Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 22, No. 1, Spring 2022, Pages 7-17

Fabrication of Nanofiber Scaffolds Using Polycaprolactan Containing Silymarin to Study Neural Cell Tissue Engineering

Najafi R[1], Asadi A*[1], Zahri S[1], Abdolmaleki A[2]

1. Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Department of Biophysics, Faculty of Advanced Technologies, University of Mohaghegh Ardabili, Namin, Iran.

**** Corresponding author.*** Tel: +984531505187, Fax: +984531505187, E-mail: Asad.asady@gmail.com

Received: Jul 19, 2022 Accepted: Sep 26, 2022

ABSTRACT

Background & objectives: Tissue engineering is a growing field to repair and replace the defective function of damaged tissue or organ, and today it is proposed as a new treatment to replace conventional transplant methods. For this purpose, polymeric biomaterials (scaffolds) and living cells are used. The purpose of this study is to fabricate polycaprolactan (PCL) nanoscaffold and load silymarin on the nanoscaffold to check the biocompatibility and proliferation ability of pc12 cells on it.

Methods: In order to prepare polycaprolactan nanoscaffold and load silymarin on it, 7% polycaprolactan solution (dissolved in acetic acid) was mixed with silymarin solution with a concentration of 0.9% (weight percent), and then the scaffold was prepared using electrospinning device. The morphology of the scaffold was evaluated by scanning electron microscope (SEM) and the chemical structure of the scaffold was evaluated by ATR-FTIR spectroscopy. Toxicity of the scaffold and cell survival of PC12 cells were investigated by MTT test and SEM microscope respectively.

Results: Examining the morphology of the scaffold and its chemical structure showed the appropriate porosity of the scaffold and the successful loading of silymarin on the PCL scaffold. The toxicity of the scaffold was investigated 24, 48 and 72 hours after the cultivation of PC12 cells, and the results showed an increase in cell viability and proper attachment of cells on the scaffold.

Conclusion: The results of this research showed that the loading of silymarin on polycaprolactan scaffold increases the proliferation and survival of PC12 cells. Therefore, this scaffold can be a suitable candidate for nerve tissue engineering.

Keywords: Polycaprolactan; Silymarin; Tissue Engineering; Electrospinning

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]

[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]

ساخت داربست نانوالیاف با استفاده از پلی کاپرولاکتون حاوی سیلیمارین جهت بررسی مهندسی بافت سلول‌های عصبی

رضا نجفی [۱]، اسداله اسدی [۱*]، صابر زهری [۱]، آرش عبدالملکی [۲]

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲. گروه بیوفیزیک، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه محقق اردبیلی، نمین، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۱۵۰۵۱۸۷ فاکس: ۰۴۵۳۱۵۰۵۱۸۷ پست الکترونیک: Asad.asady@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: مهندسی بافت حوزه رو به رشدی برای ترمیم و جایگزینی عملکرد معیوب بافت یا ارگان آسیب دیده است و امروزه به عنوان یک درمان نوین برای جایگزینی روش‌های مرسوم پیوند مطرح گردیده و به این منظور مواد زیستی پلیمری (داربست‌ها) و سلول‌های زنده را به کار می‌گیرد. هدف از این مطالعه ساخت نانوداربست پلی کاپرولاکتون (PCL) و بارگذاری سیلیمارین بر روی نانوداربست جهت بررسی زیست سازگاری و توان تکثیر سلول‌های PC12 بر روی آن می‌باشد.

روش کار: به منظور تهیه نانوداربست پلی کاپرولاکتون و بارگذاری سیلیمارین بر روی آن، محلول پلی کاپرولاکتون ۷ درصد (حل شده در استیک اسید) با محلول سیلیمارین با غلظت ۰/۹ درصد وزنی مخلوط شد، سپس توسط دستگاه الکتروریسی داربست تهیه شد. مورفولوژی داربست توسط میکروسکوب الکترونی روبشی (SEM) و ساختار شیمیایی داربست توسط طیف سنجی ATR-FTIR مورد ارزیابی قرار گرفت. زیست سازگاری داربست و بقای سلولی، سلول‌های PC12، با تست MTT و میکروسکوپ SEM بررسی شد.

یافته‌ها: بررسی مورفولوژی داربست و ساختار شیمیایی آن نشان دهنده تخلخل مناسب داربست و بارگذاری موفق سیلیمارین بر روی داربست PCL بود. زیست سازگاری داربست ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت بعد از کشت سلول‌های PC12 مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان دهنده افزایش زنده مانی سلول‌ها و اتصال مناسب سلول‌ها بر روی داربست بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بارگذاری سیلیمارین بر روی داربست پلی کاپرولاکتون باعث افزایش توان تکثیر و زنده مانی سلول های PC12 می‌شود. از این رو این داربست می تواند کاندید مناسبی برای مهندسی بافت عصب باشد.

واژه های کلیدی: پلی کاپرولاکتون، سیلیمارین، مهندسی بافت، الکتروریسی

دریافت: ۱۴۰۱/۴/۲۸ **پذیرش:** ۱۴۰۱/۷/۴

مقدمه

آسیب‌های سیستم عصبی محیطی شیوع بالایی دارند و معمولاً باعث ناتوانی عصبی طولانی‌مدت بدون درمان‌های مؤثر می‌گردد، اعمال جراحی ترمیم اعصاب تنها در درصد کمی از موارد مؤثر است. این صدمات اغلب منجر به از دست دادن جزئی یا کلی عملکردهای حسی، حرکتی و خودمختار به دلیل بازسازی ناکارآمد و آهسته آکسون می‌شود. از آنجایی که تاخیر در عصب‌دهی مجدد اندام هدف منجر به از دست دادن غیر قابل برگشت عملکرد

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]

[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]

اندام مورد نظر می‌شود، بازسازی آکسونی تسریع شده برای بهبود نتایج عملکردی پس از آسیب مورد نیاز است [۱،۲].

