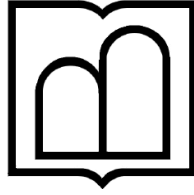


الله أكبر



دانشگاه علوم پزشکی  
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل  
دانشکده دندانپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکترای جراحی دندانپزشکی

عنوان:

بررسی تأثیر سمیت سلولی ماده‌ی نانو دندریمر پلی اتیلن ایمین بر روی سلول‌های فیبروبلاست

اساتید راهنما:

دکتر علیرضا فتحی‌آذر

دکتر شهرام نظری

استاد مشاور:

دکتر علیرضا حیاتی

نگارش:

امین سعیدی

کد پایان نامه: د/پ/۰۱۲۱/

شهریور ماه ۱۴۰۲

تقدیم به

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگان

به پاس حافظه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است.

به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید.

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

این مجموعه را به پدر و مادر عزیزم تقدیم می کنم.

تقدیر و سپاسگزاری

بمشکر و سپاس از اساتید دانشمند و پر پایه ام دکتر علیرضا فتحی آذر، دکتر شهرام نظری

که از محضر پر فیض تدریسیشان، بهره‌برداره‌ام.

با اتقان بیکران از مساعدت‌های بی‌شائبه‌ی دکتر علیرضا حیاتی تقدیر و تشکر می‌نمایم

همچنین این جانب بر خود وظیفه‌میدانم در کسوت شاکردی از زحمات و خدمات ارزشمند اساتید کرامتقدر دانشکده

دندانپزشکی اردبیل تقدیر و تشکر نمایم.

## چکیده

### بررسی تأثیر سمیت سلولی ماده‌ی نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین بر روی سلول‌های فیبروبلاست

**مقدمه:** با توجه به اینکه مطالعات نشان داده است میکروارگانسیم‌ها مقاومت کمتری در مقابل نانودندریمر پلی‌اتیلن-ایمین دارند، در صورتی که میزان سمیت نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین بر روی سلول‌های فیبروبلاست دندان ناچیز یا کم باشد، می‌توان از این ماده در دهان‌شویه‌ها، خمیردندان‌ها، ایمپلنت‌های دندانی و شرکت در ترکیب رزین‌های کامپوزیتی، استفاده کرد؛ بنابراین، این مطالعه با هدف تعیین سمیت نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین بر روی سلول‌های فیبروبلاست انجام پذیرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه‌ی تجربی و آزمایشگاهی سلول‌های فیبروبلاست رده‌ی سلولی HGF2PI2 لته‌ی انسانی با کد C166 از مراکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری شد. در این مطالعه از نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم استفاده شد. برای بررسی تأثیر سمیت نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین بر روی سلول‌های فیبروبلاست از روش MTT استفاده شد. به منظور بررسی تأثیر نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم بر روی زمان دو برابر شدن تعداد سلول‌های فیبروبلاست، غلظت‌های مختلف نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم (۱، ۴، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به پلیت ۱۲ خانه‌ای اضافه گردید و به مدت ۱۰ روز در شرایط آزمایشگاهی استاندارد گرمخانه‌گذاری گردید و به صورت روزانه با استفاده از لام نئوبار شمارش گردید و نمودار منحنی رشد رسم گردید. بعد از جمع‌آوری داده‌های مربوط به منحنی رشد، زمان دو برابر شدن جمعیت (PDT) از طریق معادله‌ی پترسون برآورد شد. برای مقایسه‌ی میانگین سمیت سلولی غلظت‌های مختلف نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم از آزمون تحلیل واریانس، آزمون تی مستقل جهت آنالیز آماری داده‌ها استفاده شد. برای انجام این تحلیل‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۶ استفاده شد.

**نتایج:** نتایج بررسی نشان داد که با افزایش غلظت نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم، بقایای سلول‌های فیبروبلاست در طی زمان مواجهه‌ی ۴۸ و ۷۲ ساعت کاهش پیدا می‌کند. همچنین نتایج نشان داد که از لحاظ آماری رابطه‌ی معنی‌داری بین افزایش غلظت نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم و سمیت سلولی در مقایسه با نمونه‌ی کنترل منفی در طی زمان مواجهه‌ی ۴۸ و ۷۲ ساعت وجود دارد (به استثناء در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر). همچنین بین مدت زمان مواجهه و سمیت سلولی نانو دندریمر رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ). با مقایسه‌ی رشد سلول‌ها در روزهای دوم تا نهم در مواجهه با غلظت‌های ۱ تا ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو دندریمر با نمونه‌های کنترل منفی، آزمون آماری T-Test نشان داد که از لحاظ آماری بین این دو متغیر رابطه‌ی معنی‌داری وجود ندارد ( $p > 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد سمیت نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم بر روی سلول‌های فیبروبلاست نسبتاً کم می‌باشد و می‌توان به عنوان یک عامل ضدباکتریایی از آن استفاده کرد.

