مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶

بررسی زیست سازگاری و واکنش سیستم ایمنی رت روی داربست‌های منفرد و مرکب نانوالیاف الکتروریسی شده PCL/PU جهت کاربرد در مهندسی بافت

نفیسه جیرفتی .Ph.D. Student[۱و۲]، داود محبی کلهری .Ph.D [۲و۳*]، غلامحسین کاظم‌زاده .Ph.D [۴و۵]، عبدالرضا صمیمی Ph.D.[۲]

۱- دانشجوی دکترا مهندسی شیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
۲- دانشگاه سیستان و بلوچستان، دانشکده مهندسی، گروه مهندسی شیمی، زاهدان، ایران
۳- آزمایشگاه مهندسی پزشکی (آزمایشگاه مرکزی) دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
۴- دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مرکز تحقیقات جراحی عروق، بیمارستان امام رضا، گروه جراحی عروق، مشهد، ایران
۵- دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مرکز تحقیقات انکولوژی جراحی، بیمارستان امام رضا، گروه جراحی عروق، مشهد، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: davoodmk@eng.usb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۵/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۱۹

چکیده

هدف: ساخت داربست‌های نانوالیافی منفرد و مرکب که علاوه بر داشتن حداقل فعل و انفعالات با بدن (عدم ایجاد واکنش سیستم ایمنی در بدن)، زیست سازگار بوده و شرایط بهینه‌ای را جهت رشد و تکثیر سلول‌ها فراهم نمایند.

مواد و روش‌ها: ابتدا با استفاده از روش الکتروریسی اقدام به ساخت ۳ نمونه ساختار نانوالیافی از پلیمرهای زیستی پلی‌کاپرولاکتان، پلی‌یورتان به‌صورت منفرد و پلی‌کاپرولاکتان/ پلی‌یورتان به‌صورت مرکب شد. نمونه‌ها با اتیلن اکساید به مدت ۱۴ ساعت سترون و جهت بررسی واکنش سیستم ایمنی در زیر پوست بدن ۱۲ رت کاشته شد. هم‌چنین جهت بررسی میزان رشد و تکثیر سلول‌ها، ساختارهای تولیدی توسط آزمون قابلیت حیات (MTT assay) مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: واکنش لوکالیزه، سیستمیک و عفونی شدن محل عمل تا پایان دوره با وجود عدم دریافت آنتی بیوتیک مشاهده نشد. پلیمر زیستی PCL در حالت منفرد منجر به فیبروز و راکسیون گرانولوماتویی جسم خارجی خفیف در نمونه شد. درحالی‌که در پلیمر زیستی PU ادم خفیف و فیبروز متوسط مشاهده گردید ولی هیچ‌گونه راکسیون گرانولوماتویی جسم خارجی مشاهده نشد. در نمونه‌ی مرکب PCL/PU نیز ادم و راکسیون گرانولوماتویی جسم خارجی متوسط به‌همراه فیبروز خفیف مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: ساختارهای منفرد و مرکب از PCL و PU همگی بسترهای مناسبی جهت رشد و تکثیر سلولی داشته و همچنین میزان واکنش سیستم ایمنی بدن در این نمونه‌ها بسیار کم و در حد قابل قبولی بود.

واژگان کلیدی: زیست سازگاری، الکتروریسی، ساختارهای نانوالیافی، ماتریس برون سلولی

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بازسازی، ترمیم بافت و ارگان‌های از دست رفته و یا به شدت آسیب دیده در بیوتکنولوژی تحت عنوان مهندسی بافت بیان می‌شود (۱). اگرچه در بسیاری از مقالات بیان شده است که حضور داروهای جدید و دستگاه‌های دارای تکنولوژی روز باعث بهبود کیفیت زندگی بیماران بهبود یافته گشته است، اما این عوامل الزاما باعث کاهش نرخ مرگ‌ومیر در این بیماران نمی‌شود و بنابراین پیوند عضو دراین زمینه، یک مسیر درمانی جدید را ارائه می‌دهد (۲). پیوند عضو درمانی ارجح برای نارسایی عضوهاست و نیازی رو به رشد در این زمینه وجود دارد و اکنون در بسیاری از عرصه‌های پزشکی یکی از پرتقاضاترین راه‌حل‌های نقص عضو یا بافت، دریافت آنها از اهداکنندگان است به‌طوری که اهدا کننده می‌تواند خود بیمار باشد (اتولوگ) (Autologous graft or Autograft) یا افرادی که از نظر ایمونوژیک با بیمار مشابه هستند (آلوگرافت) (Allogeneic graft or Allograft) و یا می‌تواند از طریق پیوند اعضای حیوانات (زنوگرافت یا هتروگرافت) (Xeno graft or Hetero graft) به انسان انجام پذیرد (۳ و ۴).

