لیزرپزشکی؛ ۱۳۸۷، دوره ۵، شماره ۳و۴

مقاله پژوهشی

بررسی رفتار سلول‌های فیبروبلاست بر روی سیلیکون الاستومر پیوند شده با اسیداکریلیک بوسیله لیزر پالسی Co2 برای کاربردهای مهندسی بافت

حمید کشوری[۱]
حمید میرزاده [۲]
پروین منصوری[۳]
علیرضا زارع شحنه [٤]

[۱] دانشگاه صنعتی امیر کبیر، دانشکده مهندسی پزشکی، عضو هیئت علمی
[۲] پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، ریاست
[۳] دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، عضو هیئت علمی، رئیس بخش پوست بیمارستان امام خمینی
[۴] سازمان انرژی اتمی، بخش لیزر پلیمر

آدرس مکاتبه: دانشگاه صنعتی امیرکبیر، مرکز بهداشت، درمان
تلفن: ۶۴۵۴۳۱۴۱

خلاصه

در این تحقیق، ابتدا سیلیکون بعنوان ماده اولیه انتخاب گردید و پلی‌اکریلیک اسید با استفاده از لیزر ضربه‌ای CO_2 بر روی آن پیوند شد.

اثر پارامترهای لیزری بر میزان کاهش وزن ورقه های سیلیکونی توسط وزن کردن قبل و بعد از تابش بررسی گردیدند. علاوه بر این اثر چگالی پالس لیزری بر روی سطح نمونه ها توسط بررسی با اندازه‌گیری زاویهٔ تماس قطره آب میزان برداشت آب توسط سطح و نیز با کمک دستگاه ATR-FTIR و میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM) ملاحظه شد.

بعد از آن سلول‌های فیبروبلاست L929 بر روی سطوح خام و تغییر داده شده کشت داده شدند تا چسبندگی، گسترش و تکثیر سلولی بررسی شوند. نتایج آزمایشات in vitro بعد از ۱۲ و ۷۲ ساعت چسبندگی، گسترش و تکثیر سلولی قابل ملاحظه‌ای بر روی ورقه‌های سیلیکونی نشان دادند.

در حالی که سلول‌ها بر روی ورقه‌های پیوند شده با پلی اکریلیک اسید بر اساس میزان پلی اکریلیک اسید پیوند شده، چسبندگی، گسترش و تکثیر کمتری را نشان دادند. این نتایج نشان می‌دهند که سطوح تغییر داده شده فوق در ضمن آنکه چسبندگی، گسترش و تکثیر سلولی را کنترل می نمایند می توانند برای تثبیت پروتئین‌ها یا پلی ساکاریدها برای مهندسی بافت مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: سیلیکون، اسیداکریلیک، پلیمریزاسیون پیوندی، پیوند لیزری، کشت سلولی

مقدمه

پلیمرها در حوزهٔ مهندسی بافت بعنوان بیومواد، جذابیت زیادی را ایجاد کرده‌اند. مواد پلیمری، سطح حمایتی را برای تثبیت مولکول‌های فعال از نظر زیستی و نیز سلول‌های زنده ایجاد می‌کنند. داربست‌های ساخته شده از پلیمرهای غیرترموپلاستیک، استحکام و نرمی خوبی داشته و به سادگی به اشکال مختلف درمی‌آیند. ولیکن سطح آنها ممکن است واکنش مطلوب را با سلول‌ها نداشته باشد. طبیعت فیزیکی-شیمیایی و مرفولوژیکی پلیمرها است که بر واکنش با سلول در سطح تماس تأثیر می‌گذارد [۱]. این موضوع مشخص شده است که خواص سطحی یک زیست مواد، واکنش بین آن و محیط بیولوژیکی را تعیین می‌کند [۲]. کنترل چسبندگی سلولی به پلیمرهای مصنوعی یک عامل کلیدی در مهندسی بافت است، چون به نوبهٔ خود بر تکثیر، مهاجرت و رفتارهای فیزیولوژیکی ویژه انواع سلولی خاص تأثیر می‌گذارند [۳]. بنابراین پلیمرهای مصنوعی اغلب نیاز به تغییر انتخابی سطح برای ایجاد گروه‌های فعال اختصاصی به منظور اتصال مولکول‌های زیستی دارند [۱]. نیاز به تعویض یونی با خواص مناسب برای کاربردهای ویژه بخصوص با توجه به مشکلات موجود در تهیه منومرهای جدید، باعث توسعه روش‌های جدید و پیشرفته ای از جمله پلیمریزاسیون پیوندی شده است [۴].

پلیمریزاسیون پیوندی روش جالب توجهی است که در آن یک منومر دلخواه می‌تواند بر روی سطح پلیمر با اتصال کووالانسی در ضمن یک استحکام خوب پیوند گردد، بدون آنکه بر توده پلیمری تأثیر منفی گذارد [۵].

پلیمریزاسیون پیوندی سطح یکی از روش‌های چند منظوره برای طراحی ملکولی سطح پلیمر بمنظور بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی جهت کاربردهای ویژه است. مهمترین مزیت این روش آن است که خواص مختلف سطح اصلاح شده می تواند با کاربرد منومرهای مختلف بدست آید [۶].

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]

یکی از آسان‌ترین راه‌ها برای پیوند، ایجاد گروه‌های فعال بر روی سطح به منظور واکنش شیمیایی بین لایه پیوندی و ماده زمینه‌ای است [۷].

