

Research Paper

Optimization of Gelatin/PEG Scaffold with Zn/Mg Doped Bioactive Ceramic Glass Using Response Surface Method (RSM)

Mania Chaychi¹, Gita Bagheri^{2,*}

¹ Department of Medicinal Chemistry, Shahriar Branch, Islamic Azad University, Shahriar, Iran.
 ² Department of Chemical Engineering, Shahriar Branch, Islamic Azad University, Shahriar, Iran.

ARTICLE INFO

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

Research Subject: This study aims to improve the biocompatibility, bioactivity, and mechanical properties of gelatin-based composite scaffolds by coating them with polyethylene glycol (PEG) doped with bioactive glasses (BGs) containing zinc and magnesium.

Research Approach: A response surface methodology (RSM) was used to model and evaluate the effects of two independent variables: the PEG/Gel weight ratio (X1) and the BG weight percentage (X2). The responses investigated included ultimate strength, Young's modulus, elongation at break, swelling percentage, erosion percentage, and moisture absorption percentage.

Main Results: Optimal conditions were determined to obtain scaffolds with suitable mechanical strength, biocompatibility and degradability. Analysis of variance (ANOVA) was used to obtain the best model describing the influence of each independent variable on the responses. The optimal scaffold formulation was selected based on software-defined parameters. The FTIR spectrum was used to analyze the functional groups present on the surface of the samples. The FTIR spectrum of the synthesized BGs showed a broad vibrational band in the range of 900 to 1100 cm⁻¹, which is attributed to the asymmetric Si-O-Si stretching band. The FTIR spectrum of the PEG/Gel/BG composite confirmed the presence of BG in the scaffolds and the interaction between the polymer matrix and BG. Increasing the amount of BG relative to the polymer scaffold led to a decrease in pore size and consequently, a decrease in the scaffold's swelling percentage. The effect of varying the BG weight percentage on tensile strength was greater than that of the PEG/Gel weight ratio. The tensile strength increased significantly due to the good interaction between the polymer scaffold and BG, as well as the uniform dispersion of BG within the polymer matrix. SEM images indicated that cells penetrated well into the scaffolds and formed a suitable three-dimensional cellular network. Cytotoxicity, cell attachment and proliferation, and osteogenic differentiation were evaluated using the MTT test and by culturing MG-63 cells on the scaffold. Cell viability showed no significant difference between the tested and control samples.

* Corresponding author: <u>bagheri.gita@iau.ac.ir</u>



آدرس صفحه: www.arcpe.modares.ac.ir

مقاله تحقيقاتي

بهینهسازی داربست ژلاتین/ پلیاتیلنگلیکول با شیشه سرامیک زیست فعال آلاییده شده با Zn/Mg با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)

مانیا چایی چی^۱، گیتا باقری^{۲,۶} ^۱ گروه شیمی دارویی، واحد شهریار، دانشگاه آزاد اسلامی، شهریار، ایران. ۲ گروه مهندسی شیمی، واحد شهریار، دانشگاه آزاد اسلامی، شهریار، ایران.

چکیدہ

موضوع تحقیق: هدف از این تحقیق بهبود زیستسازگاری، فعالیت زیستی و خواص مکانیکی داربستهای کامپوزیتی ژلاتین پوشش دادهشده با پلیاتیلنگلیکول آلاییدهشده با شیشههای زیستفعال حاوی روی و منیزیم است.

روش تحقیق: در این مطالعه برای مدلسازی تجربی و ارزیابی تأثیر متغیرهای مختلف و انتخاب ترکیبهای بهینه از روش سطح پاسخ با دو متغیر مستقل نسبت وزنی PEG/Gel (X1) و درصد وزنی BG (X2) استفاده شد. پاسخها شامل استحکام نهایی، مدول یانگ، ازدیاد طول در شکست، درصد تورم، درصد فرسایش و درصد جذب رطوبت بوده است.

نتایج اصلی: شرایط بهینه برای بهدست آوردن داربستی با خواص مکانیکی، زیست سازگاری و تخریب پذیری مناسب تعیین شد. آزمون ANOVA برای بهدست آوردن بهترین مدل برای توصیف چگونگی تأثیر هر یک از متغیرهای مستقل بر پاسخها انجام شد و شرایط داربست بهینه بر اساس سطوح تعریف شده در نرمافزار مشخص شد. برای تحلیل گروههای عاملی موجود بر سطح نمونهها از طیف FTIR استفاده شد و طیف FTIR از BGهای سنتزشده نوار ارتعاشی گستردهای را در مشخص شد. برای تحلیل گروههای عاملی موجود بر سطح نمونهها از طیف FTIR استفاده شد و طیف FTIR از BGهای سنتزشده نوار ارتعاشی گستردهای را در ممحدوده ۳۰۰ تا ¹ محدوده ۳۰۰ تا از BGهای سنتزشده نوار ارتعاشی گستردهای را در محدود شد. برای تحلیل گروههای عاملی موجود بر سطح نمونهها از طیف FTIR استفاده شد و طیف FTIR از BGهای سنتزشده نوار ارتعاشی گستردهای را در محدوده ۳۰۰ تا ¹ محدوده ۳۰۰ تا ¹ محدوده ۳۰۰ تا از می قدار BG معنوری BG اجTIR استفاده شد و طیف FTIR کامپوزیت BG/Gel/BG وجود BG در داربستهای محدوده ۳۰۰ تا ¹ محدود به کاهش اندازه منافذ و در نتیجه موجب کاهش کمپوزیتی و برهم کنش بین ماتریس پلیمری و BG را تأیید کرد. افزایش مقدار BG نسبت به داربست پلیمری منجر به کاهش اندازه منافذ و در نتیجه موجب کاهش درصد تورم داربست پلیمری و BG را تأیید کرد. افزایش مقدار BG نسبت به داربست پلیمری منجر به کاهش اندازه منافذ و در نتیجه موجب کاهش درصد تورم داربست پلیمری منجر به کاهش اندازه منافذ و در نتیجه موجب کاهش به دلیل مرصد تورم داربست پلیمری و قرار و پراکندگی مناسب BG در ماترس پلیمری بعفوری به نوری یا PEG/Gel/Ge بیشتر بوده و استحکام کششی به دلیل برصد تورم داربست پلیمری افزایش یافته است. تصاویر SEM به به دلیل برصد تورم خان به به در مین داربست پلیمری به طور چشمگیری افزایش یافته است. تصاویر BC و پراکندگی مناسب BG در ماتریس پلیمری به طور چشمگیری افزایش یافته است. تصاویر استخوانی نیز سلولها به خوبی در میان داربست پلیمری و GB و براکندگی مناسب BG در مانوی پلیمری به طور چشمگیری افزایش یافته است. تصاویر BC و یور BC و پراکندگی مناسب BG در ماتری پلیمری به مور چشمگیری افزایش یافته است. تصاوی و BC و پراکندگی مالول ها به خوبی در مانوی مانوی و BC و پراکندگی مالول و تمانو مانوی مرفان و ترمانو و قرا و مرده و مو و قر و بران و پراکن و مالول و تماده و و ماز

كليدواژهها	اطلاعات مقاله
داربست کامپوزیتی	دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۰۹
ژلاتين	پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۰
پلىاتىلن گلىكول	دسترس آنلاین: ۱۴۰۴/۰۱/۲۳
شیشه زیست فعال	ISSN: 2588-5316 Online ISSN: 2588-5324
روش سطح پاسخ	

۱ مقدمه

استخوان کامپوزیتی طبیعی است که حدود ۷۰ درصد آن فاز معدنی بر پایه نمکهای کلسیم و فسفات است. بخش دیگر آن آلی و عمدتاً از کلاژن نوع I بههمراه پروتئینهایی مانند پروتئوگلیکانها و گلیکوپروتئینها تشکیل شده است. موفقیت در ساخت داربستهای مورد استفاده برای جایگزینی بافت استخوان تنها در صورتی بهطور کامل حاصل میشود که داربست ساختهشده از جهات مختلف نظیر خصوصیات شیمیایی، فیزیکی، زیستی و مکانیکی شبیه به بافت استخوان باشد. تفاوت بافت استخوانی با سایر بافتها در فرایند بازسازی دائمی است، زیرا برخی از قسمتهای استخوان جذب میشوند و برخی دیگر در نتیجه پویایی سلولهای استئوبلاستیک، استئولیتیک و استئوکلاستیک دفع یا بازسازی میشوند [۱].

