

An Experimental Study on Alginate-Fibroin Hydrogels Mechanical Capability as Scaffolds for Vascular Tissue Engineering

M. Navidbakhsh^{1*}, M. Sajjadi², and S. Hosseinzadeh³

¹ Professor, School of Mechanical Engineering, Iran University of Science and Technology, Tehran, Iran

² Master Student, School of Mechanical Engineering, Iran University of Science and Technology, Tehran, Iran

³ Associating Professor, School of Advanced Technologies in Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

Receipt in the Online Submission System: 8 October 2017, Received in Revised Form: 8 November 2017, Accepted: 26 November 2017

Abstract

Tissue engineering is a promising approach for developing viable alternative for current treatments of cardiovascular diseases such as autologous vessel and synthetic bypass graft transplantation. One of the major challenges in development of an applicable tissue engineered vessel is proper design of scaffold. Scaffolds are served to mimic the natural *in vivo* environment of cells where they interact and behave according to the mechanical cues obtained from the surrounding extracellular matrix. In recent studies alginate hydrogels containing silk fibroin protein have shown sufficient biological capability for vascular cells attachment, spreading, growth and metabolic activity. The purpose of this study was to evaluate the mechanical properties of mentioned hydrogels as scaffolds for vascular tissue engineering. Elastic modulus of linear region, yield strain and stress and compliance of three types of Alginate based hydrogel with different synthesis procedures were obtained via uniaxial tensile test of dogbone shaped specimens and thick-wall cylinders stress-strain equations. Results were compared to find the optimal formulation and synthesis process for mimicing mechanical properties of native tissue. Results of this study shows that while the proposed formulation of alginate/fibroin hydrogel lacks required mechanical stiffness, flexibility and strength; hybrid dual-network hydrogels of alginate/fibroin/polyacrylamide with a two-steps synthesis process and cross-linked by Fe³⁺ and Ca²⁺ cations promote suitable mechanical properties to be used as vascular tissue engineering scaffolds. Adding polyacrylamide to alginate-fibroin hydrogels increased its elasticity modulus from 46 kPa to 480 kPa with a two step gelation process which makes it more similar to arteries wall tissue mechanically.

Keywords: *Alginate Hydrogels, Vascular Tissue Engineering, Mechanical Properties of Hydrogels, Polyacrylamide*

*Corresponding author

Address: School of Mechanical Engineering, Iran University of Science and Technology, P. O. Box: 16765-163, Tehran, Iran

Tel: +98-21-77209027

Fax: +98-21-77240488

E-mail: mnavid@iust.ac.ir

بررسی تجربی قابلیت مکانیکی هیدروژل‌های آلژینات/فیبروئین به‌عنوان داربست مهندسی بافت رگ‌های خونی

مهدی نویدبخش^{۱*}، مهدی سجادی^۲، سیمزر حسین‌زاده^۳

^۱ استاد، گروه مهندسی مکانیک، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران
^۲ کارشناسی ارشد، مهندسی پزشکی گرایش بیومکانیک، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران
^۳ دانشیار، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

تاریخ ثبت در سامانه: ۱۳۹۶/۷/۱۶، بازنگری: ۱۳۹۶/۸/۱۷، پذیرش قطعی: ۱۳۹۶/۹/۵

چکیده

مهندسی بافت، به‌عنوان روشی مناسب برای جایگزین کردن روش‌های درمانی فعلی گرفتگی و تصلب شراین کرونری شناخته می‌شود. چالش‌های اصلی در مسیر مهندسی رگ‌های کارآمد به کمک علم مهندسی بافت، انتخاب بیومواد و طراحی ساختار مناسب برای داربست هستند. در مطالعات اخیر نشان داده شده است که هیدروژل‌های آلژینات حاوی برخی از پروتئین‌ها مانند فیبروئین، شرایط بسیار مناسبی برای چسبندگی سلولی، فعالیت‌های سلولی، گسترش و رشد سلول‌های دیواره عروق خونی از خود نشان می‌دهند. هدف این مطالعه، بررسی قابلیت مکانیکی این هیدروژل‌ها و امکان بهبود خواص مکانیکی آن‌ها با تغییر ساختار شیمیایی و فرآیند سنتز، برای استفاده به‌عنوان داربست مهندسی بافت رگ است. در این پژوهش، پارامترهای مکانیکی مختلف هیدروژل‌های آلژینات حاوی پروتئین فیبروئین، از جمله مدول کشسانی ناحیه خطی، کرنش و تنش تسلیم و قابلیت تورم داربست‌های ساخته‌شده با این هیدروژل‌ها، بررسی شده‌اند. تمام پارامترهای ذکرشده از طریق انجام آزمون کشش تک‌محوره روی نمونه‌های دمبل‌شکل و به کمک روابط تحلیلی مربوط به تنش و کرنش استوانه‌های جدارضخیم، به‌دست آمده است. نتایج به‌دست‌آمده، با پارامترهای مکانیکی متناظر دیواره شریان‌های کرونری مقایسه شده‌اند، تا ساختار و روش سنتز بهینه از بین نمونه‌های آزمایش‌شده تعیین شود. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که هیدروژل آلژینات/فیبروئین، در صورت اصلاح ساختار به‌وسیله ترکیب با هیدروژل آکریل‌آمید و تشکیل هیدروژل هیبرید و دوشبکه‌ای آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل‌آمید با سنتز دومرحله‌ای به‌وسیله کاتیون‌های آهن و کلسیم، شرایط مکانیکی بسیار مناسبی برای استفاده به‌عنوان داربست خواهد داشت. مدول کشسانی هیدروژل آلژینات-فیبروئین با افزودن پلی‌آکریل‌آمید، از حدود ۴۶ kPa به ۱۰۰ kPa و در صورت سنتز دومرحله‌ای، تا ۴۸۰ kPa افزایش یافت. داربست ساخته‌شده با این هیدروژل، از نظر پارامتر مکانیکی قابلیت تورم، شباهت بیشتری از رگ‌های پیوندی تجاری موجود به شریان‌های کرونری طبیعی دارد.

کلیدواژه‌ها: خواص مکانیکی هیدروژل‌ها، هیدروژل آلژینات، فیبروئین ابریشم، پلی‌آکریل‌آمید، مهندسی بافت رگ

*نویسنده مسئول

نشانی: گروه بیو مکانیک، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران، کد پستی: ۱۶۷۶۵-۱۶۳

تلفن: ۷۷۲۰۹۰۲۷ (۲۱) ۹۸+

دورنگار: ۷۷۲۴۰۴۸۸ (۲۱) ۹۸+

پست الکترونیکی: mnavid@iust.ac.ir

۱- مقدمه

بیماری‌های قلبی، بزرگ‌ترین عامل مرگ‌ومیر در کشورهای توسعه‌یافته به حساب می‌آیند. بیشتر آسیب‌های واردشده به قلب در این بیماری‌ها، ناشی از تصلب دیواره و گرفتگی شریان‌های کرونری و نرسیدن مواد غذایی و اکسیژن کافی از طریق جریان خون به بافت‌های قلب است. در حال حاضر، روش‌های درمان گرفتگی شریان‌های کرونری شامل انواع جراحی‌های درون‌رگی^۱ از جمله آنژیوپلاستی^۲، آترکتومی^۳ و استنت‌گذاری^۴ برای باز کردن رگ مسدودشده، یا استفاده از رگ‌های پیوندی مصنوعی^۵ و یا مشتق‌ازخود به‌عنوان مسیری کنارگذر و جایگزین در محل آسیب‌دیدگی می‌شود. روش‌های درمانی موجود، محدودیت‌های مختلفی از نظر عمر بازماندن رگ درمان یا جایگزینی و پیچیدگی‌های عمل‌های جراحی داشته و در عمل، رشد سالانه فوت‌شدگان این بیماری‌ها را کاهش نداده است؛ از این‌رو محققان در تلاش‌اند با استفاده از روش‌های نوین پزشکی، مانند علم مهندسی بافت، روش درمانی مؤثرتری از روش‌های سنتی برای ساخت رگ‌های پیوندی ارائه دهند [۱].

