مجله علوم و فناوری نساجی
دوره ۹، شماره ۱، شماره پیاپی ۳۳
صفحه ۱۹-۵، ۱۳۹۹
ISSN: ۲۱۵۱-۷۱۶۲

مروری بر روش‌های استخراج کراتین از الیاف و کاربردهای آن در منسوجات پزشکی

Proposing a method for measuring the hand dimensions to prepare the glove using depth camera

خلیل‌الرحمن خلیلی پورورودی[۱]، فاطمه داداشیان*[۱]، عاطفه سلوک[۲]، سوگل کیان ارثی[۲]

۱- دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر (پلی‌تکنیک تهران)، تهران، ایران
۲- دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر (پلی‌تکنیک تهران)، تهران، ایران

چکیده

گسترش و پیشرفت روش‌های استخراج، خالص‌سازی و اصلاح پروتئین‌های کراتین به دست آمده از مو، پشم، پر، سم، شاخ و ناخن باعث شده است تا استفاده از این پروتئین در تولید زیست ماده‌ها و منسوجات پزشکی به شدت افزایش یابد. کراتین به دلیل زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری مطلوب، وجود توالی‌های آمینواسیدی RGD و LDV که در چسبندگی سلولی بسیار حائز اهمیت هستند و همچنین توانایی آرایش یافتگی به شکل‌های مختلف فیبر، فیلم، ژل و اسفنج در کاربردهای پزشکی چون انتقال دارو، مهندسی بافت و درمان زخم به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است. در این مقاله، مروری بر ساختار کراتین، نحوه استخراج آن، زیست ماده‌های کراتینی تولید شده و کاربردهای کراتین در پزشکی صورت گرفته است. همچنین در انتها، به شکل خلاصه به برتری‌های کراتین نسبت به پروتئین‌هایی از جمله ژلاتین، سلولز، آلیجینات، کلاژن و کیتوسان اشاره شده است. با توجه به ویژگی‌های جالب توجه کراتین، می‌توان انتظار داشت این پروتئین جایگاه قابل توجهی در تولید منسوجات پزشکی بدست آورد.

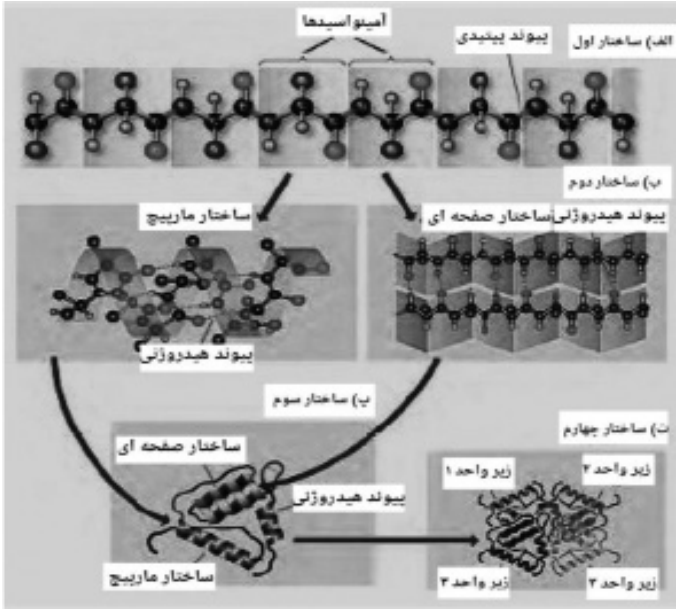
کلمات کلیدی
کراتین،
زیست ماده،
الیاف پروتئینی،
زخم پوش،
منسوجات پزشکی

۱- مقدمه

پروتئین، فراوان‌ترین مولکول‌های آلی موجود در سلول‌های زنده و متشکل از یک یا چند زنجیر پلی‌پپتید است که هر زنجیر نیز از اتصال آمینواسیدها به یکدیگر از طریق پیوندهای پلی‌پپتیدی تشکیل شده است. این زنجیرهای پلی‌پپتیدی که به منظور تشکیل یک ساختار سه بعدی منحصر به فرد حین سنتز تا می‌خورد، به وسیله ترتیب آمینواسیدهای موجود در آن شناسایی می‌شود. شکل ۱ ساختار کلی پروتئین‌ها را که در چهار سطح بررسی می‌شود نشان می‌دهد. هر ساختار مبنای تشکیل ساختار بالاتر است. [۱]

کراتین یکی از خانواده پروتئین‌های لیفی موجود در طبیعت است که در پستانداران، خزندگان، پرندگان و ماهی‌ها و در تمامی قسمت‌های بدن از جمله شاخ، خز، پشم، پوست، پر و ... یافت می‌شود. به طور کلی «کراتین» اشاره به پروتئین‌های نامحلولی دارد که در فیلامنت‌های واسطه یافت می‌شود و به بخش عمده‌ای از اپیتلیای سیتوپلاسمی و ساختارهای فرعی اپیدرمال مانند مو، پشم، شاخ و ناخن تبدیل می‌شود. عملکرد اولیه کراتین‌ها، محافظت از سلول‌های اپیتلیال در برابر تنش‌های مکانیکی و غیر مکانیکی است که می‌تواند به مرگ سلول منجر گردد. کارکردهای دیگر کراتین‌ها شامل نشانه‌گذاری یاخته ، پاسخ به استرس‌ها و آپوپتوز (خزان یاخته‌ای یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول) است. کراتین به طور کلی یک ماده تنها در نظر گرفته می‌شود در حالی که ترکیبی از پروتئین‌ها و آنزیم‌هاست. شکل۲

*مسئول مکاتبات، پیام نگار: dadashia@aut.ac.ir



شکل ۱- ساختار چهارگانه پروتئین

نمای کلی از آمینواسیدها، کراتین و فیلامنت های واسطه را نشان می‌دهد. به طور کلی به جز پشم و مو، استفاده از کراتین در شکل طبیعی آن دشوار است و بنابراین، برای کاربردهای گوناگون استخراج می‌شود. علاوه بر این، پپتیدهای تشکیل دهنده پروتئین وقتی درون توالی پروتئین قرار دارد، فعال نبوده اما زمانی که آن را بتوان از توالی پروتئین خارج کرد به عنوان یک ماده زیست فعال می‌توان کاربردهای مختلفی برای آن تعریف کرد.

تقسیم بندی کراتین

براساس ساختار و خواص متمایزی که کراتین‌ها دارند به دو دسته «نرم» و «سخت» تقسیم می‌شوند. کراتین‌های نرم آن‌هایی هستند که به‌عنوان فیلامنت‌های واسطه در اپی تلیال یافت می‌شوند. این دسته از کراتین‌ها به طور عموم، در بسته‌های چیده شده‌ای قرار دارند و مسئول انعطاف پذیری مکانیکی سلول‌های اپی تلیال هستند.

کراتین‌های سخت آن‌هایی هستند که در آرایه‌های منظمی در ماتریس پروتئین‌های غنی از سیستئین در مو، ناخن، سم، منقار، پنجه و ... یافت می‌شود و به ساختار سخت اپیدرمال کمک می‌کند.

همچنین کراتین را براساس ساختار آن می‌توان به دو دسته α-کراتین و β-کراتین تقسیم کرد. α-کراتین به صورت لیفی و ریشه‌ای است و شامل یک ساختار مارپیچ همراه با میکروفیبریل‌هایی است که در ماتریس آمورف کراتین جاسازی شده و در امتداد محور لیف قرار گرفته است. این مناطق آمورف حاوی مقادیر گوگرد بالایی با پیوندهای دی‌سولفیدی گوناگونی از باقیمانده‌های سیستئینی است.

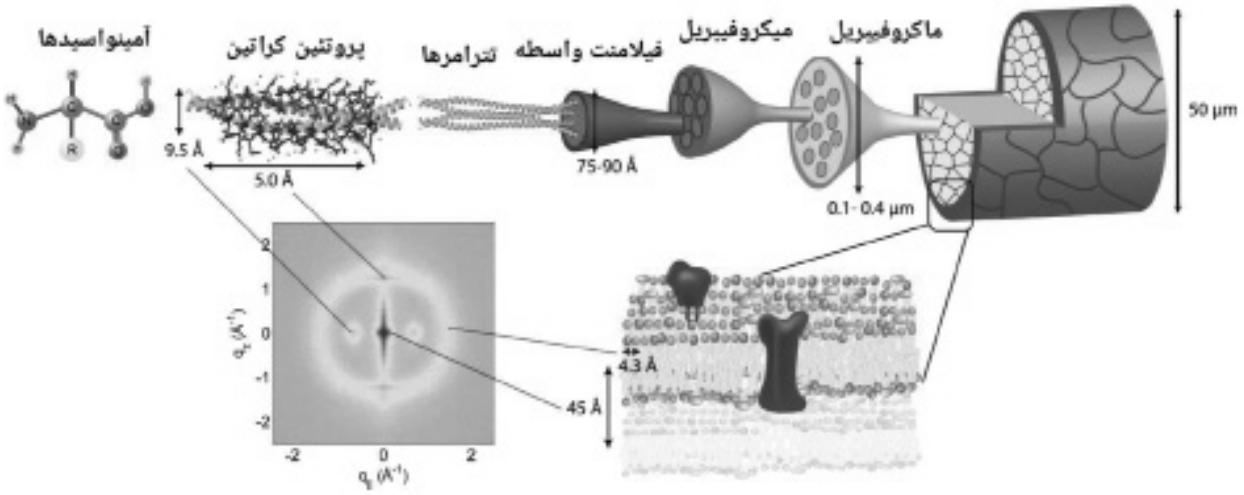
β-کراتین‌ها در ساختار سخت ایجاد می‌شوند و حلالیت کم دارد و عمدتا چون این نوع کراتین، لایه‌های بیرونی را تشکیل می‌دهد دارای مقاومت شیمیایی و مکانیکی بسیار زیادی است. شکل ۳ ساختار سه بعدی پروتئین کراتین α و β را نشان می‌دهد. همچنین در جدول ۱ نمونه‌هایی از مواد بر پایه کراتین‌های گوناگون α و β و همین‌طور ترکیب آن‌ها مشاهده می‌شود.

بسته به نقطه ایزوالکتریک، کراتین‌ها را می‌توان به دو دسته اسیدی (نوع □) و بازی (نوع □) نیز تقسیم کرد. در جدول ۲، مشخصات دو نوع کراتین بر اساس اندازه و نقطه ایزوالکتریک آمده است. اگر چه کراتین‌ها نقطه ایزوالکتریک متفاوتی دارند اما نوع و ترتیب آمینواسیدها در کراتین‌های اسیدی و بازی مشابه به نظر می‌رسد. به عنوان مثال، کراتین پوست انسان و پوست حیوانات مختلف ترکیب مشابهی از آمینو اسیدها را نشان می‌دهد. در این مقاله ما به بررسی الیاف پروتئینی به عنوان منابع کراتینی می‌پردازیم.

