زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس

مروری بر رویکردهای رایج در مهندسی بافت استئوکندرال و چالش‌های پیش رو

شکوفه مهرتاش‌فر[1]، محبوبه کبیری[2*]

۱-دانشجوی دکتری گروه سلولی مولکولی، دانشکده زیست شناسی، دانشکدگان علوم، دانشگاه تهران
۲-دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکدگان علوم، دانشگاه تهران

*صندوق پستی ۱٤۱۷٦۱٤٤۱۱، تهران، ایران
mkabiri@ut.ac.ir

دریافت: ۱٤۰۰/۰۹/۲۰ پذیرش: ۱٤۰۰/۱۱/۱۲

چکیده

وقوع حوادث مختلف از جمله تصادفات، آسیب و جراحات وارده طی فعالیت‌های ورزشی و نیز بروز برخی از بیماری‌ها می‌توانند منجر به تحلیل و از بین رفتن بافت استئوکندرال شده و مشکلات بسیاری در سلامت و کیفیت زندگی بیمار ایجاد کنند. بنابراین، کنترل و ترمیم این ضایعات یکی از چالش‌های مهم در حوزه پزشکی بازساختی است. از آنجایی‌که نقص‌های استئوکندرال هم آسیب به غضروف مفصلی و هم استخوان تحت غضروفی زیرین آن را شامل می‌شود، برای ترمیم نیز باید نیاز بخش‌های استخوانی، غضروفی و بخش حدفاصل میان استخوان و غضروف در نظر گرفته شود. درمان‌های بالینی فعلی بیشتر تسکینی بوده و جنبه درمانی کمتری دارند. از این رو، به دلیل محدودیت‌های روش‌های درمانی موجود طی دهه گذشته استفاده از مهندسی بافت به‌عنوان یک روش درمانی کارآمد و کم خطر برای درمان بسیاری از بیماری‌ها خصوصا ضایعات استخوانی-غضروفی مطرح شده است. در این روش می‌توان با پیوند بافت‌های کامپوزیت استئوکندرال که از طریق ترکیب سلول‌های خود بیمار با بیومتریال های متخلخل سه بعدی با شکل و اندازه از پیش تعیین شده به‌دست آمده‌اند، برخی از محدودیت‌های روش‌های پیشین را برطرف کرد. تا کنون استراتژی‌های متنوعی برای ساخت داربست برای ترمیم نقص های استئوکندرال به کار گرفته شده است که از جمله آنها می‌توان به داربست‌های تک فاز، چند لایه و مدرج شده اشاره کرد. در این مطالعه برخی استراتژی‌های رایج در مهندسی بافت و همچنین چالش‌های پیش رو به طور خلاصه بررسی شده است.

کلید واژگان: بافت استئوکندرال، داربست، مهندسی بافت، استخوان، غضروف

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

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

۱- مقدمه

ایجاد ضایعات غضروف مفصلی به دلیل بیماری، ورزش و پیری تبدیل به یک مشکل پیشرونده و فزاینده‌ی شایع و جدی شده است که به شکلی مزمن می‌تواند باعث بروز علائمی همچون درد مفصل و محدودیت حرکت مفاصل زانو شود[۱]. بیماران سالمند به‌طور معمول نیاز به درمان جراحی داشته و در نهایت ممکن است از دست دادن بخش قابل توجهی از توانایی حرکتی را تجربه کنند. ضایعات غضروفی هیالینی، به‌طور ویژه، می‌توانند باعث درد شدید شوند[۲]. پس از آسیب دیدگی، به دلیل عدم خون‌رسانی و مهاجرت محدود شده سلول‌های غضروفی توسط ماتریکس خارج سلولی[1] (ECM) غنی غضروف مفصلی، خود ترمیمی در این بافت دشوار است. بنابراین، خود ترمیمی غضروف هیالینی بسیار محدود بوده و بافت حاصل از آن به‌طور معمول ترکیبی از هیالین و غضروف فیبری است، که به خوبی غضروف هیالینی عمل نمی‌کند و ممکن است با گذشت زمان تخریب شود[۳].

از این‌رو، ترمیم نقص‌های غضروف مفصلی یک چالش جدی در زمینه پزشکی بازساختی بوده است[٤, ٥]. زمانی که نقص غضروفی درمان نشود، مفصل به گونه‌ای غیرقابل برگشت و به تدریج رو به زوال می‌رود که منجر به آرتروز و درنهایت ناتوانی می‌شود[٦, ٧]. نقص‌ها و بیماری‌های مرتبط با بافت غضروفی، شایع‌ترین علت ناتوانی و معلولیت را تشکیل می‌دهند که مربوط به حدود ٦ درصد از معلولان ۳۰ ساله و مسن‌تر می‌باشد. نقص‌های سطح استئوکندرال (استخوانی-غضروفی) معمولاً شامل ضایعاتی در غضروف مفصلی هیالینی و همچنین استخوان تحت غضروفی زیر آن است که در اثر تروما، بیماری یا افزایش سن ایجاد می‌شوند[۸, ۹].

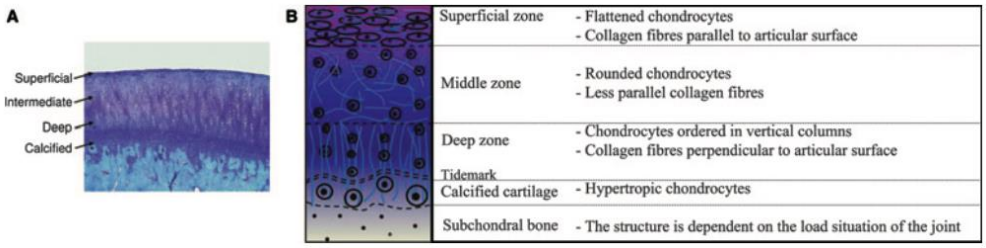
برای درمان ضایعات غضروف مفصلی، روش‌هایی از قبیل جراحی آرتروسکوپی، آرتروپلاستی، استئوتوم، پیوند سلول‌های غضروفی اتولوگ و سایر درمان‌های محافظه کارانه ایجاد شده است[۱۰]. این تکنیک‌ها محدود به اندازه نقصان ایجاد شده بوده و تسکین دهنده یا تحریک کننده عارضه در ناحیه دهنده بافت می‌باشند[۱۱]. روش های درمانی اغلب بر اساس عواملی مانند سن، جنس، وضعیت کلی، محل آسیب دیدگی، قطر و عمق آسیب انتخاب می‌شوند[۱۲, ۱۳]. بسیاری از بیماران به‌طور معمول به عمل جراحی آرتروسکوپی یا حتی تعویض مفصل نیاز پیدا می‌کنند. اگرچه پیوند بافت استئوکنرال اتولوگ اکنون به‌عنوان استاندارد طلایی برای درمان بالینی شناخته شده است، اما دارای محدودیت‌های ذاتی بسیاری، از جمله اهدا کنندگان محدود، مشکل در به‌دست آوردن فرم پیوندی متناظر و تأثیر بافت سالم اطراف بخش پیوندی می‌باشد[١٤].

۲- بافت استئوکندرال

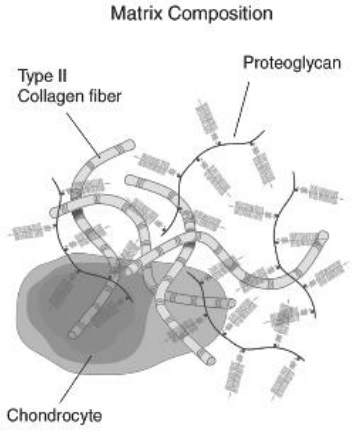
همانطور که گفته شد نقص‌های استئوکندرال هم غضروف مفصلی و هم استخوان تحت غضروفی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. بافت استئوکندرال از دو جزء اصلی غضروفی و استخوانی تشکلیل شده است[۱۵]. به‌طور کلی غضروف یک بافت مزانشیمی تشکیل شده از یک نوع سلول (کندروسیت)، ماتریکس خارج سلولی و آب است که به صورت شماتیک آن را می‌توان به چهار منطقه مجزای، غضروفی سطحی، میانی، عمیق و کلسیفیه شده تقسیم کرد (شکل ۱). هر منطقه توسط یک ترکیب خاص و سازماندهی ویژه‌ای از سلول‌ها و مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی تعریف می‌شود، که این نسبت‌های مختلف اجزای ECM به‌طور قابل توجهی بر خصوصیات مکانیکی هر منطقه تأثیر می‌گذارد[١٦, ١٧].

