ORIGINAL ARTICLE

Synthesis of Polyurethane/Hyaluronic acid/Royal Jelly Electrospun Scaffold and Evaluating its Properties for Wound Healing

Mehdi Movahedi[1],
Azadeh Asefnejad[2],
Mohammad Rafienia[3],
Mohammad Taghi Khorasani[4]

[1] PhD in Biomaterials, Department of Biomedical Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Biomedical Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3] Professor, Department of Biomaterials, Tissue Engineering and Nanotechnology, School of Advanced Medical Technologies, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[4] Associate Professor, Iran Polymer and Petrochemical Institute, Tehran, Iran

(Received Agust 1, 2020 ; Accepted October 11, 2020)

Abstract

Background and purpose: Studies showed that biocompatible and biodegradable materials in tissue engineering can be used to heal wounds. The aim of this study was to fabricate polyurethane/royal jelly/hyaluronic acid scaffold with suitable biological properties for wound healing using electrospinning method.

Materials and methods: In this applied experimental study, to make a nanofiber scaffold, 10% by weight/weight of polyurethane was dissolved at room temperature for 2 hours. Then, royal jelly (in different ratios) and hyaluronic acid (1% by w/w) were added to the polyurethane solution and electrospinning was performed. For biological evaluation, in vitro and finally in vivo analyses were performed.

Results: Polyurethane scaffold containing 1% w/w of hyaluronic acid and 6% w/w of royal jelly was fabricated by electrospinning method. Scanning electron microscope images showed bead-free uniform fibers. The diameter of scaffold fibers was 546.8 nm. The contact angle of the scaffold was 51.61^0 indicating the hydrophilic properties of the scaffold. Moreover, the scaffold did not show any toxicity. Royal jelly improved cell proliferation and increased the cell adhesion of the scaffold. In the in vivo analysis, the wound healing process in the presence of the prepared scaffold was 92.21% after 14 days.

Conclusion: Electrospun polyurethane scaffold containing 1% w/w of hyaluronic acid and 6% w/w of royal jelly was studied for the first time and in vitro and in vivo studies showed that this scaffold can be a suitable candidate in skin tissue engineering and wound healing.

Keywords: polyurethane, hyaluronic acid, royal jelly, skin tissue engineering

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 30 (192): 1-11 (Persian).

* **Corresponding Author: Mohammad Rafienia** - School of Advanced Medical Technologies, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran (E-mail: m_rafienia@med.mui.ac.it)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 192 دی سال 1399 (11-1)

ساخت و ارزیابی خواص نانوالیاف الکتروریسی شده پلی یورتان و هیالورونیک اسید و ژل رویال در ترمیم زخم پوست

مهدی موحدی[1]
آزاده آصف نژاد[2]
محمد رفیعی نیا[3]
محمد تقی خراسانی[4]

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات نشان می‌دهد از مواد زیست سازگار و زیست تخریب پذیردر مهندسی بافت می‌توان برای بهبود زخم بهره گرفت. هدف از انجام این پژوهش ساخت داربست پلی‌یورتان و ژل رویال و هیالورونیک اسید با روش الکتروریسی، برای دست یافتن به داربستی است که در محیط برون تن و درون تن دارای ویژگی‌های مناسب بیولوژیکی برای درمان زخم باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی - کاربردی، برای ساخت داربست نانوالیافی، ابتدا 10درصد وزنی/وزنی پلی‌یورتان در دمای محیط به مدت 2 ساعت حل شد. ژل رویال در نسبت‌های مختلف و هیالورونیک اسید (1 درصد وزنی/وزنی) به محلول پلی یورتان اضافه و الکتروریسی انجام شد. به منظور ارزیابی بیولوژیکی، آزمون برون‌تن و در نهایت آزمون درون‌تن انجام گرفت.

یافته‌ها: داربست پلی‌یورتان با محتوی 1درصد وزنی هیالورنیک اسید و 6درصد وزنی ژل رویال به روش الکتروریسی ساخته شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الیافی یکنواخت و بدون گره نشان داد. قطر الیاف داربست 546/8 نانومتر به‌دست آمد. زاویه تماس داربست 51/61 درجه بود که نشان می‌دهد داربست خاصیت آبدوستی دارد. از نظر تست سمیت نیز داربست سمیتی نشان نداد. ژل رویال تکثیر و چسبندگی سلولی داربست بهبود بخشید. در آزمون درون‌تن، روند بهبود زخم در حضور داربست تهیه شده، پس از 14 روز 92/21 درصد ارزیابی شد.

استنتاج: داربست الکتروریسی شده پلی‌یورتان با محتوی 1درصد وزنی هیالورنیک اسید و 6 درصد حجمی ژل رویال برای اولین بار مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج حاصل از مطالعات برون‌تن و درون‌تن این مطالعه نشان می‌دهد این داربست می‌تواند کاندیدای مناسبی برای مهندسی بافت پوست و بهبود زخم باشد.

