مجلة جامعة دمشق للعلوم الطبية المجلد: (٤١) العدد: ٤ (٢٠٢٥) الصفحات: (١٨٥-١٩٦)

تشكيل سقالات حيوية نانوية مركبة من الكيتوزان ملائمة للترميم العظمي

جميل محمد المدحجي*[١] ابراهيم الغريبي[٢] خلدون درويش[٣]

[*١] طالب ماجستير جراحة وجه وفكين– كلية طب الاسنان – جامعة دمشق.

[٢] أخصائي نانوتكنولوجي قسم الفيزياء كلية العلوم جامعة دمشق

[٣] أستاذ في قسم جراحة الفم والوجه والفكين– كلية طب الاسنان – جامعة دمشق.

الملخص:

خلفية البحث وهدفه: تُعد السقالات الحيوية المصنعة من مواد بوليميرية طبيعية بتقنية النانو مواداً واعدة في المجال الطبي لتوافقها وتدركها الحيوي وقلة سميتها في العضوية الحية، حيث يمكن إستخدامها في الهندسة النسيجية العظمية ويمكن محاكاة مادة القالب الحيوي الموجود في أنسجة الجسم من خلال تصنيع ألياف نانوية على شكل حصائر عشوائية بأقطار ومسامية مناسبة بواسطة تقنية الغزل الكهربائي.

مواد البحث وطرائقه: تم في هذا البحث تصنيع سقالات حيوية من مزيج بوليميري مكون من الكيتوزان وغول متعدد الفينيل بطريقة الغزل الكهربائي وبنسبة ٣٠/٧٠، ووصفت مورفولوجيا السطح بواسطة مجهر القوى الذرية، وأختبرت حيوياً على الزجاج لتقييم مدى ملائمتها للإستخدام كسقالات حيوية في الهندسة النسيجية.

النتائج: شُكلت بنجاح سقالات نانوبوليميرية بمتوسط أقطار الياف نانوية 169.7 ± 31.02 nm، ومتوسط حجم المسامات 0.542 ± 0131 µm، ومتوسط خشونة سطح 68.3 nm ومتوسط خشونة سطح للجذر التربيعي 86.1 nm، ومتوسط قوة شد 6.67 ± 0.7 MPa ومتوسط زاوية تماس الماء في الهواء 29.5º ± 0.73º. أظهر فحص الـ MTT تزايداً في اعداد الخلايا الحية المغروسة في السقالة بعد ٧٢ ساعة.

الاستنتاجات: يمكن تصنيع سقالات حيوية بمواصفات جيدة وملائمة للإستخدام في مجال الهندسة النسيجية العظمية ونوصي بإجراء مزيد من الدراسات ودمج أكثر من مادة لتحسين الخواص الميكانيكية والحيوية للسقالات المصنعة بحسب النسيج المستهدف.

كلمات مفتاحية: الهندسة النسيجية العظمية، الغزل الكهربائي، الكيتوزان، اختبار الـ MTT.

تاريخ الإيداع: ٢٠٢٢/٤/١٤ تاريخ القبول: ٢٠٢٢/٦/٢٧

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب **CC BY-NC-SA**

ISSN: 2789-7214 (online)

http://journal.damascusuniversity.edu.sy

Fabrication of chitosan nanofibrous scaffold for bone repair

Gamil M. Almadhagy[1*], Ibrahim Alghoraibi[2], Khaldoun Darwich[3]

1* Student of master degree in oral and maxillofacial surgery, Damascus university, faculty of dentistry.
2 Nanotechnologist, Physics department, Faculty of Science, Damascus University.
3 Prof in the department of oral and maxillofacial surgery, Dean of the faculty of dentistry, Damascus University.

Abstract:

Aim of Study: Scaffolds manufactured from natural polymers using nanotechnology are promising in the biomedical field due to their biocompatibility, lower toxicity and biodegradability. They can be used in bone tissue engineering, where the extracellular matrix found in the body tissues can be simulated through the manufacturing of randomly oriented nanofibrous scaffolds with suitable fiber's diameter and pore size by electrospinning.

Materials and methods: In this research, scaffolds were manufactured from blends of chitosan and polyvinyl Alcohol by electrospinning at a ratio of 70/30, respectively, and were characterized using AFM. In vitro test using MTT assay was carried out to evaluate their suitability for use as bio-scaffolds in tissue engineering field.

Results: The average diameter of the nanofibers of the manufactured scaffold was169.7 ± 31.02 nm, the average pore size was 0.542 ± 0131 µm, with an average surface roughness of 68.3 nm and square surface roughness of 86.1 nm as shown by atomic force microscope, the average tensile strength 6.67 ± 0.7 MPa, and the average contact angle was 29.5º ± 0.73º. The MTT assay also showed an increase in the number of living cells in the scaffold.

Conclusions: It is possible to manufacture bio-scaffolds with good specifications suitable for use in the field of tissue engineering, and we recommend conducting further studies and introducing more than one material to improve the mechanical and biological properties of the manufactured scaffolds according to the targeted tissues.

Key words: Bone tissue engineering, Electrospinning, Chitosan, MTT assay.

