



## بررسی رفتار سلول‌های MG63 بر داربست نانوکامپوزیتی الکترورسی شده پلی‌کاپرولاکتون/کربن کوانتوم دات حاوی کاپتوپریل به منظور مهندسی بافت استخوان

مینا قرغی<sup>۱</sup>، آنه محمد غراوی<sup>۲\*</sup>، محمد رفیعی نیا<sup>۳</sup>

۱- کمیته تحقیقات دانشجویی- دانشکده فناوری‌های نوین- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان- ایران.

۲- مرکز تحقیقات مهندسی بافت و سلول‌های بنیادی- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.

۳- مرکز تحقیقات بیوسنسور- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان- اصفهان- ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۵، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۰

### چکیده

**مقدمه:** روش الکترورسی با قابلیت ساخت قطعات متخلخل مشابه ماتریکس استخوانی، روش مناسبی برای ساخت داربست‌های استخوانی است. از طرفی استفاده از داروها در القای استخوان‌زایی به همراه داربست‌های مهندسی بافت، به عنوان رویکردی نوین در ترمیم استخوان آسیب‌دیده بسیار مورد توجه است. هدف این مطالعه، بررسی رفتار سلول‌های MG63 بر داربست نانوکامپوزیتی الکترورسی شده پلی‌کاپرولاکتون/کربن کوانتوم دات حاوی کاپتوپریل به منظور مهندسی بافت استخوان بود.

**مواد و روش‌ها:** مورفولوژی الیاف توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و توزیع کربن کوانتوم دات در الیاف با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور بررسی آبدوستی/آبگریزی داربست از آزمون زاویه تماس با آب و برای بررسی میزان استحکام مکانیکی داربست‌ها از آزمون کشش استفاده شد. به منظور بررسی رفتار سلولی داربست از سلول MG-63 استفاده شد و آزمون‌های MTT، آکالین فسفاتاز، آلیزارین قرمز، رنگ‌آمیزی دیپی و بررسی SEM سلولی بر سطح داربست انجام گرفت.

**نتایج:** نتایج کشت سلول حاکی از افزایش رشد سلول‌های MG-63 بر داربست نانوکامپوزیتی حاوی ۰/۵٪ درصد وزنی کربن کوانتوم دات و ۱۰٪ کاپتوپریل در مقایسه با سایر داربست‌ها بود. به علاوه افزایش معنادار میزان ترشح آکالین فسفاتاز بر داربست نانوکامپوزیتی حاوی ۰/۵٪ درصد وزنی کربن کوانتوم دات و ۱۰٪ کاپتوپریل کاملاً مشهود بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج تجزیه و تحلیل‌ها نشان داد که از داربست نانو کامپوزیت PCL / CQDs / CP می‌توان در مهندسی بافت استخوان استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** پلی‌کاپرولاکتون، کربن کوانتوم دات، کاپتوپریل، نانوکامپوزیت، مهندسی بافت استخوان.

\*نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات مهندسی بافت و سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران، تلفن: ۰۲۳۳۲۳۹۵۰۵۴، شماره: ۰۲۳۳۲۳۹۵۰۰۹، Email: annehgh@yahoo.com

**ارجاع:** قرغی مینا، غراوی آنه‌محمد، رفیعی نیا محمد. بررسی رفتار سلول‌های MG63 بر داربست نانوکامپوزیتی الکترورسی شده پلی‌کاپرولاکتون/کربن کوانتوم دات حاوی کاپتوپریل به منظور مهندسی بافت استخوان. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۸؛ ۱۵(۱): ۱۰-۱۸.

## مقدمه

استخوان، بافت همبند ویژه‌ای است که از سلول‌ها و ماده‌ی بین سلولی مینرالیزه شده بنام ماتریکس استخوانی تشکیل شده است. حضور مواد معدنی در ماتریکس باعث شده که استخوان، بافتی سخت و محکم بوده و با حداقل وزن حداکثر استحکام را داشته باشد. مجموعه این خصوصیات، استخوان را بافتی ایده‌آل به‌عنوان اسکلت بدن و محافظ ارگان‌های حیاتی نظیر مغز و نخاع ساخته است (۱). مهندسی بافت، دانش طراحی و ساخت بافت جدید برای بازیابی عملکرد ارگان‌های معیوب یا بافت‌های از دست‌رفته می‌باشد. مهندسی بافت با ساخت داربست بدنال محیطی مناسب برای چسبندگی و نگهداری سلول‌ها و عملکرد سلول‌ها با ماتریکس خارج سلولی و همچنین گسترش بیولوژیک سلولی و مولکولی برای شکل‌گیری بافت است (۲ و ۳). پلی‌کاپرولاکتون (PCL) پلیمری با فرمول شیمیایی  $(C_6H_{10}O_2)_n$  است که از طریق پلیمریزاسیون حلقه باز  $\epsilon$ -کاپرولاکتون حاصل می‌شود. از خصوصیات پلی‌کاپرولاکتون می‌توان به نقطه ذوب ( $64^\circ C-59$ ) و دمای شیشه‌ای پایین ( $60^\circ C-$ ) اشاره کرد (۴). پلی‌کاپرولاکتون یک پلیمر سنتزی، غیرسمی، زیست سازگار با تخریب آهسته و خواص مکانیکی خوب و بلورینگی و آبریزی بالا می‌باشد (۵). افزودن گروه‌های عاملی به پلی‌کاپرولاکتون به‌منظور آبدوستی، چسبندگی یا زیست سازگاری بیشتر برای فعال کردن پاسخ سلولی مناسب می‌باشد (۶).

