

Conductive Nanofibrous Scaffolds Based on Tragacanth Gum, Polyaniline, and Poly(vinyl alcohol): Fabrication, Characterization and Exploring Their Potential Application in Skin Tissue Engineering

Shila Najafian¹, Mehdi Jaymand^{2,3*}, Bakhshali Massoumi^{1,*}

1. Department of Chemistry, Payame Noor University, P.O. Box 19395-4697, Tehran, Iran

2. Nano Drug Delivery Research Center, Health Technology Institute, 3. Student Research Committee; Kermanshah University of Medical Sciences, Postal Code 67158-47141, Kermanshah, Iran

Received: 23 April 2023, accepted: 4 September 2023

ABSTRACT

Hypothesis: The skin is the largest organ and outer covering of the body, which acts as a barrier against microbial invasions as well as mechanical and chemical damage. But, sometimes the skin does not have the ability to regenerate the tissue on its own. In this context, tissue engineering (TE) is a promising and reconstructive solution for repairing serious skin tissue damage. This article refers to the importance of electrically conductive scaffolds based on tragacanth gum (TG) for skin TE owing to non-toxicity, metabolic compatibility, and the non-hazardous nature of its degradation products as well as the effect of electrical conductivity of the scaffold in performance of skin TE.

Methods: Electroconductive nanofibrous hydrogel scaffolds composed of tragacanth gum-polyaniline blend (TG-B-PANI) and poly(vinyl alcohol) (PVA) were fabricated with a weight ratios of 30:70 and 20:80 by electrospinning method. Their physicochemical and biological properties for skin TE application were studied by various experiments.

Findings: The fabricated scaffolds were tested using FTIR, SEM, TGA, UV-Vis, and cyclic voltammetry (CV). SEM images indicated the achievement of uniform fibers within their nano-scale domain. The cytocompatibility and cells proliferation characteristics of the scaffolds were approved by MTT assay using L929 mouse fibroblast cells. The fabricated scaffolds exhibited excellent hemocompatibility and human serum albumin adsorption capacity. The fabricated scaffolds showed proper physicochemical and biological properties for skin TE. The scaffold made with 20% (wt) of TG-B-PANI showed higher potential in adhesion and proliferation of L929 mouse fibroblast cells than those of scaffold with 30% (wt) of the above polymeric blend.

Keywords:

natural polymer,
tragacanth gum,
electrospinning,
conductive polymeric scaffold,
skin tissue engineering

(*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: m_jaymand@yahoo.com

bakhshailm@yahoo.com

Please cite this article using:

Najafian S., Jaymand M., Massoumi B., Conductive Nanofibrous Scaffolds Based on Tragacanth Gum, Polyaniline, and Poly(vinyl alcohol): Fabrication, Characterization and Exploring Their Potential Application in Skin Tissue Engineering, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **36**, 259-279, 2023.

داربست‌های رسانای نانولیفی بر پایه کتیرا، پلی‌آنیلین و پلی(وینیل الکل): ساخت، شناسایی و بررسی قابلیت کاربرد آنها در مهندسی بافت پوست

دسترسی پذیر در نشانی: <http://jips.ippi.ac.ir>

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،

سال سی و ششم، شماره ۳،

صفحه ۲۷۹-۲۵۹، ۱۴۰۲

ISSN: 1016-3255

Online ISSN: 2008-0883

DOI: 10.22063/JIPST.2023.3391.2233

شیلا نجفیان^۱، مهدی جای‌مند^{۲،۳*}، بخش‌علی معصومی^{۱*}

۱- تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه شیمی، صندوق پستی ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵

کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کد پستی ۶۷۳۴۶۶۷۱۴۹:

۲- پژوهشکده فناوری سلامت، مرکز تحقیقات دارورسانی نانو، ۳- کمیته تحقیقات دانشجویی

دریافت: ۱۴۰۲/۲/۳، پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۳

چکیده

فرضیه: پوست بزرگ‌ترین اندام و نیز پوشش خارجی بدن است که به‌عنوان مانعی در برابر تهاجم‌های میکروبی و آسیب‌های مکانیکی و شیمیایی عمل می‌کند. اما، گاهی در برابر آسیب‌های وارد شده، پوست به‌تنهایی قابلیت بازسازی بافت را ندارد. در این میان، مهندسی بافت راهکاری بازساختی و کارآمد در ترمیم آسیب‌های جدی بافت پوست است. مقاله حاضر به اهمیت داربست‌های رسانای تهیه‌شده از پلیمر طبیعی کتیرا و پلی‌آنیلین در مهندسی بافت پوست، به‌دلیل سمی نبودن، زیست‌سازگاری، سمی نبودن محصولات حاصل از زیست‌تخریب آن و نیز اثر رسانندگی الکتریکی داربست بر عملکرد مهندسی بافت پوست، اشاره دارد.

روش‌ها: در این پژوهش، داربست‌های هیدروژل نانولیفی رسانای الکتریسته متشکل از کتیرا آمیخته با پلی‌آنیلین (TG-B-PANI) و پلی(وینیل الکل) (PVA) به‌ترتیب با نسبت‌های وزنی ۷۰:۳۰ و ۸۰:۲۰ با روش الکتروریسی تهیه و خواص فیزیکی-شیمیایی و زیستی آنها برای مهندسی بافت پوست با روش‌های مختلف مطالعه شد.

یافته‌ها: ساختار و خواص داربست‌های ساخته‌شده، با آزمون‌های تجزیه گرموزن‌سنجی (TGA)، میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM)، طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR) و فرابنفش-مرئی (UV-Vis) و ولت‌سنجی چرخه‌ای (CV) بررسی و شناسایی شد. تصاویر SEM ساخت الیاف یکنواخت با اندازه نانومتر را نشان داد. زیست‌سازگاری و قابلیت زنده‌مانی یاخته‌ها در داربست‌ها با روش MTT با استفاده از یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش تأیید شد. همچنین، داربست‌های ساخته‌شده خاصیت خون‌سازگاری و جذب پروتئین آلبومین سرم انسانی خوبی را نشان دادند. داربست‌های ساخته‌شده خواص فیزیکی-شیمیایی و زیستی مناسبی را برای مهندسی بافت پوست نشان دادند. داربست ساخته‌شده با ۲۰٪ وزنی از آمیخته پلیمری TG-B-PANI قابلیت بیشتری را نسبت به داربست با ۳۰٪ وزنی، از نظر چسبندگی و زنده‌مانی یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش، نشان داد.

واژه‌های کلیدی

پلیمر طبیعی،

صمغ کتیرا،

پلی‌آنیلین،

الکتروریسی،

داربست رسانای پلیمری،

مهندسی بافت

* مسئولان مکاتبات، پیام‌نگار:

m.jaymand@yahoo.com

bakhshailm@yahoo.com

مقدمه

پوست به‌عنوان بخشی از دستگاه پوششی بدن و در واقع بزرگ‌ترین سد محافظتی بدن در برابر موانع و خطرهای خارجی است. پوست به‌طور دائم خود را با ریزش یاخته‌های مرده و تولید یاخته‌های تازه، نوسازی می‌کند. اما، گاهی آسیب وارد شده به پوست خودبه‌خود ترمیم‌ناپذیر است. در این شرایط می‌توان از علم مهندسی بافت به‌عنوان زیرشاخه‌ای از مهندسی پزشکی برای کمک به فرد بیمار بهره گرفت که به ادغام داربست‌ها، یاخته‌ها و مولکول‌های فعال زیستی در بافت عملکردی می‌پردازد. یاخته‌ها سنگ‌بنای بافت‌ها هستند و به‌کمک ساختار ماتریس برون‌یاخته‌ای (ECM, extracellular matrix) نگهداری و محافظت می‌شوند و سیگنال‌های مختلف را ارسال و دریافت می‌کنند [۱]. پلیمرهای طبیعی مانند کلاژن‌ها، الاستین و فیبرینوزن بخش عمده‌ای از ماتریس برون‌یاخته‌ای بدن را تشکیل می‌دهند و باعث بهبود ساختار و یکپارچگی مکانیکی بافت‌ها و نیز موجب ارتباط با اجزای یاخته می‌شوند که از آن پشتیبانی کرده و به فرایندهای روزانه یاخته‌ای و بهبود زخم کمک می‌کنند. داربست ایده‌آل برای مهندسی بافت، نه تنها ساختار ECM را می‌تواند تکرار کند، بلکه عملکردهای زیادی را که ECM انجام می‌دهد، نیز تکرار می‌کند. تقلید از تمام این فرایندها زمینه پیشرفت و ارتقا در بخش مهندسی بافت شده است که همین موضوع موجب اصلاح بافت‌های آسیب‌دیده یا تولید بافت جدید می‌شود [۲-۴].

داربست ایده‌آل بدین منظور، باید دارای شیمی سطح کنترل‌شده، سازگاری یاخته‌ای، زیست‌سازگاری عالی برای افزایش چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای، زیست‌تخریب‌پذیری مناسب، سمی نبودن، ایمنی‌زا، غیرالتهابی، تخلخل زیاد، نسبت سطح به حجم زیاد، خواص مکانیکی مناسب و ساختار بهم‌پیوسته باشد. با توجه به شرایط گفته‌شده، نانوالیاف قابلیت ایجاد بستری مناسب برای دریافت یا ارسال علائم زیستی و فیزیکی-شیمیایی و نیز شرایط برای چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای را دارند. اگر یاخته‌ها قابلیت نفوذ به ساختار الیاف الکتروزیستی شده را نداشته باشند، فقط تکثیر و تولید ECM جدید را روی سطح انجام می‌دهند که در این صورت داربست موجود برای مهندسی بافت مناسب نخواهد بود. در حالت ایده‌آل، داربست باید به‌صورت یکنواخت یاخته‌ای شود تا توان بازسازی داشته و جایگزین مناسبی برای ماتریس بومی باشد. الکتروزیستی به‌عنوان ساده‌ترین، سازگارترین و راحت‌ترین روش برای ساخت داربست‌های فیبری در ابعاد نانو و میکرو برای انواع مختلف مهندسی بافت توسعه یافته است. از ویژگی‌های برتر الکتروزیستی می‌توان به کاربرد گسترده‌ای از مواد آلی و معدنی در مقیاس زیاد، مقرون‌به‌صرفه‌بودن، قابلیت

یکنواختی خوب الیاف، نسبت سطح به حجم زیاد، تخلخل زیاد و نیز شباهت شکل‌شناسی داربست‌های ساخته‌شده با ECM بومی انسان اشاره کرد. همچنین، داربست‌های حاصل قابلیت حمل و نقل مواد مغذی و ضایعات، ارتباطات یاخته‌ای و یاخته‌ای-ماتریسی را دارند [۵-۷]. الیاف پلیمری، به‌طور عمده به‌دلیل شباهت شکل‌شناسی آن‌ها به الیاف کلاژن ECM ساختارهای ترجیحی به‌منظور ساخت داربست برای مهندسی بافت پوست هستند. از سوی دیگر، آن‌ها با توجه به اهداف مدنظر می‌توانند به‌طور ویژه در ابعاد طولی، قطری، اشکال و خواص مکانیکی مختلف تولید شوند. پلیمرهای قابل استفاده در تولید داربست‌ها می‌توانند منبع طبیعی یا سنتزی یا ترکیبی از هر دو را داشته باشند. داربست‌های طبیعی از مواد موجود در طبیعت، بدن انسان، گیاهان و حیوانات همانند کلاژن، آلژینات و کیتوسان تهیه می‌شوند. این در حالی است که منابع حیوانی ممکن است، محدودیت دسترسی داشته یا از لحاظ ایمنی محدودیت مصرف داشته باشند. پلیمرهای طبیعی حاصل از گیاهان از لحاظ زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری و سمی نبودن بسیار مناسب هستند، اما از لحاظ پایداری و قابلیت‌های مکانیکی دارای محدودیت‌هایی هستند که این نقص به‌راحتی در صورت ترکیب با پلیمرهای سنتزی رفع می‌شود [۸،۹].

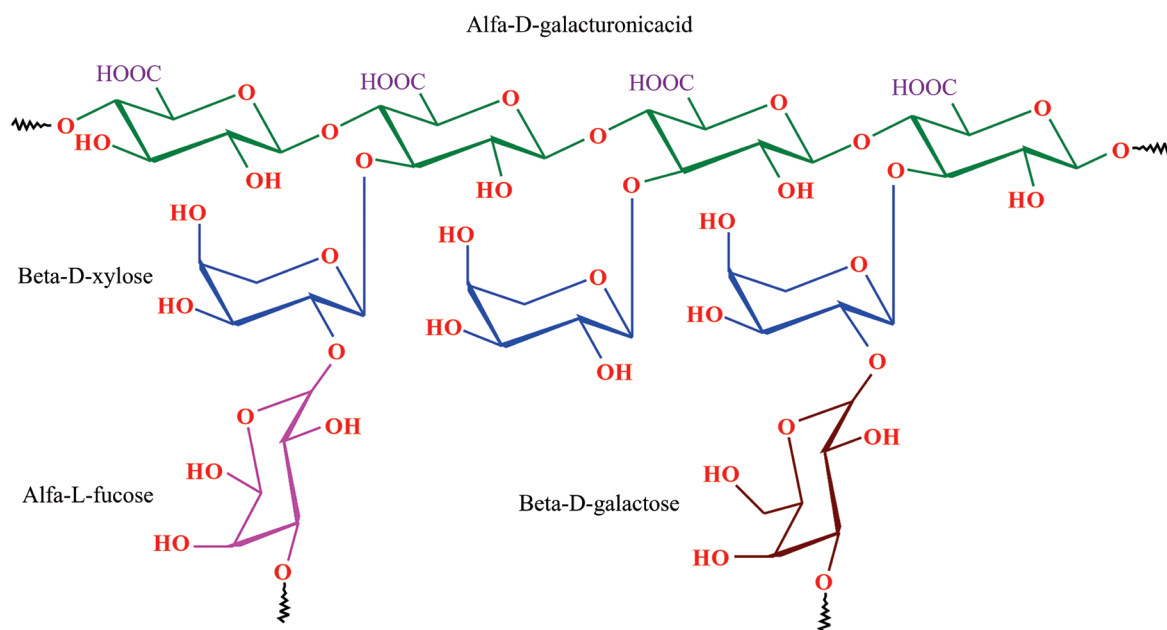
به‌دلیل اثر مثبت رسانندگی الکتریکی در عملکرد داربست مانند چسبندگی، ارتباط بین یاخته‌ها، ارتباط بین یاخته-داربست و نیز تکثیر یاخته‌ای استفاده از پلیمرهای رسانا برای ساخت داربست‌ها مورد توجه قرار گرفته است. پلیمرهای رسانای الکتریکی از جمله پلی‌تیوفن، پلی‌پیرول و پلی‌آنیلین به‌دلیل رسانندگی عالی، پایداری محیطی زیاد و نیز سازگاری یاخته‌ای مناسب برای اهداف داربستی به‌عنوان انتخاب‌های بالقوه در نظر گرفته می‌شوند [۸،۱۰]. در این میان، PANI به‌دلیل پایداری محیطی و اکسایش خوب، آب‌گریزی مناسب و فرایندپذیری خوب در مقایسه با سایر پلیمرهای ذکر شده و نیز زیست‌سازگاری مناسب‌تر، برای ساخت داربست‌های رسانای الکتریکی بسیار مناسب است. با وجود این، پلی‌آنیلین باید برای اهداف مهندسی بافت زیست‌سازگاری بیشتری داشته باشد. اختلاط فیزیکی و پیوندزنی روی پلیمرهای طبیعی یا سنتزی زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر، دوپه‌کردن با ترکیبات زیست‌فعال و ایمن بهترین راهکارها برای بهبود خواص زیستی پلی‌آنیلین هستند [۱۱،۱۲]. از پلیمرهای طبیعی که می‌توان در ساخت داربست استفاده کرد، کتیراست. به اعتقاد دانشمندان، کتیرا هیچ اثر حساسیت‌زایی، جهش‌زایی، عامل نقص جنین، سرطان‌زایی و سمیت‌زایی در بدن انسان ندارد و باعث ایجاد محیط مناسب برای رشد یاخته‌ها می‌شود. صمغ‌ها گروه بزرگی از پلی‌ساکاریدها و مشتقات آن‌ها هستند که

مولکولی کروی دارد. کتیرا دارای ۱۰٪ تا ۱۵٪ آب، ۳٪ تا ۴٪ مواد معدنی و ۳٪ نشاسته و مقداری پروتئین و سلولوز نیز است [۱۷-۱۵]. در طرح ۱ ساختار مولکولی کتیرا نشان داده شده است.

