مهندسی ارگان‌های مختلف

۷-۱- ساختار و خواص استخوان

استخوان، اصلی‌ترین سیستم حمایت مکانیکی در بدن انسان، بافتی پیچیده، پیوسته در حال تغییر و با قابلیت خود ترمیمی است. بافت استخوان از سه نوع سلول اصلی و ماده زمینه تشکیل شده است. ماده زمینه استخوان از دو بخش تشکیل شده است؛ بخش آلی و بخش معدنی. بخش آلی که از کلاژن و پروتئین‌های دیگر تشکیل شده است، ۳۰-۲۵ درصد از کل ماتریس را شامل می‌شود و ۷۰-۶۵ درصد باقی مانده مربوط به بخش معدنی می‌شود. در حدود ۹۸ درصد از بخش آلی از الیاف کلاژن نوع یک تشکیل شده است که الاستیسیته و سازمان یافتگی استخوان را فراهم می‌کند. الیاف کلاژن به طور موازی با محور استخوان قرار گرفته‌اند. در بخش آلی ماده زمینه استخوان، پروتئین، گلیکوپروتئین، پروتئوگلیکان و لیپید نیز به مقدار بسیار کم‌تر وجود دارند. این ترکیبات در فرایند پیام‌رسانی مربوط به سازمان‌دهی و معدنی سازی ماتریس خارج سلولی استخوان شرکت می‌کنند. در شکل ۷-۱ ساختار استخوان نشان داده شده است.

بخش غیرآلی ماتریس خارج سلولی استخوان از ترکیبات معدنی کلسیم فسفاتی تشکیل شده است که استحکام و سفتی را برای استخوان فراهم می‌کنند. این مواد معدنی با ساختار کربنات آپاتیت با بلورینگی اندک حضور می‌یابند. بلوغ مواد معدنی به سمت ساختارهای با بلورینگی و نظم بیش‌تر، توسط سیال بدن انجام می‌شود و بخش غیرآلی به ساختار آپاتیتی بلورین تبدیل می‌شود که حاوی فسفر، کربنات، سدیم، منیزیم، کلر، پیروفسفات، پتاسیم و فلوراید است. این بلورهای معدنی کوچک بوده و قطری در حدود ۷۵-۲۵ آنگستروم و طولی در حدود ۲۰۰ آنگستروم دارند. بنابراین مواد معدنی استخوان سطح تماس بالایی دارند. این بلورهای معدنی کوچک، مخزنی قابل جذب از یون‌های معدنی برای هموستازی کلسیم و فسفر هستند.

به طور کلی استخوان‌های بدن از دیدگاه ماکروسکوپیک به ۲ دسته تقسیم می‌شوند:

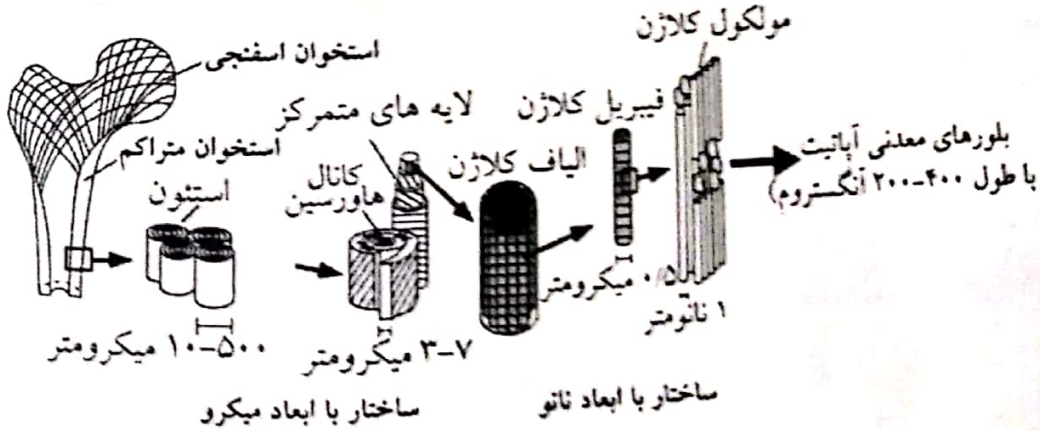
۱. استخوان فشرده (متراکم): این استخوان که در حدود ۸۰٪ جرم اسکلتی بدن انسان را تشکیل می‌دهد. تنها ۱۰ درصد تخلخل داشته و به سه دسته استخوان بلند، کوتاه و صاف تقسیم می‌شود. در بدنه

Scanned with CamScanner

استخوان‌های بلند و لایه خارجی استخوان‌های صاف یافت می‌شود. توسط لایه‌ای از بافت همیبند به نام پریوستئوم[1] پوشیده می‌شود.

۲. استخوان اسفنجی (ترابکولار[2]): ۲۰٪ جرم باقیمانده از استخوان ترابکولار تشکیل شده که در بخش‌های درونی استخوان یافت می‌شود. ۹۰-۵۰ درصد تخلخل دارد. استخوان اسفنجی، فعال‌ترین بخش استخوان با بیش‌ترین قابلیت تغییر است. بیش‌تر در نواحی وجود دارد که تحت فشار باشند، مانند بدنه مهره‌های ستون فقرات و اطراف مفاصل مانند مفصل زانو.

استخوان متراکم ماده‌ای آنیزوتروپ است که حاوی استئون‌هایی جهت‌مند و موازی با راستای استخوان است. هر استئون یک کانال مرکزی به نام کانال هاورسین با قطر ۴۰-۲۰ میکرومتر دارد که حاوی عروق خونی است و مواد غذائی موردنیاز را برای استخوان تأمین می‌کند. کانال هاورسین توسط ۲۰-۴ لایه منظم که ضخامت هر لایه ۷-۳ میکرومتر است احاطه شده است. لایه‌های موجود در استئون از دو جزء اصلی تشکیل شده است. الیاف کلاژن و فاز معدنی استخوان. بلورهای معدنی موجود در استخوان انسان هیدورکسی‌آپاتیت کربناته دارای نقص کلسیم هستند. بنابراین در مقیاس نانومتری (۲۰۰-۰٫۵ نانومتر) اجزاء عملکردی استخوان، فیبریل‌های کلاژن می‌باشند که دارای بلورهای کلسیم فسفات هستند [۱۲۷-۱۳۰].



شکل ۷-۱- سازمان یافتگی ساختمان استخوان بلند در انسان

طبیعت آنیزوتروپ و ناهمگن بافت استخوان، خواص مکانیکی ویژه‌ای را برای آن فراهم کرده (جدول ۷-۱)، به گونه‌ای که تقلید از استخوان با استفاده از مواد مهندسی را مشکل می‌نماید.

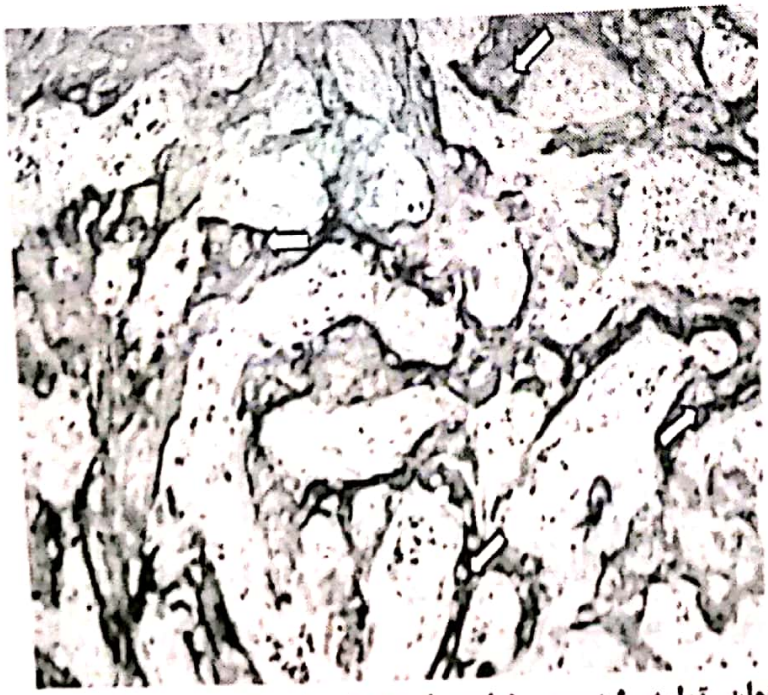
[1] Periosteum
[2] Trabecular

Scanned with CamScanner

جدول ۷-۱- خواص مکانیکی استخوان متراکم و اسفنجی

ویژگی	استخوان متراکم	استخوان اسفنجی
استحکام فشاری (مگاپاسکال)	۱۰۰-۲۳۰	۲-۱۲
استحکام کششی (مگاپاسکال)	۵۰-۱۵۰	۱۰-۲۰
کرنش شکست (درصد)	۱-۳	۵-۷
چقرمگی شکست ($MPa.m^{0.5}$)	۲-۱۲	-
مدول یانگ (گیگاپاسکال)	۷-۳۰	۰/۰۵-۰/۵

از دیدگاه میکروسکوپیک دو نوع استخوان وجود دارد:
استخوان بافته شده[1] و لایه‌ای[2]. استخوان بافته شده نوعی استخوان نابالغ و سازمان نیافته است. به وفور در نوزادان و نیز در مناطقی که تولید استخوان به سرعت انجام می‌شود مانند صفحات رشد و محل شکستگی استخوان یافت می‌گردد. از مشخصات استخوان بافته شده، الیاف کلاژن با جهت‌گیری تصادفی و نامنظم است. هم‌چنین تعداد زیادی استئوسیت با اندازه بزرگ وجود دارد (شکل ۷-۲). عروق خونی این نوع استخوان نیز در میان ترابکولاهای آن قرار دارند. استخوان بافته شده می‌تواند تغییر فرم دهد و به استخوان لایه‌ای تبدیل شود.



