متخلخل کردن پلی‌یورتان با روش اسپری (مه پاشی)به منظور ساخت پروتز عروقی

محمد تقی خراسانی[×]، سعید شورگشتی

تهران، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، صندوق پستی ۱۴۹۶۵/۱۱۵

E-mail: M.Khorasani@ ippi.ac

نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران

دانشگاه علم و صنعت ایران
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

چکیده

در این مطالعه پروتزهای عروقی با قطر mm ۶ با استفاده از روش اسپری و مکانیسم فاز برگشتی از پلیمر پلی‌اورتان ساخته شده است. پروتزهای عروقی با تغییر فاصلهٔ بین میلهٔ چرخان و اسپریها، تهیه شدند. پس از ساخت پروتزها، مورفولوژی و مقدار تخلخل در آنها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بررسی گردید و خواص مکانیکی آنها اندازه گیری شد و مشاهده شد با افزایش فاصله، مقدار تخلخل فیلمها افزایش پیدا می کند و این افزایش باعث کاهش خواص مکانیکی می‌شود. در نهایت آزمایش کشت سلول در خارج از بدن (in vitro) انجام گردید و مشاهده شد که پروتزهایی که دارای مقدار تخلخل بیشتری هستند، سلولهای بیشتری بر روی آنها رشد می‌کنند.

کلمات کلیدی: پلی‌اورتان، پروتزهای عروقی با قطر کوچک، روش اسپری با مکانیسم فاز برگشتی، تخلخل

مقدمه

عمده‌ترین عامل مرگ و میر در جهان بیماریهای ناشی از تصلب شراین است. [۱] این بیماری به شکل بیماری سرخرگ کرونری قلب (coronary artery) و عروق محیطی (peripheral vascular) ایجاد می‌شود. روشهای درمانی که اکنون بکار می‌رود، بای‌پس (bypassing) سرخرگهای مسدود شده با سیاهرگهایی که از خود شخص گرفته شده (autologous veins) یا با مواد سنتزی زیست‌سازگار است. در حال حاضر اولین انتخاب برای درمان بیماریهای سرخرگی استفاده از سیاهرگهایی خود شخص است. [۲] اما ۳۰٪ بیماران اندازهٔ مناسبی از این عروق را به علت بیماری یا استفاده‌های قبلی ندارند. [۲،۳] لذا نیاز به استفاده از پروتزهای عروقی سنتزی وجود دارد.

اگرچه پلیمرهایی مانند پلی(تترا فلورو اتیلن) با نام اختصاری PTFE موفقیتهایی در عروق مصنوعی با قطر بیشتر از ۶ mm کسب کردند، اما کاربرد این مواد برای ساخت عروق مصنوعی با قطر کوچک باعث ایجاد لختگی در آنها می‌گردد. [۴] لذا برای ساخت عروق مصنوعی با قطر کوچک به مواد جدیدی نیاز است. پلی‌یورتانها با داشتن زیست سازگاری مناسب و خواص مکانیکی بسیار خوب از جمله پلیمرهایی هستند که در این کاربرد بکار می‌روند.

علاوه بر نوع پلیمر، افت انطباق‌پذیری (compliance) بین پروتز سنتزی و سرخرگ طبیعی باعث شکست کاشت پروتز می گردد. [۵-۷] اهمیت و مفید بودن ساختار متخلخل دیواره به خوبی شناخته شده است زیرا وجود ساختار متخلخل دیواره باعث افزایش انطباق‌پذیری آن با سرخرگ طبیعی و در نتیجه افزایش طول عمر آن می‌گردد.

در این مطالعه با کاربرد نوعی پلی‌یورتان ترموپلاستیک (TPU)، سعی شده است تا با بکارگیری روشی مناسب، مقدار تخلخل مناسبی در دیوارهٔ آن به منظور ساخت عروق مصنوعی ایجاد گردد.

