زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس
دوره 7، شماره 3، ویژه‌نامه 1395

مروری بر تثبیت نوری مولکول‌های پیام‌رسان زیستی با کاربردهای پزشکی و زیستی

مژگان حیدری*، مژگان باقری
استادیار، پژوهشکده فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج

* کرج، کدپستی 316-31787
m.heydari@merc.ac.ir
(دریافت مقاله: 93/10/4 پذیرش مقاله: 94/12/15)

چکیده- تثبیت نوری مولکول‌های پیام‌رسان زیستی نظیر عوامل رشد و سایتوکین‌ها برای توسعه مواد فعال زیستی حائز اهمیت فراوان می‌باشد. زیرا اینگونه مواد سهم مهمی در کشت هدفمند سلولی، تثبیت نوری از طریق ایجاد اتصال جانبی در روکش ترمیمی دندان در دندان‌پزشکی، سیلانت زیستی در مهندسی بافت و به عنوان عامل جلوگیری از چسبندگی‌های بعد از عمل جراحی، طراحی و ساخت داربست سلولی و حکاکی نوری دارند. تثبیت نوری مولکول‌های پیام‌رسان زیستی فرایندی به مراتب پیچیده‌تر از تثبیت آنزیم در یک راکتور زیستی یا فعل و انفعالات گیرنده-لیگاند می‌باشد، زیرا مولکول‌های پیام‌رسان زیستی بر روی سلول‌های زنده عمل می‌کنند که ساختار و وظایف خیلی پیچیده‌تر و مهمتری دارند. این مقاله مروری، پیشرفت‌های از گذشته تاکنون در زمینه تثبیت نوری مولکول‌های پیام‌رسان زیستی با کاربردهای پزشکی و زیستی را پوشش می‌دهد. ابتدا حکاکی نوری و طرح‌دار کردن سلول‌ها بررسی شده، سپس به بررسی مولکول‌های پیام‌رسان زیستی و فرایند تثبیت نوری و همچنین تثبیت هم‌زمان چند ترکیب پرداخته می‌شود. از آنجا که خواص مواد روی سطح به طور مستقیم نقش مهمی در عملکرد سلول و طرح‌دارکردن آن دارد، به همین دلیل به بررسی چسبندگی، مهاجرت و رشد سلولی پرداخته خواهد شد. در انتها نیز سامانه‌های زیستی فعال در برابر تابش نورهای فرابنفش، مرئی و لیزر و نیز بعضی از کاربردهای درون سلولی آنها مورد بررسی قرار می‌گیرد.

کلیدواژگان: تثبیت نوری، عامل رشد، مولکول‌های پیام‌رسان زیستی، حکاکی نوری، لیزر دی‌اکسیدکربن.

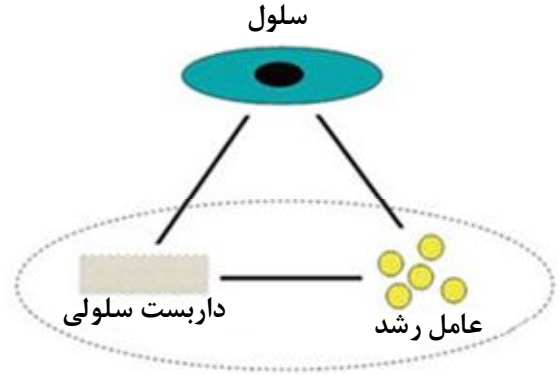
1- مقدمه

فن‌آوری‌های اخیر بخصوص اهدا پیوند عضو و اندام‌های مصنوعی یکی از بهترین روش‌های درمانی نجات زندگی است که برای درمان بیماران نیازمند به تعویض اندام یا بافت‌های معیوب به علت تصادف، جراحت، سرطان یا آسیب دیدگی مادرزادی استفاده می‌شود. اگرچه پیشرفت‌های حاصله در روش‌های جراحی، سرکوب سیستم ایمنی و مراقبت‌های بعد از عمل باعث زنده ماندن

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

بیشتر و بالارفتن کیفیت زندگی شده است، اما هنوز هم مسائل بی‌شماری برای استفاده از پیوندهای زیستی نظیر عوارض و کمبود اهدا کننده و پس زدن بافت وجود دارد. تاکنون تعداد زیادی از مواد طبیعی و مصنوعی به منظور جایگزینی بافت‌های آسیب دیده توسعه پیدا کرده‌اند، اما نتایج حاصله چندان رضایتبخش نبوده است. مهندسی بافت به عنوان یک جایگزین امیدبخش می‌باشد که توسط آن اندام یا بافت توانائی تعمیر، تعویض و یا حتی تولید را می‌تواند داشته باشد [1]. در مهندسی بافت، بافت جدید از طریق رشد سلول‌ها بر روی یک داربست قابل جذب زیستی حاوی عوامل رشد تولید می‌شود (شکل 1).

این فرایند می‌تواند شامل سه جزء سلول‌ها، داربست سلولی و عوامل رشد باشد. پیشرفت‌های اخیر در زیست‌شناسی سلولی باعث کشف انواع مختلف سلول‌های بنیادی شده است. بدین منظور نیاز به راکتورهای زیستی است که بتوانند تعداد سلول‌های بنیادی را افزایش دهند و برای ساخت این راکتورهای زیستی یک سری مواد جدید برای افزایش رشد[1] و یا تمایز[2] سلول‌ها مورد نیاز می‌باشد. به منظور طراحی مواد زیستی، فصل مشترک سلول‌ها و پروتئین‌ها نقش بسیار مهمی را بازی می‌کند [2].



شکل 1 اصول مهندسی بافت: تثبیت عوامل رشد در داخل و بر روی داربست سلولی [2]

[1] Growth
[2] Differentiation

بخصوص برای توسعه مواد راکتورهای زیستی و یا مواد فعال زیستی که بتوانند بازسازی سلولی[3] را در بدن افزایش دهند، بکاربردن پروتئین‌های پیام‌رسان زیستی نظیر عوامل رشد و سایتوکین‌ها[4] حائز اهمیت فراوانی است. اگرچه مثال‌های زیادی از طراحی مواد برای چسبندگی سلول وجود دارد، اما تحقیقات اندکی در زمینه تنظیم عملکردهای سلولی شامل بیان ژن[5]، رشد[6]، تمایز[7]، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی[8]، تبدیل و تحول[9] و غیره انجام شده است. در این مقاله، مروری به تثبیت نوری مولکول‌های پیام‌رسان زیستی و سازوکارهای مؤثر و همچنین تحقیقات انجام گرفته با کاربردهای پزشکی و زیست‌شناسی پرداخته می‌شود.

2- حکاکی نوری[10]

حکاکی نوری یک روش ایجاد طرح بر روی سطح است که در اثر قرار گرفتن در یک میدان الکترومغناطیسی نظیر تابش نور فرابنفش و یا لیزر انجام می‌پذیرد. هر چند این روش ابتدا کاربردهای الکترونیکی داشته است، اما امروزه کاربردهای ویژه‌ای را در فرآیندهای زیستی نظیر زیست‌شناسی سلولی، حسگرهای زیستی، مهندسی بافت و غربال‌گری با کارکرد بالا[11] دارد. در واقع، این روش یک ابزار آزمایشگاهی مفید در مطالعه و کنترل رفتار سلول‌های متصل به سطح می‌باشد [3]. حکاکی نوری، اصلاح انتخابی یک سطح حساس به نور از طریق تابش نور از میان یک ماسک نوری است، که نتیجه آن ایجاد یک سطح انتخابی اصلاح شده مربوط به مناطق طرح‌دار در معرض نور و یا قسمت‌های ماسک شده در غیاب نور می باشد. خواص سطح مواد زیستی در پاسخ به بافت و

[3] Regeneration
[4] Cytokines
[5] Gene Expression
[6] Proliferation
[7] Differentiation
[8] Apoptosis
[9] Transformation
[10] Photolithography
[11] Hts = High-Throughput Screening

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

پیام‌رسان‌های سلولی اهمیت ویژه‌ای دارد. در واقع اگر وقایع روی سطح سلول بتواند پیام ویژه‌ای را القا کرده و آن را تحریک نماید، متعاقب آن مواد زیستی با تثبیت مولکول‌های زیستی، توانایی بالقوه تنظیم عملکردهای مختلف سلولی نظیر رشد، تمایز و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را خواهند داشت. محققان تاکنون روش‌های مختلفی را برای اصلاح سطح به منظور القای پاسخ زیستی خاص بررسی کرده‌اند [۵،۴].

