایی مونومرهای سیانواکرلایت در شکل (۲-۲) نشان داده شده است. شکل (۲-۳) ساختار شیمیایی ماده بعد از پلیمریزاسیون را نشان می‌دهد.

سیانواکرلایت در یک ماده‌ی ضعیف مانند آب پلیمره می‌شود؛ تا پیوندهای قوی با الاستیسیته کمتر و آزادسازی حرارتی (واکنش گرمازا) را به وجود آورند، این فرایند زمان‌بر است و شامل سیکل‌های مختلف فریز و غیر فریز می‌شود و همچنین دارای مواد شیمیایی بیرونی نیست [۱۲].



شکل ۲-۲: ساختار شیمیایی مونومرهای سیانواکرلایت [۱۲]



شکل ۲-۳: ساختار مونومر سیانو اکرلایت [۱۲]

مسمومیت سیانواکرلایت با تجزیه آن‌ها رابطه مستقیم دارد، اندازه گروه آلکیل سیانواکرلایت مشخص کننده میزان مسمومیت آن است. علاوه بر مسمومیت سیانواکرلایت، عیب دیگر استفاده از این

۲-۱-۳- چسب‌های طبیعی

پلیمرهای طبیعی، مانند برخی پروتئین‌ها (کلاژن و مشتقات آن، فیبرین و حتی مونومرهای صدفی بیومیمتیک^۱ (زیست تقلید) مانند ۱-۳-۴ دی هیدروکسی فنیل آلانین) و پلی ساکارید تاکنون برای استفاده به‌عنوان چسب‌های جراحی ایجاد شده‌اند. با این حال، در محصولات تجاری از مواد پروتئینی رایج‌تر استفاده می‌شوند [۱۲]. مزیت اصلی محصولات پروتئینی مانند کلاژن و ژل‌های فیبرینی خواص ذاتی بندآوری خون آن‌ها است که به فرایند لخته‌گی کمک می‌کند، اما به علت محدودیت‌های عملکرد آن‌ها توسط مواد مصنوعی دیگر جایگزین می‌شوند. ولی آن‌ها هنوز به‌عنوان عوامل بندآورنده خون به‌طور گسترده استفاده می‌شوند، گاهی اوقات با روش‌های بندآورنده‌ی خون سنتی مانند بخیه نیز، ترکیب می‌شوند [۱۵]. پلیمرهای طبیعی در طول دهه‌ی اخیر به‌دلیل برخی از معایب پروتئین‌ها مانند: حساسیت به آب، میکروب و قیمت نسبتاً بالا، توسط پلیمرهای مصنوعی جایگزین شدند. در حالی که، نیاز به استفاده از مواد منابع تجدیدپذیر این روزها افزایش یافته است؛ بنابراین، کاربردهای جدید که "پروتئین مصرفی" می‌گویند در حال رشد است [۱۲].

پروتئین‌ها در حالت طبیعی دارای ساختار کروی و رشته‌ای هستند، این مواد معمولاً ساختار منظمی مانند α -مارپیچ و یا β ورق و پیچی دارند، که منجر به تشکیل ساختار بسیار فشرده و با چگالی حدود ۷۵ درصد می‌شود. که این امر منجر به ایجاد مشکل برای کاربرد پروتئین‌ها به‌عنوان چسب می‌شود زیرا یک چسب باید از زنجیره‌های پلیمری عرضی، انعطاف‌پذیر و طولانی تشکیل شده باشد. با این ساختار، وقتی چسب در معرض نیرویی برای جدایش پیوندهای چسب قرار گیرد، شبکه تشکیل شده تنش تولیدی را در طول بالک پلیمر توزیع می‌کند از قسمت اصلی چسبندگی محافظت می‌کند در نهایت سطح را به خطر

1- Biomimetic

نمی‌اندازد. در میان چندین پروتئین بافتی استفاده شده به‌عنوان چسب جراحی، فیبرین و ژلاتین بیشترین استفاده را دارند، آن‌ها ویژگی‌های بهینه قبلی را نشان می‌دهد [۱۲].

۲-۱-۴- چسب‌های فیبرینی

مفهوم علمی اولیه فرایند انعقاد خون در اوایل قرن ۱۹ ایجاد شد و در سال ۱۹۰۹ فیبرین به‌عنوان کاربردهای درمانی در برگل استفاده شد [۱۶]. چند سال بعد در طول جنگ جهانی اول، قطعه‌های فیبرین به‌عنوان پانسمان بافت اسفنجی برای کنترل خونریزی و برای قطع خونریزی در جراحی مغز استفاده می‌شد. در سال ۱۹۴۰ فیبرینوزن و ترموبین در مقادیر بالا در آزمایشگاهی در هاروارد به‌وسیله‌ی یانگ تولید شد [۱۷]؛ در سال ۱۹۷۶ اسپانگر و همکارش استفاده از ژل فیبرین را در جراحی قلب آغاز کردند [۱۸]. کیم و همکارانش طی مطالعاتی در زمینه مکانیسم رفتار فیبرین تحت فشار، نشان دادند که شبکه فیبرین پراکنده شده به صورت غیر فشرده از الیاف تقریباً صاف دارای درجه کمی از ناهمسانگردی در جهت‌گیری تشکیل شده اند و فشار جهت‌گیری مجدد شبکه فیبرین، ساختار مسطح عمودی بر جهت فشار ایجاد کرد. اندازه‌گیری‌ها نشان داد که فشرده‌سازی یک شبکه فیبرین بیشتر از کرنش‌های فشاری از گاما برابر با صفر به ۰/۹ تغییرات قابل‌توجهی در توزیع ضخامت فیبرها ایجاد نکرد اما باعث کوتاه شدن قطعات شبکه فیبرین شد [۱۹]. هِنسچن و همکارش در سال ۱۹۸۶ به بررسی استحکام برشی چسب فیبرین پرداختند و اثبات کردند، استحکام برشی چسب فیبرین برای نمونه‌های دارای ۲۰mM کلسیم کلراید بیشترین مقدار است. یون سدیم اثر مخالفی روی سیستم چسب فیبرین دارد، افزودن ۰/۹ درصد وزنی سدیم کلراید اثر انعقاد را کم می‌کند. تنش برشی با افزودن ۲۰-۸۰mM سدیم کلراید افزایش می‌یابد [۲۰]. واردن و کانیزارو و همکاران در سال ۱۹۹۴ گزارش کردند که حجم خون از دست‌رفته همراه حذف اتوگراف حدود یک‌سوم خون از دست‌رفته در اواسط عمل است. نتایج نشان می‌دهد، چسب فیبرین لخته سازی خون را ساده‌تر و سریع‌تر می‌کند و منجر به کاهش مشخص خون از دست‌رفته، حذف بخیه سخت برای تثبیت پیوند پوست، عملیات سریع برای

کاهش تنش‌های جراحی می‌شود [۲۱]. در سال ۱۹۹۴ لیت و همکارش از چسب ساخته‌شده از ترومبین و فیبرینوژن گاو در جراحی روده موش صحرایی استفاده کردند؛ و پژوهشگران سه گروه آزمایشی متشکل از ۵۰ حیوان توسط چسب فیبرین برای کمک ارزیابی کردند. گروه ۱ (گروه کنترل)، جراحی روده با ۱۴ بخیه جراحی کوچک، گروه ۲، ۴ بخیه جراحی و چسب فیبرین و گروه سه، ۶ بخیه و چسب فیبرین و حیوانات در روز ۷، ۱۴، ۲۱ ارزیابی شدند. رشد افزایشی در تنش کششی از روز هفتم پس از درمان در همه گروه‌ها وجود داشت. مشاهدات نشان داد که چسب فیبرین اثر بندآوری خون خوبی نشان می‌دهد و گروه‌ها با استفاده از چسب فیبرین استحکام کششی مشابه با گروه کنترل نشان می‌دهند [۲۲]. در سال ۱۹۹۸ تومازینی و همکارش مطالعه نسبی بین رسوب‌گذاری گرمایشی گاو، گاومیش، اسب و گوسفند برای دریافت بیشترین اثر لخته‌سازی انجام دادند. رسوب‌گذاری گرمایشی از نمونه‌های حیوانی توسط فرایندهای مشابه با فرایند انسانی به دست آمد، نتایج این مطالعات نشان داد که رسوب‌گذاری گرمایشی گاومیش سطح لخته‌سازی بالاتری از دیگر حیوانات دارد [۲۲].

در سال ۱۹۹۹ استوف خواص چسبندگی و لخته‌سازی از فیبرین زهرمار را در جراحی پوست ارزیابی کرد و نتایج حاصل را با چسب فیبرین و نایلون ۰-۵ مقایسه کرد؛ ۲۱ بیمار با غده پوست دماغی در این مطالعه شرکت کردند، بعد از خروج غده، مناطق جراحی با پوست جداشده از قسمت راست و چپ دهان و دماغ پوشیده شد، نتایج نشان داد که چسب فیبرین زهرمار چسبندگی کاملی در حدود سه چهارم از بیماران و چسبندگی ناتمام در حدود یک چهارم از بیماران است [۲۳]. گرادی و همکارش در سال ۱۹۹۹ اثرات این دو پارامتر را روی ماندگاری پیوندهای پوست بررسی کردند. در مدل تجربی خوک، از غلظت ترومبین ۱۰ U/ml و غلظت فیبرینوژن (۱۳۰ mg/m یا ۶۰) با ضخامت کاربردی (نازک یا ضخیم) متفاوت استفاده شد. پایداری پیوند تحت تأثیر غلظت فیبرینوژن نبود بلکه متناسب با ضخامت کاربردی بود. مواد نازک پایداری پیوند حدود ۹۷/۸ درصد دارند. در مقایسه گروه مواد ضخیم میانگین پایداری پیوند حدود

۶۳/۱ درصد دارند [۲۴]. والبونیزی و همکارش در سال ۲۰۰۲ از چسب‌های بافتی فیبرینی در چین برداری استفاده کردند و مشخص شد که تشکیل هماتوم^۱ کاهش یافته در حالی که حذف آن نیاز به تخلیه‌ی کامل مایع (درین)^۲ در جراحی دارد، گرچه درین‌های جراحی برای کمک به جلوگیری از تشکیل سروما^۳ و هماتوم استفاده می‌شود. قابلیت چسب بافتی فیبرینی برای بهبود بندآوری خون و جلوگیری از استفاده درین‌ها می‌تواند به افزایش رضایت بیمار کمک کند [۲۵]. نیهونینا و همکارانش در سال ۲۰۰۶ با ساخت کامپوزیت چسب فیبرین و دانه‌های کلسیم فسفات و بررسی ریزساختاری آن نشان داد که چسب فیبرین با دانه‌های MBCP خواص و ساختار لخته‌های فیبرین را تغییر می‌دهد. خواص و فراساختارهای لخته‌های فیبرین وابستگی زیادی به غلظت ترومبین دارند؛ و برای آماده‌سازی نمونه‌ها به منظور آنالیز SEM از دو روش مختلف خشک‌کردن^۴ (FD) و خشک‌کردن نقطه‌ی بحرانی^۵ (CPD) استفاده شد و روش خشک‌کردن، ساختار دانه زنبوری در سطح چسب فیبرین تشکیل می‌شود؛ که این ساختارها، منجر به شکستن سطح لخته تحت خلأ می‌شوند. و خشک‌کردن نقطه بحرانی، ساختار لخته فیبرین را بدون آماده‌سازی مصنوعی حفظ می‌کند [۲۶].

مزایای اصلی این چسب‌ها برای کاربردهای جراحی عبارت است از: کنترل خونریزی، چسبندگی بافت درزگیری نقص‌ها در بافت‌ها. این چسب‌ها باعث التهاب یا مردگی بافت نمی‌شود. فیبرین‌ها سختی و سفتی کافی برای برخی کاربردهایی که نیاز به استحکام مکانیکی دارند ایجاد نمی‌کنند [۱۷].

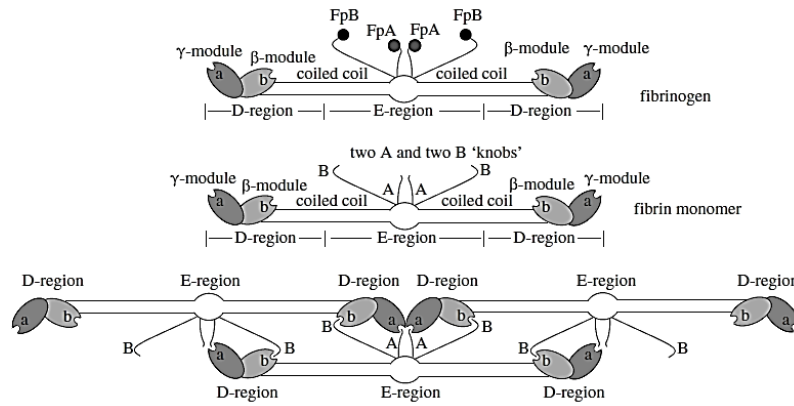
1 - Hemato
2 - drain
3 - Seroma
4 - freeze drying
5 - critical point method

۲-۱-۴-۱- ساختار چسب‌های فیبرین

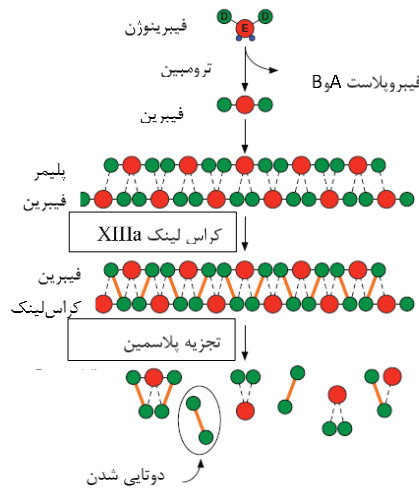
چسب‌های فیبرینی از ترکیب‌های به وجود آمده از مخلوط پلاسمای بدن که قادر به شبیه‌سازی مراحل نهایی لخته کردن خون هستند ساخته می‌شود، این مواد دارای میل ترکیبی قوی برای کلاژن هستند بنابراین به راحتی به بافت‌های بدن می‌پیوندند. چسب‌های فیبرین شامل دو ترکیب اصلی هستند: فیبرینوژن (همراه یا بدون فاکتور ۱۳ و فیبرونکتین) و ترومبین با مقدار کمی کلسیم کلراید و مقدار کمی آنتی فیبرونیک (عوامل تجزیه‌ی فیبرین) شبیه آپروتینین است. در حضور یون‌های کلسیم، فیبرینوژن و فاکتور ۱۳ توسط ترومبین فعال می‌شوند که منجر به تبدیل فیبرینوژن به فیبرین می‌شود [۲۷]. شکل (۲-۵) شماتیکی از ساختار مونومرهای فیبرین و چسبیدن آن‌ها به اولین فیبر و شکل (۲-۶) تصویر کراس لینک مونومرهای فیبرین را نشان می‌دهد، همچنین در جدول (۲-۱) اجزای تشکیل دهنده فیبرین و عملکرد هریک از آن‌ها مشخص شده است.

مولکول فیبرینوژن، یک پروتئین پلازما با طول ۴۵ nm و دارای دو دامنه D بیرونی که توسط یک بخش مارپیچ مانند، به مرکز حوزه E متصل شده است. این مولکول از دو مجموعه سه زنجیره پلی پپتید $A\alpha$ ، $B\beta$ و γ تشکیل شده که در N ترمینال حوزه E توسط پنج پل دی سولفید متقارن به یکدیگر متصل می‌شوند [۲۸].

ترومبین از دو مجموعه‌ی کوچک فیبرین اوپتیدها N ترمینال A و فیبرین اوپتید B از زنجیره‌های $A\alpha$ ، $B\beta$ در معرض محل‌های اتصال E_A و E_B تشکیل می‌شود و پلیمریزاسیون فیبرین آغاز می‌شود [۲۹]. ترومبین آخرین آنزیم در عملکرد آبشار لخته‌سازی برای شکستن پیوند فیبرینوژن به فیبرین است و برای روند پیش انعقادی توسط فعالیت فاکتورهای ۵، ۸، ۱۰ و ۱۳ مؤثر است. همچنین ترومبین به فرآیندهای ضد انعقادی توسط فعالیت پروتئین C کمک می‌کند و در نهایت باعث تنظیم در تولید ترومبین می‌شود. ترومبین اغلب به عنوان یک عامل پلاکتی قوی در شرایط آزمایشگاهی استفاده می‌شود [۳۰].



شکل ۲-۵: شماتیک ساختار مونومرهای فیبرین و چسبیدن آنها به اولین فیبر [۳۱]



شکل ۲-۶: تشکیل فیبرین کراس لینک شده از فیبرینوژن [۳۲]

جدول ۲-۱: اجزای تشکیل دهنده ژل فیبرین [۳۳]

فعال سازی سلامتی زخم وابسته به گیرنده های سلولی	ترومبین
شبیه سازی رگ سازی ^۱ و ایجاد چسبندگی سلولی و مهاجرت	فیبرینوژن
کراس لینک فیبرینوژن و دیگر مولکول ها با فیبرین و کلاژن	فاکتور ۱۳
آماده سازی موقعیت های پیوند برای سلول های درگیر شده در سلامتی زخم	فیبرنکتین ^۲

1 - Anioogenesis
2 - fibronectin

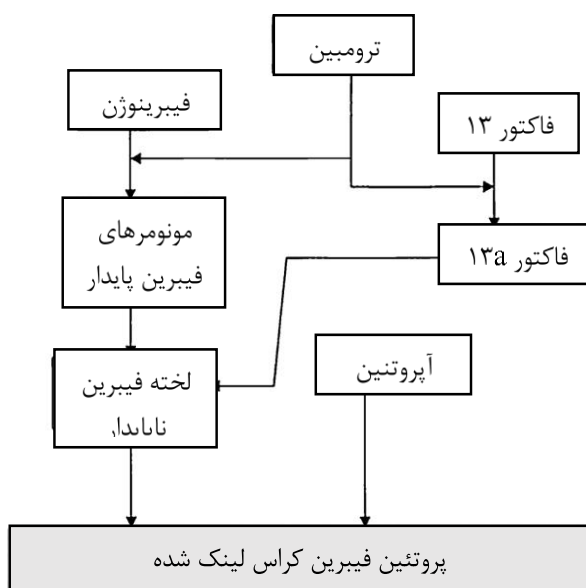
۲-۱-۴-۲- ساختار لخته فیبرین

فیبرها ظاهری به هم تابیده دارند. پروتوفیبریل‌ها تابیده شده هستند و هرگاه با روشی خاص برای ساخت فیبر جمع می‌شوند، آن‌ها به دورهم پیچ و تاب می‌خورند. برای نگهداری دوره‌ی تناوب در $5/22\text{nm}$ ، پروتوفیبریل‌های جدید به فیبر اضافه می‌شوند، آن‌ها باید کشیده شوند تا طول مسیر با قطر فیبر افزایش یابد؛ بنابراین، پروتوفیبریل‌ها روی سطح خارجی تحت فشار هستند. وقتی انرژی لازم برای رشد یک پروتوفیبریل اضافه شده از انرژی پیوند بیشتر باشد رشد فیبرها متوقف می‌شود. فیبرها تحت کشش قرار می‌گیرند تا فیبرهای حاصل از لخته، تحت شرایط مستقیم ساخته شوند. فیبرها تحت کشش نتایج مهمی برای خواص کششی لخته دارند، گرچه برخی این خواص هنوز به خوبی شناخته نشده است [۳۴].

۲-۱-۴-۳- مکانیسم چسبندگی فیبرین به سلول

مولکول‌های فیبرین برای تشکیل لخته‌ی فیبرین ترکیب و پایدار شده و توسط فاکتور ۱۳ مستحکم می‌شوند. همچنین فاکتور ۱۳ در کلاژن توسط افزایش تشکیل فیبروبلاست‌ها سنتز می‌شود و به ترمیم زخم کمک می‌کند، این فاکتور یک آنزیم تسریع‌کننده‌ی تشکیل پیوند کوالانت بین زنجیره‌های جانبی از مولکول‌های فیبرین مختلف است، که به اتصالات عرضی (کراس لینک) کمک می‌کند و باعث ایجاد توانایی مقاومت در برابر انحلال می‌شود. آپروتینین^۱ دارای عملکرد کاهش سرعت تخریب فیبرین در چسب فیبرینی است که از تخریب زودرس آن جلوگیری می‌کند. فرآیندهای مختلف شیمیایی و فیزیکی برای به دست آوردن ژل‌های فیبرین وجود دارد که شامل رسوب‌گذاری سرمایشی، رسوب‌گذاری یا سولفات آمونیوم، اتانول یا پلی‌اتیلن گلیکول است [۳۵]. شکل (۲-۷) مکانیسم فعال‌سازی تشکیل فیبرین را نشان می‌دهد.

۱- Aprotinin: لخته‌کننده سریع خون: با فرمول $\text{C}_{284}\text{H}_{432}\text{N}_{84}\text{O}_{79}\text{S}_7$ و وزن مولکولی $651/51\text{ g/mol}$



شکل ۲-۷: مکانیسم فعال سازی برای تشکیل پلیمر فیبرین [۳۶]

نرخ آزادسازی فیبرینوپپتید^۱ و فاکتورهای مؤثر روی گروه‌های جانبی فیبرها در طول پلیمریزاسیون ضخامت فیبر، درجه‌ای شاخه‌ای شدن و تخلخل لخته را تنظیم می‌کند و همه به صورت همزمان روی ساختار کل لخته مؤثر است. برخی از فاکتورهای مؤثر روی نرخ و میزان پلیمریزاسیون و تشکیل فیبر شامل غلظت-های فیبریژن و ترومبین، استحکام یونی، حضور برخی از پروتئین‌های پلاسمای خاص، pH و دما است.

دو روش اعمال رایج برای رساندن چسب‌های بافتی فیبرین به محل جراحی وجود دارد، ساده‌ترین و ارزان‌ترین روش انتقال پیوسته‌ی ترکیب‌های ۱ و ۲ با دو سرنگ جدا است. عیب این روش این است که مخلوط یکنواخت کمتری از ترکیب‌ها دارد و حمل و نقل سخت سرنگ‌های متعدد را به همراه دارد. برای غلبه بر این مشکل، اپلیکاتور دو سرنگ، استفاده می‌شود. مزیت این سیستم این است که مخلوط سازی با شکل یکنواخت‌تری انجام می‌شود؛ بنابراین، چون هر دو ترکیب در مخزن سوزن با یکدیگر ترکیب می‌شوند، احتمالاً سوزن را مسدود کند [۳۷]. این یک سیستم گازی تحت فشار با فشار ۵l/min تا ۱۰ است. ترکیب ۱ و ۲ در

۱- Fibrinopeptide: پپتید برای تشکیل فیبرین در طول لخته سازی خون

جریان گاز تحت فشار مخلوط می‌دهد و امکان مخلوط سازی یکنواخت ترکیبات در مقایسه با سیستم‌های سُرنگی را ایجاد می‌کند. این سیستم یک پوشش نازک یکنواختی را اعمال می‌کند و هنگام رسیدن به لخته‌سازی^۱ تحت زبانه‌های بزرگ پوست مؤثر است [۳۸].

۲-۱-۴- اهمیت خواص مکانیکی چسب‌های فیبرینی

گرچه خواص مکانیکی لخته‌های فیبرین هنوز کاملاً مشخص نشده است. شکی در اینکه خواص آن‌ها در بخش درمانی بحرانی است وجود ندارد. برای مثال، خواص ویسکوالاستیک یک لخته‌ی ترومبین در رگ خونی مشخص می‌کند که جریان خون گسسته شود یا آمبولی لخته ایجاد می‌شود. در مورد بند آوردن خون، ساختار باید به اندازه کافی قوی باشد تا فشار جریان خون شاه‌رگ را تحمل کند [۳۹]. در مورد تشکیل لختگی، خواص مکانیکی نیز مهم هست. اگر یک رگ تاحدی مسدود شد، خواص ویسکوالاستیک لخته، تعیین می‌کند که جریان خون باعث تغییر برگشت‌پذیر یا برگشت‌ناپذیر، پارگی و یا حرکت توده در عروق (آمبولی^۲) شود. علاوه بر این، خواص مکانیکی لخته، توسط همه‌ی بخش‌ها از جمله فیبرین چگونگی واکنش با ترمیم‌کننده‌ها مانند آنژیوپلاستی عروق کرونری را تعیین می‌کند [۳۴]. مطالعات بیماری‌های مُسری اثبات کرد، رابطه‌ای بین سکتته‌ی قلبی و خواص مکانیکی لخته خون وجود دارد. طبق آزمایش‌های انجام شده، در بیماران سکتته قلبی نشان داد، ساختار شبکه فیبرینی متراکم و سخت، عامل سکتته‌ی قلبی است. لخته‌های بسیار سخت، شکننده‌تر هستند بدین معنی که لخته‌هایی که ویسکوز و پلاستیکی هستند تمایل بیشتری به آمبولیز دارند، گرچه کسی رابطه بین خواص مکانیکی فیبرین و خواص وابسته به بیماری را نمی‌داند. شناخت اندکی از رابطه بین خواص مکانیکی فیبرین و نسبت لخته‌گشایی^۳ (فیبرولیز) وجود دارد [۳۹].

1 - Hemostasis

2 - Embolus

3 - Fibrinolysis

۲-۲- نانو کامپوزیت‌ها

نانو کامپوزیت‌ها، کامپوزیت‌هایی با حداقل یک فاز با ابعاد نانومتری هستند. وقتی اندازه ذره کمتر از سطح ویژه (اندازه بحرانی) باشد، خواص ذره تغییر می‌کند. هنگامی که ابعاد به سطح نانومتری می‌رسد، واکنش در فصل مشترک فاز بهبود می‌یابد. همچنین نسبت حجم به نسبت سطح مواد تقویت‌کننده، به کاربرده شده در آماده‌سازی نانو کامپوزیت‌ها برای درک رابطه خاصیت-ساختار کامپوزیت مهم است. مواد نانو کامپوزیتی بر اساس نوع زمینه به سه دسته تقسیم می‌شود:

- نانو کامپوزیت‌های زمینه سرامیکی
- نانو کامپوزیت‌های زمینه فلزی
- نانو کامپوزیت‌های زمینه پلیمری.

سرامیک‌ها مقاومت به فرسایش، پایداری شیمیایی و حرارتی، بالایی دارند؛ بنابراین، آن‌ها ترد هستند. چقرمگی پایین سرامیک‌ها مانع استفاده گسترده آن‌ها در صنعت می‌شود. برای بهبود خواص مکانیکی مانند چقرمگی شکست، می‌توان از ویسکرها، فیبرها، پلاکت‌ها و ذرات در زمینه سرامیکی استفاده کرد. نانو کامپوزیت‌های زمینه فلزی، موادی شامل زمینه‌ی آلیاژی یا فلزی نرم هستند، که مواد تقویت‌کننده نانو سائز در آن قرار گرفته است. این مواد، ترکیبی از ویژگی‌های فلز و سرامیک هستند؛ مانند نرمی و چقرمگی با استحکام و مدول بالا. نانو کامپوزیت‌های زمینه فلزی برای تولید مواد با استحکام بالا در فرایندهای فشار/برشی و قابلیت استفاده در دمای بالا مناسب هستند. مواد پلیمری به علت تولید آسان، وزن کم و نرمی ذاتی به صورت گسترده در صنعت استفاده می‌شوند. آن‌ها دارای معایبی از جمله: مدول و استحکام پایین، در برابر سرامیک‌ها و فلزات دارند. افزودن فیبرها، ویسکرها و ذرات به عنوان تقویت‌کننده در زمینه‌ی پلیمری، روش مؤثری برای بهبود خواص مکانیکی است. افزودن تقویت‌کننده‌ها، به اغلب رزین‌های پلیمری، خواص زیست تخریب‌پذیری را افزایش می‌دهد [۴۰].

