

ارزیابی هیستوپاتولوژی نانوزل حاوی تتراسایکلین بر زخم تجربی عفونی شده با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در رت

• شیلا نبوی

گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

• علیرضا جهان‌دیده (نویسنده مسئول)

گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

• ابوالفضل اکبرزاده

گروه نانو تکنولوژی پزشکی دانشکده علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۶-۰۷-۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: ۰۳-۰۹-۱۴۰۱

تاریخ بازنگری: ۱۶-۰۷-۱۴۰۱ تاریخ انتشار: ۰۱-۰۷-۱۴۰۲

Email: dr.jahandideh@gmail.com



چکیده

هدف از این مطالعه ارزیابی هیستوپاتولوژی نانوزل حاوی تتراسایکلین بر زخم تجربی عفونی شده با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در رت است. در این تحقیق از ۸ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده سنی ۱۲-۱۴ هفته و محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. این حیوانات به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی منتقل شدند و در قفس‌های استاندارد نگهداری شدند. القاء بیهوشی با ترکیب زایلازین هیدروکلراید ۲ درصد (۱۰ mg/kg/IP) و کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد (۶۰ mg/kg/IP) به صورت داخل صفاقی انجام گردید. پس از بیهوشی عمومی، موش‌ها به صورت شکمی بر روی میز جراحی قرار داده شدند، سپس سطح پشتی موش‌ها از ناحیه گردن تا کتف آماده‌سازی و اسکراب شده و دو زخم دایره‌ای شکل به قطر ۷ میلی‌متر در هر طرف به فاصله ۱ سانتی‌متر از ستون مهره و ۱/۵ سانتی‌متر از یکدیگر با استفاده از پانچ بیوپسی استریل ۷ میلی‌متری ایجاد گردید. با ایجاد زخم به روش برشی، لایه‌های اپیدرم، درم بطور کامل برداشته شدند. پس از ایجاد زخم، موش‌ها به صورت‌های زیر تقسیم‌بندی گردیدند و سطح زخم کلیه موش‌های مورد آزمایش، توسط یک میلی لیتر از سوسپانسیون حاوی CFU/ml ۱۰^۸ استافیلوکوکوس اورئوس که توسط روش نیم مک فارلند تولید شده بود آلوده گردید. ابتدا موش‌ها بطور تصادفی به دو گروه ۴ تایی (شاهد و نانوزل حاوی تتراسایکلین) تقسیم شده، سپس هر کدام از اینها خود به ۴ زیر گروه ۲ تایی (گروه‌های نمونه‌برداری در روزهای مختلف) تقسیم شدند. در پایان روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ به منظور بررسی‌های هیستوپاتولوژیک توسط اسکالپل نمونه‌هایی، جهت انجام آزمایشات مربوطه اخذ شدند. براساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که نانوزل حاوی تتراسایکلین اثرات مناسب و قابل قبولی بر روند التیام بخشی و ترمیم زخم عفونی پوستی در رت داشته باشد.

واژگان کلیدی: نانوزل، پلی‌کاپرولاکتان، تتراسایکلین، زخم عفونی

• Veterinary Researches & Biological Products No 140 pp: 24-35

Evaluation of polycaprolactone (PCL) based nanogel containing tetracycline on experimental wound infected with staphylococcus aureus bacteria healing on rat's skin

By: Nabavi, SH., Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Jahandideh, A.R., (Corresponding Author) Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. and Akbarzadeh, A., Department of Medical Nanotechnology, School of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

Received: 2021-12-11

Accepted: 2022-01-16

Revised: 2021-12-11

Published: 2023-09-23

Email: dr.jahandideh@gmail.com

Abstract

The aim of this study was to evaluate the histopathology of nanogel containing tetracycline on experimental wounds infected with staphylococcus aureus on the skin of rats.

Method: This study used eight adult male Wistar rats (12-14 weeks old) weighing 250-300 gr. These rats were transferred to the Faculty of Veterinary Medicine's animal rearing center laboratory and kept in standard cages under standard conditions. Anesthesia was induced by intraperitoneal injection of 2% xylazine hydrochloride (10 mg/kg / IP) and 10% ketamine hydrochloride (60 mg/kg / IP). After general anesthesia, the rats were placed abdominally on the surgical table, then the dorsal surface of the rats was prepared and scraped from the scapula to the ileum, and two circular wounds of 7 mm in diameter were 1 cm apart and 1 cm apart. 1.5 cm from each other was created using a 7 mm sterile biopsy punch. Epidermal layers were obliterated by incision. The wound surface of all rats was infected with 1 ml of suspension containing 108 CFU / ml of Staphylococcus aureus, which was created by the 0.5 McFarland method. The rats were assigned into two equal groups (n=4 each) as follows: control group with no medication and receiving nanogel containing tetracycline. At the end of days 3, 7, 14, and 21, specimens were obtained for histopathological examination by scalpel.

Conclusion: Based on the results, nano gel containing tetracycline has excellent and acceptable effects on the healing process and wound healing in rats.

Keywords: Nanogel- Polycaprolactone- Tetracycline- Infected Wound

ایبدرمی و فاکتور رشد تغییردهنده آلفا که توسط ماکروفازها، پلاکت‌ها و کراتینوسیت‌های فعال آزاد می‌شوند، تحریک می‌شود (۱۱). از مهم‌ترین دلایل تأخیر در بهبود زخم، باقی ماندن التهاب و یا ناکافی بودن ساخت عروق می‌باشد. التیام زخم در حالت کلی به سه مرحله تقسیم می‌شود. ۱- آماس (زودرس و دیررس) ۲- تشکیل بافت جوانه گوشتی و اپیتیلیالیزه شدن مجدد ۳- انقباض زخم، رسوب ماده زمینه خارج سلولی و شکل‌گیری مجدد این مراحل با یکدیگر همپوشانی دارند و جدا ساختن آنها تا حدی قراردادی است. به نظر می‌رسد که در بافت‌های نرم هر دارویی که بتواند زمان این فازها را کوتاه‌تر کند، منجر به تسریع روند ترمیم می‌شود (۴).

همچنین استافیلوکوک اورئوس Staphylococcus aureus کوکسی گرم

مقدمه

واژه زخم به عنوان از هم‌گسیختگی ساختار آناتومیکی و از دست رفتن عملکرد طبیعی بافت تعریف شده است. بنابراین، التیام زخم فرایندی پویا و پیچیده است که منجر به بازگشت تداوم آناتومیکی و عملکردی بافت می‌شود (۱۴). این فرایند مستلزم تعامل بین سلول‌های مختلف، فاکتورهای رشد، سایتوکین‌ها و مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی است (۱۰). ترمیم زخم شامل مرحله‌های است که با یکدیگر همپوشانی دارند. ۱. هموستاز ۲. التهاب ۳. تکثیر ۴. بازسازی (۲) نوزایش بافت پوششی فرایندی است که در طی آن سلول‌های اپیتیلیالی لبه زخم و سلول‌های بنیادی فولیکول‌های مو و غدد عرق اتصالات خود را از دست داده و بر روی ناحیه زخم مهاجرت می‌کنند. این فرایند توسط فاکتورهای رشد

الکتورسی نانوفیبرهای pcl/cs

محلول الکتورسی با حل کردن پلیمرهای پلی کاپرولاکتون ۱۲ WT % و محلول کیتوزن ۲ WT % در مخلوط فریک اسید/ استیک اسید تهیه گردید. محلولها در دمای اتاق به مدت ۲ h هم زده شد و به هم اضافه گردید. داروی تتراسایکلین به محلول پلیمری اضافه گردید و با دستگاه الکترواسپینینگ (فناوران نانو مقیاس-ایران) با ولتاژ ۱۵ kv و نرخ تغذیه ۰/۱ ml/h، نانوفیبرهای pcl/cs حاوی داروی تتراسایکلین تهیه گردید.