در سال های اخیر، کامپوزیت هایی با ریختار ها و ترکیبات مختلف برای کمک به درمان آسیبهای بافتی با هدف بهبود زیبایی و عملکردی اندامهای آسیبدیده طراحی شدهاند [۲-۴]. بهطور کلی، این مواد باید زیستسازگار و زیست تخریب پذیر باشند، استحکام مکانیکی قابل مقایسه با بافت میزبان داشته باشند و اجازه فعالیت سلولی در محل کاشت را بدهند [۵]. در این میان پلیمرهای طبیعی زیست تخریب پذیر به دلیل وجود ویژگیهای قابل توجهی مانند زیستسازگاری، زیست تخریب پذیری، غیرسمی بودن و همچنین فراوانی، توجه زیادی را به خود جلب کردهاند. در میان پلیمرهای طبيعي، ژلاتين (Gelatin (GEL بهطور گسترده در صنايع غذايي و دارويي و همچنین مواد مهندسی بافت استفاده میشود. ژلاتین توانایی تشکیل هیدروژل در حضور کاتیونهای دوظرفیتی خاص (مانند+Ca²⁺ ، Ca²⁺ کا در ترکیب کم) را دارد. از سوی دیگر، ژلاتین برای بهدست آوردن پایداری لازم در محیطهای فیزیولوژیکی نیاز به اتصال عرضی زنجیرههای خود دارد [۸-8]. بهعنوان مثال، پایداری گرمایی ژلاتین بدون اتصال عرضی میتواند ساختار را از جامد به ژل تغییر دهد که می تواند منجر به اثرات نامطلوب هنگام کاشت در داخل بدن شود. پوشش ژلاتین با پلیاتیلن گلیکول Polyethylene Glycol (PEG) می تواند تا حدودی محدودیتهای ژلاتین را برطرف کند. PEG پلیمری مصنوعی است که دارای ساختاری خطی و حلالیت در آب و گروههای هیدروکسیل در انتهای زنجیرههای پلیمری خود است. بهدلیل سمیت کم، سازگاری با طیف گستردهای از مواد شیمیایی، حلالیت بالا در آب و پذیرش مطلوب توسط بدن انسان، بهطور گسترده در كاربردهاى زيست پزشكى استفاده مى شود. اين پليمر آب دوست قابليت افزایش خواص را در صورت ترکیب با ژلاتین دارد.

برای افزایش خاصیت القایی و رسانایی استخوان در غشاهای قابل جذب، استفاده از شیشههای زیستفعال (Bioglass (BG) بهعنوان جزء معدنی روشی بسیار مؤثر برای ساخت داربستهای ترمیم استخوان بهشمار می رود. این مواد موجب اصلاح شکل پذیری و استحکام کامپوزیتهای پلیمری و واکنش پذیری بیشتر با بافت میزبان هنگام کاشت کامپوزیت می شود [۹]. BG در سالهای اخیر بهدلیل مجموعهای از ویژگیهای چشمگیر از جمله زیستفعالی، زیستسازگاری، زیست تخریب پذیری و قابلیت پیوند استخوان

برای ارتقای ادغام استخوانی و رسانایی استخوان، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. علاوه بر این، BG دارای سمیت زیستی پایینی است که قابلیت آن را برای کاربردهای بازسازی استخوان برجستهتر کرده است. در بازسازی استخوان، حضور BG باعث ایجاد پیوندی قوی با بافتهای سخت و نرم و همچنین بیان ژن در سلولهای استئوبلاست و افزایش رگزایی می شود و بهدلیل وجود یونهای فعال زیستی موجب کاهش پاسخ التهابی و تحریک ترشح پروتئینها و فاکتورهای رشد می شود. اگرچه BG بهعنوان گسترشدهنده پیوند استخوان استفاده می شود، برخی جراحان معتقدند که فقدان اثر ضدباكتريايي هنوز نقطه ضعف آنهاست. بنابراين براي رفع اين مشکل می توان کامپوزیت های مصنوعی بر اساس عناصری با ماهیت ضدباکتری ساخت؛ بهطوری که خطر عفونت اولیه را به حداقل برساند. برای این منظور میتوان از یونهای روی که دارای خواص ضدمیکروبی و ضدالتهابی و همچنین اثر تحریکی ببرای تشکیل استخوان است، استفاده کرد [۱۰]. روی کوفاکتوری مناسب برای بسیاری از آنزیمهاست که موجب تحریک سنتز پروتئین میشود که در همانندسازی DNA ضروری است و نقش مهمی در رشد، توسعه و تمایز سلولهای استخوانی دارد [۱۴–۱۱]. همچنین تحقیقات نشان داده است که بافت استخوانی حاوی حدود ۰/۰۱۲۶ - ۰/۰۲۱۷ درصد وزنی عنصر روی است و کمبود روی ممکن است باعث پوکی استخوان در افراد مسن شود [۱۵]. عنصر دیگری که می توان برای اصلاح ویژگی داربست از آن استفاده کرد، عنصر منیزیم با خواص ضدباکتریایی است که باعث تکثیر و تمایز سلول های بنیادی می شود. علاوه بر آن، منیزیم نقش حیاتی در کنترل آپوپتوز سلولی دارد و خواص مکانیکی استخوان تازه تشکیل شده را نیز بهبود می بخشد [۱۸-۱۶]. علاوه بر آن، BG متشکل از منیزیم، شبکه سیلیس را مختل کرده و در نتیجه رفتار انحلال را

بهبود بخشیده و تأثیر قابل توجهی بر تمایز استئوبلاست دارد [۱۹]. هدف در این مطالعه ارزیابی تأثیر BG حاوی منیزیم و روی بر هیدروژل ژلاتین پوشش داده شده با PEG است. ویژگی کلیدی این تحقیق آن است که از عناصر کمیاب ضروری یعنی روی و منیزیم با اثر ثابت شده ضدباکتریایی و بهبوددهندگی خواص مکانیکی، استفاده شده است. با استفاده از نرمافزار ®Design expert تأثیر درصد غلظت پلیمرها و شیشه زیست فعال بر خواص مکانیکی، فیزیکی و زیستی این داربست کامپوزیتی برای بازسازی بافت استخوانی بررسی شده و در نهایت نمونه بهینه توسط نرمافزار مشخص شده است.