پلی‌اورتان از نوع ترموپلاستیک پلی‌استر-پلی‌اورتان گرید LARPU7025 (70 shore A) که از شرکت کوین(Coin) شهر میلان ایتالیا خریداری شده است، استفاده گردید. این ماده در حلالهای N,N- دی متیل فرمامید (DMF) و همچنین تترا هیدروفوران (THF) محلول است. که در این مطالعه از DMF به عنوان حلال و آب مقطر تهیه شده در آزمایشگاه استفاده شد.

برای تهیهٔ پروتزهای عروقی از دو عدد اسپری که با فشار هوا کار می‌کردند، استفاده گردید. شماتیک دستگاه به کار رفته برای ساخت پروتز به روش اسپری، در شکل ۱ آورده شده است. اسپرهایی که در این مطالعه بکار رفته است، از نوع ۱۲۵ cc است و ساخت شرکت ترزانو (Trezzano) کشور ایتالیا است. قطر نازل خروجی آنها حدود ۰/۲ mm است.

شکل ۱- شماتیک دستگاه اسپری برای ساخت پروتز عروقی

همانطور که در شکل مشاهده می‌شود این دستگاه از دو قسمت اسپریها و قسمت میلهٔ چرخان که پروتز بر روی آن ساخته می‌شود، تشکیل شده است. در قسمت میلهٔ چرخان، میلهٔ شیشه‌ای (یا فلزی) با قطرکمتر از ۶mm (قطر مورد نظر در ساخت پروتز عروقی)، توسط موتوری با سرعت ثابت می‌چرخد. دو دستگاه اسپری با فشار هوا محلول پلی‌یورتانی و غیرحلال را بر روی میلهٔ چرخان اسپری می‌کنند و با چرخش میله و رسوب محلول پلیمری بر روی میله، به تدریج پروتز بر روی آن تشکیل می‌شود. شرایطی که در ساخت پروتز به روش اسپری اعمال گردید در جدول ۱ آورده شده است.

جدول۱- شرایط اعمال شده در ساخت پروتز به روش اسپری

غلظت محلول پلی‌یورتانی(%W/W)	۴/۰-۶/۰
مقدار غیرحلال در محلول پلی‌یورتانی (%V/V)	۰-۳
فاصلهٔ بین نازل و میله (mm)	۵-۲۵
قطر میله چرخان (mm)	۱/۵-۶
سرعت چرخش میله (rpm)	۱۰۰-۲۰۰۰
سرعت حرکت اسپریها (rpm)	۱۰-۱۰۰
قطر داخلی نازل (mm)	۰/۱-۰/۲

بررسی خواص ساختاری پروتزها

برای بررسی خواص ساختاری پروتزها از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل Cambridge S360 استفاده گردید. برای انجام این آزمایش، ابتدا باید نمونه‌های تهیه شده در نیتروژن مایع شکسته شوند. برای این منظور ابتدا قطعه‌ای از هر نمونه بریده، و در نیتروژن مایع قرار می‌گیرد تا کاملاً منجمد گردد. سپس با استفاده از انبر و در داخل نیتروژن مایع، شکسته می‌شود تا مورفولوژی سطح مقطع آن کاملاً حفظ شود. بعد از تهیهٔ نمونه آن را در داخل دستگاه گذاشته و سطح آن با ورقهٔ نازکی از طلا پوشانده می‌شود. در این حالت نمونه آمادهٔ مشاهده با میکروسکوپ است.

اندازه‌گیری خواص مکانیکی پروتزها

برای بررسی خواص مکانیکی نمونه‌های تهیه شده، از هر نمونه سه عدد تهیه شد و مطابق با استاندارد ASTM D 412 خواص آنها اندازه‌گیری شد. نمونه‌های لوله‌ای شکل تهیه و مقاومت کششی و کشش تا پارگی آنها با سرعت ۵۰ mm/min اندازه‌گیری گردید.

