Available in: http://jips.ippi.ac.ir

Iranian Journal of Polymer Science and Technology
Vol. 23, No. 5, 371-378
December 2010-January 2011
ISSN: 1016-3255

# A Simple and Efficient Method to Improve Mechanical Properties of Collagen Scaffolds by UV Irradiation

F. Khayyatan[1,2], Sh. Hojjati Emami[1], N. Zare Mehrjerdi[2], and H. Baharvand[2,3]*

1. Department of Biomedical Engineering, Amirkabir University of Technology, P.O. Box: 15875-4413, Tehran, Iran

2. Department of Stem Cells and Developmental Biology, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, P.O. Box: 19395-4644, Tehran, Iran

3. Department of Developmental Biology, University of Science and Culture, ACECR, Tehran, Iran

Received 3 May 2010, accepted 29 December 2010

## ABSTRACT

Collagen is the major protein component of cartilage, bone, skin and connective tissue and constitutes the major part of the extracellular matrix. Collagen type I has complex structural hierarchy, which consists of tree polypeptide α-chains wound together in a rod-like helical structure. Collagen is an important biomaterial, finding many applications in the field of tissue engineering. It has been processed into various shapes, such as, gel, film, sponge and fiber. It is commonly used as the scaffolding material for tissue engineering due to its many superior properties including low antigenicity and high growth promotion. Unfortunately, poor mechanical properties and rapid degradation rates of collagen scaffolds can cause instability and difficulty in handling. By crosslinking, the structural stability of the collagen and its rate of resorption can be adapted with respect to its demanding requirements. The strength, resorption rate, and biocompatibility of collagenous biomaterials are profoundly influenced by the method and extent of crosslinking. In this study, the effect of UV irradiation on collagen scaffolds has been carried out. Collagen scaffolds were fabricated using freeze drying method with freezing temperature of -80°C, then exposed to UV irradiation. Mean pore size of the scaffolds was obtained as 98.52±14.51 μm using scanning electron microscopy. Collagen scaffolds exposed to UV Irradiation (254 nm) for 15 min showed the highest tensile strain (17.37±0.98 %), modulus (1.67±0.15 MPa) and maximum load (24.47±2.38 cN) values. As partial loss of the native collagen structure may influence attachment, migration, and proliferation of cells on collagen scaffolds, we detected no intact α-chains after SDS-Page chromatography. We demonstrate that UV irradiation is a rapid and easily controlled means of increasing the mechanical strength of collagen scaffolds without any molecular fracture.

Key Words:
tissue engineering,
collagen scaffold,
UV irradiation,
physical crosslinking,
mechanical properties

(*)To whom correspondence should be addressed.
E-mail: baharvand@royaninstitute.org

قابل دسترس در نشانی: http://jips.ippi.ac.ir

# روشی ساده و مؤثر برای بهبود خواص مکانیکی داربست‌های کلاژنی به کمک پرتودهی با فرابنفش

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،
سال بیست و سوم، شماره ۵،
صفحه ۳۷۸-۳۷۱، ۱۳۸۹
ISSN : 1016-3255

فهیمه خیاطان[۱و۲]، شهریار حجتی امامی[۱]، نرگس زارع مهرجردی[۲]، حسین بهاروند[۲و۳]*

۱- تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی پزشکی، صندوق پستی ۴۴۱۳-۱۵۸۷۵
۲- تهران، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و فناوری سلول های بنیادی، گروه سلول های بنیادی و زیست شناسی تکوینی (ACECR)، صندوق پستی ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵
۳- تهران، دانشگاه علم و فرهنگ، گروه زیست شناسی تکوینی (ACECR)

