



دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده‌ی دندانپزشکی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه‌ی دکترای حرفه‌ای جراحی دندانپزشکی

ساخت داربست اسفنجی نانو متخلخل زیست تخریب‌پذیر بر پایه‌ی فیبروئین ابریشم با

رویکرد مهندسی بافت در ترمیم ضایعات استخوانی

استاد راهنما:

دکتر مهدی فتحی

اساتید مشاور:

دکتر علیرضا فتحی آذر

دکتر عزیز کامران

نام دانشجو:

سئویل علی حسین‌زاده خیایوی

سپاس و ستایش مر خدای را جل و جلاله که آثار قدرت
او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل
شب تار، درفشان. آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و
درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا
بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت
بیازماید.

تقدیم به

پدرم به استواری کوه، مادرم به زلالی

چشمه،

آنان که آفتاب

مهرشان در آستانه قلبم، همچنان پابرجاست و هرگز غروب
نخواهد کرد.

سپاسگزارم ، از خدای مهربانم که این فرصت را در
زندگی برایم فراهم کرد تا برای فهم اندکی از بیکرانیش
تلاشی کوچک کنم؛

و سپاسگزار استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر مهدی فتحی
هستم که با راهنمایی‌ها و کمک‌های بیدریغشان
دشواری‌های راه را برایم هموار و پیمودن مسیر را برایم
میسر نمودند، همچنین از جناب آقای دکتر علیرضا فتحی آذر
و جناب آقای دکتر عزیز کامران در مسند استادمشاور در این

کار تحقیقاتی و در هر چه پربار شدن این اثر کمک‌هایشان
همیشه شامل حال بنده بود نیز کمال تشکر را دارم.
و سپاس ویژه از خانواده عزیزم که همواره در تمامی
مراحل زندگی همراهم بوده و هستند.

تعهد نامه‌ی اصالت پایان نامه

بسمه تعالی

اینجانب سئویل علی حسین‌زاده دانش آموخته رشته‌ی دندانپزشکی مقطع دکتری حرفه‌ای به شماره‌ی دانشجویی ۱۴۰۰۱۵۰۲۹ گواهی می‌نمایم این پایان نامه تحت عنوان "ساخت داربست اسفنجی نانو متخلخل زیست تخریب پذیر بر پایه‌ی فیبروئین ابریشم با رویکرد مهندسی بافت در ترمیم ضایعات استخوانی" به راهنمایی استاد محترم دکتر مهدی فتحی به‌طور کامل اصل و بدون هرگونه سرقت علمی/ ادبی بر اساس تعریف^۱ Plagiarism نگارش شده است و تمام یا قسمتی از آن توسط فرد دیگری در پایان نامه یا مراکز علمی دیگر ارائه نشده است. در ضمن اینجانب از مقررات مربوط به عدم رعایت صداقت در ارائه‌ی پایان نامه که منجر به مردود شدن و ارجاع به شورای پژوهشی دانشکده می‌شود، اطلاع کافی دارم.

تاریخ و امضاء دانشجو

بدین وسیله اصالت (Originality) و صحت نتایج این پایان نامه مورد تأیید اینجانب دکتر مهدی فتحی استاد راهنما می‌باشد.

تاریخ و امضاء استاد راهنما

^۱Plagiarism یا سرقت علمی/ ادبی عبارت است از استفاده از تمامی یا قسمتی از مطالب یا ایده‌های منتشر شده یا منتشر نشده فرد یا افراد دیگر بدون ذکر منبع به طور مناسب یا کسب اجازه در موارد ضروری.