۲ بخش نظری

۲-۱ تهیه شیشه زیست فعال روی- منیزیم

تهیه شیشه زیستفعال روی- منیزیم بهروش سل- ژل انجام شد. در ابتدا، برای رقیقسازی محلول اسیدی، محلول ۲ مولار اسید نیتریک: آب مقطر با نسبت حجمی ۱:۶ تهیه و بهمدت ۱۵ دقیقه هم زده شد. سپس تترااتیل ارتوسیلیکات(Tetraethyl Orthosilicate (TEOS بهعنوان پیشساز سیلیس به محلول اضافه شد و بهمدت ۱ ساعت بهمنظور آبکافت اسیدی با استفاده

از همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس تریاتیل فسفات Triethyl از همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس تریاتیل فسفات به محلول فوق اضافه شد. (TEP) نسبت مولی ۲۰۱۲ برای محلول TEOS:TEP با آب مقطر انتخاب شد. در مرحله بعد، تتراهیدرات نیترات کلسیم، هگزاهیدرات نیترات منیزیم و مرحله بعد، تتراهیدرات نیترات کلسیم، هگزاهیدرات نیترات منیزیم و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد هم زده شد تا نمکهای نیترات حل و محلولی همگن حاصل شود. برای تکمیل فرایند ساخت، نمونههای آمادهشده بهمدت ۱۰ روز در دمای ۵۰ مدرجه سانتی گراد هم زده شد تا فرایند ژل شدن کامل شود. نمونههای روز در دمای اتاق مهر و موم شدند تا فرایند ژل شدن کامل شود. نمونههای مدند. در نهایت، نمونههای آمادهشده بهمدت ۵۰ و در دمای ۸۰۰ به دستآمده بهمدت یک روز در دمای ۸۰۰ و ۱۰۱ درجه سانتی گراد خشک شدند. در نهایت، نمونهها آسیاب شده و بهمدت ۴ ساعت در دمای با شدند. در نهایت، نمونهها آسیاب و کاملاً پودر شد [۲۰].

۲-۲ ساخت داربست کامپوزیتیGel/PEG/ BG

محلول ژلاتین با غلظت ۱۰ درصد وزنی با حل کردن پودر ژلاتین در آب مقطر تهیه شد. سپس پلی اتیلن گلیکول با نسبتهای وزنی مختلف PEG/Gel به محلول ژلاتین اضافه شد. در نهایت BGهای سنتز شده از مرحله قبل نیز با درصدهای وزنی مختلف به محلول اضافه شد (مقادیر وزنی موردنیاز مطابق با جدول ۳ گزارش شده است). کامپوزیتهای به دست آمده را در ظرف ریخته، به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد تا ژلهای کامپوزیتی تشکیل شود. در نهایت ژلهای آماده شده به مدت ۲۴ ساعت در منجمد کننده خشک شدند تا داربستهای کامپوزیتی متخلخل به دست آید.

۲-۳ طراحی آزمایش

در این مطالعه، برای مدلهای عددی و فرایندهای تحلیلی و ارزیابی تأثیر متغیرهای مختلف و انتخاب ترکیبهای بهینه متغیرها از روش سطح پاسخ (RSM) Response Surface Methodology (RSM) استفاده شد. در این مطالعه ۲ متغیر مستقل نسبت وزنی PEG/Gel (X1) و درصد وزنی BG (X2) با دو سطح از هر عامل (مقدار بالا و پایین) انتخاب شدند. طراحی آزمایش برای بررسی تأثیر متغیرهای مستقل مختلف مانند X1 و X2 بهکار گرفته شد.

$$Y = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_{11} X_1^2 + a_{22} X_2^2 + a_{12} X_1 X_2$$
(1)

که در آن Y پارامتر وابسته است و a1، a2، a1، a2، و21 ضرایب رگرسیون محاسبه شده از پارامتر تجربی مشاهده شده Y هستند. سطوح و ماتریس طراحی در جدول ۱ نشان داده شده است. در مجموع ۱۳ اجرای آزمایشی تولید شد و متغیرهای مستقل انتخاب شدند. فرمول ها در سه نسخه تهیه و سپس برای بررسی خصوصیات هر یک از نمونه ها، پاسخها محاسبه و اندازه گیری شد.

جدول ۱ سطوح متغیرها
Table 1 Levels of variable

Levels of variables	Input variables
0.1-0.5	X1: PEG/Gelatin (w/w)
10-50%	X2=BG (weight %)

نرمافزار "Design expert برای غربالگری عوامل استفاده شد. زمانی که مقدار p- بهدست آمده کوچکتر از ۰/۰۵ بود، نتایج از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد. اعتبار آماری چند جمله ای ها بر اساس ارائه تحلیل واریانس (ANOVA) در نرمافزار "Design expert به روش Box-Behnken انجام شد [۲۱]. پس از آن، امکان سنجی و جستجوی شبکه برای تعیین محل تر کیب فرمول بندی بهینه انجام شد. نمودارهای سه بعدی هریک از پاسخها بر حسب متغیرها و پس از توسعه معادلات چند جمله ای برای پاسخهای توسط نرم افزار رسم شد و در نهایت هر یک از پاسخها با متغیرهای مستقل X1 و پاسخها در جدول ۲ و طراحی آزمایش بر اساس متغیرهای ورودی در جدول ۳ آورده شده است.

۲-۴ آزمون خواص مکانیکی

(٢)

(۴)

در مطالعه حاضر، برای آزمون کشش، از دستگاه آزمون دینامیکی Zwick/Roell HCT 400/25 آلمان با نرخ جابجایی ۳ میلیمتر بر دقیقه استفاده شد. هر نمونه در محلول ۱٪ گلوتارآلدهید قرار داده شد و وقتی رنگ نمونهها به نارنجی کمرنگ تغییر یافت، از محلول خارج و خشک شدند. پس از خشکشدن نمونهها، استحکام نهایی، ازدیاد طول در شکست و مدول یانگ ماده محاسبه گردید. استحکام کششی (MPa) بر اساس حداکثر تنش با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد [۲۲].

$$\sigma = \frac{F}{A}$$

که در آن F نیروی شکست (N) در حداکثر بار، A سطح مقطع اولیه (m²) نمونه داربست بود. ازدیاد طول در شکست (٪) توسط معادله ۳ محاسبه شد.

Elongation at break =
$$\frac{\frac{\Gamma}{A}}{\frac{\Delta L}{L_0}}$$
 (°)

که در آن ΔL تغییر در مقدار طول جسم و L۵ مقدار طول اولیه است. مدول یانگ یا مدول کشسان (MPa) از شیب اولیه منحنیهای تنش-کرنش در قسمت خطی آن محاسبه شد (معادله ۴). مدول یانگ به نسبت تنش به کرنش مواد جامد خطی در پایینتر از استحکام تسلیم گفته می شود که در این حالت قانون هوک صادق بوده و ضریب کشسان ثابت است.

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

Responses	Young's Modulus	Tensile Strength	Swelling	Moisture Uptake	Elongation at break
Unit	(MPa)	(MPa)	(%)	(%)	(%)

جدول ۲ سطوح پاسخها Table 2 Levels of responses

جدول ۳ طراحی آزمایش **Table 3** Experimental design

RUN	X1: PEG/Gelatin (w/w)	X2=Bioglass (weight %)	Young Modulus (MPa)	Tensile Strength (MPa)	Swelling (%)	Moisture Uptake (%)	Elongation at Break (%)
1	0.1	10	20.94	1.411	15.45	4.1	13.45
2	0.3	30	20.71	1.087	39.21	2.7	18.95
3	0.3	1.71573	33.45	1.201	32.05	4.00	19.26
4	0.3	30	22.72	1.819	37.25	4.5	24.56
5	0.3	30	28.17	2.784	35.45	3.9	19.86
6	0.3	30	30.85	2.044	32.43	1.5	21.56
7	0.582843	30	33.56	2.238	40.02	2.3	12.65
8	0.3	58.2843	24.24	2.259	28.97	3.7	21.05
9	0.5	50	46.67	3.235	44.32	4.4	16.35
10	0.3	30	32.78	1.215	33.46	3.5	20.56
11	0.1	50	40.69	3.463	23.74	3.2	19.86
12	0.5	10	42.49	3.295	41.25	3.2	28.65
13	0.0171573	30	38.93	3.469	27.56	3.02	12.45

