

## Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate on Polystyrene: Surface Characterization and Biocompatibility Assessment

Ali Jafari, Farhang Abbasi\*, Morteza Nasiri\*

Institute of Polymeric Materials and Faculty of Polymer Engineering, Sahand University of Technology, Postal Code: 5331817634, Tabriz, Iran

Received: 7 April 2025, accepted: 30 August 2025

### ABSTRACT

**Hypothesis:** Since naturally hydrophobic surface of polystyrene (PS) substrate is unsuitable for cell adhesion, grafting hydrophilic and biocompatible poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) chains through surface-initiated atom transfer radical polymerization (SI-ATRP) can alter the surface properties and enhance the cell behavior.

**Methods:** Hydroxyl functional groups were introduced through ultraviolet/ozone (UVO) irradiation at a distance of 3 cm. Next, an initiator layer was deposited on the surface, which facilitated PHEMA grafting via SI-ATRP, conducted across various polymerization durations (2, 4, and 6 h).

**Findings:** The intensity of carbonyl and hydroxyl peaks in ATR-FTIR spectra increased with increasing UVO irradiation time up to 15 min, where water contact angle (WCA) was about 12°. WCA of PHEMA-modified surface decreased from 56 to 48° as polymerization time increased from 2 to 6 h, and the peaks related to hydroxyl and carbonyl groups in ATR-FTIR analysis became stronger. A thin and relatively uniform PHEMA layer with a thickness of about 90-110 nm was observed for the PS substrate pretreated for 15 min and subsequently polymerized with HEMA for 6 h. NIH3T3 cell viability on PHEMA-modified surfaces at polymerization times of 2, 4 and 6 h, with a pretreatment for 15 min, was 300, 250 and 225%, respectively. The cell-covered area percentages of the pristine and the PHEMA-modified PS surfaces at polymerization times of 2 and 6 h were 27%, 75%, and 62%, respectively. Most cells on the virgin PS surface exhibited a flat morphology, while a smaller subset displayed a spindle-shaped form. On the modified surfaces, the cells had a spherical shape, differed from the natural shape of fibroblast cells. However, cell alignment on the modified surfaces was different from the natural alignment of cells on tissue culture PS dishes, being elongated and spindle-shaped.

#### Keywords:

polystyrene substrates,  
atom transfer radical  
polymerization,  
grafting,  
poly(2-hydroxyethyl  
methacrylate),  
cellular behavior

(\*)To whom correspondence should be addressed.

E-mail: f.abbasi@sut.ac.ir

#### Please cite this article using:

Jafari A., Abbasi F., Nasiri M., Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate on Polystyrene: Surface Characterization and Biocompatibility Assessment, Modified with Adipic Acid: Investigating Its Absorption Behavior In Different Saline and Acidic Environments, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **38**, 29-420, 2024.

# پلیمر شدن رادیکالی انتقال اتم آغاز شده از سطح ۲-هیدروکسی اتیل متاکریلات روی پلی استیرن: مشخصه یابی و ارزیابی زیست سازگاری سطح

علی جعفری، فرهنگ عباسی\*، مرتضی نصیری\*

تبریز، دانشگاه صنعتی سهند، پژوهشکده مواد پلیمری دانشکده مهندسی پلیمر، کد پستی ۵۱۳۳۵-۱۹۹۶

دریافت: ۱۴۰۳/۱/۱۸، پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۸

## چکیده

**فرضیه:** با توجه به مناسب نبودن سطح آبگریز پلی استیرن برای چسبندگی یاخته ای، ایجاد لایه ای از پلیمر آب دوست و زیست سازگار پلی (۲-هیدروکسی اتیل متاکریلات) (PHEMA) با روش پلیمر شدن رادیکالی انتقال اتم آغازی شده از سطح (SI-ATRP) می تواند سبب تغییر خواص سطحی و بهبود رفتار یاخته ای شود.

**روش ها:** گروه های عاملی هیدروکسیل روی سطح با پرتو دهی فرابنفش -آزون از یک فاصله ۳ cm تشکیل شدند. با ایجاد این گروه های عاملی و لایه نشانی آغازگر روی سطح، پیوندزنی PHEMA به روش SI-ATRP در زمان های مختلف پلیمر شدن (۲، ۴ و ۶ h) انجام شد.

**یافته ها:** نتایج نشان داد، شدت پیک های مربوط به گروه های کربونیل و هیدروکسیل در طیف ATR-FTIR سطح PS، با افزایش زمان پرتو دهی UVO تا ۱۵ min افزایش یافت، زاویه تماس آب (WCA) سطح در این زمان حدود ۱۲° بود. با افزایش زمان پلیمر شدن HEMA از ۲ h تا ۶ h، زاویه تماس آب از ۵۶° به ۴۸° کاهش یافت و شدت قله های مربوط به گروه های عاملی هیدروکسیل و کربونیل در طیف ATR-FTIR افزایش یافت. پس از عمل آوری زیرآیند پلی استیرنی به مدت ۱۵ min و در پی آن، ۶ h پلیمر شدن HEMA، لایه نازک و نسبتاً یکنواخت PHEMA با ضخامت حدود ۹۰-۱۱۰ nm مشاهده شد. زنده مانگی یاخته های  $\text{NIH}_3\text{T}_3$  روی سطوح اصلاح شده با PHEMA در زمان های پلیمر شدن ۲، ۴ و ۶ h و با زمان پیش عمل آوری ۱۵ min به ترتیب ۳۰۰، ۲۵۰ و ۲۲۵٪ بود. درصد نواحی پوشیده با یاخته روی سطح پلی استیرن بکر و سطوح اصلاح شده با PHEMA در زمان های پلیمر شدن ۲ و ۶ h به ترتیب ۲۷، ۷۵ و ۶۲٪ بود. یاخته ها روی سطح پلی استیرن شکل شناسی صاف و تعداد کمی از آن ها شکل شناسی دوکی شکل نشان دادند، در حالی که روی سطوح اصلاح شده، یاخته ها شکل شناسی کروی داشتند که با شکل شناسی طبیعی یاخته های فیبروبلاست متفاوت بود. با وجود این، شکل شناسی یاخته ای در سطوح اصلاح شده با شکل شناسی طبیعی یاخته ها روی ظروف کشت بافت پلی استیرنی (TCPS)، شکل شناسی کشیده و دوکی شکل، متفاوت بود.

## واژه های کلیدی

زیرآیند پلی استیرنی،

پلیمر شدن رادیکالی انتقال اتم،

پیوندزنی،

پلی (۲-هیدروکسی اتیل

متاکریلات)،

رفتار یاخته ای

\* مسئول مکاتبات، پیام نگار:

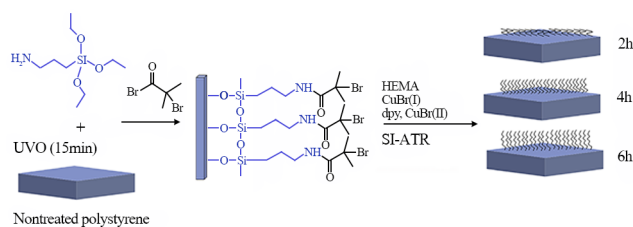
f.abbasi@sut.ac.ir

## مقدمه

پلیمرها بزرگ‌ترین دسته از زیست‌مواد هستند که به دلیل خواص منحصر به فردی چون گران‌روی، چکش‌خواری، قالب‌پذیری و استحکام مکانیکی، در بسیاری از کاربردها مطالعه شدند [۱]. پلیمرهای طبیعی می‌توانند از چسبندگی و عملکرد یاخته‌ای پشتیبانی کنند، اما جاداسازی و کنترل ویژگی‌های آن‌ها چالش‌برانگیز است [۲]. در حالی که خواص توده، مانند خواص مکانیکی و زیست‌تخریب‌پذیری، بیشتر به ساختار کلی ماده مرتبط است، زیست‌سازگاری پلیمرهای زیستی تا حد زیادی به ویژگی‌های سطحی آن‌ها وابسته است [۳]. در برخی کاربردهای پزشکی، پلیمرهای سنتزی جایگزین پلیمرهای طبیعی شده‌اند. پلی‌استیرن (PS) یک پلیمر (وینیلی) گرمانرم سنتزی است که در بسته‌بندی [۴]، عایق گرمایی [۵] و زمینه پزشکی کاربرد دارد. در زمینه زیستی، از آن به عنوان زیرآیند برای تولید ظروف کشت یاخته‌ای مختلف مانند فلاسک [۶]، ظروف نگهداری ریزاندامگان [۷،۸] و طراحی سامانه‌های تحویل دارو برای مطالعات برون‌تنی و درون‌تنی استفاده شده است [۹]. با وجود استفاده محدود پلی‌استیرن در کاربردهای بالینی، استفاده از آن به عنوان محیط حمایتی در سامانه‌های کبد مصنوعی، رهایش دارو، زخم‌پوش‌ها و کاشتنه‌ها را نمی‌توان نادیده گرفت [۱۰]. خواص مکانیکی و زیست‌سازگاری پلی‌استیرن آن را به ماده زیستی ارزشمند تبدیل کرده است که برای کشت یاخته‌ای حیوانی و انسانی مناسب است [۱۱]. شفافیت نوری و مقرون به صرفه بودن PS باعث شده تا جایگزین ظروف کشت شیشه‌ای شود، این زیرآیندها به عنوان ظروف کشت بافت دوبعدی پلی‌استیرنی (TCPS) شناخته می‌شوند [۱۲]. ظروف TCPS معمولاً برای تقویت چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای استفاده می‌شوند. با وجود این، اثر ساختار شیمیایی سطح بر کنترل فرایند چسبندگی یاخته‌ای به منظور توسعه سطوح زیست‌مواد با قابلیت استفاده بلندمدت و تعدیل رفتار یاخته‌ای به بینش عمیقی نیاز دارد. برهم‌کنش سطوح پلیمرها در محیط‌های زیستی به خواص سطحی آن‌ها بستگی دارد. ماهیت آب‌گریز (تمایل به دفع آب) باعث شده است که اکثر پلیمرها در محیط‌های زیستی رفتار خنثی نشان دهند. اصلاح سطح این پلیمرها برای دستیابی به کاربرد موفقیت‌آمیز در حوزه مهندسی بافت موضوعی ضروری است. چندین رویکردی برای آب‌دوست و یاخته‌دوست کردن این سطوح وجود دارد که آن‌ها را به برهم‌کنش مؤثر با محیط‌های زیستی قادر می‌سازد. سطوح PS بکر که به عنوان درجه باکتریولوژیک شناخته می‌شوند (این سطوح معمولاً برای کشت یاخته‌های خاص مانند باکتری‌ها مناسب هستند، زیرا باکتری‌ها به اتصال به زیرآیند برای تکثیر نیازی ندارند)، برای اتصال و رشد یاخته‌های حیوانی مناسب

