

ترمیم زخم‌های جراحی با پانسمان پلی یورتان حاوی عصاره برگ درخت گردو

دکتر فاطمه پودینه حاجی پور^{1*}، دکتر هادی حسینی²

چکیده:

زمینه و هدف: از دست دادن پوست، می‌تواند به دلایل بسیاری از جمله اختلالات ژنتیکی، ترومای حاد، زخم‌های مزمن و یا حتی مداخله جراحی رخ دهد. پانسمان‌ها می‌توانند با محافظت زخم از باکتری‌ها و ایجاد محیطی مناسب روند بهبودی زخم را تسریع کنند. پانسمان ابزاری مؤثر برای بهبود زخم مرطوب است و به ویژه در پیشگیری از آسیب‌های مربوط به پانسمان‌ها، مدیریت ترشحات و به حداقل رساندن ناراحتی و درد پانسمان مفید است. در این پژوهش، مطالعه بر روی یک فیلم بر پایه پلی یورتان و عصاره برگ درخت گردو انجام شده است.

مواد و روش‌ها: به منظور تهیه بیوفیلم پلی‌یورتانی، ابتدا محلول 12 درصد پلی‌یورتانی به وسیله حلال‌های تتراهیدروفوران و دی متیل فرماید (50:50) ساخته شد. پس از آن عصاره استخراج شده از برگ گردو به 1،2 درصد و 4 درصد وزنی به محلول پلی یورتان اضافه گردید، سپس در قالب تفلونی ریخته‌گری انجام شد. به منظور ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و مکانیکی، آزمون‌های تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)، میزان عبور نور، تورم پذیری در PBS، تخریب‌پذیری و بررسی سمیت سلولی انجام گردید.

یافته‌ها: استحکام کششی پانسمان با افزایش عصاره برگ درخت گردو کاهش یافت ولی در مقابل انعطاف‌پذیری افزایش پیدا کرد. به دلیل وجود مواد مختلف در ساختار شیمیایی عصاره، کرنش تا پارگی فیلم از $4/7\% \pm 38/4\%$ به $11/3\% \pm 68/24\%$ افزایش یافت. تورم پانسمان تهیه شده از پلی یورتان در محلول PBS با افزایش عصاره برگ درخت گردو از $76\% \pm 96\%$ رسیده است. نتایج تست MTT نیز برای فیلم‌های پلی یورتانی حاوی 1% و 2% سمیتی نشان نداد. در حالی که فیلم حاوی 4% عصاره سمیت سلولی از خود نشان داده است.

نتیجه‌گیری: از این رو با توجه به نتایج آنالیزها و تصاویر SEM سلولی L929 بر روی فیلم‌های تهیه شده می‌توان نتیجه گرفت که پانسمان پلی یورتانی با محتوی 2 درصد وزنی عصاره برگ درخت گردو از نظر مکانیکی، شیمیایی، فیزیکی و سلولی مناسب برای استفاده در بافت پوست به منظور ترمیم زخم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پلی یورتان، عصاره برگ گردو، بیوفیلم، پانسمان

نویسنده پاسخگو: دکتر فاطمه پودینه حاجی پور

تلفن: 05433222508

E-mail: fatemehpoodinehhajipour@gmail.com

doi: 10.22034/ij.s.2026.736431

¹ دکتری مهندسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

² دکترای میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

تاریخ وصول: 1404/06/24

تاریخ پذیرش: 1405/01/15

زمینه و هدف

پوست بزرگترین اندام منفرد بدن است و به عنوان سد دفاعی بین بدن انسان و محیط اطراف عمل می‌کند و اندام‌های تحت پوشش خود را از میکروارگانیسم‌ها و پاتوژن‌ها حمایت می‌کند. پوست یک عضو زنده است هرچند فوقانی‌ترین لایه آن لایه‌شاخی (استراتوم کورنئوم) و روپوست (اپیدرم) بوده که سطح پوست را تشکیل می‌دهند و متشکل از سلول‌های زنده و مرده هستند و در هر فرد حدود 30 هزار عدد از این سلول‌ها در هر دقیقه ریزش می‌کنند. با این وجود سلول‌های زنده پوست دائماً در قسمت زیری‌تر روپوست تولید شده تا جایگزین این سلول‌ها گردند. در زیر روپوست، درم قرار گرفته که حاوی عروق خونی، پایانه‌های عصبی و غدد می‌باشد. لایه‌ای از چربی در زیر درم قرار می‌گیرد و به عنوان یک عایق، ضربه گیر و منبع انرژی عمل می‌کند.¹

کرمبود بافت اهدایی برای پیوند پوست و بحث بازسازی سریع پوست همواره یکی از دغدغه‌های بشر بوده است. این مساله به‌خصوص در سوختگی‌های وسیع که بافت پیوندی از خود فرد فراهم نیست، بیشتر اهمیت می‌یابد. امروزه مشخص شده است که استفاده از غشاهای تولید شده با روش مهندسی بافت پوست گزینه مناسب‌تری نسبت به سایر روش‌ها در مواجهه با سوختگی‌های وسیع یا سوختگی‌های تمام ضخامت و هم چنین حوادث ناگهانی از قبیل تصادفات یا برق گرفتگی می‌باشد.²

هدف از بکار بردن پانسمان حمایت از زخم درمقابل آلودگی میکروبی، کمک به هموستاز، افزایش التیام بوسیله جذب درناژ و دبریدمان زخم، حمایت از محل زخم، عایق دما از سطح زخم، نگهداری رطوبت بین زخم و پانسمان.³ انسان‌ها همواره در جستجوی مرهمی برای درمان بهینه زخم بوده‌اند و در این راه ضامدها و ترکیبات گوناگونی را آزموده‌اند.⁴ مصریان باستان از ترکیبات مختلفی که منشأ طبیعی داشته‌اند مانند چربی حیوانات، عسل و الیاف گیاهان استفاده نموده‌اند. سایرین از پوست برگ درختان و ترکیبات گیاهی، گل و خاشاک، الیاف پارچه و سایر ترکیبات صناعی استفاده کرده‌اند که برخی موثر و برخی دیگر غیرموثر و حتی گاهی سمی و کشنده بوده‌اند.

برخلاف عقیده رایج در خصوص خشک نگه داشتن زخم برای التیام سریعتر، دکتر وینتر در سال 1962 ثابت نمود که التیام و ترمیم زخم، زمانی که از یک پانسمان نگه دارنده

رطوبت استفاده می‌شود (محیط مرطوب) بسیار سریعتر از زمانی است که زخم در معرض هوا خشک شود.^{5و6}

بعدها بررسی‌ها و تحقیق‌های دیگر این نکته را تایید نمودند و امروز این یک اصل بدیهی در درمان زخم محسوب می‌شود. مکانیسم‌های زیادی در این میان دخیل هستند که از آن جمله می‌توان به تسهیل مهاجرت سلولی، تحریک فیبروبلاست‌ها برای ترشح کلاژن، تشکیل بستر مناسب برای انتقال آنزیم‌ها و هورمون‌ها مانند هورمون رشد، تحریک ماکروفاژها، تسهیل دبریدمان اتولیتیک و... اشاره نمود.⁷

مهندسی بافت و پزشکی احیاکننده، ترکیبی از زیست‌شناسی تکاملی، علوم زیستی و مهندسی می‌باشند که تلاش می‌کنند مشکلات بالینی را حل نمایند. مهندسی بافت در سال 1988 به عنوان کاربردی از قوانین و روش‌های مهندسی به همراه زیست‌شناسی سلولی و تکاملی به منظور درک اساسی از روابط تابع ساختار در بافت‌های پستانداران نرمال و پاتولوژیک و توسعه جایگزین‌های بیولوژیک برای بازگرداندن، حفظ و یا بهبود عملکرد بافت تعریف شد.^{8و9} یکی از راه‌های که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته، استفاده از ساختارهای پلیمری ضد میکروب است. اصولاً برای تولید ساختارهای پلیمری ضد میکروب از روش‌های متفاوت مانند پلیمرهای با خاصیت ضد میکروب ذاتی، اصلاح پلیمر برای دستیابی به این ویژگی و یا ورود مواد آلی یا معدنی دارای خاصیت ضد میکروب استفاده می‌شود. در این میان پلی یورتان‌ها با داشتن ویژگی‌های مانند زیست سازگاری و استحکام مکانیکی، تنوع در خواص متناسب با کاربرد بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. با انتخاب مناسب اجزاء تشکیل دهنده یک پلی‌یورتانی (پلی ال، دی‌ایزوسیانات و...) می‌توان به خواص متناسب با کاربرد مورد نظر دست یافت. همچنین پلی یورتان را می‌توان به شکل‌های مختلف از جمله فیلم، هیدروژل، هیدروکلوئید و فوم تهیه نمود بنابراین می‌توان به درجات مختلفی از قدرت نفوذ بخار آب، استحکام مکانیکی، زیست‌سازگاری و سایر خواص مورد نظر در طراحی یک زخم پوش دست یافت. از طرف دیگر کارهای بسیاری در زمینه ورود مواد ضد میکروب مانند نمک‌های چهارتایی آمونیوم، یون‌های فلزی مانند نقره و ... به بدنه پلی یورتان‌ها انجام شده است. در این پروژه برای ساخت زخم پوش از پلیمر پلی یورتان به همراه عصاره برگ درخت گردو در غلظت‌های متفاوت بهره گرفته شد.