الیاف حاصل از این پلیمر طبیعی دارای تخلخل‌های کنترل‌شده و نیز سطح مناسب برای رشد یاخته است، به‌گونه‌ای که یاخته‌ها مجال رشد، تکثیر، تمایز همراه با حفظ یکنواختی و حفظ شکل ظاهری خود را دارند. اما، با توجه به وزن مولکولی بسیار زیاد این پلیمر طبیعی ممکن است، برخی از فعالیت‌های لازم در این زمینه دچار محدودیت یا نقصان شود که در این صورت با انجام اصلاحات فیزیکی یا شیمیایی بر این کاستی‌ها غلبه می‌شود. برای کوتاه‌کردن پیکره پلیمر کتیرا و به‌دست‌آوردن قطعاتی با وزن مولکولی کمتر و در عین حال حفظ ساختار و خواص، از اصلاح فیزیکی فراصوتی استفاده شده است [۱۹]. برای تشکیل نانوالیاف کتیرا با روش الکتروریسی، مقدار درهم‌تنیدگی مولکول و گرانروی محلول مهم است. برهم‌کنش دافعه بین پلی‌آنیون‌ها در امتداد زنجیرهای کتیرا مانع درهم‌تنیدگی کافی زنجیرها می‌شود که برای تشکیل الیاف ضروری است.

بنابراین برای کاهش برهم‌کنش دفعی و کمک به فرایند الکتروریسی در کار پژوهشی حاضر از پلی‌(وینیل‌الکل) (PVA) به‌شکل مخلوط با این پلیمر طبیعی استفاده شد. همچنین، استفاده از پلی‌(وینیل‌الکل) به‌عنوان پلیمری آب‌دوست، باعث می‌شود تا مقدار آب‌دوستی شبکه نانوالیافی افزایش یافته و خواص مکانیکی داربست بهبود یابد.

قابلیت تولید محصولات با گرانروی زیاد در غلظت‌های کم دارند. کتیرا که با نام علمی Tragacanth Gum در دنیا شناخته می‌شود، ترشحات صمغی خشک‌شده محصول گیاه گون (Astragalus spp) است. گون درختچه‌ای است که اغلب در نقاط استپی کشورها و در صحراهای ایران، ترکیه، عراق، سوریه، لبنان، افغانستان، پاکستان و روسیه یافت می‌شود. گیاه گون گونه‌های بسیار زیادی دارد که تقریباً در ایران ۱۰ گونه از آن‌ها مولد کتیرا هستند. گون سفید مرغوب‌ترین نوع کتیرا را دارد. مهم‌ترین تأمین‌کنندگان کتیرا در جهان به ترتیب ایران، ترکیه و سوریه هستند. شیره و صمغ کتیرا از ریشه و ساقه‌های گیاه گرفته می‌شود و با ایجاد خراش و حفره آن را استخراج می‌کنند [۱۳، ۱۴]. کتیرا از نظر ساختار شیمیایی کربوهیدرات آنیونی آب‌دوست نایکنواخت و ناهمگن با وزن مولکولی حدود ۸۴۰۰۰۰ g/mol و بسیار پرشاخه است. کتیرا تقریباً در آب نامحلول است، اما به دلیل ساختار آن، متورم می‌شود و ژل سفت ایجاد می‌کند. کتیرا از دو بخش تشکیل شده است: بخش اول تراگاکانتیک اسید یا باسورین (basso-rin) (جز اسیدی) که جزء نامحلول در آب است و قابلیت تورم و تشکیل ژل را دارد. این جزء که حدود ۷۰٪ وزنی است، دارای وزن مولکولی زیاد و شکل میله‌ای است. باسورین به جسمی گفته می‌شود که در آب به‌ویژه آب سرد نامحلول است، اما به‌خوبی در آن متورم می‌شود. بخش دوم تراگاکانتین (حدود ۸٪ وزنی) است که در آب حل شده و به ایجاد محلول کلئیدی منجر می‌شود. این جزء شکل



طرح ۱- ساختار مولکولی کتیرا [۱۸].

Scheme 1. Chemical structure of Tragacanth Gum [18].

حاصل درون کیسه دیالیز با ۱۴۰۰۰ Cut off ریخته شده و به مدت سه روز درون آب مقطر دیالیز شد. در طول این مدت هر ۳ h یک بار آب مقطر درون ظرف تعویض شد تا ناخالصی‌های محلول در آب، از کیسه دیالیز خارج شوند. پس از این مدت، ژل از کیسه دیالیز خارج شده و با خشک‌کن انجمادی کاملاً خشک شد. پودر کتیرا درون ۲۰۰ mL محلول سدیم هیدروکسید ۲ مولار اضافه شده و سپس برای اطمینان از آب‌پوشی کامل، ۲۴ h هم‌زده شد. در مرحله بعد، مخلوط به مدت ۲۰ min در معرض امواج فراصوت با توان ۶۴ W قرار گرفت. سپس، با افزودن کلریدریک اسید ۱ مولار pH روی ۷ تنظیم شد و در نهایت با اضافه کردن اتانول (۴۰۰ mL) پلیمر رسوب داده شد. رسوب جدا شده و با اتانول شست‌وشو داده شده و در نهایت با خشک‌کن انجمادی کاملاً خشک شد [۱۹، ۲۶].

آمیخته‌سازی پلی‌آنیلین و کتیرا (TG-B-PANI)

مقدار ۲/۵ g کتیرای آماده‌شده در بالن دوهانه ۲۵۰ mL دارای ۱۷ mL تتراهیدروفوران و ۱۵۹ mL آب مقطر وارد شد. در مرحله بعد ۱۱/۳۲ g پارا تولوئن سولفونیک اسید (۰/۰۵۹ mol) اضافه و در دمای معمولی کاملاً هم‌زده شد. بالن داخل حمام یخ قرار گرفت. سپس، ۲/۷۹ mL (۰/۰۳ mol) آنیلین تقطیرشده به داخل بالن اضافه شد. مقدار ۸/۱۴ g آمونیوم پرسولفات (۰/۰۳ mol) در ۴۷ mL آب مقطر حل شده و به آرامی به بالن اضافه شد تا پلیمر شدن آنیلین با روش اکسایش شیمیایی در بستر کتیرا انجام شود. سامانه تحت گاز آرگون به مدت ۲۴ h با همزن مغناطیسی هم‌زده شد تا واکنش پلیمر شدن تکمیل شود. طی واکنش رنگ محلول آرام از قهوه‌ای به سبز تیره تبدیل شد. پس از طی این مدت سامانه باز شده و محتویات بالن درون اتانول ۹۶٪ (۲۵۰ mL) ریخته شد و رسوب حاصل استخراج و صاف شد. رسوب سه‌مرته به با اتانول شست‌وشو داده شد تا اولیگومرهای آنیلین و مواد اضافی موجود از رسوب جدا شوند. رسوب حاصل با خشک‌کن انجمادی خشک شد (طرح ۲) [۲۷].

تهیه پلی‌آنیلین به روش اکسایش شیمیایی

پلی‌آنیلین خالص مطابق روش بیان‌شده در بخش آمیخته‌سازی آنیلین و کتیرا بدون افزودن صمغ کتیرا سنتز شد که رسوب حاصل به رنگ سبز لجنی بود (طرح ۳).

تهیه نانوالیاف TG-B-PANI/PVA با روش الکترورسی

نسبت‌های مختلفی از TG-B-PANI و PVA برای ساخت نانوالیاف TG-B-PANI/PVA به‌عنوان داربست‌های رسانای جریان الکتریسیته،

پلی‌وینیل‌الکل) ویژگی‌های جالبی چون خواص فیزیکی عالی، سمی نبودن، آب‌دوستی زیاد و زیست‌سازگاری خوب، مقاومت شیمیایی زیاد و ماهیت چسبندگی عالی داشته و نیز ماهیت کشسانی خوب آن می‌تواند تداوی‌کننده محیط طبیعی برای یاخته باشد. همه این موارد پلی‌وینیل‌الکل) را انتخاب مناسبی در بحث مهندسی بافت پوست می‌کند [۲۰، ۲۱].

تا به حال داربست‌های رسانای نانوالیافی متعددی بر پایه مخلوط‌های پلی‌آنیلین مانند پلی‌کاپرولاکتون-پلی‌آنیلین [۲۲]، ژلاتین-پلی‌آنیلین [۲۳]، پلی‌هیدروکسی بوتیرات-پلی‌آنیلین [۲۴]، پلی‌لاکتیک اسید-پلی‌اتیلن گلیکول-پلی‌آنیلین [۲۵] و موارد دیگر گزارش شده است. بنا به دانسته‌های ما، درباره نانوالیاف متشکل از آمیخته کتیرا-پلی‌آنیلین با پلی‌وینیل‌الکل) تاکنون کار پژوهشی گزارش نشده است که دلیل این موضوع ساختار پیچیده و وزن مولکولی زیاد کتیراست. بنابراین، این اولین گزارش از ساخت نانوالیاف متشکل از مخلوط پلی‌آنیلین-کتیرا-پلی‌وینیل‌الکل) برای کاربرد در مهندسی بافت پوست است.

تجربی

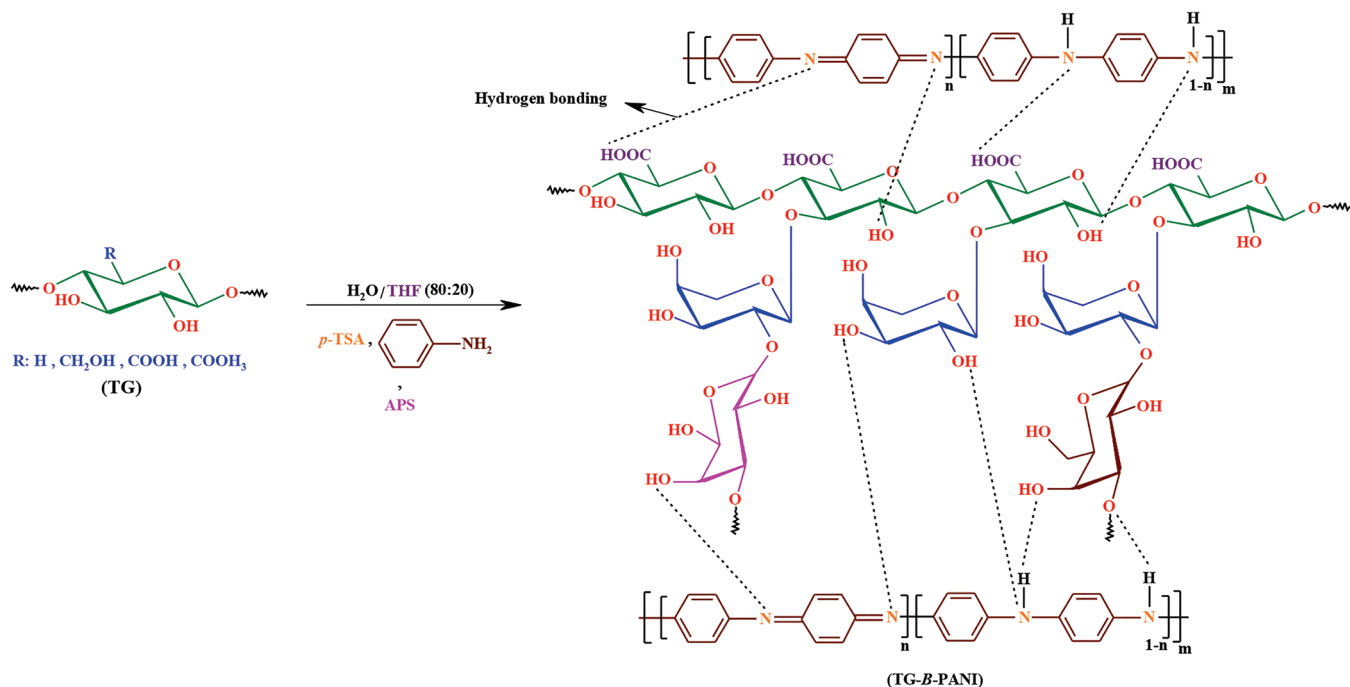
مواد

کتیرا با کیفیت خوب از عطاری محلی خریداری، آسیاب و سپس الک شد. سپس، پودر حاصل با استفاده از سوکسله به‌کمک کلروفرم و اتانول هر یک به مدت ۲۴ h به‌منظور حذف پروتئین‌ها و اسیدهای چرب، خالص‌سازی شد. حلال‌ها از شرکت Sigma-Aldrich تهیه و طبق روش‌های استاندارد خالص‌سازی شدند. آنیلین، پاراتولوئن سولفونیک اسید (p-TSA)، پارا آنترانیلیک اسید، آمونیوم پرسولفات (APS)، سولفوریک اسید ۹۸٪ و سایر مواد از شرکت Merck خریداری شدند. پلی‌وینیل‌الکل (PVA) با وزن مولکولی ۷۲۰۰۰ g/mol و گلو تار آلد هید ۲۵٪ (GA) از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شد. معرف‌های زیستی مانند سرم جنین گاوی (FBS)، بافر نمکی فسفات (PBS) و پودر MTT از شرکت Carlsbad آمریکا تهیه شدند.

دستگاه‌ها و روش‌ها

کاهش وزن مولکولی کتیرا با فراصوت‌دهی

به‌منظور کاهش وزن مولکولی و گرانروی صمغ طبیعی کتیرا، از فرایند فراصوت‌دهی بهره گرفته شد. پودر خالص‌سازی‌شده کتیرا (۳ g) درون ۲۰۰ mL آب مقطر ریخته شده و در دمای معمولی با همزن مغناطیسی طی شب هم‌زده شد تا به‌صورت ژل درآید. ژل



طرح ۲- مسیر سنتزی TG-B-PANI.