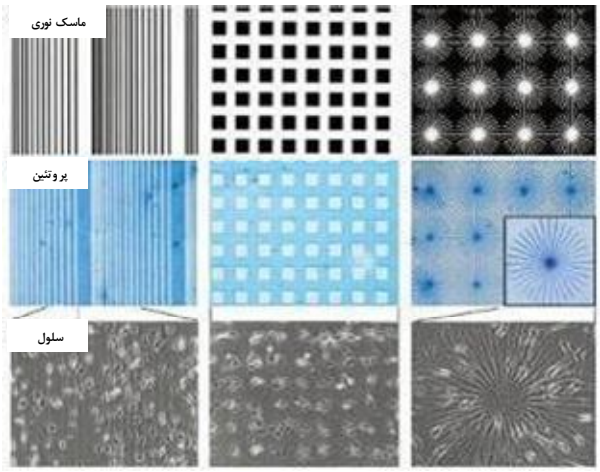
از کاربردهای این طرح در پزشکی و زیست فناوری می‌توان به ایجاد طرح و کشت سلولی هدفمند روی قسمت‌های مطلوب بافت زنده در سامانه‌های آزمایشگاهی و بدن موجودات زنده اشاره کرد. در واقع روش ایجاد طرح[1] روی سطوح با گروه‌های عاملی زیستی، اجازه کنترل کامل در فصل مشترک زیرلایه[2] و محیط سلولی را می دهد. بدین معنی که سطوح اصلاح می شوند تا بتوانند با سلول‌ها در جهت کنترل شده و خاص واکنش دهند [6]. این روش اجازه بررسی هم‌زمان، سریع و آسان هزاران عنصر را در یک آزمایش منفرد تحت شرایط یکسان می‌دهد. این روش بسیار مفید برای مشاهده و بازبینی اثر مولکول‌های زیستی تثبیت شده بر روی سطح به منظور مطالعه برهمکنش‌های بین سلول و سطح، اثرات ریخت شناسی بر عملکرد سلول، مهاجرت، رشد سلول و همچنین به عنوان تنظیم کننده رفتار سلولی می باشد [7]. بطور مثال پروتئین‌های چسبنده نظیر فیبرونکتین[3]، لامینین[4] لامینین[4] و ویترونکتین[5] می توانند بطور کووالانسی با سطوح تک لایه اصلاح شده با آلکان تیول، آلکان آمینو و یا سایر زنجیره‌های آلکان با گروه‌های انتهایی جانبی پیوند برقرارکنند [۸،۵]. سپس با ایجاد طرح‌هایی در مقیاس میکرونی می‌توان سلول‌ها را وادار به رشد و مهاجرت فقط در راستای طرح نمود (شکل 2).

[1] Micropatterning
[2] Substrate
[3] Fibronectin
[4] Laminin
[5] Vitronectin

حکاکی نوری همچنین برای طرح‌دار کردن سلول‌ها روی زیرلایه‌های سیلیکونی از طریق طرح‌دار کردن آلکیل سیلان‌ها کاربرد دارد. اوتسونی[6] و همکاران توانستند پروتئین‌ها و سلول‌ها را روی سطوح مختلف غشای پلیمری تثبیت کنند، بطوری که این غشا از خاصیت انعطاف قابل توجهی برخوردار بوده است و به‌راحتی خم می‌شود (شکل 3) [3].

3- مولکول‌های پیام‌رسان زیستی[7]

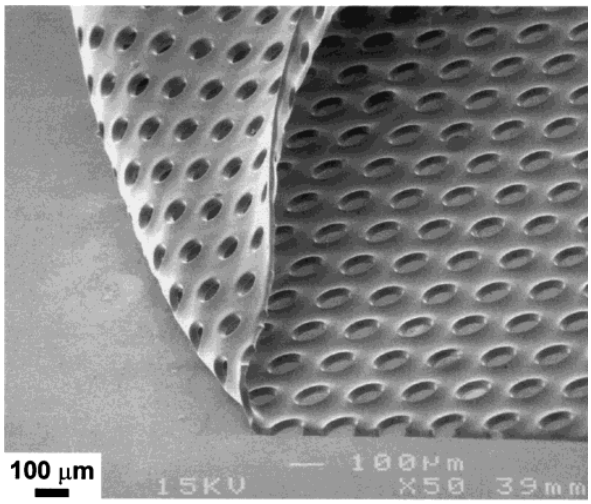
پیشرفت‌های اخیر باعث کشف تعداد زیادی از مولکول‌های پیام‌رسان زیستی شده است که بیشتر شامل انواع پروتئین‌های رشد و سایتوکین‌ها می‌باشند، که فعالیت‌های پیچیده سلولی را فرماندهی می‌کنند. پاسخ سلول به پیام‌های محیط اطراف و واکنش صحیح به آنها، پایه و بنیاد رشد، بازسازی بافت، ایمنی و همچنین تنظیم عملکرد بافت‌های سالم می‌باشد.



شکل 2 طرح‌دار کردن با ماسک نوری (بالا) پروتئین‌ها (وسط) و سلول‌ها (پائین) روی سطوح [8]. ابتدا ماسک نوری روی سطح قرار داده می شود و سپس با تابش نور از میان ماسک، عوامل فعال زیستی نظیر پروتئین‌ها و سلول‌ها روی سطح با طرح ماسک نوری تثبیت می‌شوند

[6] Ostuni
[7] Biosignal Molecules

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]



شکل 3 تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از یک غشای سیلیکونی طرح‌دارشده با خاصیت ارتجاعی با منافذ و سوراخ‌های 100 میکرونی. ضخامت غشا 50 میکرون می‌باشد [3]

اشتباه در پردازش داده‌های سلولی می‌تواند منجر به بیماری‌هایی مانند سرطان و بیماری قند شود [9].

انواع مختلف عوامل رشد که به‌طور مستقیم در فرایند تثبیت نوری روی سطوح فعالیت می‌کنند، عبارت از انسولین، عامل رشد انسولین[1]، عامل رشد اپیدرمال[2]، عامل رشد عصبی[3]، عامل رشد استخوان[4]، عامل رشد اندوتلیال اندوتلیال عروقی[5]، عامل رشد فیبروبلاست[6]، عامل رشد تغییر شکل دهنده بتا[7]، عامل رشد هپاتوسیت[8] و عامل رشد مشتق از پلاکت[9] می‌باشند [۵،۴].

4- تثبیت نوری[10]

فرایند تثبیت نوری ابتدا برای تهیه تراشه‌های زیستی ریزآرایه[11] به‌کار گرفته شد. در این فرایند انواع گوناگون مولکول‌های آلی و سلول‌ها روی یک تراشه بطور کوالانسی تثبیت می‌شوند. علاوه بر آن، پلیمرهای آب‌دوست باعث کاهش برهمکنش‌های ناخواسته با اجزاء زیستی نیز می‌شوند. اساس روش تثبیت نوری، ایجاد رادیکال‌های فعال با استفاده از تابش نور می‌باشد. از آنجا که واکنش‌های رادیکالی برای هر ماده آلی نظیر مولکول‌های زیستی، ماتریس پلیمری و سطح یک تراشه الکترونیکی رخ می‌دهد، برخلاف سایر روش‌های معمول تثبیت نیازی به داشتن گروه‌های عاملی همانند گروه‌های آمینی، کربوکسیل، هیدروکسیل و تیول نمی‌باشد. بنابراین اجزای گوناگون زیستی می‌توانند به‌راحتی تثبیت شوند. همچنین این روش برای فعل و انفعالات گوناگون مولکول‌های تثبیت شده با مواد قابل تجزیه مناسب است، زیرا نقاط شناسایی روی مولکول‌های تثبیت شده محدود نمی‌باشد. گروه‌های فعال در برابر نور در فرایند تثبیت نوری بکار برده می‌شوند. انواع گوناگون پروتئین‌ها، آنتی بادی‌ها و سلول‌ها توسط روش فوق، ریزآرایه شده‌اند و واکنش‌های بین آنها توسط محققان گوناگون بررسی شده است. این روش کاربردهای گوناگون و مهمی نظیر ژنومیکس[12]، پروتئومیکس[13]، سلومیکس[14] و آنالیزهای بالینی دارد [10].

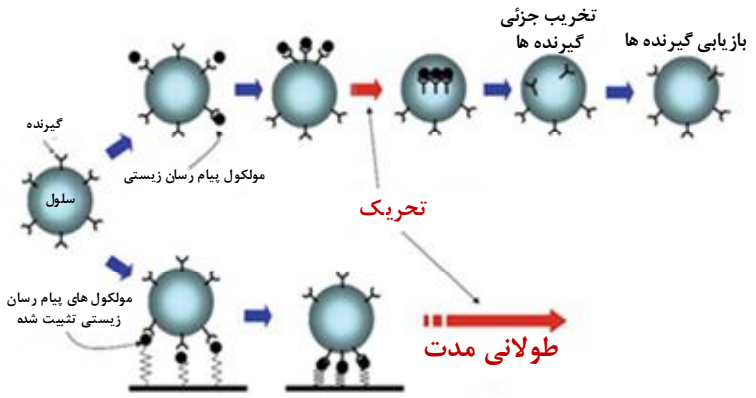
5- مراحل مختلف فرایند تثبیت نوری[15]

شکل 4 مراحل مختلف فعال شدن مولکول‌های پیام‌رسان زیستی شامل عوامل رشد و سایتوکین‌ها را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این شکل مشاهده می شود، ابتدا مولکول‌های پیام‌رسان زیستی با گیرنده برهمکنش داده، تشکیل یک کمپلکس می‌دهد که منجر به فسفرگیری خودکار[16] گیرنده‌های محدوده سیتوپلاسم می‌شود.

[1] Igf-1 = Insulin Growth Factor-1
[2] Egf = Epidermal Growth Factor
[3] Ngf = Nerve Growth Factor
[4] Bmp = Bone Morphogenetic Protein
[5] Vegf = Vascular Endothelial Growth Factor
[6] Fgf = Fibroblast Growth Factor
[7] Tgf-B = Transforming Growth Factor Beta
[8] Hgf = Hepatocyte Growth Factor
[9] Pdgf = Platelet-Derived Growth Factor
[10] Photo-Immobilization
[11] Microarray Biochips

[12] Genomics
[13] Proteomics
[14] Cellomics
[15] Photo-Immobilization Mechansim
[16] Autophosphorylation

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]



شکل4 برهمکنش سلول‌ها با عوامل رشد در دو حالت محلول (مسیر بالایی) و تثبیت شده (مسیر پایینی) [11]. انتقال پیام توسط مولکول‌های تثبیت شده طولانی‌تر نسبت به حالت محلول می‌باشد

این فرایند فسفرگیری بنوبه خود پدیده انتقال پیام داخل سلولی[1] را فعال می‌کند. به عبارت دیگر کمپلکس‌های تشکیل شده متراکم شده و این مجموع متراکم شده به داخل سلول‌ها وارد می‌شوند. این ورود همراه با دو سازوکار بستگی به پروتئین رشته‌ای وابسته به کلاترین[2] و و مستقل از کلاترین[3] اتفاق می‌افتد که منجر به بازیافت گیرنده‌ها به غشاء پلاسمائی برای حساس شدن مجدد و یا خاموش کردن گیرنده‌ها به لیزوزوم‌ها به منظور کاهش پاسخ دهی[4] گیرنده‌های پروتئینی غشا می‌شود [2].

