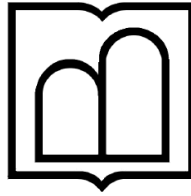


صلى الله عليه وسلم



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده دندانپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه‌ی دکترای جراحی دندانپزشکی

## عنوان

ساخت نانوکامپوزیت بیومیمتیک زیست تخریب پذیر بسیار متخلخل بر پایه‌ی  
فیبروئین ابریشم و نانوذرات هیدروکسی آپاتیت به عنوان داربست مهندسی  
بافت استخوانی پیشرفته

استاد راهنما:

دکتر مهدی فتحی

نگارش:

محمد محمدی

## تعهد نامه‌ی اصالت پایان نامه

### بسمه تعالی

اینجانب محمد محمدی دانش آموخته رشته‌ی دندانپزشکی مقطع دکتری حرفه‌ای به شماره‌ی دانشجویی ۹۲۲۶۳۷۰۳۰ گواهی می‌نمایم این پایان نامه تحت عنوان "ساخت نانوکامپوزیت بیومیمتیک زیست تخریب‌پذیر بسیار متخلخل بر پایه‌ی فیبروئین ابریشم و نانوذرات هیدروکسی آپاتیت به‌عنوان داربست مهندسی بافت استخوانی پیشرفته" به راهنمایی استاد محترم دکتر مهدی فتحی به‌طور کامل اصل و بدون هرگونه سرقت علمی/ ادبی بر اساس تعریف<sup>۱</sup> Plagiarism نگارش شده است و تمام یا قسمتی از آن توسط فرد دیگری در پایان‌نامه یا مراکز علمی دیگر ارائه نشده است. در ضمن اینجانب از مقررات مربوط به عدم رعایت صداقت در ارائه‌ی پایان‌نامه 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

---

<sup>۱</sup> Plagiarism 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 به‌طور مناسب یا کسب اجازه در موارد ضروری.

## سوگندنامه

بسم الله الرحمن الرحيم

اکنون که با عنایات و الطاف بیکران الهی دوره‌ی دکتری دندانپزشکی را با موفقیت به پایان رسانده‌ام و مسئولیت خدمت به خلق را بر عهده گرفته‌ام در پیشگاه قرآن کریم به خداوند قادر متعال که دانای آشکار و نهان است، و نامش آرامش دل‌های خردمندان و یادش شفای آلام دردمندان، سوگند یاد می‌کنم که همواره حدود الهی و احکام مقدس دینی را محترم شمارم. از تضییع حقوق بیماران بپرهیزم و سلامت و بهبود آنان را بر منافع مادی و امیال نفسانی خود مقدم دارم، در معاینه و معالجه، حریم عفاف را رعایت کنم و اسرار بیماران خود جز به ضرورت شرعی و قانونی فاش نسازم. خود را نسبت به حفظ قداست حرفه‌ی پزشکی و حرمت همکاران متعهد بدانم و از آلودگی به اموری که با پرهیزکاری و شرافت و اخلاق پزشکی منافات دارد اجتناب ورزم، همواره برای ارتقاء دانش پزشکی خویش تلاش کنم و از دخالت دراموری که آگاهی و مهارت لازم را در آن ندارم خودداری نمایم. در امر بهداشت، اعتلا فرهنگ و آگاهی‌های عمومی تلاش نمایم و تأمین، حفظ و ارتقاء سلامت جامعه را مسئولیت اساسی خویش بدانم.

## تقدیم و تقدیر

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،

و همسرم سحر، آنکه آفتاب مهرش در آستانه قلبم  
پابرجاست و هرگز غروب نخواهد کرد.

## تقدیر و سپاسگزاری

از استاد گرامیم جناب آقای دکتر مهدی فتحی به دلیل یاری‌ها و مشاوره‌های بی‌چشمداشت که بسیاری از سختی‌ها را برایم آسان‌تر نمودند و بی‌شک بدون راهنمایی‌های ایشان انجام این پایان‌نامه بسیار مشکل می‌نمود، تقدیر و تشکر می‌نمایم.