نیستند [۱۳،۱۴]. چسبندگی به سطح برای رشد و تکثیر یاخته‌های پیش‌هسته‌ای (prokaryotic cells) ضروری است، در حالی که رشد یاخته‌های هوهسته‌ای (eukaryotic cells) چنین نیست [۱۵]. خواص سطح ماده در تعیین برهم‌کنش زیستی آن با موجودات زنده بسیار مهم است [۱۶]. ویژگی‌های سطحی مانند آب دوستی - آب‌گریزی، ساختار شیمیایی، زبری یا اصطکاک و بار یونی سطحی، اثر شایان توجهی بر چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای دارند [۱۷]. ترشوندگی در کاربردهای زیستی ارتباط تنگاتنگی با ویژگی‌های سطحی دارد [۱۸]. تغییر این خواص سطحی پلیمر آب‌گریز به زنجیرهای آب‌دوست در ساختار سطحی پلیمر، به ایجاد چسبندگی بین ماده‌های آب‌دوست منجر می‌شود. چسبندگی یاخته‌ای و جذب پروتئین‌ها به طور شایان توجهی تحت تأثیر مقدار ترشوندگی و ترکیب شیمیایی سطح زیرآیند قرار دارد [۱۹]. بنابراین، اصلاح سطح خنثی (دفع کننده آب) و کم‌انرژی PS برای بهبود چسبیدن یاخته‌ها به آن و برهم‌کنش آن با محیط زیستی ضروری است. این اصلاح برای افزایش چسبندگی یاخته‌ای و ایجاد چسبندگی بهتر بین سطح ماده و محیط‌زیستی بسیار مهم است، در حالی که خواص توده ماده دست‌نخورده باقی می‌ماند [۲۰]. با اصلاح سطح PS، پروتئین‌های موجود در سرم دارای مواد مغذی (ترکیبات ضروری برای رشد یاخته‌ای) می‌توانند به ماده زیستی متصل شوند. این فرایند اتصال یاخته‌ها به ماده زیستی را آسان می‌کند و از راه برهم‌کنش با پروتئین‌های ماتریس برون‌یاخته‌ای (ECM) و گیرنده‌های غشای یاخته‌ای مانند ایترگرین‌ها انجام می‌شود [۲۱].

راهکارهای گوناگونی چون عمل‌آوری محلولی، پرتودهی فرابنفش، عمل‌آوری پلاسما، پوشش‌های سطحی و فیلم‌های مصنوعی، پیوند کووالانسی و پلیمرشدن پیوندی ناشی از پلاسما برای اصلاح سطح وجود دارد که به طور گسترده در اصلاح مواد زیستی مانند PS و بهبود چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای استفاده شده‌اند [۲۲]. مطالعات نشان می‌دهند، پلیمرشدن پلاسما با اکسیژن و نیتروژن، گروه‌های عاملی قطبی مانند کربوکسیل و آمینو را بر سطح فلئوئورپلیمرها ایجاد می‌کند. این اصلاح سطحی، زیست‌سازگاری و عملکرد یاخته‌های استرومال مزانشیمی انسانی (hMSCs) را در چسبندگی و تکثیر افزایش می‌دهد [۲۳]. همچنین، اصلاح سطح پلی‌استیرن با لاکاز و ترکیبات فنولی، چسبندگی و تکثیر ملانوسیت‌ها و یاخته‌های NTERA-2 را بهبود بخشیده و زیست‌سازگاری آن را برای کاربردهای زیست‌پزشکی افزایش می‌دهد [۲۴]. افزون بر این، سامانه‌های کشت عاری از مواد حیوانی بر پایه نانوالیاف سلولوز می‌توانند جایگزین مناسبی برای روش‌های متداول کشت یاخته‌ای باشند [۲۵]. رویکرد دیگری سامانه هوشمند برای کشت و برداشت بدون آنزیم یاخته‌های



شکل ۱- طرح‌واره آماده‌سازی سطح پلی استیرن چسبنده یاخته‌ای با پیوندزنی برس‌های PHEMA با ساختار تعریف‌شده.

Fig. 1. Schematic of the preparation of cell-adhesive polystyrene surface via grafting of well-defined PHEMA brushes.

آغاز شده از سطح تهیه شدند. ترشوندگی، ترکیب شیمیایی، ضخامت لایه نازک PHEMA و شکل‌شناسی یاخته‌ای روی زیرآیندهای PS اصلاح‌شده به‌ترتیب با اندازه‌گیری زاویه تماس آب، طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه-بازتابش کلی تضعیف‌شده (ATR-FTIR) و میکروسکوپ الکترونی پویشی گسیل میدانی (FE-SEM) تعیین شد. سمیت یاخته‌ای روی زیرآیندهای PS اصلاح‌شده با PHEMA با آزمون MTT ارزیابی شد و اثر پیوندزنی بر مقدار پوشش یاخته‌ای روی سطوح اصلاح‌شده بررسی شد.

## تجربی

### مواد

زیرآیندهای کشت PS عمل‌آوری‌نشده، با قطر ۳۵ mm و ارتفاع ۱۰ mm، از شرکت Corning Life Sciences آمریکا خریداری شدند. مونومر ۲-هیدروکسی اتیل متاکریلات (HEMA)، ( $\leq 97\%$ ، ۳-آمینوپروپیل تری‌متوکسی سیلان APTMS، ( $\leq 98\%$ ، آلفا-بروموایزوبوتیریل برمید (BIBB)، ( $98\%$ ، مس برمید ( $98\%$ ، CuBr)، ( $98\%$ ، مس برمید ( $98\%$ ، CuBr<sub>2</sub>)، ۲،۲-بای‌پیریدین (Bipy)، ( $98\%$ ، تتراهیدروفوران (THF،  $99/7\%$ ) از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شدند. یاخته‌های فیروپلاست جنینی موش (NIH3T3) از بانک یاخته‌ای مؤسسه ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی ایران تهیه شد.

### دستگاه‌ها

طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه-بازتاب کلی تضعیف‌شده (ATR-FTIR) با دستگاه Bruker Tensor 27 برای سطوح انجام شد. زاویه تماس آب (WCA) با روش قطره ساکن (Sessile drop) و دستگاه سولار شریف اندازه‌گیری شد. برای بررسی شکل‌شناسی یاخته‌های NIH3T3 و ضخامت PHEMA پیوندخورده،

بنیادی مزانشیمی (MSCs) را معرفی می‌کند که بر پایه میکروکره‌های پلی استیرن اصلاح‌شده با پلی (N-ایزوپروپیل آکریل آمید) (PNIPAM) است [۲۶]. این فناوری به‌ویژه برای کاربردهای بالینی که به تعداد زیادی یاخته با کیفیت نیاز دارند، مناسب است. با وجود پیشرفت در بهبود چسبندگی یاخته‌ای، معمولاً ظروف کشت یاخته‌ای PS برای کشت‌های بلندمدت مناسب نیستند.

هدف کار قبلی ما [۲۷]، ایجاد پایداری شیمیایی بلندمدت با پیوندزنی پلیمر زیست‌سازگار پلی (۲-هیدروکسی اتیل متاکریلات) (PHEMA) روی صفحات کشت یاخته‌ای و رفع محدودیت‌های استفاده مکرر از آن‌ها بود. در واقع، با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در افزایش چسبندگی یاخته‌ای در انواع مختلف ظروف کشت بافت، مانند فلاسک‌ها و ظروف کشت چندچاهی، وقتی صحبت از تسهیل کشت‌های بادوام و بلندمدت و با حفظ فنوتیپ اولیه یاخته‌ای می‌شود، اغلب این روش‌ها دچار شکست می‌شوند. رویکرد کنترل فنوتیپ یاخته‌ای با استفاده از روش‌های پلیمر شدن رادیکالی کنترل‌شده (CRP) نسبت به روش‌های پلیمر شدن ناشی از UVO و پلاسما (اگرچه این روش‌ها به‌طور عمده روش‌های تمیزی هستند) محتمل‌تر است، زیرا تنظیم طول زنجیر در این روش می‌تواند از تغییرات ساختار پروتئین روی سطح جلوگیری کند و تغییر شکل‌شناسی یاخته‌ای رخ ندهد. پیوند پلیمری با روش‌های دیگر CRP مانند انتقال افزایشی-تجزیه‌ای برگشت‌پذیر (RAFT) و پلیمر شدن با واسطه نیتروکسیدی (NMP) به‌دست آمده است. ATRP شروع‌شده با سطح در دسترس‌تر از NMP و RAFT است، زیرا سنتز تیول‌ها و آغازگرهای سطحی مشتق‌شده با سیلان آسان‌تر از مشتق AIBN-سیلان یا مشتق نیتروکسید سیلان در NMP است [۲۸]. سنتز عوامل RAFT نسبتاً پیچیده است و نمی‌توان سمیت یاخته‌ای احتمالی ناشی از عوامل RAFT را نادیده گرفت. افزون بر این، پلیمر شدن پیوندی ناشی از پرتودهی (پرتو الکترون، پلاسما، پرتو فزاینش و غیره) اغلب به‌دلیل در دسترس بودن محدود گروه‌های عاملی موجود، ناهمگن است.