۲-۲-۱- روش تولید نانو کامپوزیت‌ها

۲-۲-۱-۱- نانو کامپوزیت‌های زمینه سرامیکی

روش‌های رایج استفاده‌شده در نانو کامپوزیت‌ها: روش‌های تجزیه حرارتی اسپری، بخار شیمیایی^۱، بخار فیزیکی^۲؛ روش‌های شیمیایی شامل: فرایند سل ژل، روش‌های رسوب شیمیایی، کلوئیدی و سنتز نمونه است. پارامترهای زیادی بر فرایند سل ژل مانند نوع حلال، زمان، pH، پیش ماده، نسبت فلز به آب مؤثر است. که خواص شیمیایی و ساختاری مواد اکسیدی نهایی را کنترل می‌کند [۴۰].

۲-۲-۱-۲- نانو کامپوزیت‌های زمینه فلزی

اکثر روش‌های رایج برای تولید نانو کامپوزیت‌های زمینه فلزی: اسپری تجزیه حرارتی^۳، نفوذ فلز مایع^۴، انجماد سریع^۵، روش‌های بخاری، روش‌های شیمیایی و گالوانوتکتیک^۶ است که شامل فرآیندهای سل ژل و کلوئیدی است. برای شرح سختی بسیار بالای نانو کامپوزیت‌های پایه آهن برناگن^۷ و تنگ^۸ نانو کامپوزیت‌های جدیدی توسط طراحی ترکیب‌های آلیاژی با مقادیر مختلف وانادیوم و کربن در آلیاژهای آهن را برای دستیابی به بیشترین انحلال‌پذیری به دست آوردند. مشکلات زیادی در آماده‌سازی کامپوزیت‌ها با ذرات بسیار کوچک به علت توزیع غیر همگن و توده‌ای شدن آن‌ها وجود دارد. استفاده از التراسونیک به بهبود ترشوندگی بین زمینه و ذرات کمک می‌کند [۴۰].

1 - Chemical Vapor Deposition (CVD)

2 - Physical Vapor Deposition (PVD)

3 - Spray pyrolysis

4 - Liquid metal infiltration

5 - Rapid solidification

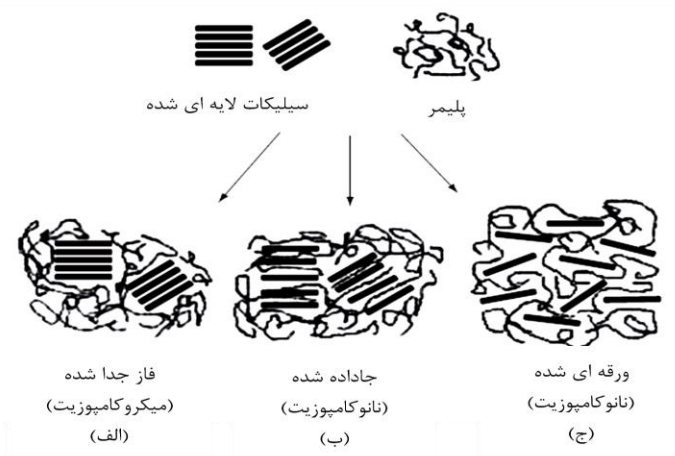
6 - Electrodeposition

7 - Branagan

8 - Tang

۲-۲-۱-۳- نانو کامپوزیت‌های زمینه پلیمری

روش‌های زیادی برای آماده‌سازی نانو کامپوزیت‌های زمینه پلیمری وجود دارد. مهم‌ترین نوع آن ۱. رشد پلیمر یا پیش پلیمر از محلول ۲. پلیمریزاسیون افزایشی در موقعیت ۳. رشد ذوبی ۴. مخلوط مستقیم پلیمر و ذرات ۵. سنتز مصنوعی ۶. پلیمریزاسیون در موقعیت و ۶ فرایند سل ژل. روش‌های زیادی برای اتصال ذرات نانو به پلیمرهای رسانا وجود دارد که بهترین آن اتصال بلوک‌های ساختار غیر آلی در پلیمرهای آلی است. فرایندهای افزایشی استفاده‌شده برای رشد نانو کامپوزیت‌های پایه پلیمری شامل سیلیکات‌های لایه‌ای شده به صورت شماتیک در شکل (۲-۸) نشان داده شده است [۴۱].



شکل ۲-۸: انواع مختلف رشد از واکنش سیلیکات‌های لایه‌ای شده: (الف) میکرو کامپوزیت فاز جدا شده (ب) نانو کامپوزیت‌های جا داده شده (ج) نانو کامپوزیت‌های ورقه‌ای شده [۴۱]

۲-۲-۲- نانو کامپوزیت‌ها در مهندسی پزشکی

۲-۲-۲-۱- کاربردهای نانو کامپوزیت‌ها در وسایل پزشکی

در میان مواد زیستی مختلف، هیدروژل یکی از نامزدهای مهم در شبیه سازی خواص فیزیکی، شیمیایی، الکتریکی و بیولوژیکی بسیاری از بافت‌ها هستند. هیدروژل دارای شبکه پلیمری سه بعدی بسیار هیدراته هستند، و می‌توانید تا ۲۰-۴۰ برابر آب بیشتری در مقایسه با وزن خشک آن‌ها نگه‌دارند. با توجه

به خواص فیزیکی منحصر به فرد خود، این شبکه به اندازه و اشکال مختلف شکل‌گیری یا قالب‌گیری شود [۴۲]. نانو کامپوزیت‌های پلیمری بر اثر ترکیب پلیمرها و فیلرهای آلی و غیر آلی نانو سایز به دست می‌آیند. از جمله بیوپلیمرهای موجود می‌توان به پلی ساکاریدها، پلی‌استرهای آلیفاتیک، پلی پپتیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک اشاره کرد و پرکننده‌ها نیز شامل خاک‌های رس، هیدروکسی آپاتیت و نانو ذرات فلزی می‌باشند. اساس افزایش ویژگی‌های مکانیکی نانو کامپوزیت در مقایسه با میکرو کامپوزیت‌های فعلی واکنش بین پرکننده با مقیاس نانو و زمینه است؛ و بیوکامپوزیت ویژگی دیگری نیز به این خصوصیت اضافه می‌کند و آن سازگاری زیستی و تجزیه‌پذیری زیستی استبه‌طور کلی این نانو کامپوزیت‌ها کاربردهای ابزار پزشکی عمده‌ای در مواردی مثل مهندسی بافت، بازسازی استخوان، کاربردهای دندان‌پزشکی و رهاسازی کنترل‌شده دارو و همچنین پانسمان زخم دارند [۴۳].

۲-۲-۲-۲- نانو کامپوزیت‌های پلیمری در مواد ضد باکتری

بسیاری از نانو کامپوزیت‌های پلیمری بر پایه پلیمرهای طبیعی مانند کیتوسان و پلیمرهای مصنوعی مانند پلی‌وینیل‌پیرولیدون^۱ (PVP)، پلی‌وینیل‌کلراید^۲ (PVC) و پلی‌وینیل‌الکل^۳ (PVA) برای محصولات ضد باکتری استفاده می‌شوند. نانو کامپوزیت بیوپلیمری شناخته‌شده از کیتوسان با نانو ذرات اکسید تیتانیوم فعالیت ضد باکتری قوی ۱۰۰ درصدی به مدت ۲۴ ساعت در برابر باکتری ای-کویل^۴ دارند. نانو ذرات نقره یا نمک آن به‌عنوان پرکننده در بسیاری از نانو کامپوزیت‌های پلیمری برای فعالیت‌های ضد میکروبی کاربرد دارند [۴۴]. نانو ذرات نقره می‌توانند به‌عنوان عامل ضد باکتری قوی استفاده شوند، فالیته ضد باکتری به صورت آزاد سازی یون‌های مثبت نقره است، این آزادسازی می‌تواند میزان خاصیت ضد باکتری در طول فرآیند را در محیط کنترل کند، که این برای رنگ‌ها و پوش‌های ضد باکتری در بیمارستان‌ها قابل اهمیت

1 - Polyvinylporrolidone

2 - Polyvinyl cholride

3 - Polyvinyl alcohol

4 - E.coil

است همچنین پلی وینیل الکل تقویتشده با گلو تار آلدئید و نانولوله های کربنی چندجداره به عنوان یک جایگزین بسیار خوب از مواد سنتی برای کاربردهای زیست پزشکی است [۴۵].

۲-۲-۳- نانو کامپوزیت های پلیمری در مهندسی بافت

پلیمرها و یا مواد همراه با نانو کامپوزیت های پلیمری رسوب کلسیم فسفات را افزایش دهد می دهد، و باعث لایه آپاتیت بر روی سطح ایمپلنت، بهبود جذب پروتئین، و بهبود چسبندگی سلول های استئوبلاست^۱ می شود. بافت استخوان به خودی خود یک نانو کامپوزیت معمولی از نظر ساختار و ترکیب به صورت قرار گرفته روی است، که حاوی نانوبلورهای هیدروکسی آپاتیت می باشد. از زمان کشف این ساختار نانو کامپوزیت از بافت استخوان، طراحی ایمپلنت استخوان و داربست در این گروه خاص از مواد متمرکز شده است. داربست ایمپلنت استخوان های ساخته شده از این مواد حاوی منافذ نفوذ استئوبلاست را به داخل ایمپلنت می دهد. در مرحله بعد، در رشد عروق خونی و سلول های عصبی در داخل نقص پر شده توسط ایمپلنت رخ می دهد. زمینه مصنوعی باید ویژگی های الکتریکی و سطحی، شیمیایی، مکانیکی مطابق با زمینه خارج سلولی یا غشا پایه یک بافت خاص را داشته باشد. این ویژگی ها احتمالاً به صورت محسوس برای چهار بافت انسانی اولیه (عصب، ماهیچه ای، پوششی و بافت همبند یا پیوندی^۲) متفاوت است. شیشه زیست فعال^۳ به دلیل اثرات خیلی زیاد زیست سازگاری، استخوان سازی و رگ زایی، ماده مهمی برای ساخت داربست های مهندسی بافت است. آماده سازی آن ها شامل استفاده از نانو کریستال های سلولوزی، فوم پلی وینیل الکل و پوشش پلی وینیل الکل است. [۴۶].

1 - osteoblast

2 - Connective tissue

3 - bioactive glass

۲-۳- پلیمرهای زیست تخریب پذیر

پلیمرهای مصنوعی و پلیمرهای زیستی به عنوان مواد عایق پلیمری زیست تخریب پذیر بررسی شده است. بسته به حالت تخریب، بیومواد پلیمری می تواند بیشتر به پلیمرهای آنزیمی و هیدرولیتی تجزیه شوند. بسیاری از پلیمرها به طور طبیعی دچار تخریب آنزیمی می شوند. زیست تخریب پذیر به معنی قابلیت تجزیه ساختار شیمیایی است؛ که ماده در اثر فعالیت آنزیمی میکرو ارگانیسمها به مواد ساده تر مانند کربن دی اکسید، آب، متان و زیست توده تجزیه می شود. پلیمرهای زیست تخریب پذیر به دلیل وجود پیوند گروه های عاملی تخریب پذیر مثل پیوند استری و آمیدی در ساختار شیمیایی آنها، پس از مدتی بر اثر فرایندهای تخریب که عمدتاً آبکافت آب یا آنزیمی است به پلیمرهای با زنجیره کوتاه تر و انحلال پذیر در آب تبدیل و طی فرایند نهایی به چرخه کربن وارد می شوند [۴۷].

- پلیمرهای زیست تخریب پذیر بر اساس منشأ تولید به چهار دسته اصلی به شرح زیر طبقه بندی می شوند:
۱. محصولات زیست توده کشاورزی از عمده منابع پلیمرهای زیست تخریب پذیر تجدیدشونده هستند که به طور مستقیم می توانند استخراج شوند، مثل نشاسته، سلولوز، کیتوسان و پروتئینها.
 ۲. پلیمرهای زیست تخریب پذیر که از فعالیت میکروارگانیسمها به دست می آیند، مانند پلی هیدروکسی آلکانواتها.
 ۳. پلیمرهای حاصل از فرایند زیست فناوری هستند، مانند پلی لاکتید که کاربرد وسیعی در پزشکی و داروسازی دارند.
 ۴. پلیمرهایی که از مونومرهای پتروشیمیایی مانند کاپرولاکتون حاصل می شوند.
- نیازهای اساسی برای شناسایی ترکیب یک ماده به صورت زیر است:

۱. ماده زیست تخریب پذیری کامل؛ توسط آزمون‌های رسپایرومتری^۱ مانند ASTM D5338-92 و مطابق

آزمون استروم^۲ از استاندارد ASTM D5209 در دوره زمانی سازگار با فناوری ترکیبی.

۲. عوارض جانبی روی کیفیت ترکیب و به ویژه هیچ اثر سمی از ترکیب روی موجودات آبی و زمینی

۳. تجزیه ماده در طول مرحله تخمیر

۴. کنترل نتایج مقیاس آزمایشگاهی روی ترکیب در مقایسه آزمایشی [۴۸]

خواص فیزیکی مهم مؤثر بر تخریب این پلیمرها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- نفوذپذیری نسبت به آب، این عامل به حجم آزاد و قدرت آب دوستی پلیمر برمی‌گردد و معین کننده رقابت سرعت آبکافت سطحی نسبت به توده است.
- بلورینگی پلیمر، این عامل از آنجا اهمیت دارد که فقط فاز بی شکل پلیمر برای نفوذ عوامل نفوذکننده مانند D₂O، دارو، آب یا حمله آنزیمی در دسترس است.
- دمای انتقال شیشه‌ای، ماهیت شیشه‌ای یا لاستیکی پلیمر، نفوذپذیری و تحرک زنجیر پلیمر را نشان می‌دهد.
- ابعاد فیزیکی، مانند اندازه و نسبت سطح به حجم [۴۸]

۲-۳-۱- دسته بندی پلیمرهای زیست تخریب پذیر

دسته بندی پلیمرهای زیست تخریب پذیر بر اساس گروه ماده در زیر ارائه شده است:

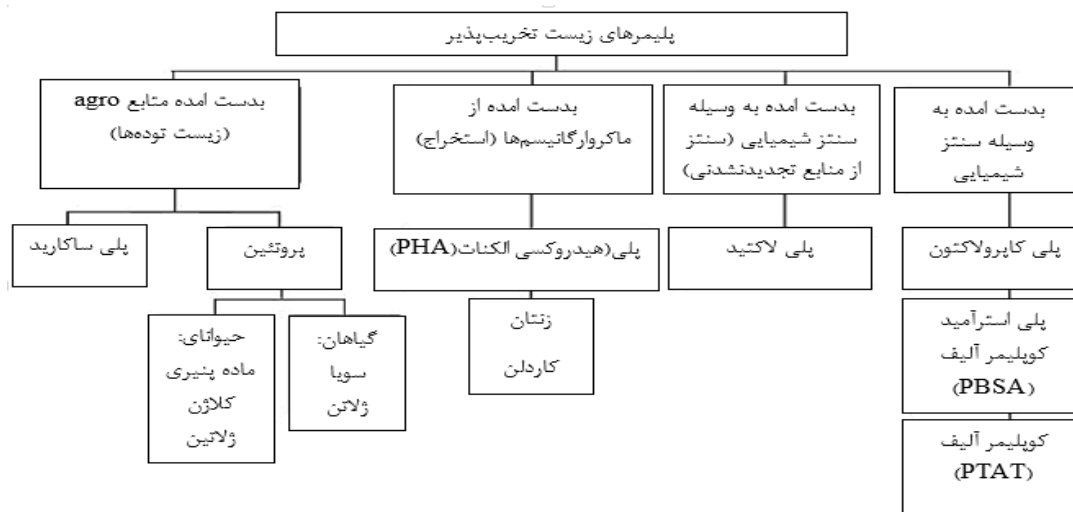
پلیمرهای زیست تخریب پذیر به صورت زیر دسته بندی می‌شوند: زیست سنتزی^۳، نیمه زیست سنتزی، شیمی

سنتزی^۴ [۴۹]. شکل ۲-۹ دسته بندی پلیمرهای زیست تخریب پذیر را نشان می‌دهد. استینبو چن در مورد

مطالعه استفاده از الاستومرها و ترموپلاستیک‌های زیست تخریب پذیر، زیست سنتزی‌ها از منبع تجدید شندی

1 - respirometric
2 - Sturm
3 - biosynthetic
4 - chemosynthetic

مطالعه کرد. همه‌ی پلیمرهای زیست مصنوعی که به آسانی از منابع تجدیدپذیر در دسترس هستند، بدون مقیاس زمانی منطقی زیست تخریب پذیر هستند. بسیاری از پلیمرهای مصنوعی شیمیایی و نیمه زیست مصنوعی اگر پیوند شیمیایی در ترکیبات طبیعی آن اتفاق بیفتد زیست تخریب پذیر هستند [۴۸].



شکل ۲-۹: دسته‌بندی پلیمرهای زیست تخریب پذیر [۴۹]

۲-۳-۲- ساختار، سنتز و خواص پلیمرهای زیست تخریب پذیر

بهترین نقطه شروع برای تولید بیوکامپوزیت‌ها شناخت کامل ساختار و خواص پلیمرهای

زیست تخریب پذیر و فیبرهای طبیعی مختلفی که در تشکیل بیوکامپوزیت‌ها واکنش می‌دهند.

پلیمرهای آلفاتیک

پلی استرهای آلفاتیک^۱ به صورت مواد ساختاری زیست تخریب پذیر بر اساس نوع پیوند مونومرهای

ترکیب به دو نوع دسته‌بندی می‌شوند: پلی هیدروکسی آلکانوات^۲ که مونومرهای اسیدهای هیدروکسی

1 - Aliphatic

2 - Alphatic

هستند و HO-R-COOH که به صورت پلی و واحدها توسط واکنش چند چگالش اسیدهای دی-کربوکسیلیک^۱ سنتز می‌شوند. همچنین اسیدهای هیدروکسی بر اساس موقعیت پیوند گروه OH از گروه انتهای COOH به اسیدهای هیدروکسی آلفا، بتا و گاما دسته‌بندی می‌شوند [۵۰].

پلاستیک‌های نشاسته‌ای^۲

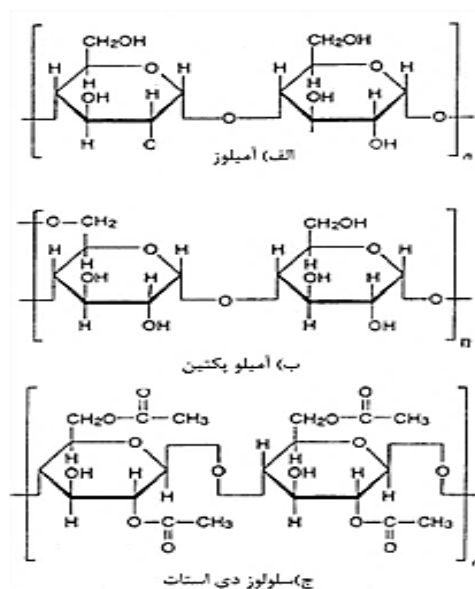
نشاسته در کارخانه‌ها تولید می‌شود و یک مخلوط خطی از آمیلوز^۳ و آمیلو پکتین^۴ شاخه‌ای شده است. مقدار امیلوز متناسب با منبع متغیر است. ساختار دقیق دانه‌های نشاسته هنوز کاملاً درک نشده است. مقدار نسبی، ساختار و جرم‌های مولی آمیلوس و امیلوپکتین در نشاسته توسط مفاهیم ژنتیک و کنترل محیط‌زیست در طول زیست سنتزی تعیین می‌شود و تفاوت زیادی با مواد خام کارخانه‌ای دارد. نشاسته‌های ترموپلاست با ویسکوزیته مختلف، انحلال‌پذیری آب و جذب آب با میزان رطوبت مختلف آماده می‌شوند. ترموپلاستیک‌های بیوپلیمری پایه نشاسته و مخلوط‌های گروه پلیمری نشاسته‌های ترموپلاستیک با ترکیب‌هایی پلیمری اضافی مانند پلی‌استر آلفاتیک، پلی‌کاپرولاکتون، پلی‌وینیل الکل، اسید پلی لاکتیک همزمان با پلی‌استر آمیدهای زیست تخریب‌پذیر هستند [۵۰].

آمیدهای پلی‌استر^۵

یکسری از آمیدهای پلی‌استر آلفاتیک زیست تخریب‌پذیر از گلیسین، هگزانی‌دول و دی اسیدها با گروه‌های میتیلن مختلف سنتز و ویژگی‌یابی شده‌اند. پلی‌استر آمید خواص مکانیکی و حرارتی مشابه پلی‌اتیلن دارد. رزین دارای چقرمگی بالا و کرنش کشش تا شکست، بالایی دارند. این مواد می‌توانند به صورت فیلم تولید شوند و اکسترود یا قالب‌گیری شوند و برای فرم‌دهی حرارتی مناسب هستند و می‌توانند رنگ،

1 - Dicarboxylic acid
 2 - Starch plastics
 3 - amylose
 4 - Amylopectin
 5 - Polyester amides

جوشکاری و لحیم داغ شوند. دمای کریستالیزه شدن آن \square ۶۶ است و آن به آهستگی کریستالیزه می‌شود و برای قالب‌گیری تزریقی ایده‌آل نیست [۵۰]. شکل (۲-۱۰) ساختار شیمیایی برخی از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر را نشان می‌دهد.



شکل ۲-۱۰: ساختار شیمیایی برخی از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر: (الف) آمیلوز، (ب) آمیلو پکتین (ج) سلولوز دی استات [۵۰]

۲-۴- پلی وینیل الکل

پلی‌وینیل‌الکل ابتدا توسط هرمان و هاینال در سال ۱۹۲۴ از طریق صابون‌سازی پلی وینیل استر در محلول هیدروکسید سدیم سنتز شد. وینیل الکل ناپایدار است و به‌سرعت با استالدهید توتومر می‌شود [۵۱]. پلی‌وینیل‌الکل به صورت تجاری با هیدرولیز پلی‌وینیل‌استات از فرایند دومرحله‌ای تولید می‌شود مثلاً پلیمریزاسیون رادیکال آزاد وینیل استات برای پلی وینیل الکل توسط هیدرولیز آن ادامه می‌یابد. خواص ساختاری پلی وینیل الکل به جرم مولکولی پلیمر و درجه هیدرولیز مانند درصد وینیل الکل در پلیمر بستگی دارد [۵۱]. آدل^۱ و همکارش در سال ۲۰۱۴ اثر فیبر سلولوز گیاه آلوئه‌ورا را به‌عنوان

تقویت کننده روی زمینه پلی وینیل الکل بررسی کرد، وی نشان داد استحکام و مدول کششی بعد از افزودن ۲ درصد فیبر به ترتیب به ۶۳ و ۳۲ درصد افزایش یافت. ویژگی‌های مکانیکی و مورفولوژی با افزایش غلظت نانو فیبرها در کامپوزیت‌ها (بیشتر از ۱۰ درصد) توده‌ای شدن ایجاد نمی‌کند. حتی اتصال مقدار کمی نانو فیبر باعث کاهش تغییر شکل پذیری پلی وینیل الکل به علت درصد ازدیاد طول کم تا شکست فیبرها در مقایسه با پلی وینیل الکل می‌شود [۵۲]. آدیسو دستیو و همکارانش حصیر نانو فیبری کراس لینک شده پلی وینیل الکل را همراه با نانو ذرات نقره به روش الکترورسی ساختند، قبل از افزودن نانو ذرات صفحه کراس لینک شده پلی وینیل الکل توسط گلورتالدهید (GA) به وجود آمد. نتایج نشان داد که گلورتالدهید واکنش نداده روی بخار حصیر نانو فیبری کراس لینک شده می‌تواند به عنوان عامل کاهش و تثبیت کننده زمینه از سطح ویژه بالا برای نقره و دیگر نانو ذرات باشد [۵۳]. پیاس در سال ۱۹۸۰ از پلی وینیل الکل در تارهای صوتی، غشای کلیه مصنوعی استفاده کرد و نتایج مطلوبی حاصل شد [۵۴]. ناگوشی در سال ۱۹۹۱ هیدروژل‌های پلی وینیل الکل در استخوان و عضله کاشت و زیست سازگاری آن را بررسی کرد. همچنین هیدروژل‌های PVA برای دریچه قلب بیولوژیکی استفاده شد [۵۵].

۲-۴-۱- ساختار پلی وینیل الکل

پلیمرهای وینیل از مونومرهای وینیل شامل پیوندهای دوگانه $C=C$ ساخته می‌شوند. زنجیره اصلی پلیمر از اتم‌های کربن حاوی پیوندهای یگانه با دیگر جانشین‌ها که می‌توانند اضافه شوند مانند کلراید، فلورین یا گروه هیدروکسیل. پلی لوفین^۱، پلی وینیل استات^۲، پلی اکریلات^۳ متعلق به پلیمرهای وینیل هستند. به علت وزن مولکولی بالا و خواص آب‌گریز محسوس، آن‌ها در دسته‌ی پلیمرهای پایدار قرار

1 - polyloefins
2 - polyacrylates
3 - polyvinyl acetates

می‌گیرند. پلی وینیل الکل یکی از چند پلیمر وینیل است و به دلیل حضور گروه‌های هیدروکسیل با طبیعت آب‌گریز، این مواد، نرخ زیست‌تخریب‌پذیری بالاتری دارد. [۵۱].

۲-۴-۲- مکانیسم‌های زیست‌تخریب‌پذیری پلی وینیل الکل

مطالعات توسط واتاناب همکارش نشان داد که سویه باکتری میله‌ای^۱ دو آنزیم آزاد می‌کند که پلی وینیل الکل را تجزیه می‌کند. آن‌ها اصول تولید پراکسید هیدروژن را در طول واکنش و توانایی آن‌ها برای تجزیه برخی از الکل‌های ثانویه با جرم مولکولی کم اکسید از الکل ثانویه^۲ (SAO) را بررسی کردند. اکسید از الکل ثانویه برای گروه‌های هیدروکسیل ۱ و ۳ دقیق است و اکسیداسیون مولکول‌های پلیمری برای دیکوتان^۳ بتا سریع است شکل (۲-۱۱). ساکای و همکارش مکانیسم زیست‌تخریب‌پذیری از پلی وینیل الکل شامل گروه‌های استات توسط سویه‌های ویسکولارهای میله‌ای^۴ شکل پیشنهاد کردند، که فرآیندهای زیست‌تخریب‌پذیر آن‌ها شامل گروه‌های استات می‌تواند جذبی باشد و توسط سلول‌های باکتری جذب شود. بیشترین فعالیت برای مولکول‌های پلی وینیل الکل با وزن مولکولی کم و میزان بالای گروه‌های بیشترین فعالیت برای مولکول‌های پلی وینیل الکل با وزن مولکولی کم و میزان بالای گروه‌های استات مشاهده می‌شود [۵۶]. شکل (۲-۱۲) مکانیسم زیست‌تخریب‌پذیری پلی وینیل الکل را نشان می‌دهد.