[1] extracellular matrix

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]
[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]



شکل ۱ نمای شماتیک بافت استئوکندرال[۱۶].



شکل ۲ پروتئوگلیکان‌ها که توسط سلول‌های غضروف مفصلی تولید می‌شوند، بار منفی زیادی دارند و به مولکول‌های آب که دارای بار جزءی مثبت هستند، جذب شده و اتصال می‌یابند و در نهایت یک بافت مکانیکی ویسکوالاستیک بسیار انعطاف‌پذیر و منحصر به فرد را تشکیل می‌دهند[۱۷].

کندروسیت‌ها تنها ۱ تا ۲ درصد از حجم غضروف را تشکیل می‌دهند. ماتریکس خارج سلولی غضروف از فیبرهای کلاژن (عمدتا کلاژن نوع II)، گلیکوپروتئین‌ها و پروتئوگلیکان‌های پشتیبانی کننده[۲] تشکیل شده است که دارای یک هسته پروتئینی مرتبط با مولکول‌های گلیکوزآمینوگلیکان مانند هیالورونیک اسید[۳] (HA) و کندرویتین سولفات[۴] می‌باشند. مایع بافتی، که عمدتا از آب تشکیل شده است، به خواص مکانیکی غضروف کمک می‌کند و تغذیه و تبادل با مایع ساینوویال[۵] در مفصل و با مایع خارج سلولی سایر بافت‌های مجاور را ممکن می‌کند[۱۸].

سه نوع غضروف وجود دارد که به واسطه اجزای مولکولی آنها در ECM، موقعیت آناتومیکی و عملکردشان مشخص می‌شوند. غضروف هیالینی ظاهری شیشه‌ای و سفید دارد و عمدتا در مفاصل مشاهده می‌شود. ماتریکس خارج سلولی آن از آب، پروتئوگلیکان و کلاژن نوع II تشکیل شده است. غضروف هیالینی برای ایجاد حرکت

[2] supporting proteoglycan
[3] hyaluronic acid
[4] chondroitin sulfate
[5] synovial fluid

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

پایدار با حداقل اصطکاک عمل می‌کند. این غضروف با فشرده سازی و توزیع بارهای روی سطح اتصالات، توانایی فوق العاده‌ای در فراهم آوردن مقاومت و سازگاری دارد. غضروف الاستیک با حضور الاستین در ECM مشخص می‌شود. غضروف الاستیک عملکردی ساختاری دارد که با پشتیبانی از مجاری هوایی و گوش خارجی مشخص می‌شود. در نهایت، غضروف فیبری که نسبت بالاتری از کلاژن نوع I را در ماتریکس خود دارد. غضروف فیبری در انتهای تاندون‌ها و رباط‌هایی وجود دارد که استحکام کششی و مقابله با فشار و نیروهای برشی[6] را امکان پذیر می‌کنند. تمامی انواع غضروفی دارای توانایی محدودی برای ترمیم ذاتی پس از آسیب هستند. دلیل این امر تا حدی به علت عدم تراکم عروقی و تراکم سلولی کم کندروسیت‌های ذاتی و نیز پاسخ‌های التهابی می‌باشد[۱۸, ۱۹].

غضروف کلسیفیه شده در منطقه انتقالی یا گذار بافت استئوکندرال قرار داشته و نسبت به نواحی غیر کلسیفیه دارای کندروسیت‌های کمتری می‌باشد. در این ناحیه فیبرهای کلاژن به بخش استخوان تحت غضروفی لنگر شده و به‌عنوان عاملی برای نگه داشت بخش غضروفی و استخوان تحت غضروفی عمل می‌کنند. ویژگی‌های بافت استخوانی از قبیل حضور آلکالاین فسفاتاز در بخش غضروفی کلسیفیه شده نیز دیده می‌شود[۱۵].

در زیر این ناحیه استخوان تحت غضروفی قرار دارد که شامل استخوان قشری[7] و استخوان اسفنجی[8] می‌باشد. استخوان قشری بلافاصله زیر غضروف کلسیفیه قرار دارد، در حالی‌که استخوان اسفنجی زیر استخوان قشری قرار می گیرد. بافت استخوانی از آب (۱۰ درصد)، اجزای آلی (۳۰ درصد) عمدتا از کلاژن نوع I و اجزای معدنی (۶۰ درصد) عمدتا از هیدروکسی آپاتیت[9] (HAp) تشکیل شده است. نانوذرات کریستالی Hap با ظاهری صفحه مانند که دارای ضخامت ۲–۵ نانومتر، طول ۱۵–۱۵۰ نانومتر، و عرض ۸۰–۱۰ نانومتر روی فیبرهای کلاژن نوع I (۳۰–۳۰۰ نانومتر) واقع شده‌اند. سلول‌های موجود در بافت استخوانی شامل استئوبلاست‌ها، استئوکلاست‌ها، استئوسیت‌ها و سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌باشند. استئوبلاست‌ها سلول‌هایی هستند که استخوان جدید را تشکیل می‌دهند، این سلول‌ها همچنین مسئول سنتز HAp می‌باشند. استئوکلاست‌ها نوعی از سلول‌های استخوانی می‌باشند که در فرایند تحلیل استخوان نقش دارند. استئوسیت‌ها رایج‌ترین نوع سلول در استخوان بوده و میانکنش بین استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها را تنظیم می‌کنند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی، سلول‌های استرومایی چندتوان با قابلیت تمایز به انواع مختلفی از سلوها از جمله استئوبلاست‌ها و کندروسیت‌ها می باشند[۱۵].

همانطور که گفته شد خواص مکانیکی بافت استئوکندرال از سطح غضروفی تا بخش استخوان تحت غضروفی متغیر است. غضروف داخل بافت استئوکندرال دارای ساختاری ژل مانند با تخلخل ۶۰–۸۵ درصد می‌باشد. سلول‌های موجود در غضروف مفصلی توسط مایع مفصلی تغذیه می شوند که در میان منافذ غضروف حرکت می‌کنند. استخوان قشری، سختی یا صلبیت بالایی دارد و میزان تخلخل آن بین ۵ تا ۳۰ درصد متغیر است. با افزایش تخلخل، میزان سختی یا صلبیت از استخوان قشری به استخوان اسفنجی کاهش می‌یابد، به طوری‌که میزان تخلخل استخوان اسفنجی بین ۳۰ تا ۹۰ درصد متغیر می‌باشد. ساختارهای منفذدار در استخوان تحت غضروفی توسط رگ‌ها و رشته های عصبی پر شده است که مواد مغذی را برای سلول های استخوانی فراهم کرده و مواد زائد را حذف می‌کنند [۱۵].

6 shear forces
7 cortical
8 trabecular
9 hydroxyapatite

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]
[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

۲-۱مهندسی بافت استئوکندرال

مهندسی بافت، شاخه‌ای از علم است که با ترکیب دانـش مربوط به پزشکی، زیست شناسی، علـم مـواد و مهندسـی سعی در ارائه راه‌حل‌هایی برای را برای ایجـاد، تـرمیم یـا حتی بهبود عملکرد یک بافت آسیب دیـده دارد. محققـان این حوزه در حال مطالعه و ایجاد جـایگزین‌هـای درمـانی برای ترمیم و بازسازی عملکردهای بافت‌های مختلف بدن هستند. پیشرفت‌های انجام شـده در علـوم مـواد، زیسـت شناسی سلولی و فنـاوری بیوراکتـور در جهـت شـکوفایی طیف گسترده‌ای از رویکردهای مهندسی اسـتئوکندرال بـه کار رفته است. تنوع مفاهیم و مدل‌هـای مختلـف ارائـه و بررسی شده توسط گروه‌های مختلـف بـرای تولیـد بافـت پیوندی استئوکندرال نشان دهنده این امـر اسـت کـه درک شـرایط لازم بـرای بازگردانـدن عملکـرد عـادی مفصـل همچنان ضعیف است[۹].

