[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231]

Downloaded from hrjbaq.ir at 21:58 +0430 on Sunday May 27th 2018

Design and Fabrication of Poly-Aniline/Poly-Caprolactone/Gelatin Composite Nano-Scaffolds and Study of Biocompatibility of Nano-Fibers

Ali Karbalayi Mahdi [1], Hamid Reza Javadi [1], Marzieh Ghalasi [2], Mahdi Kamali [1], Ali Salimi [1*]

[1] Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[2] Department of Cell and Molecule, Faculty of Biosciences, Kharazmi University, Karaj, Iran

*** Corresponding author:** Tel: 021-82482549, E-mail: Salimiali@bmsu.ac.ir

Received: 2016/09/10 Accepted: 2016/10/4 Online Published: 2016/11/21

DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231

Abstract

Introduction: Tissue engineering approach using the combination of stem cells and nanofibrous scaffolds has attracted the interest of research community for regeneration applications.

Materials and Methods: In this study, PANi/PCL/Gel composite nanofibrous scaffold was fabricated by electrospinning. Plasma treatment technique was used for the surface modification of nanofibers. Contact angle technique and scanning electron microscopy (SEM) were used for characterization of electrospun nanofibers. Growth and proliferation of the cells as well as the biocompatibility of nanoscaffolds were evaluated by MTT assay.

Results: The results of the contact angle technique showed the surface modification of electrospun nanofibrous scaffolds. The MTT results showed that the synthesized nanofibers did not have any toxic effect and promoted the growth and proliferation of fibroblast cells. SEM images confirmed the adhesion and biocompatibility of nanofibers.

Conclusions: Our results suggested PANi/PCL/Gel electrospun nanofibers as a biocompatible composite for the regenerative medicine.

Keywords: Tissue Engineering; Polyaniline; Poly-Caprolactone; Gelatin; Electrospun Nanofibers.

©2016 Deputy of Research and Technology of Baqiyatallah Hospital

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231]
Downloaded from hrjbaq.ir at 21:58 +0430 on Sunday May 27th 2018

طراحی و ساخت نانوداربست‌های کامپوزیتی پلی آنیلین-پلی کاپرولاکتون-ژلاتینی و بررسی زیست سازگاری نانوفیبرها

علی کربلائی مهدی [۱]، حمیدرضا جوادی [۱]، مرضیه قلاسی [۲]، مهدی کمالی [۱]، علی سلیمی [۱*]

۱ مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران
۲ گروه سلولی و ملکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، پردیس کرج، ایران
* **نویسنده مسئول:** تلفن: ۰۲۱۸۲۴۸۲۵۴۹؛ ایمیل: salimiali@bmsu.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۵/۶/۲۰ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۳ انتشار آنلاین: ۱۳۹۵/۹/۱
DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231

چکیده

مقدمه: رویکرد مهندسی بافت با استفاده از ترکیب سلول‌های بنیادی و داربست‌های نانوفیبری علاقه جامعه تحقیق را برای کاربردهای بازسازی بافت به خود جلب کرده است.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر نانوداربست کامپوزیتی PANi/PCL/Gel به روش الکتروریسی ساخته شد. از تکنیک پلاسما جهت تغییرات سطح نانوداربست ها استفاده شد. خصوصیات نانوداربست های الکتروریسی شده توسط تکنیک زاویه تماس (Contact angle) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت. رشد، تکثیر سلول‌ها و نیز زیست سازگاری نانوداربست ها با استفاده از تست سنجش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: نتایج تکنیک زاویه تماس تغییرات سطحی داربست‌های نانوفیبری الکتروریسی شده را نشان داد. نتایج MTT نشان داد که نانوداربست سنتز شده اثرات سمی نداشت و باعث افزایش رشد و تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی گردید. تصاویر میکروسکوپ SEM چسبندگی و زیست سازگاری نانوفیبر ها را تأیید نمود.

نتیجه گیری: نتایج بدست آمده، نانوداربست های الکتروریسی شده کامپوزیتی زیست سازگار PANi/PCL/Gel را جهت استفاده در پزشکی بازساختی پیشنهاد نمود.

کلمات کلیدی: مهندسی بافت، پلی کاپرولاکتون، ژلاتین، پلی آنیلین، نانوفیبرهای الکتروریسی شده

تمامی حقوق نشر برای معاونت پژوهش بیمارستان بقیه الله محفوظ است.

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231]
Downloaded from hrjbaq.ir at 21:58 +0430 on Sunday May 27th 2018

مقدمه

از دست دادن بافت یا ارگان به دلیل ضربه یا تخریب جراحتی باعث مشکلات عمده سلامتی می‌شود، که حتی می‌تواند بر روی وضعیت بیمار و طول عمر او تأثیر گذارد. درمان به صورت جراحی‌های سنتی، پیشنهاد می‌دهد که از یک ناحیه دوم بافت‌های خودی برای ترمیم یا جایگزینی بافت‌ها یا ارگان‌های تخریب شده استفاده شود. برای برخی ارگان‌ها مانند کلیه، کبد و پانکراس پیوند آلوژنیک اجازه ترمیم کارکردی را می‌دهد. با این وجود، تأمین آلوگرافت محدود می‌باشد و لیست انتظار طولانی برای پیوند ارگان و بافت نشان دهنده نیاز به یک متد جدید به منظور غلبه بر محدودیت‌های درمان‌های قدیمی می‌باشد [۱].