کوانتوم دات‌ها (QDs) نانو کریستال‌های نیمه‌هادی با ابعاد کوچک‌تر از اندازه شعاع بوهر هستند که دارای طیف جذبی بسیار گسترده می‌باشند و میزان جذب به ترکیب و اندازه‌ی ذرات بستگی دارد (۷). دسته جدیدی از کوانتوم دات‌ها، کربن کوانتوم دات‌ها می‌باشند که اندازه‌ای کمتر از ۱۰ نانومتر دارند. کربن کوانتوم دات‌ها به‌دلیل زیست سازگاری بالاتر، ارزانی و راحتی در سنتز، امروزه بیشتر از کوانتوم دات‌های فلزی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۸). کربن کوانتوم دات‌ها جایگزین بسیار امیدوارکننده‌ای به‌جای کوانتوم دات‌های مبتنی بر نیمه‌هادی می‌باشند (۹ و ۱۰).

کاپتوپریل، دارویی با فرمول مولکولی  $C_9H_{15}NO_3S$  است که به‌عنوان یک مهارکننده آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین (ACE) به‌طور گسترده برای درمان فشارخون بالا و برخی از انواع نارسایی قلب مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱). سیستم رنین-آنژیوتانسین (RAS) که فشارخون را از طریق تعادل مایعات و الکترولیت کنترل می‌کند، در سیستم اسکلتی، به‌ویژه ترمیم استخوان‌های موضعی نقش اساسی دارد (۱۲ و ۱۳). از آنجاکه در تشکیل استخوان، گردش خون محلی نقش تأمین مواد معدنی استخوان را ایفا می‌کند، لذا خون در تشکیل استخوان و متابولیسم استخوان نقش اساسی دارد. به همین دلیل داروهایی مانند کاپتوپریل به همراه کنترل فشار روی بافت استخوان نیز تأثیر می‌گذارند (۱۴).

الکتروریسی یک روش ساخت داربست است که به‌صورت الکتریکی، شکل‌دهی و رسوب الیاف پلیمری را کنترل می‌کند. با این روش می‌توان داربستی از الیاف پلیمری تولید کرد که محدوده قطر آنها از چند میکرون تا چند صد نانومتر باشد (۲). الکتروریسی به‌عنوان یک روش مقرون‌به‌صرفه، توجهات زیادی را جهت ساخت داربست‌های مهندسی به خود جلب کرده است.

## مواد و روش‌ها

پلی‌کاپرولاکتون با وزن مولکولی  $80000$  (g/mol)، پیش ماده‌های کربن کوانتوم دات و اسید سیتریک از سیگما آلد ریچ آمریکا، اتیلن دی آمین و هگزافلورایزوپروپانول از مرک آلمان و کاپتوپریل از داروپخش ایران تهیه شد. محلول‌های ساخته‌شده با شرایط بهینه شامل شاخص‌های ولتاژ، فاصله، نرخ تزریق، سرعت چرخش کلکتور به ترتیب  $20$  Kv،  $15$  cm،  $1$  ml/h و  $20$  rpm بر روی فویل الکتروریسی شدند.

جدول ۱- نمونه‌های الکتروریسی شده مورد بررسی در این پژوهش

کد نمونه	نمونه	پلی‌کاپرولاکتون / هگزافلورایزوپروپانول (w/v)	کربن کوانتوم دات (w/w)	کاپتوپریل (w/w)
S1	پلی‌کاپرولاکتون / پلی‌کاپرولاکتون	۱۰٪	-	-
S2	کربن کوانتوم دات / پلی‌کاپرولاکتون / کاپتوپریل	۱۰٪ / ۰/۱۵٪	۰/۱۵٪	-
S3	پلی‌کاپرولاکتون / کربن کوانتوم دات / کاپتوپریل	۱۰٪ / ۰/۱۵٪ / ۱۰٪	۰/۱۵٪	۱۰٪

به‌منظور بررسی ویژگی‌های سطحی نانو کامپوزیت‌های ساخته‌شده، از میکروسکوپ الکترونی روبشی TESCAN vega3 استفاده شد. جهت بررسی و تأیید حضور و عدم آگلومره شده نانو ذرات کربن کوانتوم دات در الیاف، تصاویر میکروسکوپ عبوری (TEM) بررسی شدند. آبدوستی نمونه از روش تعیین زاویه تماس قطره آب با سطح نمونه الیاف موردسنجش قرار گرفت. آزمون سنجش خواص مکانیکی براساس استاندارد ASTM D882-10 انجام گرفت. ویژگی مکانیکی الیاف از قبیل استحکام، کرنش و مدول با اندازه‌گیری استحکام دسته الیاف توسط دستگاه استحکام Instron بررسی شد.

به‌منظور بررسی و ارزیابی‌های سلولی داربست‌ها از رده سلول شبه استخوانی (MG-63) استفاده گردید. به‌منظور کشت سلولی از محیط DMEM غنی‌شده با FBS ۱۰٪، پنی‌سیلین-استرپتوماسین استفاده شد و در انکوباتور با شرایط ۵٪ گاز دی‌اکسیدکربن در دمای ۳۷ درجه نگهداری می‌شد. محیط کشت برای تغذیه سلول‌ها هر دو روز یک‌بار تعویض گردید

رنگ‌آمیزی و سپس سه بار با آب مقطر شسته شد. برای تعیین میزان کانی‌سازی، سلول‌ها روی داربست‌ها با استون شسته شد و رسوبات قرمز با استفاده از ستیل پیریدینیوم کلرید ۱۰٪ استخراج شد. غلظت ترکیبات با خوانش جذب محلول در طول موج ۵۷۰ نانومتر تعیین شد.