دریافت: ۸۹/۲/۱۳، پذیرش: ۸۹/۱۰/۸

## چکیده

کلاژن جزء عمده پروتئینی بافت‌های غضروف، استخوان، پوست و بافت هم‌بند و نیز بخش عمده ماتریس خارج سلولی است. کلاژن نوع I، ساختار پیچیده‌ای دارد. این ساختار، از سه زنجیر پلی‌پپتیدی تشکیل شده است که به دور هم پیچیده شده‌اند و ساختار مارپیچ میله‌ای شکلی را می‌سازند. کلاژن زیست‌ماده مهمی در بسیاری از کاربردهای مهندسی بافت به شمار می‌رود و می‌تواند به شکل‌های مختلفی مانند ژل، فیلم، اسفنج و فیبر ساخته شود. از این پلیمر به دلیل خواص ایمنی‌زایی کم و ارتقای رشد سلولی، به طور معمول به عنوان داربست برای مهندسی بافت استفاده می‌شود. متاسفانه، خواص مکانیکی ضعیف و سرعت تخریب زیاد داربست‌های کلاژنی منجر به ناپایداری آن می شود و کارکردن با آن را مشکل می‌سازد. با ایجاد اتصالات عرضی در کلاژن، پایداری ساختاری و سرعت تخریب آن را می‌توان با توجه به نیازهای مربوط تنظیم کرد. استحکام، سرعت جذب و زیست‌سازگاری زیست‌مواد کلاژنی بسیار متأثر از روش و مقدار شبکه‌ای کردن آنهاست. در این مطالعه، اثر پرتودهی UV بر داربست‌های کلاژنی بررسی شد. داربست‌های کلاژنی با روش خشکاندن انجمادی در دمای انجماد $-80^{\circ}C$ ساخته شدند. سپس، در معرض پرتودهی UV قرار گرفتند. اندازه تخلخل میانگین داربست‌ها با استفاده از تصاویر میکروسکوپی الکترون‌پویشی $\mu m$ ۱۴/۵۱±۹۸/۵۲ به دست آمد. داربست‌هایی که برای min ۱۵ به کمک UV در nm ۲۵۴ پرتودهی شدند، بیشترین استحکام کرنشی (٪ ۰/۹۸±۱۷/۳۷)، مدول یانگ (۰/۱۵±۱/۶۷MPa) و بیشینه بار (۲/۳۸±۲۴/۴۷cN) را داشتند. از آن جا که شکست جزیی ساختار کلاژن طبیعی بر چسبندگی، مهاجرت و تکثیر سلول‌ها روی داربست اثر می‌گذارد، زنجیرهای کلاژن با روش رنگ‌نگاری SDS-Page بررسی شدند که در نهایت، پس از پرتودهی زنجیر تخریب شده‌ای مشاهده نشد. در این مطالعه، پرتودهی UV به عنوان روشی سریع، آسان و قابل کنترل برای افزایش استحکام مکانیکی داربست‌های کلاژنی، بدون اثر تخریبی روی آنها معرفی شد.

**واژه‌های کلیدی**
مهندسی بافت،
داربست کلاژنی،
پرتودهی UV،
شبکه‌ای کردن فیزیکی،
خواص مکانیکی

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:
baharvand@royaninstitute.org

## مقدمه

از آن جا که پیوند عضو با مشکلاتی از قبیل کمبود اعضای مورد نیاز و کمبود اشخاص اهداکننده مواجه است و از طرفی احتمال پس زدن بافت پیوندی نیز وجود دارد، بافت‌های مصنوعی به دست آمده از مهندسی بافت جایگاه ویژه‌ای دارند. به طور کلی، هدف از مهندسی بافت که تلفیقی از علوم طبیعی و مهندسی است، برقراری و ارتقای عملکرد بافت‌ها یا اعضای مختلف بدن است. در این زمینه داربست‌های سه‌بعدی متخلخل به عنوان یکی از اجزای اصلی سه‌گانه مهندسی بافت حایز اهمیت‌اند [۱،۲]. در این میان، مواد بر پایه کلاژن به دلیل زیست‌سازگاری زیاد، ایمنی‌زایی کم، خواص مکانیکی مناسب، قابلیت شکل‌دهی به اشکال فیزیکی متفاوت، ایجاد پیوندهای عرضی قابل کنترل و ایجاد چسبندگی و رشد سلولی، به فراوانی به عنوان ماده کاشتنی استفاده می‌شوند. این مواد پتانسیل استفاده در کاربردهای متنوع و گسترده‌ای مانند ساخت عروق خونی با قطر کم، جای‌گزین‌های تاندون، رباط، غضروف، عصب، استخوان، قرنیه، پوست مصنوعی و سایر اعضا را دارند [۱۱-۳].

کلاژن از جمله پروتئین‌های چندعاملی است که ویژگی‌های ساختاری بی‌نظیری دارد. این ماده به مقدار زیاد در همه جای بدن وجود دارد و یکی از فراوان‌ترین پروتئین‌هایی است که در بدن پستانداران از جمله انسان وجود دارد. کلاژن در حقیقت بیش از ۲۵ درصد تمام پروتئین‌های بدن را شامل می‌شود. این پلیمر عملکردهای زیست‌مکانیکی بسیار مهم و حیاتی را در بافت‌های مختلف دارد و اعضای داخلی مختلف را به هم متصل و از آنها پشتیبانی می‌کند. کلاژن، پروتئینی است که از سه پلی‌پپتید (زنجیرهای $\alpha$) تشکیل شده است که هر کدام دارای توالی عمومی اسیدهای آمینه $(\text{-Gly-X-Y-})_n$هستند. در این توالی X و Y می‌توانند هر نوع اسید آمینه‌ای باشند که در اکثر مواقع X پرولین (Pro) و Y هیدروکسی پرولین (Hyp) است. در داخل مارپیچ سه‌تایی، گلایسین باید به عنوان سومین اسید آمینه حاضر باشد و پرولین و هیدروکسی پرولین برای شکل دادن و تثبیت مارپیچ سه‌تایی لازم و ضروری هستند. تروپوکلاژن یا مولکول کلاژن، میله‌ای به ابعاد تقریبی ۳۰۰ nm طول و قطر ۱/۵ nm است که از سه زنجیر پلی‌پپتیدی مارپیچی چپ‌گرد تشکیل شده است. این سه زنجیر (دو زنجیر $\alpha_1$ و یک زنجیر $\alpha_2$) به منظور شکل‌دادن مارپیچی راست‌گرد، پیرامون محور مرکزی مولکول در هم تابیده شده‌اند [۱۲،۱۳].