ایجاد عفونت آماده سازی تلقیح باکتریایی و عفونی کردن زخم

۰/۵ میلی لیتر از محلول ۱/۱۷۵ درصد (وزنی/حجمی) کلرید باریم دو هیدراته (BaCl₂·۲H₂O) روی ۹۹/۵ میلی لیتر از محلول یک درصد اسید سولفوریک (حجمی/حجمی) (یک میلی لیتر اسید سولفوریک به ۹۹ میلی لیتر آب مقطر) افزوده شد. محلول استاندارد نیم مک فارلند در یک ظرف درپوش دار ریخته شده و در دمای آزمایش (۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی گراد) و در یک جای تاریک تا ۶ ماه قابل نگهداری است. این محلول بایستی قبل از مصرف به خوبی تکان داده شود. جذب نوری یا OD این محلول در طول موج ۶۲۵ نانومتر باید بین ۰/۸ تا ۰/۱ باشد. این کدورت معادل ۱۰^۸ x ۱-۲ cfu/ml باکتری می باشد.

جهت آماده سازی تلقیح باکتریایی ابتدا استافیلوکوکوس اورئوس در یک محیط آگار غیرانتخابی کشت خطی (Streak) داده شد تا اینکه پرگنه های ایزوله یا تک بدست آیند. پلیت ها یک شب در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. سپس ۱ یا ۲ پرگنه ایزوله شده با آنس حلقوی سترون به یک لوله آزمایش سترون حاوی ۵ میلی لیتر از سالین فیزیولوژیکی سترون منتقل شده و به خوبی با شیکر لوله آزمایش تکان داده شدند. در یک لوله آزمایش دیگر ۵ میلی لیتر از محلول نیم مک فارلند ریخته شد. سپس کدورت سالین محتوی پرگنه با کدورت لوله نیم مک فارلند به صورت چشمی و در زیر نور چراغ مطالعه و در مقابل یک صفحه سفید با خطوط سیاه مشخص مقایسه گردید. اگر کدورت سالین کمتر از نیم مک فارلند بود، پرگنه افزوده و تکان داده شد ولی اگر کدورت سالین بیشتر بود، سالین سترون افزوده و در نهایت کدورت تنظیم شد. سپس کدورت سالین با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر کنترل شد که جذب نوری یا OD باید بین ۰/۸ تا ۰/۱ باشد. این کدورت معادل ۱۰^۸ x ۱-۲ cfu/ml باکتری می باشد. برای عفونی کردن زخم، به مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از تلقیح باکتریایی آماده شده روی زخم استاندارد ایجاد شده افزوده شد.

بیهوشی و ایجاد زخم

القاء بیهوشی با ترکیب زایلانین هیدروکلراید ۲ درصد (۱۰ mg/kg/IP) و کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد (۶۰ mg/kg/IP) به صورت داخل صفاقی انجام گردید. پس از بیهوشی عمومی، موش ها به صورت شکمی بر روی میز جراحی قرار داده شدند، سپس سطح پشتی موش ها در ناحیه کتف تا ایلئوم آماده سازی و اسکراب شده و دو زخم دایره ای شکل به قطر ۷ میلی متر در هر طرف به فاصله ۱ سانتی متر از ستون مهره و ۱/۵ سانتی متر از یکدیگر با استفاده از پانچ بیوپسی استریل ۷ میلی متری ایجاد گردید. با ایجاد زخم به روش Excisional wounding لایه های اپیدرم، درم،

مثبت و بی هوای اختیاری است که مهم ترین گونه درجنس (سرده) استافیلوکوک از نظر پزشکی محسوب می شود. گاهی اوقات به این باکتری، استافیلوکوک طلایی نیز می گویند. این باکتری ممکن است به شکل فلور عادی پوست یا بینی وجود داشته باشد. (نسبت و همکاران ۲۰۱۰) این طور تخمین زده می شود که ۲۰ درصد از مردم به مدت طولانی، ناقل باکتری باشند. استافیلوکوک اورئوس، یکی از موفق ترین باکتری های بیماری زا است. استافیلوکوک اورئوس به عنوان یکی از ۵ عامل شایع ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی به ویژه عفونت های زخم پس از جراحی است. هر سال، ۵۰۰ هزار نفر در بیمارستان های ایالات متحده آمریکا به عفونت های استافیلوکوک اورئوس مبتلا می شوند (۱۱).

روند طبیعی بهبود یک زخم، مجموعه ای از یک سری واکنش های سلولی و شیمیایی در بدن و به خصوص در محدوده ی زخم است که بلافاصله از زمان بروز زخم این واکنش ها شروع می شود و تا ماه ها و حتی سال ها بعد از بهبود و بسته شدن زخم ادامه دارد. ترمیم زخم فازهای مختلفی دارد و عوامل مختلفی هم می توانند با یک یا تعدادی از این فازها تداخل داشته باشند و در این فرآیند اختلال ایجاد کنند، از جمله: عفونت، اکسیداسیون، سن، جنسیت، هورمون ها، استرس، اضافه وزن، دیابت، داروها و تغذیه؛ هم چنین عواملی در کوتاه کردن زمان ترمیم زخم موثر هستند از جمله آنتی بیوتیک ها. استفاده ی انتخابی از آنتی بیوتیک ها می تواند به پیشگیری از عفونت پوستی بعد از صدمه یا جراحی کمک کند. جهت درمان زخم های باز، آنتی بیوتیک های موضعی ارجحیت دارند، هم چنین داربست های مهندسی برای ترمیم و درمان زخم پوستی کاربرد دارند. این پوشش ها اجازه می دهند که روند التیام زخم به طور چشم گیری افزایش یابد چون اجازه می دهند که مایعات و فاکتورهای رشد در تماس مستقیم با زخم قرار بگیرند و بنابراین با حفظ رطوبت و ویژگی های دیگری مثل غیر آرژی زا و غیر چسبیده بودن و خاصیت ضد التهابی، سرعت التیام زخم را به طور چشم گیری افزایش می دهند. بر این اساس هدف از پژوهش حاضر ارزیابی هیستوپاتولوژی نانوزل حاوی تتراسایکلین بر زخم تجربی عفونی شده با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در رت می باشد.

مواد و روش ها

در این تحقیق از ۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات از بخش تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تهیه و به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی منتقل شدند. تمامی حیوانات در قفس های استاندارد نگهداری موش تحت شرایط نوردی کنترل شده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ثابت ۲۲±۲ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پروتکل این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته های بین المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید. موش ها به ۲ گروه تقسیم شدند: گروه اول موش هایی که روی زخم شان نانوزل قرار داده شد و گروه دوم موش که زخم شان خود به خود ترمیم شد. ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از انجام آزمایش، از هر یک از گروه ها یک موش انتخاب شد و از زخم هر کدام نمونه تهیه شد و از نمونه ها لام تهیه شد تا بهبود در دو گروه در طی این روزها بررسی و با یکدیگر مقایسه شود.

۱۰٪ به آزمایشگاه پاتولوژی انتقال یافته و ۲۴ ساعت بعد محلول فرمالین عوض گردید. از روش پارافین (paraffin wax embedding) استفاده شد. این روش یکی از روش‌های معمول و روتین در بافت‌شناسی محسوب می‌گردد.

تمامی مراحل فوق توسط دستگاه اتوتکنیکون Automatic tissue processors در آزمایشگاه هیستوتکنیک دانشکده دامپزشکی آزاد واحد علوم و تحقیقات انجام گرفت. روش کمی کردن یافته‌های کیفی بر اساس روش بکار گرفته شده توسط Wilmlink و همکاران در سال ۱۹۹۹ انجام گرفت.