با این‌حال سه مانع عمده که پیوند عضو را محدود کرده است عبارتند از:

۱- کمبود بحرانی اهداکنندگان
۲- ریسک بالای پیوند
۳- آلودگی‌های ویروسی و خطر ابتلا به عفونت (۵)

از این رو مهندسی‌بافت برای حل این مشکلات درمانی، روشی منحصربه‌فرد به‌واسطه جایگزینی عضو یا بافت آسیب دیده با سازه‌ای که بر مبنای خصوصیات بافت یا عضو موردنظر ساخته شده است ارائه می‌دهد. مزیت مهندسی بافت آن است که منابع جایگزین را بصورت جدی در برنامه پیوند عضو یا بافت قرار می دهد. مهندسی بافت یک مبحث میان رشته‌ای است که علوم گوناگون همچون زیست‌شناسی سلولی، بیوشیمی، مهندسی‌مواد، مهندسی‌شیمی و مهندسی‌پزشکی را به کمک می‌طلبد و علوم زندگی را به سمت توسعه جایگزین‌های کاربردی برای بافت‌های آسیب‌دیده سوق می‌دهد. به‌عبارت دیگر هدف از مهندسی بافت تقلید از طبیعت برای حل محدودیت های معالجات کلینیکی و درمانی است (۶, ۷).

استراتژی‌های مهندسی بافت دارای سه جزء اصلی زیر هستند:

۱-سلول‌ها
۲-عامل‌های واکنش زیستی یا سیگنال‌ها (Bioreactive Agents)
۳-داربست‌ها یا خانه سلول (۸)

داربست‌ها برای تولید جانشینی برای بافت آسیب‌دیده بکار می‌روند. از این رو داربست‌های نانوالیافی بستری متخلخل با ساختاری شبیه ماتریس برون سلولی (Extracellular Matrix) ECM هستند که کاربردی گسترده در مهندسی بافت داشته و گزینه مورد قبولی جهت اتصال، تکثیر و عملکرد سلول‌ها نسبت به سایر داربست‌ها می‌باشند . این امر در مرحله اول به جهت داشتن تخلخل ماندگار و مناسب و در مراحل بعدی به‌دلیل نسبت سطح به حجم و خواص سطحی مطلوب برای انجام فعل و انفعالات سلولی مانند چسبندگی، مهاجرت، تکثیر و تمایز بهینه است (۹ و ۱۰).

لذا تلاش در پی یافتن مواد بی اثرجهت ساخت داربست‌ها که علاوه بر داشتن حداقل فعل و انفعالات درون تنی (عدم ایجاد واکنش توسط سیستم ایمنی بدن)، زیست سازگار بوده و شرایط بهینه‌ای را جهت رشد و تکثیر سلول‌ها فراهم نماید، بیش از پیش مدنظر محققان است (۱۱). تاکنون بیش از صد نوع پلیمر طبیعی و مصنوعی جهت کاربردهای کلینیکی مطرح گشته‌اند با این حال فقط تعداد اندکی از این پلیمرها توسط سازمان غذا و دارو آمریکا (FDA) جهت استفاده در کلینیک برای کاربرد انسانی تایید شده‌اند (۱۲ و ۱۳). از میان پلیمرهای تایید شده توسط FDA پلیمرهای زیستی پلی کاپرولاکتان (PCL) و پلی‌یورتان (PU) به‌دلیل ارائه‌ی خواص زیستی و مکانیکی مطلوب، می‌توانند نقش به‌سزایی را درکاربردهای مهندسی بافت ایفا نمایند (۱۴-۱۶).

در این راستا، با توجه به نقش مهم ساختار الیاف الکتروریسی شده در کنترل فعل و انفعالات متقابل بین بافت و بدن و اینکه بسترهای بالقوه‌ای جهت کاربردهای مهندسی بافت هستند (۹)، لذا در تحقیق حاضر بررسی زیست سازگار بودن و واکنش سیستم ایمنی در ساختارهای نانوالیاف منفرد و مرکب PCL ، PU و

Archive of SID

www.SID.ir

(۵۰/۵۰) PCL/PU با بدن جهت کاربرد در مهندسی بافت مورد مطالعه قرار گرفته است. در این راستا، با توجه به کاربردهای بالقوه این دو پلیمر، خواص مطلوب و نیاز مبرم به آنها در مهندسی‌بافت، تاکنون در مورد بررسی واکنش سیستم ایمنی بدن و همچنین میزان رشد سلول در ساختارهای نانو الیافی تهیه شده از این دو پلیمر به‌روش الکتروریسی هم‌زمان مطالعه‌ای گزارش نشده است. در این راستا، تحقیق حاضر یافته‌های چنین مطالعه‌ای را گزارش می‌نماید.