امروزه با استفاده از راهکارهای مهندسی بافت، داربست‌های طبیعی و مصنوعی گوناگونی طراحی شده است که از آن‌ها می‌توان برای پیوندهای عصبی استفاده کرد. خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی داربست باید مشابه ماده زمینه خارج سلولی بدن باشد تا از چسبندگی، رشد و تمایز سلول‌ها حمایت کند. یک داربست عصبی ایده‌آل باید زیست تخریب پذیری، زیست سازگاری و استحکام کششی مناسبی داشته باشد [۳،٤]. بدلیل اهمیت محیط زیست، امروزه پلی‌مرهای زیست تخریب پذیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. پلی کاپرولاکتون نمونه‌ای از این پلیمرها است که یک پلی‌مر خطی،آبگریز و یک پلی‌استر آلیفاتیک نیمه کریستالی است. پلی‌کاپرولاکتون در محیط به آرامی توسط میکروارگانیسم‌ها تجزیه می‌شود و به علت خواص فیزیکی عالی، در دسترس بودن و زیست سازگاری ذاتی، در مهندسی بافت کاربرد گسترده‌ای دارد. عدم وجود گروه‌های عاملی در سطح زنجیرهای پلیمری، یکی از معایب پلی کاپرولاکتون است که آن را به یک پلیمر هیدروفوب تبدیل کرده است. اخیرا استفاده از پلی کاپرولاکتون به عنوان یک ماده زیست تخریب پذیر مناسب در بسیاری از زمینه‌های مهندسی بافت مورد ارزیابی قرار گرفته است [۵]. آنتی اکسیدان‌ها از جمله موادی هستند، که بنظر می‌رسد با کاهش میزان ROS بتوانند از مرگ نورونی پیشگیری نمایند [۶]. فلاونوییدها ترکیبات متعددی را شامل می‌گردند که این ترکیبات اثرات زیستی متنوعی در بدن دارا می‌باشند. سیلیمارین (خار مریم)، فلاونوییدی است که دارای اثرات متعددی از جمله اثر ضد سرطانی و خواص آنتی اکسیدانی می‌باشد [۷]. سیلیمارین عصاره‌ای است که از چندین ایزومر تشکیل شده که مهمترین ماده موجود در این عصاره، سیلی بینین است و حدود ۸۰ درصد از این عصاره را شامل می‌شود [۸]. در مطالعه‌ای که اخیراً انجام شده، آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند سیلیمارین وکوارستین با ثبات بخشیدن به گانگلیوزیدهای غشایی، باعث تداوم غشاهای زیستی و افزایش توان حیاتی سلول‌ها شده‌اند. از طرفی عوامل کارسینوژن مانند آرسنیک، باعث ایجاد بدخیمی در سلول‌های پوست و القای استرس اکسیداتیو شده، که سلیمارین تا حدودی با هر دو پدیده مقابله می‌کند [۹]. سیلیمارین همچنین در سلول‌های عصبی PC12 باعث افزایش فاکتور رشد عصبی (NGF) و افزایش حیات سلولی در محیط کشت گردیده است. سیلیمارین در سلول‌های کشت شده هیپوکامپ موش صحرایی باعث کاهش آپوپتوز ناشی از مواد می‌شود [۱۰]. استفاده زیاد از اکسیژن، مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه، سطوح بالای یون آهن آزاد و دفاع آنتی اکسیدانی کم، همگی بافت مغز را در برابر آسیب‌های گونه‌های فعال اکسیژن آسیب پذیر می‌کنند [۱۱،۱۲]. در این راستا، پژوهش‌های پیشین نشان دادند که سیلیمارین با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز، به شدت اکسیداسیون پروتئین‌ها را در هیپوکامپ و قشر موش‌های مسن در مقایسه با موش‌های جوان کاهش داد. همچنین سیلیمارین می‌تواند به عنوان یک ترکیب انتخابی در برابر بیماری آلزایمر استفاده شود که در آن اکسیداسیون پروتئین از اهمیت بالایی برخوردار است [۱۳]. طبق مطالعات قبلی، سیلیمارین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سیستم عصبی مرکزی است که آن را قادر می‌سازد از طریق سد خونی مغزی وارد CNS شود [۱٤،۱۵]. هدف از این پژوهش تهیه نانوداربست پلی‌کاپرولاکتون بارگذاری شده توسط سیلیمارین و ارزیابی خصوصیات شیمیایی و مورفولوژی آن، همچنین بررسی زیست سازگاری و عدم سمیت آن به منظور کاربرد در مهندسی بافت عصبی می‌باشد. با توجه به اینکه سیلیمارین خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد استفاده از داربست

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]
[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]

پلی‌کاپرولاکتون/سیلیمارین می‌تواند مانع از نوروپاتی سلول‌های عصبی شود.

روش کار

این مطالعه آزمایشگاهی از نوع تجربی می‌باشد و در آزمایشگاه تحقیقاتی نانوزیست فناوری دانشگاه محقق اردبیلی از بهمن ماه سال ۱۴۰۰ تا تیر ماه سال ۱۴۰۱ انجام شد. این مطالعه دارای کد اخلاقی به شماره IR.UMA.REC.1401.022 می‌باشد.

تهیه نانوداربست

نانوداربست‌های مورد استفاده در این تحقیق با استفاده از روش الکتروریسی تهیه شدند. برای این منظور از دستگاه الکتروریسی فناوران نانو ساخت ایران استفاده شد که این دستگاه مجهز به یک جمع‌کننده دوار با ضخامت ۷۰ mm و پهنای ۵۰ mm می‌باشد. به طور خلاصه برای تهیه داربست در این مطالعه، محلول ۷ درصد پلی کاپرو لاکتان که در حلال حاوی اسید استیک و اسید فرمیک به صورت محلول در آمده بود با محلول سیلیمارین که دارای غلظت وزنی ۰/۹ درصد بود به نسبت (۲:۳) توسط همزن مغناطیسی به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط گردید و به‌منظور یکنواخت شدن محلول، سدیم دو دسیل سولفات (SDS) با غلظت ۱ درصد وزنی نسبت به حلال به محلول اضافه شد. سپس سوسپانسیون به‌مدت ۲۰ دقیقه با دستگاه اولتراسونیک هموژنایز گردید و برای ساخت نانو الیاف در دستگاه الکتروریسی قرار داده شد. نانوالیاف در بازه زمانی ۵ ساعت جمع‌آوری شدند که سرعت جمع‌آوری نمونه‌ها ۱ میلی‌لیتر در ساعت بود و با چرخش ۲۵۰rpm نمونه‌های نانوالیاف جمع‌آوری شد. فاصله سوزن تزریق تا داربست ۱۵cm و در ولتاژ 20 kV این فرآیند انجام شد.