بنابراین، مهندسی بافت به‌عنوان یک استراتژی جایگزین و نویدبخش برای بازسازی بافـت مـورد نظـر اسـت کـه بـا کاشت داربست متخلخل به‌منظور فـراهم کـردن پشـتیبانی سه بعدی برای رشـد سـلولی و بازسـازی بافـت درمحـل اصلی پدیدار شده است[٤].

راهبردهای مهندسی بافت می‌توانند مزایای قابـل تـوجهی نسبت به روشهای سنتی درمان بالینی داشته باشند. سیسـتم های مهندسی بافت شامل سلول‌هـای کاشـته شـده، مـواد بیولوژیکی و فاکتورهای رشد هستند که می‌تواننـد باعـث تقویت سلول‌های میزبان طبیعی شوند[۲۰, ۲۱]. سازه‌هـای عاری از سلول و سازه‌های حـاوی سـلول، دو نـوع سـازه اصلی مورد استفاده به‌عنـوان ابزارهـای انتقـالی می‌باشـند. سازه‌های عاری از سلول، که در آن سلول‌هـای میزبـان بـه بافت اطراف نفوذ می‌کنند و ترمیم بافت را آغاز مـی‌کننـد. سازه‌های حاوی سلول، که در آن سلول‌ها از خود بیمـاران گرفته شده و در شرایط *in vitro*، قبـل از قـرار گـرفتن در بدن بیمار روی داربست کشت داده می‌شوند[۲].

پیوند واحدهای استئوکندرال متشکل از یک لایه غضروفی سطحی (متناظر با بخش غضروف مفصـلی) و یـک بافـت کلسیفیه شده زیرین (متنـاظر بـا بخـش اسـتخوانی تحـت غضروفی) بیـانگر یـک روش امیدوارکننـده بـرای تـرمیم عملکرد بیولوژیکی و مکانیکی مفصل است. علیرغم نتایج دلگرم کننده گـزارش شـده، اسـتفاده بـالینی از پیونـدهای اسـتئوکندرال اتولـوگ (تکنیـک موزائیـک پلاسـتی) بـا محـدودیت‌هـای مختلفـی روبـرو اسـت. مقـدار مـواد در دسترس، ایجاد عارضه در ناحیـه اهـدا کننـده و دشـواری تطابق دادن توپولوژی بافت پیوندی با محل آسیب دیده از جمله مهمترین این محدودیت‌ها می‌باشند[۹].

مهندسی بافت‌های کامپوزیت استئوکنرال پتانسیل غلبـه بـر این محدودیت‌ها را دارد. بافت‌هـای پیونـدی سـه بعـدی (3D) با اندازه و شکل از پیش تعریف شـده می‌تواننـد بـا ترکیـب سـلول‌هـای خـود بیمـار و بـا اسـتفاده از مـواد بیولوژیکی متخلخل سه بعدی سـاخته شـده و یـک الگـو برای توسعه بافت و تخریب با نرخ‌های مشخص را فراهم کنند. روش‌های مهندسی بافت اجازه می‌دهـد تـا ویژگـی های بافت پیوندی به‌طور اختصاصی تنظیم شود[۹].

رویکردهای مختلفی که تا کنون برای سـاخت سـازه‌هـای کـامپوزیتی اسـتئوکندرال مطـرح شـده اسـت را مـی‌تـوان براساس ترکیبی از راهکارهای ویژه برای انتخاب داربست و همچنین منبع سلول طبقه‌بندی کـرد. مطـابق ایـن دسـته بنـدی، سـازه‌هـای اسـتئوکندرال می‌تواننـد بـا اسـتفاده از روش‌هایی تولید شوند. استفاده از یک داربست برای جزء استخوانی همراه با یک رویکرد بدون داربست برای جـزء غضروفی، استفاده از داربست‌های مختلف برای بخش‌های اسـتخوانی و غضـروفی ترکیـب شـده در زمـان کاشـت، استفاده از یک داربست کـامپوزیتی واحـد امـا نـاهمگن و استفاده از یک داربست واحد و همگن برای هر دو بخـش از این روش‌ها هستند.

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]
[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]

این داربست‌ها ممکن است، ۱) با یک منبع سلولی منفرد دارای ظرفیت کندروژنیک بارگذاری شده باشند. ۲) با دو منبع سلولی که دارای ظرفیت‌های کندروژنیک و استئوژنیک هستند بارگذاری شده باشند. ۳) با یک منبع سلولی واحد که دارای هر دو ظرفیت تمایز استخوانی و غضروفی باشد بارگذاری شده باشد.٤) در یک راهبرد بدون سلول مورد استفاده قرار گیرد[١٦].

۲-۲داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت استئوکندرال

داربست‌های مهندسی بافت برای فراهم آوردن یک محیط سه بعدی برای پشتیبانی و هدایت فرایندهای سلولی حین مهاجرت، تکثیر و تمایز به سمت بافت عملکردی طراحی شده‌اند. داربست‌ها پایداری مکانیکی و سطح شیمیایی را برای هماهنگی سیگنال‌های بیولوژیکی فراهم می‌کنند و بر چسبندگی و عملکرد سلولی تأثیر می‌گذارند. همچنین، داربست‌ها باید با بافت میزبان زیست سازگار بوده، به اندازه کافی برای رسیدن مواد مغذی به سلول‌ها متخلخل باشند، و در نهایت حین توسعه بافت بدون ایجاد اثرات سمی تخریب شوند[۱۸].

برای ایجاد داربست‌های سه بعدی که در تعامل با سلول‌ها هستند، روش‌های مختلفی کشف شده است. بیشتر رویکردها در مهندسی بافت شامل به دام انداختن سلول از طریق داربست‌های تخریب‌پذیر در ساختارهای بافتی همگن می‌باشند[۱۹].

خواص داربست، از جمله میزان تخلخل، اندازه منافذ و عوامل استحکام بستر، می‌تواند بر نفوذ سلول و اتصال آن تأثیر بگذارد. برخی از داربست‌ها با استفاده از مواد سنتیک یا مصنوعی مانند پلی لاکتیک اسید[10] (PLA)، پلی گلیکولیک اسید[11] (PGA)، پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید[12] (PLGA)، β- تری کلسیم فسفات[13] (β-TCP) و هیدروکسی آپاتیت (HA) سنتز می‌شوند[۲۲, ۲۳]. برخی دیگر از داربست‌ها از مواد طبیعی از جمله کلاژن نوع I، کلاژن نوع II، پروتئین فیبری، هیالورونیک اسید و آگارز تشکیل شده‌اند[٢٤].

داربست بیولوژیکی به‌طور بالقوه امکان تنظیم بهتر چسبندگی سلول و تولید ماتریکس سلول‌های ساکن شده را فراهم می‌کند. با این‌حال، داربست‌های بیولوژیکی بیشتر از داربست‌های سنتیک خطر آلودگی یا واکنش ایمنی بدن را دارند. از سویی دیگر، مواد مصنوعی که به‌صورت نو پدید[14] و از مولکول‌هایی مانند گلیکولیک اسید یا پلیمرهای لاکتیک اسید ایجاد می‌شوند، کنترل دقیق‌تری بر خصوصیات ساختاری، خواص مکانیکی و میزان جذب دارند[۱۸, ۱۹].