پلیمریزاسیون پیوندی مونومرها بر روی سطح مواد پلیمری با استفاده از منابع مختلف انرژی، روش مناسبی برای تغییر مطلوب خواص سطحی است. ولیکن بعضی از منابع انرژی باعث تخریب یا تغییر خواص مکانیکی توده پلیمر زمینه می‌شوند [۸].

در میان روش‌های مختلف تابش برای پیوند، تابش لیزری برای این منظور بسیار مناسب است. این روش برای تغییر سطح هر ماده، حتی پلیمرهای خنثی از نظر شیمیایی مانند سیلیکون کاربردی است. در این میان، استفاده از لیزر ضربه‌ای Co2 مزایای مشخصی از جمله اندازه بزرگ پرتو خروجی، انرژی زیاد، قابلیت تنظیم، ضربه‌ای، استفاده از گازهای غیرسمی، بازده بالا و در نهایت ارزانی و آسان بودن کار در مقایسه با دیگر لیزرها را دارا است [۹].

مکانیسم های متفاوت کندگی پلیمرها بوسیله لیزر co_2 و تأثیر پارامترهای مختلف لیزری بخصوص چگالی انرژی و تعداد پالس بر این کندگی قبلاً بررسی شده است [۱۰، ۱۱ و ۱۲]. در این بررسی‌ها مشخص گردید که کیفیت کندگی در مورد لیزر Co2 دیواره نسبتاً تمیز و صاف است [۱۰].

اثرات امواج مختلف لیزر Co2 بر این کندگی و تأثیر آنها بر میزان آبدوستی پلیمر نیز قبلاً مورد بررسی قرار گرفته است[۱۱].

از دهه ۱۹۵۰، سیلیکون کاربردهای وسیعی در وسایل پزشکی پیدا کرده است. پژوهش‌های بسیاری نیز بر روی خواص این ماده از جمله میزان سمیت، استحکام، پاسخ بافتی و نفوذپذیری اکسیژن انجام گرفته است. گرچه سیلیکون به واسطه نرمی، استحکام و سازگاری زیستی خوب قبلاً برای جایگزین بافتی بکار رفته، ولیکن مشکلات جدی در زمانیکه وسایل سیلیکونی برای مدت طولانی در بدن حیوانات کاشته می‌شوند، بوجود آمده است. این مشکلات شامل آسیب ناشی از اصطکاک مکانیکی با بافت و در نتیجه تشکیل بافت فیبروزی متراکم در اطراف سیلیکون می‌باشد. تغییر شیمیایی سطح سیلیکون بدون تغییر در خواص توده روش جایگزین برای کاهش این مسائل است [۱۳].

بطور معمول منومرهای حاوی So_3- ، Coo^- و Po_3^{2-} برای پلیمریزاسیون پیوندی بکار گرفته شده اند، از میان این منومرها، اکریلیک اسید که حاوی گروه هیدروفیل Coo^- می باشد، بدلیل قطبیت و چگالی چارج بالا و قیمت ارزان توجه زیادی را بخود معطوف نموده است [۴].

پلی‌اکریلیک اسید نوعی هیدروژلی است که خاصیت تورم در آب را دارد و یک کسر بزرگی از آب را در ساختار خودش بدون آنکه حل شود، نگه می‌دارد. هیدروژل‌ها خواص فیزیکی شبیه به بافت‌های انسانی را داشته و سازگاری بافتی خوبی را نشان می‌دهند. مهمترین عیب هیدروژل‌ها خواص مکانیکی ضعیف آنها پس از تورم است. برای برطرف کردن این عیب، معمولاً یک هیدروژل بر روی یک پلیمر زمینه با خواص مکانیکی خوب پیوند می‌گردد [۱۴]. پیوند دوتایی‌ها کربن- کربن در ساختار اسیداکریلیک به آسانی به پلیمرها متصل می‌گردد. علاوه بر این، ماده زمینه‌ای می‌تواند بعد از پلیمریزاسیون پیوندی نیز بر خواص فیزیکی و شیمیایی خود باقی بماند. همه این مزایا اسید اکریلیک را یک ماده شیمیایی معمول مورد استفاده در پلیمریزاسیون پیوندی می‌نماید [۱۵].

استفاده از لیزر برای پیوند اکریلیک اسید بر سیلیکون در گزارش‌های قبلی نیز دیده می شود [۱۲و ۱۶] و تأثیر دو پارامتر لیزری (تعداد پالس لیزر و دمای فرآیند) بر میزان پیوند قبلاً مورد بررسی قرارگرفته است [۱۲].

فیبروبلاست بطور ویژه‌ای برای آزمایشات زیستی اختصاصی حیوانی انتخاب شده است. زیرا این سلول یکی از عوامل زودرس در ترمیم زخم و بیشترین سلول در درم و دیگر بافت‌های همبندی است [۱۷].

در این بررسی، پیوند پلی‌اکریلیک اسید بر روی سطوح تابش داده شده سیلیکونی صورت گرفت.

برای این منظور از لیزر پالسی Co2 جهت تولید گروه‌های پراکسید بر سطح سیلیکون، که به طور معمول انرژی سطحی آزاد پایینی را نشان می‌دهد، استفاده گردید و سپس با کنترل شدت پالس لیزری، پلی‌اکریلیک اسید بر روی سطح فوق پیوند گردید. در نهایت سلول‌های فیبروبلاست (L929) بر روی ورقه‌های مختلف کشت داده شده و مقایسه گردیدند.