از چالش‌های اصلی در مسیر طراحی رگ‌های پیوندی به روش مهندسی بافت، انتخاب ماده و ساختار مناسب به‌عنوان داربست است؛ داربستی که ملزومات زیستی و مکانیکی موردنیاز برای تشکیل بافت طبیعی دیواره عروق را به‌طور همزمان برای سلول‌ها فراهم کند. از میان مواد و ساختارهای مختلف رایج در ساخت داربست‌ها، هیدروژل‌ها به‌دلیل استفاده از خواص مشابه با بافت‌های نرم بدن، مانند قابلیت جذب آب بالا، رفتار مکانیکی هایپرالاستیک و قابلیت انتقال اکسیژن و مواد غذایی مورد نیاز سلول‌ها، مورد توجه بسیاری از محققان واقع شده‌اند.

هیدروژل آلژینات، به‌عنوان هیدروژلی طبیعی با ساختار پیوندهای یونی و به‌دلیل قابلیت‌های مختلف مانند زیست-سازگاری، قابلیت ترکیب با سایر پلیمرها، سهولت سنتز، زیست-تخریب‌پذیری و قابلیت استفاده در زیست‌چاپگرها، ماده‌ای مناسب برای شبیه‌سازی رفتار شبکه‌های برون‌سلولی طبیعی بدن به‌شمار می‌رود. یکی از مشکلات این هیدروژل، چسبندگی محدود سلولی است. در تحقیقات اخیر مشخص شده است که با افزودن برخی از پروتئین‌ها مانند فیبروئین به ساختار این هیدروژل، این مشکل برطرف شده و شرایط کشت، رشد و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست، اندوتلیال و ماهیچه‌ای صاف روی آن

فراهم خواهد شد. این سلول‌ها، سلول‌های تشکیل‌دهنده بافت‌های مختلف دیواره رگ‌های خونی بدن هستند؛ از این‌رو، این هیدروژل به‌عنوان پتانسیل مناسبی برای ساخت داربست مهندسی بافت رگ‌های خونی مختلف بدن شناخته شده است [۳و۲].

نحوه رشد سلول‌های عروق خونی تحت تأثیر تنش‌های وارده به سلول‌ها در فرآیند کاشت است. داربست‌های مهندسی بافت رگ پس از کاشت سلول‌ها به کمک بیوراکتورها تحت جریان مصنوعی ضربانی مشابه جریان خون بدن قرار می‌گیرند، تا با اعمال تنش‌های مکانیکی به داربست، نحوه رشد و تمایز سلولی موردنظر، به سلول‌ها القا شود [۴].

اگر داربست استفاده‌شده از نظر رفتار مکانیکی، شرایط مشابه بافت طبیعی دیواره‌های رگ را داشته باشد، تنش‌ها و کرنش‌های اعمال‌شده به سلول‌ها در فرآیند رشد آن‌ها در بیوراکتور، به شرایط تنش‌های مکانیکی اعمال‌شده به سلول‌ها در محیط زنده نزدیک‌تر خواهد بود؛ در نتیجه نحوه رشد بافت، تطابق بهتری با ساختار طبیعی رگ خواهد داشت. علاوه بر این، داربست استفاده‌شده باید از نظر استحکام، قابلیت تحمل فشار داخلی رگ را داشته باشد و در اثر فشار داخلی ایجادشده، دچار تسلیم مکانیکی نشود [۵].

با توجه به اهمیت خواص مکانیکی داربست‌ها در مهندسی بافت عروق، لازم است خواص مکانیکی هیدروژل آلژینات/فیبروئین بررسی شود و در صورت ضعف مکانیکی، با تغییر ساختار این هیدروژل، شرایط مکانیکی آن برای کاشت و رشد سلول‌ها در محیط بیوراکتور بهبود یابد.

افزودن پلی‌آکریل‌آمید به محلول آلژینات و ساخت هیدروژل ترکیبی آلژینات-آکریل‌آمید، یکی از روش‌های تغییر خواص مکانیکی هیدروژل آلژینات است. در تحقیقات گذشته نشان داده شده که افزودن این هیدروژل، باعث تغییر رفتار مکانیکی این هیدروژل، به‌ویژه قابلیت انعطاف و کرنش نهایی تسلیم این هیدروژل، خواهد شد و می‌تواند قابلیت استفاده از این هیدروژل را برای استفاده در کاربردهای زیستی و به‌عنوان داربست مهندسی بافت، بهبود بخشد [۶].

در گام اول این پژوهش، خواص مکانیکی داربست آلژینات با مقادیر مختلف درصد وزنی فیبروئین، از طریق آزمون کشش تک‌محوره بررسی شده است. در مرحله بعد، با اضافه کردن پلیمر آکریل‌آمید و ساخت هیدروژلی ترکیبی به دو روش سنتز

^۱ Stent insertion

^۵ Vascular Grafts

^۱ Endovascular

^۲ Angioplasty

^۳ Atherectomy

با سنتز یک مرحله‌ای، سه محلول مختلف آماده شدند و بلافاصله پس از ترکیب به قالب تزریق می‌شوند. محلول اول شامل آلژینات و پلی‌آکریل‌آمید به نسبت وزنی ۱:۸ و به اندازه ۷۰٪ حجم محلول نهایی است که به‌وسیله پروب اولتراسوند، تحت سونیکیشن قرار می‌گیرد. محلول دوم به اندازه ۲۰٪ حجم نمونه نهایی و شامل فیبروئین ابریشم به نسبت وزنی ۴ wt% است. محلول نهایی به حجم ۱۰٪ نمونه نهایی و شامل آمونوم-پرسولفات، متیلن‌بیس‌آکریل‌آمید، تترامتیل‌اتیلن‌دی‌آمین و کلسیم سولفات می‌شود که به ترتیب نقش آغازگر، عامل و کاتالیزور و اکشن اتصال‌عرضی پلی‌آکریل‌آمید و عامل اتصال-عرضی آلژینات را دارند و با درصد‌های وزنی به این محلول اضافه می‌شوند. استفاده از کلسیم‌سولفات به جای کلسیم کلرید در این نمونه‌ها، باعث کاهش سرعت ژل شدن بخش آلژینات نمونه خواهد شد و انتقال محلول به ظرف را ممکن می‌کند.