ایجاد وضوح مناسب سطح غشاء پوشش دهی شدند. سپس سطح رویی و برش عرضی فیلم‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی به مدل AIS2100C (Scanning Electron Microscope) ساخت کشور کره تصویر برداری شده‌اند.

آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (ATR-FTIR)

به منظور بررسی گروه‌های عاملی و پیوندهای موجود در مولکول‌های از دستگاه FTIR Ultrashield 400 MHZ, (Bruker) ساخت کشور آلمان، در محدوده $400-3500\text{ cm}^{-1}$ و سرعت روبش (قدرت تفکیک‌پذیری) 2 cm^{-1} استفاده شد.

ضخامت فیلم

ضخامت فیلم با ریز سنج مدل Mitutoyo با قدرت تفکیک $0/001\text{ mm}$ اندازه‌گیری شد و به طور تصادفی در 5 موقعیت تعیین و میانگین آن‌ها برای محاسبات استفاده شد.

اندازه‌گیری کدورت (UV-Vis)

برای طیف جذب و انتقال فیلم‌ها با استفاده از یک اسپکتروفوتومتر UV-Vis JASCO, V-670 Japan با بکارگیری هوا به عنوان شاهد از $190-900\text{ nm}$ ثبت شد. از معادله (3-1) برای بدست آوردن میزان شفافیت نوری فیلم هیدروژلی استفاده می‌شود:

$$\text{Transparency} = -\log T_{600}/x$$

در این معادله T_{600} ضریب عبور و x ضخامت فیلم را نشان می‌دهد.

آزمون سنجش خواص مکانیکی

آزمون سنجش خواص مکانیکی بر اساس استاندارد ASTM D882-10 انجام گرفت. در این آزمون، دستگاه کشش (استحکام سنج) (Instron, 5566) ساخت کشور آمریکا به کار گرفته شد. نوارهای فیلم به طول 100 mm و عرض 20 mm بریده شد و به منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها به کار گرفته شد. نمونه‌ها در فک‌های مربوط به فیلم‌ها قرار داده شدند. فک‌ها با سرعت 5 mm/min از

به طور کلی یک غشای پوستی ایده‌آل یا یک پانسمان در 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.¹³ به این منظور باید سائز تخلخل‌های غشاء از سطح بدن بیمار به سمت محیط خارج از بدن، کاهش یابد و این باید در صورتی اتفاق بیفتد که ارتباط بین تخلخل‌ها حفظ شود. یک غشاء مناسب برای کاربرد در مهندسی بافت پوست باید در تماس با سطح بدن بیمار تخلخلی در حدود 150 میکرومتر داشته باشد که این مقدار، برای ورود سلول‌های فیبروبلاست درم و کراتینوسیت‌ها که از مهم‌ترین سلول‌های پوستی به شمار می‌روند، مناسب است و در تماس با محیط خارجی و هوا تخلخلی در حدود $20-50$ میکرومتر دارا باشد که این سائز تخلخل باعث جلوگیری از ورود گرد و غبار و آلودگی‌ها می‌شود و همچنین از دست رفتن مایعات بدن را کنترل می‌کند که در نهایت به ایجاد رطوبت در محل زخم کمک شایانی می‌شود.¹⁴

با توجه به مطالب ذکر شده در این پژوهش هدف ساخت و ارزیابی فیلم پلی یورتان / عصاره برگ درخت گردو جهت ترمیم زخم‌های حاصل از جراحی‌ها و ... می‌باشد که بتواند با تخلخل مناسب، رطوبت زخم را حفظ کند و از نفوذ باکتری به زخم جلوگیری کرده و به ترمیم و باز سازی زخم کمک کند.

مواد و روش‌ها

به منظور تهیه فیلم پلی‌یورتانی، ابتدا محلول 12 درصد پلی‌یورتانی به وسیله حلال‌های تتراهیدروفوران و دی متیل فراماید (50:50) ساخته می‌شود. این محلول به مدت 3 ساعت بر روی همزن مغناطیسی در دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از آن عصاره استخراج شده گردو به نسبت 1 ، 2 درصد و 4 درصد وزنی به محلول پلی یورتان اضافه می‌گردد و به مدت 1 ساعت بر روی همزن مغناطیسی قرار می‌گیرد. در مرحله پایانی محلول نهایی در پلیت تفلونی ریخته‌گری شده و به مدت 12 ساعت در 40°C به منظور خشک شدن نمونه در آون قرار داده شد.

مشاهده مورفولوژی

برای مشاهده شکل شناسی فیلم‌ها و بررسی ساختار، نمونه‌های مورد آزمایش بعد از خشک شدن در ابعاد 1×1 بریده شده و بعد آنها را با پوشش طلا پلادیوم توسط دستگاه Sputter Couter پوشش داده شده‌اند به منظور

غوطه‌وری در اتانول 70% انجام گرفت. سپس نمونه‌های فیلم تهیه شده، در محیط کشت DMEM غوطه‌ور شدند. در این پژوهش از سلول‌های فیبروبلاست L929 استفاده شد. این سلول‌ها به صورت کشت چسبنده از بانک سلولی انستیتو پاستور تهران تهیه و تکثیر شدند. سلول‌ها با چگالی اولیه 5000 سلول در هر محفظه، در یک صفحه 24 محفظه‌ای در معرض محیط کشت حاوی نمونه‌ها قرار گرفتند. در فواصل زمانی صفر، 24، 72 و 96 ساعت بعد از کشت، آزمون MTT به منظور ارزیابی زیست پذیری (میزان بقا) سلول‌ها انجام شد. در هر نقطه 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 میلی لیتر) به هر چاهک کشت اضافه گردید.

سپس به مدت 4 ساعت در انکوباتور در دمای 37 درجه سانتیگراد نگهداری شد. بعد از آن، مدیوم به آرامی تخلیه شد و به منظور انحلال فرمازان، 200 میکرولیتر دی متیل سولفوکساید (DMSO) به چاهک افزوده گشت. جذب نوری در طول موج 540 نانومتر خوانده شد.

ارزیابی چسبندگی سلولی

جهت بررسی چسبندگی و مورفولوژی سلول‌ها بر روی فیلم‌های حاوی عصاره اتانولی برهموم و هیالورونیک اسید بعد از 5 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% به‌منظور تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی نگهداری گردید.

آنالیز آماری

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ SD) به دست آمده و برای 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.

هم فاصله می‌گیرند تا زمانی که پارگی اتفاق بیفتد. این آزمون برای 3 نمونه تکرار گردید تا مقدار میانگین و انحراف معیار بدست آید.

آزمون زاویه تماس با قطره آب

به منظور بررسی آبدوستی فیلم‌ها از سیستم اندازه‌گیری زاویه تماس، استفاده شد. نمونه در اندازه 12 میلی‌متر بریده و روی یک پایه نگهدارنده قرار داده شد و دوربین (VCA Optima, AST Inc، ساخت کشور آمریکا) روبه روی آن تنظیم شده است. مقدار 2 میلی لیتر آب مقطر در یک سرنگ جای داده شده و سرنگ به طور عمود بر سطح فیلم 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 2 μ l 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 اندازه‌گیری شد. نتایج بر اساس میزان متوسط پنج اندازه‌گیری در نقاط مختلف هر فیلم بود.

آزمون جذب آب

به منظور اندازه‌گیری میزان جذب آب نمونه‌ها مطابق استاندارد ASTM-D-5964، نمونه‌ها به صورت مربع‌هایی با ابعاد 1 $\times$ 1 cm2 بریده شدند و سپس به مدت 24 ساعت درون آب دیونیزه شده در انکوباتور با دمای 37 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس با استفاده از رابطه 2-3 جذب آب اندازه‌گیری شد.

$$\text{Swelling ratio} = \left[\frac{w_w - w_d}{w_d} \right] \times 100\% \quad (2-3)$$

W_w وزن نمونه در حالت خیس شده و W_d وزن نمونه در حالت خشک است. نمونه‌های غوطه‌ور شده قبل از اندازه‌گیری وزن آن‌ها به مدت 5 دقیقه روی کاغذ صافی قرار گرفتند.

