

Design and Fabrication of Biodegradable Tissue Adhesive Using Albumin Nanoparticles and Polypyrrole as a Suture Substitute in Surgery and Trauma

Mohammad Pourali¹, Roghayeh Tarasi², Tahereh Tayebi³, Hassan Niknejad⁴

1. Medical Doctor, Department of Pharmacology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0001-9891-2099

2. PhD in Chemistry, Department of Pharmacology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0001-6904-3955

3. PhD Candidate of Applied Cell Sciences, Department of Pharmacology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-1419-9703

4. Associate Professor, Department of Pharmacology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (Corresponding Author), Tel: +98-021-22439969, Email: niknejad@sbmu.ac.ir. ORCID ID: 0000-0001-7736-1232

ABSTRACT

Background and Aim: Tissue adhesives are increasingly used instead of sutures or staples to close wounds in modern medicine. It seems that use of tissue adhesives can lead to faster and easier closure of the surgical wounds in comparison to sutures. Moreover, tissue glues have a wide application in the fields of tissue engineering and drug delivery systems. Bio-glue which is a widely used bioadhesive in surgery contains bovine serum albumin and glutaraldehyde, but it has significant tissue toxicity due to the high percentage of glutaraldehyde. Adhesive biocompatibility may improve by using albumin nanoparticles along with less toxic cross-linkers such as polypyrrole.

Materials and methods: Albumin nanoparticles were prepared by coacervation method and then, polypyrrole and glutaraldehyde in different proportions were used to prepare the bioadhesive. The properties of nanoparticles were examined by DLS, zeta potential analysis, FT-IR spectrum, and scanning electron microscopy. The effects of pH and concentration of albumin nanoparticles on gelation time were analyzed and the cytotoxicity of the adhesive was investigated by the MTT technique.

Results: Among the prepared composites, the shortest gelation time was 20 seconds which belonged to the composite containing both crosslinking agents (pyrrole and glutaraldehyde 3%). The results of MTT assay showed that by reducing the percentage of glutaraldehyde, the toxicity of the adhesive significantly decreased ($P < 0.0001$) compared to the toxicity of adhesive containing 10% glutaraldehyde.

Conclusion: Adhesive prepared by use of polypyrrole and 3% glutaraldehyde had a shorter gelation time and greater biocompatibility than the adhesive containing 10% glutaraldehyde. Therefore, it has the potential to replace other adhesives in the medical clinics.

Keywords: Albumin nanoparticles, Tissue adhesive, Glutaraldehyde, Biodegradable adhesive

Received: Oct 14, 2021

Accepted: Dec 6, 2022

How to cite the article: Mohammad Pourali, Roghayeh Tarasi, Tahereh Tayebi, Hassan Niknejad. Design and Fabrication of Biodegradable Tissue Adhesive Using Albumin Nanoparticles and Polypyrrole as a Suture Substitute in Surgery and Trauma. *ŠJKU* 2023;28(4):110-124.

طراحی و ساخت چسب بافتی زیست تخریب پذیر با استفاده از نانو ذرات آلومین و پلی پیرول به عنوان جایگزین بخیه در جراحی و تروما

محمد پورعلی^۱، رقیه تاراسی^۲، طاهره طیبی^۳، حسن نیک‌نژاد^۴

۱. پزشک، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. کد ارکید: ۲۰۹۹-۹۸۹۱-۰۰۰۱-۰۰۰۰

۲. دکتری تخصصی شیمی، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. کد ارکید: ۳۹۵۵-۶۹۰۴-۰۰۰۱-۰۰۰۰

۳. دکتری تخصصی علوم سلولی کاربردی، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. کد ارکید: ۹۷۰۳-۱۴۱۹-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۴. دانشیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیک: niknejad@sbmu.ac.ir، تلفن ثابت:

۰۲۱-۲۲۴۳۹۹۶۹، کد ارکید: ۱۲۳۲-۷۷۳۶-۰۰۰۱-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از چسب‌های بافتی به جای بخیه یا منگنه برای بستن زخم به سرعت رو به افزایش است. به نظر می‌رسد استفاده از چسب‌های بافتی سریع‌تر و راحت‌تر از بخیه موجب بسته شدن زخم‌های جراحی شود. بعلاوه، چسب‌های بافتی کاربردهای فراوانی در زمینه مهندسی بافت و سیستم‌های دارو رسانی دارند. BioGlue یک چسب زیستی پرکاربرد در جراحی است که حاوی آلومین سرم گاوی و گلو تار آلدهید است ولی به دلیل درصد بالای گلو تار آلدهید سمیت بافتی قابل توجهی دارد. استفاده از نانو ذرات آلومین به همراه کراس‌لینک‌هایی با سمیت کمتر مانند پلی پیرول می‌تواند باعث افزایش سازگاری چسب شود. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه نانو ذرات آلومین به روش انحلال زدایی تهیه شد و سپس برای تهیه چسب زیستی از پلی پیرول و گلو تار آلدهید با نسبت‌های مختلف استفاده گردید. ویژگی‌های نانو ذرات تهیه شده توسط آنالیزهای DLS، پتانسیل زتا، طیف FTIR و میکروسکوپ الکترونی بررسی شدند. اثر پارامترهای مختلف بر زمان ژل شدن چسب بررسی گردید و سمیت سلولی چسب توسط تکنیک MTT آزمایش شد.

یافته‌ها: در میان کامپوزیت‌های تولید شده، کمترین زمان ژل شدن برابر با ۲۰ ثانیه برای کامپوزیت حاوی دو عامل شبکه‌ای کننده پیرول و گلو تار آلدهید ۳٪ به دست آمد. نتایج تست MTT نشان داد که با کاهش درصد گلو تار آلدهید، میزان سمیت چسب حاصل نسبت به چسب حاوی ۱۰٪ گلو تار آلدهید به شکل معنی‌داری کاهش می‌یابد ($P < 0.0001$).

نتیجه‌گیری: چسب تهیه شده با پلی پیرول و گلو تار آلدهید ۳٪ دارای زیست‌سازگاری بیشتری نسبت به چسب حاوی گلو تار آلدهید ۱۰٪ است و مدت زمان ژل شدن آن نیز بسیار کمتر است؛ بنابراین این قابلیت را دارد که در کلینیک جایگزین آن شود.

واژه‌های کلیدی: نانو ذرات آلومین، چسب بافتی، گلو تار آلدهید، چسب زیست تخریب پذیر

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۷/۱۴۰، اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۱/۹/۱۴۰ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۱۴۰

مقدمه

آلبومین یکی از پروتئین‌های پلاسما است که از منابع مختلفی استخراج شده و کاربردهای مختلفی در علوم زیستی و پزشکی دارد (۱). استفاده از این پروتئین امروزه به طور پیوسته در حال افزایش است؛ زیرا هیدروژل‌های بر پایه آلبومین به دلیل طبیعی بودن و زیست سازگاری بالا برای اهداف مهندسی بافت و پزشکی بازساختی بسیار مناسب است. علاوه بر این، خنثی بودن، پایداری و توانایی ژل شدن در غلظت‌های کم، پروتئین آلبومین را به گزینه‌ای مناسب برای استفاده گسترده در زمینه‌های مختلف پزشکی و زیستی تبدیل می‌کند (۲).

نانو ذرات پروتئینی به ویژه نانو ذرات مبتنی بر آلبومین مزایای متعددی در مقایسه با سایر مواد نانو دارند. سازگاری زیستی، تجزیه بیولوژیکی، ایمنی‌زایی کمتر و سمیت سلولی پایین از ویژگی‌های مطلوب نانو ذرات پروتئینی است (۳). نانو ذرات آلبومین یکی از موادی است که به‌طور وسیع در نانو پزشکی و داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴و۵). کاربردهای این پروتئین به‌ویژه در سیستم‌های دارورسانی باعث افزایش کارایی و کاهش هزینه‌های درمانی شده است (۶).