اگر انتقال پیام[5] از مولکول‌های پیام‌رسان زیستی به سلول‌ها به علت تشکیل کمپلکس آنها با گیرنده باشد، انتظار می‌رود که مولکول‌های پیام‌رسان زیستی تثبیت شده بتوانند روی سطح ماده تاثیر بگذارند. علاوه براین، انتقال پیام توسط مولکول‌های تثبیت شده طولانی‌تر نسبت به حالت محلول خواهد بود [2].

6- تثبیت هم‌زمان چند ترکیب[6]

به منظور افزایش اثر عوامل رشد تثبیت شده، سایر مولکول‌های بزرگ نیز می‌توانند بطور هم‌زمان روی سطوح تثبیت شوند. افزایش اثرات زیستی، فیزیکی و شیمیایی چسبندگی سلول باعث افزایش اثرات میتوژنیک[7] میتوژنیک[7] عوامل تثبیت شده رشد می‌شود. همچنین، عوامل چسبندگی سلول نظیرکلاژن، فیبرونکتین و ژلاتین به منظور بهبود اثرات زیستی چسبندگی سلول تثبیت شده‌اند. در بخش‌هایی که تثبیت هم‌زمان چند ترکیب وجود دارد، رشد و چسبندگی سلول بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است. به منظور بهبود اثرات فیزیکی و شیمیایی چسبندگی سلول، پلیمرهای کاتیونی نظیر پلی آلیل آمین[8] و پلی لیزین[9] بکار رفته‌اند. علاوه براین انواع گوناگون مواد واکنش پذیر در برابر محرک[10] توسعه یافته و سلول‌ها روی سطوح این مواد با اصلاحاتی تثبیت شده‌اند [۱۲،۲].

7- خواص زیستی سطوح[11]

خواص مواد روی سطوح نظیر آبدوستی/ آبگریزی، انرژی سطح، بار الکتریکی، زبری و سختی سطح به‌طور مستقیم روی عملکردهای سلولی نظیر چسبندگی سلول،

[1] Intracellular Signal Transduction
[2] Clathrin-Dependent
[3] Clathrin-Independent
[4] Down-Regulation
[5] Signal Transduction
[6] Co-Immobilization

[7] Mitogenic Effects
[8] Poly(Allyl Amine)
[9] Polylysine
[10] Stimuli-Responsive Materials
[11] Biological Effects of Surfaces

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

پراکندگی سلول[1]، مهاجرت سلولی تأثیر بسزایی گذاشته و و منجر به تأثیرات متقابل روی طرح‌های مختلف می‌شوند. هرچند عملکرد پیشرفته‌تر سلولی نظیر رشد، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، تبدیل و تمایز از طریق گیرنده‌های سلولی با فعل و انفعالات ویژه زیستی قابل کنترل می‌باشد. به همین دلیل تثبیت پروتئین و پپتیدهای پیام‌رسان زیستی روی سطوح برای توسعه مواد زیستی جدید حائز اهمیت فراوان است. در ادامه به اختصار به بررسی عملکردهای چسبندگی، مهاجرت و رشد سلولی پرداخته می‌شود [۴،۵].

7-1- چسبندگی سلول[2]

چسبندگی سلولی اولین مرحله برای ایجاد تنظیم عملکرد هر سلول است. سلول‌های متصل به زیرلایه، شکل منطقه چسبنده زیرین را می‌گیرند. این تغییر شکل ظاهری متناسب و همراه با تغییرات در چارچوب ساختمانی سلول[3] بوده و عملکردهای مهم سلولی نظیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و رشد را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. اجزای تشکیل دهنده سلولی روی یک سطح نقش مهمی در درجه و هدایت رشد بافت و حرکت سلولی دارد. فرایند چسبندگی سلولی توسط روش‌های مختلفی نظیر تسخیر مولکول‌های چسبنده سلول - سلول[4] سلول[4] و پروتئین‌های ماتریس برون سلولی[5] مانند کلاژن، کلاژن، فیبرونکتین، ویترونکتین یا لامینین قابل کنترل می‌باشد. توانایی کنترل نمودن سلول‌ها در یک طرح مشخص و سازمان یافته روی سطح زیرلایه فرایند بسیار مهمی در توسعه و بهبود فرآیندهای مهندسی بافت می‌باشد. به منظور فراهم کردن کنترل فعل و انفعالات سلول- سطح، روش‌های گوناگونی نظیر طرح‌دار کردن برای ساخت جزایر[6] با مواد چسبنده سلولی مانند ماتریس ماتریس برون سلولی توسعه داده شده اند، بطوری که هر سلول منفرد فقط به نواحی چسبنده متصل و پخش می‌شود. روش طرح‌دار کردن مواد زیستی به منظور تنظیم عملکردهای سلولی نظیر رشد، تمایز پیش از چسبندگی سلول بکار برده شده است [۴،۵].

7-2- مهاجرت سلول[7]

هدایت مهاجرت سلول یکی از مسائل اساسی برای بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر رگ زایی[8] و تشکیل عروق خونی جدید[9] بافت مجروح می‌باشد. توسعه روش‌های تنظیم کننده تحرک سلول‌های اندوتلیال[10] در محیط پیرامون ترمیم زخم یک مسئله مهم و اساسی در عملکرد سامانه‌های مهندسی بافت و حسگرهای زیستی کاشتنی[11] می‌باشد [۴،۱۳]. ریخت شناسی سلولی نقش بسیار مهمی را در هدایت مهاجرت و حرکت سلولی ایفا می‌کند. همچنین مهاجرت سلولی نسبت به نشانه‌های فیزیکی و شیمیایی محیط اطراف پاسخ می‌دهد. در تحقیق انجام شده توسط وونگ[12] اثبات شده است که سختی ماتریس و قابلیت انعطاف زیرلایه اثری مستقیم روی هدایت مهاجرت سلولی و جهت‌گیری آن روی قسمت‌های تثبیت شده هیدروژل دارد [14]. در تحقیق دیگری نیز دلونگ[13] و همکاران گرادیان‌هایی از پپتید آرژینین- گلایسین- آسپارتیک اسید[14] را روی هیدروژل‌های پلی اتیلن گلیکول تثبیت شده به منظور مشخصه‌یابی جهت حرکت جمعیت سلول‌های فیبروبلاست و تنظیم سلول در امتداد گرادیان ایجاد نمودند [15].

[1] Cell Spreading
[2] Cell Adhesion
[3] Cytoskeleton
[4] Tethering Cell–Cell Adhesion Molecules
[5] Extracellular Matrix = Ecm

[6] Islands
[7] Cell Migration
[8] Angiogenesis
[9] Neovascularization
[10] Endothelial Cell Motility
[11] Implanted Biosensors
[12] Wong
[13] Delong
[14] Rgds = Arginylglycylaspartic Acid

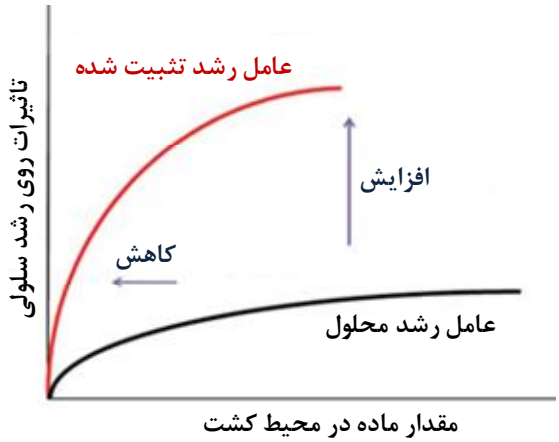
[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

7-3- رشد سلولی[1]

در طراحی مواد زیستی شامل عوامل رشد، اثرات سلولی انتقال عوامل رشد بصورت نفوذپذیر و غیرقابل نفوذ، یکی از مسائل مهم در طراحی داربست‌های سلولی با کاربردهای مهندسی بافت می‌باشد. عوامل رشد تثبیت شده هر پیامی را برای مدت زمان طولانی تری نسبت به حالت محلول انتقال داده و در نتیجه رشد سلولی را به میزان قابل توجهی افزایش می دهند [4]. همچنین تحریک سلول‌ها به منظور رشد نیاز به مقدار کمتری از عامل رشد تثبیت شده در مقایسه با حالت محلول دارد (شکل 5). این امر نشان می‌دهد که با استفاده از عوامل رشد تثبیت شده نیاز به افزودن مداوم عامل رشد به محیط کشت سلولی کاهش می‌یابد. علاوه برآن، فعالیت‌های میتوژنیک عوامل رشد تثبیت شده بالاتر از عوامل رشد در محلول می‌باشد [16].

