ORIGINAL ARTICLE

Assessment of Electrospinning Antioxidant Nanofibers in Skin Exposure to Oxidative Stress

Saba Kalantary[1],
Farideh Golbabaei[2],
Masoud Latifi[3],
Mohammad Ali Shokrgozar[4],
Mehdi Yaseri[5]

[1] PhD in Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Professor, Department of Textile Engineering, Textile Excellence & Research Centers, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran
[4] Professor, National Cell Bank of Iran, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
[5] Associate Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received July 13, 2019 ; Accepted November 26, 2019)

Abstract

Background and purpose: Some skin injuries are caused by occupational skin exposures that are resulted from production of reactive oxygen species and oxidative stress (ROS). Thus, protecting the skin is a key issue. Recently, several surveys have introduced novel alternatives such as nanofibers for skin protection. In this research, Poly (ε-caprolactone) (PCL)/gelatin (Gt)/ Vitamin E (VE) was investigated as a nanofiber antioxidant protective layer in occupational skin exposures.

Materials and methods: Vitamin E was combined with PCL/Gt nanofiber mats by electrospinning method. The diameter of nanofibers and chemical characteristics were determined using scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Adhesion characteristics and proliferation of human dermal fibroblast cells (HDFC) on nanofibers were analyzed by Methylthiazol Tetrazolium (MTT) assay. Finally, we studied the application of PCL/Gt/VE nanofibers against oxidation stress induced by tert-butyl hydroperoxide (t-BHP).

Results: With increase in Vitamin E levels, the PCL/Gt/VE nanofibers were found to be thiner. The culture of HDF cells on nanofibers showed that adding Vitamin E to PCL/Gt mats caused increased attachment and proliferation of the cells. PCL/Gt/VE nanofibers significantly assisted human skin cells against ROS ($P< 0.001$).

Conclusion: According to current study, PCL/Gt/VE nanofibers could be an appropriate candidate for protecting skin against ROS as a novel method to maintain workers' health.

Keywords: gelatin, polycaprolactone, electrospinning, nanofiber, oxidative stress

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (186): 68-79 (Persian).

* **Corresponding Author: Farideh Golbabaei** - School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E-mail: fgolbabaei@tums.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 186 تیر سال 1399 (79-68)

ارزیابی نانوالیاف الکتروریسی شده آنتی اکسیدانی در مواجهه پوستی با استرس اکسیداتیو

صبا کلانتری[1]
فریده گلبابایی[2]
مسعود لطیفی[3]
محمدعلی شکرگزار[4]
مهدی یاسری[5]

چکیده

سابقه و هدف: برخی از مواجهه‌های پوستی شغلی منجر به ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود که با افزایش ریسک آسیب های پوستی همراه است. بنابراین، امکان حفاظت از پوست در برابر استرس اکسیداتیو ایجاد شده امری ضروری است. اخیرا برخی مطالعات انجام شده امکان استفاده از جایگزین‌هایی نوین همچون نانوالیاف برای حفاظت از پوست را معرفی کرده‌اند. این مطالعه با هدف امکان استفاده از نانوالیاف ژلاتین/پلی کاپرولاکتون/ ویتامین E به عنوان یک لایه حفاظتی آنتی‌کسیدانی به منظور حفاظت از پوست در مواجهه‌های شغلی انجام شد.

مواد و روش‌ها: ویتامین E از طریق روش الکتروریسی در نانوالیاف ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون بارگذاری شد. قطر الیاف و مشخصه های شیمیایی آن با استفاده از آنالیز عکس‌های SEM و FTIR تعیین گردید. چسبندگی و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست بر روی نانوالیاف توسط آزمون MTT بررسی شد. در نهایت کاربردپذیری نانوالیاف در مواجهه با استرس اکسیداتیو توسط مدل آنتی اکسیدانی ترت بوتیل هیدروپراکسید مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: قطر نانوالیاف با افزایش مقدار ویتامین E کاهش یافت. کشت سلول‌های فیبروبلاست بر روی نانوالیاف نشان داد که افزودن ویتامین E به نانوالیاف باعث اتصال و تکثیر بیش‌تر سلول‌ها می‌شود. نانوالیاف حاوی ماده آنتی‌اکسیدانی در مواجهه با رادیکال‌های آزاد به‌طور معناداری ($P<0/001$) بقاء و تکثیر سلول‌های پوست را حفظ کردند.

استنتاج: یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که نانوالیاف ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون/ ویتامین E می‌توانند کاندیدای مناسبی برای حفاظت از سلامت کارگران به عنوان یک رویکرد جدید حفاظتی در مواجهه پوستی در برابر استرس اکسیداتیو باشند.

واژه های کلیدی: ژلاتین، پلی کاپرولاکتون، الکتروریسی، نانوالیاف، استرس اکسیداتیو

مقدمه

تعداد زیادی از کارگران در صنایع و بخش‌های مختلف محیط‌های کاری با پتانسیل مواجهه با عوامل و ترکیبات مختلف فیزیکی و شیمیایی با امکان جذب پوستی قرار دارند. مواجهه شغلی پوستی می‌تواند منجر

مولف مسئول: فریده گلبابایی- تهران: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، E-mail: fgolbabaei@tums.ac.ir
1. دکترای رشته مهندسی بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
2. استاد، گروه مهندسی بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
3. استاد، گروه ساختارهای نانولیفی، دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران
4. استاد، انستیتوپاستور ایران، بانک سلولی ایران، تهران، ایران
5. دانشیار، گروه اپیدمیولوژی و آمار حیاتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1398/4/22 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1398/4/24 تاریخ تصویب : 1398/9/5