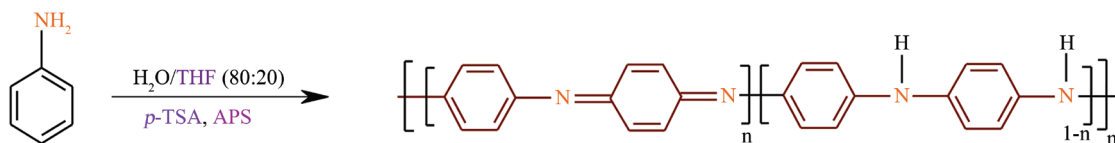
Scheme 2. The synthetic rout of TG-B-PANI.

تنظیم شد. الیاف تشکیل شده در دمای معمولی خشک شدند تا هر گونه حلال باقی مانده به طور کامل پیش از شناسایی تبخیر شود. نانوالیاف حاصل با استفاده از گلو تار آلدهید (GA) و قرار دادن نانوالیاف در بخار محلول گلو تار آلدهید (۲۵٪ وزنی، ۱۵ mL) و HCl غلیظ (۳۷٪ درصد وزنی، ۳ mL) در محیط بسته به مدت ۲۰ h در دمای ۴۰°C شبکه‌ای شدند. در نهایت، الیاف حاصل چند مرتبه با محلول اتانول دارای ۲٪ سدیم برمید شسته شده و در دمای ۵۰°C خشک شد.

طیف FTIR

برای شناسایی گروه‌های عاملی و ساختار مولکولی پلیمرهای تهیه شده، از طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه مدل (FTIR) ساخت ژاپن استفاده شد. ابتدا، نمونه‌ها با پتاسیم برمید خالص (KBr) مخلوط و

الکترورسی شدند. بدین منظور، مقادیر هر پلیمر مطابق جدول ۱، در ۱۰ mL حلال دی‌متیل سولفوکسید ریخته شده و به مدت ۲۴ h در دمای ۵۰°C هم‌زده شد تا به همگنی لازم برسد. پس از آن، PVA بنا به نسبت‌های تعیین شده در جدول ۱ به مخلوط اضافه شده و در دمای ۵۰°C به مدت ۱۲ h دیگر هم‌زده شد تا محلولی گران‌رو و همگن به دست آید. مخلوط تهیه شده به سرنگ ۳ mL که مجهز به سر سوزن G23 به عنوان نازل بود، منتقل شد و درون پمپ سرنگی قرار گرفت. سرعت جریان محلول با استفاده از این پمپ دقیق کنترل شد تا جریان ثابتی از افشانک (nozzle) به صورت دنباله‌دار خارج شود. محلول با سرعت ۰/۱ mL/h تزریق شد و ولتاژ منبع تغذیه روی ۱۸ kV تنظیم شد. الیاف TG-B-PANI/PVA روی فویل آلومینیمی جمع شد. فاصله جمع‌کننده از نوک افشانک ۱۷ cm بود. دمای محیط اطراف دستگاه الکترورسی روی ۴۰°C



طرح ۳- مسیر سنتزی پلی‌آنیلین.

Scheme 3. The synthetic rout of PANI.

جدول ۱- ترکیب‌بندی نانوالیاف الکترووریسی شده.

Table 1. Composition of developed electrospun nanofibers.

Sample	TG-B-PANI (wt%)	PVA (wt%)	TG (wt%)	Concentration (wt%)
S1	0	100 (1.8 g)	0	18
S2	0	85 (1.53 g)	15 (0.27 g)	18
S3	20 (0.36 g)	80 (1.44 g)	0	18
S4	30 (0.54 g)	70 (1.26 g)	0	18

جریان ورودی، مقدار اختلاف پتانسیل برقرار شده و ضخامت قرص اندازه‌گیری می‌شود. برای این اندازه‌گیری از دستگاه ساخت شرکت ریزپردازان (ایران) استفاده شد.

به صورت قرص نازک شکل‌دهی شدند. سپس، با طیف‌سنج مدل Shimadzu 8600s ساخت ژاپن در عدد موجی $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ طیف نمونه‌ها ثبت شد.

آزمون میکروسکوپی الکترونی پوشی (FE-SEM)

نانوالیاف الکترووریسی شده با میکروسکوپ الکترونی پوشی MIRA3 FE-SEM ساخت شرکت Tescan جمهوری چک ارزیابی شدند. از آنجا که دستگاه SEM شعاع‌های الکترونی را به سطح نمونه می‌تاباند، سطح نمونه باید رسانای الکتریکی باشد، به همین دلیل سطح نمونه‌ها با لایه نازکی از طلا پوشش یافت و سپس تصویربرداری انجام شد.

آزمون تعیین زاویه تماس (آب‌دوستی)

خواص آب‌دوستی-آب‌گریزی داربست‌های نانولیفی تولید شده با آزمون تعیین زاویه تماس به کمک دستگاه OCA 20 Plus Contactangle Metersystem مدل GmbH ساخت آلمان بررسی و اندازه‌گیری شد. برای انجام این آزمون، با سرنگ ۱ mL قطره آب مقطر روی سطح داربست نانولیفی قرار داده شده و پس از گذشت ۳ s عکس گرفته شد. زاویه تماس با نرم‌افزار ImageJ محاسبه شد.

بررسی مقدار تورم

داربست‌های خشک (حدود ۱۰۰ mg) برش داده شده و وزن شدند. سپس، در محلول PBS (۱۰ mL، ۰/۱ mol/L، pH=۷/۴) غوطه‌ور شدند. در فواصل زمانی تعریف شده (۵ min تا ۱۰۰ min)، نانوالیاف هیدروژلی متورم از محیط خارج شده، آب اضافی سطح آن با استفاده از کاغذ صافی حذف شده و سپس نمونه‌ها وزن شدند. نسبت تورم (SR) با توجه به معادله (۱) محاسبه شد [۲۸]:

$$SR(\%) = \frac{W_t - W_i}{W_i} \times 100 \quad (1)$$

W_i و W_t به ترتیب وزن نمونه در یک نقطه زمانی و وزن اولیه هستند.

بررسی رفتار الکتروشیمیایی پلیمر TG-B-PANI با ولت‌سنجی چرخه‌ای

برای رسم ولتاگرام‌های چرخه‌ای پلیمر تهیه شده از دستگاه پتانسیواستات-گالوانواستات مدل Auto-Lab PGSTA T302N (ECO chemie) ساخت هلند استفاده شد. برای ثبت ولتاگرام‌های چرخه‌ای پلیمر از سامانه سه‌الکترودی استفاده شد که الکتروود کار، الکتروود کمکی و الکتروود مرجع به ترتیب کربن شیشه‌ای، پلاتین و کالومل بودند. مقدار ۱۰ mg از ترکیب پلیمری TG-B-PANI در ۵ mL حلال دی‌متیل سولفوکسید طی مدت ۲۴ h حل شد. الکتروود کار با TG-B-PANI به روش ریخته‌گری (فیلم نازک) پوشش یافت. به منظور بررسی خواص الکتروفعالی فیلم پلیمر قرارگرفته روی الکتروود کار، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در الکتروولت (۰/۵ M) H_2SO_4 و در محدوده پویش ۰/۲- تا ۱/۲ ولت با سرعت پویش ۱۰ mV/s تا ۵۰ mV/s به تعداد پنج چرخه رسم شد.

اندازه‌گیری رسانندگی الکتریکی پلیمرها

روش چهارنقطه روش مرسوم در اندازه‌گیری رسانندگی الکتریکی موادی است که مقدار رسانندگی متوسط دارند. در این روش، فرایند اندازه‌گیری رسانایی سریع است و به وجود نمونه با ابعاد مشخص و معین نیازی ندارد. بنابراین، برای نمونه‌های با ابعاد نامنظم نیز به کار می‌رود. در روش چهارنقطه، نقاط به شکل مربع و به فاصله ۰/۵ cm از یکدیگر تعبیه شده‌اند. پودر تهیه شده از نمونه به مقدار مناسب در محل تعبیه شده قرار می‌گیرد و فشار ۱ تا ۲ تن بر آن اعمال می‌شود. نمونه پودری در اثر فشار به قرص تبدیل می‌شود. اندازه‌گیری رسانندگی زیر فشار انجام می‌شود. جریان مستقیمی از میان نمونه، با دو نقطه کناری عبور داده می‌شود و اختلاف پتانسیل آن با استفاده از دو نقطه دیگر با ولت‌سنج اندازه‌گیری می‌شود. مقاومت نمونه با استفاده از

آزمایش‌های زیستی

کشت یاخته‌ای

یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش همراه با آنتی‌بیوتیک‌های پنیسیلین و استرپتومایسین (۱۰۰ واحد بر ۳ cm) و نیز سرم جنین گاوی (۱۰٪ v/v) کشت شدند. یاخته‌ها درون گرم‌خانه (incubator) مرطوب نگهداری شدند تا ۶۵٪ از فضای فلاسک پر شود.

سازگاری یاخته‌ای

سازگاری یاخته‌ای داربست‌های ساخته‌شده نسبت به یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش با روش MTT آزمایش شد. برای این کار، ظروف کشت ۹۶ خانه با نانوالیاف حاصل‌شده (۳۰ mg در هر خانه) پوشانده شد و سپس یاخته‌ها با تراکم 3×10^4 یاخته در هر خانه کاشته شدند. ظرف کشت به مدت ۲۴ h درون گرم‌خانه قرار گرفت. در این زمان، محیط کشت با محلول MTT تازه (۰/۵ mg/mL، ۰/۱ mg/mL در PBS) جایگزین شد و سپس به مدت ۴ h دیگر گرم‌خانه‌گذاری شد. بلورهای فورمازان (formazan) تولیدشده با افزودن دی‌متیل سولفوکسید (۲۰۰ μL) دارای بافر سورنس (μL) (۵۰ sorenson، ۰/۱۳۳ M، pH=۷/۲) حل شدند. زنده‌مانی یاخته با اندازه‌گیری رنگ بنفش تولیدشده با طیف‌سنج میکروپلیت‌خوان مدل ELx 800 ساخت شرکت Biotech آمریکا در طول موج ۵۷۰ nm برآورد شد.

سنجش تکثیر یاخته‌ای

برای بررسی قابلیت تکثیر یاخته‌ها روی داربست‌های هیدروژل نانولیفی ساخته‌شده، نانوالیاف در ظروف کشت ۲۴ خانه (۱۰۰ mg در هر خانه)، با یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش (2×10^3 یاخته در هر خانه) پوشش یافتند. محیط کشت RPMI-1640 به هر چاهک اضافه شد و ظروف کشت به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ h گرم‌خانه‌گذاری شدند. در پایان زمان طراحی‌شده، زنده‌مانی یاخته‌ها با روش MTT بررسی شد [۲۹].

بررسی شکل‌شناسی یاخته

همچنین برای بررسی شکل‌شناسی، یاخته‌ها پس از ۲۴ h گرم‌خانه‌گذاری روی نانوالیاف با گلو تار آلدئید (۲٪ وزنی) ثابت شد، چندین مرتبه با آب مقطر شسته شده با اتانول آب‌زدایی شده و سپس در دمای معمولی خشک شد. شکل‌شناسی یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش چسبیده روی داربست با تصویربرداری FE-SEM بررسی شد.

سنجش خون‌کافتی

قابلیت خون‌کافتی داربست‌های نانولیفی ساخته‌شده با جذب

هموگلوبین آزاد (Hb) مبتنی بر نوار جذبی Soret در ۴۱۵ nm در پلاسما با روش طیف‌سنجی به شرح زیر بررسی شد: در این آزمایش، خون داوطلب انسانی (۵۰۰ μL) با مقادیر مختلف نمونه داربست (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ mg) به مدت ۳ h در دمای ۳۷°C روی تکاننده عمل‌آوری شد. خون رقیق‌شده داوطلب انسانی با محلول نمکی (0% lysis) و Triton X-100 (1 wt%; 100% lysis) به ترتیب به‌عنوان عامل کنترل منفی و مثبت در نظر گرفته شد. نمونه‌های عمل‌آوری‌شده با سرعت ۵۰۰۰ rpm/min به مدت ۱۵ min برای جمع‌آوری پلاسما در دستگاه مرکزگریز قرار گرفتند. سپس، با محلول سدیم کربنات (۰/۱٪ وزنی) رقیق شدند. جذب با طیف‌سنجی UV-Vis در طول موج‌های ۳۸۰، ۴۱۵ و ۴۵۰ nm اندازه‌گیری شد. مقدار هموگلوبین پلاسما و خون‌کافتی با توجه به معادله‌های زیر کمی‌سازی شد. در این معادلات A_{380} ، A_{415} و A_{450} مقادیر جذب نمونه‌ها به ترتیب در ۳۸۰، ۴۱۵ و ۴۵۰ nm هستند. A_{415} جذب باند سورت Hb است و A_{380} و A_{450} فاکتورهای اصلاحی اوروپورفیرین هستند که جذب آن‌ها در محدوده طول موج یکسانی قرار می‌گیرد. E جذب مولی اکسی‌هموگلوبین در ۴۱۵ nm برابر ۷۹/۴۶ و ۱/۶۳۵ ضریب تصحیح اعمال‌شده برای کدورت نمونه پلاسماست [۳۰].

(۲)

$$\text{Amount of plasma Hb (mgmL}^{-1}\text{)} = \frac{[2 \times A_{415} - (A_{380} + A_{450})] \times 1000 \times \text{Dilution factor}}{E \times 1635}$$

$$\text{Hemolysis (\%)} = \frac{\text{Plasma Hb value of sample}}{\text{Total Hb value of blood}} \times 100 \quad (۳)$$

مقدار جذب پروتئین

آلبومین سرم انسانی (HSA) به‌عنوان نمونه پروتئین برای ارزیابی ظرفیت جذب پروتئین روی داربست‌های توسعه‌یافته انتخاب شد. HSA فراوان‌ترین پروتئین در پلاسما خون انسان است، بنابراین، برهم‌کنش زیادی با مواد زیستی کاشت‌پذیر درون بدن دارد. در این آزمون داربست‌های ساخته‌شده (تقریباً ۱۰۰ mg) به مدت ۱ h در زیر لامپ فرابنفش سترون شدند. نمونه‌ها در محلول HSA (۵ mg/mL در PBS) در دمای ۳۷°C به مدت ۱، ۲، ۴، ۶، ۱۲ و ۲۴ h گرم‌خانه‌گذاری شدند. در پایان زمان آزمایش، نمونه‌ها به بافر نمکی فسفات‌بی (PBS) تازه انتقال داده شدند و در شرایط مشابه به مدت ۱ h گرم‌خانه‌گذاری شدند تا پروتئین جذب سطحی‌شده برگشت‌پذیر حذف شود و سپس با آب مقطر برای حذف اجزای بافر شست‌وشو داده شدند. در این زمان، نمونه در محلول آبی سدیم

کششی C-H آلیفاتیک در ناحیه $2970-2850 \text{ cm}^{-1}$ و ارتعاش‌های خمشی و کششی گروه‌های هیدروکسیل الکلی و کربوکسیلیک اسید به ترتیب در 1614 و $3200-3350 \text{ cm}^{-1}$ ظاهر شده‌اند. مهم‌ترین تغییرات در طیف که پس از فرایند فراصوت‌دهی روی کتیرا رخ داده است، شامل آب‌کافت گروه‌های استری به گروه‌های کربوکسیلیک اسید و ظاهر شدن گروه‌های هیدروکسیل در کربوکسیلیک اسید است. این فرایند با ظاهر شدن نوار دو شاخه در 3340 و 3440 cm^{-1} مشهود است.