الیاف پروتئینی

پشم

پشم به‌عنوان یکی از قدیمی‌ترین الیاف شناخته شده است که در دسته الیاف طبیعی پروتئینی قرار گرفته و به دلیل خواص منحصر به فردش



شکل ۲- آمینو اسیدها، کراتین و فیلامنت های واسطه [۲]

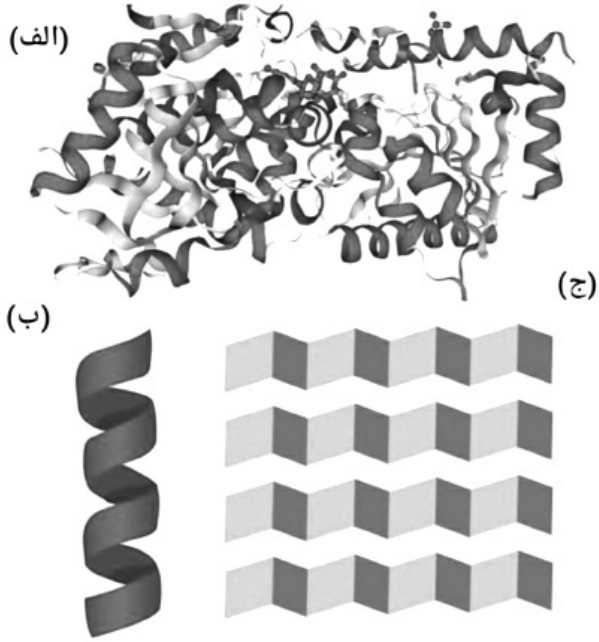
جدول ۱- نمونه‌هایی از منابع کراتین‌دار موجود در طبیعت

مواد کراتینی بر پایه α-کراتین	مواد کراتینی بر پایه β-کراتین	مواد کراتینی بر پایه α-کراتین و β-کراتین
لایه بیرونی روپوست (اپیدرم) معروف به لایه شاخی	پر	اپیدرم خزندگان
پشم و مو	منقار	اپیدرم سخت و نرم لاک پشت
تیغ جوجه تیغی	پنجه	پولک پنگولین
شاخ		
سُم		
ناخن		

جدول ۲- تقسیم‌بندی کراتین بر اساس اندازه و نقطه ایزوالکتریک

خانواده پروتین	اندازه (kDa)	نقطه ایزوالکتریک
نوع A	۴۰-۶۴	~ ۶/۱-۴/۷
نوع B	۵۲-۷۰	~ ۸/۴-۵/۴

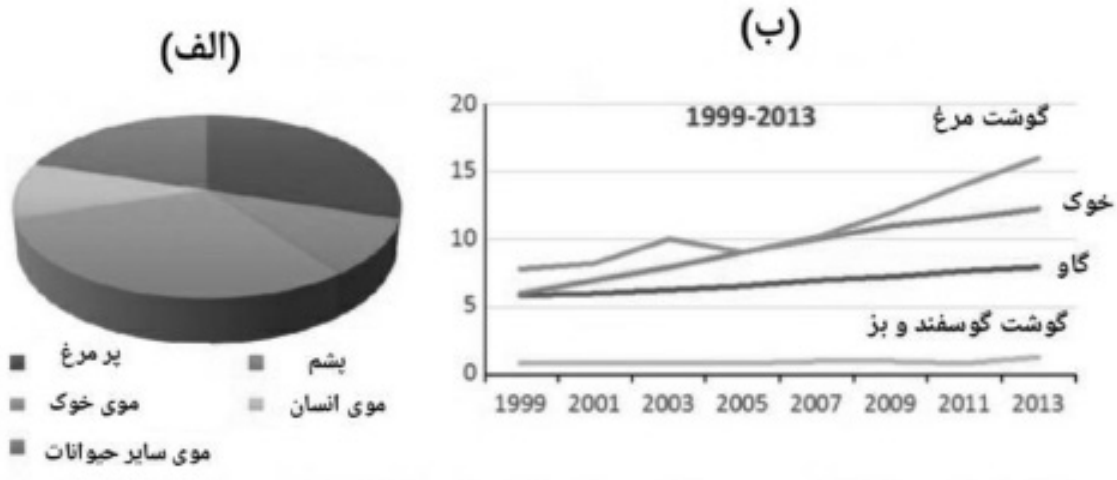
از اهمیت فراوانی در صنایع نساجی برخوردار است. سالانه بیش از ۲/۵ میلیون تن پشم در سراسر جهان تولید می‌شود. ایران در سال‌های اخیر، همواره جزء ده کشور برتر دنیا در تولید این الیاف ارزشمند بوده است. [۳-۴]. بر اساس تخمین‌های صورت گرفته، پشم بیش از ۱۷۰ نوع پروتئین گوناگون به صورت غیر یکنواخت دارد که در آن توزیع شده است. این ترکیب پیچیده و غیر همگن سبب ایجاد خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوت در قسمت‌های گوناگون لیف گردیده است. زنجیرهای پلی پپتیدی به وسیله برهم‌کنش‌های کووالانسی و غیرکووالانسی به یکدیگر اتصال یافته و پروتئین‌های مختلف در پشم را به وجود می‌آورد. مهم‌ترین پیوند در پشم، پیوند دی‌سولفیدی محتوی گوگرد است که در حین رشد لیف طی فرآیندی به نام کراتینه شدن تشکیل می‌گردد. این پیوند سبب نامحلول شدن الیاف کراتینی در آب و پایداری آن در برابر حملات شیمیایی و فیزیکی می‌گردد. پیوند حائز اهمیت دیگر، پیوند ایزوپپتید بین آمینواسیدهای بازی یا اسیدی است. علاوه بر این پیوندهای شیمیایی، بر هم کنش های دیگری بین گروه های جانبی آمینو اسیدها نیز وجود دارد که به پایداری لیف در شرایط تر و خشک کمک می‌کند. پروتئین پشم (کراتین) از آمینواسیدهای مختلف با عوامل متفاوت تشکیل شده که به وسیله عملیات آبکافت، جداسازی و شناسایی می‌شود. آمینواسیدهای اسیدی شامل اسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید، اسپارجین و گلوتامین و آمینو اسیدهای بازی شامل ارجینین، لایسین، هیستیدین و تریپتوفان می‌باشد. بنابراین لیف پشمی آمفوتر بوده و می‌تواند پیوندهای داخلی نمکی برقرار نماید. در نقطه ایزوالکتریک (pH=۴/۸-۴/۹) تعداد گروه‌های کاتیونیک و آنیونیک برابر شده و لیف در پایدارترین شرایط خود قرار دارد [۳]. رابطه ۱، وضعیت پروتئین پشم را در شرایط اسیدی، بازی و خنثی نشان می‌دهد.



شکل ۳- شماتیکی از ساختار سه بعدی پروتئین کراتین (الف)، مارپیچ α با تاب خوردن زنجیرهای پلی‌پپتیدی به شکل پیچ به وجود می‌آیند (ب)، ساختار صفحه‌ای β نتیجه پهن‌شدگی و کشیده شدن بیشینه زنجیرهای پلی‌پپتیدی است (ج).

$$H_3N^+ - WOOL - COOH \xrightleftharpoons{H^+} H_3N^+ - WOOL - COO^- \xrightleftharpoons{OH^-} H_2N - WOOL - COO^- \quad (۱)$$

اسیدی — ایزوالکتریک (خنثی) — بازی



نمودار ۱: موجودی جهانی منابع کراتین بر اساس منبع آن (الف) تولید جهانی گوشت به تفکیک نوع آن طی سال های ۲۰۱۳-۱۹۹۹ (ب)

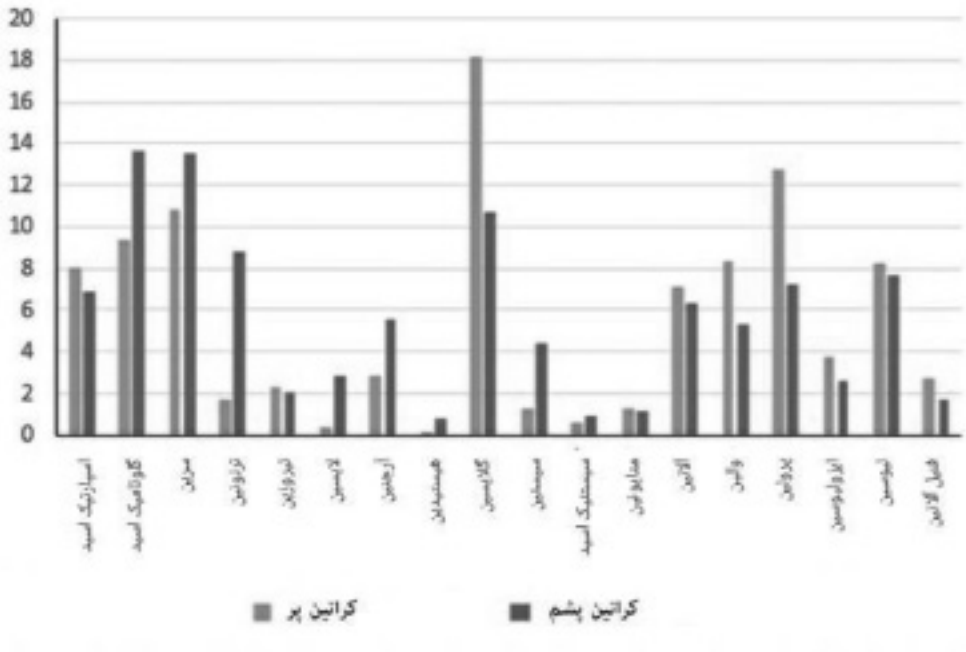
علاوه بر اتصالات یونی، آمینواسیدهای محتوی گروه‌های هیدروکسیل (مانند سرین، تایروسین و ترونین) قادر به برقراری پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی بوده و لذا به پایداری لیف کمک می‌کند. بر خلاف سایر پروتئین‌ها، تعدادی از این آمینواسیدها دارای زنجیرهای جانبی محتوی گوگرد است که می‌توان به سیستین، سیستیک اسید، متیونین، تیوسیستین و لنتیونین اشاره کرد. از میان این آمینواسیدها، سیستین محتوی بیش ترین مقدار گوگرد به شکل پیوندهای دی سولفیدی است. با وجود این که پیوندها در لیف خشک پایدار است، آرایش لیف تحت تنش در حضور حرارت و آب به آسانی تغییر می‌کند. این پدیده سبب سهولت در تغییر آرایش ساختاری پروتئین پشم شده و در نتیجه به آزاد شدن تنش های مولکولی در لیف منجر می‌گردد.

در مجموع نه‌تنها پیوندهای نمکی (ناشی از بر هم کنش الکترواستاتیک بین گروه‌های آنیونی و کاتیونی زنجیر جانبی) و هیدروژنی (بین گروه‌های دهنده الکترون مانند هیدروکسیل و آمین و گروه‌های پذیرنده الکترون مانند کربوکسیل) به پایداری لیف پشمی کمک می‌کند؛ بلکه پیوندهای دی‌سولفیدی بین باقی مانده‌های سیستینی، پیوندهای کووالانسی ایزوپپتیدی بین باقی‌مانده‌های گلوتامیک اسید و لایسین و نیروهای آب گریز بین زنجیرهای جانبی غیرقطبی آمینواسیدها نیز در این امر دخالت موثری دارد [۵و۶].

الیاف پر

الیاف پر نیز به عنوان یک لیف پروتئینی دیگر، حدود ۵ تا ۷ درصد وزن ماکیان را تشکیل می‌دهد و دارای خصوصیات منحصر به فردی چون انعطاف پذیری، سختی سطح، نسبت بالای طول به قطر، آب گریزی، ساختار پیچیده و پایدار، دانسیته و هزینه کم، دوستدار محیط زیست و عایق صورتی و حرارتی می‌باشد. پر ماکیان به علت داشتن پروتئین بالا، به عنوان منبع تغذیه حیوانات و کود استفاده می‌شود که فرآیند این فرآوری پر هزینه است. همچنین با توجه به مقادیر قابل توجه چربی موجود در پر، می‌توان از آن برای تولید سوخت زیستی استفاده کرد. همچنین به علت دانسیته پایین پر، جایگزین مناسبی به عنوان تقویت‌کننده کامپوزیت‌ها به جای الیاف مصنوعی به نظر می‌رسد. نمودار ۱، نشان می دهد که پر مرغ به عنوان یک منبع حائز اهمیت کراتین مطرح است و همین طور روند افزایش تولید و مصرف گوشت مرغ، این منبع را حائز اهمیت‌تر می‌سازد. اغلب، پر پرندگان به عنوان محصول ضایعاتی تلقی شده و هر ساله میلیون‌ها تن در سراسر جهان تولید می‌گردد. در اغلب موارد این پرها به وسیله سوزاندن و یا دفن کردن از بین می‌روند؛ در حالی که چنان که اشاره شد می‌توان از آن به عنوان یک منبع پر بازده و کارآمد در مصارف متعدد استفاده نمود. همچنین از پر به منظور تولید منسوجات بی بافت و پلاستیک‌های زیست تخریب پذیر هم می‌توان استفاده کرد. الیاف پر که از پروتئین آب گریز کراتین با استحکام بالا تشکیل شده، دارای ساختار نیمه بلوری و پیوندهای عرضی است. پر متشکل از ۹۱ درصد پروتئین (کراتین)، ۱ درصد لیپید و ۸ درصد آب است. الیاف بلند و انعطاف پذیر پر از کراتین دارای ساختار مارپیچی α تشکیل شده، به نحوی که کراتین‌های صفحه ای β فضای بین مارپیچ های α را پر می‌کند. پیوندهای هیدروژنی بین زنجیرهای گوناگون آمینواسید سبب استحکام بالای آن می‌گردد. تشکیل سلول های α-کراتین در غلاف و تبدیل آن به β-کراتین در بدنه و همچنین افزایش پیوندهای عرضی دی‌سولفیدی در حین کراتینه شدن به وقوع می‌پیوند. کراتین های β ماکیان، یک خانواده چند ژنی از حدود ۲۰ پروتئین را تشکیل داده که در حین رشد و تقسیم سلولی سنتز می‌گردد. کراتین پر نیز مانند پشم دارای تعداد زیادی پیوندهای عرضی است. با این وجود کراتین پشم به لحاظ مورفولوژیکی ساختار پیچیده تری نسبت به کراتین پر دارد. پروتئین پشم، ناهمگن و دارای ساختار مارپیچی و وزن مولکولی بالاتر است. (۵۵-۱۰ kDa) این در حالی است که کراتین پر با وزن مولکولی تقریبا ۱۰ kDa به صورت مولکول پروتئینی کوچک و یکنواخت در ابعاد است. نمودار ، توزیع آمینو اسید های کراتین استخراج شده از پر مرغ و پشم را به یکی از روش های مرسوم استخراج مقایسه نموده است.