پیوندهای هیدرژنی بین گروه NH- گلایسین و گروه کربونیل C=O باقی‌مانده‌های آمینواسیدی از زنجیر پلی‌پپتیدی دیگر و نیز پل‌های هیدروژنی مولکول‌های آب، ساختار مولکولی کلاژن را حفظ می‌کنند.

زیست‌مواد کلاژنی معمولاً از بافت‌هایی با استحکام زیاد مانند درمیس و تاندون به دست می‌آیند. اما، خالص‌سازی بافت و فرایندهایی که به منظور به دست آوردن شکل‌های مورد نظر روی آن انجام می‌شود، به طور قابل توجهی استحکام آن را کاهش داده و سرعت تخریب آن را به وسیله آنزیم‌ها افزایش می‌دهد [۱۷-۱۴]. برای ارتقای استحکام و ماندگاری آن، می‌توان به کمک روش‌های شیمیایی (آلدهیدها، ایزوسیانات‌ها، کربودی‌آمیدها) یا فیزیکی (پرتودهی فرابنفش و آب‌گیری گرمایی) با ایجاد پیوندهای عرضی، استحکام آن را بهبود بخشید و سرعت زیست‌تخریب‌پذیری آن را کنترل کرد که در مجموع هیچ یک از این روش‌ها به طور کامل مورد رضایت نیستند. عوامل شبکه‌ای‌کننده شیمیایی به طور بالقوه منجر به سمیت سلولی می‌شوند. از سوی دیگر، قرارگیری طولانی مدت در برابر پرتو فرابنفش منجر به تخریب جزیی مولکول‌های کلاژن می‌شود، در حالی که قرارگیری کوتاه مدت منجر به شبکه‌ای‌شدن ناکافی کلاژن شده و یافتن مقدار بهینه در معرض پرتوبودن به عنوان یک چالش مطرح است. به طور کلی، در مواردی که زیست‌سازگاری و عدم سمیت سلولی داربست بسیار مهم است، روش‌های فیزیکی به روش‌های شیمیایی ترجیح داده می‌شوند [۱۸،۱۹].

تابش UV بر اساس طول موج ($\lambda$) به سه ناحیه UVC ($\lambda$ =۲۰۰-۲۸۰ nm)، UVB ($\lambda$ =۲۸۰-۳۲۰ nm) و UVA ($\lambda$ =۳۲۰-۴۰۰ nm) دسته‌بندی می‌شود. از آن جا که طول موج با انرژی رابطه معکوس دارد، UVC بیشترین انرژی را دارد. بنابراین، در پرتودهی کلاژن به عنوان مولکولی پیچیده و حساس به پرتو باید بسیار دقت داشت، زیرا پرتودهی بیش از حد بهینه، می‌تواند منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد در اثر حذف هیدروژن از ساختار کلاژن، از بین‌بردن ساختار مارپیچ سه‌گانه و در نهایت تخریب نوری آن شود که این امر بر خواص فیزیکی، شیمیایی و فیزیکوشیمیایی آن اثر بسزایی دارد [۲۰].

هدف از این مطالعه، بررسی انرژی‌های مختلف پرتو فرابنفش بر خواص مکانیکی داربست‌های کلاژنی ساخته شده به روش خشکاندن انجمادی و یافتن مقدار بهینه پرتودهی است. هم‌چنین، تخریب مولکولی کلاژن با روش SDS-Page بررسی شد.

## تجربی

### مواد

استیک اسید از شرکت Merck، پلی‌آکریل آمید از Sigma و رنگ

کوماسی ساخت Serva، صافی نایلونی از شرکت BD Biosciences BD Falcon، آمریکا و ظرف کشت سلول ۶ خانه از شرکت TPP سوئیس تهیه و استفاده شدند.

### دستگاه‌ها

در این طرح، دستگاه خشکاندن انجمادی مدل ALPHA 1-2 LDplus، دستگاه شبکه‌ای کننده UVP Ultraviolet مدل CL-1000 ساخت انگلیس، دستگاه اینسترون UTM Corporation، series 5566 ساخت انگلیس، دستگاه چگالی سنج Bio Rad، GS-800 Calibrated Densitometer انگلیس و دستگاه میکروسکوپ الکترون‌پویشی VEGA\\TESCAN از جمهوری چک، به کار گرفته شدند.

