

# A Simple and Efficient Method to Improve Mechanical Properties of Collagen Scaffolds by UV Irradiation

Iranian Journal of Polymer  
Science and Technology

Vol. 23, No. 5, 371-378

December 2010-January 2011

ISSN: 1016-3255

F. Khayyatan<sup>1,2</sup>, Sh. Hojjati Emami<sup>1</sup>, N. Zare Mehrjerdi<sup>2</sup>, and H. Baharvand<sup>2,3\*</sup>

1. Department of Biomedical Engineering, Amirkabir University of Technology,

P.O. Box: 15875-4413, Tehran, Iran

2. Department of Stem Cells and Developmental Biology, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, P.O. Box: 19395-4644, Tehran, Iran

3. Department of Developmental Biology, University of Science and Culture, ACECR, Tehran, Iran

Received 3 May 2010, accepted 29 December 2010

## ABSTRACT

Collagen is the major protein component of cartilage, bone, skin and connective tissue and constitutes the major part of the extracellular matrix. Collagen type I has complex structural hierarchy, which consists of three polypeptide  $\alpha$ -chains wound together in a rod-like helical structure. Collagen is an important biomaterial, finding many applications in the field of tissue engineering. It has been processed into various shapes, such as, gel, film, sponge and fiber. It is commonly used as the scaffolding material for tissue engineering due to its many superior properties including low antigenicity and high growth promotion. Unfortunately, poor mechanical properties and rapid degradation rates of collagen scaffolds can cause instability and difficulty in handling. By crosslinking, the structural stability of the collagen and its rate of resorption can be adapted with respect to its demanding requirements. The strength, resorption rate, and biocompatibility of collagenous biomaterials are profoundly influenced by the method and extent of crosslinking. In this study, the effect of UV irradiation on collagen scaffolds has been carried out. Collagen scaffolds were fabricated using freeze drying method with freezing temperature of  $-80^{\circ}\text{C}$ , then exposed to UV irradiation. Mean pore size of the scaffolds was obtained as  $98.52 \pm 14.51 \mu\text{m}$  using scanning electron microscopy. Collagen scaffolds exposed to UV Irradiation (254 nm) for 15 min showed the highest tensile strain ( $17.37 \pm 0.98 \%$ ), modulus ( $1.67 \pm 0.15 \text{ MPa}$ ) and maximum load ( $24.47 \pm 2.38 \text{ cN}$ ) values. As partial loss of the native collagen structure may influence attachment, migration, and proliferation of cells on collagen scaffolds, we detected no intact  $\alpha$ -chains after SDS-Page chromatography. We demonstrate that UV irradiation is a rapid and easily controlled means of increasing the mechanical strength of collagen scaffolds without any molecular fracture.

### Key Words:

tissue engineering,  
collagen scaffold,  
UV irradiation,  
physical crosslinking,  
mechanical properties

(\*)To whom correspondence should be addressed.

E-mail: baharvand@royaninstitute.org

# روشی ساده و مؤثر برای بهبود خواص مکانیکی داربست‌های کلاژنی به کمک پرتودهی با فرابنفش

فهیمه خیاطان<sup>۱</sup>، شهریار حجتی امامی<sup>۱</sup>، نرگس زارع مهرجردی<sup>۲</sup>، حسین بهاروند<sup>۳</sup>\*

۱- تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی پزشکی، صندوق پستی ۴۴۱۳-۱۵۸۷۵

۲- تهران، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی، گروه سلول‌های بنیادی و زیست‌شناسی

تکوینی (ACECR)، صندوق پستی ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵

۳- تهران، دانشگاه علم و فرهنگ، گروه زیست‌شناسی تکوینی (ACECR)