Submitted: 14/4/2022 Accepted: 27/6/2022
Copyright: Damascus University Syria.
The authors retain copyright under CC BY-NC-SA

المقدمة:

يُشير مصطلح الهندسة النسيجية إلى" ذلك الحقل متعدد التخصصات الذي يطبق مبادىء وأساسيات الهندسة وعلوم الحياة نحو الفهم الأساسي للعلاقة بين الهيكل والوظيفة في الأنسجة الثديية الطبيعية والمرضية وتطوير بنى حيوية تعيد وظيفة الانسجة أو تحافظ عليها أو تحسنها" (O'Brien, 2011,1).

هناك ثلاث مكونات رئيسية للهندسة النسيجية أو ما يعرف ب ثالوث الهندسة النسيجية وهي الخلايا والقوالب أو السقالات وعوامل وإشارات تحفيز النمو (Caddeo *et al.,* 2017,2). الخلايا الجذعية هي الخلايا الغير متخصصة في الجسم والتي لديها القدرة على التمايز للعديد من الانواع الخلوية كما أنها قادرة على الانقسام المستمر إلى خلايا جذعية أو بما يعرف بالتجدد الذاتي self-renewal. غالباً ما تصنف الخلايا الجذعية إلى خلايا جذعية جنينية Embryonic Stem Cells وخلايا جذعية بعد ولادية Postnatal Stem Cells (Zakrzewski *et al.,* 2019,1).

تعتمد الخلايا في أنسجة الجسم الحي في ثباتها على وسادة صلبة تسمى الوسادة بين الخلوية (Extracellular Matrix) (ECM)، بإستثناء خلايا الدم. تحتوي هذه الوسادة على مكونات متعددة تختلف بإختلاف النسيج المكونة له. وبغض النظر عن نوع هذا النسيج فإننا بشكل عام نستطيع أن نلخص وظيفة هذه الوسادة في الأنسجة كالاتي (Leong, 2008,5):

١- توفير الدعم الهيكلي والبيئة المادية للخلايا المقيمة لكي تلتصق وتتكاثر وتتمايز وتهاجر ولكي تتفاعل مع الإشارات الحيوية المختلفة.

٢- إعطاء الدعم الهيكلي للنسيج نفسه وبالتالي إكسابه خواصاً ميكانيكية خاصة به كالصلابة والمرونة.

٣- توفير إشارات بيولوجية فعَالة للخلايا بهدف تنظيم الخلايا المقيمة فيها.

٤- تعمل الوسادة كمخزن لعوامل النمو وتحفز النشاطات الحيوية الخاصة بها.

٥- توفير بيئة مادية قابلة للتدرك الحيوي من أجل إتاحة الفرصة لتنشئة وعائية دموية جديدة وإعادة القولبة وذلك إستجابةً للتحديات التطورية والفيسيولوجية والمرضية خلال المراحل المختلفة التي يمر بها النسيج وهي النمو التطوري والتوازن وشفاء الجروح على التوالي(Leong, 2008,5).

هناك عدد من الشروط والإعتبارات المهمة التي يجب أن تتوفر عند تصميم أو تحديد مدى ملائمة سقالة ما للتطبيق في الهندسة النسيجية. هذه الشروط تتلخص في الاتي(Molina *et al.,* 2021,7-11):

١- التوافق الحيوي Biocompatibility:

إن المعيار الأول لأي سقالة في الهندسة النسيجية هو أنها يجب أن تكون متوافقة حيوياً، بحيث تلتصق الخلايا –سواءً كانت خلايا مزروعة أو خلايا الجسم الذاتية– وتمارس وظيفتها بشكل طبيعي وتتكاثر وتتمايز وتنتشر عليها قبل أن تبدأ بافراز قالب جديد، ويجب أيضاً الا تثير رد فعل مناعي كبير من أجل أن تمنع حدوث إستجابة إلتهابية شديدة يمكن أن تؤدي إلى تأخر الشفاء أو الرفض المناعي.

٢- قابلية التدرك الحيوي Biodegradability:

إن الهدف من الهندسة النسيجية هو السماح لخلايا الجسم نفسها – مع الوقت – أن تحل محل السقالة المزروعة وذلك بإفراز مادة الوسادة بين الخلوية (القالب الحيوي) الخاصة بها. ويجب أن تكون نواتج هذا التدرك غير سامة ويمكن

طرحها خارج الجسم بدون أن تتداخل سلبياً مع عمل ووظيفة أجهزة الجسم، وأن يكون هذا التدرك متوافقاً مع الية تكوين النسيج الجديد(McMahon *et al.,* 2013,388).

٣- الخواص الميكانيكية:

من الناحية المثالية، يجب أن تتمتع السقالة الحيوية بخواص ميكانيكية متسقة و متوافقة مع الموقع التشريحي الذي ستزرع فيه(Chieruzzi *et al.,* 2016,6).

٤- التفاعل الحيويBioactivity:

ويقصد به التفاعل الفعّال للسقالة أو المواد الحيوية المكونة للسقالة مع المكونات الخلوية للأنسجة المستهدفة. قد تتضمن ذلك إشارات بيولوجية مثل روابط إلتصاق الخلايا(Cell Adhesive Ligands) والتي من شأنها تحسين إلتصاق الخلايا، او إشارات مادية(فيزيائية) مثل السطح الطوبوغرافي للسقالة وذلك من أجل التأثير على شكل وطريقة إنتظام الخلايا على السقالة.

