جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی زیست سازگاری پروتزهای عروقی پلی‌استری پوشش داده شده با ذرات گرافیت

حسن عربی، حمید میرزاده
تهران، بزرگراه تهران کرج، شهرک پژوهش- بلوار پژوهش، صندوق پستی ۱۱۵-۱۴۹۶۵
پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران
E-mail :h.arabi@ipi.ac.ir

چکیده:
در این کار تحقیقاتی در ابتدا عروق پارچه‌ای از جنس الیاف پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) در قطرهای ۱۰ و ۱۲ میلی‌متر با استفاده از ماشین کشباف (Knitted Machine) بافته شد سپس با استفاده از تکنیک حرکت ذرات معلق بوسیله جریان برق (Electrophoresis Technique) یک پوشش یکنواختی از گرافیت بر روی عروق داده شد. نتایج حاصله از انجام بررسیهای میکروسکوپی نشانگر ایجاد یک پوشش یکنواخت بر روی سطوح داخلی و خارجی عروق بوده است.سپس مطالعه رفتار سلولی با استفاده از کاشت سلولهای فیبروبلاست L929 صورت گرفت. نتایج حاصله نشانگر چسبندگی و رشد وسیع سلولهای فیبروبلاست بر روی سطوح عروق با پوشش گرافیتی بوده است.

واژه های کلیدی: پروتزهای عروقی؛ گرافیت؛ پلی‌استر؛ پلاکت

مقدمه

تشکیل لخته بر روی سطوح پلیمرهایی که در تماس با خون می‌باشند، مسئله پیچیده‌ای است که همواره با سوالات زیادی همراه بوده و تاکنون بطور کامل حل نشده است [۱]. بهرحال تمامی محققین این مسئله را پذیرفته‌اند که جذب پروتئین‌های پلاسما بر روی چسبندگی و فعالیت پلاکت‌ها که نقش اصلی و مهم را در فرایند ایجاد لخته خونی ایفا می‌کنند، اثر می‌گذارند. [۲].

از عوامل مهم در گسترش فرایند ایجاد لخته بر روی سطوح خارجی، خواص شیمیایی فیزیکی سطح می‌باشد که نقش اصلی را بعهده داشته و عدم خواص مناسب سطح باعث ایجاد لخته در محل پیوند و در نتیجه شکست آن را بدنبال دارد [۵-۳]. تمام تلاشهای محققین در سالهای اخیر بر روی این مسئله متمرکز گردیده که خواص شیمیایی و فیزیکی سطح را کاملاً سازگار با خون طراحی نمایند تا مسئله چسبندگی پلاکت‌ها رخ ندهد.

کربن از دیرباز بعنوان یک ماده بیولوژیکی و سازگار با بدن شناخته شده است [۷]. یکی از اشکال کربن گرافیت بوده که تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که سطوح پوشش داده شده با گرافیت باعث کاهش ایجاد لخته خونی می‌گردد.

علت اصلی در این مسئله وجود بار منفی ذرات گرافیت می‌باشد زیرا که جریان خون خود دارای بار منفی بوده و بخاطر وجود بار منفی ذرات گرافیت اینها همدیگر دفع نموده و از چسبندگی پلاکت‌ها بر روی سطوح پوشش‌دهی شده با گرافیت جلوگیری می‌شود [۱۳-۱۰]. تاکنون تحقیقات زیادی بر روی پروتزهای عروقی از جنس تترافلوئور پلی‌اتیلن (PTFE) با پوشش گرافیتی صورت گرفته و نتایج بررسیها نشان می‌دهد که این پوشش‌ها باعث افزایش قابل توجهی در خواص خون سازگاری پروتز عروقی گردیده است [۷].

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

در کار تحقیقاتی موضوع این مقاله، پروتزهای عروقی از جنس پارچه‌های پلی‌استری با استفاده از روش حرکت ذرات بوسیله جریان برق (Electrophoresis Technique) پوشش گرافیت داده شده‌اند. سپس آزمایشات لازم جهت بررسی پایداری و یکنواختی گرافیت پوشش داده شده و بررسی‌های خون سازگاری و زیست سازگاری پروتزهای ساخته شده از طریق انجام آزمایش کشت سلولی با استفاده از سلولهای فیبروبلاست L929 صورت گرفت و تمامی آزمایشات نشانگر بهبود زیست سازگاری پروتزهای گرافیتی بوده است.

تجربی

مواد

الیاف پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) با نمره ۴۹ خریداری شده از کمپانی Fiber کشور بلاروس، گرافیت با مش ۳-۱ میکرون خریداری شده از شرکت Merck، شکر تولیدی شرکت پارس اهواز، ژلاتین گرید غذایی تهیه شده از شرکت Merck ، الکل اتیلیک نوع Merck و آب مقطر دو بار تقطیر تهیه شده در پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران و آمونیاک نوع Merck.