پس از آماده شدن محلول‌ها، ابتدا محلول اول و دوم به هم اضافه شده و به‌وسیله همزن مغناطیسی با سرعت کمتر از ۲۰۰ rpm (برای جلوگیری از ژل شدن فیبروئین) مخلوط می‌شوند؛ سپس محلول سوم به این دو محلول اضافه شده و پس از اختلاط کامل، دو محلول به درون قالب ریخته می‌شوند. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت، تحت تابش اشعه فرابنفش با قدرت ۸ وات و طول موج ۲۵۴ نانومتر قرار می‌گیرند. پس از این مرحله، نمونه‌های با سنتز یک مرحله‌ای به مدت یک ساعت در آب مقطر غوطه‌ور می‌شوند تا فرآیند اتصال‌عرضی تکمیل شود. پس از خشک شدن سطح هیدروژل، نمونه برای آزمون کشش آماده شده است.

نمونه‌های با سنتز دوم مرحله‌ای، پس از خارج شدن از قالب، در محلولی یونی شامل نمک آهن (III) نیترات با غلظت ۱ M قرار می‌گیرند، تا آلژینات موجود با تراکم بیشتری از پیوندهای یونی شکل بگیرد. پس از یک ساعت غوطه‌وری، سطح این نمونه نیز تحت جریان هود خشک شده و برای آزمون کشش آماده می‌شود. تمام محلول‌ها، قبل از انتقال به قالب، در آون خلأ گاززدایی شده‌اند.

قالب‌های استفاده شده از جنس پلکسی‌گلس بوده‌اند و از طریق برش لیزر به شکل دمبل ساخته شده است، تا گسیختگی از ناحیه گیج (گردن) نمونه‌ها انجام شده و مقادیر به‌دست آمده برای تنش و کرنش تسلیم، با دقت بیشتری اندازه‌گیری شود. آزمون کشش با دستگاه کشش تک‌محوره و از طریق کنترل جابه‌جایی و با لودسل ۶kgf انجام شده است. تمام مقادیر تنش و کرنش، براساس سطح مقطع و تغییرات طول ناحیه گیج نمونه‌ها و با تصویربرداری، اندازه‌گیری شده است (شکل ۱).

یک مرحله‌ای و دوم مرحله‌ای، خواص مکانیکی این هیدروژل بهبود بخشیده شده است.

هیدروژل ترکیبی آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل‌آمید، با سنتز دوم مرحله‌ای در نسبت‌های وزنی مختلف آلژینات به آکریل‌آمید، تحت آزمون کشش قرار می‌گیرد، تا نسبت بهینه برای نزدیک‌تر کردن شرایط مکانیکی این هیدروژل به دست آید.

برای پیش‌بینی تغییر خواص مکانیکی داربست در بدن، مدول کشسانی دو نمونه از هیدروژل‌های ترکیبی با سنتز دو مرحله‌ای، قبل و بعد از قرارگیری هیدروژل در محلول PBS و در دمای ۳۷ درجه و به مدت ۲۴ ساعت، اندازه‌گیری شده و با هم مقایسه شده است. تأثیر درصد وزنی آب هیدروژل بر خواص مکانیکی نیز بررسی شده است، تا میزان خطای احتمالی ناشی از تفاوت شرایط آزمایش با شرایط داخل بدن محاسبه شود.

۲- مواد و روش‌ها

در ساخت هیدروژل‌های آلژینات/فیبروئین، ابتدا پودر آلژینات در محلولی به اندازه ۷۵٪ حجم محلول نهایی و با نسبت وزنی ۳ wt% تهیه شد. به دلیل لزجت بالای محلول آلژینات در غلظت‌های بالا، به‌سختی در آب حل می‌شود؛ به همین دلیل برای تکمیل انحلال، محلول به مدت ۳ دقیقه به‌وسیله دستگاه اولتراسوند با توان ۷۵ وات تحت سونیکیشن قرار گرفته است.

مراحل آماده‌سازی و جداسازی فیبروئین ابریشم به روش انحلال پیله‌ها در محلول لیتیم‌برماید و تصفیه محلول به مدت ۳ روز در آب مقطر به‌وسیله کیسه دیالیز و طبق پروتوکول‌های استاندارد انجام شده است [۷].

در مرحله بعد، محلولی با حجم ۲۵٪ حجم نمونه نهایی و درصد وزنی فیبروئین ابریشم ۴ wt% تهیه می‌شود. دو محلول تهیه‌شده، پس از ترکیب، در قالب‌های ساخته‌شده از جنس پلکسی‌گلس و طراحی‌شده در هندسه دمبل‌شکل، که سطح داخلی آن با کاغذهای آغشته به محلول کلسیم‌کلرید است، ریخته می‌شود. نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در قالب قرار می‌گیرد تا سطح خارجی آن، سنتز شده و به شکل قالب درآید. سپس، هیدروژل از قالب خارج شده و به مدت یک ساعت در محلولی از نمک کلسیم کلرید ۱ M غوطه‌ور می‌شود، تا فرآیند ژل شدن، تکمیل شود. پس از این مرحله، نمونه از ظرف خارج شده و در زیر هود قرار می‌گیرد تا سطح آن خشک شده و برای آزمون کشش آماده شود.

نمونه‌های ترکیبی آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل‌آمید، به دو صورت یک مرحله‌ای و دوم مرحله‌ای سنتز شده‌اند. در نمونه‌های

۲-۳- محاسبه پارامترهای مکانیکی نمونه‌ها

منحنی‌های تنش- کرنش و مقادیر مربوط به تنش نهایی تسلیم، مدول کشسانی و قابلیت تورم داربست، برحسب تنش حقیقی ارائه می‌شوند. رابطه تنش حقیقی و تنش مهندسی، طبق رابطه زیر محاسبه می‌شود.

$$\sigma_t = \sigma \times (1 + \varepsilon_x)^{2\nu} \quad (1)$$

در این رابطه، σ_t تنش حقیقی، σ تنش مهندسی، ε_x کرنش حقیقی و ν ضریب پواسون نمونه هستند. با توجه به کرنش زیاد نمونه‌ها، در محاسبه تنش حقیقی باید از مقادیر کرنش حقیقی مطابق، رابطه (۲)، استفاده کرد.

$$\varepsilon_{x,t} = \ln\left(\frac{l}{l_0}\right) \quad (2)$$

در این رابطه، l طول ناحیه گنج نمونه در راستای کشش و l_0 طول اولیه است. مقادیر ضریب پواسون نمونه‌ها با عکس‌برداری از نمونه و تغییرات ابعاد نمونه و رابطه (۳)، محاسبه شده است.

$$\nu = \text{Log} \frac{b_0}{b_1} \frac{l_1}{l_0} \quad (3)$$

در این رابطه، l_0 و l_1 طول اولیه و ثانویه نمونه در راستای کشش و b_0 و b_1 طول اولیه و ثانویه نمونه در راستای عمود بر جهت کشش هستند.