واژه های کلیدی: پلی‌یورتان، هیالورونیک اسید، ژل رویال، مهندسی بافت پوست

مقدمه

ترمیم یا جایگزینی بافت آسیب دیده همواره از دغدغه‌های اصلی دانشمندان بوده است. در بحث سوختگی‌ها وسعت و عمق زخم به همراه سن بیمار تعیین کننده میزان مرگ‌ومیر می‌باشد(1). به علاوه در

مولف مسئول: محمد رفیعی نیا - اصفهان: دانشگاه علوم پزشکی اصفهان E-mail: m_rafienia@med.mui.ac.it
1. دکترای بیومتریال، گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران
2. استادیار، گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
3. استاد، گروه بیومتریال، نانوتکنولوژی و مهندس بافت، دانشکده فناوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران
4. دانشیار، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1399/5/11 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1399/5/13 تاریخ تصویب : 1399/7/20

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

سوختگی‌هایی که کل ضخامت پوست را دربر می‌گیرند، عناصر تجدیدکننده به‌طور کامل از دست رفته‌اند و امکان بازسازی پوست میسر نیست و حتی با مش‌های پوستی اتوگرافت، محل‌های اهدا برای پوشش‌دهی کامل در زخم‌های شدید کافی نیستند. پوست مهندسی شده به خصوص در موارد سوختگی بیش از 4 سانتی‌متر برای بستن و درمان زخم، جایگزین گرفت‌های پوستی قدیمی شده است(2). امروزه مهندسی بافت مهم‌ترین ابزار دانشمندان در تولید بافت‌ها و پروتزهای جایگزین برای ترمیم یا جایگزینی بافت آسیب دیده هستند(3). در این راستا نانوفناوری و به‌طور ویژه الکتروریسی به عنوان فناوری تولید نانو الیاف به دلیل ایجاد داربست‌های سه بعدی و متخلخل با مقیاس نانو که بسیار شبیه به ماتریس خارج سلولی بافت طبیعی می‌باشند، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند(4). نانو الیاف با داشتن ویژگی‌های منحصر به فرد، قابلیت ایجاد مسیری مناسب برای دریافت و فرستادن علائم زیست‌شیمیایی دارند. بدین‌ترتیب سلول‌های فیبروبلاست را به لایه پوست رویی جذب کرده و این سلول‌ها اجزای اصلی ماتریس خارج سلولی طبیعی را ترشح می‌کنند. افزون بر این ویژگی‌ها، ساختارهای نانو لیفی برای چسبندگی و تکثیر سلولی بسیار مناسب هستند(5). علاوه بر اهمیت ایجاد ساختار مناسب مشابه با ماتریس خارج سلولی، نوع زیست‌مواد پلیمری استفاده شده در تولید داربست‌های نانولیفی نیز از اهمیت بسیاری برخوردار است(6).

به طور کلی یک غشای پوستی ایده‌آل مهندسی بافت باید توانایی کنترل از دست رفتن مایعات و ایجاد رطوبت در محل زخم، جلوگیری از ایجاد عفونت، انقباض‌ها و اسکارها را داشته باشد(7).

در سال‌های اخیر از خواص هیالورونیک اسید به منظور تسریع و بهبود زخم‌های مزمن استفاده شده است و نتایج امیدوار کننده‌ای گزارش شده است و مشکلات ترمیم زخم برخی از زخم‌های حاد را که ممکن است به مزمن تبدیل شوند، برطرف کرده است(8،9).

هیالورونیک اسید به طور طبیعی پلیمر با خواص ویسکوالاستیک و رئولوژی (Rheology) منحصر به فردی است. ترشح هیالورونیک اسید سنتز را بر روی غشای سلولی و به‌طور مستقیم به‌فضای خارج سلولی انجام می‌دهند و هیالورونیک اسید قابلیت انجام سه فرآیند بیولوژیکی را دارد:

گسترش فضای خارج سلولی از طریق خواص جذب رطوبت، تعامل با چند مولکول خارج سلولی به شکل ماتریکس خارج سلولی و فعالکردن مسیرهای پیام‌رسانی داخل سلولی از طریق گیرنده‌های سطح سلول .

این عملکردهای بیولوژیکی ایجاد نقش پیچیده‌ای از اسید هیالورونیک در ترمیم بافت می‌کنند که باعث انجام تعدادی از فرآیندها مانند مهاجرت سلولی، تکثیر سلولی، سازماندهی ماتریس بافت گرانوله و آنژیوژنز (Angiogenesis) در بهبود زخم می‌شوند(10).

در واقع هیالورونیک اسید در هر مرحله از بهبود زخم نقش ایفا می‌کند. در مرحله التهابی، هیالورونیک اسید مهاجرت سلولی (فیبروبلاست‌ها، لنفوسیت‌ها و نوتروفیل) در محل ضایعات از طریق خواص رئولوژی آن فعال می‌کند. هیالورونیک اسید نیز تنظیم التهاب را با تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی و تحریک رگزایی بر عهده دارد. در طی مرحله گرانوله شدن، هیالورونیک اسید با مهاجرت و تکثیر فیبروبلاست، سنتز کلاژن و تکثیر سلول‌های اندوتلیال در تسریع مکانیزم ترمیم نقش دارد. مطالعات متعدد نشان داده اند که مصرف موضعی هیالورونیک اسید به‌طور قابل توجهی افزایش روند بهبود را تسریع می‌کند(11،12). از این‌رو با توجه به اهمیت هیالورونیک اسید در این مطالعه از این پلیمر طبیعی بهره گرفته شده است.