7-4- کنترل موقعیت فضایی در چسبندگی، مهاجرت و رشد سلول[2]

یکی از مهمترین چالش‌ها در طراحی، ساخت مواد و سیستم‌های زیست سازگار، کنترل موقعیت فضایی آنها است، که در چسبندگی، مهاجرت و رشد سلولی نقش بسزایی دارد. به همین دلیل امروزه در تهیه مواد زیستی سعی در ایجاد طراحی‌های میکرو سه بعدی[3] می‌شود که شرایط آن مشابه بدن موجودات زنده است [17]. بسیاری از فرایندهای سلولی نظیر چسبندگی، مهاجرت و رشد سلولی تحت تأثیر موقعیت فضایی سلول می‌باشد [18-21]. ریزمحیط سلولی[4] شامل ماتریس برون سلولی و سلول‌های مجاور، شرایط مرزی خاصی را ایجاد می‌کند که بر معماری، مکانیک، قطبیت و عملکرد سلول مؤثر است. اندازه ریزمحیط سلولی، حجم و پراکندگی سلولی را محدود می‌کند.

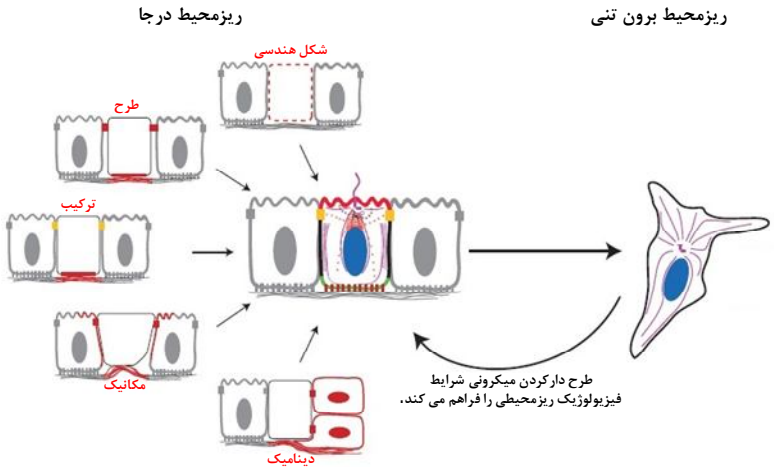


شکل 5 مقایسه اثر رشد سلولی در دو حالت متفاوت شامل عامل رشد بصورت تثبیت شده و عامل رشد در محلول [4]. تاثیر متقابل روی رشد سلول در حالت تثبیت شده بیشتر از حالت محلول بوده به طوریکه نیاز به افزودن عامل رشد در محیط کشت کمتر می باشد

موقعیت سلول‌های مجاور و جهت‌گیری الیاف پروتئینی ماتریس برون سلولی، توزیع فضایی چسبندگی و سطوح متصل نشده سلول را کنترل می‌کند. ترکیب بیوشیمیایی و استحکام ریزمحیط سلولی، چسبندگی و در نتیجه مسیرهای پیام‌رسان داخل سلولی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. شکل 6 ریزمحیط سلولی درجا[5] و در شرایط برون تنی[6] را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود، موقعیت فضایی، پیام‌رسانی بیوشیمیایی و مقاومت مکانیکی سلول وابسته به موقعیت سلول‌های مجاور و ماتریس برون سلولی می‌باشد، بطوری که ریزمحیط سلولی در روش‌های برون تنی که از یک سطح صاف تشکیل شده است، به‌دلیل عدم شرایط فیزیولوژیک بدن، تحت تأثیر موقعیت فضایی سلول نمی‌باشد. استفاده از روش‌های طرح‌دار کردن میکرونی قابلیت تغییر ریزمحیط سلول‌ها را ایجاد نموده، بطوری که محیط آن مشابه شرایط فیزیولوژیکی بدن باشد [22].

[1] Cell Growth
[2] Spatiotemporally Controlled In Cell Adhesion, Migration And Growth
[3] 3d Micropatterns
[4] Cell Microenvironment
[5] In Situ
[6] In Vitro

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]



شکل 6 ریزمحیط سلولی درجا و برون تنی: تصویر سمت چپ، ریزمحیط سلولی درجا را نشان می‌دهد که سلول‌های مجاور و ماتریس برون سلولی (به رنگ خاکستری)، انواعی از شرایط (به رنگ قرمز) شامل محدودیت شکل هندسی، پیام‌رسانی بیوشیمیایی و مقاومت مکانیکی را فراهم می‌کند. تحت کشت سلولی آزمایشگاهی (ریزمحیط برون تنی)، ریزمحیط سلولی از یک سطح صاف شیشه یا پلاستیک تشکیل شده است، بطوری که کلیه شرایط اشاره شده از دست می‌رود. روش‌های طرح‌دار کردن میکرونی می‌توانند برای اصلاح ریزمحیط سلول‌ها بکار روند، به‌نحوی که سطح کشت سلولی به شرایط فیزیولوژیکی بدن نزدیک شود [22]

جهت‌گیری رشته‌های پروتئینی آکتین در چارچوب سلولی[1] و قطبیت آنها در پاسخ به موقعیت‌های فضایی، مهاجرت سلولی را کنترل می‌کند. مثلا وقتی که سلول‌ها روی یک زیرلایه باریک و دارای چین و چروک رشد می‌کنند، مهاجرتشان سریعتر از حالتی است که سلول‌ها روی سطح یک زیرلایه همگن و یکنواخت رشد می‌کنند و این درست مشابه مهاجرت سلول‌ها در ژل‌های کلاژن است. این نتایج نشان می‌دهد که مهاجرت سلولی روی سطوح طرح‌دار باریک بهتر از سطوح همگن و مسطح نظیر پتری دیش است. همچنین در طی مهاجرت سلولی جهت دار، مسیر انتقال پیام اس.آر.سی[2] که یکی از مسیرهای اصلی چسبندگی سلول است، بطور همگن و یکنواخت در کل سلول فعال می‌شود. در فرایند رشد سلول‌های اندوتلیال[3] نیز محدودیت در پراکندگی سلول‌ها (با استفاده از طرح‌های مربعی شکل با عرض کمتر از 10 میکرون)، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را تحریک می‌کند. بدین ترتیب سلول‌ها با اعمال طرح‌های مختلف منجر به تطبیق چارچوب ساختمانی خود مطابق با شکل هندسی محیط اطراف شده، بطوری که می‌توانند رشد، مهاجرت و تمایز سلولی خود را اصلاح کنند [23،22].

8- سامانه‌های زیستی فعال در برابر تابش نور[4]

انواع گوناگون سامانه‌های زیستی فعال در برابر نور با کاربردهای شیمیایی و پزشکی توسعه داده شده اند [24،10]. سامانه‌های زیستی فعال در برابر نور مرئی عمدتاً به منظور استفاده در سیلانت‌های زیستی در علم پزشکی و جراحی کاربرد دارند. مورد دیگر که تحقیقات کمتری در باره آن انجام شده است، سامانه‌های زیستی فعال در برابر تابش لیزر است.

در اینجا برخی از پلیمرهای زیستی فعال در برابر نور با کاربردهای پزشکی شرح داده می‌شود. از انواع پلیمرهای زیستی فعال در برابر اشعه فرابنفش می‌توان به

[1] Actin Cytoskeleton
[2] Src Signaling Pathway
[3] Endotheilial Cells
[4] Photo-Reactive Bio-Systems

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

هیالورونیک اسید[1]، ژلاتین، کایتوسان[2] و پولولان[3] اشاره کرد که برای طرح‌دار کردن سطح برای کشت سلولی یا تهیه یک تراشه ریزآرایه پروتئینی بکاربرده می‌شوند.

8-1- سامانه‌های زیستی فعال در برابر نور فرابنفش[4]

مشتقات پلیمرهای زیستی شامل ژلاتین [25]، هیالورونیک اسید [26]، پولولان [27] و کایتوسان [28] توسط واکنش با گروه‌های آزیدوفنیل[5] ساخته شده اند. گروه آزیدوفنیل متصل شده توسط تابش نور تجزیه شده و گروه رادیکالی نیترن[6] را تولید می کند. گروه رادیکالی تولید شده باعث اتصال جانبی پلیمرها به یکدیگر شده و هم‌زمان با دیگر مواد آلی واکنش نشان می‌دهد. بنابراین پلیمرهای زیستی می‌توانند روی سطح انواع زیرلایه‌ها و سایر مواد آلی تثبیت شده شامل مولکول‌های زیستی نظیر اسیدهای نوکلئیک یا پروتئین‌ها تثبیت شوند. پلیمرهای زیستی برای ساخت تراشه‌های ریزآرایه، زیرلایه مربوط به کشت سلولی طرح‌دار و تثبیت عوامل رشد بکاربرده شده‌اند. اصلاح سطح زیستی برای طراحی مواد زیستی از اهمیت بالایی برخوردار است [۲،۴،۵،۱۱،۲۹].