دستگاهها

از ماشین کشباف (Knitted Machine) ساخت کشور روسیه برای ساخت عروق پارچه‌ای در قطرهای ۱۰ و ۱۲ میلی‌متراستفاده شد. دستگاه میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) ساخت کشور انگلستان مدل S360 برای بررسیهای مرفولوژی مورد استفاده قرار گرفت.

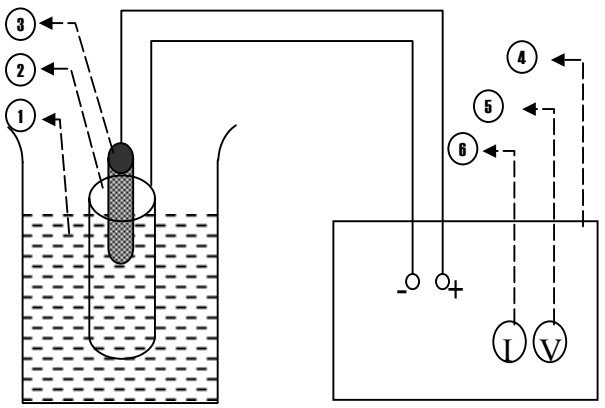
فرایند پوشش دهی

در ابتدا عروق پارچه‌ای در قطرهای ۱۰ و ۱۲ میلی‌متر با استفاده از ماشین کشباف تهیه گردید. سپس برای انجام فرایند پوشش دهی یک محلول کلوئیدی از گرافیت با ترکیب اجزاء مندرج در جدول(۱) تهیه گردید.

جدول ۱- ترکیب درصد اجزاء محلول کلوئیدی گرافیتی

ردیف	ماده	درصد وزنی
۱	گرافیت	٪۱۲
۲	شکر	٪۱
۳	ژلاتین	٪۱
۴	آمونیاک	٪۱
۵	آب مقطر دوبار تقطیر شده	٪ ۸۵

بعد از تهیه محلول کلوئیدی از گرافیت، فرایند پوشش‌دهی از طریق فرایند Electrophoresis انجام گرفت شماتیکی از این فرایند در شکل(۱) نشان داده شده است



شکل ۱- شماتیکی از فرایند پوشش دهی پروتزهای عروقی:(۱)محلول کلوئیدی گرافیتی (۲) الکترود کمکی (۳) نمونه پروتز عروقی (۴) مولد جریان برق (۵) ولت متر (۶)آمپرمتر

دراین فرایند با استفاده از یک الکترودکمکی اختلاف ولتاژ ۱۵۰-۱۰۰ ولت بین نمونه و الکترود کمکی برای مدت چند دقیقه ایجاد می‌گردد.. سپس بر روی نمونه در طی انجام چند مرحله تمیزکاری مکانیکی انجام گرفته تا گرافیت‌های اضافی از روی آنها جداگردد.

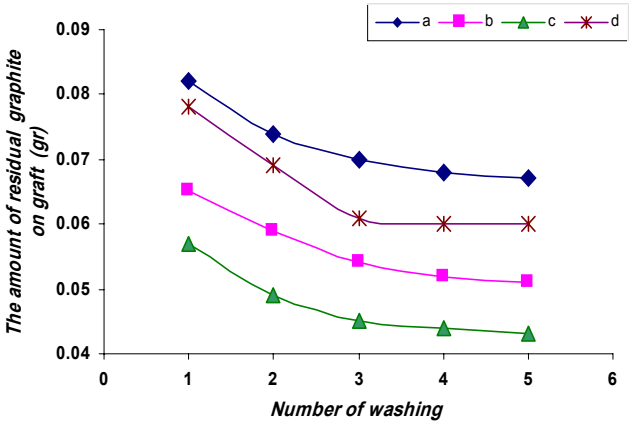
جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کشت سلولی (In Vitro)

برای انجام آزمایشات کشت سلولی از سلولهای فیبروبلاست L929 مربوط به موش (تهیه شده از بانک سلولی انستیتوی پاستور ایران) استفاده گردید که این سلولها در محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ همراه با ۱۰۰ lU/ml پنی‌سیلین و mg/ml ۱۰۰ استروپتومایسین و ۱۰درصد سرم جنین گوساله نگهداری شدند. عملیات معمولی برای نگهداری خط سلولی مذکور مورد استفاده قرار گرفت و سلولها در محیط انکوباتور با رطوبت ۹۵٪ و ۵ درصد گاز Co_2 در ۳۷°C نگهداری شدند. پس از یک هفته لایه سلولی با تریپسین برداشت شد و تعلیق سلولی به میزان ۴×۱۰^{۵} سلول در واحد حجم تهیه گردید. نمونه‌های عروق دراتوکلاو استریل شد و سپس در ظروف مخصوص کشت قرار داده شد. سپس به هر حفره ۵ میلی‌لیتر تعلیق سولی منتقل شد. در مرحله بعد نمونه‌ها برای مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند و پس از آن نمونه‌ها خارج شده و با محلول نمکی بافر فسفات (PBS) شستشو داده شدند. سلولها با الکلهای طبی با درجات الکلی ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۶ درصد تثبیت شده و با محلول ۵ درصد گیمسا (Gimsa) رنگ‌آمیزی و برای آزمون میکروسکوپ لازم آماده شدند [۱۴].