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

به بیماری‌های زیادی شود که اثرات ناگواری بر سلامت و ظرفیت انجام کار افراد دارد. براساس گزارش ادراه آمار کار در سال 2012 بیماری‌های پوستی 34400 مورد با نرخ 3/4 به ازای هر 10000 نفر بود که بیش از نرخ بیماری‌های تنفسی با 19300 مورد با نرخ 1/9 به ازای هر 10000 نفر بود(4-1). پوست بین انسان و عوامل فیزیکی و شیمیایی موجود در محیط اطراف به صورت یک عامل مداخله‌ای مهم عمل کرده و برای ورود بسیاری از عوامل مضر راه مهمی است، بنابراین به عنوان یک اندام هدف آسیب‌پذیر محسوب شده و در معرض عوامل خطرناک محیطی و شغلی قرار دارد(6،5). بخشی از این عوامل فیزیکی و شیمیایی مانند تابش فرابنفش، هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی، ترکیبات آلی فرار، اکسید نیتروژن، ذرات، فلزات سنگین و آرسنیک می‌توانند اثرات نامطلوب خود بر پوست را به‌وسیله استرس اکسیداتیو ایجاد کنند(7). بنابراین سلول‌های پوستی می‌توانند به‌طور مداوم در معرض رادیکال‌های آزاد اکسیژن در اثر مواجهه با عوامل محیطی اطراف خود باشند. رادیکال‌های آزاد اکسیژن با ایجاد استرس اکسیداتیو از طریق واکنش با غشای پلاسمایی و آغاز واکنش‌های لیپیدپراکسیداسیون و نیز رهاسازی مدیاتورهای پیش التهابی شروع‌کننده یک پروسه بیولوژیکی پیچیده هستند که منجر به آسیب‌هایی چون آسیب ژنتیکی، اختلال در مسیرهای پیام رسانی و اختلال در رشد سلولی و ... می‌شوند(۹،۸). از طرفی آنتی اکسیدان‌ها به عنوان یک عامل پیش بینی‌کننده می‌توانند نقش بسیار مهمی در کاهش اثرات نامطلوب ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایفا کنند(11،10). از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدان ویتامین‌ها می‌باشند که می‌توانند نقش مهمی در کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد ایفا کنند. ویتامین E از دسته ویتامین‌های محلول در چربی است که به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود در ترکیبات دارویی و انواع محصولات مراقبتی کاربرد فراوان دارد(14-12). این ویتامین از طریق تبدیل رادیکال آزاد اسید چرب پراکسیل به هیدروپراکسی سبب توقف انتشار آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد شده و محصولات پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می‌دهد، در عین حال به میزان قابل توجهی باعث افزایش محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون گلوتاتیون، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود(15).

از طرفی با پیشرفت علم نانو و ساختارهایی همچون نانوالیاف می‌توان از این ساختارها و ترکیبات برای کابردهایی همچون پیشگیری و مراقبت پوستی مانند سیستم‌های تحویل دهنده دارویی برای داروهای آب دوست و چرب دوست در موارد پوستی و موضعی با رهاسازی کنترل شده برای یک دوره زمانی مشخص و طولانی استفاده کرد. بنابراین امکان توسعه استفاده از محصولات مراقبتی و حفاظتی از پوست از طریق نانوالیاف با رویکرد پیشگیرانه وجود دارد. نانوالیاف با داشتن خصوصیاتی همچون مساحت سطحی بالا، خلل و فرج در سایز نانو، داشتن منافذ ارتباطی با یکدیگر، سازگاری با سلول و امکان بارگذاری ترکیبات مختلف از جمله ترکیبات با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی بر آن مطلوب هستند(17،16). تکنیک الکتروریسی به‌دلیل سادگی، هزینه پایین، قابلیت تنظیم و امکان صنعتی‌سازی در مقایسه با سایر روش‌های تولید نانوالیاف بسیار مورد توجه قرار گرفته است(20-18). این فرآیند شامل استفاده از یک میدان الکتریکی خارجی برای تبدیل محلول یا مذاب پلیمری به لیف است. با اعمال اختلاف پتانسیل الکتریکی به محلول پلیمری، قطره ایجاد شده در نوک سوزن شارژ شده و دافعه ایجاد شده بین بارهای الکتریکی در سطح قطره و جاذبه بین بارهای سطحی و بار الکتریکی مخالف در سطح جمع‌آوری کننده باعث نیرویی در جهت مخالف نیروی کشش سطحی می‌شود. در نهایت پس از رسیدن به ولتاژ بحرانی و غلبه نیروهای الکتروستاتیکی بر کشش سطحی قطره، جریانی سریع و پایدار از نوک سوزن و مخروط ایجاد شده و از نوک آن خارج می‌شود که به شکل یک شبکه بهم پیوسته از الیاف بسیار ظریف روی صفحه جمع‌آوری کننده

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

جمع‌آوری می‌شوند(21). طیف وسیعی از مواد پلیمری همچون کلاژن، ژلاتین، کیتوسان، پلی کاپرولاکتون، پلی‌لاکتیک اسید و یا ترکیبی از این مواد وجود دارد که قابلیت الکتروریسی داشته و از جمله برای کاربردهای پوستی قابل استفاده هستند(24-22). پلی کاپرولاکتون یک پلیمر زیست سازگار با ساختار نیمه کریستالی و قیمت پایین است که قابلیت الکتروریسی داشته اما سرعت تجزیه‌پذیری خیلی پایین همراه با تمایل آب دوستی پایین و تمایل اتصال سلولی کم از محدودیت‌های این پلیمر است. درحالی که پلیمری همچون ژلاتین به عنوان یک بیوپلیمر طبیعی با قیمت بسیار پایین، زیست سازگاری بسیار بالا و دسترسی تجاری راحت می‌باشد که معایبی همچون قدرت مکانیکی ضعیف و سرعت بالای تجزیه‌پذیری در شرایط فیزیولوژیک را داراست(25)، بنابراین استفاده از سیستم پلیمری ترکیبی (بیوپلیمر/ پلیمر سنتز شده) ژلاتین/ پلی‌کاپرولاکتون به‌دلیل بهبود خصوصیات مکانیکی و چسبندگی سلول و کاهش سرعت تجزیه پذیری بالا در فرآیند الکتروریسی در بسیاری از مطالعات مورد استفاده قرار گرفته است(26). هدف از انجام این مطالعه ساخت نانوالیاف پلی کاپرولاکتون/ ژلاتین با محتوی آنتی اکسیدانی به منظور بررسی امکان استفاده از این ترکیب به عنوان یک راهکار پیشگیرانه در مقابله با استرس اکسیداتیو از طریق حذف یا کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کارگران مواجهه یافته با عوامل فیزیکی و یا شیمیایی مضر ایجاد کننده رادیکال آزاد اکسیژن در محیط‌های کاری (در مرحله اول به صورت یک مطالعه برون تنی) می باشد.