روش بررسی

مواد و روش‌ها:

- مواد

ورقه سیلیکونی مورد استفاده برای عملیات تابش، پلی‌دی‌متیل سیلوکسان (PDMS) با گرید پزشکی از شرکت Wacker آلمان بود. اسیداکریلیک (AA_c>99%) و کربودی‌ایمید محلول در آب (W.S.C) از شرکت Merck در این بررسی مورد استفاده قرار گرفت.

پخت (ولکانیزاسیون) سیلیکون: سیلیکون به شکل ورقه درآمده و بوسیله پرس داغ در قالب پخت گردید. سپس جهت خروج مواد اضافی و مضر از ورقه‌های سیلیکونی، عملیات استخراج توسط دستگاه سوکسله (Soxhlet Extraction) با استفاده از حلال تولوئن متانول (به نسبت حجمی ۶۰ به ۴۰) برای مدت ۴۸ ساعت انجام پذیرفت و سپس نمونه‌ها تا رسیدن به وزن ثابت در آون خلاء خشک شدند.

مرحله تابش

عمل پرتودهی با استفاده از یک دستگاه لیزر Co2 پالسی (Lumonics TEA 840/1) با محدودهٔ طول موج‌هایی بین ۹/۱- ۱۰/۶ μm ($1098Cm^{-1}$- $943\ Cm^{-1}$) انجام پذیرفت.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]

طول موج مورد استفاده μm ۹/۵۸ و فاصله نمونه‌ها از باریکه لیزر ۴۰cm بود و پرتودهی در مجاورت هوا و دمای اتاق انجام گرفت. بعد از پرتودهی، نمونه‌ها در آب دو بار تقطیر و چندین بار شستشو شده و تا رسیدن به وزن ثابت در یک آون خلاء خشک شده و کاهش وزن آنها اندازه‌گیری شد.

پلیمریزاسیون پیوندی

بعد از تابش لیزری، ورقه‌های سیلیکونی خام و تغییر داده شده در داخل رآکتور حاوی محلول آبی اسیداکریلیک ۳۰٪ قرار گرفتند. سپس بمنظور خروج گاز اکسیژن از محلول و ورقه های سیلیکونی، گاز N_2 از محلول‌های فوق در مدت ۲۰ دقیقه عبور داده شده بلافاصله بعد از آن بدون آنکه محتویات در معرض هوا قرار گیرند، دریچه رآکتورها بسته شده و پلیمریزاسیون پیوندی اسیداکریلیک بر روی سیلیکون تابش داده شده در $65\ ^{\circ}C$ به مدت ۴ ساعت صورت گرفت. هموپلیمرهای اسیداکریلیک تشکیل شده از روی ورقه‌های پیوندی بوسیله شستشوی چندین مرتبه با آب برداشته شد و نمونه‌ها در یک وضعیت استاندارد خشک شدند.

رطوبت‌پذیری

الف- آبدوستی توسط اندازه‌گیری زاویه تماس تشکیل شده بین قطرات آب و سطح نمونه‌ها با استفاده از سیستم اندازه‌گیری زاویه تماس، ارزیابی گردید. برای این منظور، قطرات آب در ۵ نقطه مختلف از سطح نمونه‌ها با میکروسرنگ قرار داده شدند. نتایج بر اساس میزان متوسط این پنج اندازه‌گیری در نقاط مختلف هر ورقه بود.

ب- برای مشخص کردن میزان برداشت آب توسط سطح، نمونه‌هایی که تا رسیدن به وزن ثابت خشک شده بودند، در آب دو بار تقطیر برای مدت ۳۰ ثانیه قرار داده شده و افزایش وزن اندازه‌گیری شد. میزان برداشت آب با استفاده از فرمول ذیل بدست آمد:

$$\text{میزان برداشت آب} = \frac{\text{وزن نمونه بعد از قرار دادن درآب- وزن نمونه قبل از قرار دادن در آب}}{\text{سطح}}$$

نتایج بر اساس میزان متوسط اندازه‌گیری برای هر سطح در ۵ نوبت بدست آمد.

آنالیز سطح

آنالیز سطح با استفاده از یک دستگاه اسپکترومتر (equinox 55) Brucher انجام گرفت. این دستگاه، حاوی کریستال Z_n-C_e و با ATR افقی بود که اسپکترای تولیدی از ۳۲ اسکن را به دست می‌داد.

آزمون *In Vitro* (کشت سلولی و رنگ‌آمیزی)

به منظور ارزیابی سمیت سلولی نمونه‌های اصلاح شده و همچنین بررسی رفتار سلولی بر روی این سطوح از آزمون کشت سلولی استفاده شد.

از هر فیلم سیلیکونی اصلاح نشده و اصلاح شدهٔ مختلف دو نمونه مشابه به ابعاد ۱×۱ سانتیمتر تهیه شده و در داخل پتری‌دیش قرار داده شده فیکس گردیدند. سپس ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی سلول روی آنها ریخته شد و به همراه نمونه کنترل به مدت ۱۲و ۷۲ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها از محیط کشت خارج گردیده با محلول PBS شستشو، تثبیت و رنگ آمیزی گردیدند.

تعداد و سطح سلول‌های چسبیده در سطح نمونه‌ها با استفاده از عکس‌های گرفته شده توسط میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی × ۴۰۰ با استفاده از نرم‌افزار Image Pro Plus نسخهٔ ۳۳ محاسبه گردید. بدین‌منظور از ۵ ناحیهٔ متفاوت در سطح هر نمونه عکس‌برداری گردید.