مهندسی بافت که یکی از روش‌های برجسته در پزشکی نوین است، یک رشته پژوهشی در حال رشد سریع می‌باشد. با درک بهتر از ساختار، زیست شناسی و فیزیولوژی و تکنیک‌های کشت سلول و ترکیب آن‌ها در مهندسی بافت ممکن است گزینه‌های درمانی جدید برای بیماران نیازمند به ترمیم یا جایگزینی اعضا ارائه شود. قاعده کلی جداسازی سلول‌ها از یک نمونه بافت به منظور گسترش آن در محیط کشت و کاشت آن‌ها روی ماده داربست در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد تا یک ساختار بافت زنده قبل از پیوند به فرد بیمار تشکیل شود. این بافت‌ها در محیط بیوشیمیایی و بیومکانیکی مناسب پتانسیل کامل خود را به دست می‌آورند و مانند یک بافت طبیعی عمل می‌کنند. روش مهندسی بافت مزایای عمده‌ای نسبت به پیوند سنتی ارگان دارد [۲].

مهندسی بافت در حقیقت زمینه‌ای میان رشته‌ای است، که اصول مهندسی و علوم طبیعی را در جهت توسعه جایگزینی کاربردی برای بافت‌های آسیب دیده به کار می‌بندد. مهندسی بافت یک روش درمانی جدید را به عنوان جایگزینی برای روش سنتی پیوند ارائه کرده است که شامل استفاده از بیومواد پلیمری یا کامپوزیتی به همراه سلول یا بدون آن‌ها می‌باشد [۳, ۴]. یکی از اهداف مهندسی بافت تولید داربستی پلیمری با ساختاری سه بعدی جهت پیوند عضو می‌باشد [۵]. در سلول‌های زنده، ماتریکس خارج سلولی نقشی مؤثر بر کنترل رفتار سلول‌ها دارد [۶]. بنابراین داربست باید طوری طراحی شود تا این نقش را در مهندسی بافت ایفا کند. داربست‌های نانوفیبری مناسب باید چسبندگی سلولی خوب داشته و باعث تکثیر سلول‌ها شوند و همچنین از نظر ساختار فیزیکی، ECM طبیعی بدن را تقلید نماید [۷, ۸]. برای تولید داربست روش‌های مختلفی وجود دارد که یکی از پرکاربردترین آن‌ها استفاده از روش الکتروریسی است [۹]. در فرآیند الکتروریسی از ولتاژ چند ده هزار ولت برای به جریان درآوردن سیال پلیمری از درون لوله موئینه و تولید نانوالیاف استفاده می‌شود. در اثر ولتاژ بالا محلول پلیمر یا مذاب پلیمری شارژ الکتریکی پیدا کرده و از لوله موئینه خارج و به سمت جمع کننده کشیده می‌شود. قبل از رسیدن جت پلیمر به جمع کننده، حلال تبخیر، و الیاف بر روی جمع کننده جمع آوری می‌شود.

ترکیب پلیمرها یکی از مهمترین روش‌های مؤثر برای بدست آوردن ویژگی‌های جدید و بیوکامپوزیت های مطلوب برای کاربردهای خاص می‌باشد. برای مثال ترکیب پلیمرهای سنتزی و پلیمرهای طبیعی می‌تواند باعث بهبود چسبندگی سلول‌ها و تخریب پذیری نانوفیبرها شود [۱۰]. پلی کاپرولاکتون یکی از پلیمرهای هیدروفوب خطی نیمه کریستالی است. به هر حال PCL الکتروریسی شده مقدار کمی شبیه ECM سلول‌های زنده بوده، و به دلیل آبدوستی کم، توانایی کمی در چسبندگی، مهاجرت، تکثیر و تمایز سلولی از خود نشان می‌دهد [۱۱, ۱۲]. در بین پلیمرهای طبیعی، ژلاتین که از تجزیه حرارتی یا شیمیایی کلاژن حاصل می‌شود، به دلایلی از قبیل داشتن منبع زیستی، زیست تخریب پذیری، زیست سازگاری و ارزان بودن برای مصارف دارویی و پزشکی مختلف استفاده شده است [۱۳, ۱۴]. از سوی دیگر ژلاتین می‌تواند با PCL ترکیب شده و داربستی با تخریب پذیری و چسبندگی سلولی مناسب را بوجود آورد [۱۳]. پلیمرهای رسانا زمینه تحقیقاتی جالبی در دو دهه اخیر بوده‌اند. متداول‌ترین این پلیمرها: پلی تیوفن، پلی استیلن، پلی آنیلین، پلی پیرول و پلی پارا فنیلن می‌باشند. از میان پلیمرهای رسانا، پلی آنیلین توجه ویژه‌ای را بخاطر ویژگیهایی از قبیل سنتز راحت، قیمت پایین، کاربرد وسیع و راندمان بالای پلیمریزاسیون به خود جلب کرده است. از پلیمرهای رسانا نظیر پلی آنیلین و پلی پیرول در ساخت داربست‌های کامپوزیتی مختلف استفاده است [۱۵]. در تحقیق حاضر، نانوداربست کامپوزیتی PANi/PCL/Gel طراحی و سنتز گردید و نیز رشد و زیست سازگاری سلول‌های فیبروبلاست موشی SNL بر روی آنها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه محلول پلی آنیلین/پلی کاپرولاکتون/ژلاتین