بستن زخم و اتصال بافت‌های آسیب دیده به همدیگر بعد از تروما یا جراحی، به علت پیچیده بودن فرایند ترمیم زخم، یکی از چالش‌های موجود در زمینه بهبود و ترمیم زخم است (۷). استفاده از چسب‌های زیستی یا چسب‌های بافتی طی ۳۰ سال گذشته رشد فزاینده‌ای در پزشکی مدرن داشته است. این چسب‌ها قادرند فرآیندهای ترمیم ذاتی زخم را از طریق چسباندن بافت به بافت در-محل (on-situ) یا بافت به سطوح غیر بافتی در-محل القا کنند؛ بنابراین ویژگی‌های جالب توجهی در بالین نشان می‌دهند از جمله بسته شدن زخم با آسیب دیدگی و درد کمتر، استفاده آسان، عدم نیاز به بخیه پس از جراحی، نتیجه زیبایی عالی و امکان ترشح موضعی دارو (۸). تاکنون چسب‌های بافتی (Tissue Adhesive) بسیاری به‌عنوان جایگزین برای بخیه معرفی

شده‌اند؛ اما وجود محدودیت‌هایی مانند احتمال عفونت، احتمال رد شدن توسط بدن، افزایش التهاب در موضع و یا سمیت بافتی مانع از استفاده گسترده و بالینی این مواد شده است (۹و۱۰). یکی از اولین چسب‌های زیستی مورد استفاده، چسب زیستی بر پایه آلدهید بود که در جراحی عروق مورد استفاده قرار گرفت (۱۰). این چسب زیستی دارای ژلاتین، رزورسینول، فرمالدهید و گلو تار آلدهید بود و به عنوان French Glue شناخته شد و علی‌رغم استفاده وسیع در سرتاسر جهان، به علت سمیت دارویی تأییدیه سازمان غذا و دارو (FDA) را دریافت نکرد (۱۱).

فیبرین گلو (Fibrin Glue) یک عامل دیگر بند آورنده‌ی خون است که اخیراً توسط FDA پذیرفته شده است. فیبرین گلو از دو جزء مایع یعنی فیبرینوژن و ترومبین تشکیل شده است که هر دوی این مواد از پلاسما مشتق می‌شوند. چسب فیبرینی می‌تواند زمان کل جراحی را کاهش دهد؛ هم چنین خطر ابتلا به عفونت زخم بعد از عمل جراحی را در مقایسه با بخیه کاهش می‌دهد؛ اما اشکال اصلی این چسب خطر انتقال بیماری از اهدا کنندگان خون است. به‌علاوه، استحکام کششی این چسب نیز چندان مناسب نیست (۱۲, ۱۳).

یکی از انواع مهم چسب‌های زیستی، BioGlue® است که از دو ماده آلبومین سرم گاوی (۴۵٪) و گلو تار آلدهید (۱۰٪) با نسبت حجمی برابر تشکیل شده است (۱۴). این محصول به دلیل اینکه فاقد فرمالدهید است، سمیت بافتی کمتری نسبت به French Glue داشته و کاربرد آن در جراحی‌های عروقی و ترمیمی در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است؛ اما به دلیل غلظت بالای گلو تار آلدهید در ترکیب نهایی چسب، اثرات سمی قابل توجهی روی بافت دارد (۱۵, ۱۶). از جمله مطالعاتی که بر اساس BioGlue انجام شده است کاربرد این چسب به عنوان سیلانت برای آناستوموزهای برونشی و ضایعات پارانشیمی است. مطالعه‌ای که بر روی دو دسته گوسفند انجام شد، نشان داد که آناستوموزهای برونشیا و ترمیم بافت پارانشیم به خوبی

خواص بیومکانیکی و بیولوژیکی آن‌ها می‌شود (۲۷)؛ بنابراین، این مطالعه با هدف تهیه یک چسب زیستی بر پایه نانو ذرات آلبومین به جای آلبومین (که در BioGlue استفاده شده است) و همچنین به کار بردن کراس‌لینکر پلی-پیرول با درصد گلو تار آلدهید ۳٪ به جای گلو تار آلدهید ۱۰٪ و مقایسه آن با نمونه‌ی مشابه (حاوی گلو تار آلدهید ۱۰٪) از نظر میزان سمیت سلولی، سازگاری زیستی و سرعت ژل شدن انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مواد

این مطالعه از نوع آزمایشگاهی است که در آن آلبومین سرم گاوی (HSA) با خلوص (۹۹-۹۶ درصد)، گلو تار آلدهید، پیرول و انواع حلال‌های مورد استفاده از شرکت Sigma-Aldrich (آمریکا) خریداری شد. سایر ترکیبات شامل: NaOH، NaCl، FeCl₃ از شرکت Merck (آلمان) تهیه شدند.

سنتز نانو ذرات آلبومین:

از آلبومین سرم گاوی (BSA) برای تهیه نانو ذرات آلبومین (BSANP) استفاده شد. نانو ذرات آلبومین با استفاده از روش انحلال زدایی توصیف شده در مطالعات قبلی (۲۸)، با اعمال تغییراتی تهیه شدند. با توجه به اینکه pH محلول و غلظت پروتئین آلبومین در سوسپانسیون نانو ذرات آلبومین پارامترهای حیاتی برای پایداری ذرات محسوب می‌شوند، pH محلول آلبومین قبل از افزودن اتانول روی ۸ تنظیم شد. بدین منظور، آلبومین با غلظت ۷۵ میلی گرم در میلی لیتر در آب دیونیزه حل شده و pH آن با افزودن قطره محلول ۲ مولار NaOH به ۸ رسید. در ادامه، در حالی که محلول آلبومین روی همزن با شدت دور ۵۰۰ دور در دقیقه قرار داشت، با استفاده از یک پمپ سرنگی (Model SP-500، JMS Co. LTD; Japan) اتانول با سرعت جریان یک میلی-لیتر در دقیقه در دمای اتاق به آن اضافه گردید. نسبت

توسط این چسب انجام شده است. همچنین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از BioGlue در جراحی ریوی انسان می‌تواند مؤثر باشد (۱۷).

به منظور افزایش پایداری و قدرت چسبندگی، انواع چسب-ها به روش‌های مختلفی از جمله روش‌های شیمیایی، فوتوشیمیایی و واکنش با مولکول‌های زیستی کراس‌لینک می‌شوند. شبکه‌سازی پلیمر با روش‌های شیمیایی شامل استفاده از فرمالدهید و گلو تار آلدهید، اصلاح سطح و یا تماس با مایعات فیزیولوژیک انجام می‌گیرد. روش‌های بیولوژیک شامل کراس‌لینک کردن پلیمر با استفاده از آنزیم‌ها به‌ویژه در مورد چسب‌های فیبرینی است. روش فوتوشیمیایی نیز اغلب برای پلیمریزه کردن چسب‌های پروتئینی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۸).

