مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۴، شماره۵، آذر و دی ۱۳۹۸(شماره پی در پی ۱۳۶)

Archiv

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

ارزیابی توان تکثیر سلول‌های فیبروبلاست بر داربست پلی‌کاپرولاکتون ـ کیتوسان ـ تانیک اسید

سیده سارا هاشمی[۱]، زهره سعادت جو[۲]، رضا محمودی[۲]، حمداله دلاویز[۲]، حسن بردانیا[۲]، زینب صالح پور[۳]، مهرزاد جعفری برمک[۲]، امیر قنبری[۲*]

[۱]مرکز تحقیقات سوختگی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران، [۲]مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۳]مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۰۷/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: مهندسی بافت اجزاء بافت تخریب شده را شناسایی و در جهت بهبود و عملکرد آن راهکارهای منطقی ارایه می‌دهد. یکی از این راهکارها ساخت یک داربست مخلوط با پلی ساکارید و آنتی اکسیدان مصنوعی است تا سلول‌های بنیادی در داخل آن کشت داده شوند، لذا هدف از این مطالعه تعیین و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست بر داربست پلی‌کاپرولاکتون ـ کیتوسان ـ تانیک اسید بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی از ماده پلی کاپرولاکتون، پودر کیتوسان و تانیک اسید داربستی جهت رشد سلول‌های فیبروبلاست تهیه شد. سپس جهت پژوهش‌های بعدی گروه‌های زیر طراحی شدند؛ گروه ۱ داربست پلی کاپرولاکتون، گروه ۲ داربست پلی کاپرولاکتون ـ کیتوسان، گروه ۳ داربست پلی‌کاپرولاکتون‌ـ تانیک اسید و گروه ۴ داربست پلی کاپرولاکتون‌ـ کیتوسان تانیک اسید در این مطالعه پوست ختنه گاه انسان تهیه و سلول‌های فیبروبلاست لایه درم آن پس از انجام تکنیک‌های آزمایشگاهی جدا شده، سپس سلول‌ها به همراه محیط کشت DMEM درون فلاسک‌های کشت سلول قرار داده و در انکوباتور ۵ درصد CO_2دار نگهداری شدند. ده هزارسلول فیبروبلاست در چاهک‌های ۹۶ خانه‌ای حاوی محلول DMEM و داربست‌های گروه‌های بالا منتقل و سپس میزان تکثیر و بقاء سلول‌های فیبروبلاست با استفاده از روش MTT و همچنین با استفاده از میکروسکوپ SEM نفوذ سلول‌های فیبروبلاست بر روی داربست وهم چنین به منظور بررسی گروه‌های شیمیایی موجود در پلی‌مرازها از طیف سنج FTIR استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین درصد بقاء سلول فیبروبلاست بر اساس تست MTT در ۲۴ ساعت در گروه داربست پلی‌کاپرولاکتون ـ تانیک اسید در مقایسه با گروه داربست پلی‌کاپرولاکتون افزایش آماری معنی‌داری نشان می‌دهد($p<۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان می‌دهد که میانگین درصد بقاء سلول بر اساس تست MTT در ۲۴ ساعت در گروه داربست پلی‌کاپرولاکتون‌ـ کیتوسان ـ تانیک اسید در مقایسه با گروه داربست پلی‌کاپرو لاکتون افزایش آماری معنی‌داری نشان می‌دهد($p<۰/۰۵$). همچنین میانگین درصد بقاء سلول در داربست پلی کاپرولاکتون ـ کیتوسان در مقایسه با گروه پلی کاپرولاکتون از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که داربست پلی کاپرولاکتون‌ـ کیتوسان ـ تانیک اسید با توجه به خاصیت هیدروفیل بودن و زیست سازگاری کیتوسان و تانیک اسید، احتمالاً می‌تواند داربستی مناسب برای فعالیت سلول‌های فیبروبلاست در داربست باشد. همچنین احتمالاً می‌تواند محیط مناسب و سازگار با شرایط طبیعی بدن برای رشد و تکثیر سلول‌های دیگر باشد.

واژه‌های کلیدی: داربست، پلی کاپرولاکتون، کیتوسان، تانیک اسید، سلول فیبروبلاست

***نویسنده مسئول : امیر قنبری**، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی
Email: mehrzadj14@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

مقدمه

علم مهندسی بافت، به عنوان راهکاری نوین و امیدبخش برای احیا و بازسازی بافت آسیب دیده است، به طوری که هر دو ویژگی ساختاری و عملکردی قبل از آسیب را برگرداند. هدف از مهندسی بافت، ترمیم بافت از طریق روش‌های بیولوژیکی مانند استفاده از سلول‌ها و به کارگیری ابزارهای مصنوعی مؤثر و زیست تخریب‌پذیر برای طراحی داربست می‌باشد(۱).

فرآیندهای اصلی و مرکزی در مهندسی بافت بر سه جزء استوار می‌باشد؛ فناوری سلول، فناوری ساخت داربست و فناوری کاشت و ترکیب در محیط درون تنی پس می‌توان گفت که داربست باید از لحاظ ساختاری و عملکرد بیولوژیک، تقلیدی از ماتریکس خارج سلولی طبیعی باشد و بیش از آن هر دو اصطلاح ترکیب شیمیایی و ساختار فیزیولوژیکی را فراهم کند. در واقع داربستی که سلول بر روی آن قرار می‌گیرد باید دارای ویژگی‌هایی هم‌چون زیست سازگاری، زیست تخریب‌پذیری، آب‌دوستی، غیر سمی‌بودن، یکپارچگی بافتی و استحکام مکانیکی مطلوب، داشتن ویژگی‌های مناسب شیمیایی و فیزیکی در جهت تأمین نیاز بافت هدف، هماهنگی جهت انتشار مواد غذایی و گازها و هم‌چنین توانایی جذب و یکپارچه شدن در جایگاه پیوند را فراهم کند(۲).

در حال حاضر روش‌های مختلفی برای تولید انواع داربست مطرح شده است، مانند؛ کشش، تولید الیاف با قالب ، دمش مذاب و الکتروریسی. در میان انواع روش‌های تولید داربست، روش الکتروریسی بیشتر از سایر روش‌ها مورد توجه قرار گرفته است(۳). الکتروریسی به عنوان روشی ساده، سریع، کارآمد و ارزان برای تولید نانوالیاف است(٤).

امروزه به دلیل اهمیت زیاد محیط زیست، پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. از جمله این پلیمرها می‌توان به پلی‌کاپرولاکتون اشاره کرد که پلیمری خطی و آبگریز است و یک پلی‌استر آلیفاتیک نیمه کریستالی به شمار می‌رود. این پلیمر به علت خواص فیزیکی عالی، در دسترس بودن و زیست سازگاری ذاتی، ماده‌ای مناسب برای مصارف پزشکی به حساب می‌آید و به شکل گسترده‌ای در مهندسی بافت کاربرد دارد(۵).

پلی کاپرولاکتون ماده‌ای است که تقریباً ارزان بوده و دارای الاستیسیته بالایی بوده و فاقد خاصیت سمی می‌باشد و تخریب آن به آهستگی در طی مدت زمان(۲-۱) سال صورت می‌گیرد(۶) این پلیمر زیست تخریب‌پذیر بوده و به وسیله میکروارگانیسم‌ها تخریب می‌شود، داربست‌های نانوفیبر اصلاح یافته زیادی از جنس پلی‌کاپرولاکتون برای بافت‌های مختلفی مانند پوست، غضروف، استخوان و قلب مورد استفاده قرار می‌گیرد(۷).