بررسی ریخت شناسی و فراساختار نانوداربست

برای بررسی خواص سطحی و اندازه‌گیری قطر الیاف از میکروسکوپ الکترونی روبشی[1] استفاده شد. ابتدا نمونه‌ها با طلا پوشش‌دهی شده و تصویربرداری انجام شد.

بررسی ساختار شیمیایی نانوداربست ها

جهت تشخیص ساختار شیمیایی داربست تهیه شده، از طیف سنجی مادون قرمز انتقالی[2] استفاده شد. بدین‌منظور طیف FTIR در محدوده طول موج CM^{-1} ۴۰۰۰-۴۰۰ توسط دستگاه طیف سنج SHIMADZU ساخت کشور ژاپن تهیه شد.

آماده سازی و استریل نمودن داربست پیش از کشت سلول

پیش از کشت سلول، داربست‌های تهیه شده به قطعات ۱ سانتی‌متر مربع بریده شده و در داخل چاهک‌های پلیت ۲۴ خانه قرار داده شدند. داربست‌های داخل چاهک دوبار و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه توسط بافر PBS حاوی آنتی بیوتیک پنی‌سیلین/ استرپتوماسین شستشو داده شدند. سپس داربست‌ها زیر هود به مدت ۲۰ دقیقه زیر اشعه UV قرار گرفتند.

فیکس‌کردن سلول بر روی داربست برای بررسی میکروسکوپ SEM

نمونه‌ها توسط گلوتار آلدئید ۲/۵ درصد به مدت دو ساعت تثبیت شده و با درجات صعودی اتانول آبگیری شدند، پس از خشک‌کردن با پوشش طلا- پالادیوم پوشانده شده و آماده بررسی با میکروسکوپ SEM شدند.

کشت سلول

در این پژوهش سلول‌های PC12 از انیستیتو پاستور ایران تهیه گردیدند. سلول‌های تهیه شده در محیط کشت RPMI (محصول شرکت Gibco، انگلستان) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین اسب و ۵ درصد سرم

[1] SEM
[2] FTIR

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]
[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]

جنین گاوی (محصول شرکت Gibco، انگلستان) و ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر آنتی بیوتیک پنی سیلین-استرپتومایسین (محصول شرکت Gibco، انگلستان) کشت داده شد و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه و ۵ درصد CO_2 قرار داده شدند.

بررسی زیست سازگاری داربست

پس از استریل کردن داربست‌ها تعداد ۵۰۰۰۰ سلول PC12 بر روی هر یک از آن‌ها کشت داده شد. برای بررسی زنده‌مانی سلول‌ها بر روی داربست، آزمون (۳-(٤و٥-دی متیل تیازول)[1] در بازه‌های زمانی ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت پس از کشت سلول‌ها انجام شد. بطور خلاصه، در این روش، به ترتیب ابتدا ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT به هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه شد و به مدت چهار ساعت در دمای ۳۷ درجه در محیط تاریک انکوبه گردید. در گام بعدی سلول‌ها و کریستال‌های رنگی با اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر از دی متیل سولفوکساید[2] بصورت محلول درآمدند و میزان جذب نوری آنها در طول موج ۵۷۰ نانومتر در دستگاه Elisa خوانده شد و نتایج به‌کمک نرم افزار EXCEL به صورت نمودار تهیه گردید [۱۷,۱۶].

[1] MTT
[2] DMSO

بررسی اتصال سلول‌ها بر روی داربست

پس از استریل کردن داربست‌ها تعداد ۵۰۰۰۰ سلول PC12 بر روی هر یک از داربست‌ها در پلیت ٢٤ خانه در بازه‌های زمانی ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت کشت داده شد. سپس نمونه داربست حاوی سلول فیکس شدند و پس از طی مراحل خشک‌کردن نمونه‌ها به منظور بررسی اتصال سلول‌ها به داربست توسط میکروسکوپ الکترونی SEM تصویربرداری شدند.

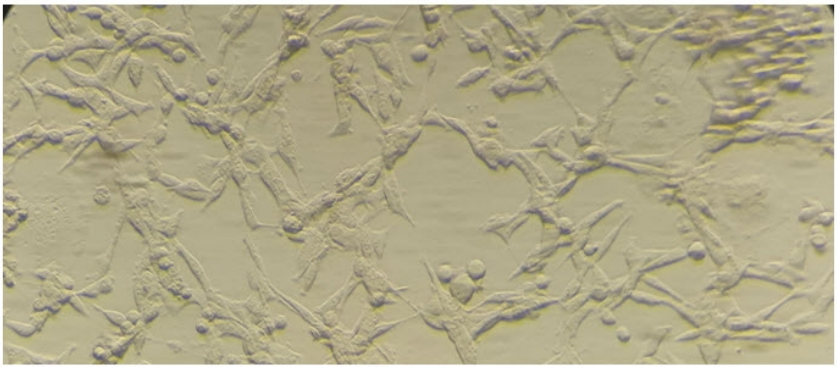
یافته‌ها

بررسی رشد و مورفولوژی سلول PC12

بررسی سلول‌های کشت شده توسط میکروسکوپ فاز معکوس در پاساژ سوم نشان داد که سلول‌های کشت‌شده در محیط RPMI رشد کافی داشته و از نظرمورفولوژی دوکی شکل بودند (شکل ۱).