### روش‌ها

#### ساخت داربست

محلول ۱w/v٪ کلاژن نوع I مشتق از تاندون دم موش صحرایی (پژوهشگاه رویان)، با قرار دادن در دستگاه رشد (انکوباتور) کلاژن در استیک اسید ۰/۵ مولار (pH=۲/۵) به مدت یک شب در دمای ۴°C به دست آمد. محلول حاصل با صافی نایلونی با قطر متوسط روزنه ۱۰۰ µm، صاف و در شرایط خلاء حباب‌گیری شد. سپس، ۱/۵ mL از محلول حاصل به داخل قالب پلی‌استیرن (ظرف کشت سلول ۶ خانه) ریخته و در دمای ۸۰°C- منجمد شد. پس از انجماد کامل، نمونه‌ها به مدت ۲۴ h در دمای ۵۵°C- و خلاء کامل خشکاندن انجمادی شدند.

#### بررسی شکل‌شناسی و ساختار داربست‌ها

ریزنگار داربست‌ها از سطح زیر آنها به وسیله میکروسکوپ الکترون پویشی در ولتاژ ۱۵ kV گرفته شد. نمونه‌ها پس از فرایند خشکاندن انجمادی، روی پایه‌های مورد نظر ثابت شده و زیر پاشش یکنواخت طلا در ۲۰ mA برای ۴ min قرار گرفتند. برای محاسبه میانگین اندازه تخلخل داربست‌ها، از برنامه Image Analyzer (ImageJ) برای حداقل ۲۰ تخلخل استفاده شد.

#### پرتودهی با فرابنفش

داربست‌های آماده شده، پس از قرارگیری روی فویل آلومینیمی به منظور بازتاب پرتو، داخل محفظه دستگاه شبکه‌ای کننده و به فاصله ۴/۵ in از لامپ UV با طول موج ۲۵۴ nm و به مدت زمان‌های ۰، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ min قرار گرفتند. داربست‌ها پس از گذشت نصف زمان مورد نظر برعکس می‌شدند تا هر دو طرف سطح داربست در معرض پرتو قرار گیرد. در فاصله و مدت زمان‌های مزبور کل انرژی منتقل شده به داربست‌ها به ترتیب ۰، ۱۳/۵، ۲۷، ۵۴ و ۱۰۸ J/cm$^2$ بود [۲۱].

#### خواص مکانیکی

برای ارزیابی خواص مکانیکی نمونه‌ها، داربست‌های تهیه شده طبق شکل استاندارد برای انجام آزمون کشش (ASTM D638) به وسیله قالب تیزی که از پیش تهیه شده بود، قالب‌گیری شدند. ضخامت نمونه‌ها در سه بخش مختلف داربست، با ضخامت‌سنج اندازه‌گیری شد. سپس، آزمون کشش در شرایطی که فاصله فک‌ها از هم ۱۵ mm بود، با سرعت ۵ mm/min در دمای محیط انجام شد. برای انجام آزمون از سلول بارگذاری ۵۰ N استفاده شد. مقدار تنش وارد شده به نمونه از تقسیم نیروی وارد شده حین کشش، به سطح مقطع اولیه نمونه به دست آمد. کرنش، نسبت تغییر طول به طول اولیه نمونه تعریف شد. مدول یانگ، کرنش کششی و بار بیشینه نمونه‌ها طبق شرایط مزبور محاسبه شدند.

#### الکتروفورز بر پایه ژل سدیم دودسیل سولفات پلی‌آکریل آمید (SDS-PAGE)

نمونه‌هایی که در زمان‌های مختلف در معرض پرتودهی قرار گرفته بودند، با الکتروفورز بر پایه ژل متراکم‌کننده ۴٪ و ژل جداکننده ۷٪ پلی‌آکریل آمید در مجاورت سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) به روش Laemilli کنترل شد [۲۲]. ژل در ولتاژ ۱۲۰ V الکتروفورز شده و پیوندهای حاصل با رنگ‌آمیزی کوماسی قابل رویت شد. سپس، رنگ‌های اضافی با استفاده از محلول رنگ‌بر حذف و در نهایت در دستگاه چگالی‌سنج پویش شد.

#### تحلیل آماری

مقایسه بین گروه‌ها به کمک روش تحلیل واریانس (ANOVA) و آزمون Tukey به کمک نرم‌افزار SPSS 16.00 با سه مرتبه تکرار انجام شد. حد معنی‌دار برای $p< ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