کیتین و ترکیب استیل‌دار شده آن کیتوسان، دو پلیمر طبیعی شناخته شده‌اند که پس از سلولز فراوان‌ترین پلیمرهای موجود در طبیعت هستند. منابع مختلف کیتین شامل؛ بی مهرگان دریایی (مانند میگو و خرچنگ)، قارچ‌ها، باکتری‌ها،

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

گیاهـــان، جلبـکـهـا، نـرم‌تنـان، مخمرهـا و حشـــرات اســـت(۸ و ۵).

کیتوســان تنهـا پلیمـر کـاتیونی اسـت کـه بـا فرآیند استیل‌دار کردن جزئی کیتین در حالت جامـد در شـــرایط قلیایی(سدیم هیدروکسید غلیظ) از کیتـین بـه دسـت مـی‌آیـد(۹) کیتوســـان حاصـــل نیـــز دارای خواصـــی هـم‌چـون؛ زیسـت سـازگاری، ضـدباکتری، ضـدویروس، سـمی نبـودن، عـدم ایجـاد حساسـیت می‌باشد(۱۱ و ۱۰)؛ بنابراین، با توجه به خواص مزبور این پلیمر طیف گسترده‌ای از کاربردهای پزشکی را در زمینـه مهندسـی بافـت در حیطـه نانوالیـاف پوشـش مـــی‌دهـــد(۱۳ و۱۲) بـــرای ســـهولت الکتروریســـی محلول‌های مختلفی از کیتوسـان بـا سـایر پلیمرهـایی هم‌چـون کـلاژن، پلـی‌وینیـل الکـل، ژلاتـین، پلـی‌اتـیلن اکســید و پلی کاپرولاکتان استفاده شـــده‌اند(۱۴).

اخیـراً داربسـت‌هـای نـانوفیبر بـرای تـرمیم نواقص پوستی مورد استفاده قرار گرفته‌انـد(۱۵و ۱۶). پوست به طور پیوسته در حال بازسازی و احیا خود و انجام فرآیندهای مربوط به ترمیم آسـیب‌هـای وارده به خود مـی‌باشـد(۱۷). آسـیب‌هـای وارده بـه پوسـت عمدتاً به وسیله سوختگی‌ها، بیمـاری‌هـای مـادرزادی، زخم‌های مزمن شامل؛ زخم‌های دهانی، دیابت، عفونت و بیمـاری‌هـای عـروق محیطـی و تومورهـا و دیگـر موقعیت‌های درمی ایجاد می‌شوند(۱۸).

برای درمان جراحت‌های پوستی از محلول‌های ضدعفونی کننده نظیر؛ بتادین، اسید استیک، شستشو با سـرم فیزیولـوژی و پمادهـای آنتـی‌بیوتیـک اسـتفاده می‌شود. در حالی که پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهـد که بسیاری از محلول‌های اسـتفاده شـده در ضـایعات پوستی برای فیبروبلاست‌ها، لنفوسیت‌ها و سلول‌هـای مورد نیاز ترمیم زخم سمی‌می‌باشند(۱۹). جراحی‌هـای پلاستیک جهت پیوند، از بافـت پوسـت بـدن فـرد و یـا اسـتفاده از پوسـت افـراد دیگـر و یـا حتـی حیوانـات مـی‌باشـد، امـا بـه دلایـل عـدم توانـایی در تـرمیم خود به خودی بافت‌های آسیب دیده و هـم‌چنـین عـدم پذیرش سیستم ایمنی، امکان پیوند از یک فـرد بـه فـرد دیگر به راحتی صورت نمی‌گیرد(۲۰).

در طب سنتی تلاش‌هـای گونـاگونی در جهـت یافتن دارویی در جهت تسریع بهبود زخـم و ضـایعات پوستی انجام گرفته است که از جمله آن مـی‌تـوان بـه استفاده از؛ بابونه، به دانه، صبرزرد و بلوط در تسریع زخم اشاره کرد(۲۱و۲۲). ترکیبات پلی‌فنلی و تـانن کـه به اسم‌های دیگری چون؛ اسید تانیک، گالوتانن و اسید گالوتانیک نیـز شـناخته شـده‌انـد، از مهـم‌تـرین مـواد موجـود در بلـوط هسـتند(۲٤ و۲۳). ترکیبـات فنلـی از مهم‌ترین منابع آنتی‌آکسیدان طبیعی می‌باشند(۲۵).

تانن‌ها(تانیـک اسـید) دارای خـواص مختلـف می‌باشند کـه مـی‌توانـد بـرای بـاکتری‌هـا، مخمرهـا و قارچ‌های رشته ای و حتی ویروس‌ها توکسیک و سـمی باشند. تانن‌ها با رسوب پروتئین‌های میکروبی مانع از رشـد آنهـا مـی‌شـوند(۲٦). همـه تـانن‌هـا یـک سـری ویژگی‌های مشترک از جمله توانایی انعقاد آلبومین‌هـا، فلزات سنگین و آلکالوئیدها دارند. این مواد در آب حـل می‌شوند و ویژگی قابض بودن از خود نشان می‌دهنـد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

از این رو از آن‌ها می‌توان در کاهش تحریکات و دردها ، زکام‌ها، برونشیت‌ها، خونریزی‌های موضعی و سوختگی‌ها استفاده کرد(۲۷).

سلول فیبروبلاست مهم‌ترین سلول بافت همبند می‌باشد که باعث تولید ماتریکس خارج سلولی و کلاژن می‌گردد. در واقع ماتریکس اکستراسلولار قسمتی از بافت است که برای رشد و ترمیم زخم و فیبروز ضروری است، فیبروبلاست مهم‌ترین سلول فرآیند ترمیم زخم می‌باشد و مسئول شروع آنژیوژنز است و هم‌چنین نقش مهمی در ترمیم اپیدرم و تشکیل کلاژن دارد(۲۹ و ۲۸).

پلی کاپرو لاکتان و کیتوسان با داشتن ویژگی‌های منحصر به فرد، قابلیت ایجاد مسیری مناسب برای دریافت و فرستادن علایم زیست شیمیایی دارد، هم‌چنین با توجه به رویکردهای تحقیقی به گیاهان دارویی و بومی از جمله جفت بلوط به خاطر داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود از جمله تانن و از طرفی نتایج ارایه شده، لذا هدف از این مطالعه تعیین و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست بر داربست پلی‌کاپرولاکتون ـ کیتوسان ـ تانیک اسید بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ماده پلی کاپرولاکتونچ، پودر کیتوسان و تانیک اسید از شرکت سیگما-آلدریچ و استیک اسید به عنوان حلال از شرکت آرمان ـ سینا خریداری شد.