آزمون سنجش سمیت سلولی

آزمون سمیت سنجی مطابق استاندارد ISO10993-5 انجام شد. عملیات سترون کردن نمونه‌های فیلم با

یافته‌ها

مشاهده مورفولوژی و بررسی ریز ساختار نمونه

برای مطالعه توپوگرافی سطح فیلم‌ها، از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده گردید. همان‌طور که در تصویر 1، مشاهده می‌شود، ریزساختار فیلم پلی یورتان سطحی صاف و یکنواخت داشته و هیچ‌گونه خلل و فرج و ترکی در سطح آن مشاهده نمی‌شود. تصویر سطح رویی فیلم‌های (1%) عصاره PU/ (2%) عصاره PU/ و (4%) عصاره PU/ ساختاری برآمده و سه بعدی را نشان می‌دهد که در واقع این برجستگی‌های تپه مانند بر روی سطح فیلم نشان دهنده حضور عصاره برگ گردو می‌باشد. زبری سطح را می‌توان به تبدیل فنول‌های عصاره به کینون که باعث انباشتگی نسبتاً بزرگی در ماتریس پلیمری می‌شود نسبت داد. براساس مطالعات انجام شده سطوح با زبری بیشتر شرایط مناسبی را برای چسبندگی و رشد سلول فراهم می‌کند.^{15,16}

آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (ATR-FTIR)

این آزمون به منظور تایید ماهیت مواد شیمیایی به کار رفته درون پانسمان یعنی عصاره برگ گردو و پلی‌یورتان استفاده شد. تصویر 2، طیف‌سنجی مادون قرمز عصاره گردو و تصویر 3 طیف‌سنجی مادون قرمز پلی یورتان - عصاره گردو را نشان می‌دهد.

در تصویر 2 گروه‌های عاملی ترکیبات موجود در عصاره برگ گردو را نشان می‌دهد. پیک 3200 cm^{-1} مربوط به پیوند کششی گروه O-H فنلی می‌باشد. پیوند مربوط به رزونانس گروه‌های C=C آروماتیکی خود را در 1603 cm^{-1} نشان می‌دهد. پیک‌های مربوط به پیوند کشش C-H آلیفاتیک در ناحیه بین 2850 cm^{-1} - 3000 cm^{-1} ظاهر می‌شود. پیک‌های ناحیه 1030 cm^{-1} - 1200 cm^{-1} حضور پیوند کششی C-O و ارتعاشات O-H الکل نوع دوم را آشکار می‌سازد.¹⁶

در طیف پلی‌یورتان، ارتعاش کششی گروه CH_2 در عدد موج 2931 cm^{-1} و ارتعاش خمشی گروه N-H در عدد موج 1557 cm^{-1} مشاهده می‌شود. همچنین، ارتعاش کششی پیوند C-N در عدد موج 1063 cm^{-1} ظاهر

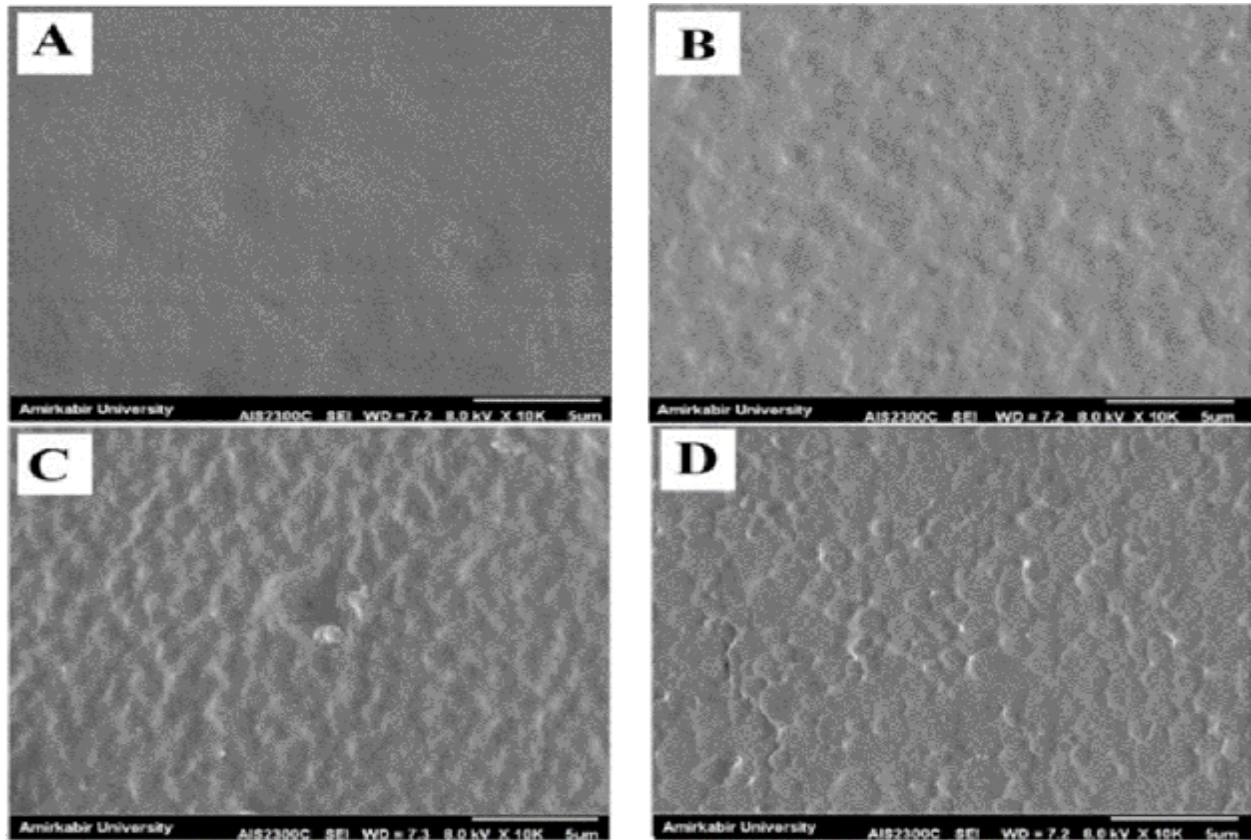
می‌گردد. پیک جذب در ناحیه 3200 تا 3500 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند N-H است و پیک مشخص در عدد موج 1732 cm^{-1} نشان‌دهنده حضور گروه کربونیل (C=O) در ساختار پلی‌یورتان می‌باشد.¹⁷

در طیف FTIR به دست آمده از فیلم تهیه شده از محلول پلی یورتان - عصاره برگ گردو پیک‌های مربوط به عصاره برگ درخت گردو همراه با پیک‌های پلی یورتان وجود دارد که حاکی از حضور دو ماده در کنار یکدیگر می‌باشد بدون آنکه پیوند جدیدی شکل گرفته باشد.