شکل ۷-۲- استخوان تولید شده در ضایعه استخوان فمورال موش. فلش‌ها نشانگر استئوسیت می‌باشند. بزرگ‌نمایی تصویر ۶۴x است.

[1] Woven
[2] Lamellar

Scanned with CamScanner

استخوان لایه‌ای بسیار آهسته‌تر از استخوان بافته شده تولید می‌شود، الیاف کلاژن ضخیم‌تر و با جهت‌گیری منظم می‌باشد. ساختار اصلی استخوان لایه‌ای استئون است که حاوی الیاف کلاژن متمرکز در هسته یک کانال (کانال هاورسین) به همراه عروق خونی و استئوسیت‌ها می‌باشد (شکل ۷-۳).

شکل ۷-۳- استخوان لایه‌ای در انسان. به ساختار لایه‌ای و منظم استئون‌ها در مقایسه با ساختار نامنظم استخوان توجه کنید، (H: کانال هاورسین، L: لایه). بزرگ‌نمایی تصویر ۶۴x است.

۷-۲- زیست‌شناسی سلول‌های استخوانی

تولید، حفظ و بازجذب استخوان توسط سه نوع سلول انجام می‌شود: استئوبلاست، استئوسیت و استئوکلاست. استئوبلاست‌ها از سلول‌های پیش‌ساز استخوانی[1] و یا از سلول‌های بنیادی مزانشیمی موجود در مغز استخوان و پریوستئوم نشأت می‌گیرند. این سلول‌ها قطبی هستند، شکل هندسی مکعبی داشته و معمولاً در سطح استخوان یافت می‌شوند. این نوع سلول‌ها ترشحات زیادی انجام می‌دهند و در تنظیم و سنتز ماتریس خارج سلولی و معدنی سازی استخوان نقش دارند. استئوسیت‌ها در داخل محفظه‌های کوچکی به نام لاکونا در میان ماده معدنی استخوان احاطه شده‌اند. بخشی از استئوبلاست‌ها به استئوسیت تبدیل می‌شود. استئوسیت‌ها در معدنی سازی ماده زمینه استخوان نقش دارند و نیز سلول‌های حسگر مکانیکی استخوان هستند. استئوکلاست‌ها سلول‌هایی قطبی، چندهسته‌ای و شبیه ماکروفاژ هستند.

[1] Osteoprogenitor

Scanned with CamScanner

عملکرد اصلی این سلول‌ها واجذب و تخریب استخوان از طریق اسیدی کردن محیط (از بین بردن مواد معدنی استخوان) و ترشح پروتئاز (از بین بردن ماده زمینه استخوان) است. به این منظور استئوکلاست‌ها دارای تعداد زیادی میتوکندری، واکوئول و لیزوزوم در ساختار خود می‌باشد.

۷-۳- خواص مکانیکی استخوان متراکم

خواص مکانیکی استخوان متراکم در جدول ۷-۲ به طور خلاصه گزارش شده است. جهت‌گیری موازی الیاف کلاژن در ماتریس معدنی استخوان متراکم در امتداد محور استخوان، استحکام استخوان را در جهت طول آن بیش‌تر می‌کند. مدول یانگ استخوان متراکم در جهت طول تقریباً ۱٫۵ برابر مدول یانگ در جهت عرض است (جدول ۷-۲). ضریب پوآسون استخوان متراکم نیز ۰٫۳۹ است. استحکام استخوان متراکم به محل آناتومیکی آن، نوع بارگذاری (کششی، فشاری یا خمشی) و جهت بارگذاری نیز بستگی دارد. استخوان متراکم در انسان در برابر فشار مقاوم‌تر از کشش است. عوامل مؤثر بر خواص مکانیکی استخوان شامل تخلخل، میزان معدنی بودن، معماری استخوان و نظم الیاف کلاژن می‌باشد.

جدول ۷-۲- خواص مکانیکی استخوان متراکم انسان، تحت تنش فشاری و کششی در دو جهت طولی و عرضی

	فشار		کشش	
	عرضی	طولی	عرضی	طولی
مدول یانگ (گیگاپاسکال)	۱۱٫۷	۱۸٫۲	۱۰٫۱	۱۷٫۹
استحکام (مگاپاسکال)	۱۳۳	۱۹۵	۵۱	۱۳۳

۷-۴- مشکلات بالینی نیازمند ترمیم استخوان

استخوان ارگانی است که نقش مهمی در عملکردهای حیاتی و فیزیولوژیکی انسان دارد، شامل حرکت، محافظت و حمایت ساختاری از ارگان‌های دیگر، تولید خون، تنظیم pH خون، مخزن سلول‌های پیش‌ساز (مزانشیمال و هماتوپویتیک). اهمیت استخوان در بیماری‌هایی نظیر نقص تولید استخوان، التهاب مفاصل و پوکی استخوان مشخص می‌شود. آسیب فیزیکی به استخوان، جراحی‌های ارتوپدی (مانند آرتروپلاستی مفاصل) و برداشت تومور استخوانی منجر به ایجاد نقص و ضایعه در استخوان می‌گردد. تعداد آرتروپلاستی‌های کل مفصل و جراحی‌های بازبینی در آمریکا از ۷۰۰۰۰۰ در سال ۱۹۹۸ به ۱٫۱ بیلیون دلار در سال ۲۰۰۳ برآورد شده است. پیش‌بینی می‌شود این مقدار به ۷۴ بیلیون دلار در سال ۲۰۱۵ برسد.

Scanned with CamScanner

در موارد زیر نیاز به جایگزینی و یا بازتولید استخوان وجود دارد:

- شکستگی‌هایی که ترمیم نمی‌شوند.
- بازسازی استخوان‌های سر و صورت
- نقایص ایجاد شده در ناحیه استخوان در اثر برداشت تومور استخوانی
- افزایش حجم استخوان اطراف کاشتنی مفصل ران
- بازسازی استخوان فک برای کاشتنی دندانی. زیرا از دست دادن دندان منجر به تحلیل استخوان اطراف می‌شود به این دلیل که استخوان توسط جویدن تحت تنش قرار نمی‌گیرد.

در بعضی از موارد فوق (مانند بازسازی دندان و شکستگی‌های استخوانی) در محل ضایعه، سلول‌های پیش‌ساز زیادی وجود دارند که تحریک این سلول‌ها تولید استخوان را القاء می‌کند. اما در ناحیه‌ای که تومور برداشته می‌شود، این سلول‌ها به مقدار کافی نمی‌باشند.

با توجه به توضیحات بالا، استخوان معیوب به دلایل گوناگونی (مانند اندازه و بزرگی نقص استخوانی، عفونت ناحیه و غیره) ممکن است قادر به ترمیم خودبه‌خودی از طریق تثبیت مکانیکی به تنهایی نباشد. در مورد نقایص بزرگ استخوانی، ماده‌ای برای پر کردن ناحیه استفاده می‌شود. راه‌حلی که اکنون استفاده می‌شود، پیوند اتوگرافت استخوان است. در این روش، استخوان از محل دیگری (مانند استخوان لگن یا ایلیاک) برداشته شده و به ناحیه موردنظر پیوند زده می‌شود. اما این روش ممکن است منجر به از بین رفتن، عفونت، درد و التهاب بافت اهداکننده استخوان شود. برای بسیاری از بیماران می‌توان از بافت استخوان انسان دیگر استفاده کرد (آلوگرافت استخوانی). آلوگرافت می‌تواند از منشأ زنده و یا از منشأ غیر زنده و استریل باشد. میزان موفقیت در آلوگرافت و اتوگرافت به میزان شباهت زیستی و فیزیکی دو بافت با یکدیگر بستگی دارد. در سال ۱۹۶۰ اوریست بیان کرد که استخوان غیر معدنی شده[1] (استخوانی که در مجاورت اسید قرار گرفته و جزء غیرآلی آن حل شده و ماتریس آن باقی مانده) می‌تواند تولید استخوان را حتی در مناطق غیر استخوانی القاء کند (تحریک استخوان). می‌توان از استخوان غیر معدنی شده به عنوان حامل برای رهایش BMP استفاده نمود.

پس از آن استفاده هم‌زمان از زیست‌ماده و سلول برای درمان مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفت. به همین منظور از سال ۱۹۸۰ پتانسیل استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در تولید استخوان برجسته شد.

[1] Demineralized bone

Scanned with CamScanner

۷-۵- مهندسی بافت استخوان

مهندسی بافت استخوان با کمک بیومواد و سلول، از استئوبلاست‌ها (سلول‌های استخوانی) تا سلول‌های بنیادی مزانشیمال استخوان، شاهد موفقیت‌هایی در مدل‌های حیوانی بوده است. اما اکثر این مطالعات در مرحله حیوانی باقی مانده‌اند. به علاوه رگزایی یک داربست مهندسی بافت در خارج و داخل بدن هنوز با مشکلاتی روبرو است. تولید داربست با تخلخل‌های مرتبط با هم و کنترل شده می‌تواند به نفوذ اکسیژن و مواد غذایی کمک کند و هم‌چنین در تولید یک شبکه سه‌بعدی با قابلیت رشد عروق خونی مفید باشد. در طراحی داربست برای مهندسی بافت استخوان ترکیب شیمیایی ماده، معماری داربست، خواص سطحی داربست، تخریب‌پذیری و محصولات ناشی از آن عواملی هستند که باید موردنظر قرار گیرند. طراحی ماده نیز بر رفتار سلولی اثر دارد. مثلاً استفاده از نانوذرات کامپوزیتی هیدروکسی آپاتیت- کلاژن یا نانوتیوب کربنی، زیست‌فعالی و خواص مکانیکی مانند مدول فشاری را افزایش می‌دهد.

در مورد مهندسی بافت استخوان، مواد مورد استفاده باید ویژگی‌های زیر را دارا باشند:

هدایت استخوانی[1]: کیفیت یک ساختار با تخلخل‌های به هم پیوسته در میزان چسبندگی، تکثیر و مهاجرت سلول‌های جدید در ساختار و نیز امکان نفوذ مواد غذایی، تبادل مواد زائد و نفوذ عروق خونی جدید.