دریافت: ۸۹/۲/۱۳، پذیرش: ۸۹/۸/۸

## چکیده

کلاژن جزء عمده پروتئینی بافت‌های غضروف، استخوان، پوست و بافت هم‌بند و نیز بخش عمده ماتریس خارج سلولی است. کلاژن نوع I، ساختار پیچیده‌ای دارد. این ساختار، از سه زنجیر پلی‌پپتیدی تشکیل شده است که به دور هم پیچیده شده‌اند و ساختار مارپیچ میله‌ای شکلی را می‌سازند. کلاژن زیست‌ماده مهمی در بسیاری از کاربردهای مهندسی بافت به شمار می‌رود و می‌تواند به شکل‌های مختلفی مانند ژل، فیلم، اسفنج و فیبر ساخته شود. از این پلیمر به دلیل خواص ایمنی‌زایی کم و ارتقای رشد سلولی، به طور معمول به عنوان داربست برای مهندسی بافت استفاده می‌شود. متأسفانه، خواص مکانیکی ضعیف و سرعت تخریب زیاد داربست‌های کلاژنی منجر به ناپایداری آن می‌شود و کارکردن با آن را مشکل می‌سازد. با ایجاد اتصالات عرضی در کلاژن، پایداری ساختاری و سرعت تخریب آن را می‌توان با توجه به نیازهای مربوط تنظیم کرد. استحکام، سرعت جذب و زیست‌سازگاری زیست‌مواد کلاژنی بسیار متأثر از روش و مقدار شبکه‌ای کردن آنهاست. در این مطالعه، اثر پرتودهی UV بر داربست‌های کلاژنی بررسی شد. داربست‌های کلاژنی با روش خشکاندن انجمادی در دمای انجماد  $80^{\circ}\text{C}$  ساخته شدند. سپس، در معرض پرتودهی UV قرار گرفتند. اندازه تخلخل میانگین داربست‌ها با استفاده از تصاویر میکروسکوپی الکترون پویشی  $14/51 \pm 9/52 \mu\text{m}$  به دست آمد. داربست‌هایی که برای ۱۵ min به کمک UV در  $254 \text{ nm}$  پرتودهی شدند، بیشترین استحکام کرنشی ( $17/37 \pm 0/98$ )، مدول یانگ ( $1/67 \pm 0/15 \text{ MPa}$ ) و بیشینه بار ( $24/47 \pm 2/38 \text{ cN}$ ) را داشتند. از آن جا که شکست جزیی ساختار کلاژن طبیعی بر چسبندگی، مهاجرت و تکثیر سلول‌ها روی داربست اثر می‌گذارد، زنجیرهای کلاژن با روش رنگ‌نگاری SDS-Page بررسی شدند که در نهایت، پس از پرتودهی زنجیر تخریب شده‌ای مشاهده نشد. در این مطالعه، پرتودهی UV به عنوان روشی سریع، آسان و قابل کنترل برای افزایش استحکام مکانیکی داربست‌های کلاژنی، بدون اثر تخریبی روی آنها معرفی شد.

\* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

baharvand@royaninstitute.org

[www.SID.ir](http://www.SID.ir)

## واژه‌های کلیدی

مهندسی بافت،  
داربست کلاژنی،  
پرتودهی UV،  
شبکه‌ای کردن فیزیکی،  
خواص مکانیکی

## مقدمه

از آن جا که پیوند عضو با مشکلاتی از قبیل کمبود اعضای مورد نیاز و کمبود اشخاص اهداکننده مواجه است و از طرفی احتمال پس زدن بافت پیوندی نیز وجود دارد، بافت‌های مصنوعی به دست آمده از مهندسی بافت جایگاه ویژه‌ای دارند. به طور کلی، هدف از مهندسی بافت که تلفیقی از علوم طبیعی و مهندسی است، برقراری و ارتقای عملکرد بافت‌ها یا اعضای مختلف بدن است. در این زمینه داربست‌های سه بعدی متخلخل به عنوان یکی از اجزای اصلی سه گانه مهندسی بافت حایز اهمیت اند [۱،۲]. در این میان، مواد بر پایه کلاژن به دلیل زیست سازگاری زیاد، ایمنی زایی کم، خواص مکانیکی مناسب، قابلیت شکل دهی به اشکال فیزیکی متفاوت، ایجاد پیوندهای عرضی قابل کنترل و ایجاد چسبندگی و رشد سلولی، به فراوانی به عنوان ماده کاشتنی استفاده می‌شوند. این مواد پتانسیل استفاده در کاربردهای متنوع و گسترده‌ای مانند ساخت عروق خونی با قطر کم، جای‌گزین‌های تاندون، رباط، غضروف، عصب، استخوان، قرنیه، پوست مصنوعی و سایر اعضا را دارند [۳-۱۱].

کلاژن از جمله پروتئین‌های چندعاملی است که ویژگی‌های ساختاری بی نظیری دارد. این ماده به مقدار زیاد در همه جای بدن وجود دارد و یکی از فراوان‌ترین پروتئین‌هایی است که در بدن پستانداران از جمله انسان وجود دارد. کلاژن در حقیقت بیش از ۲۵ درصد تمام پروتئین‌های بدن را شامل می‌شود. این پلیمر عملکردهای زیست مکانیکی بسیار مهم و حیاتی را در بافت‌های مختلف دارد و اعضای داخلی مختلف را به هم متصل و از آنها پشتیبانی می‌کند. کلاژن، پروتئینی است که از سه پلی پپتید (زنجیرهای  $\alpha$ ) تشکیل شده است که هر کدام دارای توالی عمومی اسیدهای آمینه  $(\text{-Gly-X-Y-})_n$  هستند. در این توالی X و Y می‌توانند هر نوع اسید آمینه‌ای باشند که در اکثر مواقع X پرولین (Pro) و Y هیدروکسی پرولین (Hyp) است. در داخل ماریچج سه تایی، گلايسين باید به عنوان سومین اسید آمینه حاضر باشد و پرولین و هیدروکسی پرولین برای شکل دادن و تثبیت ماریچج سه تایی لازم و ضروری هستند. تروپوکلاژن یا مولکول کلاژن، میله‌ای به ابعاد تقریبی ۳۰۰ nm طول و قطر ۷۵ nm است که از سه زنجیر پلی پپتیدی ماریچجی چپ گرد تشکیل شده است. این سه زنجیر (دو زنجیر  $\alpha_1$  و یک زنجیر  $\alpha_2$ ) به منظور شکل دادن ماریچجی راست گرد، پیرامون محور مرکزی مولکول در هم تابیده شده‌اند [۱۲،۱۳].