### نتایج

الیاف الکتروریسی شده در شکل ۱ به‌طور یکنواخت و بدون بید هستند. بر اساس ارزیابی‌ها میانگین قطر الیاف S1،  $281/5 \pm 1180$  نانومتر بود. میانگین قطر الیاف در نمونه S2،  $279 \pm 681$  نانومتر بود. کاهش قطر الیاف بر اثر افزودن کربن کوانتوم دات ناشی از خاصیت هدایت الکتریکی کربن کوانتوم دات بود که در پژوهش‌های دیگر به آن نیز اشاره شده است (۱۵ و ۱۶). میانگین قطر الیاف در داربست S3،  $445 \pm 202$  نانومتر بود.

در شکل ۲ که از تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری تهیه شده است هیچ‌گونه آگلومره (اگرچه شدن) ناشی از کربن کوانتوم دات‌ها درون الیاف S2 دیده نشد. نقاط مشکی همان کربن کوانتوم دات‌ها می‌باشند.

بر اساس نتایج ارزیابی استحکام کششی، داربست S1 مدول یانگ و استحکام کشش نهایی به‌ترتیب ۰/۱۵ و ۶/۶۸ مگاپاسگال استحکام از خود نشان دادند. افزوده شدن کربن کوانتوم دات سبب افزایش مدول یانگ و استحکام کشش نهایی گردید. حضور کاپتوپرل در داربست‌ها سبب افزایش خواص مکانیکی داربست‌ها گردید.

نتایج آزمون MTT به‌منظور بررسی سمیت و تکثیر سلول‌های MG-63 بر روی داربست‌های الکتروریسی شده در روزهای ۱، ۳ و ۷ پس از کشت سلول در شکل ۳ نشان داده شده است. در آزمون‌های کشت سلولی، کشت تک لایه سلول در ظرف کشت پلی استایرن به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. نمودار آنالیز کمی تکثیر سلول‌ها بر روی داربست‌ها نشان داد، که تکثیر سلول‌ها در روز اول پس از کشت، در مقایسه با نمونه کنترل، تفاوت چشمگیری نداشته است ( $P < 0.05$ ).

رفتار چسبندگی و زنده‌مانی سلول‌های MG-63 بر داربست، ۱ و ۷ روز پس از کشت با میکروسکوپ فلوروسنت مورد بررسی قرار گرفت. این تصاویر در شکل ۴ نشان داده شده است. در نمونه S2 حضور کربن کوانتوم دات باعث افزایش زنده‌مانی سلول گردید. نمونه S3 افزایش زنده‌مانی و تکثیر ناشی از اثر مطلوب دارو بر روی سلول‌های MG-63 را نشان داد.

برای بررسی رفتار چسبندگی سلولی بر روی داربست‌ها تصاویر SEM، ۱ و ۷ روز پس از کشت سلولی تهیه شد. این تصاویر در شکل ۵ ارائه شده است. تصاویر SEM نشان داد که سلول‌های MG-63 به خوبی بر روی داربست‌های مختلف چسبیده و گسترش یافته‌اند. در تصاویر SEM در روز اول، تشکیل کلونی‌های سلولی بر روی داربست‌های S1 و S2 و چسبندگی و تشکیل پاهای کاذب سلولی بر روی داربست S3 به وضوح مشاهده می‌شود. در روز هفتم چسبندگی و گسترش سلول‌ها در تمام داربست قابل

تا تراکم سلولی به ۸۰٪ برسد. در نهایت به میزان ۵ و ۱۰ سلول بر روی داربست‌ها در پلیت ۲۴ خانه ریخته شد. داربست‌های حاوی سلول در انکوباتور نگهداری شدند و محیط سلول نیز هر دو روز یک‌بار تعویض گردید. به‌منظور ارزیابی زنده‌مانی سلول‌های MG-63 بر روی داربست‌ها، آزمون MTT انجام شد. بررسی سمیت سلولی در روزهای ۱، ۳ و ۷ روز پس از کشت سلول روی داربست انجام گردید. ۲۰ میکرولیتر محلول MTT به هر چاهک افزوده شد و به مدت ۴ ساعت پلیت درون انکوباتور قرار گرفت. سپس بلورها در حلال دی متیل سولفو اکساید حل شده و در نهایت میزان جذب نور محلول با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

بررسی چسبندگی و مورفولوژی سلول‌ها بر روی داربست‌ها با تصویربرداری توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی در ۱ و ۷ روز پس از کشت سلول روی داربست انجام گردید. به این منظور محلول گلو تار آلدهید ۴٪ به مدت ۳۰ دقیقه روی نمونه‌ها ریخته شد. سپس نمونه‌ها با الکل‌های ۵۰٪، ۷۰٪، ۹۰٪ و ۱۰۰٪ (هرکدام به مدت ۱۰ دقیقه) شسته شدند. در نهایت چسبندگی سلول به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای بررسی سلول‌های زنده روی داربست‌ها، هسته سلول‌ها با DAPI رنگ‌آمیزی شدند. پس از ۱ و ۷ روز، سلول‌ها روی داربست‌ها با پارافرمالدهید ۴٪ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق فیکس شدند. سپس محلول DAPI (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به داربست‌ها اضافه شد و داربست‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کرد. در نهایت، تصاویر هسته سلول‌ها با میکروسکوپ فلوروسنت گرفته شد.

