الیاف

الیاف الکتروریسی شده پلی لاکتیک اسید به‌عنوان داربست

الهام نقاش زرگر /گروه مهندسی نساجی دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه بناب

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی رفتار سلولی نخ ابریشمی پوشش داده شده با نانو الیاف پلی لاکتیک اسید می باشد. به این منظور نانو الیاف پلی لاکتیک اسید در شرایط بهینه تولیده شده و بعد از پوشش دهی بر روی سطح نخ های ابریشمی مورد بررسی قرار گرفتند.

در نهایت ارزیابی سلولی سازگاری داربست‌های متشکل از ابریشم و پلی لاکتیک اسید با استفاده از سلول‌های به روش مستقیم و غیرمستقیم انجام و عدم سمیت سلولی داربست‌ها اثبات شد.

رشد سلولی بهتر داربست۹۲۹ L فیبروبلاست متشکل از ابریشم و پلی لاکتیک اسید در مقایسه با داربست نخ ابریشمی بیانگر تاثیر مثبت الیاف الکتروریسی شده پلی لاکتیک اسید در ساختار می‌باشد.

۱- مقدمه

امروزه استفاده از داربست‌های نانوالیاف در مهندسی بافت از اهمیت زیادی برخوردار است. داربست‌های مهندسی بافت با ساختار نانو، آرایش فضایی سه بعدی داشته و یک ساختار منحصر به فرد بیولوژیکی و شیمیایی جهت رشد سلول‌ها را ایجاد می کنند. داربست‌های نانوالیاف دارای نسبت سطح به حجم و تخلخل بالا می‌باشند که این امر باعث افزایش چسبندگی سلول‌ها به سطح آنها می گردد.

با توجه به این که مهاجرت، تکثیر و تمایز به میزان چسبندگی سلول‌ها بستگی دارد، ارزش این عوامل با به کارگیری داربستهای نانوالیاف افزایش خواهد یافت.

روش الکتروریسی در مقایسه با دیگر روش‌های شکل‌گیری الیاف مانند روش‌های جدایش فاز و خودگردآوری شونده، روش ساده‌تر و موثرتری جهت تولید داربست‌های مهندسی بافت با ساختار متخلخل و قطر الیاف از میکرو تا نانو با استفاده از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی معرفی شده است.

الکتروریسی یک روش ساده با کاربرد وسیع جهت تولید الیاف از قطر ۲ نانومتر تا چند میکرون از پلیمر مذاب یا محلول پلیمرهای طبیعی، مصنوعی و یا مخلوطی از هر دو در دهه‌های گذشته میباشد. هدف کلی از فرآیند الکتروریسی تولید الیاف متخلخل در مقیاس نانو با سطح مخصوص بالا جهت طراحی داربست‌های مهندسی بافت، نانوکاتالیست‌ها، لباس‌های محافظتی، فیلتراسیون و غیره می‌باشد.

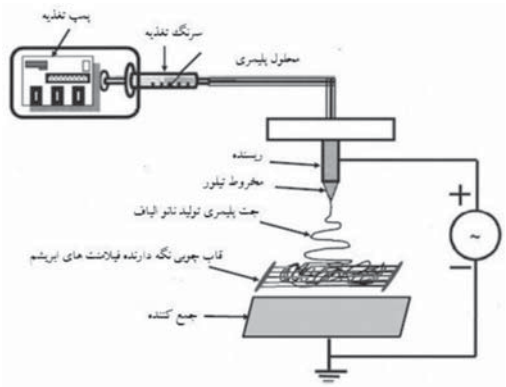
از بین مواد مصرفی در کاربردهای تهیه داربست مهندسی بافت، دو نوع پلیمر ابریشم و پلی لاکتیک اسید از جذابیت زیادی برخوردارند. ابریشم از نظر کلینیکی برای دهه‌ها به عنوان نخ بخیه مورد استفاده بوده و به تازگی به عنوان یک بیوماده در مهندسی بافت مورد توجه قرار گرفته است.

خواص مکانیکی منحصر به فرد، زیست‌سازگاری خوب، نرخ تخریب آرام، ثبات محیطی مناسب در ساختار ثانویه بتا شیت، پیوندهای هیدروژنی زیاد و طبیعت آبگریز، ابریشم را یک بیوماده پلیمری جذاب برای کاربرد رهایش کنترل شده دارو و مهندسی بافت کرده است.

داربست‌های ابریشمی با توانایی اتصال، تکثیر و تمایز سلولی در محیط خارج بدنی و بهبود روند ترمیم بافت در محیط درون بدنی جهت مهندسی بافت‌هایی مانند استخوان، لیگامنت و غضروف و نیز بافت‌های همبندی مانند پوست استفاده می‌شوند.