یافته‌ها

- ۱- پیک ۱۷۲۵ مربوط به ارتعاشات کششی گروه کربونیل پلیمر
- ۲- پیک ۲۹۳۰ مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های متیلن و متیل پلیمر
- ۳- پیک پهن ناحیه ۳۳۰۰-۳۵۰۰ مربوط به ارتعاشات کششی گروه آمین تترا سایکلین
- ۴- پیک ناحیه ۱۴۷۰ مربوط به ارتعاشات خمشی گروه NH دارو
- ۵- پیک‌های ۹۹۰ تا ۱۰۱۰ مربوط به ارتعاشات کششی کربن و کربن اکسیژن پلیمر

بحث

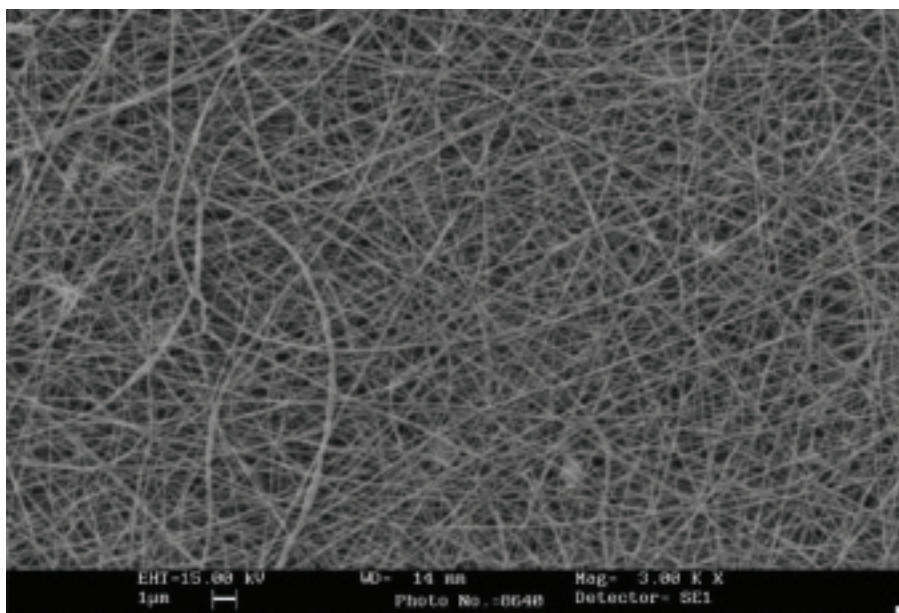
پژوهش حاضر بر روی دو گروه چهارتایی موش صحرایی بالغ نژاد ویستار انجام شد. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکردند و گروه دیگر دارویی تتراسایکلین را به صورت نانوژل دریافت کردند. اثرات ضدالتهابی التهاب

هایپودرم و پنبکولوس به طور کامل برداشته شد. با استفاده از یک چوب پنبه، زخم‌ها آلوده به محلول باکتری استاف اورئوس شدند. روی زخم نیمی از موش‌ها، نانوفیبر به همراه ژل لوبریکنت قرار داده شد. پس از ایجاد زخم و جداسازی و برداشت پوست از بافت زیرجلدی و آغشته کردن آن به محلول باکتری، سطح زخم نیمی از موش‌ها بوسیله نانوفیبر ژل لوبریکنت پوشانده شد و زخم بقیه موش‌ها به شکل باز نگهداری شد. سپس حیوانات با توجه به تیمار خود در قفس‌های مشخص شده هر تیمار نگهداری شدند و تا پایان روز نمونه برداری مربوطه، روزانه به همین ترتیب مورد مراقبت قرار گرفتند.

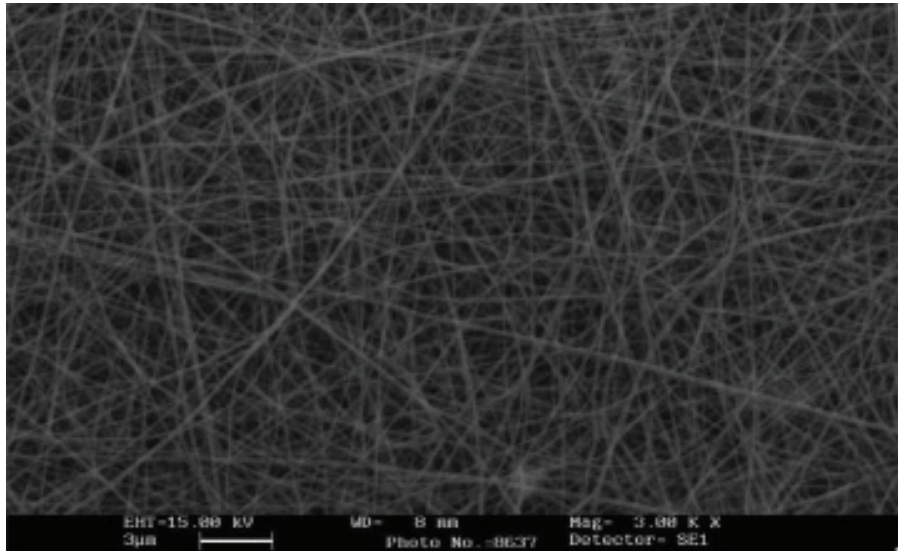
چگونگی بررسی هیستوپاتولوژیک

در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از جراحی از زخم‌های گروه‌های درمان، شاهد نمونه‌ی بافتی برداشته شد. بدین ترتیب که ۱ حیوان بطور تصادفی از هر گروه انتخاب و نمونه‌ی بافتی تمام ضخامت اخذ می‌گردید و در فرمالین ۱۰٪ خنثی بافر دار قرار داده شد و به آزمایشگاه پاتولوژی منتقل گردید. پس از تثبیت و قالب‌گیری نمونه‌های بافتی به روش هماتوکسیلین-اوتوزین رنگ‌آمیزی گردید

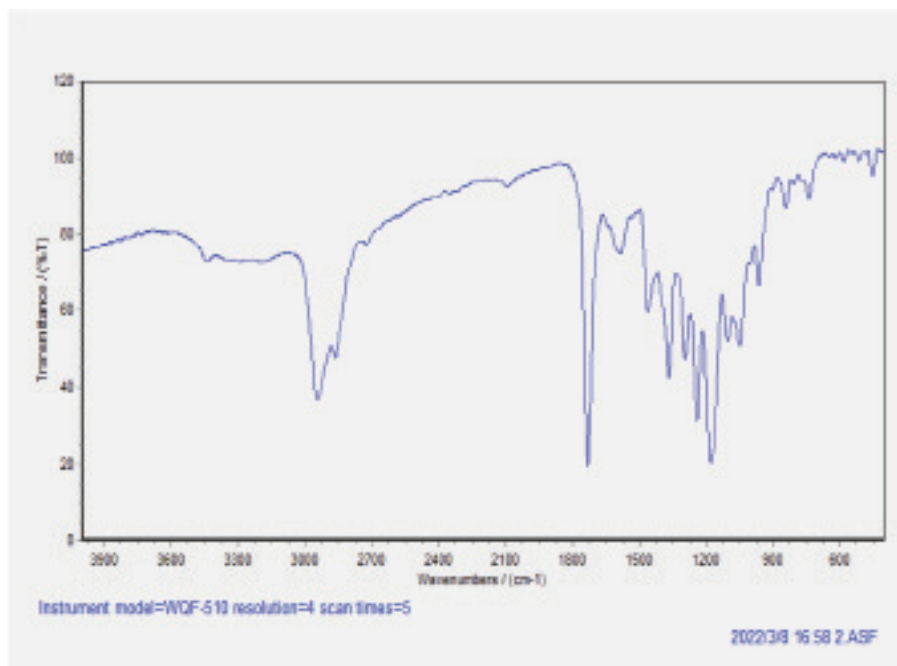
چهار نوبت نمونه برداری در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از ایجاد زخم انجام شد. قبل از نمونه برداری ابتدا مطابق آنچه که گفته شد حیوانات بیهوش شدند و با استفاده پانچ بیوبسی همراه با قسمتی از بافت سالم اطراف زخم برداشته شد. نمونه‌های برداشته شده از هر رت شامل اپیدرم، درم و هایپودرم بود و پس از جداسازی هر نمونه، در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. نمونه‌های برداشت شده داخل محلول پایدار کننده فرمالین



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نانوالیاف پلی کاپرولاکتان و تتراسایکلین گرفته شده است.