یافته ها

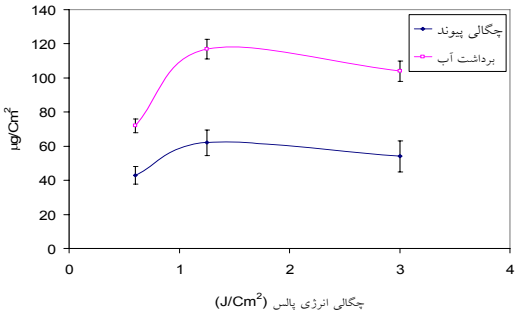
تابش لیزر

همانگونه که در گزارشات قبلی بیان شده است، واکنش اکسیداسیون در اثر تابش لیزر در طول موج μm ۹/۵۸ بر روی ورقه های سیلیکونی انجام می‌گیرد [۸ ، ۱۲و ۱۶].

علاوه بر آن، ما شاهد کاهش وزن نمونه‌ها بعد از تابش اشعه بودیم که ناشی از کندگی سطح می‌باشد [۱۰و ۱۲].

شکل شماره ۱ میزان کاهش وزن ورقه‌های سیلیکونی را بر اساس دو پارامتر چگالی انرژی و تعداد پالس لیزری نشان می‌دهد.

همانگونه که دیده می‌شود افزایش تعداد پالس لیزر در هر چگالی



شکل ۱- اثر چگالی انرژی پالس بر چگالی پیوند و برداشت آب توسط سطح تعداد پالس: ۱۰، فرکانس پالس: ۱، غلظت: ۳۰٪، زمان اکسیژن‌زدایی: ۲۰دقیقه، دما: $65\ ^{\circ}C$، زمان پیوند: ۴ ساعت

انرژی معین باعث کاهش وزن بیشتری می‌گردد که مشخصاً نشان‌دهنده افزایش کندگی و عمق سطح است [۱۰و۱۱].

علاوه بر این دیده می‌شود که با افزایش تعداد پالس، میزان کاهش وزن به نسبت بیشتری تغییر می‌کند. همچنانکه قبلاً نیز گزارش شده بعد از تابش پالس لیزر، سطح صاف سیلیکون به سطحی کاملاً ناصاف و حاوی خلل و فرج تبدیل می‌شود [۸]. که این مسئله خود می‌تواند سطح تماس پرتو را با ورقه تابش داده شده بیفزاید و این افزایش سطح تماس نیز خود می‌تواند بر میزان کندگی بیشتر تأثیر بگذارد.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]

در ضمن جدول شماره ۱ نشان می‌دهد کـه افـزایش چگـالی انـرژی پالس لیزر موجب کاهش وزن بیشتر در نتیجه کندگی بیشترمی شود که این مسئله نیز از قبل قابل انتظار است. البته در اینجا مشاهده مـی‌شـود که میزان کندگی در ۵ پالس و بـا چگـالی انـرژی $۱/۲۵ J/cm^2$ در حـدود میزان کندگی در ۱ پالس با چگالی انرژی $۳ J/cm^2$ اسـت. همانگونـه کـه مشاهده می‌شود میزان افـزایش چگـالی انـرژی بـسیار بیـشتر از میـزان افزایش پالس در کندگی مؤثر است. علت این مسئله را می‌تـوان مربـوط به عدم فرصت کافی برای تخلیه مواد تولید شده در سطح نمونه ناشـی از کندگی در پالس‌های بالاتر دانست.

جدول ۱- میزان کاهش وزن ورقه های سیلیکونی($\mu g/cm^2$)بعد از تابش لیزر پالسی Co2 با تعداد و چگالی انرژی مختلف پالس: طول موج : μm ۹/۵۸ - فرکانس : ۰/۵ هرتز

a – $۰/۶ J/cm^2$ و b- $۱/۲۵ J/cm^2$ و c- $۳ J/cm^2$

تعداد پالس / چگالی انرژی	a $\mu g/cm^2$	b $\mu g/cm^2$	c $\mu g/cm^2$
۱	۱۰	۴۵	۱۸۰
۵	۲۲	۱۹۰	۱۰۰۰
۱۰	۵۵	۵۲۰	۲۵۰۰
۲۰	۱۲۰	۱۱۰۰	۵۲۰۰

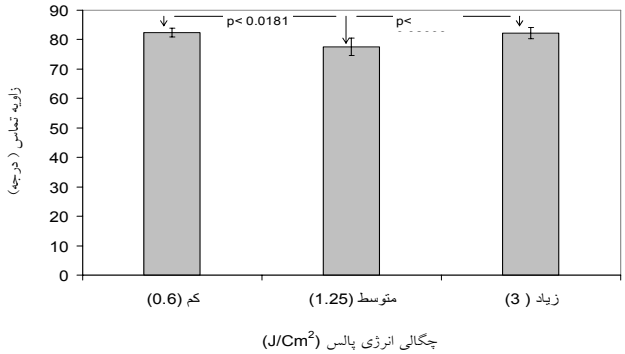
چون موارد کنده شده در پالس‌هـای اولیـه بـصورت تپـه در اطـراف محل بر همکنش روی سطح سالم انباشته می شوند [۱۰].

اثر چگالی انرژی پالس لیزری بر میزان پلیمریزاسیون پیوندی در سطح

در این قسمت از بررسی ها مشخص گردید که چگالی انرژی باریکـه لیزر اثر مهمی در میزان پیوند پلی‌اکریلیـک اسـید بـر سـطح سـیلیکون تابش داده شده دارد. نتایج به دست آمده در شکل‌های شـماره ۱، ۲ و ۳ دیده می‌شود.