تغییر مهم دیگر در طیف FTIR نمونه پس از فراصوت‌دهی کاهش شدت ارتعاش‌های کششی گروه کربونیل در 1742 cm^{-1} در اثر آب‌کافت گروه‌های استری است. محدوده $1300-750 \text{ cm}^{-1}$ به‌عنوان ناحیه اثر انگشت کربوهیدرات‌هاست که شامل ارتعاش‌های گروه‌های شیمیایی اصلی در پلی‌ساکاریدهاست [۱۵].

طیف FTIR پلی‌آنیلین خالص در شکل ۱ (c) نشان داده شده است. همان‌طور که دیده می‌شود، ارتعاش‌های کششی گروه‌های S=O (مربوط به دوپه‌کننده؛ p-TSA) در 1058 cm^{-1} ، ارتعاش‌های کششی پیوند C-N در 1123 cm^{-1} ، ارتعاش‌های کششی حلقه بنزنی در 1631 و 1470 cm^{-1} و ارتعاش‌های کششی پیوند N-H به‌عنوان نوار قوی و پهن در 3447 cm^{-1} ظاهر شده است [۳۱]. در شکل ۱ (d) طیف FTIR مربوط به TG-B-PANI نشان داده شده است. پس از پلیمر شدن آنیلین در ماتریس کتیرا، نوارهای جذبی جدید از جمله ارتعاش‌های کششی گروه‌های S=O (مربوط به دوپه‌کننده؛ p-TSA) در 1027 cm^{-1} ، ارتعاش کششی گروه C-N در 1118 cm^{-1} ، ارتعاش کششی حلقه بنزنی در 1600 cm^{-1} ، ارتعاش‌های کششی گروه‌های هیدروکسیل و نیز گروه‌های آمین به‌عنوان یک نوار قوی در 3426 cm^{-1} ظاهر شده است. نوارهای موجود در 1411 و 1595 cm^{-1} به ترتیب به ارتعاش کششی حلقه‌های بنزنوئید و کینوئید نسبت داده شده‌اند. همچنین نوارهای جذبی ارتعاش‌های کششی و خمشی کتیرا در 1140 cm^{-1} برای پیوندهای اتری، 1734 cm^{-1} مربوط به گروه کربونیل کتیرا، 2850 cm^{-1} برای ارتعاش‌های کششی C-H آلیفاتیک و ارتعاش‌های کششی گروه O-H در کتیرا در محدوده $3600-3300$ و $3300-3400 \text{ cm}^{-1}$ ظاهر شده است که تأییدی بر ساختار مخلوط پلی‌آنیلین با کتیراست.

بررسی شکل‌شناسی سطح

تصاویر FE-SEM از سطح کتیرا و TG-B-PANI در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در تصاویر مشاهده می‌شود، شکل‌شناسی کتیرا به‌صورت ناهموار، ورقه‌ای و لایه‌لایه بوده و ابعاد آن در حد میکرومتر است. پس از پلیمر شدن آنیلین در ماتریس کتیرا،

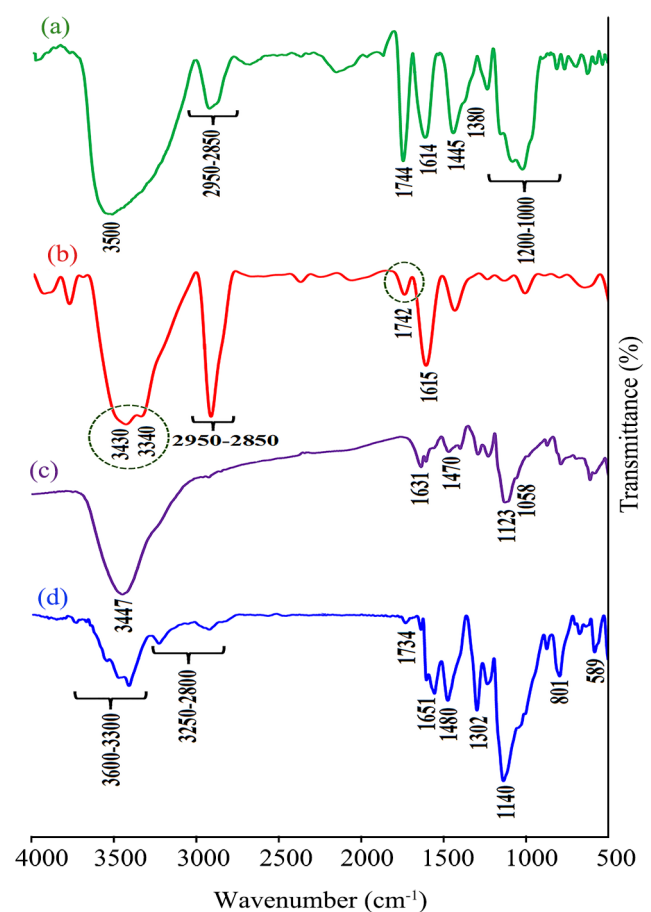
دودسیل سولفات (۲۵ mL، ۰/۵٪ وزنی بر حجم) به مدت ۱ h در دمای 37°C به‌منظور جداسازی پروتئین جذب‌شده HSA گرم‌خانه‌گذاری شد. سپس، غلظت پروتئین آزادشده در مواد رویی با طیف‌سنجی UV-Vis اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

مشخصه‌یابی TG-B-PANI

بررسی طیف‌های FTIR

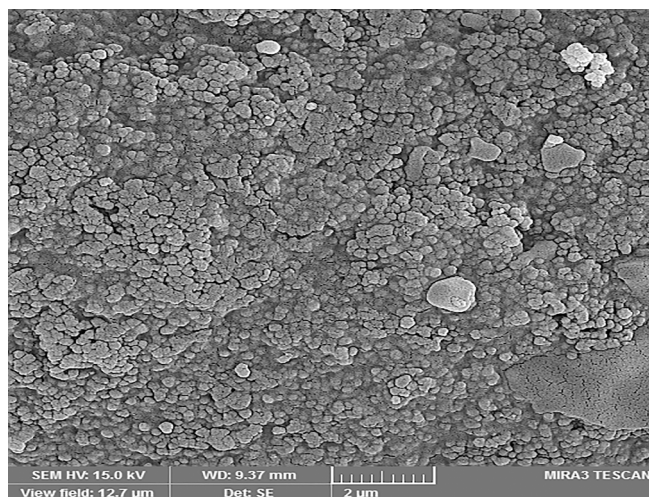
طیف‌های FTIR کتیرای اولیه و نیز کتیرای پس از فراصوت‌دهی در شکل ۱ نشان داده شده است. ارتعاش‌های کششی پیوند C-O موجود در کتیرا در ناحیه $1200-1000 \text{ cm}^{-1}$ ، ارتعاش‌های خمشی گروه‌های C-H آلیفاتیک در 1445 و 1380 cm^{-1} و ارتعاش‌های کششی کربونیل (گروه‌های استری و کربوکسیلیک اسید) در 1744 cm^{-1} ، ارتعاش‌های



شکل ۱- طیف FTIR کتیرای بومی، (b) کتیرا پس از فراصوت‌دهی در محیط بازی، (c) پلی‌آنیلین خالص و (d) TG-B-PANI. Fig.1. The FTIR spectra of (a) native TG, (b) ultrasonic-treated TG under basic medium, (c) pure PANI, and (d) TG-B-PANI.



(a)



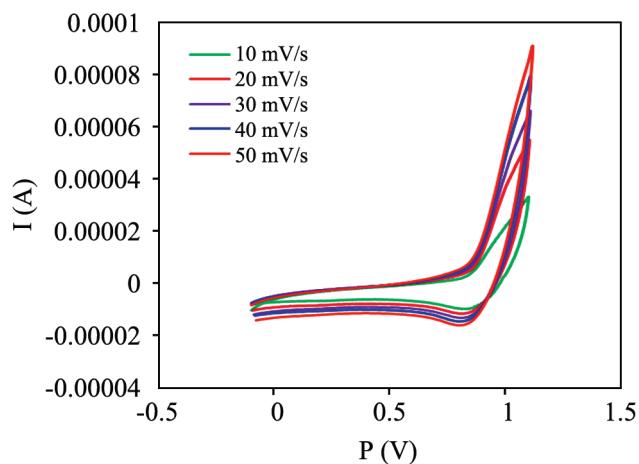
(b)

شکل ۲- تصاویر FE-SEM: (a) TG خالص و (b) TG-B-PANI.

Fig.2. FE-SEM images: (a) native TG and (b) TG-B-PANI.

خواص زیستی مناسب (مانند سازگاری یاخته‌ای و زیست تخریب پذیری و سمی نبودن)، آن را انتخاب مناسبی برای ساخت داربست در مهندسی بافت پوست می‌کند. این در حالی است که پلی‌آنیلین به‌عنوان پلیمری رسانا و فرایندپذیر زوج مناسبی برای مخلوط‌شدن با کتیرا در ساختار TG-B-PANI است.

شکل‌شناسی سطح کتیرا به‌صورت چشمگیری تغییر پیدا کرده که نشان‌دهنده مخلوط‌شدن پلی‌آنیلین و قرارگرفتن زنجیرهای پلیمری پلی‌آنیلین در سطح کتیرا و نیز نشان‌دهنده ساختار نانوذرات پلی‌آنیلین تشکیل شده در بستر کتیراست. با توجه به شکل ۲ (b) ابعاد ذرات پلی‌آنیلین در حدود 150 ± 70 nm است.



شکل ۳- منحنی‌های ولت‌سنجی چرخه‌ای (CV) پلیمر TG-B-PANI در محلول آبی H_2SO_4 (0.5 mol/L) با سرعت پویش 10 تا 50 mV/s بین پتانسیل 0.2 V تا 1.2 V نسبت به الکترود مرجع $Ag/AgCl$.

Fig.3. The cyclic voltammetry (CV) curves of the TG-B-PANI in an aqueous solution of H_2SO_4 (0.5 mol/L), at a scan rate of 10 to 50 mV/s between -0.2 and 1.2 V versus the reference $Ag/AgCl$ electrode.

مطالعه رسانندگی الکتریکی و الکتروفعلی TG-B-PANI

از شاخصه‌های داربست‌های ایده‌آل، قابلیت رسانندگی و الکتروفعال بودن آن‌هاست که این موضوع بستر مناسبی برای فعالیت‌هایی مانند مهاجرت یاخته (مثلاً فیبروبلاست‌ها)، تغییر شکل و نیز قابلیت تقلید از ECM است. همچنین این موضوع موجب آسانی برهم‌کنش‌های یاخته-یاخته، یاخته-ماتریس، تمایز، تکثیر و ارسال سیگنال‌های یاخته‌ای می‌شود.

درباره یاخته‌های تحریک‌پذیر الکتریکی (مثلاً فیبروبلاست‌ها) داربست ایده‌آل می‌تواند فعالیت الکتریکی یا تغییر شکل را برای تقلید از ریزمحیط بومی یاخته‌ها فراهم کند. رسانایی و فعالیت الکتریکی داربست‌های ساخته‌شده به‌ترتیب با روش استاندارد کاوند چهارنقطه‌ای و ولت‌سنجی چرخه‌ای (CV) مطالعه شد [۳۲].

رسانندگی الکتریکی PANI خالص و TG-B-PANI سنتز شده به‌ترتیب مقادیر $2.09 \times 10^{-3} \text{ S.cm}^{-1}$ برای پلی‌آنیلین و $1.25 \times 10^{-3} \text{ S.cm}^{-1}$ برای TG-B-PANI به‌دست آمد که نتایج نشان‌دهنده رسانا بودن پلیمر TG-B-PANI است. با وجود اینکه کتیرا پلیمری نارساناست، اما خواص بسیار جالب آن، از جمله آب‌دوستی، فرایندپذیری، همچنین

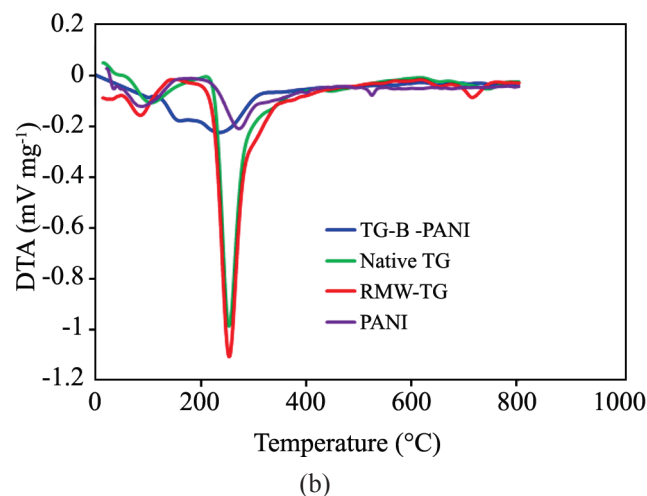
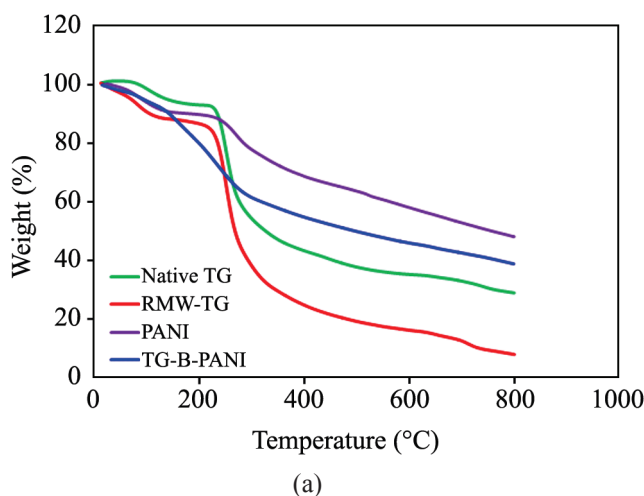
را در حدود 140°C نشان می‌دهد که می‌تواند به دلیل تبخیر شدن رطوبت جذب‌شده در پلیمر باشد. کاهش وزن بعدی حدود 50°C – 200°C اتفاق افتاده است که به تجزیه ساختار ناهمگن بسیار پرشاخه کتیرا و پروتئین‌های احتمالی مربوط می‌شود (۵۰٪ وزنی). بر اساس منحنی DTA، تخریب اصلی کتیرا خالص در دمای 260°C رخ داده و پس از آن سرعت تخریب کاهش یافته است. تخریب کتیرای خالص کامل نشده و باقی‌مانده در دمای 800°C حدود ۲۸٪ وزنی است. پس از کاهش وزن مولکولی کتیرا با امواج فراصوت، پایداری گرمایی نمونه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. این نمونه فرایند کاهش وزن دومرحله‌ای را با تبخیر آب جذب‌شده و سپس تخریب زنجیره‌های کتیرا با وزن مولکولی بسیار کم در دمای 70°C تا 180°C (تقریباً ۱۳٪ وزنی) نشان داد. مرحله دوم تخریب به تخریب زنجیره‌های کتیرا مربوط است که در دمای 180°C تا 400°C (تقریباً ۶۲٪ وزنی) رخ داده است. همان‌طور که در منحنی DTA این نمونه مشاهده می‌شود، تخریب اصلی نمونه کتیرای کاهش وزن مولکولی داده شده (M_wR -TG) نیز، در دمای 260°C رخ داده و پس از آن سرعت تخریب کاهش یافته است. تخریب M_wR -TG کامل نشده و باقی‌مانده در دمای 800°C حدود ۷٪ وزنی است.

