

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 31787-316

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، سیلانیت 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 طرح‌دار کردن 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

بافت‌های معیوب به علت تصادف، جراحی، سرطان یا آسیب دیدگی مادرزادی استفاده می‌شود. اگرچه پیشرفت‌های حاصله در روش‌های جراحی، سرکوب سیستم ایمنی و مراقبت‌های بعد از عمل باعث زنده ماندن

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

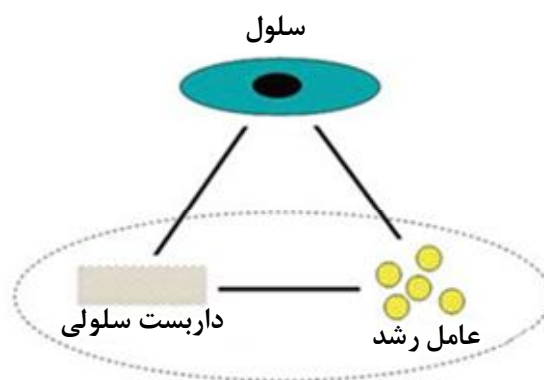
بخصوص برای توسعه مواد راکتورهای زیستی و یا مواد فعال زیستی که بتوانند بازسازی سلولی³ را در بدن افزایش دهند، بکاربردن پروتئین‌های پیام‌رسان زیستی نظیر عوامل رشد و سایتوکین‌ها⁴ حائز اهمیت فراوانی است. اگرچه مثال‌های زیادی از طراحی مواد برای چسبندگی سلول وجود دارد، اما تحقیقات اندکی در زمینه تنظیم عملکردهای سلولی شامل بیان ژن⁵، رشد⁶، تمایز⁷، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی⁸، تبدیل و تحول⁹ 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 نوری¹⁰

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 بالا¹¹ 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 می‌باشد. خواص سطح مواد زیستی در پاسخ به بافت و

بیشتر و بالا رفتن 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 رشد¹ و یا تمایز² 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]

³ Regeneration

⁴ Cytokines

⁵ Gene Expression

⁶ Proliferation

⁷ Differentiation

⁸ Apoptosis

⁹ Transformation

¹⁰ Photolithography

¹¹ Hts = High-Throughput Screening

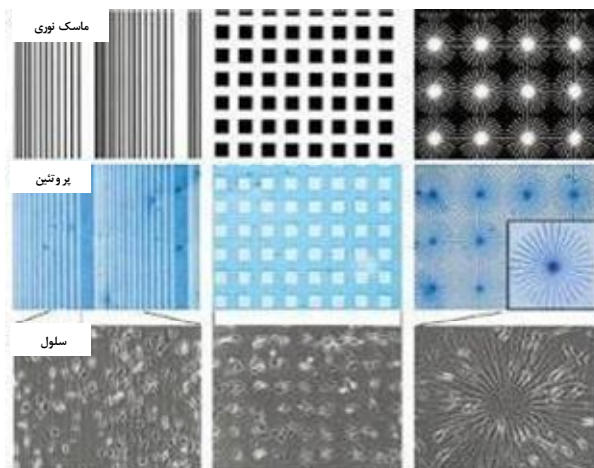
¹ Growth

² Differentiation

حکاکی نوری همچنین برای طرح دار کردن سلول‌ها روی زیرلایه‌های سیلیکونی از طریق طرح دار کردن آلکیل سیلان‌ها کاربرد دارد. اوتسونی⁶ 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 به راحتی خم می‌شود (شکل 3) [3].