كما يجب على السقالة أن تعمل كموصلات أو كمخزن لعوامل وهرمونات النمو الداخلية والخارجية لكي تسرع عملية التجدد النسيجي. بعبارة أخرى يجب أن تكون المكونات الحيوية للسقالة متوافقة حيوياً وقابلة لتغليف أو إحتواء هذه المحفزات والهرمونات والبروتينات (Chieruzzi *et al.,* 2016,7).

٥- تأمين نفوذية الاكسجين والمواد الغذائية للخلايا وطرح نواتج التفاعلات خارجاً.

عوامل النمو عبارة عن بروتينات ترتبط بمستقبلات على الخلية محدثةً إستجابات مختلفة، فالبعض منها يحفز الإنقسام الخلوي للخلايا المستهدفة والبعض الاخر يحفز تمايز الخلايا إلى نوع نسيجي مختلف، بينما تمتلك أنواع أخرى وظائف خلوية أكثر تخصصاً كتحفيز الخلايا لإفراز وتركيب قالب متعمدن(Caddeo *et al.,* 2017,1).

تعتبر البوليمرات من المواد الواعدة في تصنيع السقالات الحيوية وذلك لكثرة توافرها ورخص ثمنها وسهولة تصنيعها ومعالجتها كما أن الكثير منها متقبل حيوياً وغير سامة وغير ضارة بالبيئة.يمكن أن تكون هذه البوليميرات طبيعية مثل الكولاجين والكيتوزان أو صناعية مثل غول متعدد الفينيل ومتعدد حمض اللاكتيك وغيرها، كما يمكن خلط أكثر من نوع من البوليميرات لتكوين مادة مركبة بهدف تحسين الخواص الفيزيائية والحيوية للسقالة المشكلة (Preethi Soundarya *et al.,* 2018,2).

يُعدُّ الكيتوزان أحد أشهر البوليميرات المستخدمة في الهندسة النسيجية في العقود الأخيرة لما له من خصائص فريدة كونه متقبل ومتدرك حيوياً وغير سام ومحب للماء، كما أنه موجب الشحنة مما يتيح له الإرتباط بالدهون والبروتينات والخلايا والبكتيريا سالبة الشحنة(Sultankulov *et al.,* 2019,1). يمكن الحصول على الكيتوزان من الكيتين عن طريق النزع الجزئي أو الكامل لمجموعة الاسيتيل، إن بنية الكيتوزان الكيميائية تتألف من ترابط وحدات سكريدية غلوكوز امينية (glucosamine with N-acetyl-glucosamine) ، ترتبط هذه الوحدات مع بعضها بروابط جليكوسيدية من النمط β(١-٤)(Zargar *et al.,* 2015,1).

يتحلل الكيتوزان في جسم الإنسان بواسطة اللايزوزيم إلى جلوكوزامين حيث يمكن ان يخزن في الجسم كبروتيوجلايكان Proteoglycan أو يستهلك في تصنيع مواد القالب العضوي(Kalantari *et al.,* 2019,2).

هناك العديد من الطرائق التي يمكننا من خلالها الحصول على ألياف نانوية لتعمل كسقالات حيوية منها الطباعة والتجميع

الذاتي وصب القوالب والغزل الكهربائي، ويُعد الغزل الكهربائي من أفضل وأسهل الطرق للحصول على ألياف نانوية عالية الجودة وذات مسامية عالية وحجم ثقوب ملائم للهندسة النسيجية وغيرها من التطبيقات(Alghoraibi, 2015,1).

يمكن مزج الكيتوزان مع غول متعدد الفينيل كون هذا الأخير متقبل حيوياً وغير سام ومتوفر بوفرة وذو خواص ميكانيكية أفضل من الكيتوزان، كما أنه يسهل عملية غزل الكيتوزان وتعزيز الخواص الميكانيكية والحيوية للكيتوزان وإنتاج سقالات حيوية ذات مواصفات جيدة (Qiu *et al.,* 2019,2)،(Saravanan *et al.,* 2016,4).

تم في هذا العمل تصنيع سقالات حيوية مركبة من الكيتوزان وغول متعدد الفينيل(Cs/PVA) وتوصيفها وإختبارها حيوياً على الزجاج كما تم حساب النتائج إحصائياً عن طريق أخذ المتوسط الحسابي والإنحراف المعياري للقيم المستخدمه في كل تجربة.

المواد والطرائق:

تحضير المحاليل:

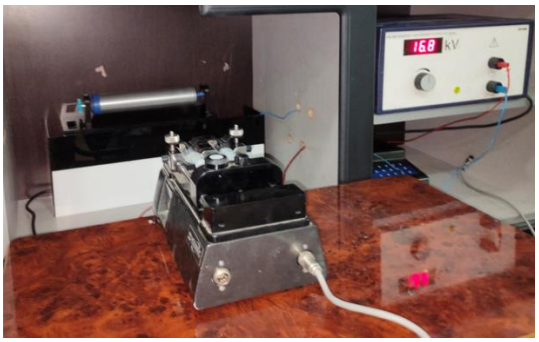
كيتوزان متوسط الوزن الجزيئي (١٩٠-٣١٢ كيلو دالتون) ودرجة نزع الأسيل ما بين ٧٥-٨٥٪ من شركة Sigma-Aldrich، غول متعدد الفينيل من شركةSigma-Aldrich ، حمض الخل الثلجي بتركيز ٩٩٪ من شركة UNI-CHEM®.