عمده‌ترین کاربردهای پلی وینیل الکل در آهارزنی منسوجات، چسب‌ها، تهیه کلوئیدهای محافظ برای پلیمریزاسیون امولسیون، تهیه الیاف و تهیه پلی وینیل بوتیرات و آهارزنی کاغذ است و همچنین مصرف عمده پلی وینیل الکل در تهیه افزودنی‌های بتنی و اتصالات سیمانی در ساختمان‌ها، ساختار آفت‌کش‌ها علف‌کش‌ها و کودهای شیمیایی است و در مقدار کمتری از موارد فوق به‌عنوان امولسی‌فایر

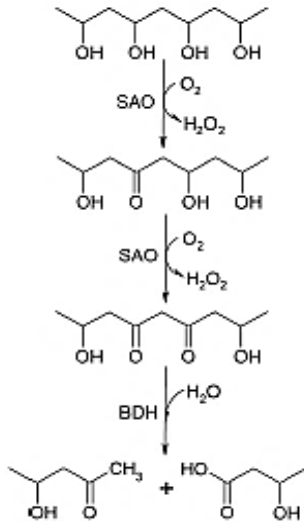
1 - Pseudomonas

2 - secondary alcohol oxidase

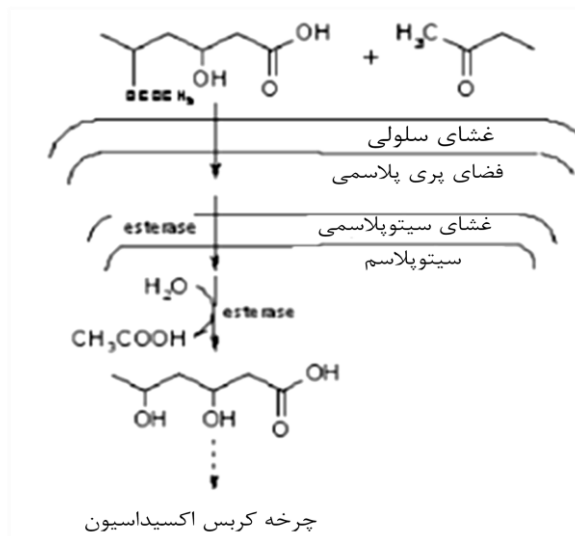
3 - diketones

4 - Pseudomonas vesicularis

(امولسیون ساز) در موارد آرایشی، پوشش‌های محافظ موقت، بالا بردن چسبندگی خاک برای جلوگیری از فرسایش خاک و در کاغذ عکاسی کاربرد فراوانی دارد [۵۷].



شکل ۲-۱۱: مسیر پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر پلی وینیل الکل با قسمتی از اکسیداس الکل ثانویه (SAO) و هیدرولیز دیکوتان (BDH) [۵۶]



شکل ۲-۱۲: مکانیسم زیست‌تخریب‌پذیری پلی وینیل الکل حاوی استات‌های استر [۵۶]

۲-۴-۳- خواص فیزیکی پلی وینیل الکل

درجه پلیمریزاسیون در پلی وینیل الکل (C_2H_4O) - بین ۵۰۰ تا ۵۰۰۰ است و وزن مولکولی آن از ۲۰۰۰۰ تا ۲۰۰۰۰۰ دالتون متغیر است. آرایش پلیمرها هم‌نظم^۱، تک آرایش^۲ یا بی‌آرایش^۳ بودن پلی- وینیل الکل یک نظر ساختاری مهم است که به مواد اولیه و روش سنتز وابسته است و از دستگاه روزنانس مغناطیس هسته برای تشخیص این خصوصیات استفاده می‌شود. پلی وینیل الکل از پلیمریزاسیون استات وینیل و هیدرولیز بی‌نظم و پلی وینیل الکل تک نظم توسط پلیمریزاسیون رادیکالی از وینیل فرمات^۴، وینیل پیوالت^۵، وینیل تری فلوراستات^۶ تشکیل می‌شود. خواص پیشنهاد شده پلیمر پلی وینیل الکل به روش آماده‌سازی، وزن مولکولی، آرایش، درجه پلیمریزاسیون و درجه هیدرولیز وابسته است. خواص ویسکوالاستیک، مقاومت محلول‌ها، استحکام چسبندگی، استحکام کششی و تشکیل فیلم با افزایش وزن مولکولی و درجه هیدرولیز افزایش می‌یابند. از سوی دیگر، دمای شیشه‌ای شدن Tg و دمای ذوب اولیه وابسته به درجه هیدرولیز آرایش است. پلیمرهای پلی وینیل الکل با رنگ و بدون رنگ، در دمای حدود ۱۸۰-۲۲۸ °C ذوب می‌شوند و دمای انتقال لاستیکی یا شیشه‌ای در ۷۵-۸۵ °C آشکار می‌شود. درجه هیدرولیز استات وینیل به الکل وینیل با افزایش نیروهای بین‌مولکولی، دمای انتقال شیشه‌ای و ذوب و همچنین افزایش حلالیت در آب افزایش می‌یابد. [۵۸]

۲-۴-۴- خواص شیمیایی پلی وینیل الکل

به علت کریستالیزه بودن آن، ساختار پلی وینیل الکل دارای پایداری بالا و حالت خنثی از لحاظ شیمیایی است. پلی وینیل الکل با دو ترکیب آلی و غیر آلی استر می‌شود و با بوریک اسید و بوراکس برای

1 - isotactic

2 - syndiotactic

3 - atactic

4 - vinyl formate

5 - vinyl pivalate

6 - vinyl trifluoroacetate

تشکیل استرهای سیکلی نامحلول در آب واکنش می‌دهد و به سمت واکنش‌هایی مشابه با تری‌اکسیدگوگرد، کلرید الکیل سولفونیل، لاکتات تیتانیوم و تیتانیوم سولفات می‌رود. پلی وینیل الکل ژل‌های نامحلولی توسط واکنش با پلی اکرایل اسید و پلی متاکرایل اسید از طریق ترکیب بین پلیمری ایجاد می‌کند. [۵۸]

۲-۴-۵- کاربردهای پزشکی پلی وینیل الکل

خواصی مانند میزان بالای آب، طبیعت الاستیک، زیست سازگاری و تورم بافت‌ها هیدروژل پلی- وینیل‌الکل را تبدیل به یک ماده قوی برای مواد جایگزین بافت می‌کند. هیدروژل‌های پلی وینیل‌الکل به‌عنوان ماده‌ی لنز، واشرهای قلب مصنوعی، غضروف‌های مصنوعی، کاتتر، غشای پانکراس^۱ و پوست مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در مطالعات اولیه رانی اصلی محققان بود. هیدروژل‌های پلی وینیل‌الکل در تبلورسازی در دمای کم آماده شد و به‌عنوان ماده در هیدروژل‌های پلی وینیل‌الکل برای کاربردهای بیومواد، خواص ژلی و فیزیکی مطالعه شد؛ و سازگاری خون ننگ تماسی مطالعه شده است و خواص نوری بهتر، نفوذ بالای اکسیژن و جذب پروتئین کمتر از مواد تماسی منظم را نشان داده است. [۵۸]

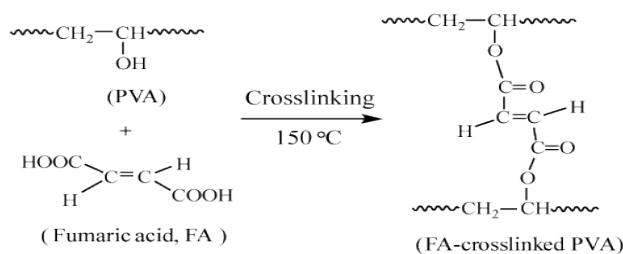
هیپارینه شدن^۲ روی هیدروژل‌ها برای سازگاری خون و خواص الاستیک انجام شده است. هیدروژل‌های پلی وینیل‌الکل توسط تبلور دمای کم پس از سرد شدن آهسته آماده و به‌عنوان غضروف مصنوعی، در استخوان، سینوویوم و عضله کاشته شده و زیست سازگاری آن‌ها با بافت و دریچه قلب بیولوژیکی تارهای صوتی، غشای کلیه مصنوعی مطالعه شده است. مطالعه شده است. کاشت غضروف‌های هیدروژل پلی وینیل‌الکل حتی بعد از دو سال بدون هیچ‌گونه علائم قابل‌رؤیت فرسایشی و تغییر شکل کاملاً مناسب است. میکرومورفولوژی آن‌ها توسط میکروسکوپ و کالیمتری روبشی افتراقی مورد مطالعه قرار گرفته است [۵۹].

1 - Pancreas

2 - Heparinization

۲-۴-۶- پیوند عرضی پلی وینیل الکل

پپاس و مریل در سال ۱۹۷۷ هیدروژل‌های پلی وینیل الکل را به‌عنوان بیومواد بررسی کردند. به‌طور کلی هیدروژل‌ها توسط فرایند کراس لینک پلیمرها به دست می‌آیند. که به صورت واکنش شیمیایی (از جمله: پلیمریزاسیون رادیکال آزاد، گروه‌های مکمل با استفاده از پرتابش انرژی بالا، واکنش آنزیماتیک) و واکنش فیزیکی (از جمله: واکنش یونی، کریستالی کردن زنجیره پلیمر، پیوند هیدروژل بین زنجیره‌ها، واکنش پروتئین و طراحی پیوند کو پلیمر) است. عوامل شیمیایی جداشده از ژل آماده شده علاوه بر اینکه ترکیبات سمی نیستند، می‌توانند تأثیر خنثی روی ماده داشته باشد؛ بنابراین، روش کراس لینک فیزیکی به روش کراس لینک شیمیایی برای آماده‌سازی پلیمر کراس لینک شده ترجیح داده می‌شود. تلاش‌های زیادی برای آماده‌سازی هیدروژل‌های پایه پلی وینیل الکل کراس لینک شامل کراس لینک تابشی، واکنش شیمیایی با گلی‌اوکسال، شناساگرهای حامل بیسموت با گلورتالدهید^۱، یا واکنش با بورات شده است [۶۰]. گروه هیدروکسید پلی وینیل الکل از طریق تشکیل پیوند استات با گروه‌های هیدروکسید واکنش می‌دهد. این واکنش دو بار برای هر گروه آلدهید موجود اتفاق می‌افتد. شکل (۲-۱۳) شماتیکی از کراس لینک پلی وینیل الکل را با فرمیک اسید را نشان می‌دهد. گرچه یک محلول آب پلی وینیل الکل می‌تواند استحکام کم هیدروژ را در ذخیره‌سازی زیاد در دمای اتاق ارائه دهد، اما این روش همه کاربردهای موردنیاز را رفع نمی‌کند، خواص مکانیکی این هیدروژل‌ها ضعیف است [۶۱].



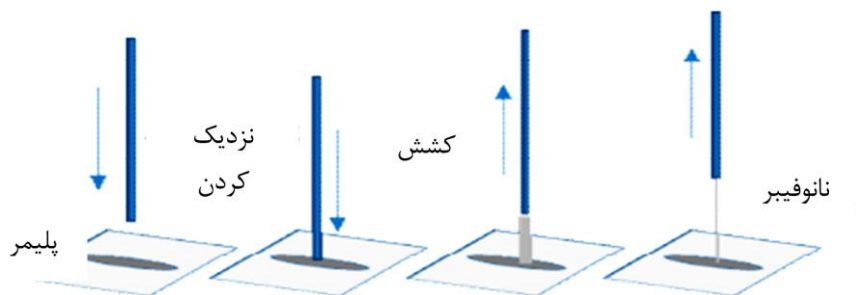
شکل ۲-۱۳: کراس لینک پلی وینیل الکل با فرمیک اسید [۶۱]

۲-۵- روش‌های تولید الیاف نانو

الیاف رشته‌های بسیار باریکی هستند که دارای طول بلندی نسبت به قطر خود بوده و کاربردهای متفاوتی دارند. الیاف به‌طور کلی به دودسته طبیعی و مصنوعی تقسیم‌بندی می‌شوند. محدودیت‌هایی که از نظر تأمین منابع در مورد الیاف طبیعی وجود دارد، موجب جهت‌دهی دانشمندان به سمت تولید الیاف مصنوعی شده است. نانو الیاف دارای خواص شیمیایی، الکتریکی مکانیکی منحصر به فردی هستند، به علت تولید دشوار الیاف تکی، آن‌ها به‌صورت گروهی یا دسته‌ای ساخته می‌شوند [۶۲].

۲-۵-۱- کشش^۱

این روش با انجماد همراه است، که مواد رسیده شده را به الیاف جامد تبدیل می‌کند. مرحله انجماد در مورد ذوب‌ریسی با سرد کردن و در خشک‌ریسی با تبخیر حلال صورت می‌پذیرد. این فرآیندهای پیچیده، قطر الیاف تولیدی را به نرخ کشش، سرد کردن یا تبخیر و ترکیب دقیق ماده اولیه وابسته می‌سازد. فرآیندهای استاندارد کشش تاکنون نتوانسته‌اند الیافی با قطر کمتر از ۲۰۰ nm تولید کنند برای رسیدن به الیاف با قطر کمتر از ۱۰۰ nm نیاز به استفاده از مولکول‌های کوتاه به‌جای زنجیره‌های بلند پلیمری است [۶۳]. ساخت الیاف به روش کشش به صورت شماتیک در شکل (۲-۱۴) مشخص شده است.

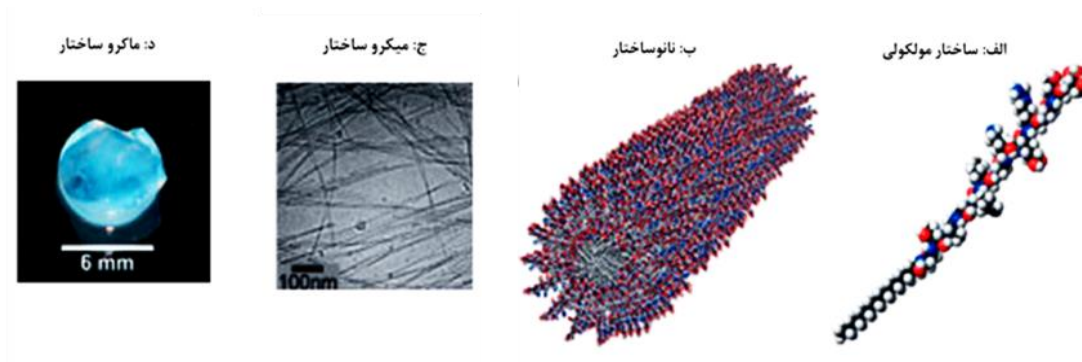


شکل ۲-۱۴: تولید نانو فیبرها به روش کشش [۶۳]

کشیدن الیاف در هنگام تبخیر حلال در دمای اتاق خواص ماده اولیه را بهبود می‌بخشد و اجازه رسیدن به ویسکوزیته بهینه برای کشش الیاف را می‌دهد. فیبرهای تولیدشده توسط این روش تلفات نوری پایینی دارد اما دارای انعطاف‌پذیری خوبی است [۶۳].

۲-۵-۲- خودآرایی^۱

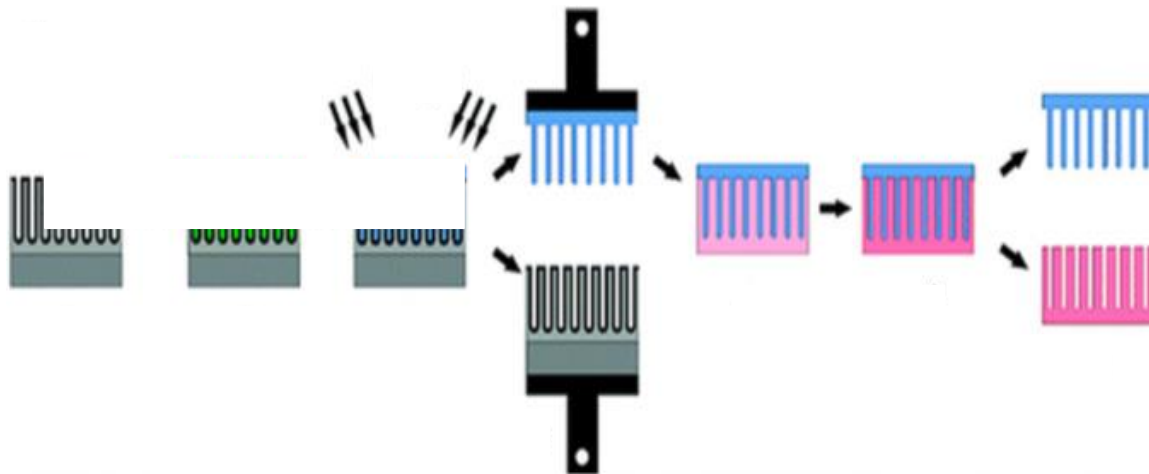
خودآرایی یک پروسه است که مولکول‌های به صورت الگوهای یا ساختارهای از طریق نیروهای غیر کووالانسی مانند پیوند هیدروژنی، نیروهای آبگریز، و واکنش‌های الکترواستاتیک سازمان‌دهی می‌کنند. شکل (۲-۱۵) به صورت شماتیک روش خودآرایی برای تولید نانو الیاف را نشان می‌دهد. این روش به این صورت است که یک مولکول کوچک به صورت هم‌مرکز قرار می‌گیرد و با مولکول‌های دیگر به‌طور هم‌مرکز پیوند می‌زند. پیشرفت فرآیند در صفحه عمود، محور طولی نانو لیف را تشکیل می‌دهد. این روش نیز مانند روش جدایش فازی، برای تولید نانو الیاف پیوسته، روشی وقت‌گیر است [۶۴].



شکل ۲-۱۵: تولید نانو فیبرها به روش خودآرایی (الف) ساختار مولکولی، (ب) نانو ساختار، (ج) تصویر میکرو ساختار و (د) تصویر ماکرو ساختار شبکه نانو الیاف پتید خودآرایی شده [۶۴].

۲-۵-۳- تولید از قالب^۱

با این روش نانوالیاف پلیمری می توان با استفاده از قالب مانند آلومینا متخلخل ساخته شد شود. قالب های شبکه آلومینا منافذی بسته یا باز با قطر از ۲۵nm تا ۴۰۰ ، و عمق منافذ از حدود ۱۰۰nm تا چند میکرومتر دارد. نانوالیاف پلیمری می توان از این قالب توسط تخریب قالب و یا جدا شدن مکانیکی ایجاد شوند. مراحل تولید بدین صورت است که ابتدا نانو ا قالب تمیز و خشک درون محفظه در حال انجماد قرار می گیرد و محلول ماده اولیه درون قالب می ریزد. در مرحله بعد محلول ماده اولیه درون محلول در حال انجماد تحت فشار آب روی محلول اکستروژن می شود در نهایت و نانو الیاف تولید شده برداشته شده و توسط آب یونزدایی می شود [۶۴]. شکل (۲-۱۶) شماتیک روش تولید از قالب را نشان می دهد.



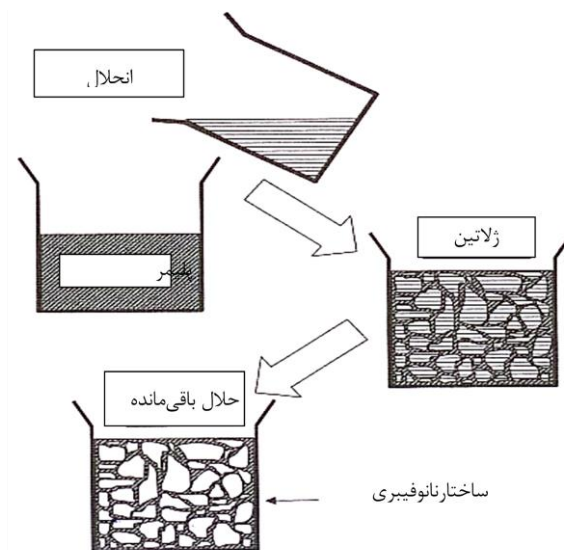
شکل ۲-۱۶: تولید نانو فیبرها به روش جدایی از قالب [۶۴]

۲-۵-۴- جدایش فازی^۲

در این روش نانو مواد فوم فیبر توسط یک تکنیک حرارتی ناشی از مایع مایع جداسازی فاز ساخته می شوند. این روش ساخت شامل (الف) انحلال پلیمر در حلال (ب) جداسازی فاز در دمای پایین (ج) غوطه وری در آب و (د) انجماد و یخ خشک شدن شکل (۲-۱۷). مورفولوژی از این سازه را می توان با پارامترهای

1 - Template Synthesis
2 - Phase Separation

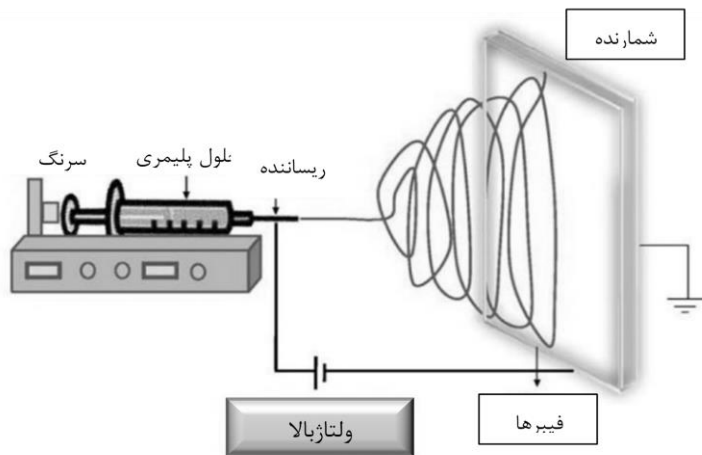
ساخت مثل دمای ژلاتین و غلظت پلیمر کنترل کرد. این فرایند نیاز به دوره زمانی زیادی برای انتقال پلیمر جامد به فوم نانو متخلخل دارد [۶۴].



شکل ۲-۱۷: تولید نانو فیبرها به روش جدایش فازی [۶۴].

۲-۵-۵- الکتروریسی

الکتروریسی و به عبارتی استفاده از نیروی برق برای ریسندگی یکی از روش‌های مهم و گسترده جهت تولید الیاف نانو ساختار هست. در این روش یک محلول پلیمری داخل سرنگ ریخته می‌شود و در فاصله ۲۰ cm از آن، صفحه‌ای فلزی قرار می‌گیرد؛ صفحه به زمین ثابت می‌گردد و سرنگ روی پمپ قرار گرفته و سوزن آن به منبع تغذیه با ولتاژ بالا وصل می‌شود، محلول با دبی پایین به سمت سر سرنگ رفته و هنگامی که ولتاژ بین ۳۰-۵ KW اعمال می‌شود، قطره به صورت جت درآمد، در طول مسیر کشیده می‌شود و پس از تبخیر شدن حلال به صفحه فلزی برخورد می‌کند و سپس به صورت الیاف نانو ساختار از صفحه فلزی جمع‌آوری می‌شوند. تصویر شماتیک فرایند الکتروریسی در شکل (۲-۱۸) مشاهده می‌شود [۶۵].



شکل ۲-۱۸: تولید نانو فیبرها به روش الکترواسپینینگ [۶۵]

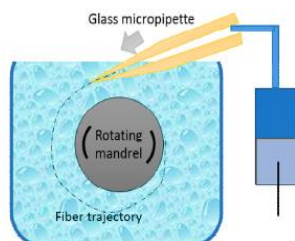
۲-۵-۵-۱- روش‌های الکترورسی

فرآیند اکستروژن نیازمند راندن یک مایع با ویسکوزیته مناسب، از میان نازلی با قطر کم برای تشکیل یک پلیمر نیمه جامد به صورت پیوسته است. پلیمرهایی که در فرآیند الکترورسی برای اکستروژن شدن و تولید الیاف بکار می‌روند، ابتدا باید به صورت سیال درآیند برای اینکه قابلیت اکستروژن شدن و پاشش داشته باشند. این عامل را می‌توان به صورت مذاب (اگر پلیمر مصرفی سنتزی ترموپلاستیک باشد) و یا با حل کردن در حلال مناسب (اگر پلیمر مورد نظر از نوع سلولزی ترموپلاستیک باشد) بکار برد. در صورتی که نتوان از هیچ‌یک از این دو روش استفاده کرد باید با یکسری اعمال شیمیایی آن‌ها را به فرم محلول یا مشتقات ترموپلاستیک تبدیل کرد [۶۳].

۱- ریسندگی تر^۱

این روش برای پلیمرهایی استفاده می‌شود که بتوان آن‌ها را در یک حلال مناسب حل کرد. چون محلول مستقیماً از طریق نازل اکستروژن می‌شود تا بر روی بستر رسوب کند، این فرآیند را ریسندگی تر می‌نامند.

نانو فیبرها با قطر $10\ \mu\text{m}$ تا $400\ \text{nm}$ تولید می‌شود [۶۳]. شکل (۲-۱۹) شماتیک روش ریسندگی تر را نشان می‌دهد.



شکل ۲-۱۹: ریسندگی تر برای تولید نانو فیبرها [۶۳]

۲- ریسندگی خشک

در این روش برای جامد کردن الیاف پلیمری تشکیل‌شده، محلول پلیمری را بعد از پاشش، تحت اثر جریان گاز بی‌اثر یا هوا قرار می‌دهند؛ تا حلال آن تبخیر شود. برای این کار پاشش محلول پلیمری در یک منطقه گرم شده انجام می‌شود تا در آن حلال تبخیر شده و از محیط خارج شود. عناصر گرم‌کننده هیچ تماس یا برخوردی با محلول پلیمری پاشیده شده ندارند و تنها برای اعمال حرارت لازم برای آسان کردن حذف حلال بکار گرفته می‌شوند [۶۶].

۳- ریسندگی ژلی

اگر پلیمر در طول فرایند اکستروود کردن، حالت یک مایع واقعی را به خود نگرفته باشد، از این روش استفاده می‌کنند، که در آن زنجیره‌های پلیمری به شکل مایع بلوری از نقاط مختلف زنجیر به هم متصل می‌شوند. این عمل، یک نیروی زنجیری قوی را همراه با افزایش استحکام کششی تولید می‌کند.

ریسندگی الکتریکی، روشی برای تولید الیاف پلیمری با قطر نانومتری است. در این فناوری مایعات باردار شده، به صورت جریان‌های کوچکی به درون یک میدان الکتریکی کشیده شده و سپس به صورت الیاف پلیمریزه می‌شوند. مواد دیگری از جمله نانو ذرات یا حتی نانولوله‌ها را می‌توان در این الیاف جای داد [۶۶].

۴- ریسندگی مذاب

در روش ریسندگی مذاب، پلیمر به شکل مذاب با ویسکوزیته بالا درآمده و داخل محفظه فلزی (رشته ساز) قرار می‌گیرد؛ سپس با اعمال نیرو به سمت سوراخ‌های ریز انتهای محفظه هدایت می‌شود. الیافی که از این روش به وجود می‌آیند قطری در حدود چند صد نانومتر دارند. الیاف با اندازه زیر میکرونی (که نانو الیاف خوانده می‌شود) به سادگی به کمک ماشین‌آلات الکتروریسی از محلول‌های پلیمری پلی‌اتیلن اکساید، پلی وینیل الکی و پلی آمید-۶ تولید می‌شوند [۶۳].

مزایای الکترواسپینینگ

- تجهیزات ارزان قیمت و ساده
- امکان کنترل مورفولوژی فرایند
- تولید انواع پلیمرها با وزن مولکولی بالا

معایب الکترواسپینینگ

- حلال استفاده شده می‌تواند سمی باشد،
- دشواری دستیابی به ساختارهای سه‌بعدی
- فرایند وابسته به متغیرهای زیادی است [۶۵].

کاربردهای الکترواسپینینگ

نانو فیبرهای تولید شده توسط الکترواسپینینگ در مهندسی بافت، فناوری فیلترسازی، مهندسی محیط زیست و الکترونیک استفاده می‌شوند. که این نانوفیبرهای الکتروریسی شده در مهندسی بافت، برای تولید زمینه‌هایی به منظور بازسازی بافت بکاربرده می‌شوند. نانو فیبرهای پلیمری برای درمان زخم‌های سوختگی پوست انسان استفاده می‌شوند، همچنین برای ابزار هموستاتیک با ویژگی‌های منحصر به فرد

مشابه طراحی شده‌اند. فیبرهای نازک پلیمرهای زیست تخریب پذیر می‌توانند به صورت مستقیم به محل زخم پوست برای تشکیل پانسمنان حصیربافتی اسپری شوند که با افزایش رشد طبیعی پوست و از بین بردن اثر سوختگی بافت، درمان سنتی زخم بهبود می‌یابد شکل (۲-۲۰) [۶۷].