هر دو نوع داربست ذکر شده به‌طور گسترده‌ای برای ترمیم آسیب‌های غضروفی و استخوانی استفاده شده‌اند. از این میان داربست‌های ساخته شده از HA، PLGA و کلاژن نوع II مزایای ویژه‌ای دارند، که از جمله آنها می‌توان به پشتیبانی بالقوه از چسبندگی سلولی، تکثیر و مهاجرت اشاره کرد.

انواع مختلفی از هیدروژل‌ها نیز برای کاربردهای زیست پزشکی استفاده شده است. هیدروژل آلژینات، به‌عنوان پلیمری بسیار پر کاربرد، به آسانی در مهندسی بافت غضروف نیز قابل استفاده می‌باشد. ساختارهای پیچیده سه بعدی غضروفی را می‌توان از قبل با استفاده از اجزای متفاوتی از جمله هیدروژل با انواع مختلفی از سلول‌ها، داروها، پروتئین‌ها، پپتیدها یا DNA به‌صورت لایه لایه ایجاد کرد. با این‌حال، تا به امروز، روش‌های کارآمد معدودی برای سنتز ساختارهای لایه‌ای، شامل سلول‌های دارای بقا و ماندگار ویژه که در تعامل با یک محیط عامل دار شده با مواد زیستی، مطرح شده است[۱۸].

[10] polylactic acid
[11] polyglycolic acid
[12] polylactic-coglycolic acid
[13] β-tricalcium phosphate
[14] *de novo*

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

یکی از مهمترین چالش‌ها در انتخاب بیومتریال‌ها برای ساخت داربست‌های استئوکندرال، تقلید مناسب و کافی از ساختار بافت طبیعی است[۲۵, ۲۶]. غضروف مفصلی یک بافت بسیار سازمان یافته است با سطح تحمل و مقاوم در برابر سایش است که اصطکاک کمی دارد و از خواص مکانیکی ناهمگون برخوردار است. بنابراین، ماتریکس خارج سلولی غضروف مفصلی دارای تنظیمات ساختاری وابسته به عمق می‌باشد. همانطور که گفته شد، غضروف مفصلی از منظر عملکردی از دو منطقه اصلی تشکیل شده است: منطقه جهت‌دار و منطقه غضروفی کلسیفیه شده[۲۷].

۲-۳ سلول‌های حائز اهمیت در مهندسی بافت استئوکندرال

یک الگوی سلولی رایج در مهندسی بافت، استفاده از سلول‌های اجدادی تمایز نیافته است که توانایی تکثیر و تمایز در بافت هدف را دارا می‌باشند. تعداد زیادی از سلول‌ها برای استفاده در فرایند بازسازی بافت غضروفی پیشنهاد شده‌اند، که از جمله مهمترین آنها می‌توان به کندروسیت‌ها، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان، بافت چربی، بند ناف جنینی (ژل وارتون) و همچنین سلول‌های بنیادی جنینی اشاره کرد. این امر نشان داده شده است که تمام این سلول‌ها در شرایط کشت مناسب، پتانسیل کندروژنیک و استئوژنیک را دارا هستند. قبل از انتخاب سلول‌ها، لازم است که ظرفیت تکثیر سلولی، پایداری فنوتیپ و ایمونوژنیسیته آنها در نظر گرفته شود[۱۸].

۲-۳-۱ سلول‌های استخوانی

استخوان یک بافت همبند تخصص یافته است که به‌طور مداوم و با توجه به رویدادهای فیزیولوژیکی بازسازی می‌شود. این بازسازی استخوان از فعالیت‌های رده‌های سلولی مختلف از جمله استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها حاصل می‌شود. استئوکلاست‌ها سلول‌های غول پیکر چندهسته‌ای هستند که از پیش سازهای خونساز رده‌ی مونوسیت- ماکروفاژی مشتق شده‌اند. در حالی‌که، استئوبلاست‌ها از سلول‌های مغز استخوان مشتق شده و مسئولیت کنار هم قراردادن ماتریس استخوانی را دارند. توده استخوانی از طریق تعادل ظریف بین تشکیل و تحلیل حفظ می‌شود. اگرچه در فرایند از بین رفتن استخوان، صرفنظر از آسیب‌شناسی آن، استئوکلاست، سلول تحلیلی انحصاری است، اما استئوبلاست‌ها از طریق تولید عواملی می‌توانند منجر به افزایش یا کاهش این فعالیت تحلیلی شوند[۲۸].

۲-۳-۲ کندروسیت‌ها

کندروسیت‌ها، اصلی‌ترین نوع سلول موجود در غضروف بوده و گزینه‌ای برای مهندسی بافت غضروف محسوب می‌شوند. گسترش کندروسیت‌ها در شرایط *in vitro* به دلیل پیری تکرار شونده‌ی آنها محدود است. مهمتر آنکه، هنگامی‌که کندروسیت‌ها از محیط خارج سلولی خود برداشته شده و در تک لایه گسترش می‌یابند، به سرعت فنوتیپ تمایز یافته خود را از دست می‌دهند. این تغییر فنوتیپ تمایز یافته با تبدیل‌شدن به یک مورفولوژی فیبروبلاستیک، کاهش سنتز کلاژن نوع II و اگریکان[۱۵] همراه با افزایش بیان کلاژن نوع I مشخص می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که کندروسیت‌ها با تعلیق در یک محیط سه بعدی مانند ژل آگارز، دانه‌های آلژینات و ژل کلاژن، می‌توانند فنوتیپ خود را حفظ کرده یا مجددا بیان شوند[۱۸].

۲-۳-۳ سلول‌های بنیادی مزانشیمی

سلول‌های بنیادی ابزار بسیار امیدوار کننده‌ای برای توسعه کاربردهای جدید در رویکردهای مهندسی بافت و سلول می‌باشند. برای این کار سلول‌های بنیادی باید کاملاً شناسایی و مشخص شوند. اگرچه مطالعات بسیاری به توصیف انواع سلول‌های بنیادی انسانی اختصاص داده

[15] aggrecan

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

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

شده است، اما گسترش استفاده از آنها در رویکردهای درمانی، همچنان مطالعات بسیاری نیاز دارد. طی دهه‌های گذشته، سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مغز استخوان، بافت چربی و همچنین بسیاری از بافت‌های دیگر موجودات زنده جدا شده‌اند. به دلیل محدودیت‌های مهم اخلاقی و ایمنی موجود برای استفاده بالینی از سلول‌های بنیادی جنینی پرتوان[16] (ESC)، سلول‌های بنیادی بالغ چند توان در حال حاضر عمدتاً در سنجش‌های بالینی انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرند و سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان[17] (BM-MSCs) منبع رایج MSC های بالغ می‌باشند[۱۸, ۲۷]. اب توجه به منابع سلولی فراوان و ایمونوژنیسیته پایین و ریسک تراتوم[18] حداقلی سلول‌های بنیادی مزانشیمی، نگرانی‌های اخلاقی در مورد آنها وجود ندارد وامروزه به پرکاربردترین سلول های بنیادی در پزشکی بازساختی تبدیل شده‌اند. MSCهای قرارگرفته در هیدروژل‌های مختلف برای بازسازی بافت‌های غضروفی و استئوکندرال (استخوانی-غضروفی) مورد آزمایش قرار گرفته‌اند[۹].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی سلول‌های اجدادی چندتوان بوده و توانایی تمایز به انواع مختلفی از سلول‌های بافت همبند مانند، استخوان، غضروف و بافت چربی را در شرایط *in vitro* و *in vivo* دارند. مطالعات بسیار زیادی نشان داده‌اند که فاکتور رشد تغییر دهنده بتا[19] (TGF-β) نقش مهمی در القاء MSC های تمایز نیافته به مسیر کندروژنیک دارد. در حضور TGF-β، سلول های بنیادی مزانشیمی به تدریج همراه با تولید پروتئین های ماتریکس خارج سلولی مخصوص غضروف‌ها از جمله کلاژن نوع II، گلیکوزآمینوگلیکان[20] (GAG) و پروتئوگلیکان، از یک مورفولوژی فیبروبلاستی به مورفولوژی سلول های غضروفی بالغ، تبدیل می شوند[۱۸].