لتحضير العينة المدروسة تم إذابة ٣٪ وزن/حجم من الكيتوزان في ٣٠٪ وزن/حجم من حمض الخل الثلجي بدرجة حرارة الغرفة حيث تتم عملية المزج بواسطة خلاط مغناطيسي وتستمر عملية التحريك لمدة ٢٤ ساعة تقريباً حتى تمام إنحلال وتجانس المحلول، في نفس الوقت تم تحضير محلول غول متعدد الفينيل بتركيز ١٠٪ وذلك بإذابته في الماء المقطر عند درجة حرارة ٧٠ درجة مئوية لمدة ساعتين مع التحريك المستمر ثم على درجة حرارة الغرفة لمدة أربع ساعات إضافية وتم ضبط عدد الدورات لكلا المحلولين عند ٤٠٠ دورة بالدقيقة.

بعد تجانس المحاليل تم تنقيتها بواسطة جهاز الترشيح وورق الترشيح لإزالة أي شوائب محتملة فيهما, بعد ذلك تم خلط كلا المحلولين مع بعضهما بنسبة ٣٠٪ غول متعدد الفينيل و ٧٠٪ كيتوزان بواسطة الخلاط المغناطيسي لمدة ٢٤ ساعة وعدد دورات ٢٠٠ دورة في الدقيقة. تم وضع المحلول الجديد (كيتوزان/غول متعدد الفينيل Cs/PVA) في عبوة زجاجية خاصة لحفظه وإستخدامه لاحقاً.

الغزل الكهربائي لمحلول الكيتوزان/غول متعدد الفينيل:

نُفِّذ في هذا العمل تشكيل ألياف نانومترية من (Cs/PVA) بإستعمال تقنية الغزل الكهربائي. المادة المستخدمة عبارة عن محلول من (Cs/PVA) ، يوضع المحلول في محقن ١٠ مل مجهز بإبرة قطرها G٢١ وتحمل على مضخة سيرنج، توصل الإبرة المعدنية بالإلكترود لمولد جهد عالي ويصل الإلكترود الآخر (القطب المؤرض) بمجمع كما في الشكل(١). وبالتحكم بالجهد المطبق يتولد حقل كهربائي بينهما وينبثق المحلول من الإبرة وتتشكل الألياف وتتجمع على المجمع المغطى بورق الالمنيوم وذلك لتسهيل تجميع الالياف المغزولة عليه.



الشكل(١) يوضح وحدة الغزل الكهربائي في مخبر النانوتكنولوجي.

تم ضبط معايير الجهاز طيلة فترة غزل الألياف وتجميعها على الركازة كالاتي: ثُبت الجهد الكهربائي المطبق عند ٢٣ كيلو فولت، والمسافة بين رأس الإبرة والمجمع ١٤ سم و سرعة التدفق ٠.٢ مل لكل ساعة وبدرجة حرارة الغرفة . بعد الإنتهاء من عملية الغزل تم قشر السقالة المتكونة من على ورق القصدير و معالجتها حراريا في المجففة لضمان ربط الكيتوزان مع غول متعدد الفينيل ولكي نحصل على سقالة ثابتة في الوسط البيولوجي للجسم البشري والأوساط المائية(Esmaeili & Beni, 2019,3).

تم تصنيع السقالات بحيث تكون ذات ابعاد (٥ سم * ٥ سم) ووضعها في أكياس تعقيم خاصة و تعقيمها بواسطة أشعة غاما في هيئة الطاقة الذرية (٢٥ كيلو غراي).

توصيف سقالة الكيتوزان/ غول متعدد الفينيل:

تم إخضاع السقالات الحيوية المحضرة بطريقة الغزل الكهربائي لعدد من الفحوصات الفيزيائية والكيميائية والحيوية و ذلك للتأكد من حصولنا على السقالة المنشودة وملائمتها ميكانيكيا وكيميائيا وحيويا للتطبيق السريري مثل: قياس قوة الشد والسطح الطوبوغرافي للسقالة وإختبار ال MTT.

التوصيف الطوبوغرافي لسطح سقالة الكيتوزان/غول متعدد الفينيل:

قُمنا بتصوير التضاريس السطحية للسقالة بإستخدام مجهر القوة الذرية Atomic Force Microscope (AFM) صنع شركة Nanosurf السويسرية، طراز easyScan2 وإعتماد نمط النقر tapping mode للإبرة .وبعد أخذ الصورة تم معالجتها بواسطة معالج صور خاص. يمكن من خلاله تحديد شكل وأبعاد الألياف الناتجة ومتوسط قطر الليف وكثافتها وتوزعها على السطح وحجم الثقوب وخشونة السطح للألياف المتشكلة على كامل مساحة الصورة.