پیرول یک ترکیب آروماتیک با توان پلیمریزاسیون بالاست که قابلیت ایجاد پلیمرهای با بار مثبت را دارا است و می‌تواند به‌عنوان عامل شبکه‌ای کننده (کراس‌لینکر) با پلیمرهای آنیونی مثل آلبومین، سلولز و آلژینات ترکیب شود (۱۹) و باعث افزایش چسبندگی هیدروژل‌ها گردد (۲۰). خواص الکتریکی قابل تنظیم، زیست سازگاری، پایداری محیطی و حرارتی خوب، سهولت استفاده و سنتز آسان و سمیت کم، پلی پیرول را به‌عنوان یک پلیمر ارزشمند برای استفاده‌های زیست پزشکی تبدیل کرده است (۲۱). از این پلیمر رسانا در طراحی و ساخت ابرخازن‌ها، محرک‌ها، غشاها، هیدروژل‌ها و داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت عصب و عضله استفاده می‌شود. سلول‌های اپی تلیال پرده آمینون دارای ویژگی‌های بسیاری از جمله خواص ضد سرطانی (۲۲) و قابلیت تمایز به انواع سلول‌ها می‌باشند. این سلول‌ها قادرند به سلول‌های عصبی تمایز یابند (۲۳) و پلی-پیرول سبب افزایش تمایز عصبی در این سلول‌ها می‌شود (۲۴، ۲۵). یکی از معایب پلیمرهایی مثل پیرول، ضعیف بودن ویژگی‌های مکانیکی آن است (۲۶)؛ اما استفاده از نانو ذرات در کامپوزیت‌های حاوی پیرول، موجب ارتقاء

حجمی اتانول به محلول آلبومین ۴ به ۱ در نظر گرفته شد. سپس سوسپانسیون حاصل با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و نانو ذرات آلبومین با استفاده از فریز درایر تخلیص گردید.

مشخصه یابی نانو ذرات آلبومین

مشخصه یابی نانو ذرات تولید شده از نظر اندازه ذره ای و توزیع آن، مورفولوژی و سایر خواص فیزیکی و شیمیایی از طریق تکنیک های مختلف انجام شد. بررسی اندازه ذره ای متوسط و پتانسیل زتای نانو ذرات تولید شده به ترتیب از آزمون پراکندگی نور پویا (Light Dynamic (DLS) Scattering و Photon Correlation (PCS) با استفاده از دستگاه (Malvern Instrument Spectroscopy Zetasizer 3000 HSA Ltd; UK) جهت بررسی مشخصات سطحی نانو ذرات از میکروسکوپ الکترونی روبشی ((FE-SEM (TESCAN, MIRA3, Czech) و (SEM (TESCAN-VEGA-II, Czech) استفاده شد. همچنین، گروه های عاملی مهم بر سطح نانو ذرات آلبومین، با تهیه طیف FT-IR با استفاده از دستگاه (Bomem MB-Series FT-IR Spectrophotometer, USA) در محدوده عدد موجی $4000-400\text{ cm}^{-1}$ و ضریب تفکیک پذیری cm^{-1} تعیین گردید.

تهیه چسب زیستی

برای تهیه چسب، ابتدا محلول نانو ذرات آلبومین در درصدهای وزنی ۴۵ و ۵۰ در آب دیونیزه تهیه شد. محلول گلو تار آلدهید نیز در دو غلظت ۳٪ و ۱۰٪ بافر سالین فسفات تهیه گردید. همچنین، محلول پیرو ل نیز با غلظت ۱۰٪ در استیک اسید ۱ نرمال آماده شد. به منظور تهیه چسب زیستی، هر یک از غلظت های نانو ذرات آلبومین با غلظت های مختلف گلو تار آلدهید با نسبت حجمی ۱:۱ ترکیب شد. همچنین، با هدف کاهش اثر سمیت ناشی از گلو تار آلدهید و

با توجه به توان پلیمریزاسیون پیرو ل و تولید پلی پیرو ل با بار مثبت که توانایی ترکیب با ماکرومولکول های آنیونی را دارا است (۲۰)، این ماده با نسبت های مختلف جایگزین گلو تار آلدهید گردیده و در تهیه چسب مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور، گلو تار آلدهید ۳٪ و پیرو ل ۱۰٪ با نسبت های حجمی مختلف با یکدیگر ترکیب شده و ترکیب حاصل با نسبت حجمی ۱:۱ با محلول های نانو ذرات آلبومین مخلوط گردید. ویژگی های فیزیکی و شیمیایی و بیولوژیکی انواع چسب های تهیه شده شامل مدت زمان ژل شدگی، برهم کنش های شیمیایی، استحکام کششی و سمیت سلولی مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی زمان ژل شدگی چسب زیستی

اثرات pH، غلظت مواد مورد استفاده و نوع ماده شبکه ای کننده بر زمان ژل شدگی چسب تهیه شده مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، محلول نانو ذرات آلبومین در دو غلظت ذکر شده در قسمت قبل با pH ۱/۵ و ۴/۵ تهیه شدند. همچنین، محلول های گلو تار آلدهید نیز در دو pH ۱۱ و ۸ آماده شد. سپس، محلول ها با غلظت و pH مختلف با یکدیگر ترکیب شدند تا تأثیر هر پارامتر بر مدت زمان ژل شدگی تعیین گردد. به علاوه، تأثیر کاربرد پیرو ل با نسبت های متفاوت در ترکیب چسب زیستی، بر زمان ژل شدن چسب بررسی شد. برای سنجش مدت زمان ژل شدگی، آزمون رئومتری برای محلول پروتئین و عامل شبکه ای کننده توسط دستگاه رئومتر دینامیکی (RMS, MCR 301, Anton Paar, Astoria) انجام شد.

بررسی استحکام کششی

تست استحکام کششی یکی از آزمون های متداول برای بررسی خواص مکانیکی یک چسب است. در این مطالعه، قدرت چسبندگی چسب های تهیه شده با استفاده از دستگاه یونیورسال لوید (PA, Berwyn, AMETEK Inc. USA) مجهز به سلول بار ۱۰۰ نیوتن، با سرعت ۱۰ میلی متر در دقیقه

بودن اختلافات $P \leq 0.05$ لحاظ شد. تمامی آزمایش‌ها به صورت پنج تکرار مستقل انجام شده و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ SD) ارائه گردیده است.

یافته ها

مشخصه یابی نانو ذرات آلومین

بررسی طیف های FT-IR

بررسی طیف جذب در محدوده IR برای نانو ذرات آلومین نشان می دهد که جذب عوامل مربوط به گروه های فعال سطحی پروتئینی مانند گروه های آمید نوع I و II در محدوده $1700-1600 \text{ cm}^{-1}$ و گروه آمید نوع A در محدوده $3600-3500 \text{ cm}^{-1}$ به طور کامل دیده می شود.

همچنین تمامی پیک های مربوط به پروتئین BSA در ترکیب BSA-GA دیده می شود. به علاوه، با توجه به حضور نوارهای مشخص PPy پروتون شده مانند 1541 cm^{-1} و 1458 cm^{-1} به ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی حلقه $C = C$ و $C = N$ ، باندهای جذب در 1175 cm^{-1} (C-N stretch bending)، 1041 cm^{-1} ($=C-H$ out of plan vibration)، 965 cm^{-1} ، 904 cm^{-1} (C-H out of plan deformation vibration)، 780 cm^{-1} (C-C out of plan vibrations) و 665 cm^{-1} (C-H out of plan vibrations CH) در طیف جذبی مربوط به چسب زیستی BSA-PPY-GA حضور PPy در ساختار این ترکیب تأیید می گردد (شکل ۱، الف و ب).

بررسی اندازه ذرات و پتانسیل زتا

روش پراکندگی نور دینامیکی (DLS) روشی فیزیکی، غیر مخرب و سریع است که برای تعیین توزیع اندازه ذرات مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین بار سطحی الکترواستاتیک ذرات توسط دستگاه نانو سائزر مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۱). نتایج حاصل از آنالیز DLS و پتانسیل

اندازه گیری شد. به این صورت که دو قطعه از پوست موش صحرایی جدا شد و توسط چسب های تولید شده به همدیگر چسبانده شدند. سپس تحت کشش دستگاه قرار گرفتند تا زمانی که پارگی در آن ها اتفاق بیفتد. این آزمایش برای هر دو نوع چسب BSA-GA و BSA-PPY-GA انجام شد.

