



بررسی اثر داربست‌های نانوالیاف کیتوسان / پلی وینیل الکل بر روی زخم‌های ناشی از سوختگی در موش نر بالغ نژاد NMRI

لیلا ریاحی^۱، نسیم حیاتی رودباری^{۱*}، سهیلا سلحشور کردستانی^۲، کاظم پریور^۱

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: nasimhayati@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۱۸

چکیده

به منظور ترمیم زخم ناشی از سوختگی تحقیقات بسیاری از جمله استفاده از داربست‌های زیستی به دلیل قابلیت دستیابی به ویژگی‌های مطلوب انجام شده است. به دلیل خواص زیستی مناسب کیتوسان نظیر قابلیت زیست‌سازگاری و خواص ضد میکروبی و ارتقای التیام زخم در مصارف زیست پزشکی و نیز خصوصیات زیست‌سازگاری و عدم تحریک سیستم ایمنی پلی وینیل الکل بر آن شدید تا تاثیر داربست نانولیفی مخلوط این دو پلیمر را روی پوست آسیب‌دیده در شرایط *In vivo* بررسی کنیم. ۳۰ سر موش نر نژاد NMRI بطور تصادفی در یک گروه کنترل و سه گروه تجربی (داربست کیتوسان و پلی وینیل الکل با نسبت‌های ۱۰۰/۰، ۸۰/۲۰، ۷۰/۳۰) تقسیم گردید و با رعایت شرایط استریل و تحت بیهوشی، یک زخم به قطر ۱ سانتی‌متر و با ضخامت کامل پوست در پشت هر موش ایجاد شد. داربست‌های نانوالیاف بدست آمده از فرایند الکترووریسی را بصورت زخم‌پوش در آورده و بر روی محل سوختگی قرار داده، محل سوختگی هر روز استریل و با داربست پانسمان می‌شدند پس از ۲۱ روز مراحل بافت‌شناسی مربوطه بر روی زخم صورت گرفت. کاهش معنی‌دار ضخامت قطر زخم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل ($p < 0.001$) و افزایش ضخامت اپیدرم، درم و هیپودرم نسبت به گروه کنترل ($p < 0.05$) دیده شد. نتایج پاتولوژی نشان‌دهنده اثربخشی بسیار مناسب داربست‌های نانولیفی ترکیبی کیتوسان/پلی وینیل الکل نسبت به گروه کنترل است. ضمن اینکه تسریع معنی‌دار سرعت جمع‌شدگی زخم در نمونه‌های حاوی داربست نسبت به کنترل دیده شد.

کلمات کلیدی: کیتوسان، پلی وینیل الکل، الکترووریسی، داربست‌های نانولیفی، ترمیم زخم.

مقدمه

شود [۳، ۱۶]. مهندسی بافت یکی از نویدبخش‌ترین راهکارهای ترمیم در حوزه‌ی مراقبت از سلامت انسان‌ها محسوب می‌شود. طراحی داربست، نقش تعیین‌کننده‌ای در این زمینه دارد. اخیراً از فرآیند الکترووریسی به عنوان فناوری تولید نانوالیاف که می‌تواند شرایط مشابه ماتریکس خارج سلولی را فراهم کند، استفاده‌های زیادی می‌شود. علاوه بر اهمیت ایجاد ساختار مناسب مشابه با ماتریکس خارج سلولی، نوع زیست مواد پلیمری استفاده شده در تولید داربست‌های نانولیفی نیز از اهمیت زیادی برخوردار است. پلیمرهای طبیعی مانند کیتین، کیتوسان به دلیل خواص زیستی مناسب نظیر قابلیت زیست‌سازگاری

سوختگی پوست از آسیب‌های شایع پوست است که می‌تواند در نتیجه قرار گرفتن در معرض منابع مختلف حرارتی ناشی شود که بسته به منبع، درجات سوختگی متفاوتی ایجاد می‌شود. ترمیم زخم یکی از شگفت‌انگیزترین پدیده‌هایی است که از ویژگی‌های موجود زنده می‌باشد و از مهم‌ترین مسائلی است که علم پزشکی با آن روبرو است. فرآیند ترمیم به سه فاز التهاب، تکثیر و تجدید ساختار تقسیم می‌شود. با وجود اینکه مراحل به دنبال هم انجام می‌شوند، از نظر زمانی نیز ممکن است که با هم همپوشانی داشته باشند. هر ماده‌ای که بتواند زمان این فازها را کوتاه‌تر کند، منجر به تسریع روند ترمیم می‌-