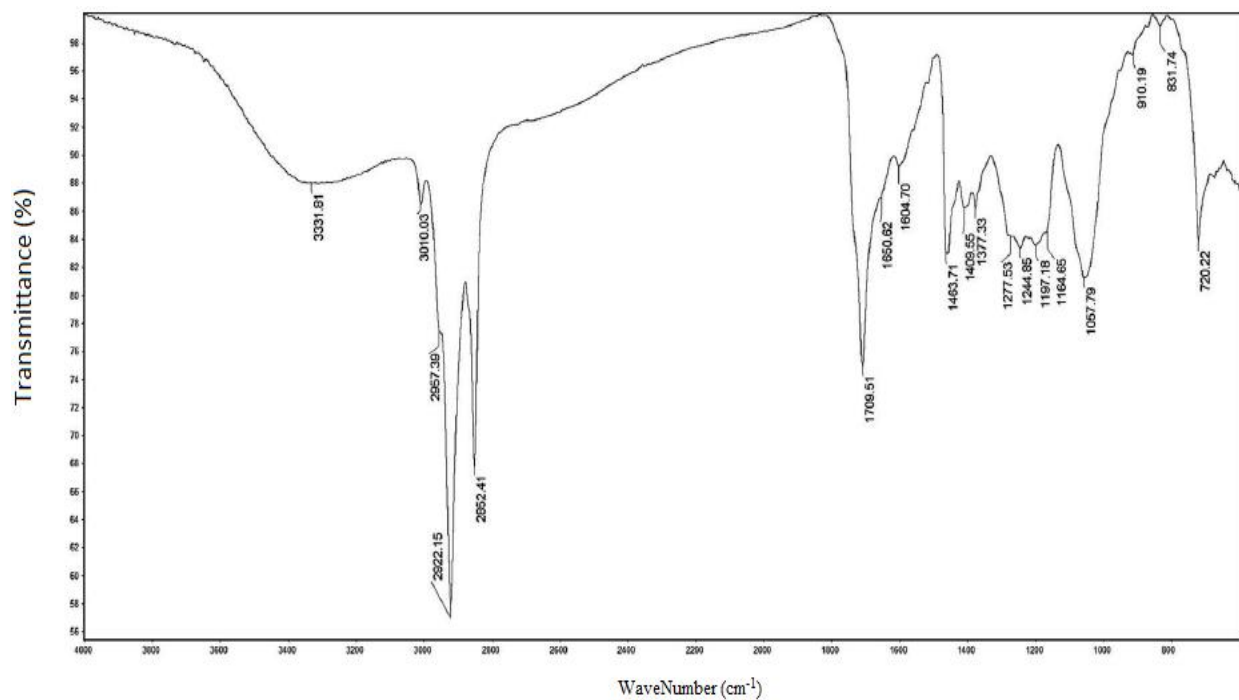
ارزیابی خواص مکانیکی فیلم‌ها

استحکام مکانیکی یکی از مشخصات مهم برای زخم‌پوش‌ها است؛ زیرا زخم‌پوش‌ها باید بادوام باشند و در مقابل تنش‌های وارد شده مقاومت نشان دهند. همچنین باید ویژگی الاستیک داشته باشند تا بتوانند درجهای مختلف بدن نظیر زانو و آرنج که متحرک هستند، کارایی مناسب داشته باشند.¹⁸

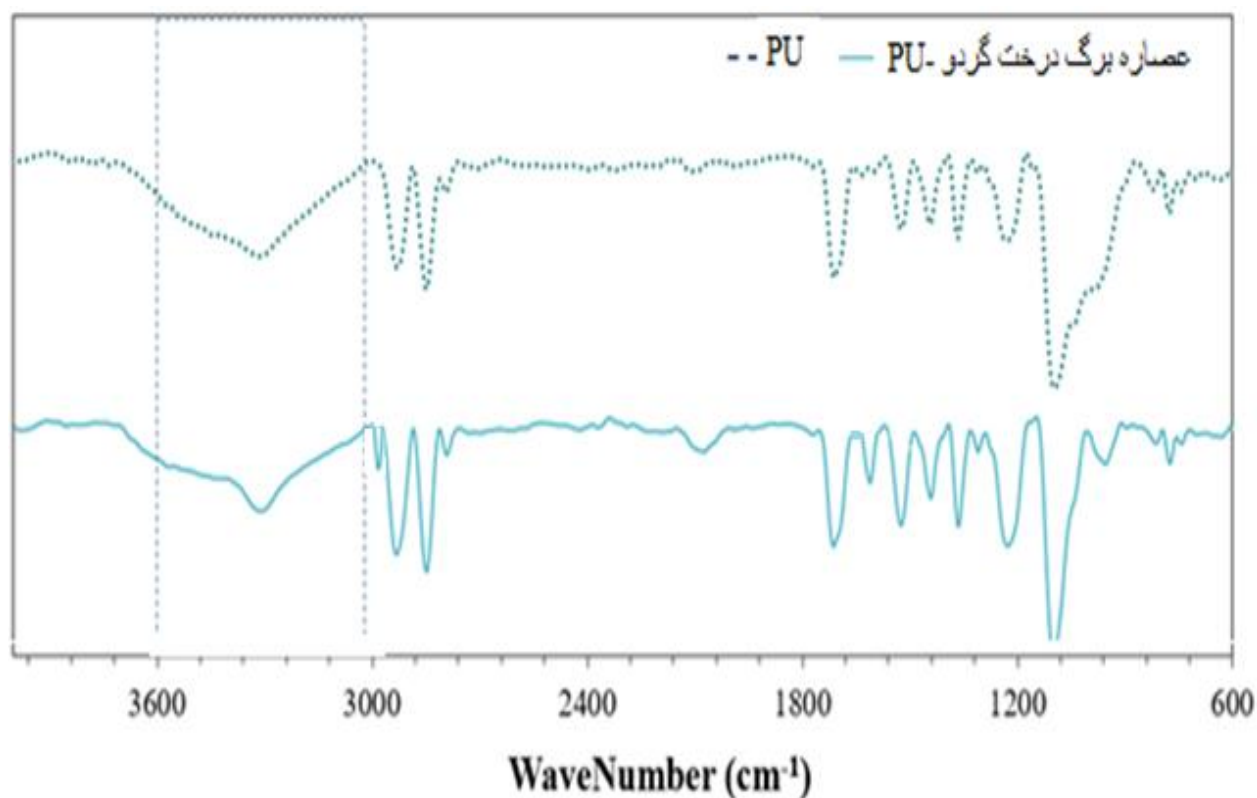
همان‌طور که مشاهده می‌کنید جدول 1 اثر افزودن غلظت‌های مختلف عصاره برگ درخت گردو استحکام کششی (TS) و کرنش تا پارگی (SB) را در فیلم‌های پلی یورتان و پلی یورتان - عصاره برگ درخت گردو نشان می‌دهند. همچنان که مشاهده می‌شود، با افزودن عصاره برگ درخت گردو از صفر تا 1%، مقدار استحکام کششی نهایی (UTS) از $6/62 \pm 1/2\text{ MPa}$ به $6/34 \pm 0/5\text{ MPa}$ کاهش و ازدیاد طول تا پارگی (SB) از $4/7 \pm 38/4\%$ به $1/2 \pm 42/91\%$ افزایش می‌یابد. عصاره در پلی یورتان باعث کاهش استحکام مکانیکی و افزایش انعطاف‌پذیری می‌شود. با ورود عصاره به ساختار فیلم پلی یورتانی شبکه پلیمری تضعیف گردیده است. زیرا عصاره برگ درخت گردو ماهیت پلیمری نداشته و قرار گرفتن آن در شبکه منجر به ایجاد گسستگی در شبکه فیلم شده است. با افزایش عصاره برگ درخت گردو به 2% و 4% مقدار استحکام کششی به ترتیب به $1/5 \pm 6/08$ و $0/9 \pm 4/47$ کاهش یافته و کرنش شکست آن‌ها به $9/6 \pm 44/71\%$ و $11 \pm 68/24\%$ افزایش یافته است. در واقع حضور عصاره برگ درخت گردو موجب کاهش مدول ینگ داربست گردیده است.



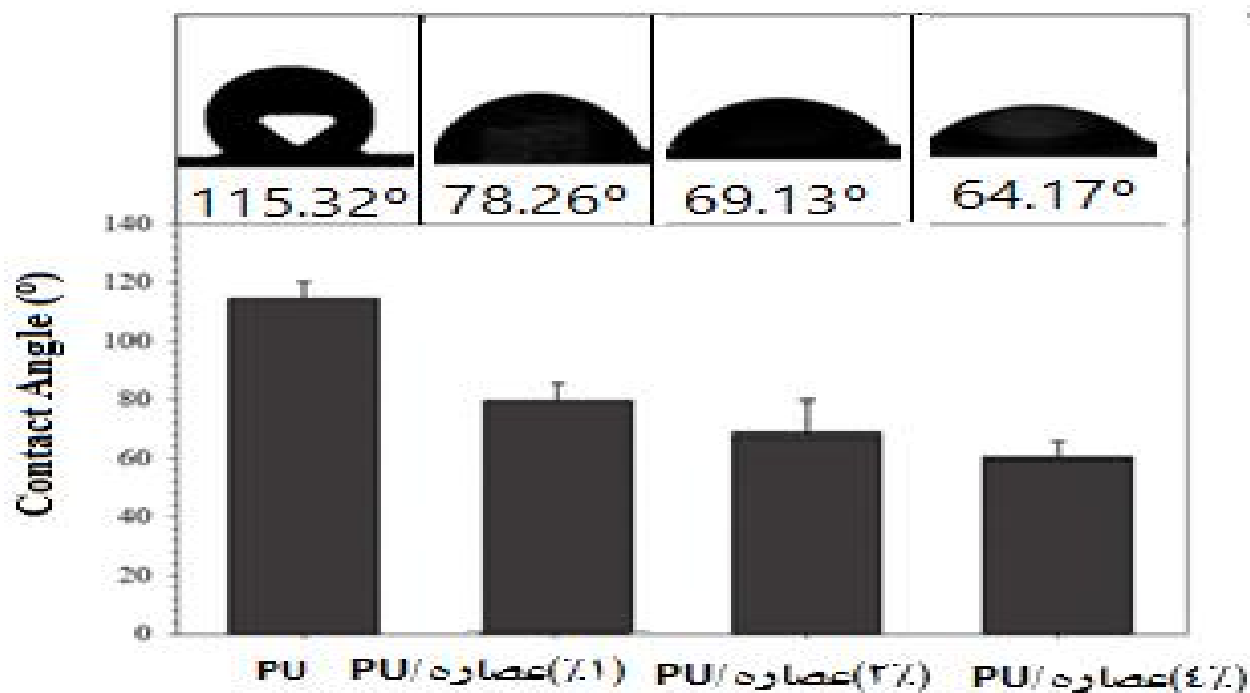
تصویر 1- تصاویر SEM سطح پانسمان‌های فیلمی (A) PU، (B) (1% عصاره/PU، (C) (2% عصاره/PU و (D) (4% عصاره/PU