تحریک استخوانی[2]: وجود پروتئین‌ها و فاکتورهای رشد ضروری که تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی و دیگر سلول‌های پیش‌ساز استخوانی را به سمت رده سلولی استئوبلاست تحریک می‌کند. این خاصیت زمانی که ضایعه استخوانی در اندازه بحرانی باشد که امکان ترمیم خود به خودی برای آن میسر نباشد، ضروری است.

استخوان زایی[3]: قابلیت تولید مواد معدنی به منظور معدنی سازی ماده زمینه کلاژنی استخوان توسط استئوبلاست‌هایی که در محل رشد و تولید استخوان جدید حضور می‌یابند.

یکپارچه شدن با استخوان[4]: قابلیت ایجاد پیوند نزدیک بافت استخوانی با ماده کاشته شده.

شباهت مکانیکی[5]: خواص مکانیکی مشابه کاشتنی با بافت اطراف به منظور جلوگیری از پدیده حفاظت تنشی[1] و واجذب استخوان.

---

[1] Osteoconductivity
[2] Osteoinductivity
[3] Osteogenicity
[4] Osteointegrity
[5] Mechanical match

Scanned with CamScanner

علاوه بر موارد ذکر شده، داربست مهندسی بافت استخوان باید از نظر ترکیب شیمیایی، تخلخل، سرعت تخریب و چسبندگی سلولی مناسب باشد. اندازه تخلخل مناسب برای مهندسی بافت استخوان در محدوده ۴۰۰-۲۰۰ میکرومتر است. تخلخل‌های کوچک‌تر (۱۵۰ میکرومتر) امکان وقوع رگزایی را در داربست فراهم نمی‌کند. هم‌چنین خواص مکانیکی کافی در مقایسه با بافت طبیعی استخوان داشته باشد. نیاز به تشابه خواص مکانیکی داربست و بافت اصلی برای ترمیم نواقص استخوانی که تحت بارگذاری مکانیکی هستند، اهمیت ویژه‌ای دارد. اگر داربست از استخوان ضعیف‌تر باشد، در طی بارگذاری‌های طبیعی در بدن از بین می‌رود. اما اگر استحکام داربست از استخوان اطراف بیش‌تر باشد، منجر به پدیده حفاظت تنشی[۲] می‌گردد. پدیده حفاظت تنشی وقتی رخ می‌دهد که تنش‌های مکانیکی به جای توزیع متعادل بین داربست و استخوان طبیعی، تنها توسط داربست تحمل می‌شوند. عدم تعادل در توزیع بار مکانیکی باعث می‌شود که تحریک مکانیکی که برای حفظ خودترمیمی استخوان ضروری است، به استخوان وارد نشود و بنابراین استخوان اطراف کاشتنی تحلیل رود.

۷-۶- زیست‌مواد در مهندسی بافت استخوان

انتخاب مناسب‌ترین ماده برای تولید داربست مهندسی بافت استخوان، مرحله‌ای بسیار مهم در جهت بازتولید بافت است. تاکنون مواد زیادی از جمله فلزات، سرامیک‌ها و پلیمرها با منشأ طبیعی یا مصنوعی پیشنهاد شده است. اما فلزات و برخی سرامیک‌ها تخریب‌پذیر نمی‌باشند و انتخاب محقق محدود به تعداد اندکی سرامیک و نیز پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر می‌گردد. فلزاتی نظیر تیتانیوم، فولاد ضدزنگ و آلیاژهای کبالت- کروم زیست‌سازگاری بوده و استحکام مکانیکی خوبی دارند. اما فلزات معمولاً مدول بالاتری از استخوان دارند که حفاظت تنشی ایجاد می‌کند. هم‌چنین فلزات تخریب‌پذیر نمی‌باشند. فرایند بازتولید استخوان حدوداً ۶-۳ ماه برای استخوان اسفنجی و ۱۲-۶ ماه برای استخوان متراکم طول می‌کشد. البته این مدت زمان بسته به آناتومی و فیزیولوژی بدن بیمار متفاوت خواهد بود. طبق نتایج محققان یک داربست استخوانی باید حداقل ۳-۱ ماه بعد از کاشت در بدن، استحکام ساختاری خود را حفظ کند و بعد از ۱۸-۱۲ ماه کاملاً تخریب شود. به این دلیل که اندازه‌گیری خواص مکانیکی داربست بعد از کاشت سخت است، روش‌های کامپیوتری مدل‌سازی سه‌بعدی ابداع شده است. برای ترمیم بافت‌های اسکلتی و عضلانی به ویژه استخوان داربست با مدول الاستیک بالا به منظور فراهم

[1] Stress shielding
[2] Stress shielding

Scanned with CamScanner

کردن حمایت موقت مکانیکی بدون ظهور علائمی از خستگی یا شکست موردنیاز است [۱۳۰-۱۴۵].

۷-۶-۱- سرامیک‌ها

سرامیک‌ها بیش از ۴۰ سال پیش به عنوان جایگزین استخوان معرفی شدند. این مواد به طور وسیعی در مهندسی پزشکی در زمینه جایگزینی و بازتولید استخوان مورد استفاده و تحقیق قرار گرفته‌اند. محدوده وسیعی از مواد غیر آلی زیست‌فعال که ترکیب مشابهی با بخش معدنی استخوان دارند، در مهندسی بافت استخوان مورد تحقیق بوده‌اند، مانند تری کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت و شیشه زیست‌فعال. هیدروکسی آپاتیت یکی از اصلی‌ترین ترکیبات معدنی بافت‌های کلسیمی است. این مواد به دلیل حمایت از چسبندگی و تکثیر استئوبلاست‌ها هدایت استخوانی عالی داشته و توسط برقراری پیوندهای قوی با بافت‌های نرم و سخت اطراف، تثبیت کاشتنی را به خوبی در بدن انجام می‌دهند. با تنظیم بلورینگی شبکه، می‌توان سرعت جذب سرامیک‌های کلسیم فسفاتی را تنظیم نمود تا با سرعت تشکیل استخوان جدید هماهنگ باشد. وقتی شیشه‌های زیست‌فعال (شیشه‌های حاوی کلسیم و فسفر) در مجاورت سیال فیزیولوژیک قرار می‌گیرند، سریعاً یک لایه هیدروکسی کربنات آپاتیت تولید می‌کنند که این لایه قادر است با بافت پیوند برقرار نماید. به علاوه، این مواد قادرند که یون‌های سیلسیوم را نیز رهایش دهند و مسیرهای ژنتیکی را که به افزایش تمایز سلولی و تولید استخوان منجر می‌شود، فعال کنند. استفاده از کلسیم فسفات‌ها در جایگزین‌های استخوانی به صورت تجاری در دسترس است. به عنوان مثال، محصول تجاری Healo® داربست ورقه‌ای متخلخل متشکل از الیاف کلاژن است که با هیدروکسی آپاتیت پوشش داده شده‌اند. از ترکیب بتا تری کلسیم فسفات به عنوان پرکننده استخوانی (Vitoss®) و از هیدروکسی آپاتیت و کربنات کلسیم نیز به عنوان جایگزین پیوند استخوان به صورت تجاری استفاده می‌شود. از کامپوزیت شیشه زیست‌فعال و استخوان غیرمعدنی شده نیز استفاده می‌شود (Origen DBM®). اما با این وجود، سرامیک‌ها معایبی نیز به همراه دارند. تردی و خواص مکانیکی ناکافی کاربرد آن‌ها را به صورت بالینی برای بازسازی نقایص بزرگ استخوانی که نیاز به تحمل بار دارند، محدود می‌کند. به علاوه به دلیل فعالیت استئوکلاست‌ها در بدن پیش‌بینی سرعت تخریب آن‌ها مشکل است [۱۴۶, ۱۴۷].

۷-۶-۲- پلیمرها

پلیمرها به این دلیل که خواص فیزیکی مشابه الیاف پروتئینی موجود در بافت‌های نرم و سخت دارند، می‌توانند در مهندسی بافت استخوان مفید واقع شوند. مواد پلیمری طبیعی و مصنوعی را می‌توان به اشکال مختلف (مانند اسفنج متخلخل و صفحه متراکم) تولید کرد و نیز می‌توان به

Scanned with CamScanner

منظور کنترل چسبندگی سلولی و یا تخریب‌پذیری پلیمر، ترکیب شیمیایی آن را اصلاح نمود. کلاژن، مهم‌ترین و متداول‌ترین پلیمر مورداستفاده در پزشکی ترمیمی است زیرا خواص زیستی بسیار مناسبی برای چسبندگی و تمایز سلولی دارد. پلیمرهای طبیعی دیگر در این زمینه عبارتند از؛ کیتوسان، کلاژن، نشاسته و ژلاتین و غیره. پلیمرهای مصنوعی نیز همانند پلی‌فومارات، پلی‌استرهایی نظیر پلی‌گلایکولیک اسید، پلی‌لاکتیک اسید، پلی‌لاکتیک-گلایکولیک اسید، پلی‌کاپرولاکتون در بازتولید استخوان مورد تحقیق قرار گرفته‌اند. این مواد زیست‌تخریب‌پذیر، جایگزین‌هایی برای پلیمرهای طبیعی (نظیر کلاژن) هستند و می‌توان با روش‌هایی مانند فوم سازی گازی، زدایش ذره‌ای، جدایش فازی و دیگر روش‌ها، داربست‌هایی با تخلخل‌ها و سرعت‌های تخریب مختلف تولید نمود. اما علیرغم این مزایا، پلیمرهای مصنوعی ریسک ایجاد پاسخ التهابی در نتیجه محصولات اسیدی تخریب را دارند. هم‌چنین زیست‌فعالی و پتانسیل پیوند با استخوان که در سرامیک‌ها وجود دارد، در پلیمرها دیده نمی‌شود. یکی دیگر از معایب استفاده از پلیمرها در مهندسی بافت استخوان، خواص مکانیکی ناکافی و سرعت تخریب آن‌ها است.

