Research on Medicine Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2021 ;Vol.45; No.2

# Construction and evaluation of a triple-layered composite PCL/HA membrane containing Dexamethasone loaded PLGA microspheres for the regeneration of jaw bone in periodontal disease

**Atefeh Partovi Belasjin[1], Samira Khalaji[2], Hamid Nazarian[3], Hanieh Nojehdehian[4]***

*1.Department of Biomaterial Science, Faculty of Interdisciplinary Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

*2.Department of Biomaterials, Faculty of Biomedical Engineering, Amirkabir University, Tehran, Iran*

*3.Department of Biology and Anatomical Sciences, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*4.Department of Dental Biomaterials, School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

(Received: 2019/06/09 Accept: 2019/12/25)

## Abstract

***Background:*** *The use of an occlusive membrane interfacing with gingival connective tissue/epithelium and bone tissue to promote periodontal tissue regeneration has considerably been successful. The biological basis of tissue-guided membrane regeneration is that the addition of a physical barrier prevents the migration of epithelial cells and connective tissue into the lesion to allow periodontal and mesenchymal ligament cells to migrate to the root surface. The presently existing structures act only as a physical barrier and have no other function. The purpose of the present study was construction and evaluation of a triple-layered composite PCL/ HA membrane containing Dexamethasone loaded PLGA Microspheres for the regeneration of jaw bone in periodontal disease.*

***Materials and Methods:*** *In the current experimental study, the composite polycaprolactone-hydroxyapatite membrane was prepared along with microspheres containing dexamethasone using solvent casting. Scanning electron microscopy (SEM) was used to evaluate morphology, Infrared spectroscopy (FTIR) was implemented to study the chemical structure, and spectrophotometry was used to evaluate the release rate of dexamethasone. Except for morphology, 5 samples were prepared and analyzed for each test. The normality of data distribution was evaluated running the Shapiro-Wilk test and the results were compared using t-test.*

***Results:*** *SEM images show that the membranes prepared via this method have high porosity, large, and interconnection. Microspheres have an almost uniform surface topography and a completely homogeneous spherical state with an average size of 6 nm to 10 µm. FTIR results confirmed the presence of hydroxyapatite in the structure. Spectrophotometric results showed that the release rate of dexamethasone was higher when the microspheres containing it were in the second layer on the first day (P=0.02), but this amount was not significantly different in the third layer on different days (P=0.12).*

***Conclusion:*** *It seems that PCL/HA composite membranes were prepared via solvent casting can be used in soft and hard tissue regeneration due to their similarity with bone tissue and creating suitable conditions for soft tissue repair.*

***Keywords:*** *Guided Tissue Membrane; Microsphere; Solvent Casting; Hydroxyapatite; polycaprolactone; Lactic-co-glycolic acid; Dexamethasone*

**Corresponding author: Hanieh Nojehdehian*

*Email: Hanieh.nojehdehyan@gmail.com*



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-10-12 ]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دور ۴۵، شماره ۲، ۱۴۰۰، صفحات ۳۲ تا ۳۷

# ساخت و ارزیابی غشاء کامپوزیتی سه لایه پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت حاوی میکروسفرهای پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید دارای دگزامتازون برای بازسازی استخوان تحلیل رفته فک در بیماری پریودنتال

**عاطفه پرتوی بلاسجین[۱]، سمیرا خلجی[۲]، حمید نظریان[۳] و هانیه نوجه دهیان[۴*]**

۱.گروه بیومواد، دانشکده علوم و فنون بین رشته ای، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲.گروه زیست مواد، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه امیرکبیر، تهران، ایران.
۳.گروه بیولوژی و علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۴.گروه زیست مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

دریافت: ۱۳۹۹/۶/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۸

## چکیده:

**سابقه و هدف:** استفاده از راهبرد های هدایت بازسازی بافت-استخوان در بازسازی بافتهای پریودنتال، موفقیت های قابل توجهی داشته است. اساس بیولوژیک غشاء هدایت کننده بازسازی بافت این است که افزودن یک سد فیزیکی از مهاجرت سلول های اپیتلیالی و بافت همبند به درون ضایعه جلوگیری نموده تا سلول های لیگامان پریودنتال و مزانشیمی فرصت مهاجرت به سطح ریشه را بیابند. سدهای موجود صرفا به عنوان یک مانع فیزیکی عمل کرده و ویژگی دیگری ندارند. هدف از انجام این پژوهش، ساخت و ارزیابی غشاء کامپوزیتی رها کننده دگزامتازون به منظور تحریک استخوان سازی و بازسازی استخوان تحلیل رفته فک در اثر بیماری پریودنتال است.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی غشاء کامپوزیتی، پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت به همراه میکروسفرهای حاوی داروی دگزامتازون به روش ریخته گری حلال تهیه گردید. میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) به منظور ارزیابی کیفی مورفولوژی، طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) برای مطالعه کیفی ساختار شیمیایی نمونه ها و اسپکتروفتومتری با هدف بررسی کمی نرخ رهایش داروی دگزامتازون بکار رفت. به جز موروفولوژی برای هر آزمون ۵ نمونه تهیه و تکرار شد. نرمال بودن توزیع داده ها با آزمون شاپیرو-ویلک بررسی و نتایج با آزمون T-Test ارزیابی شد.