جهت ساخت محلول مورد استفاده در تحقیق حاضر، پلی آنیلین با وزن مولکولی ۱۰۰/۰۰۰ گرم/مول تهیه گردید. ابتدا ۱/۸ گرم از PCL در ۹ میلی لیتر از اسید فرمیک حل گردید. سپس ۰/۱ گرم پلی آنیلین را به ۱ میلی لیتر از اسید فرمیک اضافه کرده و پس از حل شدن، به محلول PCL اضافه گردید بطوری که محلول یکنواخت حاصل گردد. از طرفی ۰/۸ گرم پودر ژلاتین در ۵ میلی لیتر اسید استیک حل گردید. لازم به

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231]
Downloaded from hrjbaq.ir at 21:58 +0430 on Sunday May 27th 2018

ذکر است که تمامی مواد مورد استفاده در تحقیق حاضر، از شرکت‌های Sigma و Gibco تهیه شدند.

ساخت داربست‌های نانو فیبری با استفاده از دستگاه الکتروریسی

برای ساخت داربست‌های نانو فیبری از دستگاه الکتروریسی دو نازله استفاده شد. محلول‌های تهیه شده، در دو سرنگ ۵ میلی لیتری قرار داده شد. آزمون‌های متعددی برای بدست آوردن نانوالیاف مورد نظر بدون گره (Bead) انجام شد. سپس نازل حاوی محلول پلی آنیلین/پلی کاپرولاکتون در شرایط ولتاژ ۳۰، فاصله از جمع کننده ۱۷ سانتی متر و دبی ۰/۵ تنظیم گردید. نازل حاوی محلول ژلاتین نیز با شرایط ولتاژ ۱۷، فاصله از جمع کننده ۱۵ سانتی متر و دبی ۰/۴ قرار گرفت. سپس الکتروریسی به صورت دو نازله و با دور ۵۰۰ برای جمع کننده انجام شد. در نهایت نانوفیبر کامپوزیتی PANi/PCL/Gelحاصل از ترکیب دو محلول، بر روی جمع کننده تشکیل گردید.

ارزیابی نانوالیاف PANi/PCL/Gel به کمک میکروسکوپ الکترونی (SEM)

جهت بررسی ساختار نانوالیاف و نیز ارزیابی شکل و مورفولوژی سلول‌های کشت شده روی داربست‌های نانوفیبری تهیه شده، از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. برای گرفتن عکس از داربست‌هایی که سلول بر روی آن‌ها قرار داده شدند، داربست‌ها در گلوترالدهید قرار داده شده، تثبیت گردید و سپس با سری غلظتی ازاتانل، آب گیری شد. برای تهیه عکس از داربست بدون سلول نیازی به تثبیت با گلوترالدهید و در ادامه آبگیری با الکل نیست.

کشت و تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی موشیSNL

سلول‌های فیبروبلاستی موشی SNL از بانک سلولی مرکز تحقیقات فناوری بن یاخته تحویل گرفته شد. نحوه تکثیر این سلول‌ها همانند بسیاری از سلول‌های بنیادی می‌باشد و دارای مراحل زیر است: کشت سلول‌های فیبروبلاستی موشی :SNL برای اینکار ابتدا باید سلول‌های SNL تحویل گرفته شده از بانک سلولی دفریز گردند، ابتدا محیط کشت حاوی DMEM/FBS(10%)آماده نموده و پس از خارج نمودن کرایوویال حاوی سلول SNL و نگهداری در بن ماری با دمای °C37، قبل از اینکه کاملاً یخ سلول‌ها باز شود آن را درون محیط آماده شده انتقال داده و به مدت ۳ دقیقه در دور RPM700سانتریفوژ شدند. رسوب سلولی بدست آمده بر روی فلاسک حاوی محیط کشت حاوی DMEM/FBS(10%)انتقال داده شدند.

اصلاح سطحی پلاسما

جهت انجام فرآیند اصلاح سطحی با پلاسما از دستگاه مدل نانو محصول شرکت) Diener Electronics از کشور آلمان) استفاده شد. فرآیند پلاسما به‌وسیله یک ژنراتور فرکانس پایین با فرکانس ۴۰ کیلوهرتز و درون یک رآکتور استوانه‌ای کوارتز صورت پذیرفت. پس از اعمال خلأ، گاز O2 با خلوص ۹۹/۹۹٪ به درون محفظه واکنش دمیده شد و فشار درون محفظه روی مقدار ۰/۴ میلی بار تثبیت گردید. فرآیند پلاسما برای مدت زمان دو دقیقه انجام شد. در پایان، خلأ درون محفظه شکسته شد و نمونه‌ها در معرض هوا قرار گرفتند.

اندازه‌گیری زاویه تماس (Contact Angle)

برای مطالعه میزان آب‌دوستی داربست‌ها پس از انجام اصلاحات شیمیایی، زاویه تماس آب با داربست به‌روش قطره چسبان با استفاده از دستگاه سنجش زاویه تماس مدل OCA 15 plus محصول شرکت) Kruss از کشور آلمان) و در دمای اتاق اندازه‌گیری شد. روش کار این دستگاه بدین صورت است که یک قطره آب بر روی سطح نانو داربست قرار داده می‌شود و زاویه تماس پس از ۱۰ ثانیه خوانده می‌شود. این تست در تکرارهای ۳ تایی انجام شد و نتایج مربوطه به‌صورت مقادیر میانگین گزارش شده‌اند.