بررسی سمیت سلولی چسب زیستی BSA-PPY-GA

در مقایسه با چسب زیستی BSA-GA

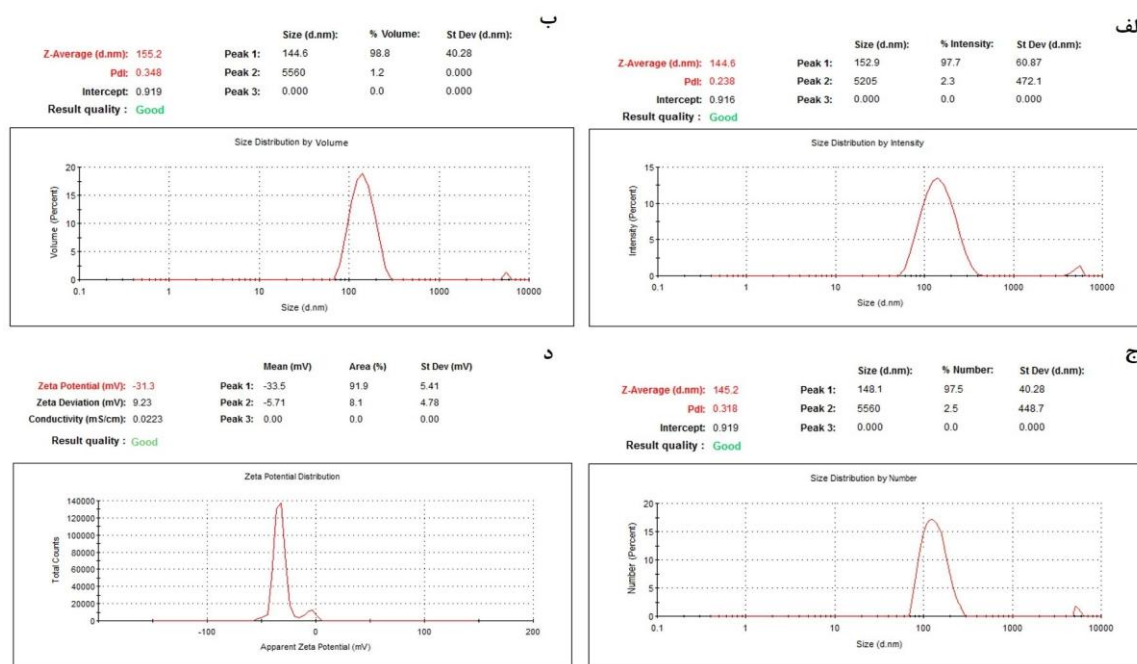
جهت بررسی اثر سمیت سلولی چسب زیستی BSA-GA-PPY و چسب زیستی BSA-GA تست MTT انجام شد. بدین منظور سلول های فیرو بلاست به مدت ۲۴ ساعت در پلیت ۹۶ خانه در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ FBS و ۱٪ پنیسیلین-استروپتومايسين در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس، ۹۵٪ رطوبت و ۵٪ کربن دی اکسید انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت، محیط کشت سلول ها با محیط کشتی که قطعات چسب های تهیه شده یا مواد تحت آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در آن غوطه ور بوده اند تعویض شد. آزمایش برای هر غلظت ۳ بار تکرار شد و سلول های کشت شده در حضور محیط کشت معمولی به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. طبق مطالعات گذشته، پس از ۲۴ ساعت، محیط کشت سلول ها تعویض و محلول MTT 5mg/mL با نسبت ۱ به ۱۰ به آن اضافه گردید و به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس انکوبه شدند. سپس محیط رویی خارج و ۲۰۰ میکرو لیتر DMSO به هر چاهک اضافه شد تا بلورهای ارغوانی فورمازان حل شوند. در انتها، جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه میکرو پلیت ریدر (Model 680; Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) قرائت شد.

آنالیز آماری

آنالیز آماری با نرم افزار GraphPad Prism8 انجام گردید و نتایج با آنالیز واریانس (ANOVA) و با آزمون مقایسه میانگین ها Tukey مورد بررسی قرار گرفت و سطح معنی دار

یکنواختی اندازه ذرات است. جزئیات این نتایج در جدول ۱ درج شده است.

زتا نشان داد که نانو ذرات تهیه شده دارای شاخص پراکندگی ذرات بسیار کوچک می‌باشند که نشان دهنده



شکل ۱: طیف‌های DLS شامل Intensity / (الف)، Volume / (ب) و Number / (ج)، همچنین پتانسیل زتای نانو ذرات آلبومین (د).

جدول ۱: مشخصات نانو ذرات آلبومین حاصل از آنالیز DLS. پتانسیل زتا، بار الکتریکی موجود در سطح نانو ذرات است که موجب پایداری نانو ذرات کلوئیدی می‌گردد. شاخص پراکندگی ذرات (PDI)، معیار ناهمگونی نمونه بر اساس اندازه است. در هر گروه مقادیر میانگین $\pm$ انحراف معیار از سنجش تعداد ۵ نمونه محاسبه شده است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شده است.

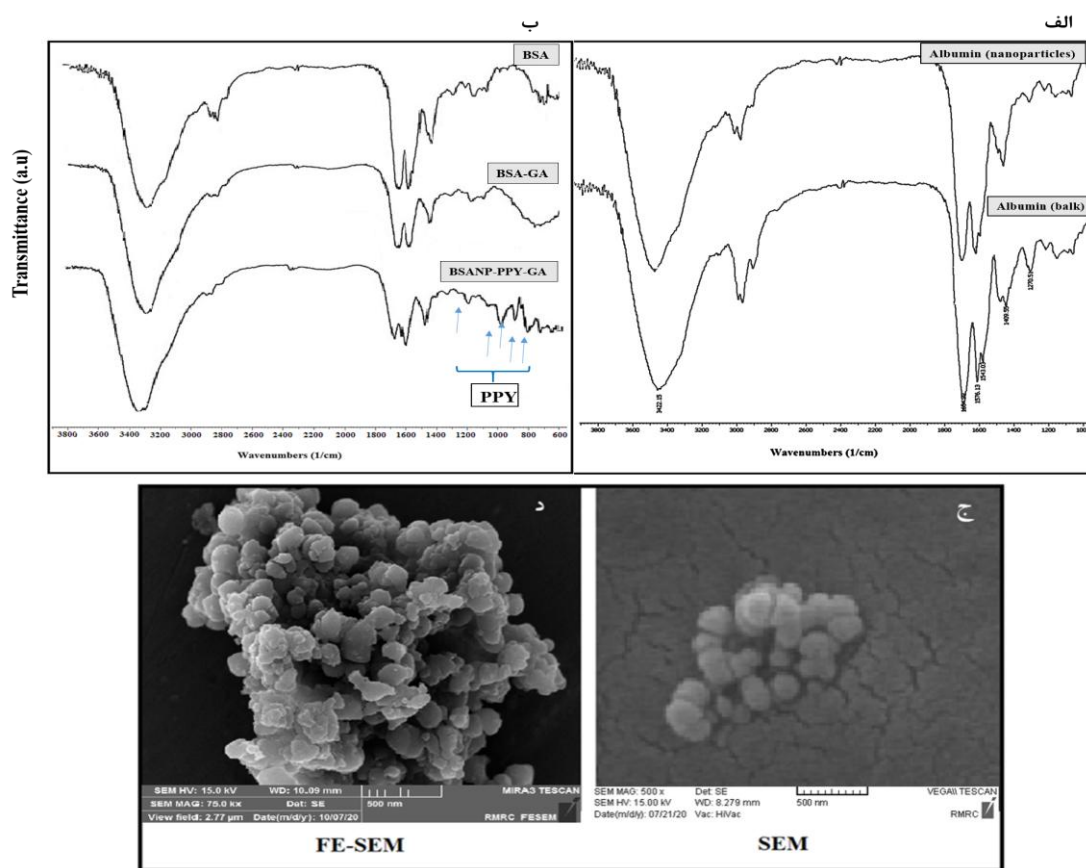
اندازه ذرات (نانومتر) (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	پتانسیل زتا mV	شاخص پراکندگی اندازه ذرات (PDI)
۱۵۳ $\pm$ ۶۰٫۸	-۳۱٫۳ $\pm$ ۹٫۲۳	۰٫۲۳ $\pm$ ۰٫۰۳۱

