

پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران

پژوهشکده علوم

ساخت و بررسی داربست دو لایه سیلیکون - کیتوسان / ژلاتین برای کاربرد در مهندسی بافت پوست

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته مهندسی صنایع پلیمر

محمد پزشکی مدرس

استاد راهنما

دکتر حمید میرزاده

دکتر مؤگان زندی

استاد مشاور

دکتر محمد تقی خراسانی

1388

صفحه	عنوان
یک	فهرست مطالب
یازده	چکیده
1	فصل اول : مروری بر مطالعات انجام شده
2	1-1 مقدمه
3	2-1 کار پوست و ساختمان آن
4	1-2-1 قسمت سطحی یا روپوست
5	2-2-1 لایه میانی پوست
6	3-2-1 قسمت زیر پوست یا لایه چربی
6	4-2-1 ضخامت لایه های پوست
7	3-1 جایگزین های پوستی
7	1-3-1 اتوگرافت
8	2-3-1 آلوگرافت
8	3-3-1 زونوگرافت
8	4-3-1 جایگزین های لایه درمال

- 12.....5-3-1 ویژگی های مورد نیاز برای یک جایگزین ایده ال پوست
- 13.....4-1 کیتوسان
- 15.....1-4-1 هیدروژل های کیتوسان
- 16.....2-4-1 هیدروژل های کیتوسان اتصال عرضی شده کووالانسی
- 19.....5-1 ژلاتین
- 20.....1-5-1 ساختار ژلاتین (ترتیب و توالی اسیدهای آمینه)
- 21.....2-5-1 شبکه ای شدن ژلاتین
- 24.....3-5-1 انتخاب عامل اتصال عرضی برای داربست های کیتوسان/ژلاتین
- 26.....6-1 روش های ساخت داربست جهت استفاده در مهندسی بافت
- 27.....1-6-1 روش شستشوی پروژن (نمک شویی)
- 29.....2-6-1 جدایش فازی
- 31.....3-6-1 عملیات خشک کردن انجمادی
- 35.....7-1 استفاده از کیتوسان و ژلاتین برای مهندسی بافت پوست
- 35.....1-7-1 جدایش فازی
- 35.....2-7-1 روش شستشوی نمک
- 36.....3-7-1 انواع ساختارهای استفاده شده سیلیکون دولایه

- 37..... 4-7-1 روش استریل کردن داربست ها
- 38..... فصل دوم : تجربی
- 39..... 1-2 مقدمه
- 39..... 2-2 مواد
- 40..... 3-2 آماده سازی داربست ها
- 40..... 1-3-2 روش شستشوی نمک
- 40..... 2-3-2 روش جدایش فازی
- 42..... 3-3-2 عملیات ایجاد اتصالات عرضی
- 42..... 4-3-2 کد گذاری نمونه های تهیه شده به روش شستشوی نمک
- 43..... 5-3-2 کد گذاری نمونه های تهیه شده به روش جدایش فازی
- 43..... 4-2 ساخت غشاء سیلیکونی
- 44..... 5-2 ساخت داربست دو لایه کیتوسان/ژلاتین - سیلیکون
- 44..... 6-2 ساخت فیلم های بدون تخلخل
- 45..... 7-2 استریل کردن
- 45..... 1-7-2 نور ماوراء بنفش

- 45.....2-7-2 اوتو کلاو.....
- 46.....2-3-2 آزمون ها و دستگاه های مورد استفاده.....
- 46.....2-3-2 1- میکروسکوپ الکترونی.....
- 46.....2-3-2 2- اندازه گیری تخلخل.....
- 47.....2-3-3 میزان آب رفتگی در نمونه ها در اثر خروج حلال.....
- 47.....2-3-4 جذب PBS.....
- 48.....2-3-5 آزمون طیف سنجی مادون قرمز.....
- 48.....2-3-6 زتا پتانسیل.....
- 48.....2-3-7 زاویه تماس آب.....
- 49.....2-3-8 آزمون عبوردهی بخار آب.....
- 49.....2-3-9 استحکام مکانیکی.....
- 50.....2-3-10 کشت سلولی.....
- 51..... فصل سوم : نتایج و بحث.....
- 52.....1-3 مقدمه.....
- 52.....2-3 تصاویر میکروسکوپ الکترونی.....