آنزیم آلکالین فسفاتاز، از جمله آنزیم‌های هیدرولیزکننده است که در استخوان در فرآیند کلسیفیکاسیون ماتریکس استخوانی نقش دارد و به‌عنوان نشانگری از فعالیت سلول‌های استئوبلاست در فرآیند استخوان‌سازی در نظر گرفته می‌شود. تست آلکالین فسفاتاز در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از کشت سلول روی داربست انجام گرفت. افزودن آلکالین فسفاتاز به سلول باعث جدایش فسفات از p-nitrophenyl phosphate و تولید p-nitrophenyl شد که سبب ایجاد رنگ زرد گردید. در نهایت میزان جذب نور محلول نهایی با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

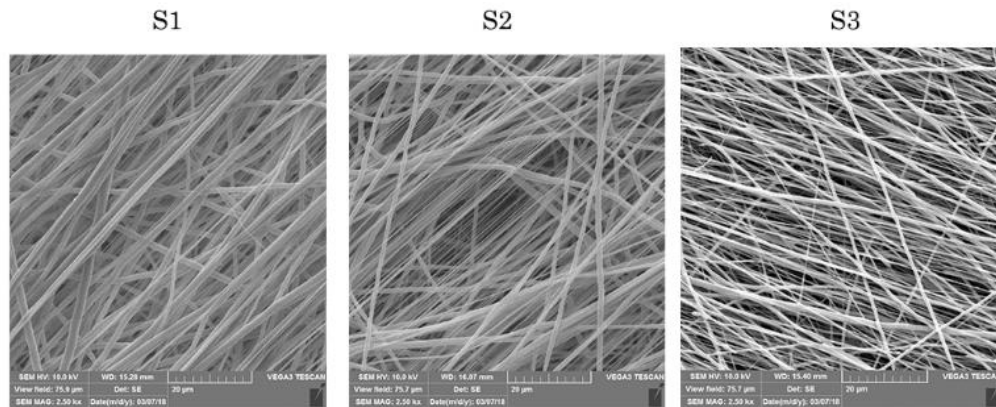
رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز برای بررسی میزان رسوب کلسیم سلول‌ها بر روی داربست در روزهای ۷ و ۱۴ پس از کشت سلول روی داربست انجام گردید. به این منظور سلول روی داربست‌ها با پارافرمالدهید ۴٪ به مدت یک شب ثابت شدند. برای رنگ‌آمیزی رسوبات کلسیم، سلول و داربست با محلول ۲٪ آلیزارین قرمز با pH=۴,۲ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق

شدن ماتریس، تأثیر مستقیم بر افزایش فعالیت آکالین فسفاتازی دارد. افزایش فعالیت آکالین فسفاتازی در روزهای ۱۴ و ۲۱ ام، می‌تواند به دلیل وارد شدن به مرحله توسعه و بلوغ ECM باشد که با افزایش فعالیت ALP همراه است.

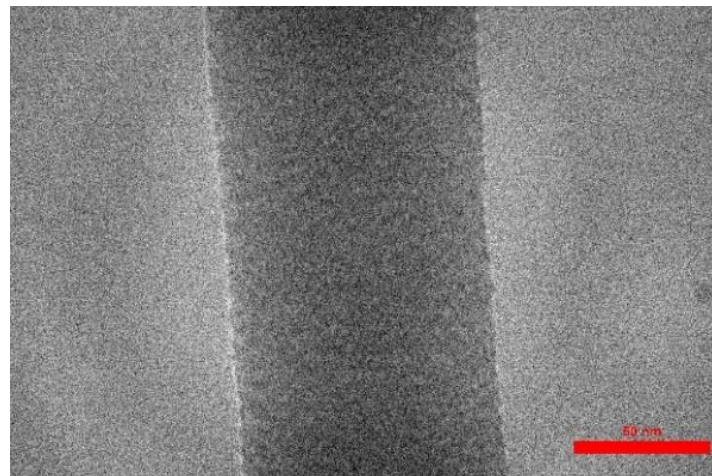
میزان رسوب مواد معدنی داربست‌ها که به‌عنوان یک عامل مهم در تمایز سلول‌های استئوبلاست، در نظر گرفته می‌شود، توسط رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز، پس از ۷ و ۱۴ روز پس از کشت ارزیابی شد. در شکل ۷ نتایج ارزیابی کمی میزان رسوب کلسیم آورده شده است. نتایج ارزیابی کمی رنگ‌آمیزی داربست‌ها، مقدار قابل توجهی رسوب کلسیم را در S3 نسبت به سایر داربست‌ها نشان داد. این نتایج را می‌توان به حضور همزمان کربن کوانتوم دات و کاپتوپریل در داربست و رهایش دارو در طی ۱۵۰ ساعت اول نسبت داد، اما اثرات مثبت آن بر سلول‌های MG-63 و رسوب کلسیم تا روز ۱۴ ادامه دارد.

مشاهده است؛ با این حال داربست S3 سلول‌های بیشتری را بر روی خود نشان داد. نتایج نشان‌دهنده زیست‌سازگاری خوب، چسبندگی و گسترش مناسب سلول MG-63 بر روی داربست S3 هم در روز یکم و هم در روز هفتم پس از کشت سلول بود.