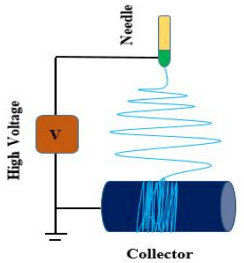
مواد و روش ها

مواد و تجهیزات

در این پژوهش از پلی‌کاپرولاکتون با وزن مولکولی 80000 گرم برمول، ژلاتین (نوع B، از پوست گاو)، اسید فرمیک، اسید استیک، ویتامین E (آلفا توکوفرول)، فسفات بافر سالین، اتانول، ایزوپروپیل الکل، گلوتارآلدئید، ترت بوتیل هیدرو پراکسید، تترازولیوم برماید شرکت سیگما (آمریکا) استفاده شد. محیط کشت DMEM و سرم جنین گاوی از Giibco, USA تهیه شد. سلول‌های فیبروبلاست انسانی از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. دستگاه الکتروریسی (Fanavaran Nano-Meghyas-ESDP30–Iran) جهت بافت نانوالیاف مورد استفاده قرار گرفت. همزن مغناطیسی (MR Hei-Standard, Heidolph) نیز از دیگر تجهیزات مورد استفاده در این مطالعه بود.

آماده سازی محلول پلیمری و انجام فرآیند الکتروریسی

به منظور تهیه نانوالیاف پلیمری ژلاتین/پلی کاپرولاکتون، در ابتدا به صورت جداگانه محلول پلیمری ژلاتین و پلی‌کاپرولاکتون 15درصد (وزنی/ وزنی) در حلال اسید استیک:اسید فرمیک با نسبت 1:9 در دمای اتاق تهیه شد. پس از 4 ساعت و انحلال کامل هر یک از پلیمرها در حلال‌ها، این دوپلیمر با نسبت 50:50 با یکدیگر مخلوط شدند. در ادامه ویتامین E با نسبت‌های وزنی/ وزنی 0/25 درصد، 1 درصد و 5 درصد به محلول پلیمری اضافه گردید (این نسبت‌ها براساس بررسی متون انتخاب شدند) و به مدت 20 ساعت در دمای اتاق همزده شد. به منظور انجام فرآیند الکتروریسی محلول پلیمری به داخل سرنگ با نیدل 23G منتقل شد و سپس با نرخ تغذیه 0/6 میلی‌لیتر بر ساعت، در حالی که فاصله سر نازل از صفحه جمع‌آوری کننده 15 سانتی‌متر و ولتاژ به‌کار رفته 12 کیلو ولت بود، نانوالیاف بر بستر آلومینیمی جمع‌آوری شد(28، 27)(تصویر شماره 1).



تصویر شماره 1: تصویر شماتیک فرایند الکتروریسی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

بررسی خصوصیات بستری نانوالیاف تهیه شده

به منظور بررسی مورفولوژی نانوالیاف تهیه شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی Scanning Electron Microscope (SEM) (DSM-960A Model, ZEISS, Germany) استفاده شد. بدین‌منظور نمونه‌ها با طلا پوشش داده شد و در ولتاژ 20 کیلو ولت بررسی و از آن‌ها تصویر تهیه گردید. به منظور تعیین قطر نانوالیاف نیز از نرم‌افزار Image J (ImageJ 1/44p) استفاده شد. به منظور تایید حضور ویتامین E در ساختار نانوالیاف ژلاتین/ پلی‌کاپرولاکتون، آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (Fourier Transform Infrared Assay (FTIR) (Nicolet Instrument Corporation, WI, USA در بازه cm^{-1} 400-5000 انجام گرفت.

استریل کردن نانوالیاف

پس از مرحله سنتز، نمونه‌ها (از هر نمونه شش بار تکرار) متناسب با چاهک‌های پلیت 24 تایی کشت سلول برش خورده و پس از شستشو با آب دیونیزه استریل شده، هر دو سمت نانوالیاف با کمک تابش فرابنفش (UV) به مدت 40 دقیقه استریل شد(29).

بررسی میزان بقاء سلول‌ها بر روی نانوالیاف پلی کاپرولاکتون/ژلاتین/ ویتامین E

فلاسک‌های 25 سانتی‌مترمربع حاوی سلول‌های فیبروبلاست انسانی تهیه شد. این سلول‌ها در محیط DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) حاوی 10 درصد سرم جنین گاوی (FBS) در انکوباتور با قابلیت تزریق 5 CO_2، رطوبت 95 درصد و دمای 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور بررسی میزان بقاء سلول‌های فیبروبلاست بر سطح نانوالیاف، پس از استریلیزاسیون نانوالیاف، 2×10^4 سلول به صورت سوسپانسیونی غلیظ بر روی سطح نانوالیاف قرار گرفت و سپس به مدت 4 ساعت به منظور چسبندگی بهتر سلول بر سطح نانوالیاف داخل انکوباتور قرار داده شد. پس از طی این زمان 250 میکرولیتر از محیط DMEM حاوی 10 درصد سرم جنین گاوی به هر چاهک اضافه گردید و سپس به منظور بررسی در بازه زمانی یک و سه روز داخل انکوباتور قرار داده شد. پس از طی هر یک از بازه‌های زمانی مذکور، محیط کشت هر چاهک خارج و به هر یک از آن‌ها 250 میکرولیتر محلول (MTT) تترازولیوم برمایید اضافه و به مدت 4 ساعت داخل انکوباتور قرار داده شد. پس از 4 ساعت به دلیل تشکیل کریستال‌های فورمازان رنگ محلول از زرد به بنفش تغییر می‌کند که به منظور حل این کریستال‌ها، 200 میکرولیتر ایزوپروپیل الکل اضافه و سپس به منظور قرائت توسط دستگاه الایزاریدر به پلیت 96 تایی منتقل و میزان جذب نوری محلول با استفاده از دستگاه الایزاریدر (ELISA, ICN, Switzerland) در طول موج 570 نانومتر تعیین شد(33-30).