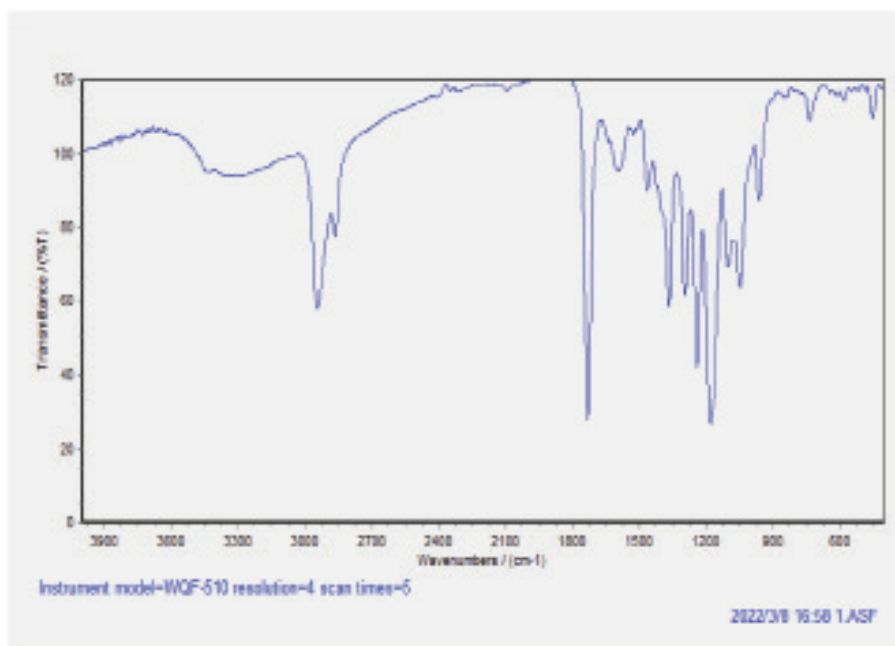
شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی از نانوالیاف پلی کاپرولاکتان و تتراسایکلین گرفته شده است.



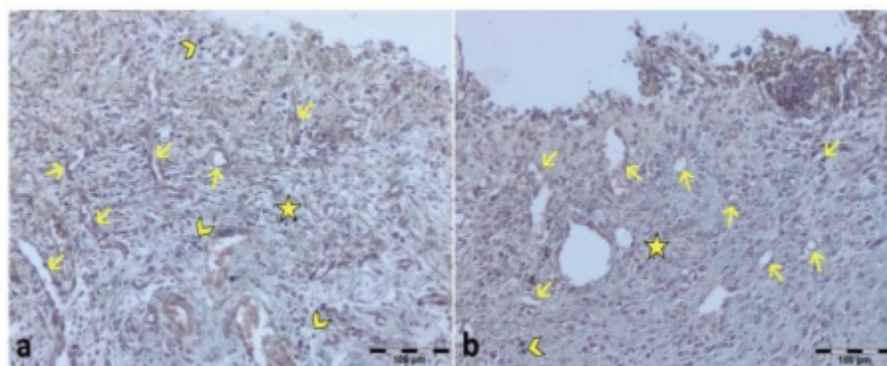
شکل ۳- FTIR به دست آمده از نانوالیاف پلی کاپرولاکتان و تتراسایکلین.

اورئوس انجام دادند. استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های باکتریایی زئونوتیک است. این باکتری انسان‌ها و تعداد زیادی از حیوانات، از جمله گاو شیری را درگیر می‌کند (۱). بیماری ورم پستان با عامل استاف اورئوس یکی از بزرگ‌ترین مشکلات در سطح جهانی است که صنعت لبنیات را با مشکلات اقتصادی مواجه کرده است. این پاتوژن به صورت انگل داخل سلولی عمل کرده و مقاومت آنتی‌میکروبیال و تشکیل بیوفیلم نیز از دیگر مسائلی هستند که درمان

پاسخ طبیعی بدن در برابر آسیب‌های بافتی و عفونت است. اگر التهاب کنترل نشود واسطه‌های پیش‌التهابی نظیر سیتوکین‌ها، آنزیم‌ها، اکسید نیترژن، گونه‌های واکنشی اکسیژن و پروستوگلاندن‌ها آزاد می‌شوند، که نتیجه‌ی آن تحریک توسعه بیماری‌هایی نظیر التهاب مفاصل، تصلب شرائین و حتی در برخی موارد سرطان خواهد بود. در سال ۲۰۲۰ التریب و همکاری‌های مطالعه‌ای تحت عنوان استفاده از نانوپارتیکل‌ها برای درمان ورم پستان در گاو با عامل استافیلوکوکوس



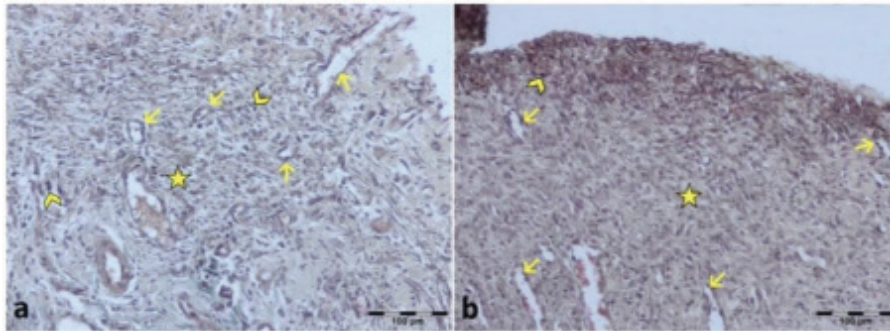
شکل ۴- FTIR به دست آمده از نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتان و تتراسایکلین.



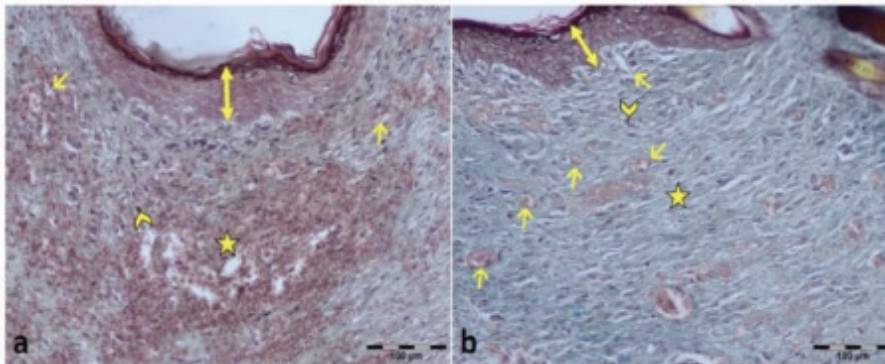
شکل ۵- تغییرات بافتی پوست عفونی در روز سوم پس از زخم در رت. اپیتلیوم در زخم هر دو گروه کنترل (a) و تیمار (b) کاملاً از دست رفته بود. میزان ادم با حضور لکوسیت‌ها در بافت جوانه گوشتی در گروه کنترل شدت بال بود در حالیکه در گروه تیمار کمتر از آن مشاهده شد. فلش = عروق تازه تشکیل، سرفلش = لکوسیت، ستاره = ادم بستر. بزرگنمایی ۲۰۰ برابر- رنگ آمیزی تریکروم.