## چکیده

ساخت نانوکامپوزیت بیومیمتیک زیست تخریب پذیر بسیار متخلخل بر پایه‌ی فیبروئین ابریشم و هیدروکسی آپاتیت به عنوان داربست مهندسی بافت استخوانی پیشرفته

توسعه‌ی مواد زیست تقلید شده یا بیومیمتیک در حال حاضر یک چالش در زمینه‌ی بازسازی بافت است. بیومواد طبیعی مانند کیتوزان، کلاژن و فیبروئین ابریشم، و بیوپلیمرهای مصنوعی مانند پلی‌کاپرولاکتون، پلی‌گلیکولیک اسید، پلی‌لاکتیک اسید و کوپلیمرهای آن‌ها به عنوان داربست مهندسی بافت استفاده می‌شود. فیبروئین ابریشم به دلیل زیست سازگاری فوق‌العاده، حداقل واکنش التهابی و زیست تخریب پذیری، توجه زیادی را در مهندسی بافت به خود جلب کرده است. در این مطالعه، نانوبیوکامپوزیت‌های فیبروئین ابریشم / نانو هیدروکسی آپاتیت (SF/ nHA) با فرآیند خشک کردن انجمادی ساخته می‌شوند. فرآیند خشک کردن انجمادی باعث تشکیل منافذ در مقیاس میکرو در داربست می‌شود که می‌تواند توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FE-SEM) تأیید شود. با استفاده از روش سونیکیت nHA (۱، ۳، و ۵ درصد وزنی / وزنی) با موفقیت در محلولی از فیبروئین ابریشم سنتز شده در عرض چند دقیقه بدون هیچ‌گونه پیش تصفیه تولید می‌شود. جهت بررسی ویژگی‌های داربست‌های خالص SF و SF/ nHA از طیف‌سنجی فرسرخ تبدیل فوریه (FTIR)، پراش اشعه‌ی ایکس (XRD) و آنالیز EDX مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین در این مطالعه اثرات SF خالص و SF/ nHA بر میزان جذب آب و تجزیه‌ی زیستی داربست‌ها بررسی شده است. میزان جذب آب داربست‌های خالص SF برابر با ۶۸ درصد و SF/ nHA به ترتیب با افزایش درصد نانوذرات ۷۶، ۸۲ و ۸۹ درصد در بافر فسفات سالین بود. همه‌ی این نتایج نشان می‌دهد که داربست نانوبیوکمپوزیتی فیبروئین ابریشم/ نانو هیدروکسی آپاتیت می‌تواند یک بیوماده‌ی امیدوارکننده برای کاربردهای مهندسی بافت استخوان باشد.

**واژه‌های کلیدی به فارسی:** نانوکامپوزیت بیومیمتیک، داربست اسفنجی متخلخل، فیبروئین ابریشم، نانوذرات هیدروکسی

آپاتیت، مهندسی بافت استخوان

## فهرست مطالب:

صفحه

شماره

### فصل اول: معرفی پژوهش

- ۱-۱. بیان مسئله ..... ۲
- ۲-۱. اهداف و فرضیات تحقیق ..... ۴
- ۳-۱. تعریف واژه‌های علمی و کاربردی ..... ۵
- ۴-۱. چگونگی تنظیم مطالب و روند نگارش پایان نامه ..... ۶

### فصل دوم: مبانی نظری و پیشینه‌ی پژوهش

- ۱-۲. مقدمه ..... ۸
- ۲-۲. مبانی نظری پژوهش: ..... ۸
- ۱-۲-۲. مهندسی بافت: ..... ۸
- ۳-۲. تعاریف، اصول و مبانی نظری تحقیق ..... ۸
- ۴-۲. مواد پیوند استخوان در پزشکی و دندانپزشکی ..... 10
- ۱-۴-۲. الو گرافت‌ها ..... ۱۰
- ۲-۴-۲. زنوگرافت‌ها ..... ۱۱
- ۳-۴-۲. آلوپلاست‌ها ..... ۱۱
- ۵-۲. مهندسی بافت سخت ..... ۱۲
- ۱-۵-۲. مهندسی بافت استخوان ..... ۱۲
- ۲-۵-۲. استخوان و ساختار استخوان ..... 13
- ۶-۲. انواع بافت استخوانی ..... ۱۴