۷-۶-۳- کامپوزیت‌ها

با هدف تقلید از طبیعت کامپوزیتی استخوان، می‌توان کامپوزیتی از مواد آلی و معدنی تولید کرد (مانند کامپوزیت کلاژن- هیدروکسی آپاتیت) و در حقیقت ترکیبی از چقرمگی پلیمر و استحکام فشاری سرامیک را فراهم نمود. در این نوع کامپوزیت‌ها قلیایی بودن بخش سرامیکی، تخریب اسیدی و اتوکاتالیتیکی پلیمر را خنثی می‌کند. با استفاده از پرکننده سرامیکی با ابعاد نانو می‌توان خاصیت زیست‌فعالی بیش‌تری ایجاد نمود.

همان‌طور که جدول ۷-۳ نشان می‌دهد پلیمرها و سرامیک‌ها هیچ‌یک به تنهایی تمام ویژگی‌های موردنیاز برای یک داربست مهندسی بافت استخوان را ندارند.

Scanned with CamScanner

جدول ۷-۳- عوامل ضروری برای انتخاب ماده مناسب به منظور ساخت داربست مهندسی بافت استخوان

ویژگی	پلیمرها	سرامیک‌ها	کامپوزیت‌ها
هدایت استخوانی	✓	✓	✓
تحریک استخوانی	با افزودن عوامل مربوطه	با افزودن عوامل مربوطه	با افزودن عوامل مربوطه
استخوان زایی		✓	✓
یکپارچگی با استخوان		✓	✓
شباهت مکانیکی	✓		✓

با توجه به مزایا و معایب سرامیک‌ها و پلیمرها تلفیقی از آن‌ها به صورت کامپوزیت برای ساخت داربست مورد تحقیق قرار گرفته است. بعضی از پلیمرها هدایت استخوانی نشان می‌دهند که البته میزان آن نسبت به سرامیک‌ها کم‌تر است. هدایت استخوانی بسیاری از پلیمرها را می‌توان با اتصال پپتیدهایی ویژه که از پروتئین‌های ماتریس خارج سلولی نشأت گرفته‌اند؛ مانند توالی RGD که از فیبرونکتین و لامینین نشأت می‌گیرد، افزایش داد. این دسته از بیومواد اصلاح شده، رشد و مهاجرت سلول‌های پیش‌ساز استخوانی را افزایش می‌دهند. از فیبریل‌های کلاژن نیز برای مهندسی بافت استخوان استفاده شده است، زیرا از ساختار نانومتری ماتریس خارج سلولی استخوان طبیعی تقلید می‌نماید. این مواد توسط سنتز زنجیره‌های پروتئینی کلاژن و سپس پلیمریزه کردن آن‌ها به صورت نانوالیاف تهیه می‌شوند.

۷-۷- عوامل رشد در مهندسی بافت استخوان

فاکتورهای رشد، سایتوکین‌هایی هستند که توسط انواع زیادی از سلول‌ها ترشح می‌شوند و به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان عمل می‌کنند. اتصال فاکتورهای رشد به گیرنده‌های مربوطه، پیام‌رسانی داخل سلولی را آغاز می‌کند که منجر به انجام فرایندهای مختلفی مانند چسبندگی، تکثیر، مهاجرت و تمایز سلولی و تنظیم سنتز پروتئین‌ها می‌گردد. بنابراین این مولکول‌ها برای تولید بافت ضروری هستند و نقش مهمی در مهندسی بافت دارند. متداول‌ترین فاکتورهای رشد استخوانی، BMPs، TGF-β، IGF-1,2، FGF و PDGF می‌باشند. اما استفاده از این عوامل بیولوژیکی که در تولید استخوان نقش دارند خالی از مشکل نیست. استفاده از فاکتورهای رشد محدود است زیرا وقتی در محیط فیزیولوژیکی قرار می‌گیرند، طول عمر کوتاهی دارند. برای حفاظت از آن‌ها در برابر پروتئولیز و حفظ فعالیت آن‌ها برای مدت زمان دلخواه، پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر برای رهایش موضعی یا سیستمیک به کار گرفته شده‌اند [۱۴۸, ۱۴۹].

Scanned with CamScanner

۷-۸- بافت غضروف

غضروف بافتی همبند، فاقد رگ[1] و فاقد عصب[2] است. عملکرد اولیه غضروف، کنترل ساختمان بافت‌های اطراف (مانند بینی یا گوش) و نیز جلوگیری از ایجاد اصطکاک در مقابل تنش‌های اعمالی خارجی است (مانند مفاصل). چون غضروف بافتی فاقد رگ است، مواد غذایی توسط نفوذ از طریق رگ‌های خونی لایه خارجی سلول با نام پری‌کندریوم[3] تأمین می‌شود. غضروف، اسکلت جنینی پستانداران را تشکیل می‌دهد. اسکلت جنینی، تنها در مرحله نخست رشد وجود دارد، بعد از آن، با رشد جنین به تدریج توسط استخوان جایگزین می‌شود. این فرایند که استخوان‌سازی[4] نامیده می‌شود تا زمانی که موجود بالغ شود ادامه دارد. غضروف مفصلی از لحاظ ساختمانی به چهار منطقه تقسیم می‌شود. در منطقه سطحی کندروسیت‌ها پهن شده‌اند و هم‌جهت با رشته‌های کلاژن قرار گرفته‌اند. در منطقه میانی کندروسیت‌ها کروی هستند و رشته‌های کلاژنی به صورت طاق روی هم قرار گرفته‌اند. در منطقه عمیق‌تر رشته‌های کلاژنی به‌صورت عمودی جهت گرفته‌اند [۱۵۰, ۱۵۱].

۷-۸-۱- ترکیب شیمیایی

بافت غضروف مفصلی[5] دارای ۸۰-۶۵ درصد سیال، ۳۵-۲۰ درصد ماتریس خارج سلولی[6] متشکل از کلاژن و پروتئوگلیکان[7] و نیز سلول‌های بسیار تخصص یافته به نام کندروسیت[8] است که هریک در ادامه توضیح داده خواهند شد. اکثر غضروف‌ها به جز در مورد سطوح مفصلی استخوان‌های بلند، توسط پری‌کندریوم پوشیده شده‌اند. پری‌کندریوم شامل عروق خونی که مواد غذایی را برای غضروف، تأمین می‌کنند و کندروبلاست‌ها که توانایی تبدیل شدن به کندروسیت‌ها و آغاز سنتز ماده زمینه را دارند، می‌باشد [۱۵۰, ۱۵۱].

---

1 Avascular
2 Aneural
3 Perichondrium
4 Ossification
5 Articular Cartilage
6 Extracellular Matrix
7 Proteoglycan
8 Chondrocyte

Scanned with CamScanner

۷-۸-۲- کندروسیت‌ها

سلول‌های کوچکی با هسته بیضی شکل هستند که یک یا دو هستک دارند. کندروسیت‌ها در درون ماتریس خارج سلولی قرار گرفته‌اند. ترکیبات ماتریس خارج سلولی، کندرونکتین[1] را تولید می‌کنند که باعث چسبندگی کندروسیت‌ها می‌شود. کندروسیت‌ها بسیار تمایزیافته و تخصصی هستند که مسئول تولید طبیعی و نگه‌داری غضروف مفصلی هستند. این سلول‌ها در طی رشد خود مقادیر فراوانی ماتریس خارج سلولی ترشح می‌کنند. چگالی سلولی غضروف با افزایش سن کاهش می‌یابد. چگالی کندروسیت‌های انسانی در حدود $۲-۳\times۱۰^{۶}$ سلول بر میلی‌متر مکعب در غضروف جنینی جوان، $۱۰^{۵}$ سلول بر میلی‌متر مکعب در غضروف مفصلی تازه تولید شده مربوط به مفصل ران و یک دهم این مقدار برای غضروف بالغ جوان تخمین زده شده است.

به این دلیل که غضروف ذخیره خونی ندارد، کندروسیت‌ها در محیطی با غلظت اکسیژن اندک (در حدود ۶ درصد در سطح و ۱۰ درصد در عمق غضروف مفصلی) قرار دارند و بنابراین از مسیری بی‌هوازی برای تولید انرژی استفاده می‌کنند و تبادل مواد غذایی و مواد زائد خود را از طریق انتقال جرم با مایع سینوویال[2] انجام می‌دهند. کندروسیت‌ها، تماس بین سلولی تشکیل نمی‌دهند و به ندرت بعد از توقف رشد استخوان‌ها، درگیر فعالیت میتوزی می‌شوند. اما با این وجود، کندروسیت‌ها همیشه در نگهداری از غضروف فعال هستند به طوری که پروتئوگلیکان‌هایی که عمر کوتاه دارند را جایگزین می‌کنند، کلاژن (پروتئین اصلی) و هم‌چنین آنزیم‌های تخریب کننده مانند کلاژناز، ژلاتیناز، استروملایسین[3] و کاتپسین[4] را تولید می‌کنند. حفظ ماتریس خارج سلولی یک غضروف مفصلی به قابلیت کندروسیت‌ها در حفظ تعادل بین تولید و تخریب اجزاء ماتریس خارج سلولی بستگی دارد. کندروسیت‌ها در پاسخ به سیگنال‌های محیطی شیمیایی و مکانیکی در محیط برون‌تن و درون‌تن، توسط مواد واسطه‌ای نظیر فاکتور رشد فیبروبلاستی، فاکتور رشد تبدیلی و فاکتور رشد شبه‌انسولین این تعادل ظریف را حفظ می‌کنند. کندروسیت‌ها توسط اصلاح فعالیت خود به تحریکات مکانیکی پاسخ می‌دهند که به نوع و اندازه بار اعمالی بستگی دارد.