3- مولکول‌های پیام‌رسان زیستی⁷

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 می‌شود و سپس با تابش نور از میان ماسک، عوامل فعال زیستی نظیر پروتئین‌ها و سلول‌ها روی سطح با طرح ماسک نوری تثبیت می‌شوند

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 طرح¹ روی سطوح با گروه‌های عاملی زیستی، اجازه کنترل کامل در فصل مشترک زیرلایه² و محیط سلولی را می‌دهد. بدین معنی که سطوح اصلاح می‌شوند 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 ریخت‌شناسی بر عملکرد سلول، مهاجرت، رشد سلول و همچنین به عنوان تنظیم کننده رفتار سلولی می‌باشد [7]. بطور مثال پروتئین‌های چسبنده نظیر فیبرونکتین³، لامینین⁴ و ویترونکتین⁵ می‌توانند 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

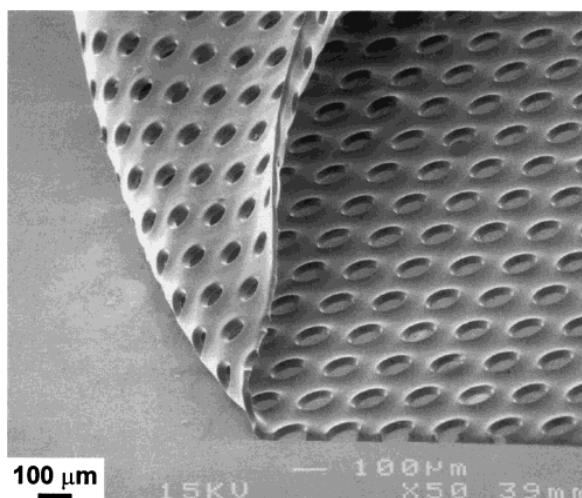
⁶ Ostuni

⁷ Biosignal Molecules

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 به راحتی 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 ژنومیکس¹²، پروتئومیکس¹³، سلومیکس¹⁴ و آنالیزهای بالینی دارد [10].

5- مراحل مختلف فرایند تثبیت نوری¹⁵

شکل 4 مراحل مختلف فعال شدن مولکول‌های پیام‌رسان زیستی شامل عوامل رشد و سایتوکین‌ها را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود، ابتدا مولکول‌های پیام‌رسان زیستی با گیرنده برهمکنش داده، تشکیل یک کمپلکس می‌دهد که منجر به فسفرگیری خودکار¹⁶ گیرنده‌های محدوده سیتوپلاسم می‌شود.



شکل 3 تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از یک غشای سیلیکونی طرح‌دار شده 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 انسولین¹، عامل رشد اپیدرمال²، عامل رشد عصبی³، عامل رشد استخوان⁴، عامل رشد اندوتلیال اندوتلیال عروقی⁵، عامل رشد فیروبلست⁶، عامل رشد تغییر شکل دهنده بتا⁷، عامل رشد هیپاتوسیت⁸ و عامل رشد مشتق از پلاکت⁹ می‌باشند [۴،۵].

4- تثبیت نوری¹⁰

فرایند تثبیت نوری ابتدا برای تهیه تراشه‌های زیستی ریزآرایه¹¹ به‌کار گرفته شد. در این فرایند انواع گوناگون

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

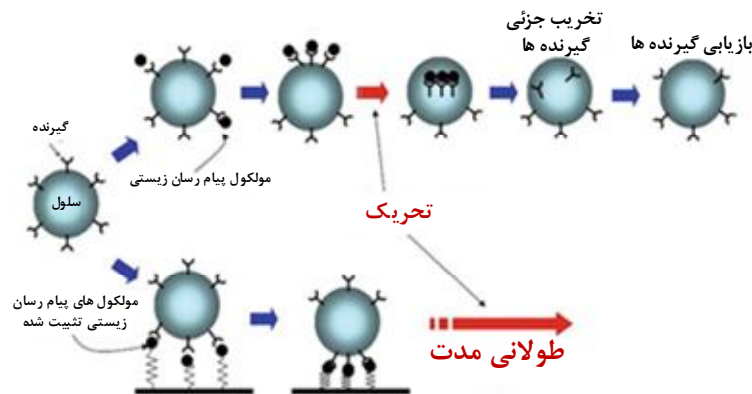
¹² Genomics

¹³ Proteomics

¹⁴ Cellomics

¹⁵ Photo-Immobilization Mechansim

¹⁶ Autophosphorylation



شکل 4 برهمکنش سلولها با عوامل رشد در دو حالت محلول (مسیر بالایی) و تثبیت شده (مسیر پایینی) [11]. انتقال پیام توسط مولکولهای تثبیت شده طولانی تر نسبت به حالت محلول می باشد