**یافته ها:** تصاویر SEM بیانگر این است که غشاهای تهیه شده با این روش دارای تخلخل زیاد، بزرگ و مرتبط به هم هستند. همچنین میکروسفرهای حاوی دگزامتازون توپوگرافی سطحی تقریبا یکنواخت و حالت کروی کاملا همگن با میانگین اندازه ٦ نانومتر تا ۱۰ میکرومتر دارند. نتایج تست کیفی FTIR وجود هیدروکسی آپاتیت را در ساختار تایید کرد. نتایج اسپکتروفتومتری نشان داد که میران رهایش دگزامتازون هنگامی که میکروسفرهای حاوی آن در لایه دوم قرار گرفته بود، در روز اول بطور معنی داری بیشتر از روز دوم بود (P=۰/۰۲) ولی این میزان در لایه سوم در روزهای مختلف اختلاف معنی داری نداشت(P=۰/۱۲).

**نتیجه گیری:** بنظر می رسد که غشاء کامپوزیتی سه لایه پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت حاوی میکروسفرهای پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید دارای دگزامتازون به دلیل شباهت به بافت استخوان و نیز ایجاد شرایط مناسب برای ترمیم بافت نرم، می تواند در بازسازی بافت نرم و سخت به کار گرفته شود.

**واژگان کلیدی:** غشاءهدایت کننده بافت، میکروسفر، ریخته گری حلال، هیدروکسی آپاتیت، پلی کاپرولاکتون، پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید، دگزامتازون

## مقدمه:

بیماری‌های پریودنتال (بیماری نسوج اطراف دندان) که عامل اصلی از بین رفتن دندان‌ها در بزرگسالان محسوب می‌شوند، لثه اطراف دندان‌ها و استخوان محافظت کننده‌ی دندان‌ها را مورد تهاجم قرار می‌دهند. (۱)

اساس بیولوژیک غشاء هدایت کننده بازسازی بافت بر این فرض استوار است که با قرار دادن یک سد فیزیکی از مهاجرت سلول‌های اپیتلیالی و بافت همبند به درون ضایعه جلوگیری نموده تا بدین ترتیب سلول‌های لیگامان پریودنتال و سلول‌های مزانشیمی فرصت مهاجرت به سطح ریشه را بیابند. براساس یافته‌های هیستولوژی، غشاء هدایت کننده بازسازی بافت قابل پیش‌بینی‌ترین روش بازساختی به منظور بازسازی استخوان و سمان می‌باشد (۲)

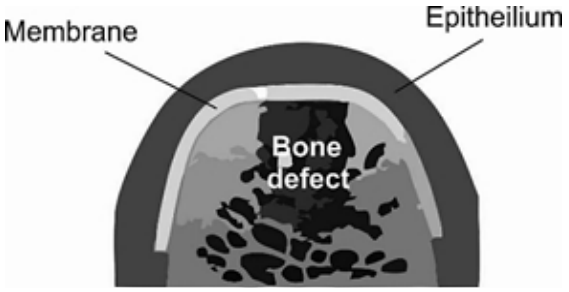
برای استفاده‌ی عملی از غشاء هدایت کننده استخوان، طراحی آن باید به گونه‌ای باشد که ساختار مدرج و محفظه‌های متعدد داشته باشد. علاوه بر این خواص مکانیکی غشاء باید به گونه‌ای باشد که در بستر استخوان، مقاومت کافی از خود نشان دهد تا دچار تغییر شکل و فروپاشی نشود. غشاءهای هدایت کننده استخوان به نحوی طراحی می‌شوند که دارای یک سطح صاف و یک سطح متخلخل می‌باشند، که این سطح صاف در تماس مستقیم با بافت نرم است و این سطح

**نویسنده مسئول:** هانیه نوجه دهیان
**پست الکترونیک:** *Hanieh.nojehdehyan@gmail.com*



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-10-12 ]

می‌تواند تشکیل سلول‌های استخوانی را به تاخیر بیاندازد در حالی که طرف دیگر غشاء که به صورت متخلخل است به تشکیل بافت استخوانی کمک می‌کند. (۳)




شکل ۱- غشاء GTR / GBR به عنوان یک مانع برای نفوذ سلول‌های اپتیلیالی به داخل ضایعه استخوانی عمل می‌کند.( ۴)