آزمون کشت سلولی نمونه‌ها

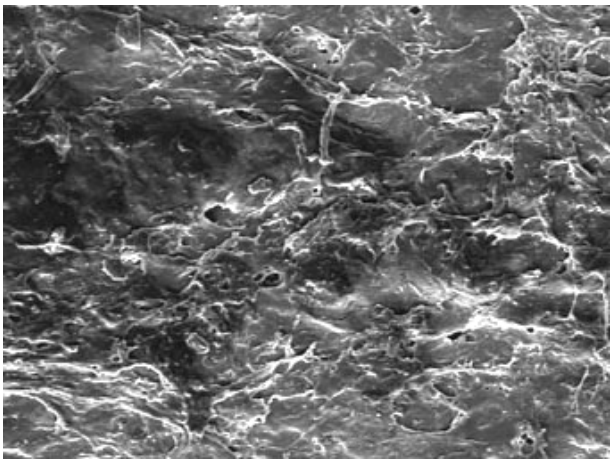
به منظور بررسی سمیت قطعات پزشکی ومطالعه سازگاری آنها با سیستم بدن از آزمون کشت سلولی استفاده می‌شود. در این آزمون از سلولهای فیبروبلاست L 929 که از بافتهای مخاطی موش تهیه می‌شود استفاده می‌گردد. این آزمایش بر اساس استاندارد ASTM F813 انجام می‌گیرد. از فیلم‌های تهیه شده برای تست زیست‌سازگاری قطعاتی برش داده و پس از استریل کردن در اتوکلاو (۱۵ min و ۱۲۰°C) در ظرف مخصوص قرار داده می‌شوند. سپس ۵ میلی‌لیتر از سلولهای سوسپانسیون شده را روی آنها ریخته و به مدت ۴۸ ساعت در اینکوباتور نگهداری می‌شوند. برای مشاهده مورفولوژی و رشد سلولها توسط میکروسکوپ نوری، ابتدا نمونه‌ها را با محلول PBS (محلول نمکی بافر فسفاته) شسته شده و با محلول گلوتارآلدیید ۲٪ ثابت می‌شوند. سپس به ترتیب در محلولهای آبی اتانول با مقادیر (%W/W) ۵۰٪، ۶۰٪، ۷۰٪، ۸۰ ٪، ۹۰٪ و ۹۶٪ آبگیری می‌شوند. برای مشاهدهٔ بهتر سلولها، نمونه‌ها را در محلول آبی گیمسا (۱/۱۵) (%W/W) قرار داده تا رنگ‌آمیزی شوند. نمونه‌ها را پس از ۲۰ دقیقه از محلول گیمسا خارج کرده و رنگ اضافی روی نمونه‌ها را با آب مقطر شسته و در دمای اتاق خشک گردیدند. در آزمون کشت سلولی از ظروف کشتی که از جنس پلی‌استایرن هستند به عنوان کنترل منفی استفاده می‌شود. کنترل منفی ماده‌ای است که سمیت آن بسیار ناچیز بوده و رشد سلولها بر روی آن بسیار خوب است. میکروسکوپ الکترونی بکار رفته برای مشاهده سلولها، ساخت کشور ژاپن و دارای مدل Nikon, T-B2 است.

نتایج و بحث نتایج

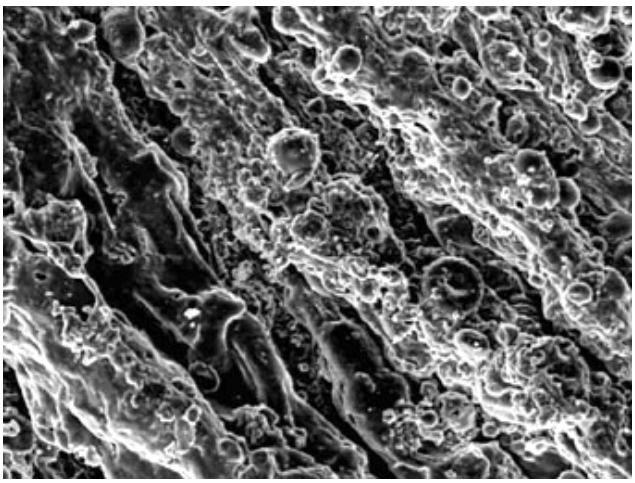
اثر فاصلهٔ میلهٔ چرخان و اسپریها بر مورفولوژی فیلمها