سطوح تثبیت شوند. افزایش اثرات زیستی، فیزیکی و شیمیایی چسبندگی سلول باعث افزایش اثرات میتوزنیک⁷ میتوزنیک⁷ عوامل تثبیت شده رشد می شود. همچنین، عوامل چسبندگی سلول نظیر کلاژن، فیبرونکتین و ژلاتین به منظور بهبود اثرات زیستی چسبندگی سلول تثبیت شده اند. در بخش هایی که تثبیت هم زمان چند ترکیب وجود دارد، رشد و چسبندگی سلول بطور قابل ملاحظه ای افزایش یافته است. به منظور بهبود اثرات فیزیکی و شیمیایی چسبندگی سلول، پلیمرهای کاتیونی نظیر پلی آلایل آمین⁸ و پلی لیزین⁹ بکار رفته اند. علاوه بر این انواع گوناگون مواد واکنش پذیر در برابر محرک¹⁰ توسعه یافته و سلولها روی سطوح این مواد با اصلاحاتی تثبیت شده اند [2، 12].

7- خواص زیستی سطوح¹¹

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

این فرایند فسفرگیری بنوبه خود پدیده انتقال پیام داخل سلولی¹ را فعال می کند. به عبارت دیگر کمپلکس های تشکیل شده متراکم شده و این مجموع متراکم شده به داخل سلولها وارد می شوند. این ورود همراه با دو سازوکار بستگی به پروتئین رشته ای وابسته به کلاژین² و مستقل از کلاژین³ اتفاق می افتد که منجر به بازیافت گیرنده ها به غشاء پلاسمائی برای حساس شدن مجدد و یا خاموش کردن گیرنده ها به لیزوزومها به منظور کاهش پاسخ دهی⁴ گیرنده های پروتئینی غشا می شود [2]. اگر انتقال پیام⁵ از مولکولهای پیام رسان زیستی به سلولها به علت تشکیل کمپلکس آنها با گیرنده باشد، انتظار می رود که مولکولهای پیام رسان زیستی تثبیت شده بتوانند روی سطح ماده تاثیر بگذارند. علاوه بر این، انتقال پیام توسط مولکولهای تثبیت شده طولانی تر نسبت به حالت محلول خواهد بود [2].

6- تثبیت هم زمان چند ترکیب⁶

به منظور افزایش اثر عوامل رشد تثبیت شده، سایر مولکولهای بزرگ نیز می توانند بطور هم زمان روی

⁷ Mitogenic Effects

⁸ Poly(Allyl Amine)

⁹ Polylysine

¹⁰ Stimuli-Responsive Materials

¹¹ Biological Effects of Surfaces

¹ Intracellular Signal Transduction

² Clathrin-Dependent

³ Clathrin-Independent

⁴ Down-Regulation

⁵ Signal Transduction

⁶ Co-Immobilization

برای ساخت جزایر⁶ 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].

2-7- مهاجرت سلول⁷

هدایت مهاجرت سلول یکی از مسائل اساسی برای بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر رگ زایی⁸ و تشکیل عروق خونی جدید⁹ بافت مجروح می‌باشد. توسعه روش‌های تنظیم کننده تحرک سلول‌های اندوتلیال¹⁰ در محیط پیرامون ترمیم زخم یک مسئله مهم و اساسی در عملکرد سامانه‌های مهندسی بافت و حسگرهای زیستی کاشتنی¹¹ 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 وونگ¹² 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 دلونگ¹³ و همکاران گرادیان‌هایی از پپتید آرژینین- گلايسين- آسپارتیک اسید¹⁴ را روی هیدروژل‌های پلی اتیلن گلیکول تثبیت شده به منظور مشخصه‌یابی جهت حرکت جمعیت سلول‌های فیروبلاست و تنظیم سلول در امتداد گرادیان ایجاد نمودند [15].