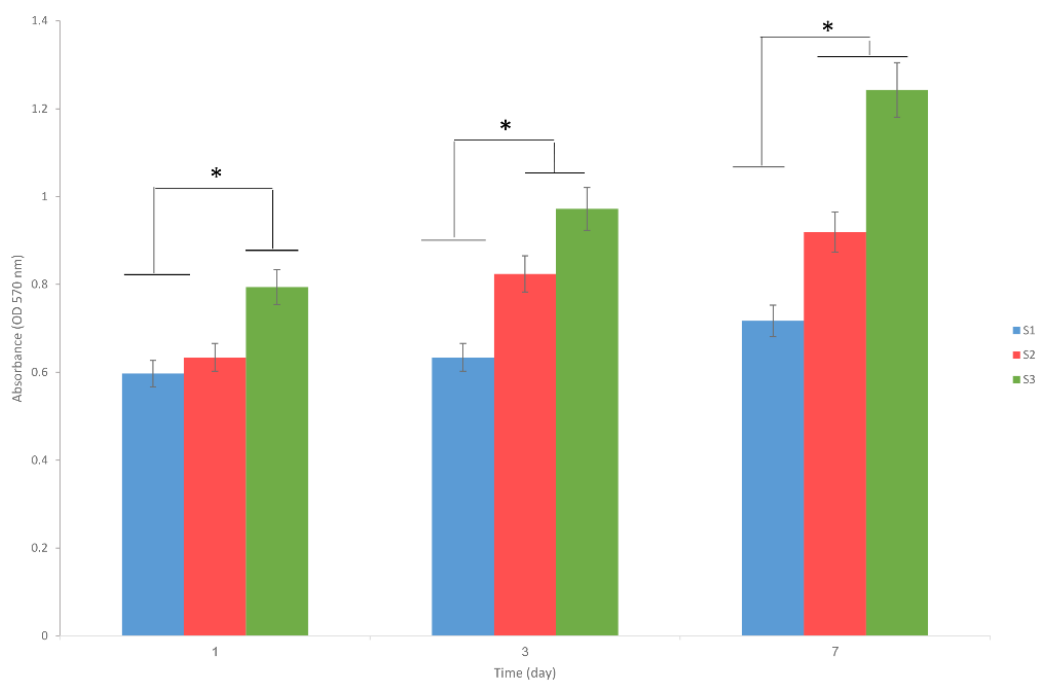
فعالیت ALP، یکی از رایج‌ترین مارکرهای استئوژنز است که برای سنجش تمایز سلول‌های استخوان‌ساز به کار می‌رود. فعالیت آکالین فسفاتازی سلول‌های MG-63 کشت داده شده بر روی داربست‌ها در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از کشت، در شکل ۶ نشان داده شده است. مطابق با نتایج در روز ۱۷ ام، فعالیت آکالین فسفاتازی بین داربست‌ها از تفاوت معناداری برخوردار نبود ( $P < 0.05$ ). در روز ۱۴ ام، فعالیت ALP قابل توجهی در داربست، S3 نسبت به داربست‌های دیگر مشاهده شد ( $P > 0.05$ ). افزایش فعالیت ALP مشاهده شده بر روی داربست S3 در مقایسه با سایر داربست‌ها به دلیل اثر هم‌افزایی کربن کوانتوم دات و کاپتوپریل است که سبب تولید رسوب کلسیم بیشتر می‌شود و لذا به دلیل افزایش میزان معدنی



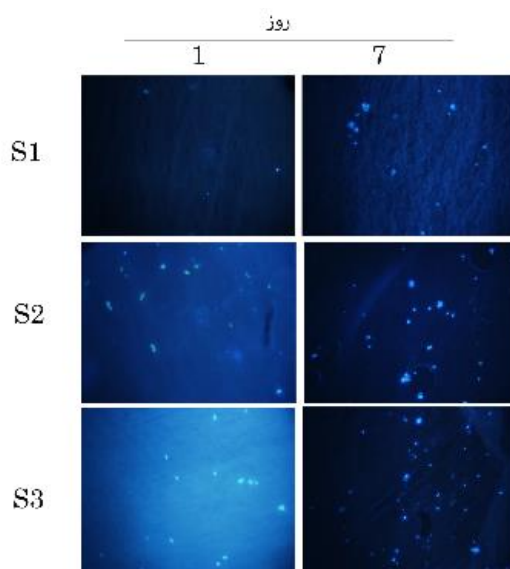
شکل ۱- تصاویر SEM از مورفولوژی الیاف



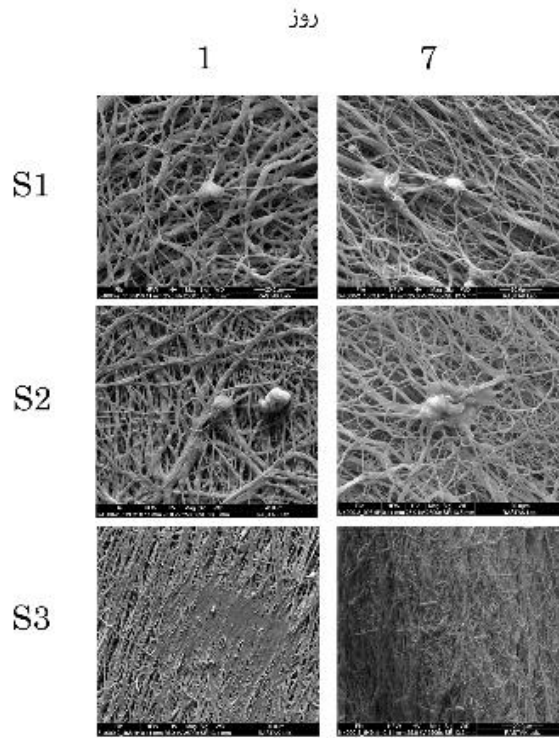
شکل ۲- تصویر TEM از توزیع کربن کوانتوم دات در الیاف