استافیلوکوکوس اورئوس ساخته شدند. در نهایت مسائل و مشکلاتی که باید حل شوند و آینده‌ی استفاده از نانوپارتیکل‌ها در درمان ورم پستان با عامل استاف مورد بررسی قرار گرفتند. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴، فر و همکارانش مطالعه‌ای تحت عنوان طراحی نانوزل‌های حامل برای مصارف آنتی‌باکتریال انجام دادند (۳). ویژگی‌های آنتی‌باکتریال آن‌ها بر علیه ای‌کلای و استافیلوکوکوس اورئوس مورد ارزیابی قرار گرفت. لیزوزیم نوکلینشن و تثبیت نانوپارتیکل‌های آلومینیوم بسیار مؤثر بود و در عین حال رشد آن‌ها را محدود کرد. همچنان‌که تراکم لیزوزیم افزایش پیدا کرد، نانوزل‌های بزرگ‌تر با تعداد بیشتری از نانوپارتیکل‌های کوچک نقره مشاهده شدند. خاصیت آنتی‌باکتریال هیپرید نانوزل‌ها بستگی تپ نانوزل و شرایط باکتریایی

را دشوار کرده‌اند. در نتیجه با بکارگیری نانوپارتیکل‌ها از جمله لیپوزوم‌ها، نانوپارتیکل‌های پلی‌مریک، نانوپارتیکل‌های لیپیدی جامد، نانوزل‌ها و نانوپارتیکل‌های غیرارگانیک ابزارهای کارآمدی برای غلبه بر مشکلات درمانی استافیلوکوکوس اورئوس در حال تشکیل هستند. در این مطالعه، در ابتدا دشواری‌های درمان استاف اورئوس توسط داروهای آنتی‌میکروبیال آنالیز شده‌اند. سپس، محاسن استفاده از نانوپارتیکل‌ها در درمان ورم پستان با عامل استاف اورئوس از جمله افزایش نفوذ دارو به داخل سلول، کاهش مقاومت آنتی‌میکروبیال و پیشگیری از تشکیل بیوفیلم مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در مرحله‌ی سوم، انواع مختلف نانوپارتیکل‌ها برای کنترل ورم پستان با عامل



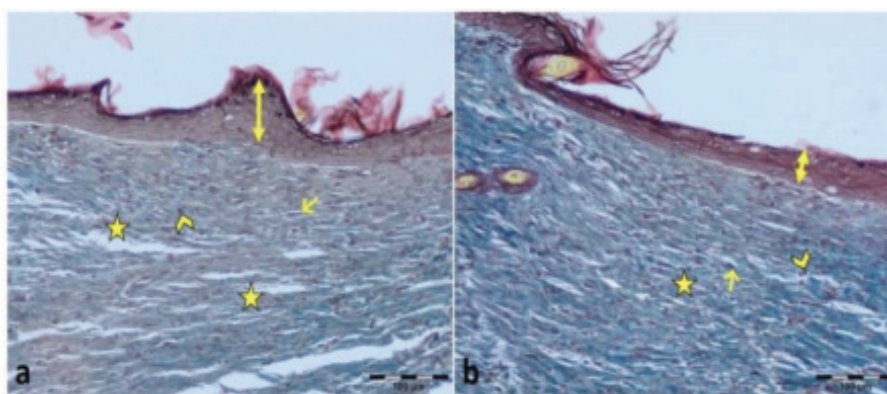
شکل ۶- تغییرات بافتی پوست عفونی در روز هفتم پس از زخم در رت. اپیتلیوم در زخم هر دو گروه کنترل (a) و تیمار (b) هنوز تشکیل نشده بود. میزان ادم بافت جوانه گوشتی در گروه کنترل بیشتر از تیمار بود. رگ‌زایی در هر دو گروه یکسان ولی شدت ساخت کالژن و نظم آرایش آن در گروه تیمار بهتر دیده شد. میزان حضور لکوسیت‌ها در گروه تیمار کمتر شده بود. فلش = عروق تازه تشکیل، سرفلش = لکوسیت، ستاره = ادم بستر. بزرگنمایی ۲۰۰ برابر- رنگ آمیزی تریکروم



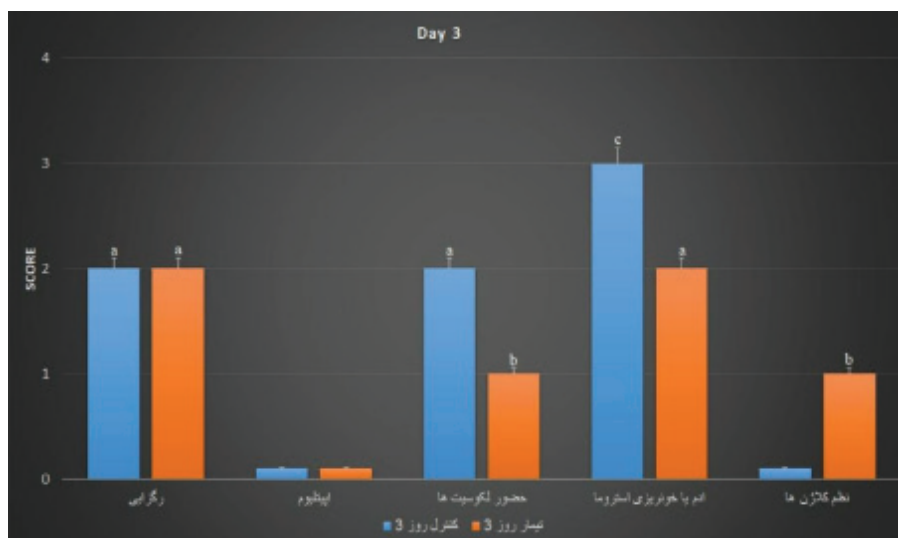
شکل ۷- تغییرات بافتی پوست عفونی در روز چهاردهم پس از زخم در رت. اپیتلیوم در زخم هر دو گروه کنترل (a) و تیمار (b) تشکیل شده بود و قطر یکسانی داشت. میزان ادم و حضور لکوسیت در بافت جوانه گوشتی در گروه کنترل بیشتر از تیمار بود و خونریزی نیز داشت. رگ‌زایی در گروه تیمار بیشتر بود و شدت ساخت کالژن و نظم آرایش آن در گروه تیمار کاملتر و منظم تر گزارش گردید. فلش = عروق تازه تشکیل، سرفلش = لکوسیت، ستاره = ادم بستر، فلش دوسر = اپیتلیوم. بزرگنمایی ۲۰۰ برابر- رنگ آمیزی تریکروم.

تحت عنوان غلبه بر مقاومت آنتی‌باکتریال توسط نانوذلهای حاوی آنتی‌بیوتیک توسط کارکرد سطحی کاتیونی، عملکرد نانوذلهای مورد بررسی قرار دادند (۱۲). در این مطالعه استفاده از پلی‌اکریلیک کوپلیمر نانوذلهای که برای استفاده در سطوح به عنوان حامل آنتی‌بیوتیک‌های کاتیونی استفاده شده. این نانوذلهای می‌توانند مولکول‌های کوچک کاتیونی آنتی‌میکروبیال را در بر گرفته و به عنوان یک سیستم انتقال دارو عمل کنند. این نانوذلهای بعداً به یک پلی‌الکترولیت کاتیونی مجهز شدند تا تمایلشان به دیواره‌ی سلولی باکتری با بار منفی افزایش پیدا

دارد. نانوذلهای هیبرید با نانوپارتیکل‌های درشت نقره کمترین خاصیت آنتی‌باکتریال را از خود نشان دادند. گرچه بالاترین توانایی از بین بردن باکتری (تا ۱۰۰٪) طی ۱ ساعت اول تماس با نانوذلهای هیبرید با نانوپارتیکل‌های کوچک‌تر نقره دیده شد. نتایج حاکی از آن بود که ویژگی‌های نانوذله و فعالیت آنتی‌باکتریال آن می‌تواند با تغییر محتوای لیزوزیم تنظیم بشود. با مورد هدف قرار دادن انتقال دارو، این نانوذلهای می‌توانند برای جلوگیری کردن از تشکیل بیوفیلم و کنترل عفونت مورد استفاده قرار بگیرند. ولدریک و همکارانش در سال ۲۰۱۹ در مطالعه‌ای