شکل (۱) - نمونه دمبل شکل تحت آزمون کشش

پارامتر قابلیت تورم داربست ساخته شده با نمونه‌های هیدروژلی مختلف، با استفاده از روابط استوانه‌های جدارضخیم محاسبه شده است. محاسبه این مقادیر پیش‌بینی می‌کند که اگر داربستی از جنس پلیمرهای معرفی شده و با هندسه شریان‌های کرونی طبیعی ساخته شود، رفتار مکانیکی آن از نظر قابلیت تورم و شباهت با شریان طبیعی، چگونه خواهد بود.

هر نمونه، سه بار تحت آزمون کشش قرار گرفته و مقادیر مدول کشسانی، کرنش و تنش تسلیم، به صورت میانگین گزارش شده‌اند.

مواد استفاده شده در سنتز نمونه‌ها، در جدول ۱ ارائه شده‌اند.

جدول (۱) - مواد استفاده شده در سنتز نمونه‌ها

نام فارسی	فرمول شیمیایی/نام انگلیسی	شرکت تولیدکننده و کد محصول
آکریل‌آمید	Acrylamide for synthesis CH ₅ NO	Merck CAS #:79-06-1
نمک سدیم آلژینات	Sodium Alginate pure C ₆ H ₉ NaO ₇	Sisco Research Laboratories CAS #:9005-38-3
متیل بیس آکریل‌آمید	N,N'-Methylenebisacrylamide, special grade for molecular biology	Merck CAS #:110-26-9
لیتیم پرمایید*	Lithium Bromide Anhydrous extrapure LiBr	Sisco Research Laboratories CAS #:7550-35-8
آهن(iii)نیترات ۱۲ آبه	Iron(III) nitrate nonahydrate Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	Merck CAS #:7782-61-8
تترامتیل اتیل‌دی‌آمین	N,N,N',N'-Tetramethyl ethylenediamine for synthesis. (CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	Merck CAS #: 110-18-9

*مورد استفاده در فرآیند جداسازی فیبروئین ابریشم

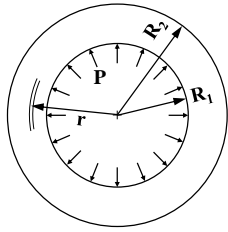
دستگاه کشش استفاده شده، SANTAM - SANTAM20، دستگاه اتصال عرضی فرابنفش مدل Seoulin CL-1000 و Bioscience بوده است

۳- خواص مکانیکی

۳-۱- خواص مکانیکی رگ در شرایط فیزیولوژیک

دیواره رگ از نظر مکانیکی، رفتاری غیرخطی و مشابه مواد لاستیکی دارد و مدول کشسانی آن با افزایش کرنش، تغییر خواهد کرد. مقادیر مدول کشسانی رگ در فشار فیزیولوژیک شریان‌های کرونی (بین ۸۰ تا ۱۲۰ mmHg) محاسبه شده است. کرنش محیطی بافت دیواره شریان‌ها، در بازه فشار سیستولیک تا دیاستولیک در 0.15 ± 0.05 است [۸].

رفتار مکانیکی بافت دیواره رگ شریان‌های کرونی در بازه کرنش مطرح شده در افراد مختلف و در نواحی مختلف شریان‌های کرونی، متفاوت است. مقادیر میانگین گزارش شده برای مدول کشسانی ناحیه فیزیولوژیک 490 ± 25 kPa، تنش تسلیم $1/2 \pm 0/5$ MPa و کرنش نهایی تسلیم $0/5 \pm 0/22$ گزارش شده است [۹].



شکل (۲) - سطح مقطع داربست

با استفاده از روابط (۶) و (۸)، رابطه قابلیت تورم داربست برحسب مدول کشسانی، ضریب پواسون و هندس سطح مقطع رگ، محاسبه خواهد شد:

$$D_r = \frac{1}{E} \left(\frac{k^2(1+\nu) - 2\nu + 1}{k^2 - 1} \right) \quad (۹)$$

روابط استفاده‌شده در این بخش، برگرفته از روابط استوانه‌های جدارضخیم و مکانیک جریان خون هستند [۱۰ و ۱۱].

۳-۳- پیش‌بینی تغییرات خواص مکانیکی در بدن

هیدروژل‌های یونی، به‌دلیل استحکام کم اتصالات عرضی در محیط زنده و همچنین مجاورت با یون‌های محلول در مایعات بدن، به‌تدریج دچار تجزیه و انحلال می‌شوند. بخشی از هیدروژل‌های آزمایش‌شده در این پژوهش، از نوع یونی بوده و بخشی از نوع هیدروژل‌های دوشبکه‌ای یا ترکیبی، از دو ساختار یونی و کووالانسی هستند. برای پیش‌بینی میزان تجزیه و تخریب ساختار و در نتیجه انحلال نسبی هیدروژل‌ها در محیط بدن، دو نمونه از هیدروژل‌های ترکیبی آلژینات-آکریل‌آمید به مدت ۲۴ ساعت در محلول PBS و در دمای ۳۷ درجه قرار گرفت. مدول کشسانی آن‌ها پس از این زمان و با آزمون کشش محاسبه شد، تا میزان کاهش مدول کشسانی و انحلال بخش یونی این هیدروژل‌ها در محیط زنده بررسی شود.

هیدروژل‌ها در محیط مرطوب و در مجاورت مایعات بدن، تا حد اشباع خود آب جذب می‌کنند و درصد وزنی آب آن‌ها تا حدود ۹۵٪ افزایش می‌یابد. درحالی‌که بررسی خواص مکانیکی هیدروژل در این شرایط از طریق آزمون کشش، به‌دلیل عدم امکان نگاه‌داشتن نمونه‌ها بین فک‌های دستگاه کشش، ممکن نیست؛ بنابراین لازم است قبل از آزمون کشش نمونه، به مدتی تحت جریان مکش هود قرار گیرد و بخشی از آب آن خارج شود، تا سطح آن خشک شده و قابلیت چسبیدن به قطعات صلب واسط را داشته باشند. این امر، موجب کاهش درصد وزنی آب نمونه تا مقادیر حدود ۹۳٪ خواهد شد. برای پیش‌بینی تأثیر این کاهش درصد وزنی بر مدول کشسانی، نمونه‌های مختلف با

قابلیت تورم (D_r) یا کامپلاینس (C) پارامترهای مکانیکی، برای مقایسه تغییرات شعاع داخلی شریان‌های طبیعی و پیوندی در اثر تغییرات فشار خون، در بازه فشار فیزیولوژیک است.

$$C = \frac{\partial A}{\partial P} \quad (۴)$$

در این رابطه، A سطح مقطع عبور جریان خون و P فشار نسبی داخل رگ است. این پارامتر به‌صورت تغییرات نسبی شعاع داخلی شریان برحسب تغییرات فشار داخلی نیز بیان می‌شود.

$$D_r = \frac{1}{R_{1,0}} \frac{\partial R_1}{\partial P} = \frac{C}{2A_0} \quad (۵)$$

در این رابطه R_1 شعاع داخلی داربست، $R_{1,0}$ و A_0 شعاع داخلی و سطح مقطع در حالت بدون فشار داخلی و C کامپلاینس است. اگر رگ را به‌صورت استوانه‌ای با سطح مقطع دایره فرض کنیم (شکل ۲)، می‌توان رابطه قابلیت تورم را به‌صورت رابطه (۶) نوشت.

$$\varepsilon_\phi = \frac{dR}{R} \Rightarrow D_r = \frac{d\varepsilon_{\phi,1}}{dP} \quad (۶)$$

که کرنش محوری المان‌های دیواره استوانه و $\varepsilon_{\phi,1}$ کرنش محوری لایه داخلی استوانه است.