پراکندگی سلول¹، مهاجرت سلولی تأثیر بسزایی گذاشته 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].

1-7- چسبندگی سلول²

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 سلول³ 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 - سلول⁴ سلول⁴ و پروتئین‌های ماتریس برون سلولی⁵ 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 فرایندهای مهندسی بافت می‌باشد. به منظور فراهم کردن کنترل فعل و انفعالات سلول - سطح، روش‌های گوناگونی نظیر طرح‌دار کردن

⁶ Islands

⁷ Cell Migration

⁸ Angiogenesis

⁹ Neovascularization

¹⁰ Endothelial Cell Motility

¹¹ Implanted Biosensors

¹² Wong

¹³ Delong

¹⁴ Rgds = Arginylglycylaspartic Acid

¹ Cell Spreading

² Cell Adhesion

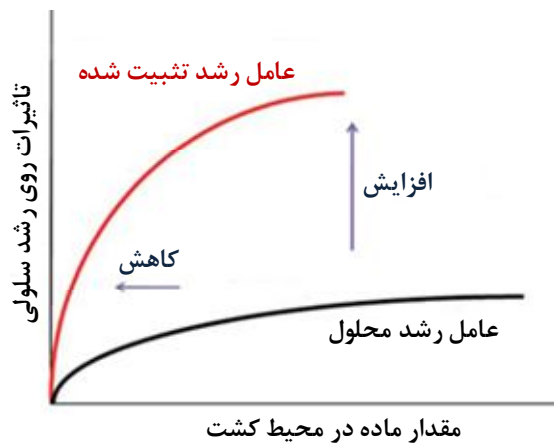
³ Cytoskeleton

⁴ Tethering Cell-Cell Adhesion Molecules

⁵ Extracellular Matrix = Ecm

3-7- رشد سلولی¹

را محدود می کند.



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 طوری که نیاز به افزودن عامل رشد در محیط کشت کمتر می باشد

موقعیت سلول های مجاور و جهت گیری الیاف پروتئینی ماتریس برون سلولی، توزیع فضایی چسبندگی و سطوح متصل نشده سلول را کنترل می کند. ترکیب بیوشیمیایی و استحکام ریزمحیط سلولی، چسبندگی و در نتیجه مسیرهای پیام رسان داخل سلولی را تحت تاثیر قرار می دهد. شکل 6 ریزمحیط سلولی درجا⁵ و در شرایط برون تنی⁶ را نشان می دهد. همان طور که در این شکل مشاهده می شود، موقعیت فضایی، پیام رسانی بیوشیمیایی و مقاومت مکانیکی سلول وابسته به موقعیت سلول های مجاور و ماتریس برون سلولی می باشد، بطوری که ریزمحیط سلولی در روش های برون تنی که از یک سطح صاف تشکیل شده است، به دلیل عدم شرایط فیزیولوژیک بدن، تحت تاثیر موقعیت فضایی سلول نمی باشد. استفاده از روش های طرح دار کردن میکرونی قابلیت تغییر ریزمحیط سلول ها را ایجاد نموده، بطوری که محیط آن مشابه شرایط فیزیولوژیکی بدن باشد [22].

در طراحی مواد زیستی شامل عوامل رشد، اثرات سلولی انتقال عوامل رشد بصورت نفوذپذیر و غیرقابل نفوذ، یکی از مسائل مهم در طراحی داربست های سلولی با کاربردهای مهندسی بافت می باشد. عوامل رشد تثبیت شده هر پیمای 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 سلول ها به منظور رشد نیاز به مقدار کمتری از عامل رشد تثبیت شده در مقایسه با حالت محلول دارد (شکل 5). این امر نشان می دهد که با استفاده از عوامل رشد تثبیت شده نیاز به افزودن مداوم عامل رشد به محیط کشت سلولی کاهش می یابد. علاوه بر آن، فعالیت های میتوزنیک عوامل رشد تثبیت شده بالاتر از عوامل رشد در محلول می باشد [16].

