

واژه‌های کلیدی:

خون،
انعقاد خون،
پلیمر،
خون‌سازی،
سنجش خون‌سازی

بررسی فرایند انعقاد خون بر روی زیست‌پلیمرها و مروری بر روش‌های سنجش خون‌سازی آنها

رحیم دهقان^۱، جلال برزین^{۱*}، سید حسین ابطحیان^۲، بهنام دارابی^۳، حمیدرضا قادری^۴

۱- تهران، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، پژوهشکده علوم، گروه پلیمرهای زیست‌سازگار

۲- تهران، کلینیک درمانی پاسارگاد، نورآباد ممسنی

۳- شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پیراپزشکی

۴- فسا، دانشگاه علوم پزشکی فسا، دانشکده فناوری‌های نوین، گروه مهندسی بافت

چکیده ...

در سال‌های اخیر استفاده از زیست‌پلیمرها در صنعت مهندسی پزشکی به شکل قابل توجهی گسترش پیدا کرده است، که از این دسته می‌توان به دریچه‌های مصنوعی قلب، کاتتر، داربست‌های قلبی و عروقی، رگ مصنوعی، پوشش دستگاه ضربان‌ساز، غشای دستگاه همودیالیز و ... اشاره کرد. خون‌سازی از ضروریات زیست‌پلیمرها در کاربردهای پزشکی محسوب می‌شود. آگاهی از برهم‌کنش‌های خون و پلیمر در توسعه و ساخت پلیمری خون‌سازگار اهمیت فراوانی دارد. موارد متعددی می‌تواند خون‌سازی زیست‌پلیمر را تحت تأثیر قرار دهد. خواص سطحی از قبیل آب‌دوستی، انرژی سطح و بار الکترواستاتیک از مهم‌ترین عوامل در کنترل خون‌سازی محسوب می‌شوند. در این تحقیق ضمن بررسی فرایند انعقاد خون بر روی زیست‌پلیمرها، به بررسی روش‌های سنجش خون‌سازی بر روی آن‌ها پرداخته شده است. این روش‌ها عبارتند از: چسبندگی پروتئین که اولین مرحله در شروع فرایند انعقاد خون به حساب می‌آید، بررسی فعالیت پروتئین کالیکرئین که مسیر داخلی انعقاد خون را شامل می‌شود، زمان‌های انعقادی شامل زمان ترومبین (TT)، زمان پروترومبین (PT)، زمان نسبی ترومبوپلاستین فعال شده (APTT) که مسیرهای خارجی، داخلی و مشترک انعقاد، میزان همولیز گلبول‌های قرمز، چسبندگی سلولی و بررسی میکروسکوپی آن‌ها و چسبندگی و فعالیت پلاکت‌ها را مورد بررسی قرار می‌دهند. تغییر مورفولوژی پلاکت‌ها از دیگر معیارهای شاخص سنجش خون‌سازی به‌شمار می‌آیند که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است. در نهایت پلیمر خون‌سازگار بایستی از همه آزمون‌های بیان‌شده با موفقیت عبور کند.

*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:

J.Barzin@ippi.ac.ir

۱ مقدمه

قرمز (Erythrocyte)، سلول‌های سفید (Leucocyte) و پلاکت‌ها (Thrombocyte) تشکیل می‌دهند که ۴۵ درصد حجمی خون را شامل می‌شوند. در بین سلول‌های خونی، سلول‌های قرمز بیش از ۹۹ درصد از کل سلول‌ها را تشکیل می‌دهند و نقش اصلی آن‌ها رساندن اکسیژن از ریه به سمت بافت‌های بدن و بازگرداندن دی‌اکسیدکربن از بافت‌ها به سمت ریه است. در واقع این وظیفه توسط هموگلوبین موجود در سلول قرمز انجام می‌پذیرد. نقش سلول‌های سفید خون دفاع از بدن در برابر پاتوژن‌های حمله‌کننده به بدن است. تعداد سلول‌های سفید بسیار کمتر از سلول‌های قرمز است، اما تعداد آن‌ها در مواجهه بدن با بیماری‌ها و عفونت‌ها در خون زیاد می‌شود. سلول‌های سفید به دو دسته گرانوله‌ها و غیرگرانوله‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند. گرانوله‌ها شامل نوتروفیل‌ها، زینوفیل‌ها و بازوفیل‌ها بوده و غیرگرانوله‌ها مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها را شامل می‌شود. نقش پلاکت‌ها، انعقاد خون و جلوگیری از خون‌ریزی در بدن بوده که با فعال شدن و تجمع در کنار همدیگر نقش آفرینی می‌کنند. بخش مایع خون که پلاسما نام دارد شامل بیش از ۹۲ درصد آب و مابقی آن انواع پروتئین‌ها و املاح معدنی وجود دارند. از پروتئین‌های مهم پلاسما می‌توان به آلبومین، گلوبولین‌ها، فاکتورهای انعقادی و فیبرینوژن اشاره کرد. از طرف دیگر پلاسما که حاوی بیش از ۹۲ درصد آب است فشار خون مورد نیاز بدن را تأمین کرده، تنظیم‌کننده دمای بدن نیز است [۱۲].

۳ انعقاد خون

خون‌سازگاری زیست‌پلیمرها از اهمیت بسزایی برخوردار است. عدم خون‌سازگاری پلیمر مشکلات جبران‌ناپذیری را برای بیمار ایجاد می‌کند. که در نهایت می‌تواند سبب امبولی و مرگ بیمار شود [۱۲ و ۱۳]. شکل ۱ دو زیست‌پلیمر از جنس پلی‌اتیلن‌ترفتالات را نشان می‌دهد. همان‌گونه که از تصویر مشخص است پلیمر پس از یک ماه کاشت در بدن بیمار دچار ترومبوز (لختگی) شدید شده که به وضوح نشانگر عدم خون‌سازگاری این پلیمر است [۱۴].

فرایند انعقاد خون بر روی جراحی از طریق مجموعه‌ای از واکنش‌های پیچیده انواعی از آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و یون‌ها انجام می‌شود. ابتدای این امر با حضور فاکتور بافتی که سبب فعال شدن مسیر خارجی انعقاد می‌شود آغاز می‌شود. مرحله دوم تماس با سطح غیراندوتلیالی مثل کلاژن و در ادامه فعال شدن مسیر داخلی انعقاد خون است. در هر دو مورد مسیرهای داخلی و خارجی تبدیل زیموژن‌های (Zymogen) غیرفعال به آنزیم‌های پروتئولیتیک بر مبنای الگوی پشت سر هم که در نهایت

مواد خون‌سازگار زیست‌موادی هستند که در کاربردهای در تماس با خون بدون هیچ‌گونه ایجاد خطری که منجر به فعال شدن سامانه انعقاد خون شود نقش آفرینی می‌کنند. خون‌سازگاری نیازی اساسی برای بسیاری از مواد مصنوعی مورد استفاده در کاربردهای پزشکی محسوب می‌شود. کاربردهای زیست‌مواد در تماس با خون بسیار زیاد است که از آن‌ها می‌توان به کاشتنی‌ها و وسایل پزشکی قلبی و عروقی از جمله، کاتتر، داربست‌ها، دریچه‌های مصنوعی قلب، پیوندهای رگ، دستگاه ضربان‌ساز، [۱-۳] و حتی از دستگاه‌هایی که در دسته مراقبت‌های خارج از بدنی (Extracorporeal) محسوب می‌شوند مانند صافی‌های جداساز سموم خون در فرایند همودیالیز [۴ و ۵]، صافی‌های جداساز سلول‌های سفید از خون [۶ و ۷] و دستگاه بای پس قلب-ریه نام برد [۸]. فرایند تشکیل لخته بر روی مواد مصنوعی پیچیده است. زمانی که زیست‌پلیمری در تماس با خون قرار می‌گیرد، به سرعت سطح آن با لایه‌ای از پروتئین پوشیده می‌شود. پلاکت‌ها بر روی پروتئین‌های سطحی می‌چسبند و سپس فعال شده و بر روی سطح تجمع می‌کنند و از طرفی با تشکیل رشته فیبرین (Fibrin)، لخته خون ایجاد می‌شود [۹]. بنابراین برهم‌کنش پلیمر-خون به شکل قابل توجهی به خواص شیمیایی و فیزیکی سطح ماده بستگی دارد و به همین دلیل است که عموماً روش اصلاح سطح از محبوب‌ترین روش‌ها برای بهبود خون‌سازگاری محسوب می‌شود [۱۰]. رویکردهایی که عموماً برای بهبود خون‌سازگاری استفاده می‌شود شامل ۱- اصلاح سطح پلیمر با مواد سنتزی به منظور جلوگیری از برهم‌کنش خون و سطح پلیمر به خصوص جلوگیری از جذب پروتئین‌های غیرخاص مانند اصلاح پلیمر با مواد آب‌دوست و موادی همچون زویتریون‌ها که از مواد اثر بخش در جلوگیری از چسبندگی پروتئین هستند. ۲- اصلاح پلیمر با مولکول‌های زیست‌فعال مانند ضدلخته‌ها، مهارکننده‌های پلاکت و عوامل فیبرینولیتیک و تقلید از اندوتلیوم عروق به عنوان ضدلخته‌ای ذاتی [۱۱].