۲-۳-٤ فاکتورهای رشد

انواع پروتئین‌ها از جمله فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGF-β)، فاکتور رشد شبه انسولین[21] (IGF-۱)، پروتئین های مورفوژنتیک استخوان[22] (BMP)، فاکتورهای رشد فیبروبلاست[23] (FGF) و فاکتور رشد اپیدرمال[24] (EGF) می‌توانند بر تمایز کندروژنیک سلول و بیان فنوتیپی آن تأثیر بگذارند. این مولکول‌ها دامنه وسیعی از فعالیت‌ها از جمله القای تکثیر، افزایش سنتز و رسوب ماتریکس خارج سلولی غضروف توسط کندروسیت‌ها و غضروف‌زایی توسط MSC ها را شامل می‌شوند. ابر خانواده فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGF-β)، از جمله ۳-۱ TGF-βs و فاکتور رشد شبه انسولین۱ (IGF-1)، سنتز GAG را تحریک می کند. در حالی‌که سنتز کندروسیتی کلاژن II نیز به شدت توسط IGF-۱ تحریک می‌شود. همچنین، نشان داده شده است که کشت MSC در معرض TGF-β ها باعث افزایش تراکم سلولی، سنتز GAG و کلاژن نوع II می شود[۱۸].

BMPهای مختلف نیز، از جمله BMP-۲، BMP-۳، BMP-٤، BMP-٦ وBMP-۷ می‌توانند مسیر تمایز رده های سلولی مزانشیمی مختلف پرتوان را به رده استئوبلاستی (استخوانی) هدایت کنند. بسته به مرحله و پتانسیل سلول هدف، (OP-۱) BMP-۷می‌تواند سلول های مزانشیمی پرتوان مختلف را به سلول‌های کندروبلاستی و استئوبلاستی تمایز دهد[۲۹].

۲-۳-٤-۱ روش‌های انتقال فاکتورهای رشد

به‌طور کلی، پنج روش برای انتقال فاکتور رشد و سایر فاکتورهای ضروری به داربست وجود دارد؛ به وسیله

[16] embryonic stem cells
[17] bone marrow isolated mesenchymal stem cells
[18] teratoma
[19] transforming growth factor-beta
[20] glycosaminoglycan

[21] insulin-like growth factor
[22] bone morphogenetic protein
[23] fibroblast growth factor
[24] epidermal growth factor

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

شکل آزاد در محیط‌کشت، از طریق ترکیب فیزیکی در هیدروژل، توسط پیوند کووالان با هیدروژل، از طریق حامل‌های میکروسفر، و توسط تکنیک انتقال ژن[۹].

۳- تکنیک انتقال ژن

قراردادن ژن‌های درمانی در مواد زیستی یک روش نسبتا جدید برای انتقال فاکتورهای رشد برای تسهیل بازسازی بافت است[۹]. به‌طور کلی، در طی ۱۰ سال گذشته ایجاد روش‌های کارآمد انتقال ژن، هدف مورد مطالعات بیشماری قرار گرفته است. با این‌حال، اگرچه مفهوم ژن درمانی برای ترمیم غضروف مفصلی جذاب به نظر می رسد، اما تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که استفاده از این تکنیک در حال حاضر بسیار دشوار است و نیاز به بهینه سازی انتقال ژن‌ها به بافت مورد نظر را دارد. در واقع، موفقیت درمان در ژن‌درمانی غضروف ارائه فاکتورهای درمانی به ساینوویوم یا مستقیماً به ضایعه غضروفی را شامل می‌شود. عوامل تعیین کننده در این امر شامل تراکم سلولی بافت ترمیم شده و تولید و حفظ یک ماتریکس سرشار از کلاژن نوع II و پروتئوگلیکان‌ها می‌باشد. همچنین، عامل درمانی ایده‌آل باید قادر به تحریک غضروف‌زایی، تحریک تکثیر سلولی و ارتقاء سنتز ماتریکس باشد. به نظر می‌رسد فاکتورهای رشد این معیارها را برآورده می‌کنند و بنابراین عوامل ایده‌آلی برای استفاده در طول ژن‌درمانی هستند که همانطور که پیشتر اشاره شد از جمله مهمترین آنها می‌توان از ابر خانواده فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGF-β)، پروتئین مورفوژنتیک استخوان (BMP- ۲) و خانواده فاکتور رشد فیبروبلاست مانند FGF-۲ نام برد[۱۸].

به‌عنوان مثال، در یک مطالعه پلتفرم انتقال ژنی TGF-β۳ وBMP-۲ در هیدروژل‌های آلژینات برای بافت غضروفی و استئوکندرال ایجاد شده است. نتایج این مطالعه نشانگر این امر بودند که بیان پیوسته و بیش از حد تراژن‌ها با رمزگذاری DNA پلازمیدی (pDNA) در نانوهیدروکسی آپاتیت (nHAp) حاصل شده است. مشخص شده است که انتقال ژنی TGF-β۳ و BMP-۲ منجر به افزایش قابل توجه تولید کلاژن و اگریکان می‌شود. انتقال همزمان ژن های کد کننده TGF-β۳ و BMP-۲ رسوب کلاژن نوع II بیشتری را در مقایسه با انتقال فقط TGF-β۳ یا BMP-۲ تولید کرد[۹].

مطالعه دیگری نیز کنترل فضایی بیان ژن در سلول را از طریق گرادیان‌های RNA های کوچک مداخله‌گر[۲۵] (siRNA) در هیدروژل‌ها گزارش کرد. نتایج این مطالعه حاکی از آن بود که siRNA را می‌توان به شکلی پایدار برای سلول‌های محصورشده عرضه کرد. این پلتفرم را می‌توان به‌منظور تولید گرادیان‌های عملکرد سلولی و ویژگی‌های بافت مهندسی‌شده برای بازسازی بافت‌های پیچیده و سطوح بافتی، از جمله غضروف و بافت‌های استئوکندرال (استخوانی-غضروفی) استفاده کرد[۹].

میکرو RNA ها (miRNAs) نیز می‌توانند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به بسیاری از دودمان‌ها از جمله استخوان، غضروف، چربی و سلول‌های عصبی و ماهیچه ای را تقویت کنند و بنابراین نوید خوبی برای تقویت درمان و بازسازی بافت‌های مختلف دارند[۳۰]. در استخوان‌زایی نیز میکرو RNA های مختلفی از جمله miR-۱۳۸، miR-۲۰۶ و miR-۲۱۰ تمایز استئوبلاست را تنظیم می‌کنند[۳۱]. در مقایسه با RNA های کوچک مداخله‌گر که به‌طور اختصاصی توالی‌های mRNA ی مکمل خودشان را مورد هدف قرار می‌دهند، miRNA ها می‌توانند به‌طور همزمان چندین ژن را با راندمان‌های متغیر خاموش کنند و بنابراین یک هدف ژنی خاص ممکن است به miRNA های مختلف پاسخ دهد. اثر سرکوب کننده یا خاموش کننده miRNA ها ممکن است با مکانیسم تنظیم ذاتی رونویسی به دلیل منشا درون‌زاد

[25] short interfering RNA

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

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

آنها قابل مقایسه باشد. بنابراین، استفاده از آنهـا در محـیط *in vivo* ممکن است بهتر از مسـیر تنظیمـی طبیعـی تقلیـد کند[۳۰].