هدف اصلی ما در این مطالعه، ایجاد پلتفرم زیست‌سازگار با سطح شیمیایی پایدار است که قابلیت حفظ حیات یاخته‌ای در کشت‌های بلندمدت و نیز حفظ فنوتیپ اولیه یاخته‌ای را دارد. برای رسیدن به این هدف، ظروف کشت عمل‌آوری‌نشده تحت عمل‌آوری UVO قرار داده شد تا گروه‌های عاملی واکنش‌پذیر ایجاد شوند که پیوندزنی پلیمر زیست‌سازگار و آب‌دوست PHEMA را آسان می‌کند. روش ساده دومرحله‌ای برای لایه‌نشانی کووالانسی آغازگرهای ATRP روی بسترهای PS نشان داده شده است (شکل ۱). در این روش، زنجیرهای پلیمری PHEMA مقید روی سطح از واکنش ATRP

شدند. طرح‌واره روند اصلاح زیرآیندها با PHEMA در شکل ۱ نشان داده شده است. همچنین، جدول ۱ نیز خلاصه‌ای از شرایط پلیمرشدن برای آماده‌سازی سطح را نشان می‌دهد.

### نحوه آماده‌سازی نمونه برای میکروسکوپی الکترونی پویشی

قطعه‌ای از ظرف کشت پلی استیرن اصلاح‌شده با PHEMA با ابعاد حدود ۱×۱ cm درون نیتروژن مایع به مدت حدود ۳-۵ min غوطه‌ور شد. بلافاصله پس از خروج از نیتروژن مایع، نمونه تحت نیرو دچار شکست بدون له‌شدگی یا تغییر شکل شد. نمونه به دست آمده با دمش نیتروژن خشک شد. در نهایت، با دستگاه Sputter Coater لایه نازکی از طلا روی نمونه پوشش یافت و آزمون FE-SEM روی سطح و مقطع شکست آن انجام شد.

### کشت یاخته‌ای و آزمون MTT

یاخته‌های NIH<sub>3</sub>T3 در محیط کشت RPMI دارای ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و ۱٪ محلول آنتی‌بیوتیک کشت داده شدند. پیش از کشت یاخته‌ای، زیرآیندهای پلی استیرنی با اتانول ۷۰٪ به مدت ۴۰ min سترون شدند تا از تغییرات سطحی ناشی از نور UV جلوگیری شود. سپس، مطابق مرجع [۳۲]، پس از شست‌وشو با PBS، زیرآیندها درون ظرف کشت قرار گرفتند و یاخته‌ها با تراکم  $3 \times 10^5$  cell/cm<sup>2</sup> روی این نمونه‌ها کشت شدند. پس از ۴۸ h، یاخته‌ها تثبیت و فنوتیپ آن‌ها با SEM بررسی شد. برای ارزیابی زیست‌سازگاری، یاخته‌ها به مدت ۲۴ h کشت داده شدند و سپس با استفاده از آزمون ۳-۴،۵-دی‌متیل تیازول-۲-یل [۲-۵، ۲-دی‌فنیل تترازولیوم برومید (MTT)، زنده‌مانی

جدول ۱- خلاصه‌ای از نمونه‌های آماده‌شده از پلیمرشدن آغازشده از سطح پلی استیرن.

Table 1. Summary of samples prepared via polymerization initiated from the polystyrene surface.

| Sample code | UVO exposure time (min) | Polymerization time (h) |
|-------------|-------------------------|-------------------------|
| PS5         | 5                       | -                       |
| PS10        | 10                      | -                       |
| PS15        | 15                      | -                       |
| PS15-HEMA2  | 15                      | 2                       |
| PS15-HEMA4  | 15                      | 4                       |
| PS15-HEMA6  | 15                      | 6                       |

از میکروسکوپ FEG-SEM مدل Tescan, MIRA3 استفاده شد. یاخته‌ها در دمای ۳۷ °C و جو دارای ۵٪ CO<sub>2</sub> کشت داده شدند و زنده‌مانی یاخته‌ای با طیف‌نورسنج در طول موج ۵۷۰ nm بررسی شد.

### روش‌ها

#### خالص‌سازی اجزای سامانه واکنش ATRP

برای خالص‌سازی و حذف بازدارنده، مونومر HEMA از ستون آلومینا عبور داده شد [۲۹]. مس برمید (I) با استیک اسید در دمای ۹۰ °C به مدت ۲۴ h مخلوط شد، سپس با دی‌اتیل اتر و اتانول شسته و در پمپ خلأ خشک شد [۳۰]. حلال‌ها نیز با الک مولکولی در شرایط بازروانی خشک شدند. زیرآیندهای پلی استیرنی برش داده شده و به مدت ۵ min تا ۱۰ min با استفاده از فراصوت در آب یون‌زدوده شسته شدند.

#### سنتر آغازگر

در این روش، BIBB به محلول APTMS در THF خشک و دارای TEA در دمای ۰ °C اضافه شد. مخلوط به مدت ۲۴ h تحت هم‌زن مغناطیسی قرار گرفت. سپس رسوب صاف و حلال تبخیر شده و محصول نهایی، ۳- (۲-برموازیوبوتیرامیدو) پروپیل (تری متوکسی) سیلان (BAPTMS)، تحت خلأ خشک شد [۳۱].

### لایه‌نشانی آغازگر و پلیمرشدن شروع شده از سطح بر زیرآیندهای

#### پلی استیرنی

زیرآیندهای پلی استیرنی پس از مدت ۱۵ min عمل‌آوری UVO برای تشکیل لایه هیدروکسیل، در اتانول دارای آغازگر قرار گرفتند و به مدت ۴ h در نیتروژن نگهداری شدند. واکنش بین گروه‌های BAPTMS و هیدروکسیل انجام شد و آغازگر برای شروع واکنش پلیمرشدن رادیکالی انتقال اتم (ATRP) تثبیت شد. سپس، نمونه‌ها با اتانول و آب شسته شدند و با نام PS-Si-Br نام‌گذاری شدند. برای پیوندزنی زنجیرهای پلیمری به روش ATRP، مقدار ۰/۳۱ mmol از CuBr (کاتالیزگر)، ۰/۰۳ mmol از CuBr<sub>2</sub> و ۰/۸ mmol از Bipy (لیگاند) در یک ویال قرار گرفتند. در ویال دیگری، محلول پلیمرشدن شامل مونومر، متانول و آب با فرمول‌بندی ۴۰ mmol HEMA، ۶۲ mmol و ۱۴۰ mmol آب یون‌زدوده آماده شد. هر دو ویال با نیتروژن اکسیژن‌زدایی شد. سپس، محلول HEMA به ویال دارای کاتالیزگر اضافه شد و در دمای ۲۰ °C تحت هم‌زن مغناطیسی قرار گرفت تا کمپلکس فلزی تشکیل شود. پس از ۲، ۴ و ۶ h فرایند پلیمرشدن انجام شد و در نهایت نمونه‌ها با اتانول و آب یون‌زدوده شسته و خشک

چگالی پیوند پلیمرهای متصل شده از SI-ATRP است. مقدار پوشش سطح پس از واکنش تثبیت آغازگر روی زیرآیندهای دارای گروه‌های OH به زمان غوطه‌وری و غلظت آغازگر بستگی دارد [۳۶]. Lego و همکاران [۳۷] نشان دادند، دامنه پوشش سطح با آغازگر از ۲۰٪ تا ۸۷٪ متغیر است و این مقدار به‌طور سامانمند با افزایش غلظت آغازگر از ۰/۰۵ mmol/L به ۱۰ mmol/L افزایش می‌یابد. در این مطالعه، پوشش سطحی مولکول‌های آغازگر دارای انتهای عامل‌دار روی سطح PS، با استفاده از معادله Cassie-Baxter و معادلات اصلاح شده مرتبط با پوشش سطحی مولکول‌های کوچک به‌کمک زاویه تماس ایستا اندازه‌گیری شد. برای این بررسی، پوشش سطحی ترکیبی از آلکیل سیلان آلی و گروه‌های C-OH در نظر گرفته شد. دو مقدار  $f_A^{Surf}$  و  $f_B^{Surf}$  به‌ترتیب نشان‌دهنده مقدار پوشش سطحی آلکیل سیلان آلی و C-OH هستند. زاویه تماس تعادلی یک سطح شیمیایی ناهمگن ( $\theta_c$ ) را می‌توان براساس سهم هر یک از گروه‌های شیمیایی، با استفاده از معادله Cassie-Baxter و معادلات اصلاح شده مربوط تعیین کرد [۳۸]:

$$[1 + \cos(\theta_c)]^2 = f_1[1 + \cos(\theta_A)]^2 + f_2[1 + \cos(\theta_B)]^2 \quad (۱)$$

$$f_A + f_B = 1 \quad (۲)$$

$\theta_A$ ، زاویه تماس آب روی سطحی است که  $f_A = 1$  بوده (یعنی سطح کاملاً با مولکول‌های کوچک آب‌گریز آلکیل سیلان آلی پوشیده شده است) و مقدار  $\theta_A = 90^\circ$  در نظر گرفته شده است [۳۹، ۴۰].  $\theta_B$  زاویه تماس آب روی سطحی است که  $f_B = 1$  است (یعنی سطح کاملاً با گروه‌های آب‌دوست OH پوشیده شده است که در اثر عمل‌آوری UVO ایجاد شده‌اند). مقدار  $\theta_B = 12^\circ$  در نظر گرفته شده است. روند تغییر WCA روی زیرآیندهای PS با افزایش زمان واکنش اتصال آغازگر در شکل ۳ نشان داده شده است. اندازه‌گیری WCA برای پایش مقدار لایه‌نشانی آغازگر استفاده شده است (معادله (۱)). نتایج نشان می‌دهد، WCA برای سطح PS تحت عمل‌آوری UVO (به مدت ۱۵ min) حدود  $12^\circ$  است. با افزایش چگالی سطحی آغازگر، به‌دلیل ماهیت آب‌گریز سطح، WCA افزایش می‌یابد. بیشترین مقدار زاویه تماس به زمان غوطه‌وری بستگی دارد. در زمان‌های غوطه‌وری اولیه (۲ h)، سرعت واکنش اولیه بیشتر از زمان‌های طولانی‌تر (۴ h) است. مقدار پوشش سطحی با آغازگر در زمان‌های ۲ و ۴ h به‌ترتیب  $f_A > 52\%$  ( $\theta \approx 57^\circ$ ) و  $f_A > 66\%$  ( $\theta \approx 65^\circ$ ) است. حداکثر پوشش سطحی ۶۶٪ با غلظت ۱۰ mol/L آغازگر به‌دست آمد. WCA