و خواص ضد میکروبی و غیرسمی و ارتقای التیام زخم، در مصارف زیست پزشکی کاربرد زیادی دارد. کیتوسان پلی‌ساکاریدی خطی است که متشکل از واحدهای *N-acetyl-D-glucosamine* (واحد استیله شده) و *N-glucosamine* (واحد دی استیله شده) می‌باشد که با پیوندهای β -(1-4) به هم متصل شده است. آمین‌های کیتوسان در محیط اسیدی به پلی کاتیون تبدیل شده که این ویژگی موجب محلول بودن کیتوسان در آب و زیست چسبنده بودن آن می‌شود. بنابراین، کیتوسان انتقال داروهای قطبی را از سطح اپیتلیال آسان‌تر می‌کند [۱۰]. کیتوسان پلیمری آبدوست است اما به دلیل بالا بودن وزن مولکولی و گرانی ذاتی زیاد به پلیمر آبدوست دیگری برای کاهش گرانی محلول نیاز دارد. همچنین کیتوسان در محیط اسیدی خاصیت پلی کاتیونی دارد و در میدان الکتریکی سبب از هم گسستگی زنجیره‌های مجاور می‌شود به گونه‌ای که امکان الکتروریسی آن به تنهایی وجود ندارد. پلی‌وینیل الکل به عنوان جزء دوم در میان زنجیره‌های کیتوسان قرار می‌گیرد و مانع دفع بارهای هم نام و از هم گسستگی زنجیره‌های کیتوسان می‌شود. این ترکیب قابلیت الکتروریسی کیتوسان را افزایش داده و به دلیل قابلیت زیستی مناسب پلی‌وینیل الکل مانعی در کاربرد پزشکی کیتوسان ایجاد نمی‌کند [۱، ۶]. به منظور ارتقای قابلیت الکتروریسی بطور عمده از پلیمرهای آبدوستی چون پلی‌وینیل الکل (PVA) به شکل مخلوط با این پلیمر طبیعی استفاده می‌شود این موضوع منجر به افزایش آبدوستی شبکه نانولیفی می‌شود [۹، ۱۳]. پوشش و پانسمان برای زخم‌های انسانی با هدف محافظت، خارج‌سازی عفونت و چرک، بازدارندگی از تهاجم میکروارگانیسم‌ها و بهبود ظاهر زخم ترمیمی انجام می‌شود. امروزه پانسمان‌های غشای نانولیفی الکتروریسی شده می‌تواند نیازهای مهم ترمیم را مانند امکان نفوذ گاز و محافظت از زخم در برابر عفونت و دی‌هیدراسیون را تامین نماید. هدف از پوشش زخم تولید یک ساختار ایده‌آل است که توانایی ایجاد تخلخل بالاتر و سد مناسب‌تر را

داشته باشد. برای رسیدن به این هدف بیومواد پوشش زخم باید با دقت انتخاب شود و ساختار باید برای ایجاد سد مناسب و تراوایی لازم اکسیژن قابل کنترل باشد [۱۱]. پوشش زخم از نانوالیاف الکتروریسی شده فواید بسیار زیادی را نسبت به پوشش حاصله توسط فرایندهای معمولی در بردارد. نانوالیاف الکتروریسی شده با سطح بسیار زیاد و ساختار میکروسکوپی‌شان، سرعت شروع به عبور سیگنال و جذب فیبروبلاست به لایه درم می‌نمایند که می‌تواند اجزای مهم ماتریکس خارج سلولی مانند کلاژنوسیتوکین‌ها (یعنی فاکتورهای رشد و فاکتورهای آنژیوژنیک) را ترشح نماید که برای ترمیم بافت آسیب دیده استفاده می‌شود. غشای الکتروریسی شده همچنین برای اتصال و تکثیر سلولی در ترمیم زخم موثر است. ساختار متخلخل غشای نانوالیاف قابلیت زدودن چرک از روی زخم، کنترل آب از دست رفته توسط تبخیر از سطح پوست، قابلیت عبور اکسیژن و ارتقای تراوایی سیالات را دارد [۴، ۱۵].

در این تحقیق، داربست‌های نانولیفی مخلوط از الکتروریسی محلول‌های مخلوط کیتوسان- پلی وینیل الکل تولید شدند. برای الکتروریسی کیتوسان، محلول‌های مختلفی از آن در ترکیب با پلی‌وینیل الکل (PVA) تهیه شده و الکتروریسی شدند.

مواد و روش کار

کیتوسان با وزن مولکولی ۱۰۰۰ کیلودالتون (Low Viscosity) از شرکت کیتوتک، پلی‌وینیل الکل با وزن مولکولی ۷۲۰۰۰ دالتون و درجه هیدرولیز ۹۸٪ از شرکت سیگما، دی متیل فرمامید ۹۹/۸٪، اسید استیک گلاسیال، الکل اتیلیک ۱۰۰٪ و ۹۶٪، رنگ همتوکسیلین و ائوزین، فیکساتیو بوئن، زایلن و پارافین از شرکت Merck خریداری شد.

تهیه محلول‌ها و الکتروریسی: محلول ۷٪ وزنی کیتوسان در اسید استیک ۷۰٪ و محلول ۱۰٪ وزنی پلی وینیل الکل در اسید استیک ۷۰٪ تهیه شد. محلول الکتروریسی با



۲۹-۲۸ گرم بودند. نگهداری آنها در حیوان خانه با تنظیم دمای 25 ± 2 °C و رطوبت ۶۰-۴۰٪ و سیکل ۱۲ ساعته روشنایی - تاریکی در شبانه روز در نظر گرفته شد. تغذیه موش‌ها بصورت پلت مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب آشامیدنی لوله‌کشی صورت گرفت. موش‌ها به چهار گروه ۶ تایی (۱ گروه کنترل، ۳ گروه تجربی شامل کیتوسان/ پلی‌وینیل الکل با نسبت‌های ۱۰۰/۰، ۸۰/۲۰ و ۷۰/۳۰) تقسیم شدند پس از سازگاری موش‌ها با محیط، هر کدام از موش‌ها پس از بیهوشی توسط تزریق درون- صفاقی مخلوط کتامین (۲ ipmg/kg) و زایلازین (۳ ipmg/kg)، از ناحیه شکم روی تشک تشریح قرار گرفته موهای ناحیه پشت حیوان با تیغ تراشیده شده و با پنبه آغشته به بتادین ۱۰٪ ضدعفونی شده و در پوست ناحیه پشت در محدوده بین دو کتف و زیر گردن به کمک هویه سوختگی به قطر یک سانتی‌متر ایجاد کرده هویه ۱ دقیقه گرم شده و ۱۵ ثانیه روی پشت حیوان قرار گرفت (شکل ۱).

روزانه سطح زخم‌ها پس از استریل و اندازه‌گیری سطح زخم توسط کولیس با پانسمان حاصل از داربست‌های نانوالیاف پوشانده می‌شدند و بر روی سوختگی کنترل هیچ ماده‌ای استعمال نگردید [۱۴].