یکی از جنبه‌های مهم در کاربردهای درمانی و تحقیقـاتی miRNAها ترانسفکشن آسان و بسـیار کارآمـد آنهـا مـی باشد. وکتورها به‌طور معمول برای تثبیـت، پایدارسـازی و انتقال کارآمد الیگونوکلئوتیدها به ویـژه بـرای اسـتفاده در محیط *in vivo* مورد نیاز هسند و وکتوهای غیـر ویروسـی از نظر ایمنـی گزینـه‌هـای بهتـری نسـبت بـه نمونـه‌هـای ویروسی می‌باشند. بـا ایـن‌حـال، ضـعف وکتورهـای غیـر ویروسی بازده ترانسفکشن پایین آنها می‌باشـد. عـلاوه بـر این، ناپایداری کمپلکس‌های انتقالی در محلول آبی، آمـاده سازی آنها را بلافاصله قبل از استفاده ضروری مـی‌سـازد، که این امر تولیـد آنهـا و از همـه مهمتـر، کنتـرل قابلیـت تکرارپذیری و کیفیت انتقال آنها را دشوار می‌کند. بنابراین، اشتیاق زیادی برای توسعه رویکردهای انتقال پایدار، قابـل ذخیره سازی، کاربری آسان و کارآمد آنها وجود دارد[۳۰].

از جمله سلول‌هـای هـدف دیگـری کـه بـرای انتقـال ژن پیشنهاد شده‌اند می‌توان به کندروسـیت‌هـای تمـایز یافتـه، ساینوویوسیت‌ها و یا سلول‌های اجـدادی کندروسـیت‌هـا اشاره کرد. همچنین، پیشنهاد شده است که برای انتقال ژن از ناقل‌های آدنوویرال یا رتروویرال نیـز می‌تـوان اسـتفاده کرد، اگرچـه طبـق مطالعـات انجـام شـده اثربخشـی آنهـا متوسط بوده است. سیستم‌های انتقال دیگـری ماننـد لنتـی ویـــروس یـــا بـــاکولوویروس نیـــز پیشـــنهاد شـــده‌انـــد. ساینوویوسیت‌ها همچنین یک سلول هـدف مـورد توجـه هستند، زیرا این سلول‌ها می‌توانند به سلول‌های غضروفی متمایز شوند و نقص‌های غضـروفی را پـر کننـد. اگرچـه، اکثر مطالعات مربوط به ساینوویوسـیت‌هـا در شـرایط *in vitro* انجام شده است[۱۸].

۴- انواع روش‌های ساخت داربست

تا کنون روش‌های متنوعی بـرای سـاخت داربسـت‌هـا در مهندسی بافت استفاده شده‌اند. در حالت ایـده‌آل، تکنیـک بهینه ساخت داربست باید بتواند داربست‌هایی قابل تکـرار با ساختار متخلخل کنترل شده ایجـاد کنـد؛ زیـرا هندسـه ساختار منافذ، تأثیرات قابل‌توجهی بر پاسخ‌های مکـانیکی و بیولوژیکی بافت استخوان دارد. از جمله مهمترین روش هـــای جـــاری بـــرای ســـاخت داربســـت می‌تـــوان بـــه الکتروریســـی[۲۶]، چـــاپ ســـه بعـــدی[۲۷]، خشـــک کـــردن انجمـادی[۲۸]، اسـفنج‌سـازی بـا گـاز[۲۹]، جداسـازی فـاز[۳۰] و فروشویی ذرات[۳۱] اشاره کرد کـه در ادامـه برخـی از ایـن روش‌ها شرح داده شده‌اند[۳۲].

۴-۱ ساخت داربست با استفاده از روش الکتروریسی

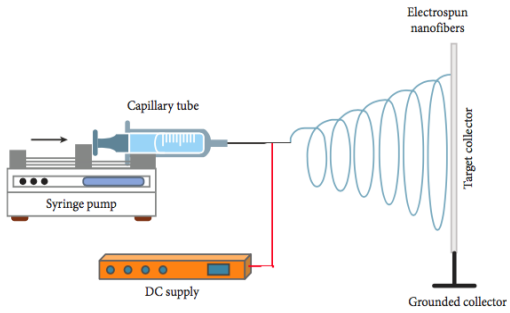
از جمله مهمترین روش‌های ساخت داربست می‌تـوان بـه روش الکتروریسی اشاره کرد. الکتروریسـی یـک تکنیـک مقرون بـه صـرفه بـرای تهیـه الیـاف پلیمـری بسـیار ریـز می‌باشـد کـه بـه راحتـی در مقیـاس‌هـای آزمایشـگاهی و صنعتی قابـل اسـتفاده اسـت. ایـن تکنیـک بـا اسـتفاده از نیروهای الکترواستاتیک برای ریسیدن محلول‌های پلیمری یا ذوب شدن آنها به درون جـت‌هـای شـلاقی، منجـر بـه ایجاد الیاف پیوسته با قطرهای متفاوت از چند نـانومتر تـا میکرومتر پس از تبخیر حلال در فرایند ریسیدن می شـود. دستگاه الکتروریسی معمولا از چهـار جـزء اصـلی، پمـپ سرنگ، یک سوزن، منبع با ولتـاژ بـالا و یـک جمع‌کننـده الیاف زمینی تشکیل شـده اسـت. در ایـن دسـتگاه، پمـپ سرنگ سرعت تغذیه محلول پلیمری را برای الکتروریسی کنترل می‌کند و یک سـوزن کـه از طریـق آن محلـول بـه سمت یک میدان الکتریکی قدرتمند می‌رود. یک منبـع بـا ولتاژ بالا در این دستگاه، که محلول پلیمری را بـه‌صـورت الیاف بسیار باریک می‌کشاند و جمع‌کننده الیاف زمینی، که

[26] electrospining
[27] 3D printing
[28] freeze-drying
[29] gas foaming
[30] phase separation
[31] particulate leaching

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

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

در آن می‌توان الیاف الکتروریسی شده را به‌صورت ایستا یا پویا جمع‌آوری کرد (شکل ۳) [۳۳]. الکتروریسی لایه به لایه روشی است که در آن هر پلیمر برای تشکیل یک لایه منحصر به فرد از نانوالیاف ساخته می‌شود، که این لایه‌ها به‌صورت متوالی در همان فویل آلومینیومی پایه‌ای متصل به زمینی که برای الکتروریسی چند لایه در نظر گرفته شده است قرار گرفته و در نهایت جمع‌آوری می‌شوند[۳٤].



شکل ۳ نمای کلی دستگاه الکترواسپینینگ[۳۵].

٤-۲ ساخت داربست با استفاده از روش چاپ سه بعدی

چاپ سه بعدی از جمله روش‌هایی است که به دلیل توانایی در ساخت داربست‌های متخلخل به هم پیوسته که هندسه منافذ در آن به خوبی قابل کنترل است در مهندسی بافت و خصوصا مهندسی بافت استئوکندرال بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش ساختار داربست می‌تواند به گونه‌ای طراحی شود که با بافت میزبان مطابقت داشته باشد. تا کنون، انواع متفاوتی از تکنیک‌های چاپ سه بعدی، از جمله روش‌های مایع، پودری و جامد برای ساخت داربست‌های گرادیان با انواع گوناگونی از بیومتریال‌ها، ویژگی‌های ساختاری و خواص مکانیکی در مهندسی بافت استفاده شده‌اند[۱۵].