یاخته‌ها بررسی شد. محلول MTT با استفاده از DMSO استخراج شده و مقدار جذب فورمازن در طول موج ۵۷۰ nm [۳۳] اندازه‌گیری شد. در نهایت، از معادله (۱) [۳۴]، زنده‌مانی یاخته محاسبه شد:

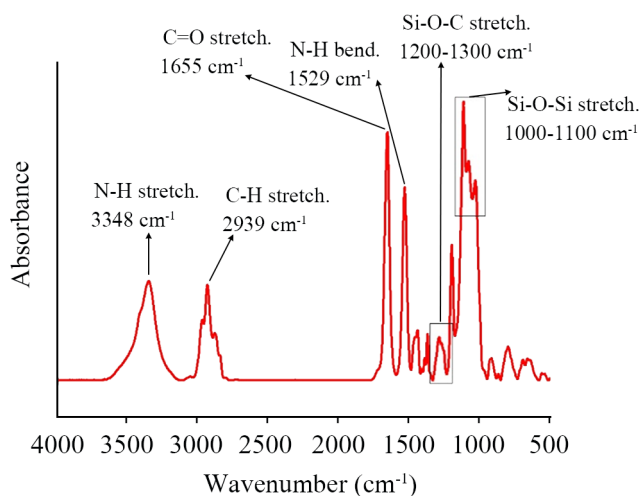
$$\text{Cell viability (\%)} = ((\text{mean optical density (OD) of sample}) / (\text{optical density (OD) of control})) \times 100 \quad (۱)$$

## نتایج و بحث

### بررسی آغازگر سنتز شده

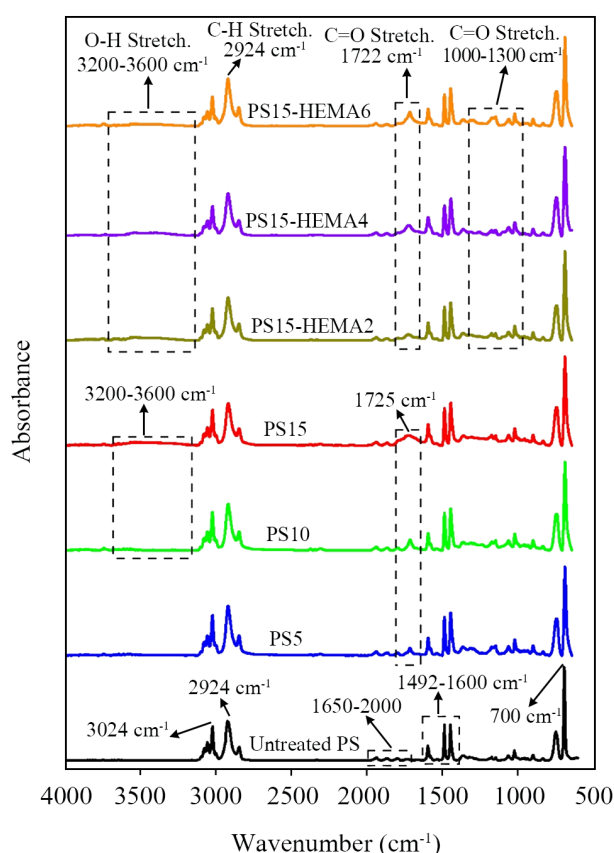
طیف ATR-FTIR نمونه آغازگر BAPTMS در شکل ۲ نشان داده شده است. قله‌ها نسبت به ارتعاش خمشی C-H خارج از صفحه حلقه‌های آروماتیک PS در  $696 \text{ cm}^{-1}$  نرمال‌سازی شدند. نوارهای جذبی در  $1529$  و  $3348 \text{ cm}^{-1}$  به‌ترتیب به ارتعاش‌های خمشی و کششی پیوند N-H مربوط هستند [۳۵] که وجود آمین نوع دوم را تأیید می‌کنند. نوار جذبی در  $2939 \text{ cm}^{-1}$  به ارتعاش‌های کششی C-H مربوط است. نوارهای جذبی ظاهر شده در  $1100-1000$ ،  $1300-1200$  و  $1655 \text{ cm}^{-1}$  نیز به‌ترتیب به ارتعاش‌های کششی پیوندهای Si-O-Si، Si-O-C و C=O (کربونیل موجود در گروه آمید) آغازگر مربوط هستند [۳۵].

ترکیب شیمیایی سطح زیرآیند پلی استیرنی پوشش‌یافته با آغازگر کنترل پوشش سطح با آغازگر تثبیت‌شده، پیشنهاد مهمی برای تنظیم



شکل ۲- طیف ATR-FTIR آغازگر سنتز شده.

Fig. 2. ATR-FTIR spectrum of the synthesized initiator.



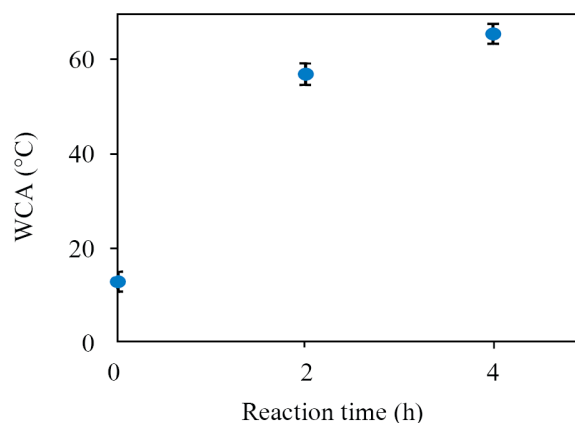
شکل ۴- طیف ATR-FTIR مربوط به زیرآیندهای PS عمل آوری نشده، عمل آوری شده با UVO در زمان‌های ۵، ۱۰، ۱۵ min و زیرآیندهای پیوندخورده با PHEMA در زمان‌های پلیمرشدن ۲، ۴ و ۶ h با زمان عمل آوری ثابت UVO به مدت ۱۵ min.

Fig. 4. ATR-FTIR spectra on untreated PS substrates, UVO-treated at times of 5, 10, 15 min, and PHEMA-grafted substrates at polymerization times of 2, 4, and 6 h with a constant UVO treatment time of 15 min.

در پی آن گروه‌های عاملی آب‌دوست بیشتری روی سطح ایجاد می‌شود که در نتایج ATR-FTIR قابل مشاهده است.

#### ضخامت لایه PHEMA تشکیل شده روی زیرآیندهای PS

برای تعیین ضخامت لایه PHEMA روی سطح PS، از روش شکست درون نیتروژن مایع و تصاویر FE-SEM استفاده شد. شکل ۵ مقطعی از نمونه‌ای را نشان می‌دهد که زیرآیند پلی استیرنی پس از ۱۵ min عمل آوری UVO و یک واکنش پلیمرشدن مدت ۶ h با PHEMA پیوندخورده است. تصویر FE-SEM پیوند موفقیت‌آمیز لایه نازک PHEMA را تأیید می‌کند. این تصویر نشان می‌دهد، با رشد زنجیرهای



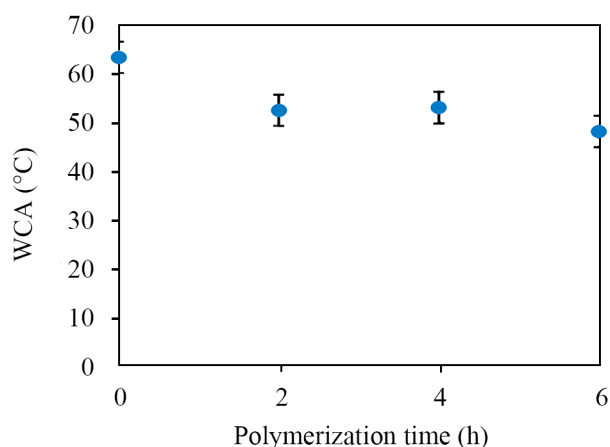
شکل ۳- اثر زمان غوطه‌وری زیرآیند پلی استیرنی عمل آوری شده با UVO به مدت ۱۵ min بر WCA سطح لایه‌نشانی شده با آغازگر.

Fig. 3. Effect of immersion time of UVO-treated polystyrene substrate for 15 min on WCA of the initiator-assembled surface.

افزون بر غلظت آغازگر و زمان غوطه‌وری، به پایداری گروه‌های هیدروکسیل روی زیرآیندها نیز بستگی دارد، زیرا زاویه تماس نتیجه محله‌ای اتصال فعال است.