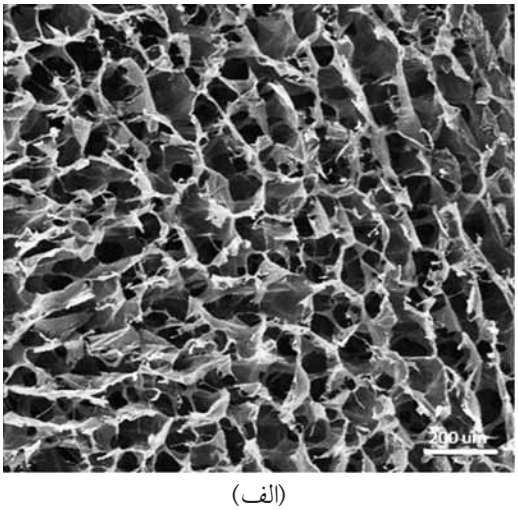
## نتایج و بحث

داربست‌های کلاژنی به دلیل زیست‌سازگاری زیاد انتخاب‌های بسیار مناسبی برای کاربردهای مهندسی بافت هستند، ولی استحکام کم آنها به عنوان چالش مورد بحث است و باید مراقب بود که استفاده از مواد مختلف برای ارتقای خواص مکانیکی آن، زیست‌سازگاری این

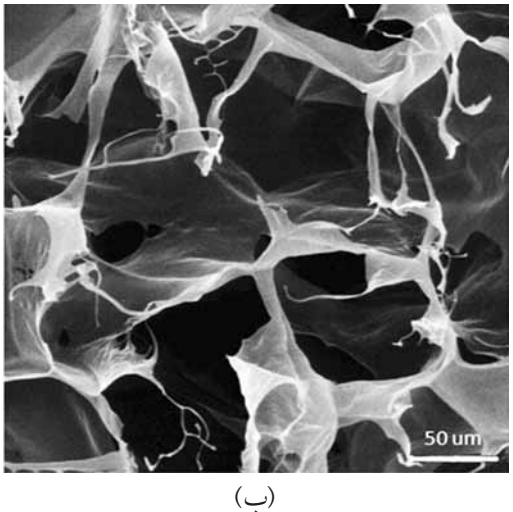
داربست‌ها را زیر سوال نبرد. به همین دلیل، روش‌های فیزیکی به عنوان یک رویکرد مطرح شدند. در این مطالعه، اثر پرتودهی UV به عنوان روش شبکه‌ای کردن فیزیکی روی این داربست‌ها بررسی شد. زیرا به نظر می‌رسد، پرتودهی UV باعث به وجود آمدن رادیکال‌های آزاد روی باقی‌مانده‌های آمینواسیدی آروماتیک مانند تیروزین و فنیل‌آلانین می‌شود که در نهایت با اتصال این رادیکال‌ها شبکه‌ها شکل می‌گیرند. تاکنون مطالعات انجام شده روی اثر پرتو فرابنفش بر کلاژن، مختص کلاژن فیلم‌ها [۱۵] و رشته‌های کلاژن [۱۴،۱۷،۲۱] بوده است. هم‌چنین، مطالعات مختلفی روی اثر UV بر پوست (به عنوان منبع عمده کلاژن) [۲۳] و خواص مکانیکی کلاژن مشتق از تاندون دم موش صحرایی [۲۴] انجام شده است. به تازگی مطالعه‌ای نیز روی اثر اسکوربیک اسید به عنوان ضداکسنده در حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از تخریب نوری کلاژن انجام شده است [۲۵،۲۶] که می‌توان در کاربردهای مهندسی بافت از آن استفاده کرد.

از آن جا که پرتو UV بیشتر جذب سطحی دارد، مقدار سطح مخصوص بسیار حایز اهمیت است. برای مثال، به دلیل افزایش سطح مخصوص رشته‌های کلاژنی نسبت به فیلم‌های کلاژنی، انرژی UV جذب شده در کلاژن رشته‌ها بیشتر است. بنابراین، در مدت زمان‌های کمتر پرتودهی می‌توان به خواص مطلوب و مورد نظر دست یافت. از آن جا که اندازه میانگین قطر تخلخل‌ها در مقدار افزایش سطح مخصوص و نیز تجمع انرژی UV در تخلخل‌ها بسیار حایز اهمیت است، میانگین قطر تخلخل‌های داربست‌های تهیه شده، با استفاده از تصاویر میکروسکوپی الکترون‌پویشی ۱۴/۵۱ μm±۹۸/۵۲ محاسبه شد (شکل ۱).