بر اساس پژوهش‌های قبلی محققان دیگر و به منظورکشت سلول‌های فیبروبلاست، ابتدا پوست تهیه شده از ختنه گاه انسان(بیماران اتاق عمل بیمارستان قطب‌الدین شیراز)را در PBS حاوی آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین استرپتومایسین، شست و شو داده و سپس هیپودرم پوست را جدا و پوست به تکه‌های کوچک ۱×۱ سانتی‌متر برش زده و در محلول دیسپاز به مدت ۱۸ ساعت در یخچال نگه‌داری شد تا اپیدرم به راحتی از درم جدا شود. سپس دیسپاز را خارج کرده و قطعات پوست را در پتری دیش قرار داده و به منظور خنثی‌سازی اثر دیسپاز بروی تکه‌های پوست محیط کشت کامل که حاوی DMEM و ۱۰ درصد FBS و Pen Sterep می‌باشد، اضافه شد. سپس محیط را تخلیه و مقداری تریپسین به پوست اضافه و به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. بعد از آن با تیغ جراحی بر روی سطح پوست کشیده تا اپیدرم از درم جدا شود، سپس مخلوط به دست آمده از درم قطعه‌قطعه شده را با دور ۱۵۰۰ و به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ نموده تا سلول‌ها در لوله رسوب کنند و سپس سلول‌ها به فلاسک کشت منتقل شدند. فلاسک حاوی سلول و محیط کشت را در انکوباتورCO_2 دار، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و به منظور به دست آوردن سلول کافی سه بار پاساژ سلولی انجام شد. در نهایت شمارش سلول‌ها با استفاده از رنگ تریپان بلو و لام نئوبار در یک سی‌سی محیط کشت انجام و محاسبه شد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

برای اندازه‌گیری سمیت سلولی ماده تانیک اسید(تانن) از آزمون MTT استفاده شد. در این روش پس از شمارش سلول‌ها به میزان ۱۰ هزار سلول درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه کشت داده، پس از مدت زمان لازم به آرامی محیط رویی خارج و به همه چاهک‌ها ترکیب تانیک اسید و محیط کشت با غلظت‌های ۵۰،۲۵، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰(میکروگرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد. در ادامه پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده و بعد از مدت زمان مشخص شده، درون هر چاهک ۵۰ میکرولیتر محلول MTT اضافه و سپس پلیت را به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. پس از آن محلول MTT را خارج کرده و ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO اضافه و به مدت نیم ساعت در محیط بیرون نگهداری و سپس پلیت را در دستگاه الیزا قرار داده و جذب نوری آنها را با طول موج ۵۷۰ خوانده شدند. غلظتی از ترکیب مورد آزمایش که درصد حیات سلولی را به نصف کاهش دهد، به عنوان IC50 در نظر گرفته شد.

ابتدا پلیمر پلی‌کاپرولاکتون به میزان ۱/۸ گرم را وزن کرده و سپس ۱۰ سی‌سی اسید استیک خالص به آن اضافه گردید و محلول به وسیله هم زن مغناطیسی یکنواخت شد، در ادامه به صورت جداگانه پودر کیتوسان را هم به مقدار۰/۰۴ گرم در اسید استیک ۳۰ درصد حل نموده، همچنین به صورت جداگانه محلول تانیک اسید را با غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در اسید استیک ۳۰ درصد آماده شد. سپس محلول پلی‌کاپرولاکتون، مخلوط پلی‌کاپرولاکتون ـ کیتوسان به نسبت(۳ : ۱)، مخلوط پلی‌کاپرولاکتون- تانیک اسید به نسبت(۴ :۱)، پلی‌کاپرولاکتون- تانیک اسید- کیتوسان به نسبت (۴: ۵/ . :۵/ .) را هر کدام به صورت جداگانه در سرنگ قرار داده و با دستگاه الکتروریسی با ولتاژ ۱۶ کیلوولت، الکتروریسی شدند.

به منظور بررسی مورفولوژی الیاف الکتروریسی شده از داربست‌های مذکور، تصاویری به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی TESCANمدل $Vega_3$ ساخت کشور جمهوری چک، گرفته شد.

در این پژوهش، به منظور بررسی و مقایسه ساختار نمونه‌ها در حالت نانوالیاف از طیف‌سنج FTIR، مدل RX1 ساخت شرکت Perkin-Elmer که برای گرفتن طیف از نمونه‌های مذکور استفاده شد. برای آماده‌سازی، نمونه‌ها همراه با پودر KBr ساییده می‌شوند و در نهایت به شکل یک قرص درآورده می‌شوند و گروه‌های شیمیایی تشکیل دهنده آنها به صورت منحنی به وسیله دستگاه رسم می‌شود.

برای بررسی فعالیت ومیزان زنده مانی سلول بر روی داربست، در این روش ابتدا قطعات پانچ شده داربست‌ها را در پلیت ۹۶ خانه قرار داده وده هزار سلول را بر روی هر داربست کشت داده شد، سپس پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده و بعد از مدت زمان مشخص شده، درون هر چاهک ۵۰ میکرولیتر محلول MTT اضافه و سپس پلیت را به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. پس از آن محلول MTT را خارج کرده و ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO اضافه و

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

به مدت نیم ساعت در انکوباتور نگهداری و سپس پلیت را در دستگاه الیزا قرار داده و جذب نوری آنها را با طول موج ۵۷۰ خوانده شدند.

داربست‌های مذکور، درون پلیت‌های ۱۲ خانه قرار گرفت، سپس ۳۰ هزار سلول فیبروبلاست به آن‌ها اضافه و سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند و پس از آن برای فیکس کردن سلول بر روی داربست، از گلوتاردی‌آلدهید محلول در آب ۲/۵ درصد استفاده شد. داربست‌های موجود را در محلول گلوتار دی‌آلدهید غوطه‌ور ساخته و به مدت ۴ ساعت در یخچال نگه‌داری شدند، سپس گلوتاردی‌آلدهید را تخلیه کرده و داربست‌ها را با آب دیونیزه شست و شو داده و پس از آن به منظور دهیدراته کردن داربست‌ها از اتانول با غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد استفاده شد. داربست‌ها در محلول اتانول به ترتیب از غلظت کم به زیاد شست و شو داده شدند(در هر کدام به مدت۲۰ دقیقه قرار گرفت) و در آخر داربست‌ها در زیر هود خشک و سپس به منظور بررسی زیست سازگاری سلول‌های فیبروبلاست تصاویری به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی TESCAN مدل Vega3 ساخت کشور جمهوری چک، گرفته شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج نشان دادند که با افزایش غلظت تانیک اسید درصد زنده مانی سلول فیبروبلاست کاهش می‌یابد و با توجه به نمودار(۱) غلظت مهار کنندگی تانیک اسید(تانن) برای رشد سلول‌های فیبروبلاست (IC50) نزدیک به، ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشخص شد.

ساختار مولکولی پلی‌کاپرولاکتان، کیتوسان و تانیک اسید از گروه‌های مختلف شیمیایی از جمله گروه C=O–، NH- و O-C=O– ساخته می‌شود. بنابراین پس از ساخت داربستی ترکیبی از این دو ماده شیمیایی و بررسی شیمیایی آن به وسیله دستگاه FTIR ، منحنی رسم می‌شود که در مقایسه با منحنی هر کدام از این سه ترکیب به تنهایی و مقایسه آن با جدول استاندارد، صحت منحنی ترکیب مورد نظر ارزیابی می‌شود. بنابراین منحنی مربوط به داربست پلی‌کاپرولاکتان- کیتوسان و پلی‌کاپرولاکتان- کیتوسان - تانیک اسید در مقایسه با منحنی‌های پلی‌کاپرولاکتان، کیتوسان و تانیک اسید مقایسه و عامل‌های استخلاف شیمیایی مختلف، مشترکا در آن دیده می‌شود که صحت کار را تأیید می‌کند(نمودار۳ و۲)