محققان تاکنون روش‌های مختلفی را برای اصلاح سطح دی اکسید تیتانیوم به منظور القای پاسخ بیولوژیکی خاص بررسی کرده اند [۲،۹]. ایمپلنت‌های تیتانیوم و آلیاژهای آن بطور گسترده‌ای در علم پزشکی کاربرد دارند، زیرا این مواد زیست سازگار و غیرسمی بوده، دارای خواص مکانیکی مناسب و همچنین مقاوم در برابر پدیده خوردگی می‌باشند [13]. در تحقیق قبلی، با وارد کردن گروه فعال به نور در ژلاتین، ژلاتین فعال به نور حاوی گروه‌های آزیدوآنیلین[7] را ساخته، سپس با استفاده از یکی یکی از انواع آلکیل سیلان‌ها بصورت یک پوشش تک لایه خود سامان یافته[8] به منظور اصلاح سطح دی اکسید تیتانیوم به بررسی عملکرد چسبندگی سلول‌های از نوع فیبروبلاست پرداخته شد. در این روش ابتدا برای ایجاد یک سطح آب گریز، آلکیل سیلان بصورت یک پوشش تک لایه خود سامان یافته روی سطوح مختلف دی اکسید تیتانیوم پوشش داده شد. سپس ژلاتین فعال به نور روی سطوح مختلف دی اکسید تیتانیوم و دی اکسیدتیتانیوم حاوی آلکیل سیلان با روش فتوشیمیائی توسط اشعه ماورای بنفش و با عبور از یک ماسک نوری با طرح مشخص تثبیت شد. در غیاب ماسک نوری، این سطوح توسط اندازه‌گیری زاویه قطره آب به منظور بررسی خاصیت آبدوستی/ آبگریزی آنالیز شدند. نتایج مربوطه نشان داد که آلکیل سیلان خاصیت آبگریزی و فتوراکتیوژلاتین خاصیت آبدوستی را افزایش می‌دهد. در حضور ماسک نوری، طرح‌دار کردن ژلاتین فعال به نور روی سطوح مختلف نیز انجام شد. سپس به منظور بررسی چسبندگی سلولی، سلول‌های فیبروبلاست میمون سبز آفریقایی[9] روی سطوح مختلف طرح‌دار و بدون طرح طرح کشت داده شد. نتایج نشان داد که چسبندگی سلولی روی قسمت‌های تثبیت شده ژلاتین فعال به نور بیشتر از قسمت‌های تثبیت نشده می‌باشد و ایجاد طرح سلولی روی سطوح دی اکسید تیتانیوم با تثبیت ژلاتین فعال به نور تأیید شد [25].

ترمیم ضایعات نخاعی و هدایت رشد سلول‌های عصبی در جهت آکسون‌ها[10] موضوعی است که مهندسی بافت به آن توجه زیادی کرده است [30]. در یک تحقیق که توسط اشمالنبرگ[11] و همکاران انجام گرفت، سلول‌های عصبی شوان[12] بر روی زیرلایه پلیمری پلی متیل

[1] Hyaluronic Acid
[2] Chitosan
[3] Pullulan
[4] Uv-Reactive Bio-Systems
[5] Azidophenyl
[6] Nitrene
[7] Azidoaniline

[8] Sam = Self-Assembled Monolayer
[9] Cos-7
[10] Axons
[11] Schmalenberg
[12] Schwann Cell

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

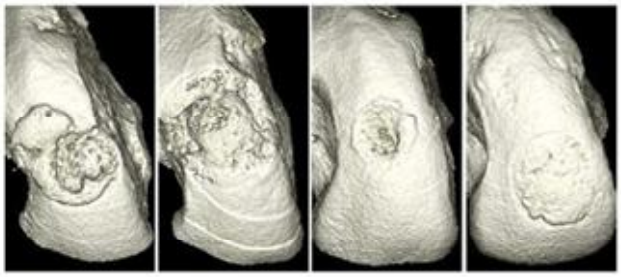
متاکریلات[1] با ایجاد طرح‌هایی با اندازه 10 الی 50 میکرون رشد داده شدند. نتایج حاصل نشان داد که سلول‌ها فقط در جهت الگوی مهاجرتی رشد نموده و در سایر قسمت‌ها رشدی مشاهده نشد [31].

2-8- سامانه‌های زیستی فعال در برابر نور مرئی[2]

با در نظر گرفتن اینکه نور مرئی بسیار کم ضررتر از اشعه فرابنفش است، محققان به تازگی از نور مرئی بطور مستقیم به منظور تهیه نوعی سیلانت زیستی فعال شده در برابر نور مرئی در درمان‌های بالینی استفاده کردند [32]. محلول آبی ویسکوز پلیمری مشتق شده رنگی به عنوان یک ماده پوشش دهنده پالپ[3] در دندان‌پزشکی بکار برده شد. علاوه بر این، این سیلانت زیستی روی سطح آسیب دیده پوست موش پوشش داده شد و بطور فزاینده‌ای باعث التیام پوست شد. سامانه پلیمری به کار رفته متشکل از پلیمر زیستی حاوی فوران[4]، ژلاتین [33] یا کایتوسان [34] و یک رنگ بنام رزبنگال[5] با جذب در محدوده نور مرئی می‌باشد. هنگامی که این سامانه با نور مرئی تابانده می‌شود، رز بنگال فعال شده گروه‌های فوران را اکسید می‌کند و فوران از پیش اکسید شده تخریب می‌شود. با تخریب فوران از پیش اکسید شده، یک گروه رادیکالی تولید شده و با پلیمرهای زیستی اتصال جانبی تشکیل می‌دهد [32]. ذکر این نکته ضروری است که این واکنش در آب رخ می‌دهد که هیچ‌گونه سمیتی نیز ندارد (شکل 7).

3-8- سامانه‌های زیستی فعال در برابر نور لیزر[6]

سامانه‌های زیستی فعال در برابر تابش لیزر هنوز در مراحل ابتدایی هستند و تحقیقات کمی در این زمینه انجام گرفته است [35-37].



شکل 7 روند بهبودی جراحات استخوانی خرگوش با استفاده از تثبیت نوری ژلاتین و عوامل رشداستخوانی BMP4 و CBD[7]-BMP4 از چپ به راست [32]. همان‌طور که به وضوح مشاهده می‌شود، تثبیت نوری ژلاتین و عوامل رشداستخوانی منجر به افزایش سرعت ترمیم شده است

به تازگی گروه تحقیقاتی ما موفق به تثبیت نوری ماده ژلاتین فعال به نور روی سطح شیشه با استفاده از تابش نور لیزر شد [38،39]. در این تحقیق، گروه فعال به نور حاوی آزیدوآنیلین با ژلاتین پیوند شیمیائی برقرار نموده، روی سطح شیشه در برابر امواج الکترومغناطیس (لیزر CO_2) تثبیت می‌شود. در این سامانه، پارامتر شدت توان تابش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که هنگامی که شدت توان 1/3 وات بر میلی‌مترمربع است، فرایند تثبیت مشاهده نمی‌شود. با افزایش توان خروجی، قدرت تثبیت نوری لیزر CO_2 افزایش یافته، در شدت توان 2 وات بر میلی‌مترمربع، تثبیت نوری ژلاتین فعال به نور روی سطح شیشه به خوبی انجام می‌گیرد. البته در شدت توان‌های خیلی بالا (2/3 وات بر میلی‌مترمربع) حرارت بالا رفته و ژلاتین می‌سوزد. شایان ذکر است که وقتی ژلاتین معمولی در معرض امواج الکترومغناطیسی لیزر CO_2 قرار گرفت، هیچ‌گونه تثبیت یا طرح‌دار شدن روی سطوح شیشه مشاهده نشد. این امر نشان دهنده این می‌باشد که فرایند تثبیت با واردکردن گروه فعال به نور انجام می گیرد و در این حالت، ژلاتین فقط تحت اثر

[1] Poly(Methyl Methacrylate)
[2] Visible Light-Reactive Bio-Systems
[3] Pulp Capping Material
[4] Furan
[5] Rose Bengal
[6] Laser-Reactive Bio-Systems
[7] CBD = Collagen Binding Domain

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

امواج الکترومغناطیسی به‌راحتی روی سطوح مختلف تثبیت می‌شود. ساز و کار این پدیده بدین صورت است که ماده سنتز شده ژلاتین فعال به نور به علت داشتن گروه‌های آزیدوفنیل وقتی در معرض میدان الکترومغناطیسی قرار بگیرد، فعال شده و ایجاد مواد واسطه فعال[1] را نموده که با گروه‌های هیدروکسیل (OH-) موجود بر روی سطح پیوند کوالانسی برقرار می‌کند. این ماده با داشتن ساختار کریستالی و حاوی گروه آزیدوآنیلین می‌تواند تحت تابش میدان‌های الکترومغناطیسی (نور معمولی، اشعه فرابنفش، LED، لیزر و سایر میدان‌های الکترومغناطیسی) تحریک شده و روی سطوح مختلف تثبیت شود.

9- تاریخچه عامل رشد انسولین بصورت تثبیت شده[2]

برای اولین بار تثبیت انسولین روی یک ماتریس جامد به منظور بررسی سازوکار آن توسط کواترکاساس[3] گزارش شد [40]. هر چند استفاده از این ترکیبات مرکب باعث تسهیل خالص‌سازی کامل گیرنده‌های انسولین محلول توسط روش کروماتوگرافی شد، اما نتایج قطعی مبنی بر مؤثر بودن انسولین تثبیت شده وجود نداشت، زیرا احتمال آن داشت که تثبیت بطور کامل رخ نداده نباشد [41]. همچنین، با توجه به تأخیر زمانی بین قراردادن سلول‌ها در برابر انسولین تثبیت شده و آشکار شدن وقایع انتقال پیام، این آزمایش‌ها و اثرات دقیق این ترکیبات زمان کافی برای ارزیابی فعالیت را نداشته است. علاوه بر این، به علت استفاده از مهره‌های متخلخل ژل آگارز که در معرض سلول‌ها به عنوان یک محافظ تثبیتی نبوده است، ارزیابی ارتباط بین میزان انسولین تثبیت شده و فعالیت‌های زیستی بطور کمّی مشکل به نظر می‌رسد.