ساخت داربست اسفنجی نانو متخلخل زیست تخریب‌پذیر بر پایه‌ی فیبروئین ابریشم با رویکرد مهندسی بافت در ترمیم ضایعات استخوانی

چکیده

ضایعات استخوانی پریودنتال، باعث ایجاد نقص استخوان فک و صورت در اطراف ناحیه دهان می‌شود. ایجاد داربست‌های عملکردی برای مهندسی بافت استخوان در ضایعات استخوانی پریودنتال موضوعی است که در این تحقیق پیشنهاد شده است. به‌دلیل زیست‌سازگاری خوب، پایداری بالا و غیر سمی بودن، فیبروئین ابریشم به‌عنوان داربست انتخابی در این تحقیق انتخاب شد. داربست‌های فیبروئین ابریشم به‌روش خشک‌کردن انجمادی تهیه و اثر زمان بر خشک‌کردن انجمادی مورد بررسی قرار گرفت. سازماندهی مولکولی داربست‌ها با آنالیزهای مادون قرمز تبدیل فوریه FT-IR و EDX مشخص شد. همچنین در این مطالعه، اثرات فیبروئین ابریشم بر سرعت جذب آب و تجزیه‌ی زیستی داربست‌ها بررسی شده است. مورفولوژی داربست اصلاح شده و اندازه‌ی منافذ توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مشاهده شد. برای تعیین زیست‌فعالی داربست‌های فیبروئین ابریشم، اثر حضور فسفات کلسیم بر داربست‌های فیبروئین ابریشم پس از غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی شده‌ی بدن (SBF) مورد ارزیابی قرار گرفت. عملکردهای زیستی با کاشت سلول‌های MG63 در داربست‌های فیبروئین ابریشم قبل از تجزیه‌وتحلیل تکثیر سلولی و آزمایش زنده‌مانی در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که داربست‌های فیبروئینی ابریشم اسفنجی، دارای تخلخل‌های بهم پیوسته هستند. پس از ارزیابی عملکردهای زیستی، داربست‌های فیبروئین ابریشم می‌توانند تکثیر و زنده ماندن سلولی را القاء کنند. علاوه بر این، تجزیه‌وتحلیل بافت شناسی نشان داد که سلول‌ها می‌توانند در داربست‌های فیبروئین ابریشم اصلاح شده بچسبند. در نهایت، می‌توان استنباط کرد که داربست فیبروئین ابریشم، مناسب برای مهندسی بافت استخوان و نویدبخش درمان ضایعات استخوانی پریودنتال است.

واژه‌های کلیدی: داربست اسفنجی، مهندسی بافت استخوان، نانومتخلخل، فیبروئین ابریشم، ضایعات استخوانی.

فهرست مطالب:

۱ فصل اول: معرفی پژوهش

۲	مقدمه و بیان مساله	۱-۱
۲	اهداف و فرضیات تحقیق	۲-۱
۴	تعریف واژه‌های علمی و کاربردی	۳-۱
۵	چگونگی تنظیم مطالب و روند نگارش پایان نامه	۴-۱

۲ فصل دوم: مبانی نظری و پیشینه‌ی پژوهش

۷	مقدمه	۱-۲
۷	مبانی نظری و پژوهش	۲-۲
۷	مهندسی بافت	۱-۲-۲
۷	تعاریف، اصول و مبانی نظری تحقیق	۳-۲
۹	مواد پیوند استخوان پریدنتال	۱-۳-۲
۹	الو گرافت‌ها	۲-۳-۲
۱۰	زنوگرافت‌ها	۳-۳-۲
۱۰	آلوپلاست‌ها	۴-۳-۲
۱۱	مهندسی بافت سخت	۴-۲
۱۱	مهندسی بافت استخوان	۱-۴-۲
۱۲	استخوان و ساختار استخوان	۲-۴-۲
۱۳	انواع بافت استخوانی	۳-۴-۲