- ۱-۶-۲. استخوان متراکم ..... ۱۴
- ۲-۶-۲. استخوان اسفنجی ..... ۱۵
- ۷-۲. استخوان از دیدگاه کالبدشکافی ..... ۱۵
- ۱-۷-۲. خواص ویژه‌ی استخوان ..... ۱۶
- ۸-۲. خواص مکانیکی بافت استخوان ..... ۱۷
- ۱-۸-۲. انواع سلول‌های استخوانی ..... ۱۸
- ۹-۲. استخوان‌سازی ..... ۱۸
- ۱-۹-۲. داخل غشائی ..... ۱۹
- ۲-۹-۲. داخل غضروفی ..... ۲۰
- ۱۰-۲. ترکیبات استخوان ..... ۲۱
- ۱-۱۰-۲. ناهنجاری‌های استخوانی ..... ۲۱
- ۱۱-۲. مغز استخوان ..... ۲۲
- ۱۲-۲. بیومکانیک در مهندسی بافت استخوان ..... ۲۲
- ۱۳-۲. داربست مهندسی بافت ..... ۲۳
- ۱-۱۳-۲. ویژگی‌های داربست ایده‌آل ..... ۲۴
- ۱۴-۲. مواد مورد استفاده برای ساخت داربست استخوانی ..... ۲۵
- ۱-۱۴-۲. پلیمرهای طبیعی ..... ۲۶
- ۲-۱۴-۲. پلیمرهای سنتزی ..... ۲۶
- ۱۵-۲. ابریشم و کاربرد آن در مهندسی بافت ..... ۲۸
- ۱-۱۵-۲. ساختار ابریشم ..... ۲۸
- ۲-۱۵-۲. استخراج فیبروئین از پبله‌ی کرم ابریشم ..... ۳۰
- ۳-۱۵-۲. زیست تخریب‌پذیری ابریشم ..... ۳۱
- ۴-۱۵-۲. کاربرد ابریشم در مهندسی بافت استخوان ..... ۳۲

- ۱۶-۲. روش‌های ساخت داربست استخوانی ..... ۳۲
- ۱-۱۶-۲. ریخته‌گری محلول و استخراج ذرات ..... 32
- ۲-۱۶-۲. جدایش فازی القایی ..... ۳۳
- ۳-۱۶-۲. ریخته‌گری ژلی ..... ۳۳
- ۴-۱۶-۲. فوم گازی ..... ۳۳
- ۵-۱۶-۲. نمونه‌سازی سریع RP ..... ۳۴
- ۶-۱۶-۲. الکترورسی ..... ۳۵
- ۷-۱۶-۲. فرایند خشک‌ایش انجمادی ..... 35
- ۱۷-۲. مروری بر پیشینه‌ی تحقیقات بر پایه‌ی فیبروئین ابریشم ..... ۳۶

#### فصل سوم: مواد و روش‌ها

- ۱-۳. نوع مطالعه و روش پژوهش ..... ۴۷
- ۲-۳. مواد و وسایل مورد استفاده در این کار تحقیقاتی ..... ۴۶
- ۳-۳. آماده‌سازی بیوپلیمر فیبروئین ابریشم ..... ۴۸
- ۴-۳. ساخت داربست اسفنجی متخلخل با استفاده از فرایند خشک‌ایش انجمادی ..... ۴۹
- ۵-۳. مشخصه‌یابی داربست‌های تولید شده ..... ۵۰
- ۱-۵-۳. مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی ..... 50
- ۲-۵-۳. درجه‌ی تورم داربست تولید شده ..... 51
- ۳-۵-۳. اندازه‌گیری کمی میزان تخریب داربست ..... 51
- ۴-۵-۳. آنالیز طیف سنجی مادون قرمز FT-IR ..... 51
- ۶-۳. متغیرهای پژوهش ..... ۵۲
- ۱-۶-۳. جدول متغیرها ..... ۵۲

