Quarterly Journal of Defense Technology Engineering Imam Ali University
Autumn 2024, Vol. 39

Original Research

Security of sensor networks in military wireless networks

Seyed Mostafa Mirtabaee [1], MohammadYasin Mollajavadi[2], MohammadAli Ketabi[3]

[1,] Flight and Engineering Department, Imam Ali University

2 , 3 Aja University of Medica; Sciences

ARTICLE INFO

Received: 2024.07.12
Accepted: 2024.08.05
Published: 2024.09.13

Keyword:
Security, wireless
Network, sensor
cryptography
identification

***Corresponding Author:**
Seyed Roohollah Mirakbari
Email:
rooh_mir2003@yahoo.com

ABSTRACT

Collecting accurate and up-to-date information from war environments is always a vital and expensive issue. One of the new technologies in this field is the use of sensor networks. The sensor network contains nodes that have two basic characteristics. First, they are able to sense information from the environment, and secondly, they can transmit the information to certain points for processing. Sensor networks have characteristics that make them suitable for use in harsh and uncontrollable environments. He fights like in the fields. Sensor networks were developed motivated by military applications such as battlefield surveillance. But today, wireless sensor networks are used in industry and many civilian purposes, including industrial process monitoring and control, device health monitoring, environmental or home monitoring, health care applications, smart homes, and traffic control. In this research, we will provide an overview of sensor networks and examine different aspects of their use in military affairs.

فصل نامه مهندسی فناوری‌های دفاعی دانشگاه افسری امام علی (ع)

پاییز ۱۴۰۳، دوره ۳۹

مقاله پژوهشی

ساخت غشا پلیمری جذب شونده بر پایه پلی کاپرولاکتون و نشاسته با روش چاپ سه بعدی برای ترمیم بافت استخوانی

سید مصطفی میرطبایی[۱] *، محمدیاسین مولاجوادی [۲]، محمدعلی کتابی [۳]

۱ - استادیار، دانشکده مهندسی و پرواز، دانشگاه امام علی (ع)

۲ و ۳- دانشگاه علوم و پزشکی آجا

اطلاعات مقاله

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۱/۲۳

پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۱۵

انتشار مقاله: ۱۴۰۳/۰۹/۲۶

کلید واژگان:

تخریب پذیری

اندازه منافذ

نشاسته

چاپ زیستی سه‌بعدی

***نویسنده مسئول**

سید مصطفی میرطبایی

پست الکترونیکی:

mirtabaee_58@yahoo.com

چکیده

غشاهای بازسازی استخوان هدایت شده (**GBR**) که کاربردهای زیادی در دندانپزشکی دارند باید اندازه منافذ کافی داشته باشند تا از نفوذ بیش از حد بافت همبند به داخل نقص استخوانی از یک طرف داربست جلوگیری کنند و در عین حال رشد استخوان را از طرف دیگر تقویت کنند. در این مطالعه پلی کاپرولاکتون (**PCL**) و نشاسته با نسبت ۷۰ به ۳۰ از طریق روش چاپ زیستی سه بعدی مخلوط شدند که امکان کنترل مناسب بر اندازه منافذ داربست را فراهم می کند. تصاویر **SEM** نشان داد که در سمت بزرگتر، اندازه منافذ حدود ۳۷۰ میکرون و در سمت دیگر داربست، اندازه منافذ متوسط حدود ۱۵۰ میکرون است. همچنین، تجزیه و تحلیل **EDX** غلظت بالای اکسیژن و کربن در داربست را تایید کرد که نشان دهنده وجود **PCL** و نشاسته است. به دلیل توانایی لیپاز برای کاتالیز هیدرولیز پیوندهای استری در **PCL**، داربست هایی که در محلول سالین بافر فسفات (**PBS**) حاوی لیپاز غوطه ور شده بودند، نسبت تخریب بسیار بالاتری (۹۰٪) پس از ۲۸ روز نسبت به آنهایی که در محلول **PBS** حاوی آمیلاز بودند، نشان دادند. (۱۸٪) یا ترکیبی از هر دو (۵۱٪). این نسبت‌های تخریب بسیار بیشتر از گزارش‌های مشابه قبلی است که در آن داربست منافذ کوچک‌تری داشت که ناشی از روش‌های دیگری مانند الکتروریسی است. افزایش اندازه منافذ باعث افزایش تخریب می شود و در عین حال سطوح قابل قبولی از استحکام کششی (در حدود ۲.۵ مگاپاسکال) مورد نیاز برای غشاهای **GBR** را حفظ می کند.

۱.مقدمه

پریودنتیت از شایع ترین بیماریهای دهان و دندان است که به تحلیل استخوان تکیه گاه لثه منجر می شـود. این بیماری که احتمال ابتلا به آن با افزایش سن تشدید می‌شود سبب التهـاب بافـت هـای نگـه دارنـده دنـدان می‌شود که ممکن است به از دست رفتن این بافت ها و بروز نقـص هـای پیرادنـدانی منجـر شـود. تشـدید ایـن ناهنجاری می‌تواند سبب شل شدن و از دست رفتن دندان های سالم شود. از ایـن رو، امـروزه یکـی از مهمتـرین مباحث علم پریودنتولوژی ترمیم ضایعه های پیرادندانی و بازسـازی اسـتخوان از دسـت رفتـه فـک از راه تکثیـر سلولهای استخوانی است.

مهمترین ویژگی غشاهای جذب شونده قابلیت جذب بدون ایجاد واکنش جسم خارجی است. با وجـود ایـن، چالش اصلی پیش روی پژوهشگران در کاربرد غشاهای جذب شدنی مطابقت بین زمـان جـذب و مـدت تشـکیل بافت است. به عبارت دیگر انتظار می رود در مدت زمان تشکیل و بازسازی بافت جدید یـک پـارچگی سـاختاری غشا حفظ شود. مطالعات نشان دادهاند مدت زمان تشکیل بافت جدید بر اساس کاربرد تغییر می کند. به عنـوان مثال، ترمیم محل ضایعه در فرایند GTR نیازمند ۴ تا ۶ هفته زمان است. در حـالی کـه دوره ای ۶ ماهـه بـرای رشد مناسب و حمایت از بافت استخوانی جدید در فرایند GBR نیاز است. از این رو، ثبـات و پایـداری غشـاهای جذب شدنی درون بدن باید در محدوده زمانی بین چهار هفته تا چند ماه تضمین شود [۱].