- 59..... 1-2-3 یکنواختی ساختاری و ابعادی
- 59..... 2-2-3 شکل ظاهری حفرات
- 62..... 3-2-3 بررسی میزان بهم پیوستگی داربست های تهیه شده
- 62..... 4-2-3 بررسی ابعاد حفرات ایجاد شده
- 65..... 5-2-3 مقایسه ی مورفولوژی سطح داربست های تهیه شده
- 68..... 3-2-3 نمونه های دو لایه کیتوسان / ژلاتین - سیلیکون
- 70..... 3-3 اندازه گیری تخلخل
- 70..... 1-3-3 روش شستشوی نمک
- 71..... 2-3-3 روش خشک کردن انجمادی
سه
- 75..... 3-3-3 بررسی میزان بهم پیوستگی حفرات با استفاده از اطلاعات تخلخل و دانسیته
- 76..... 4-3-3 میزان تخلخل بعد از آب رفتگی در اثر خشک شدن
- 79..... 4-3 بررسی میزان جذب محلول PBS
- 80..... 1-4-3 جذب PBS داربست های ساخته شد به روش شستشوی نمک
- 81..... 2-4-3 جذب PBS فیلم های ساخته شده
- 82..... 3-4-3 جذب PBS داربست های ساخته شد به روش جدایش فازی
- 83..... 5-3 بررسی تاثیر روش استریل کردن بر ساختار، با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز

- 86..... 6-3 اندازه گیری بار سطحی
- 87..... 7-3 زاویه تماس آب
- 88..... 8-3 بررسی میزان عبوردهی بخار آب
- 91..... 9-3 استحکام مکانیکی
- 91..... 1-9-3 داربست های تهیه شده به روش شستشوی نمک
- 92..... 2-9-3 داربست های تهیه شده به روش جدایش فازی
- 95..... 3-9-3 نمونه های دو لایه تهیه شده با اتصال غشاء سیلیکونی به داربست ها
- 98..... 10-3 بررسی سمیت داربست ها
- 98..... 1-10-3 تصاویر کشت سلولی در مجاورت داربست ها پس از گذشت سه روز
- 100..... 2-10-3 تصاویر کشت سلولی در مجاورت داربست ها پس از گذشت هفت روز
- 102..... 11-3 کشت سلولی بر روی فیلم ها
- 103..... 1-11-3 تصاویر کشت سلولی بر روی نمونه ها پس از گذشت سه روز
- 104..... 2-11-3 تصاویر کشت سلولی بر روی نمونه ها پس از گذشت هفت روز
- 108..... فصل چهارم: نتیجه گیری و پیشنهادها

109.....	1-4 مروری بر نتایج حاصله از این تحقیق
109.....	2-4 معرفی محصول بهینه
110.....	3-4 نوآوری ها
111.....	4-4 پیشنهادها
112.....	مراجع