قياس قوة الشد Tensile Strength Test:

أُختبرت ثلاث عينات بأبعاد (٥*١ سم) وبمتوسط ثخانة بلغ ٠.٣ ملمتر حيث وضعت على جهاز قياس الشد (Model M250-2.5CT, Testometric Co Ltd,. England) وتم تعريضها لقوة شد تدريجية حتى تمزقت وتم تسجيل قوى القطع وحساب قوة الشد المتوسطة للعينات.

قياس زاوية تماس الماء في الهواء Water In Air Contact Angle:

تم إسقاط قطرة من الماء بواسطة جهاز الميكروبيبت عمودياً على سطح سقالة الكيتوزان/غول متعدد الفينيل الحيوية و اخذ عدة صور لها بواسطة كاميرا رقمية (Canon PowerShot A520) عند أزمنة مختلفة (١ ثانية و ٣٠ ثانية و ٦٠ ثانية) ومن ثم تم نقل الصور المأخوذة الى جهاز الحاسوب و معالجتها بواسطة برنامج ImageJ.

قياس العيوشية Cell Viability Assay :

قيست العيوشية لخلايا MCF-7 خلال فترات زمنية مختلفة ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ ساعة وذلك عن طريق المعايرة اللونية

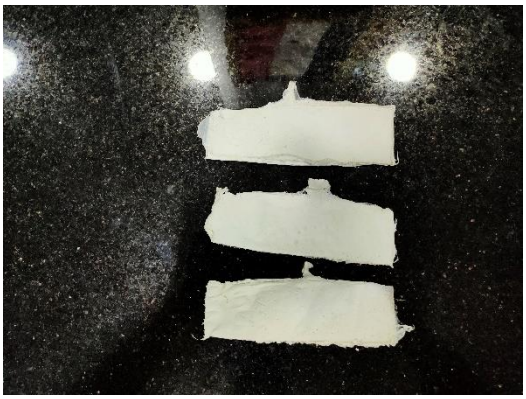
باستخدام صباغ tetrazolium(MTT) في طبق ٩٦ بئر (96 well) وتتلخص الطريقة كالآتي: تم تقطيع السقالة إلى أحجام دائرية صغيرة لتلائم حجم الآبار ثم عُقمت بالكحول الايثيلي ٧٠٪ وغسلت بمحلول DMEM F12 لإزالة الإيثانول من السقالات، ثم زرعت الخلايا على السقالات بتركيز ١×١٠٤ خلية لكل بئر وحضنت في ١٠٠ ميكرولتر من DMEM F12 مضاف إليه ١٠٪ من المصل البقري الجنيني المثبط حرارياً (FBS) لمدة ٢٤ ساعة، بعد ذلك تم إضافة محلول ال MTT إلى كل بئر ووضع في الحاضنة لمدة ٤ ساعات عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية، تم إضافة محلول DMSO لحل بلورات الفورمازان المتكونة من نشاط الخلايا الحية وقياس الطيف الضوئي عند طول موجي (570nm) وحساب نسبة عيوشية الخلايا وفق المعادلة التالية:

CELL VIABILITY % = [(At-Ab)/(Ac-Ab)] X 100

حيث تمثل At نسبة الإمتصاص لعينة الدراسة، Ab نسبة الإمتصاص للبلانك، Ac نسبة الإمتصاص للعينة الشاهدة.

النتائج والمناقشة:

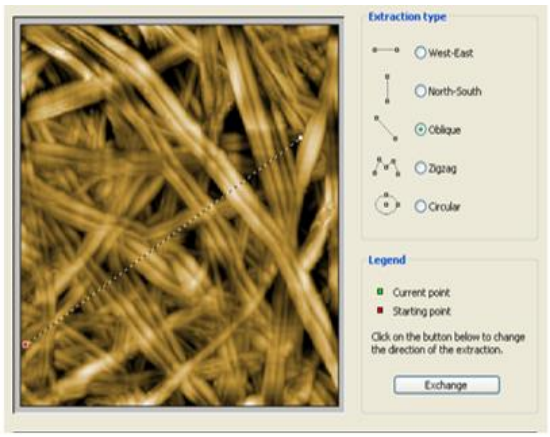
شُكلت بنجاح سقالات بوليميرية من الكيتوزان وغول متعدد الفينيل بطريقة الغزل الكهربائي كما هو موضح بالشكل (٢).