تخریب PANI خالص با تبخیر آب جذب‌شده در دمای 70°C تا 140°C (۹٪ وزنی) آغاز شد و به‌دنبال آن تخریب دوپه‌کننده در دمای 230°C تا 300°C (تقریباً ۱۳٪ وزنی) انجام شد. تخریب زنجیره‌های PANI در دمای 300°C تا 520°C (تقریباً ۴۰٪ وزنی) رخ داد. باقی‌مانده PANI خالص در پایان آزمایش ۴۸٪ وزنی بود. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پایداری گرمایی PANI خالص کمی

برای بررسی الکتروفعالی نمونه، TG-B-PANI در حلال دی‌متیل سولفوکسید با استفاده از فراصوت به مدت ۱۰ min حل شده و به اندازه $20\ \mu\text{L}$ روی الکتروود کربن شیشه‌ای پوشش یافت. الکتروفعالی کوپلیمر TG-B-PANI با دستگاه پتانسیواستات-گالوانواستات در محلول آبی ($0.5\ \text{mol/L}$) H_2SO_4 با سرعت پوشش $10\ \text{mV s}^{-1}$ تا 50 و در محدوده پوشش $0.2\ \text{V}$ تا $1.2\ \text{V}$ بررسی شد. با توجه به اینکه کتیرا پلیمری نارسا بوده و جرم مولکولی زیادی دارد، خاصیت الکتروفعالی پلی‌آنیلین را تحت تأثیر قرار داده که این موضع به واضح نبودن پیک اکسایشی منجر شده است. اما، پیک‌های کاهش در محدوده $0.7\ \text{mV}$ نسبت به الکتروود مرجع مشاهده می‌شود. با توجه به نمودارها مشخص می‌شود، با افزایش سرعت پوشش، شدت جریان افزایش می‌یابد که این موضوع مهر تأییدی بر خاصیت برگشت‌پذیری و الکتروفعالی پلیمر TG-B-PANI است [۲۹].

بررسی رفتار گرمایی (DTA و TGA)

تخریب گرمایی پلی‌ساکاریدها بسیار پیچیده است و با گسست پلیمری از راه شکست زنجیر به‌طور تصادفی، همراه با تخریب و به‌دنبال آن بازآرایی مولکولی است. به‌طور کلی، تجزیه پلی‌ساکاریدها شامل چهار مرحله است: دفع فیزیکی آب جذب‌شده، حذف آب جذب‌شده در ساختار (واکنش‌های آب‌گیری)، گسست پلیمری و در نهایت تشکیل هیدروکربن‌های آروماتیک چندهسته‌ای. تخریب گرمایی TG، TG-B-PANI و PANI خالص در جو نیتروژن با دستگاه TGA/DTA مطابق شکل ۴ مطالعه شد. همان‌طور که در شکل TGA دیده می‌شود، کتیرا کاهش وزن اولیه حدود ۱۲٪ وزنی



شکل ۴- دمانگاشت TGA-DTA نمونه‌ها با سرعت گرمایش $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تحت گاز نیتروژن.

Fig.4. TGA-DTA thermograms of samples under heating rate of $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ at N_2 gas.

پیک ناحیه 387 nm به انتقال های $\pi^* \rightarrow \pi$ حلقه‌های بنزوئیدی نمک امرآلدين و پیک ناحیه 676 nm به انتقال های $\pi^* \rightarrow \pi$ پلارون-بی پلارون مربوط است [۳۳].

مشخصه‌یابی نانوالیاف

بررسی شکل‌شناسی نانوالیاف

کتیرا به دلیل دافعه پلی‌آنیونی در طول زنجیر و گران روی زیاد، نمی‌تواند به راحتی الکترورسی شود. برای رفع این مشکل، پلی(وینیل الکل) با این پلی ساکارید مخلوط شد. نتایج نشان داد، امکان تولید نانوالیاف با سطح صاف و بدون گره وجود دارد. نسبت‌های متفاوتی از TG-B-PANI و PVA الکترورسی شد و نانوالیاف TG-B-PANI:PVA با شکل‌شناسی مناسب به دست آمد. به دلیل آب‌دوستی و سمی نبودن PVA، این پلیمر به طور گسترده در تولید نانوالیاف استفاده می‌شود. همان‌طور که از شکل ۶ مشخص است، تمام نانوالیاف تقریباً به طور یکنواخت و بدون گره با ساختار متخلخل تشکیل شده‌اند. در کنار تصاویر SEM، نقشه تجزیه عنصری الیاف الکترورسی شده نیز نشان داده شده است که عنصر کربن، اکسیژن، نیتروژن و گوگرد به ترتیب به رنگ قرمز، سبز، آبی و زرد به تصویر کشیده شده‌اند. عناصر کربن و اکسیژن به طور طبیعی در پلیمر کتیرا وجود دارند. پس از ترکیب با پلی‌آنیلین در کدهای S3 و S4 وجود عناصر N مربوط به آنیلین و S به دلیل وجود p-TSA نیز به عنوان دپه‌کننده وجود زنجیر پلی‌آنیلین در ماتریس کتیرا را تأیید می‌کند.

بررسی زاویه تماس داربست‌های نانوالیافی برای ارزیابی مقدار آب دوستی

یکی از عوامل مهم در طراحی داربست‌ها برای کاربردهای زیست‌پزشکی، انتخاب صحیح مواد است، زیرا مقدار آب‌دوستی نانوالیاف، برای برهم‌کنش با یاخته‌ها و بافت‌های اطراف در محیط آبی موضوع مهمی است. مقدار تمایل نانوالیاف به جذب یا دفع آب، به مقدار زیادی بر کاربرد آن‌ها در مهندسی بافت اثرگذار است. خاصیت آب‌دوستی مقدار توزیع یکنواخت یاخته‌های در حال رشد، چسبندگی، تکثیر یاخته‌ای، برهم‌کنش یاخته-ماتریس و مقدار تمایز در بستر داربست را افزایش داده و نیز اکسیژن‌رسانی و رسانش مواد مغذی به کل محیط داربست را در مقایسه با نانوالیاف آب‌گریز بهبود می‌دهد [۳۴-۳۶].

اندازه‌گیری زاویه تماس قطره آب با داربست به‌عنوان معیاری برای بررسی مقدار آب‌دوستی یا آب‌گریزی داربست است. هر چقدر زاویه تماس کمتر باشد، سطح آب‌دوست‌تر بوده و زاویه تماس بزرگ‌تر بیانگر آب‌گریزی یا همان مقاومت در برابر آب است. نتایج اندازه‌گیری زاویه تماس در شکل ۷ نشان داده شده

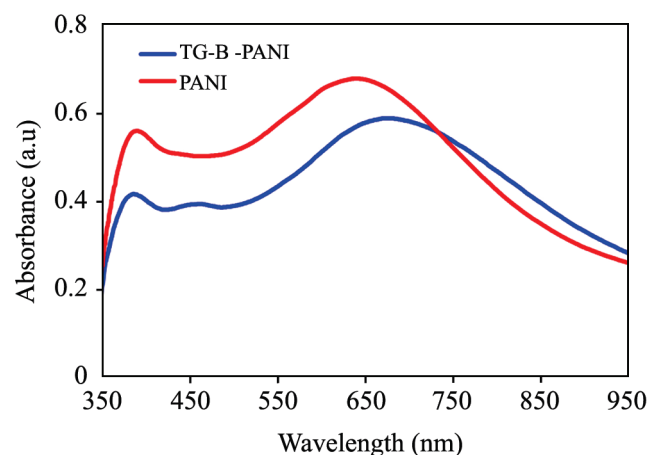
بیشتر از کوپلیمر TG-B-PANI است. همان‌طور که در منحنی TGA نمونه TG-B-PANI دیده می‌شود، پایداری گرمایی کوپلیمر به طور شایان توجهی در مقایسه با $R_{M}W-TG$ افزایش یافته است.

نمودار TGA برای TG-B-PANI کاهش وزن سه مرحله‌ای را نشان می‌دهد، از جمله تبخیر آب جذب‌شده در دمای 70°C تا 140°C (تقریباً ۸٪ وزنی)، و به دنبال آن تخریب دپه‌کننده (p-TSA) یا زنجیرهای کتیرا با وزن مولکولی بسیار کم در دمای 140°C تا 210°C (تقریباً ۱۳٪ وزنی) رخ داد. در منحنی DTA دمای اصلی تبخیر آب و تخریب دپه‌کننده و کتیرا با وزن مولکولی بسیار کم به ترتیب 108°C و 160°C است. مرحله نهایی به تخریب زنجیرهای TG و PANI مربوط بوده که در دمای 210°C تا 600°C رخ داده است و پس از آن تخریب طی فرایندی آهسته تا 800°C ادامه می‌یابد. در 800°C تخریب TG-B-PANI کامل نشده و باقی‌مانده حدود ۳۸٪ وزنی است. با توجه به اینکه پایه اصلی در TG-B-PANI صمغ کتیراست. بنابراین، از نظر پایداری گرمایی حدواسط پلی‌آنیلین و کتیرای خالص است.

بررسی طیف UV-Vis

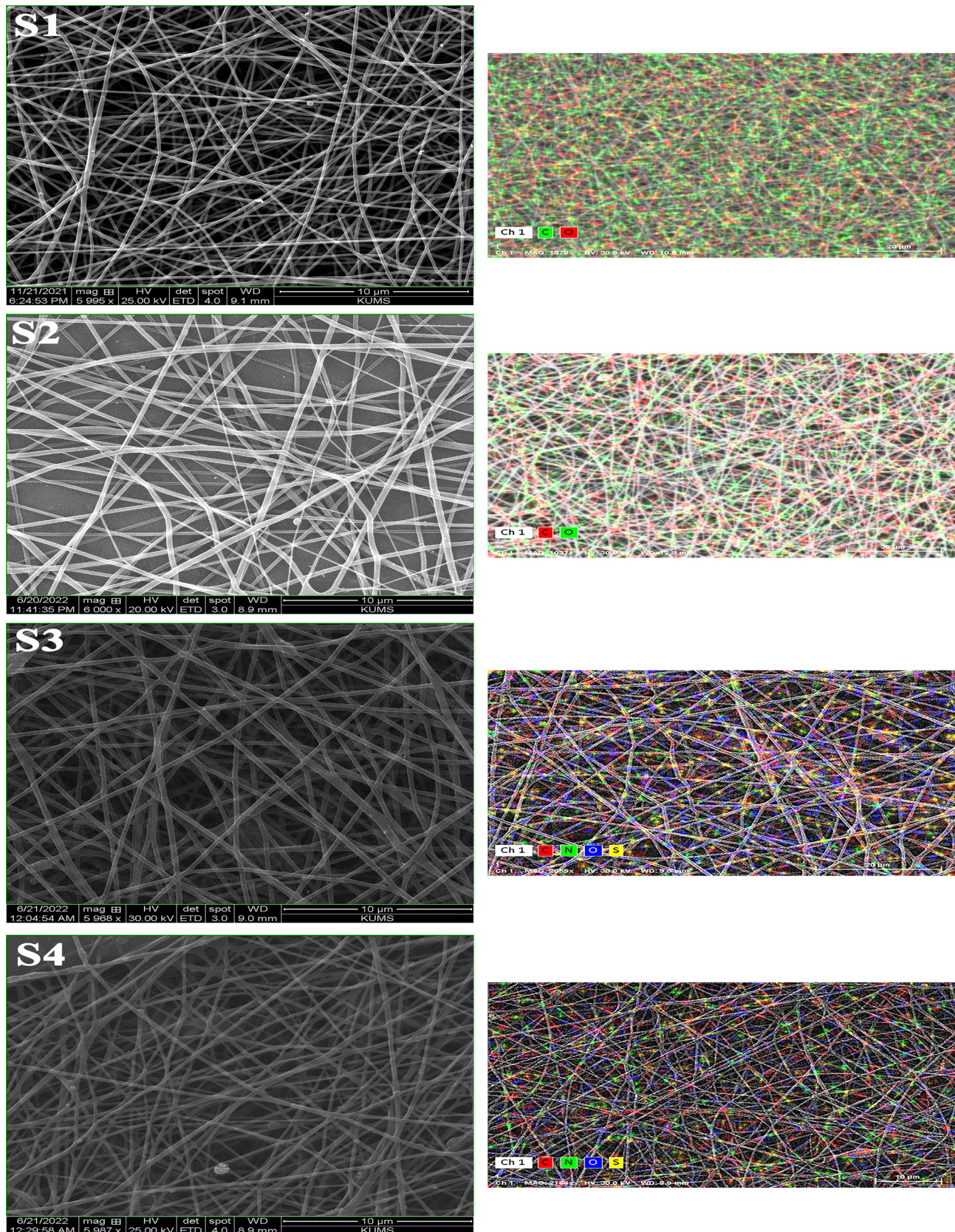
شکل ۵ طیف UV-Vis پلی‌آنیلین و نیز TG-B-PANI را نشان می‌دهد که به منظور بررسی ساختار و مزدوج‌شدگی سامانه بررسی شده است. PANI خالص دو انتقال الکترونی را حدود 398 nm و 647 nm نشان داد. اولین نوار جذب به انتقال الکترون $\pi^* \rightarrow \pi$ در بخش‌های بنزوئید و جذب در 647 nm به تشکیل پلارون و انتقال پلارون به π^* مربوط است.

TG-B-PANI سنتز شده نوارهای مشابهی را با تفاوت‌های جزئی نشان داد. این نمونه دو انتقال الکترونی را در 387 nm و 676 nm نشان داد که مطابق با انتقال‌های الکترونی نام‌برده در بخش PANI است.