مواد و روش‌ها

مواد: پلیمرهای پلی‌کاپرولاکتان PCL ، پلی‌یورتان PU از شرکت Sigma Aldrich و حلال‌های کلروفرم، اتانول، دی‌متیل فرمالدهید و تتراهیدروفوران از شرکت Merck خریداری شد. محلول ۱۰ درصد وزنی- وزنی پلی‌یورتان با نسبت حلال‌های (DMF:THF)(1:3) و محلول ۱۵ درصد وزنی- وزنی پلی‌کاپرولاکتان با نسبت حلال‌های (CH:ETH)(7:3) تهیه شد. ساختارهای نانوالیاف پلیمری از دو محلول مذکور به صورت منفرد و دوتایی توسط روش الکتروریسی با شرایط مندرج در جدول ۱ تهیه گردید.

جدول۱. شرایط الکتروریسی نمونه‌های منفرد و مرکب

ساختار		شرایط الکتروریسی					
قطر الیاف (nm)	تخلخل %	سرعت چرخشی rpm	فاصله (cm)	نرخ تغذیه (ml/hr)	ولتاژ (kV)	ترکیب درصد	نمونه
۴۳۳ ± ۸۰	۸۹.۱۰ ± ۰.۶۹	۷۰۰	۲۵	۳	۲۵	۱۰۰	PCL
۴۲۸ ± ۸۹	۷۰.۰۰ ± ۱.۷۰	۷۰۰	۲۵	(۰.۵ : ۰.۵)	۲۵	(۵۰ : ۵۰)	PCL/PU
۴۷۰ ± ۹۵	۶۳.۰۰ ± ۰.۴۶	۷۰۰	۲۵	۲	۲۵	۱۰۰	PU

ابتدا نمونه‌ها با ابعاد 1 cm × 1 cm توسط غوطه ور کردن آن ها در الکل ۷۰ درصد به‌مدت ۳ ساعت و اشعه UV به‌مدت ۲۰ دقیقه سترون شد. سپس نمونه‌ها را داخل چاهک ۲۴ well (۲۵۰۰۰ سلول فیبروبلاست 3T3 رت در هر چاهک) قرارداده و بر روی آن‌ها محیط کشت افزوده شد (محیط کشت هر سه روز تعویض گردید). چاهکها به‌مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵ درصد دی اکسیدکربن قرارگرفت و بعد از گذشت ۲۴ ساعت نمونه‌ها ازداخل انکوباتور برداشته و تکثیر و چسبندگی سلول‌ها بر روی نمونه‌ها در روزهای ۳، ۴، ۵ و۷ توسط آزمون MTT بررسی شد. درنهایت با اندازه‌گیری طول موج در نمونه کنترل مثبت و مقایسه آن با طول موج جذب محلول برداشتی از چاهک حاوی نمونه رشد سلول‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی واکنش سیستم ایمنی رت‌ها با رعایت اخلاق زیستی در نحوه برخورد با حیوانات آزمایشگاهی:

بررسی واکنش سیستم ایمنی بدن با پلیمرهای مورد استفاده، توسط قرار دادن نمونه‌ها در زیر پوست بدن رت مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار، حین استفاده از رت‌های آزمایشگاهی، موازین صحیح و علمی در راستای حفظ سلامت نمونه در طول پژوهش و ایجاد شرایط مطلوب زندگی آن‌ها رعایت شد. به‌طوری‌که عوامل نامطلوب که می‌توانند اثرات مخربی بر سلامت نمونه آزمایشگاهی و نتایج پژوهش داشته باشند حذف شود. در راستای نیل به این هدف اقدامات زیر صورت پذیرفت :

۱. بررسی سلامت رت‌ها در ابتدای کار (با درخواست اعلام نظر از سوی مسئول مربوطه) و رعایت موازین لازم جهت حمل و نگهداری رت‌ها با استفاده از نیروهای متخصص در این زمینه

۲. استفاده از شرایط مناسب جهت انجام روند بی‌هوشی و عمل جراحی رت‌ها که توسط جراح متخصص صورت پذیرفت.

۳. بررسی روزانه محل بخیه و تصویربرداری از آن‌ها زیر نظر جراح و مسئولین نگه‌داری رت‌ها.