آزمون سنجش سمیت

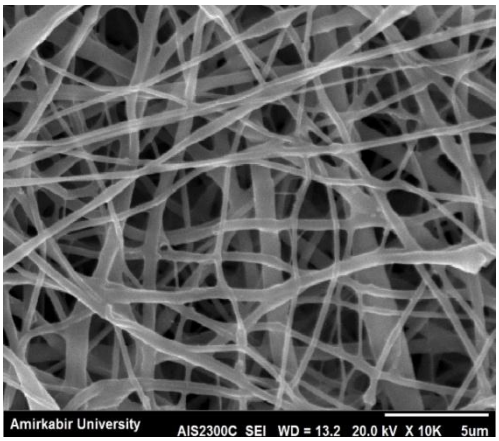
عمل استریل کردن داربست‌ها در اتانول ۷۰٪ انجام شد و سپس نمونه‌های کامپوزیتی تهیه شده در محیط DMEM غوطه ور شدند. در این پروژه از سلول‌های فیبروبلاستی موشی (SNL)استفاده شد. داربست‌های برش خورده و استریل شده در مراحل قبل، در داخل چاهک‌های یک ظرف کشت سلول ۲۴ خانه قرار داده شدند و تعداد ۱۰۰۰۰ سلول بر روی هر داربست قرار داده شد. ظرف کشت مذکور به‌مدت ۲ ساعت در داخل یک انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن قرار داده شد و سپس تا میزان ۵۰۰ میکرولیتر محیط کشت به هر چاهک اضافه گردید. در زمان‌های ۱، ۴ و ۷ روز بعد از این کشت اولیه و در ساعت معین، میزان ۵۰ میکرولیتر محلول 5) MTT میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محیط پایه) به هر چاهک اضافه شد و ظرف کشت به مدت ۳ ساعت در داخل انکوباتور قرار گرفت. بعد از حل شدن کامل بلورها در حلال DMF، جذب محلول بنفش رنگ به‌دست آمده در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. هم‌چنین از چاهک‌های بدون داربست که در آن‌ها سلول مستقیماً بر روی سطح فلاسک کشت داده شده بود، به‌عنوان کنترل استفاده شد. آزمون‌های رشد و تکثیر سلول‌ها برای هر داربست در تکرارهای ۳ تایی انجام شد و نتایج مربوطه به‌صورت مقادیر میانگین گزارش شده‌اند.

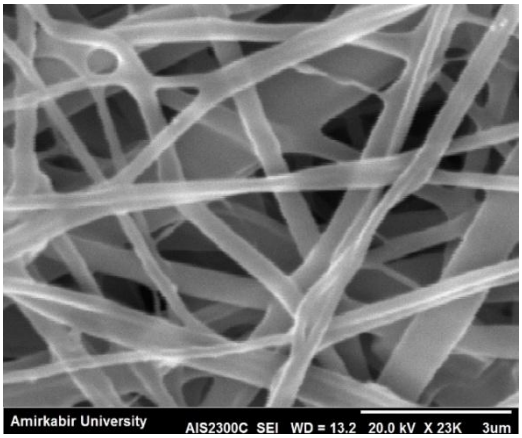
[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231]
Downloaded from hrjbaq.ir at 21:58 +0430 on Sunday May 27th 2018

نتایج

مورفولوژی نانوداربست PANi/PCL/Gel با استفاده از میکروسکوپ الکترونی

تصویر ۱، تصویر گرفته شده از نانوالیاف الکتروریسی شده PANi/PCL/Gel را نشان می‌دهند. داربست‌های PANi/PCL/Gel ساختاری متخلل و بدون نقص داشته و قطر الیاف ۲۴۰-۳۰۰ نانومتر بودند





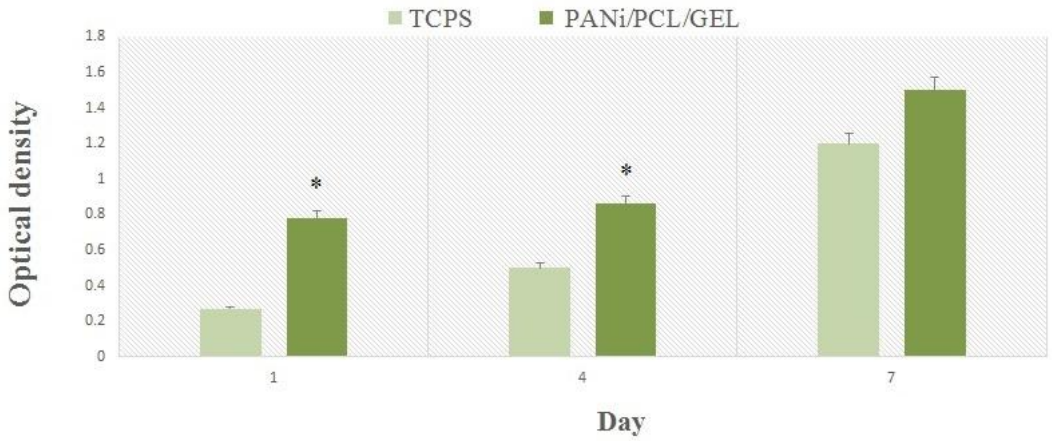
تصویر ۱. تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نمونه نانو داربست PANi/PCL/Gel. (Scale bar: 3µm, 5 µm)