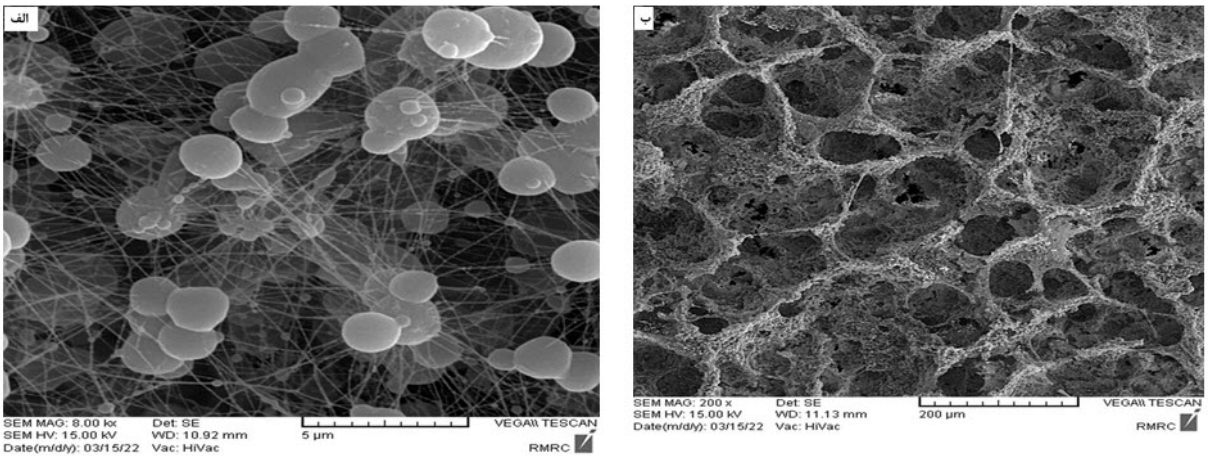
بررسی ریخت شناسی و فراساختار نانو داربست

نتایج حاصل از فراساختار داربست‌ها و ارزیابی قطر الیاف توسط تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد که داربست‌ها در مقیاس نانو تهیه شده‌اند، همچنین ارزیابی خواص سطحی داربست نشان‌دهنده تخلخل مناسب جهت رشد و اتصال سلول‌ها بر روی داربست می‌باشد (شکل ۲).



شکل ۱. سلول های PC12 کشت داده شده در محیط کشت RPMI

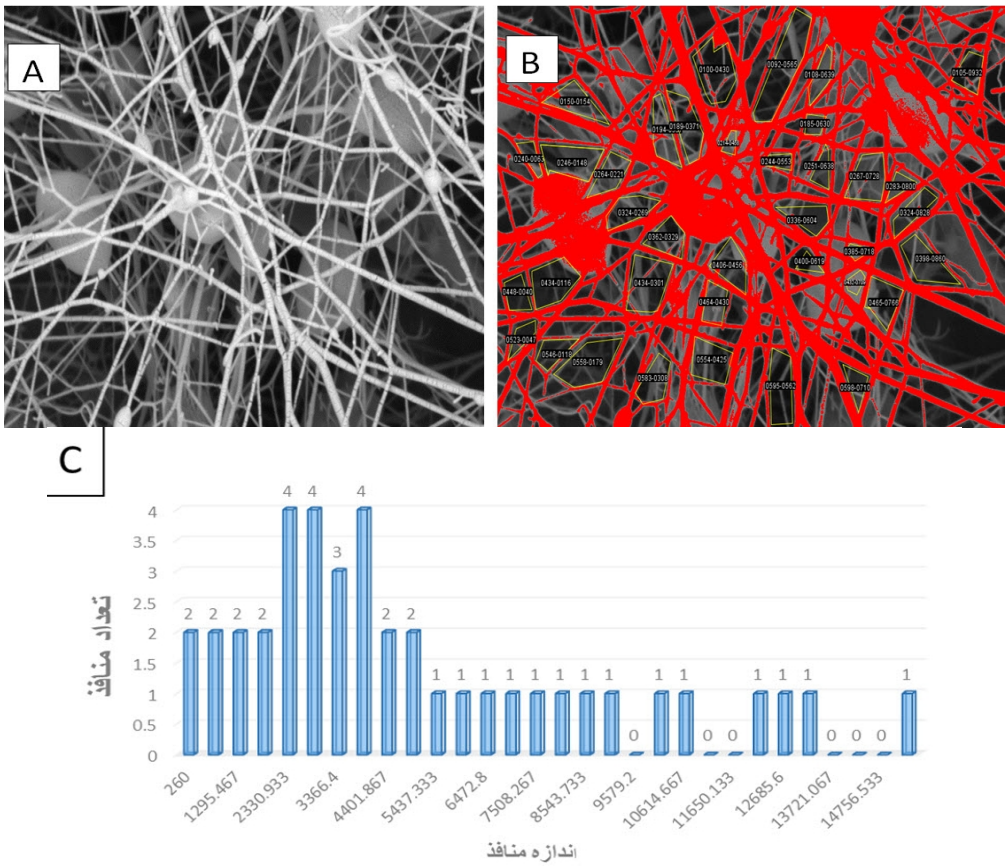
[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]
[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]



شکل ۲. تصاویر SEM از داربست الکتروریسی شده سیلیمارین/PCL قبل از کشت سلول (الف)، همانطور که در شکل ب مشاهده می شود داربست دارای سطح صاف و تخلخل ، بدون سلول و مناسب برای کشت سلول می باشد.

توزیع اندازه منافذ داربست‌ها

چگونگی توزیع منافذ در سطح داربست سیلیمارین/ پلی کاپرولاکتون با استفاده از نرم افزار Image j انجام شد و نتایج بدست آمده در نمودارها نشان‌دهنده توزیع مناسب منافذ و اندازه مناسب منافذ برای کشت سلول بر روی داربست بود (شکل ۳).