تصویر 2- طیف FTIR عصاره درخت گردو



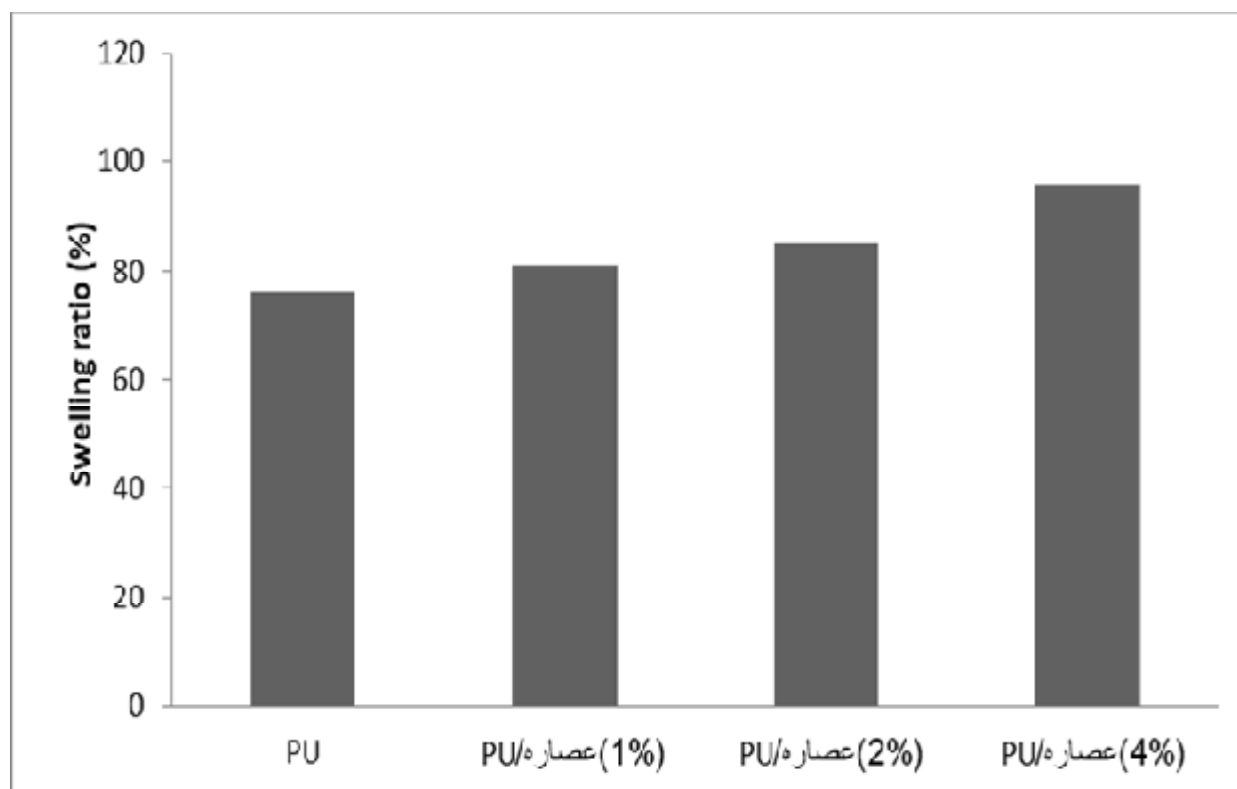
تصویر 3- طیف FTIR پلی یورتان و پلی یورتان - عصاره برگ گردو



تصویر 4- تصاویر زاویه قطره آب با سطح فیلم در آزمون زاویه تماس

جدول 1- آزمون خواص مکانیکی

نمونه	استحکام کششی (MPa)	مدول یانگ (MPa)	کرنش شکست (%)	ضخامت (mm)
PU	$6/62 \pm 1/2$	$15/4 \pm 5/2$	$38/4 \pm 4/7$	$0/125 \pm 0/017$
PU/ (1% عصاره)	$6/34 \pm 0/5$	$14/9 \pm 5/7$	$42/91 \pm 1/2$	$0/120 \pm 0/039$
PU/ (2% عصاره)	$6/08 \pm 1/5$	$13/5 \pm 3/2$	$44/71 \pm 9/6$	$0/117 \pm 0/008$
PU/ (4% عصاره)	$4/47 \pm 0/9$	$9/6 \pm 3/5$	$68/24 \pm 11/3$	$0/121 \pm 0/022$



تصویر 5- نمودار جذب PBS در نمونه‌های PU، PU/ (1% عصاره)، PU/ (2% عصاره) و PU/ (4% عصاره) بعد از 24 ساعت

بررسی زاویه تماس فیلم تهیه شده

زاویه تماس یک تکنیک مناسب برای اندازه‌گیری میزان ترشوندگی سطوح پلیمری است. سطح هیدروفیل برای پانسمان‌ها و داربست‌های مهندسی بافت ضروری است. تحقیقات اخیر نشان داده که افزایش آبدوستی می‌تواند زیست‌سازگاری و کارایی پانسمان را بیشتر کند.¹⁸ آزمون زاویه تماس برای 4 نمونه شامل PU، (1%) عصاره PU، (2%) عصاره PU و (4%) عصاره PU، انجام شد. مطابق تصویر 4 فیلم PU زاویه تماس 115/032 را نشان داده است. در حالی که زاویه تماس نمونه‌های فیلمی (1%) عصاره PU، (2%) عصاره PU و (4%) عصاره PU به ترتیب 78/026، 69/013 و 64/017 می‌باشد. در واقع با اضافه کردن عصاره برگ درخت گردو زاویه تماس به دلیل حضور گروه‌های آبدوست O-H در ساختار عصاره کاهش یافته و خاصیت آبدوستی پانسمان فیلمی افزایش می‌یابد.

بررسی جذب آب فیلم‌های تهیه شده

تجمع آگزودا در محل زخم باعث کلونیزاسیون باکتری شده و مراحل ترمیم را به تعویق می‌اندازد. بنابراین یک ویژگی مهم پانسمان جذب آگزودای زخم است.¹⁹ در این مطالعه گنجایش آب فیلم‌ها بعد از 24 ساعت غوطه‌وری در محلول فسفات بافر سالین (BPS) به صورت درصد نرخ تورم مورد ارزیابی قرار گرفت.

مطابق تصویر 5، فیلم PU جذب PBS را پس از 24 ساعت غوطه‌وری 76% نشان می‌دهد. با افزایش عصاره برگ درخت گردو جذب PBS افزایش یافته و نتایج آن برای نمونه‌های (1%) عصاره PU، (2%) عصاره PU و (4%) عصاره PU به ترتیب 81%، 85% و 96% می‌باشد. با افزایش عصاره برگ درخت گردو و حضور گروه‌های آبدوست در ترکیب شیمیایی این عصاره جذب PBS افزایش یافته است.