4-7- کنترل موقعیت فضایی در چسبندگی، مهاجرت و رشد سلول²

یکی از مهمترین چالش ها در طراحی، ساخت مواد و سیستم های 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 طراحی های میکرو سه بعدی³ می شود که شرایط آن مشابه بدن موجودات زنده است [17]. بسیاری از فرایندهای سلولی نظیر چسبندگی، مهاجرت و رشد سلولی تحت تاثیر موقعیت فضایی سلول می باشد [18-21]. ریزمحیط سلولی⁴ شامل ماتریس برون سلولی و سلول های مجاور، شرایط مرزی خاصی را ایجاد می کند که بر معماری، مکانیک، قطبیت و عملکرد سلول مؤثر است. اندازه ریزمحیط سلولی، حجم و پراکندگی سلولی

¹ Cell Growth

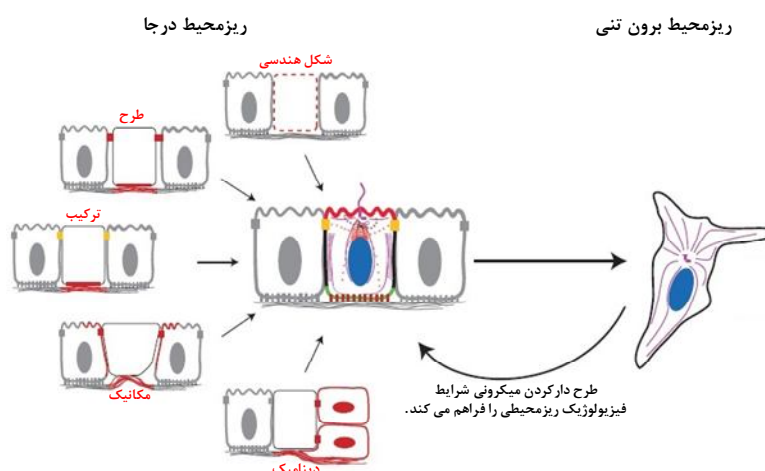
² Spatiotemporally Controlled In Cell Adhesion, Migration And Growth

³ 3d Micropatterns

⁴ Cell Microenvironment

⁵ In Situ

⁶ In Vitro



شکل 6 رئز محیط سلولی درجا و برون تنی: تصویر سمت چپ، رئز محیط 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 (رئز محیط برون تنی)، رئز محیط 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 رئز محیط سلول‌ها بکار روند، به نحوی که سطح کشت سلولی به شرایط فیزیولوژیکی بدن نزدیک شود [22]

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 نور⁴

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 سیلان‌های 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

جهت‌گیری رشته‌های پروتئینی آکتین در چارچوب سلولی¹ و قطبیت آنها در پاسخ به موقعیت‌های فضایی، مهاجرت سلولی را کنترل می‌کند. مثلاً 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.سی² که یکی از مسیرهای اصلی چسبندگی سلول است، بطور همگن و یکنواخت در کل سلول فعال می‌شود. در فرایند رشد سلول‌های اندوتلیال³ نیز محدودیت در پراکندگی سلول‌ها (با استفاده از طرح‌های مربعی شکل با عرض کمتر از 10 میکرون)، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را تحریک