---

[1] Chondronectin
[2] Synovial
[3] Stromelysin
[4] Cathepsins

Scanned with CamScanner

در مورد بافت غضروفی که دچار آرتروز[۱] شده است کندروسیت‌ها رفتاری متفاوت با کندروسیت‌های بالغ طبیعی دارند. آن‌ها از نظر تعداد سلول، فعالیت متابولیکی و فنوتیپ سلولی متفاوت می‌شوند. تغییر در تعداد کندروسیت‌ها در غضروف آرتروزی یا از طریق مرگ سلولی زیاد یا از طریق تکثیر سلولی زیاد رخ می‌دهد. افزایش مرگ سلولی در غضروف آرتروزی موضوعی قابل بحث است؛ به طوری که برخی گزارشات مرگ سلولی زیاد را رد کرده‌اند و بعضی دیگر آن را تأیید کرده‌اند. گزارشات هیستوپاتولوژیکی فراوانی از تکثیر سلول‌ها به صورت تجمعی و گروهی وجود دارد که می‌تواند تلاشی برای ترمیم و بازتولید بافت آسیب دیده باشد. در آرتروز، توانایی کندروسیت‌ها در حفظ تعادل بین فعالیت‌های آنابولیکی (تولید ماتریس) و کاتابولیکی (تخریب ماتریس) به خطر می‌افتد. در واقع در مراحل اولیه بیماری، فعالیت تولیدی زیادتر می‌شود اما با این وجود، کندروسیت‌ها قادر به جبران آسیب به ماتریس نیستند. به علاوه، کندروسیت‌ها نقشی مستقیم در تخریب ماتریس با تنظیم نمودن بیان آنزیم‌های تخریب کننده ماتریس دارند. در مطالعه‌ای بر روی غضروف مفصلی انسان که در طی آرتروپلاستی زانو جدا شده بود، مشاهده شده که بیان ژن اگریکن[۲] ارتباطی معکوس با شدت بیماری (آرتروز) دارد. تغییرات دیگری مانند تغییر در میزان حضور کلاژن نسبت به غضروف طبیعی نیز در نتیجه آرتروز رخ می‌دهد [۱۵۰, ۱۵۱].

۷-۸-۳- ماده زمینه

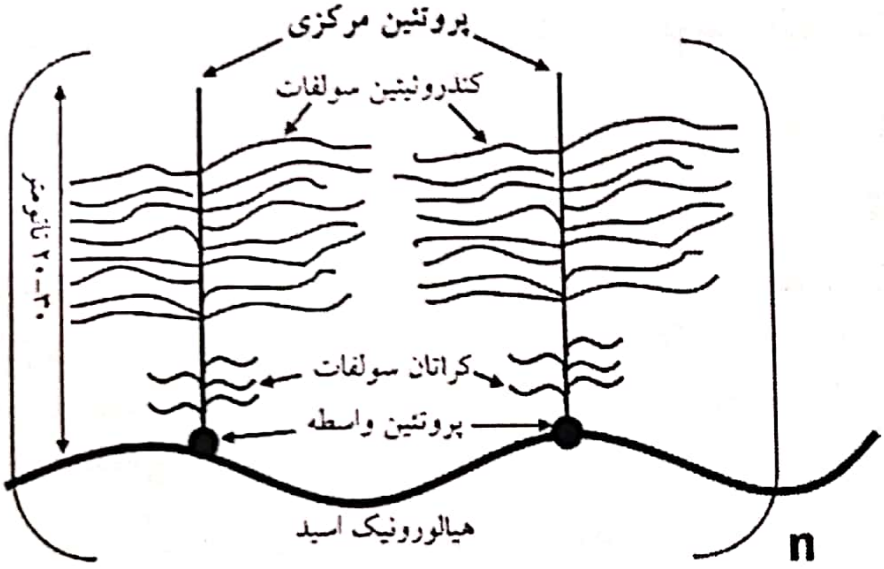
ماده زمینه یک ماده هموژن است که اساساً از پروتئوگلیکان‌ها که به‌صورت غیر کووالانسی به اسید هیالورونیک متصل هستند، تشکیل شده است. ماده زمینه فضاهای خالی بین الیاف کلاژن نوع دو را پر می‌کند. این ماتریس هیدراته و ویسکوز، نیروهای فشاری را جذب می‌کند. پروتئوگلیکان‌ها از یک هسته پروتئینی تشکیل شده‌اند که زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی به نام گلیکوزآمینوگلیکان‌ها به آن متصل شده‌اند. تقریباً ۹۰ درصد پروتئین‌های موجود در غضروف مفصلی به صورت مجموعه‌هایی[۳] بزرگ به نام اگریکن وجود دارند. اگریکن دارای هسته بزرگی از پروتئین است (تقریباً ۲۵۰ کیلودالتون). حدوداً ۱۰۰ زنجیره کندروئیتین سولفات[۴] (هریک با وزن ۲۰ کیلودالتون) و ۶۰-۵۰ زنجیره کراتان سولفات[۵] (۱۵-۵ کیلودالتون) به هسته پروتئینی

---

[۱] Arthrosis
[۲] Aggrecan
[۳] Complexes
[۴] Chondroitin Sulphate
[۵] Keratan Sulphate

Scanned with CamScanner

چسبیده‌اند (شکل ۷-۴). هیالورونان[۱] به یکی از انتهاهای هسته پروتئینی می‌چسبد. پیوند هیالورونان و هسته پروتئینی توسط یک پروتئین واسطه انجام می‌شود که این پیوند اغلب در دما و pH فیزیولوژیک بازگشت ناپذیر است. یک زنجیره هیالورونان قادر است تقریباً به ۲۰۰ اگریکن وصل و منجر به تولید تجمع بزرگی از پروتئین‌ها شود. این مجموعه‌های بزرگ می‌توانند با آب واکنش دهند.



شکل ۷-۴- نمایشی از تجمع پروتئوگلیکانی

البته در غضروف مفصلی پروتئوگلیکان‌های کوچک‌تر نیز وجود دارند. این پروتئوگلیکان‌ها شامل بایگلیکن[۲] و دکورین[۳] هستند که پروتئوگلیکان‌های درماتان سولفات[۴] نام دارند. این پروتئوگلیکان‌ها نقش کوچک اما مهمی دارند به طوری که با الیاف کلاژن در ارتباط هستند و فیبرونکتین، فاکتورهای رشد و دیگر ماکرومولکول‌ها به آن‌ها وصل می‌شوند [۱۵۰, ۱۵۱].

۷-۹- انواع غضروف

چهار نوع مختلف غضروف وجود دارد که توسط ترکیبات خاص و عملکرد کندروسیت‌ها از هم تشخیص داده می‌شوند:

---

[۱] Hyaluronan
[۲] Biglycan
[۳] Decorin
[۴] Dermatan sulphate

Scanned with CamScanner

۷-۹-۱- غضروف هیالین[1]

متداول‌ترین غضروف بدن است و ظاهری درخشان دارد و رنگ آن آبی مایل به بنفش است. کندروسیت‌های غضروف هیالین، کاملاً گرد یا کمی سه گوش هستند و تمایل دارند که تمام ماتریس خارج سلولی را اشغال کنند. ماتریس خارج سلولی این نوع غضروف از کلاژن نوع دو و پروتئوگلیکان‌های بزرگتر به نام اگریکان تشکیل شده است. نام دیگر غضروف هیالین، غضروف مفصلی است که در سطوح مفصلی، بینی و نای وجود دارد. پری‌کندریوم، غضروف هیالین را احاطه می‌کند. الیاف موجود در این نوع غضروف عمدتاً کلاژن نوع دو هستند.

۶-۹-۲- غضروف کاستوکوندرال[2]

این نوع غضروف در تماس مستقیم با استخوان بوده، هم در دنده‌ها و هم در صفحه رشد یافت می‌شود. این نوع غضروف چهارگوش است. کلاژن موجود در ماتریس خارج سلولی این نوع غضروف، کلاژن نوع ده است.

۷-۹-۳- غضروف رشته‌ای[3]

همان‌طور که از نامش برمی‌آید ترکیبی از بافت غضروف و بافت رشته‌ای است. کندروسیت‌های غضروف رشته‌ای، کشیده هستند. در مکان‌هایی که تنش‌های زیادی ایجاد می‌شود به وفور یافت می‌شود، مثلاً در دیسک بین‌مهره‌ای و مینسک زانو. زیرا ماتریس خارج سلولی این نوع غضروف، مقادیر زیادی کلاژن نوع یک و مقادیر اندکی پروتئوگلیکان دارد که باعث افزایش خواص مکانیکی آن می‌شود. به عبارت دیگر ترکیب ماتریس این نوع غضروف حداقل است و ترکیب رشته‌ای آن بیشتر است. چقرمگی بیش‌تر و انعطاف‌پذیری کم‌تری نسبت به غضروف مفصلی دارد، اما عملکرد مطلوبی در تحمل بار ندارد. این غضروف تعداد کمی کندروسیت دارد. برخلاف اکثر غضروف‌ها که توسط لاکونا[4] احاطه می‌شوند، این غضروف پهن و وسیع بوده و معمولاً فاقد پری‌کندریوم است.

---

[1] Hyaline Cartilage
[2] Costochodral Cartilage
[3] Fibrocartilage
[1] Lacunae

Scanned with CamScanner

۷-۹-۴- غضروف الاستیک[1]

از نظر شکل ظاهری مشابه غضروف هیالین است، با این تفاوت که الاستیسیته و انعطاف‌پذیری بسیار بیش‌تری نسبت به غضروف هیالین دارد. این نوع غضروف در گوش و اپی‌گلوت وجود دارد.