در اثر پرتودهی UV تغییرات معنی‌داری در خواص مکانیکی داربست‌های کلاژنی دیده شد که می‌توان برای کاربردهای مهندسی بافت از آن استفاده کرد (شکل ۲). همان‌طور که در شکل ۲ ـ الف دیده می‌شود، پس از ۱۵ و ۳۰ min پرتودهی، مدول یانگ به طور معنی‌داری نسبت به داربست پرتودهی نشده افزایش یافته و این تفاوت در تمام گروه‌ها معنی‌دار بوده است. بدین ترتیب که پس از ۳۰ min پرتودهی، تابش بیشتر پرتو UV سبب ایجاد رادیکال‌های آزاد و تخریب کلاژن و در نهایت افت معنی‌دار مدول یانگ شده است. اختلاف مدول یانگ در نمونه‌های ۶۰ و ۱۲۰ min پرتودهی شده نسبت به نمونه کنترل (نمونه پرتودهی نشده) معنی‌دار نبود ($p>0/05$). در ارتباط با استحکام کرنشی نیز، پس از ۱۵ min پرتودهی افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه کنترل دیده شد (شکل ۲ ـ ب). پس از ۳۰ min پرتودهی، استحکام کرنشی افزایش یافت که این افزایش معنی‌دار نبود ($p=0/26$). این امر حاکی از این واقعیت است که پس از ۱۵ min پرتودهی، به دلیل شبکه‌ای شدن و ایجاد پیوندهای عرضی بین مولکول‌های کلاژن، استحکام کرنشی و مدول یانگ نسبت به نمونه کنترل افزایش یافته و تابش‌دهی بیشتر (۳۰ min) سبب شده است تا مدول یانگ نسبت به نمونه کنترل افزایش یابد. ولی به دلیل خشک‌شدن نمونه، درصد استحکام کرنشی کاهش یافت که در نهایت اختلاف معنی‌داری بین این نمونه و نمونه کنترل مشاهده نشد. کاهش استحکام در نمونه‌های با زمان پرتودهی بیشتر نیز دیده می‌شود. همان‌طور که در شکل ۲ ـ ج مشاهده می‌شود، بیشترین نیرویی که داربست می‌تواند تحمل کند، پس از ۱۵ min پرتودهی به طور معنی‌داری نسبت به نمونه کنترل افزایش داشته است، این نیرو به دلیل

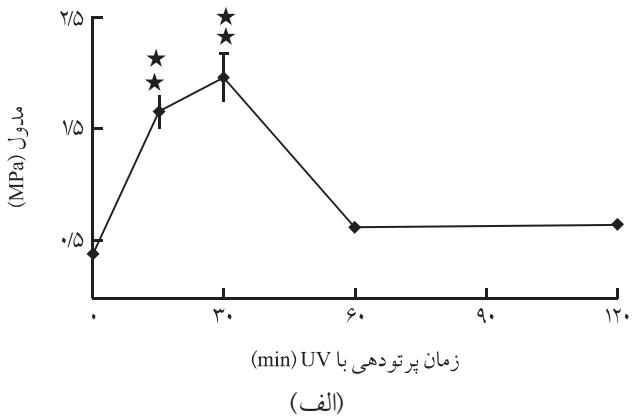


(الف)

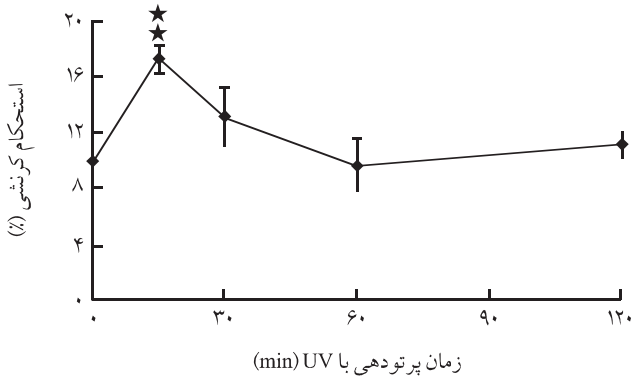


(ب)

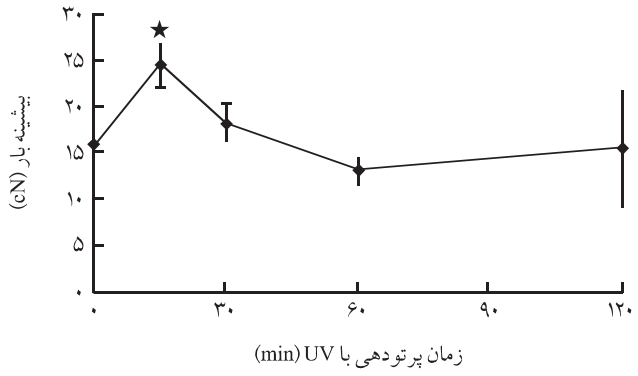
شکل ۱ ـ تصاویر میکروسکوپی الکترون‌پویشی از داربست‌های کلاژنی تهیه شده به روش خشکاندن انجمادی در دو بزرگ‌نمایی مختلف: (الف) ۱۰۰ و (ب) ۵۰۰.