حصیر غشای نانو فیبرهای بافته نشده برای پانسمنان زخم معمولاً حفراتی بین ۵۰۰nm تا ۱μm دارد که برای محافظت زخم از نفوذ باکتری‌های توسط مکانیسم‌های ورود ذره آنروسل به اندازه کافی کوچک است. مساحت سطحی بالاتر از ۱۰۰-۵m²/g برای جذب مایع و تحویل پوستی کارآمد است [۶۷].



شکل ۲-۲۰: نانو فیبرها برای پانسمنان زخم [۶۷]

۲-۶- نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین

همان‌طور که قبلاً بیان شد مهندسی بافت از سه محور اصلی داربست، سلول و محرک تشکیل شده است. در ادامه علت انتخاب هریک از این مواد را برای ساخت نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین شرح داده می‌شود.

در سال ۱۹۴۳ تیدریک و وانر، از پلاسمینوژن^۱ و تروبین انسان به منظور چسب بیولوژیکی برای تثبیت پیوند پوست در انسان استفاده کردند. به علت استحکام چسبندگی ضعیف، ماندگاری پایین، عدم وجود فرآیند تقطیع یا تبلور برای ایجاد محلول‌های فیبرینوژن غلیظ شده، عدم شناخت ممانعت کننده‌ها در فیبرینوژن غلیظ و عدم دانش در مهار فیبرینولیز این نتایج مرحله‌ی بزرگی در توسعه‌ی درزگیرهای فیبرین ایجاد کرد [۶۸]. در اوایل ۱۹۷۰ استفاده از درزگیر فیبرین توسط ماترس و همکارش گزارش شد [۶۹]. وانگ در سال ۱۹۹۵ استحکام پیوند چسب فیبرین آماده‌شده از روش رسوب انجمادی^۲ و رسوب شیمیایی توسط ۱۰ و ۲۰۰ واحد ترومبین را بررسی کردند و مشخص شد که غلظت کم ترومبین ۱۰ واحد بر میلی‌لیتر دارای انعقاد چسب فیبرین کمی است و با افزودن ۲۰-۴۰ mM کلسیم کلراید به ۱۰ واحد بر میلی‌لیتر ترومبین، زمان لخته شدن از ۲۴ ساعت به ۲/۳ ثانیه کاهش یافت [۳۸]. در سال ۲۰۰۱ تومازینی افزودن عوامل ضد لخته سازی را به چسب فیبرین ساخته‌شده از زهرمار و فیبرینوژن حیوانی را در لبه‌های روی هم قرار گرفته زخم در موش‌ها بررسی کرد. نتایج نشان داد مقادیر استحکام کششی با استفاده از چسب فیبرین بالاتر بود. آنالیز بافت‌های آسیب‌دیده تعیین کرد که چسب فیبرین نتایج خوبی در روی هم قرارگیری لبه‌های زخم دارد [۷۰]. کساندارا تامسون در سال ۲۰۱۴ اثر داربست فیبرین همرا با آپروتینین در درمان زخم و ایجاد رگ جدید یا آنژنوژنیک را بررسی کردند نتایج حاکی از کاهش مدت زمان درمان زخم و رگ‌زایی در حضور فیبرین را نشان داد [۷۱].

پلیمرهای مصنوعی در مقایسه با انواع پلیمرهای طبیعی با پلی وینیل الکل برای پانسمان زخم مخلوط می‌شوند، پلیمرهای مصنوعی خواص مکانیکی و حرارتی هیدروژل را بهبود می‌دهند. مویالانینی و همکارانش در سال ۲۰۱۴ از هیدروژل‌های پلی وینیل الکل در تبلورسازی در دمای کم استفاده کردند و به

1 - plasminogen

2 - cryoprecipitation

عنوان ماده نرم تماسی مطالعه شد و خواص نوری بهتر، نفوذ بالای اکسیژن و جذب پروتئین کمتر از مواد تماسی منظم را نشان داده است [۵۸]. کاموین و همکارانش در سال ۲۰۱۵ از پلی وینیل الکل همراه با کیتوسان جهت درمان زخم استفاده کردند که نتایج نشان داد این کامپوزیت اثر قابل توجهی در بهبود درمان زخم‌ها نشان می‌دهد [۶۰].

پیس و همکاران در سال ۲۰۰۰ از هیدروژل با مخلوط پلی وینیل الکل‌ها و سدیم آلژینات^۱ (SA) برای پانسمان، زخم، زخم‌های ایجاد شده در اثر تابش اشعه گاما استفاده شد و نتایج اثر بخشی موثر این ترکیب را در بهبود زخم نشان داد [۷۲]. پیس در سال ۲۰۰۵ از پلی وینیل الکل/دکوسان حاوی جنتوماسین و بدون جنتوماسین برای درمان زخم و کاهش اندازه زخم روی موش‌های صحرایی استفاده شد نتایج نشان داد هیدروژل‌های دارای جنتوماسین بهبود زخم را نسبت به هیدروژل بدون جنتوماسین افزایش داده است [۷۳].

پانادرو و همکارش در سال ۲۰۱۳ ساختار حفره زمینه PVA شامل تخلخل مضاعف: ماکرو حفرات با قطرهای حدود ۲۰۰ میکرون و میکرو تخلخل‌ها حدود چند میکرون توسط روش اکستروژن سرد^۲ تولید کردند. سپس روی نمونه‌های با فیبرین و بدون فیبرین، بارگذاری مکانیکی سیکی تحت فشار تا کرنش ۱۵ درصد انجام شد، نمونه‌های دارای فیبرین سیکل بیشتری تحمل می‌کنند و همچنین رفتار مکانیکی نمونه‌های غوطه‌ور شده در آب نسبت به رفتار اندازه‌گیری شده در لایه‌ی زیرین PVA خشک متفاوت است. تنش ماکزیمم نمونه‌های خشک، حدود دو برابر بیشتر از نمونه‌های غوطه‌ور شده نشان می‌دهند [۷۴]. بیدالت و همکارانش در سال ۲۰۱۵ شبکه‌های پلیمری درهم‌تنیده پلی وینیل الکل - فیبرین را برای بررسی خواص فیبرین به روش الکترورسی ساختند که برای بهبود قابلیت آب‌رسانی و خواص مکانیکی قوی‌تر نیمه

1 - sodium alginate

2 - freeze extraction

کریستال به شدت آب دوست است. شبکه به هم تنیده فیبرین/پلی وینیل الکل سریع تر سنتز می شوند و مدول ذخیره سازی ۳-۵۰ برابر بیشتر از ژل فیبرین است. این مواد برای فیبروپلاست انسانی غیر سمی هستند و انتظار می رود این مواد برای بهبود زخم بکار روند [۷۵]. الباداول کامون و همکارانش در سال ۲۰۱۵ در مطالعه‌ای به اثر هیدروژل پلی وینیل الکل همراه با ترکیب‌های دیگر مانند سدیم آلژینیک، دکستران، کیتوسان، ژلاتین و غیره در پزشکی و پانسمان زخم پرداختند؛ نتایج نشان داد پلی وینیل الکل انتخاب مناسبی در درمان زخم به عنوان پانسمان زخم است [۶۰].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی سلول‌های استرومایی چندتوانی هستند^۱. که با سلول‌های میان پوستی^۲ مانند سلول‌های چربی، استئوبلاست، غضروف، میوسیت، اسکلتی متمایز می‌باشند. این سلول‌ها از مغز استخوان و بافت چربی بند ناف استخراج می‌شوند. رگ زایی یک فرایند فیزیولوژیکی مهم است که در حین آبشار انعقادی خون اتفاق می‌افتد. سلول‌های بنیادی مزانشیمی نقش اساسی در رگ زایی^۳ توسط فاکتورهای رشد/سیگنالینگ^۴ و واکنش سلول دارند. در آزمایش‌های محیط آزمایشگاهی و بدن انسان توانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی برای رهاسازی فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF) و فاکتور القا شونده به وسیله هیپوکسی (HIF1a) مشخص شده‌اند. همچنین فعالیت سلول بنیادی مزانشیمی در تکثیر، التهاب و مراحل بازسازی ترمیم زخم گزارش شده است. علاوه بر این، سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند جذب و تکثیر سلول T کمک‌کننده T-cell را در برابر آسیب سرکوب کنند. زمانی که سلول‌های مزانشیمی وارد محل زخم می‌شوند با چند راه مختلف باعث بهبود زخم می‌شوند و دارای خاصیت ضد میکروبی برای جلوگیری از عفونت بستر زخم است. سلول‌های مزانشیمی می‌تواند از طریق افزایش ترشح فاکتورهای رشد باعث بهبود بافت شود و توانایی در تأثیرگذاری سلول‌های دیگر روی محل زخم به منظور ترمیم بافت نشان

1 - multipotent stromal

2 - mesodermal

3 - angiogenesis

4 - signaling

داده شده است [۷۷]. سامیر مالهورتا در سال ۲۰۱۶ اثر سلول‌های مزانشیمی در درمان زخم را بررسی کرد و نتایج، تأثیر مثبت سلول‌های مزانشیمی را جهت درمان زخم و ایجاد رگ جدید نشان داد [۸].

از این رو در این پژوهش ابتدا پودر پلی وینیل الکل به روش الکتروریسی به داربست نانو الیافی تبدیل شد؛ سپس با افزودن چسب فیبرین با غلظت‌های مختلف به عنوان محرک قوی درمان زخم، با خلوص مختلف، نانوکامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین ساخته شد. و در نهایت به منظور بررسی خواص بیولوژیکی نانوکامپوزیت از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از بافت چربی استفاده شد.

فصل سوم:

فعالیت‌های آزمایشگاهی

در این فصل به معرفی مواد اولیه مصرفی، تجهیزات لازم جهت انجام فعالیت‌های آزمایشگاهی و نیز دستگاه‌های آنالیز مورد استفاده، اشاره می‌شود.

۳-۱- مواد اولیه مصرفی

مواد اولیه مورد استفاده در این تحقیق و خلوص آن‌ها در جدول (۳-۲) و جدول (۳-۲) ذکر شده است. همچنین جدول (۳-۳) درصد میزان اجزای تشکیل‌دهنده فیبرین در سه غلظت مختلف در این پژوهش را نشان می‌دهد. و در نهایت شکل (۳-۱) نمایی از چسب فیبرین و پلی وینیل الکل را بعد از الکترورسی نشان می‌دهد.

جدول ۳-۱: مشخصات مواد اولیه مورد استفاده.

نام کالا	فرمول شیمیایی	شرکت سازنده	خلوص	ظاهر فیزیکی
پلی وینیل الکل	C ₂ H ₄ O	merk	۹۰ درصد	پودر سفیدرنگ
فیبرین	فیبرینوژن-ترومبین	Aventis	-	مایع دوفازی
فرم آلدئید	CH ₂ O	merk	۲۵ درصد	مایع سمی
سلول‌های بنیادی مزانشیمی		sabz biomedical	-	سلول
گلور تالدهید	C ₂ H ₈ O ₂	SIGMA Alderich	۲۵ درصد	مایع سمی
تریتون ایکس-۱۰۰	C ₁₄ H ₂₁ (C ₂ H ₄ O) _n OH	Merk	-	محلول

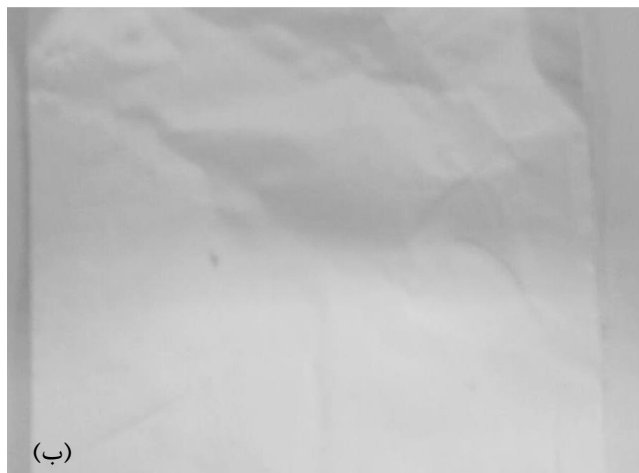
جدول ۳-۲: ترکیب چسب فیبرین و غلظت هر یک از آن‌ها

غلظت	ترکیب
۵۰۰ IU/ml	ترومبین
۵/۹ mg/ml	محلول کلسیم کلراید
۹۰ mg/ml	فیبرینوژن
۶۰ U/ml	فاکتور ۱۳
۶۱۰۰ KIU/ml	آپروتینین

جدول ۳-۳: غلظت‌های مختلف استفاده در این پژوهش

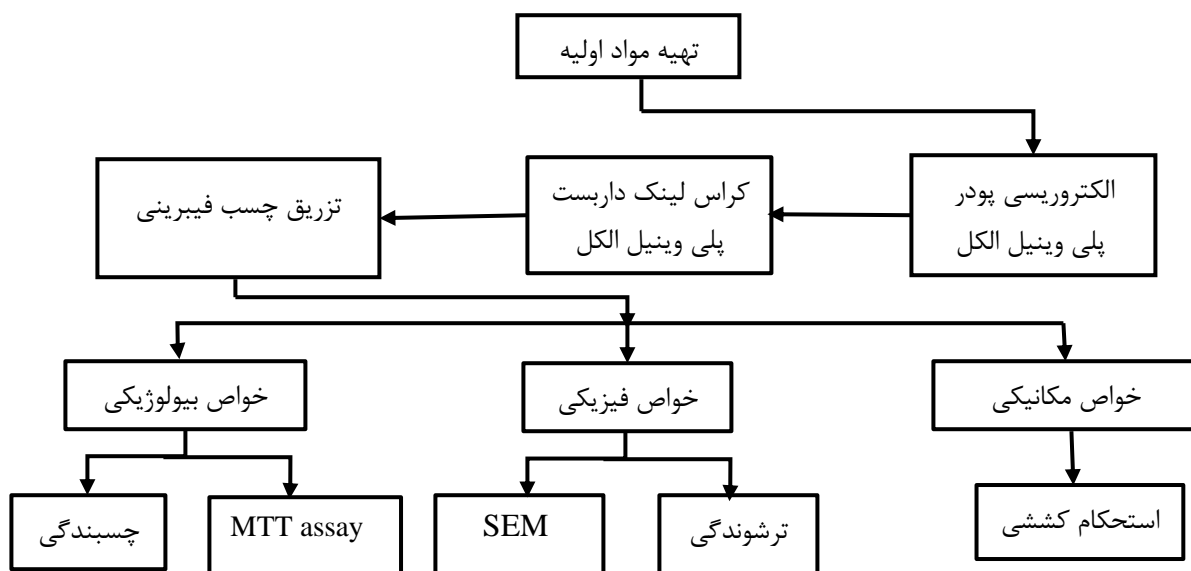
غلظت پایین	غلظت متوسط	غلظت بالا	
۲۵	۵۰	۱۰۰	ترومبین IU/ml
۰/۲۹۵	۰/۵۹	۱/۱۸	محلول کلسیم کلراید (mg/ml)
۴/۵	۹	۱۸	فیبرینوژن (mg/ml)
۳	۶	۱۲	فاکتور ۱۳ (U/ml)
۷۶۲/۵	۱۵۲۵	۳۰۵۰	آپروتینین (KIU/ml)





شکل ۳-۱: نمایی از الف) چسب فیبرین ب) داربست پلی وینیل الکل

شکل (۲-۳) فلوجارت روش کار استفاده شده در این پژوهش را نشان می دهد.



شکل ۳-۲: فلوجارت فرایند انجام پژوهش

۳-۲- الکتروریسی پلی وینیل الکل

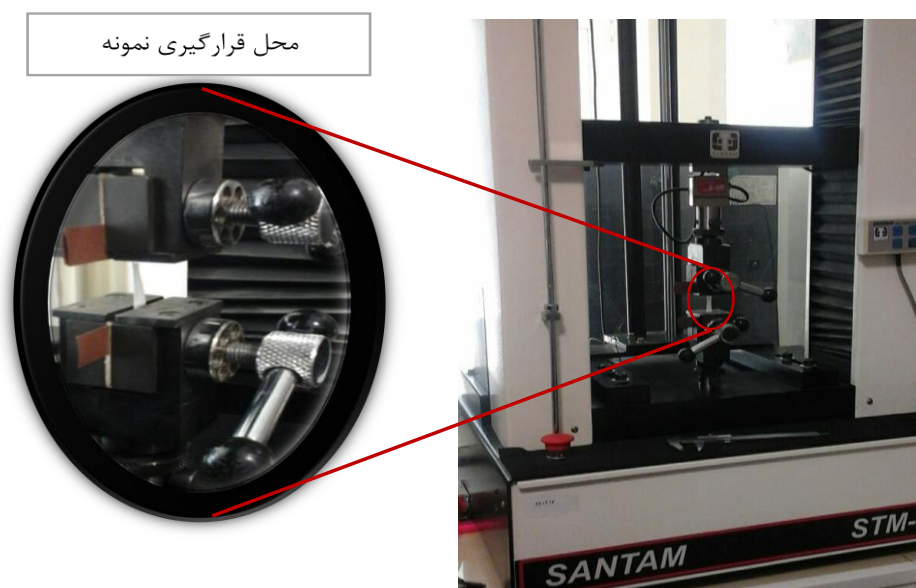
الکتروریسی به منظور ایجاد داربست یکنواخت به عنوان زمینه نانو کامپوزیت انجام شد، از دستگاه الکتروریسی واقع در دانشگاه علوم پزشکی شاهرود استفاده شد، نحوه انجام کار بدین صورت بود که ابتدا پودر پلی وینیل الکل در حلال آب حل شده (۱:۱۰) و به صورت یکنواخت توزیع شد، سپس توسط سرنگ به داخل دستگاه تزریق شد و صفحه‌ی فلزی در فاصله ۲۰cm آن قرار گرفت و محلول با نرخ جریان ml/h ۴ با ولتاژ ۲۰KV اعمال شد و با سرعت ۸۰۰rpm روی فویل آلومینیومی جمع شد و در نهایت حلال تبخیر شد، این عملیات به مدت ۷ ساعت ادامه یافت تا اینکه تمام محلول روی فویل آلومینیومی به صورت نانو الیاف شده قرار گرفت. شکل (۳-۳) دستگاه الکتروریسی مورد استفاده را نشان می‌دهد.



شکل ۳-۳: دستگاه الکتروریسی برای ساخت داربست پلی وینیل الکل

۳-۳- استحکام کششی نمونه

برای اندازه‌گیری استحکام کششی از دستگاه کشش شرکت سنتام مدل DBBP-50 با ظرفیت Kg ۵۰ واقع در مرکز تحقیقات فناوری بن‌یاخته براساس استاندارد ASTM D638 و از نمونه‌هایی با ابعاد $20 \times 10 \text{ mm}$ با ضخامت $33 \mu\text{m}$ استفاده شد. مطابق ابتدا و انتهای نمونه برای قرارگیری در فک با چسب مخصوص به یک گیره مقوایی چسبیده شد و سپس در دستگاه کشش قرار گرفت. از یک لودسل با نیروی 50 Kg برای اعمال نیرو استفاده شد و سرعت کشش نمونه 10 mm/min تعیین شد. آزمون در مورد ۵ نمونه به منظور حصول اطمینان از داده‌ها خروجی تکرار شد. شکل (۳-۴) دستگاه آزمون کشش و گیج قرارگیری نمونه‌ها را نشان می‌دهد.



شکل ۳-۴: دستگاه آزمون کشش

۳-۴- پیوند بین زنجیره پلی وینیل الکل

برای انجام کراس لینک حصیر پلی وینیل الکل از بخار فرمالدهید استفاده شد. استاندارد مشخصی برای انجام کراس لینک نمونه‌ها یافت نشد از این رو کراس لینک از روش‌های ذکر شده در مقالات مختلف استفاده شد [۶۶]. ابتدا هیتر زیر هود شیمیایی دارای فن قوی قرار گرفت سپس بشر روی هیتر قرارداد شد و دمای هیتر روی 75°C تنظیم شد حدود یک دقیقه برای تبخیر شدن قطرات آب مانده در بشر گرم شد و سپس حدود 50CC فرم آلدئید 25% درصد به همراه 4ml HCL با نسبت ۱ به ۱۰ داخل بشر ریخته شد و حصیر پلی وینیل الکل توسط یک چهارچوب نگه‌دارنده روی بشر قرار گرفته شد، هر چند ساعت یک‌بار حصیر چرخیده شد تا در معرض مستقیم بخار قرار گیرد. این فرایند ۷ ساعت به طول انجامید و بعد از آن نمونه با آب شسته شد تا از کراس لینک شدن آن اطمینان حاصل گردد.

۳-۵- آنالیز میکرو ساختاری

به منظور تعیین قطر فیبرها، میزان تخلخل‌ها، جهت‌گیری فیبرها داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با غلظت‌های مختلف فیبرینوزن و ترومبین از آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) با مدل AIS2100، ساخت شرکت رُن تکنولوژی^۱ از کشور کره جنوبی واقع در دانشگاه صنعتی امیرکبیر استفاده شد. شکل (۳-۵) میکروسکوپ الکترونی مذکور را نشان می‌دهد.

۳-۵-۱- آماده‌سازی و آگیری نمونه‌ها

ابتدا نمونه‌های پلی وینیل الکل الکترونیسی شده با ابعاد $1 \times 1\text{cm}$ بریده شد، فیبرین با غلظت‌های زیاد، متوسط و پایین توسط آب فرا خالص رقیق شد بدین صورت که برای غلظت زیاد، $40\mu\text{l}$ فیبرینوزن با

¹ - Rontechologies

۱۶۰ l آب مقطر و ۴۰ μ l ترومبین با ۱۶۰ μ l آب رقیق شد و به ترتیب ۵۰ μ l فیبرینوژن و ترومبین روی نمونه‌ها به صورت یکنواخت اعمال شد سپس مراحل آگیری نمونه‌ها به صورت جدول (۳-۴) انجام شد.

جدول ۳-۴: نحوه آگیری نمونه‌ها برای آزمون SEM

زمان	دما	ماده شیمیایی	
۲-۱ ساعت	دمای اتاق	۲/۵ درصد گلور تالدهید در آب مقطر	تثبیت اولیه
۲۰-۱۰ دقیقه	دمای اتاق	آب مقطر	شستشو
۱۰ دقیقه		۲۵٪ اتانول	
۱۰ دقیقه		۵۰٪ اتانول	
۱۰ دقیقه	دمای اتاق	۷۵٪ اتانول	آگیری
۱۰ دقیقه		۹۵٪ اتانول	
۱۰ دقیقه		۱۰۰٪ اتانول	
	دمای اتاق و محیط تاریک		خشک کردن
پوشش طلا			



شکل ۳-۵: دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی

۳-۶- آزمون ترشوندگی

برای آزمون ترشوندگی یا زاویه تماس از دستگاه اندازه گیری زاویه تماس و کشش سطحی به روش قطره آویزان واقع در آزمایشگاه سنگ و سیال، دانشکده معدن در دانشگاه صنعتی شاهرود استفاده شد. برای در این روش از یک سرنگ با قطر 0.77mm استفاده شد. قطره با سرعت تنظیم شده از طریق لوله باریک به سمت سرنگ و در نهایت روی سطح نمونه افتاد و از لحظات مختلف قرارگیری قطره عکس برداری شد. بعد از اتمام عکس برداری، عکس های گرفته شده در سیستم متصل به نرم افزار ذخیره شد و یک خط به عنوان خط زمینه برای محاسبه زاویه ترشوندگی رسم شد و نرم افزار به صورت خودکار زاویه ترشوندگی را محاسبه کرد و به صورت یک فایل اکسل در اختیار قرارداد؛ نمونه های پلی وینیل الکل و نانوکامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین (غلظت متوسط) با ابعاد $1 \times 1 \text{cm}$ آماده و آزمون شد. شکل (۳-۶) تصویر دستگاه آزمون ترشوندگی مورد استفاده در این پروژه را نشان می دهد.



شکل ۳-۶: دستگاه اندازه گیری آزمون ترشوندگی

۳-۷- آزمون چسبندگی سلولی

به منظور تأیید اتصال سلول‌ها به نانو داربست، از رنگ‌آمیزی دپی^۱ استفاده شد. ابتدا نمونه‌های پلی وینیل الکل و پلی وینیل الکل - فیبرین (غلظت متوسط) به وسیله‌ی محلول نمک فسفات با خاصیت بافری^۲ یا PBS شستشو داده شدند. سپس پارافرم آلدئید (فرمول شیمیایی $(OH(CH_2O)_nH)$) سرد ۴٪ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴°C اضافه شد و ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. پس از آن به مدت ۱۰ تا ۳۰ دقیقه در تریتون ۴٪ - ۱۰۰ X (فرمول شیمیایی $(C_{14}H_{22}O(C_2H_4O))$) قرار گرفت. سپس برای رنگ‌آمیزی هسته سلول‌ها، انکوباسیون با رنگ دپی (۱ μg/ml) به مدت ۱ دقیقه انجام شد و تصاویر با میکروسکوپ فلورسنت مدل Olympus IX71 واقع در دانشکده علوم پزشکی شاهرود با به‌کارگیری فیلتر بنفش به‌دست‌آمده آمد. شکل (۳-۷) میکروسکوپ نوری استفاده‌شده در این آزمون را نشان می‌دهد.



شکل ۳-۷: میکروسکوپ نوری مجهز به فلورسانس

^۱ - DAPI(4,6 diamidino-2-phenylindole)

^۲ - Phosphate buffered saline

۳-۸-۱- آزمون مواد زیستی در آزمایشگاه

۳-۸-۱- کشت و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی^۱

مراحل آزمون MTT و تکثیر سلول‌ها در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه شاهرود انجام شد. پس از بازبینی سلول‌های کشت داده شده‌ای که در یک فلاسک T150 از مرکز بن‌یاخته تحویل گرفته شده بود و رسیدن همش سلول‌ها به حدود ۷۰-۸۰٪، محیط کشت را از فلاسک خارج کرده و لایه سلولی چسبیده به کف فلاسک، با استفاده از ۵ml محلول PBS که به دمای محیط رسیده بود، کاملاً شستشو داده شد. سپس ۳ml تریپسین به فلاسک کشت اضافه شده و به مدت ۱ دقیقه در دمای ۳۷ در انکوباسیون قرار گرفتند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، سلول‌ها به وسیله میکروسکوپ معکوس مورد بازبینی قرار گرفتند و زمانی که ۹۰٪ سلول‌ها از کف فلاسک کشت جدا شدند، ۳ml محیط کشت DMEM^۲ (متوسط عقاب اصلاح شده لیکو) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاو (FBS^۳) و ۱٪ آنتی بیوتیک پن استرپ^۴ به آن اضافه کرده و محلول سوسپانسیون حاصل به فالكون‌های ۱۵ml منتقل و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و با نیروی ۸ سانتی‌یوفوژ شدند. پس از انجام سانتریوفوژ، مایع رویی^۵ خالی شده و رسوب حاوی سلول با 1 ml محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ FBS و ۱٪ آنتی بیوتیک پن سترپ دوباره سوسپانسیون شده و با استفاده از ۱۰ از این سوسپانسیون سلولی و به وسیله لام نئوبار شمارش سلولی انجام گرفت.