۲-۵ آزمون تورم، فرسایش و جذب رطوبت به منظور ارزیابی درصد تورم، فرسایش داربستهای ساخته شده، محلول بافر فسفات با ۲.4 pH (مایع شبیه سازی شده بدن) تهیه شد. میزان تورم و فرسایش، بر حسب درصد (./)، با وزن شروع داربست (W۵) اندازه گیری شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بافر فسفات با ۲.4 pH غوطه ور شد. پس از آن، داربست دوباره وزن شد (۵%) و در دمای ۲ ± ۶۰ درجه سانتی گراد خشک شد، سپس داربست خشک دوباره وزن شد (W۵). درصد تورم و درصد فرسایش به ترتیب با معادله های ۵ و ۶ محاسبه شدند.

$$Swelling\% = \frac{(W_S - W_0)}{W_0}$$

$$* 100$$
(Δ)

$$Erosion\% = \frac{(W_0 - W_d)}{W_0}$$
(\$)
*100

درصد رطوبت با افزایش وزن داربست متناسب است که پس از جذب رطوبت در شرایط مختلف اندازه گیری می شود. داربست به مدت ۲ هفته در خشک کن سیلیکاژل قرار داده شد و سپس وزن آن (W0) اندازه گیری شد و با وزن داربست که در رطوبت تنظیم شده با کلریدسدیم اشباع (۷۵ درصد (RH) به مدت ۸ هفته قرار داشت مقایسه شد. درصد جذب رطوبت (Y6) با (معادله ۲) محاسبه شد.

Moisture Absorption
$$\% = \frac{(W_u - W_0)}{W_0} * 100$$
 (Y)

۲-۹ بهینهسازی داربستهای کامپوزیتی Gel/PEG/BG توسط طراحی آزمایش

بر اساس تحلیل عددی توسط نرمافزار، بهترین نتایج با استفاده از روش حل Box-Behnken برای بهینه سازی بهدست آمد. برای هر یک از پاسخها بازه بهینه تعریف و بر اساس آن توسط نرمافزار، داربست بهینه تعیین شد.

۲-۷ بررسی خصوصیات فیزیکی شیمیایی

Fourier Transform داربست کامپوزیتی Gel/PEG/BG (FTIR) در این تحقیق، برای انجام تحلیل نمونهها، طیف FTIR شیشه زیستفعال و داربستهای کامپوزیتی Gel/PEG/BG با دستگاه طیفسنجی FTIR مدل cm⁻¹ از عدد موجی FTIR از عدد موجی FTIR از عدد موجی +۰۰۰

BG (XRD) براش پرتوی ایکس (XRD)

در این مطالعه، ساختار نمونهها با استفاده از دستگاه پراش پرتوی ایکس، XRD، مدل INEL Equinox3000 که در ولتاژ ۴۰ کیلوولت و جریان ۳۰ میلیآمپر کار میکند، بررسی و انجام شد. داربستهای کامپوزیتی در محدوده زاویه 20 برابر با ۰ تا ۱۰۰ درجه تحلیل شدند.

۲-۷-۲ آزمون میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) داربست کامپوزیتی Gel/PEG/BG

برای بررسی اندازه و ریختار داربست از میکروسکوپ الکترونی پویشی (LEO 1430 VP، ساخت کشور آلمان) استفاده شد. در این دستگاه یک دسته پرتو الکترونی به نمونه تابیده میشود. منبع الکترونی از نوع انتشار ترمودینامیکی رشته تنگستنی است. معمولاً الکترونها بین ۱ تا ۳۰ keV شتاب مییابند. سپس با دو یا سه عدسی متمرکز، پرتوی الکترونی را تا حدی کوچک میکنند تا موقع برخورد با نمونه، قطر آن حدوداً بین ۱ تا ۲ نانومتر شود.

F-V-۲ تحلیل زاویه تماس داربست کامپوزیتی Gel/PEG/BG

خاصیت ترشوندگی تمایل سیال به پخش شدن روی سطح جامد یا چسبیدن به آن در حضور دیگر سیالات امتزاجناپذیر با آن است. تمایل سیال به پخششدن روی سطح جامد، خصوصیت ترشوندگی سیال را نسبت به سطح جامد مشخص می کند. معمولاً این تمایل به پخششدن با اندازه گیری زاویه سطح تماس جامد- مایع بیان می شود که زاویه تماس نامیده می شود.

Gel/PEG/BG ارزیابی رفتار زیستی داربست کامپوزیتی Gel/PEG/BG

(3-(4,5dimethylthiazol-2-yl)-2,5 -diphenyltetrazolium آزمون bromide) (MTT) سند رنگسنجی برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم سوكسينات دهيدروژناز ميتوكندرىايى است كه بهعنوان معيارى براى سنجش زنده بودن سلولها استفاده می شود. MTT نمک زرد رنگ ترازولیوم محلول در آب است که توسط سوکینات دهیدروژناز میتوکندریهای سلولهای زنده و فعال احیا و به ترکیب رنگی فورمازان نامحلول تبدیل می شود که این رنگ در حلال آلی حل شده، شدت رنگ در طول موج ۵۷۰ نانومتر متناسب با میزان سلولهای زنده است. در این تحقیق، مطالعه سمیت سلولی نمونه ها با روش MTT برای رده های سلولی MG-63 انجام شد. ابتدا سلولها با تراکم ۱۰۴×۱ سلول در هر چاهک کاشته شدند و بهمدت ۳ و ۷ روز نمونهها انکوبه شدند. سپس از انکوباتور خارج شدند و محیط حاوی ۱۰ درصد محلول MTT به آن اضافه شد. سپس نمونه ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بهمدت ۴ ساعت انکوبه شدند. در ادامه محیط حذف شد و بلورهایهای فورمازان تولیدشده توسط فعالیت آنزیم ميتوكندري با ١٠٠ ميكروليتر بافر انحلال سازي (Triton-X 100, 0.1 HCI و ايزوپروپانول) حل شدند. ميزان جذب اين محلول بهوسيله اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۷۰ نانومتر با صفحهخوان اندازه گیری شد.

۳ نتایج و بحث

۳–۱ ارزیابی خواص مکانیکی

۳-۱-۱ استحکام کششی

F- بهینهسازی، معادله ۸ را برای استحکام کششی پیشنهاد می کند. مدل -P-value 20.05 معنی دار بوده است. بنابراین از این مدل برای حرکت در فضای طراحی استفاده شد. نمودارهای سطح پاسخ (شکل 1۵) اثرات متغیرهای مستقل مختلف را بر استحکام کششی (۲۱) نشان می دهد. همان طور که نشان داده شده، استحکام کششی با افزایش نسبت PEG/GEL ابتدا کاهش و سپس افزایش یافته است. همچنین با افزایش درصد وزنی BG مقدار استحکام کششی افزایش یافته است (۵۰۵ = Peulue). بیشینه مقدار تنش ۳۹۸ ۹۳۹ است و با توجه به نمودار حاصل می توان مشاهده نمود که تأثیر متغیر درصد وزنی BG نسبت به متغیر دیگر بر میزان استحکام کششی ایجادشده بیشتر و استحکام کششی به دلیل برهم کنش خوب بین داربست پلیمری و BG و پراکندگی مناسب BG در ماتریس پلیمری به طور چشمگیری افزایش یافته است.

Y1 پاسخ پیشبینیشده برای استحکام کششی و X1 و X2 بهترتیب مقدار کدگذاریشده برای نسبت وزنی PEG/Gel و درصد وزنی BG هستند. رگرسیون دادهها نشان داد که ضرایب خطی عوامل مستقل تأثیر معنیداری بر پاسخها داشتند. ضرایب منفی نشاندهنده اثر نامطلوب و ضرایب مثبت نشاندهنده اثر مطلوب بر روی پاسخ است.