#### بررسی زیرآیندهای پیوندخورده با PHEMA

نتایج تجزیه ATR-FTIR از سطح PS بکر، عمل آوری شده و پیوندخورده با PHEMA (PS-g-PHEMA) در شکل ۴ نشان داده شده است. نوارهای جذبی مشخصه PS بکر در  $700\text{ cm}^{-1}$  به ارتعاش خمشی خارج از صفحه پیوندهای C-H در حلقه تک‌استخلافی PS مربوط است. نوارهای دیگر در  $1600-1492\text{ cm}^{-1}$ ،  $2000-1650\text{ cm}^{-1}$ ،  $2924$  و  $3024\text{ cm}^{-1}$ ، به ترتیب نشان‌دهنده ارتعاش‌های کششی پیوندهای C=C حلقه آروماتیک، ارتعاش‌های کششی حلقه بنزن تک‌استخلافی، ارتعاش‌های کششی نامتقارن C-H گروه‌های  $\text{CH}_2$  و ارتعاش کششی C-H حلقه آروماتیک هستند [۴۱]. نوارهای جذبی مشخصه PS عمل آوری شده در  $1725$  و  $3600-3200\text{ cm}^{-1}$  به ارتعاش‌های کششی C=O و O-H مربوط می‌شوند [۴۱]. با افزایش زمان عمل آوری UVO، گروه‌های عاملی آب‌دوست مانند هیدروکسیل و کربونیل روی سطح ایجاد می‌شوند که باعث افزایش آب‌دوستی سطح می‌شود. نوارهای جذبی مشخصه PS پیوندخورده با PHEMA در  $1300-1000\text{ cm}^{-1}$ ،  $1722$ ،  $2924$  و  $3600-3200\text{ cm}^{-1}$  به ارتعاش‌های کششی C-O، گروه کربونیل C=O (مربوط به واحدهای تکراری PHEMA) و ارتعاش‌های کششی C-H و O-H اشاره دارند [۴۲]. با افزایش زمان پلیمرشدن، چگالی زنجیرهای پیوندخورده روی سطح افزایش یافته و

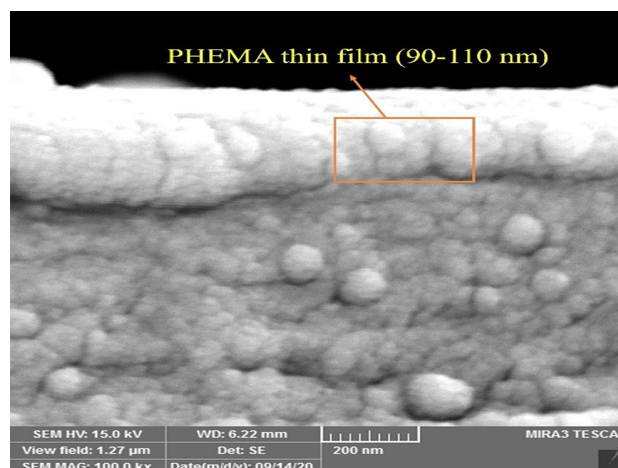


شکل ۶- WCA سطح PS پس از پیوند PHEMA به روش ATRP در زمان‌های مختلف پلیمر شدن ۲، ۴ و ۶ h (زمان پلیمر شدن ۰ بیانگر زیرآیند پلی استیرنی لایه‌نشانی شده با آغازگر است).

Fig. 6. Water contact angle on PS surface after PHEMA grafting by ATRP at polymerization times of 2, 4, and 6 h. (polymerization time of 0 indicates initiator deposited polystyrene substrate).

زیرآیندهای اصلاح شده با PHEMA باعث افزایش WCA روی این سطوح می‌شود. روند افزایش WCA در ۷ روز اول سریع‌تر است، اما تغییرات WCA پس از ۱۴ روز نسبت به ۷ روز کمتر است. به نظر می‌رسد، سطح زیرآیند پس از ۱۴ روز به تعادل ترمودینامیکی نزدیک می‌شود. زیرآیندهای PS پیوندخورده با PHEMA انرژی سطحی خود را افزایش می‌دهند، زیرا PHEMA دارای گروه‌های عاملی آب‌دوست مانند هیدروکسیل و کربونیل است. هنگامی که این سطوح با انرژی سطحی زیاد با محیطی با انرژی سطحی کم تماس پیدا می‌کنند، انرژی سطحی سطح مشترک کاهش می‌یابد تا تعادل ترمودینامیکی برقرار شود [۴۵]. این کاهش انرژی سطحی از بازآرایی زنجیرهای آب‌دوست PHEMA به داخل توده PS در محیط هوا رخ می‌دهد [۴۶] و باعث افزایش جزئی WCA برای رسیدن به تعادل ترمودینامیکی می‌شود.

**ارزیابی رفتار یاخته‌ای زیرآیندهای PS بکر و اصلاح شده با PHEMA**  
چسبندگی یاخته‌ای به ترشوندگی سطح، گروه‌های عاملی سطح، نوع و چگالی آن‌ها بستگی دارد [۴۷]. اصلاح سطح PS با گروه‌های آب‌دوست مانند کربونیل و آمین باعث جذب پروتئین‌های ECM می‌شود. این پروتئین‌ها معمولاً با گیرنده‌های غشای یاخته‌ای برهمکنش ویژه‌ای دارند و چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای را افزایش می‌دهند [۴۸-۵۰]. اثربخشی این پروتئین‌های چسبنده در بهبود



شکل ۵- تصویر FE-SEM از سطح مقطع شکست زیرآیند PS-g-PHEMA. Fig. 5. FE-SEM image taken from the cross-section of a cryo-fractured PS-g-PHEMA substrate.

PHEMA، لایه نازک و نسبتاً یکنواخت با ضخامت حدود ۹۰-۱۱۰ nm تشکیل شده است. ضخامت این لایه در رفتارهای یاخته‌ای، از جمله چسبندگی یاخته به زیرآیند، اثر زیادی دارد [۴۳، ۴۴].

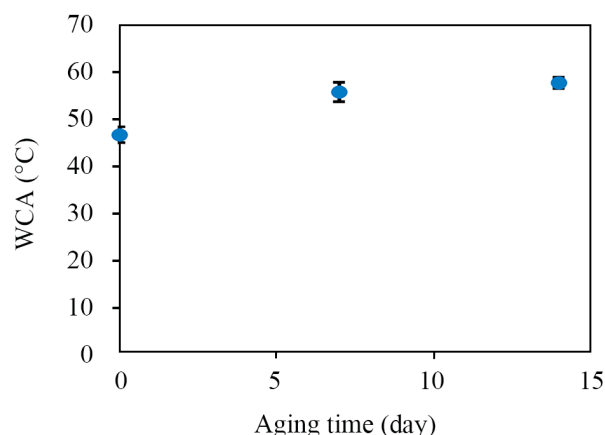
### آب‌دوستی زیرآیندهای اصلاح شده با PHEMA

تغییر WCA سطح زیرآیندهای پلی استیرنی اصلاح شده ناشی از عمل‌آوری UVO به مدت ۱۵ min و سپس پلیمر شدن HEMA در زمان‌های پلیمر شدن ۲، ۴ و ۶ h در شکل ۶ نشان داده شده است. عمل‌آوری UVO باعث ایجاد موقعیت‌های فعال برای لایه‌نشانی آغازگر روی سطح زیرآیند می‌شود تا آغازگر به عنوان محل شروع پلیمر شدن عمل کند. با افزایش زمان پلیمر شدن از ۲ h به ۶ h، مقادیر WCA به طور مداوم کاهش یافت. در زمان پلیمر شدن صفر، WCA روی زیرآیندهای پلی استیرنی حدود ۶۳° بود که به لایه آغازگر تثبیت شده مربوط است. با شروع پلیمر شدن HEMA، WCA از ۶۳° به ۵۵° (پس از مدت ۲ h) کاهش یافت و با افزایش زمان پلیمر شدن، روند کاهش زاویه تماس ادامه پیدا کرد. این تغییر به دلیل افزایش ضخامت زنجیرهای PHEMA روی سطح است. افزایش زمان پلیمر شدن موجب افزایش چگالی پیوند زنجیرهای PHEMA و ایجاد گروه‌های عاملی آب‌دوست مانند هیدروکسیل و کربونیل در ساختار آن‌ها شد که باعث افزایش آب‌دوستی سطح و کاهش زاویه تماس شد.

### اثر زمان پیرش بر زیرآیندهای اصلاح شده با PHEMA

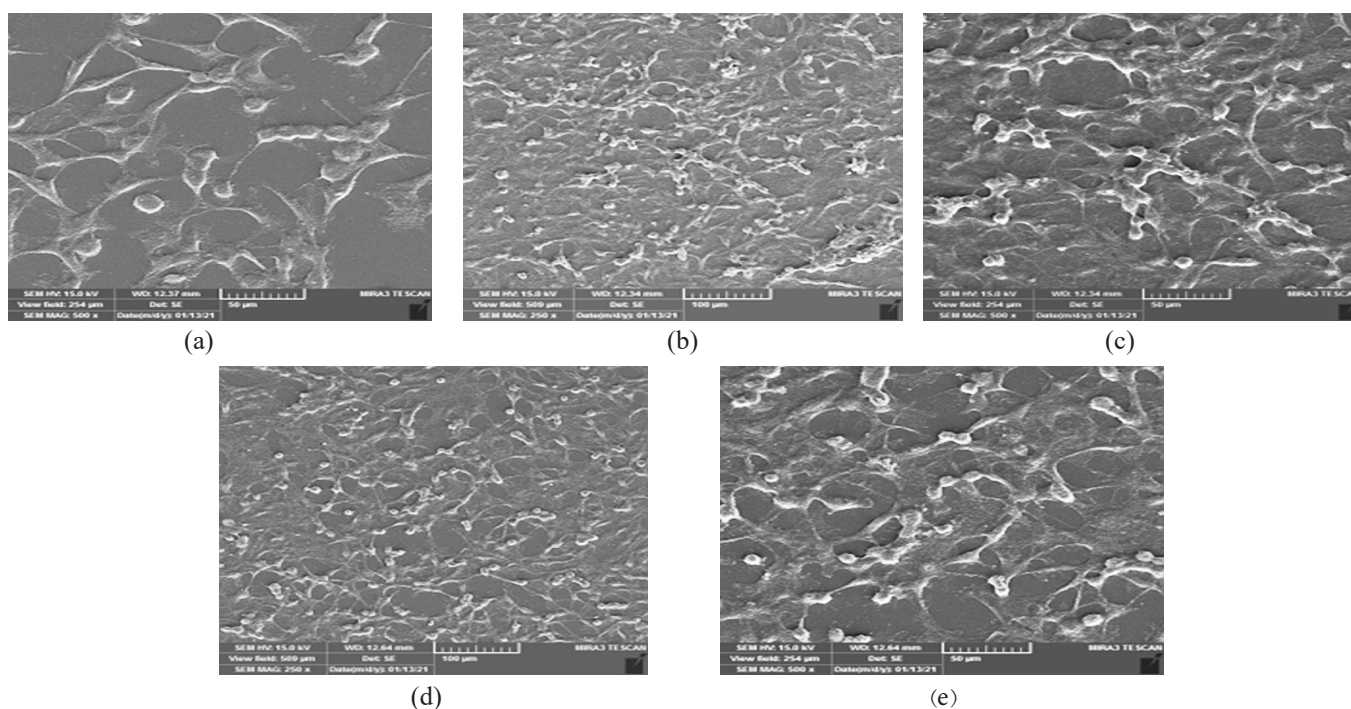
اثر زمان نگهداری زیرآیندهای PS پیوندخورده با PHEMA در محیط هوا در شکل ۷ نشان داده شده است. مطابق شکل، نگهداری