۷-۱۰- خواص مکانیکی

کندروسیت‌های مفصلی نسبت به تغییرات محیط مکانیکی محیط اطراف خود مانند تغییر در فشار یا تغییر شکل ماتریس به شدت حساس هستند. این تغییرات ممکن است در اثر بارگذاری یا باربرداری بر روی مفاصل ایجاد شوند. کندروسیت‌های مفصلی با احساس این تغییرات مکانیکی در محیط اطراف خود، شروع به اصلاح ترکیب شیمیایی ماتریس خارج سلولی خود می‌کنند؛ یعنی تولید یا تخریب مولکول‌های ماتریس خارج سلولی را انجام می‌دهند. واژه هدایت مکانیکی[2] به مکانیسم‌هایی برمی‌گردد که سلول‌ها سیگنال‌های مکانیکی را به فعالیت سلولی خود تبدیل می‌کنند. این پدیده، بیان کننده این است که کندروسیت‌ها تغییرات محیط مکانیکی اطراف خود را احساس کرده و با اصلاح الگوی بیان ژن خود و تولید یا تخریب مولکول‌های ماتریس خارج سلولی به آن‌ها پاسخ می‌دهند.

یک انسان بالغ به صورت طبیعی سالانه در حدود ۲-۱ میلیون گام برمی‌دارد. غضروف مفصلی به موازات سطوح استخوانی قرار داشته و تنش‌های زیادی را که ناشی از حرکت بدن است، منتقل می‌کند. غضروف رفتار ویسکوالاستیک دارد یعنی با گذشت زمان رفتار آن در اثر اعمال یک بار ثابت مکانیکی تغییر می‌کند. مدول الاستیک فشاری و کششی غضروف بسته به محل قرارگیری در بدن به ترتیب در محدوده ۱٫۵-۰٫۴ و ۵۰-۵ مگاپاسکال است.

۷-۱۱- تغییرات در ساختار و عملکرد غضروف مفصلی با افزایش سن

با افزایش سن تغییراتی در ساختار و عملکرد غضروف مفصلی رخ می‌دهد که این تغییرات شامل کاهش در ضخامت، کاهش چگالی سلول، کاهش تقسیمات میتوتیک، تغییر در غلظت، اندازه و توزیع پروتئوگلیکان‌ها می‌باشد. با افزایش سن هم هسته پروتئینی و هم زنجیره‌های

---

[2] Elastic Cartilage
[3] Mechanotransduction

Scanned with CamScanner

گلیکوزآمینوگلیکان، طولشان کم می‌شود. تمامی این تغییرات خواص مکانیکی بافت را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱۵۰, ۱۵۱].

۷-۱۲- مواد سازنده داربست مهندسی بافت غضروف

۷-۱۲-۱- پلیمرهای مصنوعی

داربست‌های ساخته شده از پلی-آلفا هیدروکسی‌استرها نظیر پلی-ال-لاکتیک‌اسید، پلی گلایکولیک‌اسید و پلی‌لاکتیک-کو-گلایکولیک‌اسید کاربرد فراوانی در مهندسی بافت غضروف به ویژه به شکل مش یا اسفنج دارند. با این‌که آب‌گریزی پلی‌لاکتیک-کو-گلایکولیک اسید مانع چسبندگی سلول می‌شود، اما این محدودیت را می‌توان با ترکیب نمودن پلی‌لاکتیک-کو-گلایکولیک اسید با مواد دیگر مانند پلی‌وینیل الکل کاهش داد. پلی‌گلایکولیک‌اسید آبدوست‌تر است و بنابراین سریع‌تر از پلی-ال-لاکتیک اسید و پلی‌لاکتیک-کو-گلایکولیک‌اسید تخریب می‌شود. کوپلیمرهای پلی-ال-لاکتیک اسید و پلی‌گلایکولیک اسید را می‌توان برای حصول خواص مکانیکی و سرعت تخریب مطلوب با تغییر نسبت این دو پلیمر بهینه نمود. با تثبیت عوامل بیولوژیکی بر روی سطوح داربست‌های پلی-آلفا هیدروکسی استرها می‌توان آن‌ها را برای مهندسی بافت غضروف مطلوب‌تر نمود. مثلاً تثبیت کلاژن نوع دو بر روی پلی-ال-لاکتیک اسید و پلی‌گلایکولیک اسید، باعث جلوگیری از ایجاد کپسول فیبروز، بهبود ترمیم و جلوگیری از واکنش‌های التهابی بعد از شش ماه کاشت شده است. تثبیت هیالورونیک اسید روی سطح داربست‌های پلی‌لاکتیک-کو-گلایکولیک اسید چسبندگی سلولی و تولید غضروف را بهتر نموده است.

پلیمرهای مصنوعی دیگر مورد استفاده در مهندسی بافت غضروف شامل پلی‌کاپرولاکتون[۱]، پلی‌اتیلن گلایکول ترفتالات[۲]، پلی‌بوتیلن ترفتالات[۳]، پلی‌وینیل الکل[۴]، پلی‌اتیلن گلایکول فومارات[۵] و پلی‌پروپیلن فومارات[۶] هستند [۱۵۲-۱۵۹].

---

[1] Polycaprolactone
[2] Poly(ethyleneglycol) terephthalate
[3] Poly(butylene terephthalate)
[4] Poly(vinyl alcohol)
[5] Poly(ethylene glycol) fumarate
[6] Polypropylene fumarate

Scanned with CamScanner

۷-۱۲-۲- پلیمرهای طبیعی

در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در زمینه مهندسی بافت غضروف با استفاده از داربست‌های پلیمری طبیعی انجام گرفته است. پلیمرهای طبیعی مورد استفاده در مهندسی بافت غضروف عبارتند از آلجینات، آگاروز، کیتوسان، کلاژن، هیالورونان، فیبرین و ابریشم. که در این میان، بارزترین پلیمر طبیعی کلاژن نوع یک است. کلاژن، مولکولی در ماتریس خارج سلولی غضروف است، پس برای ساخت داربست‌های مهندسی بافت غضروف بسیار مناسب می‌باشد. اسفنج‌های کلاژنی به علت تخلخل، زیست‌تخریب‌پذیری و زیست‌سازگاری خواص خوبی را برای داربست‌های غضروف دارند. داربست‌ها می‌توانند یا از یک نوع کلاژن یا ترکیبی از چند نوع کلاژن باشند که همه آن‌ها قابلیت خوبی را در چسبندگی کندروسیت‌ها و ایجاد فنوتیپ تمایز یافته کندروسیت‌ها دارند.

ترکیب نمودن سلول‌ها با محلول کلاژنی منجر به کپسوله شدن آن‌ها در داخل کلاژن می‌شود و با خنثی‌سازی محلول کلاژنی، ژل کلاژنی تشکیل می‌شود. این روش برای رهایش کندروسیت‌ها برای ترمیم غضروف مفصلی و نیز دیسک بین مهره‌ای و مینسک مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از موانع اصلی استفاده از این سیستم‌ها به صورت بالینی، خواص مکانیکی پایین این ژل‌ها است که مدول الاستیسیته در حدود ۱-۰٫۱ کیلوپاسکال دارند. ایراد دیگر این است که اکثر غضروف‌ها کلاژن نوع ۱ ندارند. بنابراین بهتر است که داربست‌ها از کلاژن نوع دو ساخته شوند. مطالعات نشان داده است که اسفنج‌های کلاژنی را می‌توان با مواد دیگر ترکیب کرد و به این ترتیب سلول‌های غیر کندروسیت را به شکل غضروف تمایز داد. مثلاً اضافه کردن پودر استخوانی به اسفنج‌های کلاژنی می‌تواند سلول‌های فیبروبلاست پوست را برای ساخت ماتریس خارج سلولی بافت غضروفی تحریک کند. البته ساخت این نوع داربست‌ها مشکلاتی دارد. این داربست‌ها می‌توانند باعث پاسخ ایمنی نامطلوب از طرف بدن شوند، به گونه‌ای که یک کپسول رشته‌ای، ایمپلنت کلاژنی را احاطه می‌کند. در نتیجه در سطح مشترک بین غضروف جدید و غضروف اصلی تداخل ایجاد می‌شود. راهکاری دیگر برای بهبود تولید غضروف به روش مهندسی بافت این است که با ایجاد تغییر در روش تولید داربست می‌توان اسفنج‌های کلاژنی را با فاکتورهای رشد ترکیب نمود [۱۵۲-۱۵۹].

پلیمر طبیعی دیگر که در مهندسی بافت غضروف کاربرد فراوانی دارد، فیبرین است. سلول‌ها توسط فیبرین، کپسوله می‌شوند. پلیمریزاسیون فیبرین در حدود ۱۰ تا ۱۵ دقیقه طول می‌کشد که زمان کافی را برای تزریق مخلوط به درون بدن برای پلیمریزاسیون درجا[1] ایجاد

Scanned with CamScanner

می‌کند. نشان داده شده است که کندروسیت‌هایی که در داخل هیدروژل‌های فیبرینی کپسوله شده بودند، مورفولوژی خود را حفظ کرده‌اند و ماتریس خارج سلولی تولید کرده‌اند. فیبرین پس از سه روز شروع به از هم گسیختن کرد. این روش برای تولید غضروف در مدل‌های زیر پوستی موفق بوده است. مهم‌ترین مانع در مورد استفاده از فیبرین به دست آوردن مواد خالص است، چون منبع آن خون است.

۷-۱۳- تاریخچه پوست مصنوعی

سالانه در حدود ۱۲۰۰۰ نفر در اثر سوختگی‌های شدید از بین می‌روند. مهم‌ترین مشکل، از دست رفتن حجم زیادی مایع از بدن و هجوم میکروبی به بدن است. پیوند پوست متداول‌ترین روش درمان بیماران است. اما کمبود پوست طبیعی این روش را برای بیمارانی که سوختگی‌های وسیع دارند، تقریباً ناممکن می‌سازد. بنابراین تحقیقات زیادی در مورد جایگزینی پوست انجام شده است. پوشش زخم و ترمیم نقایص پوستی با فرایندهای اساسی حفظ یکپارچگی ساختار پوست ارتباط دارد. پوست بزرگ‌ترین ارگان لایه‌ای بدن بوده و وظایف پیچیده و فراوانی نیز دارد. به عنوان اولین راه حل برای غلبه بر کمبود پوست اهدایی در مورد زخم‌های بزرگ پوستی، می‌توان به استفاده از جایگزین‌های پوستی حاوی سلول اشاره نمود. با این‌که می‌توان از غشاءهای پلیمری به عنوان لایه‌ای موقتی برای حفاظت از پوست استفاده نمود، اما در طولانی مدت، پوست آسیب دیده نیاز به بازتولید دارد و این مواد باید توسط سلول‌های پوستی زنده جایگزین شوند.