۳-۱-۳ مدول یانگ

با افزایش نسبت وزن PEG/Gel و درصد وزنی BG مقدار مدول یانگ افزایش یافته است. بیشینه مقدار مدول یانگ ۴۶/۶۷ مگاپاسکال است که مربوط به داربستی است که نسبت PEG/GEL در بیشترین مقدار خود و همچنین درصد BG نیز در بیشینه مقدار خود یعنی ۵۰٪ است. در شکل ۱۵، تأثیر متقابل این دو عامل بر مقدار مدول یانگ به صورت هم افزایی بوده است. مدل پیش بینی شده برای مدول یانگ در معادله ۹ آورده شده است:

 $Y_{2} = 5.49 + 0.2043X_{1} + 1.16X_{2} + 0.295X_{1}X_{2} - 0.1421X_{1}^{2} - (9) \quad 0.7X_{2}^{2}$

Y2 پاسخ پیش بینی شده برای مدول یانگ و X1 و X2 به تر تیب مقدار کدگذاری شده برای نسبت وزنی PEG/Gel و درصد وزنی BG هستند. رگر سیون داده ها نشان داد که ضریب خطی X2 تأثیر بیشتری بر پاسخ داشته است. ضرایب منفی نشان دهنده اثر نامطلوب و ضرایب مثبت نشان دهنده اثر مطلوب بر روی پاسخ است.

۳–۱–۳ ازدیاد طول در شکست

با توجه به شکل ۲ میتوان مشاهده می شود که با افزایش نسبت وزن

PEG/GEL ازدیاد طول در شکست داربست افزایش یافته است. با افزایش درصد وزنی BG، داربستها بهدلیل برهمکنش بین گروههای BG و گروههای هیدروکسیل PEG، انعطاف پذیری خود را از دست داده، در نتیجه حرکت آزاد زنجیرههای PEG محدود شده و درصد ازدیاد طول در شکست کاهش یافته است. مدل پیش بینی شده برای بیان ازدیاد طول در شکست در معادله ۱۰ آورده شده است:

 Y_3 پاسخ پیش.بینیشده برای ازدیاد طول در شکست و X_1 و X_2 بهترتیب مقدار کدگذاری شده برای نسبت وزنی PEG/Gel و درصد وزنی BG هستند. رگرسیون دادهها نشان داد که ضریب خطی X_2 منفی و ضریب X_1 تأثیر مثبت بر روی پاسخ داشته است.

۲-۳ درصد تورم

در شکل 3۵ ملاحظه می شود که با افزایش نسبت وزن PEG/Gel و همچنین درصد وزنی BG مقدار تورم داربست افزایش می ابد. بیشینه درصد تورم ۴۴/۳۲ ٪ و مربوط به داربستی است که نسبت PEG/Gel در بیشترین مقدار خود است. با توجه به اینکه PEG و ژلاتین هر دو آبدوست هستند، با افزایش نسبت، میزان جذب آب و تورم داربست افزایش یافته است. مدل پیش بینی شده برای درصد تورم در معادله ۱۱ آورده شده است:

$$Y4 = 21.58 + 6.31X_1 + 1.65X_2 - 6.035X_1X_2 \tag{11}$$

Y4 پاسخ پیش بینی شده برای درصد تورم و X1 و X2 به تر تیب مقدار کدگذاری شده برای نسبت وزنی PEG/Gel و درصد وزنی BG هستند. رگر سیون داده ها نشان داد که ضریب خطی X1 تأثیر بیشتری بر پاسخ داشته است. ضرایب منفی نشان دهنده اثر نامطلوب و ضرایب مثبت نشان دهنده اثر مطلوب بر روی پاسخ است.

۲-۲-۱ ارزیابی درصد جذب رطوبت

در شکل 3b مشاهده می شود که با افزایش درصد BG، درصد جذب رطوبت کاهش می ابد و بیشینه آن در کمینه درصد BG یعنی در ۱۰٪ است. این مسئله را می توان به افزایش درصد بلورینگی داربست ارتباط داد. با افزایش نسبت وزنی PEG/Gel ابتدا درصد جذب رطوبت افزایش و سپس کاهش می یابد و مقدار بیشینه درصد جذب رطوبت در مقدار متوسط PEG/Gel است. در محدوده مقادیر تعیین شده برای هر دو عامل، اثر دو عامل بر درصد رطوبت حالت متقابل داشته و اثر همدیگر را خنثی می کنند.

 $Y_5 = 3.98 + 0.1862X_1 - 0.485X_2 + 0.725X_1X_2 - 0.815X_1^2 - (17) - 0.04X_2^2$

Y5 پاسخ پیش بینی شده برای درصد جذب رطوبت و X₁ و X₂ بهترتیب مقدار کدگذاری شده برای نسبت وزنی PEG/Gel و درصد وزنی BG هستند. رگرسیون داده ها نشان داد که ضریب خطی X₂ منفی و ضریب X₁ تأثیر مثبت بر روی پاسخ داشته است.



BG و درصد وزنی PEG/Gel و درصد وزنی PEG/Gel و درصد وزنی Figure 1 Response surface graph of: a) Tensile Strength, b) Young's Modulus versus PEG/Gel weight ratio and BG weight percent, respectively

BG شکل ۲ نمودار سطح پاسخ ازدیاد طول شکست بر حسب PEG/GEL و درصد وزنی Figure 2 Response surface plot of elongation at break versus PEG/GEL weight ratio and BG weight percent

BG شکل ۳ نمودار سطح پاسخ الف) درصد تورم ب) درصد جذب رطوبت بر حسب نسبت وزن PEG/Gel و درصد وزنی Figure 3 Response surface graph of: a) Swelling percentage b) Moisture Uptake (%) versus PEG/Gel weight ratio and BG weight percent

۲-۲-۲ ارزیابی درصد فرسایش با توجه به شکل (۴) میتوان مشاهده کرد که با افزایش نسبت وزنی PEG/Gel و همچنین درصد وزنی BG درصد فرسایش افزایش مییابد، اما میزان تأثیر گذاری نسبت وزنی PEG/Gel بر درصد فرسایش بیشتر از مقدار درصد وزنی BG است.

$$\begin{split} \mathbf{Y}_6 &= 33.22 + 2.44 \mathbf{X}_1 + 1.08 \mathbf{X}_2 - 1.43 \mathbf{X}_1 \mathbf{X}_2 - 4.76 \mathbf{X}_1{}^2 - 6.94 \mathbf{X}_2{}^2 \\ & (1\%) \end{split}$$

 Y_6 پاسخ پیشبینی شده برای درصد فرسایش و X_1 و X_2 بهترتیب مقدار کدگذاری شده برای نسبت وزنی PEG/Gel و درصد وزنی BG هستند. رگرسیون دادهها نشان داد که ضریب خطی X_1 تأثیر بیشتری بر پاسخ داشته است. ضرایب منفی نشان دهنده اثر نامطلوب و ضرایب مثبت نشان دهنده اثر مطلوب بر روی پاسخ است.

۳-۳ بهینهسازی داربستهای کامپوزیتی Gel/PEG/BG

در جدول ۴ بهترین مدلهای پیشبینی شده و سطح بهینه برای هر یک از پاسخها به همراه مقادیر P و F آورده شده است و با توجه به آنکه خطای پیشبینی تخمین زده شده کمتر از ۱۰ درصد بوده، اعتبار و پیشبینی مدل توسعه یافته تأیید شد. در جدول ۵ شرایط داربست بهینه بر اساس سطح بهینه تعریف شده، آورده شده است.