تفاوت اصلی دو نوع α-کراتین و β-کراتین در فیلامنت‌های واسطه می‌باشد.



نمودار ۲- مقایسه توزیع آمینو اسید های کراتین استخراج شده از پر مرغ و پشم به روش هیدرولیز قلیایی [۷-۸]

این فیلامنت‌ها در ساختار α-کراتین به شکل مارپیچ‌های تا خورده α بوده که از ترکیب این مارپیچ‌ها، میکروفیبریل‌ها تشکیل می‌گردد. در حالی که ساختار β-کراتین به شکل صفحه‌ای بوده و قطر فیلامنت‌های واسطه در آن کمتر اســـت. سختی ساختار صفحه ای β بیش تر از مارپیچ α بوده و رفتار مکانیکی هر دو نوع کراتین به رطوبت محتوی بستگی دارد؛ به نحوی که افزایش رطوبت محتوی به دلیل جذب رطوبت توسط ماتریس کراتین سبب کاهش سختی و مدول می‌گردد. [۹]

α-کراتین غنی از باقی‌مانده‌های سیســـتئینی است که با پیوندهای دی ســـولفیدی، زنجیرهای پلی پپتیدی مجاور را به هم متصل می‌کند. اگر مقدار گوگرد در این ساختار کم باشد، آن گاه α-کراتین، نرم (در پوست) و در غیر این صورت سخت (در پر، مو و ناخن) نامیده می‌شود. خاصیت ارتجاعی مو و لیف پشمی در نتیجه تمایل ساختار حلقوی پیچشی آن به بازگشت به حالت اولیه بعد از کشیده شدن است. اگر تعدادی از پیوندهای دی سولفیدی شکسته شود، آن گاه لیف α-کراتین توانایی کشیده شدن تا دو برابر طول اصلی را خواهد داشت. در این صورت زنجیر پلی‌پپتید به شکل صفحه‌ای β در می‌آید. این تغییر ساختار از شکل α به β در مقادیر کشـــش کم رخ می‌دهد. حلقه‌های مارپیچی پشم تحت تنش در آب به شـــکل زنجیر صاف در می‌آید. اگر زنجیرها در این شکل کشیده شده با برقراری پیوندهای جدید تثبیت نگردد، با حذف نیروی تنشـــی قادر به بازگشت به شـــکل مارپیچی خواهد بود و در حقیقت این تغییر ساختار برگشت‌پذیر سبب ایجاد خاصیت ارتجاع پذیری در پشم شده است[۱۰].

استخراج کراتین

برای استخراج ابتدا کراتین را از کورتکس جدا می‌کنیم، این کار با استفاده از مواد شـــیمیایی برای شکســـتن پیوندهای دی سولفیدی موجود در بافت‌های کراتینه انجام می‌شود. کراتین‌های آلفا و بتا از طریق اکسایش یا کاهش به ســـاختار بدون پیوندهای عرضی خود باز می‌گردند که طی آن سیستین به ترتیب به اسید سیستیک و سیستئین تبدیل می‌شود. پروتئین‌های آزاد استخراج شده از طریق محلول‌های دناتورکننده، محلولی ایجاد می‌کنند که می‌تواند از طریق فیلتراسیون و دیالیز خالص‌سازی شود. روش‌های مهم به کار گرفته شده برای حل کردن و جداسازی کراتین از منابع کراتین دار شامل این موارد است: روش احیا، اکسیداسیون، استخراج قلیایی، انفجار بخار، تجزیه از طریق یون سولفیت (سولفیتولیز) و مایعات یونی.

روش استخراج قلیایی به مقادیر قابل توجهی مواد شیمیایی قلیایی برای هیدرولیز و خنثی سازی اسیدها نیاز دارد. زنجیر اولیه کراتین و ساختار آن در روش هیدرولیز تخریب می‌شود. در روش احیا از مواد کاهنده مانند تیول‌ها (مثلا مرکاپتواتانول) که در بیش‌تر گزارش‌ها برای شکستن پیوند دی‌سولفیدی سیســـتین (S-S) و تشکیل سیستئین (S-H) آمده است، استفاده می‌شود. علی‌رغم این واقعیت که ساختار زنجیری کراتین در این روش حفظ شـــده است اما استفاده از موادی مثل مرکاپتواتانول معایبی هم چون گران بودن، ســـمی بودن و مضر بودن را به همراه دارد. سولفید ســـدیم به عنوان یک جایگزین شیمیایی ارزان‌تر از آن معرفی شده و به طور گسترده‌ای در استخراج کراتین از پشم تا مرحله تشکیل سیستئین و سولفونات سیستئین ($R-S-S-O_3H$) به عنوان جایگاه‌های پایدار برای کراتین حل شـــدنی به کار می‌رود [۱۱]. هر دو روش مقادیر زیادی اوره بـــرای دناتوره کـــردن پروتئین نیاز دارد که می‌توانـــد خواص فیزیکی و شیمیایی کراتین نهایی را تغییر دهد.

مایعات یونی به طور نســـبی حلال‌های ســـبز جدیدتری است که توجه زیادی را به خود جلب نموده است و برای بازیافت کراتین از پشم به کار

می‌رود. با این حال، این فرآیند باید تحت جریان گاز نیتروژن انجام شود و نیاز به کنترل دقیق دما دارد. مواد اولیه باید در مقادیر کم و به مایع داغ اضافه شود و کراتین به دست آمده در آب نامحلول است[۱۲].

در روش اکسیداسیون برای دهه‌ها از مواد اکسیدکننده مانند اسیدفرمیک یا پراستیک اسید استفاده شده است تا یک اسیدسولفونیک (RSO_3H) به‌دست آید. فرآیند معمولا فرآیندی زمان‌بر است و بیش از ۲۴ ساعت برای زمان واکنش مورد نیاز است تا بازدهی مناسب به‌دست آید]۱۳[. بسته به وجود یا عدم پیوندهای دی‌سولفیدی در ساختار کراتین، زیر بخش‌های گوناگونی می‌تواند حاصل شود که خواص فیزیکی متفاوتی خواهد داشت.

ساختار پایدار کراتین با پیوندهای دی‌سولفیدی در زنجیر پلی پپتیدی همراه است. این پیوند را می‌توان با استفاده از مواد شیمیایی حاوی تیول کاهش داد. مواد کاهنده گوناگونی تحت تاثیر شرایط مختلف در حضور عوامل دناتوره‌کننده پروتئین و pHهای گوناگون گزارش شده است. به عبارتی دیگر، کاهش پیوندهای سیستئینی توسط گروه‌های تیول مانند مرکاپتواتانول و یا تیوگلیکولیک اسید که می‌تواند کراتین محلول را از طریق یک واکنش جابه‌جایی نوکلئوفیلیک برگشت پذیر تولید نماید [۱۶-۱۴]. اوره به‌عنوان یک دناتوره‌کننده پروتئین، به طور عمومی برای افزایش حلالیت پذیری کراتین در آب به کار می‌رود. اوره در غلظت بالا (۸ m) باعث تورم ساختار کراتین از طریق تضعیف برهم‌کنش‌های هیدروفوبیک در زنجیر پلی‌پپتیدی و تسهیل اثر کاهنده بر زنجیر مذکور می‌گردد. در اکثر مطالعات، تیول قلیایی مورد استفاده قرار گرفته است و پژوهش گران تلاش کرده‌اند تا با استفاده از گاز بی اثر و حذف هوای فضای پیرامون تیول، اکسیداسیون خود به خودی تیول را کاهش دهند. ورود نیتروژن در فرآیند باعث پیچیده‌تر شدن کار گشته و گاهی ممکن است به علت اکسیداسیون خودکار صورت گرفته ترکیباتی با برخی از ناخالصی‌های نمونه‌ها در حمام‌های گوناگون ایجاد سازد.

در بسیاری از مطالعات، استخراج کراتین از پشم با هدف دست‌یابی به پروتئین تخریب شده با بازدهی بالا بررسی شده است. با این حال، در بسیاری از این مطالعات، فرآیند در دمای بالا یا pH بالا انجام شده که منجر به تخریب پروتئین و تشکیل لانتیونین در طول فرآیند گردیده است [۱۷].

اغلب مطالعات صورت گرفته فاقد اطلاعاتی در مورد خواص فیزیکی و شیمیایی کراتین به دست آمده است. شاید به دلیل روش‌های آماده سازی دشوار و بی ثباتی کراتین کاهش یافته، خواص کراتین استخراج یافته کاهش یافته مورد ارزیابی قرار نگرفته است.

یامائوچی و همکاران با استفاده از اوره، ۲-مرکاپتواتانول و سدیم دودسیل سولفات (SDS) توانستند یک محلول کراتین کاهش یافته ثابت و پایدار با بازدهی استخراج ۵۰ – ۴۵ درصد تهیه نمایند. دودسیل سولفات سدیم نرخ استخراج و پایداری کراتین بازیافتی در محلول آبی را افزایش می‌دهد. با حذف ۲-مرکاپتواتانول و اوره در طی آنالیز، پلی پپتیدهای کراتین می تواند تجمع یافته و سیستین می‌تواند اکسیده شود. با استفاده از سطح فعال می‌توان از تجمع زنجیر پلی پپتیدی جلوگیری کرد [۱۸].

هنگامی که در فرآیند استخراج کراتین از مقدار زیادی SDS استفاده می‌شود، اکسیداسیون کراتین به آهستگی صورت می‌گیرد. البته گروه دیگری از پژوهش‌گران، هیچ رابطه مثبتی بین بازدهی استخراج کراتین و مقدار دودسیل سولفات سدیم پیدا نکردند. به دلیل تشکیل یک کمپلکس بین سطح فعال و کراتین، مقدار کمی دودسیل سولفات سدیم می‌تواند در روش تولید فیلم یامائوچی باقی بماند.

برای تایید این یافته ها، شروویین و همکاران مشاهده کردند که تنها ۶۷٪ SDS افزوده شده پس از ۲۴ ساعت دیالیز و ۸۰٪ آن پس از ۶۵ ساعت حذف شده است و ۲۰٪ آن در کراتین استخراج شده نهایی باقی مانده است [۱۹]. شایان ذکر است وجود این باقی مانده سطح فعال باعث نمی‌شود که هیچ اثری بر ایمنی کراتین استخراج شده بگذارد؛ چرا که محققان هیچ سمیت سلولی فیبروبلاستی یا اثر منفی بر هضم کراتین توسط تریسین مشاهده نکردند. با این حال باقی مانده SDS بایستی در مصارف غذایی و دارویی در نظر گرفته شود.

در مطالعه ای که توسط گوپتا و همکاران در سال ۲۰۱۲ در خصوص استخراج پروتئین کراتین طبیعی از پر مرغ انجام شده است، از احیاکننده‌های مختلف استفاده شده است. نقش عوامل احیاکننده کاهش ثبات الیاف کراتینی موجود در پرها می‌باشد. این واکنش گرها، پیوند دی‌سولفیدی، هیدروژنی و اتصالات نمکی الیاف کراتینی را به منظور حل کردن آن‌ها و تبدیل به محلول پروتئینی می شکند [۲۰].

اطلاعات در مورد رفتار اتصال سطح فعال به کراتین برای کاربرد بالقوه کراتین حائز اهمیت است. اگر چه این اثر متقابل بسته به نوع منبع کراتین (مو، پشم، ناخن و ...) به علت ساختارهای ثانویه و سوم و اختلاف درجه اتصال عرضی پیوندهای دی‌سولفیدی می تواند بسیار پیچیده باشد.

سطح فعال‌های کاتیونیک و خنثی به اندازه سطح فعال‌های آنیونیک مانند SDS موثر نیست. برخی مطالعات اولیه نشان داد که افزایش غلظت تیول به بالای ۰/۵ m تاثیر کمی بر استخراج کراتین دارد.