بررسی چسبندگی سلولی

به‌منظور بررسی مورفولوژی و چسبندگی سلول‌های فیبروبلاست بر سطح نانوالیاف از تصاویر SEM استفاده شد. بدین منظور، پس از استریل نمودن نانوالیاف در پلیت‌های 24 خانه، 5×10^5 سلول بر سطح نانوالیاف قرار گرفت و برای بازه زمانی یک روز داخل انکوباتور قرار داده شد. پس از طی این بازه محیط کشت از چاهک‌ها خالی و سلول‌ها دو مرتبه با فسفات بافر سالین شسته داده شده و با گلوتارآلدئید 4 درصد به مدت 45 دقیقه تثبیت گردیده و با اتانول (96، 80، 60، 40، 20) درصد آبگیری و خشک شد. در نهایت مورفولوژی سلول‌های فیبروبلاست بر سطح هر یک از نمونه‌ها با استفاده از SEM (SEM DSM-960A Model, ZEISS, Germany) مشاهده گردید (34،30).

ارزیابی نانوالیاف پلی کاپرولاکتون/ژلاتین/ویتامین E در مواجهه با استرس اکسیداتیو

به جهت بررسی توانایی نانوالیاف حاوی ماده آنتی‌اکسیدان در حفظ سلول‌های فیبروبلاست در شرایط

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

حضور رادیکال‌های آزاد از ماده ترت بوتیل هیدرو پراکسید (t-BHP) به عنوان یک عامل ایجاد کننده رادیکال آزاد و به عنوان یک مدل اکسیداتیو استفاده شد. پس از استریلیزاسیون نانوالیاف، 2×10^4 سلول بر سطح نانوالیاف قرار گرفت و به مدت سه روز انکوبه گردید. پس از طی سه روز، به هر چاهک مقادیر مختلفی از ماده ترت بوتیل هیدروپراکسید (400، 200، 100، 0 میکرومول) اضافه و به مدت یک روز داخل انکوباتور قرار داده شد. سپس به منظور بررسی میزان بقاء سلول‌ها آزمون MTT به همان روشی که در بالا شرح داده شد انجام گرفت(12،35،36) .

بررسی آماری

تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم افزار SPSS (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) نسخه 24 انجام شد. تمام آزمایش‌های کشت سلولی به صورت شش بار تکرار صورت گرفت. به‌منظور بررسی تفاوت معنی‌داری بین داده‌های به دست آمده از آزمون آماری ANOVA (one-way Analysis of Variance) ($P<0/05$) استفاده شد. نتایج آزمایشگاهی به صورت مقدار میانگین ± انحراف معیار نشان داده شد.

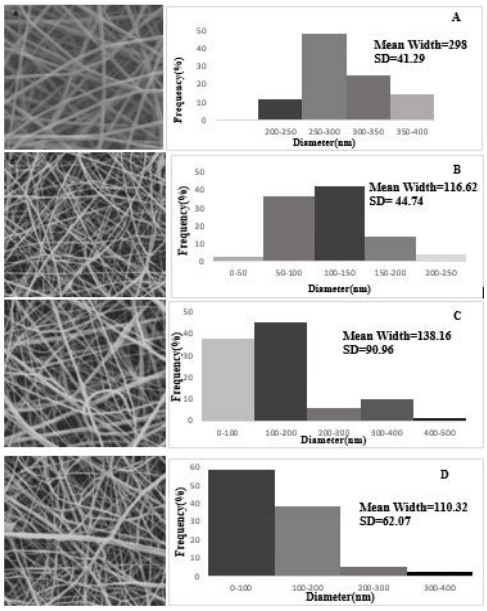
یافته ها

بررسی مورفولوژی نانوالیاف

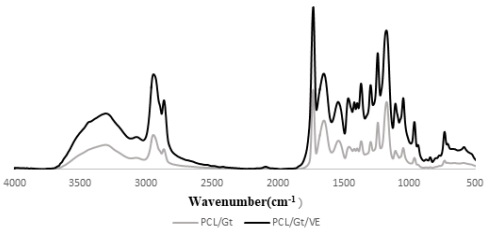
تصاویر SEM تهیه شده از هر یک از نانوالیاف ژلاتین/پلی کاپرولاکتون با درصدهای مختلفی از ویتامین E بارگذاری شده بر آن در تصویر شماره 2 نشان داده شده است. همان‌طور که دیده می‌شود کلیه نانوالیاف تهیه شده بدون بید بوده و به تدریج با اضافه شدن مقادیر بیش‌تری از ویتامین E میانگین قطر نانوالیاف کاهش یافته است.

طیف سنجی FTIR

نتایج تجزیه و تحلیل شیمیایی FTIR، برای توصیف گروه‌های عاملی در نانوالیاف به منظور اطمینان از حضور ویتامین E در ساختار نانوالیاف در تصویر شماره 3 ارایه شده است.



تصویر شماره 2: تصاویر SEM تهیه شده از نانوالیاف به ترتیب A) ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون B) ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون/ ویتامین E 0/25درصد C) ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون / ویتامین E 1 درصد D) ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون/ ویتامین E 5 درصد

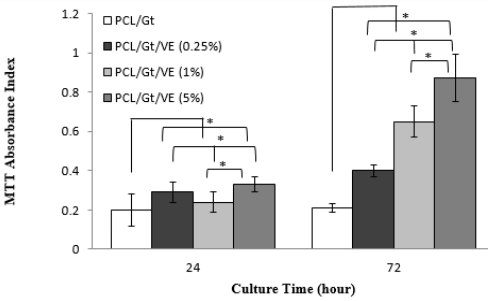


تصویر شماره 3: طیف FTIR به دست آمده از نانوالیاف ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون و ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون/ ویتامین E

بررسی میزان بقاء سلول های فیبروبلاست بر سطح نانوالیاف الکتروریسی شده

به منظور بررسی سمیت سلولی نانوالیاف تهیه شده و میزان زیست‌پذیری سلول‌های فیبروبلاست بر سطح نانوالیاف از آزمون MTT در طی یک بازه یک و سه روزه استفاده شد که نتایج آن در تصویر شماره 4 ارایه شده است.