در این مطالعه سعی بر آن بوده که پس از مطرح کردن مبحث انعقاد خون و آسیب‌شناسی انعقاد خون بر روی زیست‌پلیمرها، روش‌های بررسی خون‌سازگاری که برای محقق از نظر ارزیابی خون‌سازگاری از اهمیت بالایی برخوردار است، مورد بررسی قرار گیرد.

۲ خون

خون بافت زنده‌ای است که از دو بخش جامد و مایع تشکیل شده است، بخش جامد را سلول‌های خون متشکل از سلول‌های

XI (ترومبوپلاستین) می‌شود. فعال شدن اولیه فاکتور هاگمن به دلیل حضور یک یا چند کوفاکتور و نیز سطح غیراندوتلیالی شامل کلاژن و سطح زیست‌مواد است. کوفاکتورها در واقع پریکالیکترین (PK) و کینینوژن با وزن مولکولی بالا (HMWK) هستند. ضمن این‌که خود فاکتور هاگمن فعال‌شده، سبب آب‌کافت پریکالیکترین‌های بیشتر و تولید کینینوژن‌های بیشتر و خودکاتالیز شدن این فرایند می‌شود (شکل ۲). همچنین در این مرحله رهایش برادی کینین به‌عنوان عامل اتساع‌کننده عروق انجام می‌پذیرد [۱۲ و ۱۳].

۲-۳ مسیر خارجی انعقاد خون

شروع مسیر خارجی انعقاد، فعالیت نسبتاً مستقیم است. فاکتور بافتی گلیکوپروتئین خنثایی از نظر آنزیمی است که بر روی سطح سلول‌های زیادی موجود بوده اما در پروتئین‌های پلاسما وجود ندارد. زمانی که بافتی آسیب می‌بیند، این فاکتور به داخل خون رهایش شده و با فاکتور VII (پروکانورتین) برهم‌کنش کرده، در مجموع سبب فعال شدن فاکتور X می‌شوند (شکل ۲) [۱۲ و ۱۳].

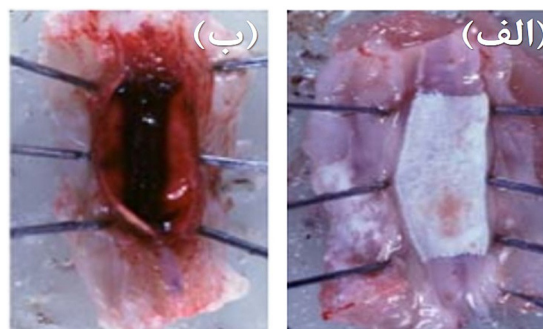
۳-۳ مسیر مشترک انعقاد خون

مسیر مشترک هر دو مسیر داخلی و خارجی در نهایت سبب فعال شدن فاکتور X می‌شود که به آن Xa می‌گویند. در ادامه فاکتور Xa باعث فعال شدن پروترومبین (فاکتور II) و سپس تولید ترومبین می‌شود. ترومبین ایجاد شده در ادامه سبب تبدیل فیبرینوژن (Fibrinogen) به فیبرین خواهد شد. همچنین ترومبین تولیدی در تماس با پلاکت‌ها، سبب فعال شدن آن‌ها از طریق تغییر در مورفولوژی، چسبیدن آن‌ها به هم و رهایش ماده داخل آن‌ها می‌شود و نیازمند تشکیل کمپلکس پروترومبیناز است [۱۵].

۴ روش‌های سنجش خون‌سازگاری پلیمرها

۴-۱ جذب سطحی پروتئین

با توجه به این‌که چسبندگی پروتئین بر روی سطح پلیمر اولین اتفاق پس از تماس پلیمر با خون است، لذا مقدار پروتئین‌های چسبیده به سطح پلیمر موضوعی است که در سنجش خون‌سازگاری هر زیست‌پلیمری همواره مورد توجه است. چسبندگی پروتئین می‌تواند سبب فعال شدن آبشار انعقادی و فعال شدن پی در پی فاکتورهای انعقاد و در نهایت تشکیل لخته شود. پروتئین آلبومین که پرتعدادترین پروتئین خون بوده و فیبرینوژن که فاکتور اول انعقاد است، دو پروتئین رایج در ارزیابی خون‌سازگاری پلیمرها هستند [۱۶]. اغلب برای بررسی میزان چسبندگی پروتئین آلبومین از طیف‌نگاری UV در طول

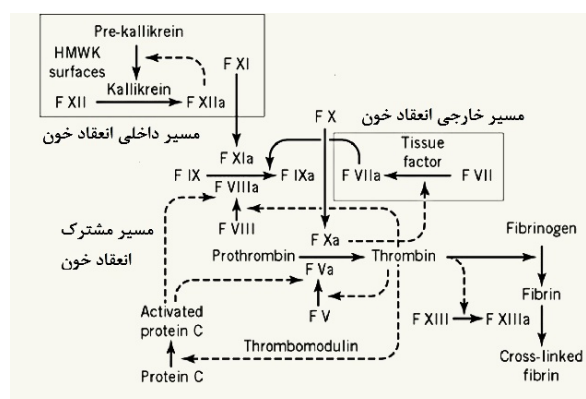


شکل ۱ تشکیل لخته خون بر روی پلیمر از جنس پلی‌اتیلن ترفتالات (PET)؛ (الف) قبل از کاشت، (ب) پس از کاشت یک‌ماهه و تشکیل لخته بر روی آن [۱۴].

منجر به فعال شدن پروترومبین (فاکتور دوم انعقاد) می‌شود، انجام می‌پذیرد. پروترومبین فعال شده سبب پلیمری شدن پروتئین فیبرینوژن و تبدیل آن به رشته نامحلول فیبرینی می‌شود. توالی فعال شدن فاکتورهای انعقادی در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، هر دو مسیر داخلی و خارجی در نهایت سبب فعال شدن فاکتور X و تبدیل آن به Xa شده و از آن به بعد از طریق مسیر مشترک انعقاد سبب تشکیل فیبرین می‌شود [۱۳ و ۱۵].

۳-۱ مسیر داخلی انعقاد خون

مسیر داخلی انعقاد مسیر پیچیده‌ای بوده، وابستگی بیشتری به زیست‌مواد و وسایل مصنوعی در مواجهه با خون دارد. آنزیم مرکزی این مسیر که سبب شروع مسیر داخلی انعقاد می‌شود فاکتور XII (فاکتور هاگمن) است. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، فعال شدن این فاکتور سبب فعال شدن فاکتور



شکل ۲ مسیرهای داخلی و خارجی و مشترک انعقاد خون (فرایند آبشاری انعقاد خون) [۱۳].