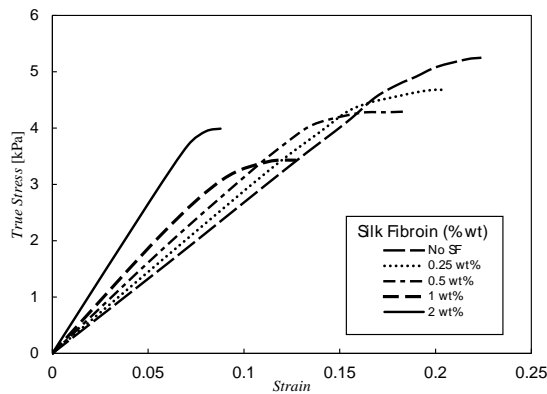
با توجه به رابطه (۶) و در صورت محاسبه رابطه $\varepsilon_{\phi,1}$ برهه‌حسب مقادیر فشار داخلی رگ، قابلیت تورم داربست محاسبه خواهد شد. موارد فرض‌شده در استفاده از این روابط عبارت‌اند از: ضرایب کشسانی و فشاری برابر هیدروژل در ناحیه خطی و مقید بودن رگ در راستای محوری ($\varepsilon_z = 0$). با توجه به این فرضیات و از طریق روابط حاکم بر استوانه‌های جدارضخیم، خواهیم داشت:

$$\varepsilon_\phi = \frac{1}{E} (\sigma_\phi - \nu\sigma_r - \nu\sigma_L) \quad (۷)$$

که σ_L ، σ_r ، σ_ϕ به‌ترتیب تنش‌های وارده به دیواره رگ در راستای محیطی، شعاعی و محوری هستند. دو تنش شعاعی و محیطی به فاصله المان‌های دیواره رگ از محور مرکزی وابسته هستند. برای محاسبه تغییرات شعاع داخلی، تنش روی سطح داخلی رگ ($r = R_1$) محاسبه می‌شود. با جایگذاری مقادیر تنش برحسب فشار داخلی در استوانه‌های جدارضخیم در رابطه (۷)، خواهیم داشت:

$$\varepsilon_{\phi,R_1} = \frac{1}{E} \left(P \left[\frac{k^2 + 1}{k^2 - 1} \right] + \nu P - \frac{\nu P}{(k^2 - 1)} \right) \quad (۸)$$

که در این رابطه، $k = \frac{R_2}{R_1}$ است.



شکل (۳) - منحنی تنش- کرنش هیدروژل‌های آلژینات-

فیبروئین با درصد‌های وزنی متفاوت فیبروئین ابریشم. تمامی نمونه تا حد گسیختگی کشیده شده‌اند

افزایش یافته است. در نمونه ۱:۴ مقدار وزنی آلژینات به نسبت نمونه ۱:۶، تغییر زیادی نداشته است، که به دلیل محدودیت قابلیت انحلال آلژینات در حضور فیبروئین در آب است. در واقع افزایش نسبت آلژینات به آکریل‌آمید به مقادیر بیشتر از ۱:۶، از طریق کاهش نسبت وزنی پلی‌آکریل‌آمید قابل حصول است، که این امر باعث افزایش درصد وزنی آب، کاهش تراکم اتصالات عرضی در حجم ثابت و در نتیجه، کاهش سفتی هیدروژل در نسبت ۱:۴ شده است.

در ادامه، هیدروژل ترکیبی آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل-آمید با نسبت وزنی آلژینات به آکریل‌آمید ۱:۶ و درصد وزنی فیبروئین ۰/۵ wt%، به شیوه دومرحله‌ای سنتز شده است و رفتار مکانیکی آن با حالت یک‌مرحله‌ای مقایسه شده است. مقایسه منحنی تنش-کرنش به دست آمده از آزمون کشش نمونه‌های هیدروژل دوشبکه‌ای آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل-آمید با سنتز دومرحله‌ای، نشان می‌دهند که افزودن مرحله دوم سنتز، باعث افزایش مدول کشسانی ناحیه خطی هیدروژل‌ها خواهد شد، که تغییری مثبت برای نزدیک کردن رفتار مکانیکی هیدروژل به شبکه برون سلولی طبیعی دیواره رگ محسوب می‌شود.

همچنین این تغییر در فرآیند سنتز، باعث ایجاد نقطه تسلیم (نقطه شکستگی منحنی) در کرنش‌های کمتر به نسبت هیدروژل‌های ترکیبی با سنتز یک‌مرحله‌ای خواهد شد. نتایج آزمون‌های کشش این نمونه‌ها در مقایسه با نمونه سنتز یک‌مرحله‌ای (CaSO₄)، در شکل ۵ مشاهده می‌شود.

درصد وزنی آب متفاوت (چهار نمونه با مقادیر درصد وزنی آب کمتر از ۹۳) تحت آزمون کشش قرار گرفتند. به کمک نتایج آزمون کشش این نمونه‌ها، منحنی تغییرات خواص مکانیکی بر حسب درصد وزنی آب، رسم شده و مدول کشسانی نمونه در حالت اشباع، که مطابق شرایط داخل بدن است، پیش‌بینی شده است.

۴- نتایج

۴-۱- نتایج آزمون کشش

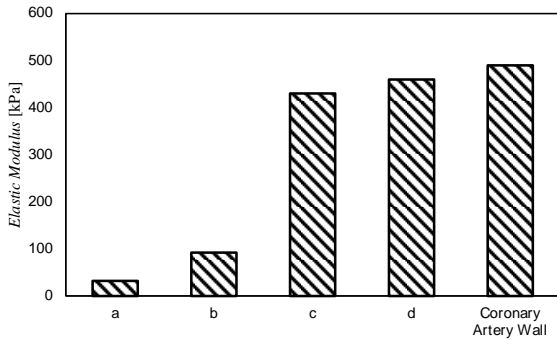
منحنی تنش-کرنش به دست آمده از آزمون کشش نمونه‌های مختلف هیدروژل آلژینات/فیبروئین، در شکل ۳ مشاهده می‌شود. مدول کشسانی این هیدروژل در ناحیه خطی در سفت‌ترین نمونه با درصد وزنی فیبروئین ۲ wt%، به ۷۴ kPa رسیده و کرنش نهایی تسلیم این نمونه ۶٪ است. مقایسه منحنی‌ها نشان می‌دهد که با کاهش درصد وزنی فیبروئین، از سفتی ژل کاسته شده و به کرنش تسلیم آن افزوده خواهد شد. با توجه به نتایج به دست آمده و مشاهده اثر نامطلوب افزایش درصد وزنی فیبروئین، بر قابلیت کشسانی هیدروژل و همچنین وابسته بودن شرایط زیست‌سازگاری و قابلیت چسبندگی سلولی هیدروژل به میزان فیبروئین، درصد وزنی بهینه فیبروئین، ۰/۵ wt% خواهد بود. مدول کشسانی این هیدروژل برابر با ۴۶ kPa است، که با مدول کشسانی رگ طبیعی در راستای محوری با مقدار

۰/۵ MPa تفاوت زیادی داشته و شرایط مناسبی برای ساخت داربست مهندسی بافت رگ نخواهد داشت.