پوست مانعی فیزیکی بین بدن و محیط خارجی اطراف است. عملکردهای اصلی و فرعی پوست توسط سلول‌های تخصص یافته‌ای انجام می‌شود که در دو لایه پوست قرار گرفته‌اند (اپی‌درم و درم). ارتباطات پیچیده عملکردی بین این دو لایه آناتومیکی پوست، ویژگی‌های یک پوست طبیعی را ایجاد می‌نماید. برای بررسی مهندسی بافت پوست، ابتدا لازم است تا با اجزاء ساختاری پوست، نحوه سازمان یافتگی و عملکردهای آن‌ها آشنا شویم. شکل ۷-۵، ساختار پوست را نشان می‌دهد.

۷-۱۴- ساختار و عملکرد پوست

۷-۱۴-۱- اپی‌درم

خارجی‌ترین لایه پوست، اپی‌درم، چقرمه بوده و نسبت به ترکیبات سمی نفوذناپذیر می‌باشد. ضخامت این لایه ۰/۲-۰/۱ میلی‌متر بوده و توسط یک غشاء پایه به درم متصل شده است. این لایه هم‌چنین از دست رفتن آب از طریق پوست را کنترل می‌نماید. ۹۵ درصد از سلول‌های

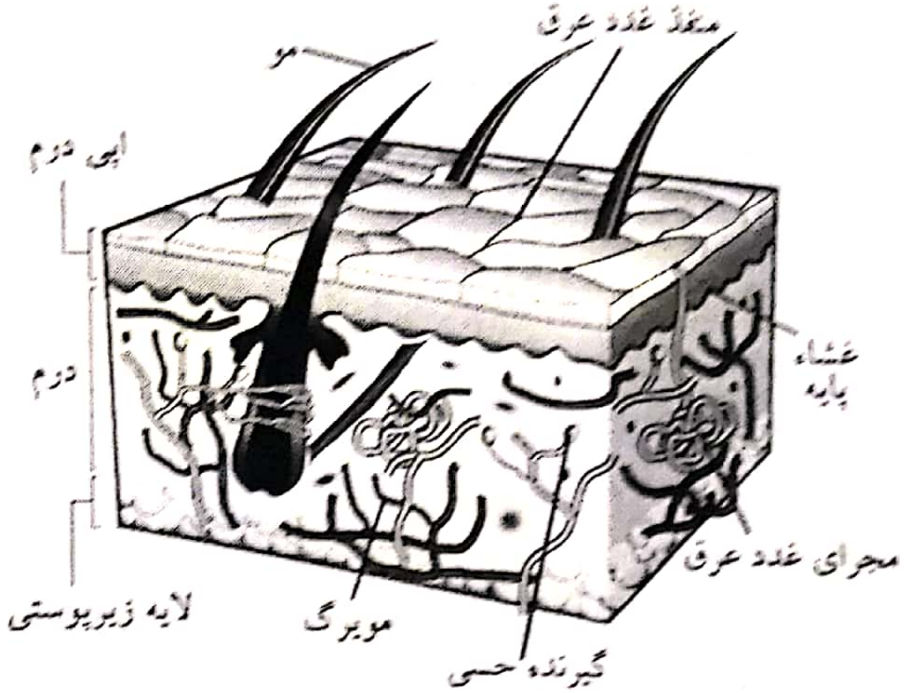
Scanned with CamScanner

سازنده اپی‌درم، کراتینوسیت هستند که اپی‌تلیوم سنگفرشی را ایجاد می‌نمایند. ملانوسیت‌ها نیز در بخش پایینی اپی‌درم هستند و رنگ پوست را ایجاد می‌کنند. این لایه حاوی انواع مختلفی از الیاف کلاژن است که سلول‌های اپی‌درم را به لایه درم متصل می‌کنند. سلول‌های در حال تکثیر در لایه اپی‌درم، بین اپی‌درم و درم لنگراندازی می‌کنند و سلول‌های از بین رفته سطح پوست را با سلول‌های تازه جایگزین می‌کنند. رشته‌های کراتین و دزموزوم‌ها باعث استحکام فیزیکی و یکپارچگی اپی‌درم می‌شوند. سطحی‌ترین کراتینوسیت‌ها در اپی‌درم، لایه Stratum corneum را تولید می‌نمایند. این لایه، خارجی‌ترین لایه مرده پوست است که به عنوان مانع فیزیکی پوست عمل می‌کند. سلول‌های اپی‌درم در مراحل پایانی تمایز خود، لیپیدها را به فضای بین سلولی می‌رانند تا به عنوان مانعی در برابر نفوذپذیری پوست عمل نماید. این سلول‌ها هسته و دیگر ارگانل‌های خود را می‌شکنند و پروتئینی با درجه شبکه‌ای شدن بالا تولید می‌کنند که در بین غشاء سلولی قرار می‌گیرد. این پروتئین‌ها به رشته‌های کراتین متصل می‌شوند و استحکام فیزیکی افزون‌تری برای لایه اپی‌درم ایجاد می‌کنند. پوست هم‌چنین قادر به احساس کردن اختلالات پوستی نظیر آسیب، اشعه ماورای بنفش، مواد شیمیایی سمی و غیره در محیط مجاور خود می‌باشد و به سرعت سیگنال‌های متناسبی را برای سیستم ایمنی ارسال می‌کند.

۷-۱۴-۲- درم

درم لایه دوم پوست است که در زیر اپی‌درم قرار دارد. ضخامت این لایه بسته به موقعیت پوست در بدن متفاوت است و عمدتاً از کلاژن نوع یک تشکیل شده است. این لایه حاوی غدد عرق، فولیکول‌های مو، عروق خونی و گیرنده‌های حسی، دما و درد می‌باشد. فیبروبلاست‌ها اصلی‌ترین سلول‌های درم هستند. شبکه‌ای از رشته‌های عصبی در میان درم کشیده شده که منجر به ایجاد حس در پوست می‌شود. درم به دو بخش تقسیم می‌شود: درم پاپیلاری که دقیقاً زیر اپی‌درم است و درم رتیکولاری. رتیکولاردرمیس در مقایسه با پاپیلاری درمیس، سلول‌های بسیار کم‌تری دارد و شبکه‌ای متراکم‌تر از الیاف ضخیم‌تر کلاژن و الاستین دارد. رتیکولار درمیس استحکام، انعطاف پذیری و الاستیسیته پوست را فراهم می‌آورد.

Scanned with CamScanner



شکل ۷-۵- تصویری از ساختار پوست انسان

۷-۱۵- فرایند ترمیم زخم

پاسخ سریع بافت به زخم، ایجاد لخته خون به منظور توقف خونریزی است. به طور هم‌زمان، رهایش سایتوکین‌های دخیل در التهاب نیز انجام می‌شود. به علاوه، لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها نیز برای مبارزه با عفونت در محل حضور می‌یابند و سپس رگزایی و رسوب کلاژن انجام می‌شود. این دو فرایند آخر باعث تولید بافت گرانوله می‌شوند. بافت گرانوله، بافتی همبند حاوی سلول و عروق خونی زیاد می‌باشد. فیبروبلاست‌هایی که غنی از رشته‌های اکتین هستند، میوفیبروبلاست‌ها، به دلیل عواملی مانند PDGF و TGF-β تجمع می‌یابند. تولید بافت گرانوله در بستر زخم، توسط PDGF تحریک می‌شود. این بافت به دلیل فعالیت میوفیبروبلاست‌ها و TGF-β تدریجاً توسط بافت اسکار جایگزین می‌شود. کراتینوسیت‌ها نیز برای تکثیر و مهاجرت به داخل زخم، تحریک می‌شوند تا پوشش اپی‌درمال را ترمیم کنند. همانطور که شرح مختصر فوق نشان می‌دهد، ترمیم زخم، شامل برهم‌کنش عوامل بافتی فراوانی می‌شود. فرایند کند ترمیم زخم که در مورد زخم‌های مزمن دیده می‌شود، مربوط به عدم تعادل این عوامل است. می‌توان با رهایش موضعی عواملی مانند فاکتور رشد اپی‌تلیال، فاکتور رشد عروقی- اندوتلیالی، فاکتور رشد تبدیلی بتا و PDGF در محل زخم، چسبندگی و مهاجرت سلول‌ها و در نتیجه، روند ترمیم زخم را تسریع نمود. در این میان تنها PDGF به طور بالینی موفق بوده است. اما استفاده از فاکتور رشد به تنهایی برای سوختگی‌های وسیع، کافی نمی‌باشد [۱۶۰-۱۶۴].

Scanned with CamScanner

۷-۱۶- جایگزین‌های پوستی

با توجه به شرایط بالینی (مثلاً در مورد سوختگی‌های سطحی پوست) می‌توان از سلول‌های کشت داده شده در آزمایشگاه استفاده نمود. کراتینوسیت‌ها در حدود ۳۰ سال پیش به طور موفقیت‌آمیزی در آزمایشگاه کشت داده شدند و ورقه‌های کوچکی از سلول (۲ یا ۳ لایه) با نام اتوگرفت اپی‌تلیال کشت داده شده[1]، تولید شد و برای درمان سوختگی استفاده گردید. طبق نتایج حاصل، سلول‌های پوستی کشت داده شده که دوباره به بدن بیمار بازگردانده می‌شوند، ظرفیت خودنوزایی دارند. اما این کراتینوسیت‌های کشت داده شده، بدون وجود بستر رگزایی شده پوستی، به تنهایی در درمان سوختگی‌های عمیق محدودیت دارند. به علاوه، این ورقه‌های پوستی به نیروهای برشی حساس می‌باشند [۱۶۵-۱۷۷].