**کلمات کلیدی:** نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم، سلول‌های فیبروبلاست، سمیت سلولی.

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

چکیده ..... ا

### فصل اول: معرفی پژوهش

- ۱-۱. مقدمه، بیان مساله و ضرورت اجرای پژوهش ..... ۱
- ۲-۱. اهداف پژوهش ..... ۳
- ۳-۱. هدف کلی ..... ۳
- ۴-۱. اهداف اختصاصی ..... ۳
- ۵-۱. اهداف کاربردی ..... ۴
- ۶-۱. فرضیه‌های پژوهش ..... ۴
- ۷-۱. تعریف واژه‌ها ..... ۴

### فصل دوم: مبانی نظری و پیشینه تحقیق

- ۱-۲. مقدمه ..... ۵
- ۲-۲. مبانی نظری پژوهش ..... ۵
- ۱-۲-۲. میکروارگانسیم‌های حفره‌ی دهانی ..... ۵
- ۲-۲-۲. سلول‌های فیروبلاست ..... ۱۳
- ۳-۲-۲. ماتریکس خارج سلولی ..... ۱۴
- ۴-۲-۲. کلاژن ..... ۱۵
- ۵-۲-۲. معروف‌ترین کلاژن‌ها ..... ۱۶
- ۱-۵-۲-۲. ژن کلاژن ۱ ..... ۱۷
- ۲-۵-۲-۲. کلاژن تیپ ۲ و ۳ ..... ۱۸
- ۶-۲-۲. الاستین ..... ۱۹
- ۷-۲-۲. ژن الاستین ..... ۱۹
- ۸-۲-۲. فیبرونکتین ..... ۲۰
- ۹-۲-۲. لامینین ..... ۲۱
- ۱۰-۲-۲. اسید هیالورونیک ..... ۲۲
- ۱۱-۲-۲. معرفی دندیرمها ..... ۲۳
- ۱۲-۲-۲. ساختار دندیرمها ..... ۲۶
- ۱۳-۲-۲. شناسایی دندیرمها ..... ۲۷
- ۱۴-۲-۲. مکانیسم‌های بارگیری دارو در حامل‌های دندیرم ..... ۲۸
- ۱۵-۲-۲. کپسوله شدن فیزیکی مولکول‌های دارو ..... ۲۸

- ۲۹-۲-۱۶. سمیت دندریمرها ..... ۲۹
- ۲۹-۲-۱۷. روش‌های کاهش سمیت ..... ۳۱
- ۳-۲-۳. مروری بر پیشینه‌ی تحقیق ..... ۳۱
- ۱-۳-۲. پیشینه‌ی پژوهش در ایران ..... ۳۲
- ۲-۳-۲. پیشینه‌ی پژوهش در خارج ..... ۳۷
- ۳-۳-۲. جمع‌بندی پیشینه‌های پژوهش ..... ۳۷

### فصل سوم: مواد و روش‌ها

- ۱-۳. نوع مطالعه و روش پژوهش ..... ۳۷
- ۲-۳. جامعه‌ی آماری پژوهش ..... ۳۷
- ۳-۳. حجم نمونه و روش نمونه‌گیری ..... ۳۷
- ۴-۳. ابزار و روش گردآوری داده‌ها ..... ۵۲
- ۵-۳. زمان و مکان انجام پژوهش ..... ۵۲
- ۶-۳. متغیرهای پژوهش ..... ۵۳
- ۷-۳. روش‌ها و تجزیه و تحلیل داده‌ها ..... ۵۳
- ۸-۳. ملاحظات اخلاقی ..... ۵۳

### فصل چهارم: یافته‌های پژوهش

- ۱-۴. یافته‌های توصیفی ..... ۵۴
- ۱-۱-۴. تعیین مشخصات نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم ..... ۵۴
- ۲-۱-۴. سمیت سلولی نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم در غلظت‌های مختلف در زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت ..... ۵۷
- ۳-۱-۴. بررسی تأثیر نانودندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم بر روی منحنی رشد و زمان دو برابر شدن ..... ۶۰
- ۲-۴. یافته‌های تحلیلی ..... ۶۰