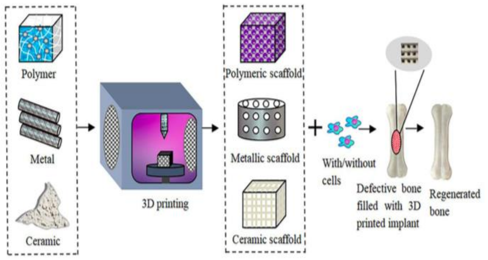
چاپ زیستی نوعی تکنیک چاپ سه بعدی منحصر به‌فرد است که در طی آن اشکال هندسی چند لایه پیچیده و قابل تنظیم از طریق مدل‌های دیجیتالی سه بعدی تولید شده با نرم‌افزار طراحی به کمک کامپیوتر[۳۲] (CAD) ایجاد می‌شوند. این فناوری نوظهور علاوه بر قابل تکرار و مقرون به صرفه بودن، قادر به تولید اشکال هندسی با معماری و تخلخل کنترل شده و ویژگی‌های ساختاری و مکانیکی قابل تنظیم می‌باشد. همچنین، برای دستیابی به پاسخ‌های سلولی بهتر، سلول‌ها، مولکول‌های فعال زیستی و یا داروها را می‌توان در این ساختارها ترکیب کرد. طیف وسیعی از پلیمرهای طبیعی و سنتتیک، بیوسرامیک‌ها و همچنین ترکیبی از آنها تاکنون برای تولید جوهر زیستی[۳۳] استفاده شده‌اند. در حالی‌که کلاژن و مشتقات آن بیشترین استفاده را برای تولید محلول‌های حاوی سلول دارند. چاپ زیستی را می‌توان به سه مرحله پیش‌پردازش، پردازش و پساپردازش عمده تقسیم کرد. پیش‌پردازش به تصویربرداری از ساختار آناتومیکی بافت مورد نظر با استفاده از اسکن توموگرافی کامپیوتر[۳٤] (CT) و یا تصویربرداری رزونانس مغناطیسی[۳۵] (MRI) و ترجمه آن تصاویر به مدل‌های برش خورده سه بعدی اشاره دارد. مرحله پردازش شامل همه موارد دخیل در تولید بافت چاپ شده زیستی، یعنی ایجاد جوهر زیستی و ساخت داربست می‌باشد. مرحله پساپردازش به بلوغ بافت تولید شده با این روش اشاره دارد تا زمانی که برای استفاده در *in vivo* مناسب باشد و معمولا این مرحله در بیوراکتور طی می‌شود[۳۲]. در شکل ٤ نمای کلی فرایند ساخت داربست با روش چاپ سه بعدی نشان داده شده است.

[32] computer-aided design

[33] bioink
[34] computerized tomography
[35] magnetic resonance imaging

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

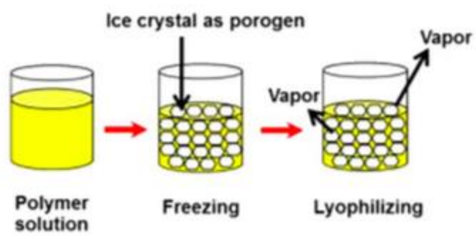
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]



شکل ٤ نمای کلی فرایند ساخت داربست با روش چاپ سه بعدی[٣٦].

٤-٣ ساخت داربست با استفاده از روش خشک کردن انجمادی

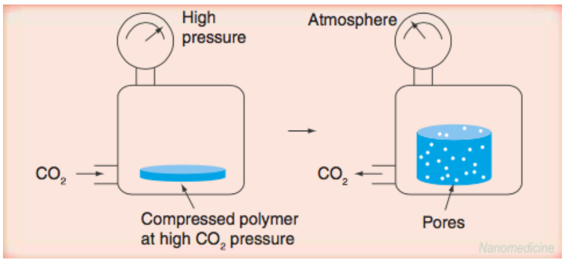
خشک کردن انجمادی یا لیوفیلیزاسیون، روشی بر پایه خشک کردن محلول‌های پلیمری است که می‌توان آن را به سه مرحله‌ی، آماده‌سازی محلول، ریخته‌گری یا قالب‌گیری محلول و انجماد و خشک کردن در فشار پائین تقسیم کرد. در مرحله آماده‌سازی محلول، پلیمر سنتتیک در یک حلال مناسب حل می‌شود. در طی مرحله‌ی انجماد و خشک کردن در فشار پائین نیز یخ و آب غیرمنجمد به ترتیب از طریق تصعید و دفع استخراج می شوند. این روش می‌تواند داربست‌هایی با تخلخل تقریبا ۹۰ درصد و اندازه حفره‌هایی از ۲۰ تا ۲۰۰ میکرومتر ایجاد کند. اندازه منافذ از طریق تغییر سرعت انجماد، غلظت پلیمر و دما قابل کنترل می‌باشد. برای تولید داربستی با تخلخل و اتصال داخلی بالا، خلا قوی مورد نیاز است[١٨, ٣٢]. در شکل ٥ نمای کلی فرایند ساخت داربست با روش خشک کردن انجمادی نشان داده شده است.



شکل ٥ شکل شماتیک فرایند ساخت داربست با روش خشک کردن انجمادی[٣٧].

٤-٤ ساخت داربست با استفاده از روش گاز فوم (اسفنج‌سازی با گاز)

این تکنیک برای حل مشکل استفاده از حلال‌های سمی آلی در دمای بالا ایجاد شده است. در این تکنیک عوامل ایجادکننده فوم گازی نسبتا بی اثر، مانند دی اکسیدکربن و نیتروژن برای تحت فشار قرار دادن پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر شکل داده شده با آب یا فلوروفرم تا زمان اشباع شدن یا پر شدن از حباب‌های گازی، استفاده می شوند. این روش عمدتا ساختارهای اسفنج مانند با اندازه منافذ ۳۰ تا ۷۰۰ میکرومتر و میزان تخلخل تا ۷۵ درصد ایجاد می‌کند. اشکال این تکنیک این است که گاهی اوقات ممکن است محصول به‌دست آمده دارای منافذ بسته یا پوسته پلیمری جامد باشد[٣٥]. در شکل ٦ نمای کلی فرایند ساخت داربست با روش اسفنج سازی با گاز نشان داده شده است.



شکل ٦ نمای کلی فرایند ساخت داربست با روش اسفنج سازی با گاز؛ دراین روش کاهش سریع فشار منجر به تشکیل حباب در پلیمر می شود[٣٨].

٥- بحث و نتیجه‌گیری

ترمیم نقص‌های استئوکندرال طی چند سال گذشته پیشرفت زیادی داشته است و از جمله مباحث رو به رشد در حوزه مهندسی بافت می‌باشد. از زمان آغاز تا کنون، تحقیقات در زمینه مهندسی بافت استئوکندرال، از رویکرد ترمیمی بر پایه ی ژل و بدون داربست، به سمت ترمیم از طریق ساخت داربست‌های تک لایه و سپس داربست‌های دو فازی و چند فازی پیشروی کرده است. یکی از چالش های مهم در بازسازی بافت استئوکندرال تشکیل بخش حدفاصل میان استخوان و غضروف می‌باشد. اگرچه برخی

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

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

از مطالعات اخیر، راهبردهایی را برای ایجاد صحیح این ناحیه مطرح می‌کنند، اما همچنان تشکیل ناحیه حدفاصل استخوانی غضروفی یکپارچه مشابه با بافت استئوکندرال اصلی، یکی از چالش‌های عمده در این حوزه می‌باشد. در مقاله مروری حاضر، ضمن تشریح ساختار بافت استئوکوندرال، از منظر سلولی و بافت‌شناسی، به راهکارهای مهندسی بافت و ساخت گرفت/سازه جهت جایگزینی و کمک به ترمیم ضایعات این بافت اشاره شده است. همچنین، اجزای کلیدی دخیل در عملکرد و ساختار سازه مهندسی شده، شامل سلول‌ها، جنس بیومتریال، تکنیک ساخت سازه، فاکتورهای رشد، و ژن درمانی به تفصیل، بیان شده و نقاط قوت وضعف هر یک تبیین شد.

٦- منابع

[1] Swieszkowski, W., et al., Repair and regeneration of osteochondral defects in the articular joints. Biomolecular engineering, 2007. 24(5): p. 489-495.

[2] Li, Z., et al., 3D-printed scaffolds with calcified layer for osteochondral tissue engineering. Journal of bioscience and bioengineering, 2018. 126(3): p. 389-396.

[3] Yousefi, A.M., et al., Current strategies in multiphasic scaffold design for osteochondral tissue engineering: a review. Journal of biomedical materials research Part A, 2015. 103(7): p-٢٤٦٠ . .٢٤٨١

[4] Temenoff, J.S. and A.G. Mikos, Tissue engineering for regeneration of articular cartilage. Biomaterials, 2000. 21(5): p. 431-440.

[5] Huey, D.J., J.C. Hu, and K.A. Athanasiou, Unlike bone, cartilage regeneration remains elusive. Science, 201 :(٦١٠٩)٣٣٨ .٢p. 917-921.