نمودار ۴ نشان می‌دهد که میانگین درصد بقا و تکثیر سلول بر اساس تست MTT در ۲۴ ساعت در گروه داربست پلی‌اپرولاکتون - تانیک اسید در مقایسه با گروه داربست پلی‌کاپرولاکتون افزایش داشته، که از نظر آماری معنی‌داری می‌باشد($p<0/05$). هم‌چنین

www.SID.ir

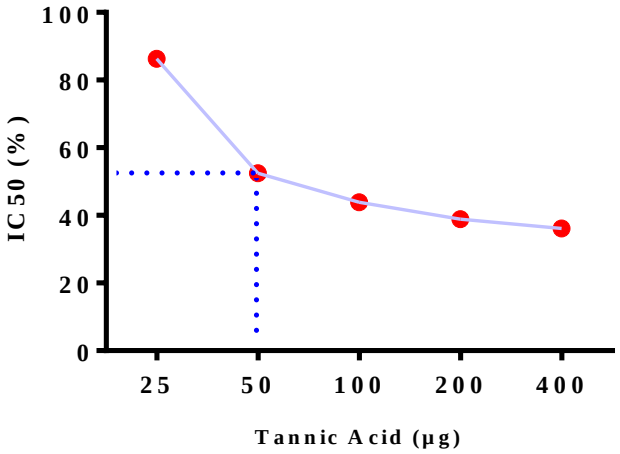
Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

نتایج نمودار ۴ نشان می‌دهد که میانگین درصد بقا و تکثیر سلول بر اساس تستMTT در ۲۴ ساعت در گروه داربست پلی کاپرولاکتون-کیتوسان- تانیک اسید در مقایسه با گروه‌های داربست پلی کاپرولاکتون و پلی‌کاپرولاکتون - کیتوسان افزایش داشته، که از نظر آماری معنی‌داری می‌باشد($p<0/05$). میانگین رشد سلول فیبروبلاست در گروه داربست پلی‌کاپرولاکتون - کیتوسان در مقایسه با گروه‌های داربست پلی‌کاپرولاکتون و پلی‌کاپرولاکتون- تانیک اسید از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که وجود کیتوسان و تانیک اسید در داربست گروه‌های مورد مطالعه به دلیل سازگاری زیست محیطی موجب افزایش فعالیت سلول فیبروبلاست می‌شود.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان می‌دهد که سلول های فیبروبلاست در داربست‌های ترکیبی پلی‌کاپرولاکتان - کیتوسان، پلی کاپرولاکتان - تانیک اسید و پلی کاپرولاکتان - تانیک اسید- کیتوسان نسبت به همان داربست‌ها، ولی فاقد سلول فیبروبلاست، احتمالاً توانسته است از ترکیب‌های شیمیایی کیتوسان و تانیک اسید استفاده نماید و بر روی داربست‌های فوق نفوذ کرده و تکثیر کند، این تصاویر بر سازگاری زیست-محیطی سلول فیبروبلاست بر داربست‌های فوق دلیل مثبتی برای آن می‌باشد(تصویر ٤-١).

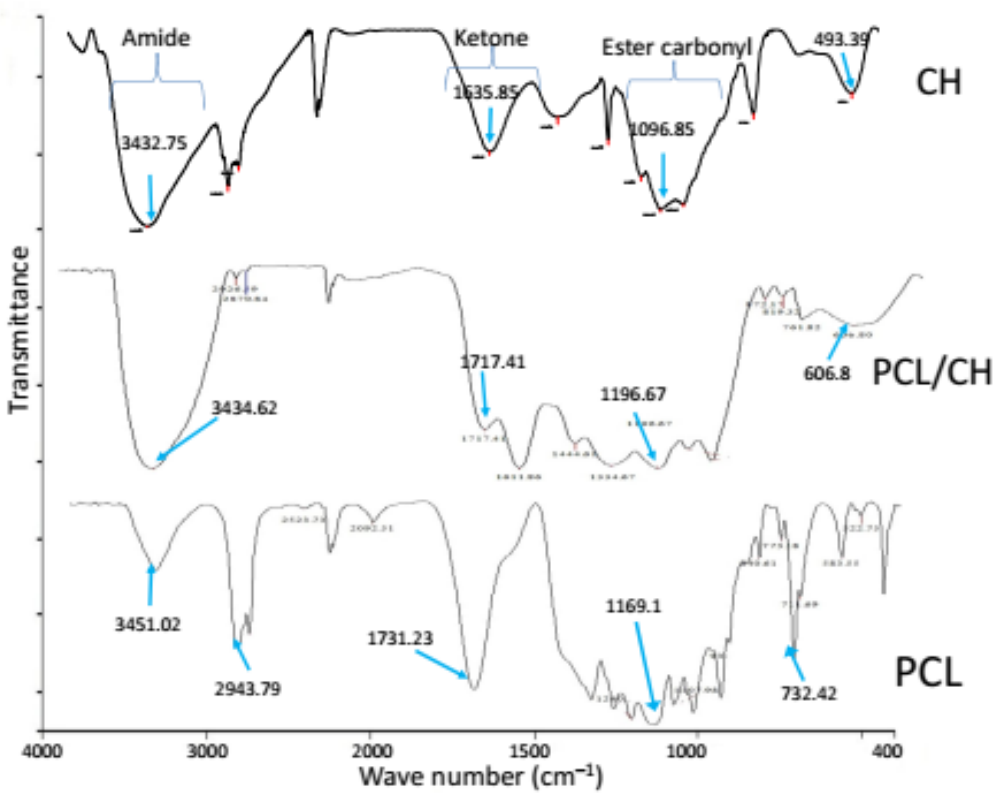


نمودار ۱: اثر غلظت‌های مختلف تانیک اسید بر میزان توانایی زیستی سلول‌های فیبروبلاست

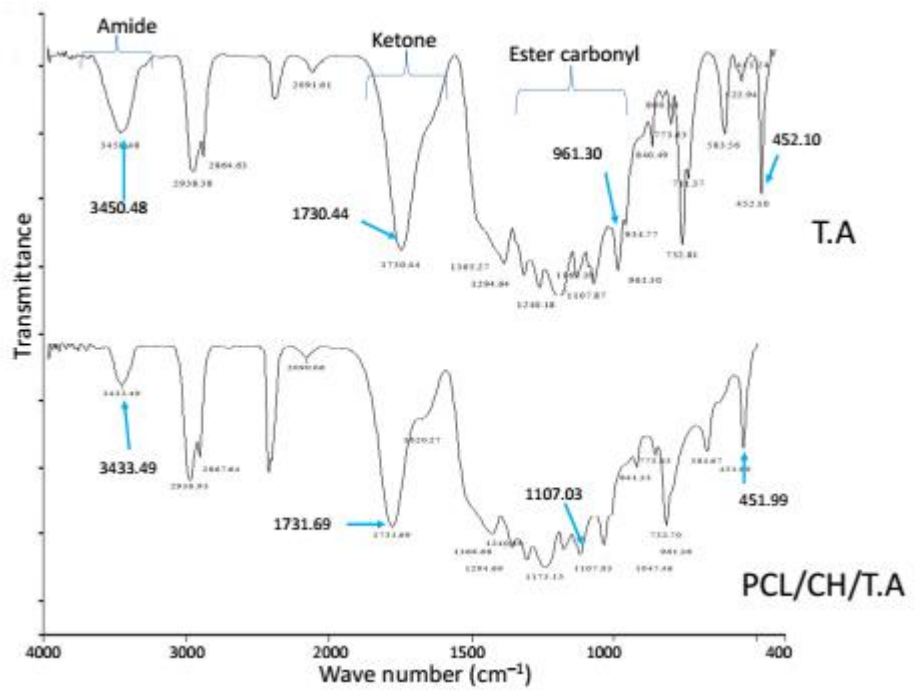
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020



نمودار۲: گروه‌های شیمیایی سازنده ساختار مولکولی پلی‌کاپرولاکتون، کیتوسان و پلی‌کاپرولاکتون ـ کیتوسان