با نتایج حاصل از نتایج DLS بود (شکل ۲، ج و د). بررسی زمان ژل شدگی
 بررسی تأثیر pH و غلظت مواد تشکیل دهنده در زمان ژل
 شدن با عامل شبکه‌ای کننده گلو تار آلدئید؛
 نتایج بررسی مربوط به تأثیر میزان pH محلول عامل شبکه‌ای
 کننده و نانو ذرات آلبومین در مدت زمان ژل شدن نشان داد

آنالیز FE-SEM و SEM نانو ذرات آلبومین
 به منظور بررسی شکل و مشخصات سطحی نانو ذرات تولید
 شده و سایر پارامترهای مورد نظر از دستگاه SEM و FE-
 SEM استفاده شد. تصاویر حاصله نشان می‌دهد که نانو
 ذرات آلبومین به شکل کاملاً کروی سنتز شده‌اند و اندازه
 ذره‌ای آن‌ها حدود ۱۵۰ nm است. تنوع در اندازه نیز متناسب

زمان ژل شدن چسب حاصل به نصف رسید. همچنین با کاهش درصد وزنی عامل شبکه‌ای کننده‌ی گلو تار آلدئید از ۱۰٪ به ۳٪ در $pH = 8$ ، مدت زمان ژل شدن حدود دو برابر افزایش می‌یابد (جدول ۲). با توجه به اینکه محلول‌های نانو ذرات آلبومین با $pH = 1/5$ و محلول گلو تار آلدئید با $pH = 11$ مدت زمان بسیار طولانی (۱۴۰ تا ۱۶۰ ثانیه) برای ژل شدن نیاز داشتند، در ادامه مراحل از مطالعه خارج شدند.

که عامل شبکه‌ای کننده در $pH = 8$ و نانو ذرات آلبومین در $pH = 4/5$ کمترین زمان ژل شدن را از خود نشان می‌دهند. در ادامه، زمان ژل شدن با pH های به دست آمده برای درصد‌های وزنی متفاوت مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که در $pH = 4/5$ برای نانو ذرات آلبومین، زمان ژل شدن نسبت عکس با درصد وزنی این نانوذره دارد؛ به عبارت دیگر، با افزایش غلظت نانوذره از ۴۵٪ به ۵۰٪،



شکل ۲: طیف‌های FT-IR و تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانو ذرات آلبومین. در این تصویر الف) طیف FT-IR آلبومین و نانو ذرات آلبومین تهیه شده به روش انحلال زدایی، ب) طیف FT-IR نانو ذرات آلبومین، ترکیب BSA-GA و ترکیب GA-BSANP-PPY، ج) تصویر SEM از نانو ذرات آلبومین و د) تصویر FE-SEM از نانو ذرات آلبومین، مشاهده می‌گردد.

جدول ۲: تأثیر غلظت پروتئین و عامل شبکه‌ای کننده گلو تار آلدهید در مدت زمان ژل شدن. پروتئین مورد نظر در این مطالعه نانو ذرات آلبومین بوده و گلو تار آلدهید نیز به عنوان عامل شبکه‌ای کننده استفاده شده است. زمان ژل شدن، مدت زمانی است که طول می‌کشد تا مواد بعد از ترکیب با یکدیگر از حالت سیال به یک ژل کشسان تبدیل شوند. در هر گروه مقادیر میانگین $\pm$ انحراف معیار از سنجش تعداد ۵ نمونه محاسبه شده است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است.

نام ماده	درصد وزنی	pH	میانگین زمان ژل شدن
نانو ذرات آلبومین	٪۴۵	۴/۵	ثانیه 30 ± 2
گلو تار آلدهید	٪۱۰	۸	
نانو ذرات آلبومین	٪۴۵	۴/۵	ثانیه 60 ± 3
گلو تار آلدهید	٪۳	۸	
نانو ذرات آلبومین	٪۵۰	۴/۵	ثانیه 30 ± 3
گلو تار آلدهید	٪۱۰	۸	
نانو ذرات آلبومین	٪۵۰	۴/۵	ثانیه 50 ± 3
گلو تار آلدهید	٪۳	۸	

بهترین نتیجه مربوط به نسبت ۱ به ۳ پیرول به گلو تار آلدهید است که شروع ژل شدگی ۵ ثانیه و پایان ژل شدگی ۲۵ ثانیه است. نتایج حاصل نشان می‌دهند که چسب حاوی گلو تار آلدهید ٪۳ همراه پیرول به عنوان عامل شبکه‌ای کننده مدت زمان ژل شدگی کمتری نسبت به سایر درصدها دارد (جدول ۳).

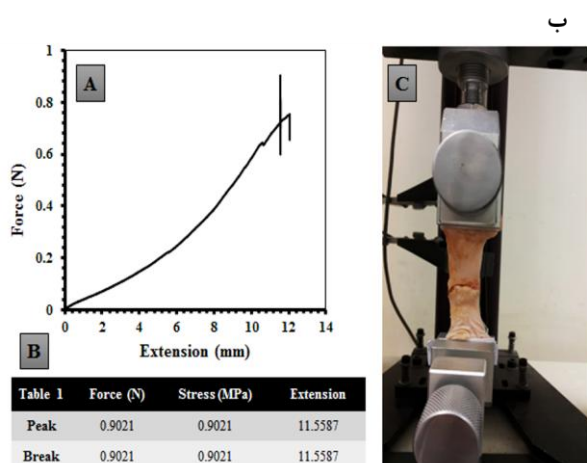
بررسی تأثیر استفاده از پلی پیرول به عنوان عامل شبکه‌ای کننده در زمان ژل شدن با هدف کاهش اثر سمیت گلو تار آلدهید، از عامل شبکه‌ای کننده پیرول در ترکیب چسب زیستی استفاده شد. نتایج نشان داد که در نسبت‌های مختلف، با افزایش نسبت پیرول به گلو تار آلدهید مدت زمان ژل شدن افزایش می‌یابد.

جدول ۳: تأثیر استفاده از پلی پیرول به عنوان عامل شبکه‌ای کننده در مدت زمان ژل شدن*. در این جدول نتایج حاصل از جایگزین کردن نسبت های مشخصی از گلو تار آلدهید با پیرول (به عنوان یک عامل شبکه‌ای کننده دیگر) ارائه شده است. تمامی آزمایش‌ها به صورت ۵ تکرار مستقل انجام شده و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است.

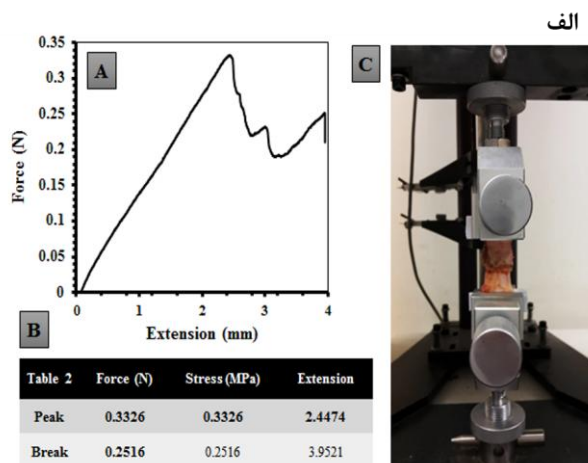
نسبت عامل های شبکه ای کننده	مدت زمان ژل شدن
گلو تار آلدهید ٪۳ و پیرول ٪۱۰ با نسبت ۳ به ۱	۱ $20 \pm$ ثانیه
گلو تار آلدهید ٪۳ و پیرول ٪۱۰ با نسبت ۲ به ۱	۳ $60 \pm$ ثانیه
گلو تار آلدهید ٪۳ و پیرول ٪۱۰ با نسبت ۱ به ۱	۵ $90 \pm$ ثانیه

* در تمام تست ها، از محلول نانو ذرات آلبومین با غلظت ۵۰٪ و pH برابر با ۴/۵ استفاده شده است.