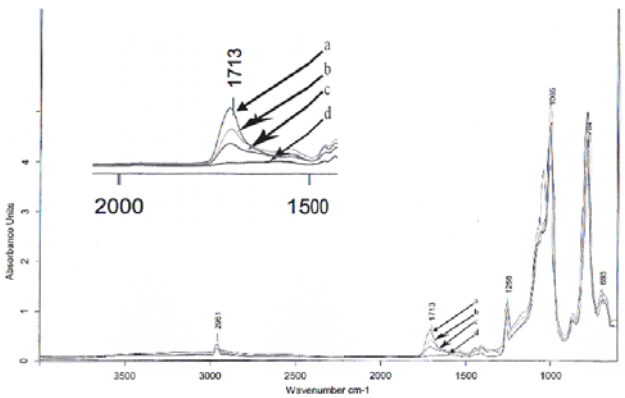
شکل شماره ۱ اثـر چگـالی انـرژی باریکـه لیـزر را بـر چگـالی پیونـد پلی‌اکریلیک اسید بر سیلیکون و میزان برداشت آب توسط سطح نمونه‌ها و شکل شماره ۲ میزان زاویه تماس را نشان می‌دهد.

از شکل شماره ۱ ملاحظه می‌شود که بیشترین میزان پیوند در چگالی انرژی لیزر حدود $۱/۲۵ J/cm^2$ بدست می‌آید و مـشاهده شـد کـه چگـالی انرژی کمتر ($۰/۶ J/cm^2$) و بیشتر ($۳ J/cm^2$) هـر دو سـبب کـاهش میـزان



شکل ۲- اثر چگالی انرژی پالس بر زاویهٔ سطح تماس با قطرهٔ آب تعداد پالس: ۱۰، فرکانس پالس:۱، غلظت: ۳۰٪، زمان اکسیژن‌زدایی: ۲۰دقیقه، دما: ۶۵ $^\circ C$، زمان پیوند: ۴ ساعت

چگالی پیوند و برداشت آب توسط سطوح اصـلاح شـده مـی‌گردنـد. ایـن مسئله را می‌توان به میزان تشکیل پراکسایدها ارتباط داد. چگالی انـرژی لیزری پایین به دلیل شدت اثر کمتـر، کـاهش تولیـد پراکـسایدها را بـه دنبال دارد و چگالی انرژی لیزری بالا نیز می‌تواند باعث کنـدگی بـیش از حد سطح و در نتیجه کاهش پراکـساید تولیـدی هـم ناشـی از تغییـرات بیشتر فیزیک سطح (مثل کندگی- Etching) و هـم ناشـی از تـشکیل بیشتر گروه‌های اکسیدی دیگر نسبت به تشکیل پراکسایدها باشـد. ولـی به هر حال مشخص است که اثر فیزیک سـطح بـر اثـر تغییـرات شـیمی سطح در چگالی های انرژی بالا غلبه می‌کند. از شکل شماره ۲ مـی‌تـوان دریافت که نمونه‌های اصلاح شده با چگالی انـرژی $۱/۲۵ J/cm^2$ کمتـرین زاویه سطح تماس و در نتیجه آبدوستی بیشتری را نـسبت بـه دو نمونـهٔ دیگر نشان می‌دهد که خود مؤید چگالی بالاتر پیوند پلی‌اکریلیـک اسـید نسبت به دو نمونه دیگر مـی‌باشـد. شـکل شـماره ۳ نیـز طیـف ATR-FTIR از سیلیکون خام و اصلاح شده با شـدت هـای مختلـف را نـشان می‌دهد.

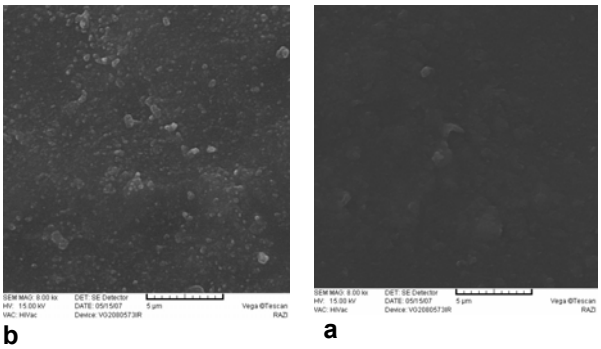


شکل ۳- اثر چگالی انرژی پالس بر طیف ATR-FTIR
a – $۱/۲۵ J/cm^2$، b – $۳ J/cm^2$ و c – $۰/۶ J/cm^2$، d – سیلیکون خام
تعداد پالس: ۱، غلظت: ۳۰٪، زمان اکسیژن‌زدایی: ۲۰دقیقه، دما: ۶۵ $^\circ C$، زمان پیوند: ۴ ساعت

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]

همانگونه که از این شکل برمی‌آید پیک مربوط به گروه C=O پلی‌اکریلیک اسید پیوندی بر سطح در چگالی انرژی $1/25\ J/cm^2$ (a-۳) بیشترین مقدار را دارد و در مورد چگالی انرژی $3\ J/cm^2$ (شکلb-۳) بیش از چگالی انرژی $0/6\ J/cm^2$ (شکلc-۳) می‌باشد. این پیک در هر دو شکل در مقایسه با سیلیکون خام (d -۳) نشان‌دهنده وجود پلی‌اکریلیک اسید پیوندی بر روی سطح‌های فوق می‌باشد.

شکل شماره ۴ نیز مرفولوژی سطح بدست آ مده از میکروسکوپ الکترونی رویشی را نشان می‌دهد. شکل (a) مربوط به سطح ورقهٔ سیلیکون خام و شکل (b) مربوط به سطح سیلیکونی پیوند شده با پلی‌اکریلیک اسید با ۳ پالس می‌باشد.