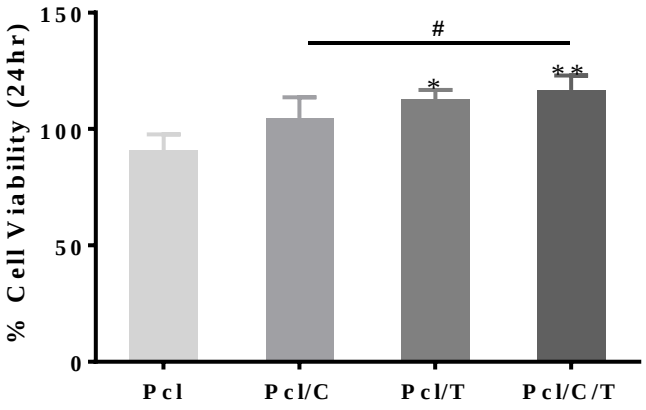


نمودار۳: گروه‌های شیمیایی سازنده در ساختار تانیک اسید و داربست پلی‌کاپرولاکتون ـ کیتوسان ـ تانیک اسید

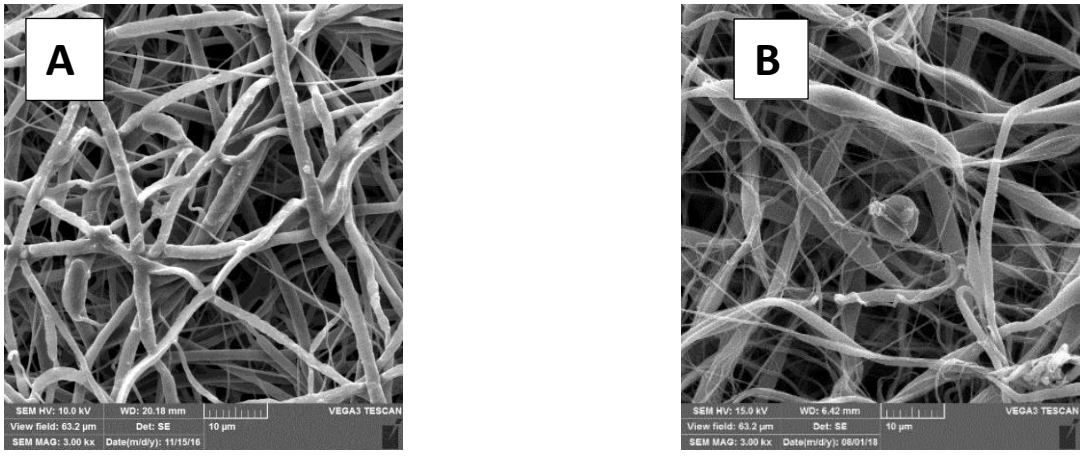
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020



نمودار۴: میانگین بقا و تکثیر سلول فیبروبلاست در گروه‌های مورد مطالعه

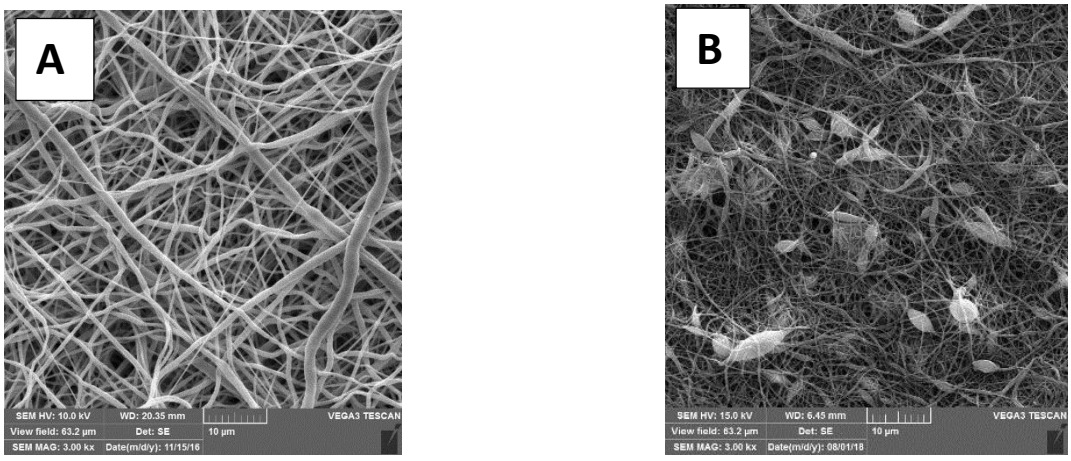


تصویر۱: مقطعی از تصاویر میکروسکوپ الکترونی: (A)داربست پلی‌کاپرولاکتان فاقد سلول، (B)داربست پلی‌کاپرولاکتان با سلول فیبروبلاست، بزرگنمایی 3Kx

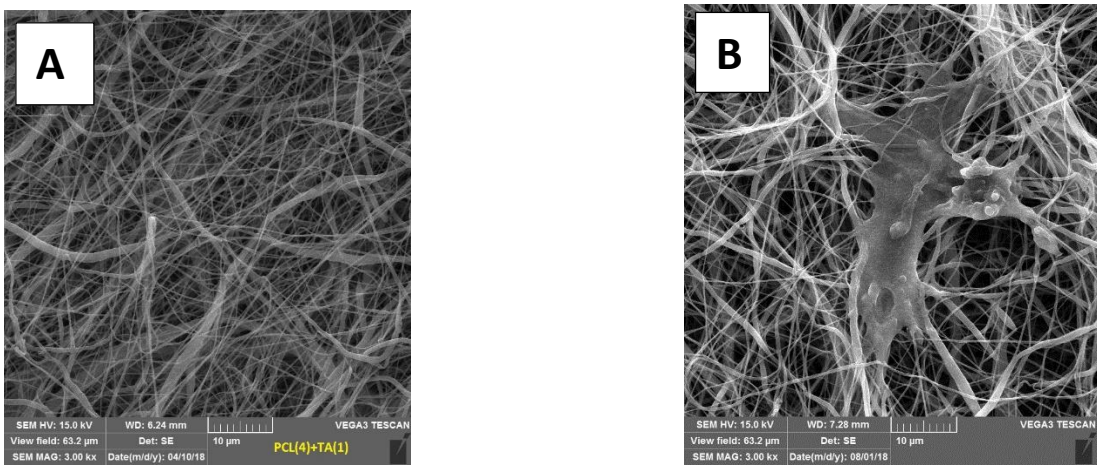
www.SID.ir

Archive of SID

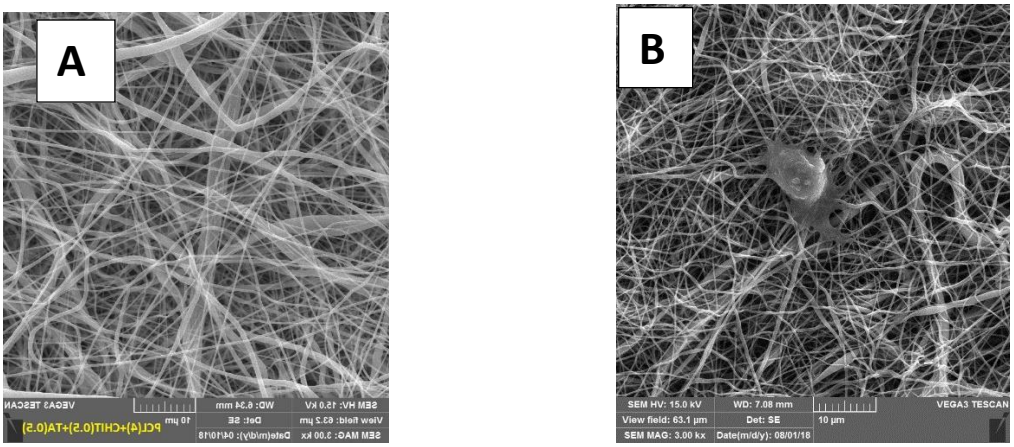
Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020