با این حال کیاهارا و همکاران نشان دادند که ۰/۵ m ۲-مرکاپتواتانول به‌کار می‌رود صرفا نوع اپیدرمال کراتین‌ها مثل کراتین متمایزکننده پوست می‌تواند استخراج گردد؛ در حالی که انواع کراتین مو می‌تواند با افزایش غلظت تیول به ۲ m استخراج گردد [۲۱].

ناکامورا و همکاران یک روش اصلاح شده از روش یامائوچی با ترکیب تیواوره و اوره همراه با MEC به عنوان ماده کاهنده پیشنهاد دادند. این روش که به روش شیندای شناخته شده است و در دانشگاه شینشو توسعه یافته بر این اساس است که ترکیب تیو اوره و اوره همراه با MEC می‌تواند پروتئین را از قشر کورتکس به طور موثرتری در مقایسه با روش‌های معمولی حذف کند. پژوهشگرانی که روش شیندایی را با روش یامائوچی مقایسه کردند گزارش داده‌اند که راندمان روش مذکور ۶۵٪ بود که نسبت به راندمان روش یامائوچی که ۵۰-۴۵٪ است به طور معناداری بیش‌تر است. همچنین پروتئین استخراج شده با روش شیندایی شامل کراتین با وزن مولکولی بالا (۱۳۵ kDa-۱۱۰)، متوسط (۶۰ kDa-۴۰) و پایین (۲۰ kDa-۱۰) است؛ در حالی که در روش یامائوچی صرفا پروتئین با وزن مولکولی ۴۰ تا ۶۰ کیلو دالتون حاصل می‌شود [۲۲].

به همین علت ناکامورا و همکاران، افزودن تیواوره را پیشنهاد کردند تا جداسازی پروتئین‌های کراتین بهبود یابد. محققان همچنین روش

شیندایی را بر روی منابع گوناگون (پر مرغ، پشم و ...) آزمودند و راندمان بالای ۷۵٪ گزارش شـــد که در مقایسه با راندمان ۱۲- ۵٪ به دست آمده در روش شیندایی در تمامی نمونه‌های کراتین آزموده شده موثرتر بود و بنابرایـــن، این روش را می‌توان در همه انواع منابع کراتین دار به کار برد. علی‌رغم راندمان بالا و توانایی استخراج کراتین از مواد کراتینه گوناگون با این روش، پروتئین حاصل شـــده فقط می‌تواند در شکل کاهش یافته در محلول نگهداری شود و نیاز به مواد احیاکننده برای باقی ماندن در محلول لازم است[۲۲].

کراتین حاصله پس از برداشت از MEC رسوب می‌کند و بنابراین استفاده از دیالیز برای حذف اوره، تیواوره و MEC می‌تواند روی حلالیت کراتین اثر بگذارد. به علاوه، پایداری محلول به مقدار زیادی بســـتگی به نسبت غلظت MEC به اوره دارد و تغییرات کوچک در این نسبت می‌تواند باعث ته‌نشینی و رسوب پروتئین گردد.

محصولاتی که توسط پروتئین استخراج شده به روش شیندایی می‌توان تهیه کرد بسیار محدود بوده و تولید موادی مثل هیدروژل کراتین بسیار دردســـر ساز است. باروس با ثبت پتنت، توانست بر بی‌ثباتی پروتئین در روش شـــیندایی غلبه کند. در این روش، محلول پروتئین تغلیظ شده تا جایی که اوره شروع به بلورینه شدن می‌کند. سپس محلول در معرض هوا یا اکسیده شدن قرار می‌گیرد که منجر به تشکیل هیدروژل الاستیک و انعطاف‌پذیر با خواص خوبی برای شکل دادن، پردازش و بررسی و کنترل می‌گردد. این هیدروژل هم چنین به منظور حذف تمامی عوامل شیمیایی اضافه شسته شود.

اخیرا ژو و همکاران، MEC را با سیستئین که یک ماده کاهنده دوستدار محیط زیست است جایگزین کرده‌اند. این محققان پیشنهاد کرده‌اند که یک شکست کنترل شـــده پیوند دی سولفیدی با استفاده از سیستئین به دســـت آید. این محققان گزارش نموده‌اند که محصول نهایی، خواص مکانیکی خوبی دارد و آن را می‌توان برای تهیه الیاف ریســـید. بنابراین، روش مورد اشـــاره برای توســـعه موفقیت آمیز فیلم‌ها، اسفنج‌ها و دیگر شکل‌های مکانیکی پایدار مناسب می‌سازد[۲۳].

کاهش پیوندهای دی‌سولفیدی با استفاده از MEC یک روش استخراج کراتین با راندمان خوب است که دارای ساختار پایدار هم می‌باشد. با این حال، MEC یک ماده شـــیمیایی سمی است و به علت هزینه‌های بالای تجاری و زیست محیطی‌ای که دارد نامطلوب است و بوی نامطبوعی هم دارد. سولفیت سدیم می‌تواند جایگزین خوبی برای شکستن پیوندهای سولفیدی در استخراج کراتین باشد. این روش، اثرات صنعتی و تحلیلی بر فرآیند پردازش پشم دارد.

یون سولفیت پیوندهای دی‌سولفیدی را شکسته و آنیون‌های S-سولفونات طی یک واکنش برگشـــت‌پذیر تولید می‌شـــود. همچنین می‌توان، دی سولفید را به دو آنیون S-سولفونات طی یک واکنش برگشت‌ناپذیر تبدیل کرد[۲۴].

مایعات یونی (IL)، نمک هایی را می‌گویند که از ترکیب کاتیون‌های آلی و تعدادی از آنیون‌های غیرآلی که در دمای زیر ۱۰۰° ذوب می‌شوند تشکیل می‌شود [۲۵و۲۶]. این مایعات، برخی خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد از جمله فشـــار بخار کم، هدایت یونی بالا، غیرقابل اشتعال بودن، پایداری حرارتی بالا، حلالیت بالا در حلال‌های خاص و غیر فرار بودن را دارد. با توجه به این خواص، مایعات یونی به عنوان یک مایع سبز شناخته شـــده و به طور گسترده‌ای در استخراج زیست تودهال یا سنتز ارگانیک مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۷]. از مایعات یونی می‌توان برای استخراج کراتین استفاده کرد اما به دلیل گران بودن مایعات یونی، روش مرسومی حتی در مقیاس آزمایشگاهی نیست.

دهه‌ها پیش با کار زود هنگام ارلاند و همکاران استخراج کراتین به روش اکسیداسیون توسط اسید پراستیک ۲٪ به مدت ۳۰ ساعت و با عملیات با آمونیاک خفیف (۰/۲ نرمال) و در نهایت رسوب با استفاده از HCl انجام گرفته است [۲۸].

هنگام استفاده از اکسیدکننده‌های قوی مانند پراکسید هیدروژن و یا اسید پرفرمیک باقی‌مانده‌های سیستئین به اسید سیستئیک تبدیل می‌شود. در این فرآیند، تولید کراتوز محلول از طریق یک فرآیند برگشت‌پذیر میسر می‌باشد.

انفجار ناگهانی بخار (SFE) یک فرآیند هیدرولیز سبز است که برای تولید مواد پایه زیستی به کار می‌رود. در این فرآیند، ماده برای مدت کوتاهی در دمای بالای بخار قرار می‌گیرد که بخار آب در بافت سلول های ماده نفوذ می‌کند و سپس یک فشرده سازی تا حالت مایع و انفجار در واکنش یکی میلی ثانیه‌ای رخ می‌دهد. این فرآیند توسط تزریق بخار به داخل محفظه از طریق ورودی‌ها شروع می‌شود و پس از حدود ۵-۳ ثانیه فشار به داخل محفظه می‌رســـد. محفظه اصلی از یک پیستون و سیلندر تشکیل شده اســـت که در اثر افزایش فشار از طریق حرکت پیستون منفجر می‌شود. شتاب نیروی پیستون با سیستم محرک و نیز انرژی جنبشی بخار داخل محفظه ایجاد می‌شود. انفجار در ۰/۰۸۷۵ ثانیه اتفاق می‌افتد. این روش اثر کمی بر محیط زیست می‌گذارد و کم هزینه است [۲۹].

استفاده از اشعه مایکروویو برای استخراج کراتین را زوکولا و همکارانش بـــا توان متغیری در محدوده ۱۵۰ تا ۵۷۰ وات تا ۷ دقیقه و دمای ۱۸۰° انجام دادند و راندمان ۶۰ درصدی استخراج کراتین را گزارش کردند. نقش پیشنهادی مایکروویو تنها در افزایش دمای محلول و مزیت کلیدی این تکنیک در کاهش زمان فرآیند برای توزیع گرمایش همگن و تولید گرمای داخلی است[۳۰].

در مقایســـه با فرآیند انفجار بخار برای پر، در دمـــای ۲۰۰° برای ۱۰ و ۱۲۰ دقیقه که توسط تونین و همکاران انجام شده بود، به ترتیب روش مایکروویو در مقایسه با روش انفجار بخار مزیت سرعت بالاتر را دارد. اگر چه به سختی می‌توان از راندمان مایکروویو در مقایسه با SFE در دمای ۵۰° و زمان کم تر (۲ دقیقه) رضایت‌مند بود[۳۱].

استفاده از مایکروویو برای استخراج کراتین، منجر به کاهش قابل توجه سیستئین از ۹/۴۱ مول درصد به حدود ۰/۵ مول درصد در نمونه کراتین استخراج شده می‌گردد [۳۰].

از دیگر روش‌های استخراج کراتین، استفاده از عملیات میکروبی یا آنزیمی اســـت. تمام کراتین با اســـتفاده از عملیات میکروبی و آنزیمی نمی‌تواند استخراج و یا جدا گردد و به‌عنوان تخریب پروتئین برشمرده می‌شود. با اســـتفاده از این تکنیک مواد غنی از کراتین می‌تواند به پپتیدها تجزیه و هیدرولیز شـــده و ممکن است در صنعت زیست فناوری یا غذایی کاربرد

مفیدی داشـــته باشد. مواد غنی از پروتئین مانند پشم یا پر، منابع خوب مغذی مانند کربن، نیتروژن و گوگرد برای میکروارگانیسم‌ها در بردارد. از این رو یک رویکرد کاملا متفاوت برای استفاده از ضایعات مواد کراتینه در مقایسه با روش‌های دیگر که قبلا بررسی شده است را داریم.

آنزیم‌ها به عنوان کاتالیزور دارای مزایای متعددی نسبت به مواد شیمیایی اســت و به طور گسترده‌ای در فرآیندهای صنعتی و زیست فناوری مورد استفاده قرار می‌گیرد. حدود ۸۰٪ آنزیم‌های مورد استفاده در سراسر جهان از طریق راه‌های میکروبی تولید می‌شـــود [۳۲] و حدود ۶۵٪ از صنعت آنزیم در واکنش‌های آبکافت مورد استفاده قرار می‌گیرد[۳۳]. پروتئازها به طور گسترده‌ای در پردازش مواد غذایی و نیز برای هیدرولیز پیوندهای پپتیدی در صنایع شوینده مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۴].

دسته وســـیعی از پروتئازها می توانند در شرایط pH قلیایی در دمای ۶۰-۵۰° در حضـــور دیگر ترکیبات که منجر بـــه تخریب پیوندهای دی‌سولفیدی موجود در کراتین می‌شود عمل نموده و کراتین هیدرولیز شـــده حاصل کند. به طور مثال، ســـدیم هیدروژن سولفیت به‌عنوان احیاکننده به شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی در کراتین کمک کرده و اجازه دسترســـی به اتصال پلی پپتیـــدی را به آنزیم پروتئاز می‌دهد و ســـدیم دودسیل سولفات که یک ســـطح فعال آنیونیک است، باعث تسریع فرآیند استخراج و نیز پایداری محلول کراتین می‌شود. از سوی دیگر برای تهیه آســـان‌تر و راندمان بیش‌تر در تولید کراتین هیدرولیز شده می‌توان از روش‌های ترکیبی نیز بهره برد. به‌عنوان مثال می‌توان از هیدرولیز دو مرحله‌ای قلیایی- آنزیمی استفاده نمود که در این روش کالای پروتئینی مانند پشم را در محلول کلسیم هیدروکسید غوطه ور کرده و ســـپس کالا را با آنزیم پروتئاز واکنش داده و در انتها پروتئین هیدرولیز شده تولید می‌گردد. تحت شرایط شدیدتر، پشم ۶۰٪ تخریب می‌شود و غلظت محلول قلیایی در تخریب پشم بالاترین تاثیر را دارد.