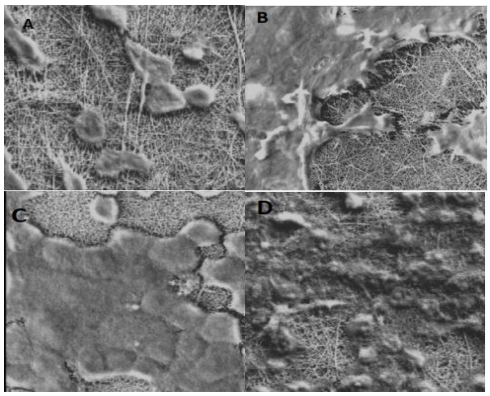
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]



تصویر شماره 4: نتایج تست MTT بین نمونه های مختلف تهیه شده در یک و سه روز پس از کاشت سلول ها. میزان زنده بودن سلول ها در تمام نمونه ها با یکدیگر اختلاف معنی دار داشت (P <0/001).

ریخت شناختی و چسبندگی سلول ها

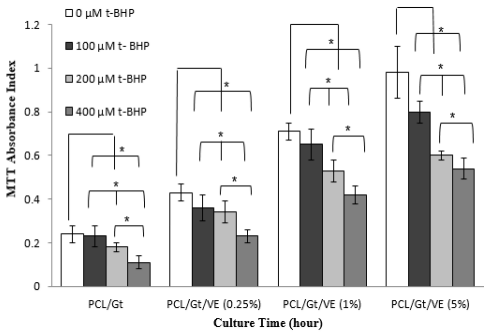
برای مطالعه رفتار چسبندگی سلول های کشت داده شده بر روی نانوالیاف، تصاویر SEM بعد از یک روز از زمان کشت تهیه شد(تصویر شماره 5). تصاویر SEM نشان داد که سلول‌های فیبروبلاست به‌خوبی روی نانوالیاف تکثیر یافتند و به تدریج با افزایش مقدار ویتامین E این تکثیر افزایش داشته است.



تصویر شماره 5: مورفولوژی سلول‌های فیبروبلاست کشت داده شده بر سطح نانوالیاف به ترتیب A) ژلاتین/ پلی‌کاپرولاکتون B) ژلاتین/ پلی‌کاپرولاکتون/ ویتامین E 0/25درصد C) ژلاتین/ پلی‌کاپرولاکتون/ ویتامین E 1 درصد D) ژلاتین/ پلی‌کاپرولاکتون/ ویتامین E 5 درصد

بررسی نانوالیاف ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون/ ویتامین E تحت شرایط استرس اکسیداتیو

میزان بقاء سلول‌های فیبروبلاست تحت شرایط اکسیداتیو در مواجهه با مقادیر مختلفی از ترت بوتیل هیدروپراکسید با استفاده از آزمون MTT تحت بررسی قرار گرفت که نتایج آن در تصویر شماره 6 شرح داده شده است.



تصویر شماره 6: نتایج تست MTT بین نمونه‌های مختلف تهیه شده در مواجهه با مقادیر مختلف از ترت بوتیل هیدروپراکسید. میزان زنده بودن سلول‌ها درتمام نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشت(P<0/001).

بحث

در این مطالعه امکان سنجی استفاده از نانوالیاف الکتروریسی شده ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون/ ویتامین E با هدف پیشگیری از ایجاد استرس اکسیداتیو در شاغلین در معرض مواجهه پوستی با رادیکال‌های آزاد مورد مطالعه قرار گرفت. همان‌طورکه از نتایج به‌دست آمده از تصاویر SEM و نیز میانگین قطر نانوالیاف (تصویر شماره 1) قابل مشاهده است می‌توان دید که با افزایش میزان درصد وزنی ویتامین E بارگذاری شده در نانوالیاف، قطر نانوالیاف کاهش یافته است. این امر احتمالا به دلیل افزایش هدایت الکتریکی محلول پلیمری در اثر حضور ویتامین E می‌باشد. با افزایش هدایت الکتریکی، بار الکتریکی بیش‌تری از طریق جریان شتابدار از محلول الکتروریسی می‌تواند حمل شود. بنابراین با افزایش بارهایی که روی محلول قرار می‌گیرند، کشیدگی محلول و امکان تشکیل الیاف هموار و بدون بید و با قطر کم‌تر، بیش‌تر می‌شود(37،38). تصویر شماره 3 طیف FTIR به دست آمده از نانوالیاف ژلاتین/پلی کاپرولاکتون/ ویتامین E و نانوالیاف ژلاتین/ پلی‌کاپرولاکتون به منظور