¹ Actin Cytoskeleton

² Src Signaling Pathway

³ Endothelial Cells

⁴ Photo-Reactive Bio-Systems

یکی از انواع آلکیل سیلانها بصورت یک پوشش تک لایه خود سامان یافته⁸ 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 فتوشیمیایی توسط اشعه ماورای بنفش و با عبور از یک ماسک نوری با طرح مشخص تثبیت شد. در غیاب ماسک نوری، این سطوح توسط اندازه گیری زاویه قطره آب به منظور بررسی خاصیت آبدوستی/ آبرگریزی آنالیز شدند. نتایج مربوطه نشان داد که آلکیل سیلان خاصیت آبرگریزی و فتوراکتیوژلاتین خاصیت آبدوستی را افزایش می دهد. در حضور ماسک نوری، طرح دار کردن ژلاتین فعال به نور روی سطوح مختلف نیز انجام شد. سپس به منظور بررسی چسبندگی سلولی، سلولهای فیبروبلاست میمون سبز آفریقای⁹ روی سطوح مختلف طرح دار و بدون طرح طرح کشت داده شد. نتایج نشان داد که چسبندگی سلولی روی قسمت های تثبیت شده ژلاتین فعال به نور بیشتر از قسمت های تثبیت نشده می باشد 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 آکسونها¹⁰ موضوعی است که مهندسی بافت به آن توجه زیادی کرده است [30]. در یک تحقیق که توسط اشمالنبرگ¹¹ و همکاران انجام گرفت، سلولهای عصبی شوان¹² بر روی زیرلایه پلیمری پلی متیل

هیالورونیک اسید¹، ژلاتین، کایتوسان² و پولولان³ اشاره کرد که برای طرح دار کردن سطح برای کشت سلولی یا تهیه یک تراشه ریزآرایه پروتئینی بکاربرده می شوند.

8-1- سامانه های زیستی فعال در برابر نور فرابنفش⁴

مشتقات پلیمرهای زیستی شامل ژلاتین [25]، هیالورونیک اسید [26]، پولولان [27] و کایتوسان [28] توسط واکنش با گروه های آزیدوفنیل⁵ ساخته شده اند. گروه آزیدوفنیل متصل شده توسط تابش نور تجزیه شده و گروه رادیکالی نیترن⁶ را تولید می کند. گروه رادیکالی تولید شده باعث اتصال جانبی پلیمرها به یکدیگر شده و همزمان با دیگر مواد آلی واکنش نشان می دهد. بنابراین پلیمرهای زیستی می توانند روی سطح انواع زیرلایه ها و سایر مواد آلی تثبیت شده شامل مولکولهای زیستی نظیر اسیدهای نوکلئیک یا پروتئینها تثبیت شوند. پلیمرهای زیستی برای ساخت تراشه های ریزآرایه، زیرلایه مربوط به کشت سلولی طرح دار و تثبیت عوامل رشد بکاربرده شده اند. اصلاح سطح زیستی برای طراحی مواد زیستی از اهمیت بالایی برخوردار است [۲۰،۴،۵،۱۱،۲۹].

محققان تاکنون روش های مختلفی را برای اصلاح سطح دی اکسید تیتانیوم به منظور القای پاسخ بیولوژیکی خاص بررسی کرده اند [۲،۹]. ایمپلنت های تیتانیوم و آلیاژهای آن بطور گسترده ای در علم پزشکی کاربرد دارند، زیرا این مواد زیست سازگار و غیرسمی بوده، دارای خواص مکانیکی مناسب و همچنین مقاوم در برابر پدیده خوردگی می باشند [13]. در تحقیق قبلی، با وارد کردن گروه فعال به نور در ژلاتین، ژلاتین فعال به نور حاوی گروه های آزیدوآنیلین⁷ را ساخته، سپس با استفاده از یکی

¹ Hyaluronic Acid

² Chitosan

³ Pullulan

⁴ Uv-Reactive Bio-Systems

⁵ Azidophenyl

⁶ Nitrene

⁷ Azidoaniline

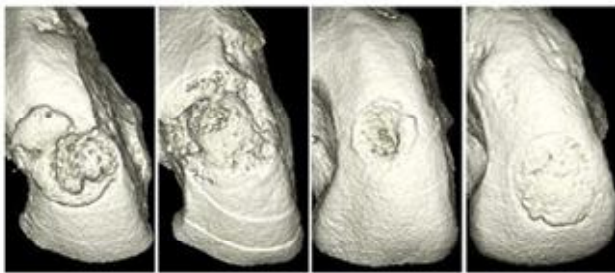
⁸ Sam = Self-Assembled Monolayer

⁹ Cos-7

¹⁰ Axons

¹¹ Schmalenberg

¹² Schwann Cell



شکل 7 روند بهبودی جراحات استخوانی خرگوش با استفاده از تثبیت نوری ژلاتین و عوامل رشد استخوانی BMP4 و CBD⁷-BMP4 از چپ به راست [32]. همان‌طور که به وضوح مشاهده می‌شود، تثبیت نوری ژلاتین و عوامل رشد استخوانی منجر به افزایش سرعت ترمیم شده است