دست آمده، میزان قدرت چسبندگی برای چسب زیستی BSA-PPY-GA حدود سه برابر چسب زیستی BSA-GA است.



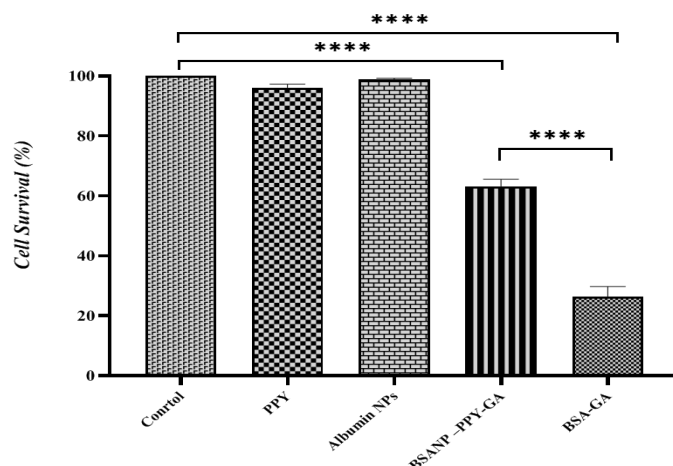
بررسی استحکام کششی
نتایج حاصل از آنالیز کشش مربوط به بررسی قدرت چسبندگی چسب زیستی BSA-GA (الف) و چسب زیستی BSA-PPY-GA (ب) را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به



شکل ۳: بررسی استحکام کششی. در این تصویر الف) قدرت چسبندگی و استحکام کششی چسب BSA-GA و ب) قدرت چسبندگی و استحکام کششی چسب BSA-PPY-GA نشان داده شده است.

گلو تار آلدئید به ترکیب باعث کاهش معنی دار زنده‌مانی سلول‌ها به ترتیب در حضور چسب زیستی BSA-PPY-GA ($P < 0.0001$) و چسب زیستی BSA-GA ($P < 0.001$) نسبت به گروه کنترل شد (شکل ۴). بعلاوه، این نتایج نشان داد که با کاهش میزان گلو تار آلدئید از ۱۰٪ در BSA-GA به ۳٪ در BSA-PPY-GA، میزان بقای سلول‌ها نیز به شکل معنی‌داری افزایش می‌یابد ($P < 0.001$).

بررسی سمیت سلولی چسب زیستی BSA-PPY-GA —BSANP در مقایسه با چسب زیستی BSA-GA جهت بررسی میزان سمیت سلولی چسب‌های زیستی BSA-PPY و BSA-GA، از رده سلولی فیرو بلاست انسانی استفاده شد. نتایج MTT نشان داد که میزان زنده‌مانی سلول‌ها در حضور نانو ذرات آلبومین یا پلی‌پیرول تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل ندارد. همچنین، افزودن



شکل ۴. درصد بقای سلول‌های فیبروبلاست در گروه‌های مختلف مطالعه. گروه کنترل: فیبروبلاست‌های کشت شده در حضور محیط کشت فاقد چسب، گروه PPY: فیبروبلاست‌های کشت شده در محیط حاوی پلی‌پیرول، Albumin NPs: فیبروبلاست‌های کشت شده در محیط حاوی نانوذرات آلبومین، گروه BSA-PPY-GA: فیبروبلاست‌های کشت شده در محیط حاوی چسب BSA-PPY-GA، گروه BSA-GA: فیبروبلاست‌های کشت شده در محیط حاوی چسب BSA-GA. درصد بقای سلولی با روش MTT محاسبه شده است. در تمام گروه‌ها، آزمایش‌ها به صورت ۵ تکرار مستقل انجام شده و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه گردیده است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. ****: $P < 0.0001$

بحث

امروزه چسب‌های بافتی به طور فزاینده‌ای در زمینه‌های مختلف بالینی از جمله بستن زخم و ترمیم آن، تحویل دارو، کاشت ابزارهای پزشکی، مهندسی بافت و کاربردهای دندانپزشکی و استخوانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. چسب‌ها و سیلان‌های بافتی در شرایطی که سایر تکنیک‌ها مانند بخیه غیرعملی یا بی‌اثر هستند، اهمیت بیشتری پیدا می‌کنند (۲۹). سهولت تهیه، زیست سازگاری و غیر سمی بودن، سرعت مناسب ژل شدن، در شرایط فیزیولوژیک برای به حداقل رساندن میزان خونریزی و قدرت چسبندگی بالا در مدت زمان مورد نیاز برای ترمیم زخم از مهم‌ترین ویژگی‌های یک چسب زیستی ایده‌آل می‌باشند (۳۰). در این مطالعه، برای کاهش سمیت چسب زیستی غلظت گلوکارآلدئید کاهش یافت و برای افزایش سرعت فرایند ژل شدن، از پلی‌پیرول که سمیت بسیار کمتری نسبت به گلوکارآلدئید دارد به عنوان کراس‌لینکر استفاده شد. ساختارهای هیدروژلی حاوی پلی‌پیرول به دلیل قابلیت ارتجاعی قابل کنترل،

محتوای آب بالا، زیست سازگاری، رسانایی خوب و خصوصیات ویژه سطح که ظرفیت ذخیره‌سازی بار الکتریکی بالایی را ممکن می‌سازد، کاندیدهای مناسبی برای کاربردهای زیست پزشکی هستند (۲۰). از معایب هیدروژل‌های حاوی پلی‌پیرول، خصوصیات مکانیکی ضعیف آن است. روش‌های مختلفی برای بهبود خواص مکانیکی این نوع هیدروژل‌ها مورد استفاده قرار گرفته است که یکی از این روش‌ها، ترکیب آن‌ها با نانوساختارهای دارای شکل‌ها و ابعاد مشخص است (۳۱). همچنین، استفاده از هیدروژل‌های نانوکامپوزیتی روش دیگری برای بهبود خواص مکانیکی است. این ژل‌ها شبکه‌های پلیمری کراس-لینک شده با نانو ساختارها هستند که در مقایسه با ساختارهای غیر نانو، خاصیت ارتجاعی و استحکام بیشتری به هیدروژل می‌دهد (۳۲). در این مطالعه نیز با توجه به تأثیر نانو ذرات در بهبود خواص بیولوژیکی و بیومکانیکی کامپوزیت‌ها، به جای آلبومین از نانو ذرات آلبومین استفاده گردید. نمودارهای حاصل از آنالیز اندازه ذرات نشان می-

بالا تر دارد. در pH برابر ۸، مکانیسم‌های پیوند متقابل رقابتی احتمالاً درجه پلیمریزاسیون گلو تار آلد هید را کاهش می‌دهند تا زمانی که در مجاورت پروتئین قرار گیرد. مدت زمان ژل شدگی در مقادیر pH بسیار بالا و بسیار پایین افزایش می‌یابد، به همین دلیل بهترین مقدار pH بین ۷ تا ۹ است (۳۶).

آلبومین به دلیل نقطه ایزوالکتریک (pI) حدود ۵، در pH فیزیولوژیک دارای بار خالص منفی است (۳۷). این پروتئین دارای گروه‌های عاملی قابل یونیزه شدن متعددی است به عنوان مثال، گروه آمینو و کربوکسیل انتهایی و زنجیره‌ی جانبی قابل یونیزاسیون است. در PH اسیدی و خیلی پایین، کربوکسیل انتهایی زنجیره‌ها به صورت پروتونه COOH هستند؛ و گروه‌های آمین انتهایی زنجیره‌های جانبی به صورت NH_3^+ هستند، در نتیجه بار خالص پروتئین مثبت است و زمانی که آلبومین در مجاورت کراس‌لینکر قرار می‌گیرد به تعادل رسیده و واکنش بین آن‌ها شکل می‌گیرد که منجر به تشکیل چسب زیستی می‌گردد (۳۶).