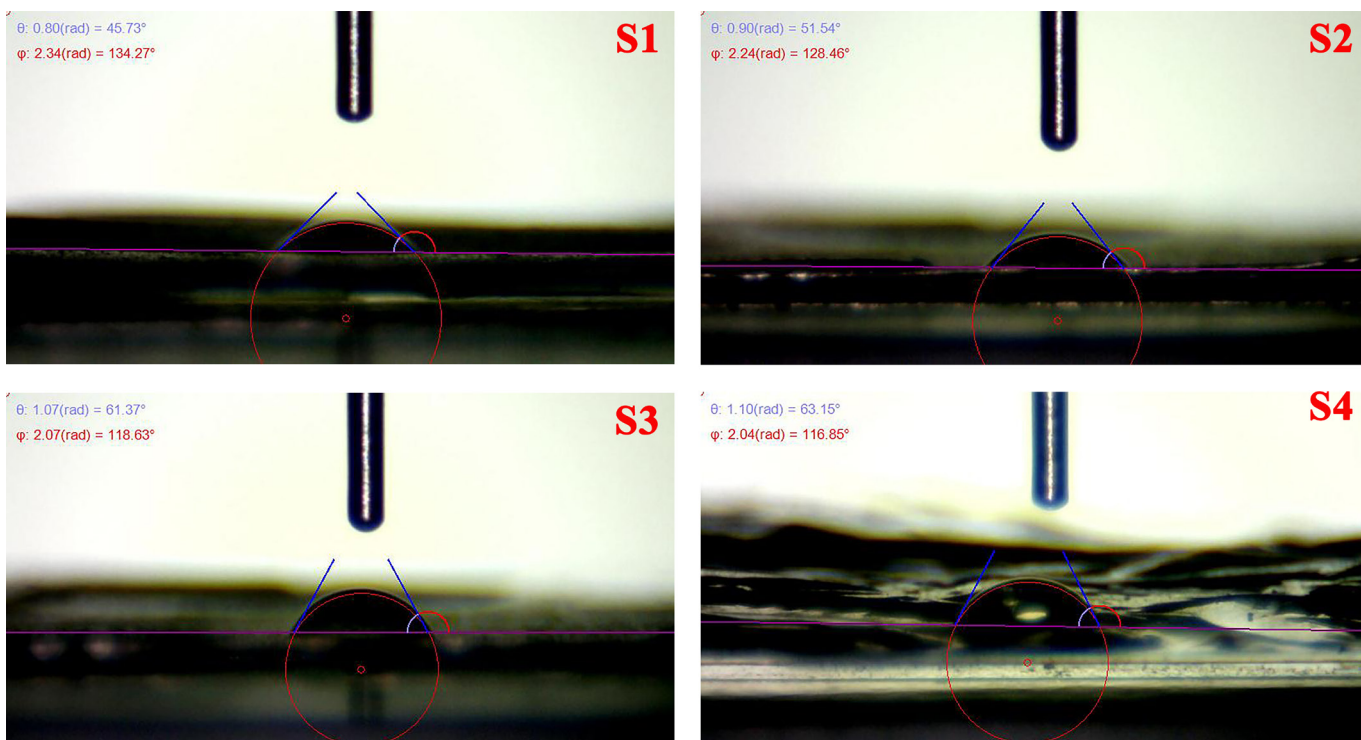
شکل ۵- طیف UV-Vis مربوط به PANI و TG-B-PANI.

Fig.5. UV-Vis spectra of PANI and TG-B-PANI.



شکل ۶- تصاویر SEM نانوالیاف الکتروریسی شده و نقشه تجزیه عنصری مربوط به S1، S2، S3 و S4.

Fig. 6. The SEM images of S1, S2, S3, S4 electrospun nanofibers and their elemental EDX mapping.



شکل ۷- مقادیر زاویه تماس با آب برای داربست‌های نانولیفی الکترورسی شده S1، S2، S3 و S4.

Fig. 7. Water contact angle study results for S1, S2, S3 and S4 nanofiberous scaffolds.

کشت یاخته‌ای، تورم مقدار نفوذ یاخته‌ها به داربست‌ها را به صورت سه‌بعدی آسان می‌کند. همچنین، تورم اندازه منافذ و تخلخل کل را افزایش می‌دهد و در نتیجه سطح داخلی داربست‌ها را به حداکثر می‌رساند. نمونه‌هایی که درجه تورم بیشتری را نشان می‌دهند، نسبت سطح به حجم بیشتری دارند، بنابراین به نمونه‌ها امکان می‌دهد تا حداکثر احتمال تزریق یاخته به داربست سه‌بعدی و نیز حداکثر رشد یاخته را با اتصال بهتر به سطح داربست داشته باشند. تورم به نمونه‌ها اجازه می‌دهد تا به‌طور مؤثرتری برای مواد مغذی از محیط‌های کشت در دسترس باشند [۳۷]. خواص تورم داربست‌های هیدروژل نانولیفی ساخته‌شده مطابق شکل ۸ بررسی شد. همان‌طور که دیده می‌شود، S2 بیشترین رفتار تورمی را به دلیل وجود کتیرا آب‌دوست در ساختار نشان داد. نسبت تورم این نمونه پس از ۶۰ min به ۱۷۶/۱٪ رسید. به روشی مشابه، جذب آب در S1 به دلیل مهاجرت آب به شبکه پلیمری آب‌دوست PVA به‌طور مداوم تا ۶۰ min افزایش یافت و سپس به حالت تعادل رسید. این نمونه پس از ۶۰ min حداکثر ۱۵۶/۴٪ تورم را نشان داد. در نمونه‌های S3 و S4، اختلاط PANI به دلیل ماهیت آب‌گریز آن، مقادیر تورم را کاهش داد. بیشترین مقادیر تورم برای نمونه‌های S3 و S4 به ترتیب ۸۳/۱٪ و ۵۷/۳٪ پس از ۴۰ min به دست آمد. نتایج مشابهی در کار Switha و همکاران به دست آمد. به‌طوری

است. کتیرا پلیمری بسیار آب‌دوست است و این خاصیت ناشی از وجود گروه‌های کربوکسیلیک اسید و به‌ویژه گروه‌های الکلی فراوان در ساختار آن است. نانوالیاف خالص PVA دارای بیشترین ماهیت آب‌دوستی (۴۵/۷۳°) هستند. نمونه (۸۵/۱۵ درصد وزنی) PVA/TG دارای زاویه تماس ۵۱/۵۴° است که با توجه به افزودن کتیرا، ماهیت آب‌دوستی سطح مقدار اندکی کاهش می‌یابد. از طرفی پلی‌وینیل‌الکل (کلی) نیز پلیمری آب‌دوست بوده که ناشی از وجود گروه‌های هیدورکسیل و نیز امکان برقراری پیوندهای هیدروژنی آن‌هاست. از سوی دیگر، زاویه تماس از ۶۱/۳۷° در نمونه PVA/TG-B-PANI با درصد وزنی ۸۰:۲۰ به ۶۳/۱۵° در نمونه ۷۰:۳۰ می‌رسد که دلیل کاهش معنادار مقدار آب‌دوستی در نانوالیاف افزایش درصد پلیمر آب‌گریز پلی‌آنیلین است.

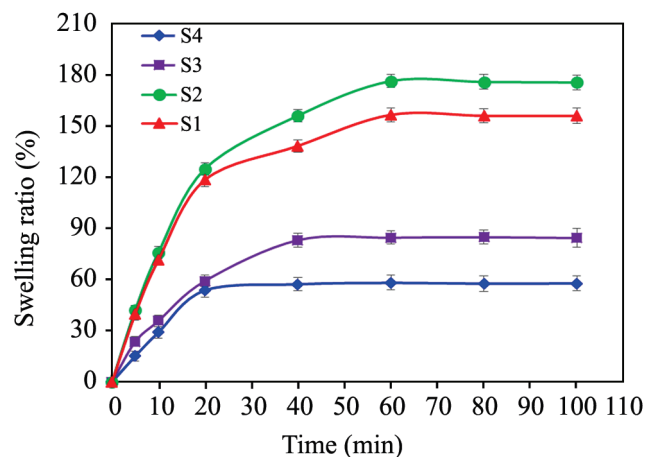
خواص تورم داربست

به‌خوبی تأیید شده است، خواص تورمی مناسب داربست ناشی از ماهیت آب‌دوستی آن، می‌تواند در تقلید بهینه از ECM مؤثر باشد و آن را به بستری مناسب برای کشت یاخته‌ای تبدیل کند. وجود آب در سطح چنین داربستی می‌تواند انرژی آزاد سطحی را در محیط درون بدن کاهش دهد و خواص زیستی داربست را افزایش دهد. طی

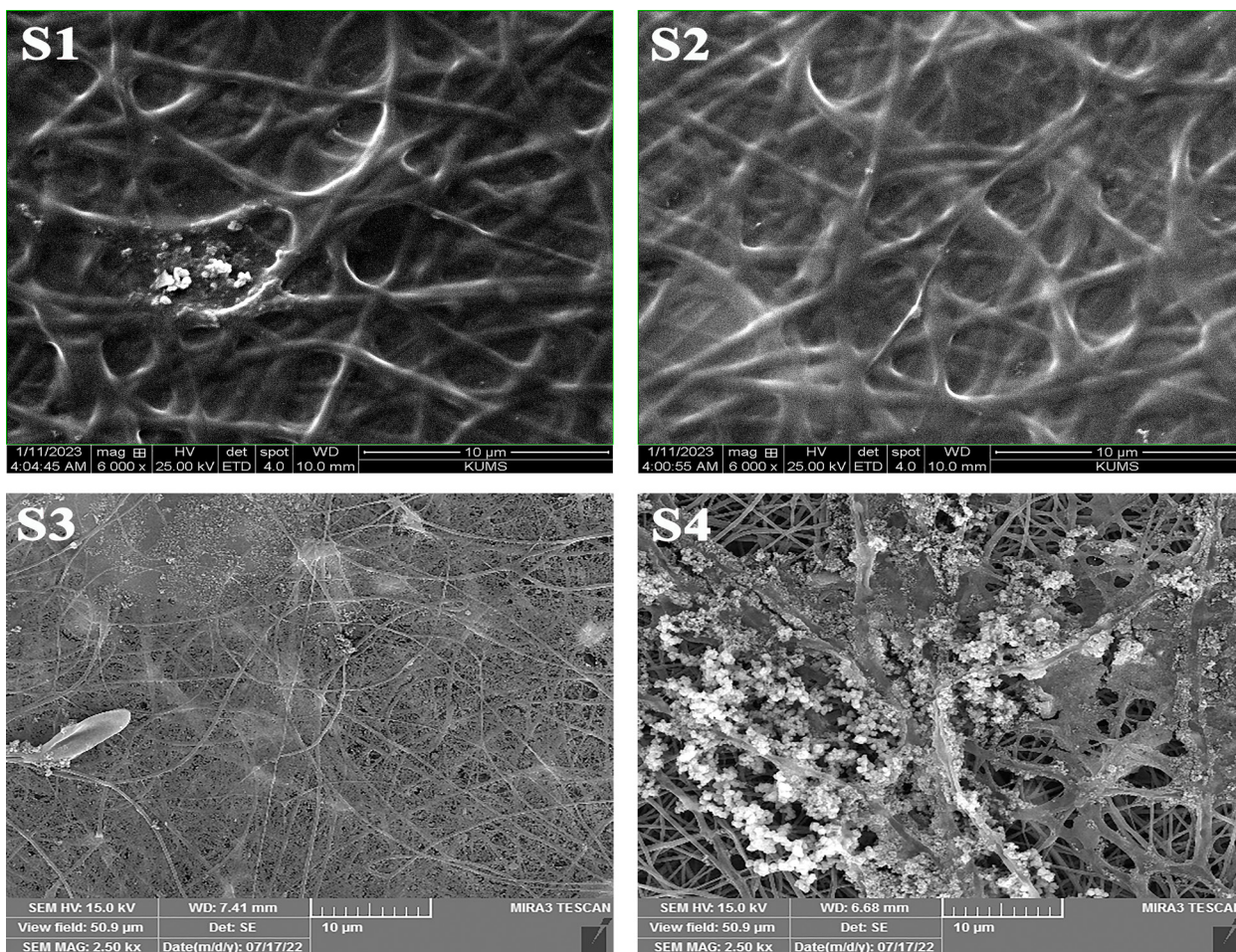
که با افزایش نسبت وزنی نانوذرات نشاسته (NS) در ساختار PANI-PVA-NS تورم داربست به‌طور محسوسی افزایش یافت. دلیل این موضوع وجود گروه‌های عاملی مانند OH در پلیمرهای طبیعی مانند نشاسته، همانند کتیراست که باعث به‌وجود آمدن پیوند هیدروژنی بین مولکول‌های آب و گروه OH می‌شود [۳۸].

بررسی تجزیه زیستی نانوالیاف در شرایط آزمایشگاهی

تجزیه زیستی هر ماده زیستی کاشت‌پذیر در بدن برای جلوگیری از هرگونه التهاب مزمن به‌دلیل ماندن بلندمدت آن در بدن ضروری است. تجزیه‌پذیری داربست‌های ساخته‌شده در شرایط آزمایشگاهی با تغییرات شکل‌شناسی به‌کمک تصویربرداری FE-SEM بررسی شد که در شکل ۹ نشان داده شده است. قابلیت تخریب نانوالیاف با غوطه‌وری آن‌ها در محلول PBS درون گرم‌خانه 37°C و pH برابر



شکل ۸- مقدار تورم داربست‌های هیدروژلی (pH ۷/۴ در دمای معمولی).
Fig. 8. Swelling profile of developed hydrogel scaffolds (pH 7.4 at room temperature).



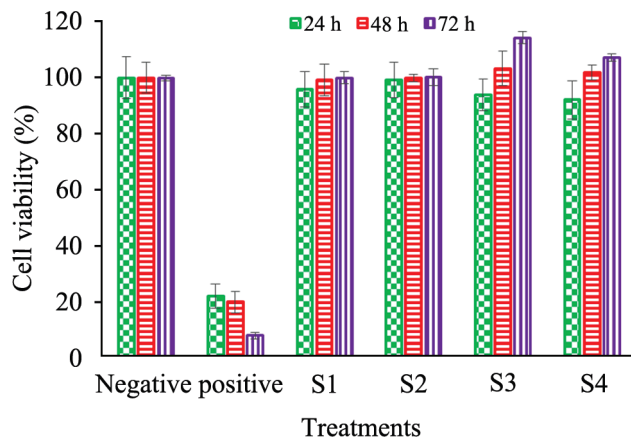
شکل ۹- تصاویر FE-SEM از تخریب نانوالیاف الکترونیسی شده پس از ۲۰ روز غوطه‌ورسازی در PBS.
Fig. 9. FE-SEM images of electrospun nanofibers after 20 days of soaking in PBS.

S3 و S4 به ترتیب تا ۱۰۳/۵ و ۱۰۲٪ افزایش یافت، در حالی که پس از ۷۲ h قابلیت زنده‌مانی یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش به ترتیب ۱۱۴ و ۱۰۷٪ برای S3 و S4 به دست آمد. این مشاهدات نشان داد، هر دو داربست S3 و S4 قابلیت قابل قبولی برای TE پوست دارند. باید تاکید کرد، قابلیت زنده‌ماندن یاخته‌ای نسبتاً کم در داربست S4 در مقایسه با داربست S3 می‌تواند ناشی از سمیت نسبی PANI در غلظت‌های بیشتر باشد. Switha و همکاران [۳۸] گزارش کردند، با افزایش نسبت نانوشسته (NS) از ۱ به ۳٪ وزنی در زیست‌نانوکامپوزیت PVA/PANI/NS درصد زنده‌مانی یاخته‌های فیبروبلاست L929 در داربست افزایش یافت. اما در تمام نسبت‌ها درصد زنده‌مانی یاخته‌ها نسبت به نمونه کنترل کمتر بود، در حالی که در کار پژوهشی حاضر، هر دو داربست ساخته شده S3 و S4 قابلیت تکثیر یاخته‌ای بهتری نسبت به نمونه کنترل نشان دادند.