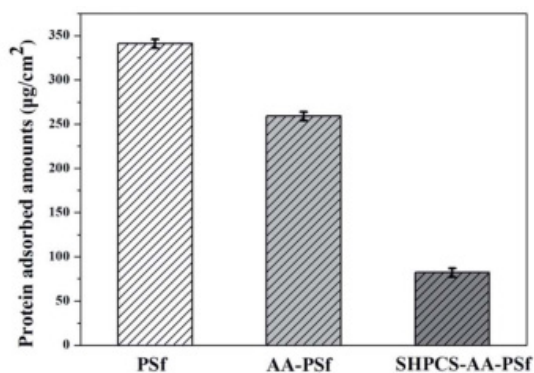
تفاوت که در تعیین زمان APTT فعال‌کننده به‌منظور تسریع در زمان لختگی افزوده می‌شود. در واقع APTT نسخه حساس‌تری از PTT محسوب می‌شود. فرایند APTT زمان مورد نیاز برای فعال شدن پروترومبین و فیبرینوژن و در نتیجه تولید ترومبین و رشته پلیمری فیبرین را از طریق مسیر داخلی و مشترک انعقاد بررسی می‌کند. آزمایش APTT، روشی برای تعیین فعالیت پریکالیکرین، کینیژن با وزن مولکولی بالا و فاکتورهای XII، XI، X، VIII، IX، X، VII، I است. APTT به‌دلیل کاهش فاکتور فیبرینوژن (فاکتور I) یا در حضور ضدلخته می‌تواند طولانی شود. محدوده نرمال APTT ۲۵ تا ۴۰ ثانیه است [۱۵ و ۲۱].

۴-۴ زمان ترومبین (Thrombin Time)

همان‌طور که پیش‌تر اشاره شده تبدیل فیبرینوژن به رشته‌های نامحلول فیبرین در مرحله مسیر مشترک انعقاد صورت گرفته و به‌عنوان عامل اصلی انعقاد شناخته می‌شود. آزمون اندازه‌گیری زمان ترومبین به ارزیابی مسیر مشترک انعقاد می‌پردازد. بنابراین بررسی این مورد نیز به‌عنوان یکی از فاکتورهای خون‌سازگاری زیست‌پلیمرها مطرح می‌شود. زمان ترومبین تعیین‌کننده نرخ ترومبینی است که سبب تبدیل فیبرینوژن به فیبرین و تشکیل لخته خون می‌شود. در این آزمون با اضافه کردن ترومبین به نمونه پلاسمای خون، فیبرینوژن به فیبرین تبدیل می‌شود. مقدار نرمال این آزمون در حدود ۱۵ تا ۲۰ ثانیه است. طولانی‌شدن نتیجه آزمون زمان ترومبین مبین غلظت کم فیبرینوژن یعنی کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر است [۱۵ و ۲۱]. در شکل ۴ فرایند انعقاد خون و تفاوت ارزیابی زمان های انعقادی نشان داده شده است. در مطالعه‌ای که توسط Zhu و همکاران انجام گرفت به‌منظور ارتقای خواص ضدگرفتگی (Antifouling) و بهبود خون‌سازگاری غشای پلی‌سولفون برای استفاده در فرایند همودیالیز تراسیون، مونومر وینیل پیرولیدون با روش پلیمری‌شدن درجا بر روی غشای پلی‌سولفون پلیمریزه شد. آن‌ها برای ارزیابی خون‌سازگاری غشا از آزمون PT به‌منظور بررسی مسیر خارجی و مشترک انعقاد و از آزمون APTT برای بررسی مسیر داخلی و مشترک انعقاد استفاده کردند (شکل ۵). طولانی‌شدن زمان انعقاد نسبت به پلاسمای خون و همین‌طور غشای پلی‌سولفون اصلاح‌نشده، گویای بهبود خون‌سازگاری غشای اصلاح‌شده با پلی‌وینیل‌پیرولیدون بوده است [۲۳].

۴-۵ ارزیابی تبدیل پریکالیکرین به کالیکرین (Pre-Kallikerin to Kallikerin)

پریکالیکرین یکی از پروآنزیم‌های پلاسمای خون است که



شکل ۳ میزان پروتئین جذب‌شده بر روی سطوح غشای پلی‌سولفون و پلی‌سولفون اصلاح‌شده [۱۸].

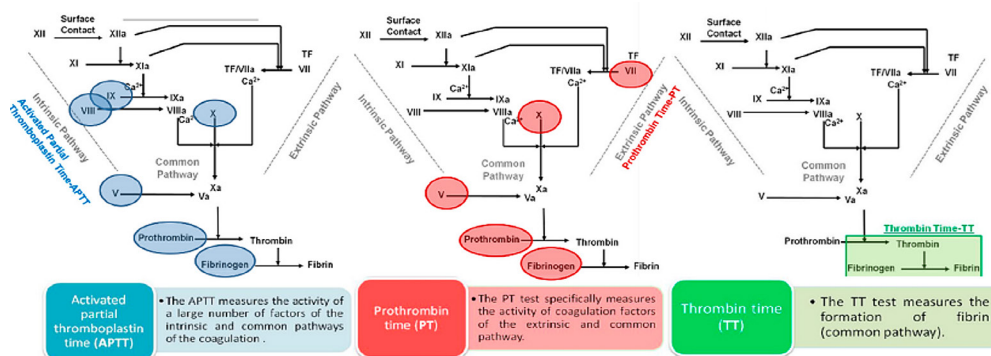
موج ۲۸۰ نانومتر یا از کیت‌های تشخیص مخصوص استفاده می‌شود [۱۷]. در مطالعه‌ای که توسط Tu و همکاران انجام گرفت به‌منظور بهبود خون‌سازگاری غشای پلی‌سولفون (PSf)، آن را با روش اصلاح سطح در ابتدا با آکرلیک‌اسید اصلاح شیمیایی کرده (PSf-AA) و سپس غشای حاصل با هیدروکسی پروپیل کیتوسان سولفون شده (SHPCS-AA-PSf). در این مطالعه از چسبندگی با پروتئین آلبومین به‌عنوان اولین مرحله سنجش خون‌سازگاری استفاده شد. نتایجی که در شکل ۳ آمده است گویای آن بود که غشاهای اصلاح‌شده دارای چسبندگی پروتئین کمتری بوده، در نتیجه خون‌سازگاری بهتری نسبت به غشای پلی‌سولفون اصلاح‌نشده دارد [۱۸].

۴-۲ زمان پروترومبین (Prothrombin Time)

آزمون انعقادی پروترومبین (PT)، از طریق فعال شدن پروترومبین و فیبرینوژن، فرایند تولید ترومبین و تشکیل فیبرین را بر حسب زمان، از طریق مسیر خارجی و مسیر مشترک بررسی می‌کند. در این آزمون، با حضور یون‌های کلسیم، ترومبوپلاستین بافتی کمپلکس‌هایی با فاکتور VII تشکیل داده و آن را فعال می‌کند [۱۹ و ۲۰]. این شرایط سطح را برای اتصال و فعال شدن فاکتورهای VII، X و II فراهم کرده، در انتها زمان مورد نیاز برای تشکیل لخته فیبرینی اندازه‌گیری می‌شود. محدوده نرمال نتیجه این آزمون بین ۱۰ تا ۱۳ ثانیه است. طولانی‌شدن این زمان نشان دهنده نقص در یک یا تعداد بیشتری از فاکتورها در مسیر خارجی انعقاد است [۱۵ و ۲۱].

۴-۳ زمان نسبی ترومبوپلاستین و ترومبوپلاستین فعال‌شده (PTT/APTT)

زمان نسبی ترومبوپلاستین (PTT) و زمان نسبی ترومبوپلاستین فعال‌شده (APTT) برای یک منظور استفاده می‌شوند. با این



شکل ۴ فرایند انعقاد خون و تفاوت ارزیابی زمان‌های انعقادی PT، (APTT) و TT [۲۲].