ژل رویال یکی از محصولات جانبی زنبور عسل است که در تحقیقات متعددی به عنوان ماده ترمیم‌کننده و آنتی‌باکتریال به کار رفته است. تجویز موضعی ژل رویال به‌طور قابل توجهی باعث افزایش اجزای ماتریکس خارج سلولی در فاز اولیه ترمیم می‌شود(13،14).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

پلی‌یورتان، پلیمری سنتزی است که کاربردهای زیادی در ساخت زخم‌پوش‌ها دارد. پلی‌یوراتان استحکام کششی مناسب دارد و محیط را نیز مرطوب نگه می‌دارد(15). همچنین پلی‌یورتان به عنوان یک سد در برابر باکتری‌ها نیز عمل می‌کند و عبور اکسیژن مناسبی دارد(16).

تا کنون هیچ مطالعه‌ای مبنی بر ساخت داربست الکتروریسی شده حاوی ژل رویال و هیالورونیک اسید بر روی ترمیم بافت پوست و پانسمان‌ها انجام نشده است و هدف از این پژوهش ساخت پانسمان الکتروریسی شده بر پایه پلی یورتان به منظور جلوگیری از عفونت زخم و ترمیم بافت است. به این منظور از پلیمر سنتزی پلی‌یورتان و پلیمر طبیعی هیالورونیک اسید که دارای خواص زیستی، تخریب‌پذیری و چسبندگی مناسبی می‌باشد، استفاده شد و از ژل رویال نیز در تهیه این داربست بهره گرفته شد. پانسمان مورد مطالعه به روش الکتروریسی تهیه گردید. برای بررسی مورفولوژی داربست ازمیکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. از آزمون زاویه تماس برای ارزیابی خاصیت آبدوستی داربست‌های الکتروریسی شده و از آزمون MTT برای بررسی تکثیر سلولی استفاده گردید و در نهایت آزمون حیوانی برای بررسی ترمیم زخم در مدت زمان مشخص انجام شد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی- کاربردی با کد اخلاق IR.MUI.REC.1396.3.846 مورد تایید قرار گرفته است. به منظور ساخت محلول الکترویسی ابتدا 10 درصد وزنی/وزنی پلی‌یورتان(PU) در حلال THF/DMF(50:50) در دمای محیط به مدت 2 ساعت حل شده است. سپس، 0/5 درصد وزنی/وزنی از هیالورونیک اسید (HA) در DMF با نسبت 1:1 به محلول فوق افزوده گردید. در ادامه ژل رویال(RJ) را در نسبت 3، 6 و 8 درصد وزنی/ وزنی به محلول HA-PU به مدت 4 ساعت افزوده گردید تا محلولی با ویسکوزیته بالا و کاملاً یکنواخت تهیه شود. محلول در سرنگ تعبیه شده و به صورت افقی در دستگاه الکتروریسی قرار گرفت. الکتروریسی نمونه ها، تحت ولتاژ 18 کیلوولت و سرعت جریان 1میلی‌لیتر بر ساعت انجام گردید. همچنین فاصله سرسرنگ تا جمع‌کننده 20 سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

روش های شناسایی

1- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای بررسی مورفولوژی داربست‌های پلیمری از نظر اندازه تخلخل‌ها، ارتباط درونی آن‌ها و مشخص شدن قطر الیاف، نمونه‌هایی با ابعاد $1\times1\ cm^2$ آماده و با طلا پوشش‌دهی و توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تصاویر آن تهیه شد.

2- آزمون زاویه تماس با قطره آب

به منظور بررسی آبدوستی داربست ها از سیستم اندازه‌گیری زاویه تماس، استفاده شد. نمونه در اندازه $12\ mm^2$بریده و روی یک پایه نگهدارنده قرار داده شد و دوربین (VCA Optima, AST Inc، ساخت کشور آمریکا) رو به روی آن تنظیم شد. مقدار2ml آب مقطر در یک سرنگ جای داده شده و سرنگ به طور عمود بر سطح داربست در بالای آن آماده شد. قطرات آب در 5 نقطه مختلف از سطح نمونه‌ها با میکروسرنگ قرار داده شدند (یک قطره آب مقطر به حجم حدود 2µl روی فیلم قرار گرفت). شکل قطره روی سطح با استفاده از دوربین مزبور پس از گذشت 30 ثانیه روی فیلم ثبت شده و زاویه تماس قطره با سطح، اندازه گیری شد. نتایج بر اساس میزان متوسط پنج اندازه گیری در نقاط مختلف هر داربست بود.

3- آزمون سنجش سمیت سلولی

آزمون سمیت سنجی مطابق استاندارد ISO10993-5 انجام شد. سپس نمونه‌های داربست تهیه شده، در محیط