استفاده از کراتین به عنوان زیست ماده

پروتئین‌های متعددی در تولید زیســـت مواد (زیست ماده) پایه طبیعی اســـتفاده شـــده‌اند که از جمله آنها می‌تـــوان کلاژن، آلبومین، ژلاتین، فیبروئین، کیتوســـان و کراتین را نام برد. از این میان، مواد پایه کراتینی به دلیل زیست سازگاری ذاتی، زیست تخریب‌پذیری، فراوانی و ماندگاری مکانیکی انقلابی عظیم در دنیای زیست مواد ایجاد کرده‌اند[۳۵] .

زیست ماده‌ها و پتانسیل کارآیی‌شان در زمینه‌های مختلف پزشکی توجه محققان بســـیاری را به خود جلب کرده است. استفاده از زیست مواد در مهندسی بافت به ویژه داربســـت‌ها، به منظور شبیه سازی محیط بدن بسیار توسعه یافته است. به دلیل نقش‌های ویژه بیوشیمیایی، مکانیکی و ساختاری ماکرومولکول‌ها، استفاده از این مواد در تولید زیست ماده‌ها و داربست‌ها گسترش یافته است. خصوصا زیست مواد پروتئینی به دلیل تسهیل بخشی در برهمکنش‌های سلول-ســـلول و سلول-ماتریس، در کاربردهای بیولوژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳۵].

کراتین، پروتئینی فوق العاده زیست سازگار و زیست تخریب‌پذیر است، از طرفی حاوی توالی آمینواســـیدی RGD و LDV است که این توالی در پروتئین‌هایی چون فیبرونکتین نیز یافت می‌شود. پیوندهای سلولی کراتین در واحدهای تکرار شونده آن می‌تواند با سایت‌های چسبنده ای که در ماتریس خارج سلولی یافت می‌شود، تطابق یابد[۳۶]. از طرفی همان طور که در بالا نیز به آن اشاره شد، کراتین‌های استخراجی توانایی ذاتی در آرایش یافتگی خودبه‌خودی و پلیمریزاسیون به داربست‌های فیبری متخلخل را دارند[۳]. این خواص در کنار هم یک ساختار سه بعدی فراهم می‌کنند که تصفیه، نفوذ، چســـبندگی، رشد و تکثیر سلول‌ها را فراهم می‌کند. بنابراین، کراتین می‌تواند برای ســـاخت ایمپلنت‌های مهندسی بافت مورد اســـتفاده قرار گیرد[۳۵، ۳۶]. البته لازم است محدودیت‌های کراتین از جمله اســـتحکام مکانیکی پایین و تورم آن در محیط آبی که یکپارچگی آن را از بین می‌برد، برطرف شوند[۳۷]. در ضمن باید به این مســـئله نیز توجه شـــود که کراتین یک مولکول به شدت مقاوم در برابر پروتئاز (مانند پپسین یا تریپســـین) بوده و در آب، محلول‌های اسیدی رقیق، آلکالین‌ها و دیگر حلال‌های ارگانیک نامحلول است. کراتین‌ها در حضور مواد دناتورکننده مانند اوره قابل حل خواهند بود[۳۸].

استخراج کراتین برای تهیه زیست ماده

پیش از استخراج کراتین به ویژه از پر مرغ، به دلیل وجود پاتوژن‌های خون در آن و در نتیجه خطرهای بیولوژیک احتمالی، لازم است پرها را شسته، خالص نماییم. برای اینکار از ســـورفکتانت‌های یونی و غیریونی استفاده می‌شود. برای خروج چربی‌ها استخراج سوکسله با استفاده از اتانول انجام می‌شـــود و برای استریل کردن کراتین از اوزون و سدیم کلریت استفاده می‌شود[۳۹].

کراتین‌های بدست آمده به روش اکسایش با پراستیک اسید یا هیدروژن پراکساید، کراتوز نامیده می‌شـــوند. کراتوزها جاذب آب بوده، پیوندهای عرضی غیرســـولفیدی داشـــته، محلول در آب بوده و مســـتعد تخریب هیدرولیتیک در pH های بالا هستند که باعث قطبی شدن زنجیره اصلی به دلیل خواص الکترونی سیســـتیک اسید می‌شود. این ویژگی‌ها باعث می‌شود که زیست ماده‌ها قادر به تخریب طی چند روز تا چند هفته در محیط درون بدن باشند. استخراج کراتین‌ها به روش کاهش که معمولا در آن از دی تیوتریتول ،۲-مرکاپتواتانول و تیوگلیکولیک اسید استفاده می شـــود خروج ۸۰٪ پروتئین ها را فراهم می‌کند. استخراج با استفاده از سدیم بی سولفات، سیستئین و نمک‌هایی تولید می‌کند که به شکل موقت اصلاح گروه‌های سولفیدی را انجام می‌دهند. کراتین‌های کاهش یافته یا کراتئین‌ها قطبیت کمتری داشته و به تبع آن کمتر در آب حل می‌شوند، در pH های بالا پایدارتر بوده و می‌توانند دوباره از طریق شبکه اکسیداتیو گروه‌های سیستئین پیوند عرضی تشکیل دهند. این مسئله باعث ماندگاری زیســـت مـــواد در درون بدن برای چند هفته تا چند ماه می‌شـــود[۴۰]. این کراتین‌های استخراجی می‌توانند به صورت مستقیم و یـــا پس از اعمال اصلاحاتی مورد اســـتفاده قرار گیرند. طی مطالعه ای آلکیل کردن کراتئین‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. محققان این مطالعه معتقدند که گروه‌های تیول موجود در کراتئین را می‌توان به راحتی آلکیله نمود که این مسئله نرخ‌های سایش متنوعی برای ژل‌های کراتینی در انتقال دارو به همراه خواهد داشت. در این تحقیق از یدواستامید به عنوان عامل آلکیل کننده سیستین کراتین استفاده شده است. نتایج بدست آمده نشان

می‌دهند که ژل‌های ساخته شده از کراتوز، کراتئین و کراتئین اصلاح شده ظاهر یکسانی داشته اند. کراتوزهای بدست آمده مدول الاستیک و مدول ویسکوزیته پایین تری نسبت به کراتئین داشته اند و هیدروژل های اصلاح شده کراتئین، مدول الاستیکی بین کراتوز و کراتئین داشته‌اند که علت کمتر بودن مدول الاستیک کراتئین‌های آلکیل شده نسبت به کراتئین را میتوان کاهش پیوندهای دی سولفیدی حین آلکیلاسیون دانست. این کراتئین های اصلاح شده مدول ویسکوزیته تقریبا مشابهی با کراتئین ها داشته‌اند اما این پارامتر نسبت به کراتوزها به شکل چشمگیری بیشتر بوده است. بررسی زیست سازگاری کراتئین های آلکیل شده نشان می‌دهد که این فرایند اصلاحی تأثیر قابل توجهی در افزایش سمیت کراتین نداشته و توانایی ماده برای جذب سلول ها راحفظ می‌کند. در نهایت نتایج نشان می‌دهند که با کاهش پیوندهای دی‌سولفیدی میزان رهایش مواد درمانی (به اســتثنای rhBMP-2) افزایش یافته است که این مسئله نقش نرخ فرسایش کراتین را در رهایش دارو نشان می‌دهد[۴۱]. یکی از روش‌هایی که برای استخراج کراتین از پشم و پر بکار برده شده است اصلاح آنزیمی با استفاده از یک عامل کاهش دهنده می‌باشد. در مطالعه صورت گرفته پیرامون این موضوع، تأثیر پارامترهای مختلفی چون نحوه استفاده از آنزیم، نوع بستر و سورفکتانت، زمان هیدرولیز و غلظت عامل کاهش مورد بررسی قرار گرفته[۴۲،۴۳]و بهترین نتیجه از استفاده از g/L ۱ سدیم دودسیل سولفات به عنوان سورفکتانت، ۲،۶٪ پروتئاز و ۸،۶ و ۶،۴ گرم بر لیتر سدیم هیدروژن سولفات به عنوان عامل کاهش، برای استخراج کراتین از پشم و پر، دریافت شده است[۴۲].

امروزه کراتین را می‌توان در ساختارهای مختلفی از جمله پودر، فیلم، ژل، الیاف، اسفنج و فوم یافت که در کاربردهای پزشکی استفاده می‌شود که در ادامه به کاربردهای آنها اشاره خواهد شد.

زیست ماده های کراتینی و کاربردشان در پزشکی

اولین مستندات اســتفاده از کراتین در کاربردهای پزشکی، به یک گیاه شناس چینی به نام لی شی جن [۴۴] در قرن ۱۶ باز می‌گردد. در مدت ۳۸ سال شی جن، مجموعه‌ای از ۸۰۰ کتاب نوشته است که حاوی بیش از ۱۱۰۰۰ دستورالعمل و نسخه گیاهی است. در میان آنها جسمی متشکل از خاکستر بدست آمده از موی انسان به چشم می‌خورد که برای سرعت بخشــی به درمان زخم و انعقاد خون استفاده شده است. البته جزئیاتی پیرامون فعالیت‌های بیولوژیک موی مورد استفاده گزارش نشده است.

در طول ســال‌های ۱۹۰۵ تا ۱۹۳۵، روش‌های متعددی برای استخراج کراتین با استفاده از فرایند اکسایش-کاهش بکار رفته است[۳۵]. خواص بیولوژیک کراتین‌های استخراجی توجهات را به سمت استفاده از کراتین در پزشــکی ســوق داده و در میان اولین ابداعات می‌تــوان به پودرهای کراتینی که برای کاربردهای زیبایی، کامپوزیت‌ها و پوشش دارو استفاده شدند، اشاره نمود[۹].

دانشمندی ژاپنی به نام نویشیکی [۴۵]، اولین مطالعه پیرامون استفاده از کراتین بدست آمده از پشم در پوشش آنتی باکتریال گرفت رگی برای تخمین انعقاد خون و زیست سازگاری کراتین را انجام داد. طی این مطالعه از ۲۶ ســگ برای آزمایشات درون تنی استفاده شد و نتایج ضمن اثبات زیست سازگاری آن، نشــان دادند که بیش از ۹۵٪ پوشش طی ۶۱ روز جذب شده و سلول‌های آندوتلیال جدید جایگزین آنها شده‌اند.

یامائوچــی [۴۶] و همکارانش نیز جزء اولین افرادی بودند که تحقیقات پیرامون خواص محصولات تولید شده از کراتین‌های پشم را آغاز کردند و خواص فیزیکی و شیمیایی و زیست تخریب‌پذیری فیلم های کراتینی را توضیح دادند. این افراد نشان داده اند که فیلم‌های کراتینی خالص برای کاربردهای عملی بسیار حساس و شکننده هستند و با افزودن گلیسرول به آنها، شفافیت، استحکام، انعطاف پذیری و زیست تخریب پذیری را برای آنها فراهم کرده‌اند.

فوجی [۴۷] و همکارانش نیز امکان پیوستن مولکول‌های زیست فعالی چون آلکالین فسفات را به فیلم‌های کراتینی برای کاربردهای کنترلی آنها نشان داده‌اند.

لی [۴۸] و همکارانش ســاختار دوم فیلم‌های کراتین/ فیبروئین ابریشم را مــورد مطالعه قرار دادند. فیبروئین ابریشــم، یکی دیگر از پلیمرهای طبیعی است که به دلیل زیست سازگاری و زیست تخریب‌پذیری ذاتی خود توجهات زیادی را به خود جلب کرده اســت. لی[۴۹] و همکارانش طی مطالعات خود دریافتند که کویل‌های رندم فیبروئین به دلیل حضور آمینواسیدهای کراتین به β-sheet تغییر یافته‌اند. این فیلم‌های ترکیبی خواص ضد انعقادی خوبی از خود نشــان داده و در مقایســه با زیســت ماده‌های خالص کراتین و SF، زیست سازگاری بهتری داشته‌اند.

واسگونزالس [۵۰] و همکارانش نیز با بررسی خواص مکانیکی و تخریبی فیلم‌های کراتین/ فیبروئین ابریشم دریافتند که این دو پروتئین می‌توانند برهمکنش‌های منحصر به فردی با هم داشــته باشند که خواص توده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این برهمکنش‌ها و آگاهی نســبت به نرخ‌های تخریب، امکان طراحی ماتریسی برای رهاسازی ترکیبات فعالی به منظور استفاده در پزشکی را فراهم می‌کند.