یکی از مشکلات اساسی کاشتنی‌های درون بدن پاسخ التهابی بدن یا جراحت بافت در حین جراحی به صورت‌های مختلف مانند التهاب حاد، التهاب مزمن و بافت فیبروس می‌باشد، بنابراین برای ایجاد یک بستر مناسب برای کارکرد درست ایمپلنت باید اثرات التهابی کنترل شوند. کنترل اثرات التهابی نه تنها به کاهش جراحات بافت کمک می‌کند، بلکه به بافت این اجازه را می‌دهد که به صورت عادی خود را ترمیم و بازسازی کند. گلوکوکورتیکوئیدها عمدتا برای کاهش اثرات التهابی و تحریکی مانند تابشی، مکانیکی، شیمیای، عفونی و ایمنی به کار می‌روند. آن‌ها عوامل ایجاد پاسخ التهابی بافت را مهار می‌کنند، دلیل انتخاب داروی دگزامتازون برای این پژوهش قدرت و اثر بر روی سیستم‌های مختلف بدن است. (۵)

هدف از انجام این مطالعه ساخت یک غشاء کامپوزیتی سه لایه پلی کاپرولاکتون-هیدروکسی آپاتیت حاوی میکروسفرهای پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید دارای دگزامتازون و نیز ارزیابی روند رهایش داروی دگزامتازون از آن به منظور ترمیم بازسازی استخوان تحلیل رفته فک در بیماری پریودنتال است.

## مواد و روش ها:

مواد مصرفی در انجام آزمایش‌ها شامل مواد زیر می‌باشند: پلی کاپرولاکتون (شرکت SIGMA آمریکا)، پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید (شرکت SIGMA آمریکا)، هیدروکسی آپاتیت (شرکت MERCK آلمان)، پلی وینیل الکل (شرکت MERCK آلمان)، استون (شرکت MERCK آلمان)، کلروفرم (شرکت MERCK آلمان)، داروی دگزامتازون و PBS.

### تهیه غشاء

برای تهیه غشاء، ابتدا محلول پلیمر(پلی کاپرولاکتون) با غلظت های ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۲۵ در استون روی همزن مغناطیسی با دور ۵۰۰ تا ۶۰۰ دور در دقیقه در دمای محیط تهیه شد.

سپس مقادیر ۰/۴، ۰/۴۵ و ۰/۵ درصد وزنی از هیدروکسی آپاتیت، بعد از حل شدن کامل پلی کاپرولاکتون در داخل استون، به ترتیب در محلول پلیمری ریخته شد. برای جلوگیری از کلوخه شدن هیدروکسی آپاتیت در داخل محلول، دور استیررها را تا ۲۰۰ دور در دقیقه کاهش داده و هیدروکسی آپاتیت به آرامی به آن اضافه شد. برای تهیه غشاء مقادیر مساوی از محلول های تهیه شده جهت هر لایه درون قالب با جنس تفلون ریخته شده (بر طبق جدول ۱) و درون فریزر دمای ۱۸- درجه سانتیگراد به مدت زمان مشخص قرار داده شد. پس از گذشت زمان مورد نظر لایه های بعدی نیز به صورت ذکر شده تهیه گردید.

جدول ۱: مقادیر HA/PCL در هر لایه از غشاء

| مقادیر مواد در $۲۰^{cc}$ محلول (گرم) | شماره‌ی لایه‌ها |
|---|---|
| PCL ۰/۱ | لایه ی اول |
| HA ۰/۰۸ | |
| PCL ۰/۰۵ | لایه ی دوم |
| HA ۰/۰۹ | |
| PCL ۰/۰۵ | لایه ی سوم |
| HA ۰/۱ | |

### تهیه میکروسفر

برای تهیه‌ی میکروسفر به روش امولسیون دوگانه احتیاج به دو فاز آبی (محلول پلی وینیل الکل ۲ درصد وزنی و محلول پلی وینیل الکل ۰/۲ درصد وزنی)، و یک فاز روغنی (محلول ۰/۱ درصد وزنی پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید در کلروفرم) می باشد. فاز روغنی به آهستگی به ۲ سی‌سی از فاز آبی (محلول PVA ۲ درصد) اضافه شد و با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت حداکثر یک دقیقه هموژنایز گردید، سپس مخلوط در محلول۳۰ میلی لیتر (محلول PVA ۰/۲ درصد) ریخته و به مدت ۳ ساعت روی همزن مغناطیسی زیر هود شیمیایی قرار گرفت تا حلال خارج شود. سپس محلول تهیه شده با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای محیط سانتریفیوژ گردید. بعد از اتمام سانتریفیوژ، میکروسفرها در خشک کن انجمادی به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت تا کاملا خشک شوند(۶).

### میکروسفر های حاوی دگزامتازون

جهت تهیه میکروسفرهای حاوی دگزامتازون دارو در فاز روغنی حل شده و سپس به فاز آبی افزوده شد.

### بارگذاری میکروسفرها در غشا

میکروسفرهای تهیه شده به منظور بررسی نرخ رهایش در لایه‌های دوم و سوم غشاءها به محلول کامپوزیتی (PCL-HA) افزوده شد.