۳-۸-۲- مواد و وسایل مورد نیاز:

- پلیت ۹۶ خانه
- سمپلر و سر سمپلر و پیپت پاستورهای یک بار مصرف

^۱ - سلول غیرخون ساز ساکن در مغز و استخوان و سایر بافت‌های اسکلتی

^۲ - Dulbecco's modified Eagle's medium

^۳ - Fetal bovine serum

^۴ - Pen/strp

^۵ - Supernatant

- محلول DMSO و MTT solution

- انکوباتور و دستگاه الیزا ریدر

۳-۸-۳- بررسی تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی توسط روش MTT^۱

برای بررسی تکثیر سلول‌های بنیادی بر روی داربست‌های گروه‌های مختلف از آزمون MTT استفاده شد. ارزیابی رشد سلول‌ها در زمان‌های مشخص ۱، ۲، ۳ و ۴ روز انجام شد. رنگ MTT در میتوکندری سلول‌های زنده از رنگ زرد به رنگ بنفش تغییر می‌یابد و غلظت رنگ معیاری از میزان سلول‌های زنده است. پس از اضافه کردن MTT و دی‌متیل سولفوکسید^۲ DMSO غلظت محلول با دستگاه الیزا ریدر^۳ خوانده می‌شود. جهت انجام این آزمون یک فلاسک ۲۵ را تریپسینه کرده و به گروه‌های مختلف اضافه می‌نماییم. به این منظور در ابتدا داربست‌های پلی وینیل الکل و نیز داربست‌های کامپوزیت با قطر ۳/۰ cm پنج شده و به داخل چاهک‌ها شکل (۳-۸ الف) انتقال می‌یابند. سپس با استفاده از اتانول استریل ۷۰ درصد به مدت یک‌شب در دمای ۴°C استریل می‌شوند. سپس اتانول برداشته شده و دو بار داربست با محیط کشت شستشو داده می‌شوند. سپس سلول‌های بنیادی مزانشیمی به تعداد ۳۰۰۰ عدد به هر چاهک حاوی داربست‌ها و نیز بدون داربست در چاهک کشت داده شدند. سپس آزمون MTT در روزهای ۱، ۳، ۴ انجام گرفت. به این منظور محلول MTT با غلظت ۵ mg/ml در محیط کشت RPMI^۴ حل شده و توسط فیلتر ۰/۲۲ میکرونی استریل شد. در روزهای انجام MTT، محلول MTT آماده شده به نسبت ۱ به ۱۰ به محیط کشت سلول‌ها اضافه گردید و ۳ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس این مخلوط نیز تخلیه شده و توسط بافر فسفات سالین (PBS^۵) شستشو شد و از حلال دی‌متیل سولفوکسید جهت حل کردن کریستال‌های

^۱ - Microculture Tetrazolium Assay

^۲ - Dimethyl Sulfoxide

^۳ - Elisa Reader

^۴ - Roswell Park Memorial Institute

^۵ - Phosphate buffered saline

حاصل استفاده شد. در آخر محتوای هر چاهک به چاهک ۹۶ خانه منتقل شده و جذب نوری در طول موج ۵۷۰nm توسط دستگاه الیزاریدر مدل Start fax- 2100 واقع در دانشکده پزشکی در دانشگاه علوم پزشکی شاهرود شکل (۳-۸ ب) اندازه گیری شد.

۳-۸-۴- اساس آزمایش MTT

به طور سنتی برای تعیین اثرات سمی ترکیبات مختلف از رنگ‌های حیاتی مثل آبی متیلن (متیل بلو) استفاده می‌شود. روش‌های دیگری مثل رادیو ایزوتوپ‌ها برای اندازه‌گیری سنتز DNA یا شمارش سلول‌ها بر اساس رنگ و فعالیت سلولی مثل روش فلوسیتومتری (FCM) استفاده می‌شود. روش MTT اندازه‌گیری فعالیت سلول‌های زنده از طریق دهیدروژنازهای^۱ میتوکندریایی است. ترکیب کلیدی در این آزمون MTT solution یا ۳-(۴،۵)-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide هست. این ماده در حالت عادی به رنگ زرد است، دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده، حلقه تترازولیوم آن را شکسته و در نتیجه کریستال‌های فورمازان ارغوانی تولید می‌کند که در آب نامحلول ولی در ایزوپروپانول اسیدی محلول بوده و با روش اسپکتروفتومتری جذب نوری آن در طول موج 570 nm قابل اندازه‌گیری است.

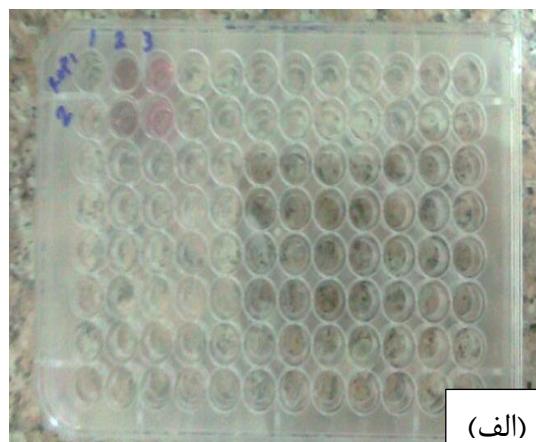
۳-۸-۵- آماده‌سازی بافر فسفات سالین

برای این منظور آماده سازی از قرص PBS شرکت اینوستیجن^۲ استفاده شده و یک عدد قرص را در ۵۰۰ ml آب مقطر حل و سپس به وسیله اتوکلاو (مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۱۲۱ °C) استریل گردید.

* تمامی مراحل کارهای کشت سلولی در شرایط کاملاً استریل و زیر هود انجام گرفته است.

¹ - dehydrogenase

² - invitrogen



شکل ۳-۸: الف) چاهک‌های مورد استفاده در آزمون MTT و ب) دستگاه ایزاریدر

فصل چہارم:

نتایج و بحث

۴-۱- خواص مکانیکی

۴-۱-۱- استحکام کششی

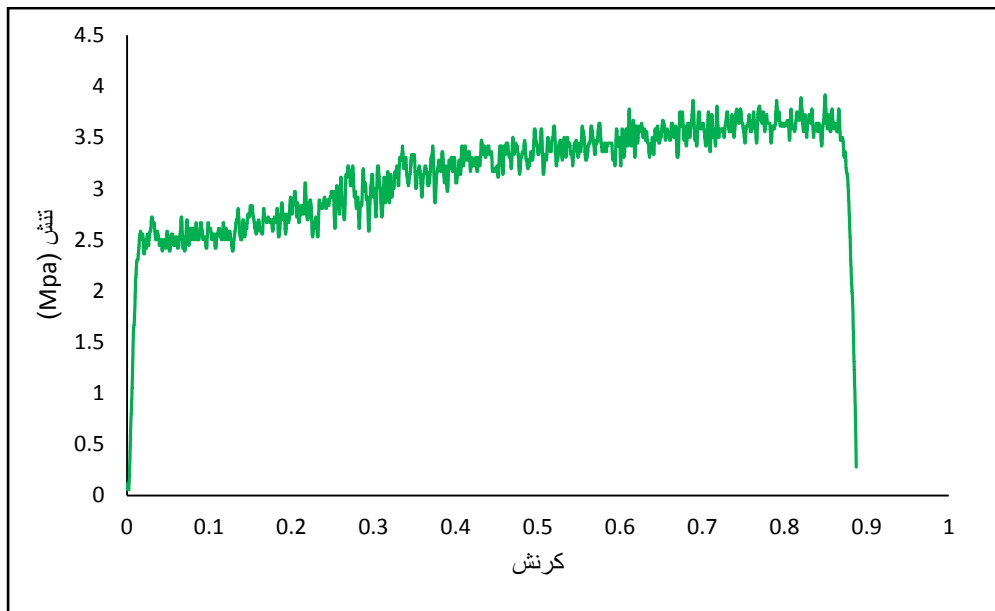
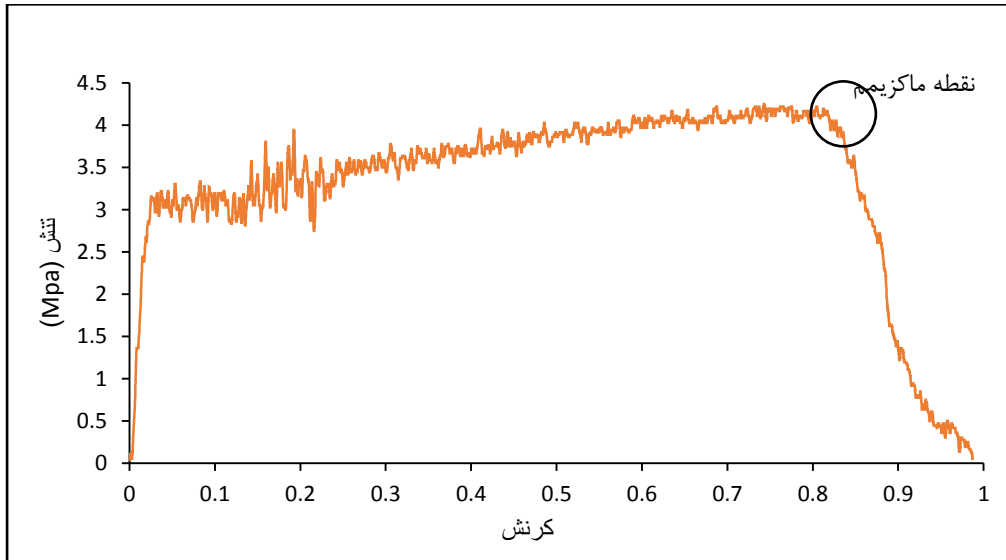
به منظور تعیین خواص مکانیکی ماده مانند استحکام و الاستیسته پلی وینیل الکل بعد از الکترورسی آزمون کشش مطابق با استاندارد ASTM D638 روی ۵ نمونه انجام شد تا مقادیر حاصله دقیق تر باشد و به علت ضخامت بسیار کم نمونه‌ها و نازک بودن الیاف الکترورسی شده یا چند لایه شدن الیاف در الکترورسی دو نمونه هنگام آزمون کشش از قسمت گیج جدا شدند و یک نمونه دیگر سریع شکست و اعداد غیرمنطقی نشان داد و تنها دو نمونه دارای اعداد نزدیک به هم و مطابق انتظار بودند؛ که در جدول (۴-۱) ویژگی‌های این دو نمونه ذکر شده است.

جدول ۴-۱: ویژگی‌های ظاهری نمونه‌های اول و دوم

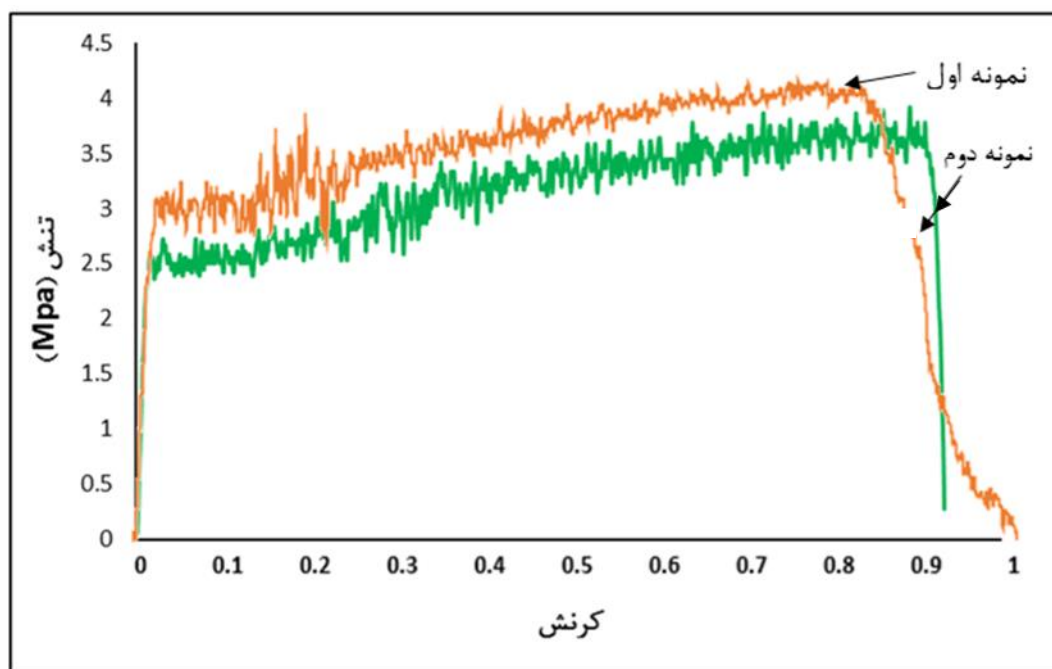
روش آزمون	طول نمونه (mm)	عرض نمونه (mm)	ضخامت نمونه (mm)	مساحت نمونه (mm ²)
نمونه اول کشش	۲۰	۱۰	۰/۰۳۶	۰/۳۶
نمونه دوم کشش	۲۰	۱۰	۰/۰۳۳	۰/۳۳

اعداد استخراج شده حین انجام آزمون که روند افزایش و کاهش نیروهای اعمالی و تغییرات طولی شدگی یا افزایش طول ایجاد شده بر اثر این نیروهای اعمالی را نشان می‌دهد در فایل‌های اکسل جمع‌آوری شد و برخی از اعداد در جدول قرار گرفته در پیوست خلاصه شده است.

نمودارهای تنش کرنش دو نمونه‌ای که دارای خواص کششی مشابه داشته، استخراج شدند (شکل ۴-۱ الف و ب) برای اینکه خواص میانگین آن را تعیین کرد، این دو نمودار روی هم قرار گرفتند. نمودار تنش کرنش در شکل (۴-۲) نشان داده شده است.



شکل ۴-۱: نمودار تنش-کرنش نمونه اول و دوم پلی وینیل الکل



شکل ۴-۲: نمودار تنش کرنش نمونه‌های پلی وینیل الکل آزمون شده

شکل (۲-۴) تصویری از قرارگیری دو نمودار را روی یکدیگر و مقایسه‌ی داده‌های آن را نشان می‌دهد. همان‌طور که در نمودارهای شکل (۴-۱ الف و ب) مشاهده می‌شود هر دو نمودار دارای روند بسیار مشابهی هستند ولی به علت ضخامت کمتر نمونه شماره دو کرنش ماکزیمم نمونه مذکور بیشتر از نمونه اول بوده ولی کرنش تا شکست آن کمتر بوده یعنی به‌صورت ناگهانی شکسته شده است. تنش و کرنش-های شکست و همچنین چقرمگی نمونه‌ها از هر دو نمودار استخراج و در جدول (۴-۲) قرار گرفته شده است و در نهایت میانگین هر یک از این مقادیر برای تعیین خواص کششی نمونه محاسبه شدند. همچنین در این جدول اختلاف بین اعداد دو نمودار (دلتا) و انحراف معیار هر یک محاسبه شد که این مقادیر نزدیک به یک انحراف معیار، نشان‌دهنده پراکندگی کم داده‌های دو نمونه است.

جدول ۴-۲: نتایج به دست آمده از آزمون کشش نمونه‌های پلی وینیل الکل

تنش ماکزیمم (MPa)	کرنش ماکزیمم	انرژی ماکزیمم (j)	مدول یانگ	تنش شکست (MPa)	کرنش شکست	انرژی شکست (j)	
۴/۲۵۲۵	۰/۷۴	۱۹/۱۹۵۸۵	۴/۳۳۹	۰/۰۲	۰/۹۸	۱۹/۱۹۵۸۵	نمونه اول
۳/۹	۰/۸۲	۱۹/۱۳۷۱۲	۴/۳۸۶	۳/۹	۰/۸۸	۲۳/۵۳۳۰۶	نمونه
۰/۱۹۶۲	۰/۰۵	۰/۰۲۹۳۶	۰/۰۲۳	۱/۹۲	۰/۰۴	۳/۱۶۸۶	انحراف معیار
۴/۰۵۶۲	۰/۷۸	۱۹/۱۶۶۴۸	۴/۳۶۲۵	۱/۹۴	۰/۹۳	۲۱/۳۶۴۴۶	میانگین

باتوجه به جدول (۴-۲) میانگین تنش و کرنش ماکزیمم دو نمونه به ترتیب $4/056 \text{ MPa}$ و $0/74$ است که این مقادیر نزدیک به مقادیر به دست آمده توسط آقای آدیشو گدشو^۱ است و احتمالاً این نمونه‌ها بعد از انجام کراس لینک به علت پیوندهای مولکولی و پایداری و استحکام مکانیکی، تنش ماکزیمم افزایش و کرنش کاهش یابد، یعنی نمونه خواص کشسانی کمتری ایجاد کند [۵۳]. از آنجایی که این ماده یک پلیمر نرم و دارای انعطاف پذیری بالایی است، انتظار می‌رفت که دارای کرنش ماکزیمم نمونه بیشتری باشد و همچنین به علت فرآیند تولید الکتروریسی و قرارگیری نانو الیاف و برخی از الیاف زودتر و برخی دیرتر می‌شکنند، در نتیجه بین تنش ماکزیمم و تنش نهایی نمونه اختلافاتی ایجاد می‌شود ولی احتمالاً در نمونه دوم فیبرها به صورت یکنواخت شکسته شده‌اند و در تنش نهایی نمونه به صورت ناگهانی شکسته شده است. میانگین مدول الاستیسیته پلی وینیل الکل $4/26 \text{ MPa}$ حاسبه شد و عدد به دست آمده با مقدار گزارش شده توسط نازنین افغان مشابه هست [۷۷].

۴-۲- آنالیز میکرو ساختاری

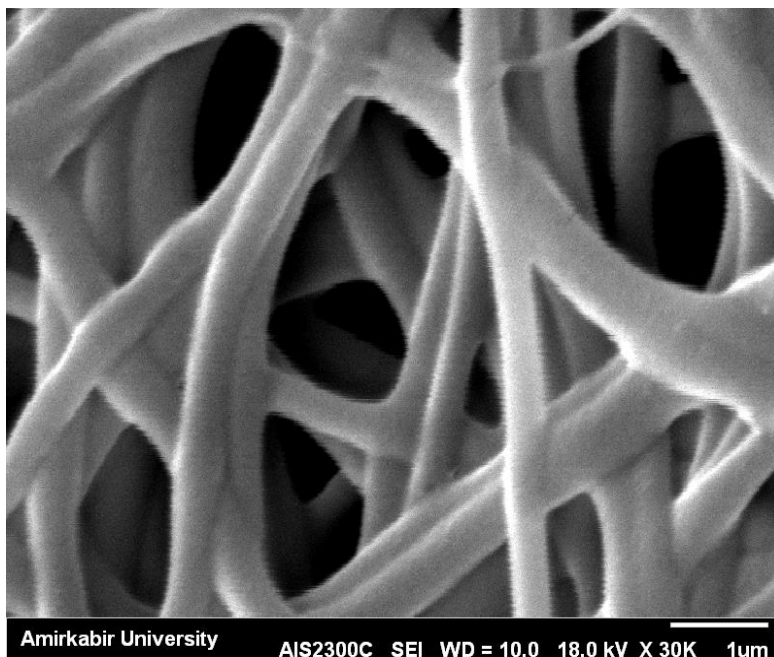
۴-۲-۱- آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی

بررسی خواص ریزساختاری یکی از مهم‌ترین آزمون‌های انجام شده است. این آزمون به منظور تعیین اندازه فیبرهای پلی وینیل الکل و فیبرین، تعداد تخلخل‌های داربست پلی وینیل الکل، نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با درصدهای مختلف فیبرینوژن و ترومبین، جهت‌گیری فیبرها در هر غلظت از فیبرین و سایر خواص میکرو ساختاری به صورت شرح داده شده در فصل سوم انجام شد.

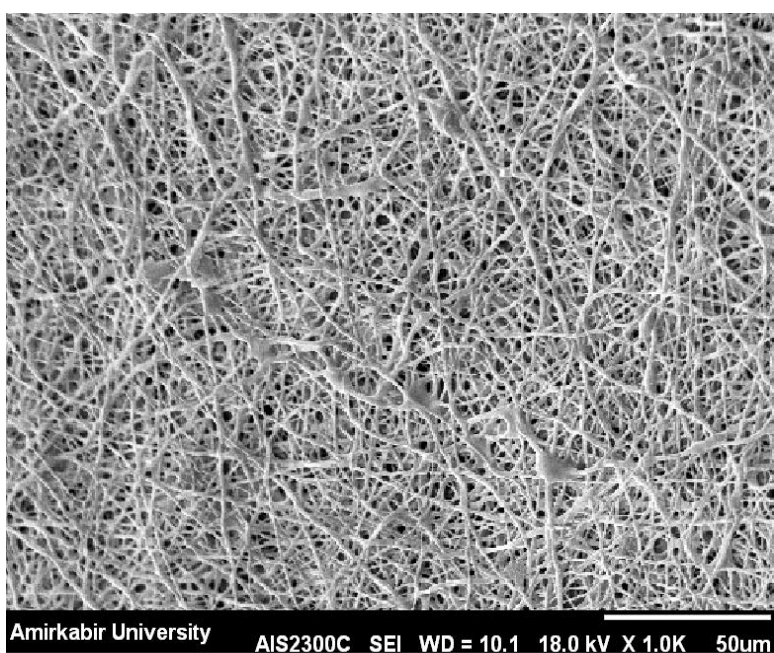
ابتدا از داربست پلی وینیل الکل در بزرگنمایی‌های مختلف عکس برداری شد. سپس با نرم‌افزار image j اندازه فیبرها، جهت‌گیری و درصد تخلخل‌ها اندازه‌گیری شد. به منظور امکان نفوذ فیبرها به داخل داربست میانگین اندازه تخلخل‌ها باید در حد نانومتر باشد در غیر این صورت فیبرها نفوذ نمی‌کنند و یک ماده ناهمگن ایجاد می‌شود.

از میان نتایج حاصل شده از عکس‌های SEM درصدی از فیبرینوژن و ترومبین اعمال شده روی داربست پلی وینیل الکل که دارای تخلخل مناسب‌تر به منظور نفوذ سلول‌ها به داخل آن داشتند به عنوان نمونه مرجع برای بررسی و انجام دیگر آزمون‌های مکانیکی و بیولوژیکی استفاده می‌شود؛ که با توجه به منابع مطالعه شده این مقدار تخلخل باید در حدود $10 \mu m$ باشد.

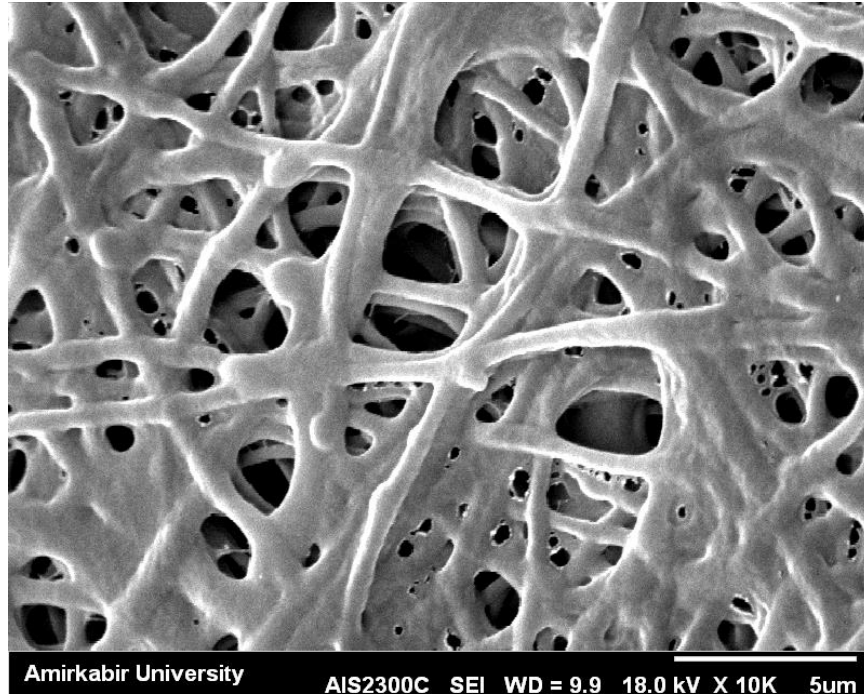
شکل (۳-۴) عکس میکروسکوپی داربست پلی وینیل الکل را در دو بزرگنمایی مختلف نشان می‌دهد و شکل‌های (۴-۴)، (۵-۴) و (۵-۴) عکس‌های میکروسکوپی نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین را به ترتیب در غلظت‌های پایین، زیاد و متوسط ترومبین و فیبرینوژن را نیز در هر دو بزرگنمایی عکس برداری شده نشان می‌دهد.