بررسی قرار دادند. مطالعه آن‌ها نشان داد که شیشه بیشترین میزان فعالیت کالیکرئین را در مدت زمان ۰/۵ و ۱ ساعت دارا بوده است. همچنین پلی سولفون اصلاح شده با هپارین کمترین میزان فعال شدن کالیکرئین را داشته است که از این بررسی نیز می توان نتیجه گرفت که پلی سولفون اصلاح شده با هپارین سبب فعال شدن کالیکرئین نخواهد شد و در نتیجه مسیر داخلی انعقاد فعال نمی شود که از این رو می توان پلی سولفون هپارینه شده را ماده ای خون سازگار قلمداد کرد. همان گونه که در شکل ۶ مشاهده می شود تغییر شیب خطوط رسم شده به میزان فعالیت کالیکرئین ارتباط داده می شود [۲۴].

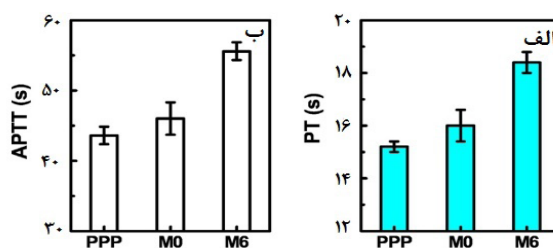
۴-۶ بررسی میزان همولیز خون

نرخ همولیز یکی دیگر از عواملی است که به کمک آن خون سازگاری سطح مواد مورد ارزیابی قرار می گیرد. همولیز با میزان آسیب دیدگی گلبول های قرمز ارتباط داشته که در اثر آن سیتوپلاسم درون آن که هموگلوبین است آزاد می شود. برای اینکه پلیمر دارای خاصیت خون سازگاری مطلوب باشد بایستی میزان همولیز آن کمتر از ۵ درصد باشد [۲۵]. در مطالعه ای که توسط Venault و همکاران انجام گرفت، برای بررسی خون سازگاری غشای پلی وینیلیدن فلوراید اصلاح شده با کوپلیمر پلی استایرن-بلاک-پلی اتیلن گلیکول متاکریلات (PS-B-PEGMA)، از آزمون بررسی میزان همولیز استفاده شد و نتیجه این آزمایش مشخص کرد که غشای اصلاح شده سازگاری خوبی با سلول های خونی داشته و باعث لیز شدن گلبول های قرمز نمی شود (شکل ۷) [۲۶].

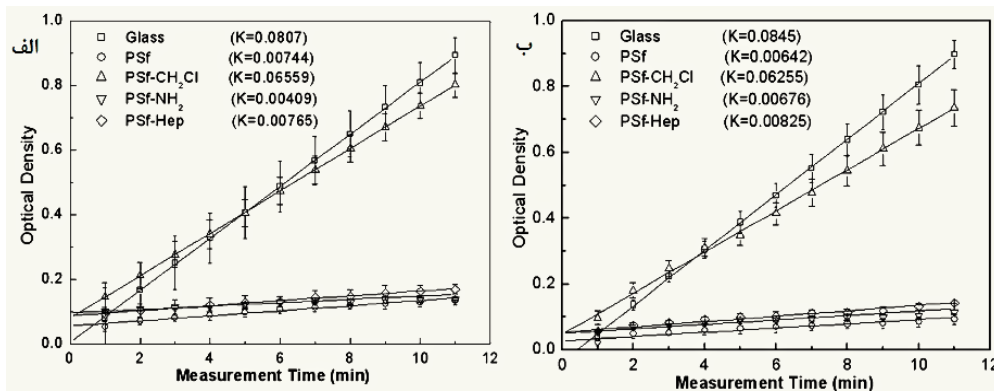
۴-۷ بررسی میکروسکوپی مورفولوژی سلولی

یکی دیگر از خصوصیات پلیمر خون سازگار، داشتن تمایل (Affinity) به سلول های بدن است. سطح خون سازگار

هنگام تماس با سطح فاقد خون سازگاری مطلوب، از طریق فعال شدن فاکتور XII انعقاد موسوم به فاکتور هاگمن، فعال شده و به کالیکرئین تبدیل می شود. بنابراین تبدیل پریکالیکرئین به کالیکرئین را می توان به عنوان معیاری برای ارزیابی فعال شدن مسیر داخلی انعقاد ارزیابی کرد. در مطالعه ای که توسط Huang و همکاران انجام گرفت، به منظور بهبود خون سازگاری غشای پلی سولفون، هپارین را از طریق روش کلرومتیل دار کردن و سپس آمین دار کردن به سطح غشای پلی سولفون متصل شد. در این مطالعه یکی از روش هایی که برای ارزیابی خون سازگاری غشا استفاده شد، بررسی فعالیت کالیکرئین بوده است. نحوه انجام این آزمون از طریق تماس پلاسمای خون با سطح پلیمر و سپس جمع آوری پلاسمای در تماس با پلیمر و اضافه کردن ماده رنگزا به آن بوده که در نهایت غلظت کالیکرئین از طریق تغییر در چگالی نوری ماده ارزیابی شد. آن ها فعال شدن کالیکرئین را بر روی پلی سولفون (PSf)، پلی سولفون کلرومتیل دار شده (PSf-CH₂Cl)، پلی سولفون آمین دار شده (PSf-NH₂) و پلی سولفون هپارینه شده (PSf-Hep) مورد بررسی قرار دادند. همچنین به منظور مقایسه، نتایج را با سطح شیشه که یکی از شاخص ترین موارد در فعال کردن کالیکرئین است، مورد



شکل ۵ نتایج آزمون زمان های انعقاد PT (الف) و APTT پلاسمای خالی از پلاکت (PPP)، غشای پلی سولفون (M0) و پلی سولفون اصلاح شده با پلی وینیل پیرولیدون (M6) [۲۳].

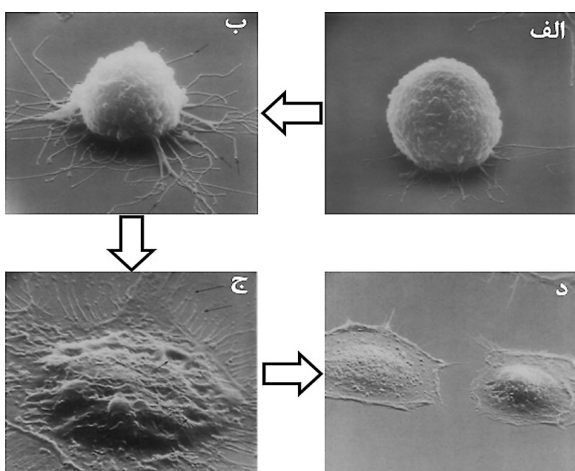


شکل ۶ سینتیک فعالیت کالیکرین. اندازه‌گیری پس از الف) ۳۰ و ب) ۶۰ دقیقه برای پلی سولفون و پلی سولفون اصلاح شده [۲۴].

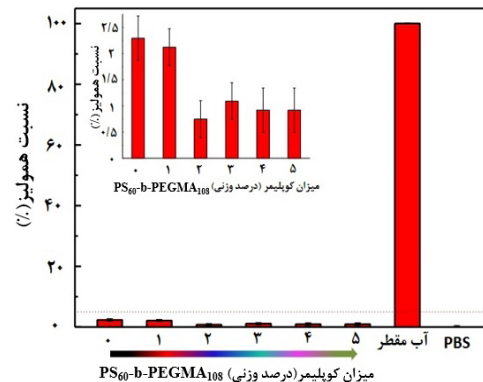
کلسترول بد (LDL) از پلاسما خون استفاده شد. نتایج نشان داد که حضور کاراگینان بر روی صفحات اکسیدگرافن، با طولانی شدن زمان‌های انعقادی PT و APTT و همچنین بهبود خاصیت چسبندگی و رشد سلولی، خون‌سازگاری غشای اصلاح شده بهبود یافته است. شکل ۹ چسبندگی و رشد کامل سلول‌ها در مجاورت غشای پلی سولفون اصلاح شده را توسط تصویربرداری با میکروسکوپ‌های نوری و الکترونی نشان می‌دهد [۲۸]. در مطالعه‌ای که توسط Nie و همکاران [۲۹] انجام گرفت، آن‌ها ترکیب زویتریون (Zwitterion) سولفوتائین را به نانولوله‌ی کربنی با روش پلیمری‌شدن ATRP اتصال دادند و از آن به منظور بهبود خون‌سازگاری غشای پلی اترسولفون استفاده کردند. از آنجایی که زیست‌سازگاری پلیمر عاملی حیاتی برای پلیمر خون‌سازگار نیز محسوب می‌شود، Nie و همکاران