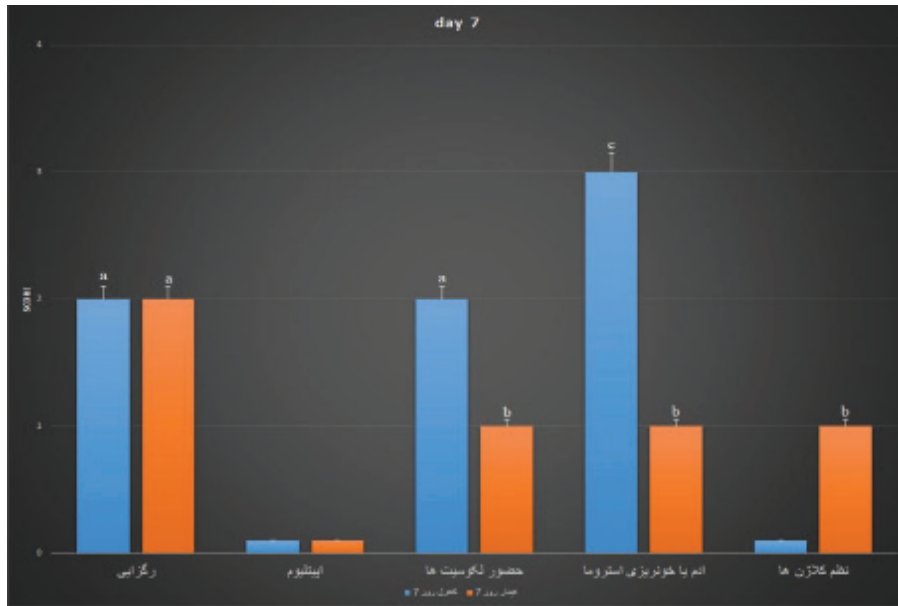
شکل ۸- تغییرات بافتی پوست عفونی در روز بیست و یکم پس از زخم در رت. اپیتلیوم در زخم گروه کنترل (a) هایپرپلاستیک و در زخم گروه تیمار (b) طبیعی بود. ادم و لکوسیت در بستر گروه کنترل دیده شد که میزان آن بیشتر از تیمار بود. خونریزی در هیچ گروهی دیده نشد. رگ‌زایی در هر دو گروه کم شده بود و شدت ساخت کلاژن و نظم آرایش آن در گروه تیمار کاملتر و منظم تر گزارش گردید. فلش = عروق تازه تشکیل، سرفلش = لکوسیت، ستاره = ادم بستر، فلش دوسر = اپیتلیوم. بزرگنمایی ۲۰۰ برابر- رنگ آمیزی تریکروم.



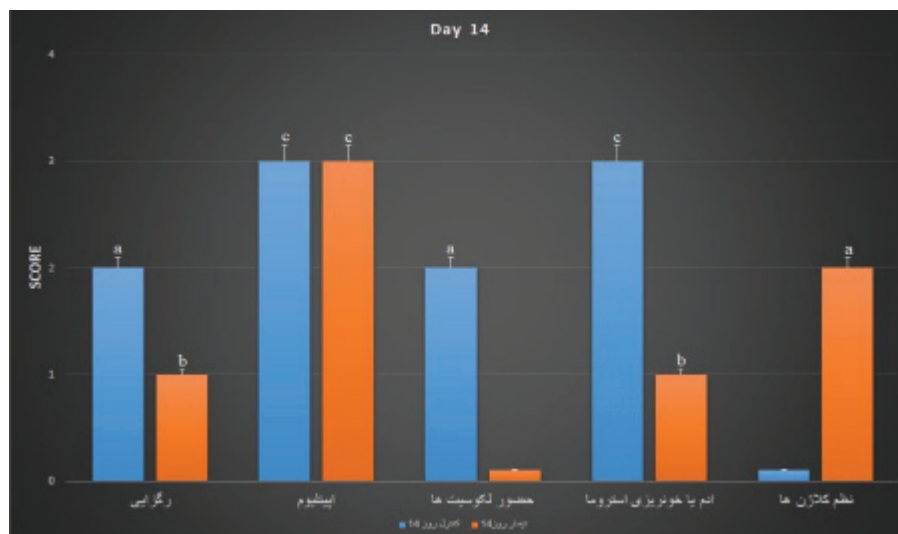
شکل ۹- حروف غیر هم نام نشانه اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایش است. ($P > 0.05$)

شده از زخم از خود نشان دادند. از جمله به رده‌های بسیار مقاوم به آنتی‌بیوتیک در حالت محلول. علاوه بر این، آنتی‌بیوتیک‌های بر پایه‌ی نانو هیچ اثر سیتوتوکسیکی نسبت به کراتینوسیت‌های انسان نشان ندادند. افزایش فعالیت آنتی‌میکروبیال نانوژل‌های حامل آنتی‌بیوتیک کاتیونی به چسبندگی الکتروستاتیک به دیواره‌ی سلولی میکروب نسبت

کند. این آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی تعدادی از پاتوژن‌های جدا شده از زخم امتحان شدند که طی تست‌های حساسیت آنتی‌میکروبیال نسبت به تتراسایکلین و لینکومایسین مقاومت نشان دادند. نتایج حاکی از آن بود که نانوژل‌های پوشیده شده با bPEI که تتراسایکلین یا لینکومایسین داخل خود داشتند، فعالیت آنتی‌میکروبیال بالاتری نسبت به باکتری‌های جدا



شکل ۱۰- حروف غیر هم نام نشانه اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایش است. ($P > 0.05$)



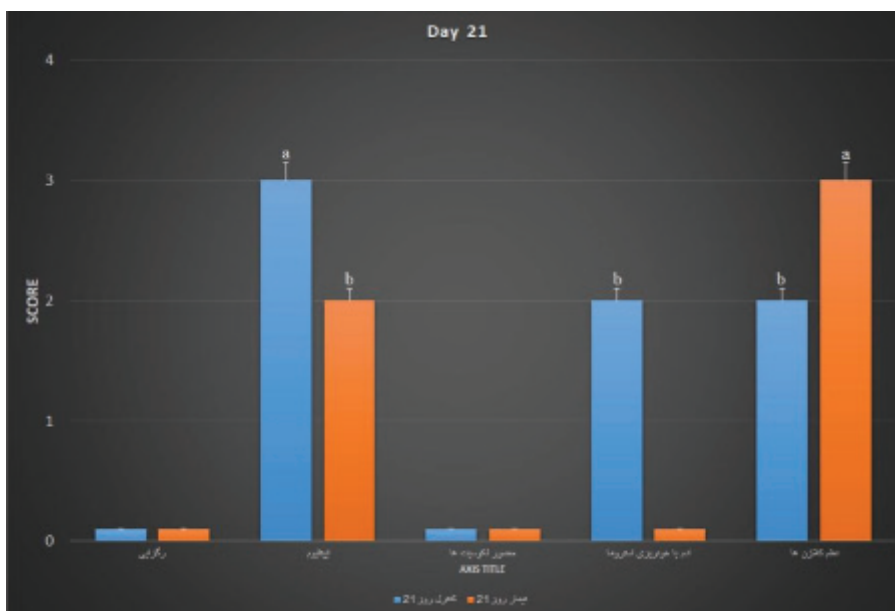
شکل ۱۱- حروف غیر هم نام نشانه اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایش است. ($P > 0.05$)

نشان‌دهنده‌ی ترکیب شیمیایی سطحی یکسان، نسبت تجزیه و ویژگی‌های مکانیکی مشابه با زخم‌پوش بدون منفذ بودند. زخم‌پوش‌های منفذدار تکثیر سلول‌های مزانشیمال مغز استخوان را در طی ۷ روز بیشتر تحریک کردند. در نتیجه، زخم‌پوش‌های الکترواسپین شده از پلی‌کاپرولاکتان و ژلاتین که دارای منافذ کروی هستند، ساختار سه بعدی پیشرفته‌تر و مشابه با بدن فراهم می‌کنند.