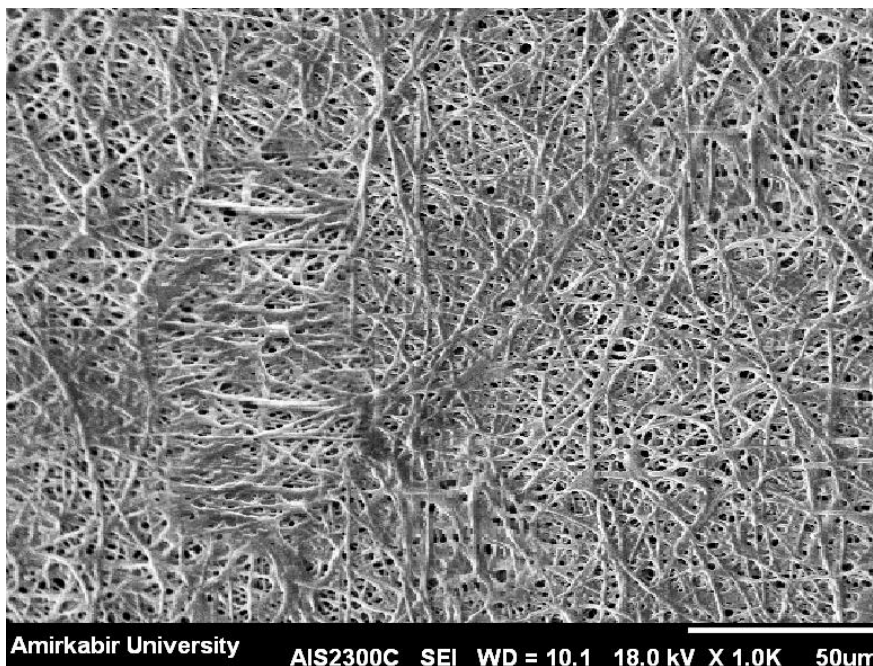
شکل ۴-۳: الف) تصویر میکروسکوپی پلی وینیل الکل با بیشترین بزرگنمایی



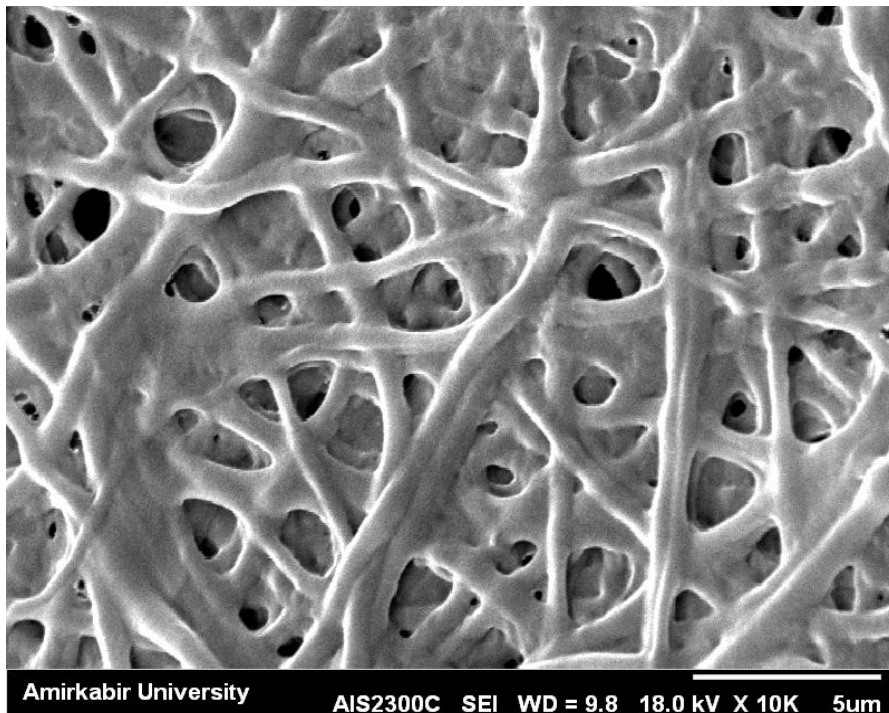
شکل ۴-۳: ب) تصویر میکروسکوپی داربست پلی وینیل الکل با کمترین بزرگنمایی



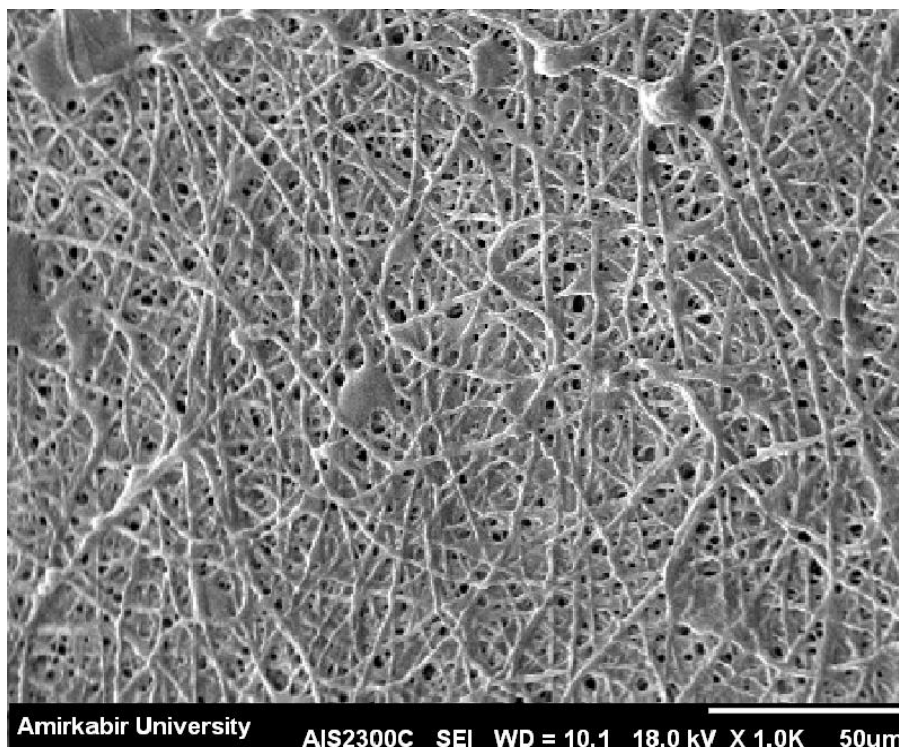
شکل ۴-۴: الف) تصویر میکروسکوپی روبشی داربست نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با غلظت پایین و با بیشترین بزرگنمایی



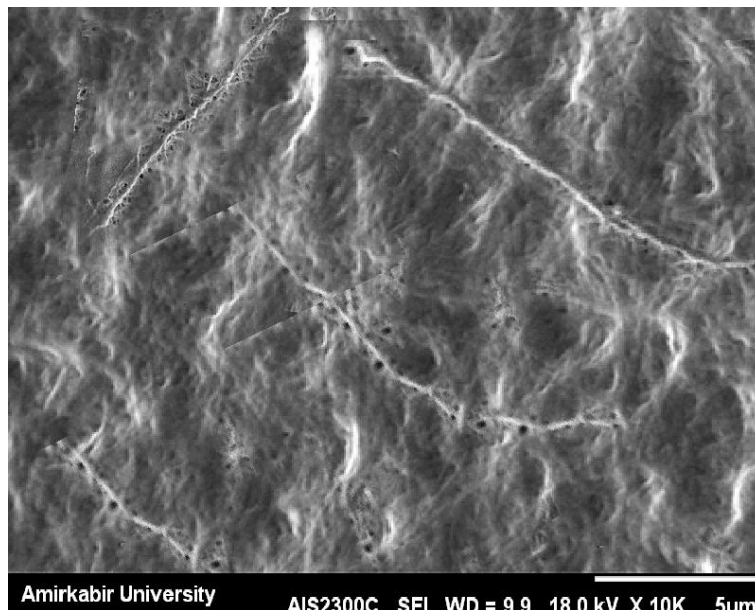
شکل ۴-۴: ب) تصویر میکروسکوپی روبشی داربست نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با غلظت پایین و با کمترین بزرگنمایی



شکل ۴-۵: الف) تصویر میکروسکوپی روبشی داربست نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با غلظت متوسط و با بیشترین بزرگنمایی



شکل ۴-۵: الف) تصویر میکروسکوپی روبشی داربست نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با متوسط و با بیشترین بزرگنمایی



شکل ۴-۶: الف تصویر میکروسکوپی روبشی داربست نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با غلظت زیاد و با بیشترین بزرگنمایی



شکل ۴-۶: ب تصویر میکروسکوپی روبشی داربست نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با غلظت زیاد و با کمترین بزرگنمایی

با استفاده از آنالیز تصویر داربست پلی وینیل الکل توسط نرم‌افزار z image میانگین قطر الیاف

پلی وینیل الکل حدود ۳۰۰-۴۰۰ mm است. شکل و ظاهر الیاف اتصال عرضی شده، انسجام و پیوستگی

ساختار نهایی را تأیید می‌کند. این امر، لزوم ایجاد اتصالات عرضی را در حصول خواص مکانیکی حداکثری نشان می‌دهد. همانطور که از تصاویر فوق و جدول (۳-۴) مشخص است میزان تخلخل‌ها در هر نمونه با افزایش غلظت فیبرینوزن و ترومبین کاهش یافته است.

جدول ۳-۴: بررسی میزان تخلخل‌ها در داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-

فیبرین

پلی وینیل الکل-غلظت کم	پلی وینیل الکل-غلظت متوسط فیبرین	پلی وینیل الکل-غلظت زیاد فیبرین	پلی وینیل الکل	میانگین اندازه حفرات (um)	درصد تخلخل‌ها
۱۰-۸	۷-۸	۰/۰۱	۱۵-۲۰		
۶۰	۵۵	۰	۶۵		

اندازه تخلخل‌ها در داربست پلی وینیل الکل حدود $20 \mu m$ است و از فیبرین بزرگ‌تر است و می‌توان نتیجه گرفت که فیبرین به راحتی در این حفره‌ها نفوذ کند. نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل با غلظت زیاد فیبرین دارای هیچ‌گونه تخلخلی نیست و فیبرین تماماً سطح و حفرات داربست پلی وینیل الکل را اشغال کرده است و این مناسب برای استفاده در آزمون‌های دیگر و کاربردهای بیولوژیکی نیست زیرا سلول قدرت نفوذ در آن را ندارد؛ اما در مورد نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل حاوی غلظت متوسط و کم فیبرین، میانگین اندازه تخلخل‌ها نزدیک به یکدیگر است و مناسب برای نفوذ سلول‌ها به داخل آن است. ولی با توجه به تصاویر شکل (۴-۴ الف و ب) غلظت پایین فیبرین دارای غلظت کمی بوده و در برخی از قسمت‌های داربست پلی وینیل الکل نفوذ نکرده است. پس بر این اساس نانو کامپوزیت دارای غلظت متوسط فیبرین پلی وینیل الکل مناسب‌تر است. درصد تخلخل داربست پلی وینیل الکل ۷۰ می‌باشد و با افزایش غلظت فیبرین به ۶۰ و ۵۵ کاهش یافته است و در نهایت در غلظت بالا هیچ‌گونه تخلخلی وجود ندارد. همچنین جهت‌گیری فیبرها در همه نمونه‌ها به صورت رندوم بوده است.

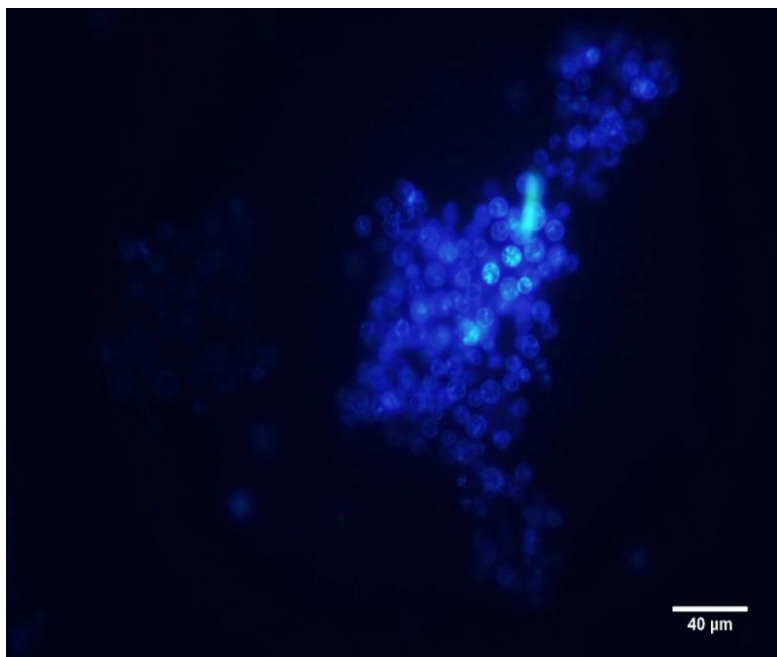
وهینا آروتزینا همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی خواص میکرو ساختاری کلاژن و فیبرین درمان زخم پرداختند. در این تحقیق شعاع فیبرها حدود ۶۶-۱۳ nm و تخلخل‌های فیبر حدود ۳۰۰-۹۰۰ nm توسط نرم‌افزار z image محاسبه شد. طول فیبرها از اندازه تخلخل‌های داربست پلی وینیل الکل کاملاً کمتر است و به راحتی وارد این حفرات می‌شود همچنین اندازه تخلخل‌ها فیبرین حدود ۳۰۰ nm است که این اندازه می‌تواند برای نفوذ سلول‌ها به آن‌ها مناسب باشد [۷۸]. توکلی در مورد روش آماده‌سازی و خواص مکانیکی کامپوزیت PLCG-فیبرین پژوهشی انجام داد. وی ابتدا میزان تخلخل‌های داربست را ۸۷ درصد محاسبه و مجموع اندازه حفرات حدود ۱۰۰ nm گزارش کرد. و به علت اینکه درصد حفرات بین ۷۰-۹۰ بود از نفوذ فیبرین به داخل تخلخل‌ها اطمینان حاصل کردند سپس تخلخل‌ها را با افزودن فیبرین مجدداً اندازه‌گیری کرده و بیان کرد با افزودن فیبرین، تخلخل‌ها به ۲۵ درصد کاهش می‌یابد و با افزایش بیشتر فیبرین به مقادیر کمتر کاهش می‌یابد [۷۹]. دامین لی و همکارانش از نانو کامپوزیت کلسیم فسفات همراه با فیبرین در مهندسی بافت استفاده کرد و از بررسی خواص میکرو ساختاری مشاهده نمود که حفرات با افزایش درصد ترومبین و فیبرینوزن به صورت چشم‌گیری از ۵۰۰ nm به ۶۰ nm کاهش می‌یابد [۲۶]. سیررخا و همکارانش خواص میکرو ساختاری داربست پلی وینیل الکل همراه با فیبرین را بررسی کردند و دریافتند که با غلظت‌های بیشتر فیبرین در پلی وینیل الکل میزان حفرات متصل به یکدیگر کاهش می‌یابد [۸۰].

در اکثر پژوهش‌های ذکر شده اندازه فیبرهای داربست توسط نرم‌افزار z image محاسبه شدند که این روش رایج‌ترین روش و تقریباً نتایج منطقی استخراج می‌کند و اعداد به دست آمده در قطر فیبرها نزدیک به عدد حاصل شده در این پژوهش است. اما میزان تخلخل‌ها دارای تفاوت است که احتمالاً به علت شرایط الکترورسی داربست و ولتاژ اعمالی است ولی در همه نتایج با افزودن فیبرینوزن و ترومبین درصد و اندازه تخلخل‌ها کاهش یافته و جهت‌گیری رندوم فیبرها با افزودن فیبرین تغییر نکرده است.

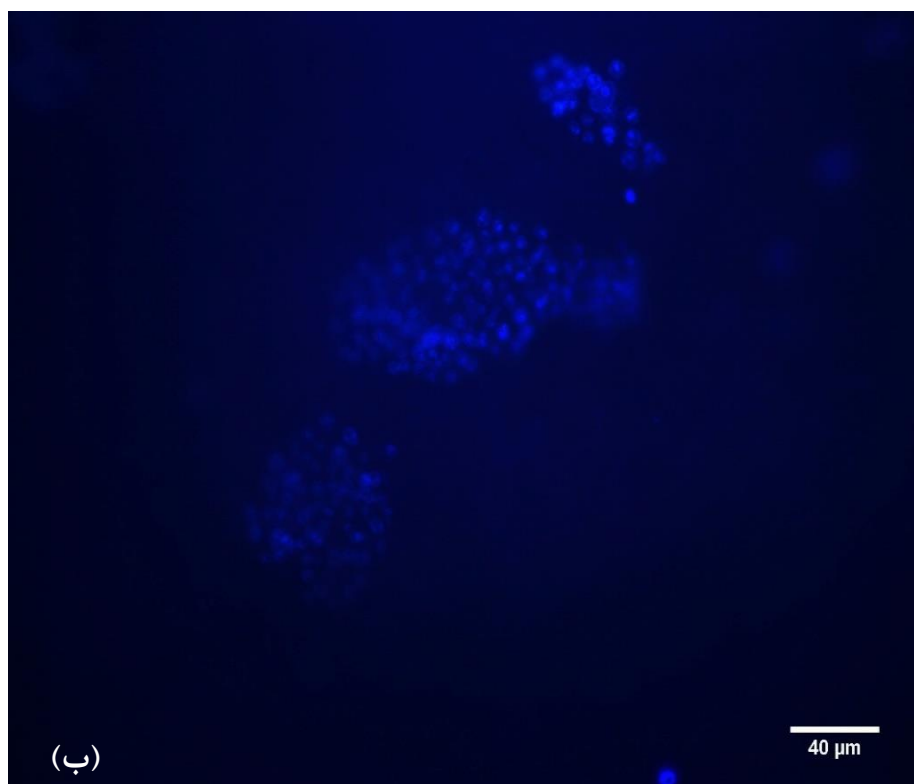
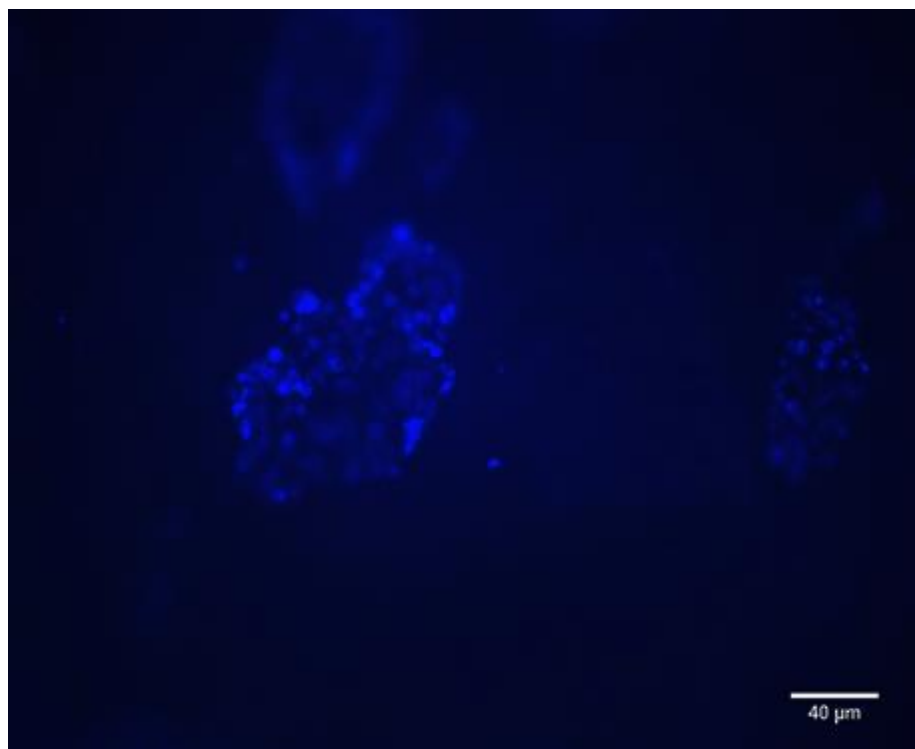
۴-۳- آزمون چسبندگی سلولی

برای تعیین میزان چسبندگی سلول به داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین (با غلظت متوسط فیبرین) و همچنین نفوذ سلول و توزیع آن در سطح داربست از روش رنگ‌آمیزی یا DAPI استفاده شد. همان‌طور که در فصل سوم بخش شرح داده شد بعد از رنگ‌آمیزی هسته سلول‌ها از نور فلورسانس مونتاژ شده در میکروسکوپ نوری استفاده شد، تا چسبندگی نمونه‌ها مشخص شود. لازم به ذکر است این روش فقط چسبنده بودن نانو کامپوزیت و داربست پلی وینیل الکل را تأیید می‌کند و برای تعیین دقیق میزان چسبندگی از آزمون MTT که در بخش بعد توضیح داده خواهد شد استفاده گردید.

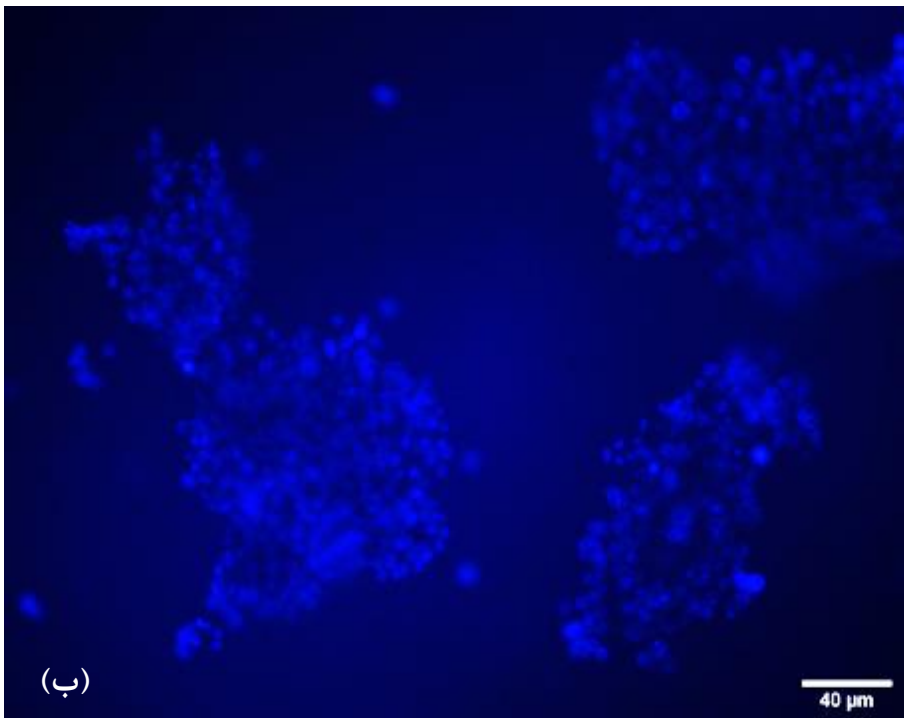
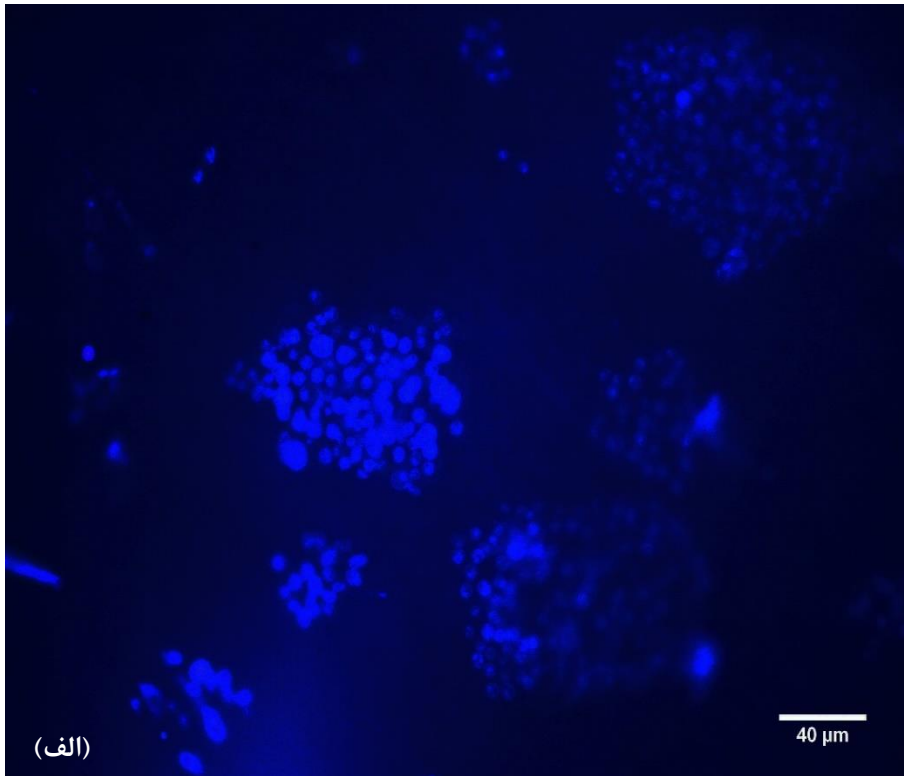
ابتدا یک تصویر از قرارگیری سلول‌ها روی پلیت گرفته در شکل (۴-۷) نشان داده شده است. سپس از هر نمونه برای افزایش دقت نتایج و صحت کار دو تصویر با بزرگنمایی ۴۰۰ گرفته شد. شکل (۴-۸) مربوط به داربست پلی وینیل الکل و شکل (۴-۹) مربوط به نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین است. در هر تصویر سلول‌های رنگ‌شده به صورت آبی روشن مشخص است.



شکل ۴-۷: تصویر فلورسانس قرارگیری سلول‌ها روی پلیت



شکل ۴-۸ الف و ب: تصویر فلورسانس از داربست پلی وینیل الکل



شکل ۴-۹ الف و ب: تصویر فلورسانس از نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین

جدول (۴-۴) تعداد سلول‌های چسبیده شده به داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی

وینیل الکل فیبرین شمارش شده در هریک از تصاویر را به صورت تقریبی نشان می‌دهد.

جدول ۴-۴: تعداد سلول‌های چسبیده شده به داربست و نانو کامپوزیت

تکرار اول	داربست پلی وینیل الکل	نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین
تکرار اول	کمتر از ۵۰ سلول	بیشتر از ۲۰۰ سلول
تکرار دوم	کمتر از ۶۰ سلول	بیشتر از ۲۵۰ سلول
میانگین	۱۱۰ سلول	۲۲۵ سلول

شکل (۷-۴) مربوط به سلول‌های قرارگرفته روی پلیت است همان‌طور که از تصویر مشخص است برخی از سلول‌ها روی یکدیگر قرارگرفته‌اند. در شکل (۸-۴ الف و ب) توزیع یکنواختی از سلول‌ها روی سطح وجود داشته است. قسمت‌هایی از تصویر به دلیل واکنش سلول‌ها با داربست، سلول‌ها به صورت غیریکنواخت توزیع شده‌اند. نفوذ هسته سلول‌ها به تخلخل‌ها و همگنی قسمت‌هایی از ساختار نشان‌دهنده اندازه مناسب و پیوسته بودن حفرات است، شکل (۹-۴) دارای وضوح بهتری از نمایش سلول‌ها است که احتمالاً به دلیل کاهش تخلخل‌ها بعد از افزودن فیبرین به داربست پلی وینیل الکل و در نتیجه کاهش نفوذ سلول‌ها به تخلخل‌ها است و سلول‌ها بیشتر در سطح رویی نانو کامپوزیت قرارگرفته‌اند. همچنین تصاویر نشان‌دهنده چسبندگی مناسب سلول‌ها به داربست و همچنین نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل فیبرین است.

در (شکل ۹-۴ الف و ب) نسبت به (شکل ۸-۴ الف و ب) تعداد بیشتری سلول روی سطح مشاهده می‌شود که این می‌تواند به دلیل افزایش خاصیت چسبندگی نانو کامپوزیت فیبرین-پلی وینیل الکل به سلول‌ها باشد. جدول (۴-۴) مقادیر تقریبی سلول‌های چسبیده شده به داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین را با استفاده از شمارش سلول‌ها توسط نرم‌افزار image از روی تصاویر میکروسکوپی گرفته شده شمارش شد و همان‌طور که انتظار می‌رفت و در ادامه تعاریف قبل تغییر

چشم‌گیری در تعداد سلول‌ها بعد از افزودن فیبرین قابل مشاهده شده است. پریشا چنازی^۱ و همکارانش نیز در تحقیقی از آزمون دپی به منظور بررسی چسبندگی سلول به داربست فیبری تقویت شده با فیبرین پرداختند نتایج ایشان نیز افزایش چسبندگی سلول‌ها به داربست با غلظت بالاتر فیبرین را نشان داد همچنین از این روش برای میزان تکثیر سلول‌ها با غلظت‌های مختلف پرداختند و نتایج توزیع بیشتر سلول‌ها با افزایش غلظت فیبرین را نشان داد [۸۰]. همچنین کِرینال کوچل از این آزمون برای تعیین میزان چسبندگی کامپوزیت آلژانیک و هیدروآپاتیت استفاده کردند و از تصاویر به دست آمده که دارای سلول‌های بیشتری بود دریافتند که با افزودن هیدروآپاتیت به آلژانیک میزان چسبندگی سلول به سطح بیشتر می‌شود [۸۱].

سارا فوری^۲ در پژوهشی از هیدروژل فیبرین به منظور تعیین میزان چسبندگی به میکرو الکترودها پرداختند در این بررسی‌ها از DAPI به منظور تعیین میزان سلول‌های پروتئینی چسبیده شده به فیبرین و میکرو الکترودها و همچنین هیبرید میکروالکترودها همراه با فیبرین استفاده کردند. نتایج چسبندگی بیشتر سلول‌های پروتئین به هیبرید میکروالکترودها یاخته‌ای را حضور فیبرین استفاده کردند. نتایج چسبندگی دای از رنگ زنگی هسته سلول به روش دپی در داربست فیبرین دارای ماکرو تخلخل‌ها به منظور تعیین میزان چسبندگی سلول به فیبرین استفاده کردند نتایج حاکی از چسبندگی مناسب سلول‌ها و نفوذ سلول‌ها به تخلخل‌های فیبرین بود [۸۳]. این پژوهش‌ها به درستی افزایش چسبندگی سلول به زمینه را با افزودن محرک به داربست نشان دادند. از این رو با احتمال زیاد این افزایش سلول‌های چسبیده شده را می‌توان به افزودن فیبرین به عنوان یک محرک قوی به پلی وینیل الکل نسبت داد.