بایستی سازگاری خوبی با سلول‌های بدن داشته باشد تا منجر به فعال شدن سامانه ایمنی بدن نشود. زمانی که زیست‌پلیمر در معرض سلول‌ها قرار داده می‌شود، در صورتی که سطح، محل امنی برای تماس با سلول و رشد آن باشد، شاهد چسبندگی سلولی بر روی سطح و همین‌طور تغییر مورفولوژی سلول‌ها خواهیم بود که با میکروسکوپ‌های نوری و الکترونی قابل رصد کردن است. یک سطح مناسب پس از چسبیدن سلول بایستی منجر به تغییر مورفولوژی سلولی از حالت گرد به رشد فیلوپدیال (Filopodial)، سیتوپلاسمیک وینگ (Cytoplasmic Webbing) و پهن شدن مرکز سلولی (Flattening of Central Mass) شود که نشانگر زیست‌سازگاری سطح مورد نظر برای سلول است. در شکل ۸ مراحل چسبیدن سلول به سطح و رشد آن نشان داده شده است [۲۷].

در مطالعه‌ای که توسط دهقان و برزین انجام شد، از غشای پلی سولفون اصلاح شده با اکسیدگرافن عامل دار شده با پلی ساکارید سولفات به نام کاراگینان به منظور جداسازی



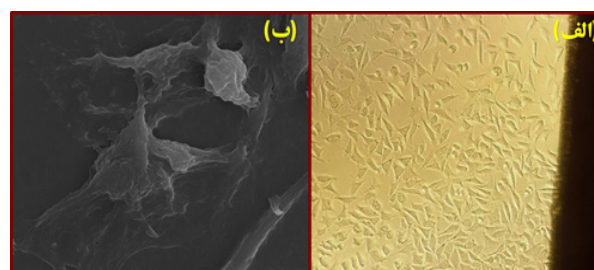
شکل ۸ تصویر میکروسکوپ نوری از تغییر مورفولوژی سلول‌ها بر روی غشای پلی اترسولفون؛ الف) چسبیدن سلول، ب) رشد فیلوپودیال، ج) پهن شدن مرکز سلولی و د) پهن شدن کامل سلول را نشان می‌دهد [۲۷].



شکل ۷ میزان همولیز گلبول‌های قرمز بر روی کویلیم [۲۶].

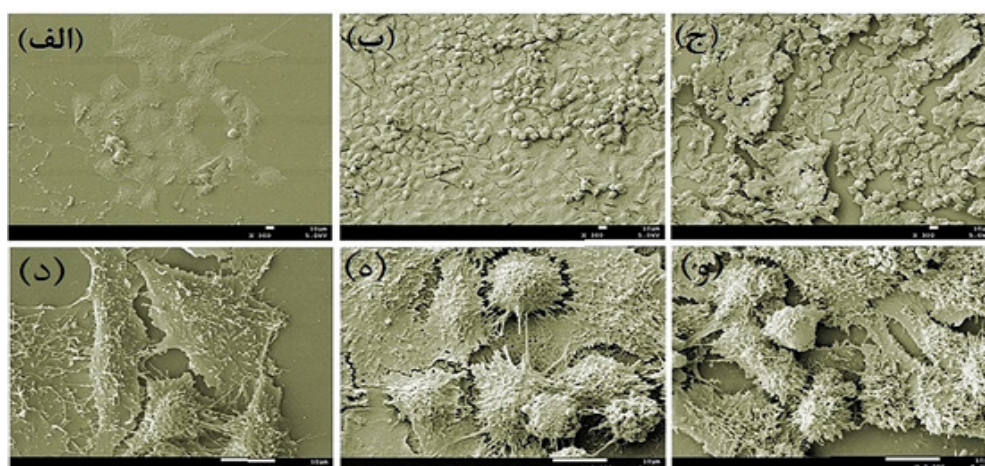
همراه با سیتوپلاسم محیطی بوده که کل ناحیه در تماس با آن را پوشش داده است. آن‌ها این سازگاری بهتر غشاهای را به نانولوله‌های کربنی اصلاح‌شده با ترکیب زوئتریون ارتباط دادند که همانند ترکیب شبه هیارین با بهبود آب‌دوستی و بار استاتیک غشا، سبب چسبیدن و رشد موثر سلول‌ها شده است. شکل ۱۰ تصاویر SEM تغییر مورفولوژی سلول‌ها را نشان می‌دهد.

بررسی با میکروسکوپ لیزری هم‌کانون (Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)) یکی دیگر از روش‌های بررسی چسبندگی و رشد سلولی است. Fukushima و همکاران [۳۰] از این روش به منظور ارزیابی خون‌سازگاری پلیمرهای بر پایه پلی‌کربنات زیست‌تخریب‌پذیر استفاده کردند. آن‌ها از پلی‌تری‌متیلن‌کربنات (PTMC) به‌عنوان پلیمری محبوب در مهندسی پزشکی استفاده کردند. به‌منظور ارتقای خون‌سازگاری، با الهام از ساختار پلی ۲- متوکسی اتیل اکریلات (PMEA) به‌عنوان پلیمر خون‌سازگار معروف، رویکرد ایجاد گروه‌های مونواتری به‌عنوان گروه جانبی بر روی زنجیره اصلی پلی‌کربناتی که پلیمر حاصله با نام PMEMTC شناسایی شد مورد ارزیابی قرار گرفت. به همین منظور به‌منظور دستیابی به پلیمر مورد استفاده شد. نتایج چسبندگی پلاکت حاکی از حداقل میزان چسبندگی بر روی PMEMTC بوده است. همچنین پس از کشت سلول‌های اندوتلیال سیاهرگ بند ناف (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) از میکروسکوپ CLSM به‌منظور ارزیابی چسبندگی سلولی استفاده شد. برای این منظور نتایج



شکل ۹ مورفولوژی سلول‌های در مجاورت غشای پلی‌سولوفون اصلاح‌شده؛ (الف) میکروسکوپ نوری، (ب) میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) [۲۸].

از آزمون سمیت سلولی با روش MTT به منظور ارزیابی زیست‌سازگاری پلی‌اتر سولوفون اصلاح‌شده با نانولوله‌های کربنی اتصال داده شده با ترکیب زوئتریون (M-SE) استفاده کردند. در این مطالعه زوئتریون استفاده‌شده از واکنش استایرن سولفونات (SS) و پلی‌اتیلن‌گلیکول متیل‌اتر متاکریلات (PEG-MA) به دست آمد. غشاهایی که حاوی ۱ گرم نانولوله کربنی اصلاح شده با ترکیب زوئتریون بوده با کد M-SE1 و غشاهایی که حاوی ۳ گرم نانولوله کربنی اصلاح شده بوده با نام M-SE3 نام‌گذاری شدند و مورفولوژی سلول‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد بررسی قرار داده شد. نتایج نشان داد که مورفولوژی سلول‌های مجاور با غشای PES به حالت تخت با اندکی سودوپودیا (تغییر مورفولوژی سلولی) است و برای غشاهای اصلاح‌شده مورفولوژی به صورت پخش شده

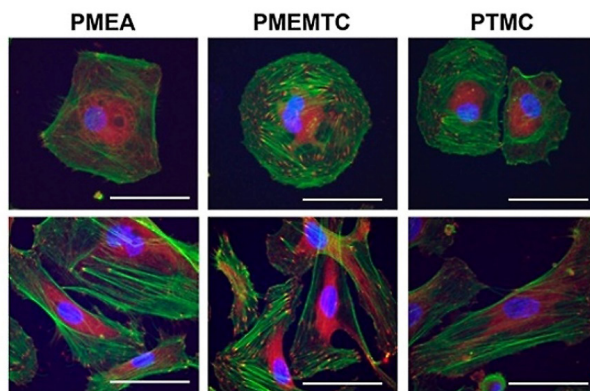


شکل ۱۰ بررسی چسبندگی و رشد سلولی بر روی غشای پلی‌اتر سولوفون و غشاهای پلی‌اتر سولوفون اصلاح‌شده؛ (الف و ب و ج و د) غشای پلی‌اتر سولوفون، (ب و ج و د) غشای پلی‌اتر سولوفون اصلاح‌شده با ۱ گرم زوئتریون (M-SE1)، (ج و د) غشای پلی‌اتر سولوفون اصلاح‌شده با نانولوله کربنی اصلاح‌شده با ۳ گرم زوئتریون (M-SE3)؛ تصاویر الف، ب، ج، بزرگ‌نمایی ۳۰۰ برابر و تصاویر د، ه، و، بزرگ‌نمایی ۳۰۰۰ برابر [۲۹].