### جهت بررسی ویژگی‌های غشاء آنالیز های زیر انجام شد:

### آزمایش میکروسکوپ الکترونی روبشی

جهت بررسی مورفولوژی ساختاری نمونه‌ها و مطالعه ریز ساختاری آن‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده می شود. پس از خشک شدن نمونه ها از سطح مقطع افقی و سطح مقطع عمودی آنها در بزرگ نمایی‌های مختلف عکس گرفته شد (۷).

### آزمایش طیف سنجی فروسرخ (FTIR)

به منظور بررسی ساختار ترکیبات کامپوزیت، طیف سنجی فروسرخ نمونه‌ها صورت گرفت تا ساختار و پیوندهای شیمیایی مورد بررسی قرار گیرند (۶).

### بررسی رهایش دارو

هدف از انجام این آزمایش بررسی نرخ رهایش داروی دگزامتازون از غشاءهای پلی کاپرولاکتون-هیدروکسی آپاتیت در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت می‌باشد. به این منظور عصاره گیری از غشاءها در دو بازه‌ی زمانی گفته شده انجام شد. به این صورت که مقدار ۰/۰۴ گرم از هر دو غشاء حاوی میکروسفر در لایه‌ی دوم و سوم در ۳ میلی لیتر محلول PBS قرار می‌گیرد و عصاره‌ها جهت انجام تست اسپکتروفتومتری UV آماده شد. با استفاده از فرمول زیر مقادیر غلظتی مجهول براساس جذب بدست آمده در طول موج ۲۳۰ نانو متر برای هر یک از نمونه‌ها محاسبه شد:

$$Abs = 406.02200*Conc + 0.02351$$

## یافته ها:

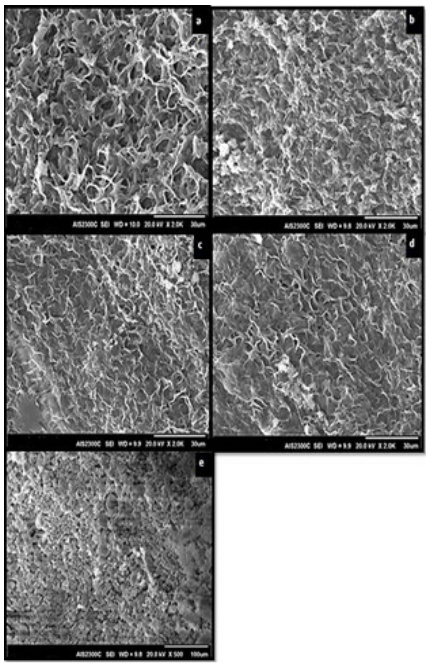
### بررسی مورفولوژی نمونه ها با استفاده از SEM

### بررسی مورفولوژی غشاء

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (شکل ۲) نشان دهنده یک مجموعه متخلخل بهم پیوسته می‌باشد، که این پیوسته بودن می‌تواند به رهایش دارویی که در این لایه قرار داده شده و همچنین ایجاد یک بستر مناسب جهت نفوذ و چسبندگی سلول‌های استخوانی کمک کند. این تخلخل‌ها در حدود ۷ تا ۸ میکرومتر اندازه‌گیری شد. همچنین این تصاویر به خوبی وجود ارتباط داخلی بین خلل و فرج را که نقش مهمی در تغذیه رسانی سلول و دفع پسماندهای حاصل از سلول بازی می‌کند را نشان می‌دهد. نمای مربوط به لایه اول غشاء نشان دهنده‌ی



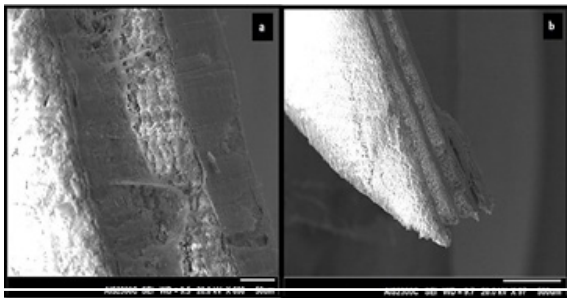
[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-10-12 ]



شکل ۲- الکترومیکروگراف غشای سه لایه، a ) نمای سطح لایه سوم غشاء حاوی میکروسفر در لایه سوم، b) نمای سطح لایه سوم غشاء حاوی میکروسفر در لایه دوم، c,d) نمای سطح لایه سوم غشاء بدون میکروسفر، e) نمای سطح لایه اول غشاء

تخلخل‌های بسیار کوچک می‌باشد که دلیل آن استفاده از درصد بیشتری از ماده پلیمری نسبت به فاز سرامیکی می‌باشد. این تخلخل‌های کوچک می‌توانند به خوبی مانع نفوذ سلول‌های اپیتلیالی به حفره استخوانی شوند.