یکی از عوامل مهم در ساخت عروق مصنوعی مقدار تخلخل و یکنواختی تخلخلها در دیوارهٔ آن است. افزایش مقدار تخلخل در دیوارهٔ پروتزها باعث افزایش مقدار انطباق‌پذیری (Compliance) در دیواره و افزایش مقدار رشد سلولهای اندوتلیال در دیوارهٔ عروق می‌گردد. رشد سلولهای اندوتلیال باعث افزایش مقاومت پروتز در مقابل لختگی می‌گردد و باعث می‌شود عروق طول عمر درازتری داشته باشند.

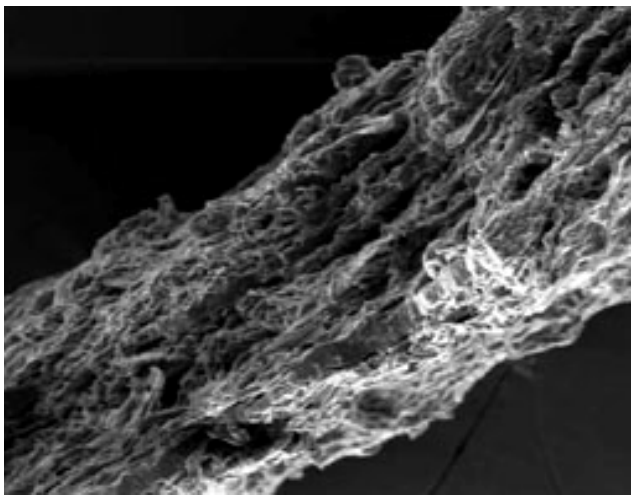
در این مطالعه، یکی از عوامل مهم در تغییر مقدار تخلخل دیوارهٔ پروتز، فاصلهٔ اسپریها از میلهٔ چرخان است. در شکل ۲ و ۳ مورفولوژی سطح داخلی و خارجی و همچنین سطح مقطع آنها به ترتیب مربوط به فواصل ۵ و ۲۵ سانتی متر نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش این فاصله، مقدار تخلخل در دیواره افزایش پیدا می‌کند.



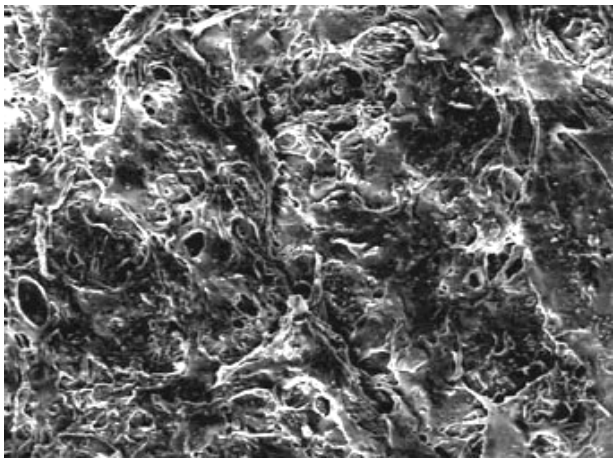
(الف)



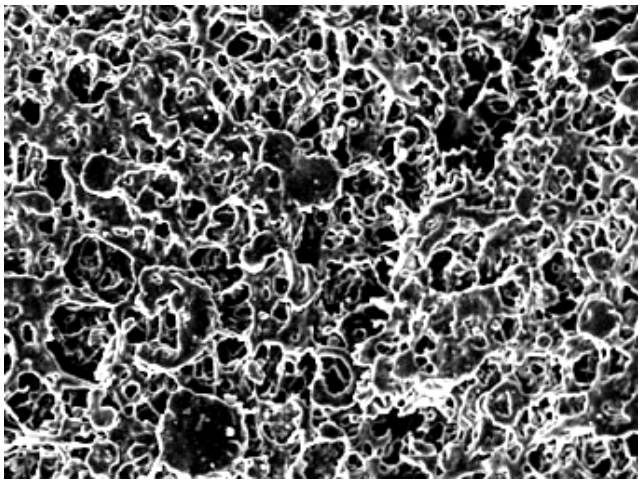
(ب)