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

هر نوع تغییری در نوارهای جذبی را نشان می‌دهد. حضور باندهای کششی نامتقارن و متقارن CH_2 به ترتیب در $2944\ cm^{-1}$ و 2866، حرکت کششی گروه عاملی کربونیل در $1731\ cm^{-1}$، باندهای کششی C-O و C-C در $1294\ cm^{-1}$ و نهایتا ارتعاشات کششی نامتقارن و متقارن C-O-C به ترتیب در $1239\ cm^{-1}$ و 1172 وجود پلی کاپرولاکتون را در ساختار نانوالیاف اثبات می کند. برای ژلاتین نوارهای جذبی مربوط به ارتعاش کششی N-H در $3310\ cm^{-1}$ و نوارهای جذبی واقع در $1650cm^{-1}$ و 1539، متعلق به گروه‌های آمیدی II و I واقع شده است. حضور این گروه‌های آمیدی نشان دهنده وجود ساختار پروتئینی ژلاتین در ساختار نانوالیاف می‌باشد(41-39). برای تایید حضور ویتامین E وجود یک پیک ضعیف در $3473\ cm^{-1}$ که نشان دهنده حضور گروه های عاملی هیدروکسیل (OH) می‌باشد و نیز باندهای کششی ترانس CH2= در $919\ cm^{-1}$، باندهای نامتقارن متیل در $1461\ cm^{-1}$ و نهایتاً حضور پیک‌هایی در محدوده $1250cm^{-1}$-1050 به‌دلیل وجود پیوندهای کششی C-O نشان دهنده حضور ویتامین E در ساختار نانوالیاف می‌باشد(43،42،37) . بررسی سمیت سلولی نانوالیاف تهیه شده و چسبندگی آن از جنبه‌های مهم به منظور ارزیابی کارآیی این نانوالیاف به منظور کاربردهای مراقبتی پوستی است که این امر از طریق آزمون MTT و SEM بررسی شد. همان طورکه در تصویر شماره 4 مشاهده می‌شود تکثیر سلول های فیبروبلاست بر سطح نانوالیاف دارای ویتامین E در مقایسه با گروه کنترل بیش‌تر بوده و با افزایش زمان انکوبه شدن میزان بقاء و رشد بیش‌تر شده است. از طرفی با افزایش درصد وزنی ویتامین E در ساختار نانوالیاف میزان تکثیر سلول‌های فیبروبلاست نیز بیش‌تر شده است. این نتایج نشان می‌دهد که ویتامین E به عنوان یک ماده ایمن و غیر سمی به خوبی در ساختار نانوالیاف حضور دارد. با توجه به تصاویر SEM تهیه شده (تصویر شماره 5) پس از گذشت یک روز از انتقال سلول‌های فیبروبلاست بر روی نانوالیاف، تمایل سلول‌ها برای گسترش بر روی نانوالیاف حاوی ویتامین E در مقایسه با گروه کنترل بیش تر بوده و مقایسه نانوالیاف با درصدهای مختلف ویتامین نیز نشان می‌دهد که با افزایش میزان ویتامین E به طور معنی‌داری رشد سلول‌ها افزایش داشته است. این نتایج با نتایج مطالعات صورت گرفته قبلی همخوانی دارد(44،35،36،12). به منظور بررسی توانایی و ظرفیت خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوالیاف حاوی ویتامین از یک مدل آنتی‌اکسیدانی استفاده شد. همان‌طور که از تصویر شماره 6 می توان مشاهده نمود سلول‌های فیبروبلاست کشت داده شده بر روی نانوالیاف گروه کنترل در مواجهه با ماده ترت بوتیل هیدروپراکسید که توانایی ایجاد رادیکال آزاد را دارد در مقایسه با سلول‌های کشت داده شده بر روی نانوالیاف حاوی ویتامین به طور معنی‌داری آسیب‌پذیرتر هستند. وجود ماده آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین E در ساختار نانوالیاف به رشد و بقاء سلول‌های فیبروبلاست تحت شرایط استرس اکسیداتیو کمک نموده است که با افزایش میزان آن این توانایی افزایش داشته است. وجود گروه‌های هیدروکسیل در ساختار ویتامین E مسئول ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد(45،35). این نتایج با مطالعات صورت گرفته توسط Lin و همکاران(2016)، Fan و همکاران (2014) و Sheng و همکاران (2013) هم راستا بوده که در آن‌ها نیز استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی برای پیگشیری از آسیب‌های پوستی پیشنهاد شده است(44،36،12).

Ahn و همکاران (2018) تاثیر درمانی پروتئین سویا بارگذاری شده بر نانوالیاف سلولز استر بر سلول‌های پوست را بررسی کردند. این مطالعه نشان داد که نانوالیاف استرسلولز حاوی سویا باعث افزایش رشد، تکثیر، مهاجرت و نفوذ سلول‌های فیبروبلاست شده و سمیت سلولی کمی ایجاد می‌کند و این نانوالیاف می‌توانند روند بهبود زخم‌ها را تسریع کنند(46).

در مطالعه دیگری امکان استفاده از نانوالیاف ابریشم حاوی ویتامین E به منظور استفاده در محصولات

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

مراقبت پوست بررسی شد. نتایج این مطالعه بر مفید بودن استفاده از این نانوالیاف تاکید داشت و امکان استفاده بالقوه از نانوالیاف در زمینه محصولات مراقبت پوستی و سایر حیطه های مرتبط با آن را پیشنهاد داد(12). در سال 2010، Fati-Azarbayjani و همکاران یک نانولیف کلاژن حاوی ویتامین C، رتینوئیک اسید و نانو ذارت طلا به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدپیری تهیه نمودند. نتایج این مطالعه رهاسازی خوب این ترکیبات بارگذاری شده از سطح نانوالیاف و نفوذ بالای پوستی آن را به دلیل نسبت سطح به حجم بالای این نانوالیاف نشان داد. بنابراین امکان استفاده از این نانوالیاف به عنوان یک ماسک به عنوان یک محصول مراقبتی از پوست پیشنهاد شد(47). با توجه به آسیب‌های پوستی وسیع رخ داده ناشی از مواجهه با عوامل ایجاد کننده رادیکال آزاد در محیط های کاری و از طرفی پیشرفت علم نانو و امکان ساخت نانوالیاف الکتروریسی شده با توانایی امکان بارگذاری ترکیبات متنوع با اهداف مختلف بر آن با داشتن خصوصیات منحصر به فرد، امکان بررسی و معرفی یک رویکرد کنترلی و پیشگیرانه جدید برای محافظت پوستی از شاغلین در معرض پیشنهاد می‌شود. پیشرفت‌های اخیر در زمینه تولید نانوالیاف امکان طراحی رویکردهای جدید در قالب محصولات مراقبتی و درمانی، ماسک‌ها، کرم، لوسیون و ژل‌ها را فراهم کرده است. با این منظور، هدف مطالعه حاضر امکان سنجی تولید نانوالیاف الکتروریسی شده ژلاتین/ پلی کاپرولاکتون / ویتامین E به عنوان یک محصول حفاظتی جدید با امکان استفاده بالقوه در حفاظت از پوست برای پیشگیری از اثرات مخرب استرس اکسیداتیو در محیط های کاری و برای حفظ سلامت کارگران بوده است و به نظر می رسد امکان ساخت چنین نانوالیافی با هدف حفاظت از پوست در سال‌های آتی توجهات زیادی را به خود معطوف نماید.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه با عنوان "امکان سنجی پیشگیری از آسیب‌های پوستی شاغلین در معرض رادیکال‌های آزاد ناشی از هیدروکربن‌های آروماتیک حلقوی با استفاده از لایه نانولیفی الکتروریسی شده آنتی‌اکسیدانی" است. همچنین، بخشی ازطرح مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران با کد طرح 35607-27-3-96 و کد اخلاق IR.TUMS.SPH.REC.1396.3723 می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