FTIR ارزیابی طیف فروسرخ BG با استفاده از آزمون

Si- در ناحیه آزمون FTIR در شکل 5a، ارتعاش کششی پیوند نامتقارن -Si در ناحیه آزمون FTIR و قله ایجادشده در ناحیه ¹-۷۹۵ cm به ارتعاش O-Si کششی متقارن Si-O-Si و قله ایجادشده در ناحیه ¹-۷۹۵ cm در عدد کششی متقارن Si-O-Si نسبت داده میشود. همچنین، قله ارتعاشی در عدد موجی ¹-۵۳ به دلیل حالت ارتعاشی خمش Si-O-Si است که نشان می دهجد نمونه پودر شیشه زیستفعال از شبکه Si-O-Si تشکیل شده است. می دهد نمونه پودر شیشه زیستفعال از شبکه Si-O-Si تشکیل شده است. می دهد نمونه پودر شیشه زیستفعال از شبکه Si-O-Si تشکیل شده است. می دهد نمونه پودر شیشه زیستفعال از شبکه Si-O-Si تشکیل شده است. می دهد نمونه پودر شیشه زیستفعال از شبکه Si-O-Si تشکیل شده است. می دهد نمونه پودر شیشه زیستفعال از شبکه Si-O-Si تشکیل شده است. می دونه یودر شیشه زیست فال از شبکه Si-O-Si تشکیل شده است. می دهد نمونه پودر شیشه زیست فال اختصاص دارد [TT].

Gel/PEG/BG ارزیابی طیف فروسرخ داربستهای کامپوزیتی Gel/PEG/BG تحلیل طیف FTIR سه نمونه با کدهای (S1) %PEG/Gel:10, BG:50% (S1) نجام شد (S2) %PEG/Gel:30, BG:30% (S2) انجام شد (شکل 50). همان طور که مشاهده می شود، قله پهن در ناحیه ¹ ۳۴۴۴ cm⁻¹ در ناحیه ¹ ۳۴۴۴ cm⁻¹ به گروه هیدروکسیل ساختار BG مرتبط است. در این حالت، قله در ناحیه ۳۴۲۱ و ¹ ۲۸۷۴ نشان دهنده گروه های متیل در ساختار تهیه-مشده است. ارتعاش کششی پیوند نامتقارن Si-O-Si در ناحیه ۸۱۰۸۸ و ¹ ۳۰۹۸ (cm⁻¹ مربوط به ارتعاش کششی نقله ارتعاشی در عدد موجی ۱۹۸۱ و ¹ ۶۱۴ مربوط به ارتعاش خمش Si-O-Si است. قله در ناحیه ۱۹۵۷، ۱۹۶۴ و ۱۹۶۰ مربوط به ارتعاش خمش Si-O-Si است. قله در ناحیه ۱۹۵۷، ۱۹۶۰ و ¹⁻ ۶۱۴ مربوط به ارتعاش خمش Si-O-Si است. قله در ناحیه ۱۹۵۷، ۱۶۹۰ و

مربوط به آمید نوع I و قله در نزدیکی ۱۳۶۵ و IT۴۰ cm⁻¹ بهترتیب مربوط به آمید نوع I و قله در نزدیکی ۱۳۶۵ و OH در ژلاتین خالص در به پیوند آمید نوعII (NH2) و نوع III است. پیوندهای هیدروژنی در داربست از محدوده T۴۲۰ cm⁻¹ بوده که با تشکیل پیوندهای هیدروژنی در داربست از شدت آنها کاسته شده و در منطقهای از عدد موجی T۴۲۱ تا T۴۲۴ cm⁻¹. گسترده شده است [۲۴].

۳–۶ ارزیابی پراش پر توی ایکس (XRD) پودر شیشه زیست فعال نتایج XRD برای پودر شیشه زیست فعال، حالت آمورف را نشان داد که نشان دهنده اختلال داخلی و ماهیت شیشه ای است (شکل ۶). هیچ الگوی پراش مشخصی که بیانگر ساختار بلوری نمونه شیشه ای باشد، مشاهده نشد.

۷-۳ ارزیابی ریختار داربستهای کامپوزیتی Gel/PEG/BG با استفاده از میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM)

برای بررسی یکنواختی و خصوصیات فیزیکی و ریختار، از میکروسکوپ الكتروني استفاده شد. تصاوير سه نمونه با كدهاي %PEG/Gel:10, BG:50 PEG/Gel:50, BG:10% (S3) و PEG/Gel:30, BG:30% (S2) (S1) در شکل 7a آورده شده است. برای برهم کنش سلول-ماتریس، از انواع مختلفی از سلول ها مانند IMR-32 و Cos-7 و Cos-7 استفاده شد و اندازه این سلول ها تقریباً کمتر از اندازه منافذ داربست است. تصاویر SEM بیانگر آن است که سلولهای رشدیافته روی داربست به خوبی در میان داربستها نفوذ کرده و شبکه سهبعدی مناسبی از سلولها ایجاد شده است. شبکه سلولی ایجادشده بیانگر حفظ ریختار سلول طی فرایند کاشت است و نقاط سفید موجود در تصاویر میکروسکوپی مربوط به سلول است که به داربست به خوبی چسبیدهاند. توزیع یکنواخت پلیمر در داربستها با کمترین کلوخگی مشاهده شد. بنابراین بدون هیچ محدودیتی مهاجرت، چسبندگی و تکثیر سلولها روی این ماتریسها صورت می گیرد. عکسهای دیجیتالی نیز در شكل 7b آورده شده است. افزايش غلظت پليمر حين سنتز داربست همچنین باعث افزایش سفتی و شکنندگی آن بسته به پلیمر مورد استفاده می شود. مشاهده شد که داربست هایی که غلظت ژلاتین بیشتری دارند، ماهیت اسفنجی و کشسانی بیشتری از خود نشان میدهند. با افزایش غلظت ژلاتین، مقدار آب متصل به پلیمر نیز افزایش می یابد که باعث افزایش انعطاف پذیری و کشسانی داربستها می شود. رفتار موضعی سلولها و بافت نیز تحت تأثیر خواص مکانیکی است که به موفقیت کاشتینههای زیست مواد و مهندسی بافت کمک میکند.

شکل ۴ نمودار سطح پاسخ درصد فرسایش بر حسب نسبت وزنی PEG/Gel و درصد وزنی BG Figure 4 Response surface graph of erosion percentage versus PEG/Gel weight ratio and BG weight percent

جدول ۴ ویژگیهای مدلهای متناسب با پاسخها Table 4 Characteristics of response-fit models

Responses	Responses Optimal level		P and F Values	
Y1 = Young modulus (MPa)	Maximize	Quadratic	0.017 - 5.56	
Y2 = Tensile strength (MPa)	Y2 = Tensile strength (MPa) Maximize		0.0149 - 5.83	
Y3 = Swelling (%) Maximize		2FI	0.0015 - 12.56	
Y4 = Moisture Uptake (%)	Maximize	Quadratic	0.0124 - 5.89	
Y5 = Erosion (%) Minimize		Quadratic	0.0248 - 4.365	
Y6 = Elongation of Break (%)	Maximize	Quadratic	0.00254 - 6.88	

جدول ۵ شرایط داربست کامپوزیتی بهینه Table 5 Optimum composite scaffold conditions

X1 PEG/Gel (w/w)	X2 BG (Weight %)	Y1 Young's Modulus (MPa)	Y2 Tensile Strength (MPa)	Y3 ('/.) Swelling	Y4 Moisture Uptake (½)	Y5 Erosion (%)	Y6 Elongation (%) at Break
0.555	30	59.03	5.488	21.577	3.98	33.224	3.1574