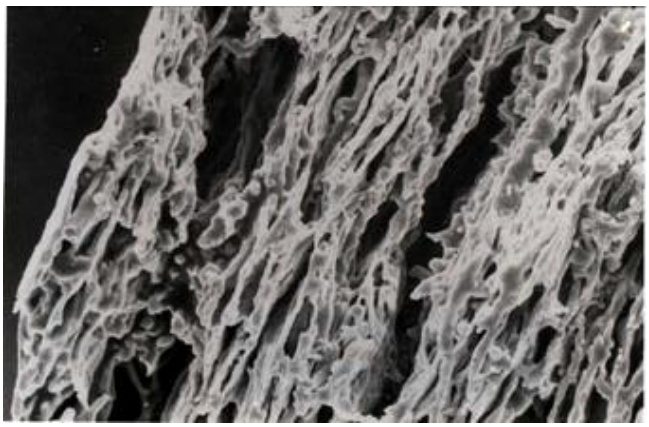
شکل۲- سطح داخلی (الف) و خارجی (ب) و سطح مقطع (ج) نمونهٔ تهیه شده در فاصلهٔ اسپریها با میلهٔ چرخان برابر با ۵ cm و سرعت ۶۰۰ rpm (۳۰۰×).



(الف)



(ب)



(ج)

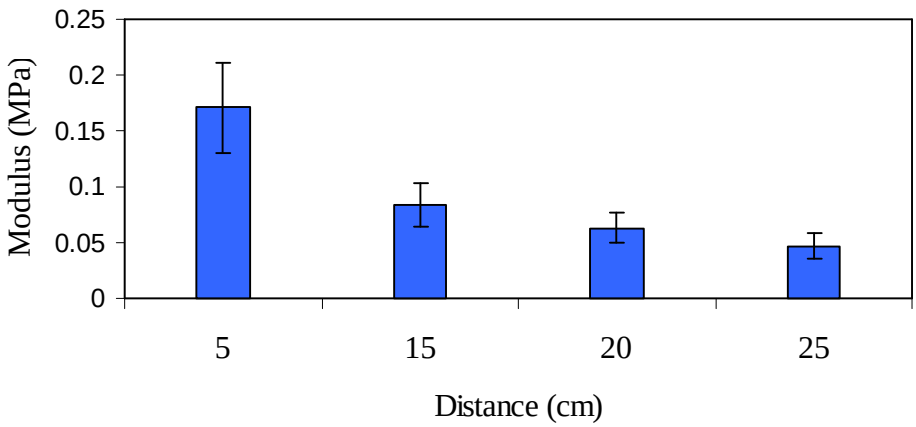
شکل۳- سطح داخلی (الف) و خارجی (ب) و سطح مقطع نمونهٔ تهیه شده در فاصلهٔ اسپریها با میلهٔ چرخان برابر با ۲۵ cm و سرعت ۶۰۰ rpm (۳۰۰×).

در حقیقت می‌توان گفت زمانیکه پلی‌یورتان از فاصلهٔ بیشتری توسط اسپریها بـر روی میلـهٔ چرخـان پاشـیده می‌شود، بر اثر تماس با غیرحلال آب، لخته می‌شود و از آنجا که مدت زمان تماس بـا غیـرحلال آب و مقـدار لخته‌شدن آن نسبت به نمونهٔ تهیه شده در فاصلهٔ کمتر، بیشتر اسـت، افـزایش فاصـلهٔ داخلـی تخلخـل‌هـا از یکدیگر باعث و در نتیجه افزایش تخلخل پروتز می‌شود.