از میان نانوالیاف الکتروریسی شده زیست‌سازگار، نانوالیاف پلی لاکتیک اسید می‌تواند خصوصیاتی را فراهم کند که مورد علاقه برای کاربردهای پزشکی است. با ترکیب خصوصیات عالی ذاتی پلی لاکتیک اسید با خصوصیات منحصر به فرد ساختار نانوالیافی، یک ماده امیدبخش برای کاربردهای پزشکی فراهم می‌شود، به عبارت دیگر برای بازسازی هم بافت‌های سخت و هم بافت نرم بدن می‌تواند به کار گرفته شود. اندازه تخلخل و داشتن ساختار سه بعدی یک غشای نانوالیافی پلی لاکتیک اسید تقلیدی از ماتریس خارج سلولی طبیعی می‌باشد. از این‌رو می‌تواند چسبندگی، رشد، تکثیر و تمایز سلولی را بهبود ببخشد.

برای مثال داربست نانوالیافی پلی لاکتیک اسید قویا رشد سلول‌های فیبروبلاست، کراتینوسیت‌ها و پریوستال را حمایت کرده است، علاوه بر این نشان داده شده است که نانوالیاف پلی لاکتیک اسید قادر است گستره وسیعی از انواع سلول‌ها را حمایت کند.هدف از این مطالعه، بررسی رفتار سلولی نخ ابریشمی پوشش داده شده با نانو الیاف پلی‌لاکتیک اسید می باشد. به این منظور نانو الیاف پلی‌لاکتیک اسید در شرایط بهینه تولیده شده و بعد از پوشش دهی بر روی سطح نخ‌های ابریشمی مورد ارزیابی سلولی قرار خواهند گرفت.



شکل ۱- نمای شماتیک تولید نخ ابریشم/نانو پلی لاکتیک اسید

۲-مواد و روش

نخ ابریشمی مورد استفاده در این مطالعه متشکل از ۲۵۶ مونوفیلامنت بوده که با تابی معادل ۱۵۰ تاب بر متر در کنار هم قرار گرفته‌اند. نیروی پارگی، ازدیاد طول تا حد پارگی و نمره نخ ۱۱,۱ نیوتن، ۲۲,۵ درصد و ۰۲۰ دنیر اندازه گیری شد.

پلی لاکتیک اسید مورد استفاده نیز با وزن مولکولی متوسط ۹۰۰۰۰ – ۱۲۰۰۰۰ گرم بر مول خریداری گردید. جهت تولید نانو الیاف پلی لاکتیک اسید از حلال دی‌کلرومتان و دی متیل فرمآلدئید با نسبت ۳ به ۱ استفاده شده و در ادامه پارامترهای متغیر الکتروریسی بررسی و بهینه گردید.

نانو الیاف بهینه در شرایط غلظت ۱۵ درصد، اختلاف ولتاژ ۱۲ کیلو ولت، فاصله ریسندگی ۱۲ سانتیمتر و نرخ تغذیه ۵۰. میلی لیتر بر ساعت به دست آمد. قطر متوسط نانو الیاف تولید شده، با کمک آنالیز تصاویر میکروسکوپ الکترونی بررسی شد.بعد از تولید نانو الیاف پلی لاکتیک اسید در شرایط بهینه، نخ ابریشم/نانو پلی‌لاکتیک اسید تولید شد. به این منظور فیلامنت‌های ابریشمی به موازات هم در حد فاصل بین ریسنده و جمع کننده در زیر دستگاه الکتروریسی قرار گرفت.

بعد از انجام عملیات پوشش دهی، فیلامنت‌های ابریشمی پوشش داده شده با نانو الیاف با دستگاه تابندگی دستی به دور یکدیگر تاب خورده و نخ ابریشم/نانو پلی‌لاکتیک اسید تولید گردید. در شکل ۱ نمای شماتیک تولید نخ ابریشم/نانو پلی لاکتیک اسید آمده است.

۳-نتایج و بحث

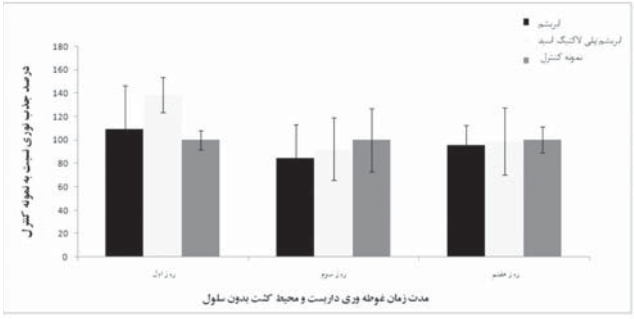
خواص مورفولوژیکی نانو الیاف پلی لاکتیک اسید و نخ ابریشم/نانو پلی لاکتیک اسید با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی قرار گرفت.

در شکل ۲ تصویر نانو الیاف الکتروریسی شده پلی لاکتیک اسید در شرایط بهینه آمده است. قطر متوسط الیاف در این حالت ۱,۲۰۵ میکرون با ضریب تغیرات ۰,۲۳۴ اندازه گیری شد. بعد از تعیین شرایط بهینه تولید نانو الیاف، نخ ابریشم/ نانو پلی لاکتیک اسید مطابق با روش توضیح داده شده در شکل ۱ تولید گردید.