کم، اصلاح سطح زیست‌مواد برای ایجاد سطحی مناسب برای ایجاد پیوند یاخته-زیست‌ماده ضروری است. پژوهش‌ها نشان می‌دهند، اصلاح سطوح آب‌گریز به سطوح با ترشوندگی متوسط برای بهبود چسبندگی یاخته‌ای، به‌ویژه در کشت یاخته‌ای، ضروری است و سطوح ابرآب‌گریز یا ابرآب‌دوست برای کشت یاخته‌ها مناسب نیستند [۵۲]. PHEMA پلیمر ضد رسوب و آب‌دوست است [۵۳]. با وجود این، کنترل دقیق طول زنجیرهای پلیمری می‌تواند جذب پروتئین، چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای را تنظیم کند [۵۴]. مطالعات آزمایشگاهی روی فیبروبلاست‌های انسانی نشان می‌دهد، اصلاح سطح با پلیمرهای آب‌دوست، زیست‌سازگاری ماده را در معرض خطر قرار نمی‌دهد [۵۵]. بنابراین انتظار می‌رود، پیوند PHEMA روی سطح PS بکر، جذب پروتئین و در نتیجه چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای را تعدیل کند. شکل ۸ نشان می‌دهد، در برخی از نواحی سطح PS بکر جذب پروتئین رخ داده است و در بیشتر نواحی سطح، عدم چسبندگی یاخته‌ای ناشی از عدم جذب پروتئین مشاهده می‌شود. افزون بر این، در بخش‌هایی از سطح که چسبندگی یاخته‌ای مشاهده می‌شود، بدون ترشح ماتریس برون‌یاخته‌ای است. بنابراین، چنین موضوع نمی‌تواند به

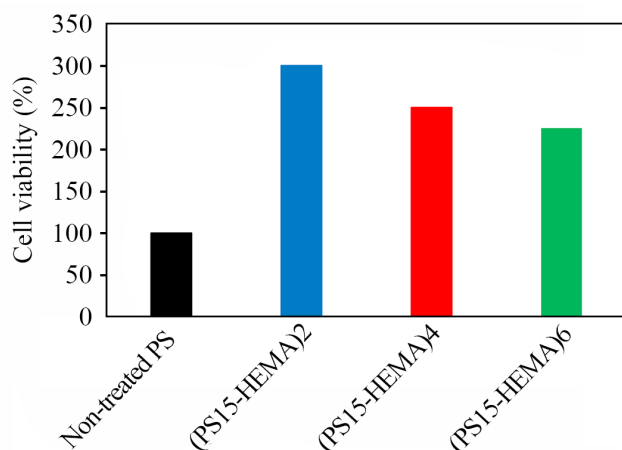


شکل ۷- اثر زمان نگهداری در ترشوندگی زیرلایه‌های پیوندخورده با PHEMA در زمان پلیمر شدن ۶ h و زمان پیش‌عمل‌آوری ۱۵ min. Fig. 7. Effect of storage time on the wettability of PHEMA-grafted substrates with a polymerization time of 6 h and a pretreatment time of 15 min.

چسبندگی یاخته‌ای به‌شدت به گروه‌های عاملی موجود در سطح بستگی دارد [۵۱]. برای پلیمرهای با سطوح آب‌گریز و انرژی سطحی



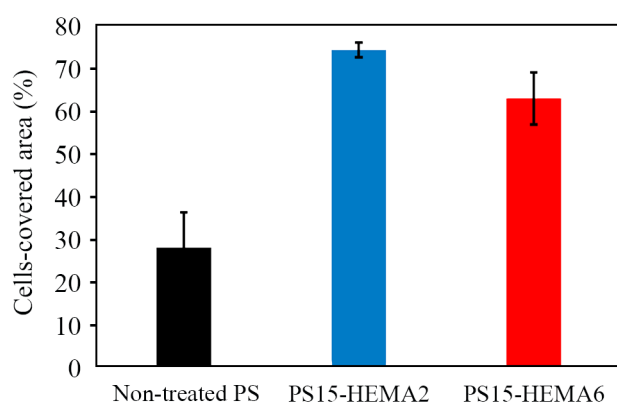
شکل ۸- تصاویر SEM مربوط به رفتار یاخته‌ای NIH3T3 روی سطوح مختلف: سطح PS عمل‌آوری‌نشده (a) و PS پیوندخورده با PHEMA به روش ATRP آغاز شده از سطح با زمان پلیمر شدن ۲ h (b و c، با دو بزرگنمایی مختلف) و زمان پلیمر شدن ۶ h (d و e، با دو بزرگنمایی مختلف). Fig. 8. SEM images showing NIH3T3 cell behavior on different PS surfaces: untreated PS surfaces (a) and PHEMA-grafted PS surfaces by surface-initiated ATRP with polymerization time of 2 h (b and c with different magnifications) and polymerization time of 6 h (d and e with different magnifications).



شکل ۹- درصد زنده‌مانی یاخته‌ای روی ظروف پتری بکر (با قطر ۳/۵ cm) و اصلاح‌شده با PHEMA در زمان‌های پلیمر شدن ۲، ۴ و ۶ h و زمان پیش‌عمل‌آوری ۱۵ min.

Fig. 9. Percentage of cell viability on pristine Petri dishes (3.5 cm diameter) and modified with PHEMA at polymerization times of 2, 4, and 6 h, pretreatment time = 15 min.

یاخته‌ای را افزایش داده است. سطح با زمان پلیمر شدن ۲ h (۷۴٪) پوشش یاخته‌ای بیشتری نسبت به سطح با زمان پلیمر شدن ۶ h



شکل ۱۰- پوشش یاخته‌ای روی سطح PS عمل‌آوری نشده و سطوح PS-g-PHEMA در زمان‌های پلیمر شدن ۲، ۴ و ۶ h. زمان پیش‌عمل‌آوری ۱۵ min. درصد سطح پوشیده با یاخته با محاسبه سطح (۱×۱ cm) پوشش‌یافته با یاخته‌ها در یک زیرآیند PS به‌دست آمد.

Fig. 10. Cell coverage on untreated PS surface and PS-g-PHEMA surfaces at polymerization times of 2, 4, and 6 h. Pretreatment time = 15 min. The percentage of cell-covered area was obtained by calculating the area (1 cm × 1 cm) covered by cells on a PS substrate.

عملکردهای یاخته‌ای مانند چسبندگی یاخته‌ای، مهاجرت یاخته‌ای و تکثیر یاخته‌ای کمک کند. اصلاح سطح PS با یک پلیمر آب‌دوست و زیست‌سازگار باعث جذب ماتریس برون‌یاخته‌ای و بهبود چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای نسبت به سطح شاهد شده است. زیرا روی سطوح اصلاح‌شده افزون بر جذب ماتریس برون‌یاخته‌ای و چسبندگی یاخته‌ای، ترشح ماتریس برون‌یاخته‌ای، یاخته‌های چسبیده نیز مشاهده می‌شود که این پدیده از چسبندگی شدید یاخته-یاخته روی سطوح اصلاح‌شده منجر شده است و در برخی از نواحی سطح اصلاح‌شده، تجمع یاخته‌ای نیز مشاهده می‌شود. بیشتر یاخته‌ها روی سطح شکل‌شناسی صافی دارند و تعداد کمتری از آن‌ها شکل‌شناسی دوکی‌شکل دارند، در حالی که روی سطوح اصلاح‌شده، یاخته‌ها شکل‌شناسی کروی دارند که با شکل‌شناسی طبیعی یاخته‌های فیبروبلاست متفاوت است. این تغییرات ممکن است، ناشی از تغییرات در ساختار پروتئین‌ها روی زنجیرهای پلیمری پیوندخورده باشد [۵۶، ۵۷]. همچنین، چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای روی سطوح اصلاح‌شده بیشتر است. با وجود این، چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای روی سطوح اصلاح‌شده با PHEMA در زمان پلیمر شدن ۲ h نسبت به سطوح اصلاح‌شده با PHEMA در زمان پلیمر شدن ۶ h بیشتر است. زیرا روی سطوح اصلاح‌شده با PHEMA در زمان پلیمر شدن ۶ h نواحی خالی از یاخته مشاهده می‌شود. افزایش زمان پلیمر شدن می‌تواند چگالی پیوندی PHEMA روی سطح پلی استیرن را افزایش دهد. بنابراین افزایش طول زنجیر پلیمری جذب پروتئین موجود در محیط کشت سرم را مختل می‌کند یا ساختار پروتئین را تغییر می‌دهد و اثر خود را در رفتار یاخته‌ای سطحی آشکار می‌سازد.