پس از طی دوره تیمار، موش‌ها از طریق استنشاق کلروفورم در دسیکاتور دچار مرگ سریع و بدون درد شدند. پس از تهیه تعدادی عکس از محل زخم جهت مقایسه میزان کیفیت جمع‌شدگی و بهبود زخم از لحاظ ماکروسکوپی، پوست سوخته با تیغ اسکالپل جدا و نمونه‌ها به فیکساتیو بوئن منتقل گردید (تا ۵ ساعت در بوئن قرار داشتند) پس از انجام مراحل آبگیری و تهیه قالب‌های پارافینی برش-های ۶ میکرونی تهیه و سپس رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین روی آنها صورت گرفت. هدف از تهیه برش‌ها بررسی تغییرات بافت پوست و سرعت جمع‌شدگی زخم بود. سپس ضخامت لایه‌ها توسط نرم‌افزار Measure بدست آمد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون توکی در ۳ سطح معنی‌داری

مخلوط کردن محلول‌های پلی‌وینیل الکل ۱۰٪ و کیتوسان ۷٪ با درصدهای جرمی کیتوسان/ پلی‌وینیل الکل ۱۰۰/۰، ۸۰/۲۰ و ۷۰/۳۰ تهیه شد. الکتروریسی با استفاده از دستگاه تک نازله با ولتاژ ۲۰ کیلوولت بین نازل (سوزن شماره ۱۹، متصل به سرنگ ۱۰ میلی‌لیتری و صفحه‌ی جمع‌آوری نانوالیاف)، فاصله‌ی بین فویل آلومینیومی و سرسوزن ۲۰ سانتی‌متر و سرعت تغذیه‌ی محلول‌ها توسط پمپ سرنگ روی ۰/۱ میلی‌لیتر در ساعت انجام شد.

به منظور شناسایی و انتخاب مناسب‌ترین ساختار نانوالیافی حاصله از الکتروریسی محلول‌های کیتوسان/ پلی‌وینیل‌الکل مورفولوژی ساختارهای نانوالیافی حاصله توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی کم-اسکن (کمپانی آکسفورد، انگلستان) با ولتاژ شتاب دهنده‌ی ۱۵ کیلوولت بررسی شد. پیش از انجام مشاهدات، نمونه‌های نانوالیافی با استفاده از دستگاه لایه‌نشانی خنک طلا (SCD 005، کمپانی بال-تک، انگلستان) با طلا پوشش داده شد.

پس از تهیه داربست‌های بهینه از محلول‌های پلیمری کیتوسان و پلی‌وینیل الکل، تهیه پانسمان نمونه‌ها از این داربست‌های نانوالیاف جهت استفاده در ترمیم سوختگی و زخم بصورت زیر انجام شد:

ابتدا پد جاذب پزشکی غیرچسبنده به زخم در ابعاد ۲×۲ و ۴×۴ سانتی‌متر در محیط استریل با قیچی استریل برش زده شد و داربست تهیه شده با روش الکتروریسی نیز در ابعاد ۲×۲ و ۴×۴ سانتی‌متر در محیط استریل با قیچی استریل برش زده شد. یک عدد پد غیرچسبنده روی سطح استریل قرار داده شد، یک لایه از داربست روی آن قرار گرفت و یک عدد پد مجدد جهت جلوگیری از پارگی داربست بر روی آن قرار گرفت. نمونه تهیه شده درون پاکت بسته‌بندی مخصوص قرار داده شد و مشخصات داربست پشت آن ثبت شد. سپس نمونه‌ها با اتیلن اکساید استریل شده و برای استفاده آماده گردیدند.

آزمون‌های حیوانی: حیوان آزمایشگاهی مورد استفاده در این تحقیق که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. ۳۰ موش نر بالغ نژاد NMRI با ۱۲-۱۰ هفته سن و با وزن

Excel ترسیم شدند.

۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ تحلیل شدند. سنجش‌های آماری بوسیله نرم‌افزار SPSS 19 انجام و نمودارها با نرم‌افزار



شکل ۱- چگونگی ایجاد سوختگی درجه سوم با استفاده از هویه در موش سوری نر نژاد NMRI

نتایج

زیست‌سازگاریش مقداری کمتر است و زیست‌سازگاری عالی کیتوسان در نمونه مخلوط قابل ذکر است. به منظور بررسی اثر نانو الیاف کیتوسان/پلی‌وینیل‌الکل در ترمیم سوختگی، به بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی در شرایط *in vivo* پرداختیم، مشاهدات ماکروسکوپی اثرات مثبت نانوالیاف کیتوسان/پلی‌وینیل‌الکل را در ترمیم بافت‌های پوستی بعد از سوختگی تایید کرد. اطلاعات بدست آمده از شمارش‌های میکروسکوپی تحت آنالیزهای آماری قرار گرفتند. نمودارها و تصاویر میکروسکوپی در این بخش آمده است. تصاویر فتومیکروگراف در اشکال ۳ تا ۶ نشان داده شده است.