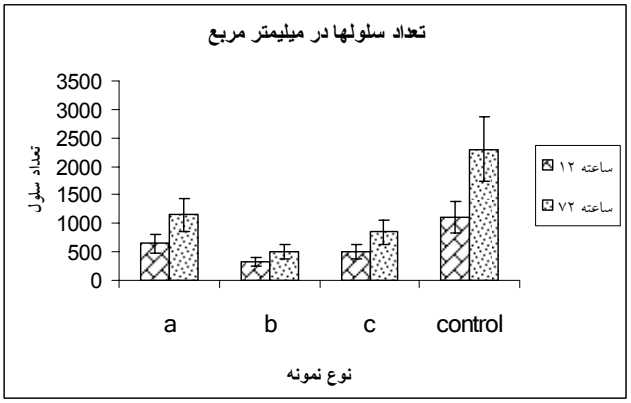
شکل ۴- SEM از a) سیلیکون خام b) پلی‌اکریلیک اسید پیوند شده با سیلیکون دما : $65\ ^\circ C$ ـ غلظت اکریلیک اسید: ۳۰٪ ـ زمان پیوند: ۴ ساعت- چگالی انرژی لیزر: ($1/25\ J/cm^2$ ـ تعداد پالس: ۳)

اثر چگالی انرژی پالس لیزری بر میزان چسبندگی و رشد سلول (In vitro)

تأثیر پیوند پلی‌اکریلیک اسید بر سیلیکون بر روی چسبندگی و گستردگی سلول‌های فیبروبلاست (L929) در شکل‌های شماره ۵ و ۶ آمده است.

همانگونه که در شکل شماره ۵ دیده می‌شود، تعداد سلول‌ها بر روی ورقه‌های سیلیکونی خام بیشتر از ورقه‌های حاوی پلی‌اکریلیک اسید پیوند شده بر روی سیلیکون می باشد. از آنجا که ۱۲ ساعت زمان کمی برای تکثیر سلولی است، این مقدار بیشتر نشان دهنده میزان چسبندگی تا رشد سلولی است. در ضمن سلول‌ها بر روی سیلیکون خام، گسترده‌تر شده و دارای زوائدی شبیه پاهای کاذب می‌باشند (شکل‌های a ۷ و a۸).

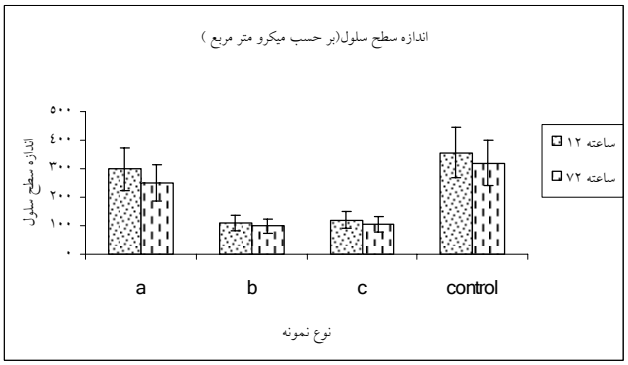
همانگونه که در شکل ۶ دیده می شود اندازه سلولی در سلول‌های رشد یافته بر ورقه های سیلیکونی و کنترل بیش از ورقه های پلی اکریلیک اسید پیوندی بر سیلیکون می باشد، بگونه ای که بر روی ورقه‌های حاوی پلی‌اکریلیک اسید پیوند شده بر روی سیلیکون سلول‌ها اغلب به شکل گرد و مدور دیده می‌شوند (شکل‌های b۷، c۷، b۸ و c ۸).



شکل ۵- تعداد سلول‌ها ($m\ m^{-2}$) بعد از ۱۲ و ۷۲ساعت SD ۱۰٪± بر روی سیلیکون خام(a) و پلی‌اکریلیک اسید پیوند شده بر سیلیکون با شرایط پیوند: غلظت ۳۰٪ ـ دما $65\ ^\circ C$ ـ زمان پیوند ۴ ساعت و فرکانس و پالس لیزری: ۱ و چگالی انرژی $1/25\ J/cm^2$ (b) ۱ و $3\ J/cm^2$ (c)

در ضمن مقایسه بین اشکال b۵ با c۵ وb۶ با c۶ نیز نشان می‌دهد که میزان چسبندگی و گسترش سلولی نسبت عکس با میزان پلی‌اکریلیک اسید پیوند شده بر سطح دارد.

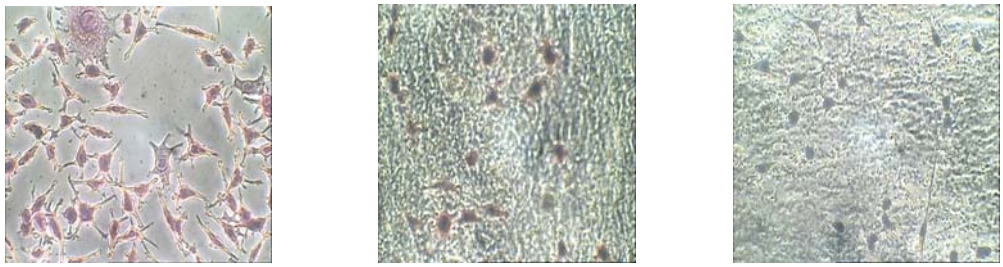
بنابراین به نظر می‌رسد پلی‌اکریلیک اسید نقش منفی بر چسبندگی و گسترش سلولی بر روی سطح دارد که علت آن را می توان وجود گروه‌های کربوکسیلی موجود در مولکول‌های پلی اکریلیک اسید که دارای بار منفی می‌باشند، نسبت داد.