فهرست شکل ها

صفحه

- شکل (1-1) لایه های مختلف لایه رو پوست 4
- شکل (2-1) نمایش جایگزین اینتگرا و لایه سیلیکونی 10
- شکل (3-1) مقایسه ساختمان سلولز، کیتین و کیتوسان 14
- شکل (4-1) مقایسه حلالیت کیتین و کیتوسان 15
- شکل (5-1) انواع هیدروژلهای کیتوسان 17
- شکل (6-1) تورم حساس به pH شبکه نیمه درهم نفوذ کرده شامل کیتوسان با اتصالات عرضی 19
- شکل (7-1) ساختار ژلاتین ... 21
- شکل (8-1) ساختار آمینو اسید 21
- شکل (9-1) شبکه ای شدن ژلاتین از طریق گروه های آلدهیدی 23
- شکل (10-1) شبکه ای شدن ژلاتین از طریق گروه های آلدهیدی و واکنش مجدد با گروه های آمینی 23
- شکل (11-1) شمای کلی شبکه ای شدن ژلاتین و یا کیتوسان با استفاده از کربو دی ایمید 24
- شکل (12-1) ساختار برخی از عوامل ایجاد اتصال عرضی با زیست سازگاری مناسب برای کیتوسان و ژلاتین 25
- شکل (13-1) طرح کلی اتصالات عرضی ایجاد شده در زنجیره هایی با گروه های عاملی کربوکسیلی و آمینی 25
- شکل (14-1) شمای کلی شبکه ای شدن ژلاتین و یا کیتوسان با استفاده از کربو دی ایمید 26
- شکل (15-1) نمایش شماتیک تهیه داربست های ژلاتینی به روش نمک شویی 28

- شکل (16-1) نمودار کلی دما - غلظت محلول پلیمری 30
- شکل (17-1) نمودار فشار - دمای آب 33
- شکل (18-1) نمودار فازی آب 34
- شکل (19-1) نموداری کلی از زمان مرحله خشک سازی بر اساس میزان آب در نمونه 34
- شکل (20-1) تصویر سطح مقطع داربست پلی کاپرولاکتون، تهیه شده با استفاده از روش شستشوی نمک 36
- شکل (1-3) تصویر سطح مقطع داربست 1 53
- شکل (2-3) تصویر سطح مقطع داربست 2 53
- شکل (3-3) تصویر سطح مقطع داربست 3 54
- شکل (4-3) تصویر سطح مقطع داربست 4 54
- شکل (5-3) تصویر سطح مقطع داربست 5 55
- شکل (6-3) تصویر سطح مقطع داربست 6 55
- شکل (7-3) تصویر سطح مقطع داربست 7 56
- شکل (8-3) تصویر سطح مقطع داربست FD 1 56
- شکل (9-3) تصویر سطح مقطع داربست FD 2 57
- شکل (10-3) تصویر سطح مقطع داربست FD 3 57
- شکل (11-3) تصویر سطح مقطع داربست FD 4 58

- شکل (3-12) تصویر سطح مقطع داربست FD 5..... 58
- شکل (3-13) تصویر سطح مقطع داربست FD 5 تهیه شده به روش خشک کردن انجمادی..... 59
- شکل (3-14) تصویر سطح مقطع داربست 5 تهیه شده به روش استخراج نمک..... 59
- شکل (3-15) تصویر سطح مقطع داربست شماره 5 بدون استفاده از خشک کردن انجمادی..... 59
- شکل (3-16) تصویر سطح مقطع داربست شماره 7 بدون استفاده از خشک کردن انجمادی..... 59
- شکل (3-17) ابعاد حفرات داربست های ساخته شده به روش شستشوی نمک..... 63
- شکل (3-18) ابعاد حفرات داربست های ساخته شده به روش جدایش فازی..... 63
- شکل (3-19) تصویر سطح نمونه ی FD 4..... 66
- شکل (3-20) تصویر سطح نمونه ی FD 3..... 66
- شکل (3-21) تصویر سطح نمونه ی 1..... 66
- شکل (3-22) تصویر سطح نمونه ی 2..... 66
- شکل (3-23) تصویر سطح نمونه ی 6..... 67
- شکل (3-24) تصویر سطح نمونه ی 5..... 67
- شکل (3-25) تصویر سطح نمونه ی 3..... 67
- شکل (3-26) تصویر سطح مقطع نمونه Si/C-G⁹..... 68
- شکل (3-27) تصویر سطح مقطع نمونه Si/C-G¹⁰..... 68