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

کشت DMEM غوطه‌ور شدند. در این پژوهش از سلول‌های فیبروبلاست L929 استفاده شد. این سلول‌ها به صورت کشت چسبنده از بانک سلولی انسیتو پاستور تهران تهیه و تکثیر شدند. فیبروبلاست‌های تهیه شده به محیط DMEM غنی‌شده با 10 درصد FBS، ال‌گلوتامین 1 درصد، پنی‌سیلین G واستریتومایسین انتقال داده شد و در انکوباتور با شرایط 5 درصد گاز دی اکسیدکربن در دمای 37 درجه به مدت 3 هفته نگهداری گردید. ضمن اینکه هر 2 روز یک بار تعویض محیط کشت صورت گرفت تا سلول‌ها به تراکم 80 درصد برسند. در پاساژ سوم سلول‌ها تریپسینه شدند. سپس تعداد 10^5 سلول درون پلیت 24 خانه حاوی داربست‌های تهیه شده به مدت 5 روز درون انکوباتور نگهداری گردید. سپس سلول‌ها، 2 بار به وسیله PBS شسته شدند تا سلول‌های مرده خارج شوند. در فواصل زمانی 1، 4 و 7 روز بعد از کشت، آزمون MTT به منظور ارزیابی زنده مانی (میزان بقا) سلول‌ها انجام شد. در هر نقطهٔ زمانی، پس از تخلیه محیط کشت و شستشو با PBS، حدود 400 میکرولیتر محیط کشت همراه با 40 میکرولیتر محلول (MTT 5 میلی گرم بر میلی‌لیتر) به هر چاهک کشت اضافه گردید. سپس به مدت 4 ساعت در انکوباتور در دمای 37 درجهٔ سانتی گراد نگهداری شد. بعد از آن، محیط کشت به آرامی تخلیه شد و به منظور انحلال فرمازان، 200 میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید (DMSO)، به چاهک افزوده شد. جذب نوری در طول موج 540 نانومتر خوانده شد.

ارزیابی چسبندگی سلولی

جهت بررسی چسبندگی و مورفولوژی سلول‌ها بر روی داربست‌ها، بعد از 7 روز انکوباسیون نمونه‌ها، محیط کشت از روی آن‌ها تخلیه شد و جهت تثبیت سلول‌های چسبیده محلول گلوترآلدهید 4 درصد به مدت 30 دقیقه بر روی نمونه‌ها ریخته شد. سپس با الکل 50، 70، 90 و 100 درصد شستشو صورت گرفت و در نهایت در الکل 100 درصد به منظور تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی نگهداری شد.

مطالعه درون تن

در مطالعه درون تن، از موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی 200 تا 250 گرم استفاده شد. برای حصول اطمینان از عدم وجود هر گونه عفونت در بدن، حیوانات به خوبی مورد معاینه قرار گرفتند. موش‌های صحرایی در اتاق حیوانات با شرایط مناسب، درجه حرارت 2±22 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 40 تا 60 درصد و سیکل 12 ساعته روشنایی-تاریکی در شبانه روز درقفس‌های آلومینیومی جداگانه نگهداری شدند و تغذیه آن‌ها با حبه‌های (pellet) مخصوصِ حیوانات آزمایشگاهی و آب آشامیدنی لوله‌کشی صورت گرفت.

ایجاد زخم

به منظور ایجاد زخم ابتدا موش‌ها توسط تزریق درون صفاقی مخلوط کتامین 75 میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. سپس موهای پشت حیوان کوتاه گردید، سپس برشی به قطر یک سانتی‌متر در شرایط غیر عفونی بعد از آغشته کردن پوست با محلول بتادین، به کمک قیچی ایجاد شد.

گروه‌های آزمایشی

جهت بررسی تاثیرات داربست ساخته شده به 3 گروه آزمایشی و یک گروه کنترل نیاز بود. هر گروه شامل 6 رت بود. پانسمان‌های الکتروریسی شده را بر روی زخم قرار داده و با پارچه‌ای به شکل لباس آن را کاملا پوشاندیم. به‌طوری که رت‌ها نتوانند آن را باز کنند (تصویر شماره 1). برای گروه اول از پانسمان پلی یورتان جهت درمان استفاده شد. در گروه کنترل نیز زخم ایجاد گردید بدون آن که داربستی بر روی آن قرار بگیرد و روند بهبود زخم مورد مطالعه قرار گرفت.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

اندازه‌گیری درصد بهبود زخم مساحت زخم اندازه‌گیری شد و با استفاده از معادله شماره 1 درصد زخم و درصد بهبودی ارزیابی شد. جهت اندازه‌گیری طول زخم از نرم‌افزار Image J استفاده شد.



تصویر شماره 1: قرار دادن داربست الکتروریسی شده بر روی زخم سطحی ایجاد شده و پوشاندن آن دریکی از گروه‌های مورد آزمایش

معادله شماره 1 :

$$\text{درصد زخم} = \frac{\text{مساحت زخم در روز } x}{\text{مساحت زخم در اول}} \times 100$$

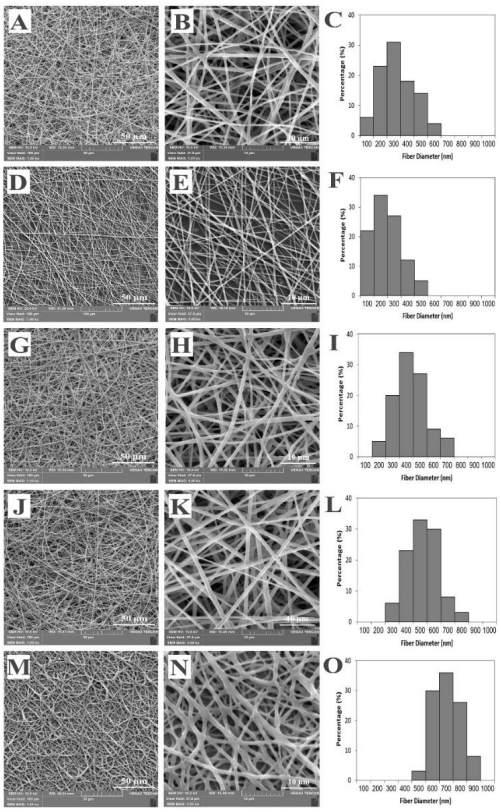
x : روزی که مساحت زخم اندازه‌گیری شده است.