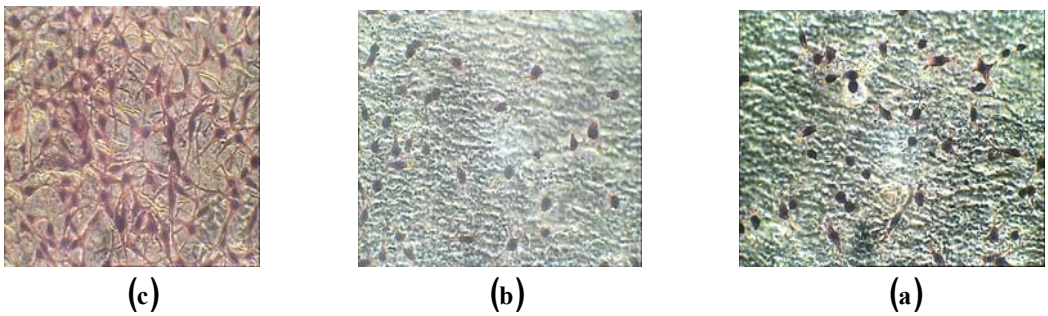
شکل ۶- اندازه سطح سلول‌ها ($\mu\ m^{-2}$) بعد از ۱۲ و ۷۲ ساعت SD ۷٪± بر روی سیلیکون خام (a) و پلی‌اکریلیک اسید پیوند شده بر سیلیکون با شرایط پیوند: غلظت ۳۰٪ ـ دما $65\ ^\circ C$ ـ زمان پیوند ۴ ساعت و فرکانس و پالس لیزری: ۱ و چگالی انرژی $1/25\ J/cm^2$ (b) ۱ و $3\ J/cm^2$ (c)

همانگونه که می‌دانیم اغلب پروتئین‌های غشاء سلول از جمله پروتئین‌های مؤثر در چسبندگی سلولی دارای بار منفی می‌باشند و بنابراین برای چسبیدن به سطوحی که دارای بار منفی می‌باشند تمایل کمتری دارند. بدین‌جهت به نظر می‌رسد که گرچه آبدوستی و رطوبت‌پذیری، عواملی مثبت برای چسبندگی و گستردگی سلولی بر

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]



شکل ۷- کشت سلولی بعد از ۱۲ ساعت بر روی سیلیکون خام (a) و پلی‌اکریلیک اسید پیوند شده بر سیلیکون با شرایط پیوند: غلظت: ۳۰٪ـ دما : $^{\circ}C$ ۶۵ ـ زمان پیوند :۴ ساعت و فرکانس پالس لیزری:۱ و چگالی انرژی J/cm^2 ۱/۲۵ (b) و J/cm^2 ۳ (c)



شکل ۸-کشت سلولی بعد از ۷۲ ساعت بر روی سیلیکون خام (a) و پلی‌اکریلیک اسید پیوند شده بر سیلیکون با شرایط پیوند: غلظت: ۳۰٪ـ دما : $^{\circ}C$ ۶۵ ـ زمان پیوند :۴ ساعت و فرکانس پالس لیزری:۱ و چگالی انرژی J/cm^2 ۱/۲۵ (b) و J/cm^2 ۳ (c)

روی سطوح پلیمری می‌باشند ولیکن شیمی و خصوصیات بار سطح نیز عوامل بسیار مهمی در این زمینه‌اند [۱۸].

همانگونه که در شکل شماره ۵ دیده می‌شود، تعداد سلولی در گروه‌های (a) و (b) مربوط به ۷۲ ساعت بعد از کشت نیز تفاوت محسوسی دارند، یعنی افزایش تعداد سلول‌ها بر اساس گذشت زمان در گروه a و کنترل در مقایسه با گروه b بیشتر است. بنابراین به نظر می‌رسد که با توجه به تأثیر زمان بر رشد و تکثیر سلولی وجود پلی‌اکریلیک اسید نقش نسبتاً منفی در تکثیر سلولی هم دارد. پس در ضمن آنکه بار منفی پلی‌اکریلیک اسید باعث گرد و مدور ماندن سلول‌ها می‌شود بدلیل بار منفی خود می‌تواند گیرنده‌های رشد بر روی سلول (مثل اینتگرین) را نیز پراکنده نموده و از این طریق بر تکثیر سلول نیز تأثیر گذارد.

شکل های شماره ۷ و ۸ نیز نمای میکروسکوپی از سلول‌ها را بر روی سیلیکون خام در مقایسه با پلی‌اکریلیک اسید پیوند شده به سیلیکون در زمان‌های مختلف کشت نشان می‌دهند.

نتیجه گیری

پلیمریزاسیون پیوندی اکریلیک اسید بر روی ورقه‌های سیلیکونی در سیستم لیزر پالسی Co2 انجام گرفت. آنالیز سطح نشان داد که چگالی انرژی پالس لیزر هم بر روی میزان کندگی و هم بر روی میزان پیوند انجام شده تأثیر گذاراست. هر چه چگالی انرژی پالس لیزری بیشتر باشد، میزان کندگی نیز بیشتر می شود. ولیکن میزان پیوند در یک چگالی انرژی معین(J/cm^2 ۱/۲۵) بیشترین مقدار را دارد.