پیوندهای هیدرژنی بین گروه -NH- گلايسين و گروه کربونیل C=O باقی مانده‌های آمینواسیدی از زنجیر پلی پپتیدی دیگر و نیز پل‌های هیدروژنی مولکول‌های آب، ساختار مولکولی کلاژن را حفظ می‌کنند.

www.SID.ir

زیست مواد کلاژنی معمولاً از بافت‌هایی با استحکام زیاد مانند درمیس و تاندون به دست می‌آیند. اما، خالص سازی بافت و فرایندهایی که به منظور به دست آوردن شکل‌های مورد نظر روی آن انجام می‌شود، به طور قابل توجهی استحکام آن را کاهش داده و سرعت تخریب آن را به وسیله آنزیم‌ها افزایش می‌دهد [۱۷-۱۴]. برای ارتقای استحکام و ماندگاری آن، می‌توان به کمک روش‌های شیمیایی (آلدئیدها، ایزوسیانات‌ها، کربودی‌آمیدها) یا فیزیکی (پرتودهی فرابنفش و آب‌گیری گرمایی) با ایجاد پیوندهای عرضی، استحکام آن را بهبود بخشید و سرعت زیست تخریب پذیری آن را کنترل کرد که در مجموع هیچ یک از این روش‌ها به طور کامل مورد رضایت نیستند. عوامل شبکه‌ای کننده شیمیایی به طور بالقوه منجر به سمیت سلولی می‌شوند. از سوی دیگر، قرارگیری طولانی مدت در برابر پرتو فرابنفش منجر به تخریب جزئی مولکول‌های کلاژن می‌شود، در حالی که قرارگیری کوتاه مدت منجر به شبکه‌ای شدن ناکافی کلاژن شده و یافتن مقدار بهینه در معرض پرتو بودن به عنوان یک چالش مطرح است. به طور کلی، در مواردی که زیست سازگاری و عدم سمیت سلولی داربست بسیار مهم است، روش‌های فیزیکی به روش‌های شیمیایی ترجیح داده می‌شوند [۱۸،۱۹].

تابش UV بر اساس طول موج ( $\lambda$ ) به سه ناحیه UVC ( $\lambda = 200-280 \text{ nm}$ )، UVB ( $\lambda = 280-320 \text{ nm}$ ) و UVA ( $\lambda = 320-400 \text{ nm}$ ) دسته‌بندی می‌شود. از آن جا که طول موج با انرژی رابطه معکوس دارد، UVC بیشترین انرژی را دارد. بنابراین، در پرتودهی کلاژن به عنوان مولکولی پیچیده و حساس به پرتو باید بسیار دقت داشت، زیرا پرتودهی بیش از حد بهینه، می‌تواند منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد در اثر حذف هیدروژن از ساختار کلاژن، از بین بردن ساختار ماریچج سه گانه و در نهایت تخریب نوری آن شود که این امر بر خواص فیزیکی، شیمیایی و فیزیکوشیمیایی آن اثر بسزایی دارد [۲۰].

هدف از این مطالعه، بررسی انرژی‌های مختلف پرتو فرابنفش بر خواص مکانیکی داربست‌های کلاژنی ساخته شده به روش خشکاندن انجمادی و یافتن مقدار بهینه پرتودهی است. هم‌چنین، تخریب مولکولی کلاژن با روش SDS-Page بررسی شد.

## تجربی

## مواد

استیک اسید از شرکت Merck، پلی‌آکریل آمید از Sigma و رنگ

پرتو قرار گیرد. در فاصله و مدت زمان‌های مزبور کل انرژی منتقل شده به داربست‌ها به ترتیب ۰، ۱۳/۵، ۲۷، ۵۴ و  $108 \text{ J/cm}^2$  بود [۲۱].