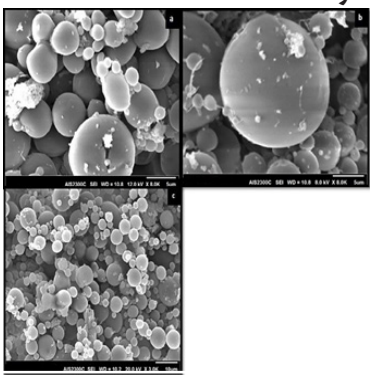
در تصویر گرفته شده از مقطع عرضی افتراق ۳ لایه و فصل مشترک بین آن‌ها به طور کاملا واضح قابل رویت می‌باشد. قطر هر لایه از غشاء بین ۷۰ تا ۸۵ میکرومتر است. (شکل ۳)



شکل ۳- الکترومیکروگراف نمای مقطع عرضی غشاء.

## بررسی مورفولوژی میکروسفرها

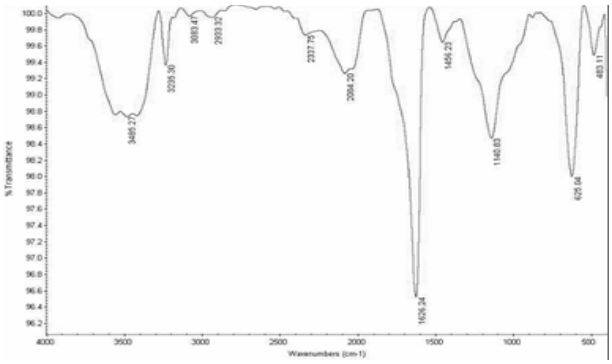
تصاویر مربوط به میکروسفرهای حاوی دگزامتازون (شکل۴) نشان‌دهنده توپوگرافی سطحی تقریبا یکنواخت و حالت کروی کاملا همگنی است. میانگین اندازه میکروسفرها نیز از ۶ نانومتر تا ۱۰میکرومتر اندازه گیری شد.



شکل ۴- الکترومیکروگراف میکروسفرهای PLGA حاوی دگزامتازون

## بررسی نمودار طیف سنجی مادن قرمز

هدف از انجام این آزمایش بررسی ساختار شیمیایی نمونه‌ها می‌باشد. باندها و پیک‌های مشخصه زیر باتوجه به مراجع در نظر گرفته شده است. طی بررسی‌های حاصل از نمودار، مشخص شد که پیک ۱۶۲۶/۲۴ بر سانتیمتر مربوط به باند دوگانه کربن و اکسیژن (گروه کربونیل) در پلیمر پلی کاپرولاکتون، پیک ۳۲۳۵/۳۰ بر سانتیمتر مربوط به گروه $CH_2$ زنجیر آلکیل در پلیمر پلی کاپرولاکتون و پیک ۳۴۸۵/۲۷ بر سانتیمتر مربوط به گروه OH همین پلیمر می-باشد. پیک ۳۴۸۵/۲۷ بر سانتیمتر مربوط به گره OH و همچنین پیک‌های ۶۲۵/۰۴ و ۱۱۴۰/۸۳ و ۴۸۳/۱۱ هرسه نشان دهنده گروه فسفات $P_3O_4$- در هیدروکسی آپاتیت می‌باشند. (شکل ۵)




شکل ۵- نمودار طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) غشاء.

## بررسی رهایش دارو

باتوجه به منحنی‌های رهایش دگزامتازون برای لایه دوم غشاء، طی بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت و بررسی میزان جذب نوری، میزان رهایش از لایه دوم به ترتیب غلظت‌های $1.19\times10^{-4} \pm 0.3\times10^{-5}$ و $4.17\times10^{-4}\pm1.26\times10^{-5}$ میلی گرم در میلی لیتر اندازه-گیری شد.

همچنین بررسی‌های حاصل از منحنی‌های مربوط به رهایش دگزامتازون از لایه سوم طی دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت با توجه به مقادیر حاصل از جذب نوری و معادله استاندارد، به ترتیب غلظت‌های $2.96\times10^{-4} \pm1.2\times10^{-5}$ و $4.27\times10^{-4} \pm2.38\times10^{-5}$ محاسبه گردید.

## بحث :

تحقیق نشان داد که طراحی و ساخت غشای کامپوزیتی سه لایه پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت حاوی میکروسفرهای پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید دارای دگزامتازون با روش ریخته گری حلال مقدور بوده و همچنین به دلیل ایجاد ساختاری شبیه به بافت استخوان و نیز ایجاد شرایط مناسب برای ترمیم بافت نرم، قابلیت استفاده برای بازسازی بافت نرم و سخت را دارد.

در این پژوهش از دو پلیمر، پلی کاپرولاکتون (PCL) و پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید (PLGA) به دلیل خواص مطلوبشان از جمله زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری که طیف گسترده-ای از زمان تخریب و فرسایش را از خود نشان می‌دهد و همچنین دارای خواص مکانیکی موزون و یکسان می‌باشد،استفاده شده است.