در نتیجه، در مقایسه با داربست‌های نارسا، داربست‌های رسانای الکتریکی ساخته شده (S3 و S4) قابلیت خوبی برای تکثیر یاخته‌های فیبروبلاست L929 به دلیل سازگاری یاخته‌ای مناسب و نیز برهم‌کنش‌های خوب یاخته-یاخته و یاخته-ماتریس به کمک بستر ECM تقلیدی و رسانای جریان الکتریکی نشان دادند. افزون بر این، به خوبی مستند شده است، رسانایی الکتریکی داربست می‌تواند رفتار یاخته‌ای، تکثیر و حتی تمایز را به‌ویژه در یاخته‌های الکتریکی تحریک‌پذیر تنظیم کند [۴۰، ۳۹]. نتایج مشابهی در کار پژوهشی Li و همکاران [۲۳] گزارش شد، آن‌ها از نانوالیاف حاصل از مخلوط ژلاتین-پلی‌آیلین برای کشت یاخته‌های میوبلاست‌های قلبی H9c2 موش صحرایی استفاده کردند. نتایج نشان داد، وجود پلی‌آیلین الکتروریسی را آسان کرده و ضخامت الیاف را تنظیم می‌کند و با افزایش رسانندگی داربست برهم‌کنش‌های یاخته‌ای را آسان می‌کند. طبق نتایج، نانوالیاف حاصل از مخلوط ژلاتین-پلی‌آیلین نسبت به نانوالیاف ژلاتین خالص تکثیر یاخته‌ای بهتری را نشان داد.

بررسی شکل‌شناسی یاخته‌ها روی داربست‌ها

شکل‌شناسی یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش پس از گذشت ۲۴ h از کشت یاخته‌ای روی داربست‌های ساخته شده S1، S2، S3 و S4 در شکل ۱۱ نشان داده شده است. یاخته‌های فیبروبلاست موش به خوبی روی تمام داربست‌های ساخته شده اتصال برقرار کرده و گسترده شده‌اند و یاخته‌ها در تمام جهت‌های سطح شبکه و در راستای جهت نانوالیاف رشد داشته‌اند. همچنین، مطابق تصاویر FE-SEM داربست S3، به دلیل سازگاری یاخته‌ای قابل قبول و نیز برهم‌کنش‌های خوب یاخته-یاخته و یاخته-ماتریس به کمک بستر ECM تقلیدی و رسانای



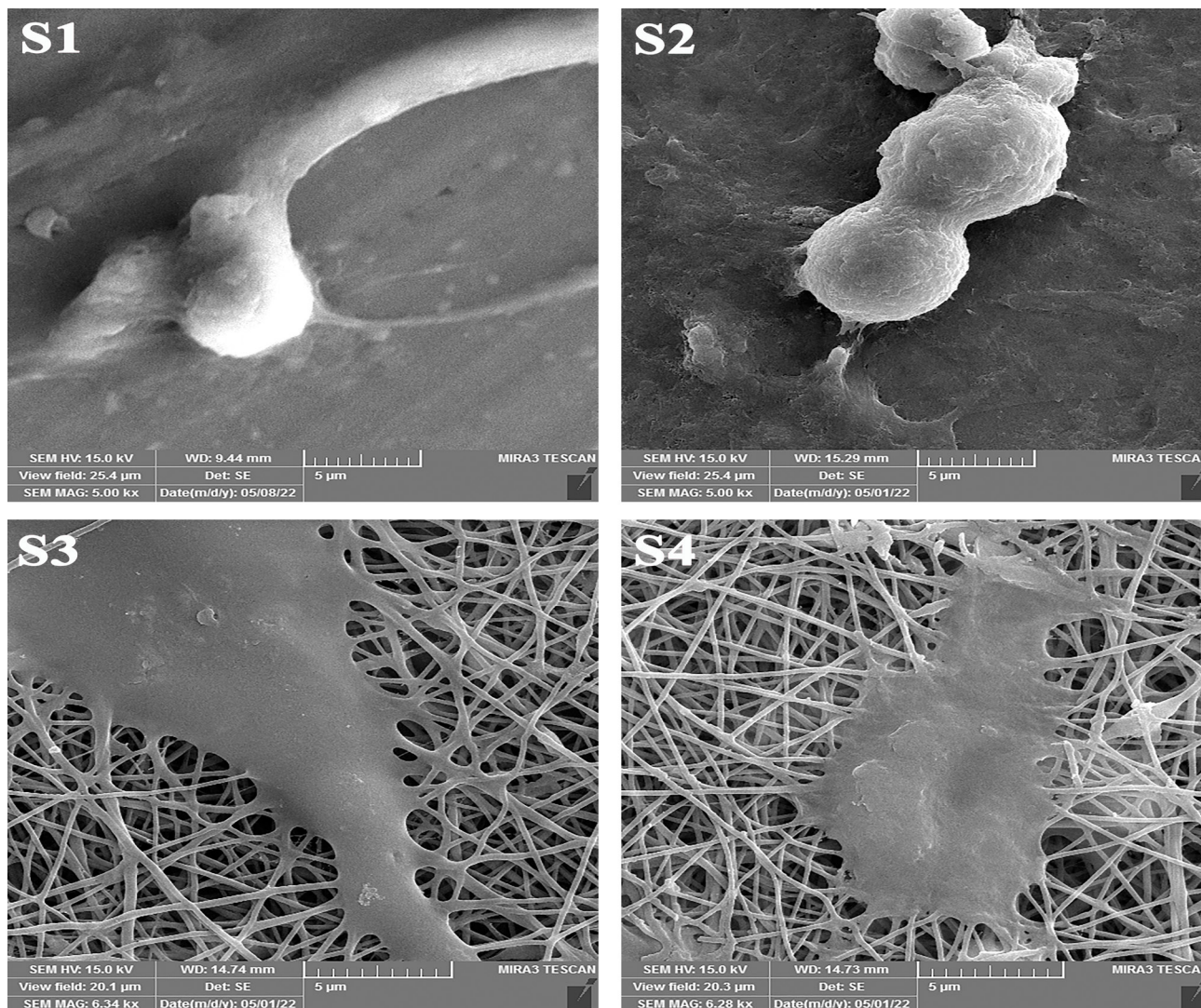
شکل ۱۰- زنده‌مانی یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش با آزمون MTT برای نمونه‌ها در دوره‌های زمانی ۲۴، ۴۸، و ۷۲ h (کنترل منفی: عمل‌آوری نشده و کنترل مثبت: (DMSO (۵٪ v/v)).

Fig.10. Fibroblast L929 cells viability/proliferation via MTT assay for samples in time periods of 24, 48, and 72 hours (Negative control: untreated and Positive control: DMSO 5% (v/v)).

۷/۴ به مدت ۲۰ روز ارزیابی شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، هر دو داربست S3 و S4 پس از ۲۰ روز گرم‌خانه‌گذاری در PBS با pH برابر ۷/۴ در ۳۷°C دچار تورم و تخریب شدند. اما، مقدار تخریب در داربست S3 به دلیل کم بودن مقدار PANI، بیشتر است.

بررسی اثر سمیت نانوالیاف بر یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش

آثار سمیت نانوالیاف بر یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش و مقدار زنده‌مانی یاخته‌ها روی داربست‌های ساخته شده با آزمون MTT در بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸، و ۷۲ h بررسی شد. نتایج نشان داد، نانوالیاف تهیه شده سمیت شایان توجهی برای یاخته‌های فیبروبلاست L929 موش ندارند. زیست‌سازگاری داربست‌های مهندسی بافت پارامتر مهمی برای یاخته‌هاست، زیرا پیوستگی رشد، مهاجرت، تمایز یاخته‌ای و در نتیجه تشکیل بافت جدید را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یاخته‌های عمل‌آوری نشده و DMSO (۵٪) به ترتیب به عنوان کنترل منفی و مثبت در نظر گرفته شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، S1 (نانوالیاف PVA) و S2 (۱۵/۸۵ TG/PVA) سازگاری یاخته‌ای بسیار خوبی را در تمام زمان‌های عمل‌آوری نشان دادند. داربست S2 به دلیل وجود کنیرا به عنوان پلی‌ساکارید طبیعی، سازگاری یاخته‌ای بیشتری را نسبت به داربست S1 نشان داد. در داربست‌های رسانای الکتریکی (S3 و S4)، به مدت ۲۴ h قابلیت حیات یاخته‌ها به ترتیب حدود ۹۴ و ۹۲٪ بود. در کل، پس از ۴۸ h، زنده‌مانی یاخته‌ها برای



شکل ۱۱- تصاویر FE-SEM یاخته‌های فیبروبلاست تکثیر یافته روی داربست‌های S1، S2، S3 و S4.

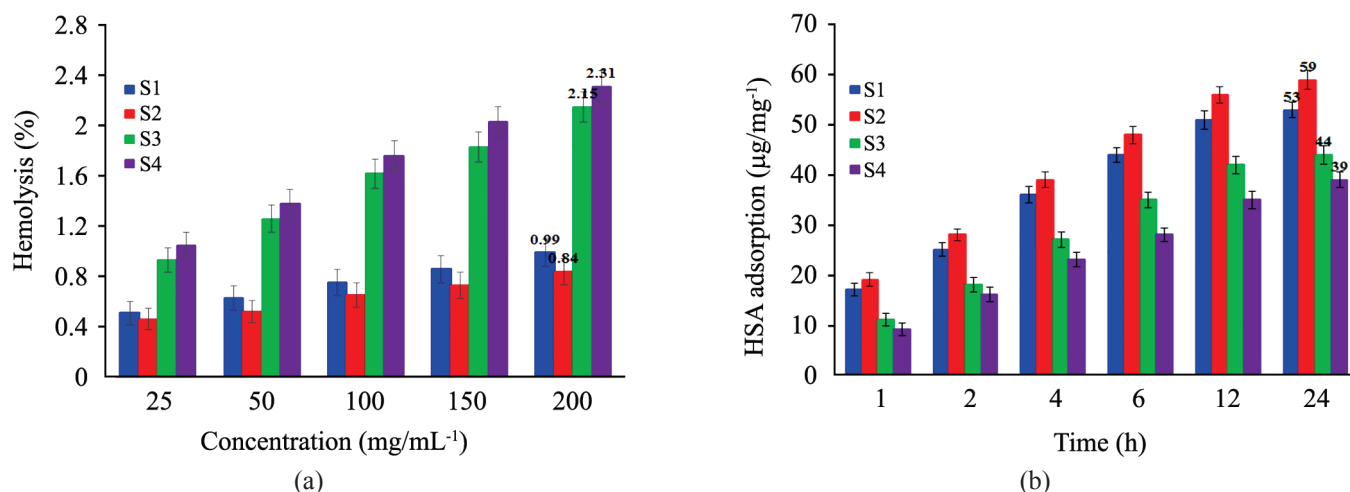
Fig. 11. Proliferation of mouse fibroblast cells on S1, S2, S3, and S4 scaffolds.

ارزیابی شود. خون‌کافت کمتر از ۵٪ بی‌خطر در نظر گرفته می‌شود. همان‌طور که در شکل ۱۲ (a) مشاهده می‌شود، تمام داربست‌های ساخته‌شده خون‌سازگاری بسیار خوبی نشان دادند و مقدار خون‌کافت حتی در غلظت زیاد نمونه‌ها ($200 \mu\text{g/mL}^{-1}$) حدود ۲٪ است [۴۱]. به‌طور کلی، مقدار خون‌کافت داربست‌های S1، S2، S3 و S4 در غلظت $200 \mu\text{g/mL}$ به ترتیب ۰/۹۹، ۰/۸۴، ۰/۱۵ و ۲/۳۱٪ گزارش شد. بنابراین تمام داربست‌های ساخته‌شده در شرایط آزمایشی نام‌برده بدون فعالیت خون‌کافتی هستند. شواهد دیگری درباره خون‌سازگاری داربست‌های توسعه‌یافته با ارزیابی ظرفیت جذب HSA به‌کمک آن‌ها به‌دست آمد (شکل ۱۲b)). پروتئین آلبومین به‌عنوان فراوان‌ترین پروتئین در پلاسما انسان بوده که حامل بسیاری از ترکیبات شیمیایی در بدن است. از این‌رو، مقدار جذب پروتئین نقش اساسی

الکتريکی، دارای قابلیت بیشتری برای رشد یاخته در میان داربست‌های یادشده است. افزون بر این سمیت پلی‌آنیلین در غلظت‌های زیاد دلیل رشد یاخته‌ای کم در داربست S4 نسبت به داربست S3 است که در آزمون MTT نیز تأیید شد.

بررسی مقدار خون‌کافت و جذب پروتئین در داربست‌ها

گلبول‌های قرمز فراوان‌ترین یاخته در خون هستند که وظیفه انتقال اکسیژن از شش به بافت‌های بدن را برعهده دارند. خون‌کافت به‌معنی تجزیه غشای گلبول‌های قرمز و در نتیجه از بین رفتن یکپارچگی غشای گلبول‌های قرمز است. به‌گونه‌ای که هموگلوبین در محیطی آزاد شود که یاخته‌ها در آن غوطه‌ورند. بنابراین، برای مواد زیستی کاشتنی که در تماس مستقیم با خون هستند، خون‌سازگاری باید



شکل ۱۲- (a) اثر خون‌کافتی نمونه‌های عمل‌آوری‌شده در غلظت‌های مختلف و (b) ظرفیت جذب HSA روی داربست‌ها.

Fig. 12. (a) Hemolytic potential of the samples at varying concentrations and (b) HSA adsorption capacities profiles of scaffolds.

مناسبی برای رشد یاخته‌های فیروبلاست L929 موش را فراهم کرد. افزون بر این، داربست S3 با توجه به تصویربرداری SEM تجزیه زیستی بیشتر و قابلیت تکثیر یاخته‌های بهتری را در مقایسه با داربست S4 نشان داد. آزمون خون‌کافت نشان داد، مقدار خون‌کافت S3 و S4 در غلظت 200 mg/mL به ترتیب 2/15 و 2/31٪ بود. بنابراین، هر دو داربست ساخته‌شده سازگاری مناسبی با خون داشتند. خون‌سازگاری داربست‌های توسعه‌یافته نیز با ظرفیت جذب پروتئین آن‌ها بررسی شد. مشخص شد، نمونه‌های S3 و S4 می‌توانند به ترتیب 44 و 39 µg/mg از پروتئین HSA را جذب کنند. نتیجه نهایی اینکه، ادغام PANI در داربست‌ها، قابلیت تکثیر یاخته‌ای را به دلیل افزایش برهم‌کنش‌های یاخته-یاخته و ماتریس پلیمری-یاخته از طریق بستر رسانایی الکتریکی افزایش داد. پیشنهاد می‌شود، داربست‌های نانولیفی حاصل از پلیمر TG-B-PANI/PVA برای آزمون‌های حیوانی به منظور ترمیم پوست‌های آسیب‌دیده به کار گرفته شود. با توجه به فراوانی مواد اولیه و شباهت آن به ECM می‌توان در مقیاس‌های بزرگ‌تر داربست را تهیه و به جامعه پزشکی عرضه کرد. داربست تهیه‌شده را می‌توان برای رشد یاخته‌های بنیادی در ترمیم اعضای چون غضروف و ماهیچه به کار گرفت.