در تصاویر گرفته شده توسط میکروسکوپ برخی از سلول‌ها به صورت واضح نبوده و تار هستند که این به دلیل تک کانونی بودن میکروسکوپ مورد استفاده فاصله کانونی در قسمت‌های مختلف و اعماق مختلف تصویر متفاوت هست. در مورد نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین چون فیبرین به داخل

1 - Krishna Prasad Chennazhi

2 - SaraDeFaveri

منافذ نفوذ کرده پس تخلخل‌های داخلی کمتر شده و سلول‌ها اکثراً در یک سطح هستند و واضح‌تر دیده می‌شوند.

۴-۴- آزمون زاویه تماس یا ترشوندگی

آزمون زاویه تماس برای بررسی میزان ترشوندگی و در نتیجه چسبندگی سلول‌ها به داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل فیبرین با غلظت متوسط فیبرینوزن با دستگاه اندازه‌گیری زاویه تماس و کشش سطحی به روش شرح داده شده در فصل سوم انجام شد. در این روش زاویه‌ی ترشوندگی راست و چپ توسط نرم‌افزار اندازه‌گیری شد و میانگین هر دو زاویه استخراج شد.

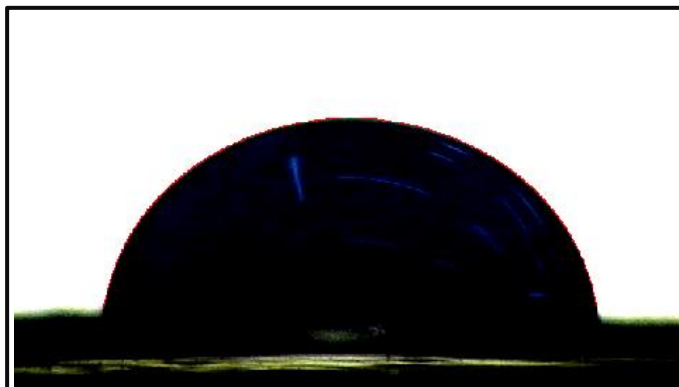
جدول (۴-۵) زاویه‌ی ترشوندگی چپ، راست و میانگین داربست پلی وینیل الکل و پلی وینیل الکل- فیبرین را نشان می‌دهد. شکل (۴-۱۰) و شکل (۴-۱۱) به ترتیب تصاویر میکروسکوپی، قطره قرارگرفته روی نمونه پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین را نشان می‌دهد.

جدول ۴-۵: زاویه تماس چپ و راست پلی وینیل الکل و فیبرین-پلی وینیل الکل

زاویه چپ	زاویه راست	میانگین دو زاویه	
۸۱/۳۵	۸۱/۳۵	۸۱/۳۵	پلی وینیل الکل
۱۰۷/۰۲	۱۱۲/۲۹	۱۰۹/۶۵	پلی وینیل الکل- فیبرین



شکل ۴-۱۰: تصویر میکروسکوپی تست تر شوندگی روی داربست پلی وینیل الکل



شکل ۴-۱۱: تصویر میکروسکوپی آزمون تر شوندگی روی نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین

چسبندگی سلول یک فرآیند مهم در سلامتی زخم است و درک فرآیند چسبندگی سلولی برای ایجاد بیومواد درزمینه‌ی مهندسی بافت ابزار پزشکی مهم است [۸۵]، چسبندگی به دودسته کلی تقسیم‌بندی می‌شود: نوع اول چسبندگی سلول به سلول که در مورد مواد آب‌گریز مطرح است و نوع دیگر چسبندگی سلول به زیر لایه این نوع چسبندگی مربوط به مواد با خاصیت آب‌دوستی است از آنجایی‌که این نانو کامپوزیت‌ها در زخم‌ها استفاده می‌شوند. انتظار می‌رود که ماده دارای زاویه‌ی ترشوندگی کم و یا خیس‌پذیری بالا باشد (ماده آب‌دوست باشد) که روی زیست‌سازگاری و چسبندگی سلول به داربست تأثیرگذار است و موجب چسبندگی، جذب پروتئین و ترشح ماتریس خارج از سلولی می‌شود [۸۶].

میزان عدد زاویه تماس پلی وینیل الکل به صورت خالص ۱۰۹ درجه است یعنی این ماده آب‌گریز است. از آنجایی که پلی وینیل الکل دارای گروه‌های عامل OH و CH₃ هست [۸۷]. بسته به شرایط تولید آب‌دوست یا آب‌گریز می‌شود در حالتی که پلی وینیل الکل به روش الکتروریسی به صورت لیاف ساخته شود انتظار می‌رود ماده دارای زاویه‌تر شونده‌گی بالای ۹۰ درجه و آب‌گریز باشد و در نهایت دارای خیس پذیری کمی است [۵۱].

امیر دوستگانی در پژوهشی میزان ترشوندگی داربست پلی وینیل الکل الکتروریسی شده و پلی وینیل الکل هم‌ره با نانو ذرات هیدرواکسی آپاتیت را بررسی کرد و نتایج نشان داد که پلی وینیل الکل قبل از افزودن هیدرواکسی آپاتیت به صورت آب‌گریز بوده و بعد از افزودن هیدرواکسی آپاتیت به صورت آب‌دوست درآمده است. در مطالعه‌ای دیگر متیو گرندکولاس به بررسی خواص سطحی پلی وینیل الکل حاوی POSS^۱ پرداخت و نتایج حاکی از کاهش زاویه‌ی ترشوندگی بعد از افزودن POSS به داربست پلی وینیل الکل بود [۸۷].

همان‌طور که در تصاویر مشخص شده است با افزودن فیبرین میزان ترشوندگی داربست به ۸۱ درجه کاهش یافته و در نتیجه میزان آب‌دوستی ماده افزایش یافته است. با توجه به نتایج پژوهش کنیون فاز فیبرین افزوده شده نسبتاً آب‌دوست است [۸۸] و احتمالاً به دلیل افزودن به داربست پلی وینیل الکل روی خواص نهایی تأثیر گذاشته و آب‌دوستی کامپوزیت نهایی را افزایش داده است میزان این تغییرات در محدوده کم است، زیرا غلظت فیبرینوزن افزوده شده برای تشکیل فیبرین کم است علت کم بودن این غلظت عدم پر شدن تخلخل‌های ماده‌ی نهایی و نفوذ مناسب سلول‌ها در چسب است. از آنجایی که این ترکیب نانو کامپوزیتی جدید می‌باشد، نمی‌توان نتایج آزمون ترشوندگی خود را با پژوهش‌های انجام‌شده توسط دیگر محققان مقایسه کرد و نتایج را به صورت قطعی تأیید و یا تکذیب کرد.

1 - polyhedral oligomeric silsesquioxane

این نتایج با نتایج به دست آمده از آزمون چسبندگی به روش DAPI مطابق است که دور از انتظار نبود. پس می توان با احتمال زیاد بیان کرد که داربست نانو کامپوزیتی پلی وینیل الکل - فیبرین دارای خواص چسبندگی مناسبی به منظور چسبندگی سلول به زمینه است.

۴-۵- آزمون تکثیر کشت سلولی

۴-۵-۱- آزمون MTT

به منظور میزان تأثیر داربست نانو کامپوزیتی پلی وینیل الکل- فیبرین بر رشد و تکثیر سلول های بنیادی مقایسه با داربست پلی وینیل الکل از آزمون MTT استفاده شد. برای انجام این آزمون از سلول های بنیادی مزانشیمی انسانی استفاده شده است. آزمون کشت سلولی در بازه ی زمانی چهار روزه انجام شد.

جدول (۴-۶) نتایج چگالی نوری^۱ (OD) حاصل شده برای هر دو نوع نمونه داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین را در هر سه تکرارپذیری برای روزهای اول تا چهارم نشان می دهد انتظار می رود میزان چگالی نوری با افزایش روزهای کشت سلولی افزایش یابد و از سوی دیگر فیبرین محرک مناسبی برای کشت و تکثیر سلولی می باشد انتظار داریم که چگالی نوری در نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین از داربست پلی وینیل الکل در هرروز بیشتر باشد.

جدول ۴-۶: دانسیته نوری داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین با سه تکرارپذیری در روزهای اول تا چهارم

روز چهارم	روز سوم	روز دوم	روز اول	نمونه	
۱/۴۳	۰/۹۶	۰/۷۸	۰/۵	پلی وینیل الکل - فیبرین	تکرار ۱
۱/۰۹	۰/۸۵	۰/۶۲	۰/۵۱	پلی وینیل الکل	
۱/۴۲	۱/۰۸	۰/۶۳	۰/۴۵	پلی وینیل الکل - فیبرین	تکرار ۲
۱/۰۷	۰/۹۱	۰/۶۹	۰/۴۴	پلی وینیل الکل	
۱/۳۱	۱/۰۷	۰/۷۲	۰/۵۲	پلی وینیل الکل - فیبرین	تکرار ۳
۱/۰۲	۰/۸۲	۰/۵۶	۰/۳۸	پلی وینیل الکل	

جدول (۴-۷) میانگین نتایج تکرارپذیری پلی داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی

وینیل الکل فیبرین را در روزهای اول تا سوم نشان می‌دهد

جدول ۴-۷: میانگین چگالی نوری سه تکرار برای داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل - فیبرین در روزهای اول تا چهارم

پلی وینیل الکل - فیبرین	پلی وینیل الکل	
۰/۴۹	۰/۴۴۳۳	روز اول
۰/۷۱	۰/۶۲۳	روز دوم
۰/۸۶	۱/۰۳	روز سوم
۱/۰۶	۱/۳۸	روز چهارم

انحراف معیار به منظور مقایسه نتایج حاصل شده از هر تکرار با میانگین کل محاسبه شد هرچه

اعداد در هر تکرار نزدیک تر به مقدار میانگین باشد میزان انحراف معیار کمتر و توزیع داده مناسب تر

است.

جدول (۴-۸) انحراف معیار داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین

را در روزهای اول تا چهارم نشان می‌دهد.

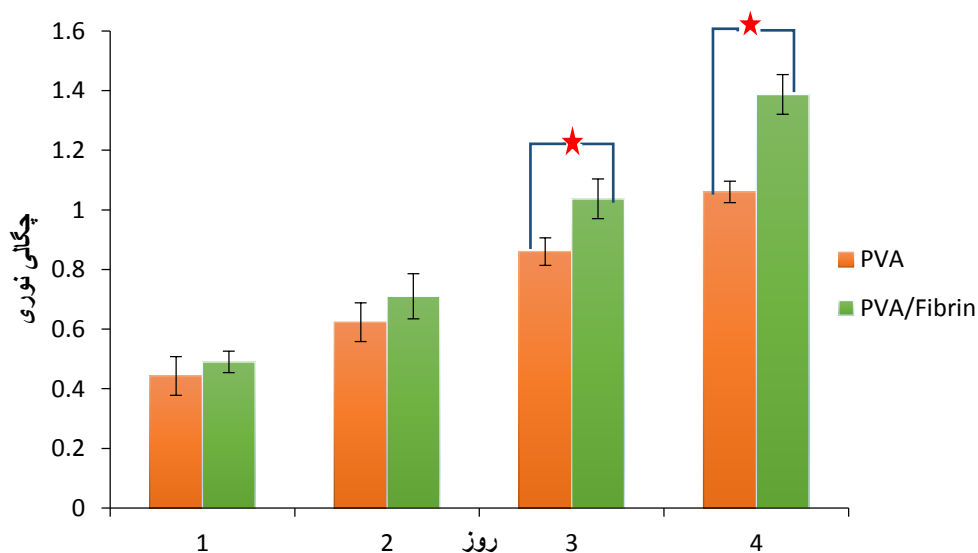
جدول ۴-۸: انحراف معیار داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین در روزهای اول تا چهارم

پلی وینیل الکل - فیبرین	پلی وینیل الکل	
۰/۰۳۶۰۵	۰/۰۶۵۰۶	روز اول
۰/۰۷۵۴۹	۰/۰۶۵۰۶	روز دوم
۰/۰۶۶۵۸	۰/۰۴۵۸۲	روز سوم
۰/۰۶۶۵۸	۰/۰۳۶۰۵۵	روز چهارم

شکل (۴-۱۲) نمودار ستونی میانگین چگالی نوری نتایج حاصل از هر سه تکرارپذیری برای

روزهای اول تا چهارم نشان می‌دهد. این نتایج میزان افزایش تکثیر سلول در نمونه‌ها به صورت کمی

نشان می‌دهد.



شکل ۴-۱۲: نمودار ستونی مقایسه چگالی نوری داربست پلی وینیل الکل و نانو کامپوزیت پلی وینیل

الکل-فیبرین در روزهای اول تا چهارم

برای تعیین نرمال بودن نتایج برای نمونه‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک^۱ (آزمون نرمال بودن داده‌ها) استفاده شد و برای به دست آوردن میزان معناداری اعداد حاصل شده از دو گروه مختلف پلی وینیل الکل و کامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین از آزمون T-Test مستقل که یک آزمون پارامتریک برای داده‌های کمی با جنسیت مختلف است استفاده شد. در این روش اگر اعداد به دست آمده کمتر از ۰/۰۵ باشند داده‌ها حاصل شده معنادار هستند به این معنی که احتمال خطا کاهش یافته و می‌توان به منظور تأیید نتایج به این نتایج استناد کرد. همچنین هرچه مقدار اعداد به دست آمده کاهش یابد می‌توان گفت که در تعداد بالاتر تکرار آزمون نیز نتایج به همین صورت خواهد بود. در غیر این صورت دارای توزیع پراکنده‌ای هستند که باعث کاهش دقت و اطمینان از نتایج حاصل می‌شود (جدول ۴-۹).

جدول ۴-۹: عدد P-value اعداد حاصل شده برای نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین و داربست پلی وینیل الکل در روزهای اول تا چهارم

نمونه	روز اول	روز دوم	روز سوم	روز چهارم
پلی وینیل الکل و پلی وینیل الکل- فیبرین	۰/۳۳۸	۰/۲۰۶	۰/۰۱۹	۰/۰۰۱۷

همان‌طور که در جدول (۴-۶) مشاهده می‌شود چگالی نوری در هر بار تکرار در هرروز بیشتر در نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل- فیبرین بیشتر از داربست پلی وینیل الکل است که نشان دهنده افزایش سلول‌ها و در نتیجه افزایش غلظت محیط کشت است و این نتایج احتمالاً به علت وجود فیبرین به عنوان یک محرک قوی برای تکثیر سلول‌ها هست.

جدول (۴-۸) انحراف معیار حاصل شده از هر تکرار دو نوع نمونه را در هرروز نشان داد که اعداد حاصل شده همان‌طور که انتظار می‌رفت کمتر از ۱ است و می‌توان با احتمال زیاد گفت که نتایج در هر سری از آزمون اختلاف کمی با مقدار میانگین دارد.

1 - Shapiro-wik

در شکل (۴-۱۲) به رشد و افزایش تکثیر سلولی باگذشت زمان است که در مورد نمونه شاهد و نمونه کامپوزیتی به وضوح مشاهده می شود در روزهای اول و دوم تعداد سلولها در نمونه نانو کامپوزیتی با داربست پلی وینیل الکل تفاوت چشم گیری ندارد این بدین معنی است که تفاوت زیادی میان تعداد سلولها در دو نوع نمونه وجود نداشت. تأثیر مستقیم داربستهای نانو کامپوزیتی پلی وینیل الکل- فیبرین بر رشد و تکثیر سلولها در روزهای سوم و چهارم به خوبی قابل مشاهده است. پس از گذشت سه روز، تکثیر و رشد سلولهای بنیادی مزانشیمی بر روی داربست نانو کامپوزیتی پلی وینیل الکل به طور چشم گیری بیشتر از نمونه کنترل یا همان داربست پلی وینیل الکل بود رشد سلولها در هرروز افزایش یافته است و احتمالاً در روزهای بعدی این افزایش بسیار بیشتر خواهد شد. فراهم شدن یک بستر مناسب جهت رشد سلولها، مهم ترین و مؤثرترین دلیل افزایش رشد سلولها در حضور فیبرین است.

نتایج آزمون معناداری در نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل فیبرین و پلی وینیل الکل معنادار شدن آزمون در روزهای سوم و چهارم را نشان می دهد (p کمتر از ۰/۰۵) در روز چهارم عدد حاصل شده ۰/۰۰۱ است که این عدد از ۰/۰۵ کمتر هست یعنی نتایج حاصل شده در روز چهارم را با اطمینان زیاد می توانیم تأیید کنیم و احتمال خطا بسیار کم شده است ولی در روزهای اول احتمالاً به دلیل رشد ناهمگن سلولها در هر سری نمونه عدد معنادار بودن بیشتر از ۰/۰۵ است و نتایج معنادار نیست.

در ادامه به بررسی و مقایسه نتایج پژوهش خود با چند پژوهش پرداخته می شود:

کیرشا پرازد در پژوهشی به بررسی و ساخت نانو فیبرهای الکترورسی شده که توسط فیبرین تقویت شده اند پرداخت وی در این تحقیق از چند نمونه پلیمری مانند پلی وینیل الکل، پلی کاپرولاکتون استفاده کرد و با روش الکترورسی همزمان با افزودن فیبرینوژن و ترومبین به محلول پلیمری ساخت از پلی وینیل الکل در تحقیقات برای بافت نرم استفاده کرد و آزمون کشت سلولی با سلولهای بنیادی نتایج چشم گیری در تکثیر سلولها و معناداری را از روز دوم نشان داد [۸۰]. احتمالاً تفاوت در معناداری

اعداد حاصل شده در پژوهش‌های مختلف می‌تواند به علت نوع سلول، شرایط کشت سلول و مهم‌تر از همه واکنش‌های مختلف داربست با سلول باشد. در ادامه سارا نیکبخت و همکارانش به ساخت نانو الیاف الکترورسی شده پلی وینیل الکل حاوی نانولوله کربنی و زیست فعال در کاربردهای مهندسی بافت عصب پرداختند. در این پژوهش معنادار بودن اعداد از روز سوم آغاز شد و روزهای اول و دوم داده علاوه بر پراکنده بودن تکثیر سلولی بیشتری بعد از کامپوزیت بودن نداشتند ولی در روز چهارم نمونه اعداد به صورت چشم‌گیر معنادار شدند همچنین در این نتایج تعداد سلول‌ها در روزهای اول تا چهارم مشابه به مقادیر داربست پلی وینیل الکل بود و اختلاف جزئی در مقادیر حاصل شده احتمالاً به علت تفاوت شرایط الکترورسی و درصد خلوص پلی وینیل الکل است [۹۰]. همچنین لورنت بیدلت و همکارانش PVA IPN-fibrin را با غلظت‌های مختلف پلی وینیل الکل و فیبرین در حین الکترورسی تولید کردند و سپس خواص بیوساختاری آن در روز اول، سوم و هفتم بررسی کردند نتایج حاکی از افزایش چنددرصدی در میزان تکثیر سلولی با افزایش میزان فیبرین بود همچنین در روز سوم میزان تکثیر سلول به حداکثر خود رسید و سپس به علت عدم جذب بیشتر پروتئین کاهش یافت همچنین و معناداری اعداد در همه روزها نزدیک به ۰/۰۵ و قابل قبول بود [۷۵].

کیم و همکارانش به بررسی اثر غلظت فیبرینوژن در خواص بیولوژیکی فیبرین در کاربردها درمانی به عنوان چسب زخم در روزهای اول، ششم و دوازدهم پرداختند؛ و از آزمون آنووا برای بررسی معناداری نتایج استفاده کردند. با افزایش فیبرینوژن تکثیر سلول در روز ششم افزایش یافت و در غلظت ۱۰ درصد فیبرینوژن نتایج معناداری بیشتری داشت [۳۷]. معصومه پاک‌نظر و همکارش در آزمایشی به کشت سلولی روی نمونه‌های پلی وینیل الکل و کامپوزیت پلی‌وینیل‌الکل به همراه هیدروکسی آپاتیت پرداختند. آزمایش MTT تفاوت معناداری را در زنده ماندن سلول‌ها در زمان‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ روز بین نمونه کنترل و سایر نمونه‌ها نشان داد. این نتیجه مؤید این نکته بود که داربست تولید شده برای رشد و چسبندگی سلول‌ها در زمان یاد شده مناسب بوده و موجب مرگ سلولی و کنده شدن آن از داربست

نشده است و برای استفاده در مهندسی بافت مناسب هست [۹۰]. همایگونگ ژئو و همکارانش در مطالعه-ای به بررسی چسبندگی و سیالیت داربست کامپوزیتی فیبرین- ذرات فسفات کلسیم پرداختند. ایشان از آنالیز آماری T.Test و بانفرونی برای نرمال و معنادار بودن داده‌ها در آزمون کشت سلولی در ۷ روز استفاده کردند. نتایج حاصل افزایش دانسیته نوری یا تعداد سلول‌ها با افزایش درصد ذرات فسفات کلسیم را نشان داد و اعداد معناداری آماری در روزهای سوم تا هفتم کمتر از ۰,۰۵ بود که می‌توان گفت داده‌ها معنادار بودند [۹۱].

از مقایسه نتایج خود با نتایج حاصل شده از پژوهش‌های فوق می‌توان گفت که آزمون T.Test تقریباً پرکاربردترین آزمون برای تعیین معنادار و انواع آزمون‌های انیوا برای تعیین نرمال بودن نتایج استفاده می‌شود. نتایج پژوهش‌های دیگر معنادار بودن و تکثیر بیشتر سلول‌ها را از روزهای دوم به بعد نشان می‌دهد که این تفاوت به علت شرایط کشت سلول و عکس‌العمل سلول نسبت به داربست است و منطقی هست.

فصل پنجم:

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

۵-۱- نتیجه‌گیری

هدف از اینکار تولید نانوکامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین است. لذا برای این هدف پودر پلی وینیل الکل با غلظت ۱۰ درصد وزنی در حلال آب الکتروسی شدف سپس فیبرین با سه غلظت بالا، متوسط و پایین فیبرینوژن و ترومبین (به ترتیب ۱:۵، ۱:۱۰ و ۱:۲۰) به داربست پلی وینیل الکل افزوده شد و خواص میکروساختاری، فیزیکی، مکانیکی و بیولوژیکی داربست پلی وینیل الکل و نانوکامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین بررسی شد.

۱- با آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی به کمک نرم افزار Image J، اندازه فیبرهای پلی وینیل الکل حدود ۴۰۰nm تخمین زده شد. اندازه تخلخل‌ها با افزایش درصد فیبرین به صورت چشم‌گیری کاهش می‌یابد. ولی این افت به اندازه‌ای بود که بتواند سلول‌ها در آن نفوذ کند. از میان این غلظت‌ها، غلظت متوسط فیبرینوژن و ترومبین دارای تخلخل و غلظت مناسب بود و برای آزمون‌های دیگر انتخاب شد.

۲- به منظور دستیابی به میزان استحکام داربست پلی وینیل الکل، به عنوان زمینه برای قرارگیری فیبرین در آن، همچنین کاربرد در پانسمان زخم، ابتدا استحکام مکانیکی داربست پلی وینیل الکل اندازه‌گیری شد، مقدار به دست آمده حدود ۴MPa است طبق مطالعات انجام شده این میزان برای استفاده به عنوان داربست مناسب بود.

۳- آزمون ترشوندگی کاهش زاویه ترشوندگی از ۱۰۹ درجه به ۸۱ درجه بعد از افزودن فیبرین به داربست پلی وینیل الکل را نشان داد که این نتایج حاکی از آب‌دوست شدن نانو کامپوزیت و در نتیجه افزایش خاصیت چسبندگی نانو کامپوزیت را نشان داد.

۴- آزمون چسبندگی افزایش چند برابری تعداد سلول‌های چسبیده شده به نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین را نسبت به داربست پلی وینیل الکل نشان داد؛ که این نتایج با نتایج حاصل از آزمون تر شوندگی مشابه است.

۵- کشت سلولی نمونه‌ها در چهار روز انجام شد معناداری نتایج روزهای سوم و چهارم کمتر از ۰/۰۵ بود که می‌توان گفت کاملاً معنادار هستند و در هر روز تعداد سلول‌ها در نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل از داربست پلی وینیل الکل بیشتر بود و در روزهای سوم و چهارم این مقادیر به صورت چشم‌گیری افزایش یافت.

نتایج نشان می‌دهد که با توجه به خواص مکانیکی مناسب داربست و خواص چسبندگی و بیولوژیکی قابل قبول نانو کامپوزیت پلی وینیل الکل-فیبرین می‌توان از این کامپوزیت به عنوان یک ماده بیولوژیک به منظور استفاده در پانسمان زخم به کار برد.