Archive of SID

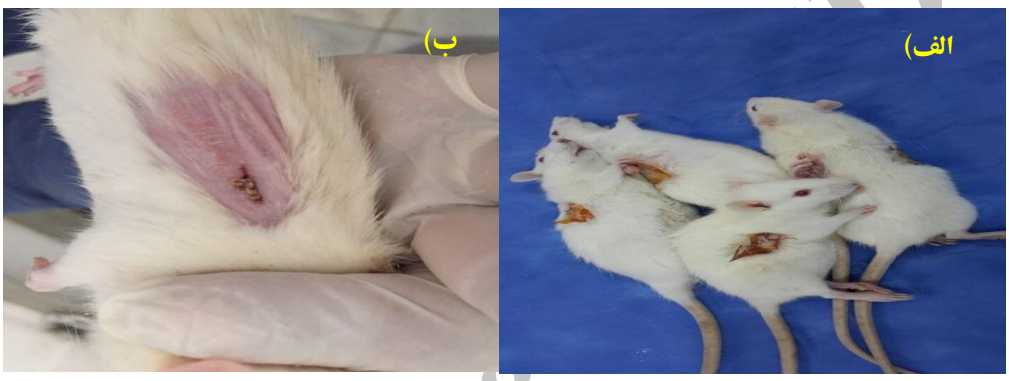
www.SID.ir

۴. تامین شرایط مطلوب بر اساس مقررات، جهت نگه‌داری و تغذیه رت‌ها در طول پژوهش با بهره گیری از نیروی متخصص در این زمینه.

۵. خاتمه زندگی رت‌ها طبق دستورالعمل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی.

با رعایت موازین فوق، جهت بررسی تکرارپذیربودن نتایج هر نمونه در زیر پوست بدن ۴ رت ایمپلنت شد. نمونه‌ها با اتیلن اکساید به‌مدت ۱۴ ساعت سترون شد. رت‌ها با ماده کتامین وزایلوزین بی‌هوش شده و نمونه‌ها با ابعاد ۱cm×۱cm به‌روش داخل صفاقی در پهلوی رت‌ها قرار داده شد وسپس با نخ ۵ صفرنایلون پوست رت‌ها بخیه شد. طول مدت بی‌هوشی هر رت حدود ۲۰ تا ۲۵ دقیقه، و رت‌ها با سن حدود ۴۵ روز و میانگین وزن ۱۷۰ گرم انتخاب شد. در شکل ۱ نمونه‌های مورد بررسی ارائه شده است. نمونه‌ها در ۶ بازه زمانی ۷ روزه مورد ارزیابی قرار گرفتند و واکنش لوکالیزه و سیستمیک و عفونی شدن محل عمل جراحی تا پایان دوره با وجود عدم دریافت آنتی بیوتیک توسط نمونه‌ها مشاهده نشد.

بعد از اتمام دوره مورد نظر، مجدد طی یک عمل جراحی نمونه‌ها از زیر پوست بدن رت برداشته شد و آزمون پاتولوژی بر روی آن‌ها انجام گرفت. در ادامه نتایج آزمون برای تمام نمونه‌ها (منفرد و مرکب) تشریح می‌شود.



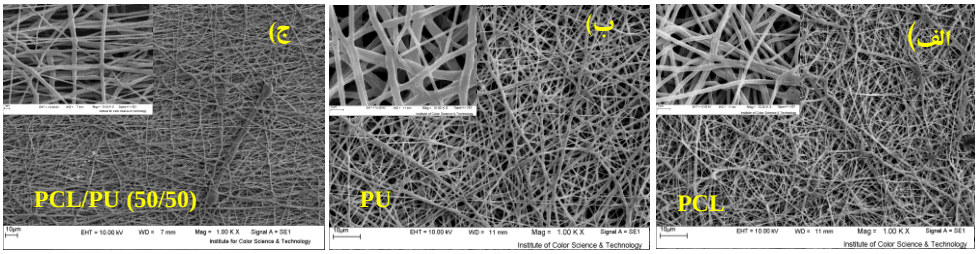
شکل۱. بررسی سیستم ایمنی در رت الف) نمونه‌های ایمپلنت شده ب) نمای نزدیک بخیه

نتایج

ارزیابی ساختار و مرفولوژی

در مطالعه‌ی مذکور، پتانسیل‌های کاربردی روش الکتروریسی به‌عنوان روشی که با انتخاب درست شرایط محلول پلیمری و فرآیندی، اجازه تولید الیاف با مقیاس میکرو و نانو را می‌دهد، بررسی شده است.

در این راستا در نتیجه‌ی استفاده از روش الکتروریسی، بر اساس نتایج بیان شده در جدول ۱، داربست‌های منفرد PCL و PU به‌ترتیب با میانگین قطر الیاف 433 ± 80 nm و 470 ± 95 nm و داربست ترکیبی PCL/PU (50/50) با میانگین قطر الیاف 428 ± 89 nm ساخته شد. . شکل ۲ تصاویرمیکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به سه ساختار متفاوت را نشان می‌دهد.