پلیمر بسیار تعیین کننده است که با روش هایی همچون بررسی تصاویر SEM و شمارش پلاکت های چسبیده تعداد تقریبی آن ها مورد ارزیابی قرار می گیرد. اما یکی از روش های دقیق تر به منظور شمارش پلاکت های چسبیده به سطح پلیمر، روش لاکتات دی هیدروژناز (LDH) است. LDH آنزیم سیتوسولیک (Cytosolic) بوده که در اغلب سلول های زنده از جمله پلاکت ها موجود است. بنابراین زمانی که پلیمری در معرض پلاسمای سرشار از پلاکت (Platelet Rich Plasma) قرار گرفته، سپس با LDH وارد واکنش می شود، میزان فعالیت LDH را می توان به عنوان معیاری از چسبیدن پلاکت ها به سطح در نظر گرفت. این روش که روشی آنزیمی بوده، تعداد پلاکت های چسبیده را در طول موج ۳۴۰ نانومتر و بر اساس نمودار کالیبره کردن مورد ارزیابی قرار می دهد [۳۱]. روش برآورد میزان پلاکت چسبیده به سطح پلیمر با اندازه گیری LDH، بر اساس آزاد شدن محتوای LDH، پس از انحلال یاخته ای پلاکت های چسبیده به سطح پلیمر (Lysis) است [۳۲].

یکی از رویکردهای بهبود خون سازگاری و عدم چسبندگی پلاکت بر روی سطح زیست مواد، بهبود آب دوستی سطح و ایجاد بار منفی بر روی آن است. در مطالعه که توسط Kim و همکاران انجام گرفت، پلی اتریورتان با پلی اتیلن اکسید سولفون شده در جرم مولکولی های مختلف اصلاح سطح شد (شکل ۱۲-الف) و مشاهده کردند که با افزایش جرم مولکولی PEO-SO₃، چسبندگی پلاکت بر روی سطح به شکل موثری کاهش پیدا می کند (شکل ۱۲-ب) [۳۳].

علاوه بر چسبندگی پلاکت، فعال شدن آنها نیز در ایجاد لخته خون نقشی کلیدی را ایفا می کند. دقیقاً به همان صورت که چسبیدن و تغییر مورفولوژی سلولی بر روی زیست پلیمرها از عوامل اساسی زیست سازگاری و خون سازگاری محسوب

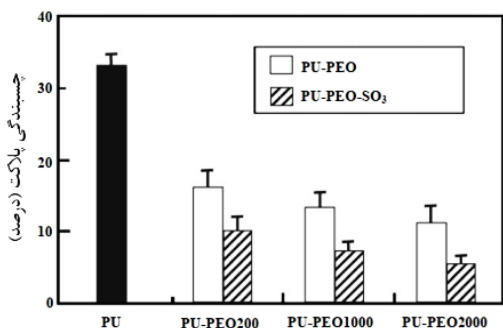


شکل ۱۱ بررسی چسبندگی سلولی با میکروسکوپ CLSM. سطر بالا پس از ۱ ساعت گرم خانه گذاری و سطر پایین پس از ۳ روز گرم خانه گذاری [۳۰].

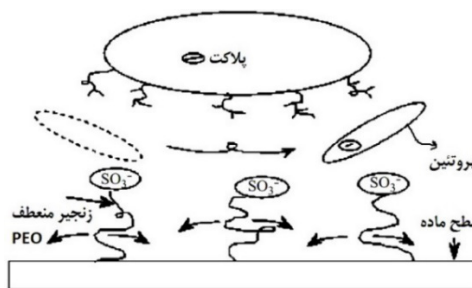
آزمایش نمونه PMEMTC با نتایج PTMC به عنوان پلیمر پایه و PMEA به عنوان نمونه مرجعی مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از ۱ ساعت گرم خانه گذاری نمونه ها، مورفولوژی گرد شکل از سلول ها مشاهده شد و پس از ۱ و ۳ روز گرم خانه گذاری، رشد سلولی و تغییر مورفولوژی از طریق ایجاد چسبندگی کانونی صریح به همراه لیف های اکتین ضخیم بر روی PMEMTC مشهود بوده که نتایج آن با PMEA قابل مقایسه بوده که گویای زیست سازگاری و خون سازگاری بهبود یافته پلیمر مورد بحث بوده است (شکل ۱۱).

۴-۸ چسبندگی و فعال شدن پلاکت

چسبندگی پلاکت به سطح و فعال شدن آن یکی دیگر از آزمون های مهم در سنجش خون سازگاری پلیمرها است. تعداد پلاکت های چسبیده به سطح پلیمر، در تشکیل لخته بر روی

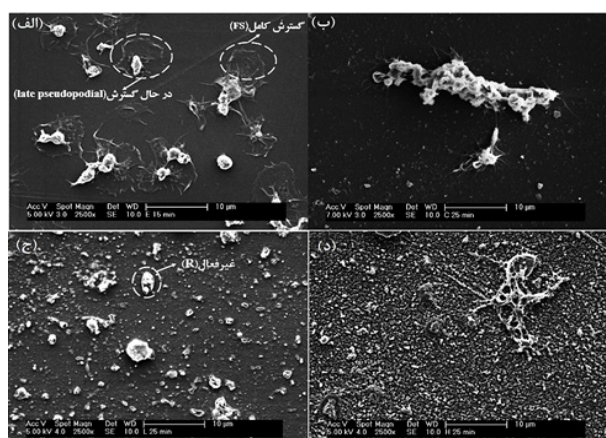


(ب)



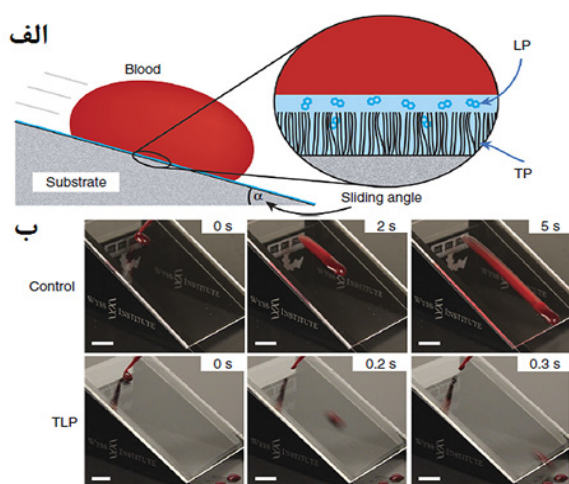
(الف)

شکل ۱۲ (الف) طرح واره سازوکار ممانعت از چسبندگی پلاکت بر روی پلی یورتان اصلاح شده با پلی اتیلن اکسید سولفون شده و (ب) تعداد پلاکت های چسبیده بر روی سطح پلی یورتان، پلی یورتان اصلاح شده با پلی اتیلن اکسید و پلی یورتان اصلاح شده با پلی اتیلن اکسید سولفون شده [۳۳].