تونیــن [۵۱] و همکارانش ارتباط میان پلی اتیلن اکســاید و فیلم‌های کراتینی را به منظور بهبود خواص ســاختاری کراتین، مورد بررسی قرار دادند. بررســی‌های مورفولوژیکی، ساختاری و حرارتی فیلم‌های کراتین/ PEO نشان داده اســت که در یک سطح مناسب، کراتین از کریستالی شدن پلی اتیلن اکساید جلوگیری می‌کند و PEO نیز خود سازی کراتین را از طریق القای بیشتر پایداری حرارتی و تغییر ساختار پروتئین، تحت تأثیر قرار می‌دهد. خواص ساختاری بهبود یافته فیلم های کراتین/ PEO، امکان استفاده از مواد کراتینی به عنوان داربست هایی برای رشد سلولی، زخم پوش ها و پوشش های انتقال دارو را فراهم می‌کند.

اخیرا فیلم‌های کراتینی برای بازسازی سطح چشم استفاده شده‌اند که در آن از پرده آمنیوتیک انسانی استفاده شده است. نتایج نشان می‌دهد که فیلم‌های کراتینی می‌توانند جایگزین غشای آمنیوتیک در چشم پزشکی شوند، زیرا فیلم‌های کراتینی شفاف‌تر و سخت‌تر از پرده آمنیوتیک، با سطح یکسانی از چسبندگی و رشد سلول های اپی تلیال قرنیه هستند[۴۰].

تاچیبانا [۵۲] و همکارانش با اســتفاده از انجماد خشک محلول‌های آبی کراتین، پس از فریز کردن کنترل شــده آن‌ها، اســفنج‌های کراتینی با ساختارهای ســخت و پایدار حرارتی با میکروتخلخل‌های همسان تهیه کردند و به عنوان داربست های مهندسی بافت مورد استفاده قرار دادند.

کراتین‌ها، که توالی های آمینواسیدی RGD و LDV دارند، سازگاری سلولی خوبی از خود نشان داده و از چسبندگی سلولی و تکثیر فیبروبلاست‌ها حمایت کردند. اسفنج‌های کراتینی اصلاح شده با استفاده از یدواستیک اسید، ۲- برواتیل آمین و یدواستامید مشابهت زیادی با ماتریس خارج سلولی پروتئین‌ها از خود نشان داده و حضور گسترده گروه‌های فعال در اسفنج‌ها امکان هیبریداسیون بعدی با مولکول‌های زیست فعال را فراهم می‌کند. تاچیبانا [۵۳،۵۴] و همکارانش از طریق هیبریداسیون اسفنج‌های کراتینی با کلسیم فسفات این مسئله را اثبات کردند. مواد هیبرید شده بدست آمده، از رشد سلول‌های استئوبلاست حمایت کرده‌اند. اسفنج های کربوکسی کراتین با استفاده از پروتئین مورفوژنتیک استخوان نیز تولید شده‌اند. سلول‌های خارج از محل قرارگیری BMP-2 تمایز نیافته‌اند و این نشان می‌دهد که تأثیرات BMP-2 تنها محدود به بخش اصلاح شده اسفنج است. این یافته‌ها برای کاربردهای درون تنی بسیار مطلوب است چرا که انتظار می‌رود استفاده از این داربست‌ها، استخوان سازی داخلی را بهبود بخشیده و از جابه‌جایی‌های ناخواسته استخوانی در خارج از محدوده مورد نظر جلوگیری کند.

سیرپینسکی هیل [۵۵] و همکارانشان نشان داده‌اند که هیدروژل‌های پایه کراتینی خاصیت القای عصبی داشته و در ترمیم آسیب عصبی موش مؤثر واقع شده‌اند. این دانشمندان به چند دلیل معتقدند استفاده از هیدروژل‌های کراتین، که می‌توانند به عنوان ماتریس‌های فیبری عمل کرده و از چسبندگی سلولی حمایت کنند، در ترمیم عصب محیطی بسیار کارآمد است: اول اینکه می‌دانیم فراهم کردن یک ماتریس موقت اولین گام در بازسازی عصب است و برای یک شکاف طولانی عصب ماتریس مطلوبی شکل نمی‌گیرد. ایمپلنت داربست پایه کراتینی اطمینان از حضور داربست را فراهم می‌کند. دوم اینکه داربست‌های پایه کراتینی مناطق پیوندی مانند فیبرونکتین دارند که چسبندگی سلول‌های شوان به ماتریس فراهم شده را تسهیل می‌بخشد. همچنین، زیست ماده‌های پایه کراتینی مهاجرت، رشد، تکثیر و فعالیت سلول‌های شوان را افزایش می‌دهند و سوم اینکه هیدروژل‌های کراتینی مورد استفاده در این مطالعه پس از ۳ الی ۴ هفته شروع به تخریب می‌کنند که در مقایسه با سایر داربست‌ها، امکان رشد آکسون را فراهم می‌کند. هیدروژل‌های مورد استفاده در عصب تیبیال موش نسبت به اتوگرفت عصب حسی، بهبود الکتروفیزیولوژیک عصب را تسهیل می‌بخشد.

هیدروژل‌های کراتینی بدست آمده از موی انسان تأثیر بسزایی به عنوان بند آورنده جریان خون در درمان آسیب مهلک کبد در یک مدل خرگوش داشته‌اند. در مقایسه با دیگر عوامل انعقادی، ژل هموستاتیک کراتینی، ۲۴ ساعت حیات را به همراه داشته است و اگر بهتر از باقی عوامل سنتی انعقادی نبوده، به همان اندازه در جلوگیری از خونریزی مؤثر بوده است. ژل کراتینی مورد استفاده در بخش های آسیب دیده از طریق ترومبوز و ایجاد مانع فیزیکی در بخش های زخم به عنوان داربست متخلخل عمل کرده تا فیلتراسیون سلولی و تولید بافت گرانوله را ممکن سازد[۳۵].

شن [۵۶] و همکارانش هیدروژل های کراتینی را برای درمان دقیق آنفارکتوس میوکارد بهبود بخشیده اند. هیدروژل های کراتینی بدست آمده از موی انسان در قلب تزریق شده، رگزایی را بهبود بخشیده اند، بدون اینکه التهاب افزایشی و بازسازی ضعیف قلب را داشته باشند و بدین ترتیب عملکرد قلب را حفظ کرده اند.

طی مطالعه‌هایی که توسط پورانکی [۵۷] و همکارانش صورت گرفته است عملکرد زخم پوش‌های کراتینی در مورد زخم‌های حاصل از سوختگی مورد بررسی قرار گرفته است. از ویژگی‌های زخم پوش می‌توان به کنترل ترشحات ناشی از زخم، جداشدن راحت آن از محل زخم، تأمین چسبندگی و رشد سلول‌ها و خواص مکانیکی مطلوب اشاره کرد[۵۸]. نتایج حاصل نشان داده‌اند که هیدروژل‌های کراتینی رطوبت لازم برای درمان زخم را فراهم می‌کنند ضمن اینکه رشد سلول‌های اپیتلیال را سرعت‌می‌بخشند.

همچنین یافت شده است که نسبت به دیگر درمان‌ها، استفاده از هیدروژل‌های کراتوز، افزایش اندازه زخم را به دنبال نداشته و بسته شدن زخم سریع‌تر صورت گرفته است. همچنین نتایج حاکی از آن است که این هیدروژل‌ها نسبت به کیتوسان و سالین به شکل چشمگیری ناحیه زخم را کاهش داده‌اند.

پودرهای کراتینی به عنوان جاذب پوشش‌های زخم، بهبود درمان زخم را از طریق رهاسازی پپتیدهای کراتینی به دنبال داشته‌اند. پپتیدهای حلال در آب کراتین که از طریق استخراج اکسیداتیو از موی انسان بدست آمده‌اند به عنوان عوامل درمان زخم مورد استفاده قرار گرفته‌اند که رشد و تمایز سلول های فیبروبلاست درم انسان را تقویت می‌کنند. اخیرا کراتین های بدست آمده از هر دو روش اکسایش و کاهش برای زخم‌های حاصل از سوختگی در مدل‌های انسانی و حیوانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. زخم‌های سوختگی درمان شده به وسیله مواد کراتینی، کاهش اندازه زخم و سرعت بخشی به درمان زخم را موجب شده‌اند. پودرهای کراتینی کراس لینک شده، فیلم‌ها و هیدروژل‌ها رشد چشم‌گیر رده های سلولی مورد نیاز در درمان زخم، مانند سلول‌های اندوتلیال رگ‌ها، کراتینوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها را به همراه داشته است[۴۰].

ژو [۵۹] و همکارانش از داربست‌های کراتینی برای ایمپلنت گذاری زیرجلدی و برای درمان آسیب‌های پوست موش استفاده کرده‌اند. نتایج، زیست تخریب‌پذیری، زیست سازگاری و عملکرد مثبت زیست ماده‌های کراتینی در درمان زخم را تأیید کرده‌اند. در مقایسه با فرایند خود ترمیمی زخم‌ها، داربست‌های کراتینی، منجر به رگزایی زودتر، انقباض کمتر و ایجاد فولیکول‌های جدید مو می‌شوند.

کامپوزیت های پایه کراتینی و کاربردشان در پزشکی

هونگ بو [۳۶] و همکارانش طی تحقیقی استفاده از داربست‌های متخلخل کامپوزیتی کراتین/ کیتوسان در درمان زخم و بازسازی پوست را مورد بررسی قرار دادند. داربست های زیست ماده های مختلف می‌توانند به عنوان یک حامل محافظ، جاذب مواد مترشحه اضافی زخم و نگهدارنده رطوبت محیط عمل کنند که کاهش درد را موجب می‌شود و سرعت بهبود آن را افزایش می‌دهد. کیتوسان دارای خاصیت آنتی باکتریال فوق العاده‌ای می باشد که با اعمال اصلاحاتی می‌تواند در برابر هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی این خاصیت خود را حفظ کند[۳۶]. همچنین به دلیل قیمت مناسب، فرایند و روش تولید آسان، خواص حمل

اکسیژن عالی، زیست تخریب‌پذیری، زیست سازگاری و غیر سمی بودنش کاربردهای فراوانی دارد[۶۰]. انتظار می‌رود که ترکیب کراتین و کیتوسان خواص مکانیکی و فعالیت آنتی باکتریال داربست‌های کامپوزیتی را بهبود بخشد که این مسئله برای درمان زخم و بازسازی پوست بسیار سودمند است. نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که مورفولوژی داربست‌های متخلخل کراتین/ کیتوسان با تغییر نسبت کیتوسان تغییر می‌کند و داربست‌هایی با نسبت کیتوسان بالا، ساختاری شبیه پوست با تخلخل‌های بیضی شکل از خود نشان می‌دهند. افزودن کیتوسان به داربست‌های پایه کراتینی نرخ تورم داربست را با افزایش آبدوستی کاهش می‌دهد. همچنین افزایش غلظت کیتوسان نرخ تخریب را کاهش می‌دهد. نتایج نشان می‌دهند که حضور کیتوسان در این داربست‌ها با افزایش کشسانی، استحکام مکانیکی و مدول یانگ داربست، باعث بهبود خواص مکانیکی آن می‌شوند که این مسئله برای حمایت‌های فیزیکی ترمیم بافت پوست به عنوان یک زخم پوش بسیار حائز اهمیت است. اما از طرفی افزایش غلظت کیتوسان باعث کاهش چشمگیری در میزان تخلخل ها می‌شود که رفتار سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. همان طور که در بالا نیز به آن اشاره شد این داربست‌های کامپوزیتی تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی را تا بیش از ۸۰٪ کاهش داده‌اند. سازگاری سلول آن‌ها نیز از طریق کشت سلول‌های فیبروبلاست، که جزء مهمترین رده های سلولی دخیل در ترمیم زخم و پوست می‌باشند، در غلظت مشخصی از کیتوسان اثبات شده است. بهترین مقدار کیتوسان برای ایجاد داربست های کراتین/ کیتوسان ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر است تا بهترین چسبندگی سلولی و رشدو تکثیر را داشته باشیم. این نتایج نشان می‌دهند که داربست‌های متخلخل کراتین/کیتوسان می‌توانند به عنوان داربست‌هایی برای بهبود درمان زخم و بازسازی پوست مورد استفاده قرار گیرند[۳۶].