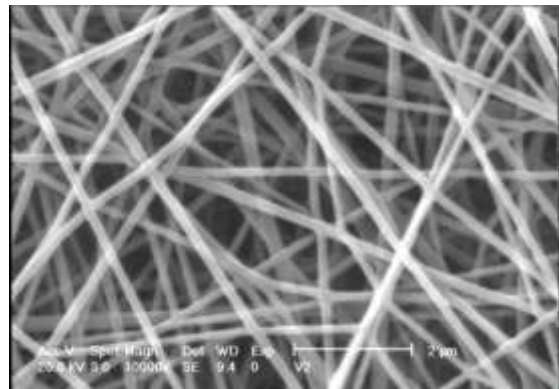
در نمودارهای رسم شده ضخامت اپیدرم در گروه‌های تجربی 21C1 و 21C2 در مقایسه نسبت به گروه کنترل

تصویر SEM شبکه نانولیفی مخلوط کیتوسان/پلی‌وینیل-الکل (۷۰:۳۰) در شکل ۲-ج آمده است. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود نانوالیاف سه جزئی بصورت شبکه-ای بهم پیوسته با مورفولوژی یکنواخت و بدون دانه تسبیحی ایجاد شده‌اند که میتوان تشکیل نانوالیاف بدون گره را ناشی از حضور زنجیرهای PVA در بین کیتوسان دانست. با افزایش محتوی کیتوسان، علاوه بر کاهش قطر الیاف، میزان نانوالیاف الکترورسی شده‌ی جمع‌آوری شده روی صفحه‌ی آلومینیومی نیز کاهش یافته و فرایند الکترورسی با سرعت کندتری صورت می‌پذیرد. نتایج SEM نشان داد که نمونه پلی‌وینیل‌الکل خالص با وجود اینکه از نظر زیست‌سازگاری بسیار نتایج خوبی را نشان می‌دهد ولی در مقابل مخلوط کیتوسان/پلی‌وینیل‌الکل

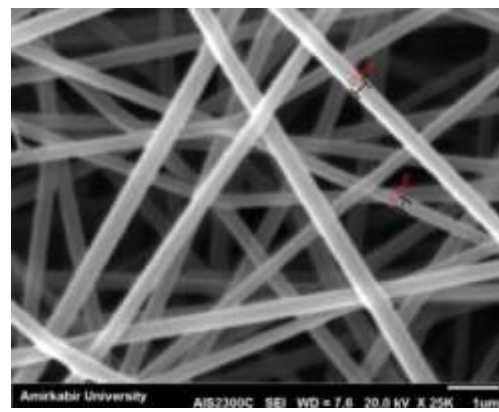
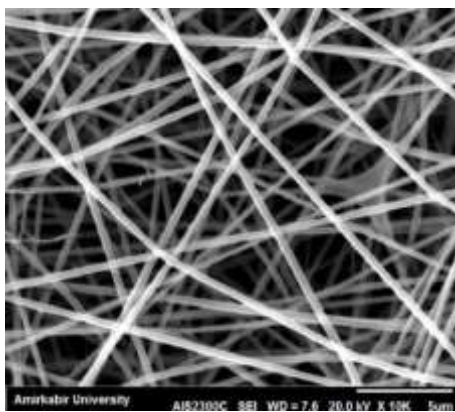


($p < 0/05$) را نسبت به گروه کنترل نداشتند (نمودار ۳). ضخامت قطر زخم در گروه‌های تجربی 21C1، 21C2 و 21C3 در مقایسه نسبت به گروه کنترل سوخته روز ۲۱ نشان داد به ازای ($p < 0/001$) کاهش معنی‌داری دیده می‌شود. داربست نانولیفی ترکیبی کیتوسان/ پلی‌وینیل الکل با نسبت‌های متفاوت در طی ۲۱ روز موجب کاهش معنی‌دار ضخامت قطر زخم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0/001$) که این کاهش در گروه تجربی با نسبت کیتوسان بیشتر مشهودتر بود (نمودار ۴).

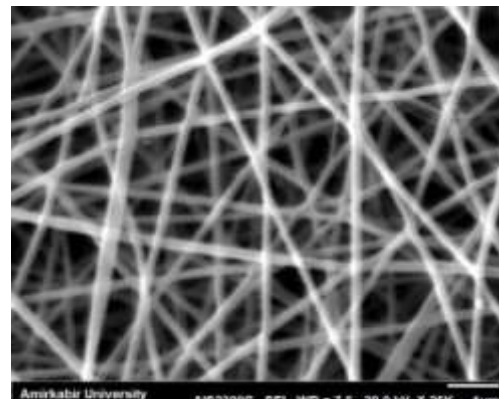
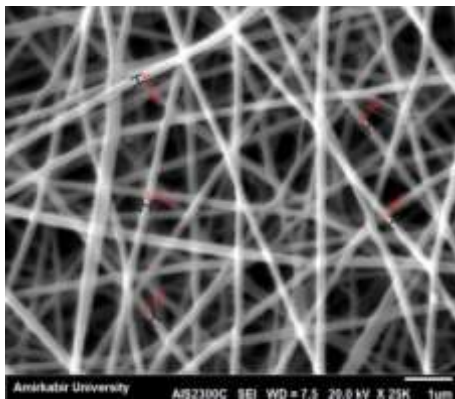
سوخته روز ۲۱ نشان داد که به ازای ($p < 0/001$) افزایش معنی‌داری دیده می‌شود (نمودار ۱). ضخامت درم در گروه‌های تجربی 21C1، 21C2 و 21C3 در مقایسه نسبت به گروه کنترل سوخته روز ۲۱ نشان داد که هیچ کدام از گروه‌ها را بطه‌ی معنی‌داری ($p < 0/05$) را نسبت به گروه کنترل نداشتند (نمودار ۲). ضخامت هیپودرم در گروه‌های تجربی 21C1، 21C2 و 21C3 در مقایسه نسبت به گروه کنترل سوخته روز ۲۱ نشان داد هیچ کدام از گروه‌ها رابطه‌ی معنی‌داری