بعد از آن کشت سلولی بر روی ورقه‌های مختلف انجام پذیرفت که در نهایت نشان داده شده پلی‌اکریلیک اسید پیوندی بر روی سطح در مقایسه با سیلیکون خام نقش منفی در چسبندگی گستردگی، رشد و تکثیر سلولی دارد، بگونه‌ای که بعد از گذشت زمان معین سلول‌ها بر روی سیلیکون خام پر تعداد، پهن و گسترده همراه با زوائد متعدد بوده، در صورتی که سلول‌ها بر روی ورقه‌های حاوی پلی‌اکریلیک اسید کم تعداد و به شکل گرد و مدور دیده شدند.

این پدیده می‌تواند به خواص سطح مانند بار و خواص شیمیایی و بیولوژیکی سیلیکون و پلی‌آکریلیک اسید ارتباط داده شود.

بنابراین سطوح تغییر داده شده می‌توانند بر شکل و عملکرد سلولی تأثیر گذارند و بنابراین می‌توان از آنها در کاربردهای مهندسی بافت، بخصوص در زمانیکه چسبندگی کمتر به بافت زنده ضروری باشد بهره گرفت. این موضوع بویژه در وقتیکه مولکول‌های بیولوژیکی بر سطح تثبیت شده باشند و لازم باشد تا پس از مدت زمان معینی از کاشتن، این سطح از محل خود بدون آسیب رساندن به بافت زیرین برداشت شود، کاربرد دارد.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]

منابع

1- Bhuvanesh G, Christopher P, Isabelle B, Peter F, Jons H**.** Plasma-induced graft polymerization of acrylic acid onto poly (ethylene terephthalate) films, characterization and human smooth muscle cell growth on grafted films**.** Biomaterials 2002; 23: 863-71.

2- Schantz JT, Hutmacher DW, Ng KW, Khor HL, Lim TC, Teoh SH. Evaluation of a tissue engineering membrane-cell construct for guided bone regeneration. Int J Oral Max Implants 2002; 17: 161-74.

3- Lee JH, Park JW, Lee HB. Cell adhesion and growth on polymer surfaces with hydroxyl groups prepared by water vapour plasma treatment. Biomaterials 1991; 21: 443-8.

4- Choi EY, Moon SH. Characterization of acrylic acid-grafted pp membranes prepared by plasma-induced graft polymerization. Journal of Applied Polymer Science 2007; 105: 2314-20.

5- Kang ET, Neoh KG, Huang SW. Surface-functionalized polyaniline films. J Phys Chem B 1997; 101: 10744-50.

6- Li YN, Sun Y, Deng XH, Yang Q, Bai ZY, Xu ZB. Graft polymerization of acrylic acid onto polyphenylene sulfide nonwoven initiated by low temperature plasma. Journal of Applied Polymer Science 2006; 102: 5884-9.

7- Cheng Z, Teoh SH. Surfac modification of ultra thin poly (ε-caprolactone) films using acrylic acid and collagen. Biomaterials 2004; 25: 1991-2001.

8- Khorasani MT, Mirzadeh H. Laser surface modification of silicone rubber to reduce platelet adhesion in vitro. J Biomater Sci Polym 2004; 15(1): 59-72.

9- Dadsetan M, Mirzadeh.H, Sharifi-Sanjani N. Surface modification of polyethylene terephthalate film by CO2 laser-induced graft copolymerization of acrylamide. App Poly Sci 2000; 76(3): 401-2.

۱۰- عترتی خسروشاهی محمد، دایر پیتر. مکانیسم کندن پلیمرهای آلی به وسیله لیزرهای فرابنفش وزیر قرمز، تکنولوژی پلیمر، سال هشتم، شماره سوم، ۱۳۷۴، ۱۶۱-۱۷۳.

11- Khosroshahi ME, Karkhaneh A, Orang F. A Comparative study of chop – wave and super pulse CO2 laser surface modification of polyurethane,Iranian polymer journal 2004; 13(6): 503 -11.

12- Keshvari H, Mirzadeh H, Mansouri P, Orang F, Khorasani MT. Collagen Immobolization onto acrylic acid laser– grafted silicone for using as artificial skin :In vitro Iranian polymer journal 2008; 17(3): 171-82.

13- Lee SD, Hsiue GH, kao CY. Preparation and characterization of a homobifunctional silicone rubber membrane grafted with acrylic acid via plasma-induced graft copolymerization, Polym Sci 2000; 34(1): 141-8.

14- Yang JM, Lin HT, Wu TH, Chen CC. Wettability and antibacterial assessment of chitosan containing radiation-induced graft nonwoven fabric of polypropylene-g-acrylic acid, J App Polym Sci 2003; 90: 1331-6.

15- Lee SD, Haliue GH, Chang PCT, Kao CY. Plasma-induced grafted polymerization of acrylic acid and subsequent grafting of collagen onto polymer film as biomaterials Biomaterials 1996; 17: 1599-608.

16- Keshvari H, Mirzadeh H, E Khosroshahi M, Daliri M, Khorasani MT. Biologically surface modification of silicone laser- grafted acrylic acid using collagen: In vitro. ISPST 2005.

17- Tyan YC, liao JD, Lin SP. Surface properties and in vitro analyses of immobilized chitosan onto polypropylene non-woven fabric surface using antenna-coupling microwave plasma. Journal of materials science: Materials in medicine 2008; 14: 775-81.

18- Lee JH, Jong HW, Kang LK, Lee HB. Cell behavior on polymer surfaces with different functional groups. biomaterials 1994; 15(9): 705-11.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]