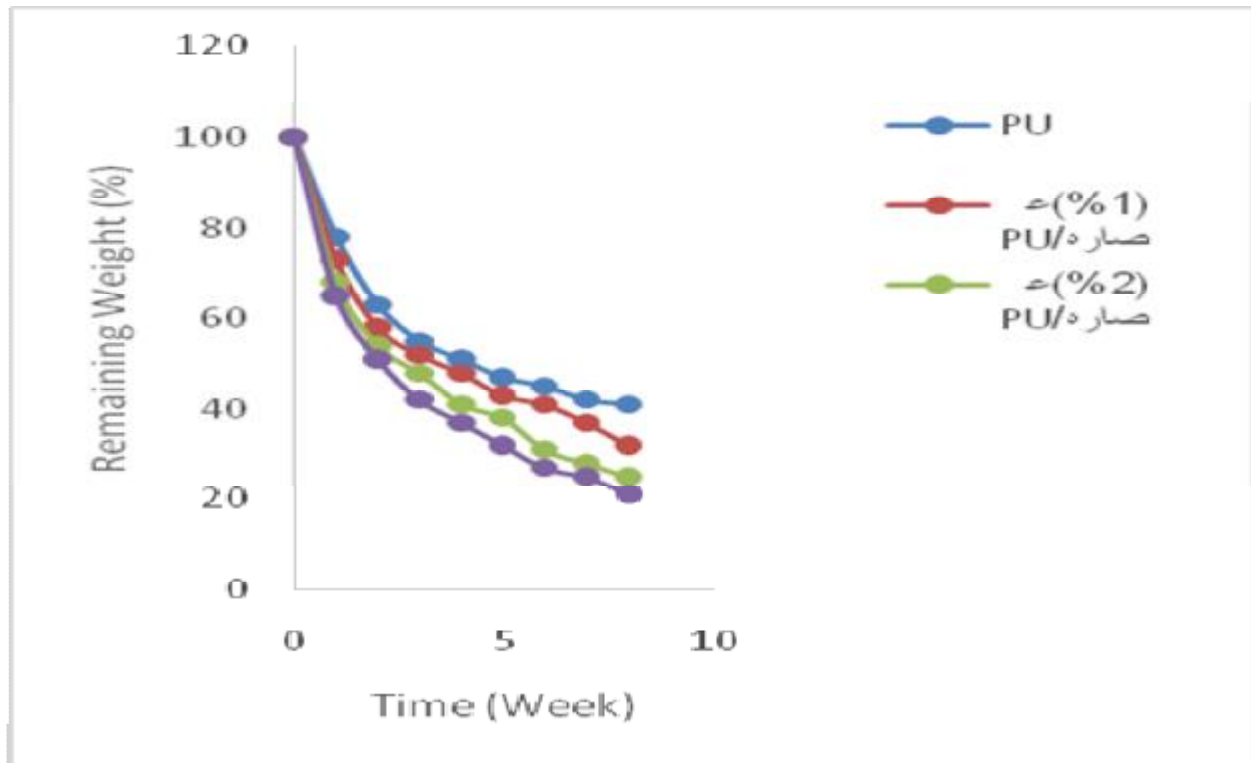
بررسی تخریب فیلم‌ها

یکی از پارامترهایی که بر زمان تخریب پانسمان اثر می‌گذارد، ماهیت آبدوستی و آگریزی پلیمر می‌باشد.

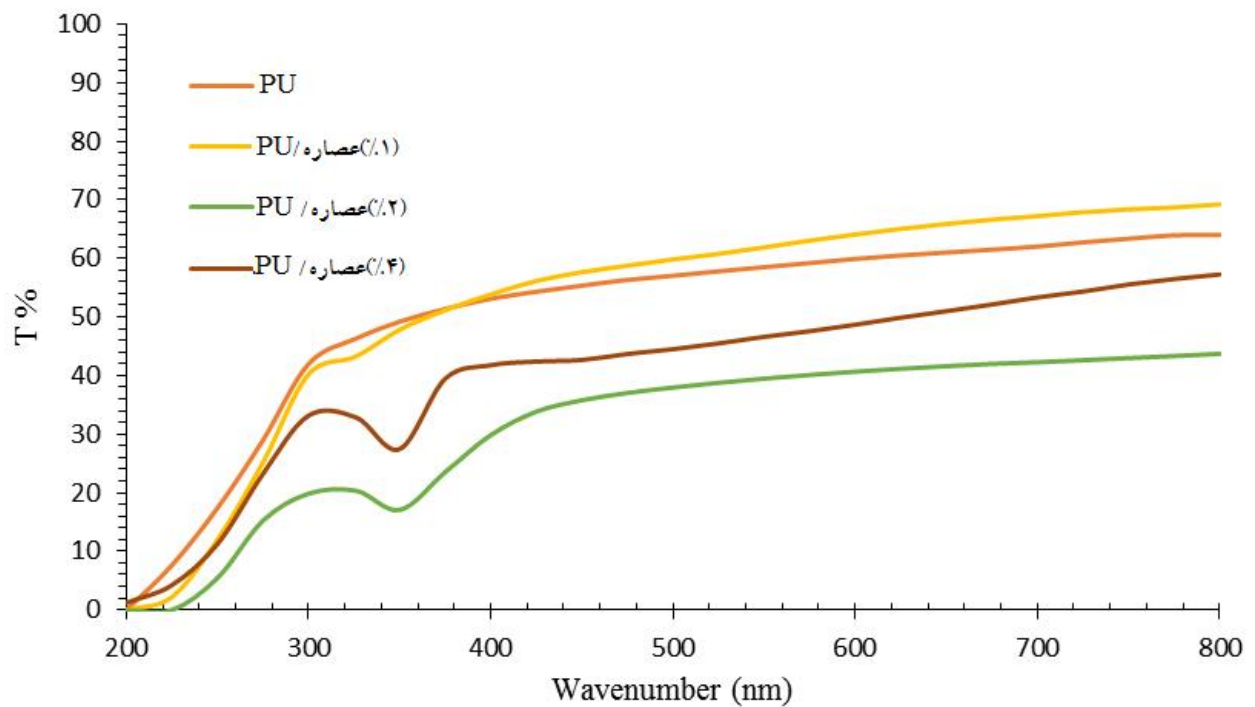
همچنین مطالعات نشان می‌دهد، میزان تخریب با دسترسی میکروارگانیسم‌ها به سایت‌های فعال که توسط انعطاف‌پذیری زنجیره پلیمر کنترل می‌شود، تعیین می‌شود. هرچه زنجیره‌های پلیمری کریستالی باشند، انعطاف‌پذیری کمتری دارند و بنابراین زمان تخریب بیشتر است. در این پژوهش، مطابق تصویر بعد از هشت هفته 41 درصد از فیلم پلی یورتان باقی ماند. با اضافه شدن عصاره برگ درخت گردو در ساختار فیلم در نمونه‌های (1%) عصاره PU، (2%) عصاره PU و (4%) عصاره PU بعد از هشت هفته به ترتیب 32%، 25% و 21% از حجم اولیه باقی مانده است. در واقع با حضور عصاره برگ درخت گردو، فیلم تهیه شده انعطاف‌پذیرتر شده و آبدوست‌تر گردیده است. با افزایش درصد عصاره زمان تخریب فیلم‌ها کوتاه‌تر شده و تخریب با سرعت بیشتری انجام شده است (تصویر 6).