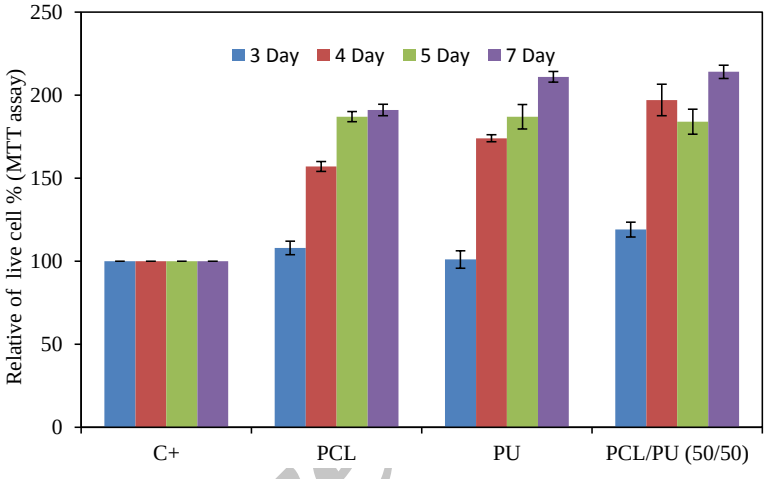
شکل۲: تصاویرSEM ساختارهای نانوالیاف الکتروریسی شده الف) پلی‌کاپرولاکتان ب) پلی‌یورتان ج) پلی‌کاپرولاکتان/پلی‌یورتان (۵۰/۵۰)

Archive of SID

www.SID.ir

آزمون MTT

نتایج حاصل از آزمون MTT نشان دهنده‌ی رشد و تکثیر مطلوب سلول‌ها بروی داربست‌های ساخته شده می‌باشد. شکل ۳ که نشان‌دهنده رشد سلول‌ها در ساختارهای تولیدی و نمونه کنترل مثبت می‌باشد نشان می‌دهد که میزان رشد و تکثیر سلول‌ها در روزهای ۴، ۵ و۷ نرخ افزایشی مطلوبی را نسبت به نمونه کنترل مثبت طی نموده است. بعد از بررسی و شمارش سلول‌ها بر روی داربست‌های ساخته شده و مقایسه آن با نمونه کنترل مثبت مشخص شد که میزان رشد سلول‌ها در روز سوم در نمونه‌های منفرد PCL و PU به‌ترتیب 4.7 ± 157.3 و 5.2 ± 174 و هم‌چنین در نمونه ترکیبی PCL/PU (50/50) 4.5 ± 197 و در روز هفتم میزان رشد سلول‌ها در نمونه‌های منفرد PCL و PU به ترتیب 191 ± 3 و 2.03 ± 211 و هم‌چنین در نمونه ترکیبی PCL/PU (50/50) 214 ± 9.5 می‌باشد که همگی مقادیر بالاتری نسبت به نمونه کنترل مثبت را دارا می‌باشند.



شکل ۳. نتایج آزمون MTT

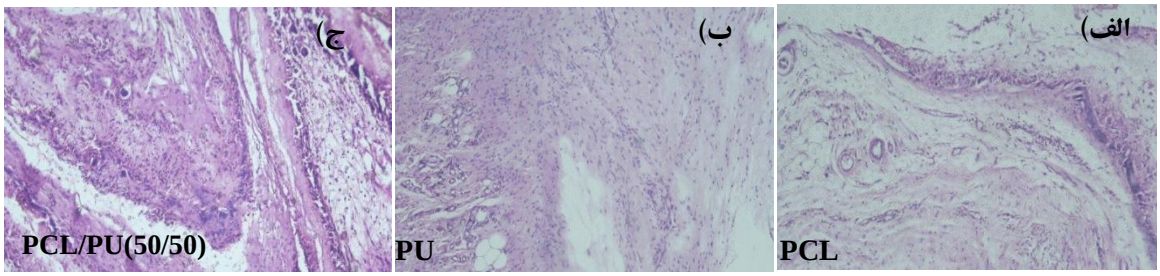
بررسی واکنش سیستم ایمنی رت

هم‌چنین با توجه به اینکه داربست‌های کاربردی در مهندسی بافت با عدم زیست سازگاری مطلوب، منجر به ایجاد التهاب مزمن و یا نکروز بافت در بدن می‌شوند لذا سعی بر آن است از پلیمرهای زیست تخریب پذیری استفاده شود که خود پلیمر و محصولات حاصل از تخریب آن برای بدن سمی نبوده و منجر به ایجاد اثرات موضعی و سیستمیک در بدن نشوند.

بر این اساس در مطالعه مذکور پلیمرهای به‌کاربرده شده در ساخت داربست‌های مصنوعی با قرار گرفتن در بدن رت از نظر واکنش سیستم ایمنی مورد ارزیابی قرار گرفتند و با بررسی نتایج حاصل از آزمون پاتولوژی مشخص شد که این دو پلیمر به حالت منفرد و هم‌چنین داربست ترکیبی حاصل از آن‌ها هر دو زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری مناسب جهت کاربرد در مهندسی بافت را دارا می‌باشند. نتایج پاتولوژی نشان می‌دهد که پلیمرهای زیستی مورد استفاده در حالت منفرد منجر به ادم، فیبروز و راکسیون گرانولوماتویی جسم خارجی خفیف در نمونه PCL شد. نمونهPU با داشتن کمترین عوارض جانبی ادم خفیف، فیبروز متوسط و هیچ‌گونه راکسیون گرانولوماتویی جسم خارجی را در پی نداشت. در نمونه‌ی ترکیبی PCL/PU (50/50) ادم و راکسیون گرانولوماتویی جسم خارجی متوسط به همراه فیبروز خفیف مشاهده شد. نتایج بالا در تصاویر پاتولوژی در شکل ۴ نشان داده شده و توسط متخصص پاتولوژیست تایید شده است.