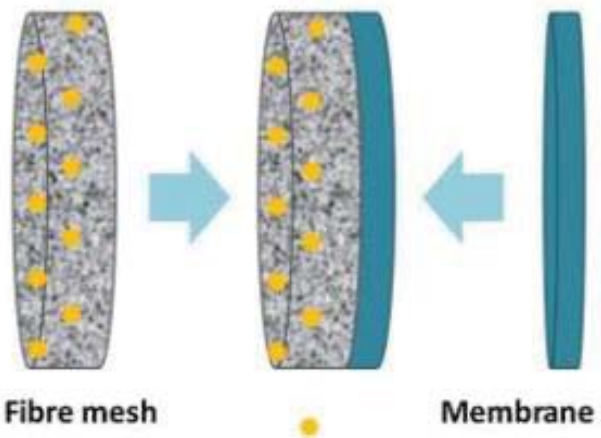
کاربرد پلیمرهای طبیعی به واسطه خواصی نظیر زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری و ایمنی مناسب در فرایندهای GTR و GBR گسترش یافته است. به عبارت دیگر زیست فعالی ذاتی و قابلیـت ارائـه مواضـع فعـال برای اتصال به سلول از مهمترین مزایای پلیمرهای طبیعی در مقایسه با پلیمرهای سنتزی است. بـا وجـود ایـن، برخی مشکلات مرتبط با زیست فعالی ذاتی پلیمرها، نظیر پاسخ ایمنی قـوی، پیچیـدگی‌های مـرتبط بـا خـالص سازی این پلیمرها و امکان انتقال بیماری کاربرد این پلیمرهـا را محـدود می‌کنـد [۲ و ۳]. غشـاهای ژلاتینـی از جمله غشاهای مبتنی بر پلیمرهای طبیعی هستند که دارای خواص شایان توجهی از قبیل یک پارچگی مناسـب بافت، رگ زایی سریع، زیست تخریب پذیری بدون واکنشهای خارجی زیسـت سـازگاری و قابلیـت بهبـود زخـم هستند. کراس لینک کردن به عنوان روش کارآمدی برای بهبـود پایـداری و خـواص مکـانیکی ژلاتـین شـناخته می‌شود. به عنوان مثال، کراس لینک کردن با گلوتار آلدهید N هیدروکسیل سوکسینامید و عملیـات گرمـایی از جمله روش‌های بهبود خواص مکانیکی ژلاتین هستند [۴]. از پلیمرهایی مانند کیتوسـان [۵ و ۶]، کـلاژن [۷] و نشاسته [۸] نیز می‌توان به عنوان پلیمرهای طبیعی نام برد که بر پایـه آن‌هـا غشـاهای زیـادی سـاخته و مـورد مطالعه قرار گرفته‌اند.

از مهمترین پلیمرهای سنتزی مورد استفاده در ساخت غشاهای زیستی، پلی کاپرولاکتون(PCL) است. ایـن ماده به علت استحکام مکانیکی زیاد، زیست سازگاری و قیمت کم، به عنـوان یکـی از پلیمرهـای پزشـکی مـورد توجه است که به طور گسترده در مهندسی بافت استخوان مطالعه شده است. جذب زیستی کامـل غشـای PCL در بدن تقریبا ۲ تا ۳ سال طول می‌کشد و در نتیجه برای استفاده در روش GTR و GBR بسیار طولانی اسـت. افزون بر این، آب گریزی غشاهای خالص PCL سبب کاهش چسبندگی و تکثیر سلولی می شود، بنابراین PCL همیشه به شکل آمیخته با سایر پلیمرها یا به صورت کوپلیمر، بـرای کاربردهـای پزشـکی اسـتفاده می‌شـود [۹-

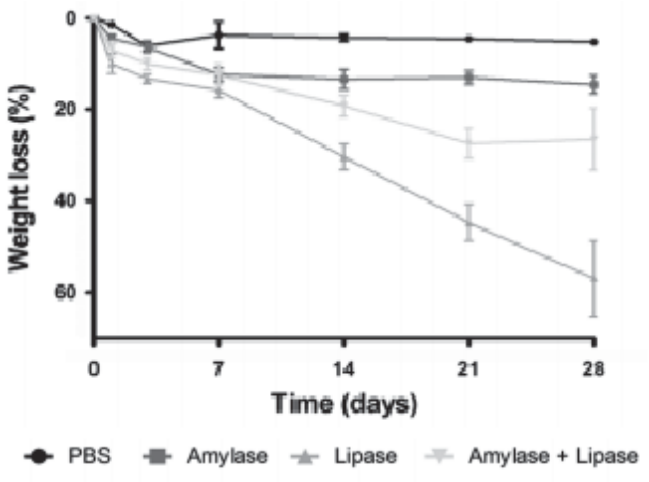
۱۱].پلی لاکتیک اسید و پلی گلیکولیک اسید از دیگر پلیمرهای سنتزی مورد استفاده در مطالعات مشابه می‌باشند [۱۲-۱۴].

در سال ۲۰۱۳ ریکویچا و همکاران به بررسی استفاده از PCL و نشاسته (به نسبت ۷ به ۳) برای ساخت یک غشا دو لایه GBR پرداختند. در این پژوهش برای ساخت این غشا از یک سو از روش قالب ریزی برای ایجاد یک مانع کامل در مقابل عبور سلول های مهاجم به بافت آسیب دیده استفاده شد. همچنین در لایه دیگر از روش الکتروریسی به منظور ایجاد فضای کافی برای رشد سلول استفاده شد (شکل ۱) . بررسی خواص مختلف از جمله تست تخریب پذیری نشان داد همانطور که در شکل ۲ مشخص شده است، پس از ۲۸ روز قرار گیری نمونه ها در محلول های مختلف حاوی آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز (که به ترتیب در تخریب پذیری نشاسته و PCL موثرند)، نمونه ها حداکثر ۶۰ درصد تخریب شده اند. همچنین انجام تست های سلولی نشان داد که سلول‌ها از میزان زنده مانی مناسبی بر روی داربستی با این ترکیبات برخوردار بوده اند [۱۵].

به طور کلی در این مقاله اثر استفاده از متد چاپ سه بعدی و به طبع آن داشتن کنترل بهتر بر اندازه منافذ داربست ساخته شده از ترکیب PCL و نشاسته بررسی می‌شود تا بتوان یافت استفاده از این روش چه اثری بر تخریب پذیری و سایر خواص مکانیکی داربست دارد.



شکل ۱- شماتیک غشا دو لایه [۱۵]

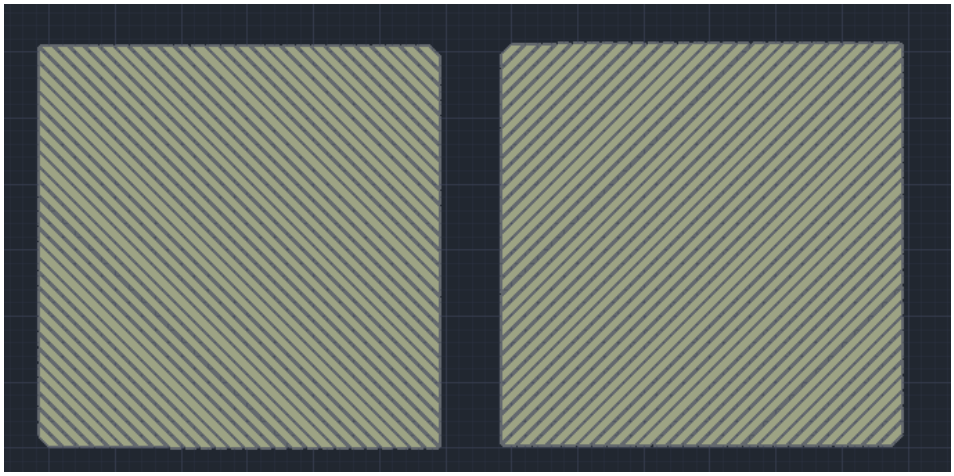


شکل ۲- بررسی تخریب پذیری نمونه ها تا ۲۸ روز [۱۵]