(الف)




(ب)

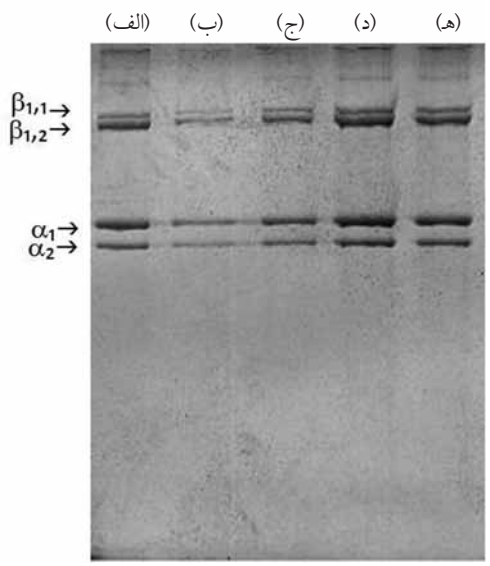



(ج)

شکل ۲ ـ خواص مکانیکی داربست‌های کلاژنی پس از پرتودهی با لامپ UV. (p** <۰/۰۱ و p*<۰/۰۵): (الف) مدول یانگ، (ب) استحکام کرنشی و (ج) بیشینه بار.

تخریب کلاژن در زمان‌های بیشتر (که ایجاد انرژی‌های بیشتری می‌کند) کاهش می‌یابد.

از آن جا که در مدت زمان‌های طولانی پرتودهی، خواص مکانیکی افت می‌کرد، بررسی این امر که آیا انرژی پرتو فرابنفش منجر به تخریب پیوندهای بین مولکولی می‌شود یا این که بدنه مارپیچ سه‌گانه




شکل ۳ ـ الگوی الکتروفورز داربست‌های کلاژنی پس از زمان‌های مختلف پرتودهی با UV: (الف) ۰min، (ب) ۱۵، (ج) ۳۰min، (د) ۶۰min و (ه) ۱۲۰min.

مولکول‌های کلاژن را تخریب می‌کند، لازم بود. این درحالی است که تاکنون هیچ مطالعه‌ای در این زمینه گزارش نشده است. نتایج حاصل از الگوی الکتروفورز (شکل ۳) نشان می‌دهد که در تمام انرژی‌های UV، پیوندهای مختص به مولکول کلاژن مانند $\alpha_1$، $\alpha_2$، $\beta_1$ و $\beta_2$ بدون تخریب باقی مانده‌اند و این افت خواص مکانیکی احتمالاً ناشی از شکست پیوندهای بین مولکولی بوده است.

بدین ترتیب، به دلیل افزایش سطح مخصوص نانومواد که شاخص اصلی این مواد است و منجر به جذب بیشتر انرژی می‌شود، پرتودهی UV به عنوان روش شبکه‌ای کردن فیزیکی آسان، سریع و قابل کنترل و بدون آثار سمیت‌زایی برای کاربردهای مهندسی بافت پیشنهاد می‌شود.

## نتیجه‌گیری

خواص مکانیکی زیست مواد بر پایه کلاژن و نیز سرعت تخریب آنها پس از پیوند داخل بدن به طور عمده به وسیله مقدار شبکه کردن آنها کنترل می‌شود. به نظر می‌رسد، پرتودهی UV روشی مناسب برای شبکه‌ای کردن کلاژن برای کاربردهای مهندسی بافت‌های مختلف باشد، زیرا بدون وارد کردن مواد شیمیایی اضافی و با پرتودهی کمتر از ۳۰min می‌توان به استحکام مکانیکی زیاد و آثار تخریب کمتر دست یافت. در این مطالعه، آثار پرتودهی UV روی خواص مکانیکی

داربست‌های کلاژنی تهیه شده به روش خشکاندن انجمادی و نیز اثر تخریبی آن روی مولکول کلاژن بررسی شد. min ۱۵ پرتودهی با UV مدول یانگ، کرنش کششی و بیشینه بار را افزایش داد و طی این مدت نیز اثر تخریبی بر زنجیرهای کلاژنی مشاهده نشد. این روش شبکه‌ای کردن می‌تواند برای سایر شکل‌های زیست‌مواد بر پایه کلاژن (مانند الیاف، اسفنج‌ها، ژل‌ها، پودرها و محلول‌ها) نیز مفید باشد.