زنده‌مانی یاخته‌ای نیز در ظروف پتری بکر و اصلاح‌شده بررسی شد (شکل ۹). با در نظر گرفتن زنده‌مانی یاخته‌ای ۱۰۰٪ برای سطح PS، زنده‌مانی ظروف پیوندخورده با PHEMA در زمان‌های ۲، ۴ و ۶ h به ترتیب ۳۰۰، ۲۵۰ و ۲۲۵٪ به‌دست آمد. این نتایج نشان می‌دهد، پیوند PHEMA زیست‌سازگاری سطح PS را بهبود داده است. همچنین، زمان پلیمر شدن مونومر HEMA روی زیرآیندها اثرگذار است و افزایش زمان پلیمر شدن باعث افزایش طول زنجیرهای پلیمری و اختلال در جذب پروتئین روی سطح می‌شود.

شکل ۱۰ تلاقی یاخته‌ای (cell confluency) (درصد نواحی پوشش‌یافته به وسیله یاخته‌های چسبیده) روی سطوح بکر PS و PS-g-PHEMA را نشان می‌دهد. طبق شکل ۱۰، تلاقی یاخته‌ای روی سطوح PS-g-PHEMA با زمان‌های پلیمر شدن مختلف نسبت به PS بکر افزایش یافته است. این نتایج نشان می‌دهد، پیوند PHEMA بر سطح PS، چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای را بهبود بخشیده و پوشش

(NIH3T3) روی سطوح اصلاح شده نشان داد، زنده ماننی یاخته‌ای روی سطوح اصلاح شده با PHEMA در زمان‌های پلیمرشدن ۲، ۴ و ۶ h به ترتیب ۳۰۰، ۲۵۰ و ۲۲۵٪ است، در حالی که این روند زنده ماننی یاخته‌ای روی سطوح اصلاح شده با افزایش زمان پلیمرشدن روند کاهشی دارد، اما در حالت کلی حاکی از بهبود زیست سازگاری یاخته‌ای روی سطوح اصلاح شده با PHEMA نسبت به سطح پلی استیرن بکر را دارد. افزون بر این چسبندگی و تکثیر یاخته‌ای روی سطوح اصلاح شده با PHEMA نسبت به سطح پلی استیرن بکر بهبود یافته است. درصد نواحی که روی سطح پلی استیرن بکر توسط یاخته‌ها پر شده حدود ۲۷٪ و در سطوح اصلاح شده با PHEMA در زمان‌های پلیمرشدن ۲ و ۶ h به ترتیب ۷۵ و ۶۲٪ بود. تصاویر میکروسکوپی نشان داد، یاخته‌ها روی سطح شاهد (سطح پلی استیرن بکر) شکل شناسی صافی دارند و تعداد کمی از آن‌ها شکل شناسی دوکی شکل دارند، در حالی که روی سطوح اصلاح شده، یاخته‌ها شکل شناسی کروی دارند که با شکل شناسی طبیعی یاخته‌های فیبروبلاست متفاوت بود. با وجود این، شکل شناسی یاخته‌ای در سطوح اصلاح شده با شکل شناسی طبیعی یاخته‌ها روی ظروف کشت بافت پلی استیرنی (TCPS) متفاوت بود، زیرا یاخته‌ها روی TCPS شکل کشیده و دوکی داشتند. این مطالعه نشان می‌دهد، کنترل فنوتیپ یاخته‌ای و کشت بلندمدت روی پلتفرم‌های زیست سازگار نیازمند درک عمیق تری از برهم کنش‌های یاخته-سطح است.

(۶۲٪) نشان داد. این یافته‌ها با نتایج آزمایش MTT مطابقت دارند که نشان‌دهنده زنده ماننی یاخته‌ای بیشتر در زمان پلیمرشدن ۲ h (۳۰۰٪) نسبت به زمان ۶ h (۲۲۵٪) است.

## نتیجه گیری

در این مطالعه، خواص سطحی، زیست سازگاری و رفتار یاخته‌ای روی ظروف کشت پلی استیرنی بکر و اصلاح شده با PHEMA ارزیابی شد. نتایج ATR-FTIR از ظروف کشت یاخته‌ای پلی استیرنی پیش عمل‌آوری شده در زمان‌های عمل‌آوری ۵ min تا ۱۵ min UVO نشان داد، زمان عمل‌آوری ۱۵ min به عنوان نقطه اشباع شدن سطح از گروه‌های هیدروکسیل است و WCA سطح زیرآیند در این زمان حدود ۱۲۰ است. میکروسکوپی زیرآیندهای پلی استیرنی اصلاح شده با PHEMA (زمان پلیمرشدن ۶ h) رشد زنجیره‌های PHEMA از سطح و تشکیل لایه نازک و نسبتاً یکنواخت با ضخامت حدود ۹۰-۱۱۰ nm را نشان داد. از طرفی، ارزیابی اثر پیرش پوشش‌های PHEMA روی زیرآیندهای پلی استیرنی نشان داد، WCA پس از ۱۴ روز ذخیره سازی سطوح اصلاح شده در محیط هوا به مقدار ثابت می‌رسد که حکایت از ثبات ترشوندگی سطوح اصلاح شده در محیط تماسی (هوا) است. نتایج MTT یاخته‌های فیبروبلاست جنینی موش

## مراجع

- Shirvan A.R., Nouri A., and Wen C., Structural Polymer Biomaterials, In *Structural Biomaterials*, Elsevier, 395-439, 2021.
- Ryan J.A., Evolution of Cell Culture Surfaces, *BioFiles*, **3**, 21, 2008.
- Jose G., Shalumon K., and Chen J.-P., Natural Polymers Based Hydrogels for Cell Culture Applications, *Curr. Med. Chem.*, **27**, 2734-2776, 2020.
- Pilevar Z., Bahrami A., Beikzadeh S., Hosseini H., and Jafari S.M., Migration of Styrene Monomer from Polystyrene Packaging Materials into Foods: Characterization and Safety Evaluation, *Trends Food Sci. Technol.*, **91**, 248-261, 2019.
- Agarwal S. and Gupta R.K., Plastics in Buildings and Construction, In *Applied Plastics Engineering Handbook*, Elsevier, 635-649, 2017.
- Zeiger A.S., Hinton B., and Van Vliet K.J., Why the Dish Makes a Difference: Quantitative Comparison of Polystyrene Culture Surfaces, *Acta Biomater.*, **9**, 7354-7361, 2013.
- Lim H., Park Y., Jang S., Park H., Cho Y.K., and Jung D., Enhanced Culturing of Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells on Surface Modified Polystyrene Petri Dishes Fabricated by Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition System, *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.*, **110**, 358-366, 2022.
- Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Korshunova I.O., Stukova G.I., and Krivoruchko A.V., Diverse Effects of a Biosurfactant from *Rhodococcus Ruber* IEGM 231 on the Adhesion of Resting and Growing Bacteria to Polystyrene, *Amb Express*, **6**, 1-12, 2016.
- Kulkarni S.A. and Feng S.S., Effects of Particle Size and Surface Modification on Cellular Uptake and Biodistribution of Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery, *Pharm. Res.*, **30**, 2512-2522, 2013.