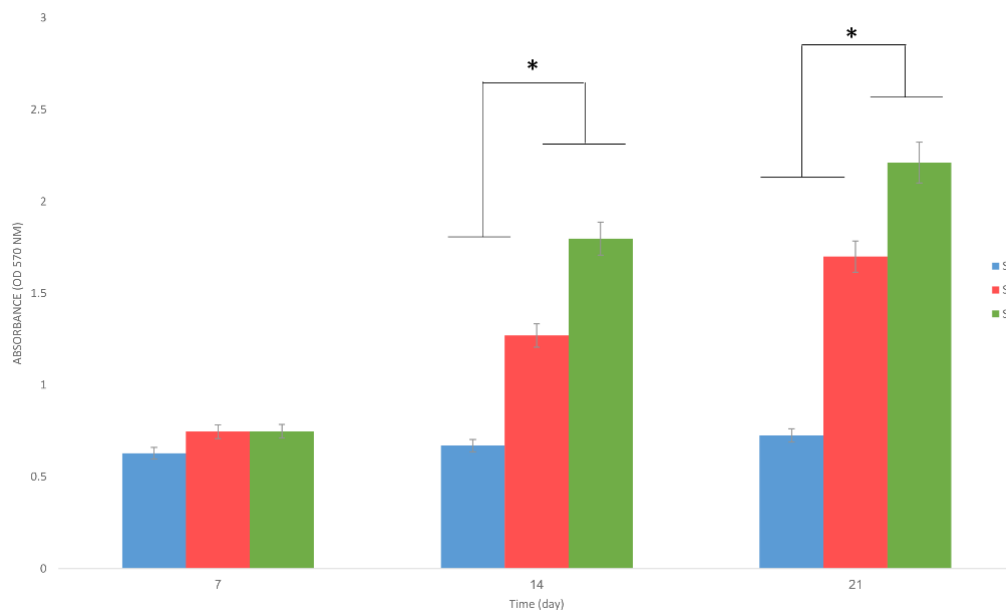
شکل ۳- ارزیابی MTT به منظور بررسی تکثیر سلول‌های MG-63 کشت داده شده بر روی داربست‌ها ۱، ۳ و ۷ روز پس از کشت سلول



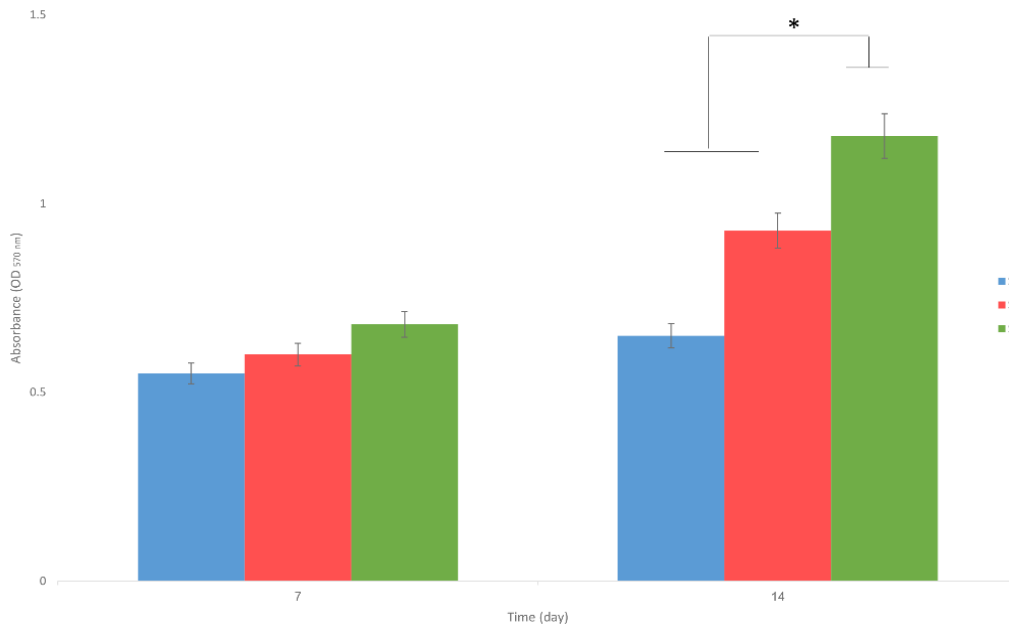
شکل ۴- تصاویر فلوروسنتی از رنگ‌آمیزی توسط DAPI سلول‌های MG-63 کشت داده شده بر روی داربست‌ها پس از ۱ و ۷ روز پس از کشت



شکل ۵- مورفولوژی سلول‌های MG-63 کشت داده شده بر روی داربست‌ها بعد از ۱ و ۷ روز پس از کشت



شکل ۶- ارزیابی ALP پس از ۷ و ۱۴ و ۲۱ روز پس از کشت سلول‌های MG-63 بر روی داربست‌ها



شکل ۷- ارزیابی میزان رسوب کلیسم بر داربست‌ها ۷ و ۱۴ روز پس از کشت سلول‌های MG-63

### بحث

همزمان کربن کوانتوم دات و کاپتوپریل، و (۳) اثر رهائش کاپتوپریل باشد (۲۲). حضور همزمان نانوذرات کربن کوانتوم دات و کاپتوپریل در داربست S3 باعث افزایش تکثیر و چسبندگی سلول‌ها بر روی داربست نسبت به داربست‌های S1، S2 شده است. نتایج افزایش تکثیر و چسبندگی سلولی به دلیل عوامل مؤثر کاهش قطر و آبدوستی الیاف می‌باشد (۲۳ و ۲۴). همچنین بهبود رفتار (رشد و تکثیر) سلولی در داربست S3، سبب افزایش سطح فعالیت ALP شد (۲۵). در پرتو این نتایج، مشاهده می‌شود که سلول‌های MG-63 بر روی داربست نانو کامپوزیتی S3 به خوبی تکثیر یافتند و اکثراً مثبتی به فعالیت آلکالین فسفاتاز برای ایجاد ماتریس معدنی جهت کاربرد در مهندسی بافت استخوان، در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند.