هیدروکسی آپاتیت (HA) بکار رفته در این تحقیق یکی از سرامیک‌هایی می‌باشد که به دلیل سازگاری با ساختارهای زیستی و شباهت به فاز معدنی استخوان، کاربرد فراوانی در کاربرد-ها کلینیکی (ارتوپدی و دندانپزشکی) دارد. همچنین از داروی دگزامتازون جهت خاصیت ضد التهابی در این پژوهش استفاده شده است.

روش ریخته گری حلال به دلیل داشتن قابلیت کنترل مقدار تخلخل‌ها و اندازه منافذ غشاء و همچنین سهولت کاربرد مورد استفاده قرار گرفته است. غشاء ساخته شده در این پژوهش دارای قابلیت کنترل شده رهایش دارو به منظور بهبود شرایط درمانی می‌باشد.



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-10-12 ]

برای طراحی غشاء هدایت کننده تاکنون از مواد متفاوتی استفاده شده است، که هر دسته از مواد دارای مزایا و معایب گوناگونی می‌باشند. براساس بررسی های انجام شده در سایر پژوهش‌ها، موادی از قبیل پلی تترا فلئورو اتیلن (PTFE)، کلاژن، پلی کاپرولاکتون (PCL)، پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید (PLGA) و... مورد استفاده قرار گرفته اند، به طور مثال ماده PTFE به دلیل عدم قابلیت تخریب و نیاز به جراحی ثانویه برای خارج کردن غشاء و احتمال ایجاد عفونت گزینه‌ی مناسبی برای انتخاب نمی‌باشد؛ در مقابل کلاژن یک ماده‌ی زیست تخریب پذیر می‌باشد که در بسیاری از پژوهش‌ها مورد توجه قرار گرفته است. غشاءهای کلاژنی به دلیل زیست سازگار بودن، پیوستگی خوبی با سلول‌ها ایجاد می‌کنند که اثر مطلوبی بر بازسازی بافت می‌گذارد. معمولا غشاءهای کلاژنی ساخته شده دارای استحکام ضعیف‌تری نسبت به سایر غشاءها می‌باشند (۴و۸).

مواد مورد استفاده در این پژوهش پلیمرهای زیست تخریب پذیر پلی کاپرولاکتون و پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید می‌باشد، که هردو در گروه پلیمرهای مصنوعی بوده که به عنوان بیومتریال مورد استفاده قرار می‌گیرند. پلی کاپرولاکتون، پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید و هیدروکسی آپاتیت به دلیل خواص مطلوب زیست سازگاری، عدم ایجاد سمیت سلولی و زیست تخریب پذیری و زیست جذب پذیری در بسیاری از تحقیقات در زمینه‌های پزشکی و دارویی مورد توجه قرار گرفته‌اند. نرخ تخریب پذیری PLGA وابسته به نسبت این کوپلیمر می‌باشد، همچنین این کوپلیمر از طریق هیدرولیز شیمیایی پیوند استری ناپایدار خود به اسید لاکتیک و اسید گلیکولیک تجزیه می‌شود که هر دو، اسیدهایی غیر سمی می‌باشند.(۸-۱۰)

همانطور که توضیح داده شد در این پژوهش، دستیابی به میزان معینی از تخلخل‌ها در هر لایه از سه لایه غشاء کامپوزیتی متشکل از پلی کاپرولاکتون و هیدروکسی آپاتیت، به جهت دستیابی به یک نتیجه‌ی درمانی مطلوب بسیار حائز اهمیت است. یکی ازمزایای طراحی غشاء به صورت سه لایه در مقایسه با غشاء تک لایه، ایجاد شرایط مطلوب‌تر با توجه به بافت مجاور لایه می‌باشد، به این دلیل که در زمان درمان ضایعه استخوانی، غشاء با دو بافت با شرایط متفاوت در تماس می‌باشد، در نظر گرفتن شرایط هر بافت به صورت جداگانه و همچنین طراحی لایه‌ای که بتواند به بهبود شرایط بافت مجاور خود کمک کند و همچنین باعث ایجاد اختلال در زمان ترمیم بافت دیگر نشود. در لایه‌ی اول، که در تماس با بافت نرم (لثه) است تخلخل‌هایی با سایز کوچکتر باعث ایجاد یک سد فیزیکی برای عبور سلول‌های اپیتلیال و عوامل عفونت‌زا شده، همچنین دارای این قابلیت می‌باشد که اجازه عبور مواد مغذی لازم به رشد سلول را فراهم می‌کند. همچنین در لایه‌ی سوم که در تماس با بافت سخت (استخوان) است تخلخل‌هایی با سایز بزرگتر شرایط مناسب‌تری را برای تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی ایجاد می‌کند، که با به کار گیری درصدهای متفاوتی از مواد در لایه‌های مختلف، لایه‌هایی با اندازه تخلخل های متفاوت و متناسب با محل قرارگیری ایجاد می شود (۱۱).