Archive

www.SID.ir



شکل۴. نتایج آزمون پاتولوژی مربوط به ساختارهای نانوالیافی منفرد و مرکب: الف) پلی‌کاپرولاکتان ب) پلی‌یورتان ج) پلی‌کاپرولاکتان/پلی‌یورتان (۵۰/۵۰)

بحث

الکتروریسی روشی چندبعدی برای ساخت الیاف با مقیاس میکرو/ نانو است که به‌واسطه توسعه و پیشرفت داربست با تقلید زیستی بالا از ریز محیط ماتریس برون سلولی، دارای موفقیت زیادی جهت تولید ساختارهای کاربردی در مهندسی بافت است (۱۷ و ۱۸). زیرا این موضوع مشخص شده است که در بافت‌های طبیعی، ECM ساختاری سه بعدی متشکل از الیاف پروتئینی و پلی ساکاریدی با قطر ۵۰ تا ۵۰۰ نانومتر دارد و الکتروریسی روشی است که اجازه تولید نانوالیاف در این محدوده و حتی فراتر را می‌دهد (۱۵). داربست‌های PU, PCL و(50/50) PCL/PU، ساختارهای ساخته شده توسط روش الکتروریسی هستند که می‌توانند به‌عنوان جانشینی برای بافت آسیب‌دیده عمل‌کنند. داربست‌های نانوالیافی بستری متخلخل با ساختاری شبیه ماتریس برون سلولی هستند که کاربردی گسترده در مهندسی بافت دارند این امر در مرحله اول به‌جهت داشتن تخلخل ماندگار و مناسب و در مراحل بعدی به‌دلیل نسبت سطح به حجم و خواص سطحی مطلوب برای انجام فعل و انفعالات سلولی مانند چسبندگی، مهاجرت، تکثیر و تمایز بهینه است (۱۹ و ۲۰). در این راستا با توجه به اهمیت قطر الیاف و میزان تخلخل در ساختارهای الکتروریسی شده، همان‌طور که در جدول ۱ بیان گردیده است نمونه‌های تولیدی (منفرد و مرکب) همگی دارای قطرالیاف در حد نانومتر و میزان تخلخل مطلوبی می‌باشند.

هم‌چنین براساس نتایج حاصل از آزمون MTT در روزهای۳، ۴، ۵ و ۷ ساختارهای منفرد PCL، PU و ترکیب آن‌ها PCL/PU (50/50) بستری مناسب جهت رشد و تکثیر سلول‌ها بوده و با بدن کاملا زیست سازگارند.

بر اساس نتایج به دست آمده، میزان رشد سلول‌ها در نمونه‌ی ترکیبی نسبت به نمونه‌های منفرد در طول مدت بررسی مقدار بیشتری را به‌خود اختصاص داده است که نشان می‌دهد نمونه ترکیبی شرایط مناسبی جهت رشد و تکثیر سلولی دارد. آنالیز آماری مربوط به آزمون MTT با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. جهت بررسی معنی‌دار بودن تفاوت نتایج از آزمون One-way ANOVA و آزمون Bonferroni با ضریب اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج آنالیز آماری نشان می‌دهد که بین میزان رشد و تکثیر سلول‌ها در نمونه‌ی ترکیبی با نمونه‌های منفرد اختلاف معنی‌داری وجود دارد. علاوه بر آن میزان رشد و تکثیر سلولی در نمونه‌ی ترکیبی نسبت به نمونه‌های منفرد مقدار بیشتری را به خود اختصاص داده و نشان می‌دهد نمونه‌ی ترکیبی گزینه‌ای مناسب جهت انجام کاربردهای مهندسی بافت می‌باشد. همچنین نتایج حاصل از آزمون واکنش سیستم ایمنی نشان می‌دهد بعد از پایان دوره ۴۵ روزه هیچ‌گونه واکنش لوکالیزه و سیستمیک و عفونی شدن محل عمل تا پایان دوره با وجود عدم دریافت آنتی بیوتیک مشاهده نشد. نتایج حاصل از آزمون پاتولوژی نشان می‌دهد که هر چند ساختارهای تولیدی همگی دارای شرایط لازم جهت کاربردهای مهندسی بافت هستند اما ساختار منفرد PU و ساختار ترکیبی PCL/PU (50/50) نتایج مطلوب‌تری را نسبت به ساختار منفرد PCL نشان می‌دهند. فیبروز به‌دلیل ایجاد التهاب بافتی عامل پرخطری در آزمون پاتولوژی می‌باشد که این عامل همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد در داربست منفرد PU مقدار متوسطی را به‌خود اختصاص است. در داربست ترکیبی PCL/PU (50/50) به‌دلیل حضور ۵۰