سپس نتایج به دست آمده در گروه‌های آزمایشی و گروه‌های کنترل با یکدیگر مقایسه شدند.

داده‌ها به صورت انحراف‌معیار ± میانگین (Mean±SD) به‌دست آمد وبرای تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS (ویرایش 16) استفاده گردید و از آزمون آماری واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. سطح معنی‌دار بودن اختلافات با P<0/05 محاسبه گردید.

یافته ها

ساختار داربست‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. تصویر شماره 2، الیاف کاملا یکدست و تخلخل های باهم مرتبط را، نشان می‌دهد. در همه نمونه‌های مورد بررسی الیاف بدون گره خوردگی بر روی فویل آلومنیوم جمع‌آوری شده‌اند. همچنین با استفاده از نرم‌افزار Image J قطر الیاف محاسبه گردید.



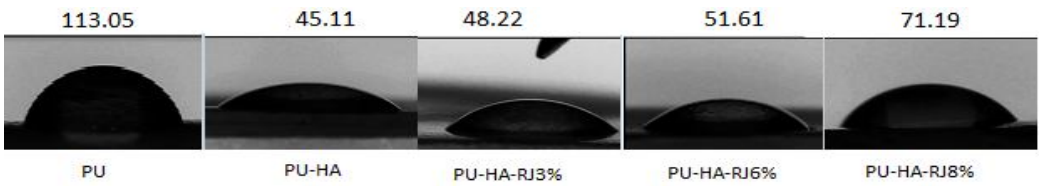
تصویر شماره 2: تصاویرSEM سطح داربست‌های الکتروریسی شده، A-C) داربست PU، D-F) داربست PU-HA، G-I) داربست PU-HA/3%RJ ، J-L) داربست PU-HA/6%RJ ، M-O) داربست PU-HA/8%RJ

قطر الیاف در نمونه‌های PU، PU-HA، PU/HA/3%RJ، PU/HA/6% RJ و PU/HA/8% RJ به ترتیب قطر 175/2، 208/4، 423/3، 546/8 و 926/3 نانومتر مشاهده شده است. به منظور بررسی میزان ترشوندگی سطح داربست‌ها، آزمون زاویه تماس انجام شد. با توجه به تصویر شماره3، تصاویر و نمودار زاویه قطره آب با سطح داربست در آزمون زاویه تماس با افزودن

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

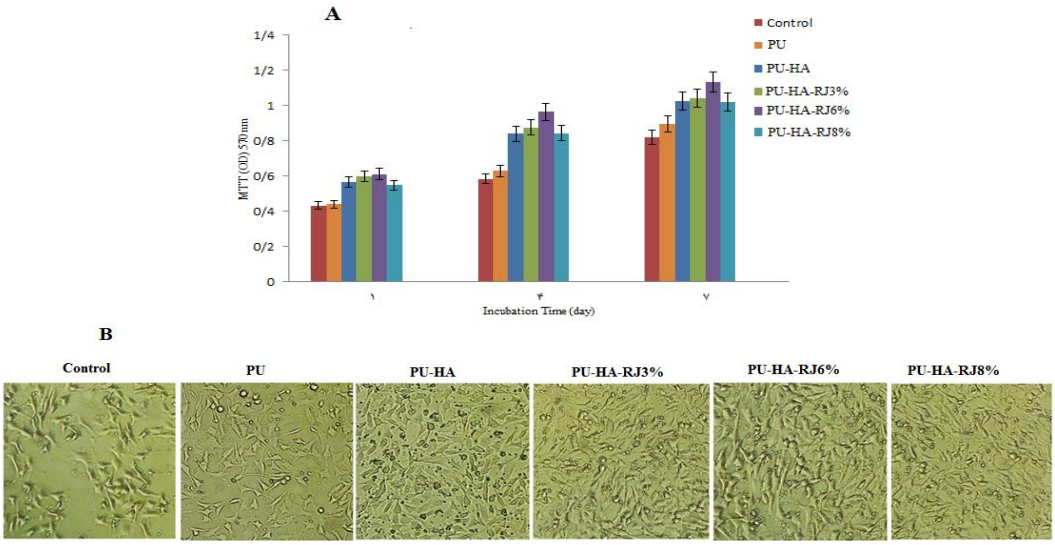
هیالورونیک اسید و ژل رویال در داربست الکتروریسی شده پایه پلی یورتان، باعث تغییرات زاویه تماس در بین 48 درجه تا 113 درجه می باشد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، با افزودن هیالورونیک اسید به پلی‌یورتان (PU-HA)، مقدار آبدوستی داربست بیش‌تر شده و زاویه تماس از 113 درجه به 45 درجه کاهش می‌یابد. افزایش مقدار ژل رویال بدلیل افزایش خاصیت هیدروفوبیک زاویه تماس افزایش پیدا می‌کند (زاویه تماس PU/HA/3%RJ، PU/HA/6% RJ و PU/HA/8% RJ به ترتیب 48/22 ، 51/61 و 71/19 درجه بوده است). در پژوهش حاضر حداکثر زاویه تماس مشاهده شده در بین نمونه‌های حاوی ژل رویال و هیالورونیک اسید، متعلق به نمونه PU/HA/8% RJ به میزان 71/19 درجه می‌باشد که می‌توان این اختلاف معنادار با دیگر نمونه‌ها را به افزایش مقدار ژل رویال در ساختار نسبت داد ($P<0/05$). برای بررسی تکثیر سلول‌ها بر روی داربست‌ها از آزمون MTT استفاده شد. به منظور بررسی سمیت داربست‌ها، سلول‌های L929 به‌مدت7 روز در مجاورت داربست پلی‌یورتان، و داربست‌های حاوی ژل رویال و هیالورونیک اسید قرارگرفتند. همان‌طورکه در تصویر شماره 4، ملاحظه می‌گردد، سلول‌ها بر روی داربست حاوی هیالورونیک اسید نسبت به داربست الکتروریسی‌شده پلی‌یورتان خالص و نمونه کنترل رشد بهتری داشته اند و نتایج تست MTT نشان می‌دهد در بین نمونه‌های حاوی هیالورونیک اسید و ژل رویال، سلول‌ها بر روی داربست نمونه PU/HA/6% RJ به‌طور معناداری بیش‌تر از نمونه کنترل و نمونه پلی‌یورتان خالص زنده مانده‌اند ($P<0/05$) و داربست‌های حاوی ژل رویال، نمونه PU-HA/8%RJ علی‌رغم حضور ژل رویال بیش‌تر، درصد زنده ماندن سلول کمی کاهش یافته است. از این رو در بررسی چسبندگی سلولی تنها چسبندگی و رشد سلول‌ها در نمونه PU/HA/6% RJ در روز چهارم مورد بررسی قرار گرفت و اختلاف چسبندگی این داربست با نمونه حاوی پلی یورتان خالص در تصاویر SEM پس از 4 روز از کشت سلولی نشان داده شده است. همان‌طور که در تصویر شماره 5 مشخص شده است سلول‌های فیبروبلاست به‌خوبی با الیاف داربست اتصال برقرار کرده‌اند.