اثر فاصلهٔ اسپریها و میلهٔ چرخان بر خواص مکانیکی پروتزها

عروق بدن بواسطهٔ عملکرد ضربانی قلب، دائماً در معرض تنشهای ناشی از آن هستند. این فشار متناوب باعـث می‌شود تا عروق بدن بطور پی‌درپی دچار انبساط و انقباض گردند. اگر جدارهٔ عروق بر اثر رسوب مواد چربی یا بر اثر بیماری، حالتی صلب پیدا کند نمی‌تواند فشار خون را تحمل کند و باعث شکست مکانیکی در جدارهٔ آن می‌گردد. لذا یکی از عوامل مهمی که در ساخت عروق مصنوعی باید در نظر گرفته شود، خواص مکـانیکی آن است تا عروق مصنوعی در مقابل فشار خون مقاومت لازم را داشته باشند و دچار شکست مکانیکی نگردند.

باندازه‌گیری خواص پروتزهای ساخته شده در شرایط فاصله‌ای متفاوت، مـشاهده گردیـد کـه افـزایش فاصـلهٔ اسپریها از میلهٔ چرخان، باعث افزایش تخلخل و به تبع آن کـاهش خـواص مکـانیکی آن مـی‌گـردد (نمـودار شکل ۴).



شکل ۴- کاهش مقدار مدول پروتزهای تهیه شده در فاصله‌های متفاوت میلهٔ چرخان از اسپریها و سرعت ثابت ۶۰۰ rpm

البته همانطور که مشاهده می‌شود پروتزهای تهیه شده در فاصلهٔ ۲۵ cm نیز مدول بـالایی نـسبت بـه مقـدار متوسط عروق طبیعی (۱۶/۶-۵۲/۶ kPa در فشار ۱۸۴-۵۸ mmHg) دارند و با توجه به مقدار تخلخـل بیـشتر در این نمونه‌ها برای کاربرد در بدن مناسب‌تر هستند.

بررسی خواص زیست‌سازگاری

کاربرد یک مادهٔ طبیعی در بدن منوط به زیست‌سازگار بودن آن با بدن است. همچنین برای کاربرد عروق طبیعی در بدن، باید سلولهای اندوتلیال که قشر داخلی عروق مصنوعی بدن را پوشش داده‌اند، بتوانند بر روی آن رشد کنند تا پس از کاشت در بدن دچار لختگی در آن نگردد. از عوامل رشد سلولهای اندوتلیال بر روی پروتز زیست‌سازگاری آن و وجود تخلخل است. تحقیقات نشان داده است که افزایش تخلخل، باعث افزایش رشد سلولهای اندوتلیالی می‌گردد.

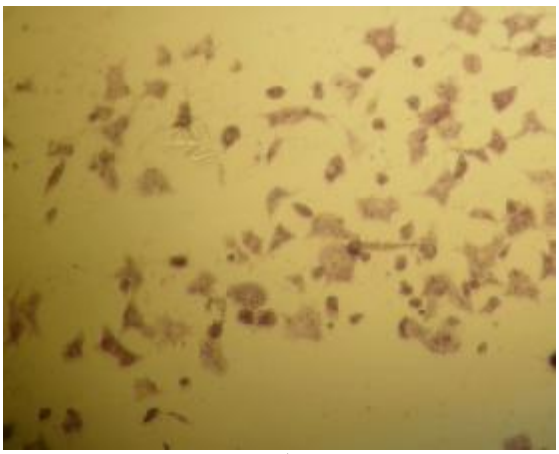
در شکل ۵ کشت سلول بر روی فیلم پلی‌یورتانی بدون تخلخل (الف) و فیلمهای متخلخل تهیه شده در فواصل ۵ (ب) و۲۵ cm (ج) نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد افزایش مقدار تخلخل در فیلمهای پلی‌یورتانی باعث افزایش مقدار رشد سلولها بر روی آنها شده است (شکل ۵ در انتهای متن می‌باشد).

