تهیه نانوالیاف لایه‌ای از ترکیب پلـی وینیل الکل/عصاره درخت انجیلی و پلی کاپرولاکتن

به منظور کاربرد در ترمـیم زخم

نانو تکنولوژی

مرضیه رنجبر محمدی[1] | مهسا شیرعلی‌پور[1]

چکیده

در سال های اخیر توجه طیف وسیعی از دانشمندان به سمت تولید داربست‌های زیست تخریب پذیر و زیست سازگار جهت ترمیم و جایگزینی بافت‌های آسیب دیده جلب شده است.

استفاده از مواد طبیعی حاصل از عصاره‌های گیاهی در ساختار داربست‌های زیستی در کارهای اخیر مورد بررسی قرار گرفته است. در این مقاله از صمغ حاصل از درخت انجیلی (Parrotia perscia) جهت بررسی قابلیت استفاده از آن در ساخت داربست استفاده شد. داربست‌های تهیه شده به روش لایه به لایه تهیه شدند.

به این منظور که یک لایه از پلیمر پلی وینیل الکل با مقدار مشخصی از صمغ ریسیده شده و سپس یک لایه پلی‌کاپرولاکتن بر روی آن ریسیده شد و این عمل یک بار دیگر تکرار گردید. در نهایت خصوصیات مورفولوژیکی و آب‌دوستی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱- مقدمه

در میان نانومواد تک بعدی مختلف، نانو الیاف توجه زیاد را به خود جلب کرده‌اند. هنگامی که قطر الیاف از میکرومتر به نانومتر کاهش می‌یابد ویژگی‌هایی نظیر نسبت سطح به حجم بالا، تخلخل زیاد و انعطاف‌پذیری در سطح عامل پدیدار می‌شود این خصوصیات برجسته باعث می‌شود نانوالیاف در تهیه بافت‌های مهندسی، پوشش‌های زخم، لایه‌های جاذب و رهایش دارو به کار روند .

چنانچه بافت‌های نانوالیافی حاوی سلول‌های کشت داده شده، به بدن بیمار پیوند زده شوند؛ باعث ترمیم بافت‌های آسیب دیده خواهند شد. چنانچه از لایه نانوالیاف برای پوشش زخم استفاده شود، تشکیل پوست در ناحیه آسیب تسریع می شود.

در این پوشش‌های نانولیفی به دلیل تخلخل زیاد و خاصیت ذاتی، میزان تبخیر آب کنترل شده و نفوذپذیری اکسیژن مناسب است همچنین خاصیت ضدعفونی کردن بهبود بخشیده می‌شود. استفاده از مواد طبیعی جدید حاصل از گیاهان در سال‌های اخیر مورد توجه بوده است.

درخت Parrotia perscia ، یکی از عناصر کم‌نظیر گیاهی باقی مانده از دوران سوم زمین شناسی در شمال ایران است که خاصیت آن در درمان ناراحتی‌های مختلف پوستی مانند زخم ها ، بریدگی‌ها ، پاره شدگی‌ها، آماس و التهابات موضعی به اثبات رسیده است.

در این مقاله، بررسی امکان تولید داربستی از نانوالیاف حاوی عصاره درخت انجیلی و خواص مورفولوژیک آن مورد بررسی قرار می گیرد.

در ابتدا نانوالیاف مورد نظر با استفاده از شیوه الکتروریسی و به روش ساندویچی تولید شده و پس از بررسی خصوصیات نانوالیاف، امکان تولید داربست مناسب به منظور استفاده در زخم پوش‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

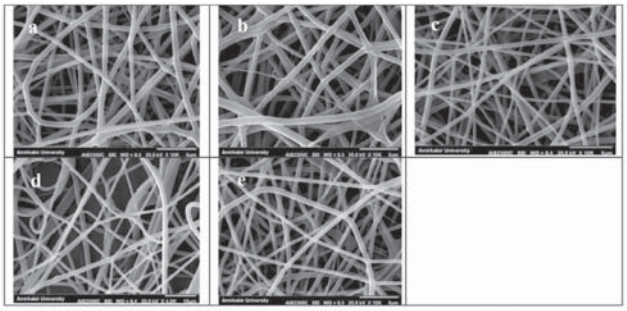
۲- تجربیات

جهت تهیه محلول های ریسندگی ابتدا PCL ۱۵ درصد در حلال استیک اسید ۹۰ درصد آماده گردید.