انجام تیمار پلاسما برای آب دوست کردن سطح نانوداربست ها از طریق اندازه گیری زاویه تماس

برای بررسی تأثیر پلاسما بر آبدوست کردن سطوح نانوفیبر یک نمونه از نانو داربست پلاسما نشده و یک نمونه از پلاسما شده با برای مقایسه زاویه تماس مورد بررسی قرار گرفت. نمونه داربستی که پلاسما نشده بود زاویه‌ای حدود ۹۰ درجه تشکیل داده و نانو داربست پلاسما زاویه‌ای که تشکیل داد صفر درجه بود. این آزمون نشان می‌دهد که حضور گروه‌های عاملی O_2 ناشی از انجام پلاسما به طور قابل ملاحظه‌ای سطوح نانوداربست ها را آب دوست کرده است.

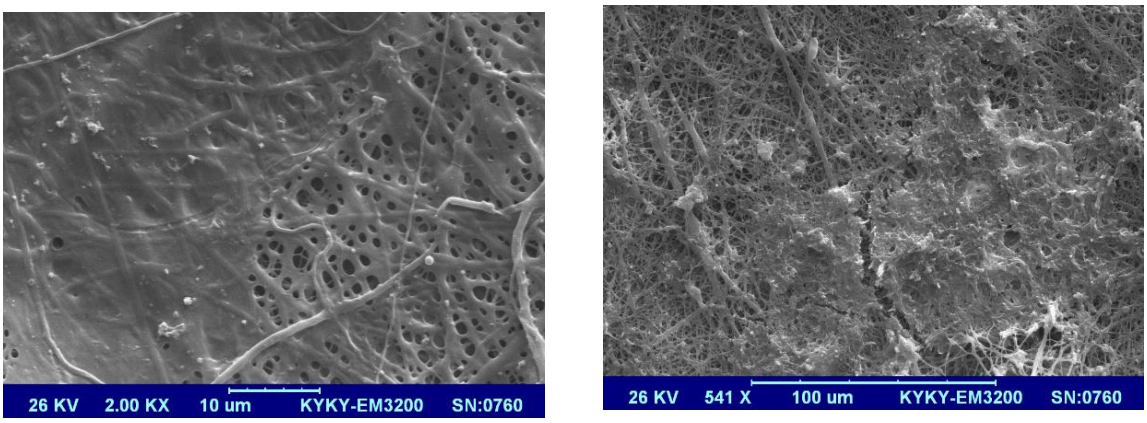
بررسی بقاء بوسیله آنالیز MTT

تصویر ۲ نتایج آزمون MTT و میزان تکثیر و رشد سلول‌های فیبروبلاستی را در تماس با داربست‌های PANi/PCL/Gel نشان می‌دهد. زیست‌سازگاری داربست‌ها از طریق آزمایش میزان فعالیت متابولیکی میتوکندریایی توسط روش MTT که نشان‌دهنده رشد و تکثیر سلولها بر روی پلیت کشت می‌باشد مشخص گردید. در روز اول و چهارم تفاوت چشمگیری میان گروه‌های فیبر دار و گروه کنترل مشاهده گردید. در روز هفتم این تفاوت به کمترین مقدار رسید. یک دلیل برای کاهش فاصله در روز هفتم می‌تواند تکثیر زیاد سلول‌ها بر روی داربست و مرگ و میر ناشی از کاهش فضا، مواد غذایی، اکسیژن باشد.



تصویر ۲. نتایج تست MTT برای نانو داربست PANi/PCL/Gel برای روزهای ۱،۴ و ۷ (n=3 و P value < 0.05) علامت * نشان دهنده اختلاف معنادار میان دو گروه است.

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231]
Downloaded from hrjbaq.ir at 21:58 +0430 on Sunday May 27th 2018



تصویر ۳. تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نمونه نانو داربست PANi/PCL/Gel که سلول‌های SNL به مدت هفت روز بر روی آن‌ها کشت و رشد پیدا کردند (scale bar:10µm,100 µm)

بررسی مورفولوژی سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM

تصویر ۳ تصویر گرفته شده از داربست PANi/PCL/Gel که سلول‌های فیبروبلاستی بر روی آن‌ها بعد از ۷ روز کشت داده شده‌اند را نشان می‌دهد. با توجه به تصویر میکروسکوپ الکترونی، سلول‌ها به خوبی بر روی داربست‌ها رشد و مهاجرت پیدا کرده‌اند.