### خواص مکانیکی

برای ارزیابی خواص مکانیکی نمونه‌ها، داربست‌های تهیه شده طبق شکل استاندارد برای انجام آزمون کشش (ASTM D638) به وسیله قالب تیزی که از پیش تهیه شده بود، قالب‌گیری شدند. ضخامت نمونه‌ها در سه بخش مختلف داربست، با ضخامت سنج اندازه‌گیری شد. سپس، آزمون کشش در شرایطی که فاصله فک‌ها از هم ۱۵ mm بود، با سرعت ۵ mm/min در دمای محیط انجام شد. برای انجام آزمون از سلول بارگذاری ۵۰ N استفاده شد. مقدار تنش وارد شده به نمونه از تقسیم نیروی وارد شده حین کشش، به سطح مقطع اولیه نمونه به دست آمد. کرنش، نسبت تغییر طول به طول اولیه نمونه تعریف شد. مدول یانگ، کرنش کششی و بار بیشینه نمونه‌ها طبق شرایط مزبور محاسبه شدند.

**الکتروفورز بر پایه ژل سدیم دودسیل سولفات پلی آکریل آمید (SDS-PAGE)**  
نمونه‌هایی که در زمان‌های مختلف در معرض پرتودهی قرار گرفته بودند، با الکتروفورز بر پایه ژل متراکم‌کننده ۴٪ و ژل جداکننده ۷٪ پلی آکریل آمید در مجاورت سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) به روش Laemilli کنترل شد [۲۲]. ژل در ولتاژ ۱۲۰ V الکتروفورز شده و پیوندهای حاصل با رنگ آمیزی کوماسی قابل رویت شد. سپس، رنگ‌های اضافی با استفاده از محلول رنگ بر حذف و در نهایت در دستگاه چگالی سنج پویش شد.

### تحلیل آماری

مقایسه بین گروه‌ها به کمک روش تحلیل واریانس (ANOVA) و آزمون Tukey به کمک نرم افزار SPSS 16.00 با سه مرتبه تکرار انجام شد. حد معنی دار برای  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

### نتایج و بحث

داربست‌های کلاژنی به دلیل زیست‌سازگاری زیاد انتخاب‌های بسیار مناسبی برای کاربردهای مهندسی بافت هستند، ولی استحکام کم آنها به عنوان چالش مورد بحث است و باید مراقب بود که استفاده از مواد مختلف برای ارتقای خواص مکانیکی آن، زیست‌سازگاری این

کوماسی ساخت Serva، صافی نایلونی از شرکت BD Biosciences، BD Falcon، آمریکا و ظرف کشت سلول ۶ خانه از شرکت TPP سوئیس تهیه و استفاده شدند.

### دستگاه‌ها

در این طرح، دستگاه خشکاندن انجمادی مدل ALPHA 1-2 LDplus، دستگاه شبکه‌ای‌کننده UVP Ultraviolet مدل CL-1000 ساخت انگلیس، دستگاه اینسترون UTM Corporation، 5566 series ساخت انگلیس، دستگاه چگالی سنج GS-800 Calibrated Densitometer، Bio Rad انگلیس و دستگاه میکروسکوپ الکترون پویشی VEGA\TESCAN از جمهوری چک، به کار گرفته شدند.

### روش‌ها

#### ساخت داربست

محلول ۱w/v کلاژن نوع I مشتق از تاندون دم موش صحرایی (پژوهشگاه رویان)، با قرار دادن در دستگاه رشد (انکوباتور) کلاژن در استیک اسید ۰/۵ مولار (pH=۲/۵) به مدت یک شب در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به دست آمد. محلول حاصل با صافی نایلونی با قطر متوسط روزنه  $100 \mu\text{m}$ ، صاف و در شرایط خلاء حباب‌گیری شد. سپس، ۷/۵ mL از محلول حاصل به داخل قالب پلی استیرن (ظرف کشت سلول ۶ خانه) ریخته و در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  منجمد شد. پس از انجماد کامل، نمونه‌ها به مدت ۲۴ h در دمای  $55^{\circ}\text{C}$  و خلاء کامل خشکاندن انجمادی شدند.

#### بررسی شکل‌شناسی و ساختار داربست‌ها

ریزننگار داربست‌ها از سطح زیر آنها به وسیله میکروسکوپ الکترون پویشی در ولتاژ ۱۵ kV گرفته شد. نمونه‌ها پس از فرایند خشکاندن انجمادی، روی پایه‌های مورد نظر ثابت شده و زیر پاشش یکنواخت طلا در ۲۰ mA برای ۴ min قرار گرفتند. برای محاسبه میانگین اندازه تخلخل داربست‌ها، از برنامه Image Analyzer (ImageJ) برای حداقل ۲۰ تخلخل استفاده شد.