References

1. Anderson SE, Meade BJ. Potential Health Effects Associated with Dermal Exposure to Occupational Chemicals. Environ Health Insights 2014; 8(S1): 51-62.
2. Jahani A, Feghhi J, Makhdoum MF, Omid M. Optimized forest degradation model (OFDM): an environmental decision support system for environmental impact assessment using an artificial neural network. J Environ Plann Manag 2016; 59(2): 222-244.
3. Beigzadeh Z, Pourhossein M, Samiei S, Pourbabaki R, Pourhassan B, Motamedi Nejad H. Evaluation of pulmonary function of construction workers in Tehran city in 2017. JHSW 2019; 8(4):323-332 (Persian).
4. Jahani A. Forest landscape aesthetic quality model (FLAQM): A comparative study on landscape modelling using regression analysis and artificial neural networks. J For Sci 2019; 65(2): 61-69.
5. Mohania D, Chandel S, Kumar P, Verma V, Digvijay K, Tripathi D, et al. Ultraviolet radiations: Skin defense-damage mechanism. Ahmad S. (eds) Ultraviolet Light in Human

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

Health, Diseases and Environment. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 996. New York: Springer, Cham. 2017.

6. Jahani A. Sycamore failure hazard classification model (SFHCM): an environmental decision support system (EDSS) in urban green spaces. Int J Environ Sci Technol 2019; 16(2): 955-964.
7. Samiei S, Pourbabaki R. Risk Factors of Low Back Pain Using Adaptive Neuro-Fuzzy. AOH 201915; 3(2):339-345. (Persian).
8. Borska L, Andrys C, Krejsek J, Palicka V, Vorisek V, Hamakova K, Kremlacek J, Borsky P, Fiala Z. Influence of dermal exposure to ultraviolet radiation and coal tar (polycyclic aromatic hydrocarbons) on the skin aging process. J Dermatol Sci 2016; 81(3): 192-202.
9. Puri P, Nandar SK, Kathuria S, Ramesh V. Effects of air pollution on the skin: A review. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2017; 83(4): 415-423.
10. Selvaraj S, Fathima NN. Fenugreek Incorporated Silk Fibroin Nanofibers .A Potential Antioxidant Scaffold for Enhanced Wound Healing. ACS Appl Mater Interfaces 2017; 9(7): 5916-5926 (Persian).
11. Samiei S, Khadem M, Pourbabaki R, Ghazi-Khansari M, Shahtaheri S J. Protective Effect of Salvia officinalis Extract on Deltamethrin-induced Hepatotoxicity in Rats. J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29(178): 134-140 (Persian).
12. Sheng X, Fan L, He C, Zhang K, Mo X, Wang H. Vitamin E-loaded silk fibroin nanofibrous mats fabricated by green process for skin care application. Int J Biol Macromol 2013; 56: 49-56.
13. Jahani A, Mohammadi Fa. Aesthetic quality modeling of landscape in urban green space using artificial neural network. Journal of Natural Environment 2017; 69(4): 951-963 (Persian).
14. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N .Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, Pharmacogn Rev 2010; 4(8): 118-126.
15. Rohnavaz F, Mirzapour T, Bayrami A, Zahiri M. Antioxidant effects of alpha-tocopherol (vitamine E) on testis regeneration in busulfan-treated mice. Iran South Med J 2016; 19(4): 511-525 (Persian).
16. Taepaiboon P, Rungsardthong U, Supaphol P. Vitamin-loaded electrospun cellulose acetate nanofiber mats as transdermal and dermal therapeutic agents of vitamin A acid and vitamin .Eur J Pharm Biopharm 2007; 67(2): 387-397.
17. Jahani A. Modeling of forest canopy density confusion in environmental assessment using artificial neural network. Iranian Journal of Forest and Poplar Research 2016; 24(2): 310-322 (Persian)
18. Maleki M, Latifi M, Amani Tehran M, Mathur S. Electrospun core–shell nanofibers for drug encapsulation and sustained release. Polym Eng Sci 2013; 53(8): 1770-1779.
19. Chuysinuan P, Pavasant P, Supaphol P. Preparation and characterization of caffeic acid-grafted electrospun poly (l-lactic acid) fiber mats for biomedical applications. ACS Appl Mater Interfaces 2012; 4(6): 3031-3040.
20. Jahani A. Sycamore failure hazard risk modeling in urban green space. Jsaeh 2017; 3(4): 35-48 (Persian).
21. Safi S, Ghiaci M, Morshed M, Hosseni AK. The Study on Electrospinning of Nanofibers from Sodium Alginate and the Effects of Different Co-solvents on Electrospinning of Polymer Solution. Iran J Polym Sci Technol 2008; 20(5): 437-447. (Persian).
22. Nguyen TT, Ghosh C, Hwang SG, Dai Tran L, Park JS. Characteristics of curcumin-

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

loaded poly (lactic acid) nanofibers for wound healing. J Mater Sci 2013; 48(20): 7125-7133.