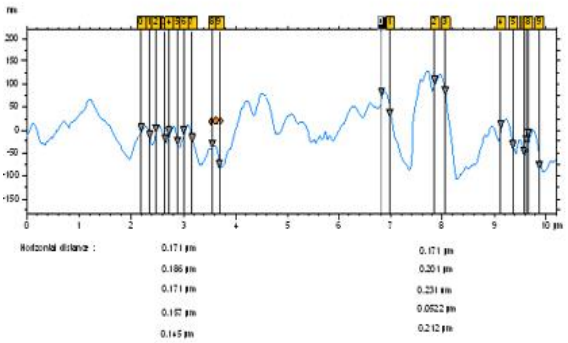


الشكل (٢) السقالات الحيوية المشكلة

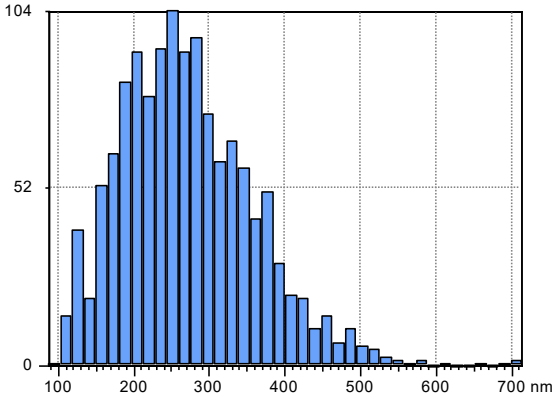
السطح الطوبوغرافي للسقالة:

تُبين الأشكال (3,4,5) الحصول على ألياف نانوية مستمرة وغير متقطعة وخالية من الخرز Beads بمتوسط قطر بلغ (169.7 ± 31.02 nm) وذات مسام بلغ متوسط قطرها (0.542 ± 0131 µm)، كما نلاحظ أيضاً أن التوزع للألياف عشوائي وهي أشبه بألياف الكولاجين في القالب بين الخلوي ECM الموجود في أنسجة الجسم وهو ما يحسن من التصاق الخلايا وتمايزها كما أن هذا الفحص قد بين سطح السقالة الخشن والمتعرج حيث بلغ متوسط خشونة السطح 68.3 nm بينما بلغ متوسط الجذر التربيعي لخشونة السطح 86.1 nm وهو ما يزيد من نسبة إلتصاق الخلايا.

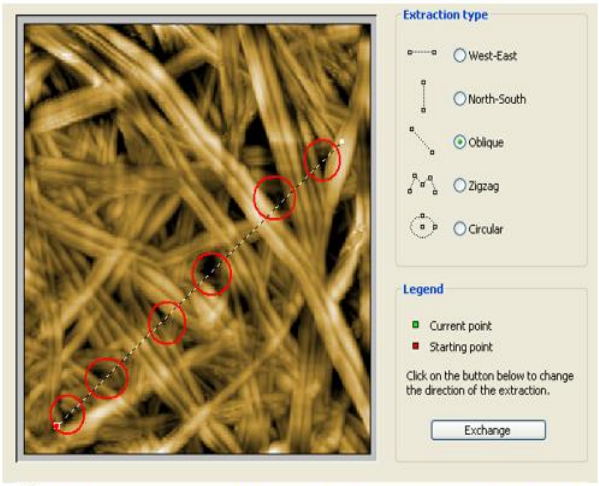


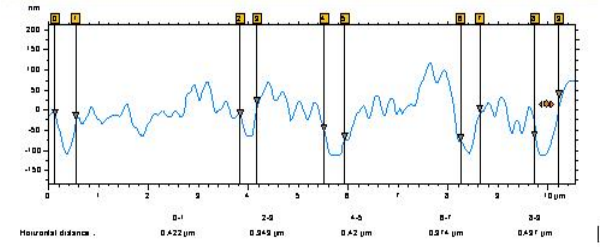


Mean diameter

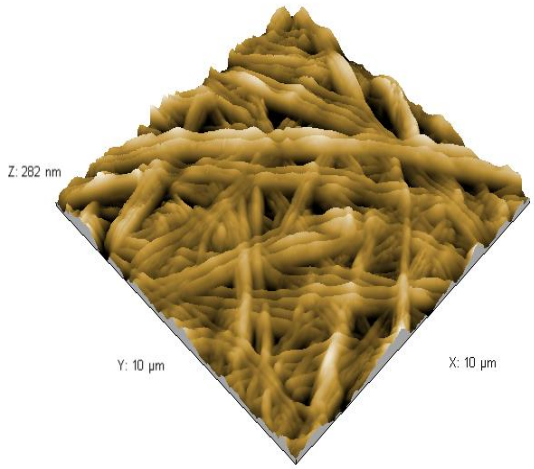


الشكل (3) صور AFM (10x10 µm) لشكل وقطر الألياف النانوية المتشكلة





الشكل (4) صور AFM (10 X 10 µm) مخطط توزع أبعاد المسام في السقالات المصنعة.

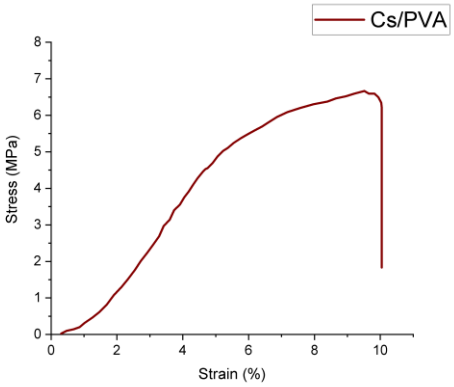


الشكل (5) صور AFM (10x10 µm) للألياف المتشكلة

قياس قوة الشد Tensile Strength:

تفيد هذه الدراسة في معرفة مدى تحمل السقالة الحيوية للقوى الميكانيكية التي تتعرض لها.