بحث

درمهندسی بافت، استفاده از داربست‌های جایگزین به منظور ترمیم بافت آسیب دیده یکی از مواردی است که امروزه بسیار مورد توجه است. از دلایل قابل اهمیت آن، یکی عدم موفقیت کامل پیوند بافت از شخصی به شخص دیگر به دلیل پاسخ‌های ایمنولوژیک و پس زده شدن بافت توسط سیستم ایمنی بدن میزبان است و دیگری، دشواری برداشت بافت از خود شخص و پیوند آن به نقطه دیگری از بدن است که نیازمند دو یا چند بار جراحی مشکل می‌باشد. از این رو نیاز به مهندسی بافت و تولید داربست از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی بیشتر از پیش احساس می‌شود. [۳, ۱۶, ۱۷] پیشرفت‌های اخیر در زمینه مهندسی بافت به منظور غلبه بر محدودیت‌های روش‌های مرسوم پیوند عضو است [۱۸]. در این زمینه توانایی بالقوه برای ساخت عضو و بافت‌های مصنوعی وجود دارد به طوری که بافت و عضو پیوند زده شده پس از پیوند، همراه با فرد گیرنده رشد کند. با این روش راه حل دایمی برای درمان بافت‌های آسیب دیده وجود دارد، به طوری که نیازی به درمان‌های مکمل نبوده و در نتیجه هزینه درمان بسیار کاهش می‌یابد [۱۹]. تاکنون مهندسی بافت برای ترمیم بسیاری از بافت‌ها مانند استخوان، غضروف، رگ خونی و پوست به کار رفته است. یک بافت برای انجام عمل خود یک سری ویژگی‌های ساختمانی و مکانیکی دارد. بدین منظور برای به دست آوردن این شرایط در مهندسی بافت، از سلول‌هایی که در داخل یک سیستم پشتیبانی مصنوعی قرار دارند، استفاده می‌کنند. سلول‌ها اغلب در داخل ساختارهای مصنوعی کاشت یا جای داده می‌شوند که این ساختارها قادر به تقلید و حمایت از ساختار سه بعدی بافت است. این ساختار داربست نامیده می‌شود که هم به صورت in vivo و هم ex vivo به کار برده می‌شود. در هر دو حالت، داربست تقلیدی از بافت زنده در داخل بدن است که در این حالت به سلول‌های کاشت شده اجازه داده می‌شود روی میکرومحیط اطراف خود تأثیر بگذارند. داربست‌های زیستی با استفاده از مواد زیست سازگار و تخریب پذیر به دست می‌آید. ساختار این داربست‌ها باید تا حد امکان به بافت منطقه کاشت شبیه باشد. بدین ترتیب بازسازی و بهبود بافت صدمه دیده از لحاظ کیفی و کمی افزایش می‌یابد. ساختمان داربست به صورت ماتر یکس متخلخلی است که این تخلخل به چسبندگی و جای گیری بهتر سلول‌ها کمک می‌کند. اندازه و شدت تخلخل قابل کنترل است. باید گفت اصلی‌ترین بخش کار طراحی داربست است که در این طراحی اندازه حفرات، شدت تخلخل و درجه تخریب پذیری تعیین می‌شود، به طوری که تا رسیدن به زمان تخریب مقاوم به تنش‌های ناحیه‌ای بوده و این فشارها را در کل ناحیه لانه گزینی به صورت همگون و مساوی پخش کند [۲۰]. داربست‌های نانوفیبری می‌توانند از ساختار بیولوژیکی و بیوشیمیایی ECM تقلید کنند و در تکثیر، چسبندگی و تمایز سلول‌های مؤثر باشند. این داربست‌های نانوفیبری باعث پیشرفت مهندسی بافت و پزشکی بازساختی شده‌اند [۲۱]. اخیراً داربست‌های نانوفیبری الکتروریسی شده برای مهندسی بافت استفاده شده‌اند [۵, ۲۲]. مواد طبیعی و سنتزی می‌توانند برای ساخت داربست‌های نانو فیبری استفاده شوند. برای بسیاری از کارهای زیستی، زیست سازگاری و کارایی بالا

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231]
Downloaded from hrjbaq.ir at 21:58 +0430 on Sunday May 27th 2018