23. Goyal R, Macri LK, Kaplan HM, Kohn J. Nanoparticles and nanofibers for topical drug delivery. J Control Release 2016; 240: 77-92.
24. Rahmani M, Arbabi Bidgoli S, Rezayat SM. Electrospun polymeric nanofibers for transdermal drug delivery. Nanomed J 2017; 4(2): 61-70.
25. Binulal NS, Natarajan A, Menon D, Bhaskaran VK, Mony U, Nair SV. PCL–gelatin composite nanofibers electrospun using diluted acetic acid–ethyl acetate solvent system for stem cell-based bone tissue engineering. J Biomater Sci Polym Ed 2014; 25(4): 325-340.
26. Gautam S, Chou CF, Dinda AK, Potdar PD, Mishra NC. Fabrication and characterization of PCL/gelatin/chitosan ternary nanofibrous composite scaffold for tissue engineering applications. J Mater Sci 2014; 49(3): 1076-1089.
27. Denis P, Dulnik J, Sajkiewicz P Electrospinning and structure of bicomponent polycaprolactone/ gelatin nanofibers obtained using alternative solvent system. Int J Polym Mater Po 2015; 64(7): 354-364.
28. Dulnik J, Denis P, Sajkiewicz P, Kołbuk D, Choińska E. Biodegradation of bicomponent PCL/gelatin and PCL/collagen nanofibers electrospun from alternative solvent system. Polym Degrad Stab 2016; 130: 10-21.
29. Hashemi SS, Rajabi S, Mahmoudi R, Ghanbari A, Jafari Barmak M. The Investigation of Proliferation of Fibroblasts on Chitosan Scaffold in the Presenceof Hyaluronic Acid. Armaghane-dan esh 2018; 23(2): 134-145.
30. Mohammadi S, Ramakrishna S, Laurent S, Shokrgozar MA, Semnani D, Sadeghi D, et al. Fabrication of Nanofibrous PVA/Alginate Sulfate Substrates for Growth Factor Delivery. J Biomed Mater Res A 2019; 107 (2): 403-413.
31. Zamani F, Amani-Tehran M, Latifi M, Shokrgozar MA. The influence of surface nanoroughness of electrospun PLGA nanofibrous scaffold on nerve cell adhesion and proliferation. J Mater Sci Mater Med. 2013; 24(6): 1551-1560.
32. Sylvester PW. Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability. Methods Mol Biol 2011; 716: 157-168.
33. Mohamed E, Taheri M, Mehrjoo M, Mazaheri M, Zahedi AM, Shokrgozar MA, et al. In vitro biocompatibility and ageing of 3Y-TZP/CNTs composites.Ceram Int 2015; 41(10): 12773-12781.
34. Hassani Besheli N, Damoogh S, Zafar B, Mottaghitalab F, Motasadizadeh H, Rezaei F, Shokrgozar MA, Farokhi M .Preparation of a Codelivery System Based on Vancomycin/ Silk Scaffold Containing Silk Nanoparticle Loaded VEGF. ACS Biomater Sci Eng. 2018; 4(8): 2836-2846.
35. Fan L, Wang H, Zhang K, Cai Z, He C, Sheng X, et al. Vitamin C-reinforcing silk fibroin nanofibrous matrices for skin care application. RSC Adv 2012; 2: 4110-4119.
36. Fan L, Cai Z, Zhang K, Han F, Li J, He C, et al. Green electrospun pantothenic acid/silk fibroin composite nanofibers: Fabrication, characterization and biological activity. Colloids Surf B Biointerfaces 2014; 117: 14-20.
37. Fathi M, Nasrabadi MN, Varshosaz J Characteristics of vitamin E-loaded nanofibres from dextran. Int J Food Prop 2017; 20(11): 2665-2674.
38. Nelson B, Johnson M, Walker M, Riley K, Sims C. Antioxidant cerium oxide nanoparticles

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

in biology and medicine. Antioxidants 2016; 5(2): 15.

39. Heidari M, Bahrami H, Ranjbar-Mohammadi M. Fabrication, optimization and characterization of electrospun poly (caprolactone)/gelatin/ graphene nanofibrous mats. Materials Science and Engineering: C. 2017;78: 218-229.
40. Sattary M, Khorasani MT, Rafienia M, Rozve HS. Incorporation of nanohydroxyapatite and vitamin D3 into electrospun PCL/Gelatin scaffolds: The influence on the physical and chemical properties and cell behavior for bone tissue engineering. Polymers for Advanced Technologies 2018; 29(1): 451-462.
41. Chong LH, Lim MM, Sultana N. Fabrication and evaluation of polycaprolactone/gelatin-based electrospun nanofibers with antibacterial properties. Journal of Nanomaterials 2015; 2015.
42. Man YC, Ammawath W, Mirghani ME. Determining α-tocopherol in refined bleached and deodorized palm olein by Fourier transform infrared spectroscopy. Food Chemistry 2005; 90(1-2): 323-327.
43. Lee SB, Lin CY, Gill PM, Webster RD. Transformation of α-tocopherol (vitamin E) and related chromanol model compounds into their phenoxonium ions by chemical oxidation with the nitrosonium cation. The Journal of Organic Chemistry 2005; 70(25): 10466-1073.
44. Lin S, Chen M, Jiang H, Fan L, Sun B, Yu F, et al. Green electrospun grape seed extract-loaded silk fibroin nanofibrous mats with excellent cytocompatibility and antioxidant effect. Colloids Surf B Biointerface 2016; 139: 156-163.
45. Han J, Chen TX, Branford-White CJ, Zhu LM. Electrospun shikonin-loaded PCL/PTMC composite fiber mats with potential biomedical applications. Int J Pharm 2009; 382(1-2): 215-221.
46. Ahn S, Chantre CO, Gannon AR, Lind JU, Campbell PH, Grevesse T, et al. Soy protein/ cellulose nanofiber scaffolds mimicking skin extracellular matrix for enhanced wound healing. Adv Healthc Mater 2018; 7(9): 1701175.
47. Fathi-Azarbayjani A, Qun L, Chan YW, Chan SY. Novel vitamin and gold-loaded nanofiber facial mask for topical delivery. AAPS Pharm Sci Tech 2010; 11(3): 1164-1170.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]