الف

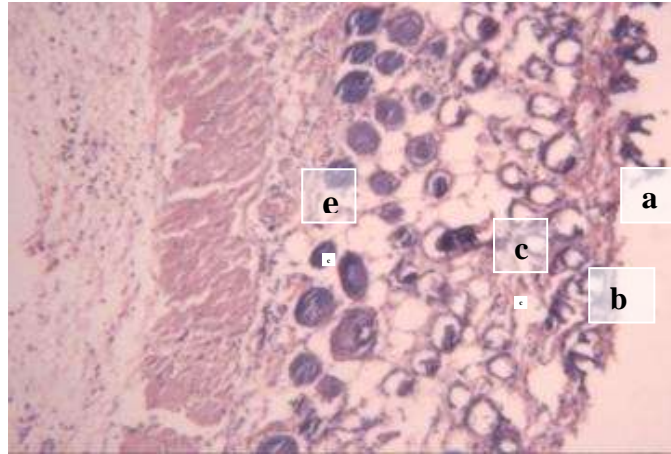


ب

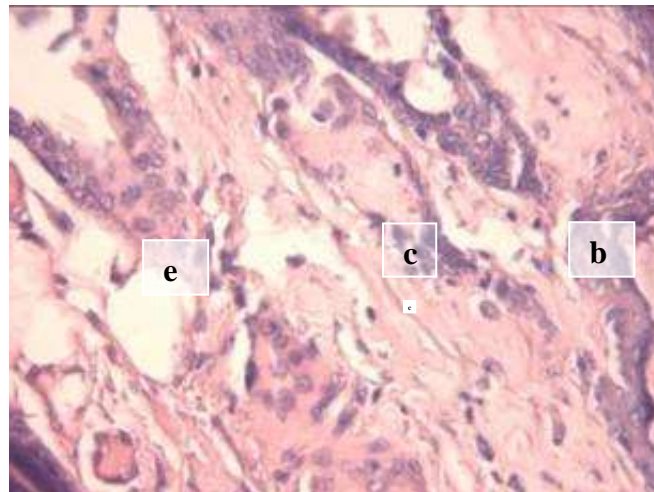


ج

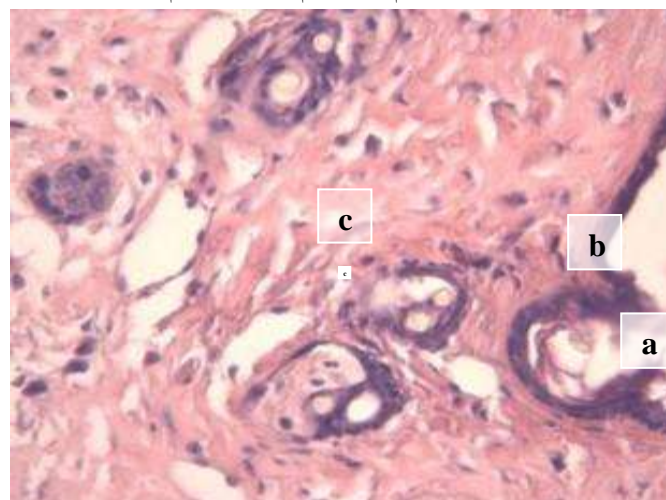
شکل ۲- تصویر SEM شبکه نانولیفی مخلوط کیتوسان/پلی‌وینیل‌الکل با نسبت‌های مختلف
 الف- تصویر SEM شبکه نانوالیاف خالص پلی‌وینیل‌الکل، $d=10\mu\text{m}$ و 20Kv بزرگنمایی $10000\times$. ب- تصویر SEM ساختار
 الکترورسی شده‌ی نانوالیاف کیتوسان/پلی‌وینیل‌الکل (۸۰:۲۰) بزرگنمایی $10000\times$. ج- تصویر SEM ساختار الکترورسی شده‌ی
 نانوالیاف کیتوسان/پلی‌وینیل‌الکل (۷۰:۳۰) بزرگنمایی $10000\times$



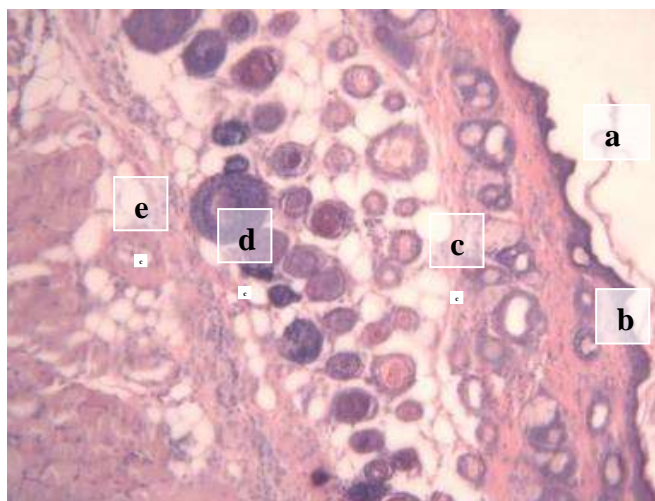
شکل ۳- فتومیکروگراف نمونه ی پوستی گروه کنترل سوخته (بزرگنمایی ۱۰۰)
a- لایه شاخی b- اپیدرم c- درم e- هیپودرم



شکل ۴- فتومیکروگراف نمونه پوستی گروه تجربی ۱ (بزرگنمایی ۴۰۰)
b- اپیدرم c- درم e- هیپودرم



شکل ۵- فتومیکروگراف نمونه پوستی گروه تجربی ۲ (بزرگنمایی ۴۰۰)
a- لایه شاخی b- اپیدرم c- درم



شکل ۶- فتومیکروگراف نمونه پوستی گروه تجربی ۳ (بزرگنمایی ۱۰۰)
 a- لایه شاخی b- اپیدرم c- درم d- فولیکول مو e- هیپودرم