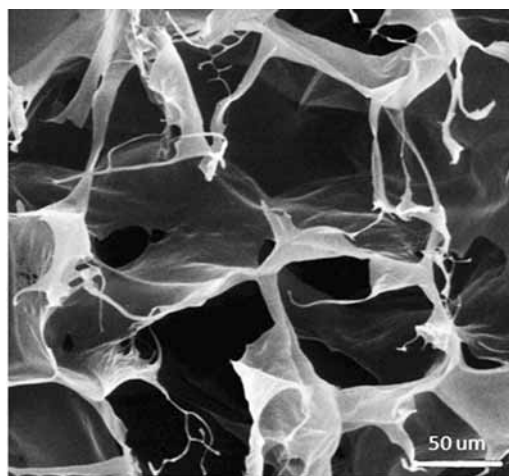
#### پرتودهی با فرابنفش

داربست‌های آماده شده، پس از قرارگیری روی فویل آلومینیمی به منظور بازتاب پرتو، داخل محفظه دستگاه شبکه‌ای‌کننده و به فاصله ۴/۵ in از لامپ UV با طول موج ۲۵۴ nm و به مدت زمان‌های ۰، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ min قرار گرفتند. داربست‌ها پس از گذشت نصف زمان مورد نظر برعکس می‌شدند تا هر دو طرف داربست در معرض

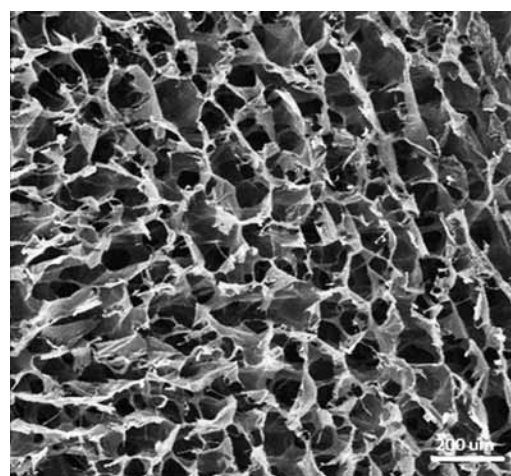
در اثر پرتودهی UV تغییرات معنی داری در خواص مکانیکی داربست‌های کلاژنی دیده شد که می‌توان برای کاربردهای مهندسی بافت از آن استفاده کرد (شکل ۲). همان‌طور که در شکل ۲ - الف دیده می‌شود، پس از ۱۵ و ۳۰ min پرتودهی، مدول یانگ به طور معنی داری نسبت به داربست پرتودهی نشده افزایش یافته و این تفاوت در تمام گروه‌ها معنی دار بوده است. بدین ترتیب که پس از ۳۰ min پرتودهی، تابش بیشتر پرتو UV سبب ایجاد رادیکال‌های آزاد و تخریب کلاژن و در نهایت افت معنی دار مدول یانگ شده است. اختلاف مدول یانگ در نمونه‌های ۶۰ و ۱۲۰ min پرتودهی شده نسبت به نمونه کنترل (نمونه پرتودهی نشده) معنی دار نبود ( $p > 0.05$ ). در ارتباط با استحکام کرنشی نیز، پس از ۱۵ min پرتودهی افزایش معنی داری نسبت به نمونه کنترل دیده شد (شکل ۲ - ب). پس از ۳۰ min پرتودهی، استحکام کرنشی افزایش یافت که این افزایش معنی دار نبود ( $p = 0.26$ ). این امر حاکی از این واقعیت است که پس از ۱۵ min پرتودهی، به دلیل شبکه‌ای شدن و ایجاد پیوندهای عرضی بین مولکول‌های کلاژن، استحکام کرنشی و مدول یانگ نسبت به نمونه کنترل افزایش یافته و تابش دهی بیشتر (۳۰ min) سبب شده است تا مدول یانگ نسبت به نمونه کنترل افزایش یابد. ولی به دلیل خشک شدن نمونه، درصد استحکام کرنشی کاهش یافت که در نهایت اختلاف معنی داری بین این نمونه و نمونه کنترل مشاهده نشد. کاهش استحکام در نمونه‌های با زمان پرتودهی بیشتر نیز دیده می‌شود. همان‌طور که در شکل ۲ - ج مشاهده می‌شود، بیشترین نیرویی که داربست می‌تواند تحمل کند، پس از ۱۵ min پرتودهی به طور معنی داری نسبت به نمونه کنترل افزایش داشته است، این نیرو به دلیل

داربست‌ها را زیر سوال نبرد. به همین دلیل، روش‌های فیزیکی به عنوان یک رویکرد مطرح شدند. در این مطالعه، اثر پرتودهی UV به عنوان روش شبکه‌ای کردن فیزیکی روی این داربست‌ها بررسی شد. زیرا به نظر می‌رسد، پرتودهی UV باعث به وجود آمدن رادیکال‌های آزاد روی باقی‌مانده‌های آمینواسیدی آروماتیک مانند تیروزین و فنیل‌آلانین می‌شود که در نهایت با اتصال این رادیکال‌ها شبکه‌ها شکل می‌گیرند. تاکنون مطالعات انجام شده روی اثر پرتو فرابنفش بر کلاژن، مختص کلاژن فیلم‌ها [۱۵] و رشته‌های کلاژن [۱۴، ۱۷، ۲۱] بوده است. هم‌چنین، مطالعات مختلفی روی اثر UV بر پوست (به عنوان منبع عمده کلاژن) [۲۳] و خواص مکانیکی کلاژن مشتق از تاندون دم موش صحرائی [۲۴] انجام شده است. به تازگی مطالعه‌ای نیز روی اثر اسکوریبک اسید به عنوان ضداکسنده در حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از تخریب نوری کلاژن انجام شده است [۲۶، ۲۵] که می‌توان در کاربردهای مهندسی بافت از آن استفاده کرد.