شکل ۱۴ تصاویر SEM از فعالیت پلاکت‌ها در سطوح الف) ظرف کشت سلولی پلی‌استایرنی (TCP)، ب) پلی‌یورتان اصلاح‌نشده، ج) پلی‌یورتان اصلاح‌شده با LMWH، د) پلی‌یورتان اصلاح‌شده با UFH [۳۵].

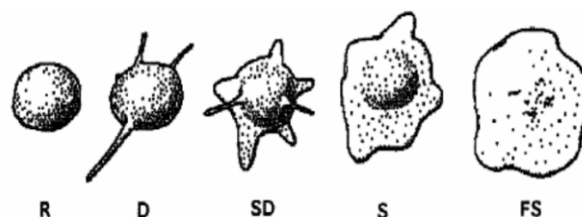
سریع خون‌سازگاری زیست‌مواد را تعیین کرد. به‌عنوان مثال در پروژه‌ای که در موسسه Wyss دانشگاه هاروارد انجام گرفت، محققان پوشش جدیدی به نام TLP را بر روی سطوح اکریلیک ایجاد کردند و از روش قطره خون غلطان (Blood Repellency) بر روی سطوح شیددار از ماده موردنظر استفاده کردند. این پوشش از لایه مولکولی منعطف پرفلوئوروکربن (Tethered Perfluorocarbon (TP)) که بر روی فیلم مایعی از پرفلوئوروکربن (Liquid Perfluorocarbon (LP)) درجه پزشکی متصل شده، تشکیل شده است (شکل ۱۵-الف). در این مطالعه، خون‌سازگاری سطح از طریق تعیین زمان عبور قطره



شکل ۱۵ الف) طرح‌واره سطح اصلاح‌شده با پوشش TLP در تماس با قطره خون. ب) رفتار قطره خون غلطان با سطح اکریلیکی (با زاویه ۳۰ درجه نسبت به افق) اصلاح‌نشده به‌عنوان نمونه کنترلی (سطر بالا) و اصلاح‌شده با پوشش TLP (سطر پایین) [۳۶].

می‌شود، عدم چسبندگی و تغییر مورفولوژی پلاکت‌ها بر روی سطح زیست‌پلیمرها از مهم‌ترین عوامل در خون‌سازگاری محسوب می‌شود. فعالیت پلاکت‌ها با تغییرات مورفولوژی از حالت قرصی شکل به درجه متفاوتی از پخش‌شوندگی آن‌ها مشخص می‌شود. در حقیقت با فعال شدن پلاکت‌ها، مواد زیست‌فعالیتی همچون آدنوزین دی‌فسفات (ADP) و ترومبکسان A2 (TXA2) از آن رهایش پیدا کرده، سبب تجمع، فعالیت و تغییر مورفولوژی آن می‌شود. اندازه یا وسعت پلاکت‌های پخش‌شده می‌تواند در ۵ حالت طبقه‌بندی شود که توصیف‌کننده روند فعالیت پلاکت‌ها است. حالت اول، حالتی است که پلاکت‌ها قرصی شکل هستند (Round) و سپس با فعال شدن آن‌ها، مورفولوژی به‌ترتیب به حالت شاخه‌دار (Dendritic)، پخش شاخه‌ای (Spread Dendritic)، درحال پخش (Spreading) و پخش کامل (Fully Spread) تقسیم‌بندی می‌شود. شکل ۱۳ طرح‌واره‌ی مورفولوژی‌های مورد بحث را نشان می‌دهد [۳۴ و ۳۵].

تصاویر SEM ارائه‌شده در شکل ۱۴ مورفولوژی پلاکت‌های چسبیده به سطح پلی‌یورتان، پلی‌یورتان اصلاح‌شده با هپارین با جرم مولکولی پایین و هپارین تجزیه‌نشده (UFH) را نشان می‌دهد [۳۵]. از میزان تغییر مورفولوژی پلاکت‌ها می‌توان میزان خون‌سازگاری زیست‌مواد به‌کار گرفته شده را ارزیابی کرد. همان‌طور که از شکل ۱۳ مشخص شده است، مقدار چسبندگی پلاکت‌ها بر روی سطح کنترل پلی‌استایرنی زیاد بوده، مورفولوژی اغلب آن‌ها نیز به‌صورت در حال پخش یا پخش کامل است که عدم خون‌سازگاری این ماده را نشان می‌دهد. همچنین در مورد پلی‌یورتان اصلاح‌نشده، پلاکت‌های چسبیده در حال تغییر مورفولوژی (Early Pseudopodia) هستند که حاکی از عدم خون‌سازگاری مطلوب آن است. اما برای پلی‌یورتان‌های هپارینه شده، مورفولوژی سلولی اغلب به حالت گرد شکل باقی مانده‌اند که نشان از سطح خون‌سازگاری مطلوب پلیمر اصلاح‌شده است [۳۵]. همچنین در برخی موارد نیز می‌توان به‌صورت مشاهده‌ای و



شکل ۱۳ طرح‌واره فعال شدن پلاکت‌ها از روی تغییر مورفولوژی آن‌ها [۳۴ و ۳۵].

مطالعه انجام شده سعی شد تا با معرفی فرایند انعقاد خون بر روی زیست پلیمرها و ارائه روش‌های سنجش خون‌سازگاری، همچون چسبندگی پروتئین، ارزیابی زمان‌های انعقاد شامل زمان پروترومبین، زمان ترومبوپلاستین فعال شده و زمان ترومبین، بررسی میکروسکوپی چسبندگی سلولی، همولیز خون، چسبندگی و فعالیت پلاکت، در مسیر توسعه بهبود پلیمرهای خون‌سازگار گام مثبتی در تحقیق و توسعه مواد پلیمری در کاربردهای پزشکی و در تماس با خون برداشته شود.

تشریح و قدردانی

این اثر تحت حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته از طرح شماره «۴۰۰۱۲۴۴» انجام شده است.

خون از سطح و همچنین عدم مشاهده مسیر عبور آن، مورد ارزیابی قرار گرفت و مشاهده شد که سطح اصلاح شده با TLP با زاویه ۳۰ درجه از لحظه برخورد قطره با سطح تا عبور کامل از آن بدون آن‌که ردی از مسیر خون برجا بماند تنها ۰/۳ ثانیه طول کشیده و این درحالی است که برای نمونه اصلاح نشده، مدت زمان عبور خون ۵ ثانیه بوده، رد مسیر عبور خون از سطح نیز کاملاً مشخص است (شکل ۱۴) [۳۶].

۵ نتیجه گیری

با توسعه پلیمرها و گسترش استفاده آن‌ها در کاربردهای پزشکی نظیر داربست‌های قلبی و عروقی، کاتترها، دریچه‌های مصنوعی قلب، رگ‌های مصنوعی، غشاهای مورد استفاده در فرایند تصفیه خون و ... توجه محققان را هرچه بیشتر به سمت ارتقای سطح خون‌سازگاری این زیست‌مواد معطوف کرده است. در