تصویر۲: مقطعی از تصاویر میکروسکوپ الکترونی: (A)داربست پلی‌کاپرولاکتان ـ کیتوسان فاقد سلول، (B) داربست پلی‌کاپرولاکتان ـ کیتوسان با سلول فیبروبلاست، بزرگنمایی3Kx



تصویر۳: مقطعی از تصاویر میکروسکوپ الکترونی: (A)داربست پلی‌کاپرولاکتان ـ تانیک اسید فاقد سلول، (B) داربست پلی کاپرولاکتان ـ تانیک اسید با سلول فیبروبلاست، بزرگنمایی 3Kx



تصویر۴: مقطعی از تصاویر میکروسکوپ الکترونی: (A)داربست پلی کاپرولاکتان ـ کیتوسان ـ تانیک اسید فاقد سلول، (B)داربست پلی‌کاپرولاکتان ـ کیتوسان ـ تانیک اسید با سلول فیبروبلاست، بزرگنمایی3Kx

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

بحث

تا کنون تحقیقات وسیعی در مهندسی بافت در زمینه سلول درمانی و ساخت بافت انجام شده، به طوری که امروزه توانایی برای ساخت انواع داربست‌ها برای سلول‌های مختلف طراحی و ساخته شده است. هم‌چنین هم‌راستا با مهندسی بافت، از مواد فعال بیولوژیکی نیز بهره‌برداری شده، که برای بازسازی یا شکل‌گیری بافت‌های آسیب دیده استفاده می‌شود(۱۶و۱۵). هدف از مطالعه حاضر، تعیین و بررسی رشد سلول فیبروبلاست در داربست پلی‌کاپرولاکتون- کیتوسان- جفت بلوط بود.

درمان آسیب‌های وارده به پوست نکته مهمی در اولین سد دفاعی بدن است که نیاز به توجه فاکتورهای زیادی از قبیل نوع زخم، عمق زخم ایجاد شده، نوع بیماری که می‌بایست تحت درمان قرار بگیرد، که همگی فرآیند ترمیم را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۳۱ و ۳۰).

آسیب‌های وارده به پوست بسته به شدت آسیب، سبب تخریب سطحی تا عمقی در پوست می‌شود در نتیجه می‌تواند لایه اپیدرم و درم یا هر دو را تحت تأثیر قرار دهد، بنابراین نیاز به استفاده از درمان با روش‌های مختلف از پانسمان‌های سطحی تا یک پوست آلوگرافت، محصولات درمی و یا داروهای گیاهی دارد. که اجزا و ترکیبات اپیدرمی و درمی را می‌توان به کمک مواد طبیعی و یا سنتتیک تولید کرد(۳۲).

هدف اولیه مهندسی بافت پوست رسیدن به ترمیم کامل و برگرداندن عملکرد کامل پوست می‌باشد. یک پیوند موفق پوستی پیوندی است که به خوبی به ناحیه آسیب دیده بچسبد، زیست سازگار بوده، جلوی عفونت، آلودگی و از دست دادن آب را بگیرد و به راحتی در دسترس باشد. نانوفیبرهای تولید شده به روش الکتروریسی، می‌توانند اتصال یکنواختی را در نواحی آسیب دیده ایجاد کنند. این داربست‌های نانوفیبر شامل ترکیباتی از پلیمرهای طبیعی و سنتتیک هستند. گزارش‌هایی که تاکنون برای داربست‌های نانوفیبر در ترمیم زخم مورد استفاده قرار گرفته است شامل؛ پلی‌کاپرولاکتون، پلی‌لاکتیک اسید، کلاژن، کیتوسان و الیاف شیشه‌ای می‌باشد(۱۵).

نتایج تست زنده مانی در این تحقیق نشان داد که میانگین درصد بقا و تکثیر سلول بر اساس تست MTT در ۲۴ ساعت در گروه داربست پلی‌کاپرولاکتون ـ کیتوسان ـ تانیک اسید در مقایسه با سایر گروه‌ها و گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان می‌دهد، که می‌تواند به دلیل اثرات مثبت گروه‌های شیمیایی کیتوسان و تانیک اسید موجود در این داربست‌ها باشد که بستر مناسبی را جهت رشد و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست فراهم کرده است.

استفاده از گیاهان دارویی یکی از روش‌های مهم درمانی است که در درمان بیماری های پوستی نیز نقش مهمی دارد(۳۳).

گیاهان دارویی پتانسیل بالایی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند و این آنتی‌اکسیدان‌ها نقش زیادی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن، که علت اصلی تخریب بافتی از جمله بافت پوستی هستند، دارند(۳٤). گیاه بلوط مصارف دارویی بسیاری از جمله؛ اثر ضدعفونی کنندگی، ترمیم سوختگی و درمان زخم دارد، این اثرات به دلیل وجود تانن ها در ترکیبات ساختاری گیاه می‌باشد(۳۵). در پوست و میوه بلوط ترکیباتی چون فلوباتانن، فلوبافن و فلاونوییدها وجود دارد. فلوباتانن‌ها مخلوطی از فنل‌هایی از قبیل پیروگالول‌ها و الژیک اسیدها هستند. ترکیبات فنلی از مهم‌ترین منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی می‌باشند(۲۵). محققان بیان کردند که تانن موجود در ترکیبات گیاهی می‌تواند نتایج خوبی در ترمیم پوست و بهبود زخم فراهم کند(۲۲).

سلول‌های بنیادی در طول عمر خود دو مسیر برای فعالیت دارند، اگر با محیط اطراف خود سازگاری داشته باشند، روند تکثیر و مهاجرت را بر می‌گزینند و در غیر این‌صورت روند آپوپتوز را طی می‌کنند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سلول‌های فیبروبلاست توانسته‌اند داربست‌های الکتروریسی را به عنوان محیط جدید بپذیرند و با توجه به سازگاری گروه‌های عاملی موجود در کیتوسان و تانیک اسید با سلول فیبروبلاست، شاهد نفوذ فراوان و تکثیر این سلول‌ها در داربست‌های جدید دیده شد. طیف انالیزی FTIR کیتوسان و تانیک اسید در این تحقیق نشان داد که گروه‌های سازنده این مواد در ساختارهای مولکولی سیتوپلاسمی سلول فیبروبلاست نیز بر اساس تحقیقات دیگران موجود است. شاید بتوان گفت یکی از عوامل سازگاری این سلول‌ها با مواد گیاهی یا سنتزی مشترکات مورد نیاز آن‌ها در ساختار مولکولی سلول مانند گروه؛ آمید، کربونیل، استر و غیره است که می‌تواند راز زنده مانی سلول و سازگاری آن را با چنین محیط‌های بیان نماید.

ژائو و همکاران در مطالعه تحقیقی انجام شده، تکثیر سلول‌های فیبروبلاست موش را بر روی داربست پلی‌کاپرولاکتون و پلی‌کاپرولاکتون پوشش داده شده با ژلاتین را بررسی کردند و نتیجه به دست آمده نشان داد که رشد و تکثیر سلول‌ها بر روی داربست پلی‌کاپرولاکتون پوشیده شده با ژلاتین بیشتر بوده است(۳٦).