- شکل (28-3) تصویر سطح مقطع نمونه Si/FD 2..... 69
- شکل (29-3) میزان تخلخل داربست های ساخته شده به روش شستشوی نمک..... 70
- شکل (30-3) میزان تخلخل اولیه داربست های ساخته شده به روش جدایش فازی..... 72
- شکل (31-3) میزان اولیه دانسیته اندازه گیری شده مربوط به اسکلت داربست های ساخته شده به روش جدایش فازی..... 72
- شکل (32-3) میزان تخلخل داربست های ساخته شده به روش جدایش فازی..... 73
- شکل (33-3) میزان دانسیته اندازه گیری شده اسکلت داربست های ساخته شده به روش جدایش فازی..... 74
- شکل (34-3) میزان تخلخل داربست های ساخته شده به روش شستشوی نمک بعد از آب رفتگی در اتانول..... 77
- شکل (35-3) میزان تخلخل بعد از آب رفتگی در محلول PBS داربست های ساخته شده به روش شستشوی نمک..... 78
- شکل (36-3) میزان جذب محلول PBS داربست های ساخته شده به روش شستشوی نمک..... 80
- شکل (37-3) میزان جذب محلول PBS فیلم های ساخته شده بدون تخلخل..... 81
- شکل (38-3) میزان جذب محلول PBS داربست های ساخته شده به روش جدایش فازی..... 82
- شکل (39-3) نمودار طیف سنجی مادون قرمز داربست 3 a) استریل شده با پرتو دهی ماوراء بنفش b) مرجع c) استریل شده با اوتوکلاو d) استریل شده در حالت متورم با آب..... 84
- شکل (40-3) زاویه تماس فیلم های تهیه شده به روش سسیل دراپ..... 88
- شکل (41-3) میزان عبور بخار آب از غشاء سیلیکونی با ضخامت 120 میکرومتر..... 89
- شکل (42-3) میزان عبور بخار آب از غشاء سیلیکونی با ضخامت 245 میکرومتر..... 89

- شکل (3-43) استحکام کششی داربست های تهیه شده به روش شستشوی نمک..... 91
- شکل (3-44) کرنش در شکست داربست های تهیه شده به روش شستشوی نمک..... 92
- شکل (3-45) استحکام کششی داربست های تهیه شده به روش جدایش فازی..... 93
- شکل (3-46) کرنش در شکست داربست های تهیه شده به روش جدایش فازی..... 94
- شکل (3-47) مقایسه استحکام کششی داربست های دو لایه دارای غشاء سیلیکونی و داربست 4..... 95
- شکل (3-48) مقایسه کرنش در شکست داربست های دو لایه دارای غشاء سیلیکونی و داربست 4..... 96
- شکل (3-49) مقایسه استحکام کششی داربست دو لایه دارای غشاء سیلیکونی و داربست FD2..... 96
- شکل (3-50) مقایسه کرنش در شکست داربست های دو لایه دارای غشاء سیلیکونی و داربست FD2..... 97
- شکل (3-51) تصویر کشت سلولی (نمونه کنترل) (100×)..... 98
- شکل (3-52) تصویر کشت سلولی در مجاورت نمونه 5 (100×)..... 99
- شکل (3-53) تصویر کشت سلولی در مجاورت نمونه 6 (100×)..... 99
- شکل (3-54) تصویر کشت سلولی (نمونه کنترل) (100×)..... 100
- شکل (3-55) تصویر کشت سلولی در مجاورت نمونه 5 (100×)..... 100
- شکل (3-56) تصویر کشت سلولی در مجاورت نمونه 6 (100×)..... 101
- شکل (3-57) تصویر کشت سلولی پس از 24 ساعت در مجاورت نمونه 8 (100×)..... 101
- شکل (3-58) تصویر کشت سلولی (نمونه کنترل) الف) بزرگ نمایی 100 برابر ب) بزرگ نمایی 200 برابر..... 103