۲- روش تحقیق

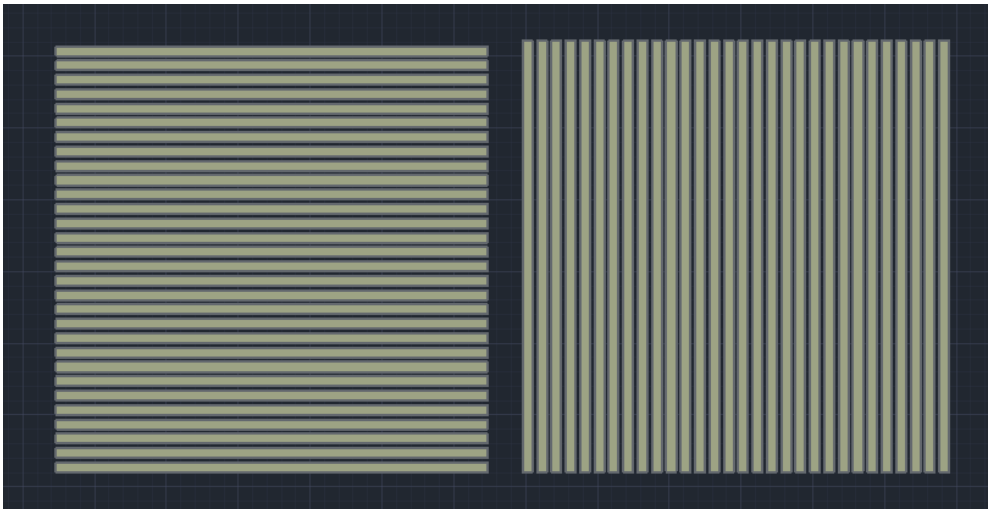
۲-۱- طراحی داربست

برای طراحی داربست چندلایه باید در نظر داشت به منظور ایجاد فضای کافی برای رشد سلول های استخوانی، از یک سو داربست باید اندازه منافذی نسبتا بزرگ داشته باشد و از سوی دیگر برای جلوگیری از هجوم سلول های فیبروبلاست باید اندازه منافذ بسیار کوچک باشد. به همین منظور داربست مورد استفاده به صورت ۶ لایه طراحی شد به طوری که فاصله رشته ها در پرینت ۲ لایه اول ۱۰۰ میکرون در نظر گرفته شده است و همچنین لایه اول با زاویه ۴۵ درجه و لایه دوم با زاویه ۱۳۵درجه پرینت خواهند شد (شکل ۳).

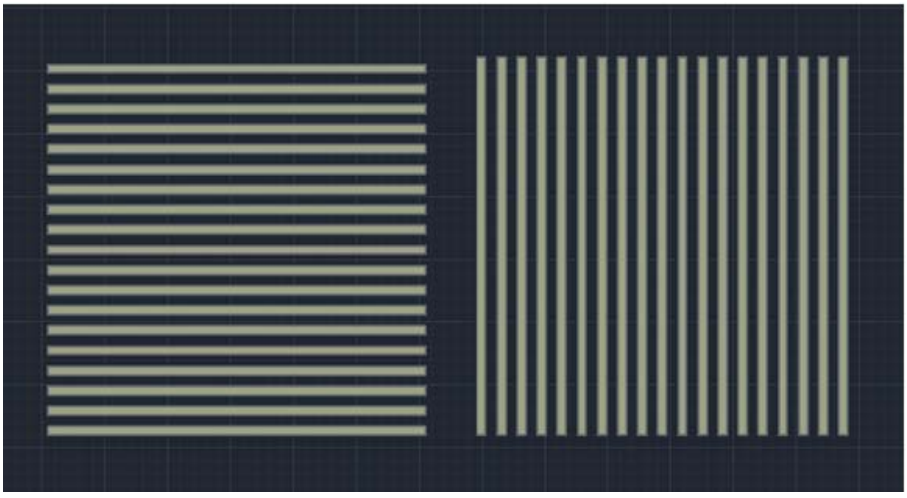


شکل ۳- طراحی لایه اول و دوم داربست با فاصله ۱۰۰ میکرون و زاویه ۴۵ و ۱۳۵ درجه

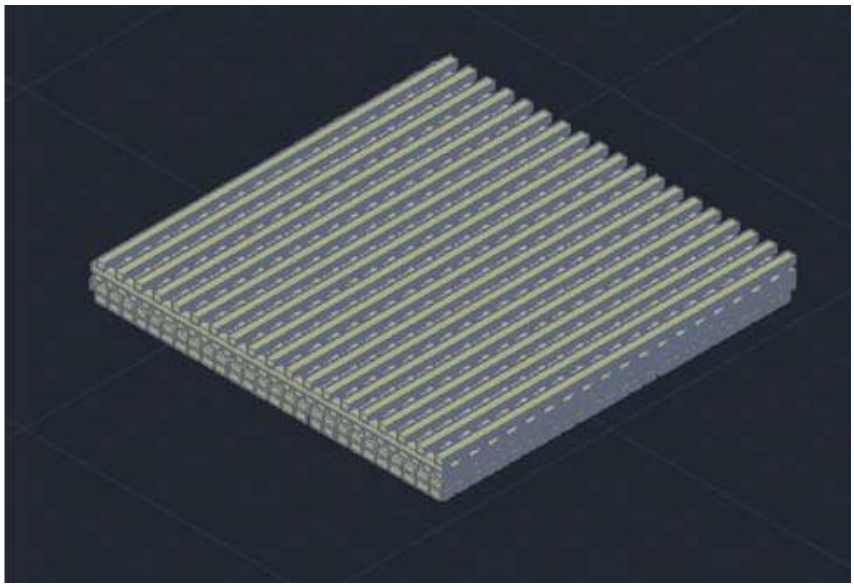
لایه سوم و چهارم با فاصله استرند ۲۰۰ میکرون و لایه پنجم و ششم نیز با فاصله استرند ۵۰۰ میکرون طراحی شده اند. زاویه پرینت در این لایه ها به ترتیب ۰ و ۹۰ درجه می باشد(شکل ۴ و ۵). بدین ترتیب با تغییر فاصله استرند ها در هر لایه و همچنین تغییر زاویه پرینت تلاش می شود که هیچ منفذی به صورت سرتاسری از بالا تا پایین داربست وجود نداشته باشد که نفوذ سلول های مهاجم به سمت دیگر داربست میسر نشود (شکل ۶).