در مرحله بعد، تأثیر افزودن پلیمر آکریل‌آمید به هیدروژل آلژینات/فیبروئین بررسی شده است (شکل ۴). با چهار نمونه هیدروژل ترکیبی با نسبت‌های وزنی مختلف دو پلیمر آلژینات و پلی‌آکریل‌آمید، مشاهده می‌شود در سنتز یک‌مرحله‌ای، قابلیت کشسانی هیدروژل تا حدود ۱۵ برابر طول اولیه خود افزایش یافته است، که نشان‌دهنده تأثیر زیاد ایجاد ساختار دوشبکه‌ای^۱ در هیدروژل است. سفتی نمونه نیز به نسبت هیدروژل آلژینات/فیبروئین افزایش یافته و در نسبت وزنی آلژینات به آکریل‌آمید ۱:۶، به مقدار بیشینه، یعنی ۹۰ kPa رسیده است.

نتایج این آزمون نشان می‌دهد که با افزایش نسبت وزنی آلژینات به آکریل‌آمید تا مقدار ۱:۶، مدول کشسانی هیدروژل

^۱ Dual network



شکل (۶) - مقایسهٔ مقادیر مدول کشسانی شریان‌های کرونری با هیدروژل‌های آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل‌آمید [۸].

۴-۳ - محاسبهٔ قابلیت تورم

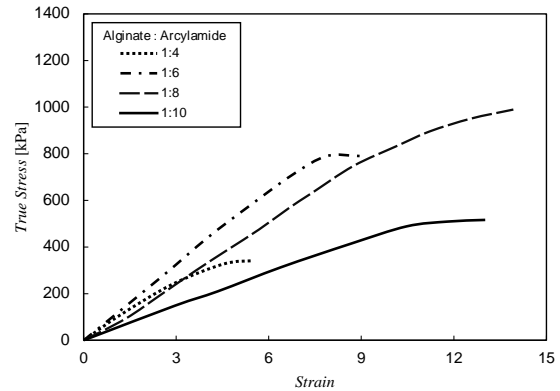
به کمک رابطهٔ (۹) و مقادیر مدول الاستیسیتهٔ ناحیهٔ خطی، ضریب پواسون و هندسهٔ شریان‌های کرونری، مقادیر قابلیت تورم داربست‌های ساخته‌شده از نمونه‌های هیدروژلی ساخته‌شده در این پژوهش، محاسبه شده‌اند. مقادیر به‌دست‌آمده برای چهار نمونه هیدروژل مطرح‌شده در قسمت قبل، در جدول ۱ ارائه شده است.

با مقایسهٔ نتایج به‌دست‌آمده، مشاهده می‌شود که نمونه‌های (c) و (d) از نظر قابلیت تورم به شریان‌های کرونری انسان با مقادیر حدود $9 \times 10^{-2} \%$ /mmHg نزدیک‌تر هستند و از نظر تغییرات شعاع داخلی، رفتاری مشابه به شریان‌های کرونری در شرایط فیزیولوژیک خواهند داشت.

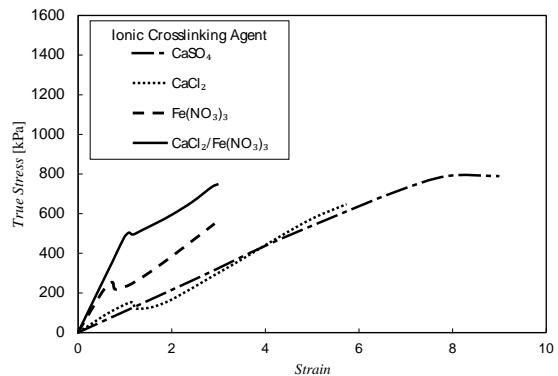
در تحقیقات مختلف، یکی از دلایل عمر کوتاه رگ‌های پیوندی موجود و ایجاد هایپرپلازی در دیوارهٔ شریان‌ها پس از پیوند، عدم همخوانی پارامتر مکانیکی قابلیت تورم در رگ‌های پیوندی و شریان‌های کرونری مطرح شده است. رگ‌های پیوندی تجاری موجود، به‌دلیل سفتی بیشتر در راستای محیطی و قابلیت تورم کمتر نسبت به رگ‌های کرونری محل، بر رفتار جریان خون تأثیر گذاشته و باعث ایجاد جراحی در دیوارهٔ رگ‌های اطراف می‌شوند. برای ترمیم این جراحی، رشد سلول‌های ماهیچه‌ای دیواره، افزایش می‌یابد و به بسته شدن تدریجی سطح داخلی رگ و انسداد مجدد مسیر خون منجر می‌شود [۱۳ و ۱۴].

بنابراین یکی از پارامترهای تأثیرگذار بر کارایی رگ‌های پیوندی مصنوعی یا رگ‌های پیوندی ساخته‌شده به روش مهندسی بافت، تطابق بیشتر قابلیت تورم آن‌ها با شریان‌های کرونری طبیعی خواهد بود.

در شکل ۷، مقدار قابلیت تورم دو نمونه داربست هیدروژلی (c) و (d) با مقادیر قابلیت تورم دو رگ پیوندی مصنوعی و رگ‌های پیوندی وریدی مشتق‌ازخود، مقایسه شده است.



شکل (۴) - منحنی تنش-کرنش هیدروژل‌های آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل‌آمید با درصد‌های وزنی متفاوت آلژینات به آکریل‌آمید و درصد وزنی فیبروئین ۰/۵ wt% و با سنتز یک‌مرحله‌ای

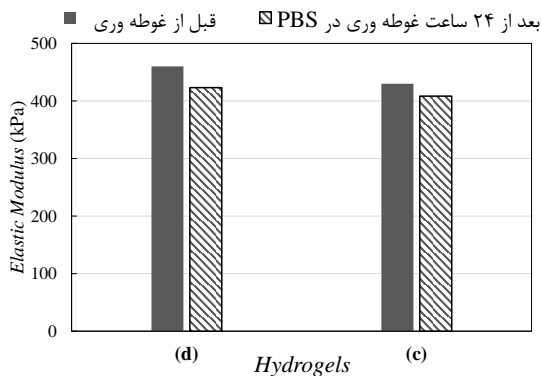


شکل (۵) - منحنی تنش-کرنش هیدروژل‌های آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل‌آمید با سنتز دومرحله‌ای و عوامل اتصال عرضی یونی مختلف. در تمام نمونه‌ها، نسبت آلژینات به پلی‌آکریل‌آمید ۱:۶ و درصد وزنی فیبروئین ۰/۵ wt% است.