میزان عبور نور و شفافیت فیلم

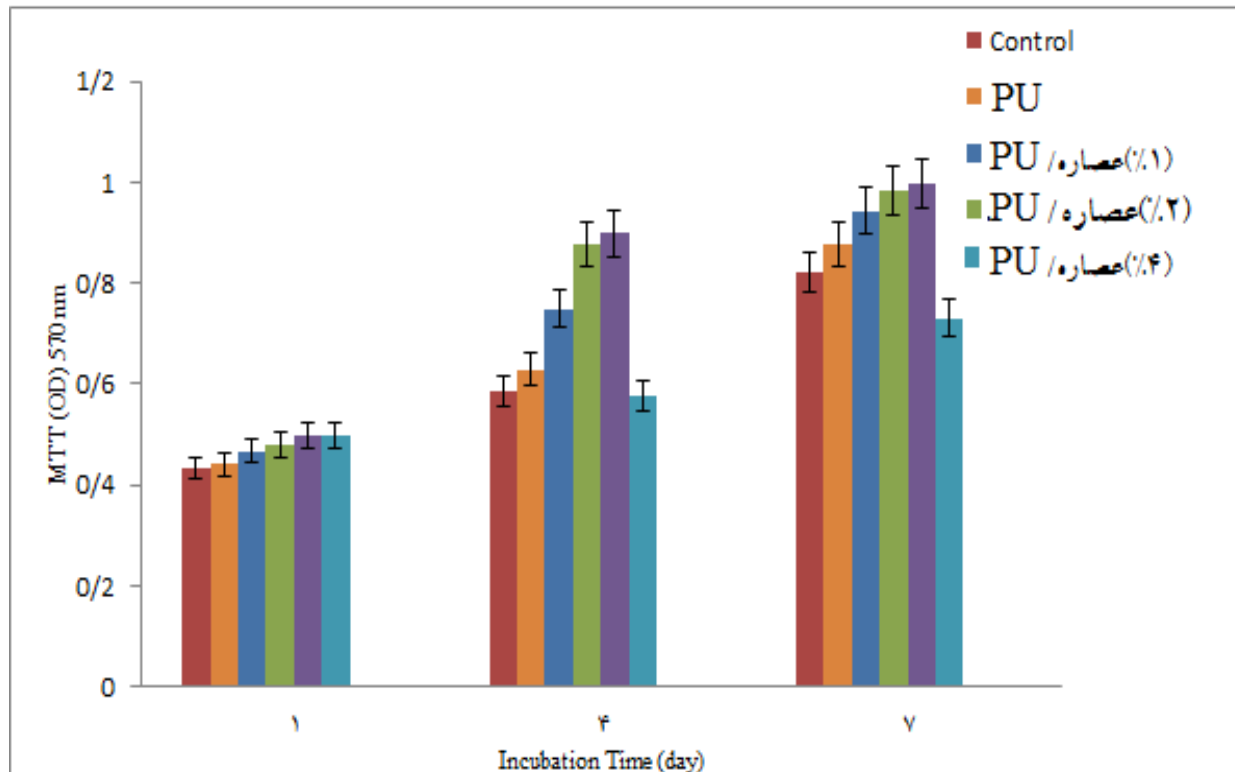
به منظور بررسی میزان عبور نور و شفافیت از اسپکتروسکوپی و واکنش بین امواج الکترومغناطیس و اتم‌های موجود در یک مولکول استفاده شد. نتایج این آزمون موید حضور ترکیبات فنولی در عصاره برگ درخت گردو به دلیل داشتن پیوندهای دوگانه در ترکیبات خود می‌باشد که این پیوندهای دوگانه و غیراشباع توانایی جذب UV را دارند.²⁰ بسیاری از ترکیبات و عصاره‌های طبیعی مانند عصاره رزماری، مارتا، بره‌موم و ارگانیو حاوی پلی فنول و فلاونوئیدها هستند. گمز و همکارانش در سال 2007 افزودن عصاره مارتا به فیلم خوراکی بر پایه ژلاتین، ویژگی عبور دهی نور را بهبود بخشیده است و میزان عبور بیشتری کاهش می‌یابد و میزان جذب در این ناحیه افزایش می‌یابد.^{21 و 22} نتایج مطالعه‌ای دیگری که توسط گومز و همکارانش مشخص شد عصاره اتانولی رزماری و ارگانیو در فیلم ژلاتین در ناحیه 200 تا 350 نانومتر قابلیت جذب UV و نور مرئی خوبی دارد.²³ بر طبق مطالعات انجام شده پیشین می‌توان نتیجه گرفت عصاره برگ درخت گردو در ساختار فیلم با توجه به ساختار شیمیایی آن جذب UV افزایش می‌یابد (تصویر 7).



تصویر 6 - بررسی تخریب نمونه‌های PU، PU/عصاره (%1)، PU/عصاره (%2)، PU/عصاره (%4) در طی 8 هفته



تصویر 7 - طیف UV-Vis، در نمونه‌های PU، PU/عصاره (%1)، PU/عصاره (%2)، PU/عصاره (%4)



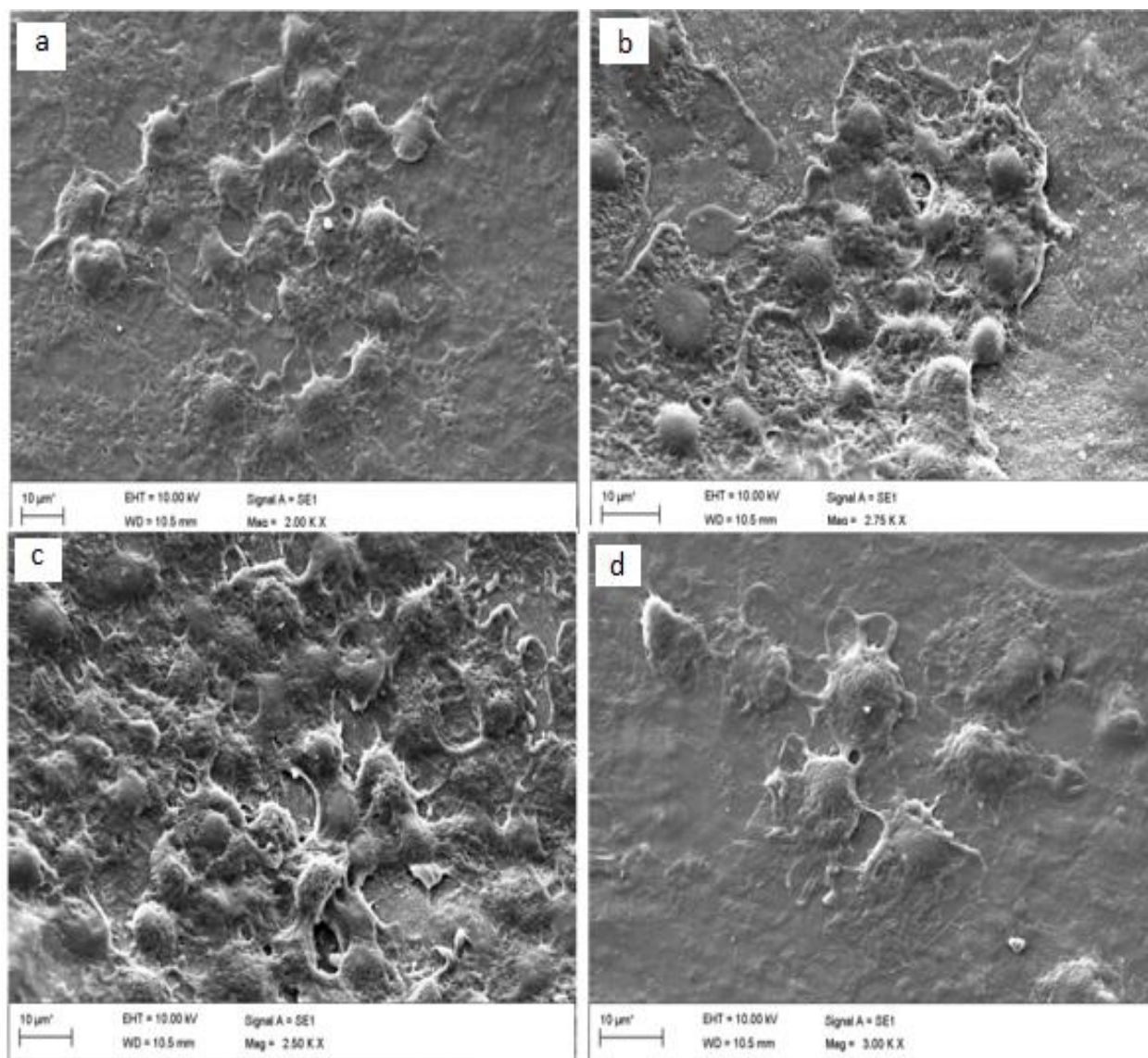
تصویر 8 - نمودار نتایج حاصل از سنجش MTT، میزان رشد سلول‌ها بر روی فیلم‌ها در مقایسه با یکدیگر پس از 1، 4 و 7 روز از کشت سلولی (معیار آماری $P < 0/05$).

تکثیر و بقاء سلول‌های فیبروبلاست

برای بررسی تکثیر سلول‌ها بر روی فیلم‌های تهیه شده از آزمون MTT استفاده شد. به منظور بررسی سمیت فیلم‌ها، سلول‌های L929 به مدت هفت روز در مجاورت فیلم‌های PU، PU 1%، عصاره PU، PU 2%، عصاره PU 4% و PU 4% قرار گرفتند. همان‌طور که در تصویر 8 ملاحظه می‌گردد، نمونه PU 4% (عصاره PU حاوی 4% عصاره برگ درخت گردو) مقداری سمیت سلولی را در روز هفتم نشان داده است که در مقایسه با گروه‌های با غلظت‌های کمتر عصاره برگ درخت گردو (PU 1%، عصاره PU، PU 2%، عصاره PU 4%)، اختلاف معناداری باشد ($P < 0/05$). این کاهش رشد سلول‌ها در تصویر را می‌توان به آزاد سازی ترکیباتی نامطلوب مانند مشتقات کافئیک اسید نسبت داد. همان‌طور که در تصویر شماره 8 مشخص است، در مقایسه نمونه‌ها با یکدیگر بیشترین درصد زنده ماندن سلول بر روی فیلم‌ها،

مربوط به فیلم PU 2% عصاره PU می‌باشد ($P < 0/05$). این مشاهدات بیانگر خواص عصاره برگ درخت گردو در غلظت‌های 1% و 2% می‌باشد که موجب هیدراته کردن بستر کشت، افزایش تجمع سلول‌های فیبروبلاست و کاهش سمیت سلولی است. تست MTT بدست آمده از این تحقیق، افزایش رشد و تکثیر سلول‌ها را نشان داد.