همانطور که مقادیر بدست آمده نشان می دهند، میزان رهایش زمانی که میکروسفرها در لایه‌ی دوم و سوم قرار داده می‌شوند متفاوت می‌باشد. رهایش داروی دگزامتازون زمانی که در لایه‌ی دوم غشاء قرار دارد، در روز اول عصاره گیری کمتر از روز دوم بوده است که دلیل این امر وجود لایه‌ی سوم و مدت زمان لازم برای شروع تخریب این لایه و همچنین کوچکتر بودن سایز تخلخل‌ها در این لایه در مقایسه با لایه‌ی سوم غشائی می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود میزان رهایش در غشاء در روز دوم بیشتر شده است.

در نتایج حاصل از غشاء سوم، مشاهده می‌شود که میزان رهایش در روز دوم، نسبت به روز اول بیشتر بوده و دلیل این امر وجود تخلخل‌های بیشتر در لایه‌ی سوم، که منجر به تخریب شدن سریع‌تر این لایه و قرار گرفتن میکروسفرها در معرض محلول PBS می‌شود و همچنین عدم وجود یک لایه‌ی دیگر به عنوان مانع برای رهایش دارو می‌باشد. همچنین در مقایسه‌ی این پژوهش با سایر پژوهش‌های مشابه مشخص شد که، تفاوت در نوع مواد به کار رفته شده و روش‌های ساخت، نتایج متفاوتی را ایجاد کرده است که می‌توان به موارد زیر اشاره کرد(۱۲). میزان تخلخل‌ها زمانی که از ماده‌ی پلی کاپرولاکتون استفاده شد در مقایسه با پژوهشی که از ماده‌ی پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید استفاده کرده است؛ کوچکتر بوده است. همچنین در این پژوهش زمان بسته شدن هر لایه درون فریزر طولانی‌تر از پژوهشی که از ماده‌ی پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید استفاده کرده بود، می‌باشد (۱۳)

از محدودیت های این تحقیق به این مورد می توان اشاره کرد که سایز تخلخل‌های ایجاد شده در غشاء ساخته شده در این پژوهش که به روش ریخته گری حلال بوده، کمتر از روش الکترواسپینینگ می‌باشد که این امر بدلیل ماهیت روش ریخته گری حلال می باشد. البته این عیب را تا حدی می‌توان با اضافه نمودن عامل تخلخل‌زا برطرف نمود، اما روش الکترواسپینینگ استفاده شده در سایر پژوهش‌ها باعث ایجاد تخلخل‌های بزرگتر بدون نیاز به اضافه کردن عامل تخلخل‌زا می‌باشد. البته قابل ذکر است که در تحقیقات صورت گرفته بر روی غشاهای دارای تخلخل باز و غشاهای انسدادی؛ بازسازی ضایعات بافت استخوان ماندیبل سگ در غشاهای انسدادی نسبت به غشاهای متخلخل بهتر بوده است . این نتایج در حالی بدست آمده است که در مطالعه دیگری سرعت رشد بافت استخوانی در غشاهای متخلخل بهتر از غشاهای انسدادی گزرش شده است. (۱۴)

دلیل عدم استفاده از عامل تخلخل‌زا در این پژوهش حضور میکروسفرهای حاوی دارو در لایه-های مختلف بوده است، که امکان دارد در مرحله حذف عامل تخلخل‌زا بخشی از دارو رهایش پیدا کرده و نتایج قابل اطمینانی حاصل نشود.

در یکی از پژوهش‌های انجام شده، پس از اتمام ساخت میکروسفرها یک مرحله پیش تخریب برای آن‌ها طی شده است که این امر باعث ایجاد یک رهایش مستمر برای این میکروسفرها می‌شود. درصورتی که در این پژوهش مرحله‌ی پیش تخریب حذف شده و این امر منجر به رهایش سریع دارو در روز اول در غشاء حاوی میکروسفر در لایه‌ی سوم شده است(۱۵).

ساخت غشا هدایت استخوانی مشابه با ماتریکس برون سلولی طبیعی بافت استخوان موفقیت بزرگی به شمار می آید. در این پژوهش در کنار پلیمرهای زیست تخریب پذیر، از ذرات زیست فعال سرامیکی نیز استفاده شده است که این امر باعث افزایش قابلیت استخوان سازی داربست می شود. در سال ۲۰۱۲ غشا دو لایه کامپوزیتی بیوگلس و کیتوسان توسط موتا و همکاران معرفی شد که از ذرات بیوگلس برای افزایش زیست فعالی غشا استفاده شد (۱۶). در تحقیق دیگری که توسط خرازی ها و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام شد از نانوفایبرهای کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون و فورستریت استفاده شد. آنان به این نتیجه رسیدند که علاوه بر اینکه ساختار همسانگرد ایجاد شده بر رشد سلولی تاثیرگذار بوده است، وجود بیوسرامیک فورستریت نیز باعث افزایش استخوان سازی غشا گردیده است (۱۷). با توجه به اینکه در تحقیق حاضر از ذرات هیدروکسی آپاتیت به عنوان بیوسرامیک در کنار پلیمر استفاده شده است، می توان پیش بینی نمود غشا بدست آمده نیز قابلیت هدایت استخوانی را دارا می باشد.