نتیجه گیری

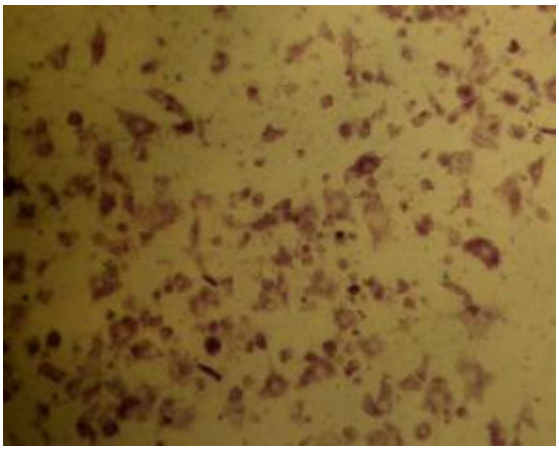
روش اسپری با مکانیسم فاز برگشتی یکی از روشهای مناسب در تهیهٔ پروتزهای عروقی است که با تنظیم شرایط بهینه می‌توان پروتزی با قابلیت بهینه تهیه کرد. در این مطالعه، عامل فاصلهٔ اسپریها از میلهٔ چرخان مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده گردید که افزایش آن باعث افزایش تخلخل پروتزها می‌گردد. همچنین افزایش تخلخل باعث کاهش خواص مکانیکی پروتزها می‌شود که البته در حد بهینه‌ای قرار دارد. همچنین با بررسی آزمایش کشت سلول مشاهد گردید که پروتزهایی که دارای تخلخل بیشتری هستند آزمایش کشت سلولی را بهتر پاسخ می‌دهند.

منابع و مراجع

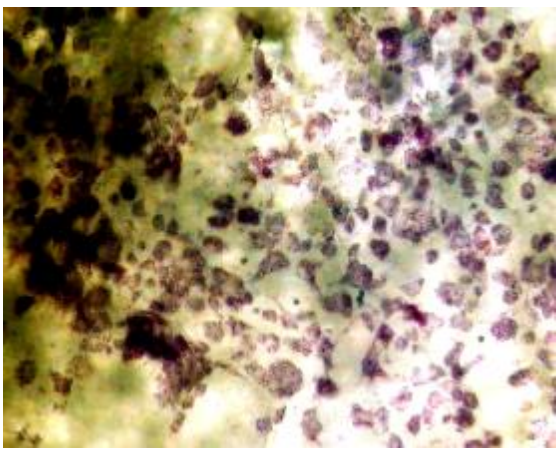
1. iller DC, Thapa A, Haberstroh KM, Webster TJ, Endothelial and vascular smooth muscle cell function on poly(lactic-co-glycolic acid) with nano-structured surface features, Biomaterials, 25: 53–61, (2004).
2. Darling RC, Linton RR, Durability of femoropopliteal reconstructions Endarterectomy versus vein bypass grafts. Am J Surg; 123:472–9, (1972).
3. Clayson KR, Edwards WH, Allen TR, Dale WA. Arm veins for peripheral arterial reconstruction. Arch Surg; 111 :1276–80, (1976).
4. Abbott WM, Callow A, Moore W, Rutherford R, Veith F, Weinberg S, Evaluation and performance standards for arterial prosthesis. J Vasc Surg; 17:746– 56, (1993).
5. Uchida N, Kambic H, Emoto H, and et al., Compliance effect on small diameter polyurethane grafts patency, J Biomed Mater Res, 27: 1269-1279, (1993).
6. Doi K, Matsuda T, Significance of porosity and compliance of microporous, polyurethane-based microarterial vessel on neoarterial wall regeneration, J Biomed Mater Res., 37: 573–584, (1997).
7. Gaupp S, Wang Y, How TV, Fish PJ, Characterization of vortex shedding in vascular anstomosis models using pulsed doppler ultrasound, Journal of Biomechanics, 32: 639-645, (1999).



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۵- بررسی رشد سلولها در فیلم پلی‌یورتانی خالص (الف)، فیلم تهیه شده در فاصلهٔ اسپری cm ۵ (ب) و فاصلهٔ cm ۲۵ از میلهٔ چرخان.