## مراجع


1. Charulatha D. and Rajaram A., Dimethyl 3,3-Dithiobispropionimidate: A Novel Crosslinking Reagent for Collagen, *Biomed. Mater. Res.*, **54**, 122-128, 2001.
2. Lien S., Li W., and Huang T., Genipin-crosslinked Gelatin Scaffolds for Articular Cartilage Tissue Engineering with a Novel Crosslinking Method, *Mater. Sci. Eng. Part C*, **28**, 36-43, 2008.
3. Miyata T., Taira T., and Noishiki Y., Collagen Engineering for Biomaterials Use, *Clin. Mater.*, **9**, 139-148, 1992.
4. Nimni M.E., Polypeptide Growth Factors: Targeted Delivery Systems, *Biomaterials*, **18**, 1201-1225, 1997.
5. Schlegal H., Mohler F., Busch F., and Mehl A., Preclinical and Clinical Studies of a Collagen Membrane (Bio-Gidet), *Biomaterials*, **18**, 535-538, 1997.
6. Keefe L., Wauk L., Chu S., and Delustro F., Clinical Use of Injectable Bovine Collagen: A Decade of Experience, *Clin. Mater.*, **9**, 155-162, 1992.
7. Yannas I.V., Tissue Regeneration by Use of Collagen-glycosaminoglycan Co-polymers, *Clin. Mater.*, **9**, 179-187, 1992.
8. Friess W., Collagen-biomaterial for Drug Delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **45**, 113-136, 1998.
9. Dalm D., Prufer G., Dohmen E., Mayer E., Groh Y.H., Chol E.H., and Oelert H., Pathophysiology of Early Failure of Autologous Aortic Heart Valves, *Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **46**, 344-347, 1998.
10. Van Luyn M.J.A., Verheul J., and Van Wachem P.B., Regeneration of Full Thickness Wounds Using Collagen Split Grafts, *J. Biomed. Mater. Res.*, **29**, 1425-1436, 1995.
11. Tomazic B.B., Brown W.E., and Schoer F.J., Physicochemical Properties of Calcified Deposits Isolated from Porcine Bioprosthetic Heart Valves Removed from Patients Following 2-13 Years Function, *J. Biomed. Mater. Res.*, **28**, 35-47, 1994.
12. Park J.B and Bronzino J.D., *Biomaterials Principles and Applications*, CRC, London, 2002.
13. Brinckmann J., Notbohm H., and Muller P.K., *Collagen Primer in Structure, Processing and Assembly*, Springer, US, 2005.
14. Weadock K., Miller E., Bellincampi L., Zawadsky J., and Dunn M., Physical Crosslinking of Collagen Fibers: Comparison of Ultraviolet Irradiation and Dehydrothermal Treatment, *Biomed. Mater. Res.*, **29**, 1373-1379, 1995.
15. Ohan M., Weadock K., and Dunn M., Synergistic Effects of Glucose and Ultraviolet Irradiation on the Physical Properties of Collagen, *J. Biomed. Mater. Res.*, **60**, 384-391, 2002.
16. Cornwell K., Lei P., Andreadis S., and Pins G., Crosslinking of Discrete Self-assembled Collagen Threads: Effects on Mechanical Strength and Cell-matrix Interactions, *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, **80**, 362-371, 2007.
17. Andrea B. and Dunn M., Changes in Mechanical Properties and Cellularity During Long-term Culture of Collagen Fiber ACL Reconstruction Scaffolds, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **73**, 388-397, 2005.
18. Levy R.J., Qu X., Underwood T., Trachy J., and Schoen F., Calcification of Valved Aortic Allografts in Rats: Effect of Age, Crosslinking and Inhibitors, *J. Biomed. Mater. Res.*, **29**, 217-226, 1995.
19. Van Wachem P.B., Zeeman R., Dijkstra P.J., Feijen J., Hendriks M., Cahalan P.T., and Van Luyn M.J., Characterization and Biocompatibility of Epoxy-crosslinked Dermal Sheep Collagens, *J. Biomed. Mater. Res.*, **47**, 270-277, 1999.
20. Rabotyagova O.S., Cebe P., and Kaplan D.L., Collagen Structural Hierarchy and Susceptibility to Degradation by Ultraviolet Radiation, *Mater. Sci. Eng. Part C*, **28**, 1420-1429, 2008.
21. Weadock K., Miller E., Keuffel E., and Dunn M., Effect of Physical Crosslinking Methods on Collagen-fiber Durability in Proteolytic Solutions, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **32**, 221-226, 1998.
22. Foidart J., Tryggvason K., Robey P., Liotta L., and Martin G., Biosynthesis of Type IV and V (alpha A-alpha B) Collagens by Human Placenta, *Coll. Relat. Res.*, **1**, 137-150, 1981.
23. Yarosh D., Dong K., and Smiles K., UV-induced Degradation of Collagen I Is Mediated by Soluble Factors Released from Ker-

atinocytes, *AGI Dermatics*, **84**, 67-68, 2007.

24. Sionkowska A. and Wess T., Mechanical Properties of UV Irradiated Rat Tail Tendon (RTT) Collagen, *Int. J. Biolog. Macromol.*, **34**, 9-12, 2004.
25. Metreveli N.O., Jariashvili K.K., Namicheishvili L.O., Svintradze D.V., Chikvaidze E.N., Sionkowska A., and Skopinska J., UV-Vis and FT-IR Spectra of Ultraviolet Irradiated Collagen in the Presence of Antioxidant Ascorbic acid, *Ecotoxicol Environ. Saf.*, **73**, 448-455, 2009.
26. Metreveli N., Namicheishvili L., Jariashvili K., Mrevlishvili G., and Sionkowska A., Mechanisms of the Influence of UV Irradiation on Collagen and Collagen-Ascorbic Acid Solutions, *Int. J. Photoenergy*, 1-4 Article ID 76830, 2006.