10. Smirnov A.V., Atkin V.S., Gorbachev I.A., Grebennikov A.I., Sinev I.V., and Simakov V.V., Surface Modification of Polystyrene Thin Films by RF Plasma Treatment, *BioNanoSci*, **7**, 680-685, 2017.
11. Zajac M., Kotyńska J., Worobiczuk M., Breczek J., and Naumowicz M., The Effect of Submicron Polystyrene on the Electrokinetic Potential of Cell Membranes of Red Blood Cells and Platelets, *Membranes*, **12**, 366, 2022.
12. Lerman M.J., Lembong J., Muramoto S., Gillen G., and Fisher J.P., The Evolution of Polystyrene as a Cell Culture Material, *Tissue Eng. Part B: Rev.*, **24**, 359-372, 2018.
13. Tilkin R.G., Régibeau N., Lambert S.D., and Grandfils C., Correlation between Surface Properties of Polystyrene and Polylactide Materials and Fibroblast and Osteoblast Cell Line Behavior: A Critical Overview of the Literature, *Biomacromolecules*, **21**, 1995-2013, 2020.
14. Callen B.W., Ridge M.L., Lahooti S., Neumann A.W., and Sodhi R.N.S., Remote Plasma and Ultraviolet–Ozone Modification of Polystyrene, *J. Vac. Sci. Technol. A: Vacuum, Surfaces, and Films*, **13**, 2023-2029, 1995.
15. Yongabi D., Khorshid M., Gennaro A., Jookan S., Duwé S., Deschaume O., and Wagner P., QCM-D Study of Time-Resolved Cell Adhesion and Detachment: Effect of Surface Free Energy on Eukaryotes and Prokaryotes, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **12**, 18258-18272, 2020.
16. Yoshida S., Hagiwara K., Hasebe T., and Hotta A., Surface Modification of Polymers by Plasma Treatments for the Enhancement of Biocompatibility and Controlled Drug Release, *Surf. Coat. Technol.*, **233**, 99-107, 2013.
17. Mozetič M., Plasma-Stimulated Super-Hydrophilic Surface Finish of Polymers, *Polymers*, **12**, 2498, 2020. 3
18. Liu Y., Liu Y., Wu Y., and Zhou F., Tuning Surface Functions by Hydrophilic/Hydrophobic Polymer Brushes, *ACS nano*, **19**, 11576-11603, 2025.
19. Majhy B., Priyadarshini P., and Sen A.K., Effect of Surface Energy and Roughness on Cell Adhesion and Growth—Facile Surface Modification for Enhanced Cell Culture, *RSC Adv.*, **11**, 15467-15476, 2021.
20. Cai S., Wu C., Yang W., Liang W., Yu H., and Liu L., Recent Advance in Surface Modification for Regulating Cell Adhesion and Behaviors, *Nanotechnol. Rev.*, **9**, 971-989, 2020.
21. Hirata M., and Yamaoka T., Effect of Stem Cell Niche Elasticity/ECM Protein on the Self-Beating Cardiomyocyte Differentiation of Induced Pluripotent Stem (iPS) Cells at Different Stages, *Acta Biomater.*, **65**, 44-52, 2018.
22. Hu X., Wang T., Li F., and Mao X., Surface Modifications of Biomaterials in Different Applied Fields, *RSC adv.*, **13**, 20495-20511, 2023.
23. Ramachandran B., Sabbatier G., Bowden O.M., Campbell K., Fekete N., Girard-Lauriault P.L., and Hoesli C.A., Human Mesenchymal Stromal Cell Adhesion and Expansion on Fluoropolymer Surfaces Modified with Oxygen and Nitrogen-Rich Plasma Polymers, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **234**, 113740, 2024.
24. Li H., Wilhelm M., Baumbach C.M., Hacker M.C., Szardenings M., Rischka K., and Savković V., Laccase-Treated Polystyrene Surfaces with Caffeic Acid, Dopamine, and L-3, 4-Dihydroxyphenylalanine Substrates Facilitate the Proliferation of Melanocytes and Embryonal Carcinoma Cells NTERA-2, *Int. J. Mol. Sci.*, **25**, 5927, 2024.
25. Kai R., Hatakeyama M., Iwamoto S., and Kitaoka T., Primary Human Mesenchymal Stem Cell Culture under Xeno-Free Conditions Using Surface-Modified Cellulose Nanofiber Scaffolds, *Carbohydr. Polym.*, **343**, 122479, 2024.
26. Zhao Y., Cao Z., Zhang J., Tian J., and Cai H., Thermo-Responsive PNIPAM-grafted Polystyrene Microspheres for Mesenchymal Stem Cells Culture and Detachment, *Biomed. Mater.*, **19**, 065023, 2024.
27. Jafari A., Nasiri M., Abbasi F., and Ghorbani M., Surface Properties and Cell-Surface Interaction of Polystyrene-graft-Poly(2-hydroxyethyl methacrylate), *Prog. Org. Coat.*, **189**, 108278, 2024.
28. Zhou T., Zhu Y., Li X., Liu X., Yeung K.W., Wu S., Chu P.K., Surface Functionalization of Biomaterials by Radical Polymerization, *Prog. Mater. Sci.*, **83**, 191-235, 2016.
29. Beers K.L., Boo S., Gaynor S.G., and Matyjaszewski K., Atom Transfer Radical Polymerization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate, *Macromolecules*, **32**, 5772-5776, 1999.
30. Nguyen J.V., and Jones C.W., Design, Behavior, and Recycling of Silica-Supported CuBr–Bipyridine ATRP Catalysts, *Macromolecules*, **37**, 1190-1203, 2004.
31. Tugulu S., Arnold A., Sielaff I., Johnsson K., and Klok H.A., Protein-functionalized Polymer Brushes, *Biomacromolecules*, **6**, 1602-1607, 2005.
32. Al Shehadat S., Gorduysus M.O., Hamid S.S.A., Abdullah N.A., Samsudin A.R., and Ahmad A., Optimization of Scanning Electron Microscope Technique for Amniotic Membrane Investigation: A Preliminary Study, *Eur. J. Dent.*, **12**, 574-578, 2018.

33. Vihar B., Rožanc J., Krajnc B., Gradišnik L., Milojević M., Činč Ćurić L., and Maver U., Investigating the Viability of Epithelial Cells on Polymer Based Thin-Films, *Polymers*, **13**, 2311, 2021.
34. Ghaleh H., Jalili K., Maher B. M., Rahbarghazi R., Mehrjoo M., Bonakdar S., and Abbasi F., Biomimetic Antifouling PDMS Surface Developed via Well-Defined Polymer Brushes for Cardiovascular Applications, *Eur. Polym. J.*, **106**, 305-317, 2018.
35. Pavia D.L., Lampman G.M., Kriz, G.S., and Vyvyan J.R., Introduction to Spectroscopy, *Cengage India*, 5 th, 784, 2015.
36. Watson S., Nie M., Wang L., and Stokes K., Challenges and Developments of Self-Assembled Monolayers and Polymer Brushes as a Green Lubrication Solution for Tribological Applications, *RSC Adv.*, **5**, 89698-89730, 2015.
47. Lego B., Francois M., Skene W.G., Giasson S., Polymer Brush Covalently Attached to OH-Functionalized Mica Surface via Surface-Initiated ATRP: Control of Grafting Density and Polymer Chain Length, *Langmuir*, **25**, 5313-5321, 2009.
38. Jalili K., Abbasi F., and Milchev A., Surface Microdynamics Phase Transition and Internal Structure of High-Density, Ultrathin PHEMA-b-PNIPAM Diblock Copolymer Brushes on Silicone Rubber, *Macromolecules*, **46**, 5260-5278, 2013.
39. Liberelle B., Banquy X., and Giasson S., Stability of Silanols and Grafted Alkylsilane Monolayers on Plasma-Activated Mica Surfaces, *Langmuir*, **24**, 3280-3288, 2008.
40. Horr T.J., Ralston J., and Smart R.S.C., The Use of Contact Angle Measurements to Quantify the Adsorption Density and Thickness of Organic Molecules on Hydrophilic Surfaces, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, **97**, 183-196, 1995.
41. Pavia D.L., Lampman G.M., Kriz G.S., and Vyvyan J.R., *Introduction to Spectroscopy*. Belmont, USA, 13, 2001.
42. Yang X., Cui M., Zhou J., Zhang, L., Zhou H., Luo Z., and Hu H., Surface Fluorination Modification and Anti-biofouling Study of a pHEMA Hydrogel, *ACS Appl. Bio Mater.*, **4**, 523-532, 2020.
43. Tamura A., Kobayashi J., Yamato M., and Okano T., Thermally Responsive Microcarriers with Optimal Poly(N-isopropylacrylamide) Grafted Density for Facilitating Cell Adhesion/ Detachment in Suspension Culture, *Acta Biomater.*, **8**, 3904-3913, 2012.
44. Nagase K., Yamato M., Kanazawa H., and Okano T., Poly(N-isopropylacrylamide)-Based Thermoresponsive Surfaces Provide New Types of Biomedical Applications, *Biomaterials*, **153**, 27-48, 2018.
45. Chen Q., Zhang D., Somorjai G., and Bertozzi C.R., Probing the Surface Structural Rearrangements of Hydrogels by Sum-Frequency Generation Spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 1999.
46. Bacharouche J., Haidara H., Kunemann, P., Vallat, M. F., and Roucoules V., Singularities in Hydrophobic Recovery of Plasma Treated Polydimethylsiloxane Surfaces under Non-Contaminant Atmosphere, *Sens. Actuators A: Phys.*, 197, 25-29, 2013.
47. Arima Y. and Iwata H., Effect of Wettability and Surface Functional Groups on Protein Adsorption and Cell Adhesion Using Well-Defined Mixed Self-Assembled Monolayers. *Biomaterials*, **28**, 3074-3082, 2007.
48. Horbett T.A., The Role of Adsorbed Proteins in Animal Cell Adhesion, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **2**, 225-240, 1994.
49. Tamada Y. and Ikada Y., Cell Adhesion to Plasma-Treated Polymer Surfaces, *Polymer*, **34**, 2208-2212, 1993.
50. Skarlatos S.I., Rao R., and Kruth H.S., Accelerated Development of Human Monocyte-Macrophages Cultured on Plastek-C Tissue Culture Dishes, *J. Tissue Cult. Methods*, **14**, 113-117, 1992.
51. Hosoya K., Takahashi K., Oya K., Iwamori S., Simultaneous Process of Surface Modification and Sterilization for Polystyrene dish, *Vacuum*, **148**, 69-77, 2018.
52. Lim H., Park Y., Seo Y., Park H., Cho Y.K., and Jung D., Surface Modification of Polystyrene Petri Dishes by Plasma Polymerized 4,7,10-Trioxa-1,13-Tridecanediamine for Enhanced Culturing and Migration of Bovine Aortic Endothelial Cells, *Biofouling*, **36**, 816-824, 2020.
53. Yin J., Fabrication of a Modified Polyethersulfone Membrane with Anti-fouling and Self-Cleaning Properties from SiO<sub>2</sub>-g-PHEMA NPs for Application in Oil/Water Separation, *Polymers*, **14**, 21 69, 2022.
54. Wang S., Zan F., Ke, Y., Wu, G., Cells May Feel a Hard Substrate Even on a Grafted Layer of Soft Hydrogel, *J. Mater. Chem. B*, **6**, 1734-1743, 2018.
55. Ferreira P., Carvalho A., Correia T.R., Antunes B.P., Correia I.J., and Alves P., Functionalization of Polydimethylsiloxane Membranes to be Used in the Production of Voice Prostheses, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, **14**, 055006, 2013.
56. Kowalczyńska H.M., Nowak-Wyrzykowska M., Dobkowski J., Kołos R., Kamiński J., Makowska-Cynka A., and Marciniak E., Adsorption Characteristics of Human Plasma Fibronectin in Relationship to Cell Adhesion, *J. Biomed. Mater. Res.*, **61**, 260-269, 2002.
57. Ishihara K., Mitera, K., Inoue, Y., and Fukazawa, K., Effects of Molecular Interactions at Various Polymer Brush Surfaces on Fibronectin Adsorption Induced Cell Adhesion. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **194**, 111205, 2020.