Archive of SID

www.SID.ir

درصدی PU، مقدار فیبروز کاهش یافته و داربست - مناسب‌تری را نسبت به نمونه منفرد ایجاد می‌کند.

نتیجه گیری

نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که پلیمرهای PCL، PU و همچنین ترکیب آن‌ها PCL/PU (50/50) نمونه‌های مناسبی جهت کاربردهای مهندسی بافت می‌باشند. همان‌طورکه در نتایج حاصل از MTT مشخص است نمونه‌های PU، PCL و همچنین نمونه‌ی مرکب حاصل از این دو پلیمر همگی بستری مناسب جهت رشد و تکثیر سلول‌ها بودند و نمونه مرکب به‌واسطه داشتن رشد سلولی بالاتر، شرایط مناسب تری را نسبت به نمونه‌های منفرد نشان داد. هم‌چنین نتایج حاصل از آزمون پاتولوژی حاکی از این است که عامل فیبروز که پارامتری مهم در زمینه واکنش سیستم ایمنی می‌باشد در نمونه مرکب نسبت به نمونه‌های منفرد کمتر شده و هم چنین ادم به عنوان دومین عامل با درجه اهمیت بالا در آزمون‌های درون‌تنی (In vivo)، در نمونه مرکب مقداری متوسطی را به خود اختصاص داده است که نسبت به نمونه‌های منفرد حالت غیر قابل قبولی مشاهده نگردید. به همین دلیل می‌توان گفت ساختارهای تولیدی در حالتهای منفرد و مرکب ساختارهای مناسب و مطلوبی جهت رشد و تکثیر سلول‌ها بوده و هیچگونه واکنش سیستم ایمنی را نیز در پی نداشته و می‌توانند کاندیداهای مورد قبولی جهت کاربردهای مهندسی بافت باشند.

تشکرو قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکرو قدردانی خود را از آقای دکتر رضا طاهری (متخصص جراحی عروق) و دانشکده علوم پزشکی مشهد جهت همکاری‌های صورت گرفته ابراز می‌دارند.

منابع

1. Samir Chugh NA. Tissue engineering applications in periodontics:Alternate god. International Clinical Dental Research Organization. January-June. 2014; Vol 6 (Issue 1):59-60.

2. Nugen HM, Edelman ER. Tissue Engineering Therapy for Cardiovascular Disease .Circulation Research. 2003; 92(10): 1068-78.

3. Kurobe H, Maxfield MW, Breuer CK, Shinoka T. Concise review: tissue-engineered vascular grafts for cardiac surgery: past, present, and future. Stem cells translational medicine. 2012; 1(7): 566-71.

4. Bouten CVC, Dankers PYW, Driessen-Mol A, Pedron S, Brizard AMA, Baaijens FPT. Substrates for cardiovascular tissue engineering. Advanced Drug Delivery Reviews. 2011; 63(4–5): 221-41.

5. Ogle B, Cascalho M, Platt1 JL. Fusion of approaches to the treatment of organ failure. American Journal of Transplantation. 2004; 4(6): 74–7.

6. SATIJA NK, GURUDUTTA GU, SHARMA S, AFRIN F, GUPTA P, VERMA YK, et al. Mesenchymal Stem Cells: Molecular Targets for Tissue Engineering. STEM CELLS AND DEVELOPMENT. 2007; 16(1): 7–23.

7. Howard D, Buttery LD, Shakesheff KM, Roberts SJ. Tissue engineering: strategies, stem cells and scaffolds. Journal of Anatomy. 2008; 213(1): 66-72.

8. Chan BP, Leong KW. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. European Spine Journal. 2008; 17(Suppl 4): 467-79.

9. Vasita R, Katti DS. Nanofibers and their applications in tissue engineering. International Journal of Nanomedicine. 2006; 1(1): 15-30.

10. Hadis Eghbali MMN, Gabriella Leonardi, Davod Mohebbi-Kalhori, Roberto Sebastiano , Abdolreza Samimi, Manuela T. Raimondi. An experimental-numerical investigation on the effects of macroporous scaffold geometry on cell culture parameters . The International journal of artificial organs. 2017.