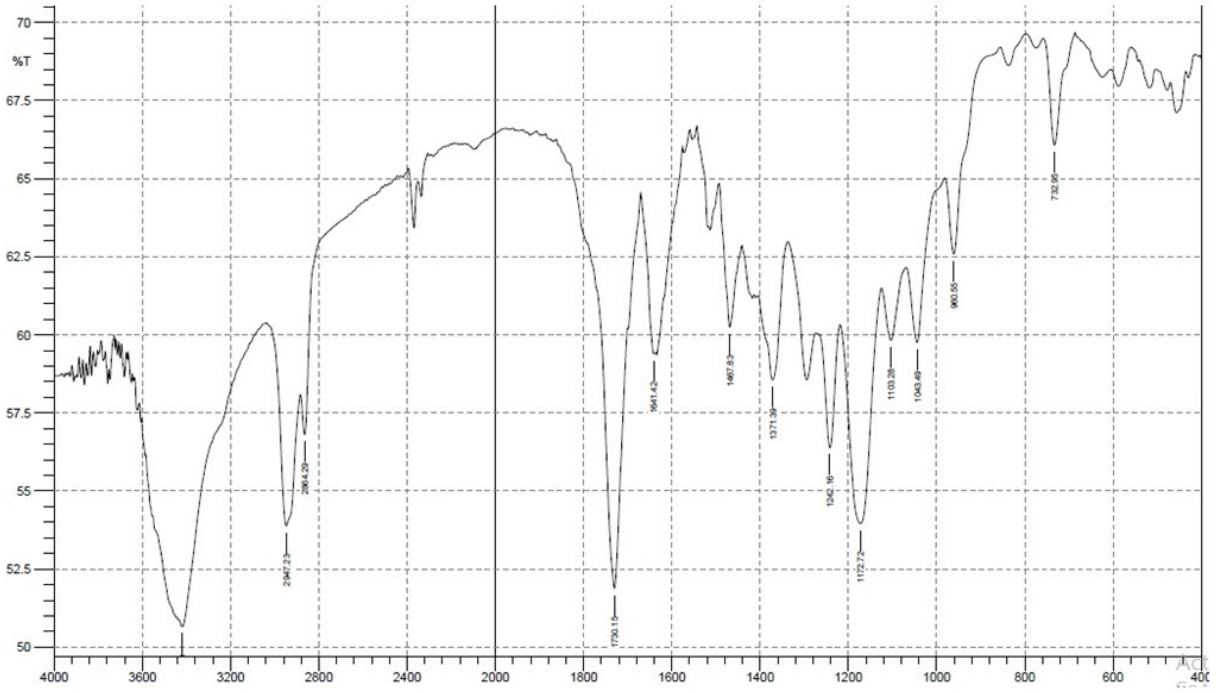


شکل ۳. تصویر چگونگی توزیع منافذ داربست سیلیمارین/ پلی کاپرولاکتون. A) تصویر SEM، B) تصویر گرافیکی از موقعیت منافذ، C) نمودار توزیع منافذ

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]
[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]

بررسی ساختارشیمیایی نانوداربست ها توسط طیف‌سنجی FTIR

همانطور که در شکل ٤ نشان داده شده است به طور کلی طیف جذبی پلی کاپرولاکتون دارای سه پیک شاخص در اعداد موج cm-1 ۱۷۳۰، ۲۸۶۵، ۲۹٤۷ می‌باشد که به ترتیب نشان‌دهنده وجود ارتعاش کششی پیوندهای C=O– و ارتعاش پیوندهای CH2– می‌باشد و از پیک‌های شاخص سیلیمیارین در اعداد طول موج cm-1، ۱۰٤۳، ۱۱۰۳، ۱۲٤۲ نشان‌دهنده ارتعاش پیوندهای C-O-، ۱۷۳۱ نشان‌دهنده COOH– کربوکسیلیک اسید، CM-1 ۱۵۰۸ نشان‌دهنده C=C آروماتیک و ۳٤٤۲ مربوط به کشش O-H– در ساختار سیلیمارین قابل تشخیص می‌باشد که نشان‌دهنده پوشش‌دهی مناسب نانوداربست پلی کاپرولاکتون با سیلیمارین می‌باشد [۱۸،۱۹].