PEG/Gel:30, BG:30% (S2) ، PEG/Gel:10, BG:50% (S1) و PEG/Gel:30, BG:30% (S2) ، PEG/Gel:10, BG:50% (S1) و BG و PEG/Gel:30, BG:30% (S2), and PEG/Gel:50, BG:10% (S3) بالمكل ۵ طيف Figure 5 FTIR spectrum of a) BG and b) scaffolds PEG/Gel:10, BG:50% (S1), PEG/Gel:30, BG:30% (S2), and PEG/Gel:50, BG:10% (S3)

S1, S2, S3 شکل ۷ الف) تصاویر SEM و ب) تصاویر دیجیتالی برای سه داربست Figure 7 a) SEM micrographs and b) digital images for S1, S2, and S3 scaffolds

۸-۳ ارزیابی خواص مکانیکی داربستهای کامپوزیتی Gel/PEG/BG

نتایج حاصل از آزمون استحکام کششی برای سه نمونه با کدهای (S1) PEG/Gel:10, BG:50% (S2)، PEG/Gel:50, BG:10% (S3) و (S3) PEG/Gel:50, BG:10% در شکل ۸ آورده شده است.

مدول یانگ یا شیب نمودار، از قسمت خطی نمودار تنش- کرنش حاصل میشود. قسمت خطی نمودار تنش- کرنش نشاندهنده ناحیه کشسان و قسمت غیرخطی ناحیه پلاستیک است. بیشینه استحکام کششی نقطهای است که نمونه بیشترین تنش را متحمل میشود و پارگی برای نمونه اتفاق میافتد. ویژگی تقویت کنندگی فاز پراکنده در فاز زمینه زمانی رخ میدهد که این دو فاز اتصال مستحکمی با یکدیگر داشته باشند؛ در غیر این صورت، نهتنها تقویت کننده نخواهد بود، بلکه بهعنوان عاملی برای ایجاد ترک و در نتیجه کاهش استحکام مکانیکی عمل خواهد کرد. بنابراین تشکیل پیوندی بین شیشههای زیست فعال با زمینه ژلاتینی سبب بهبود خواص مکانیکی داربست کامپوزیتی شده است.

Gel/PEG/BG ارزیابی زاویه تماس داربستهای کامپوزیتی Gel/PEG/BG

از اهداف اصلی ساخت داربست، رشد و چسبندگی سلولها برای ترمیم یا جایگزینی بافت آسیب دیده است. به همین دلیل، بررسی میزان آب دوستی و آب گریزی داربستها برای پیش بینی وضعیت سلولها هنگام قرار گرفتن در محیط کشت الزامی است. بدین منظور، با اندازه گیری زاویه تماس قطره آب با سطح داربست میتوان به آب دوست یا آب گریز بودن آن پی برد. اگر زاویه تماس بین قطره آب و سطح داربست بین ۱ تا ۵۱ درجه باشد، سطح زاویه تماس بین قطره آب و سطح داربست بین ۱ تا ۵۱ درجه باشد، سطح ماربست آب دوست است. هرچه زاویه به صفر نزدیکتر باشد، سطح آب دوست تر است و این یعنی میزان ترشوندگی داربست در تماس با آب بیشتر است. در مقابل، اگر زاویه تماس قطره آب با سطح داربست بین ۵۱ تا 180 درجه باشد، داربست آب گریز است. هرچه این زاویه به 180 درجه نزدیکتر باشد، داربست آب گریز است. هرچه این زاویه به مونه نزدیکتر باشد، داربست آب گریز است. هرچه این زاویه به مونه درجه ایزدیکتر باشد، داربست آب گریز است. هرچه این زاویه ماس سه نمونه نزدیکتر باشد، داربست آب گریز است. هرچه این زاویه ماس سه نمونه دازدیکتر باشد، داربست آب گریز است. شرکل ۹). PEG/Gel:30, BG:30% (S2) %PEG/Gel:50, BG:10%

عکسبرداری حین جذب آب در ساختار از هر سه نمونه با فواصل زمانی مختلف انجام شد. این تحلیل برای هر نمونه ۳ مرتبه تکرار شده است. با توجه به نتایچ، هر چه نمونه در مدت زمان کوتاهتر، قطره آب را جذب کند، نمونه سنتزی آبدوست تر خواهد بود. بنابراین نمونه S2 در مدت زمان کوتاهتری نسبت به نمونه S1 قطره آب را جذب میکند. با مقایسه دادههای حاصل از تکرار آزمون نمونه S2 مشاهده شد که هر سه تکرار با سه مقدار مختلف زاویه تماس به دست آمده است. این احتمال وجود دارد که سطح نمونه ۲ دارای گروههای عاملی آب دوست و آب گریز باشد. دادههای حاصل از تکرار آزمون زاویه تماس نمونه S3 نشان می دهد که نمونه دارای سطح یکسان بوده و جذب سطحی به نسبت یکسان صورت گرفته است. با مقایسه هر سه نمونه مشخص شد میزان آب دوست یمونه IS نسبت به نمونه S3 کمتر است که این مسئله را با توجه به آب دوست بودن PEG می توان توجیه

کرد. نمونه S2 نسبت به نمونههای S1 و S3 خصلت آبدوستی بیشتری دارد.

۳–۱۰ ارزیابی رفتار زیستی نمونهها

در این تحقیق، بر اساس نتایج، میزان زندهمانی سلولها پس از ۲۴، ۴۸ و ۲۷ ساعت در گروههای شاهد و داربست بدون شیشه زیستفعال و داربست با شیشه زیستفعال (جدول۶) نشان داد که به دلیل حضور یونهایی مانند منیزیم و روی در شیشههای زیستفعال، سمیت سلولی افزایش می یابد. پس از ۲۴ ساعت، بقای سلولی در همه گروهها تقریباً در هر سه نمونه یکسان بود. پس از ۲۲ ساعت، درصد زنده مانی سلولی در سلولها تقریباً یکسان اما کمتر از ۴۸ و ۲۴ ساعت بود. به عبارتی، نتایج زندهمانی سلولی آزمون MTT تفاوت معنی داری را بین نمونه آزمایش و شاهد نشان نداد. بنابراین می توان این داربست کامپوزیتی را داربستی زیست پزشکی دانست.

S1, S2, S3 شکل ۹ تصاویر زاویه تماس سه نمونه داربست Figure 9 Contact angle images of S1, S2, and S3 scaffolds

جدول ۶ نتایج آزمون MTT برای نمونه کنترل و داربست بدون BG و داربست با BG	
Table 6 MTT test results for control sample and scaffolds without BG and with BG	£

24 Hours			48 Hours				72 Hours	
Control	Without BG	With BG	Control	Without BG	With BG	Control	Without BG	With BG
0.248	0.265	0.239	0.523	0.531	0.509	0.793	0.788	0.791
0.312	0.301	0.324	0.548	0.592	0.552	0.812	0.818	0.819
0.282	0.298	0.299	0.583	0.558	0.591	0.803	0.812	0.814

۴ نتیجهگیری

بهینه سازی سامان مند برای ساخت داربست های ژلاتین پِگ دارشده با دو متغیر مستقل نسبت وزنی PEG/Gel و درصد وزنی BBتوسط -Bw (Box) RSM انجام شد. پاسخ ها شامل استحکام نهایی، مدول یانگ، ازدیاد طول در شکست، درصد تورم، درصد فرسایش و درصد جذب رطوبت بود. شرایط بهینه برای به دست آوردن داربستی با خواص مکانیکی، زیست تخریب پذیری و زیست سازگاری مناسب تعیین شد و آزمون ANOVA برای به دست آوردن بهترین مدل برای توصیف چگونگی تأثیر هر یک از متغیرهای مستقل بر پاسخ ها بررسی شد و شرایط داربست بهینه بر اساس سطوح تعریف شده در نرمافزار مشخص شد.