پلی‌پیرول یک پلیمر رسانا با بار مثبت است که توانایی ترکیب با ماکرومولکول‌های آنیونی را دارا است (۱۹)؛ بنابراین، انتظار می‌رود به عنوان عامل شبکه‌ای کننده یک پیوند قوی بین گروه‌های عاملی آمینواسیدهای سطح بافت و گروه‌های عاملی فعال سطح آلبومین ایجاد کند. همان‌طور که نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، ایجاد این پیوندهای مولکولی قوی موجب افزایش قدرت چسبندگی و استحکام کششی چسب تولید شده در مقایسه با چسب فاقد پلی‌پیرول گردیده است. از طرف دیگر، پلی‌پیرول یک پلیمر زیست سازگار است (۲۶ و ۲۰) که می‌تواند در فرایند تولید و سنتز چسب زیستی به عنوان جایگزین گلو تار آلد هید به کار رود. بر این اساس، پلی‌پیرول با هدف کاهش سمیت و افزایش قدرت چسبندگی ترکیب نهایی جایگزین نسبت‌های مشخصی از گلو تار آلد هید شد. از طرف دیگر، با توجه به ظرفیت بالای بار سطحی پیرول، حضور این ماده در ترکیب

دهند که طیف اندازه نانو ذرات نسبتاً یکنواخت است. در این نمودارها دو پیک مشاهده می‌شود؛ پیک اول متعلق به حدود ۹۸ درصد از ذرات است که میانگین اندازه آن‌ها کمتر از ۱۶۰ نانومتر است و پیک دوم مربوط به حدود ۲ درصد از ذرات است که دارای اندازه ذرات بیش از یک میکرون می‌باشند. از آنجایی که مقدار این ذرات در مقایسه با مقدار ذرات پیک اول بسیار کم است؛ لذا تداخلی در ویژگی‌های مورد انتظار چسب ساخته شده ایجاد نکرده است.

تشابه نتایج مربوط به طیف جذبی FT-IR در نانو ذرات آلبومین و آلبومین که بیانگر فعال بودن یکسان گروه‌های مختلف سطح هر دو ماده است، نشان می‌دهند که هر دو ترکیب ساختار یکسانی داشته و فرایند تولید نانو ذره تأثیر مخربی بر ساختار آلبومین نداشته است.

مدت زمان لازم برای ژل شدن یک چسب زیستی یکی از ویژگی‌های اساسی آن به شمار می‌رود؛ زیرا این زمان از یک طرف باید به حد کافی کوتاه باشد تا با بستن زخم موجب توقف خونریزی در کوتاه‌ترین زمان ممکن گردد و از طرف دیگر زمان کافی برای دستکاری و تثبیت وضعیت بافت قبل از سخت شدن چسب در اختیار جراح قرار دهد (۳۳). این زمان به عوامل مختلفی از قبیل نوع پلیمرهای استفاده شده در ساختار چسب، کراس‌لینک کردن فیزیکی یا شیمیایی پلیمرها، تغییرات pH و دمای محیط بستگی دارد (۳۴). مطالعات مختلفی اثر pH بر مدت زمان ژل شدن پلیمرهای مختلف را بررسی کرده‌اند. نتایج این مطالعات نشان می‌دهند که pH اولیه اثر تعیین کننده‌ای بر مدت زمان ژل شدگی دارد (۳۵). در مطالعه حاضر، بررسی pH های مختلف بر سرعت ژل شدگی نشان داد که محلول پروتئینی (نانو ذرات آلبومین) با $pH=4/5$ و محلول کراس‌لینکر با $pH=8$ بهترین زمان ژل شدگی را ایجاد می‌کنند. به طور کلی، یک محلول عامل کراس‌لینکر اسیدی‌تر، زمان ژل شدگی طولانی‌تری نسبت به محلول کراس‌لینکر مشابه با pH

سلول‌های فیبروبلاست بودند. کاهش مقدار گلو تار آلد هید و جایگزین نمودن آن با پلی پیرول در چسب تهیه شده، موجب افزایش بقای سلول‌ها نسبت به چسب BioGlue شده است؛ بنابراین، چسب زیستی BSANP-PPY-GA تولید شده در مطالعه حاضر با اثر سمیت کاهش یافته به دلیل محتوای کمتر گلو تار آلد هید، قدرت چسبندگی قابل توجه و خواص رئولوژیک مناسب (زمان ژل شدن کوتاه‌تر نسبت به چسب BioGlue)، این قابلیت را دارد که جایگزین چسب‌های موجود در بازار گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران (Iran National Science Foundation: INSF) در قالب طرح شماره ۹۷۰۰۷۴۹۷، موسسه ملی توسعه تحقیقات علوم پزشکی کشور (نیماد) در قالب طرح شماره ۹۶۳۹۵۱ و دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با کد اخلاق IR.SBMU.MSP.REC.1397. 750 به انجام رسیده است. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه‌ها، تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

نهایی چسب زیستی باعث افزایش سرعت پلیمریزاسیون و کاهش قابل ملاحظه مدت زمان ژل شدگی چسب شد. یک چسب بافتی مناسب، علاوه بر قدرت چسبندگی بالا دارای کمترین میزان سمیت سلولی و بافتی است. اغلب چسب‌های بافتی موجود فاقد ویژگی‌های ضروری یک چسب ایده‌آل هستند. چسب‌های بافتی مورد استفاده بالینی نسبت به پارگی آسیب‌پذیر هستند؛ بنابراین نمی‌توانند مستقل از بخیه‌ها و منگنه‌ها مورد استفاده قرار گیرند (۳۸). در بین انواع چسب‌ها، چسب‌های مبتنی بر سیانواکریلات دارای بهترین قدرت چسبندگی و استحکام کششی هستند؛ اما اثرات سمی شدیدی بر سطح بافت ایجاد می‌کنند و بر این اساس دارای محدودیت استفاده بالینی هستند (۳۹). BioGlue® یکی از چسب‌هایی است که دارای کاربردهای متعدد بالینی است و از استحکام مناسبی برخوردار است. تخریب این چسب باعث آزاد شدن محصولات جانبی سیتوتوکسیک و هیستوتوکسیک از جمله گلو تار آلد هید می‌شود که موجب بروز عوارض جانبی مختلفی مثل التهاب و واکنش‌های آلرژیک در بیمار می‌گردد (۴۰). نتایج تست سمیت سلولی در این مطالعه نشان داد که تنها عامل سیتوتوکسیک موجود در ترکیب تولید شده، گلو تار آلد هید است؛ زیرا نانو ذرات آلبومین و پلی پیرول فاقد اثر سمی بر

References

- 1.Fanali G, Di Masi A, Trezza V, Marino M, Fasano M, Ascenzi P. Human serum albumin: from bench to bedside. Mol. Aspects Med.. 2012;33(3):209-90.
- 2.Ong J, Zhao J, Justin AW, Markaki AE. Albumin-based hydrogels for regenerative engineering and cell transplantation. Biotechnol. Bioeng. 2019;116(12):3457-68.
- 3.Hassanin I, Elzoghby A. Albumin-based nanoparticles: a promising strategy to overcome cancer drug resistance. CDR. 2020;3(4):930-46.
- 4.An F-F, Zhang X-H. Strategies for preparing albumin-based nanoparticles for multifunctional bioimaging and drug delivery. Theranostics. 2017;7(15):3667.
- 5.Zhang Y, Pan J, Li H, Yu D, Wu T, Wang L, et al. Albumin based nanomedicine for enhancing tacrolimus safety and lymphatic targeting efficiency. JBN. 2019;15(6):1313-24.
- 6.Zhao K, Li D, Shi C, Ma X, Rong G, Kang H, et al. Biodegradable polymeric nanoparticles as the delivery carrier for drug. Curr. Drug Deliv.. 2016;13(4):494-9.
- 7.Tottoli EM, Dorati R, Genta I, Chiesa E, Pisani S, Conti B. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. Pharmaceutics. 2020;12(8):735.