مهمترین ویژگی‌های مورد نیاز می‌باشند. در مقایسه با پلیمرهای مصنوعی، پلیمرهای طبیعی از زیست سازگاری تقریبی بالاتری برخوردار هستند و بنابراین برای به کار گیری در محیط بدن موجود زنده مناسب‌تر می‌باشند [۲۲]. ژلاتین به عنوان پلیمری طبیعی می‌تواند با استفاده از حلالی مناسب، با پلیمرهای دیگر ترکیب شده و نانوفیبرهای بسیار مطلوبی را به وجود آورد. در کنار زیست سازگار بودن مواد، زیست تخریب پذیری پلیمرها در دامنه کاربرد زیستی آن‌ها نقش کلیدی را ایفا می‌نماید. دلیل این امر کاهش اثر منفی بر روی سلول‌ها و بافت در طول فرآیندهای زیستی می‌باشد. در مقایسه با دیگر پلیمرهای زیست تخریب پذیر، پلی کاپرو لاکتون روند تخریب کندی دارد. استفاده از هر یک پلیمرهای ژلاتین به عنوان پلیمر طبیعی و پلی کاپرولاکتون به عنوان پلیمر سنتزی به تنهایی دارای محدودیت‌هایی هست برای مثال ژلاتین در محیط آبی پایدار نبوده و همچنین پلی کاپرولاکتون آب گریز است، بنابراین تولید داربست‌های کامپوزیتی از پلیمرهای سنتزی برای تأمین مقاومت و پلیمرهای طبیعی برای افزایش چسبندگی سلولی و رشد سلول‌ها می‌تواند داربستی با مشخصات مناسب را بوجود بیاورد. تحقیقاتی نشان دادند که ژلاتین چسبندگی و تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد و با PCL هم به راحتی ترکیب می‌شود [۲۳]. پلی آنیلین، پلیمری نیمه رسانا است که اخیراً در مهندسی بافت از این پلیمر بسیار استفاده شده است، بخصوص در مهندسی بافت عصب و از تأثیر این پلیمر بر روی سلول‌های عصب گزارش داده‌اند [۱۵, ۲۴]. پلی آنیلین پلیمری است که نمی‌توان آن را به تنهایی الکتروریسی کرد و باید آن را با پلیمری دیگر حل کرده و سپس الکتروریسی را انجام داد. در روش Plasma treatment از گازهایی چون O_2، N_2 و NH_3 برای قراردادن گروه‌های فعال شیمیایی به درون یک سوبسترا یا برای ایجاد رادیکال برای پیوند عرضی استفاده می‌شود [۲۵]. در تحقیق حاضر ما سطح داربست‌های پلی کاپرولاکتون-ژلاتین-پلی آنیلین را با گاز O_2 و با روش Plasma treatment اصلاح شدند که پس از انجام تست اندازه گیری زاویه تماس نمونه‌های قبل از پلاسما و نمونه‌های بعد از انجام پلاسما مشخص شد که نمونه‌ها آبدوست شدند، که این می‌تواند بر چسبندگی سلول به داربست نیز کمک کند [۲۶]. در تحقیقی که Ghasemi-Mobarakeha و همکارانش بر روی داربست پلی کاپرولاکتون-ژلاتین انجام دادند این داربست را برای رشد و تکثیر سلول‌های C17.2 که سلول‌های عصبی هستند استفاده کردند و این داربست را برای استفاده در مهندسی بافت عصب مناسب دانستند [۲۳]. در مطالعه‌ای نیز داربست پلی کاپرولاکتون-ژلاتین برای بازسازی ورشد سلول‌های پوست استفاده شد که آن تحقیق نیز از مفید بودن این داربست گزارش می‌داد [۱۳]. Jun و همکارانش در تحقیق خود داربست PCL/PANi را آماده کردند و تأثیر این داربست را بر روی سلول‌های میوبلاستی C2C12 راد بر روی آن کشت دادند و به این نتیجه رسیدند که این داربست مناسب برای مهندسی بافت بوده و باعث افزایش چسبندگی سلولی، تکثیر و مهاجرت سلول می‌شود و این خواص با افزایش PANi در داربست بیشتر می‌شدند [۲۷].-Ghasemi Mobarakeha و همکاران، داربست کامپوزیتی PCL/Gel به همراه PANi ساختند و سلول‌های عصب را بر روی آن‌ها کشت دادند و مشاهده کردند که سلول‌های عصب به داربست چسبیده بودند و تکثیر بیشتری نسبت به پلیت خالی از خود نشان دادند [۲۴] در تحقیق حاضر سعی کردیم پلی آنیلین را با پلی کاپرولاکتون-ژلاتین ترکیب کرده تا داربستی تولید کنیم که زیست سازگار باشد و هم بتواند از سلول‌ها حمایت کند. پس از آنالیز نتایج MTT عکس SEM سلول‌های SNL بر روی داربست، زیست سازگاری و چسبندگی سلولی مشخص شد و این داربست می‌تواند برای کاربردهای مختلف مهندسی بافت مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده در این تحقیق به وضوح بیانگر کارایی بالای نانو داربست‌های کامپوزیتی الکتروریسی شده PANi/PCL/Gelدر رشد سلول‌ها و تکثیر سلول‌های SNL می‌باشند و همچنین این داربست گزینه‌ای مناسب برای مهندسی بافت است

.

References

1. Griffith LG. Emerging design principles in biomaterials and scaffolds for tissue engineering. Ann N Y Acad Sci. 2002;961:83-95. PMID: 12081872
2. Holland TA, Mikos AG. Biodegradable polymeric scaffolds. Improvements in bone tissue engineering through controlled drug delivery. Adv Biochem Eng Biotechnol. 2006;102:161-85. PMID: 17089790
3. Schmidt CE, Leach JB. Neural tissue engineering: strategies for repair and regeneration. Annu Rev Biomed Eng. 2003;5(1):293-347. DOI: 10.1146/annurev.bioeng.5.011303.120731 PMID: 14527315
4. Yang F, Murugan R, Ramakrishna S, Wang X, Ma YX, Wang S. Fabrication of nano-structured porous PLLA scaffold intended for nerve tissue engineering. Biomaterials. 2004;25(10):1891-900. PMID: 14738853
5. Yang F, Xu CY, Kotaki M, Wang S, Ramakrishna S. Characterization of neural stem cells on electrospun poly(L-lactic acid) nanofibrous scaffold. J Biomater

[DOI: 10.18869/acadpub.hrjbaq.1.4.231]
Downloaded from hrjbaq.ir at 21:58 +0430 on Sunday May 27th 2018