نتایج میکروسکوپ الکترونی این تحقیق نشان داد که ساختار در هم و تنیده شده پلی‌کاپرولاکتان همراه با کیتوسان و تانیک اسید، توانسته است اسکلت و داربستی محکم و پایدار برای قرارگیری و رشد سلول فیبروبلاست را ایجاد کند، به طوری که سلول‌ها نانوفیبرها را در بر گرفته و با کمک اتصالاتی از جنس پروتئین‌های همانند کادهرین‌ها بر روی این اسکلت محکم قرار گیرند و ماتریکس سلولی خود را تولید نمایند تا در نهایت با رشد فزآینده خود بازتوانی خودشان را به دست آورند.

کنعانی و همکاران داربست نانولیفی بر پایه پلی کاپرولاکتون ـ کیتوسان ـ پلی‌وینیل الکل را برای مهندسی بافت پوست تولید کردند که در آن سلول‌های فیبروبلاست توانسته بودند به خوبی روی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

داربست رشد کرده و پهن شدگی و چسبندگی مناسب را با نانوالیاف نشان دهند. بررسی‌های ماکروسکوپی نتایج بالینی آنها نشان دهنده اثر بسیار مطلوب داربست نانولیفی حاضر بر ترمیم زخم‌های ایجاد شده بود(۳۷).

کومار و همکاران نشان دادند که فلاونوئیدها و تری پنوئیدها، انقباض زخم و اپی‌تلیزاسیون را افزایش می‌دهند. پژوهشگران این مطالعه بیان می‌کنند که نتایج مطالعه آنها در زمینه اپیتلیوم‌زایی، احتمالاً ناشی از حضور فلاونوئیدها یا تری‌پنوئیدها می‌باشد، هم‌چنین آنها بیان می‌کنند که گیاهانی که حاوی تانن می‌باشند، احتمالاً روند التیام زخم کمک بیشتری می‌کنند(۳۸).
از دست دادن سلول های فیبروبلاست ، تهیه داربست پلی کاپرولاکتون با غلظت های مناسب تانن برای رشد سلول فیبروبلاست از جمله مشکلات این طرح بودند.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که داربست پلی‌کاپرولاکتون ـ کیتوسان ـ تانیک اسید با توجه به خاصیت هیدروفیل بودن و زیست سازگاری با سلول‌های فیبروبلاست، احتمالاً می‌توانند داربستی مناسب برای فعالیت سلول‌های فیبروبلاست و افزایش ماتریکس خارج سلولی جهت تکثیر و مهاجرت سلولی در داربست باشند. از آن جا سلول فیبروبلاست در روند التیام زخم نقش به سزایی دارد، بنابراین این داربست می‌تواند به عنوان یک داربست مصنوعی در اتصال بخش‌هایی از بافت که آسیب دیده، به طور موقت قرار گیرد و نواحی آسیب دیده را با کمک سلول فیبروبلست به یکدیگر ارتباط دهد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد آناتومی با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1396.83 دانشگاه علوم پزشکی یاسوج می‌باشد، که با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی یاسوج به انجام رسیده است، لذا از مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج و مرکز تحقیقات سوختگی و ترمیم زخم دانشگاه علوم پزشکی شیراز که ما را در انجام این طرح یاری کردند، قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

REFERENCES

1.Krishnan R, Rajeswari R, Venugopal J, Sundarrajan S, Sridhar R, Shayanti M, et al. Polysaccharide nanofibrous scaffolds as a model for in vitro skin tissue regeneration. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2012; 23(6): 1511-9.
2.Jha BS, Colello RJ, Bowman JR, Sell SA, Lee KD, Bigbee JW, et al. Two pole air gap electrospinning: fabrication of highly aligned, three-dimensional scaffolds for nerve reconstruction. Acta biomaterialia 2011; 7(1): 203-15.
3.Khadka DB, Haynie DT. Protein-and peptide-based electrospun nanofibers in medical biomaterials. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 2012; 8(8): 1242-62.
4.Shabani I, Haddadi-Asl V, Seyedjafari E, Babaeijandaghi F, Soleimani M. Improved infiltration of stem cells on electrospun nanofibers. Biochemical and Biophysical Research Communications 2009; 382(1): 129-33.
5.Samar MM, El-Kalyoubi MH, Khalaf MM, El-Razik MA. Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted from shrimp wastes by microwave technique. Annals of Agricultural Sciences 2013; 58(1): 33-41.
6.Barnes CP, Sell SA, Boland ED, Simpson DG, Bowlin GL. Nanofiber technology: designing the next generation of tissue engineering scaffolds. Advanced Drug Delivery Reviews 2007; 59(14): 1413-33.
7.Abedalwafa M, Wang F, Wang L, Li C. Biodegradable poly-epsilon-caprolactone (PCL) for tissue engineering applications: a review. Rev Adv Mater Sci 2013; 34(2): 123-40.
8.Sini TK, Santhosh S, Mathew PT. Study on the production of chitin and chitosan from shrimp shell by using Bacillus subtilis fermentation. Carbohydrate Research 2007; 342(16): 2423-9.
9.Hashemi S, Rajabi S, Mahmoudi R, Ghanbari A, Jafari Barmak M. The Investigation of Proliferation of Fibroblasts on Chitosan Scaffold in the Presence of Hyaluronic Acid . Armaghane Danesh 2018; 23(2): 134-45.
10.Islam MM, Masum SM, Rahman MM, Molla MA, Shaikh AA, Roy SK. Preparation of chitosan from shrimp shell and investigation of its properties. International Journal of Basic & Applied Sciences 2011; 11(1): 77-80.
11.Benhabiles MS, Salah R, Lounici H, Drouiche N, Goosen MF, Mameri N. Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste. Food Hydrocolloids 2012; 29(1): 48-56.
12.Zeytuncu B, Ürper M, Koyuncu İ, Tarabara VV. Photo-crosslinked PVA/PEI electrospun nanofiber membranes: Preparation and preliminary evaluation in virus clearance tests. Separation and Purification Technology 2018; 197: 432-8.
13.Pillai C, Paul W, Sharma CP. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. Progress in Polymer Science 2009; 34(7): 641-78.
14.Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. International Journal of Food Microbiology 2010; 144(1): 51-63.
15.Chandrasekaran AR, Venugopal J, Sundarrajan S, Ramakrishna S. Fabrication of a nanofibrous scaffold with improved bioactivity for culture of human dermal fibroblasts for skin regeneration. Biomedical Materials 2011; 6(1): 015001.
16.Cevher E, Sezer AD, Peköz AY. 15–Bioengineered wound and burn healing substitutes: novel design for biomedical applications and general aspects. Natural Polymers for Drug Delivery 2016; 7: 183-96.
17.Bhardwaj N, Chouhan D, Mandal BB. 3D functional scaffolds for skin tissue engineering. Woodhead Publishing: InFunctional 3D Tissue Engineering Scaffolds; 2018; 345-65.
18.Hong L, Shen M, Fang J, Wang Y, Bao Z, Bu S, Zhu Y. Hyaluronic acid (HA)-based hydrogels for full-thickness wound repairing and skin regeneration. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2018; 29(9): 150.
19.Delfan B, Bahmani M, Eftekhari Z, Jelodari M, Saki K, Mohammadi T. Effective herbs on the wound and skin disorders: a ethnobotanical study in Lorestan province, west of Iran. Asian Pacific Journal of Tropical Disease 2014; 4: S938-42.
20.Joergensen NL, Le DQ, Andersen OZ, Foss M, Danielsen CC, Foldager CB, et al. Topography-guided proliferation: distinct surface microtopography increases proliferation of chondrocytes in vitro. Tissue Engineering Part A 2015; 21(21-22): 2757-65.
21.Nourbar E, Mirazi N, Yari S, Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Effect of hydroethanolic extract of Nigella sativa L. on skin wound healing process in diabetic male rats. International Journal of Preventive Medicine 2019; 100: 10.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