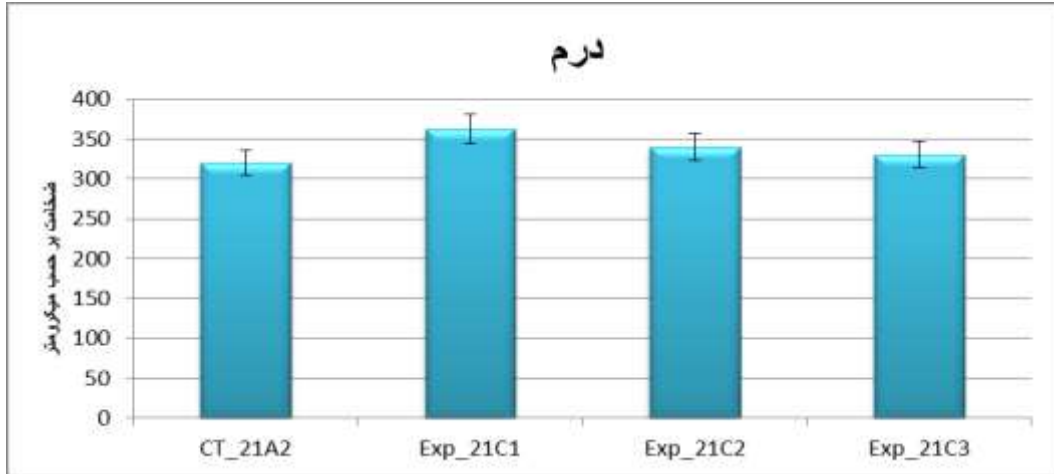
نمودار ۱- ضخامت اپیدرم در گروه‌های کنترل و تجربی او ۲ و ۳ ($p < 0.001$), $** (p < 0.01)$ و $* (p < 0.05)$

CT-A2: پوست سوخته شده با هویه و زخم ایجاد شده روند طبیعی ترمیم را دنبال می‌کند.

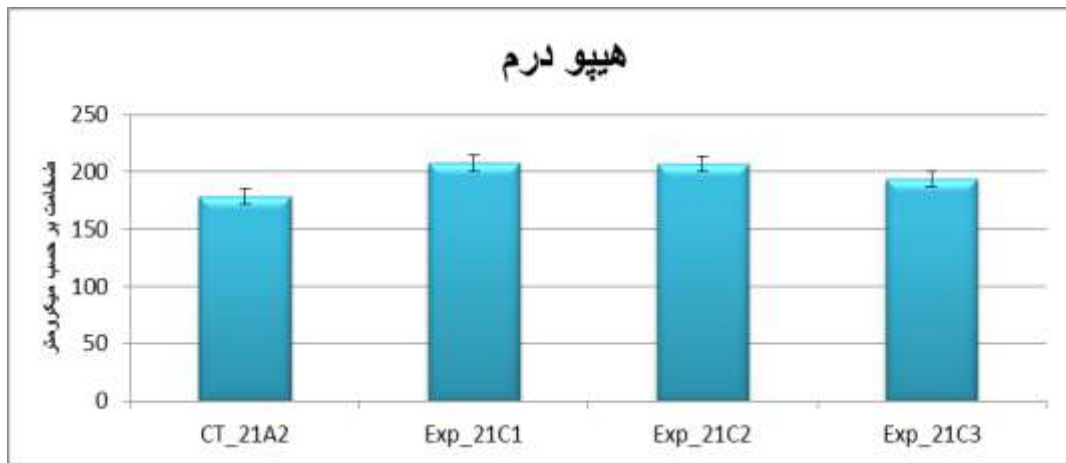
Exp-C1: واجد سوختگی و تیمار با داربست کیتوسان/ پلی وینیل الکل با نسبت ۷۰/۳۰

Exp-C2: واجد سوختگی و تیمار با داربست کیتوسان/ پلی وینیل الکل با نسبت ۸۰/۲۰

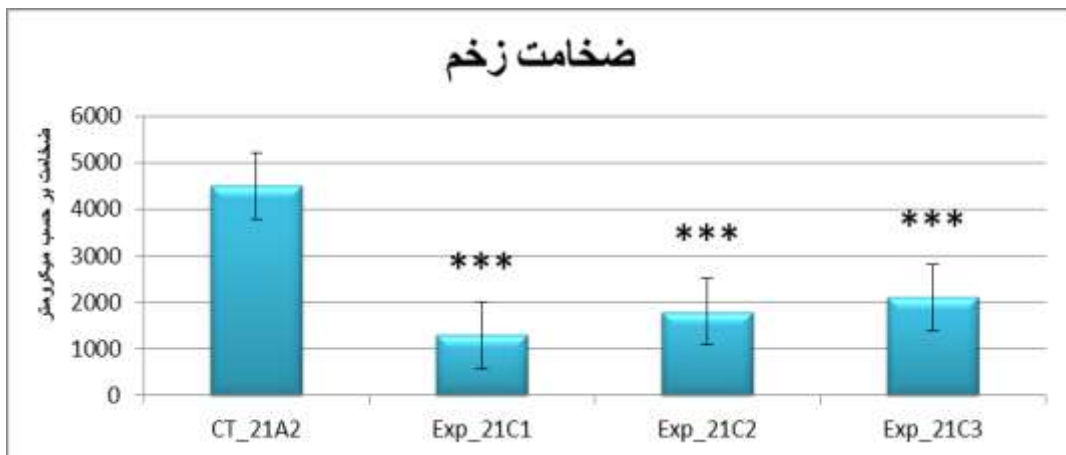
Exp-C3: واجد سوختگی و تیمار با داربست کیتوسان/ پلی وینیل الکل با نسبت ۱۰۰/۰



نمودار ۲- ضخامت درم در گروه‌های کنترل و تجربی ۱، ۲ و ۳ ($p < 0.001$)، $**$ ($p < 0.01$) و $*$ ($p < 0.05$) نسبت به گروه CT-A2: پوست سوخته شده با هویه و زخم ایجاد شده روند طبیعی ترمیم را دنبال می‌کند.



نمودار ۳- ضخامت هیپودرم در گروه‌های کنترل و تجربی ۱، ۲ و ۳ ($p < 0.001$)، $**$ ($p < 0.01$) و $*$ ($p < 0.05$) نسبت به گروه CT-A2: پوست سوخته شده با هویه و زخم ایجاد شده روند طبیعی ترمیم را دنبال می‌کند.