أظهرت نتائج الدراسة أن متوسط قوة شد السقالات الحيوية المصنعة وصلت إلى (6.67 ± 0.7 Mpa) كما بالشكل(٦)، وهذه القوة توافق قوة الشد للعظم الإسفنجي والتي تتراوح ما بين (5–10 MPa)(Januariyasa *et al.*, 2020,9)، ويُعزى هذا التفاوت إلى اختلاف الأوزان الجزيئية للمواد الداخلة في التصنيع، حيث شكل إندماج الكيتوزان مع غول متعدد الفينيل في تحسين هذه القوة، وهذه الدراسة تتوافق مع الدراسة التي قامت بها Kouchak وزملائها وأن أفلام الكيتوزان النقية تكون خواصها الميكانيكية ضعيفة في حين تتحسن عند إضافة غول متعدد الفينيل إليها (Kouchak *et al.*, 2014,7).



الشكل(٦) قوة الشد للسقالة الحيوية المركبة من Cs/PVA

قياس زاية التماس Contact Angle:

تعد هذه الطريقة هي الأبرز لدراسة بلل الأغشية والسقالات النانوية، فهي توفر تقييماً مباشراً لمدى قابلية السطح للبلل.

تمثل زاوية التلامس الأعلى(> 90^0) سطح كاره للماء Hydrophobic بينما تمثل زاوية التلامس المنخفضة($\leq 90^0$ درجة) سطحاً محباً للماء Hydrophilic.

تُعد السطوح المحبة للماء مناسبة جداً للهندسة النسيجية، حيث ذكرت الأدبيات الطبية أنها توفر إلتصاق أفضل للخلايا وتعزز من تكاثرها كما تسمح بالنقل النشط والفعال للمواد الحيوية بما في ذلك البروتينات والغذاء وذلك بسبب طاقتها السطحية الأعلى من التوتر السطحي لقطرة الماء(Govindasamy *et al.*, 2020,6).

ذكر Xu and Siedlecki أن نسبة إلتصاق الخلايا بالأغشية والسقالات الحيوية مرتبط بشكل كبير بالأسطح ذات الطاقة الأعلى وزوايا التماس المنخفضة (اقل من ٧٥)(Xu & Siedlecki, 2007,4).

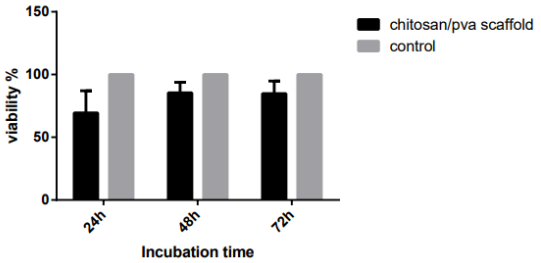
قيست زاوية التماس لسقالة الكيتوزان المصنعة بدلالة الزمن كما هو موضح بالجدول (١) وتبين أن متوسط زاوية التماس الأولية عند ١ ثانية كانت 72.3º ± 1.9 ولتزداد مع الزمن لتصل إلى (54. 3º ± 0.7 عند ٣٠ ثانية و29.5º ± 0.7 عند ٦٠ ثانية على الترتيب) ، وكما هو مبين إن زاويا التماس جميعها تقل عن ٩٠ درجة وهذا يدل على أن السقالة الحيوية المصنعة محبة للماء.

الجدول (١) يوضح قيم زاوية التماس بدلالة الزمن

	1 Sec	30 Sec	60 Sec
1st sample	70.3º	3.3º٥	.7º٢٨
2nd sample	5.1º٧	5.4º٥	30.6º
3rd sample	71.5º	.3º٥٤	29.2º
Mean	72.3º	4.3º٥	9.5º٢
SD	1.9º	0.7º	0.7º

عيوشية الخلايا:

قُـيِّم التوافـق الحيـوي للسـقالة المحضـرة مـن خـلال دراسـة العيوشية لخلايا MCF-7ومقارنتها بعينة الشاهد بطريقة (MTT ASSAY). أظهرت النتائج سرعة تكاثر الخلايا على السقالة الحيوية المصنعة وزيادة في عيوشية الخلايا مع الوقت كما هو مبين في المخطط البياني (1) وهذا يعني ان سقالة الكيتوزان/ غول متعدد الفينيل التي صُنعت قد دعمت التصاق الخلايا و تكاثرها.



المخطط (١) نسبة عيوشية الخلايا مع الزمن

الاستنتاجات:

حُضـرت سـقالات حيويـة نانويـة مـن الكيتوزان/غـول متعـدد الفينيـل بنسـبة 70/30، وصِـفت الألياف المتشكلة بواسـطة مجهـر القوى الذريـة (*AFM*). بيَّنـت نتـائج هـذا البحـث أن متوسط قطر الألياف النانوية المكونة بلغ 31.02 ± 169.7 nm ومتوسط حجم الثقوب 0.131 ± 0.542 µm ، كما بين فحص المجهر الذري شبكة ألياف عشوائية مستمرة خالية من الخرزات و ذات سطح خشن بمتوسط خشونة بلغ 68.3 nm ومتوسط الجذر التربيعي للخشونة كان 86.1 nm وهو ما يدعم من إلتصـاق الخلايا علـى سطح السقالات المحضـرة ويزيد من نسبة تكاثرها، كما كانت قوة الشد مقاربة لقوة شد العظم الاسفنجي، وكان متوسط زاوية التماس النهائي 29.5º ± 0.73º. بين فحص العيوشية أن الخلايا إلتصقت وتكاثرت علـى سـطح السـقالة، كـل هـذا يـدعم أن هـذه السـقالات المصنعة يمكن أن تستخدم في الهندسة النسيجية العظمية أو كضـمادات للجروح أو لتحرير الأدوية وغيرها من مجالات الهندسة النسيجية.