سپس در سال 1991 انسولین بر روی یک سطح ساده به عنوان عامل رشد برای بررسی اثر دراز مدت میتوژنیک تثبیت شد [42]. متعاقباً انواع مولکول‌های پیام‌رسان زیستی به منظور تنظیم عملکرد سلولی بر روی مواد مختلف تثبیت شدند. جدول 1 خلاصه‌ای از مواد زیستی مرکب تثبیت شده بطور کوالانسی با عوامل رشد به منظور تنظیم عملکرد سلولی را نشان می‌دهد [2]. همان‌طور که در این جدول مشاهده می شود، تثبیت انسولین و عامل رشد اپیدرمال منجر به افزایش رشد سلول‌ها می‌شود [43]. عامل رشد استخوان، فعالیت آلکالین فسفاتاز[4] و یا رسوب کلسیم را تحریک و بیان ژن در سلول‌ها را تنظیم می‌کند [44]. عامل رشد تغییر شکل دهنده بتا سنتز کلاژن را تحریک [45] و یا کندروسیت‌ها[5] را به سمت بلوغ پیش می‌برد [46]. لیگاندهای ناچ[6] فعال سازی ناچ را در سلول‌ها فقط در حالت تثبیت شده تحریک کرده و همچنین به منظور توسعه جمعیت سلول بنیادی خون‌ساز[7] خون‌ساز[7] پیشنهاد شده است [47]. تثبیت عامل بازدارنده لوکمی[8] باعث بازداری ریخت شناسی کلونی، فعالیت آلکالین فسفاتاز و فعالیت سامانه ایمنی وابسته به مرحله آنتی‌ژن جنینی سلول‌های بنیادی جنینی شده که این امر نشان‌دهنده یک مرحله تمایز نیافته می‌باشد [48].

10- کاربردهای درون سلولی تثبیت نوری[9]

تثبیت کوالانسی عامل رشد روی سطح یک زیرلایه عمدتاً برای کشت سلولی بکار برده شده است. هرچند بعضی از آزمایش‌های درون سلولی در مهندسی بافت نیز انجام شده است. در مهندسی بافت، طراحی داربست سلولی مهمترین هدف بشمار می‌رود. عوامل رشد معمولاً بطور فیزیکی با یکدیگر مخلوط شده و به محیط افزوده می‌شوند.

[1] Reactive Intermediates
[2] History of Immobilized Insulin Growth Factor
[3] Cuatrecasas
[4] Alp = Alkaline Phosphatase
[5] Chondrocytes
[6] Notch Ligands
[7] Hematopoietic Stem Cell
[8] Lif= Leukemia Inhibitory Factor
[9] In Vivo Applications of Photo-Immobilization

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

جدول 1 مولکول‌های پیام‌رسان زیستی تثبیت شده روی یک ماتریس به منظور کشت سلولی (با ویرایش مختصر [2]).

ردیف	عامل رشد	زیرلایه	سال انجام تحقیق
1	عامل رشد انسولین-1	سطح هیدرولیز شده پلی متیل متاکریلات[1]	1993-1992، 1996، 1999
		سطح اصلاح شده شیشه یا پلی آکریل آمید[2]	1992
		پلی اورتان[3]	1993
		پلیمر زیست تخریب پذیر[4]	1994
		پلی 2-هیدروکسی اتیل متاکریلات[5]	2001
		سطح اصلاح شده پلی متیل متاکریلات با پلی اکسی اتیلن[6]	1993
		پلیمر متصل شده به پلی آکریلیک اسید[7]	1997، 1999
		پلی اورتان همره با پلی اکسی اتیلن	1998
		پلیمر زیست تخریب پذیر و پلی اکسی اتیلن	2004-2003
		پلی آلیل آمین، + عوامل چسبندگی آرژنین- گلایسین- آسپارتیک اسید- سرین[8] + پلی اکسی اتیلن، کلاژن[9] و غیره	1995-1994، 1997، 2003-2002
		هپارین[10]	2000، [8]2011
		پلی استایرین[11] + روش ایجاد طرح[12]	1997-1996
		پلی ان ایزوپروپیل آکریل آمید[13]	1997، 2007-2006
		تثبیت نوری[14]	[9] 2019 ،[8]2011، 2003
2	عامل رشد اپیدرمال	سطح اصلاح شده شیشه[15]	2007 - 1996, 2006
		سطح هیدرولیز شده پلی متیل متاکریلات[16]	[9]2009، 1997
		سطح اصلاح شده پلی دی متیل سیلوکسان[17]	2006-2005
		پلی استایرین طرح‌دارشده از طریق روش تثبیت نوری[18]	1998-1997 ، 2001، 2007، [8]2011
		ژن مهندسی شده[19]	1998، 2001، 2007-2005
		سطح اصلاح شده تیتانیوم[20]	[33]2014
		داربست پپتیدی تقلیدی از کلاژن سه بعدی[21]	[49]2014
		میکرو مهره‌های تثبیت شده نوری[22]	[50]2014

[1] Surface-Hydrolyzed Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA)
[2] Surface-Treated Glass or Polyacrylamide
[3] Polyurethane
[4] Biodegradable Polymer
[5] Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate) (Poly(HEMA))
[6] Surface-Treated PMMA with Polyoxyethylene (POE)
[7] Polymer Grafted with Poly(Acrylic Acid)
[8] Pollyallylamine+Adhesion Factors (RGDS (Arg-Gly-Asp-Ser)
[9] Collagen
[10] Heparin
[11] Polystyrene
[12] Micropatterning
[13] Poly(N-Isopropylacrylamide)
[14] Photo-Immobilization
[15] Surface-Modified Glass
[16] Surface-Hydrolyzed PMMA
[17] Surface-Modifed PDMS (Polydimethylsiloxane)
[18] Polystyrene Photo-Immobilized (Mircopatterned)
[19] Gene-Engineered
[20] Surface-Modified Titanium
[21] 3d Collagen Mimetic Peptides Scaffold
[22] Photo-Immobilized Microbeads

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

جدول 1 ادامه

3	عامل رشد عصبی	سطح اصلاح شده شیشه	2006
		پلی 2-هیدروکسی اتیل متاکریلات متصل شده با پلی آکریلیک اسید[1]	2003-2004
		اسید[1]	
		ژلاتین با اتصال جانبی با تری کلسیم فسفات[2]	2005
		طرح‌دار شده[3]	2007، 1998
		طرح‌دار شده با اشعه لیزر[4]	2005[31]
4	پروتئین مورفوژنتیک استخوان	سطح اصلاح شده تیتانیوم	2005، 2002
		آتلوکلاژن نوع اول[5]	2005-2006
		نانوالیاف کایتوسان[6]	2006
		پلی لاکتیک کو گلیکولیک[7]	2007
		ژلاتین با پیوند عرضی با فورفوریل آمین در معرض نور مرئی[8]	2014[32]
5	عامل رشد اندوتلیال عروقی	فیلم پلی اتیلن متصل شده با پلی آکریل آمید[9]	2000
		طرح‌دار شده	2005 ،2011[8]،2014 [33]
		ژن مهندسی شده	2006
6	عامل رشد فیبروبلاست	تثبیت نوری	2003 ،2011[8]،2014 [33]
		پلیمرها	2006
		هپارین	2001
7	عامل رشد تبدیل یافته-بتا 1	کلاژن نوع 1 پوشش داده شده با تیتانیوم[10]	2003
		پلی دی متیل سیلوکسان	2003
		اسفنج ژلاتین- هیالورونیک اسید- کندروایتین- 6- سولفات[11]	2006
		پلی اکسی اتیلن	2001
8	عامل رشد کبدی	ژن مهندسی شده	2007
9	لیگاند NOTCH	تثبیت نوری	2005
		ژن مهندسی شده	2000 ،2004، 20006
		چاپ میکروتماسی[12]	2014[51-52]
10	عامل بازدارنده لوکمی (سرطان خون)	تثبیت نوری	2004
		پارچه بافته نشده پلی استر[13]	2007
11	عامل رشد سلول بنیادی[14]	ژن مهندسی شده	1999
		هیدروژل‌های پلی آکریل آمید میکرو مهندسی شده[1]	2014[53]

[1] Poly(Hema) Grafted With Paa(Polyacrylamide)
[2] Gelatin Tricalcium Phosphate Crosslinked
[3] Micropatterned
[4] Laser Micropatterned
[5] Type I Atelocollagen
[6] Chitosan Nanofiber
[7] Poly(Lactide-Co-Glycolide)
[8] Gelatin-Furfurylamine Visible Light Crosslinked
[9] Paa-Grafted Polyethylene Film
[10] Collagen Type I Coated Titanium
[11] Gelatin-Hyaluronic Acid-Chondroitin-6-Sulfate Sponge
[12] Microcontact Printing
[13] Non-Woven Polyester Fabrics
[14] Stem Cell Growth Factor (Scf)

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

جدول 1 ادامه

12	اینترلوکین -2[2]	اتصال عرضی	1993
13	اینترلوکین -1	ژن مهندسی شده	2007
14	عامل نکروز سرطان[3]	تثبیت نوری	2006
15	اینترفرون و عامل نکروز سرطان[4]	تثبیت هم‌زمان چند ترکیب روی نانوذرات[5]	2014[12]
16	نوتروفین -3[6]	سطح اصلاح شده شیشه	2007
17	ترانس فرین[7]	سطح هیدرولیز شده پلی متیل متاکریلات	1993
18	ایی -کادهرین[8]	ژن مهندسی شده	2006
19	استئوپونتین[9]	پلی 2-هیدروکسی اتیل متاکریلات کلاژن	2003 2004
20	پی -سلکتین[10]	پوشش داده شده بر روی سطح پلی استایرین[11]	2000
21	لیگاند CXCR3[12]	پوشش داده شده بر روی سطح پلی استایرین	2004
22	پروتئین هدگهوگ سونیک[13]	ژن مهندسی شده + شبکه پلیمری نفوذ پذیر[14]	2007

هرچند به منظور استفاده مؤثر از عوامل رشد اصلاحاتی باید انجام گیرد. تثبیت کوالانسی و یا غیرکوالانسی عوامل رشد منجر به فراهم آوردن و تنظیم پاسخ مناسب سلولی می‌شود. علاوه براین، تثبیت عامل رشد برای کنترل هندسی بافت مرکب و متعاقب آن تشکیل انواع گوناگون سلول‌ها در داخل و یا نزدیک داربست سلولی امری مهم محسوب می‌شود [۲،۵].