شکل 7 روند بهبودی جراحات استخوانی خرگوش با استفاده از تثبیت نوری ژلاتین و عوامل رشد استخوانی BMP4 و CBD⁷-BMP4 از چپ به راست [32]. همان‌طور که به وضوح مشاهده می‌شود، تثبیت نوری ژلاتین و عوامل رشد استخوانی 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 [39,38]. در این تحقیق، گروه فعال به نور حاوی آزیدوآنیلین با ژلاتین پیوند شیمیایی برقرار نموده، روی سطح شیشه در برابر امواج الکترومغناطیس (لیزر CO₂) تثبیت می‌شود. در این سامانه، پارامتر شدت 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 CO₂ 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 CO₂ قرار گرفت، هیچ‌گونه تثبیت یا طرح‌دار شدن روی سطوح شیشه مشاهده نشد. این امر نشان دهنده این می‌باشد که فرایند تثبیت با وارد کردن گروه فعال به نور انجام می‌گیرد و در این حالت، ژلاتین فقط تحت اثر

⁷ CBD = Collagen Binding Domain

متاکریلات¹ 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 مرئی²

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 پالپ³ در دندان پزشکی 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 فوران⁴، ژلاتین [33] یا کایتوسان [34] و یک رنگ بنام رزبنگال⁵ 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 لیزر⁶

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

¹ Poly(Methyl Methacrylate)

² Visible Light-Reactive Bio-Systems

³ Pulp Capping Material

⁴ Furan

⁵ Rose Bengal

⁶ Laser-Reactive Bio-Systems

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 می‌شود، تثبیت انسولین و عامل رشد اپیدرمال منجر به افزایش رشد سلول‌ها می‌شود [43]. عامل رشد استخوان، فعالیت آلکالین فسفاتاز⁴ 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 کندروسیت‌ها⁵ را به سمت بلوغ پیش می‌برد [46]. لیگاندهای ناچ⁶ فعال سازی ناچ را در سلول‌ها فقط در حالت تثبیت شده تحریک کرده و همچنین به منظور توسعه جمعیت سلول بنیادی خون‌ساز⁷ خون‌ساز⁷ پیشنهاد شده است [47]. تثبیت عامل بازدارنده لوکمی⁸ باعث بازدارای 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 نوری⁹

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.

امواج الکترومغناطیسی به راحتی 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 آزیدوفیل وقتی در معرض میدان الکترومغناطیسی قرار بگیرد، فعال شده و ایجاد مواد واسطه فعال¹ 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 شده²

برای اولین بار تثبیت انسولین روی یک ماتریس جامد به منظور بررسی سازوکار آن توسط کوآترکاساس³ گزارش شد [40]. هر چند استفاده از این ترکیبات مرکب باعث تسهیل خالص سازی 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 کمی مشکل به نظر می‌رسد.

سپس در سال 1991 انسولین بر روی یک سطح ساده به عنوان عامل رشد برای بررسی اثر دراز مدت میتوزنیک

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

¹ Reactive Intermediates

² History of Immobilized Insulin Growth Factor

³ Cuatrecasas

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

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

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 Polyallylamine+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-Modified PDMS (Polydimethylsiloxane)

¹⁸ Polystyrene Photo-Immobilized (Micropatterned)