نمودار ۴- ضخامت زخم در گروه‌های کنترل و تجربی ۱، ۲ و ۳ ($p < 0.001$)، $**$ ($p < 0.01$) و $*$ ($p < 0.05$) نسبت به گروه CT-A2: پوست سوخته شده با هویه و زخم ایجاد شده روند طبیعی ترمیم را دنبال می‌کند.



بحث

بعنوان داربست لایه‌ای برای کشت سلول‌های فیبروبلاست L۹۲۹ در محیط *In vitro*، مشخص کرد که نانوالیاف مخلوط پلیمری سرعت تکثیر فیبروبلاست‌ها را افزایش داده پس می‌تواند در درمان سوختگی و زخم‌ها به عنوان زخم‌پوش به کار رود [۱۲]. در سال ۲۰۰۸ زائو و همکاران با به کارگیری کربوکسی اتیل کیتوسان و پلی وینیل الکل بعنوان پوشش زخم و بررسی کشت رده سلولی L۹۲۹ بر روی این داربست نشان داد که این داربست برای چسبندگی و تکثیر سلول‌ها مناسب است [۱۹]. در مطالعه ما نیز کاربرد مخلوط پلیمری کیتوسان و پلی‌وینیل‌الکل سرعت ترمیم را افزایش داد که با افزایش سرعت تکثیر فیبروبلاست‌ها، مهاجرت سلول‌ها و چسبندگی بیشتر در داخل بدن موجود زنده بود.

در گزارش ولی‌زاده و همکاران (۲۰۱۱) با بهره‌گیری همزمان از پلیمرهای کیتوسان/پلی‌وینیل‌الکل و تهیه نانو الیاف بهینه و استفاده از سلول‌های DAOY (تیره سلولی مدالوبلاستوما‌ی انسانی) روی داربست‌های تهیه شده در محیط *In vitro*، ارتقای تکثیر سلول‌های عصبی، به میزان قابل‌توجهی دیده شد [۱۸]. در بررسی ما نیز با به کارگیری داربست تهیه شده در محیط *In vivo* رشد و تکثیر سلول‌های پوستی را باعث شد.

جینانیاثو و همکاران (۲۰۰۱) با دستیابی به تاثیر کیتین، کیتوسان، مونومرها و الیگومرهای آن از طریق افزایش فعالیت‌های سلول‌های التهابی مانند لوکوسیت‌های پلی مورفونوکلئار، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها باعث تسریع روند ترمیم زخم شدند [۸]. اونثو و همکاران (۱۹۹۹) تأثیر کیتوسان را بر مراحل اولیه ترمیم زخم در مدل حیوانی سگ مطالعه و گزارش کردند که کیتوسان با افزایش حضور گویچه‌های سفید چندهسته‌ای، افزایش مهاجرت فیبروبلاست‌ها به سطح زخم و بهبود رشد و تکثیر آنها و افزایش مهاجرت ماکروفاژها در ترمیم سریعتر زخم نقش مؤثری دارد [۱۷]. بوکارد و همکارانش (۲۰۰۷) پس از بررسی ترمیم زخم پوست موش صحرایی

این مطالعه نشان داد که استفاده از داربست نانوالیاف کیتوسان و پلی‌وینیل‌الکل بر زخم سوختگی پوست موش موجب تسریع معنی دار روند بهبودی زخم از لحاظ ماکروسکوپی و میکروسکوپی ($P < 0/001$) و همچنین موجب کاهش معنی دار طول زخم (افزایش جمع شدگی) می‌شود که این می‌تواند بیشتر به دلیل کیتوسان موجود در پانسمان نانوالیاف الکترورسی شده باشد. پلیمرهای طبیعی، به دلیل برهمکنش‌های متقابل با سلول‌ها به منظور ترمیم زخم مناسب هستند. در این پروژه از تلفیق خواص پلیمر طبیعی کیتوسان و پلی وینیل‌الکل بصورت زخم پوشی مناسب جهت ترمیم زخم‌ها استفاده شد. کیتوسان به دلیل خواص ضدباکتری از عفونی شدن زخم جلوگیری می‌کند.

قلی پور و همکاران (۲۰۱۳) با تولید نانوالیاف مخلوط از کیتوسان (CS) و پلی‌وینیل‌الکل (PVA) و آزمایشات کشت میکروبی بر روی وب حاصله، خاصیت ضد میکروبی وب نانولیفی مخلوط نسبت به باکتری گرم-منفی سودوموناز آئورجینوزا نشان داده شد و نتایج کشت سلولی با سلول‌های فیبروبلاست نشان دهنده رشد بسیار مناسب سلول‌ها بر روی داربست حاصله بود [۵]. ایگناتوا و همکاران در سال ۲۰۰۷ توانستند آمونوم کیتوسان چهار تایی (QCS) و پلی وینیل پیرولیدن را الکترورسی و داربست حاصله را به عنوان یک زخم پوش مناسب به کار برند. کیتوسان با گروه‌های عاملی آمونوم خواص ضدقارچ و ضدباکتری دارد که این به دلیل حمله به غشای سیتوپلاسمی باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشد [۷]. در بررسی ما نیز خاصیت آنتی‌باکتریالی داربست‌های حاوی کیتوسان مشخص گردید در گروه‌های تحت درمان با این داربست-ها عفونت ایجاد نشد و این مسئله شرایط مناسبی را برای رشد و تکثیر سلول‌ها فراهم آورد و در این گروه‌ها ترمیم سریعتری در تشکیل لایه‌های پوستی و بسته شدن سریعتر زخم را شاهد بودیم. میرزائی (۲۰۱۲) با استفاده از پلی‌یورتان و کیتوسان با هم جهت کاربرد در زخم‌پوش‌ها