## نتیجه گیری:

بنظر می رسد که ساخت غشای کامپوزیتی سه لایه پلی کاپرولاکتون-هیدروکسی آپاتیت حاوی میکروسفرهای پلی لاکتیک کو گلیکولیک



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-10-12 ]

اسـید دارای دگزامتـازون مقـدور بـوده و همچنیـن بـه دلیـل شـباهت بـه بافـت اسـتخوان و نیـز ایجـاد شـرایط مناسـب بـرای ترمیـم بافـت نـرم، می‌توانـد در بازسـازی بافـت نـرم و سـخت بـه کار گرفتـه شـود.

## منـابع:


1. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology: Elsevier health sciences; 2011.
2. Moghaddass H, Kadkhodazadeh M, Pezeshkfar A. The comparison between palatal connective tissue graft as a membrane with collagen membrane in combination with Bio-Oss and PRGF for the treatment of intrabony defects: (A Randomized Clinical Trial). Journal of Dental School, 2012; 30(1): 29.
3. Kalitheertha Thevar J-T, Nik Malek NAN, Abdul Kadir MR. In vitro degradation of triple layered poly (lactic-co-glycolic acid) composite membrane composed of nanoapatite and lauric acid for guided bone regeneration applications. Materials Chemistry and Physics. 2019;221:501-14.
4. Bottino MC, Thomas V, Schmidt G, Vohra YK, Chu T-MG, Kowolik MJ, et al. Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration—a materials perspective. Dental materials. 2012;28(7):703-21.
5. Hickey T, Kreutzer D, Burgess DJ, Moussy F. Dexamethasone/PLGA microspheres for continuous delivery of an anti-inflammatory drug for implantable medical devices. Biomaterials. 2002;23(7):1649-56.
6. Ghorbani F, Nojehdehian H, Zamanian A. Physicochemical and mechanical properties of freeze cast hydroxyapatite-gelatin scaffolds with dexamethasone loaded PLGA microspheres for hard tissue engineering applications. Materials Science and Engineering: C. 2016;69:208-20.
7. Ghorbani F, Zamanian A, Nojehdehian H. Effects of pore orientation on in-vitro properties of retinoic acid-loaded PLGA/gelatin scaffolds for artificial peripheral nerve application. Materials Science and Engineering: C. 2017;77:159-72.
8. Dash TK, Konkimalla VB. Poly-ϵ-caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review. Journal of Controlled Release. 2012;158(1):15-33.
9. A History of Biomaterials. In: Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE, editors. Biomaterials Science (Third Edition): Academic Press; 2013. p. xli-liii.
10. Makadia HK, Siegel SJ. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. Polymers. 2011;3(3).
11. Zhang HY, Jiang HB, Ryu J-H, Kang H, Kim K-M, Kwon J-S. Comparing Properties of Variable Pore-Sized 3D-Printed PLA Membrane with Conventional PLA Membrane for Guided Bone/Tissue Regeneration. Materials. 2019;12(10):1718.
12. Wang J, Wang L, Zhou Z, Lai H, Xu P, Liao L, et al. Biodegradable Polymer Membranes Applied in Guided Bone/Tissue Regeneration: A Review. Polymers. 2016;8(4).
13. Liao S, Wang W, Uo M, Ohkawa S, Akasaka T, Tamura K, et al. A three-layered nano-carbonated hydroxyapatite/collagen/PLGA composite membrane for guided tissue regeneration. Biomaterials. 2005;26(36):7564-71.
14. Simian M, Dahlin C, Blair K, Schenk RK. Effect of different microstructures of e-PTFE membranes on bone regeneration and soft tissue response: a histologic study in canine mandible. Clinical Oral Implants Research. 1999;10(2):73-84.
15. Oliveira JM, Kotobuki N, Tadokoro M, Hirose M, Mano JF, Reis RL, et al. Ex vivo culturing of stromal cells with dexamethasone-loaded carboxymethylchitosan/poly(amidoamine) dendrimer nanoparticles promotes ectopic bone formation. Bone. 2010;46(5):1424-35.
16. Mota J, Yu N, Caridade SG, Luz GM, Gomes ME, Reis RL, et al. Chitosan/bioactive glass nanoparticle composite membranes for periodontal regeneration. Acta Biomaterialia. 2012;8(11):4173-80.
17. Kharaziha M, Fathi MH, Edris H. Development of novel aligned nanofibrous composite membranes for guided bone regeneration. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2013;24:9-20.


[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-10-12 ]