۳-۷. ملاحظات اخلاقی ..... ۵۳

#### فصل چهارم: یافته‌های پژوهش

۴-۱. مقدمه ..... ۵۴

۴-۲. نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی داربست‌های اسفنجی ..... ۵۵

۴-۲-۱. نتایج حاصل از آنالیز FT-IR ..... ۵۷

۴-۲-۲. نتایج تست جذب آب داربست فیبروئین ابریشم ..... ۵۹

۴-۲-۳. نتایج حاصل از آزمون تخریب پذیری (کاهش جرم) ..... ۶۱

#### فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری

۵-۱. بحث و نتیجه‌گیری ..... ۶۴

۵-۲. محدودیت‌ها ..... ۶۴

۵-۳. پیشنهاد برای کارهای تحقیقات آتی ..... ۶۷

منابع و مأخذ ..... ۶۹

## فهرست اشکال:

شماره	صفحه
شکل ۲-۱: شماتیکی از فرایند مهندسی بافت استخوان	۱۳
شکل ۲-۲: سیستم هاورس در استخوان متراکم	۱۴
شکل ۲-۳: اجزای تشکیل دهنده‌ی استخوان اسفنجی	۱۵
شکل ۲-۴: انواع استخوان از دید کالبدشکافی	۱۶
شکل ۲-۵: ساختار استخوان از بافت تا سلول و تطابق عملکردی استخوان، بازسازی و ترمیم	۱۷
شکل ۲-۶: مراحل استخوان‌سازی داخل غشایی	۲۰
شکل ۲-۷: مراحل تشکیل استخوان به‌روش داخل غضروفی	۲۱
شکل ۲-۸: ساختار مغز استخوان	۲۲
شکل ۲-۹: عملکرد سلول در حضور داربست	۲۵
شکل ۲-۱۰: شماتیکی از انواع بیومتریال‌های تهیه شده از فیبروئین ابریشم	۲۹
شکل ۲-۱۱: شماتیکی از مراحل استحصال فیبروئین ابریشم از پیلای کرم ابریشم	۳۰
شکل ۲-۱۲: شماتیک ساخت داربست به روش فوم‌گازی	۳۳
شکل ۲-۱۳: شماتیکی از فرایند تولید داربست به‌روش نمونه‌سازی سریع	۳۴
شکل ۳-۱: مراحل تخلیص فیبروئین ابریشم از پیلای کرم ابریشم	۴۹
شکل ۴-۱: تصاویر FE-SEM داربست‌های سنتتیز شده با بزرگنمایی ۱۰۰ میکرومتر. (a) داربست فیبروئین ابریشم، (b) داربست 1% SF/ nHA، (c) 3% SF/ nHA و (d) 5% SF/ nHA	۵۶

شکل ۴-۲: آنالیز EDX داربست فیبروئین ابریشم حاوی نانوذرات هیدروکسی آپاتیت ..... ۵۸

شکل ۴-۳: نتایج طیف FT-IR نمونه‌ی داربست‌های تولید شده، (a) نانوذرات هیدروکسی آپاتیت، (b) داربست

فیبروئین ابریشم، (c) فیبروئین ابریشم / نانوذرات هیدروکسی آپاتیت ..... ۵۹

شکل ۴-۴: نمودار میزان جذب آب نمونه‌ها بعد از قرار گیری به مدت ۲۴ ساعت در PBS ..... ۶۰

شکل ۴-۵: نمودار درصد کاهش جرم داربست‌ها در بازه‌های زمانی مختلف ..... ۶۲

## فهرست جداول:

شماره	صفحه
جدول ۱-۲: خواص مکانیکی استخوان کورتیکال	۱۸
جدول ۱-۳: مواد مصرفی استفاده شده در این کار تحقیقاتی	۴۷
جدول ۲-۳: تجهیزات استفاده شده در این کار تحقیقاتی	۴۸
جدول ۳-۳: متغیرهای پژوهش	۵۳
جدول ۱-۴: نام‌گذاری و درصد وزنی نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت هر یک از داربست‌ها	۵۵
جدول ۲-۴: میانگین تخلخل داربست‌های سنتز شده با استفاده از Image J	۵۷