8. Ge L, Chen S. Recent advances in tissue adhesives for clinical medicine. *Polymers*. 2020;12(4):939.
9. Ghobril C, Grinstaff M. The chemistry and engineering of polymeric hydrogel adhesives for wound closure: a tutorial. *Chem. Soc. Rev.* 2015;44(7):1820-35.
10. Nomori H, Horio H, Morinaga S, Suemasu K. Gelatin-resorcinol-formaldehyde-glutaraldehyde glue for sealing pulmonary air leaks during thoracoscopic operation. *Ann. Thorac. Surg.* 1999;67(1):212-6.
11. Bhamidipati CM, Coselli JS, LeMaire SA. BioGlue® in 2011: what is its role in cardiac surgery? *JECT*. 2012;44(1):P6.
12. Panda A, Kumar S, Kumar A, Bansal R, Bhartiya S. Fibrin glue in ophthalmology. *Indian J. Ophthalmol.* 2009;57(5):371.
13. Kram H, Nathan R, Mackabee J, Klein S, Shoemaker W. Clinical use of nonautologous fibrin glue. *Am Surg.* 1988;54(9):570-3.
14. Kumar A, Maartens NF, Kaye AH. Evaluation of the use of BioGlue® in neurosurgical procedures. *J. Clin. Neurosci.* 2003;10(6):661-4.
15. Tsilimigras DI, Antonopoulou A, Ntanasis-Stathopoulos I, Patrini D, Papagiannopoulos K, Lawrence D, et al. The role of BioGlue in thoracic surgery: a systematic review. *JTD*. 2017;9(3):568.
16. Jordan M, Schmitt V, Dannigkeit S, Schmidt K, Meffert R, Hoelscher-Doht S. Surgical adhesive BioGlue™ does not benefit tendon repair strength: an ex vivo study. *JHS. (European Volume)*. 2015;40(7):700-4.
17. Herget G, Riede U, Kassa M, Brethner L, Hasse J. Experimental use of an albumin-glutaraldehyde tissue adhesive for sealing tracheal anastomoses. *JCS*. 2003;44(1):109.
18. Scognamiglio F, Travan A, Rustighi I, Tarchi P, Palmisano S, Marsich E, et al. Adhesive and sealant interfaces for general surgery applications. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Applied Biomaterials*. 2016;104(3):626-39.
19. Ateh D, Navsaria H, Vadgama P. Polypyrrole-based conducting polymers and interactions with biological tissues. *J R Soc Interface*. 2006;3(11):745-51.
20. Chalmers E, Lee H, Zhu C, Liu X. Increasing the conductivity and adhesion of polypyrrole hydrogels with electropolymerized polydopamine. *Chem. Mater.* 2019;32(1):234-44.
21. Manzari-Tavakoli A, Tarasi R, Sedghi R, Moghimi A, Niknejad H. Fabrication of nanochitosan incorporated polypyrrole/alginate conducting scaffold for neural tissue engineering. *Sci. Rep.* 2020;10(1):1-10.
22. Niknejad H, Khayat-Khoei M, Peirovi H. Inhibition of MMPs might increase anticancer properties of amniotic epithelial cells. *Med. Hypotheses*. 2012;78(5):690-1.
23. Niknejad H, Deihim T, Ahmadiani A, Jorjani M, Peirovi H. Permanent expression of midbrain dopaminergic neurons traits in differentiated amniotic epithelial cells. *Neurosci. Lett.* 2019;612(1):50-54.
24. Cui Z, Ni NC, Wu J, Du G-Q, He S, Yau TM, et al. Polypyrrole-chitosan conductive biomaterial synchronizes cardiomyocyte contraction and improves myocardial electrical impulse propagation. *Theranostics*. 2018;8(10):2752.
25. Bu Y, Xu H-X, Li X, Xu W-J, Yin Y-x, Dai H-l, et al. A conductive sodium alginate and carboxymethyl chitosan hydrogel doped with polypyrrole for peripheral nerve regeneration. *RSC advances*. 2018;8(20):10806-17.
26. Maruthapandi M, Gedanken A. A short report on the polymerization of pyrrole and its copolymers by sonochemical synthesis of fluorescent carbon dots. *Polymers*. 2019;11(8):1240.

- 27.Hasan A, Morshed M, Memic A, Hassan S, Webster TJ, Marei HE-S. Nanoparticles in tissue engineering: applications, challenges and prospects. *Int. J. Nanomedicine*. 2018;13:5637.
- 28.Wang G, Siggers K, Zhang S, Jiang H, Xu Z, Zernicke RF, et al. Preparation of BMP-2 containing bovine serum albumin (BSA) nanoparticles stabilized by polymer coating. *Pharm. Res*. 2008;25(12):2896-909.
- 29.Mehdizadeh M, Yang J. Design strategies and applications of tissue bioadhesives. *Macromol. Biosci*. 2013;13(3):271-88.
- 30.Jain R, Wairkar S. Recent developments and clinical applications of surgical glues: An overview. *Int. J. Biol. Macromol*. 2019;137:95-106.
- 31.Yang Q, editor Recent developments of nanotechnology in tissue adhesives. IOP Conference Series: Environ. Earth Sci.; 2021: IOP Publishing.
- 32.Fuchs S, Shariati K ,Ma M. Specialty tough hydrogels and their biomedical applications. *Adv. Healthc. Mater*. 2020;9(2):1901396.
- 33.Pourshahrestani S, Zeimaran E, Kadri NA, Mutlu N, Boccaccini AR. Polymeric hydrogel systems as emerging biomaterial platforms to enable hemostasis and wound healing. *Adv. Healthc. Mater*. 2020;9(20):2000905.
- 34.Zahir-Jouzani F, Wolf JD, Atyabi F, Bernkop-Schnürch A. In situ gelling and mucoadhesive polymers: why do they need each other? *Expert Opin Drug Deliv*. 2018^{۱۹},۱۰۰۷:(۱۰)^{۱۵};
- 35.Salehi MB, Sefti MV, Moghadam AM, Koochi AD. Study of salinity and pH effects on gelation time of a polymer gel using central composite design method. *J. Macromol. Sci. Phys. Part B*. 2012;51(3):438-51.
- 36.Johan Lowinger BL ,Frank DeLustro, David Cox, David A. Browdie,, inventor. TISSUE ADHESIVE SEALANT. USA2012.
- 37.Medda L, Monduzzi M, Salis A. The molecular motion of bovine serum albumin under physiological conditions is ion specific. *ChemComm*. 2015;51(30):666۶,-۳
- 38.Ma Z, Bao G, Li J. Multifaceted Design and Emerging Applications of Tissue Adhesives. *Adv. Mater*. 2021:2007663.
- 39.Dastjerdi AK, Pagano M, Kaartinen M, McKee M, Barthelat F. Cohesive behavior of soft biological adhesives: experiments and modeling. *Acta Biomater*. 2012;8(9):3349-59.
- 40.Miyagi T, Ishimine T, Nakazato J, Taniguchi N, Yagi N, Takahashi T, et al. Coronary Artery Embolism Caused by BioGlue Surgical Adhesive After Type A Acute Aortic Dissection Repair. *JACC Case Rep*. 2021;3.۷-۵۳:(۱)