شکل ۴- طراحی لایه سوم و چهارم داربست با فاصله استرند ۲۰۰ میکرون و زاویه ۰ و ۹۰



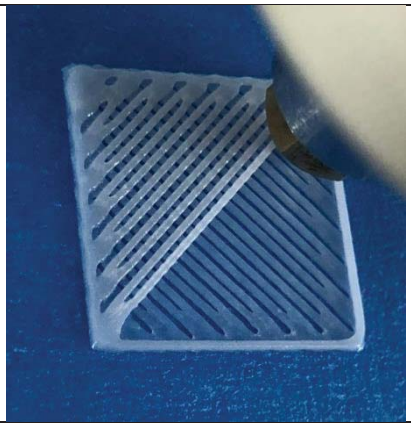
شکل ۵- طراحی لایه پنجم و ششم داربست با فاصله استرند ۵۰۰ میکرون و زاویه ۰ و ۹۰



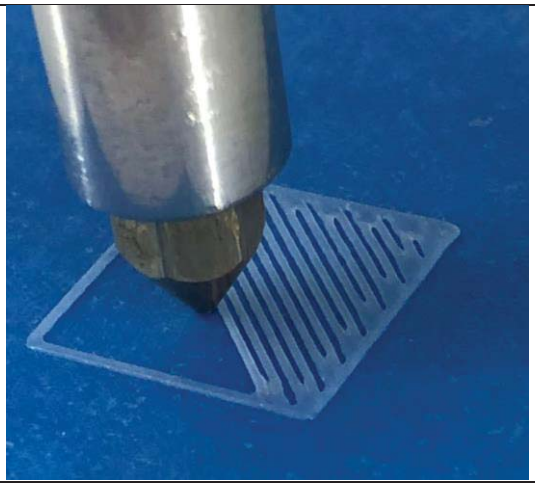
شکل۶- داربست طراحی شده در ۶ لایه

۲-۲- ساخت داربست با دستگاه بایوپرینتر

همانطور که قبلا گفته شد نمونه حاوی پلی کاپرولاکتون و نشاسته ساخته شد. مخلوط مورد نظر را بـه تکـه های کوچک برش می‌زنیم تا بتوان آن را داخل اکسترودر پرینتـر قـرار داد. فشـار دسـتگاه و دمـای اکسـترودر و همچنین سرعت حرکت اکسترودر اهمیت و اثر بسیاری بر روی کیفیت پرینت دارد چرا که اگر به طور مثال دمـا و سرعت به درستی انتخاب نشود می‌تواند باعث شود که ماده پس از قرار گیری بر روی بستر دسـتگاه بـه نـوعی پخش شود که باعث می شود فاصله های رشته های پرینت شده نسبت به آنچه طراحی شـده کمتـر شـود. ایـن یکی از اتفاقاتی است که در صورت عدم انتخاب درست پارامترهای پرینت ممکن است ایجـاد شـود. بـا آزمـون و خطای بسیار و تکرار پرینت در شرایط دمایی و فشاری مختلف در نهایت فشار ۲.۱ بار و دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به عنوان شرایط مناسب برای پرینت انتخاب شد. همانطور که در شکل ۷ مشخص است شده اسـت پرینـت لایه اول با زاویه ۴۵ درجه انجام می شود. در این لایه و لایه دوم فاصله استرند هـا ۱۰۰ میکـرون طراحـی و بـه دستگاه اعمال شده است. لایه دوم نیز مطابق شکل ۸ با زاویه ۱۳۵ درجه عمود بر لایه اول پرینت می شود.

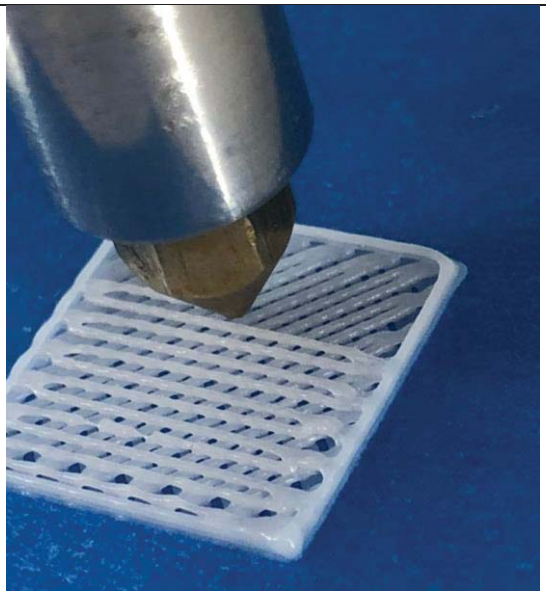


شکل ۷– پرینت لایه اول با زاویه ٤٥ درجه

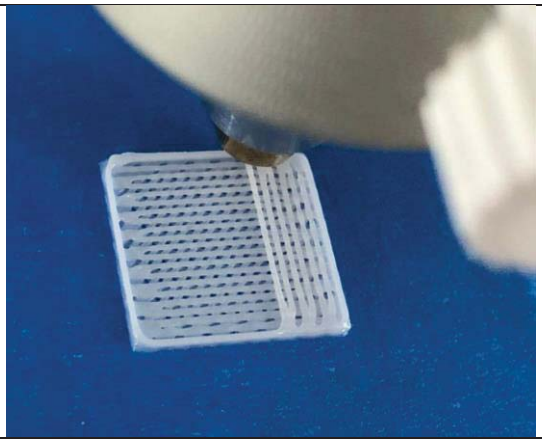


شکل ۸– پرینت لایه دوم با زاویه ۱۳۵ درجه

همانطور که در شکل ۷ و ۸ مشخص است در گوشه های داربست به دلیل چرخش دستگاه و پرینت مجدد و خروج ماده در همان فضا انباشت ماده رخ داده است. شکل ۹ و ۱۰ به ترتیب پرینت لایه سوم و چهارم با زاویه ۰ و ۹۰ درجه را نشان می دهد که با این کار اندازه منافذ در راستای ارتفاع داربست تغییر میکند. فاصله رشته های پرینت شده در لایه سوم و چهارم ۲۰۰ میکرون طراحی شده بود. همچنین لایه ۵ و ۶ نیز با همان زاویه قبلی و با فاصله استرند ۴۰۰ میکرونی پرینت می شوند.

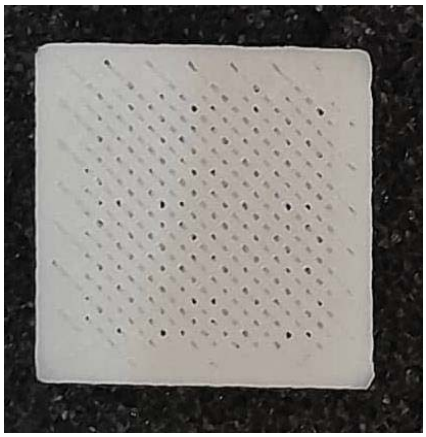


شکل ۹- پرینت لایه سوم با زاویه ۰ درجه



شکل ۱۰- پرینت لایه پنجم با زاویه ۹۰ درجه

در نهایت داربست پرینت شده مطابق شکل ۱۱ و ۱۲ از یک سو دارای انـدازه منافـذ بزرگتـر مناسـب بـرای قرارگیری و رشد سلول و از سوی دیگر دارای اندازه منافذ کوچک است که نقش مانع در مقابل هجوم سـلول هـا



را ایفا می‌کند.