در این مطالعه، داربست‌های نانو کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون/کربن کوانتوم دات / کاپتوپریل با روش الکتروریسی ساخته شدند که الیافی صاف و بدون دانه بودند و هدایت الکتریکی کربن کوانتوم دات‌ها منجر به کاهش قطر الیاف گردید. از طرف دیگر، وجود کاپتوپریل در الیاف باعث افزایش آبدوستی داربست شد. دو پارامتر کاهش قطر الیاف و آبدوستی داربست باعث بهبود رفتار سلولی نظیر قابلیت زنده‌مانی، چسبندگی، تکثیر و فعالیت ALP سلول‌ها گشت. بر اساس مشاهدات ما، داربست حاوی کربن کوانتوم دات ۵/۰٪ (وزنی) و کاپتوپریل ۱۰٪ (وزنی)، گزینه خوبی برای بهبود خواص پلی کاپرولاکتون برای ساخت داربست‌های زیست سازگار هستند تا بتوانند کاندیدی برای مهندسی بافت استخوان باشند.

کاهش قطر الیاف بر اثر افزودن کربن کوانتوم دات ناشی از خاصیت هدایت الکتریکی کربن کوانتوم دات بود که در پژوهش‌های دیگر به آن نیز اشاره شده است (۱۵ و ۱۶). سری دوم کاهش قطر الیاف، ناشی از افزودن کاپتوپریل به الیاف نانو کامپوزیتی بود که ژانگ و همکاران در مطالعه خود به آن اشاره کرده بودند (۱۷). قطر الیاف و تخلخل داربست از جمله شاخص‌های مهم در مهندسی بافت است که به دلیل نفوذ سلول، تغذیه، حذف مواد زائد و رگ‌زایی اهمیت دارند (۱۸). حضور کاپتوپریل در داربست سبب کاهش زاویه تماس گردید که ناشی از حضور گروه آمید کاپتوپریل در داربست‌هاست. زیرا کاپتوپریل می‌تواند با مولکول‌های آب پیوند هیدروژنی برقرار کرده و سبب افزایش آبدوستی الیاف شود (۱۹).

حضور کاپتوپریل در داربست‌ها سبب افزایش خواص مکانیکی داربست‌ها گردید. این نتایج ممکن است ناشی از کاهش قطر الیاف و تأثیر آن بر مدول یانگ و استحکام کششی داربست باشد (۲۰). با توجه به ارزیابی مکانیکی داربست‌ها و اثر کربن کوانتوم دات بر استحکام داربست باید به این نکته توجه داشت که تأثیر کربن کوانتوم دات در داربست استخوانی وابسته به غلظت سلول روی داربست می‌باشد (۲۱). در روز ۳ و ۷ ام پس از کشت سلول، تکثیر سلول‌ها بر روی داربست S2 بیشتر از داربست S1 بود و در نمونه S3 تکثیر سلولی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها دیده شد. این موضوع نشان می‌دهد که نانوذرات کربن کوانتوم دات باعث تحریک نرخ تکثیر سلول شده‌اند. افزایش تکثیر و چسبندگی سلول‌های MG-63 می‌تواند ناشی از (۱) اثر القای الکتریکی نانوذرات کربن کوانتوم دات، (۲) حضور

14. Liu YY, Yao WM, Wu T, Xu BL, Chen F, Cui L. Captopril improves osteopenia in ovariectomized rats and promotes bone formation in osteoblasts. *J Bone Miner Metab* 2011;29:149-58. doi: 10.1007/s00774-010-0209-9
15. Lee C, Pant B, Alam A, An T, Chung H, Hong S, et al. Biocompatible and photoluminescent keratin/poly (vinyl alcohol)/ carbon quantum dot nanofiber: A novel multipurpose electrospun mat. *Macromolecular Research* 2016;24:924-30. doi: 10.1007/s13233-016-4124-3
16. Bhattacharjee L, Manoharan R, Mohanta K, Bhattacharjee RR. Conducting carbon quantum dots-a nascent nanomaterial. *J Mater Chem A* 2015;3:1580-6.
17. Zhang H, Lou S, Williams GR, Branford-White C, Nie H, Quan J, et al. A systematic study of captopril-loaded polyester fiber mats prepared by electrospinning. *Int J Pharm* 2012;439:100-8. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.09.055
18. Ghassemi T, Shahroodi A, Ebrahimzadeh MH, Mousavian A, Movaffagh J, Moradi A. Current concepts in scaffolding for bone tissue engineering. *Arch Bone Jt Surg* 2018;6:90-9.
19. Wei A, Wang J, Wang X, Hou D, Wei Q. Morphology and surface properties of poly (L-lactic acid)/captopril composite nanofiber membranes. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* 2012;7:129-35. doi: 10.1177/155892501200700115
20. Tan EPS, Ng SY, Lim CT. Tensile testing of a single ultrafine polymeric fiber. *Biomaterials* 2005;26:1453-6. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.05.021
21. Eivazzadeh-Keihan R, Maleki A, de la Guardia M, Bani MS, Chenab KK, Pashazadeh-Panahi P, et al. Carbon based nanomaterials for tissue engineering of bone: Building new bone on small black scaffolds: A review. *J Adv Res* 2019;18:185-201. doi:10.1016/j.jare.2019.03.011
22. Chisi JE, Wdzieczak-Bakala J, Thierry J, Briscoe CV, Riches AC. Captopril inhibits the proliferation of hematopoietic stem and progenitor cells in murine long-term bone marrow cultures. *Stem Cells* 1999;17:339-44. doi: 10.1002/stem.170339
23. Saranya N, Saravanan S, Moorthi A, Ramyakrishna B, Selvamurugan N. Enhanced osteoblast adhesion on polymeric nano-scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomed Nanotechnol* 2011;7:238-44. doi: 10.1166/jbn.2011.1283
24. Hsu YM, Chen CN, Chiu JJ, Chang SH, Wang YJ. The effects of fiber size on MG63 cells cultured with collagen based matrices. *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials* 2009;91:737-45. doi: 10.1002/jbm.b.31450
25. Sisson K, Zhang C, Farach-Carson MC, Chase DB, Rabolt JF. Fiber diameters control osteoblastic cell migration and differentiation in electrospun gelatin. *J Biome Mater Res A* 2010;94:1312-20. doi: 10.1002/jbm.a.32756

## تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از طرح پژوهشی مصوب در کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با کد طرح ۱۹۷۱۵۷ می‌باشد.