انجلا ادواردز [۳۷] و همکارانش با استفاده از روش الکتروریسی موفق به تولید نانوالیاف کامپوزیتی پایه کراتینی در ترکیب با پلی-ای-کاپرولاکتون شده‌اند که این کار مواد جدیدی را برای کاربردهای مهندسی بافت و پزشکی ترمیمی فراهم کرده است. الکتروریسی روشی است که از ولتاژ بالا برای ایجاد الیاف پلیمری از محلول باردار استفاده می‌کند. با اعمال ولتاژ، محلول‌های پلیمری باردار به سمت پایین کشیده شده، به صورت الیاف روی یک جمع کننده که در قسمت پایین دستگاه تعبیه شده است، جمع آوری می‌شوند[۳۵].در میان روش‌های تولید داربست، الکتروریسی به دلیل تولید الیاف بافته نشده و فراهم کردن ساختاری سه بعدی مشابه ساختار ECM بسیار مورد توجه قرار گرفته است[۶۱]. نانوالیاف بدست آمده از این روش فواید زیادی، به ویژه در تولید داربست‌هایی با خواص فیزیکی و شیمیایی نزدیکی با خواص ECM طبیعی دارند. ECM پستانداران از پروتئوگلیکان‌ها و الیاف پروتئین ساخته شده است که هر دوی آن‌ها ساختاری در ابعاد نانو دارند و می‌توانند از طریق مواد بدست آمده از الکتروریسی به خوبی تقلید شوند[۶]. به علاوه فراهم ساختن خواصی از جمله نسبت سطح به حجم بالا، تخلخل زیاد، بهبود چسبندگی سلولی، تکثیر و مهاجرت سلول ها این الیاف را برای کاربردهای پزشکی ایده آل میسازد[۶۲]. به همین علت و به دلیل این تشابه با ECM، در هم رفتگی های نانوالیاف بدست آمده این امکان را فراهم آورده است که از آن‌ها برای پوشش زخم، انتقال دارو و مهندسی بافت در بافت های پیچیده‌ای چون استخوان، کبد، قلب، ماهیچه و... استفاده شود. در این مطالعه برای تهیه نانوالیاف، ابتدا کراتین را از موی انسان استخراج کرده و سپس با پلی کاپرولاکتونی که در تترافلوئورواتیلن حل شده است ترکیب می‌کنند. PCL در کاربردهای مهندسی بافت بسیار رایج است ، چراکه خواص مکانیکی و زیست تخریب پذیری مطلوبی دارد اما از طرف دیگر به شدت هیدروفوب بوده و وابستگی سلولی محدودی دارد. بنابراین انتظار می‌رود هیبرید نانو الیاف کراتین/ PCL خواص بیولوژیک مطلوب کراتین و خواص مکانیکی PCL را به همراه داشته باشد. نانوالیاف کراتین/ PCL بدست آمده پیوستگی، یکپارچگی و خواص مکانیکی مطلوبی از خود نشان داده‌اند. نتایج بیانگر این است که افزودن کراتین به PCL باعث افزایش آبدوستی می شود و همچنین کاهش کریستالینیته PCL را به همراه دارد که این کاهش کریستالینیتی می‌تواند نرخ زیست تخریب‌پذیری الیاف را کنترل‌پذیر نماید. زیست سازگاری این نانوالیاف نیز با کاشت سلول های فیبروبلاست اثبات شده است. مزیتی که تولید این نانوالیاف کامپوزیتی نسبت به دیگر کامپوزیت های بدست آمده در ترکیب با PCL دارند این است که این نانوالیاف برای حفظ استحکام مکانیکی و تأمین یکپارچگی خود نیازمند کراس لینک های شیمیایی که سمی شدن پلیمر نهایی را به همراه دارد نمی‌باشد که این مسئله در کاربردهای پزشکی بسیار با اهمیت است. داربست‌های نانوالیاف کراتین/ PCL بدست آمده از روش الکتروریسی ارزان بوده، ساخت و پردازش آسانی داشته و قابلیت تولید در مقیاس بالا را دارد و استفاده از آن در مهندسی بافت به زودی گسترش خواهد یافت[۳۷].

یوآن [۶۳] و همکارانش کامپوزیت نانوالیاف پلی(هیدروکسی توبیلایت-کو-هیدروکسی وارایت)/کراتین ساخته‌اند که حضور کراتین منجر به ایجاد دانه هایی روی شبکه شده که توزیع وزن مولکولی کراتین را به همراه داشته است.

حال به تحقیق دیگری اشاره می‌کنیم که به بررسی عملکرد و ویژگی‌های کامپوزیت‌های پلی لاکتیک اسید/ کیتوسان/ کراتین برای کاربردهای پزشکی می‌پردازد.

تاناس و اسپیریدون [۶۰] با تولید این کامپوزیت‌ها کارآیی آن‌ها را در مهندسی بافت استخوان مورد ارزیابی قرار داده‌اند. پلی لاکتیک اسید یکی از پلی‌استرهای سنتزی است که از منابع کاملا تجدید شدنی بدست می‌آید. این ماده به دلیل زیست سازگاری و قابلیت جذب به طور گسترده در کاربردهای پزشکی چون نخ های بخیه، داربست‌های مهندسی بافت، دستگاه‌های ارتوپدی و یا سیستم‌های انتقال دارو استفاده شده است، اما این کاربردها به دلیل خواص ذاتی ضعیفش مانند استحکام ضربه کم و پایداری حرارتی پایین محدود شده‌اند. کراتین مورد استفاده در این تحقیق از پر مرغ بدست آمده است. نتایج بدست آمده از تحقیق نشان می‌دهند کیتوسان در ترکیب با PLA باعث بهبود مدول یانگ شده و استحکام کششی PLA را کاهش می‌دهد. افزودن کراتین نیز باعث افزایش استحکام ضربه و کاهش خواص مکانیکی در مقایسه با کامپوزیت کیتوسان/ PLA می‌شود. همچنین پیوندهای کووالانت قوی در ساختار

کراتین این ماده را نسبت به تخریب مقاوم می‌کند. خواص جذب سطحی مطلوبی نیز از آن‌ها دریافت شده است. زیست سازگاری این کامپوزیت‌ها نیز از طریق کشت سلول های استئوبلاست روی نمونه‌ها به اثبات رسیده است. در واقع با توجه به نتایج می‌توان نتیجه گرفت که کامپوزیت‌های PLA/ کیتوسان/ کراتین روی زیست پذیری سلول ها تأثیری نداشته و از رشد این سلول‌ها حمایت کرده و فضای مناسب برای تکثیر سلول را فراهم می‌کند، در نتیجه قابلیت استفاده در مهندسی بافت استخوان را دارند.

ثابت شده است که کراتین ماتریس مناسبی برای انتقال آنتی بیوتیک‌ها و نانوذرات فلزی با فعالیت آنتی باکتریال، مانند یون‌های نقره می‌باشد. همچنین ثابت شده است که کامپوزیت‌های پایه کراتینی، انتقال درون سلولی مواد ضد سرطانی را بهبود می‌بخشند. یک کوپلیمر گرفت کراتین-پلی اتیلن گلیکول در محلول آبی از طریق تیولن سنتز شده است تا یک حامل دارویی جدید با خواص رهایشی ۲ برابر فراهم کند. کامپوزیت بدست آمده قابلیت بارگذاری نمک دوکسوروبیسین هیدروکلراید ، که برای درمان تومور استفاده می‌شود، را دارد. آزمایشات برون تنی انجام شده نشان میدهند که نانوذرات گرفت کراتین-PEG که با DOX پوشش داده شده‌اند، با بازدهی بالایی ذرات فعال را به درون سلول وارد می‌کنند. به دلیل پخش بافت و الگوهای بیان مشخصه ویژه آنها در انواع مشخص سلول، مراحل تمایز و موقعیت های عملکردی، کراتین‌ها به عنوان نشانگر انواع مختلف سلول استفاده شده اند. کاربرد کراتین به طور ویژه برای سرطان‌هایی با تمایز هیستولوژی ضعیف، سرطان‌های پخش شده در چند ارگان و متاستاز یک تومور اولیه ناشناخته می‌باشد[۳۸].

برتری های کراتین:

نتایج نشان می‌دهد که کراتین می‌تواند از حل شدن کامل قرص‌ها در معده جلوگیری کند. در هر نوعی از محلول‌ها، قرص‌های پوشش داده شده با کراتین بیشترین زمان عدم انحلال را در مقایسه با قرص‌های ژلاتینی دارند. کراتین در اسید معده نامحلول است اما در روده قابل حل است. کراتین خالص شده، در محیط روده که ترکیبی از آب و الکل است پراکنده می‌شود. پیش از استفاده ازمحلول کراتینی برای دستیابی به فیلم پیوسته لازم است قرص‌ها ابتدا با لایه نازکی از روغن کاکائو پوشش داده شوند[۳۸].

اکثر نانوالیاف ساخته شده از طریق آمیختن پلیمرهای طبیعی و سنتزی مانند کلاژن-PCL و ژلاتین- PCL برای حفظ استحکام مکانیکی و تأمین یکپارچگی ساختاری‌شان در محیط آبی، نیازمند برقراری پیوندهای عرضی شیمیایی هستند که اکثر این اتصالات سمی است اما نانو الیاف پلیمری کراتین- PCL بدست آمده از روش الکتروریسی بدون تشکیل این اتصالات نیز استحکام مکانیکی مورد نیاز ما را دارا می‌باشد[۳۷].

نتایج مطالعات صورت گرفته حاکی از آن است که چسبندگی سلولی روی زمینه کراتینی بیشتر از چسبندگی روی کلاژن بوده است، همچنین رشد و تمایز سلولی در بسترهای کراتینی مورد حمایت بیشتری قرار گرفته است[۲]. از طرفی داربست‌های کراتینی به سرعت کلاژن تخریب نمی‌شوند[۷]. زخم پوش های کلاژنی در محل زخم حاصل از سوختگی که به شدت پروتئولیتیک است، به سرعت تخریب می‌شوند در حالی‌که زخم پوش‌های کراتینی ماندگاری بیشتری دارند. کیتوسان در کل خواص تخریبی ضعیفی دارد[۳۶]. کیتوسان و آلیجینات به دلیل ویژگی‌های فیزیکی خود، توانایی ذاتی تسهیل بهبود زخم از جمله زخم‌های سوختگی را ندارند. به علاوه از دیگر نقاط منفی زخم پوش‌های آلیجینات می‌توان سمیت سلولی و تحریک پاسخ‌های ایمنی آن را نام برد، در حالی‌که کراتین هیچ یک از این مشکلات را ندارد[۵۷].

ترکیب کراتین با سلولز، الیافی با خواص جذبی بهتر، رطوبت‌پذیری بالاتر و زاویه ترشوندگی کمتری نسبت به الیاف سلولز خالص فراهم می‌کند. به علاوه، الیاف سلولز-کراتین زیست تخریب‌پذیری بهتری نسبت به الیاف سلولز دارند[۳۵].

نتیجه‌گیری

اگرچه کراتین برای دهه‌های طولانی مورد بررسی قرار گرفته است اما هنوز هیچ زیست ماده کراتینی به شکل کلینیکی گسترده استفاده نمی‌شود. در این مقاله به کاربردهای زیست ماده‌ها و کامپوزیت‌های کراتینی در پزشکی اشاره شده است. زیست ماده‌های کراتینی فواید زیادی برای بیومولکول‌های متداول دارند و می‌توانند به دلیل زیست سازگاری و زیست تخریب‌پذیری مطلوب، تمایل به خودسازی و شیمی منحصر به فردشان در جهت بهبود زیست ماده‌های حاضر مورد استفاده قرار گیرند. فرم‌های مختلف زیست ماده‌های کراتین از جمله فیلم‌ها، هیدروژل‌ها، اسفنج‌ها و الیاف کراتینی با نتایج مطلوبی در سیستم‌های مدرن انتقال دارو، کاربردهای زیبایی، درمان زخم، مهندسی سلول و بافت (استخوان، پوست، گرفت های رگی و بازسازی عصب) مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با شناخت بهتر این ماده و ویژگی‌های آن و همچنین گسترش مطالعات پیرامون روش‌های بهبود خواص مکانیکی و فیزیکوشیمیایی ترکیبات کراتینی، انتظار می‌رود که استفاده از آن‌ها در زمینه‌های مختلف پزشکی گسترش یابد.[۲-۶۵-۶۶]

مراجع:

1. https://zistyad.ir/bnlps, (Last visited 4 March 2021)
2. Sharma S, Kumar A. Keratin as a Protein Biopolymer. Springer; 2019.
3. Jin E, Reddy N, Zhu Z, Yang Y. Graft polymerization of native chicken feathers for thermoplastic applications. Journal of agricultural and food chemistry.,59:1729-38, 2011
4. Dou Y, Huang X, Zhang B, He M, Yin G, Cui Y. Preparation and characterization of a dialdehyde starch crosslinked feather keratin film for food packaging application. Rsc Advances.,5,27168-74, 2015