علاوه بر کاربردهای لیتوگرافی نوری می‌توان به کاربردهای دیگر تثبیت نوری مواد زیستی اشاره کرد که امروزه بطور فراوان در علم پزشکی، دندان‌پزشکی و داروسازی استفاده می شوند [54]. بطور نمونه می‌توان به تثبیت نوری روکش ترمیمی دندان در دندانپزشکی، عنوان عامل جلوگیری از چسبندگی‌های بعد از عمل جراحی اشاره کرد [۲۸،۵۵].

11- نتیجه‌گیری

تثبیت نوری و ایجاد طرح با پروتئین‌های پیام‌رسان زیستی یک ابزار مهم برای بررسی مراحل مختلف فرایند انتقال پیام سلولی می‌باشد. برای مثال، می‌توان مسیر انتقال پیام را در قسمتی از غشاء سلول که برهمکنش لیگاند-گیرنده رخ می‌دهد، ردیابی و دنبال کرد. علاوه براین، می‌توان رفتار سلول نظیر تشکیل جسم سلول عصبی[15] روی سطح مواد زیستی را با استفاده از عوامل رشد تثبیت شده کنترل نمود [9].

[1] Microengineered Paa Hydrogels
[2] Interleukin-2
[3] Tumor Necrosis Factor-A (Tnf-A)
[4] Interferon (Ifn) And Tnf
[5] Co-Immobilized on Nanoparticles
[6] Neurotrophin-3
[7] Transferrin
[8] E-Cadherin
[9] Osteopontin
[10] P-Selectin
[11] Coated on Polystyrene
[12] Cxcr3 Ligand
[13] SHH = Sonic Hedgehog
[14] Interpenetrating Polymer Network
[15] Neurocite

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

همچنین سیلانت زیستی در مهندسی بافت [55] و به همچنین تشکیل جامعه سلولی برای یک میکروارگانیسم نیز می‌تواند از طریق مواد زیستی جدید با استفاده از تثبیت طرح‌دار انواع گوناگون عوامل رشد تنظیم شود. اصلاح سطح زیستی با استفاده از تثبیت عوامل رشد فصل جدیدی از مواد زیستی را برای عملکردهای مهم و چندبعدی سلول نظیر رشد و تمایز توسعه داده است، که می‌تواند در علوم زیستی و بنیادی بسیار مفید باشد.

مهندسی بافت نیاز مبرم به ایجاد مواد زیستی با توانایی حفظ ساختار سلولی برای سلول‌های زنده در خارج از بدن دارد. اغلب مواد زیستی بکار رفته در مهندسی بافت بر اساس خواص فیزیکی و شیمیایی مواد طراحی می‌شوند، بطوری که کنترل دقیق روی استحکام مکانیکی، مطلوبیت، تخلخل و سرعت تخریب وجود داشته باشد. پیام‌های زیستی با استفاده از روش‌های مختلف پیوند فیزیکی، تثبیت و یا افزودن مولکول‌های بزرگ نظیر عوامل رشد به داربست‌های سلولی ایجاد می‌شوند. چالش اصلی در مهندسی بافت، موازنه صحیح بین عوامل زیستی و خواص فیزیکی و مکانیکی مواد بکار رفته در داربست‌های سلولی برای هر کاربرد ویژه می‌باشد. ارتباط بین سلول‌ها و محیط برون سلولی در داربست‌های مهندسی شده باید به درستی تنظیم شوند. به همین دلیل اصلاح سطح با استفاده از تثبیت نوری عوامل رشد یک ابزار مهم و کلیدی در ساخت مواد زیستی هوشمند بشمار می‌رود. کنترل عملکرد سطح از طریق تثبیت نوری یک امر مهم در طراحی محسوب می‌شود. همچنین طراحی مواد زیستی هوشمند با تقلید از پروتئین‌های رشد برای تولید انبوه مواد زیستی با عملکردهای گوناگون بدون نیاز به پروتئین‌های طبیعی امری مهم و حیاتی است.

در این مقاله مروری بر مطالعات اولیه کمک به ایجاد آسان تر طرح روی سطح به منظور هموار کردن الگوهای مهاجرتی سلول‌ها در فرایندهای بیولوژیکی و تثبیت نوری مورد استفاده در دندانپزشکی، سیلانت زیستی در مهندسی بافت و عامل جلوگیری از چسبندگی‌های بعد از عمل جراحی انجام شد. ایجاد ساختارهائی بر مبنای ماده زیستی فعال به نور زمینه‌ساز بسیاری از کاربردهای پزشکی، داروسازی و دندانپزشکی می‌باشد.

12- تشکرو قدردانی

از راهنمایی‌های ارزنده علمی پروفسور یوشی هیرو ایتو (Professor Yoshihiro Ito) تشکر و قدردانی می‌شود.

13- منابع

[1] Ikada Y. *Tissue Engineering: Fundamentals and Applications*. 2nd ed. Oxford, UK: Academic Press; 2011.

[2] Ito Y. Covalently Immobilized Biosignal Molecule Materials for Tissue Engineering. *Soft Matter* 2008; 4(1): 46–56.

[3] Ostuni E, Kane R, Chen CS, Ingber DE, Whitesides GE. Patterning Mammalian Cells Using Elastomeric Membranes. *Langmuir* 2000; 16(20): 7811-7819.

[4] Joddar B, Ito Y. Biological Modifications of Materials Surfaces with Proteins for Regenerative Medicine. *J. Mater. Chem.* 2011; 21(36): 13737-13755.

[5] Rodda AE, Meagher L, Nisbet DR, Forsythe JS. Specific Control of Cell–Material Interactions: Targeting Cell Receptors using Ligand-Functionalized Polymer Substrates. *Prog. Polym. Sci.* 2014; 39(7): 1312-1347.

[6] Roy K. *Biomaterials as Stem Cell Niche*. Austin, US: Springer-Verlag; 2011.

[7] Burdick JA, Mauck RL. *Biomaterials for Tissue Engineering Applications: A Review of the Past and Future Trends*. Wien, Germany: Springer; 2011.

[8] Kitajima T, Obuse S, Adachi T, Tomita M, Ito Y. Recombinant Human Gelatin Substitute With Photoreactive Properties for Cell Culture and Tissue Engineering. *Biotechnol. Bioeng.* 2011; 108(10): 2468-2476.

[9] Tada S, Kitajima T, Ito Y. Design and

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

Synthesis of Binding Growth Factors. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13(5): 6053-6072.

[10] Ito Y. Photoimmobilization for Microarrays. *Biotechnol. Prog.* 2006; 22(4): 924–932.

[11] Ito Y, Growth Factors on Biomaterial Surfaces. In: Puleo D, R. Bizios R. editors. Biological Interactions on Materials Surfaces: Understanding and Controlling Protein, Cell and Tissue Responses. Springer Publisher: Dordrecht Heidelberg London New York; 2009. p. 173-197.

[12] Li Zh, Guan YQ, Liu JM. The Role of STAT-6 as a Key Transcription Regulator in Hela Cell Death Induced by IFN-γ/TNF-α Co-Immobilized on Nanoparticles. *Biomaterials* 2014; 35(18): 5016-5027.

[13] Zhang BGX, Myers DE, Wallace GG, Brandt M, Choong PFM. Bioactive Coatings for Orthopaedic Implants-Recent Trends in Development of Implant Coatings. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15(7): 11878-11921.

[14] Wong JY, Velasco A, Rajagopalan P, Pham Q. Directed Movement of Vascular Smooth Muscle Cells on Gradient-Compliant Hydrogels. *Langmuir* 2003; 19(5): 1908–1913.

[15] DeLong SA, Gobin AS, West JL. Covalent Immobilization of RGDS on Hydrogel Surfaces to Direct Cell Alignment and Migration. *J. Control Release* 2005; 109(1-3): 139–148.

[16] Makino H, Hasuda H, Ito Y. Immobilization of Leukemia Inhibitory Factor (LIF) to Culture Murine Embryonic Stem Cells. *J. Biosci. Bioeng.* 2004; 98(5): 374-379.

[17] Kharkar PM, Kiick KL Kiick, Kloxin AM. Designing Degradable Hydrogels for Orthogonal Control of Cell Microenvironments. *Chem Soc Rev* 2013; 42: 7335-7372.

[18] Shimizu Y, Boehm H, Yamaguchi K, Spatz JP, Nakanishi J. A Photoactivatable Nanopatterned Substrate for Analyzing Collective Cell Migration with Precisely Tuned Cell-Extracellular Matrix Ligand Interactions. *PLOS ONE* 2014; 9(3): e91875.

[19] Pertz O, Hodgson L, Klemke RL, Hahn KM. Spatiotemporal Dynamics of RhoA Activity in Migrating Cells. *Nature* 2006; 440(1): 1069-1072.

[20] Roy P, Rajfur Z, Pomorski P, Jacobson K. Microscope-based Techniques to Study Cell Adhesion and Migration. *Nature Cell Biol* 2002; 4(1): E91-E96.