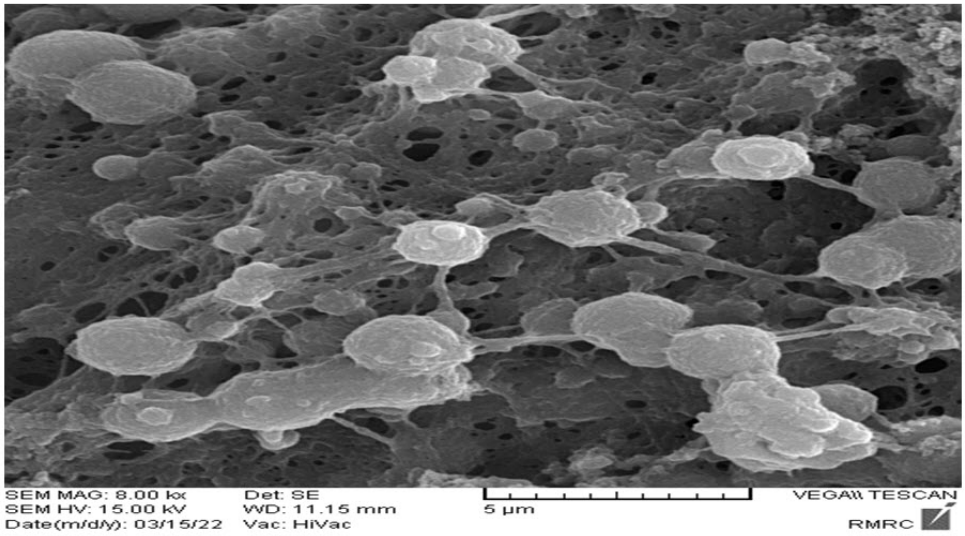


شکل ٤. طیف FTIR نانوداربست PCL/ سیلیمارین

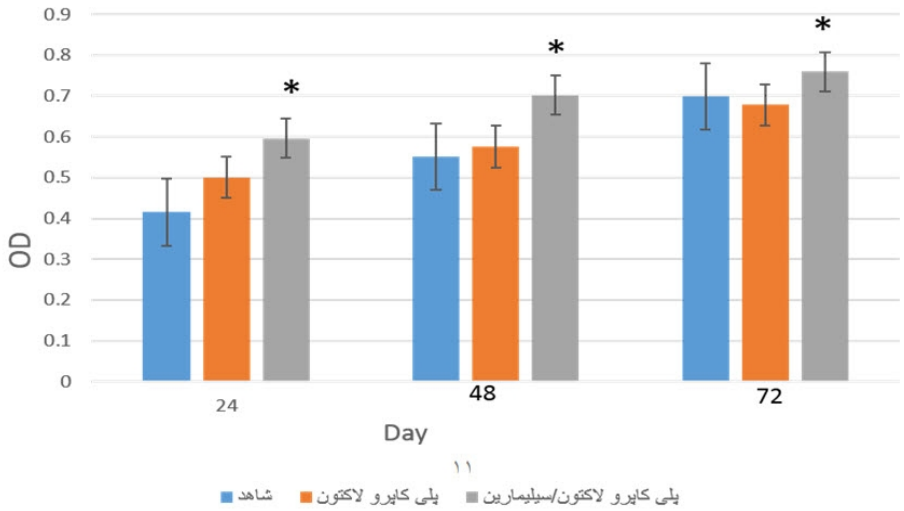
زیست سازگاری نانو داربست

نتایج حاصل از رشد و تکثیر سلول‌ها بر روی نانوداربست در سه بازه زمانی ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت پس از کشت سلول‌ها نشان داد که زنده‌مانی سلول‌ها در نانوداربست پلی کاپرولاکتون حاوی سیلیمارین نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافته است. همچنین نانوداربست هیچ‌گونه سمیتی بر روی سلول‌های کشت شده نداشت (نمودار ۲). علاوه بر این بررسی اتصال و چسبندگی سلول‌ها بر روی داربست نشان داد که سلول‌ها بطور یکنواخت توزیع شده و بدلیل تخلخل مناسب بطور کامل به داربست متصل شده و بر روی آن گسترش یافته‌اند (شکل ۵).

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]
[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]



شکل ۵. میکرو گراف SEM از داربست سیلیمارین/PCL بعد از کشت سلول



نمودار ۲. نمودار ارزیابی قابلیت زنده مانی سلول‌های PC12 بین داربست‌های پلی کاپرو لاکتون، پلی کاپرو لاکتون/سیلیمارین و گروه کنترل
نمودار نشان‌دهنده میزان زنده‌مانی گروه‌های آزمایش در طول موج ۵۷۰ نانومتر می‌باشد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد نمایش داده شده است. برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید.

بحث

هدف از مهندسی بافت ترمیم بافت از طریق به کارگیری ابزار بیولوژیکی مثل سلول‌ها با ابزارهای سنتتیک مؤثر مانند زیست مواد، برای طراحی داربست می‌باشد. در بافت تکامل یافته یک جاندار، سلول‌ها در ریز محیط‌های سه بعدی قرار می‌گیرند و اطرافشان به وسیله سلول‌های دیگر و ECM احاطه می‌شود، رفتار سلولی پاسخی ترکیبی از رخدادهای پیام رسانی متعددی بوده که در اثر برهمکنش سلول‌های مجاور با یکدیگر، با مولکول‌های محلول و با ECM اتفاق می‌افتد [۲۰،۲۱]. با توجه به اینکه ECM شبکه‌ای از نانوالیاف پیچیده و منظم می‌باشد و نیز تأثیر محیط نانوتوپوگرافی بر القای مسیرهای پیام‌رسانی دخیل در شکل‌گیری فنوتیپ و سرنوشت سلول نقش به سزایی دارد، داربست‌های تولیدشده از نانوالیاف در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است [۲۲،۲۳]. در این مطالعه پلیمر پلی کاپرولاکتون به عنوان ماده سازنده داربست به روش الکتروریسی

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]
[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]

انتخاب شد. این پلیمر یک پلیمر خطی و آب‌گریز است و به علت خواص فیزیکی عالی، در دسترس بودن و زیست سازگار بودنش ماده مناسبی برای مصارف پزشکی به حساب می‌آید و به شکل گسترده‌ای در مهندسی بافت کاربرد دارد. همچنین از سیلیمارین (خار مریم) برای بارگذاری استفاده شد که فلاونوئیدی با اثرات متعدد از جمله اثر ضدسرطانی و خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. سیلیمارین عصاره‌ای است که از چندین ایزومر تشکیل شده که مهمترین ماده موجود در این عصاره، سیلی‌بینین است و حدود ۸۰ درصد از این عصاره را شامل می‌شود [۲٤]. نتایج بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی SEM و تست MTT، نشان‌دهنده زیست سازگاری و عدم سمیت داربست پلی کاپرولاکتون /سیلیمارین و همچنین بقای سلولی معنادار بر روی این داربست در مقایسه با داربست پلی کاپرولاکتون و کنترل بعد از کشت سلولی بود. همچنین مقایسه زیست سازگاری داربست پلی‌کاپرولاکتون با داربست پلی‌کاپرولاکتون/ سیلیمارین نشان داد که بارگذاری سیلیمارین بر روی داربست پلی کاپرولاکتون باعث افزایش زیست سازگاری داربست می‌شود. یکی از ویژگی‌های عملی داربست‌ها برای استفاده در مهندسی بافت، چسبندگی سلولی است [۲۵،۲۶]. میکروگراف‌های SEM مطالعه ما نشان داد که سلول‌ها به خوبی به یکدیگر و به نانوداربست‌ها چسبیده‌اند و اتصال آن‌ها را تأیید می‌کنند.