شکل (3-59) تصویر کشت سلولی با بزرگ نمایی 100 برابر الف) فیلم 2 ب) فیلم 3.....103

شکل (3-60) تصویر کشت سلولی با بزرگ نمایی 100 برابر الف) فیلم 5 ب) فیلم 4.....104

شکل (3-61) تصویر کشت سلولی (نمونه کنترل) الف) بزرگ نمایی 100 برابر ب) بزرگ نمایی 200 برابر.....104

شکل (3-62) تصویر کشت سلولی بر روی فیلم 1 الف) بزرگ نمایی 100 برابر ب) بزرگ نمایی 200 برابر.....105

شکل (3-63) تصویر کشت سلولی بر روی فیلم 3 الف) بزرگ نمایی 100 برابر ب) بزرگ نمایی 200 برابر.....105

شکل (3-64) تصویر کشت سلولی بر روی فیلم 3 استریل شده با استفاده از نور ماوراء بنفش الف) بزرگ نمایی

100 برابر ب) بزرگ نمایی 200 برابر.....106

شکل (3-65) تصویر کشت سلولی بر روی فیلم 4 الف) بزرگ نمایی 100 برابر ب) بزرگ نمایی 200 برابر.....106

- جدول (1-1). اجزای مهم موجود در ماتریس برون سلولی به همراه نقش هر یک از ترکیبات موجود در آن 6
- جدول (2-1). ضخامت لایه ی رو پوست و میانی 7
- جدول (1-2). برنامه زمان - دما - فشار اعمال شده در دستگاه فریز درایر 40
- جدول (2-2). مشخصات نمونه های تهیه شده به روش شستشوی نمک 41
- جدول (3-2). مشخصات نمونه های تهیه شده به روش جدایش فازی 42
- جدول (4-2). مشخصات نمونه های دو لایه ساخته شده با استفاده از اتصال داربست و غشاء سیلیکونی 43
- جدول (5-2). مشخصات فیلم های ساخته شده با استفاده از کیتوسان و ژلاتین 44
- جدول (1-3). پیک های مشاهده شده در طیف مادون قرمز نمونه ها و تغییرات در شدت آنها 84
- جدول (2-3). میزان بار سطحی نمونه ها با تغییر نسبت کیتوسان به ژلاتین 86
- جدول (3-3). میزان عبور دهی غشاء های سیلیکونی تهیه شده 90

فصل اول : مروری بر مطالعات انجام شده

1-1 مقدمه :

در سالهای اخیر توانایی انسان در بازسازی بافت با استفاده از مهندسی بافت سبب بهبود زیادی در کیفیت و شیوه های درمان شده است. بافت به طور کلی شامل ماتریس برون سلولی (ECM)¹ و سلول می باشد. برای رسیدن به هدف باز سازی بافت های آسیب دیده در بیماران روش های متفاوتی در مهندسی بافت مطرح شده است که یکی از آنها شامل استفاده از بستری مناسب می باشد که امکان رشد سلولی را بر روی خود داشته باشد. مواد پلیمری زیست تخریب² پذیر بهترین گزینه برای استفاده به عنوان بستر می باشند زیرا علاوه بر انعطاف پذیری بسیار بالا از نظر خواص شیمیایی و فیزیکی، می توانند با سلولها بر همکنش داشته و زمینه چسبندگی و رشد آنها را فراهم کنند. در بین پلیمر ها نیز پلیمر های طبیعی به یاخته سازگاری عالی و برهم کنش های مناسب و زیست تخریب پذیری، مناسب ترین نوع پلیمر ها می باشند. سلول ها در محیط آزمایشگاهی بر روی یک داربست پلیمری که به عنوان یک ماتریس برون سلولی مصنوعی نقش ایفا می کند کشت داده می شوند و پس از زمان کافی در محل آسیب دیده قرار داده می شوند. هنگام استفاده از یک داربست پلیمری به عنوان یک ماتریس برون سلولی مصنوعی نیازی به نگرانی در مورد شباهت دقیق ساختاری بین نمونه ساخته شده و ECM طبیعی خود بافت مورد نظر نیست زیرا بعد از تخریب داربست، ECM مجدداً از طریق ترشحات سلول های فیبرو بلاست، تولید و باز سازی می شود. البته در صورت وجود شباهت ساختاری بین داربست طراحی شده و ECM طبیعی پوست، باز سازی و تمایز سلول ها از سرعت بیشتری برخوردار خواهد بود.