22.Nikrooze L, Jafari Barmak M, Naghmachi M, Ghafarian shirazi H, Dehghani N. Study of Jaft Aqueous Extract and Silver Sulfadiazine on Burn Healing in Male Rat. Armaghane Danesh 2013; 18(2): 107-14.
23.Huang Q, Liu X, Zhao G, Hu T, Wang Y. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. Animal Nutrition 2018; 4(2): 137-50.
24.Adhami S, Siraj S, Farooqi H. Unexplored Medicinal Plants of Potential Therapeutic Importance: A Review. Trop J Nat Prod Res 2018; 2(1): 3-11.
25.Nilforoushzadeh MA, Amirkhani MA, Zarrintaj P, Salehi Moghaddam A, Mehrabi T, Alavi S, et al. Skin care and rejuvenation by cosmeceutical facial mask. Journal of Cosmetic Dermatology 2018; 17(5): 693-702.
26.Mostafa AA, Al-Askar AA, Almaary KS, Dawoud TM, Sholkamy EN, Bakri MM. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. Saudi Journal of Biological Sciences 2018; 25(2): 361-6.
27.Chávez-González ML, Rodríguez-Duran LV, Buenrostro-Figueroa JJ, Sepúlveda-Torre L, Ascacio-Valdés JA, Rodríguez-Herrera R, et al. Tannin Degrading enzymes: catalytic properties and technological perspectives. In Enzymes in Food Technology 2018; 1: 125-141.
28.Zhou X, Zhang Y, Zhao M, Jian Y, Huang J, Luo X, et al. Surgical management of hand deformities in patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery 2019; 9: 1-7.
29.Mahajan R, Tripathi S, Dabas G, Handa S, De D. Successful correction of pseudosyndactyly in recessive dystrophic epidermolysis bullosa with the use of full-thickness skin graft in resource-poor settings. Journal of the American Academy of Dermatology 2018: 79(3): 100.
30.Zahedi P, Rezaeian I, Ranaei-Siadat SO, Jafari SH, Supaphol P. A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. Polymers for Advanced Technologies 2010; 21(2): 77-95.
31.Guo SA, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. Journal of Dental Research 2010; 89(3): 219-29.
32.Hori K, Osada A, Isago T, Sakurai H. Comparison of contraction among three dermal substitutes: Morphological differences in scaffolds. Burns 2017; 43(4): 846-51.
33.Di Minno A, Frigerio B, Spadarella G, Ravani A, Sansaro D, Amato M, et al. Old and new oral anticoagulants: food, herbal medicines and drug interactions. Blood Reviews 2017; 31(4): 193-203.
34.Javed A, Usman M, Haider SM, Zafar B, Iftikhar K. Potential of indigenous plants for skin healing and care. American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS) 2019; 51(1): 192-211.
35.Farghi Yamchi A, Dabirzadeh M, Maroufi Y. In vitro effect of methanolic extract of quercus infectoria galls on promastigotes and amastigotes of leishmania major (MRHO/IR/75/ER). Medical Laboratory Journal 2018; 12(5): 23-8.
36.Zhao P, Jiang H, Pan H, Zhu K, Chen W. Biodegradable fibrous scaffolds composed of gelatin coated poly (caprolactone) prepared by coaxial electrospinning. Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials 2007; 83(2): 372-82.
37.Gholipour-Kanani A, Bahrami SH, Joghataie MT, Samadikuchaksaraei A, Ahmadi-Taftie H, Rabbani S, et al. Tissue engineered poly (caprolactone)-chitosan-poly (vinyl alcohol) nanofibrous scaffolds for burn and cutting wound healing. IET Nanobiotechnology 2014; 8(2): 123-31.
38.Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. Ethnopharmacological approaches to wound healing—exploring medicinal plants of India. Journal of Ethnopharmacology 2007; 114(2): 103-13.

www.SID.ir

Arc

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Evaluation of Fibroblast Cell Proliferation Assay on Polycaprolactone-Chitosan-Tannic Acid Scaffold

Hashemi SS[1], Saadat Jo Z[2], Mahmoudi R[2], Delaviz H[2], Berdania H[2], Salehpour Z[3], Jafari Barmak M[2], Ghanbari A[2] *

[1]Burn Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, [2]Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [3]Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 23 Sep 2018 Accepted: 20 May 2019

Abstract

Background & aim: Tissue engineering identifies degraded tissue components and provides rational solutions to improve and perform them. One of these approaches is to fabricate a mixed scaffold with polysaccharide and synthetic antioxidants for stem cells to be cultured inside. The aim of this study was to evaluate the potency of poly caprolactan-chitosan-tannic acid scaffold for proliferation of fibroblast cells.

Methods: In the present experimental study, polycaprolactane, chitosan powder and tannic acid scaffold were prepared for growth of fibroblast cells. Subsequently, the following groups were designed: Group 1: Polycaprolactane scaffold Group 2: Polycaprolactane-chitosan scaffold Group 3: Polycaprolactane-tannic acid scaffold Group 4: Polycaprolactane-chitosan-tannic acid scaffold. The human foreskin was prepared and the dermal layer fibroblast cells were isolated after laboratory tests, then the cells were placed in cell culture flasks with DMEM medium and stored in a 5% CO^2 incubator. Ten thousand cell fibroblasts were transferred to 96-well wells containing DMEM solution and scaffolds and then fibroblast cell proliferation and viability were determined by MTT assay and by SEM microscopy to determine the infiltration of fibroblast cells into scaffolds and also in order to review of the chemical groups in the polymers was performed using a FTIR spectrometer. The results were analyzed by the SPSS software; ANOVA and Tukey's post hoc test after the data were analyzed uniformly.

Results: The mean survival rate of fibroblast cells based on MTT assay at 24 h was significantly increased in the polycaprolactone-tannic acid scaffold group ($p<0.05$) compared to the polycaprolactone scaffold group ($p<0.05$). The results also indicated that the mean survival of cells based on MTT assay at 24 h was significantly increased in the polycaprolactone-chitosan-tannic acid scaffold group ($p<0.05$) compared to the polycaprolactone scaffold group ($p<0.05$). Moreover, the mean cell viability in the polyprolactone-chitosan scaffold was not statistically significant compared to the polyprolactone group.

Conclusion: Due to its hydrophilic properties and biocompatibility of chitosan and tannic acid, poly caprolactone-chitosan-tannic acid scaffold may be a suitable scaffold for the activity of fibroblast cells in the scaffold. It can also be a good environment for the growth and proliferation of other cells.

Keywords: Scaffold, Polycaprolactane, Chitosan, Tannic Acid, Fibroblast Cell

***Corresponding author: Ghanbari A,** Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email: mehrzadj14@gmail.com

Please cite this article as follows:
Hashemi SS, Saadat Jo Z, Mahmoudi R, Delaviz H, Berdania H, Salehpour Z, Jafari Barmak M, Ghanbari A. Evaluation of Fibroblast Cell Proliferation Assay on Polycaprolactone-Chitosan-Tannic Acid Scaffold. Armaghane-danesh 2020; 24(5): 779--794

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 9:39 +0430 on Monday April 6th 2020

www.SID.ir