اثر ترمیم زخم داربست‌های پلی‌یورتان-هیالورنیک اسید و ژل رویال بر روی موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار مورد مطالعه قرار گرفت (زخم به صورت سطحی ایجاد گردید). در تصویر شماره 4، مشاهده می‌شود سطح زخم در گروه‌های تحت درمان با داربست پلی‌یورتان در روز اول با سطح زخم در گروه کنترل برابر است. اما در روزهای 7 و 14، این اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$). بیش‌ترین اختلاف سطح بهبود زخم، در روز هفتم و چهاردهم بین گروه تحت درمان با داربست PU و گروه PU-HA- 6%RJ وجود دارد (تصویر شماره 6).



تصویر شماره 3 : تصاویر زاویه قطره آب با سطح داربست در تست زاویه تماس

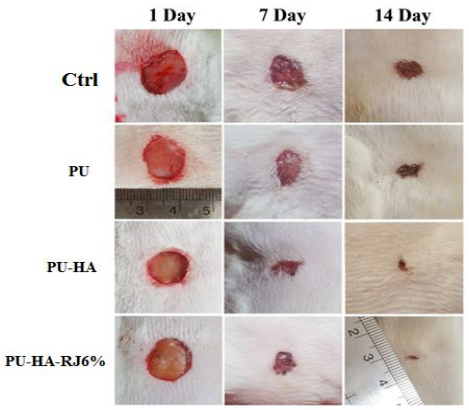
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]



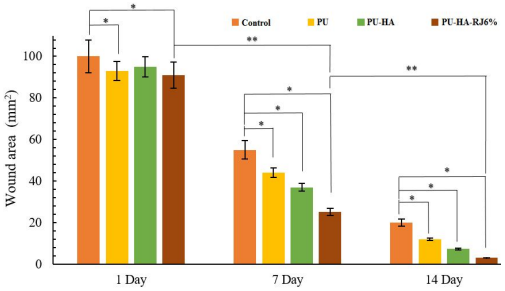
تصویر شماره 4 : (A) نمودار نتایج حاصل از سنجش MTT، میزان رشد سلول‌ها بر روی داربست ها در مقایسه با یکدیگر بعد از 1، 4 و 7 روز از کشت سلولی، (B) تصاویر میکروسکوپ نوری از رشد سلول‌های L929 بر روی داربست های الکتروریسی شده و نمونه کنترل در روز 4.

بحث

قطر الیاف داربست‌های حاوی ژل رویال از نمونه‌های بدون ژل رویال، بیش‌تر است. نتایج نشان می‌دهد با افزودن هیالورنیک اسید قطر الیاف تا حدودی افزایش می‌یابد اما این تغییر تفاوت معناداری با نمونه پلی‌یورتانی ندارد. در حالی که با اضافه کردن غلظت‌های مختلف ژل رویال، ویسکوزیته محلول بیش‌تر شده، قطر الیاف نیز افزایش یافته است. به عبارتی می‌توان گفت ویسکوزیته یکی از اثرگذارترین پارامترهای الکتروریسی در قطر الیاف می‌باشد که در نتیجه ویسکوزیته بالا الیاف با قطر بزرگ‌تر به دست می‌آید و پلیمرهای با وزن مولکولی بالا به دلیل افزایش ویسکوزیته در طول مسیر ریسندگی عموما مشکل ریسندگی دارند که می‌تواند به‌دلیل تبخیر حلال باشد(17). ویسکوزیته محلول حاوی 8 درصد ژل رویال بالا بوده و در نتیجه آن، الیاف مورفولوژی مناسبی نداشته اند. به همین دلیل این نمونه، شرایط را برای یک داربست ایده آل فراهم نمی‌کند. با همین دلیل شرایط را برای یک داربست ایده آل فراهم نمی‌کند. با توجه به نتایج تست زاویه تماس می‌توان