¹ extracellular matrix

² Biodegradable

پوست وسیع ترین اندام¹ بدن است که نقشی حیاتی در حفاظت از سایر بافت ها و اجزای بدن دارد. از دست دادن آن در اثر سوختگی و بیماری های مزمن همواره یک مشکل جدی بوده است که ممکن است به مرگ بیمار منجر شود. بنابر این تلاش در جهت رفع این مشکل و ارائه جایگزینی مناسب و بدون محدودیت بسیار مهم و ارزشمند می باشد. در این کار از کیتوسان و ژلاتین که پلیمر هایی طبیعی، زیست سازگار و زیست تخریب پذیر می باشند؛ برای ساخت داربستی به عنوان یک ECM مصنوعی جهت باز سازی بافت پوست در سوختگی هایی که به پوست به صورت جدی آسیب رسیده است استفاده شده است. جایگزین ساخته شده باید تا حد امکان ویژگی های پوست طبیعی را داشته باشد تا هنگام باز سازی کامل پوست، مانند پوست خود بیمار عمل کند. کلاژن ماده اصلی سازنده ECM است. ژلاتین نیز از کلاژن به دست می آید و ساختاری کاملاً مشابه کلاژن دارد در حالیکه مشکل بروز حساسیت در کلاژن را نیز ندارد. بنابراین ژلاتین می تواند گزینه ای بسیار مناسب برای ساخت داربست جهت بازسازی پوست باشد. کیتوسان نیز پلیمری با گروه های عاملی متناسب با ژلاتین است که قابلیت ایجاد پیوند های هیدروژنی با زنجیره های ژلاتین را دارد و همچنین به علت تشابه ساختاری با گلیکوز آمینو گلیکان موجود در پوست به بهبود جراحات کمک می کند.

در فصل اول این پایان نامه به بررسی ساختار پوست، وظایف هر بخش و همچنین جایگزین های ساخته شده برای ترمیم جراحات پوستی پرداخته شده است. در ادامه توضیحاتی در مورد کیتوسان، ژلاتین و همچنین روش های ایجاد اتصالات عرضی در آنها آورده شده است. روش های ساخت داربست ها نیز در بخش پایانی این فصل مورد بررسی قرار گرفته است. فصل دوم شامل تجهیزات، مواد و روش های استفاده شده و فصل سوم نیز مربوط به ارائه نتایج و تحلیل آنها می باشد. فصل پایانی نیز نتیجه گیری و پیشنهادات آورده شده است.

2-1) کار پوست و ساختار آن :

پوست وسیع ترین اندام بدن، در واقع یک لایه حفاظت کننده است که سطح خارجی بدن را در تمام نواحی می پوشاند. پوست دارای قابلیت ارتجاعی است و به عنوان یک سد دفاعی می تواند بدن را در تماس با محیط