شکل ۱۱ – روی داربست با اندازه منافذ کوچک تر
شکل ۱۲- پشت داربست با اندازه منافذ بزرگتر

۲-۳- طراحی آزمایش

۲-۳-۱- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

مورفولوژی مقطعی داربست حاوی پلی کاپرولاکتون و نشاسته با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی که با ولتاژ شتاب دهنده ۲۵ کیلو ولت کار می کند، مشاهده شد. قبل از انجام تست، داربست ها با یک پوشش طـلا پوشانده شدند و سپس زیر دستگاه قرار داده شده اند.



۲-۳-۲- تست تخریب پذیری

برای انجام آزمایش تخریب، ابتدا نمونه ها در کوره خشک شدند. سپس هر نمونـه در محلـول PBS در یـک صفحه ۲۴ چاهی غوطه ور شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. در فواصل زمانی مختلـف (روز ۱، ۳، ۷، ۱۴ ، ۲۱ و ۲۸)، نمونه ها از محلول PBS خارج شده، خشک شـده و مجـدداً وزن شـدند. نسـبت تخریـب از رابطه ۱ محاسبه شد.

$$\text{درصد تخریب} = (W_0-W_t)/\ W_0 * 100$$

جایی که W_0 وزن اولیه نمونه خشک شده است و W_t وزن نمونه خشک شده پس از خروج از PBS در مقاطع زمانی مختلف است.

۲-۳-۳- تست کششی

برای ارزیابی کامل استحکام کششی کامپوزیت PCL/نشاسته، و PCL خالص، آزمایش‌های مکـانیکی شـامل نمونه‌های مربعی، هر کدام با ابعاد ۲۰×۲۰ میلی‌متر انجام شد. با استفاده از یک سیستم آزمایش تـک محـوری ، نیروی کنترل شده با سرعت ثابت ۲ میلی متر در دقیقه به نمونه ها اعمال شد. در طول آزمایش، تـنش کششـی اندازه‌گیری شد و نقطه تنش حداکثر از منحنی تنش-کرنش شناسایی شد. عـلاوه بـر ایـن، مـدول الاسـتیک بـا تجزیه و تحلیل شیب اولیه منحنی تنش-کرنش تخمین زده شد و بیـنش هـای ارزشـمندی را در مـورد خـواص مکانیکی مواد تحت شرایط محیطی مختلف ارائه داد.

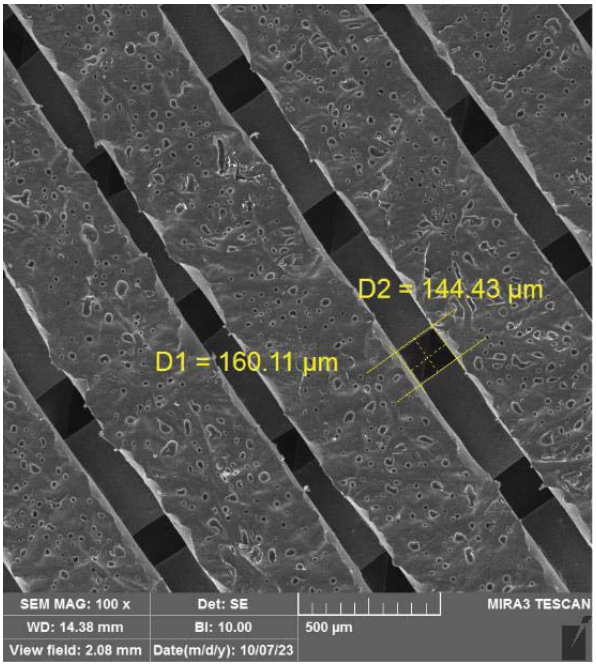
۲-۳-۴- تست سلولی

ابتدا داربست ها را با قرار دادن در اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ دقیقه استریل کردیم. سپس داربسـت هـا را سه بار با PBS استریل کاملاً شستیم تا باقی مانده اتانول از بین برود و در یـک صـفحه کشـت ۲۴ چـاهی قـرار دهیم. ۱۰۳× ۵ سلول فیبروبلاست 3T3 در هر چاه برای ارزیابی کمی زنده ماندن سلول استفاده شد. بـه انـدازه کافی محیط کشت به هر چاهک اضافه شد تا داربست را کاملاً بپوشاند. سپس داربست های سلولی در دمای ۳۷ درجه در اتمسفر مرطوب با ۵ درصد کربن دی اکسید انکوبه شدند. کیت Resazurin در مقاطع زمـانی مختلـف (روزهای ۱، ۳ و ۷ پس از کاشت سلول) استفاده شد. در هر نقطه زمانی، محیط خارج شـد و معـرف رزازورین و محیط بدون سرم به هر چاهک اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۴ ساعت انکوبه شد. جذب با اسـتفاده از میکروپلیت ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه گیری شد.

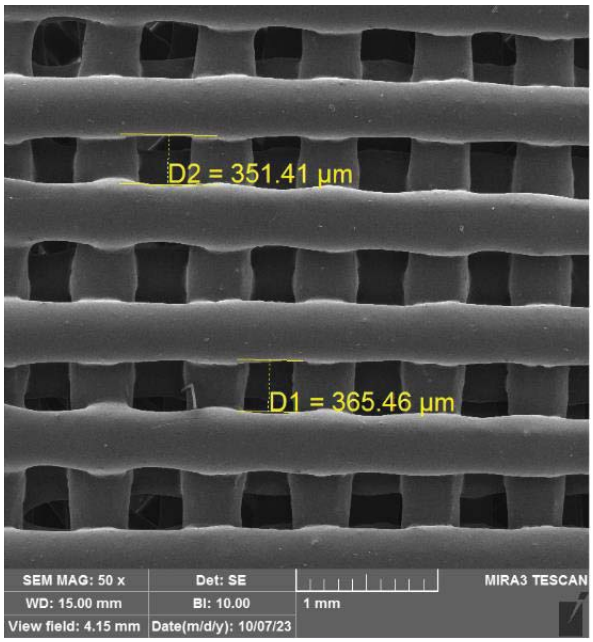
۳- نتایج

۳-۱- خصوصیات مورفولوژی داربست

برای روشن شدن مورفولوژی پیچیده داربست ها، از آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. شکل ۱۳ یک میکروگراف SEM را نشان می‌دهد، که نمای نزدیک از ساختار داربست PCL/ نشاسته را به تصویر کشیده است و آرایش متراکمی از رشته‌های چاپ شده را نشان می‌دهد. برعکس، شکل ۱۴ یک تصویر SEM را از سمت دیگر داربست ارائه می دهد فاصله وسیع تری بین رشته های چاپ شده مشخص می شود. یک اختلاف اندازه منافذ قابل توجه بین دو طرف داربست مشاهده شد. فاصله بین رشته ها در سمت کوچکتر داربست ۱۷/۲ ± ۱۵۵/۲ میکرون است. همچنین در طرف دیگر داربست، فاصله بین رشته ها ۳۵/۲ ± ۳۶۶/۲ میکرون می‌باشد که با طراحی انجام شده همخوانی خوبی دارد.