Sci Polym Ed. 2004;15(12):1483-97. PMID: 15696794
6. Xu CY, Inai R, Kotaki M, Ramakrishna S. Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering. Biomaterials. 2004;25(5):877-86. PMID: 14609676
7. Ma PX. Scaffolds for tissue fabrication. Material Today. 2004;7(5):30-40. DOI: 10.1016/S1369-7021(04)00233-0
8. Ma Z, Kotaki M, Inai R, Ramakrishna S. Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. Tissue Eng. 2005;11(1-2):101-9. DOI: 10.1089/ten.2005.11.101 PMID: 15738665
9. Ashammakhi N, Ndreu A, Yang Y, Ylikauppila H, Nikkola L, Hasirci V. Tissue engineering: a new take-off using nanofiber-based scaffolds. J Craniofac Surg. 2007;18(1):3-17. DOI: 10.1097/01.scs.0000236444.05345.53 PMID: 17251828
10. Ciardelli G, Chiono V, Vozzi G, Pracella M, Ahluwalia A, Barbani N, et al. Blends of poly-(epsilon-caprolactone) and polysaccharides in tissue engineering applications. Biomacromolecules. 2005;6(4):1961-76. DOI: 10.1021/bm0500805 PMID: 16004434
11. Kim CH, Khil MS, Kim HY, Lee HU, Jahng KY. An improved hydrophilicity via electrospinning for enhanced cell attachment and proliferation. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2006;78(2):283-90. DOI: 10.1002/jbm.b.30484 PMID: 16362963
12. Li WJ, Cooper JA, Jr., Mauck RL, Tuan RS. Fabrication and characterization of six electrospun poly(alpha-hydroxy ester)-based fibrous scaffolds for tissue engineering applications. Acta Biomater. 2006;2(4):377-85. DOI: 10.1016/j.actbio.2006.02.005 PMID: 16765878
13. Chong EJ, Phan TT, Lim IJ, Zhang YZ, Bay BH, Ramakrishna S, et al. Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. Acta Biomater. 2007;3(3):321-30. DOI: 10.1016/j.actbio.2007.01.002 PMID: 17321811
14. Koh HS, Yong T, Chan CK, Ramakrishna S. Enhancement of neurite outgrowth using nano-structured scaffolds coupled with laminin. Biomaterials. 2008;29(26):3574-82. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.05.014 PMID: 18533251
15. Qazi TH, Rai R, Boccaccini AR. Tissue engineering of electrically responsive tissues using polyaniline based polymers: a review. Biomaterials. 2014;35(33):9068-86. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.07.020 PMID: 25112936
16. Evans GR, editor Challenges to nerve regeneration. Seminars in Surgical Oncology; 2000: Wiley Online Library.
17. Yang F, Murugan R, Wang S, Ramakrishna S. Electrospinning of nano/micro scale poly(L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. Biomaterials. 2005;26(15):2603-10. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.06.051 PMID: 15585263
18. Vasita R, Katti DS. Nanofibers and their applications in tissue engineering. Int J Nanomedicine. 2006;1(1):15-30. PMID: 17722259
19. Hashemi Z, Soleimani M. [Tissue Engineering Scaffolds: History, Types and Construction Methods]. J Iran Anatomic Sci. 2011;9(35):146-68.
20. Cheung H-Y, Lau K-T, Lu T-P, Hui D. A critical review on polymer-based bio-engineered materials for scaffold development. Compos Part B Engin. 2007;38(3):291-300. DOI: 10.1016/j.compositesb.2006.06.014
21. Sun C, Jin X, Holzwarth JM, Liu X, Hu J, Gupte MJ, et al. Development of channeled nanofibrous scaffolds for oriented tissue engineering. Macromol Biosci. 2012;12(6):761-9. DOI: 10.1002/mabi.201200004 PMID: 22508530
22. Schnell E, Klinkhammer K, Balzer S, Brook G, Klee D, Dalton P, et al. Guidance of glial cell migration and axonal growth on electrospun nanofibers of poly-epsilon-caprolactone and a collagen/poly-epsilon-caprolactone blend. Biomaterials. 2007;28(19):3012-25. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.03.009 PMID: 17408736
23. Ghasemi-Mobarakeh L, Prabhakaran MP, Morshed M, Nasr-Esfahani MH, Ramakrishna S. Electrospun poly(epsilon-caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. Biomaterials. 2008;29(34):4532-9. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.08.007 PMID: 18757094
24. Ghasemi-Mobarakeh L, Prabhakaran MP, Morshed M, Nasr-Esfahani MH, Ramakrishna S. Electrical stimulation of nerve cells using conductive nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. Tissue Eng Part A. 2009;15(11):3605-19. DOI: 10.1089/ten.TEA.2008.0689 PMID: 19496678
25. Chua KN, Chai C, Lee PC, Ramakrishna S, Leong KW, Mao HQ. Functional nanofiber scaffolds with different spacers modulate adhesion and expansion of cryopreserved umbilical cord blood hematopoietic stem/progenitor cells. Exp Hematol. 2007;35(5):771-81. PMID: 17577926
26. Yang J, Bei J, Wang S. Improving cell affinity of poly (D, L-lactide) film modified by anhydrous ammonia plasma treatment. Polymer Adv Technol. 2002;13(3-4):220-6. DOI: 10.1002/pat.177
27. Jun I, Jeong S, Shin H. The stimulation of myoblast differentiation by electrically conductive sub-micron fibers. Biomaterials. 2009;30(11):2038-47. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.063 PMID: 19147222