۱۴.....	استخوان از دیدگاه کالبدشکافی	۵-۲
۱۵.....	خواص ویژه‌ی استخوان	۱-۵-۲
۱۶.....	خواص مکانیکی بافت استخوان	۲-۵-۲
۱۷.....	انواع سلول‌های استخوانی	۳-۵-۲
۱۸.....	استخوان‌سازی	۴-۵-۲
۲۱.....	ترکیبات استخوان	۵-۵-۲
۲۱.....	ناهنجاری‌های استخوانی	۶-۵-۲
۲۱.....	مغز استخوان	۷-۵-۲
۲۲.....	بیومکانیک در مهندسی بافت استخوان	۸-۵-۲
۲۲.....	داربست مهندسی بافت	۶-۲
۲۳.....	ویژگی‌های داربست ایده‌آل	۱-۶-۲
۲۵.....	مواد مورد استفاده برای ساخت داربست استخوانی	۲-۶-۲
۲۷.....	روش‌های ساخت داربست استخوانی	۷-۲
۲۷.....	ریخته‌گری محلول و استخراج ذرات	۱-۷-۲
۲۸.....	جدایش فازی القایی	۲-۷-۲
۲۸.....	ریخته‌گری ژلی	۳-۷-۲
۲۸.....	فوم گازی	۴-۷-۲
۲۹.....	نمونه‌سازی سریع RP	۵-۷-۲
۳۰.....	الکتروریسی	۶-۷-۲
۳۰.....	فرایند خشک‌کایش انجمادی	۷-۷-۲

۳۱.....	ابریشم و کاربرد آن در مهندسی بافت	۸-۲
۳۱.....	ساختار ابریشم.....	۱-۸-۲
۳۳.....	استخراج فیبروئین از پبله‌ی کرم ابریشم.....	۲-۸-۲
۳۵.....	زیست تخریب‌پذیری ابریشم.....	۳-۸-۲
۳۵.....	کاربرد ابریشم در مهندسی بافت استخوان.....	۴-۸-۲
۳۶.....	مروری بر پیشینه‌ی تحقیقات بر پایه‌ی فیبروئین ابریشم.....	۹-۲
۴۶.....	فصل سوم : مواد و روش‌ها	۳
۴۷.....	مقدمه:	۱-۳
۴۷.....	مواد و وسایل مورد استفاده در این کار تحقیقاتی	۲-۳
۴۸.....	آماده‌سازی بیوپلیمر فیبروئین ابریشم	۳-۳
۴۹.....	ساخت داربست اسفنجی متخلخل با استفاده از فرایند خشک‌کاهش انجمادی	۴-۳
۵۰.....	مشخصه‌یابی داربست‌های تولید شده.....	۵-۳
۵۰.....	مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی.....	۱-۵-۳
۵۰.....	درجه‌ی تورم داربست تولید شده.....	۲-۵-۳
۵۱.....	اندازه‌گیری کمی میزان تخریب داربست.....	۳-۵-۳
۵۱.....	آنالیز طیف سنجی مادون قرمز FT-IR.....	۴-۵-۳
۵۱.....	ارزیابی سلولی داربست فیبروئین ابریشم.....	۵-۵-۳
۵۲.....	ارزیابی کمی سلولی.....	۶-۵-۳
۵۳.....	ارزیابی زیست‌فعالی داربست فیبروئینی تهیه شده.....	۷-۵-۳

۵۴	متغیرهای پژوهش	۶-۳
۵۴	جدول متغیرها	۱-۶-۳
۵۵	ملاحظات اخلاقی	۷-۳
۵۷	فصل چهارم: یافته‌های پژوهش	۴
۵۸	مقدمه	۱-۴
۵۸	نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی داربست‌های اسفنجی	۲-۴
۶۰	نتایج حاصل از آنالیز FT-IR	۳-۴
۶۲	نتایج تست جذب آب داربست فیبروئین ابریشم	۴-۴
۶۳	نتایج حاصل از آزمون تخریب پذیری (کاهش جرم)	۵-۴
۶۵	تصاویر SEM داربست پوشش داده شده با کلسیم فسفات همراه با آنالیز EDX	۶-۴
۶۸	نتایج حاصل از تست MTT	۷-۴
۶۹	تصاویر SEM کشت سلول بر روی داربست فیبروئین ابریشم	۸-۴
۷۱	فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری	۵
۷۲	بحث و نتیجه گیری	۱-۵
۷۵	محدودیت‌ها	۲-۵
۷۵	پیشنهاد برای کارهای تحقیقات آتی	۳-۵
۷۶	منابع	