مراجع

1. Vermette P., Griesser J.H., Laroche G., Guidoin R., *Biomedical Applications of Polyurethanes*, Landes Bioscience, Georgetown, 160-168, **2001**.
2. Dean IV H., *Development of Biopoly Materials for Use in Prosthetic Heart Valve Replacements*, MSc Thesis, Colorado state University, **2012**.
3. Ansari F., Dehghan R., Role of Polymers Used in Hormone Delivery of Contraceptive Systems for Prevention of Pregnancy, *Polymerization*, 9, 8-29, **2020**.
4. Barzin J., Feng C., Khulbe K.C., Matsuura T., Madaeni S.S., Mirzadeh H., Characterization of Polyethersulfone Hemodialysis Membrane by Ultrafiltration and Atomic Force Microscopy, *J. Membr. Sci.*, 237, 77-85, **2004**.
5. Barzin J., Madaeni S. S., Mirzadeh H., Mehrabzadeh, M. Effect of Polyvinylpyrrolidone on Morphology and Performance of Hemodialysis Membranes Prepared from Polyether Sulfone. *Journal of Applied Polymer Science*, 92, 6, 3804-3813, **2004**.
6. Shahrabi S.S., Barzin J., Shokrollahi P., Blood Cell Separation by Novel PET/PVP Blend Electrospun Membranes. *Polymer Testing*, 66, 94-104, **2018**.
7. Shahrabi S.S., Mortaheb H.R., Barzin J., Ehsani M.R., Nanoporous Polyether Sulfone Membrane, Preparation and Characterization: Effect of Porosity and Mean Pore Size on Performance. *Journal of Membrane and Separation Technology*, 6, 2, 71-84, **2017**.
8. Bosch T., Thiery J., Gurland H.J., Seidel D., Long-Term Efficiency, Biocompatibility, and Clinical Safety of Combined Simultaneous LDL-Apheresis and Haemodialysis in Patients with Hypercholesterolaemia and End-Stage Renal Failure, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 8, 1350-1358, **1993**.
9. Bantjes A., Clotting Phenomena at the Blood-Polymer Interface and Development of Blood Compatible Polymeric Surfaces. *Polym. Int.*, 10, 267-274, **1978**.
10. Gristina A.G., Naylor P.T., Myrvik Q.N., Biomaterial-Centered Infections: Microbial Adhesion Versus Tissue Integration, In *Pathogenesis of Wound and Biomaterial-Associated Infections*, Springer London, 237, 193-216, **1990**.
11. Paola F., Messori M., Surface Modification of Polymers: Chemical, Physical, and Biological Routes, In *Modification of Polymer Properties*, 109-130, **2017**.
12. Michael W King, Introduction of Blood Coagulation, <https://themdicalbiochemistrypage.org/blood-coagulation.php>, available in 20 July **2017**.
13. Franklyn W.D., *Blood Compatibility*, 1, 89-98, **1987**.
14. Aebischer P., Schluep M., Déglon N., Joseph J. M., Hirt L., Heyd B., Goddard M., Hammang J.P., Zurn A.D., Kato A.C., Regli F., Intrathecal Delivery of CNTF Using Encapsulated Genetically Modified xenogeneic Cells in Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients, *Nature Medicine*, 2, 696, **1996**.
15. Turgeon, M.L., *Clinical Hematology: Theory and Procedures*. Lippincott Williams & Wilkins, 355-359, **2005**.
16. Salimi E., Ghaee A., Ismail A. F., Karimi M., Anti-Thrombogenicity and Permeability of Polyethersulfone Hollow Fiber Membrane with Sulfonated Alginate Toward Blood Purification, *Inter. J. Biol. Macromol.*, 116, 364-377, **2018**.
17. Zhang J., Yan B., He C., Hao Y., Sun S., Zhao W., Zhao C., Urease-Immobilized Magnetic Graphene Oxide as a Safe and Effective Urea Removal Recyclable Nanocatalyst for Blood Purification. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 59, 19, 8955-8964, **2020**.
18. Tu M.M., Xu J.J., Qiu Y.R., Surface Hemocompatible Modification of Polysulfone Membrane via Covalently Grafting Acrylic Acid and Sulfonated Hydroxypropyl Chitosan. *RSC Advances*, 9, 11, 6254-6266, **2019**.
19. Dehghan R., Barzin J., Development of a Polysulfone Membrane with Explicit Characteristics for Separation of Low Density Lipoprotein from Blood Plasma. *Polymer Testing*, 85, 106438, **2020**.
20. Dehghan R., Barzin J., Membrane Patterning Through Horizontally Aligned Microchannels Developed by Sulfated Chopped Carbon Fiber for Facile Permeability of Blood Plasma Components in Low-Density Lipoprotein Apheresis. *Separation and Purification Technology*, 278, 119512, **2021**.
21. Kamal A.H., Tefferi A., Pruthi R.K., How to Interpret and Pursue an Abnormal Prothrombin Time, Activated Partial Thromboplastin Time and Bleeding Time in Adults. In *Mayo Clinic Proceedings*, 82, 7, 864-873, **2007**.
22. Carvalhal F., Cristelo R. R., Resende D. I., Pinto M. M., Sousa E., Correia-da-Silva, M. Antithrombotics from the Sea: Polysaccharides and Beyond, *Marine Drugs*, 17, 3, 170, **2019**.
23. Zhu L., Song H., Wang J., Xue L., Polysulfone Hemodialysis Membranes with Enhanced Anti-Fouling and Hemocompatibility Modified by Poly (Vinyl Pyrrolidone) via In-situ Cross-linked Polymerization. *Materials Science and Engineering: C*, 74, 159-166, **2017**.

24. Huang X.J., Guduru D., Xu Z.K., Vienken J., Groth T., Blood Compatibility and Permeability of Heparin-Modified Polysulfone as Potential Membrane for Simultaneous Hemodialysis and LDL Removal. *Macromolecular Bioscience*, 11, 1, 131-140, **2011**.
25. Singh H., Purohit S.D., Bhaskar R., Yadav I., Gupta M.K., Mishra N.C., Development of Decellularization Protocol for Caprine Small Intestine Submucosa as a Biomaterial. *Biomaterials and Biosystems*, 5, 100035, **2020**.
26. Venault A., Wu J.R., Chang Y., Aimar P., Fabricating Hemocompatible Bi-continuous Pegylated PVDF Membranes via Vapor-induced Phase Inversion. *Journal of Membrane Science*, 470, 18-29, **2014**.
27. Rajaraman R., Rounds D.E., Yen S. P.S., Rembaum A. N. D. A., A Scanning Electron Microscope Study of Cell Adhesion and Spreading In-vitro. *Experimental Cell Research*, 88, 2, 327-339, **1974**.
28. Dehghan R., Barzin J., Low Density Lipoprotein (LDL) Apheresis from Blood Plasma via Anti-biofouling Tuned Membrane Incorporated with Graphene Oxide-modified Carageenan. *Journal of Membrane Science*, 620, 118878, **2021**.
29. Nie C., Ma L., Xia Y., He C., Deng J., Wang L., Zhao C., Novel Heparin-Mimicking Polymer Brush Grafted Carbon Nanotube/PES Composite Membranes for Safe and Efficient Blood Purification. *Journal of Membrane Science*, 475, 455-468, **2015**.
30. Fukushima K., Inoue Y., Haga Y., Ota T., Honda K., Sato C., Tanaka M., Monoether-tagged Biodegradable Polycarbonate Preventing Platelet Adhesion and Demonstrating Vascular Cell Adhesion: A Promising Material for Resorbable Vascular Grafts and Stents. *Biomacromolecules*, 18, 11, 3834-3843, **2017**.
31. Tsai W. B., Grunkemeier J. M., Horbett T. A., Human Plasma Fibrinogen Adsorption and Platelet Adhesion to Polystyrene. *Journal of Biomedical Materials Research*, 44, 2, 130-139, **1999**.
32. Elahi E., Study of Polymer Platelet Adhesion by LDH, Ph.D. Thesis, Iran University, Tehran, Iran, **1998**.
33. Han D. K., Jeong S. Y., Kim Y. H., Min B. G., Cho H. I., Negative Cilia Concept for Thromboresistance: Synergistic Effect of PEO and Sulfonate Groups Grafted onto Polyurethanes. *Journal of Biomedical Materials Research*, 25, 5, 561-575, **1991**.
34. Dehghan R., Koosha M., Specification of Polyurethane as Prosthetic Heart Valve, *Polymerization*, 5, 48-60, **2015**.
35. Aksoy E.A., Synthesis and Surface Modification Studies of Biomedical Polyurethanes to Improve Long term Biocompatibility, Doctor of Philosophy Thesis, Middle East Technical University, **2008**.
36. Leslie D. C., Waterhouse A., Berthet J. B., Valentin T. M., Watters A. L., Jain A., Super E. H., A Bioinspired Omniphobic Surface Coating on Medical Devices Prevents Thrombosis and Biofouling. *Nature Biotechnology*, 32, 11, 1134, **2014**.