## References

1. Anthony L, Junqueira's Basic Histology. 2013;14th ed. p.184-205
2. Liu X, Ma PX, Iu XIL. Polymeric scaffolds for bone tissue engineering. *Ann Biomed Eng* 2004;32:477-86. doi: 10.1023/b:abme.0000017544.36001.8e
3. Tanner KE. Bioactive composites for bone tissue engineering. *Proc Inst Mech Eng H* 2010;224:1359-72. doi: 10.1243/09544119JHEIM823
4. Bose S, Bandyopadhyay A. Introduction to Biomaterials. In: Characterization of Biomaterials. Elsevier; 2013. p.1-9.
5. Sultana N, Hassan MI, Lim MM. Composite synthetic scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. Cham: Springer International Publishing; 2015. doi:10.1007/978-3-319-09755-8
6. Luo F, Pan L, editor. Handbook of polymer nanocomposites. processing, performance and application. In: Kar KK, Pandey JK, editors. Volume B: Carbon Nanotube Based Polymer Composites. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2015. p.173-93. doi:10.1007/978-3-642-45229-1
7. Bruchez Jr M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos AP. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* 1998;281:2013-6. doi:10.1126/science.281.5385.2013
8. Wang Y, Hu A. Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications. *J Mater Chem C* 2014;2:6921-39. doi:10.1039/C4TC00988F
9. Cao L, Wang X, Meziari MJ, Lu F, Wang H, Luo PG, et al. Carbon dots for multiphoton bioimaging. *J Am Chem Soc* 2007;129:11318-9. doi:10.1021/ja0735271
10. Yang ST, Cao L, Luo PG, Lu F, Wang X, Wang H, et al. Carbon dots for optical imaging in vivo. *J Am Chem Soc* 2009;131:11308-9. doi:10.1021/ja904843x
11. Volpert OV, Ward WF, Lingen MW, Chesler L, Solt DB, Johnson MD, et al. Captopril inhibits angiogenesis and slows the growth of experimental tumors in rats. *J Clin Invest* 1996;98:671-9.
12. Mirhashemi AH, Ahmad Akhoundi MS, Ansari E, Sheikhzadeh S, Momeni N, Dehpour A, et al. Effect of long-term captopril administration on bone density and orthodontic tooth movement. *J Islam Dent Assoc Iran* 2016;28:126-33.
13. Abuhashish HM, Ahmed MM, Sabry D, Khattab MM, Al-Rejaie SS. ACE-2/Ang1-7/Mas cascade mediates ACE inhibitor, captopril, protective effects in estrogen-deficient osteoporotic rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2017;92:58-68. Available from: doi:10.1016/j.biopha.2017.05.062





## Evaluation of MG63 Cells Behavior with Electrospun Nanocomposite Scaffolds of Polycaprolactone and Carbon Quantum Dot Containing Captopril For Bone Tissue Engineering

Mina Ghorghi(M.Sc.)<sup>1</sup>, Anne Mohmmad Gharavi (Ph.D.)<sup>2\*</sup>, Mohammad Rafirenia (Ph.D.)<sup>3</sup>

1- Student Research Committee, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

2- Tissue Engineering and Stem Cells Research Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

3- Biosensor Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Received: 5 March 2020, Accepted: 8 April 2020

### Abstract:

**Introduction:** Electrospinning method with the ability to make porous parts similar to bone matrix is a suitable method for making bone scaffolds. On the other hand, the use of drugs in inducing osteogenesis along with tissue engineering scaffolds is very important as a new approach in repairing damaged bone. The aim of the study was to evaluate the MG63 cells behavior with electrospun nanocomposite scaffolds of polycaprolactone and carbon quantum dot containing captopril for bone tissue engineering.

**Methods:** The microstructure of synthesized CQDs was evaluated by both transmission electron microscopy (TEM). The microstructure and hydrophilicity/hydrophobicity ratio of scaffolds were assessed by scanning electron microscopy (SEM) and wettability test, respectively. The mechanical strength of the scaffolding was measured using a tensile test. The cell viability, attachment, proliferation, and alkaline phosphatase (ALP) activity of scaffolds were assessed using MG-63 cell line in vitro. Based on our results, the scaffold containing CQDs and CP led to a significant increase in the cells' proliferation and ALP activity.

**Results:** The results of cell culture showed an increase in the growth of MG-63 cells on nanocomposite scaffolds containing 0.5% by weight of quantum dot carbon and 10% captopril compared to other scaffolds. In addition, a significant increase in alkaline phosphatase secretion on nanocomposite scaffolds containing 0.5% by weight of quantum dot carbon and 10% of captopril was quite evident.

**Conclusion:** Therefore, the PCL/CQDs/CP scaffold has a promising potential for bone tissue regeneration.

**Keywords:** Polycaprolactin, Carbon quantum dots, Captopril, Bone tissue engineering.

Conflict of Interest: No

\*Corresponding author: AM. Gharavi, Email: [annehgh@yahoo.com](mailto:annehgh@yahoo.com)

**Citation:** Ghorghi M, Gharavi AM, Rafirenia M. Evaluation of MG63 cells behavior with electrospun nanocomposite scaffolds of polycaprolactone and carbon quantum dot containing captopril for bone tissue engineering. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2020;15(1):10-18.