فهرست اشکال:

- شکل ۱-۲: شماتیکی از فرایند مهندسی بافت استخوان ۱۲
- شکل ۲-۲: سیستم هاورس در استخوان متراکم ۱۳
- شکل ۳-۲: اجزای تشکیل دهنده‌ی استخوان اسفنجی ح ۱۴
- شکل ۴-۲: انواع استخوان از دید کالبدشکافی ۱۶
- شکل ۵-۲: ساختار استخوان از بافت تا سلول و تطابق عملکردی استخوان، بازسازی و ترمیم ۱۷
- شکل ۶-۲: انواع سلول‌های استخوانی ۱۸
- شکل ۷-۲: مراحل استخوان‌سازی داخل غشایی ۱۹
- شکل ۸-۲: مراحل تشکیل استخوان به‌روش داخل غضروفی ۲۰
- شکل ۹-۲: ساختار مغز استخوان ۲۲
- شکل ۱۰-۲: عملکرد سلول در حضور داربست ۲۵
- شکل ۱۱-۲: شماتیک ساخت داربست به‌روش فوم‌گازی ۲۹
- شکل ۱۲-۲: شماتیکی از فرایند تولید داربست به‌روش نمونه‌سازی سریع ۳۰
- شکل ۱۳-۲: شماتیکی از انواع بیومتریال‌های تهیه‌شده از فیبروئین ابریشم ۳۳
- شکل ۱۴-۲: شماتیکی از مراحل استحصال فیبروئین ابریشم از پیلای کرم ابریشم ۳۵
- شکل ۱-۳: مراحل تخلیص فیبروئین ابریشم از پیلای کرم ابریشم ۴۹
- شکل ۱-۴: تصاویر SEM داربست فیبروئین ابریشم اسفنجی با بزرگنمایی ۱۰۰ میکرومتر ۵۹
- شکل ۲-۴: طیف FT-IR پیلای ابریشم ۶۱
- شکل ۳-۴: نتایج طیف FT-IR نمونه‌ی داربست فیبروئین اسفنجی تولید شده Error! Bookmark not defined.
- شکل ۴-۴: نمودار میزان جذب آب نمونه‌ها بعد از قرارگیری به‌مدت ۲۴ ساعت در PBS ۶۳
- شکل ۵-۴: نمودار درصد کاهش جرم داربست‌ها در بازه‌های زمانی مختلف ۶۴
- شکل ۶-۴: تصویر SEM داربست SF24 همراه با آنالیز EDS ۶۵

- شکل ۴-۷: تصویر SEM داربست SF48 همراه با آنالیز EDS..... ۶۶
- شکل ۴-۸: تصویر SEM داربست SF72 همراه با آنالیز EDS..... ۶۷
- شکل ۴-۹: نمودار ارزیابی کمی زنده‌مانی سلولی به روش MTT..... ۶۹
- شکل ۴-۱۰: تصاویر کشت سلول‌های استخوانی استئوسارکومای انسانی رده‌ی MG63..... ۷۰

فهرست جداول:

- جدول ۱-۲: خواص مکانیکی استخوان کورتیکال ۱۷
- جدول ۱-۳: مواد مصرفی استفاده شده در این کار تحقیقاتی ۴۷
- جدول ۲-۳: تجهیزات استفاده شده در این کار تحقیقاتی ۴۷
- جدول ۳-۳: مواد مورد استفاده جهت تهیه محلول SBF ۵۴
- جدول ۴-۳: متغیرهای پژوهش ۵۵
- جدول ۱-۴: نام‌گذاری و زمان خشک‌کشی انجمادی هر یک از داربست‌ها ۵۸
- جدول ۲-۴: میانگین تخلخل داربست‌های فیبروئین ابریشم ۵۹
- جدول ۳-۴: باندهای مشخص در طیف FT-IR ابریشم ۶۱
- جدول ۴-۴: درصد کلسیم فسفات بعد از ۵ بار غوطه‌وری متناوب Na_2HPO_4 ۶۸