التمويل: هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

References:

1. Alghoraibi, I. (2015). Fabrication and characterization of polyamide-66 nanofibers via electrospinning technique: Effect of concentration and viscosity. *International Journal of ChemTech Research*, *7*(1), 20–27.
2. Caddeo, S., Boffito, M., & Sartori, S. (2017). Tissue engineering approaches in the design of healthy and pathological in vitro tissue models. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *5*(AUG), 1–22. https://doi.org/10.3389/fbioe.2017.00040
3. Chieruzzi, M., Pagano, S., Moretti, S., Pinna, R., Milia, E., Torre, L., & Eramo, S. (2016). Nanomaterials for tissue engineering in dentistry. *Nanomaterials*, *6*(7), 9–13. https://doi.org/10.3390/nano6070134
4. Esmaeili, A., & Beni, A. A. (2019). Characterization of PVA/chitosan Nano Fiber Membrane and Increasing Mechanical Properties with Cross-Linking by Heating. *International Journal of Theoretical and Applied Mechanics*, *04*, 26–32. http://www.iaras.org/iaras/journals/ijtam
5. Govindasamy, K., Dahlan, N. A., Janarthanan, P., Goh, K. L., Chai, S. P., & Pasbakhsh, P. (2020). Electrospun chitosan/polyethylene-oxide (PEO)/halloysites (HAL) membranes for bone regeneration applications. *Applied Clay Science*, *190*(November 2019), 105601. https://doi.org/10.1016/j.clay.2020.105601
6. Januariyasa, I. K., Ana, I. D., & Yusuf, Y. (2020). Nanofibrous poly(vinyl alcohol)/chitosan contained carbonated hydroxyapatite nanoparticles scaffold for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*, *107*, 110347. https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110347
7. Kalantari, K., Amalina, M. A., Jahangirian, H., & Webster, T. J. (2019). *Biomedical applications of chitosan electrospun nano fi bers as a green polymer – Review*. *207*(December 2018), 588–600. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.011
8. Kouchak, M., Ameri, A., Naseri, B., & Kargar Boldaji, S. (2014). Chitosan and polyvinyl alcohol composite films containing nitrofurazone: Preparation and evaluation. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *17*(1), 14–20. https://doi.org/10.22038/ijbms.2014.2150
9. Leong, B. P. C. Æ. K. W. (2008). *Scaffolding in tissue engineering : general approaches and tissue-specific considerations*. *17*. https://doi.org/10.1007/s00586-008-0745-3
10. McMahon, R. E., Wang, L., Skoracki, R., & Mathur, A. B. (2013). Development of nanomaterials for bone repair and regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, *101 B*(2), 387–397. https://doi.org/10.1002/jbm.b.32823
11. Molina, M. I. E., Malollari, K. G., & Komvopoulos, K. (2021). *Design Challenges in Polymeric Scaffolds for Tissue Engineering*. *9*(June), 1–29. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.617141
12. O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, *14*(3), 88–95. https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X
13. Preethi Soundarya, S., Haritha Menon, A., Viji Chandran, S., & Selvamurugan, N. (2018). Bone tissue engineering: Scaffold preparation using chitosan and other biomaterials with different design and fabrication techniques. *International Journal of Biological Macromolecules*, *119*, 1228–1239. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.056
14. Qiu, Y. L., Chen, X., Hou, Y. L., Hou, Y. J., Tian, S. B., Chen, Y. H., Yu, L., Nie, M. H., & Liu, X. Q. (2019). Characterization of different biodegradable scaffolds in tissue engineering. *Molecular Medicine Reports*, *49*(5), 4043–4056. https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10066
15. Saravanan, S., Leena, R. S., & Selvamurugan, N. (2016). Chitosan based biocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, *93*, 1354–1365. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.112
16. Sultankulov, B., Berillo, D., Sultankulova, K., Tokay, T., & Saparov, A. (2019). Progress in the development of chitosan-based biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine.

Biomolecules, *9*(9). https://doi.org/10.3390/biom9090470
17. Xu, L. C., & Siedlecki, C. A. (2007). Effects of surface wettability and contact time on protein adhesion to biomaterial surfaces. *Biomaterials*, *28*(22), 3273–3283. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.03.032
18. Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M., & Rybak, Z. (2019). Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Research & Therapy*, *10*(1), 68. https://doi.org/10.1186/s13287-019-1165-5
19. Zargar, V., Asghari, M., & Dashti, A. (2015). A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications. *ChemBioEng Reviews*, *2*(3), 204–226. https://doi.org/10.1002/cben.201400025