۴-۲ - محاسبهٔ مدول کشسانی

با استفاده از نتایج آزمون‌های کشش، مدول کشسانی نمونه‌های مختلف، محاسبه شده و مقادیر به‌دست‌آمده برای چهار نمونه هیدروژل با مدول کشسانی دیوارهٔ شریان‌های کرونری در شرایط فیزیولوژیک، مقایسه شده است. ترکیب شیمیایی و نحوهٔ سنتز این نمونه‌ها، به این صورت است:

(a) آلژینات/فیبروئین (b) آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل‌آمید با سنتز یک‌مرحله‌ای. (c) آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل‌آمید با سنتز دومرحله‌ای به‌وسیلهٔ محلول یونی آهن(III)نیترات. (d) آلژینات/فیبروئین/پلی‌آکریل‌آمید با سنتز دومرحله‌ای، به‌وسیلهٔ محلول یونی آهن(III)نیترات و کلسیم کلرید (در تمامی نمونه‌ها، درصد وزنی فیبروئین ۰/۵ wt% و در نمونه‌های هیبرید، نسبت وزنی آلژینات به آکریل‌آمید ۱:۶ است).



شکل (۸) - مقایسه مقادیر مدول کشسانی دو نمونه هیدروژل ترکیبی آلژینات/فیبروئین/آکریل آمید قبل و بعد از غوطه وری نمونه ها در محلول PBS

پایداری هیدروژل آلژینات سنتز شده با کاتیون سه ظرفیتی آهن، بیشتر از آلژینات سنتز شده با کاتیون دو ظرفیتی کلسیم خواهد بود.

همان طور که در بخش قبل توضیح داده شد، برای پیش بینی میزان تغییر مدول کشسانی داربست در شرایط جذب آب بیشینه و در مجاورت مایعات بدن، مدول کشسانی نمونه d در چهار درصد وزنی مطابق جدول (۲) اندازه گیری شد.

جدول (۳) - مقایسه مقادیر قابلیت تورم برای ۴ داربست از جنس هیدروژل های پایه آلژینات و با هندسه شریان کرونری مختلف [۱۲] جرم کل و قسمت خشک [g] و درصد وزنی آب نمونه های مقایسه شده

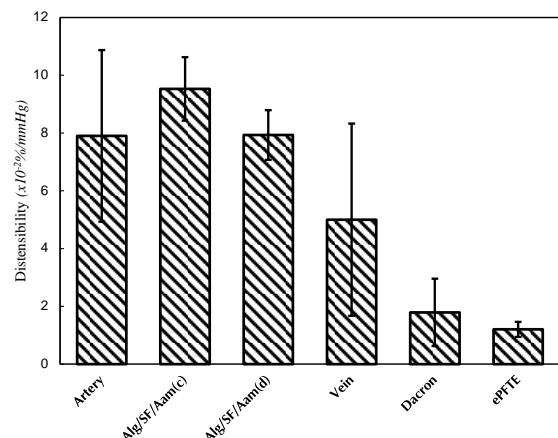
نمونه	جرم کل	جرم خشک	درصد آب
۱	۳/۸۵	۰/۴۳۷۶	۸۸/۵
۲	۴/۱۲	۰/۴۰۵	۹۰/۲
۳	۵/۳۲	۰/۴۱۰۵	۹۲/۳
۴	۶/۴۲	۰/۴۱۲۵	۹۳/۶
بیشینه آب	۷/۸۸	۰/۴۰۲۴	۹۴/۹

مقادیر مدول کشسانی حاصل، از آزمون این چهار نمونه به دست آمده و با محاسبه روند نسبی تغییرات مدول کشسانی بر حسب تغییرات درصد وزنی آب، مدول کشسانی هیدروژل در شرایط بیشینه جذب آب (۹۵٪) که مشابه شرایط آن داخل بدن است، محاسبه شده است.

نتایج به دست آمده در این بخش نشان می دهند که مدول کشسانی هیدروژل در شرایط بیشینه قابلیت جذب آب نسبت به شرایط آزمون، حداکثر تا حدود ۴ درصد کاهش خواهد داشت، که مقدار قابل ملاحظه ای نبوده و قابل چشم پوشی است.

جدول (۲) - مقایسه مقادیر قابلیت تورم برای ۴ داربست، از جنس هیدروژل های پایه آلژینات و با هندسه شریان کرونری مختلف [۱۲] قابلیت تورم قطری D_r [%/mmHg] $\times 10^{-2}$

نام شریان	الف	B	c	D
RCA ^۱	۱۰۷	۳۷	۲/۱۰	۵/۸
LM ^۲	۱۱۴	۳۹	۸/۱۰	۹
LAD ^۳	۸۹	۳۰	۵/۸	۷
LCx ^۴	۹۰	۳۱	۶/۸	۷
میانگین (انحراف معیار)	۱۰۰ (۱۱)	۳۴ (۶/۳)	۵/۹ (۱/۱)	۹/۷ (۹/۰)



شکل (۷) - مقایسه مقادیر قابلیت تورم چند رگ پیوندی با شریان های کرونری سالم انسان و داربست های هیدروژل آلژینات/فیبروئین/پلی آکریل آمید

۴-۴ - تغییر خواص مکانیکی در داخل بدن

برای بررسی تأثیر انحلال هیدروژل های یونی در محیط بدن بر مدول کشسانی هیدروژل های معرفی شده در شرایط داخل بدن، دو نمونه هیدروژل c و d به مدت ۲۴ ساعت در محلول PBS قرار گرفتند و آزمون کشش دوباره روی این هیدروژل ها انجام شد و مقادیر مدول کشسانی قبل و بعد از غوطه وری در محلول مقایسه شدند. نتایج این آزمون در شکل ۸ مشاهده می شود.

مقایسه نتایج به دست آمده از نمونه ها نشان می دهد که مدول کشسانی هیدروژل ها در اثر قرارگیری در محلول PBS، تا حدود ۵٪ برای نمونه c و ۸٪ برای نمونه d کاهش یافته است، که به دلیل انحلال بخشی از قسمت یونی هیدروژل ها در مجاورت یون های موجود در محلول PBS است. درباره انحلال هیدروژل نمونه d، به دلیل اینکه بخشی از اتصالات عرضی ایجاد شده به وسیله یون کلسیم، بیشتر است که نشان می دهد

^۱ Left Anterior Descending coronary artery

^۲ Left Circumflex Artery

^۳ Right Coronary Artery

^۴ Left Main coronary artery

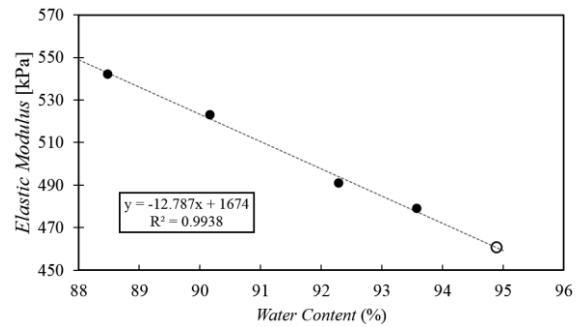
تسلیم هیدروژل نسبت به شرایط سنتز یک‌مرحله‌ای کاهش خواهد یافت؛ اما همچنان بیشتر از مقادیر کرنش تسلیم شریان‌های کرونری است و شرایط مناسبی دارد.