PVA با غلظت ۱۰ درصد در حلال آب مقطر آماده گردید.

در ابتدا غلظت ۵ ، ۱۰ و ۲۰ و ۵۰ درصد وزنی از عصاره درخت انجیلی بر اساس وزن خشک پلیمر پلی وینیل الکل در آن بارگذاری شده و پس از هم‌زدن به مدت نیم ساعت و تهیه محلول همگن و یکنواخت، نانوالیاف مربوطه با روش الکتروریسی، تحت ولتاژ ۱۵ کیلوولت، نرخ تغذیه ۱ میلی لیتر در ساعت و فاصله ۱۴ سانتی متر تهیه شدند.

پس از تهیه الیاف مناسب، نانوالیاف حاوی مقدار بیشتری عصاره جهت تهیه الیاف نهایی مورد استفاده قرار گرفتند. به این منظور ابتدا نانوالیاف پلی کاپرولاکتن با نرخ تغذیه ۰/۷۵، و فاصله ۱۳ سانتی متر با ولتاژ ۱۵ کیلو ولت مورد الکتروریسی قرار گرفته و پس از سپری شدن ۴۰ دقیقه، نانوالیاف پلی وینیل الکل با عصاره درخت انجیلی با نرخ تغذیه ۱ میلی لیتر در ساعت به مدت ۴۰ دقیقه بر روی نانوالیاف پلی کاپرولاکتن اسپین شده تشکیل شدند. سپس الیاف پلی کاپرولاکتن و بعد آن الیاف پلی وینیل الکل به همراه عصاره در زمان مشابه بر روی ساختار تشکیل شده، ریسیده شدند.



شکل ۱. خصوصیات مورفولوژیکی a) PVA-5%، b) PVA-10%، c) PVA-20%، d) PVA-50%، e)نمونه لایه ای

شکل ۲. نتایج آبدوستی نمونه ها، A) پلی وینیل الکل/عصاره، B) نمونه لایه ای پلی وینیل الکل/عصاره و پلی کاپرولاکتن

نانوالیاف تشکیل شده برای انجام آزمایشات بیشتر مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند.

در مطالعه حاضر پتانسیل چسبندگی سلول‌های فیبروبلاست موشی رده L۹۲۹ بر روی داربست ساندویچی با استفاده از روش رنگ‌آمیزی DAPI صورت پذیرفت.

تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در روی پلیت های ۲۴ خانه پوشش داده شده با نانوالیاف کشت شد. به منظور انجام تست رنگ سنجی هسته با Dapi ، ۱۲ ساعت بعد از کشت، خانه های کشت داده شده با استفاده از PBS شستشو و با فرمالدهید ۴ درصد تثبیت گردیدند.

بعد از نفوذ پذیر کردن غشا به کمک ۰/۵درصد Triton X-۱۰۰ ، هسته های سلول توسط ماده ۴۰ - ۶ - diamidino-۲-phenylindole DAPI رنگ‌آمیزی و به کمک میکروسکوپ فلورسنت تصاویری از آنها تهیه گردید.

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱-نتایج مورفولوژیکی نمونه‌ها

خصوصیات مورفولوژیکی نمونه‌های مختلف پلی وینیل الکل به همراه عصاره و نمونه لایه لایه ای پلی‌کاپرولاکتن با پلی وینیل الکل و عصاره در شکل ۱ نشان داده شده است.

الیاف تهیه شده مورفولوژی صاف و همگنی داشته و نمونه پلی وینیل الکل با عصاره انجیلی با غلظت وزنی حدود ۲۰ درصد مورفولوژی الیاف بهتری داشته و با افزایش غلظت عصاره به حدود ۵۰ درصد، الیاف با تراکم کمتر و قطر بیشتری تولید می‌شوند.