قدردانی

نویسندگان از دانشگاه پیام نور و کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه بابت حمایت مادی و دستگاهی تشکر و قدردانی می‌کنند.

در عملکرد TE دارد و برای چسبندگی یاخته ضروری است. طبق نتایج حاصل، داربست S2 بیشترین ظرفیت جذب HSA را به دلیل آب‌دوستی و نسبت تورم زیاد نشان داد. وجود PANI در کنار PVA و TG، آب‌دوستی نمونه‌ها را کاهش داده و به کاهش جذب HSA منجر شد. به طور کلی، ظرفیت جذب HSA روی داربست‌های S1، S2، S3 و S4 به ترتیب 53، 59، 44 و 39 µg/mg⁻¹ تعیین شد که برای مهندسی بافت موفق مناسب هستند [42].

نتیجه‌گیری

در تهیه داربست متخلخل سه‌بعدی ایده‌ال برای کاربرد در مهندسی بافت پوست، ترکیب پلیمرهای طبیعی از لحاظ ویژگی‌های زیستی و پلیمرهای سنتزی به دلیل استحکام و توان مکانیکی راهکار مناسبی است. در این پژوهش داربست‌های هیدروژلی نانوالیاف رسانای الکتریکی مقلد ماتریس خارج یاخته‌ای (ECM) متشکل از TG-B-PANI و پلی‌وینیل‌الکل) با نسبت‌های وزنی مختلف برای کاربرد مهندسی بافت پوست طراحی و ساخته شدند. پلی‌آنیلین در ماتریس کتیرا با روش اکسایش شیمیایی تهیه شد و ساختار آن با طیف‌سنجی‌های FTIR، UV-Vis، TGA و FE-SEM بررسی و تأیید شد. الکتروفعالی TG-B-PANI سنتز شده با روش ولت‌سنجی چرخه‌ای تأیید شد. رسانندگی الکتریکی TG-B-PANI سنتز شده 1/25 × 10⁻³ S.cm⁻¹ اندازه‌گیری شد.

شرایط آب‌دوستی مناسب و سمیت‌نداشتن داربست‌ها، بستر

علائم اختصاری

APS	Ammonium persulfate	PANI	Polyaniline
DMSO	Dimethyl sulfoxide	PBS	Phosphate-buffered saline
ECM	Extracellular matrix	PVA	Poly(vinyl alcohol)
FBS	Fetal bovine serum	p-TSA	p-Toluenesulfonic acid
FTIR	Fourier-transform infrared spectroscopy	SEM	Scanning electron microscopy
HSA	Human serum albumin	UV-Vis	Ultraviolet /Visible
GA	Glutaraldehyde		

مراجع

- Gholipour-Kanani A., Bahrami H., Joghataie M.T., and Samadikuchaksaraei A., Nanofibrous Scaffolds Based on Poly(caprolactone)/Chitosan/Poly(vinyl alcohol) Blend for Skin Tissue Engineering, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **26**, 159-170, 2013.
- Amirsadeghi A., Jafari A., Eggermont L.J., Hashemi S-S., Bencherif S.A., and Khorram M., Vascularization Strategies for Skin Tissue Engineering, *Biomater. Sci.*, **8**, 4073-4094, 2020.
- Zhang Z., Feng Y., Wang L., Liu D., Qin C., and Shi Y., A Review of Preparation Methods of Porous Skin Tissue Engineering Scaffolds, *Mater. Today Commun.*, **32**, 104109, 2022.
- Xu J., Fang H., Zheng S., Li L., Jiao Z., Wang H., Nie Y., Liu T., and Song K., A Biological Functional Hybrid Scaffold Based on Decellularized Extracellular Matrix/Gelatin/Chitosan with High Biocompatibility and Antibacterial Activity for Skin Tissue Engineering, *Int. J. Biol. Macromol.*, **187**, 840-849, 2021.
- Sundaramurthi D., Krishnan U.M., and Sethuraman S., Electrospun Nanofibers as Scaffolds for Skin Tissue Engineering, *Polym. Rev.*, **54**, 348-376, 2014.
- Serag E., El-Aziz A.M.A., El-Maghraby A., and Taha N.A., Electrospun Non-Wovens Potential Wound Dressing Material Based on Polyacrylonitrile/Chicken Feathers Keratin Nanofiber, *Sci. Rep.*, **12**, 1-14, 2022.
- Ranjbar-Mohammadi M. and Tajdar F., Gelatin/Polycaprolactone and Poly(vinyl alcohol)/Chitosan Hybrid Nanofibers: Determining Factors on Their Morphology, *Iran. J. Polym. Sci. Tehenol. (Persian)*, **35**, 203-216, 2022.
- Khare D., Basu B., and Dubey A.K., Electrical Stimulation and Piezoelectric Biomaterials for Bone Tissue Engineering Applications, *J. Biomater.*, **258**, 120280, 2020.
- Arora D., Babakhanova G., and Simon C.G., Tissue Engineering Measurands, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **6**, 5368-5376, 2020.
- Kheilnezhad B., Safaei Firoozabady A., and Aidun A., An Overview of Polyaniline in Tissue Engineering, *J. Tissue Eng.*, **3**, 6-22, 2020.
- Massoumi B., Abbasian M., Jahanban-Esfahlan R., Mohammad-Rezaei R., Khalilzadeh B., Samadian H., Rezaei A., Derakhshankhah H., and Jaymand M., A Novel Bio-Inspired Conductive, Biocompatible, and Adhesive Terpolymer Based on Polyaniline, Polydopamine, and Polylactide as Scaffolding Biomaterial for Tissue Engineering Application, *Int. J. Biol. Macromol.*, **147**, 1174-1184, 2020.
- Vandghanooni S. and Eskandani M., Electrically Conductive Biomaterials Based on Natural Polysaccharides: Challenges and Applications in Tissue Engineering, *Int. J. Biol. Macromol.*, **141**, 636-662, 2019.
- Nejatian M., Abbasi S., and Azarikia F., Gum Tragacanth., Structure, Characteristics and Applications in Foods, *Int. J. Biol. Macromol.*, **160**, 846-860, 2020.
- Jahanban-Esfahlan R., Soleimani K., Derakhshankhah H., Haghshenas B., Rezaei A., Massoumi B., Farnudiyan-Habibi A., Samadian H., and Jaymand M., Multi-stimuli-Responsive Magnetic Hydrogel Based on Tragacanth Gum as a de novo Nanosystem for Targeted Chemo/Hyperthermia Treatment of Cancer, *J. Mater. Res.*, **36**, 858-869, 2021.
- Sayadnia S., Arkan E., Jahanban-Esfahlan R., Sayadnia S., and Jaymand M., Tragacanth Gum-Based pH-Responsive Magnetic Hydrogels for "Smart" Chemo/Hyperthermia Therapy of Solid Tumors, *Polym. Adv. Technol.*, **32**, 262-271, 2021.

16. Soleimani K., Derakhshankhah H., Jaymand M., and Samadian H., Stimuli-Responsive Natural Gums-Based Drug Delivery Systems for Cancer Treatment, *Carbohydr. Polym.*, **254**, 117422, 2021.
17. Zare E.N., Makvandi P., and Tay F.R., Recent Progress in the Industrial and Biomedical Applications of Tragacanth Gum: A Review, *Carbohydr. Polym.*, **212**, 450-467, 2019.
18. Ahmadian M., Derakhshankhah H., and Jaymand M., Biosorptive Removal of Organic Dyes Using Natural Gums-Based Materials: A Comprehensive Review, *J. Ind. Eng. Chem.*, **124**, 102-131, 2023.
19. Raoufi N., Kadkhodae R., Fang Y., and Phillips G.O., Ultrasonic Degradation of Persian Gum and Gum Tragacanth: Effect on Chain Conformation and Molecular Properties, *Ultrason Sonochem.*, **52**, 311-317, 2019.
20. DeMerlis C.C., and Schoneker D.R., Review of the Oral Toxicity of Polyvinyl Alcohol (PVA), *Food Chem. Toxicol.*, **41**, 319-326, 2003.
21. Jiang S., Liu S., and Feng W., PVA Hydrogel Properties for Biomedical Application, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, **4**, 1228-1233, 2011.
22. Garrudo F.F., Chapman C.A., Hoffman P.R., Udangawa R.W., Silva J.C., Mikael P.E., and Rodrigues C.A.V., Polyaniline-Polycaprolactone Blended Nanofibers for Neural Cell Culture, *Eur. Polym. J.*, **117**, 28-37, 2019.
23. Li M., Guo Y., Wei Y., Mac-Diarmid A.G., Lelkes P.I., Electrospinning Polyaniline-Contained Gelatin Nanofibers for Tissue Engineering Applications, *Biomater. Sci.*, **27**, 2705-2715, 2006.
24. Fryczkowski R. and Kowalczyk T., Nanofibres from Polyaniline/Polyhydroxybutyrate Blends, *Synth. Met.*, **159**, 2266-2268, 2009.
25. Bertuoli P.T., Ordone J., Armelin E., Perez-Amodio S., Baldissera A.F., Ferreira C.A., Puiggali J., Engel E., Del-Valle L.J., and Aleman C., Electrospun Conducting and Biocompatible Uniaxial and Core-Shell Fibers Having Poly(lactic acid), Poly(ethylene glycol), and Polyaniline for Cardiac Tissue Engineering, *ACS Omega*, **4**, 3660-3672, 2019.
26. Farzi M., Saffari M.M., Emam-Djomeh Z., and Mohammadifar M.A., Effect of Ultrasonic Treatment on the Rheological Properties and Particle size of Gum Tragacanth Dispersions from Different species, *Int. J. Food Sci. Technol.*, **46**, 849-854, 2011.
27. Sharma K., Kaith B.S., Kumar V., Kumar V., Som S., Kalia S., and Swartb H.C., Synthesis and Properties of Poly(acrylamide-aniline)-grafted Gum Ghatti Based Nanospikes, *RSC Adv.*, **3**, 25830-25839, 2013.
28. Eskandani M., Derakhshankhah H., Jahanban-Esfahlan R., and Jaymand M., Folate-Conjugated pH-and Redox-Responsive Magnetic Hydrogel Based on Tragacanth Gum for "Smart" Chemo/Hyperthermia Treatment of Cancerous Cells, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, **84**, 104449, 2023.
29. Derakhshankhah H., Eskandani M., Akbari Nakhjavani S., Tasoglu S., Vandghanooni S., and Jaymand M., Electro-Conductive Silica Nanoparticles-Incorporated Hydrogel Based on Alginate as a Biomimetic Scaffold for Bone Tissue Engineering Application, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, 2023 (In Press).
30. Sasidharan A., Panchakarla L.S., Sadanandan A.R., Ashokan A., Chandran P., Girish C.M., Menon D., Nair Sh.V., Rao C.N.R., and Koyakutty M., Hemocompatibility and Macrophage Response of Pristine and Functionalized Graphene, *Small.*, **8**, 1251-1263, 2012.
31. Hatamzadeh M., Najafi-Moghadam P., Beygi-Khosrowshahi Y., Massoumi B., and Jaymand M., Electrically Conductive Nanofibrous Scaffolds Based on Poly(ethylene glycol) s-Modified Polyaniline and Poly(ϵ -caprolactone) for Tissue Engineering Applications, *RSC Adv*, **6**, 105371-105386, 2016.
32. Massoumi B., Hatamzadeh M., Firouzi N., and Jaymand M., Electrically Conductive Nanofibrous Scaffold Composed of Poly(ethylene glycol)-Modified Polypyrrole and Poly(ϵ -caprolactone) for Tissue Engineering Applications, *Mater. Sci. Eng. C: Mater. Biol. Appl.*, **98**, 300-310, 2019.
33. Massoumi B., Davtalab S., Jaymand M., and Entezami A.A., AB₂ Y-Shaped Miktoarm Star Conductive Polyaniline-Modified Poly(ethylene glycol) and its Electrospun Nanofiber Blend with Poly(ϵ -caprolactone), *RSC Adv.*, **5**, 36715-36726, 2015.
34. Abedi A., Bakhshandeh B., Babaie A., Mohammadnejad J., Vahdat S., Mombeiny R., Moosavi S.R., Amini J., and Tayebi L., Concurrent Application of Conductive Biopolymeric Chitosan/ Polyvinyl Alcohol/ MWCNTs Nanofibers, Intracellular Signaling Manipulating Molecules and Electrical Stimulation for More Effective Cardiac Tissue Engineering, *Mater. Chem. Phys.*, **258**, 123842, 2021.
35. Wang W., Caetano G., Ambler W.S., Blaker J.J., Frade

- M.A., Mandal P., Diver C., and Bartolo P., Enhancing the Hydrophilicity and Cell Attachment of 3D Printed PCL/ Graphene Scaffolds for Bone Tissue Engineering, *J. Mater.*, **9**, 992, 2016.
36. Wei Z., Gu J., Ye Y., Fang M., Lang J., Yang D., and Pan Z., Biodegradable Poly(butylene succinate) Nanofibrous Membrane Treated with Oxygen Plasma for superhydrophilicity, *Surf. Coat. Technol.*, **381**, 125147, 2020.
37. Li D-q., Wang S-y., Meng Y-j., Guo Z-W., and Cheng M-M., Li J., Fabrication of Self-Healing Pectin/Chitosan Hybrid Hydrogel via Diels-Alder Reactions for Drug Delivery with High Swelling Property, pH-Responsiveness, and Cytocompatibility, *Carbohydr. Polym.*, **268**, 118244, 2021.
38. Switha D., Basha S.K., and Kumari V.S., In Vitro Cytocompatibility Evaluation of Nanostarch Reinforced Polyaniline-Polyvinyl Alcohol Conductive Bionanocomposites for Skin Tissue Engineering Application, *J. Umm Al-Qura Univ-Appl. Sci.*, **9**, 252-259, 2023.
39. Hatamzadeh M., Najafi-Moghadam P., Baradar-Khoshfetrat A., Jaymand M., and Massoumi B., Novel Nanofibrous Electrically Conductive Scaffolds Based on Poly(ethylene glycol)s-Modified Polythiophene and Poly(ϵ -caprolactone) for Tissue Engineering Applications, *Polym. J.*, **107**, 177-190, 2016.
40. Jahanban-Esfahlan R., Derakhshankhah H., Haghshenas B., Massoumi B., Abbasian M., and Jaymand M., A Bio-Inspired Magnetic Natural Hydrogel Containing Gelatin and Alginate as a Drug Delivery System for Cancer Chemotherapy, *Int. J. Biol. Macromol.*, **156**, 438-445, 2020.
41. Balaji A., Jaganathan S.K., Ismail A.F., and Rajasekar R., Fabrication and Hemocompatibility Assessment of Novel Polyurethane-based Bio-nanofibrous Dressing Loaded with Honey and Carica Papaya Extract for the Management of Burn Injuries, *Int. J. Nanomedi.*, **11**, 4339, 2016.
42. Kenawy E-RS., Kamoun E.A., Eldin M.S., Soliman H.M., EL-Moslamy SH., El-Fakharany E.M., and Shokr A-B.M., Electrospun PVA-Dextran Nanofibrous Scaffolds for Acceleration of Topical Wound Healing: Nanofiber Optimization, Characterization and In Vitro Assessment, *Arab. J. Sci. Eng.*, **48**, 205-222, 2023.