در انتها، مقادیر قابلیت تورم رگ (تغییرات شعاع داخلی بر اثر تغییر فشار داخل رگ) برای ۴ نمونه داربست هیدروژلی و با هندسه شریان‌های کرونری مختلف مقایسه شد. نتایج این بخش نشان می‌دهد که داربست دوشبکه‌ای معرفی شده در این پژوهش، شرایط بهتری از نظر قابلیت تورم نسبت به رگ‌های پیوندی مصنوعی تجاری موجود دارد و تطابق بیشتری با رفتار شریان‌های کرونری طبیعی خواهند داشت.

همان‌طور که گفته شد، تحقیقات گذشته نشان می‌دهند هیدروژل‌های آلژینات/فیبروئین از نظر خواص زیست‌سازگاری و چسبندگی سلولی، شرایط مناسبی برای رشد و تکثیر سلول‌های دیواره عروق خونی فراهم می‌کنند. با توجه به تغییر فرآیند سنتز و ساختار هیدروژل‌های آلژینات معرفی شده در این پژوهش، لازم است در پژوهش‌های آتی، آزمون‌های مربوط به خواص زیستی ذکر شده، دوباره روی این هیدروژل‌ها انجام شود.

۶- مراجع

- [1] S. Pashneh-Tala, S. MacNeil, F. Claeyssens, The Tissue-Engineered Vascular Graft—Past, Present, and Future, *Tissue Eng. Part B Rev.*, p. ten.teb.2015.0100, Oct. 2015.
- [2] B. Sarker *et al.*, Evaluation of Fibroblasts Adhesion and Proliferation on Alginate-Gelatin Crosslinked Hydrogel, *PLoS One*, vol. 9, no. 9, p. e107952, Sep. 2014.
- [3] R. Singh *et al.*, Evaluation of hydrogel matrices for vessel bioplotting: Vascular cell growth and viability, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, vol. 104, no. 3, pp. 577–585, Mar. 2016.
- [4] J. Schulte *et al.*, A Novel Seeding and Conditioning Bioreactor for Vascular Tissue Engineering, *Processes*, vol. 2, no. 3, pp. 526–547, Jul. 2014.
- [5] E. Hernandez, O. Robles-Vazquez, I. Orozco-Avila, J. Sánchez-Díaz, An Overview of Mechanical Tests for Polymeric Biomaterial Scaffolds Used in Tissue Engineering, *J. Res. Updat. Polym. Sci.*, vol. 4, no. 4, pp. 168–178, 2016.
- [6] J. Sun, X. Zhao, I. Xuanhe, R. K. Widusha, O. Chaudhuri, K. Oh, “Highly stretchable and tough hydrogels,” *Nature*, vol. 489, no. 7414, pp. 133–136, Sep. 2012.
- [7] D. N. Rockwood, R. C. Preda, T. Yücel, X. Wang, M. L. Lovett, D. L. Kaplan, Materials fabrication from Bombyx mori silk fibroin, *Nat. Protoc.*, vol. 6, no. 10, pp. 1612–1631, Sep. 2011.
- [8] G. E. McVeigh, A. J. Bank, J. N. Cohn, Arterial Compliance, in *Cardiovascular Medicine*, London: Springer London, 2007, pp. 1811–1831.



شکل (۹) - تغییرات مدول کشسانی هیدروژل هیبرید آلژینات/فیبروئین/آکریل‌آمید با سنتز دومرحله‌ای در مقادیر درصد وزنی آب مختلف

۵- نتیجه‌گیری

نتایج آزمون‌های کشش انجام شده در این پژوهش روی هیدروژل‌های آلژینات/فیبروئین نشان می‌دهند که این هیدروژل‌ها با وجود شرایط مناسب زیستی، مانند چسبندگی سلولی، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری مطرح شده در پژوهش‌های گذشته، به دلیل سفتی و استحکام مکانیکی کم، شرایط مناسبی برای استفاده به‌عنوان داربست‌های مهندسی بافت عروق خونی با فرآیند سنتز ذکر شده نخواهند داشت؛ به همین دلیل باید قبل از استفاده به‌عنوان داربست در محیط بیورآکتور، از طریق تغییر ساختار شیمیایی یا تغییر فرآیند سنتز، از نظر مکانیکی تقویت شوند.

بر اساس نتایج آزمون‌های کشش انجام شده، افزایش درصد فیبروئین در نمونه‌ها تا حد قابلیت انحلال آن، با وجود افزایش ۳۰ درصدی مدول کشسانی، به دلیل کاهش کرنش تسلیم، این ضعف را حل نخواهد کرد.

در ادامه، با اضافه کردن پلی‌آکریل‌آمید به ساختار این هیدروژل و ساخت هیدروژلی ترکیبی و دوشبکه‌ای با ساختار تشکیل شده از پیوندهای یونی آلژینات و پیوندهای کووالانسی پلی‌آکریل‌آمید، خواص مکانیکی داربست‌های ساخته شده با این هیدروژل بهبود یافت.

همچنین مشاهده می‌شود که این هیدروژل در شرایط نسبت وزنی آلژینات به پلی‌آکریل‌آمید ۱:۶ و با سنتز دومرحله‌ای با عامل اتصال عرضی پیوند یونی آهن (III) نیترات و کلسیم کلرید (یک کاتیون سه‌ظرفیتی و یک کاتیون دوظرفیتی)، در بهترین شرایط از نظر مدول کشسانی و تنش تسلیم قرار خواهد داشت؛ به‌صورتی که مدول کشسانی هیدروژل به مدول کشسانی فیزیولوژیک شریان‌های کرونری سالم نزدیک خواهد شد. اگرچه در نمونه‌های هیدروژل‌های ترکیبی با سنتز دومرحله‌ای، کرنش

- [12] J. T. Dodge, B. G. Brown, E. L. Bolson, H. T. Dodge, Lumen diameter of normal human coronary arteries. Influence of age, sex, anatomic variation, and left ventricular hypertrophy or dilation., *Circulation*, vol. 86, no. 1, 1992.
- [13] W. Trubel *et al.*, "Compliance mismatch and formation of distal anastomotic intimal hyperplasia in externally stiffened and lumen-adapted venous grafts," *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, vol. 10, no. 4, pp. 415–423, 1995.
- [14] M. W. Weston, K. Rhee, J. M. Tarbell, Compliance and diameter mismatch affect the wall shear rate distribution near an end-to-end anastomosis., *J. Biomech.*, vol. 29, no. 2, pp. 187–98, Feb. 1996.
- [9] Z. Teng, D. Tang, J. Zheng, P. K. Woodard, and A. H. Hoffman, An experimental study on the ultimate strength of the adventitia and media of human atherosclerotic carotid arteries in circumferential and axial directions, *J. Biomech.*, vol. 42, no. 15, pp. 2535–2539, Nov. 2009.
- [10] G. Pedrizzetti K. Perktold, Eds., *Cardiovascular Fluid Mechanics*. Vienna: Springer Vienna, 2003.
- [11] E. J. (Edwin J. Hearn, *Mechanics of materials : an introduction to the mechanics of elastic and plastic deformation of solids and structural materials. 1*. Butterworth-Heinemann, 1997.