نمونه لایه‌ای حاوی پلی کاپرولاکتن و پلی وینیل عصاره نیز مورفولوژی خوبی دارد. از آنجا که پلی وینیل الکل یک پلیمر کاملا آب‌دوست بوده و در آب حل می‌شود، لذا سعی گردید از پلیمر پلی کاپرولاکتن نیز جهت بخشیدن استحکام در محیط مایی استفاده گردد.

۳-۲-نتایج آبدوستی نمونه ها

شکل ۲، نتایج آبدوستی نمونه پلی وینیل الکل/ عصاره درخت انجیلی و نمونه لایه‌ای تهیه شده از پلی کاپرولاکتن و پلی وینیل الکل/عصاره درخت انجیلی را نشان می‌دهد.

همانطور که مشخص است نمونه پلی‌وینیل الکل/ عصاره درخت انجیلی زاویه آب‌دوستی حدود ۲۰ درجه را نشان می‌دهد اما در نمونه لایه ای، مقدار این زاویه به حدود ۳۵ درجه افزایش یافته است.

در اندازه گیری زاویه سعی گردید که از سه جای مختف اندازه گیری انجام شود. علت افزایش زاویه در نمونه لایه‌ای به دلیل حضور پلی کاپرولاکتن با خواص آبگریزی است.

اندازه زاویه نمونه لایه‌ای برای کاربرد های پوشش زخم مناسب بوده و این نمونه طبیعت آبدوستی دارد.

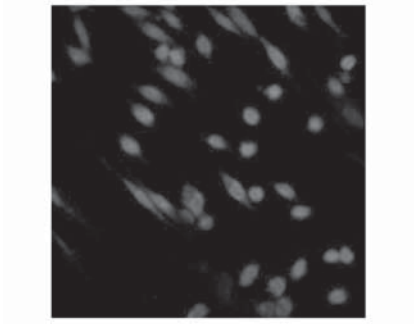
۳-۳-میزان چسبندگی سلول

در چند دهه اخیر استفاده از نانوالیاف مخلوط بر پایه پلیمرهای مصنوعی و طبیعی در مهندسی بافت به دلیل شباهت بالا به ماتریکس خارج سلولی به عنوان داربست مناسب برای بازسازی پوست بسیار مورد توجه بوده است. در ساخت داربست های سلولی، میزان چسبندگی سلول بر روی داربست به منظور شروع رشد سلول، یکی از مواردی است که باید مورد توجه قرار بگیرد.

پلیمرهای مصنوعی اگرچه از خاصیت مکانیکی بالایی برخوردار می باشند، اما به دلیل خاصیت آب‌دوستی، قادر به ایجاد مکان‌های مناسب برای چسبیدن سلول نیستند.

بر اساس مطالعات گذشته، اضافه کردن گروه های آبدوست هم چون مواد طبیعی عصاره‌ها باعث افزایش میزان چسبندگی سلول بر روی داربست می‌شوند.

تصاویر فلورسنت هسته‌های رنگ آمیزی شده سلول بعد از ۱۲ ساعت انکوباسیون نشان داد که، میزان چسبندگی سلول بر روی نانوالیاف ساندویچی، خاصیت چسبندگی سلولی مناسبی نشان دادند(شکل۳)



شکل۳. نتایج چسبندگی سلول های فیبروبلاست بر روی نمونه نهایی

٤ -نتیجه گیری

در این مقاله از عصاره انجیلی در ساختار نانوالیاف استفاده گردید. در ابتدا، عصاره انجیلی در ساختار نانوالیاف پلی وینیل الکل بارگذاری شده و غلظت بهینه ۲۰ درصد وزنی انتخاب گردید.

سپس نانوالیاف به صورت لایه‌ای ریسیده شده و در ساختار آنها از پلی کاپرولاکتون استفاده گردید.

این ساختارها خصوصیات آب‌دوستی و سلولی مناسبی نشان داده که می‌توانند به عنوان زخم پوش استفاده گردند.

پی‌نوشت

۱-گروه مهندسی نساجی دانشکده فنی مهندسی دانشگاه بناب