در سال ۲۰۱۹، لورنزو و همکارانش در مطالعه‌ای استفاده از نانوذل را برای احیاء و بازسازی در علم پزشکی مورد بررسی قرار دادند (۵). نانوذل‌ها به طور گسترده در انتقال دارو مورد بررسی قرار گرفته‌اند. اما استفاده از آن‌ها در علم مهندسی بافت به تازگی رایج شده است. علم بازسازی بافت‌ها، همچنین نیازمند انتقال کنترل شده‌ی فاکتورهای رشد و دیگر مواد فعال برای کمک به چسبندگی سلول و تمایز سلولی و تشکیل بافت است. نانوذل‌ها می‌توانند به زخم‌پوش‌های بافتی اضافه شوند تا ساختار، جنس و ویژگی‌های مکانیکی داخلی آنها را ارتقاء بدهند. این امر در عملکرد سلولی بسیار کمک کننده است. ترمیم زخم‌های مزمن و شکستگی‌های استخوانی اساسی می‌تواند به طور چشم‌گیری با استفاده از نانوذل‌ها یا زخم‌پوش‌های ترکیب شده با نانوذل‌ها سرعت پیدا کند. نقش‌های مفید نانوذل‌ها در بازسازی عروق، بافت‌های قلبی، یوروتلیوم و در بافت عضله‌ی یورتر ااثبات شده‌اند. به طور کلی تلاش‌های بسیاری برای طراحی نانوذل‌هایی که بتوانند پاسخگوی نیازهای بافت‌ها و شرایط مختلف باشند، انجام شده است. محققان در رشته‌های مختلفی از جمله نانومکانیک، مهندسی بافت

داده می‌شود. در این حالت نانوذل تراکم آنتی‌بیوتیک موضعی بالاتری را انتقال می‌دهند. و این امر توسط اسکن میکروسکوپ الکترونی تأیید شده است. این اقدام که بر پایه‌ی نانو تکنولوژی است می‌تواند بر گستره‌ی بسیار متنوعی از آنتی‌بیوتیک‌ها تأثیرگذار باشد و یک مکانیسم جدید برای غالب آمدن بر مقاومت آنتی‌بیوتیکی را ارائه بدهد.

در سال ۲۰۱۶ هانگ و همکارانش در مطالعه‌ای کاربرد زخم‌پوش‌های الکترواسپین شده از جنس کامپوزیت پلی‌کاپرولاکتان / ژلاتین همراه با منافذ را در مهندسی بافت مورد بررسی قرار دادند. الکترواسپینینگ به طور گسترده در ساخت زخم‌پوش‌ها به کار گرفته شده است اما لایه‌های نانوفیبر تولید شده بسیار متراکم بوده و منافذ بسیار کوچکی ساختگی دارند. فعالیت بیولوژیکی ندارند که این امر کاربرد آنها را در علم پزشکی محدود کرده است. در نتیجه زخم‌پوش‌های الکترواسپین شده از جنس کامپوزیت پلی‌کاپرولاکتان / ژلاتین پر از منفذ تشکیل شد (۶). این منافذ توسط یک پروسه‌ی تولید کف بر روی زخم‌پوش ایجاد شد. این ساختار فیبری جدید، منافذ بزرگ‌تر و با نفوذپذیری بیشتر نسبت به نانوفیبرهای دیگر دارد. نسبت پلی‌کاپرولاکتان به ژلاتین در سه حالت ایجاد شد: (۵۰/۵۰ و ۲۵/۷۵ و ۱۰/۹۰). این زخم‌پوش‌ها برحسب ساختار میکروسکوپی، ساختار شیمیایی سطح، تجزیه، ویژگی‌های مکانیکی و توانایی در تسهیل رشد و فیلتراسیون سلول طبقه‌بندی شدند. ترکیب پلی‌کاپرولاکتان و ژلاتین، زخم‌پوش را مجهز به ویژگی پایداری ساختار پلی‌کاپرولاکتان و فعال بودن بیوشیمیایی ژلاتین کرد. همه‌ی نسبت‌های تولید شده از زخم‌پوش به همراه منافذ دایره‌ای،



شکل ۱۲- حروف غیر هم نام نشانه اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایش است. ($P > 0.05$)

آزاد شد و به دنبال آن در طی ۲۴ ساعت آزادسازی آهسته دیده شد. این موضوع در انتقال دارو از راه دهانی بسیار کارآمد است. در این تحقیق مشاهده شد که ذرات تتراسایکلین در ابعاد Submicrometer که در فیبرهای پلی‌کاپرولاکتان قرار گرفته بودند، در کند شدن سرعت آزاد سازی تتراسایکلین تأثیرگذار بود (۸). ژانگ و همکارانش در سال ۲۰۲۱ تحقیقی تحت عنوان استفاده از زخم‌پوش‌های تهیه شده از نانوفیبر از جنس پلی‌کاپرولاکتان در مهندسی بافت و پزشکی انجام دادند. بیماری، تروما و صدمات هر روزه اتفاق می‌افتند و می‌توانند باعث آسیب‌های بافتی جدی بشوند (۱۵).

علم مهندسی بافت پتانسیل بالایی برای ایجاد زخم‌پوش‌های کارآمدی دارد که شبیه‌ساز ساختار طبیعی پوست هستند و کارکرد بیولوژیکی پوست را ارتقاء داده یا جایگزین آن می‌شوند. در بین تمامی تکنولوژی‌ها، تکنولوژی الکترواسپینینگ به خاطر کارکردش توجه زیادی را به خود جلب کرده است. علت این امر آن است که توانسته ساختاری بسیار شبیه به ماتریکس خارج سلولی ایجاد کند. در بین بیوپلیمرهای قابل استفاده برای الکترواسپینینگ، پلی‌کاپرولاکتان نتایج بسیار مطلوبی در بازسازی بافت‌ها نشان داده است. پلی‌کاپرولاکتان می‌تواند باتوجه به ویژگی‌های بافت مورد نظر تغییر شکل پیدا کند.

تلاش‌هایی برای تغییر نانوفیبرها توسط مواد بیواکتیو انجام شده تا زخم‌پوش بتواند سلول‌ها را تجهیز به مواد شیمیایی ضروری کرده و شباهت بیشتری به بافت زنده پیدا کند.

در سال ۲۰۱۲ یانگ و همکارانش مطالعه ای تحت عنوان نانوذلهای پاسخ‌دهنده به باکتری چندکاره برای انتقال یک آنتی‌بیوتیک خاص انجام دادند (۱۴). یک نانوذلهای پاسخ‌دهنده به باکتری چند کاره برای انتقال آنتی‌بیوتیک ساخته شد که در آن آنزیم‌های باکتریایی برای تحریک آزادسازی آنتی‌بیوتیک استفاده شدند. این مکانیسم از طریق تجزیه‌ی مرکز پلی‌فسفوستر اتفاق می‌افتد. نانوذلهای مانوزیلاته شده در انتقال دارو ماکروفاژها را در اولویت قرار می‌دهند. به خاطر انتقال ماکروفاژها به موضع عفونت باکتریایی، در محل دارو وجود خواهد داشت. این نانوذلهای ماکروفاژها را مورد هدف قرار می‌دهد و این امر علت آزادسازی دارو در محل ضایعه است.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که نانوذلهای حاوی تتراسایکلین اثرات مناسب و قابل قبولی بر روند التیام بخشی و ترمیم زخم عفونی پوستی در رت داشته باشد.

منابع مورد استفاده

1. Algharib, S. A., Dawood, A., & Xie, S. (2020). Nanoparticles for treatment of bovine Staphylococcus aureus mastitis. *Drug delivery*, 27(1), 292–308. <https://doi.org/10.1080/10717544.2020.1724209>
2. Diegelmann, R. F., and Evans, M. C. (2004). Wound Healing: An Overview Of Acute, Fibrotic And Delayed Healing, *Frontiers in Bioscience* 9, 283-289.
3. Ferrer, M. C. C., Dasgheyb, S., Hickok, N. J., Eckmann, D. M.,

و زخم‌پوش، آزادسازی کنترل شده و فرمولاسیون مواد اولیه‌ی فعال می‌توانند به هدف تولید نانوذلهای کارآمد در ترمیم بافت‌های مختلف، با یکدیگر همکاری کنند.