۵-۲- پیشنهادها

- استفاده از بخار گلورتالدهید به منظور کراس لینک پلی وینیل الکل
- مخلوط سازی پودر پلی وینیل الکل و فیبرین قبل از الکتروریسی داربست
- انجام آزمایش‌ها *in vivo*

منابع و مراجع

- [١] M. Kazemzadeh-Narbat, N. Annabi, and A. Khademhosseini, "Surgical sealants and high strength adhesives." ELSEVIER SCI LTD THE BOULEVARD, LANGFORD LANE, KIDLINGTON, OXFORD OX5 1GB, OXON, ENGLAND, 2015.
- [٢] N. Annabi *et al.*, "Highly elastic micropatterned hydrogel for engineering functional cardiac tissue," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 23, no. 39, pp. 4950–4959, 2013.
- [٣] S. R. Mobley, J. Hilinski, and D. M. Toriumi, "Surgical tissue adhesives," *Facial Plast. Surg. Clin. North Am.*, vol. 10, no. 2, pp. 147–154, 2002.
- [٤] N. Annabi, S. M. Mithieux, P. Zorlutuna, G. Camci-Unal, A. S. Weiss, and A. Khademhosseini, "Engineered cell-laden human protein-based elastomer," *Biomaterials*, vol. 34, no. 22, pp. 5496–5505, 2013.
- [٥] J. P. Vacanti and R. Langer, "Tissue engineering: the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation," *Lancet*, vol. 354, spp. S32–S34, 1999.
- [٦] P. Bianco and P. G. Robey, "Stem cells in tissue engineering," *Nature*, vol. 414, no. 6859, pp. 118–121, 2001.
- [٧] F. J. O'Brien, "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering," *Mater. Today*, vol. 14, no. 3, pp. 88–95, 2011.
- [٨] S. Malhotra *et al.*, "Mesenchymal Stromal Cells as Cell-Based Therapeutics for Wound Healing," *Stem Cells Int.*, vol. 2016, 2016.
- [٩] L. Le Guéhennec, P. Layrolle, and G. Daculsi, "A review of bioceramics and fibrin sealant," *Eur Cell Mater*, vol. 8, no. 13, p. 1e11, 2004.
- [١٠] B. Mizrahi, C. Weldon, and D. S. Kohane, "Tissue adhesives as active implants," in *Active Implants and Scaffolds for Tissue Regeneration*, Springer, 2010, pp. 39–56.
- [١١] P. J. M. Bouten *et al.*, "The chemistry of tissue adhesive materials," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 39, no. 7, pp. 1375–1405, 2014.
- [١٢] P. Ferreira, M. H. Gil, and P. Alves, "AN OVERVIEW IN SURGICAL ADHESIVES".
- [١٣] A. Lunderquist, B. Borjesson, T. Owman, and S. Bengmark, "Isobutyl 2-cyanoacrylate (bucrylate) in obliteration of gastric coronary vein and esophageal varices," *Am. J. Roentgenol.*, vol. 130, no. 1, pp. 1–6, 1978.
- [١٤] G. Schneider, "Tissue adhesives in otorhinolaryngology," *GMS Curr. Top.*

- Otorhinolaryngol. Head Neck Surg.*, vol. 8, 2009.
- [١٥] R. W. Busuttill, "A comparison of antifibrinolytic agents used in hemostatic fibrin sealants," *J. Am. Coll. Surg.*, vol. 197, no. 6, pp. 1021–1028, 2003.
- [١٦] S. Bergel, "Ueber wirkungen des fibrins," *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*, vol. 35, no. 15, pp. 663–665, 1909.
- [١٧] J. Z. Young and P. B. Medawar, "Fibrin suture of peripheral nerves: measurement of the rate of regeneration," *Lancet*, vol. 236, no. 6101, pp. 126–128, 1940.
- [١٨] H. P. Spangler, F. Braun, J. Holle, E. Moritz, and E. Wolner, "Die lokale Anwendung von Fibrinogen und Kollagen zur Blutstillung in der Herzchirurgie," *Wien Med Wochenschr*, vol. 126, no. 7, pp. 86–89, 1976.
- [١٩] O. V. Kim, R. I. Litvinov, J. W. Weisel, and M. S. Alber, "Structural basis for the nonlinear mechanics of fibrin networks under compression," *Biomaterials*, vol. 35, no. 25, pp. 6739–6749, 2014.
- [٢٠] A. HENSCHEN and J. A. N. McDONAGH, "RFA Zwaal and HC Hemker (Eds). Blood Coagulation© 1986 Elsevier Science Publishers BV (Biomedical Division)," *New Compr. Biochem.*, vol. 13, p. 171, 1986.
- [٢١] S. T. Boyce, I. A. Holder, A. P. Supp, G. D. Warden, and D. G. Greenhalgh, "Delivery and activity of antimicrobial drugs released from human fibrin sealant.," *J. Burn Care Res.*, vol. 15, no. 3, pp. 251–255, 1994.
- [٢٢] C. V. S. Leite *et al.*, "An evaluation by rat colon anastomosis of the efficacy of fibrin glue derived from snake venom," *J. Venom. Anim. Toxins*, vol. 6, no. 2, pp. 180–193, 2000.
- [٢٣] H. O. Stolf, "The use of fibrin adhesive derived from snake venom and the evaluation of skin grafting using skin from the patient's nasolabial fold," *J. Venom. Anim. Toxins*, vol. 5, no. 2, p. 227, 1999.
- [٢٤] K. Siedentop, K. O'Grady, J. J. Park, T. Bhattacharya, and B. Sanchez, "Fibrin sealant for treatment of cerebrospinal fluid leaks.," *Otol. Neurotol.*, vol. 20, no. 6, pp. 777–780, 1999.
- [٢٥] M. Valbonesi, G. Giannini, F. Migliori, R. D. Costa, and A. Galli, "The role of autologous fibrin-platelet glue in plastic surgery: a preliminary report," *Int. J. Artif. Organs*, vol. 25, no. 4, pp. 334–338, 2002.
- [٢٦] D. Le Nihouannen *et al.*, "Micro-architecture of calcium phosphate granules and fibrin glue composites for bone tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 27, no. 13, pp. 2716–

- 2722, 2006.
- [٢٧] M. R. Jackson, "Fibrin sealants in surgical practice: an overview," *Am. J. Surg.*, vol. 182, no. 2, pp. S1–S7, 2001.
- [٢٨] J. W. Weisel and R. I. Litvinov, "Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications," *Blood*, vol. 121, no. 10, pp. 1712–1719, 2013.
- [٢٩] S. R. Coughlin, "Thrombin signalling and protease-activated receptors," *Nature*, vol. 407, no. 6801, pp. 258–264, 2000.
- [٣٠] G. Davi and C. Patrono, "Platelet activation and atherothrombosis," *N. Engl. J. Med.*, vol. 357, no. 24, pp. 2482–2494, 2007.
- [٣١] P. A. Janmey, J. P. Winer, and J. W. Weisel, "Fibrin gels and their clinical and bioengineering applications," no. September 2008, pp. 1–10, 2009.
- [٣٢] S. Riley, R. Gilbert, "Widely Used Types and Clinical Applications of D-Dimer Assay," *Laboratory Medicine Advance Access published*, 2016.
- [٣٣] K. Arjunan, "Role of tissue adhesive in otorhinolaryngology *," vol. 2, no. 3, 2012.
- [٣٤] J. W. Weisel, "The mechanical properties of fibrin for basic scientists and clinicians," *Biophys. Chem.*, vol. 112, no. 2, pp. 267–276, 2004.
- [٣٥] M. MW, "Fibrinogen and fibrin structure and functions.pdf," *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, vol. 3, pp. 1894–904, 2005.
- [٣٦] P. J. M. Bouten *et al.*, "Progress in Polymer Science The chemistry of tissue adhesive materials," vol. 39, pp. 1375–1405, 2014.
- [٣٧] B.-S. Kim, H.-M. Sung, H.-K. You, and J. Lee, "Effects of fibrinogen concentration on fibrin glue and bone powder scaffolds in bone regeneration," *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 118, no. 4, pp. 469–475, 2014.
- [٣٨] M.-C. Wang, G. D. Pins, and F. H. Silver, "Preparation of fibrin glue: the effects of calcium chloride and sodium chloride," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 3, no. 2, pp. 131–135, 1995.
- [٣٩] T. B. M. D, R. Hogdson, L. E. A. Hughes, S. Gynecol, D. Al Green, and A. D, "PLATELET GEL AS AN INTRAOPERATIVELY PROCURED PLATELET-BASED ALTERNATIVE TO Sir : We enjoyed reading the article by Kulher *et al.* about the use of fibrin sealant in the prevention of seromas in a rat best managemeni of seromas is prevention . We would lik," vol. 101, no. 4, pp. 1–2, 1993.
- [٤٠] J. P. Davim and C. A. Charitidis, "Nanocomposites: materials, manufacturing and

- engineering,” 2013.
- [۴۱] W. G. E, “POLYMER NANOCOMPOSITES : SYNTHETIC AND NATURAL FILLERS,” vol. 7, no. 3, pp. 159–178, 2005.
- [۴۲] A. K. Gaharwar, N. A. Peppas, and A. Khademhosseini, “Nanocomposite hydrogels for biomedical applications,” *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 111, no. 3, pp. 441–453, 2014.
- [۴۳] M. Świętek, W. Tokarz, J. Tarasiuk, S. Wroński, and M. Błażewicz, “Magnetic Polymer Nanocomposite for Medical Application,” *Acta Phys. Pol. A*, vol. 125, no. 4, pp. 891–894, 2014.
- [۴۴] D. Feldman, “Polymer nanocomposites in medicine,” *J. Macromol. Sci. Part A*, vol. 53, no. 1, pp. 55–62, 2016.
- [۴۵] R. A. Hule and D. J. Pochan, “Polymer nanocomposites for biomedical applications,” *Mrs Bull.*, vol. 32, no. 04, pp. 354–358, 2007.
- [۴۶] I. Kotela, J. Podporska, E. Soltysiak, K. J. Konsztowicz, and M. Blazewicz, “Polymer nanocomposites for bone tissue substitutes,” *Ceram. Int.*, vol. 35, no. 6, pp. 2475–2480, 2009.
- [۴۷] L. S. Nair and C. T. Laurencin, “Biodegradable polymers as biomaterials,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, no. 8–9, pp. 762–798, 2007.
- [۴۸] آ. مشاک, “مروری کوتاه بر پلیمرهای زیست تخریب پذیر در سامانه های دارورسانی,” *فصلنامه علمی-ترویجی بسیارش.* ۱۳۹۳, ۳, ۲۳–۳۵.
- [۴۹] K. G. Dinesh, “A Review on Biodegradation of Polymers,” *Biotechnol. An Indian J.*, vol. 12, no. 12, 2016.
- [۵۰] A. K. Mohanty, M. Misra, and G. Hinrichsen, “Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview,” *Macromolecular Materials and Engineering*, vol. 276–277, pp. 1–24, 2000.
- [۵۱] S. K. Saxena, “Polyvinyl alcohol (PVA),” *Chem. Tech. Assess.*, vol. 61, pp. 3–7, 2004.
- [۵۲] A. R. Kakroodi, S. Cheng, M. Sain, and A. Asiri, “Mechanical, thermal, and morphological properties of nanocomposites based on polyvinyl alcohol and cellulose nanofiber from aloe vera rind,” *J. Nanomater.*, vol. 2014, p. 139, 2014.
- [۵۳] A. G. Destaye, C. K. Lin, and C. K. Lee, “Glutaraldehyde vapor cross-linked nanofibrous PVA mat with in situ formed silver nanoparticles,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 5, no. 11, pp. 4745–4752, 2013.

- [۵۴] N. A. Peppas and R. E. Berner, "Proposed method of intracordal injection and gelation of poly (vinyl alcohol) solution in vocal cords: polymer considerations," *Biomaterials*, vol. 1, no. 3, pp. 158–162, 1980.
- [۵۵] T. Noguchi *et al.*, "Poly (vinyl alcohol) hydrogel as an artificial articular cartilage: evaluation of biocompatibility," *J. Appl. Biomater.*, vol. 2, no. 2, pp. 101–107, 1991.
- [۵۶] K. Jolanta PAJAŁ, Michał ZIEMSKI, Bożena NOWAK – Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia, "Poly(vinyl alcohol) – biodegradable vinyl material," *CHEMIK*, vol. 64, no. 7, pp. 523–530, 2010.
- [۵۷] J. Pająk, M. Ziemiński, and B. Nowak, "Poli (alkohol winylowy)-biodegradowalne tworzywo winylowe," *Chemik*, vol. 64, no. 7–8, pp. 523–530, 2010.
- [۵۸] S. Muppalaneni and H. Omidian, "Polyvinyl Alcohol in Medicine and Pharmacy: A Perspective," *J. Dev. Drugs*, vol. 2013, 2014.
- [۵۹] E. T. Wise and S. G. Weber, "A simple partitioning model for reversibly crosslinked polymers and application to the poly (vinyl alcohol)/borate system ('slime')," *Macromolecules*, vol. 28, no. 24, pp. 8321–8327, 1995.
- [۶۰] E. A. Kamoun, X. Chen, M. S. M. Eldin, and E.-R. S. Kenawy, "Crosslinked poly (vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers," *Arab. J. Chem.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–14, 2015.
- [۶۱] J. M. Morancho *et al.*, "Thermal analysis of enhanced poly (vinyl alcohol)-based proton-conducting membranes crosslinked with sulfonation agents for direct methanol fuel cells," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 124, no. S1, 2012.
- [۶۲] P. H. C. Camargo, K. G. Satyanarayana, and F. Wypych, "Nanocomposites: synthesis, structure, properties and new application opportunities," *Mater. Res.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–39, 2009.
- [۶۳] Y. E. KIYAK and E. Cakmak, "Nanofiber Production Methods," *Tekst. Teknol. Elektron. Derg.*, vol. 8, no. 3, pp. 49–60, 2014.
- [۶۴] E. Košťák, X. Xing *et al.*, "Subwavelength and nanometer diameter optical polymer fibers as building blocks for miniaturized photonics integration". INTECH Open Access Publisher, 9219.ová, "Polymeric nanofibers production," *nano Mater.*
- [۶۵] N. Bhardwaj and S. C. Kundu, "Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique," *Biotechnol. Adv.*, vol. 28, no. 3, pp. 325–347, 2010.
- [۶۶] G. Larsen, R. Spretz, and R. Velarde-Ortiz, "Use of coaxial gas jackets to stabilize Taylor cones of volatile solutions and to induce particle-to-fiber transitions," *Adv.*

- Mater.*, vol. 16, no. 2, pp. 166–169, 2004.
- [٤٧] N. Saba, P. M. Tahir, and M. Jawaaid, “A review on potentiality of nano filler/natural fiber filled polymer hybrid composites,” *Polymers (Basel)*, vol. 6, no. 8, pp. 2247–2273, 2014.
- [٤٨] R. T. Tidrick and E. D. Warner, “Fibrin fixation of skin transplants,” *Surgery*, vol. 15, no. Jan., p. 90, 1944.
- [٤٩] H. Matras, H. P. Dinges, H. Lassmann, and B. Mamoli, “Zur nahtlosen interfazikulären Nerventransplantation im Tierexperiment,” *Wien Med Wochenschr*, vol. 122, no. 37, pp. 517–523, 1972.
- [٥٠] I. A. Thomazini-Santos, “Fibrin adhesive from snake venom: the effect of adding epsilon-aminocaproic acid, tranexamic acid, and aprotinin for coaptation of wound edges in rat skin incisions,” *J. Venom. Anim. Toxins*, vol. 7, no. 1, pp. 148–149, 2001.
- [٥١] K. S. Thomson, S. K. Dupras, C. E. Murry, M. Scatena, and M. Regnier, “Proangiogenic microtemplated fibrin scaffolds containing aprotinin promote improved wound healing responses,” pp. 195–205, 2014.
- [٥٢] J. H. Ryu *et al.*, “Implantation of bone marrow mononuclear cells using injectable fibrin matrix enhances neovascularization in infarcted myocardium,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 3, pp. 319–326, 2005.
- [٥٣] C. M. Hassan and N. A. Peppas, “Structure and applications of poly (vinyl alcohol) hydrogels produced by conventional crosslinking or by freezing/thawing methods,” in *Biopolymers· PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites*, Springer, 2000, pp. 37–65.
- [٥٤] J. A. Panadero, L. Vikingsson, J. L. G. Ribelles, V. Sencadas, and S. Lanceros-Mendez, “Fatigue prediction in fibrin poly-ε-caprolactone macroporous scaffolds,” *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 28, pp. 55–61, 2013.
- [٥٥] L. Bidault, M. Deneufchatel, C. Vancaeyzeele, O. Fichet, and V. Larreta-Garde, “Self-supported fibrin-polyvinyl alcohol interpenetrating polymer networks: an easily handled and rehydratable biomaterial,” *Biomacromolecules*, vol. 14, no. 11, pp. 3870–3879, 2013.
- [٥٦] H. K. Salem and C. Thiemermann, “Mesenchymal stromal cells: Current understanding and clinical status,” *Stem Cells*, vol. 28, no. 3, pp. 585–596, 2010.
- [٥٧] N. Afghan, “Mechanical Properties of Poly (vinyl alcohol) Based Blends and Composites,” no. May, 2016.
- [٥٨] O. Moreno-Arotzena, J. Meier, C. del Amo, and J. García-Aznar, “Characterization of

- Fibrin and Collagen Gels for Engineering Wound Healing Models,” *Materials*, vol. 8, no. 4, pp. 1636–1651, 2015.
- [۷۹] E. Tavakoli, “Preparation, Characterization and Mechanical Assessment of Poly.pdf.” *Procedia Materials Science*, pp. 124 – 130 5th, 2015.
- [۸۰] S. R. Perumcherry, K. P. Chennazhi, S. V Nair, D. Menon, and R. Afeesh, “A novel method for the fabrication of fibrin-based electrospun nanofibrous scaffold for tissue-engineering applications,” *Tissue Eng. Part C. Methods*, vol. 17, no. 11, pp. 1121–30, 2011.
- [۸۱] R. Kumar, S. Beguin, and H. C. Hemker, “The influence of fibrinogen and fibrin on thrombin generation--evidence for feedback activation of the clotting system by clot bound thrombin,” *Thromb. Haemost.*, vol. 72, no. 5, pp. 713–721, 1994.
- [۸۲] S. De Faveri, E. Maggiolini, E. Miele, F. De Angelis, and F. Cesca, “Bio-inspired hybrid microelectrodes: a hybrid solution to improve long-term performance of chronic intracortical implants,” vol. 7, no. April, pp. 1–12, 2014.
- [۸۳] Y. Dai, G. Liu, L. Ma, and C. Gao, “inductive regeneration of full-thickness,” *J. Mater. Chem. B*, vol. 4, pp. 4410–4419, 2016.
- [۸۴] J. A. Finlay, M. E. Callow, L. K. Ista, G. P. Lopez, and J. A. Callow, “The influence of surface wettability on the adhesion strength of settled spores of the green alga *Enteromorpha* and the diatom *Amphora*,” *Integr. Comp. Biol.*, vol. 42, no. 6, pp. 1116–1122, 2002.
- [۸۵] R. Tzoneva, N. Faucheux, and T. Groth, “Wettability of substrata controls cell–substrate and cell–cell adhesions,” *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-General Subj.*, vol. 1770, no. 11, pp. 1538–1547, 2007.
- [۸۶] S. Li and A. H. Barber, “Individual Electrospun Poly (Vinyl Alcohol) Nanofiber Wetting using AFM,” in *MRS Proceedings*, 2012, vol. 1424, pp. mrsf11–1424.
- [۸۷] M. Grandcolas, N. Rival, E. Landsem, and C. Simon, “Preparation of POSS-based PVA and PLA nanofibers using needleless electrospinning,” 2016.
- [۸۸] C. J. Van Oss, “Surface properties of fibrinogen and fibrin,” *J. Protein Chem.*, vol. 9, no. 4, pp. 487–491, 1990.
- [۸۹] اسماعیلی، “ساخت داربست نانوکامپوزیتی کیتوسان/پلی وینیل الکل/نانولوله کربنی/شیشه زیست فعال برای مهندسی بافت عصب،” *مواد پیشرفته در مهندسی*، ۱۳۹۵، ۱، ۳۵.
- [۹۰] نظر پاک، معصومه. فرزانه، پورعسگری، “بررسی چسبندگی و نفوذ سلول های مزانشیمی به داربست متخلخل از نانوکامپوزیت هیدروکسی آپاتیت/PVA،” *مهندسی پزشکی زیستی*، ۴، سوم، ۲۹۱–۲۹۸.

- [۹۱] H. Zhao, L. Ma, C. Gao, J. Wang, and J. Shen, "Fabrication and properties of injectable β -tricalcium phosphate particles/fibrin gel composite scaffolds for bone tissue engineering," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 29, no. 3, pp. 836–842, 2009.

پیوست

اعداد نیرو - طولیل شدگی نمونه‌ها

ردیف	نیرو (N)	طولیل شدگی (mm)	ردیف	نیرو (N)	طولیل شدگی (mm)	ردیف	نیرو (N)	طولیل شدگی (mm)	ردیف	نیرو (N)	طولیل شدگی (mm)
۱	۰	۰	۶۵	۱/۴	۹/۹۸۸۷	۳۳	۱/۲۱	۴/۹۸۵۷	۱	۹۷	۱۵/۱۴۹۸
۲	-۰/۰۱	-۰/۰۱۲	۶۶	۱/۴	۱۰/۱۴۵۷	۳۴	۱/۲۹	۵/۱۴۲۷	۲	۹۸	۱۵/۳۰۶۹
۳	-۰/۳۳	-۰/۱۳۸۱	۶۷	۱/۳۹	۱۰/۳۰۱۲	۳۵	۱/۲۳	۵/۲۹۸۲	۳	۹۹	۱۵/۴۶۲۴
۴	-۰/۸۵	-۰/۲۹۳۵	۶۸	۱/۴۳	۱۰/۴۵۸۲	۳۶	۱/۲۵	۵/۴۵۵۳	۴	۱۰۰	۱۵/۶۱۹۲
۵	۱/۰۲	-۰/۴۵۰۶	۶۹	۱/۴۲	۱۰/۶۱۳۷	۳۷	۱/۲۵	۵/۶۱۰۷	۵	۱۰۱	۱۵/۷۷۴۷
۶	۱/۰۷	-۰/۶۰۶۱	۷۰	۱/۴۱	۱۰/۷۷۰۷	۳۸	۱/۲۵	۵/۷۶۷۷	۶	۱۰۲	۱۵/۹۳۱۹
۷	۱/۱۴	-۰/۷۶۳۱	۷۱	۱/۴۱	۱۰/۹۲۶۲	۳۹	۱/۲۶	۵/۹۲۳۲	۷	۱۰۳	۱۵/۰۸۷۳
۸	۱/۱۳	-۰/۹۱۶	۷۲	۱/۴۱	۱۱/۰۸۳۴	۴۰	۱/۳۱	۶/۰۸۰۲	۸	۱۰۴	۱۶/۲۴۴۳
۹	۱/۱۹	۱/۰۷۵۶	۷۳	۱/۴	۱۱/۲۳۸۷	۴۱	۱/۲۶	۶/۲۳۵۷	۹	۱۰۵	۱۶/۳۹۹۷
۱۰	۱/۰۹	۱/۲۳۳۷	۷۴	۱/۴۳	۱۱/۳۹۴۲	۴۲	۱/۳۱	۶/۳۹۲۸	۱۰	۱۰۶	۱۶/۵۵۶۹
۱۱	۱/۱۳	۱/۳۹۰۷	۷۵	۱/۴۲	۱۱/۵۵۱۲	۴۳	۱/۲۸	۶/۵۴۸۳	۱۱	۱۰۷	۱۶/۷۱۲۳
۱۲	۱/۰۹	۱/۵۴۸۴	۷۶	۱/۴۲	۱۱/۷۰۸۴	۴۴	۱/۲۸	۶/۷۰۵۴	۱۲	۱۰۸	۱۶/۸۶۹۲
۱۳	۱/۰۹	۱/۷۰۱۹	۷۷	۱/۴۵	۱۱/۸۶۳۷	۴۵	۱/۳	۶/۸۶۰۸	۱۳	۱۰۹	۱۷/۰۲۴۸
۱۴	۱/۱۶	۱/۸۵۹۱	۷۸	۱/۴۳	۱۲/۰۲۰۸	۴۶	۱/۳۱	۷/۰۱۷۹	۱۴	۱۱۰	۱۷/۱۸۱۸
۱۵	۱/۱۳	۲/۰۱۴۵	۷۹	۱/۴۵	۱۲/۳۳۳۲	۴۷	۱/۲۸	۷/۱۷۳۷	۱۵	۱۱۱	۱۷/۳۳۷۴
۱۶	۱/۱۲	۱/۱۷۱۵	۸۰	۱/۴۶	۱۲/۴۸۸۸	۴۸	۱/۳۴	۷/۳۳۰۷	۱۶	۱۱۲	۱۷/۴۹۴۴
۱۷	۱/۰۴	۲/۳۲۷	۸۱	۱/۴۷	۱۲/۶۴۵۸	۴۹	۱/۳۲	۷/۴۸۶۲	۱۷	۱۱۳	۱۷/۶۴۹۷
۱۸	۱/۰۷	۲/۴۸۴	۸۲	۱/۴۸	۱۲/۸۰۱۱	۵۰	۱/۳۴	۷/۶۴۱۷	۱۸	۱۱۴	۱۷/۸۰۶۸
۱۹	۱/۰۸	۲/۶۳۹۵	۸۳	۱/۴۳	۱۲/۹۵۶۹	۵۱	۱/۳۱	۷/۷۹۸۹	۱۹	۱۱۵	۱۷/۹۶۲۲
۲۰	۱/۱۵	۲/۷۹۶۵	۸۴	۱/۴۵	۱۳/۱۱۴	۵۲	۱/۳۲	۷/۹۵۴۴	۲۰	۱۱۶	۱۸/۱۱۹۴
۲۱	۱/۱۸	۲/۹۵۲	۸۵	۱/۴۵	۱۳/۲۶۹۴	۵۳	۱/۳۲	۸/۱۱۱۴	۲۱	۱۱۷	۱۸/۲۷۴۸
۲۲	۱/۱۲	۱/۱۳۲۹	۸۶	۱/۴۵	۱۳/۴۲۶۶	۵۴	۱/۳۲	۸/۲۶۶۸	۲۲	۱۱۸	۱۸/۴۳۱۹
۲۳	۱/۲۱	۳/۲۶۴۵	۸۷	۱/۴۸	۱۳/۵۸۲	۵۵	۱/۳۵	۸/۴۲۳۸	۲۳	۱۱۹	۱۸/۵۸۷۴
۲۴	۱/۰۹	۳/۴۲۱۸	۸۸	۱/۵۲	۱۳/۷۳۹۲	۵۶	۱/۳۵	۸/۵۷۹۴	۲۴	۱۲۰	۱۸/۷۴۴۵
۲۵	۱/۲۳	۳/۵۷۷۱	۸۹	۱/۴۵	۱۳/۸۹۴۷	۵۷	۱/۴۲	۸/۷۳۸۶	۲۵	۱۲۱	۱۸/۹۰۰۲
۲۶	۱/۳۵	۳/۷۳۴۲	۹۰	۱/۵	۱۴/۰۵۱۷	۵۸	۱/۳۵	۸/۸۹۵۷	۲۶	۱۲۲	۱۹/۰۵۵۷
۲۷	۱/۲۰	۴/۰۴۶۹	۹۱	۱/۴۸	۱۴/۲۰۷۲	۵۹	۱/۳۱	۹/۰۵۱۲	۲۷	۱۲۳	۱۹/۲۱۲۹
۲۸	۱/۱۸	۴/۲۰۲۴	۹۲	۱/۴۷	۱۴/۳۶۴۲	۶۰	۱/۳۷	۹/۲۰۸۲	۲۸	۱۲۴	۱۹/۳۶۸۲
۲۹	۱/۱۵	۴/۳۵۷۹	۹۳	۱/۴۶	۱۵/۴۱۹۷	۶۱	۱/۴	۹/۳۶۳۷	۲۹	۱۲۵	۱۹/۵۲۵۳
۳۰	۱/۲۵	۴/۵۱۵	۹۴	۱/۵۱	۱۴/۶۷۶۷	۶۲	۱/۴	۹/۵۲۰۸	۳۰	۱۲۶	۱۹/۶۸۰۹
۳۱	۱/۱۹	۴/۴۷۰۵	۹۵	۱/۵	۱۴/۸۳۲۲	۶۳	۱/۴	۹/۶۷۶۳	۳۱	۱۲۷	۱۹/۷۳۷۹
۳۲	۱/۲۵	۴/۸۲۷۷	۹۶	۱/۵۱	۱۴/۹۹۴۳	۶۴	۱/۳۵	۹/۸۳۳۴	۳۲	۱۲۸	۱۹/۷۶۸

Abstract

Tissue engineering is now a promising strategy to treat patients who have tissue damage using cells in combination with polymeric scaffolds. Several synthetic and natural biomaterials are proposed for fabricating tissue-engineering scaffolds. In the meantime, Polyvinyl alcohol as a bio-polymer is used in tissue engineering applications as a scaffold. In this study, polyvinyl alcohol-fibrin nanobiocomposite scaffold was developed for wound dressing application. The polyvinyl alcohol scaffolds were fabricated by electrospun method, and fibrin glue with different concentrations of the fibrinogen and thrombin was injected into the scaffolds. The polyvinyl alcohol scaffolds have good mechanical properties. In order to estimate microstructure properties SEM analysis was used. The fiber diameters were estimated about 300-400nm. In addition, the size of pores was 10-20 micron which were decreased with increasing fibrin concentrations. Contact angle test was used in order to estimate hydrophobic and hydrophilic properties. Results demonstrated that polyvinyl alcohol-fibrin nanocomposite have superior hydrophilic properties when compared to polyvinyl alcohol scaffold alone. This result is consistent with total cell numbers which was achieved by a fluorescence microscope data. The cell proliferation was evaluated by MTT test on Mesenchymal Stromal Cells for 4 days. The MTT results of the cell culture experiments demonstrated that the cells were able to attach and proliferate on the polyvinyl alcohol-fibrin nanocomposite scaffolds. The results showed that PVA-fibrin nanocomposite scaffolds have the potential to be used in wound dressing tissue engineering.

Key words: Tissue engineering, nanocomposite, polyvinyl alcohol, fibrin, scaffold



Faculty of Chemical and Materials Engineering

M.Sc. Thesis in Composite Engineering

**Manufacturing And Evaluation Of The Microstructure,
Physical, Mechanical And Biological Properties Of
Polyvinyl Alcohol - Fibrin Nanocomposite**

By: Fahime Sadat Hoseini

Supervisors:

Dr Reza Taherian (ph.D)

Dr Amir Atashi (ph.D)

Advisor:

Dr Mehdi Manuchehri (ph.D)

January 2017