¹ organ

خارج و در مقابل عوامل مختلف و خطرات خارجی حفظ کند؛ به این معنی که پوست در عمل در مقابل ضربه‌ها، عوامل فیزیکی و شیمیایی، تغییرات شدید حرارتی و رطوبتی، سموم و عوامل عفونی و بیماریزا مقاومت می‌کند که در نتیجه از بدن، و زندگی انسان، دفاع و حراست به عمل می‌آورد. با توجه به تلفات زیاد انسان‌هایی که پوستشان دچار سوختگی‌های نسبتاً وسیع شده است، می‌توان از اهمیت حیاتی این عضو آگاه شد. وزن پوست، در یک فرد بالغ به طور متوسط 4 کیلوگرم و وسعت آن در حدود 2 متر مربع است [۱، ۲]. مهمترین وظیفه پوست محافظت از درون بدن در مقابل محیط نامأنوس خارجی است. حایل اصلی، قسمت اپیدرم¹ یا روپوست است. این لایه در زیر اپیدرم لایه عروقی پوست قرار دارد و مسئول نگهداری و تغذیه سلول‌های زاینده اپیدرم می‌باشد. به طور کلی پوست از سه بخش تشکیل شده است (شکل 1-1):

1- قسمت سطحی یا روپوست 2- قسمت میانی یا درم² 3- قسمت عمقی یا چربی زیر پوست³

1-2-1) قسمت سطحی یا روپوست :

قسمت سطحی یا روپوست از بافت پوششی سنگفرشی تشکیل شده که سلول‌های آن در چهار لایه به شکلهای مختلف روی یکدیگر قرار گرفته‌اند. در این قسمت، سلول‌های لایه‌های عمقی‌تر در یک ردیف مرتباً در حال تقسیم و افزایش هستند در حالیکه سلول‌های لایه‌های سطحی پیوسته شاخی شده و به صورت یک لایه فرسوده درآمده و ورقه ورقه از سطح پوست خارج می‌شوند. به این ترتیب با از بین رفتن سلول‌های لایه‌های شاخی شده سطحی، سلول‌های جوان‌تر که در لایه‌های زیرین قرار دارند جای آنها را می‌گیرند. همانطور که گفته شد قسمت سطحی یا روپوست، شامل چهار لایه با شکلهای مختلف است که ضخامت مجموع آنها در حدود یک میلیمتر می‌باشد. این چهار لایه متعلق به روپوست به ترتیب از عمق به سطح عبارتند از: لایه زایگر یا لایه پایه، لایه مالپیگی یا خاردار، لایه دانه‌دار، لایه سطحی یا شاخی⁴.

لایه پوسته‌ای یا شاخی، که لایه آخر و نزدیک‌ترین بخش پوست به محیط بیرون می‌باشد، سد فیزیکی اصلی پوست به شمار می‌رود و از سلول‌های شاخی شده و مرده تشکیل شده است. سلول‌های این لایه، پهن و بدون