شکل ۱۳ – تصویر SEM از سمت با اندازه منافذ کوچکتر داربست PCL/ نشاسته

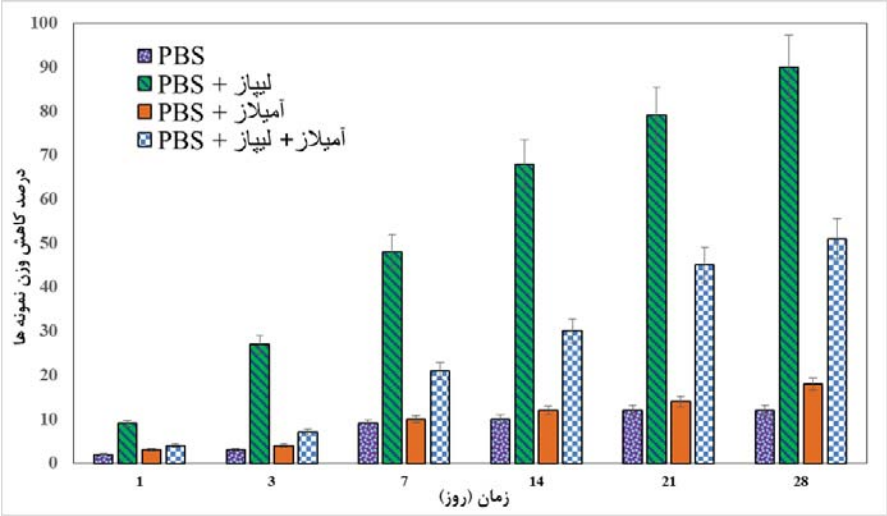


شکل ۱۴ – تصویر SEM از سمت با اندازه منافذ بزرگتر داربست PCL/ نشاسته

۳-۲- تخریب پذیری

ارزیابی خواص تخریب داربست شامل یک روش دقیق که قبلا توضیح داده شد انجام شد. در ابتدا، داربست‌های PCLو نشاسته در محلول‌های PBS با ترکیبات آنزیمی مختلف غوطه‌ور شدند: برخی بدون آنزیم، برخی دیگر با لیپاز، آمیلاز و ترکیبی از هر دو آنزیم. در فواصل زمانی مختلف، نمونه ها به دقت وزن شدند. این رویکرد محاسبات تخریب داربست را در طول زمان امکان‌پذیر کرد و داده‌های مناسبی در مورد پایداری و انعطاف‌پذیری آن در محیط‌های آنزیمی مختلف ارائه داد. نتایج جامع این آزمایش های تخریب پذیری در شکل ۱۵ ارائه شده است که نمایش مشخصی از عملکرد داربست تحت شرایط مختلف ارائه می دهد.

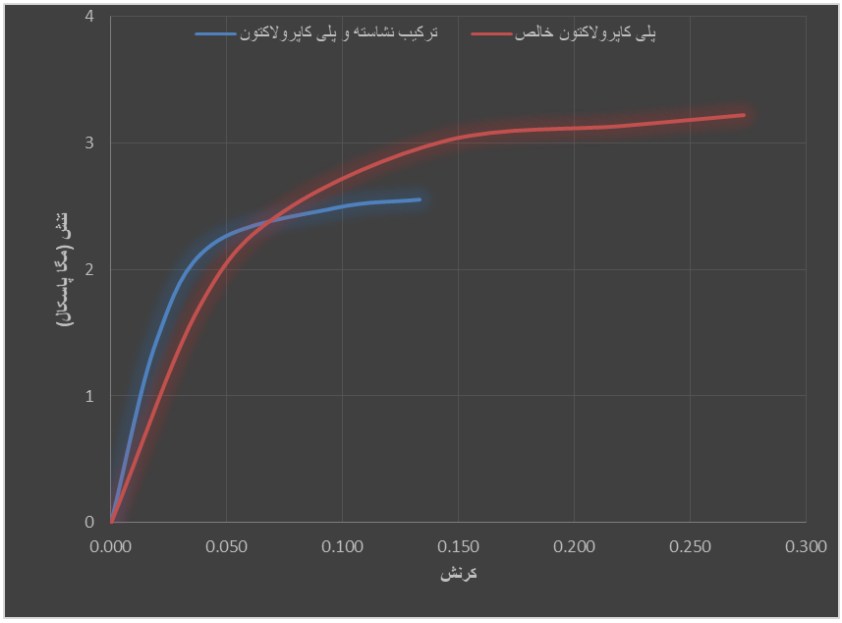
همانطور که مشخص است وجود لیپاز در مقایسه با آمیلاز تأثیر زیادی بر روند تخریب دارد. این پدیده در مطالعه ما مشهود است، جایی که داربست غوطه‌ور در محلول حاوی لیپاز تخریب قابل‌توجهی را نشان داد و پس از ۲۸ روز ۹۰٪ تخریب دیده شد. در مقابل، داربست غوطه‌ور در محلول آمیلاز، که به‌عنوان کاتالیزور برای هیدرولیز نشاسته عمل می‌کند، نرخ تخریب قابل‌توجه پایین‌تری را تجربه کرد و تنها ۱۸ درصد تخریب در همان زمان مشاهده شد.



شکل ۱۵- تخریب داربست PCL/نشاسته پس از توزین داربست ها در زمان های مختلف و غوطه وری در محلول های مختلف

۳-۳- خواص کششی

یک غشاء GBR باید دارای خواص کششی خاصی باشد تا از کارایی و قابلیت اطمینان آن در کاربردهای بالینی اطمینان حاصل شود. این غشا به استحکام کششی کافی برای مقاومت در برابر نیروهای مکانیکی در طول قرار دادن و در طول دوره بهبود بدون پارگی نیاز دارد. علاوه بر این، غشاء باید به اندازه کافی انعطاف پذیر باشد تا با شکل نقص استخوان مطابقت داشته باشد و همچنین به اندازه کافی الاستیک باشد تا بدون شکستگی کشیده شود. روش تست کشش برای هر دو نمونه PCL خالص و کامپوزیت آن‌ها با نشاسته به دقت دنبال شد. در شکل ۱۶، نمودار کرنش-تنش به وضوح پاسخ مکانیکی این نمونه ها را تحت کشش نشان می دهد. استحکام کششی تعیین می‌کند که داربست تحت کشش چقدر استحکام دارد در حالی که مدول الاستیک سفتی داربست را اندازه‌گیری می‌کند و نشان می‌دهد که چقدر تحت تنش تغییر شکل می‌دهد. افزودن نشاسته به PCL تغییرات قابل توجهی در رفتار نمونه ها ایجاد کرد. PCL خالص دارای تنش کششی ۰.۵۴ ± ۳.۲۲ مگاپاسکال و مدول الاستیک ۳.۱۵ ± ۳۹.۳۷ مگاپاسکال است، در حالی که این مقادیر برای داربست PCL و نشاسته به ترتیب ۰.۲۹ ± ۲.۵۵ و ۶.۶۸± ۶۳.۰۱ مگاپاسکال است. علی رغم کاهش در استحکام و ازدیاد طول در تسلیم، افزایش ظاهری مدول الاستیک تا ۶۰ درصد مشاهده شد که با شیب تند نمودار مشهود است.