¹⁹ Gene-Engineered

²⁰ Surface-Modified Titanium

²¹ 3d Collagen Mimetic Peptides Scaffold

²² Photo-Immobilized Microbeads

جدول 1 ادامه

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

¹ Poly(Hema) Grafted With Paa(Polyacrylamide)² Gelatin Tricalcium Phosphate Crosslinked³ Micropatterned⁴ Laser Micropatterned⁵ Type I Atelocollagen⁶ Chitosan Nanofiber⁷ Poly(Lactide-Co-Glycolide)⁸ Gelatin-Furfurylamine Visible Light Crosslinked⁹ Paa-Grafted Polyethylene Film¹⁰ Collagen Type I Coated Titanium¹¹ Gelatin-Hyaluronic Acid-Chondroitin-6-Sulfate Sponge¹² Microcontact Printing¹³ Non-Woven Polyester Fabrics¹⁴ Stem Cell Growth Factor (Scf)

جدول 1 ادامه

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

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 بر این، می‌توان رفتار سلول نظیر تشکیل جسم سلول عصبی¹⁵ روی سطح مواد زیستی را با استفاده از عوامل رشد تثبیت شده کنترل نمود [9].

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 بر این، 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 می‌شوند [54]. بطور نمونه می‌توان به تثبیت نوری روکش ترمیمی دندان در دندانپزشکی،

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

مورد استفاده در دندان پزشکی، سیلانت زیستی در مهندسی بافت و عامل جلوگیری از چسبندگی های بعد از عمل جراحی انجام شد. ایجاد ساختارهایی بر مبنای ماده زیستی فعال به نور زمینه ساز بسیاری از کاربردهای پزشکی، داروسازی و دندان پزشکی می باشد.

12- تشکر و قدردانی

از راهنمایی های ارزنده علمی پروفیسور یوشی هیرو ایتو (Professor Yoshihiro Ito) تشکر و قدردانی می شود.

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

همچنین سیلانت زیستی در مهندسی بافت [55] و به همچنین تشکیل جامعه سلولی برای یک میکروارگانیسم نیز می تواند از طریق مواد زیستی جدید با استفاده از تثبیت طرح دار 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 می تواند در علوم زیستی و بنیادی بسیار مفید باشد.

مهندسی بافت نیاز مبرم به ایجاد مواد زیستی با توانایی حفظ ساختار سلولی برای سلول های زنده در خارج از بدن دارد. اغلب مواد زیستی بکار رفته در مهندسی بافت بر اساس خواص فیزیکی و شیمیایی مواد طراحی می شوند، بطوری که کنترل دقیق روی استحکام مکانیکی، مطلوبیت، تخلخل و سرعت تخریب وجود داشته باشد. پیام های زیستی با استفاده از روش های مختلف پیوند فیزیکی، تثبیت و یا افزودن مولکول های بزرگ نظیر عوامل رشد به داربست های سلولی ایجاد می شوند. چالش اصلی در مهندسی بافت، موازنه صحیح بین عوامل زیستی و خواص فیزیکی و مکانیکی مواد بکار رفته در داربست های سلولی برای هر کاربرد ویژه می باشد. ارتباط بین سلول ها و محیط برون سلولی در داربست های 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 می رود. کنترل عملکرد سطح از طریق تثبیت نوری یک امر مهم در طراحی محسوب می شود. همچنین طراحی مواد زیستی هوشمند با تقلید از پروتئین های رشد برای تولید انبوه مواد زیستی با عملکردهای گوناگون بدون نیاز به پروتئین های 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 سلول ها در فرایندهای بیولوژیکی و تثبیت نوری

- Adhesion and Migration. *Nature Cell Biol* 2002; 4(1): E91-E96.
- [21] Nakanishi J, Kikuchi Y, Takarada T, Nakayama 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, Imanishi 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.* 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

- [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. Interactions 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 β 1 Immobilized Adsorptively on 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- β 1 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, 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 Photoreactive 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 Photoreactive Gelatin by Laser Irradiation for Applications of Photobiolithography and Cell Printing. *Journal of Advanced Materials and Technologies* 2013; 2(2): 87-97 [Persian].

- 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.
- 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