تصویر شماره 5 : تصاویر مقایسه‌ای اثر بهبودی زخم در گروه‌های مختلف الکتروریسی شده،



تصویر شماره 6 : نمودار روند بهبود زخم‌های ایجاد شده

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

گفت حضور هیالورونیک اسید در ساختار داربست به آن خاصیت هیدروفیلی بخشیده است. در واقع هیالورونیک اسید بدلیل داشتن گروه عاملی آبدوست (هیدروکسیل، کربوکسیلیک اسید، آمین) خواص هیدروفیلی داربست را تشدید می‌کند(18،19). اگرچه با اضافه شدن ژل رویال از خاصیت آبدوستی داربست کم شده است ولی با توجه به زاویه تماس داربست الکتروریسی شده پلی‌یورتان خالص، باز هم داربست از خاصیت هیدروفیلی برخوردار است. نتیجه تست سمیت MTT به دست آمده از این تحقیق، هیچ سمیتی برای درصدهای 3 درصد، 6 درصد و 8 درصد ژل رویال نشان نداده است و نتایج بدست آمده از نمودار مربوط به تست MTT، افزایش رشد و تکثیر سلول‌ها را در حضور هیالورونیک اسید و ژل رویال نشان می‌دهد. در این مطالعه بررسی چسبندگی سلولی روی داربست‌های حاوی هیالورونیک اسید و ژل رویال صورت گرفت و اتصال و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست بر روی داربست PU-HA/6%RJ نسبت به تکثیر سلول‌ها بر روی داربست الکتروریسی شده PU، به معنای رفتار سلولی مناسب ارزیابی گردید ($P<0/05$) و سلول‌های L929 رشد خوبی داشته‌اند. در مطالعه‌ای که Lian و همکارانش بر روی داربست الکتروریسی شده ژلاتین- هیالورونیک اسید انجام دادند مشخص شد سلول‌های L929، بر روی داربست حاوی ژلاتین و هیالورونیک اسید رشد چشمگیری نسبت به داربست الکتروریسی شده ژلاتین داشته‌اند(20). پس از کشت سلولی در روز چهارم، تصاویر میکروسکوپ نوری داربست‌ها مورد بررسی قرار گرفت (تصویر شماره 3B). این تصاویر به خوبی نشان می‌دهند، که در همه نمونه‌های الیاف الکتروریسی شده، سلول‌های فیبروبلاست به صورت مطلوبی نسبت به کنترل رشد کرده‌اند. در نهایت سلول‌ها در داربست PU-HA/6%RJ که شامل هیالورونیک اسید و ژل رویال (6 درصد وزنی) بوده است، رشد بیش‌تری داشته و توانسته بستر مناسبی برای رشد سلول‌های فیبروبلاست فراهم کنند.

این نتایج نشان می‌دهد سلول‌های فیبروبلاست به‌خوبی با الیاف داربست اتصال برقرار کرده‌اند و همچنین نفوذ سلول‌های فیبروبلاست به داخل داربست حاوی ژل رویال به‌خوبی انجام شده است. که این مساله می‌تواند کاربرد این نوع داربست‌ها را در مهندسی بافت پوست امیدبخش تلقی کند.

در مطالعات درون تن در روز چهاردهم در گروه سوم که حاوی هیالورونیک اسید و ژل رویال 6 درصد بوده است، روند بهبود زخم 92/21 درصد ارزیابی شد. درحالی که در گروه کنترل و داربست PU به ترتیب 69/43 و 60/52 درصد است. همچنین روز هفتم درصد بهبودی زخم در گروه PU-HA/6%RJ بیش‌تر از گروه تحت درمان با داربست PU و داربست PU-HA و گروه کنترل است که بیش‌ترین اختلاف معنی‌دار بین این گروه‌ها درروز چهاردهم بعد از جراحت دیده می‌شود. البته علاوه بر اثر ژل رویال، اثر هیالورونیک اسید نیز در بهبود زخم مشهود است. در مطالعات متعددی به ویژگی قدرت ترمیم زخم در بستر زخم ژل رویال و هیالوررنیک اسید اشاره شده است. Uppal و همکاران گزارش نموده‌اند که استفاده از هیالورونیک اسید برروی سرعت اپی‌تلیزاسیون زخم و همچنین عروق زایی جدید در موضع موثر است(21). Park و همکارانش، اثر تسریع‌کننده بهبودی زخم را در اثر مصرف ژل رویال بر روی پوست بیان نموده‌اند، آن‌ها نشان داده‌اند که ژل رویال باعث افزایش سرعت ساخت کلاژن شده و بهبودی زودتر حاصل شده است(22،23).

با توجه به ارزیابی‌های انجام شده در محیط برون‌تن و درون تن، می‌توان نتیجه گرفت داربست PU-HA/6%RJ پتانسیل بهره‌گیری در مهندسی بافت پوست را دارد.