مهری و همکاران در پژوهشی غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره اتانولی خار مریم را بر روی رده سلولی PC12 مورد آزمایش قرار دادند که هیچ یک از این غلظت‌ها اثر سمی بر روی این رده سلولی نداشتند و در نتیجه به عنوان غلظت‌های مناسب جهت این مطالعه انتخاب شده بودند. مجاورت رده سلولی مذکور با عصاره خار مریم در تمامی غلظت‌های ۲/۵ ، ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به مدت ۲٤ ساعت توانست سمیت ناشی از آکریل‌آمید را کاهش دهد. مجاورت سلول‌ها با آکریل آمید از طریق افزایش گونه‌های فعال اکسیژن سمیت سلولی در سلول‌های PC12 را افزایش داد در حالی‌که مجاورت با کروسین از طریق مهار استرس اکسیداتیو سمیت سلولی را به‌صورت قابل توجهی کاهش داد [۲۷]. همچنین، در پژوهش دیگری نشان دادند که ساخت داربست‌های دو لایه با ترکیب نقره و سیلیمارین به عنوان داربستی جهت ترمیم ضایعات پوستی زیست سازگاری مناسبی را برای سلول‌های کشت شده بر روی داربست نشان داد. این زیست سازگاری به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی لایه نقره بر روی داربست می‌باشد که سبب کاهش استرس اکسیداتیو می‌گردد [۲۸]. در کنار استفاده از روش ساخت انتخاب ماده سازنده داربست بخش حیاتی را در اطمینان یافتن از موفقیت مهندسی بافت پوست بازی می‌کند. مواد طبیعی و سنتتیک متفاوتی برای ساخت داربست از جمله PLL، PCL، کلاژن، فیبروئین ابریشم، کیتوسان و ژلاتین استفاده شده است. مانع اصلی در استفاده از پلیمرهای طبیعی خصوصیات مکانیکی ضعیف آنها است. پلیمرهای سنتتیک مانند PLLA و PC تحت تجزیه هیدرولیتیکی قرار می‌گیرند و فرآورده‌های حاصل از آن‌ها در مسیر متابولیکی حذف می‌شوند. این پلیمرها ویژگی‌های برتری از لحاظ مکانیکی نسبت به پلیمرهای طبیعی دارند و به آسانی قابلیت پردازش دارند [۲۹]. در مطالعه دیگری نشان داده شد که آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند سیلیمارین و کوارستین با ثبات بخشیدن به گانگلیوزیدهای غشایی، باعث تداوم غشاهای زیستی و افزایش توان حیاتی سلول‌ها شده‌اند. از طرفی عوامل کارسینوژن مانند آرسنیک، باعث ایجاد بدخیمی در سلول‌های پوست و القای استرس اکسیداتیو شده که سیلیمارین تا حدودی با هر دو پدیده مقابله می‌کند [۹]. سیلیمارین همچنین در سلول‌های PC12، باعث افزایش ترشح فاکتور

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]
[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]

رشد عصبی (NGF) شده و سبب افزایش حیات سلولی در محیط کشت گردیده است. علاوه بر این، نشان داده شده است که سیلیمارین در سلول‌های کشت شده باعث کاهش آپوپتوز می‌گردد [۹].

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی SEM و همچنین تست MTT، نشان از بارگذاری مناسب سیلیمارین بر روی داربست دارد و همچنین زیست سازگاری و توان تکثیر سلول‌های PC12 روی داربست پلی‌کاپرولاکتون/ سیلیمارین نسبت به داربست پلی‌کاپرولاکتون و گروه کنترل بالا بود. بنابراین به نظر می‌رسد که داربست پلی‌کاپرولاکتون/ سیلیمارین می‌تواند کاندیدای امیدوارکننده‌ای برای کاربرد مهندسی بافت عصبی به‌منظور ترمیم ضایعات عصبی باشد.

محدودیت‌های پژوهش

از محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به عدم بررسی داربست در مدل‌های حیوانی اشاره کرد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی از نانوداربست پلی‌کاپرولاکتون حاوی سیلیمارین جهت ترمیم ضایعات عصبی در مدل حیوانی موش صحرایی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از دانشگاه محقق اردبیلی به‌دلیل حمایت مالی و فراهم‌آوردن تجهیزات اعلام می‌دارند.

References

1- Abdolmaleki A, Asadi A, Taghizadeh Momen L, Parsi Pilerood S. The Role of neural tissue engineering in the repair of nerve lesions. Shefaye Khatam. 2020 Summer; 8(3):80-96. [Full text in Persian]

2- Ferdowsi S, Abdolmaleki A, Asadi A, Zahri S. Glibenclamide promoted functional recovery following sciatic nerve injury in male Wistar rats. Fundam Clin Pharmacol. 2022 May; doi: 10.1111/fcp.12796.

3- Bini TB, Gao S, Xu X, Wang S, Ramakrishna S, Leong KW. Peripheral nerve regeneration by microbraided poly (L-lactide-co-glycolide) biodegradable polymer fibers. J Biomed Mater Res A. 2004 Feb; 68(2):286-95.

4- Chang CJ, Hsu SH. The effects of low-intensity ultrasound on peripheral nerve regeneration in poly (DL-lactic acid-co-glycolic acid) conduits seeded with Schwann cells. J Ultrasound Med Biol. 2004 Aug; 30(8):1079-84.

5- Shokrollahi P, Mehmanchi M, Atai M, Omidian H, Shokrolahi F. Effect of interface on mechanical properties and biodegradation of PCL HAp supramolecular nano-composites. J Mater Sci Mater Med. 2014 Jan; 25(1):23-35.

6- Fraschini F, Demartini G, Esposti D. Pharmacology of silymarin. Clin Drug Investig. 2002 Jan; 22(1):51-65.