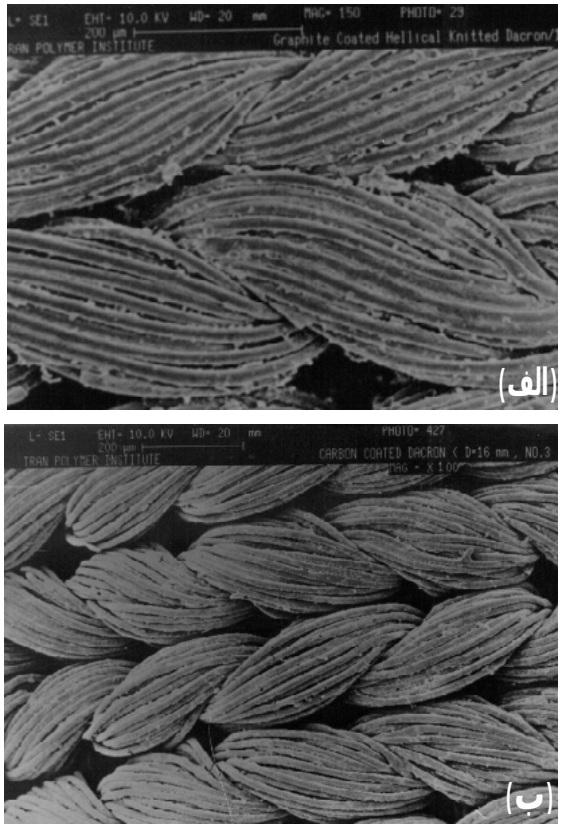
نتایج و بحث

برای تعیین میزان گرافیت تثبیت شده بر روی پروتزها، نمونه‌های مذکور در داخل آب مقطر با درجه حرارت ۱۰۰°C -۹۰ برای مدت ۱ ساعت قرار گرفته و این عمل چندین مرتبه تکرار گردید. نتایج حاصله از انجام این آزمایش در منحنی (۲) نشان داده شده است. همانطور که در منحنی شماره (۲) مشاهده می‌گردد بعد از گذشت ۵ مرحله شستشو، میزان گرافیت باقیمانده بر روی عروقی ثابت شده و بعد از آن گرافیت از روی پروتزهای جدا نمی‌گردد



شکل۲- مقدار گرافیت باقیمانده بر روی پروتز بعد از ۵مرحله شستشو در آب مقطر باری مدت ۱ ساعت

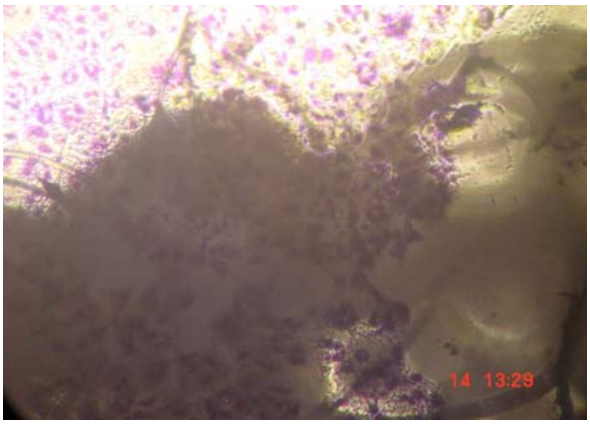
تصاویر میکروسکوپی گرفته از سطح پروتزهای با پوشش گرافیتی و بدون پوشش که با استفاده از دستگاه SEM گرفته شده در شکل (۳) نشان داده شده است.

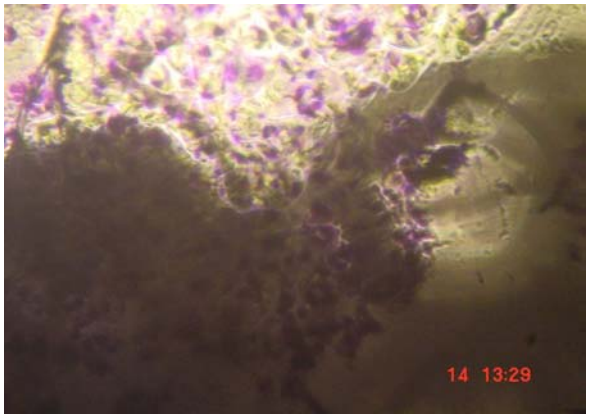


شکل ۲- تصاویر میکروسکوپی از سطح پروتزهای عروقی (الف)پروتز با پوشش گرافیت (ب) پروتز بدون پوشش

همانطور که در این تصاویر دیده می‌شود یک پوشش یکنواختی از گرافیت بر روی پروتزها ایجاد شده است.