در این مطالعه، از ژلاتین، پلیمر طبیعی غیرسمی و زیست تخریب پذیر به عنوان ماتریس و از پلی اتیلن گلیکول به عنوان پوشش برای اصلاح خواص آب دوستی کامپوزیت ها استفاده شد. ترکیب شیشه های زیستی حاوی روی و منیزیم

مراجع

understandings to therapeutic applications, *Biomaterials*, 277, 121114, 2021.

- Safari B., Davaran S. and Aghanejad A., Osteogenic potential of the growth factors and bioactive molecules in bone regeneration, *International Journal of Biological Macromolecules*, 175, 544-557, 2021.
- Liang W., Wu X., Dong Y., Shao R., Chen X., Zhou P. and Xu F., In-vivo behavior of bioactive glassbased composites in animal models for bone regeneration, *Biomaterials Science*, 9, 1924-1944, 2021.
- Gupta N. and Santhiya D., In-situ mineralization of bioactive glass in gelatin matrix, *Materials Letters*, 188, 127-129, 2017.
- Jain S., Gujjala R., Azeem P. A., Ojha S. and Samudrala R. K., A review on mechanical and invitro studies of polymer reinforced bioactive glassscaffolds and their fabrication techniques, *Ceramics International*, 48, 5908-5921, 2022.
- Sharifi E., Sadati S. A., Yousefiasl S., Sartorius R., Zafari M., Rezakhani L. and Makvandi P., Cell loaded hydrogel containing Ag-doped bioactive glass-ceramic nanoparticles as skin substitute: Antibacterial properties, immune response, and scarless cutaneous wound regeneration, *Bioengineering & Translational Medicine*, 7, e10386, 2022.
- 16. Yao L., Gao H., Lin Z., Dai Q., Zhu S., Li S. and Cao X., A shape memory and antibacterial cryogel with rapid hemostasis for noncompressible hemorrhage and wound healing, *Chemical Engineering Journal*, 428, 131005, 2022.
- Afghah F., Iyison N. B., Nadernezhad A., Midi A., Sen O., Saner Okan B. and Koc B., 3D fiber reinforced hydrogel scaffolds by melt electrowriting and gel casting as a hybrid design for wound healing, *Advanced Healthcare Materials*, *11*, 2102068, 2022.
- 18. Begines B., Arevalo C., Romero C., Hadzhieva Z., Boccaccini A. R. and Torres Y., Fabrication and

خواص مکانیکی و زیست فعالی داربستهای کامپوزیتی را بهبود بخشید. ذرات BG، ساخته شده با فن سل-ژل، بهطور یکنواخت در ماتریس کامپوزیتی و تقریباً بدون کلوخگی توزیع شدند. طیف ATR-FTIR از BGهای سنتزشده نوار ارتعاشی گستردهای را در محدوده ۹۰۰ تا ۱۱۰۰ نشان داد که به نوار کششی نامتقارن Si-O-Si اختصاص دارد. طیف FTIR کامپوزیتی PEG/Gel/BG وجود BG در داربستهای کامپوزیتی و برهم کنش بین ماتریس پلیمری و BG را تأیید کرد. افزایش مقدار BG نسبت به داربست پلیمری منجر به کاهش اندازه منافذ و درنتیجه موجب کاهش درصد تورم داربست شد. تصاویر SEM ساختار متخلخل منظم و بههم پیوسته خوبی را نشان دادند. داربستهای کامپوزیتی PEG/Gel/BG پاسخ سلولی MG-63 نیاباراین میتوان نتیجه گرفت که کامپوزیتهای PEG/Gel/BG میتوانند بنابراین میتوان نتیجه گرفت که کامپوزیتهای PEG/Gel/BG میتوانند. گزینههای مناسبی برای مهندسی بافت استخوان باشند.

- 1. Farag M.M., Liu H.H. and Makhlouf A.H., New Nano-Bioactive Glass/Magnesium Phosphate Composites by Sol-Gel Route for Bone Defect Treatment, *Silicon*, 13, 857-865, 2021.
- 2. Ghomi F., Asefnejad A., Daliri M., Godarzi V. and Hemati M., Fabrication and characterization of chitosan/gelatin scaffold with bioactive glass reinforcement using PRP to regenerate bone tissue, *Nanomedicine Research Journal*, 7, 205-213,2022.
- Raz M., Moztarzadeh F. andKordestani S. S., Solgel based fabrication and properties of Mg-Zn doped bioactive glass/gelatin composite scaffold for bone tissue engineering, *Silicon*, 10, 667-674, 2018.
- Sharifi S., Ebrahimian-Hosseinabadi M., Dini G. and Toghyani S., Magnesium-zinc-graphene oxide nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering, *Arabian Journal of Chemistry*, 16, 104715,2023.
- Zhu G., Zhang T., Chen M., Yao K., Huang X., Zhang B. and Zhao Z., Bone physiological microenvironment and healing mechanism: Basis for future bone-tissue engineering scaffolds, *Bioactive Materials*, 6, 4110-4140,2021.
- Safari B., Davaran S. and Aghanejad A., Osteogenic potential of the growth factors and bioactive molecules in bone regeneration, *International Journal of Biological Macromolecules*, 175, 544-557,2021.
- Levy M. N., Koeppen B. M. and Stanton B. A., Principi di fisiologia di Berne & Levy, *Penerbit Buku Kompas*,2007.
- 8. Sonatkar J. and Kandasubramanian B., Bioactive glass with biocompatible polymers for bone applications, *European Polymer Journal*, *160*, 110801, 2021.
- 9. Sergi R., Bellucci D. and Cannillo V., A review of bioactive glass/natural polymer composites: State of the art, *Materials*, *13*, 5560, 2020.
- 10. Newman H., Shih Y. V. and Varghese S., Resolution of inflammation in bone regeneration: From

characterization of bioactive gelatin–alginate– bioactive glass composite coatings on porous titanium substrates, ACS Applied Materials & Interfaces, 14, 15008-15020, 2022.

- Karadjian M., Essers C., Tsitlakidis S., Reible B., Moghaddam A., Boccaccini A. R. and Westhauser F., Biological properties of calcium phosphate bioactive glass composite bone substitutes: Current experimental evidence, *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 305, 2019.
- Rahmani M., Moghanian A. and Yazdi M. S., The effect of Ag substitution on physicochemical and biological properties of sol-gel derived 60% SiO₂-31% CaO-4% P₂O₅-5% Li₂O (mol%) quaternary bioactive glass, *Ceramics International*, 47, 15985-15994, 2021.
- 21. Montazerian M., Zanotto E. D. and Mauro J. C. Model-driven design of bioactive glasses: from molecular dynamics through machine learning, *International Materials Reviews*, 65, 297-321, 2020.
- 22. Goudarzi G., Dadashian F., Vatanara A. and Sepehrizadeh Z., Optimization of keratin sponge preparation conditions for hemostatic application using response surface methodology (RSM), *Journal of Polymers and the Environment*, 32,1135-49, 2024.
- 23. Mehrabi T., Mesgar A. S. and Mohammadi Z., Bioactive glasses: a promising therapeutic ion release strategy for enhancing wound healing, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, *6*, 5399-5430, 2020.
- 24. Elkhouly H., Mamdouh W. and El-Korashy D. I., Electrospun nano-fibrous bilayer scaffold prepared from polycaprolactone/gelatin and bioactive glass for bone tissue engineering, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, *32*, 111, 2021.