[6] Chen, H., et al., Drilling and microfracture lead to different bone structure and necrosis during bone-marrow stimulation for cartilage repair. Journal of Orthopaedic Research, 2009. 27(11): p. 1432-1438.

[7] Kul Babur, B., et al., The rapid manufacture of uniform composite multicellular-biomaterial micropellets, their assembly into macroscopic organized tissues, and potential applications in cartilage tissue engineering. PloS one, 2015. 10(5): p. e0122250.

[8] Felson, D.T., et al., Osteoarthritis: new insights. Part 1: the disease and its risk factors. Annals of internal medicine, 2000. 133(8): p. 635-646.

[9] Yang, J., et al., Cell-laden hydrogels for osteochondral and cartilage tissue engineering. Acta biomaterialia, 2017. 57 :p. 1-25.

[10] Makris, E.A., et al., Repair and tissue engineering techniques for articular cartilage. Nature Reviews Rheumatology, 2015. 11(1): p. 21-34.

[11] Kalson, N.S., P.D. Gikas, and T.W. Briggs, Current strategies for knee cartilage repair. International journal of clinical practice, 2010. 64(10): p. 1444-1452.

[12] Mella, C., A. Nuñez, and I. Villalón, Treatment of acetabular chondral lesions with microfracture technique. SICOT-J, 2017. 3.

[13] Brittberg, M., et al., Cartilage repair in the degenerative ageing knee: a narrative review and analysis. Acta orthopaedica, 2016. 87(sup363): p. 26-38.

[14] Panseri, S., et al., Osteochondral tissue engineering approaches for articular cartilage and subchondral bone regeneration. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 2012. 20(6): p. 1182-1191.

[15] Zhang, B., J. Huang, and R.J. Narayan, Gradient scaffolds for osteochondral tissue engineering and regeneration. Journal of Materials Chemistry B, 2020. 8(36): p. 8149-8170.

[16] Nooeaid, P., et al., Osteochondral tissue engineering: scaffolds, stem cells and applications. Journal of cellular and molecular medicine, 2012. 16(10): p. 2247-2270.

[17] Minas, T., A primer in cartilage repair. The Journal of bone and joint surgery. British volume, 2012. 94(11_Supple_A): p. 141-146.

[18] Huselstein, C., Y. Li, and X. He, Mesenchymal stem cells for cartilage engineering. Bio-medical materials and engineering, 2012. 22(1-3): p. 69-80.

[19] Cavallo, C., et al., Chondrogenic differentiation of bone marrow concentrate grown onto a hylauronan scaffold: rationale for its use in the treatment of cartilage lesions. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2013. 101(6): p. 1559-1570.

[20] Oliveira, H.L., et al., Histological evaluation of bone repair with hydroxyapatite :a systematic review. Calcified tissue international, 2017. 101(4): p. 341-354.

[21] Roseti, L., et al., Scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and new perspectives. Materials Science and Engineering: C, 2017. 78: p. 1246-1262.

[22] Sheikh ,Z., et al., Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar

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

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

[31] Itoh, T., et al., Expression of BMP-2 and Ets1 in BMP-2-stimulated mouse pre-osteoblast differentiation is regulated by microRNA-370. FEBS letters, 2012. 586(12): p. 1693-1701.
[32] Collins, M.N., et al., Scaffold fabrication technologies and structure/function properties in bone tissue engineering. Advanced Functional Materials, 2021. 31(21): p. 2010609.
[33] Ji, W., et al., Bioactive electrospun scaffolds delivering growth factors and genes for tissue engineering applications. Pharmaceutical research, 2011. 28(6): p. 1259-1272.
[34] Foong, C.Y. and N. Sultana, Fabrication of layer-by-layer electrospun composite membranes based on polylactic acid (PLA) and poly (caprolactone)(PCL)/Chitosan. ARPN J. Eng. Appl. Sci, 2015. 10: p. 9408-9413.
[35] Eltom, A., G. Zhong, and A. Muhammad, Scaffold techniques and designs in tissue engineering functions and purposes: a review. Advances in Materials Science and Engineering, 2019. 2019.
[36] Cheng, L., et al., 3D printing of micro-and nanoscale bone substitutes: A review on technical and translational perspectives. International Journal of Nanomedicine, 2021. 16: p. 4289.
[37] Aramwit, P., et al., A green salt-leaching technique to produce sericin/PVA/glycerin scaffolds with distinguished characteristics for wound-dressing applications. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2015. 103(4): p. 91.۹۲٤-٥
[38] Seunarine, K., et al., 3D polymer scaffolds for tissue engineering. 2006.
bone reconstructive applications: a review. Biomaterials research, 2017. 21(1): p. 1-20.
[23] Bauermeister, A.J., A. Zuriarrain, and M.I. Newman, Three-dimensional printing in plastic and reconstructive surgery: a systematic review. Annals of plastic surgery, 2016. 77(5): p. 569-576.
[24] Dai Prè, E., G. Conti, and A. Sbarbati, Hyaluronic acid (HA) scaffolds and multipotent stromal cells (MSCs) in regenerative medicine. Stem cell reviews and reports, 2016. 12(6): p. 664-681.
[25] Barr, A.J., et al., The relationship between three-dimensional knee MRI bone shape and total knee replacement—a case control study: data from the Osteoarthritis Initiative. Rheumatology, 2016 . :(۹)٥٥p. 1585-1593.
[26] van der Woude, J.-T.A., et al., Five-year follow-up of knee joint distraction: clinical benefit and cartilaginous tissue repair in an open uncontrolled prospective study. Cartilage, 2017. 8(3): p. 263-271.
[27] Ramezanifard, R. and M. Kabiri, Effects of platelet rich plasma and chondrocyte co-culture on MSC chondrogenesis, hypertrophy and pathological responses. EXCLI journal, 2017. 16: p. 1031.
[28] Tat, S.K., et al., Strontium ranelate inhibits key factors affecting bone remodeling in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts. Bone, 2011. 49(3): p. 559-567.
[29] Solheim, E., Growth factors in bone. International orthopaedics, 1998. 22(6): p. 410-416.
[30] Wu, K., et al., Induction of osteogenic differentiation of stem cells via a lyophilized microRNA reverse transfection formulation on a tissue culture plate. International journal of nanomedicine, 2013. 8: p. 1595.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-05-03]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]

A review of current approaches in osteochondral tissue engineering and future challenges

Shokoufeh Mehrtashfar[1], Mahboubeh Kabiri*[2]

1. PhD student, Department of Biotechnology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Associate Prof., Department of Biotechnology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran

mkabiri@ut.ac.ir

Receipt: 2021/12/11 Accepted: 2022/02/01

Abstract

Occurrence of various types of incidents such as road accidents, damage and injuries during sports activities as well as some diseases can lead to the destruction and resorption of osteochondral tissue and cause many problems in health and quality of life of the patient, therefore control and repairing these defects is one of the major challenges in the field of regenerative medicine. Since osteochondral defects involve damage to both articular cartilage and underlying subchondral bone, the demands of bone, cartilage, and bone-cartilage interface should be taken into account for repair. Current clinical therapies are more palliative and less therapeutic. Hence, due to the limitations of existing treatment methods over the past decade, the use of tissue engineering as an effective and low-risk treatment method for the treatment of many diseases, especially bone-cartilage lesions, has been introduced. In this approach, some limitations of previous methods could be overcome by transplanting osteochondral composite tissues, which have been obtained by combining patient's own cells with three-dimensional porous biomaterials of predetermined shape and size. So far, various strategies for scaffold fabrication have been used to repair osteochondral defects, including single-phase, multilayer, and graded structures. In this study, some common strategies in tissue engineering, as well as the challenges ahead, are briefly discussed.

Keywords: Osteochondral tissue, Scaffold, Tissue engineering, Bone, Cartilage

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

[DOR: 20.1001.1.23222115.1401.13.3.9.6]