[21] Nakanishi J, Kikuchi Y, Takarada T, Nakayamab H, Yamaguchi K, Maeda M. Spatiotemporal Control of Cell Adhesion on A Self-assembled Monolayer Having A Photocleavable Protecting Group. *Anal Chim Acta* 2006; 578(1): 100-104.

[22] Théry M. Micropatterning as a Tool to Decipher Cell Morphogenesis and Functions. *J Cell Sci* 2010; 123(24): 4201-4213.

[23] Zervantonakis IK, Kothapalli CR, Chung S, Sudo R, Kamm RD. Microfluidic Devices for Studying Heterotypic Cell-cell Interactions and Tissue Specimen Cultures Under Controlled Microenvironments. *Biomicrofluidics* 2011; 5(1): 013406.

[24] Ito Y, Sugimura N, Kwon OH, Imanisihi Y. Enzyme Modification by Polymers with Solubilities that Change in Response to Photoirradiation in Organic Media. *Nature Biotechnol.* 1999; 17(1): 73-75.

[25] Heydari M, Hasuda H, Sakuragi M, Yoshida Y, Suzuki K, Ito Y. Surface Pattern Modification of the Titan Surface with Photoreactive Gelatin to Regulate Cell Attachment. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2007; 83A(4): 906-914.

[26] Joddar B, Kitajima T, Ito Y. The Effects of Covalently Immobilized Hyaluronic Acid Substrates on the Adhesion, Expansion, and Differentiation of Embryonic Stem Cells for *in vitro* Tissue Engineering. *Biomaterials* 2011; 32(33): 8404-8415.

[27] Hasuda H, Kwon OH, Kang I.-K, Ito Y. Synthesis of Photoreactive Pullulan for Surface Modification. *Biomaterials* 2005; 26(15): 2401-2406.

[28] Na H.-N, Kim K.-I, Han J.-H, Lee J.-G, Han D.-J, Ito Y, *et al*. Synthesis of O-Carboxylated Low Molecular Chitosan with Azido Phenyl Group: its Application for Adhesion Prevention. *Macromol. Res.* 2010; 18(10): 1001-1007.

[29] Ito Y, Growth Factors and Protein Modified Surfaces and Interfaces. In: Ducheyne P, Healy KE, Hutmacher DW, Grainger DW, Kirkpatrick CJ. eds. Comprehensive Biomaterials Vol. 4, Surface Engineering. Elsevier Publisher: US, 2011, 247-279.

[30] Tabesh H, Amoabediny Gh, Salehi Nik N, Heydari M, Yosefifard M, Mottaghy Kh. *et al*.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

The Role of Biodegradable Engineered Scaffolds Seeded with Schwann Cells for Spinal Cord Regeneration. *Neurochem Int* 2009; 54(2): 73-83.

[31] Schmalenberg KE, Uhrich KE. Micropatterned Polymer Substrates Control Alignment of Proliferating Schwann Cells to Direct Neuronal Regeneration. *Biomaterials* 2005; 26(12): 1423–1430.

[32] Mazaki T, Shiozaki Y, Yamane K, Yoshida A, Nakamura M, Ito Y, *et al*. A Novel, Visible Light-Induced, Rapidly Cross-Linkable Gelatin Scaffold for Osteochondral Tissue Engineering. *Sci. Rep.* 2014; 4(4457): 1-10.

[33] Yang Xi, Zhu L, Tada S, Zhou Di, Kitajima T, Ito Y, *et al*. Mussel-Inspired Human Gelatin Nanocoating for Creating Biologically Adhesive Surfaces. *Int J Nanomedicine* 2014; 9(1): 2753–2765.

[34] Park S.-h., Seo S.-y., Na H.-n., Kim K.-i., Lee J.-w., Ito Y *et al*. Preparation of a Visible Light-Reactive Low Molecular-O-Carboxymethyl Chitosan (LM-O-CMCS) Derivative and Applicability as an Anti-Adhesion Agent. *Macromol. Res.* 2011; 19(9): 921-927.

[35] Falconnet D, Csucs G, Gradin HM, Textor M. Surface Engineering Approaches to Micropattern Surfaces for Cell-Based Assays. *Biomaterials* 2006; 27(16): 3044–3063.

[36] Lee SH, Moon JJ, West LJ. Three-Dimensional Micropatterning of Bioactive Hydrogels via Two-Photon Laser Scanning Photolithography for Guided 3D Cell Migration. *Biomaterials* 2008; 29(20): 2962–2968.

[37] Heinz WF, Hoh M, Hoh JH. Laser Inactivation Protein Patterning of Cell Culture Microenvironments. *Lab Chip* 2011; 11(19): 3336-3346.

[38] Heydari M, Ganjali M, Mashayekhan Sh, Ito Y, editors. Electromagnetic Effect of Synthesized Photoreative Gelatin for Application of Photobiolithography and Cell Printing: *Proceedings of Colloids and Nanomedicine 2012*; 2012 July 15-17 2012; Amsterdam, The Netherlands. New York: Elsevier Ltd; 2012.

[39] Heydari M, Bagheri M, Ganjali M. Photoimmobilization of Synthesized Photoreative Gelatin by Laser Irradiation for Applications of Photobiolithography and Cell Printing. *Journal of Advanced Materials and Technologies* 2013; 2(2): 87-97 [Persian].

[40] Cuatrecasas P. Interaction of Insulin with the Cell Membrane: The Primary Action of Insulin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1969; 63(2): 450–457.

[41] Butcher RW, Crofford OB, Gammeltoff S, Gliemann J, Gavin JR, Goldfine ID, *et al*. Insulin Activity: The Solid Matrix. *Science* 1973; 182(4110): 396-398.

[42] Ito Y, Liu SQ, Imanishi Y. Enhancement of Cell Growth on Growth-Factor-Immobilized Polymer Film. *Biomaterials* 1991; 12(5): 449–453.

[43] Ito Y, Liu SQ, Orihara T, Imanishi Y. Cell Growth on Immobilized Growth Factor. Interations of Fibroblast Cells With Insulin Immobilized on 2-Hydroxyethyl Methacrylate/Ethyl Methacrylate Copolymer Membranes. *J. Bioact. Compat. Polym.* 1994; 9(2): 170–183.

[44] Tsujigiwa H, Nagatsuka H, Lee YJ, Han P.P, Gunduz M, LeGeros RZ, *et al*. Immobilized rhBMP-2/succinylated type I atelocollagen Gene Expression of Intracellular Signaling Molecules on ST2 Cells. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2006; 77A(3): 507–511.

[45] Fischer U, Hempel U, Becker D, Bierbaum S, Scharnweber D, Horch H, *et al*. Transforming Growth Factor β1 Immobilized Adsorptivelyon Ti6Al4V and Collagen Type I Coated Ti6Al4V Maintains its Biological Activity. *Biomaterials* 2003; 24(15): 2631–2641.

[46] Chou CH, Cheng WTK, Lin CC, Chang C.H, Tsai C.C, Lin F.H. TGF-β1 Immobilized Tri-co-Polymer for Articular Cartilage Tissue Engineering. *J. Biomed. Mater. Res. B.* 2006; 77B(2): 338-348.

[47] Beckstead BL, Santosa DM, Giachelli CM. Mimicking Cell-Cell Interactions at The Biomaterial-Cell Interface for Control of Stem Cell Differentiation. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2006; 79A(1): 94–103.

[48] Cetinkaya G, Torkoglu H, Arat S, Odaman H, Onur MA, Gumusderelioglu M, *et al*. LIF-Immobilized Nonwoven Polyester Fabrics for Cultivation of Murine Embryonic Stem Cells. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2007; 81A(4): 911-919.

[49] Hernandez-Gordillo V, Jean Chmielewski J. Mimicking the Extracellular Matrix with Functionalized, Metal-Assembled Collagen Peptide Scaffolds. *Biomaterials* 2014; 35(26): 7363-7373.

[50] Aratsu F, Harada I, Yoshimura S, Cho Ch,

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

Akaike T, Tagawa Y. Dynamic Chemotactic Response of Fibroblasts to Local Stimulation Using EGF-Immobilized Microbeads. *Biomaterials* 2014; 35(8): 2471-2476.

[51] Rodriguez NM, Desai RA, Trappmann B, Baker BM, Chen Ch. Micropatterned Multicolor Dynamically Adhesive Substrates to Control Cell Adhesion and Multicellular Organization. *Langmuir* 2014; 30(5): 1327-1335.

[52] Wang Y, Xu Zh, Kam LC, Shi P. Site-Specific Differentiation of Neural Stem Cell Regulated by Micropatterned Multicomponent Interfaces. *Adv. Healthcare Mater.* 2014; 3(2): 214–220.

[53] Lee J, Abdeen AA, Huang TH, Kilian KA. Controlling Cell Geometry on Substrates of Variable Stiffness Can Tune The Degree of Osteogenesis in Human Mesenchymal Stem Cells. *J Mech Behav Biomed Mater* 2014; 38(1): 209-218.

[54] Ferreira P, Coelho JFJ, Almeida JF, Gil MH. Photocrosslinkable Polymers for Biomedical Applications. In: Fazel-Rezai R, editor. Biomedical Engineering – Frontiers and Challenges. In Tech Publisher: Croatia, 2011, 55-74.

[55] Son TI, Sakuragi M, Takahashi S, Obuse S, Kang J, Ito Y *et al.* Visible Light-Induced Cross-Linkable Gelatin. *Acta Biomat.* 2010; 6(10): 4005-4010.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]