- 3- DiPietro L.A., Burns A.L. (2002), Wound healing, Humana Press, New Jersey, 3-16.
- 4- Elsner J.J., Shefy-Peleg A., Zilberman M. (2010), Novel biodegradable composite wound dressings with controlled release of antibiotics: microstructure, mechanical and physical properties. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 95: 425-435.
- 5- Gholipour-Kanani A., Bahrami S. H., Joghataie M., Samadi Kuchaksaraei A. (2013), Nanofibrous scaffolds based on poly(caprolactone)/chitosan/poly vinyl alcohol) blend for skin tissue Engineering. *Iranian Journal of Polymer Science and Technology*, 26(2): 159-170.
- 6- Gunn J., Zhang M. (2010), Polyblend nanofibers for biomedical applications: perspectives and challenges. *Trends of Biotechnology*, 28:189-197.
- 7- Ignatova M., Manolova N., Rashkov I. (2007), Novel antibacterial fibers of quaternized chitosan and poly (vinyl pyrrolidone) prepared by electrospinning. *European Polymer Journal*, 43: 1112-1122.
- 8- Jianbiao Ma., Hongjun W., Binglin H., Jiatong C. (2001), A preliminary in vitro study on the fabrication and tissue engineering applications of a novel chitosan bilayer material as a scaffold of human neonatal dermal fibroblasts. *Biomaterials*, 22: 331-336.
- 9- Laurencin C.T., Ambrosio A.M.A., Borden M.D., Cooper J.J.A. (1999), Tissue Engineering Orthopedic Applications. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 1:19-25.
- 10- Li L., Hsieh Y.L. (2006), Chitosan bicomponent nanofibers and nanoporous fibers. *Carbohydrat*, 341:374-381.

توسط هیدروژل کیتوسان به این نتیجه دست یافتند که هیدروژل کیتوسان قادر به چسبندگی و مهاجرت و تکثیر سلولی می‌گردد و با تاثیر ژل کیتوهیل روی سوختگی پوست پس از طی دوره درمان نتایج تایید کردند که گروه درمان، ترمیم قابل قبولی داشتند. اپیدرم بصورت کاملاً طبیعی شکل گرفته بود و کراتینوسیت‌ها به شکل اولیه ظاهر شده اما در گروه کنترل بدون درمان کراتینوسیت‌ها دچار تورم شدند و اپیدرم به شکل غیرطبیعی ظاهر شد [۲]. در بررسی ما نیز این نتیجه حاصل شد که اگر ترمیم بدون پانسمان صورت گیرد منجر به تغییر رنگ ناحیه‌ی سوخته شده می‌گردد. پس افزودن کیتوسان به همراه پلی وینیل الکل در ترکیب داربست ارتقای التیام زخم را باعث شده و تغییر رنگ در ناحیه سوخته شده مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که الیاف نانو الیاف کیتوسان و پلی‌وینیل الکل روی ترمیم پوست سوخته موثر می‌باشد و با استفاده‌ی موضعی آن می‌توان از عمیق‌تر شدن زخم جلوگیری به عمل آورد.

تقدیر و تشکر

از همکاری دلسوزانه‌ی اساتید محترم گروه زیست‌شناسی و دانشکده‌ی علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و همچنین آقای مهندس علیرضا امیری ایبانه جهت همکاری برای اجرای این تحقیق قدردانی می‌شود.

منابع

- 1- Bhattarai N., Edmondson D., Veisheh O., Matsen F.A., Zhang M. (2005), Electrospun Chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials*, 26: 6176-6184.
- 2- Boucard N., Viton C., Agay D., Mari E., Roger T., Chancerelle Y. (2007), The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns. *Biomaterials*, 28: 3478-3488.



to materials in medicine. *Biomaterial science*, second ed.: Elsevier Inc.,

16- Sewall G.K., Robertson K.M., Connor N.P., Heisey D.M., Harting G.K. (2003), Effect of topical mitomycin on skin wound contraction. *Arch Facial Plast Surg*, 5: 59-62.

17- Ueno H., Yamada H., Tanaka I., Kaba N., Matsuura M., Okumura M. (1999), Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental openwound in dogs. *Biomaterials*, 20: 1407-1414.

18- Valizadeh S. (2011), Design and fabrication of novel nanostructured scaffolds using electrospinning in order to repair of neural cells. M.S., Biomedical engineering department, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic), Tehran,.

19- Zhou Y., Yang D., Chen X., Xu Q., Lu F., Nie J. (2007), Electrospun water-soluble carboxyethyl chitosan /poly(vinyl alcohol) nanofibrous membrane as potential wound dressing for skin regeneration. *Biomacromolecules*, 9:354-349.

11- Metcalfe A.D., Ferguson M.W. J. (2007), Bioengineering skin using mechanisms of regeneration and repair. *Biomaterials*, 28: 5100-5113.

12- Mirzaei E., Faridi-Majidi R., Shokrgozar M.A., Asghari Paskiabi F. (2014), Genipin cross-linked electrospun chitosanbased nanofibrous mat as tissue engineering scaffold. *Nanomedicine Journal*, 1:137-146.

13- Neamnark A., Sanchavanakit N., Pavasant P., Rujiravanit R., Supaphol P. (2008), Invitro biocompatibility of electro spun hexanoyalchitosan fibrous scaffolds towards human kerationcytes and fibroblasts. *Europe Polymer Journal*, 44:2060-2067.

14- Parivar K., Yaghmaie P., Hayati Roodbari N., Mohammadi Mohaghegh P. (2012), Effect of synchronized oral administration and topical application kombucha on third-degree burn wounds regeneration in mature rats. *Medical Sciences*,22:1-11.(persian)

15- Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E. (1996), An Introduction