از آن جا که پرتو UV بیشتر جذب سطحی دارد، مقدار سطح مخصوص بسیار حایز اهمیت است. برای مثال، به دلیل افزایش سطح مخصوص رشته‌های کلاژنی نسبت به فیلم‌های کلاژنی، انرژی UV جذب شده در کلاژن رشته‌ها بیشتر است. بنابراین، در مدت زمان‌های کمتر پرتودهی می‌توان به خواص مطلوب و مورد نظر دست یافت. از آن جا که اندازه میانگین قطر تخلخل‌ها در مقدار افزایش سطح مخصوص و نیز تجمع انرژی UV در تخلخل‌ها بسیار حایز اهمیت است، میانگین قطر تخلخل‌های داربست‌های تهیه شده، با استفاده از تصاویر میکروسکوپی الکترون پویشی  $98.52 \pm 12.51 \mu\text{m}$  محاسبه شد (شکل ۱).



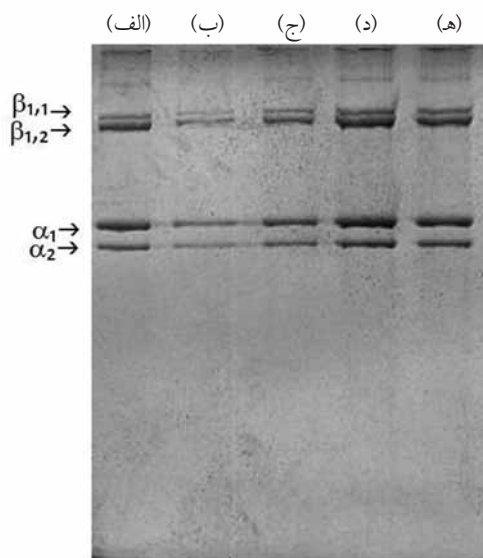
(ب)



(الف)

شکل ۱ - تصاویر میکروسکوپی الکترون پویشی از داربست‌های کلاژنی تهیه شده به روش خشکاندن انجام‌داری در دو بزرگ‌نمایی مختلف: (الف) ۱۰۰ و





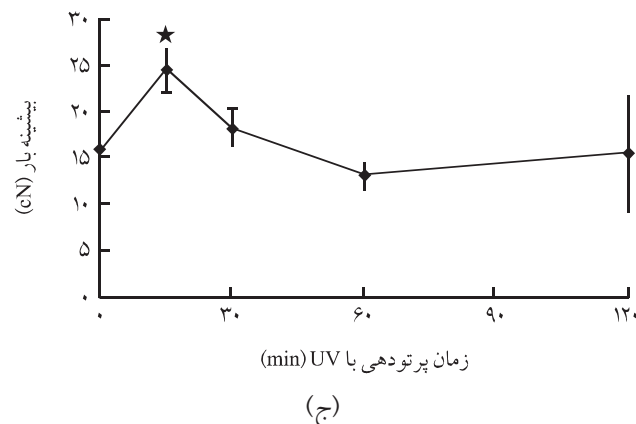
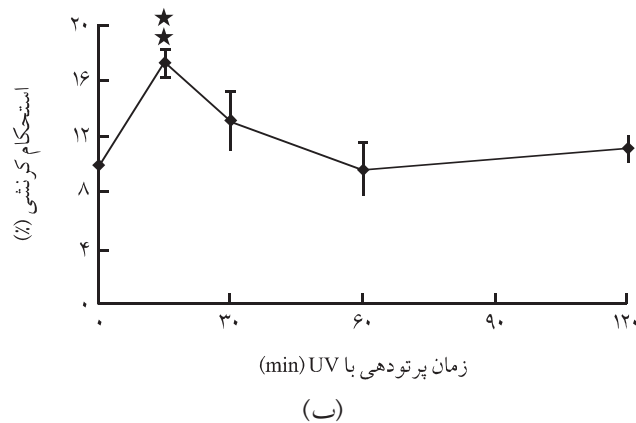
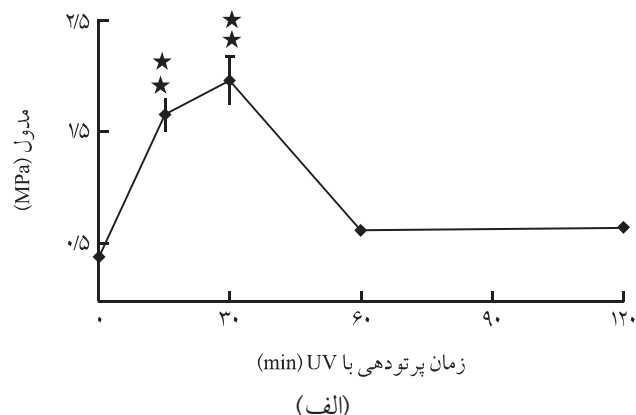
شکل ۳ - الگوی الکتروفورز داربست‌های کلاژنی پس از زمان‌های مختلف پرتودهی با UV: (الف) ۰ min، (ب) ۱۵، (ج) ۳۰ min، (د) ۶۰ min و (ه) ۱۲۰ min.