راما کریشنا و همکارانش در سال ۲۰۱۴ در مطالعه‌ای استفاده از نانوفیبرهای پلی‌کاپرولاکتان برای آزادسازی کنترل شده‌ی تتراسایکلین هیدروکلرید را مورد بررسی قرار دادند. آزادسازی کنترل شده‌ی دارو یکی از گسترده‌ترین موضوعات در علم پزشکی است. نانوفیبرها به عنوان یکی از بهترین ابزارهای انتقال دارو در زمینه‌ی مهندسی بافت بررسی شده‌اند. در این مطالعه نانوفیبرهای پلی‌کاپرولاکتان با غلظت‌های مختلفی از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین برای آزادسازی کنترل شده‌ی دارو مورد بررسی قرار گرفتند. کلروفورم و متانول به عنوان حلال ساخت نانوفیبرهای پلی‌کاپرولاکتان به کار برده شدند. تراکم آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین از ۲ تا ۵ درصد متغیر بود. بررسی‌ها نشان دهنده‌ی این بودند که پلی‌کاپرولاکتان با گذشت زمان به خاطر افزودن تتراسایکلین، از حالت هیدروفوبیک به حالت هیدروفیلک تغییر پیدا کرد که این امر آزادسازی اولیه‌ی دارو را به حداقل می‌رساند. اندازه‌گیری‌های UV حاکی از آن بود که در اولین ساعت قرار دادن زخم‌پوش، حداقل آزادسازی دارو مشاهده شد. و به دنبال آن طی ۸ روز بعدی، آزادسازی کنترل شده‌ی دارو مشاهده شد. ۱٪ افزایش دارو، می‌تواند قدرت کشسانی PCL را ۱۰٪ کاهش دهد. در مجموع استفاده از PCL به همراه تتراسایکلین به عنوان زخم‌پوش، پتانسیل بسیار بالایی در انتقال دارو در علم بیوپزشکی دارد (۷).

در سال ۲۰۱۷ مانوکیان و همکارانش در مطالعه‌ای با عنوان زخم‌پوش‌های ساخته‌شده از نانوفیبر و هیدروژن آن‌ها برای مهندسی و احیای بافت، کاربرد زخم‌پوش‌ها را در ترمیم زخم‌ها مورد بررسی قرار دادند. چرا که گرفت‌ها ریسک انتقال بسیاری دارند. زخم‌پوش‌هایی که در مهندسی بافت‌های نرم از جمله بافت متصل‌کننده هم چون پوست، لیگامنت، تاندون، بافت‌های غیر متصل‌کننده هم چون عروقی، عضلانی و عصبی توسط تکنولوژی الکترواسپین تولید و به کار گرفته شدند، شباهت‌های مورفولوژیکی زیادی به ماتریکس خارج سلولی دارند. خواص فیزیکی و شیمیایی نانوفیبرها می‌تواند با تغییراتی در الکترواسپینینگ کنترل شود تا متناسب با شرایط بشود. زخم‌پوش‌ها می‌توانند جایگزین مناسبی برای گرفت‌ها باشند ایمپلنت‌های ساخته شده توسط فناوری نانو از نظر فیلتراسیون سلولی و همبستگی بافت عملکرد بیولوژیکی بهتری نسبت به مواد دیگر نشان داده‌اند. توپوگرافی این زخم‌پوش‌ها، چسبندگی سلولی، مهاجرت، نکثیر و تکامل سلولی را تسهیل می‌کند. همه‌ی این موارد در مهندسی بافت، کارکرد و زیست سازگاری ضروری هستند (۹). در سال ۲۰۱۳ خدیر و همکارانش تحقیقی تحت عنوان به دام انداختن نانوپارتیکل‌های حاوی تتراسایکلین به درون شبکه‌های فیبری از جنس پلی‌کاپرولاکتان برای احیای بافت پریدنتال انجام دادند. انتقال کنترل شده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها، فاکتورهای ضدالتهابی و شیمی درمانی به ناحیه‌ی پریدنتال یک راهکار شناخته شده برای بالا بردن سرعت ترمیم بافت‌های نرم است. نانوپارتیکل‌های کیتوزان حاوی میزان‌های مختلف تتراسایکلین هیدروکلرید تا ۵٪ توسط حلال آماده شده و با روش الکترواسپری تهیه شدند. ۷۰٪ از تتراسایکلین در ابتدا به صورت انفجاری

- & Composto, R. J. (2014). Designing nanogel carriers for antibacterial applications. *Acta biomaterialia*, 10(5), 2105-2111.
4. Gilani, A.H., Bashir, S., Janbaz, K.H., Khan, A. (2005). Pharmacological basis for the use of fumaria indica in constipation and diarrhea. *J Ethnopharmacol*; 96(3):585-9.
5. Grimaudo, M. A., Concheiro, A., & Alvarez-Lorenzo, C. (2019). Nanogels for regenerative medicine. *Journal of Controlled Release*, 313, 148-160.
6. Hwang, P. T., Murdock, K., Alexander, G. C., Salaam, A. D., Ng, J. I., Lim, D. J., ... & Jun, H. W. (2016). Poly (ϵ -caprolactone)/gelatin composite electrospun scaffolds with porous crater-like structures for tissue engineering. *Journal of biomedical materials research Part A*, 104(4), 1017-1029.
7. Karuppuswamy, P., Venugopal, J. R., Navaneethan, B., Laiva, A. L., & Ramakrishna, S. (2015). Polycaprolactone nanofibers for the controlled release of tetracycline hydrochloride. *Materials Letters*, 141, 180-186.
8. Khodir, W. W. A., Guarino, V., Alvarez-Perez, M. A., Cafiero, C., & Ambrosio, L. (2013). Trapping tetracycline-loaded nanoparticles into polycaprolactone fiber networks for periodontal regeneration therapy. *Journal of bioactive and compatible polymers*, 28(3), 258-273.
9. Manoukian, O. S., Matta, R., Letendre, J., Collins, P., Mazzocca, A. D., & Kumbar, S. G. (2017). Electrospun nanofiber scaffolds and their hydrogel composites for the engineering and regeneration of soft tissues. In *Biomedical Nanotechnology* (pp. 261-278). Humana Press, New York, NY.
10. Nissen, NN., Polverini, PJ., Koch, AE., Volin, MV., Gamelli, R.L., DiPietro, L.A. (1998). Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol*. 152:1445-52.
11. Ogston, A. (1984). On Abscesses. *Classics in Infectious Diseases. Rev Infect Dis*, 6 (1): 122–28. PMID 6369479.
12. Weldrick, P. J., Iveson, S., Hardman, M. J., & Paunov, V. N. (2019). Breathing new life into old antibiotics: Overcoming antibacterial resistance by antibiotic-loaded nanogel carriers with cationic surface functionality. *Nanoscale*, 11(21), 10472-10485.
13. Xiong, M. H., Li, Y. J., Bao, Y., Yang, X. Z., Hu, B., & Wang, J. (2012). Bacteria-responsive multifunctional nanogel for targeted antibiotic delivery. *Advanced Materials*, 24(46), 6175-6180.
14. Young, SF., Dyson, M. (1990). Effect of therepeutic ultrasound on healing of full thickness excised skin lesions. *Ultrasonnic*. 28; 175-180.
15. Zhang, W., Weng, T., Li, Q., Jin, R., You, C., Wu, P., Shao, J., Xia, S., Yang, M., Han, C., & Wang, X. (2021). Applications of Poly (caprolactone)-based Nanofibre Electrospun Scaffolds in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Current stem cell research & therapy*, 16(4), 414–442. <https://doi.org/10.2174/1574888X15666201014145703>.