پس از کشت سلولی در روز هفتم، تصاویر میکروسکوپ نوری فیلم‌ها مورد بررسی قرار گرفت (تصویر 9). این تصاویر به خوبی نشان می‌دهند، که در نمونه‌های PU، PU 1%، عصاره PU، PU 2%، عصاره PU سلول‌های فیبروبلاست به صورت مطلوبی نسبت به کنترل و نمونه PU 4% عصاره رشد کرده‌اند. در نهایت سلول‌ها در فیلم‌هایی که شامل 2% عصاره برگ درخت گردو بوده‌اند، رشد بیشتری داشته‌اند و توانسته‌اند بستر مناسبی برای رشد سلول‌های فیبروبلاست فراهم کنند.



تصویر 9- تصاویر SEM رشد سلول‌های فیبروبلاست بر روی پانسمان‌های فیلمی (A) PU، (B) (1%) عصاره PU/، (C) (2%) عصاره PU/ و (D) (4%) عصاره PU/ در روز هفتم

3. استحکام کششی فیلم خالص پلی یورتان، $6/62 \pm 1/2$ MPa بود و با افزودن عصاره برگ درخت گردو به فیلم پلی یورتان به $4/47 \pm 0/9$ MPa کاهش یافت.
4. افزودن 4% وزنی/وزنی عصاره برگ درخت گردو به فیلم باعث افزایش ازدیاد طول تا پارگی گردید.
5. میزان عبور نور و شفافیت فیلم‌ها با افزایش مقدار عصاره برگ درخت گردو کاهش می‌یابند.
6. در تست تخریب بعد از هشت هفته 41 درصد از فیلم پلی یورتان باقی ماند. با اضافه شدن عصاره برگ

بحث و نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج به دست آمده از این پژوهش عبارتند

از:

1. ساخت فیلم عصاره PU/، به روش ریخته‌گری انجام گرفت.
2. با استفاده از پلی یورتان و عصاره برگ درخت گردو به ترتیب با درصدهای 1%، 2% و 4% وزنی فیلم با ساختار یکنواخت حاصل شد.

درخت گردو (%1) عصاره PU/، (%2) عصاره PU/، اختلاف معناداری باشد ($P < 0/05$).

8. نتایج حاصل از SEM سلولی نشان داد که در نمونه‌های PU، (%1) عصاره PU/، (%2) عصاره PU/ سلول‌های فیبروبلاست به صورت مطلوبی نسبت به کنترل و نمونه (%4) عصاره PU/ رشد کرده‌اند.

9. در این مطالعه سلول‌ها در فیلم‌هایی که شامل %2 عصاره برگ درخت گردو بوده‌اند، رشد بیشتری داشته‌اند و توانسته‌اند بستر مناسبی برای رشد سلول‌های فیبروبلاست فراهم کنند.

درخت گردو در ساختار فیلم در نمونه‌های (%1) عصاره PU/، (%2) عصاره PU/ و (%4) عصاره PU/ بعد از هشت هفته به ترتیب %32، %25 و %21 از حجم اولیه باقی مانده است.

7. نتایج حاصل از آزمون MTT بیانگر آنست که در مقایسه نمونه‌ها با یکدیگر بیشترین درصد زنده ماندن سلول بر روی فیلم‌ها، مربوط به فیلم (%2) عصاره PU/ می‌باشد. نمونه (%4) عصاره PU/ (حاوی %4 عصاره برگ درخت گردو) مقداری سمیت سلولی را در روز هفتم نشان داده است که در مقایسه با گروه‌های با غلظت‌های کمتر عصاره برگ

References:

1. F. Groeber, M. Holeiter, M. Hampel, S. Hinderer, and K. Schenke-Layland, "Skin tissue engineering-in vivo and in vitro applications," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 63, pp. 352-366, 2011.
2. Y.-F. Goh, I. Shakir, and R. Hussain, "Electrospun fibers for tissue engineering, drug delivery, and wound dressing," *Journal of Materials Science*, vol. 48, pp. 3027-3054, 2013.
3. S. Kishida, "Nanoscale biological and physical factors influence on myogenic differentiation of skeletal myoblasts," 2014.
4. B. Chevally and D. Herbage, "Collagen-based biomaterials as 3D scaffold for cell cultures: applications for tissue engineering and gene therapy," *Medical and Biological Engineering and Computing*, vol. 38, pp. 211-218, 2000.
5. J. A. Sherratt and J. C. Dallan, "Theoretical models of wound healing: past successes and future challenges," *Comptes Rendus Biologies*, vol. 325, pp. 557-564, 2002.
6. R. White and K. F. Cutting, "Modern exudate management: a review of wound treatments," *World Wide Wounds*, vol. 2006, 1.
7. G. S. Lazarus, D. M. Cooper, D. R. Knighton, D. J. Margolis, R. E. Percoraro, G. Rodeheaver, et al., "Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing," *Wound Repair and Regeneration*, vol. 2, pp. 165-170, 1994.
8. J. Hilton, D. Williams, B. Beuker, D. Miller, and K. Harding, "Wound dressings in diabetic foot disease," *Clinical Infectious Diseases*, vol. 39, pp. S100-S103, 2004.
9. M. C. Ferreira, P. Tuma Júnior, V. F. Carvalho, and F. Kamamoto, "Complex wounds", *Clinics*, vol. 61, pp. 571-578, 2006.
10. L. S. Nair and C. T. Laurencin, "Biodegradable polymers as biomaterials," *Progress in polymer science*, vol. 32, pp. 762-798, 2007.
11. J.-P. Chen, G.-Y. Chang, and J.-K. Chen, "Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 313, pp. 183-188, 2008.
12. G. D. Mogoşanu and A. M. Grumezescu, "Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing," *International journal of pharmaceuticals*, vol. 463, pp. 127-136, 2014.
13. R. A. Kamel, J. F. Ong, E. Eriksson, J. P. Junker, and E. J. Caterson, "Tissue engineering of skin," *Journal of the American College of Surgeons*, vol. 217, pp. 533-555, 2013.
14. T. W. Wang, H. C. Wu, Y. C. Huang, J. S. Sun, and F. H. Lin, "Biomimetic Bilayered Gelatin-Chondroitin 6 Sulfate-Hyaluronic Acid Biopolymer as a Scaffold for Skin Equivalent Tissue Engineering," *Artificial organs*, vol. 30, pp. 141-149, 2006.
15. A. D. Association, "Diagnosis and classification of diabetes mellitus," *Diabetes care*, vol. 37, pp. S81-S90, 2014.
16. A. A. Chaudhari, K. Vig, D. R. Baganizi, R. Sahu, S. Dixit, V. Dennis, et al., "Future prospects for scaffolding methods and biomaterials in skin tissue engineering: a review," *International journal of molecular sciences*, vol. 17, p. 1974, 2016.
17. S. G. Priya, H. Jungvid, and A. Kumar, "Skin tissue engineering for tissue repair and regeneration," *Tissue Engineering Part B: Reviews*, vol. 14, pp. 105-118, 2008.
18. L. I. Moura, A. M. Dias, E. Carvalho, and H. C. de Sousa, "Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment-a review," *Acta biomaterialia*, vol. 9, pp. 7093-7114, 2013.
19. R. A. Clark, K. Ghosh, and M. G. Tonnesen, "Tissue engineering for cutaneous wounds," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 127, pp. 1018-1029, 2007.
20. K. M. Woo, V. J. Chen, and P. X. Ma, "Nano-fibrous scaffolding architecture selectively enhances protein adsorption contributing to cell attachment," *Journal of biomedical materials research Part A*, vol. 67, pp. 531-537, 2003.
21. F. J. O'Brien, "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering," *Materials today*, vol. 14, pp. 88-95, 2011.
22. B. Dhandayuthapani, Y. Yoshida, T. Maekawa, and D. S. Kumar, "Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review," *International Journal of Polymer Science*, vol. 2011, 2011.
23. J. Santerre, K. Woodhouse, G. Laroche, and R. Labow, "Understanding the biodegradation of polyurethanes: from classical implants to tissue engineering materials," *Biomaterials*, vol. 26, pp. 7457-7470, 2005.
24. M. C. Ferreira, P. Tuma, Jr., V. F. Carvalho, and F. Kamamoto, "Complex wounds," *Clinics (Sao Paulo)*, vol. 61, pp. 571-8, Dec 2006.
25. G. Broughton 2nd, J. E. Janis, and C. E. Attinger, "The basic science of wound healing," *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 117, pp. 12S-34S, 2006.
26. J. Schilling, "Wound care made incredibly visual. USA: Lippincott Williams & Wilkins," 2007.