مولکول‌های کلاژن را تخریب می‌کند، لازم بود. این در حالی است که تاکنون هیچ مطالعه‌ای در این زمینه گزارش نشده است. نتایج حاصل از الگوی الکتروفورز (شکل ۳) نشان می‌دهد که در تمام انرژی‌های UV، پیوندهای مختص به مولکول کلاژن مانند  $\alpha_1$ ،  $\alpha_2$ ،  $\beta_1$  و  $\beta_2$  بدون تخریب باقی مانده‌اند و این افت خواص مکانیکی احتمالاً ناشی از شکست پیوندهای بین مولکولی بوده است.

بدین ترتیب، به دلیل افزایش سطح مخصوص نانومواد که شاخص اصلی این مواد است و منجر به جذب بیشتر انرژی می‌شود، پرتودهی UV به عنوان روش شبکه‌ای کردن فیزیکی آسان، سریع و قابل کنترل و بدون آثار سمیت‌زایی برای کاربردهای مهندسی بافت پیشنهاد می‌شود.

### نتیجه‌گیری

خواص مکانیکی زیست‌مواد بر پایه کلاژن و نیز سرعت تخریب آنها پس از پیوند داخل بدن به طور عمده به وسیله مقدار شبکه کردن آنها کنترل می‌شود. به نظر می‌رسد، پرتودهی UV روشی مناسب برای شبکه‌ای کردن کلاژن برای کاربردهای مهندسی بافت‌های مختلف باشد، زیرا بدون وارد کردن مواد شیمیایی اضافی و با پرتودهی کمتر از ۳۰ min می‌توان به استحکام مکانیکی زیاد و آثار تخریب کمتر دست یافت. در این مطالعه، آثار پرتودهی UV روی خواص مکانیکی



شکل ۲ - خواص مکانیکی داربست‌های کلاژنی پس از پرتودهی با لامپ UV. (\* $p > 0.01$  و \*\* $p > 0.05$ ): (الف) مدول یانگ، (ب) استحکام کرنشی و (ج) بیشینه بار.

تخریب کلاژن در زمان‌های بیشتر (که ایجاد انرژی‌های بیشتری می‌کند) کاهش می‌یابد.

از آن جا که در مدت زمان‌های طولانی پرتودهی، خواص مکانیکی افت می‌کند، بررسی این امر که آیا انرژی پرتو فرابنفش منجر به تخریب پیوندهای بین مولکولی می‌شود یا این که بدنه مارپیچ سه‌گانه

اثر تخریبی بر زنجیرهای کلاژنی مشاهده نشد. این روش شبکه‌ای کردن می‌تواند برای سایر شکل‌های زیست‌مواد بر پایه کلاژن (مانند لیاف، اسفنج‌ها، ژل‌ها، پودرها و محلول‌ها) نیز مفید باشد.

داربست‌های کلاژنی تهیه شده به روش خشکاندن انجمادی و نیز اثر تخریبی آن روی مولکول کلاژن بررسی شد. ۱۵ min پرتودهی با UV مدول یانگ، کرنش کششی و بیشینه بار را افزایش داد و طی این مدت نیز