شکل ۱۶- منحنی تنش-کرنش برای داربست های PCL و PCL/نشاسته

۳-۴) زنده مانی سلولی

برای ارزیابی زیست‌سازگاری داربست‌های چاپ‌شده، یک سنجش زنده‌مانی مبتنی بر Resazurin روی سلول‌های فیبروبلاست روی داربست‌های مبتنی بر PCL به مدت ۷ روز انجام شد. بر اساس نتایجی که در شکل ۱۷ نشان داده شده است، زنده ماندن سلول روی داربست های PCL خالص تفاوت قابل توجهی با نمونه کنترل مثبت ندارد. با این حال، زنده ماندن سلول در داربست های PCL/نشاسته افزایش قابل توجهی را در مقایسه با نمونه PCL خالص نشان می دهد. این یافته ها همچنین نشان داد افزودن نشاسته به PCL باعث بهبود زنده ماندن سلول می شود.



شکل ۱۷- ارزیابی زنده ماندن سلولی داربست های آماده شده. گروه کنترل مثبت نشان دهنده کشت سلول فیبروبلاست در صفحات کشت بافت ۲ بعدی است. انحراف استاندارد برای هر آزمون با نوارهای خطا نشان داده شده است

۴-بحث

بر اساس نتایج SEM فاصله بین رشته ها در سمت کوچکتر داربست ۱۷/۲ ± ۱۵۵/۲ میکرون است. همچنین در طرف دیگر داربست، فاصله بین رشته ها ۳۵/۲ ± ۳۶۶/۲ میکرون است. به طور قابل توجهی، این ابعاد با محدوده اندازه منافذ ذکر شده در مرجع [۴] (حدود ۱۵۰ میکرون در یک طرف و ۴۰۰ میکرون در طرف دیگر) هماهنگ هستند. این امر مناسب بودن داربست را برای تسهیل رشد سلول های استخوانی و در عین حال مانع از مهاجرت سلول های فیبروبلاست تایید می کند. قابل توجه است که این ابعاد از نمونه الکتروریسی شده ارجاع شده در [۱۶] فراتر رفته و بر اندازه منافذ بزرگتر داربست های ساخته شده تاکید دارد.

تخریب سریع مشاهده شده در محلول PBS + لیپاز را می توان به توانایی قابل توجه لیپاز در کاتالیز هیدرولیز پیوندهای استری در PCL نسبت داد، یک جزء غالب که ۷۰٪ وزنی بر وزن داربست را تشکیل می دهد. تأثیر عمیق لیپاز بر تخریب داربست، نقش محوری آن را در کاتالیز کردن واکنش‌های شیمیایی که منجر به شکست داربست می‌شود، نشان می‌دهد. جالب توجه است، زمانی که هر دو آنزیم لیپاز و آمیلاز به طور همزمان به محلول وارد شدند، سرعت تخریب در مقایسه با محلول حاوی فقط لیپاز کاهش یافت. این کاهش در میزان تخریب ممکن است به عوامل متعددی از جمله اشغال سطح داربست توسط آمیلاز مرتبط باشد. بنابراین، رقابت بین دو آنزیم رخ می‌دهد.

روشی که برای آزمون تخریب پذیری در این مطالعه به کار بردیم، دقیقاً مشابه آنچه در منـابع [۱۷] و [۱۸] ذکر شده می‌باشد و در هر سه مطالعه از آنزیم های یکسان با غلظت های یکسان استفاده شده است. با این حال، با وجود این هم ترازی، اختلاف قابل توجهی در میزان تخریب داربست مشاهده شد. به طـور خـاص، مطالعـه مـا تخریب قابل توجه ۹۰ درصدی را در مقایسه با تقریباً ۶۰ درصدی گزارش شده در [۱۷] و ۲۰ درصـدی گـزارش شده در [۱۸] پس از ۲۸ روز در محلول حاوی لیپاز نشان داد. این تفاوت قابل توجه در نرخ تخریب را می تـوان به بزرگتر شدن قابل توجه اندازه منافذ در این مطالعه نسبت داد. این افزایش در اندازه منافذ از طریق استفاده از فناوری چاپ زیستی سه بعدی حاصل شد که منجر به ایجاد اندازه منافذ نسبتاً بزرگ در سـاختار داربسـت شـد. این منافذ بزرگتر باعث می شود که سطح بزرگتری از داربست در معرض آنزیم های تخریـب کننـده موجـود در محلول قرار گیرد. علاوه بر این، تخلخل بالا، نفوذ آنزیم به داخل ماتریس داربست را تسهیل می‌کنـد و در نتیجـه روند تخریب را در طول دوره تخریب تسریع می‌کند. افزایش دسترسی آنـزیم هـای تخریـب کننـده بـه سـاختار داخلی داربست ، همراه با سطح بزرگتر موجود برای عملکرد آنزیمی، در مجموع به افزایش نرخ تخریب داربسـت کمک می کند.

به طور کلی، ادغام فناوری چاپ زیستی سه بعدی در سـاخت داربسـت در کنتـرل و افـزایش انـدازه منافـذ داربست موثر بوده است و در نتیجه حساسیت آن را به تخریب آنزیمی تقویت می‌کند.

PCL خالص دارای تنش کششی ۰.۵۴ ± ۳.۲۲ مگاپاسکال و مـدول الاسـتیک ۳.۱۵ ± ۳۹.۳۷ مگاپاسـکال است، در حالی که این مقادیر برای داربست PCL و نشاسته به ترتیب ۰.۲۹± ۲.۵۵ و ۶.۶۸±۶۳.۰۱ مگاپاسکال است. علی رغم کاهش در استحکام و ازدیاد طـول در تسـلیم، افـزایش ظـاهری مـدول الاسـتیک تـا ۶۰ درصـد مشاهده شد که با شیب تند نمودار مشهود است. این تغییر در خواص مکانیکی ناشی از ورود نشاسته به ماتریس PCL است. به طور قابل توجهی، این یافته‌ها با نتایج مستند شده در مرجـع [۱۸] کـه بـه طـور گسـترده تـأثیر غلظت‌های مختلف نشاسته بر PCL را بررسی می‌کرد، نزدیک است.

افزایش مشاهده شده در سفتی و کاهش همزمان مقاومت را می توان به غیرقابـل امتـزاج بـودن ذاتـی ایـن پلیمرها نسبت داد. عدم سازگاری بین PCL و نشاسته احتمالاً شـکاف هـای سـطحی را در سـاختار کامپوزیـت ایجاد می کند که منجر به خطر افتادن یکپارچگی مکانیکی داربست می‌شود.