5. Cavaco-Paulo A, Gubitz G, editors. Textile processing with enzymes, CRC press, Woodhead publishing limited, Cambridge, UK, 2003
6. Maclaren, J. A. & Milligan, B., Wool Science: The Chemical Reactivity of the Wool Fiber, Science Press, Australia, 1981.
7. Burnett LR, Rahmany MB, Richter JR, Aboushwareb TA, Eberli D, Ward CL, Orlando G, Hantgan RR, Van Dyke ME. Hemostatic properties and the role of cell receptor recognition in human hair keratin protein hydrogels. Biomaterials.,34,2632-40, 2013
8. Klimek K, Ginalska G. Proteins and peptides as important modifiers of the polymer scaffolds for tissue engineering applications—A review. Polymers.,12,844, 2020
9. Meyers, M. A., Chen, P.-Y., Lin, A. Y.-M., & Seki, Y. Biological materials: Structure and mechanical properties, Progress in Materials Science, 53, 1-206, 2008
10. Onions, W. J., Wool: An introduction to its properties, varieties, uses and production, Interscience publishers, A division of John Wiley and Sons, New York,1962.
11. Aluigi A, Tonetti C, Rombaldoni F, Puglia D, Fortunati E, Armentano I, Santulli C, Torre L, Kenny JM. Keratins extracted from Merino wool and Brown Alpaca fibres as potential fillers for PLLA-based biocomposites. Journal of materials science.,49, 6257-69, 2014
12. Ghosh A, Clerens S, Deb-Choudhury S, Dyer JM. Thermal effects of ionic liquid dissolution on the structures and properties of regenerated wool keratin. Polymer degradation and stability., 108,108-15, 2014
13. Earland C, Knight CS. Studies on the structure of keratin: I. The analysis of fractions isolated from wool oxidized with peracetic acid. Biochimica et biophysica acta. ,17,457-61, 1955
14. Goddard, DR., Michaelis, L., J. Biol. Chem., 112, 361-371,1935
15. Patterson,W., Geiger W.B., Mizell L., Milton, H., Journal of Research of the National Bureau of Standards, 27, 1951
16. Savige WE. The dispersion of wool protein by thiols in acid solution. Textile Research Journal.,30,1-10,1960
17. Katoh K, Tanabe T, Yamauchi K. Novel approach to fabricate keratin sponge scaffolds with controlled pore size and porosity. Biomaterials. ,25,4255-62, 2004
18. Schrooyen PM, Dijkstra PJ, Oberthür RC, Bantjes A, Feijen J. Stabilization of solutions of feather keratins by sodium dodecyl sulfate. Journal of colloid and interface science., 1,240, 30-9, 2001
19. Gupta R, Sharma R, Beg QK. Revisiting microbial keratinases: next generation proteases for sustainable biotechnology. Critical reviews in biotechnology, 33, 216-28, 2013
20. Kitahara T, Ogawa H. The extraction and characterization of human nail keratin. Journal of dermatological science., 2,402-6, 1991
21. Nakamura A, Arimoto M, Takeuchi K, Fujii T. A rapid extraction procedure of human hair proteins and identification of phosphorylated species. Biological and Pharmaceutical Bulletin., 25, 569-72, 2002
22. Xu H, Ma Z, Yang Y. Dissolution and regeneration of wool via controlled disintegration and disentanglement of highly crosslinked keratin. Journal of Materials Science, 49, 7513-21, 2014
23. Yang Y, Reddy N. Potential of using plant proteins and chicken feathers for cotton warp sizing. Cellulose. , 20, 2163-74, 2013
24. Ghosh A, Collie SR. Keratinous materials as novel absorbent systems for toxic pollutants. Defence Science Journal., 64, 209, 2014
25. Solinas M, Pfaltz A, Cozzi PG, Leitner W. Enantioselective hydrogenation of imines in ionic liquid/carbon dioxide media. Journal of the American Chemical Society., 126, 16142-7, 2004
26. Fernández JF, Waterkamp D, Thöming J. Recovery of ionic liquids from wastewater: Aggregation control for intensified membrane filtration. Desalination., 224, 52-6, 2008
27. Poole CF, Poole SK. Extraction of organic compounds with room temperature ionic liquids. Journal of Chromatography A, 1217, 2268-86, 2010
28. Earland C, Knight CS. Studies on the structure of keratin: I. The analysis of fractions isolated from wool oxidized with peracetic acid. Biochimica et biophysica acta., 17, 457-61, 1955
29. Zhao W, Yang R, Zhang Y, Wu L. Sustainable and practical utilization of feather keratin by an innovative physicochemical pretreatment: high density steam flash-explosion. Green chemistry., 14, 3352-60, 2012
30. Zoccola M, Aluigi A, Patrucco A, Vineis C, Forlini F, Locatelli P, Sacchi MC, Tonin C. Microwave-assisted chemical-free hydrolysis of wool keratin. Textile Research Journal., 82, 2006-18, 2012
31. Tonin C, Zoccola M, Aluigi A, Varesano A, Montarsolo A, Vineis C, Zimbardi F. Study on the conversion of wool keratin by steam explosion. Biomacromolecules, 7, 3499-504,

2006
32. Sanchez S, Demain AL. Enzymes and bioconversions of industrial, pharmaceutical, and biotechnological significance. Organic Process Research & Development.,15, 224-30, 2011
33. Johannes TW, Zhao H. Directed evolution of enzymes and biosynthetic pathways. Current opinion in microbiology., 9, 261-7, 2006
34. Daroit DJ, Brandelli A. A current assessment on the production of bacterial keratinases. Critical reviews in biotechnology., 34, 372-84, 2014
35. Rouse JG, Van Dyke ME. A review of keratin-based biomaterials for biomedical applications. Materials. , 3, 999-1014, 2010
36. Tan HB, Wang FY, Wei DI, Zhang Y, Jing DI, Di Xin CA, YU KF, Jun YA, Liu YA, XU YQ. Fabrication and evaluation of porous keratin/chitosan (KCS) scaffolds for effectively accelerating wound healing. Biomedical and Environmental Sciences., 28, 178-89, 2015
37. Edwards A, Jarvis D, Hopkins T, Pixley S, Bhattarai N. Poly (ε-caprolactone)/keratin-based composite nanofibers for biomedical applications. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials., 103, 21-30, 2015
38. Dan Mogosanu G, Mihai Grumezescu A, Carmen Chifiriuc M. Keratin-based biomaterials for biomedical applications. Current drug targets., 15, 518-30, 2014
39. Pourjavaheri-Jad, F., Shanks, R., Czajka, M., and Gupta, A., Purification and Characterization of Feathers prior to Keratin Extraction, The 8th International Chemical Engineering Congress & Exhibition, Kish, Iran, 2014.
40. Vasconcelos A, Cavaco-Paulo A. The use of keratin in biomedical applications. Current drug targets., 14, 612-9, 2013
41. Han S, Ham TR, Haque S, Sparks JL, Saul JM. Alkylation of human hair keratin for tunable hydrogel erosion and drug delivery in tissue engineering applications. Acta biomaterialia., 23, 201-13, 2015
42. Eslahi N, Dadashian F, Nejad NH. An investigation on keratin extraction from wool and feather waste by enzymatic hydrolysis. Preparative Biochemistry and Biotechnology., 43, 624-48, 2013
43. Eslahi N, Hemmatinejad N, Dadashian F. From feather waste to valuable nanoparticles. Particulate Science and Technology., 32, 242-50, 2014
44. Zhen LS, Mu BC. The Time Literature & Art Press: Changchun. Jilin, China. 2005
45. Noishiki Y, Ito H, Miyamoto T, Inagaki H. Application of denatured wool keratin derivatives to an antithrombogenic biomaterial-vascular graft coated with a heparinized keratin derivative. Kobunshi Ronbunshu., 39, 221-7, 1982
46. Yamauchi K, Yamauchi A, Kusunoki T, Kohda A, Konishi Y. Preparation of stable aqueous solution of keratins, and physiochemical and biodegradational properties of films. Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials., 31, 439-44, 1996
47. Fujii T, Ogiwara D, Arimoto M. Convenient procedures for human hair protein films and properties of alkaline phosphatase incorporated in the film. Biological and Pharmaceutical Bulletin., 27, 89-93, 2004
48. Lee KY, Ha WS. DSC studies on bound water in silk fibroin/S-carboxymethyl kerateine blend films. Polymer. , 40, 4131-4, 1999
49. Lee KY, Kong SJ, Park WH, Ha WS, Kwon IC. Effect of surface properties on the antithrombogenicity of silk fibroin/S-carboxymethyl kerateine blend films. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition., 9, 905-14, 1998
50. Vasconcelos A, Freddi G, Cavaco-Paulo A. Biodegradable materials based on silk fibroin and keratin. Biomacromolecules., 9, 1299-305, 2008
51. Tonin C, Aluigi A, Vineis C, Varesano A, Montarsolo A, Ferrero F. Thermal and structural characterization of poly (ethylene-oxide)/keratin blend films. Journal of thermal analysis and calorimetry., 89, 601-8, 2007
52. Tachibana A, Furuta Y, Takeshima H, Tanabe T, Yamauchi K. Fabrication of wool keratin sponge scaffolds for long-term cell cultivation. Journal of biotechnology., 93, 165-70, 2002
53. Tachibana A, Kaneko S, Tanabe T, Yamauchi K. Rapid fabrication of keratin–hydroxyapatite hybrid sponges toward osteoblast cultivation and differentiation. Biomaterials., 26, 297-302, 2005
54. Tachibana A, Nishikawa Y, Nishino M, Kaneko S, Tanabe T, Yamauchi K. Modified keratin sponge: binding of bone morphogenetic protein-2 and osteoblast differentiation. Journal of bioscience and bioengineering., 102, 425-9, 2006
55. Apel PJ, Garrett JP, Sierpinski P, Ma J, Atala A, Smith TL, Koman LA, Van Dyke ME. Peripheral nerve regeneration using a keratin-based scaffold: long-term functional and histological outcomes in a mouse model. The Journal of hand

surgery., 33, 1541-7, 2008
56. Shen D, Wang X, Zhang L, Zhao X, Li J, Cheng K, Zhang J. The amelioration of cardiac dysfunction after myocardial infarction by the injection of keratin biomaterials derived from human hair. Biomaterials., 32, 9290-9, 2011
57. Poranki D, Whitener W, Howse S, Mesen T, Howse E, Burnell J, Greengauz-Roberts O, Molnar J, Van Dyke M. Evaluation of skin regeneration after burns in vivo and rescue of cells after thermal stress in vitro following treatment with a keratin biomaterial. Journal of biomaterials applications., 29, 26-35, 2014
58. Abdali Z, Yeganeh H, Solouk A, Gharibi R, Sorayya M. Thermoresponsive antimicrobial wound dressings via simultaneous thiol-ene polymerization and in situ generation of silver nanoparticles. Rsc Advances. ,5, 66024-36, 2015
59. [59] Xu S, Sang L, Zhang Y, Wang X, Li X. Biological evaluation of human hair keratin scaffolds for skin wound repair and regeneration. Materials Science and Engineering: C., 33, 648-55, 2013
60. Tanase CE, Spiridon I. PLA/chitosan/keratin composites for biomedical applications. Materials Science and Engineering: C., 40, 242-7, 2014
61. Khorshidi S, Solouk A, Mirzadeh H, Mazinani S, Lagaron JM, Sharifi S, Ramakrishna S. A review of key challenges of electrospun scaffolds for tissue-engineering applications. Journal of tissue engineering and regenerative medicine., 10, 715-38, 2016
62. Chomachayi MD, Solouk A, Mirzadeh H. Electrospun silk-based nanofibrous scaffolds: fiber diameter and oxygen transfer. Progress in biomaterials, 5, 71-80, 2016
63. Yuan J, Xing ZC, Park SW, Geng J, Kang IK, Shen J, Meng W, Shim KJ, Han IS, Kim JC. Fabrication of PHBV/keratin composite nanofibrous mats for biomedical applications. Macromolecular Research., 17, 850-5, 2009
64. Yamauchi K, Maniwa M, Mori T. Cultivation of fibroblast cells on keratin-coated substrata. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition., 9, 259-70, 1998
65. Ramakrishnan N, Sharma S, Gupta A, Alashwal BY. Keratin based bioplastic film from chicken feathers and its characterization. International journal of biological macromolecules., 111, 352-8, 2018
66. Łaba W, Chorążyk D, Pudło A, Trojan-Piegza J, Piegza M, Kancelista A, Kurzawa A, Żuk I, Kopeć W. Enzymatic degradation of pretreated pig bristles with crude keratinase of Bacillus cereus PCM 2849. Waste and biomass valorization., 8, 527-37, 2017