## مراجع

- Charulatha D. and Rajaram A., Dimethyl 3,3-Dithiobispropionimidate: A Novel Crosslinking Reagent for Collagen, *Biomed. Mater. Res.*, **54**, 122-128, 2001.
- Lien S., Li W., and Huang T., Genipin-crosslinked Gelatin Scaffolds for Articular Cartilage Tissue Engineering with a Novel Crosslinking Method, *Mater. Sci. Eng. Part C*, **28**, 36-43, 2008.
- Miyata T., Taira T., and Noishiki Y., Collagen Engineering for Biomaterials Use, *Clin. Mater.*, **9**, 139-148, 1992.
- Nimni M.E., Polypeptide Growth Factors: Targeted Delivery Systems, *Biomaterials*, **18**, 1201-1225, 1997.
- Schlegel H., Mohler F., Busch F., and Mehl A., Preclinical and Clinical Studies of a Collagen Membrane (Bio-Gidet), *Biomaterials*, **18**, 535-538, 1997.
- Keefe L., Wauk L., Chu S., and Delustro F., Clinical Use of Injectable Bovine Collagen: A Decade of Experience, *Clin. Mater.*, **9**, 155-162, 1992.
- Yannas I.V., Tissue Regeneration by Use of Collagen-glycosaminoglycan Co-polymers, *Clin. Mater.*, **9**, 179-187, 1992.
- Friess W., Collagen-biomaterial for Drug Delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **45**, 113-136, 1998.
- Dalm D., Pruffer G., Dohmen E., Mayer E., Groh Y.H., Chol E.H., and Oelert H., Pathophysiology of Early Failure of Autologous Aortic Heart Valves, *Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **46**, 344-347, 1998.
- Van Luyn M.J.A., Verheul J., and Van Wachem P.B., Regeneration of Full Thickness Wounds Using Collagen Split Grafts, *J. Biomed. Mater. Res.*, **29**, 1425-1436, 1995.
- Tomazic B.B., Brown W.E., and Schoer F.J., Physicochemical Properties of Calcified Deposits Isolated from Porcine Bioprosthetic Heart Valves Removed from Patients Following 2-13 Years Function, *J. Biomed. Mater. Res.*, **28**, 35-47, 1994.
- Park J.B and Bronzino J.D., *Biomaterials Principles and Applications*, CRC, London, 2002.
- Brinckmann J., Notbohm H., and Muller P.K., *Collagen Primer in Structure, Processing and Assembly*, Springer, US, 2005.
- Weadock K., Miller E., Bellincampi L., Zawadsky J., and Dunn M., Physical Crosslinking of Collagen Fibers: Comparison of Ultraviolet Irradiation and Dehydrothermal Treatment, *Biomed. Mater. Res.*, **29**, 1373-1379, 1995.
- Ohan M., Weadock K., and Dunn M., Synergistic Effects of Glucose and Ultraviolet Irradiation on the Physical Properties of Collagen, *J. Biomed. Mater. Res.*, **60**, 384-391, 2002.
- Cornwell K., Lei P., Andreadis S., and Pins G., Crosslinking of Discrete Self-assembled Collagen Threads: Effects on Mechanical Strength and Cell-matrix Interactions, *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, **80**, 362-371, 2007.
- Andrea B. and Dunn M., Changes in Mechanical Properties and Cellularity During Long-term Culture of Collagen Fiber ACL Reconstruction Scaffolds, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **73**, 388-397, 2005.
- Levy R.J., Qu X., Underwood T., Trachy J., and Schoen F., Calcification of Valved Aortic Allografts in Rats: Effect of Age, Crosslinking and Inhibitors, *J. Biomed. Mater. Res.*, **29**, 217-226, 1995.
- Van Wachem P.B., Zeeman R., Dijkstra P.J., Feijen J., Hendriks M., Cahalan P.T., and Van Luyn M.J., Characterization and Biocompatibility of Epoxy-crosslinked Dermal Sheep Collagens, *J. Biomed. Mater. Res.*, **47**, 270-277, 1999.
- Rabotyagova O.S., Cebe P., and Kaplan D.L., Collagen Structural Hierarchy and Susceptibility to Degradation by Ultraviolet Radiation, *Mater. Sci. Eng. Part C*, **28**, 1420-1429, 2008.
- Weadock K., Miller E., Keuffel E., and Dunn M., Effect of Physical Crosslinking Methods on Collagen-fiber Durability in Proteolytic Solutions, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **32**, 221-226, 1998.
- Foidart J., Tryggvason K., Robey P., Liotta L., and Martin G., Biosynthesis of Type IV and V (alpha A-alpha B) Collagens by Human Placenta, *Coll. Relat. Res.*, **1**, 137-150, 1981.
- Yarosh D., Dong K., and Smiles K., UV-induced Degradation of Collagen I Is Mediated by Soluble Factors Released from Ker-

- atinocytes, *AGI Dermatics*, **84**, 67-68, 2007.
24. Sionkowska A. and Wess T., Mechanical Properties of UV Irradiated Rat Tail Tendon (RTT) Collagen, *Int. J. Biolog. Macromol.*, **34**, 9-12, 2004.
25. Metreveli N.O., Jariashvili K.K., Namicheishvili L.O., Svintradze D.V., Chikvaidze E.N., Sionkowska A., and Skopinska J., UV-Vis and FT-IR Spectra of Ultraviolet Irradiated Collagen in the Presence of Antioxidant Ascorbic acid, *Ecotoxicol Environ. Saf.*, **73**, 448-455, 2009.
26. Metreveli N., Namicheishvili L., Jariashvili K., Mrevlishvili G., and Sionkowska A., Mechanisms of the Influence of UV Irradiation on Collagen and Collagen-Ascorbic Acid Solutions, *Int. J. Photoenergy*, 1-4 Article ID 76830, 2006.