زنده ماندن سلول در داربست های PCL/نشاسته افزایش قابل توجهی را در مقایسه بـا نمونـه PCL خـالص نشان می دهد. این یافته ها با نتایج مرجع [۱۹] و [۲۰] مطابقت کامـل دارد، کـه همچنـین نشـان داد افـزودن نشاسته به PCL باعث بهبود زنده ماندن سلول می شود. این نتایج ممکن است دلایل زیادی داشـته باشـد. اولاً، افزودن نشاسته آب دوستی داربست ها را افزایش می دهد که اتصال و تکثیر سـلولی را افـزایش مـی دهـد زیـرا سلول ها معمولاً سطوح آبدوست را بیشتر ترجیح می دهند. ثانیاً، نشاسته به افزایش تخلخل در داربسـت کمـک می کند و انتشار بهتر مواد مغذی و حذف مواد زائد را تسهیل می کند که برای حفظ بقـای سـلول بسـیار مهـم

است. در نهایت، ماهیت زیست تخریب پذیر نشاسته، زیست تخریب پذیری کلی داربست را بهبود می بخشد کـه قبلا در این مطالعه ثابت شده بود. این می تواند یکپارچگی بهتر و جایگزینی تـدریجی بافـت طبیعـی را تقویـت کند. این اثرات ترکیبی منجر به داربستی می شود که از زنده ماندن و تکثیر سلولی بهتر پشتیبانی می کند.

۵- نتیجه گیری

به طور خلاصه یک داربست ۶ لایه با PCL و نشاسته به روش چاپ زیستی سه بعدی ساخته ایم کـه انـدازه منافذ در هر لایه متفاوت است. ضلع بزرگتر برای قرارگیری و رشد سلولی مناسب اسـت و از طـرف دیگـر انـدازه منافذ برای جلوگیری از عبور سلول های فیبروبلاست مناسب است. ایجاد منافذ مناسـب حاصـل از روش پرینـت زیستی سه بعدی باعث شده است که سرعت تخریب داربسـت در مقایسـه بـا مطالعـات مشـابه بـا انـدازه منافـذ کوچکتر با حفظ سطوح قابل قبولی از سفتی و استحکام داربست ها افزایش یابد. این افزایش سرعت تخریـب بـه دلیل قرار گرفتن فضای بیشتر داربست در معرض آنزیم هایی است که باعث تخریب داربست می شوند.

مراجع

[1] S. Beigi-Broujeni and Samal Babanzadeh, “Polymeric Membranes Used for Guided Periodontal Tissue Regeneration: A Review-Part I,” Basparesh, vol. 8.2, pp. 83–90, 2018.

[2] Kalluri L, Griggs JA, Janorkar AV, Xu X, Chandran R, Mei H, Nobles KP, Yang S, Alberto L, Duan Y (2024) Preparation and optimization of an eggshell membrane-based biomaterial for GTR applications. Dent Mater 40:728–738.

[3] Lazaridou M, Moroni S, Klonos P, Kyritsis A, Bikiaris DN, Lamprou DA (2024) International Journal of Polymeric Materials and 3D-printed hydrogels based on amphiphilic chitosan derivative loaded with levofloxacin for wound healing applications. Int J Polym Mater Polym Biomater 0:1–18.

[4] Tayebi L, Rasoulianboroujeni M, Moharamzadeh K, Almela TK, Cui Z, Ye H (2018) 3D-printed membrane for guided tissue regeneration. Mater Sci Eng C 84:148-158

[5] S. Ma et al., “Guided bone regeneration with tripolyphosphate cross-linked asymmetric chitosan membrane,” J. Dent., vol. 42, no. 12, 2014, doi: 10.1016/j.jdent.2014.08.015.

[6] E. J. Lee, D. S. Shin, H. E. Kim, H. W. Kim, Y. H. Koh, and J. H. Jang, “Membrane of hybrid chitosan-silica xerogel for guided bone regeneration,” Biomaterials, vol. 30, no. 5, 2009, doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.10.025.

[7] T. Zhou, X. Liu, B. Sui, C. Liu, X. Mo, and J. Sun, “Development of fish collagen/bioactive glass/chitosan composite nanofibers as a GTR/GBR membrane for inducing periodontal tissue regeneration,” Biomed. Mater., vol. 12, no. 5, p. 055004, Sep. 2017, doi: 10.1088/1748-605X/aa7b55.

[8] Mohd Roslan MR, Mohd Kamal NL, Abdul Khalid MF, Mohd Nasir NF, Cheng EM,

Beh CY, Tan J, Mohamed M (2021) The state of starch/hydroxyapatite composite scaffold in bone tissue engineering with consideration for dielectric measurement as an alternative characterization technique. Materials (Basel). 14:1960

[9] K. Fujihara, M. Kotaki, and S. Ramakrishna, “Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers,” Biomaterials, vol. 26, no. 19, 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.09.014.

F. Yang, S. K. Both, X. Yang, X. F. Walboomers, and J. A. Jansen, “Development [10] of an electrospun nano-apatite/PCL composite membrane for GTR/GBR application,” Acta Biomater., vol. 5, no. 9, 2009, doi: 10.1016/j.actbio.2009.05.023.

[11] A. Nasajpour et al., “A Multifunctional Polymeric Periodontal Membrane with Osteogenic and Antibacterial Characteristics,” Adv. Funct. Mater., vol. 28, no. 3, 2018, doi: 10.1002/adfm.201703437.

[12] L. N. Jia et al., “Development of a Doxycycline Hydrochloride-Loaded Electrospun Nanofibrous Membrane for GTR/GBR Applications,” J. Nanomater., vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/6507459.

[13] S. Liao et al., “A three-layered nano-carbonated hydroxyapatite/collagen/PLGA composite membrane for guided tissue regeneration,” Biomaterials, vol. 26, no. 36, 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.05.050.

[14] J. Y. Won et al., “Evaluation of 3D printed PCL/PLGA/β-TCP versus collagen membranes for guided bone regeneration in a beagle implant model,” Biomed. Mater., vol. 11, no. 5, 2016, doi: 10.1088/1748-6041/11/5/055013.

J. F. Requicha, C. A. Viegas, S. Hede, I. B. Leonor, R. L. Reis, and M. E. Gomes, [15] characterization of a biodegradable double-layer scaffold aimed at “Design and ,٥, no. ١٠periodontal tissue-engineering applications,” J. Tissue Eng. Regen. Med., vol.

١٨١۶/term.١٠.١٠٠٢, doi: ٢٠١۶

Requicha JF, Viegas CA, Hede S, Leonor IB, Reis RL, Gomes ME (2016) Design and [16] characterization of a biodegradable double-layer scaffold aimed at periodontal tissue-engineering applications. J Tissue Eng Regen Med 10:392-403

[17] Gomes ME, Azevedo HS, Moreira AR, Ellä V, Kellomäki M, Reis RL (2008) Starch-poly(ε-caprolactone) and starch-poly(lactic acid) fibre-mesh scaffolds for bone tissue engineering applications: Structure, mechanical properties and degradation behaviour. J Tissue Eng Regen Med 2:243-252

[18] Nor FM, Lee HY, Lim JY, Kurniawan D (2016) Strain rate and temperature effects on elastic properties of polycaprolactone/starch composite. E-Polymers 16:217-223

[19] Nor FM, Kurniawan D, Seo YK, Park JK, Lee HY, Lim JY (2012) Polycaprolactone-starch blends with corn-based coupling agent: Physical properties and in vitro analysis. Proc Inst Mech Eng Part H J Eng Med 226:693-698

[20] Diaz-Gomez L, Concheiro A, Alvarez-Lorenzo C, García-González CA (2016) Growth factors delivery from hybrid PCL-starch scaffolds processed using supercritical fluid technology. Carbohydr Polym 142:282-292