### فصل پنجم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادهای پژوهش

- ۱-۵. بحث ..... ۶۲
- ۲-۵. نتیجه‌گیری ..... ۷۰
- ۳-۵. محدودیت‌ها و پیشنهادهای پژوهش ..... ۷۰
- ۱-۳-۵. پیشنهادهای ..... ۷۰
- ۲-۳-۵. محدودیت‌ها ..... ۷۱

## فهرست جدول‌ها

عنوان

صفحه

جدول ۱-۲: انواع شناخته‌شده تریمزهای لامینین .....	۲۲
جدول ۱-۳: متغیرهای مورد بررسی.....	۵۲
جدول ۱-۴: تأثیر نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم در غلظت‌های مختلف بر روی زمان دو برابر شدن سلول‌های فیبروبلاست و مقایسه‌ی آن با نمونه‌های کنترل منفی.....	۵۹
جدول ۲-۴: آنالیز واریانس بین فاکتورهای غلظت نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم و بقایای سلولی با نمونه‌های کنترل منفی.....	۶۰
جدول ۳-۴: آنالیز T-Test بین دو فاکتور زمان مواجهه‌ی ۴۸ و ۷۲ ساعت نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم و بقایای سلولی.....	۶۱
جدول ۴-۴: آنالیز T-Test بین گروه کنترل منفی با غلظت ۱ و ۱۲۸ نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم و بقایای سلولی.....	۶۱



## فهرست نمودارها

عنوان

صفحه

نمودار ۱-۴: تصویر FT-IR از نانودندریمر پلی اتیلن ایمین نسل چهارم.....	۵۴
نمودار ۲-۴: ارزیابی سمیت سلولی نانودندریمر پلی اتیلن ایمین نسل چهارم در غلظت‌های مختلف.....	۵۶
نمودار ۳-۴: منحنی رشد تجمعی سلول‌های فیبروبلاست در حضور و عدم حضور (کنترل منفی) نانو دندریمر پلی اتیلن ایمین نسل چهارم در غلظت‌های مختلف.....	۵۸

## فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱: ساختار شیمیایی دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم.....	۳
شکل ۱-۲: خانواده‌ی سلول‌های بافت بنیادی.....	۱۴
شکل ۲-۲: پروتئین کلاژن تیپ ۱.....	۱۸
شکل ۳-۲: پروتئین کلاژن تیپ ۳.....	۱۹
شکل ۴-۲: پروتئین الاستین.....	۲۰
شکل ۵-۲: ساختار پروتئین فیبرونکتین و دومین‌های اتصالی آن.....	۲۱
شکل ۶-۲: ساختار اسید هیالورونیک.....	۲۳
شکل ۷-۲: اشکال مختلف از پلیمرها.....	۲۴
شکل ۸-۲: دندریمرهای پلی آمیدو آمینی متصل شده به پلی‌اتیلن گلیکول.....	۲۵
شکل ۹-۲: پوشاندن بار مثبت سطح دندریمرها.....	۳۰
شکل ۱۰-۲: روش‌های کاهش سمیت آمین‌های نوع اول.....	۳۰
شکل ۱-۳: سلول‌ها در چاهک ۹۶ تایی قبل از مواجهه‌ی با mtt.....	۴۱
شکل ۲-۳: تصویر چاهک بعد از مواجهه‌ی با mtt.....	۴۲
شکل ۳-۳: یخچال منفی ۸۰ برای نگهداری و فریز سلول‌ها.....	۴۳
شکل ۴-۳: یخچال نگهداری سلول‌ها.....	۴۴
شکل ۵-۳: دستگاه فور مورد استفاده در تحقیق.....	۴۵
شکل ۶-۳: دستگاه الایزای مورد استفاده در تحقیق.....	۴۶
شکل ۷-۳: دستگاه اتوکلاو مورد استفاده در تحقیق.....	۴۷
شکل ۸-۳: دستگاه هود مورد استفاده در تحقیق.....	۴۸
شکل ۹-۳: دستگاه سانتریفیوژ مورد استفاده در تحقیق.....	۴۹
شکل ۱۰-۳: دستگاه انکوباتور مورد استفاده در تحقیق.....	۵۰
شکل ۱۱-۳: دستگاه میکروسکوپ مورد استفاده در تحقیق.....	۵۱
شکل ۱-۴: تصویر TEM از نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم.....	۵۵
شکل ۲-۴: تصویر FE-SEM از نانو دندریمر پلی‌اتیلن‌ایمین نسل چهارم.....	۵۵