شکل ۵ سلولهای فیبروبلاست بر روی پروتزهای عروقی پلی‌استر با پوشش گرافیتی را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشاهده می‌گردد وضعیت چسبندگی و رشد سلولهای فیبروبلاست روی نمونه‌های عروق نشان دهنده زیست سازگاری خوب این نمونه‌ها می‌باشد. لازم به ذکر است که آزمون چسبندگی پلاکت‌ها نیز بر روی نمونه‌های عروقی با پوشش گرافیتی در مقایسه با نمونه‌ها بدون پوشش صورت گرفته و نتایج حاصله از انجام این آزمونها نشانگر چسبندگی کمتر پلاکت به عروق با پوشش گرافیتی بوده است.





شکل ۴- تصاویر میکروسکوپی نوری سلولهای فیبروبلاست روی پارچه‌های عروقی پلی‌استری با پوشش گرافیتی

نتیجه‌گیری

پوشش‌دهی پروتزهای عروقی با استفاده از روش حرکت ذرات با جریان برق (Electrophoresis Technique) انجام گرفت. نتایج حاصله از انجام آزمایشات نشانگر ایجاد یک پوشش یکنواختی و پایدار از گرافیت بر روی پروتزهای عروقی بود. همچنین نتایج حاصله از انجام آزمون کشت سلولی نشانگر زیست سازگاری خوب پروتزهای عروقی با پوشش گرافیتی بوده است.

مراجع

1. Mirzadeh H, Dadsetan M, Sharifi Sanjani N. Platelet adhesion on laser-induced acrylic acid- grafted polyethylene terephthalate. J Applied Polymer Science 2002; 86: 3191-3196.
2. Nojiri C, Okano T, Jacobs HA, Park KD, Mohammad SF, Olsen DB, Kim SW. J Biomed Mater Res 1990; 24:1151.
3. Dawids S. Polymers:Their Properties and Blood Compatibility ; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands ;1989:49-62.
4. Dadsetan M, Mirzadeh H, Sharifi Sanjani N, Salehian P. *In vitro* studies of platelet adhesion on the laser treated polyethylene terephthalate surface. J Biomed Mater Res 2001; 54: 540 – 546.
5. Jonas RA, Ziemer G, Schoen FJ, Castaneda AR. A new sealent for knitted Dacron prostheses: Minimally cross-linked gelatin. J vascular surgery 1988;7 : 414 - 419.
6. Stenoien MD, Drasle WJ, Scott RJ, Jenson ML. Silicone composite vascular graft. United States Patent 5866217; 1999.
7. Aebischer P, Goddard MB, Sasken HF, Hunter TJ, Galletti PM. Tissue reaction to fabrics coated with turbostratic carbon: subcutaneous versus vascular implatns. Biomaterials 1998; 9: 80 - 85.
8. Milligan HL, Davis JW, William Edmark K. The search for the nonthrombogenic property of colloidal graphite. J Biomed Mater Res 1970; 4: 121-138.
9. Cook SD, Kester MA, Brunet ME, Graeme French H, Haddad RJ. A histologic and mechanical evaluation of carbon- coated polyester suture. J Bio Mater Res 1986; 20: 1347-57.
10. Gott BL, Whiffen JD, Dutton RC, Leininger RI, Yong WP. The coating of intravascular plastic prosthesis reduced thrombosis. Surgery 1961; 50: 382 - 87.
11. Gott BL, Whiffen JD, Dutton RC, Leininger RI, Young WP. Biophysical Studies on various graphit - benzalkonium - heparin surfaces. Sawyer PN, editor. Chapter in Biophysical mechanisms in vascular homeostasis and intravascular thrombosis, Appleton century- crofts. New York: 1965. P 297 - 305.
12. Sawyer PN, Brattain WH, Boddy PJ. Electrochemical criteria in the choice of materials used in vascular prostheses: Sawyer PN, editor. Chapter in biophysical mechanicsms in vascular homeostasis and intravascular thrombosis, Appleton-century- crofts. New York: 1965. p 297 - 305.
13. Gold farb D. Graphite impregnated prosthetic vascular graft materials. United State Patent 59 19 223; 1999.
14. Dadsetan M, Mirzadeh H, Sharifi-Sanjani N, Daliri M. Cell behavior on laser sueface-modified polyethylene terephthalate *in vitro.* Journal of Biomedical Materials Research 2001; 57: 183-189.