7- Firenzuoli F, Gori L, Crupi A, Neri D. Flavonoids: risks or therapeutic opportunities?. Recenti Prog Med. 2004 Jul-Aug; 95(7-8):345-51.

8- Li Y, Decherchi P, Raisman G. Transplantation of olfactory ensheathing cells into spinal cord lesions restores breathing and climbing. J Neurosci. 2003 Feb; 23(3):727-31.

9- Kittur S, Wilasrusmee S, Pedersen WA, Mattson M, Straube-West K, Wilasrusmee C, et al. Neurotrophic and neuroprotective effects of milk thistle (Silybum marianum) on neurons in culture. J Mol Neurosci. 2002 Jun; 18(3):265-9.

10- Xiong S, Zhao Q, Rong Z, Huang G, Huang Y, Chen P, et al. hSef inhibits PC-12 cell differentiation by interfering with Ras-mitogen-activated protein kinase MAPK signaling. J Biol Chem. 2003 Dec; 278(50):50273-82.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]
[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]

11- Galhardi F, Mesquita K, Monserrat JM, Barros DM. Effect of silymarin on biochemical parameters of oxidative stress in aged and young rat brain. Food Chem Toxicol. 2009 Oct; 47(10):2655-60.
12- Karimi G, Vahabzadeh M, Lari P, Rashedinia M, Moshiri M. "Silymarin", a promising pharmacological agent for treatment of diseases. Iran J Basic Med Sci. 2011 Jul;14(4):308-17.
13- Abdalla A, Mohammed MM, Geddawy A, Khalil Z, Allam H. Molecular mechanisms involved in the ameliorative effect of silymarin against experimentally-induced Alzheimer disease in rats. Ann Romanian Soc Cell Biol. 2021 Nov; 25(6):18745-57.
14- Yardım A, Kucukler S, Özdemir S, Çomaklı S, Caglayan C, Kandemir FM, et al. Silymarin alleviates docetaxel-induced central and peripheral neurotoxicity by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. Gene. 2021 Feb; 769:145239.
15- Nencini C, Giorgi G, Micheli L. Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. Phytomedicine. 2007 Feb; 14(2-3):129-35.
16- Wang TT, Phang JM. Effects of estrogen on apoptotic pathways in human breast cancer cell line MCF-7. Cancer Res. 1995 Jun; 55(12):2487-9.
17- Kwon TW, Watts BM. Malonaldehyde in aqueous solution and its, role as a measure of lipid oxidation in foods. J Food Sci. 1964 May-Jun ; 29(3):294-302.
18- Pandi M, Kumaran RS, Choi YK, Kim HJ, Muthumary J. Isolation and detection of taxol, an anticancer drug produced from Lasiodiplodia theobromae, an endophytic fungus of the medicinal plant Morinda citrifolia. Afr J Biotechnol. 2011 Feb;10(8):1428-35.
19- Takashima Y, Saito R, Nakajima A, Oda M, Kimura A, Kanazawa T, et al. Spray-drying preparation of microparticles containing cationic PLGA nanospheres as gene carriers for avoiding aggregation of nanospheres. Int J Pharm. 2007 Oct; 343(1-2):262-9.
20- He L, Liao S, Quan D, Ma K, Chan C, Ramakrishna S, et al. Synergistic effects of electrospun PLLA fiber dimension and pattern on neonatal mouse cerebellum C17. 2 stem cells. Acta Biomater. 2010 Aug; 6(8):2960-9.
21- Abbaszadeh S, Asadi A, Zahri S, Abdolmaleki A, Mahmoudi F. Does Phenytoin Have Neuroprotective Role and Affect Biocompatibility of Decellularized Sciatic Nerve Scaffold? Gene Cell Tissue. 2021 Jan; 31;8(1) : e108726.
22- Barnes CP, Sell SA, Boland ED, Simpson DG, Bowlin GL. Nanofiber technology: designing the next generation of tissue engineering scaffolds. Adv Drug Deliv Rev. 2007 Dec; 59(14):1413-33.
23- Kumar G, Waters MS, Farooque TM, Young MF, Simon CG Jr. Freeform fabricated scaffolds with roughened struts that enhance both stem cell proliferation and differentiation by controlling cell shape. Biomaterials. 2012 Jun; 33(16):4022-30.
24- Christy PN, Basha SK, Kumari VS, Bashir AKH, Maaza M, Kaviyarasu K, et al. Biopolymeric nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering applications–A review. J Drug Deliv Sci Technol. 2020 Feb; 55:101452.
25- Nasrollahi Nia F, Asadi A, Zahri S, Abdolmaleki A. Biosynthesis, characterization and evaluation of the supportive properties and biocompatibility of DBM nanoparticles on a tissue-engineered nerve conduit from decellularized sciatic nerve. Regen Ther. 2020 May; 14:315-21.
26- Abdolmaleki A, Ghayour MB, Zahri S, Asadi A, Behnam-Rassouli M. Preparation of acellular sciatic nerve scaffold and it's mechanical and histological properties for use in peripheral nerve regeneration. Tehran Univ Med J. 2019 May; 77(2):115-22. [Full text in Persian]
27- Mehri S, Abnous K, Mousavi SH, Shariaty VM, Hosseinzadeh H. Neuroprotective effect of crocin on acrylamide-induced cytotoxicity in PC12 cells. Cell Mol Neurobiol. 2012 Mar; 32(2):227-35.
28- Shaik MM, Dapkekar A, Rajwade JM, Jadhav SH, Kowshik M. Antioxidant-antibacterial containing bi-layer scaffolds as potential candidates for management of oxidative stress and infections in wound healing. J Mater Sci Mater Med. 2019 Jan; 30(1):13.
29- Vance RJ, Miller DC, Thapa A, Haberstroh KM, Webster TJ. Decreased fibroblast cell density on chemically degraded poly-lactic-co-glycolic acid, polyurethane, and polycaprolactone. Biomaterials. 2004 May; 25(11):2095-103.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.1.7.2]
[DOI: 10.52547/jarums.22.1.7]