11. Veleva AN, Heath DE, Johnson JK, Nam J ,Patterson C, Lannutti JJ, et al. Interactions between endothelial cells and electrospun methacrylic terpolymer fibers for engineered vascular replacements. Journal of biomedical materials research Part A. 2009; 91(4): 1131-

Archive of SID

www.SID.ir

9.
12. Ajalloueian F, Lim ML, Lemon G, Haag JC, Gustafsson Y, Sjoqvist S, et al. Biomechanical and biocompatibility characteristics of electrospun polymeric tracheal scaffolds. Biomaterials. 2014; 35(20): 5307-15.
13. Moreno MJ M-K, Rukhlova M, Dimitrievska S, Bureau MN. DEVELOPMENT OF TISSUE-ENGINEERED VASCULAR GRAFTS USING NON-WOVEN PET SCAFFOLDS. Histology and Histopathology. 2011; 21(Supplement 1.
14. Zhang YZ, Venugopal J, Huang ZM, Lim CT, Ramakrishna S. Characterization of the surface biocompatibility of the electrospun PCL-collagen nanofibers using fibroblasts. Biomacromolecules. 2005; 6(5): 2583-9.
15. Hasan A, Memic A, Annabi N, Hossain M, Paul A, Dokmeci MR, et al. Electrospun Scaffolds for Tissue Engineering of Vascular Grafts. Acta biomaterialia. 2014; 10(1):10.1016.
16. Mirbagheri M, Mohebbi-Kalhori D, Jirofti N. Evaluation of Mechanical Properties and Medical Applications of Polycaprolactone Small Diameter Artificial Blood Vessels. International Journal of Basic Science in Medicine. 2017; 2(1): 58-70.
17. Agarwal S, Wendorff JH, Greiner A. Use of electrospinning technique for biomedical applications. Polymer. 2008; 49(26): 5603-21.
18. Sarhadi F, Afarani MS, Mohebbi-Kalhori D, Shayesteh M. Fabrication of alumina porous scaffolds with aligned oriented pores for bone tissue engineering applications. Applied Physics A. 2016; 122(4): 1-8.
19. Ilie I, Ilie R, Mocan T, Bartos D, Mocan L. Influence of nanomaterials on stem cell differentiation: designing an appropriate nanobiointerface. International Journal of Nanomedicine. 2012; 7: 2211-25.
20. Hadjizadeh A, Mohebbi- Kalhori D. Porous hollow membrane sheet for tissue engineering applications. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2010; 93(3): 1140-50.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Autumn 2018; 8(3)

Original Article

Evaluation of Biocompatibility and Reaction of the Immune System of the Rat with the Single and Composite Electrospun Nanofiber Structures (PCL/PU) for Tissue Engineering Applications.

Jirofti N, Ph.D.Student. [1, 2], Mohebbi-Kalhori1, D, Ph.D[3, 4*], Kazemzadeh Gh, , Ph.D [4], Taheri R, Ph.D[5]

1. Chemical engineering Ph.D. student, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan,Iran

2. Department of Vascular Surgery, Vascular and Endovascular Surgery Research Center, Imam Reza Hospital, Mashhad University of Medical Sciences, Zahedan,Iran

3. Chemical and Biomedical Engineering, Chemical Engineering Department, Faculty of Engineering, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan,Iran

4. Biomedical Engineering Laboratory (Central Lab) University of Sistan and Baluchestan, Mashhad, Iran

5. Surgical Oncology Research Center, Imam Reza Hospital, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

* Email corresponding author: davoodmk@eng.usb.ac.ir

Received: 1 Aug. 2017 Accepted: 10 Dec. 2017

Abstract

Aim: Fabrication of biocompatible single and composite nanofiber scaffolds having less interactions in vivo (lack of immune response in the body) and providing optimal conditions for the growth and proliferation of cells.

Material and Methods: First, the electrospinning method was used to fabricate three samples of single polycaprolactone (PCL), single polyurethane (PU) and composite PCL/PU (50/50) biopolymer nanofibers. The samples were sterilized with ethylene oxide for 14 hours and implanted under the skin of 12 rats. Also, to examine the growth and proliferation of cells, produced structures were evaluated by the cytotoxicity test (MTT Assay).

Results: Although the rats did not receive antibiotics, localized and systemic reactions and infections of the surgical sites were not observed until the end of the study period. Use of single PCL biopolymer caused negligible edema, fibrosis, and a mild foreign body granuloma. While the PU sample caused the fewest side effects: mainly a negligible edema and moderate fibrosis were observed, but no foreign body granuloma was shown. Also, the PU/PCL sample caused a moderate edema and foreign body granuloma and a mild fibrosis.

Conclusion: Single and composite structures of PCL and PU were all suitable environments for the cell growth and proliferation, as well as the reaction of the immune system in these samples was very low and at a satisfactory level.

Keywords: Biocompatibility, Electrospinning, Nanofibers structures, Extracellular matrix

Archive of SID

www.SID.ir