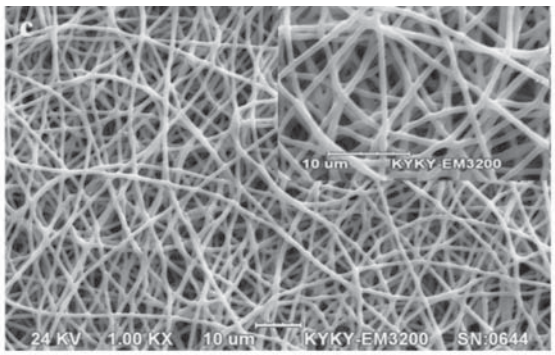
جهت بررسی میزان سازگاری سلولی از دو روش مستقیم و غیرمستقیم استفاده گردید. در روش غیرمستقیم، عصاره گرفته شده از محیط کشت بعد از ۱ ، ۳ و ۷ روز از زمان انکوبه شدن سلول‌های فیبروبلاست L929 مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان سمیت سلولی هر نمونه داربست ابریشمی و داربست ابریشم/ نانو الیاف پلی لاکتیک اسید نسبت به نمونه کنترل ارزیابی و گزارش شد.

در شکل ۳ – ۲۴ میزان درصد جذب هر نمونه نسبت به نمونه کنترل پس از ۱ ، ۳ و ۷ روز از زمان انکوبه شدن آمده است.

پس از تجزیه وتحلیل آماری نتایج به دست آمده از میزان زنده ماندن سلول‌ها در



شکل ۳- میزان زنده ماندن سلول‌های در تماس با عصاره داربست ها بعد از ۲۴ ساعت از زمان انکوبه شدن



شکل ۲- نانو الیاف پلی لاکتیک اسید تولید شده با روش الکتروریسی در شرایط بهینه

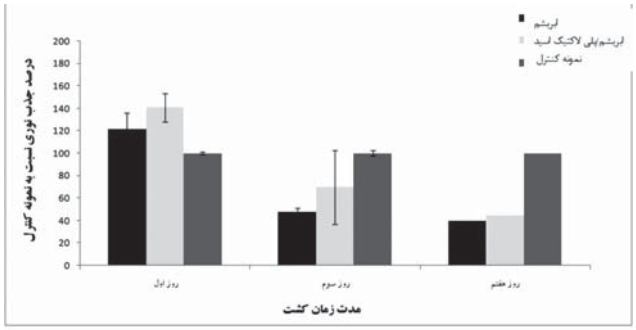
مقایسه با نمونه کنترل، هیچ گونه اختلاف معناداری بین داربستها و نمونه کنترل و از طرفی بین خود داربستها مشاهده نشد($P>0.01$) این امر بیانگر سلول سازگاری مناسب داربست‌ها به روش غیرمستقیم می‌باشد. با توجه به شکل ۳ میزان زنده بودن سلولی در روز اول بیشتر از صد درصد بوده و درصد رشد از نمونه کنترل بیشتر است. شکل ۴ سلول سازگاری نمونه‌ها را به روش مستقیم پس از ۱ و ۳ و ۷ روز نشان میدهد. در روز اول از زمان کشت سلول به روش مستقیم، هر دو درصد بالایی از رشد سلولی را نشان می‌دهند که بیشتر از صد درصد می‌باشد.

این میزان رشد سلولی از روز اول تا روز هفتم روند برعکس داشته و کاهش چشمگیری دارد. از مقایسه روند رشد سلولی داربست ابریشم/ نانو الیاف پلی لاکتیک اسید در مقایسه با داربست ابریشمی، اختلاف معناداری از نظر آماری بین نمونه‌ها مشاهده می‌گردد ($P<0.05$) روند رشد سلولی در نمونه ابریشمی در مقایسه با نمونه حاوی نانوالیاف بیانگر تاثیر مستقیم الیاف الکتروریسی بوده و تاثیر مثبت الیاف الکتروریسی شده پلی لاکتیک اسید در رشد و تکثیر سلولی نیز قابل اثبات است.

٤-نتیجه گیری

هدف از این مطالعه، بررسی رفتار سلولی نخ ابریشمی پوشش داده شده با نانو الیاف پلی لاکتیک اسید می باشد. ارزیابی سلولی سازگاری داربستهای متشکل از ابریشم و پلی لاکتیک اسید با استفاده از سلول‌های فیبروبلاست L929 به روش مستقیم و غیرمستقیم انجام و عدم سمیت سلولی داربستها اثبات شد.

رشد سلولی بهتر داربست متشکل از ابریشم و پلی لاکتیک اسید در مقایسه با داربست نخ ابریشمی بیانگر تاثیر مثبت الیاف الکتروریسی شده پلی لاکتیک اسید در ساختار می‌باشد.



شکل ۴- روند رشد و تکثیر سلول‌ها به صورت مستقیم بر روی نمونه ها