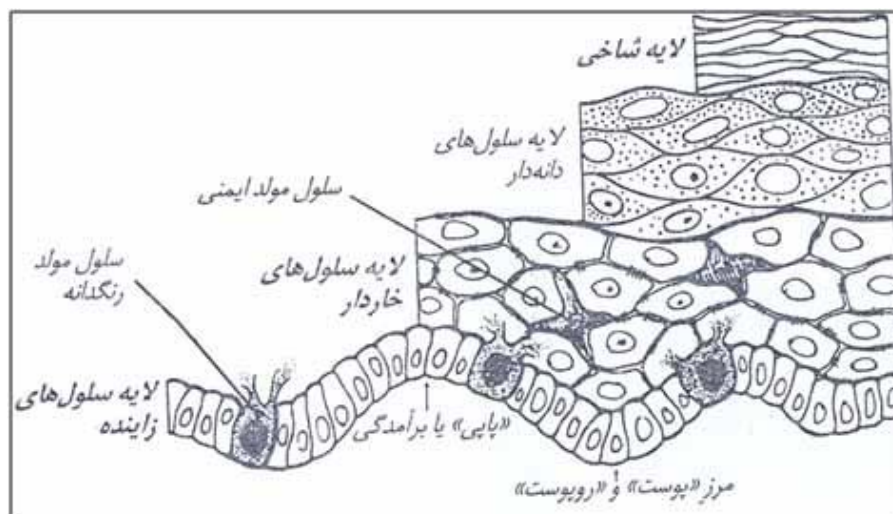
¹ epiderm

² derm

³ hypoderm

⁴ corneum

هسته اند. این سلولها در حقیقت حاوی مواد مومی و چربی، یا کراتین می‌باشند. روپوست، می‌تواند لایه‌های زیرین را در برابر صدمات و خطرات مکانیکی و شیمیایی و به خصوص در برابر نفوذ عوامل میکروبی و بیماریزا حفظ نماید؛ البته بافت همبند و چربی درون پوست نیز همانند یک سد دفاعی در برابر ضربه‌ها و فشارهای وارده مقاومت می‌کند. برای مهاجرت سلول‌ها از لایه زاینده به بالای لایه دانه‌دار، حدود 2 هفته وقت لازم است، عبور این سلولها از این قسمت تا جایی که دچار ریزش می‌شوند نیز دو هفته طول می‌کشد. بنابراین سلول‌های شاخی کهنه به تدریج و در عرض یکماه پوسته پوسته شده و می‌ریزند و سلول‌های جدید جای آنها را می‌گیرند [۱، ۲].



شکل 1-1: لایه‌های مختلف لایه رو پوست [2]

1-2-2) لایه میانی پوست :

درم یا لایه میانی پوست، لایه ای است ضخیم، مقاوم و دارای ساختاری از بافت همبند که حاوی رشته‌های قابل ارتجاع می‌باشد. این طبقه در زیر اپیدرم قرار گرفته و آن را تغذیه می‌کند. این لایه به پوست استحکام و انعطاف پذیری می‌دهد. رگ‌های خونی، اعصاب، و ضمایم پوست در این بخش قرار گرفته اند. این لایه به طور عمده از ماتریس برون سلولی (ECM)¹ تشکیل یافته است که شامل کلاژن، الاستین²، فیبرونکتین³، رتیکولین¹، گلیکوز

¹ extracellular matrix

² elastin

³ fibronectin

آمینو گلیکان^۲ و پلی ساکاریدها می باشد. سلول های موجود در این لایه شامل فیبروبلاست، که کلاژن^۳ و سایر اجزای ماتریس برون سلولی را تولید می کند، اجزای عروقی که شامل سلول های اندوتلیال^۴، سلول های عصبی و سلول های مست^۵ مربوط به سیستم ایمنی می باشند. [۵،۴،۳]

ماتریس برون سلولی :

حضور ECM در لایه میانی پوست نقش مهمی را در بازسازی پوست هنگام آسیب دیدگی های جزئی ایفا می کند. این ماتریس در واقع به عنوان داربستی است که فیرو بلاست ها می توانند به آن چسبیده و رشد کنند و همچنین در رسیدن مواد غذایی به لایه رو پوست کمک می کنند. در صورتی که ECM آسیب ببیند فرایند ترمیم خود به خودی پوست با مشکل رو به رو می شود. هنگام استفاده از یک داربست پلیمری به عنوان یک ماتریس برون سلولی مصنوعی نیازی به نگرانی در مورد شباهت دقیق ساختاری بین نمونه ساخته شده و ECM طبیعی خود پوست نیست زیرا بعد از تخریب داربست ساخته شده، ECM مجدد از طریق ترشحات سلول های فیبروبلاست تولید و بازسازی می شود. البته در صورت وجود شباهت ساختاری بین داربست طراحی شده و ECM طبیعی پوست، باز سازی از سرعت بیشتری برخوردار خواهد بود [6].

اجزاء مهم موجود در ماتریس برون سلولی به همراه نقش هر یک از ترکیبات در جدول 1-1 آورده شده است.

¹ reticulin

² glycosaminoglycan

³ collagen

⁴ Endothelial cells

⁵ Mast cells