سپاسگزار

این تحقیق با حمایت دانشکده علوم و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

فناوری‌های پزشکی، واحد علوم و تحقیقات تهران و دانشکده فناوری‌های نوین دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد که بدین وسیله از زحمات ایشان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

1. Talikowska M, Fu X, Lisak G. Application of conducting polymers to wound care and skin tissue engineering: A review. Biosensors and Bioelectronics 2019; 135: 50-63.
2. Shevchenko RV, James SL, James SE. A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. J R Soc Interface 2010; 7(43): 229-258.
3. Talikowska M, Fu X, Lisak G. Application of conducting polymers to wound care and skin tissue engineering: A review. Biosensors and Bioelectronics. 2019; 135: 50-63.
4. Nair LS, Laurencin CT. Biodegradable polymers as biomaterials. Progress in Polymer Science 2007; 32(8-9): 762-798.
5. Chen JP, Chang GY, Chen JK. Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2008; 313: 183-188.
6. Ambekar RS, Kandasubramanian B. Advancements in nanofibers for wound dressing: A review. European Polymer Journal 2019; 117: 304-336.
7. Kamel RA, Ong JF, Eriksson E, Junker JP, Caterson EJ. Tissue engineering of skin. Journal of the American College of Surgeons 2013; 217(3): 533-555.
8. Hussein Y, El Fakharany EM, Kamoun EA, Loutfy SA, Amin R, Taha TH, et al. Electrospun PVA/hyaluronic acid/L-arginine nanofibers for wound healing applications: nanofibers optimization and in vitro bioevaluation. International journal of biological macromolecules 2020; 164: 667-676.
9. Liu S, Zhang Q, Yu J, Shao N, Lu H, Guo J, et al. Absorbable thioether grafted hyaluronic acid nanofibrous hydrogel for synergistic modulation of inflammation microenvironment to accelerate chronic diabetic wound healing. Advanced Healthcare Materials 2020; 9(11): 2000198.
10. Hoekstra D. Hyaluronan-modified surfaces for medical devices. Medical Device and Diagnostic Industry 1999; 21: 48-56.
11. AB Hamid N, Bakar ABA, Mohamed M. Phytochemical analysis and gc-ms profile of royal jelly from selected areas in malaysia. Malayian Applied Biology 2018; 47(3): 101-107.
12. Cho YS, Lee JW, Lee JS, Lee J, Yoon T, Kuroyanagi Y, et al. Hyaluronic acid and silver sulfadiazine-impregnated polyurethane foams for wound dressing application. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2002; 13(9): 861-865.
13. Moon JH, Lee MY, Chung YJ, Rhee CK, Lee SJ. Effect of Topical Propolis on Wound Healing Process After Tonsillectomy: Randomized Controlled Study. Clinical and experimental otorhinolaryngology 2017; 11(2): 146-150.
14. Ramírez OJ, Alvarez S, Contreras Kallens P, Barrera NP, Aguayo S, Schuh CM. Type I collagen hydrogels as a delivery matrix for royal jelly derived extracellular vesicles. Drug Delivery 2020; 27(1): 1308-1318.
15. Sadeghianmaryan A, Karimi Y, Naghieh S, Sardroud HA, Gorji M, Chen X. Electrospinning of Scaffolds from the Polycaprolactone/

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

Polyurethane Composite with Graphene Oxide for Skin Tissue Engineering. Applied Biochemistry and Biotechnology 2020; 191: 567-578.

16. Khodabakhshi D, Eskandarinia A, Kefayat A, Rafienia M, Navid S, Karbasi S, et al. In vitro and in vivo performance of a propolis-coated polyurethane wound dressing with high porosity and antibacterial efficacy. Colloids and surfaces B, Biointerfaces 2019; 178: 177-184 (Persian).
17. Casper CL, Stephens JS, Tassi NG, Chase DB, Rabolt JF. Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. Macromolecules 2004; 37(2): 573-578.
18. Tan H, Chu CR, Payne KA, Marra KG. Injectable in situ forming biodegradable chitosan–hyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering. Biomaterials 2009; 30(13): 2499-2506.
19. Mao JS, Yin YJ, De Yao K. The properties of chitosan–gelatin membranes and scaffolds modified with hyaluronic acid by different methods. Biomaterials 2003; 24(9): 1621-1629.
20. Lian Y, Yuan L, Ji L, Zhang K. Gelatin/ hyaluronic acid nanofibrous scaffolds: biomimetics of extracellular matrix. Acta Biochim Biophys Sin 2013; 45(8): 700-703.
21. Uppal R, Ramaswamy GN, Arnold C, Goodband R, Wang Y. Hyaluronic acid nanofiber wound dressing—production, characterization, and in vivo behavior. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials 2011; 97B(1): 20-29.
22. de Almeida EB, Cardoso JC, de Lima AK, de Oliveira NL, de Pontes Filho NT, Lima SO, et al. The incorporation of Brazilian propolis into collagen-based dressing films improves dermal burn healing. Journal of Ethnopharmacology 2013;147(2):419-425.
23. Park HM, Hwang E, Lee KG, Han SM, Cho Y, Kim SY. Royal jelly protects against ultraviolet B–induced photoaging in human skin fibroblasts via enhancing collagen production. Journal of Medicinal Food 2011; 14(9): 899-906.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]