پیوندهای پوستی موجود در بازار از پلیمرهای طبیعی یا مصنوعی تولید می‌شوند و به دو دسته حاوی و فاقد سلول تقسیم می‌گردند. محصولات مهندسی بافت پوست که اکنون تجاری شده‌اند به سه گروه تقسیم می‌شوند؛ یک دسته محصولاتی هستند که تنها لایه اپی‌درم را جایگزین می‌کنند. دسته دیگر این محصولات، لایه درم و دسته سوم هر دو لایه را جایگزین می‌کنند (جدول ۷-۴).

جدول ۷-۴- جایگزین‌های پوستی به روش مهندسی بافت

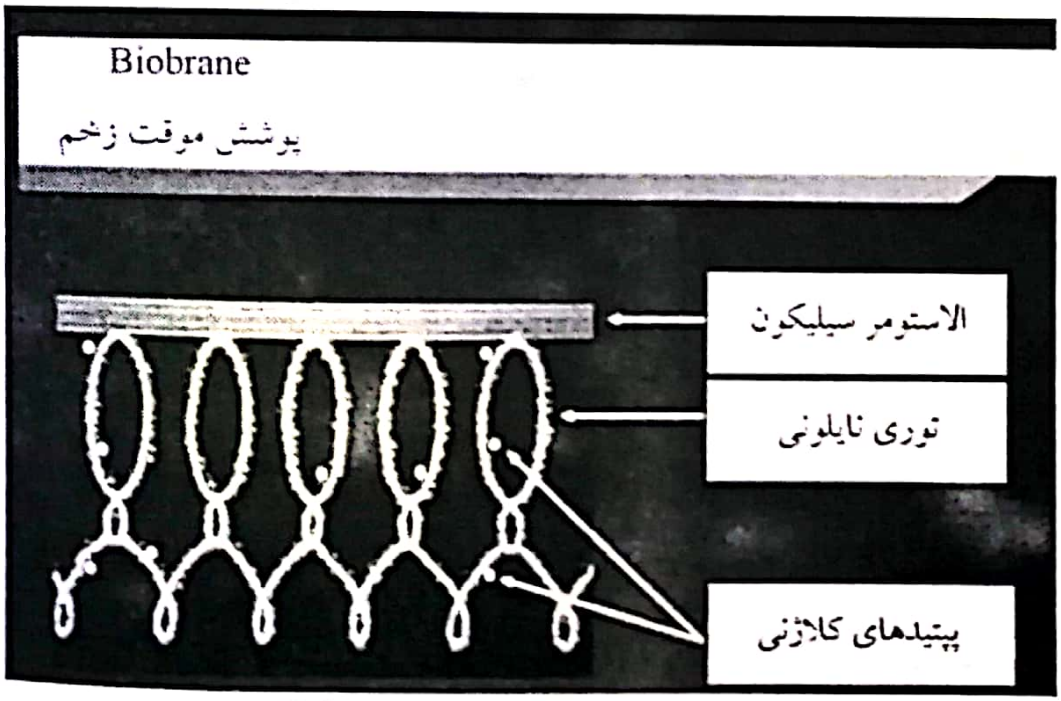
نام تجاری محصول	ترکیب درم	ترکیب اپی‌درم
Integra	غشاء کلاژن- گلیکوزآمینوگلیکان فاقد سلول	پوشش سیلیکونی
Biobrane	منسوج نایلونی پوشش داده شده با کلاژن نوع یک	لایه‌ای از سیلیکون متخلخل
Dermagraft	پلی‌گلایکولیک اسید- فیبروبلاست‌های پوستی	-
Transcyte	فیبروبلاست‌های انسانی کشت داده شده بر روی یک مش نایلونی	-
Apligraf	کلاژن حاوی فیبروبلاست	کراتینوسیت کشت داده شده
Laserskin	هیالورونیک اسید متخلخل حاوی کراتینوسیت‌های اتولوگ	فیبروبلاست کشت داده شده
Orcel	اسفنج کلاژنی حاوی فیبروبلاست	کراتینوسیت

[1] Cultured Epithelial Autografts

Scanned with CamScanner

برای سوختگی‌های عمیق‌تر ضروری است که هر دو لایه اپی‌درم و درم جایگزین شوند. در این موارد، ابتدا باید بافت سوخته شده تا رسیدن به عضله دبریدمان شود و سپس جایگزینی برای درم فراهم شود و بعد از تشکیل عروق خونی جدید در درم، لایه اپی‌درم جایگزین شود. برای جایگزینی درم، می‌توان از پوست جسد استفاده نمود. راه دوم، استفاده از بیومواد (طبیعی یا مصنوعی) است. جایگزین پوستی با نام Integra محصولی است که برای سوختگی‌های عمیق کاربرد دارد. این محصول از کلاژن و گلیکوزآمینوگلیکان به همراه غشاء سیلیکونی تولید می‌شود. این ماده به بستر زخم پیوند زده می‌شود و بعد از انجام رگزایی، غشاء سیلیکونی برداشته می‌شود و با لایه‌ای از کلاژن حاوی سلول‌های خود بیمار (کراتینوسیت و فیبروبلاست) جایگزین می‌شود.

در میان محصولات پوستی ذکر شده در جدول ۷-۴، Biobrane و Transcyte جزء گروه جایگزین‌های موقتی پوست و بقیه محصولات جزء گروه جایگزی‌های دائمی پوست هستند. Integra محصولی دو لایه از کلاژن- گلیکوزآمینوگلیکان است که توسط لایه‌ای موقتی از جنس سیلیکون پوشیده شده است. Biobrane در سال ۱۹۸۹ توسط سازمان غذا و دارو به عنوان جایگزین موقتی برای سوختگی‌های عمیق تا زمان ترمیم پوست مورد تأیید قرار گرفت. ساختار این محصول در شکل ۷-۶ نشان داده شده است. اما استفاده از آن برای زخم‌های مزمن پیشنهاد نمی‌شود [۱۶۵-۱۷۷].



شکل ۷-۶- تصویری از ساختار Biobrane

Dermagraft جایگزینی دیگر برای پوست است که تا زمان استفاده می‌توان آن را به صورت منجمد نگه‌داری نمود. در Dermagraft از سلول فیبروبلاست انسانی استفاده می‌شود. به این

Scanned with CamScanner

ترتیب که بعد از استخراج و کشت این سلول‌ها در غشاء زیست‌تخریب‌پذیر پلی‌گلایکولیک اسید طی سه هفته، سلول‌ها ماتریس سه‌بعدی را که قابلیت جایگزین نمودن پوست را داشته باشد، فراهم می‌کنند. این محصول، به ویژه برای درمان زخم پای دیابتی مورد تائید سازمان غذا و دارو قرار گرفت و نیز برای کسانی که به محصولات حیوانی (گاو) حساسیت دارند، بسیار مناسب است. Transcyte که در سال ۱۹۹۷ مورد تائید سازمان غذا و دارو قرار گرفت، شامل فیبروبلاست‌های کشت داده شده بر روی مش نایلونی است که روی پایه‌ای از سیلیکون قرار گفته است. از این محصول تا زمانی که اتوگرفت انجام شود می‌توان به عنوان پوشش موقتی استفاده نمود. Apligraf جایگزین پوستی دو لایه است که شبیه پوست طبیعی می‌باشد. لایه پایینی درم شامل کلاژن نوع یک و فیبروبلاست‌های انسانی (سلول‌های درم) است که پروتئین‌های ماتریس خارج سلولی را تولید می‌کنند. لایه بالایی محصول نیز از کراتینوسیت (سلول‌های اپی‌درم) تشکیل شده است که تکثیر شده، تمایز می‌یابند و ساختار اپی‌درم را بازتولید می‌کنند. سازمان غذا و دارو این محصول را برای زخم پای دیابتی و زخم‌های عروقی تائید کرده است.

۷-۱۷- مهندسی بافت عصب

از دست دادن حس لامسه، بینایی، شنوایی و یا حرکتی معمولاً به دنبال بیماری یا آسیب به سیستم عصبی اتفاق می‌افتد. به عنوان نمونه، ۵ درصد از جراحاتی که در اثر ورزش یا تصادفات جاده‌ای ایجاد می‌گردند، به سیستم اعصاب محیطی صدمه وارد می‌کنند. در آمریکا سالانه در حدود ۱۰۰۰۰ نفر دچار ضایعات طناب نخاعی می‌شوند که منجر به آسیب رسیدن به آکسون، از بین رفتن نورون، گیلیا و یا از بین رفتن میلین می‌شود. به منظور یافتن روش درمانی مناسب، چالش‌هایی در زمینه تحقیقات مهندسی زیستی در مورد جراحات اعصاب وجود دارد که به فیزیولوژی سیستم عصبی مربوط می‌شود.

شبکیه، گوش، طناب نخاعی، مغز و اعصاب محیطی هریک محیط‌های مولکولی و سلولی بسیار متفاوتی دارند و مهندسی بافت هرکدام نیازمند در نظر گرفتن شرایط متفاوتی است. محدودیت در بازتولید سیستم عصبی مرکزی نیز مربوط به محیط سلولی و مولکولی متفاوت آن است. داربست‌ها و مواد زمینه‌ای سیستم عصبی بستری برای رشد آکسون فراهم می‌آورند. تمرکز مهندسی بافت در زمینه اعصاب محیطی به برقراری اتصال مجدد بین اعصاب جدا شده از پایانه‌های عصبی یا از بخش‌های عصبی دورتر است. در این روش درمانی توسط کاشتنی ساخته شده از زیست‌مواد، آکسون‌های در حال بازتولید هدایت و راهنمایی می‌گردند. البته لازم به ذکر

Scanned with CamScanner

است که مهندسی بافت به علت برهم‌کنش پیچیده بین نورون‌ها در محیط بدن، تاکنون در زمینه‌های محدودی از روش‌های مختلف بازتولید اعصاب وارد شده است [۱۷۸-۱۹۴].

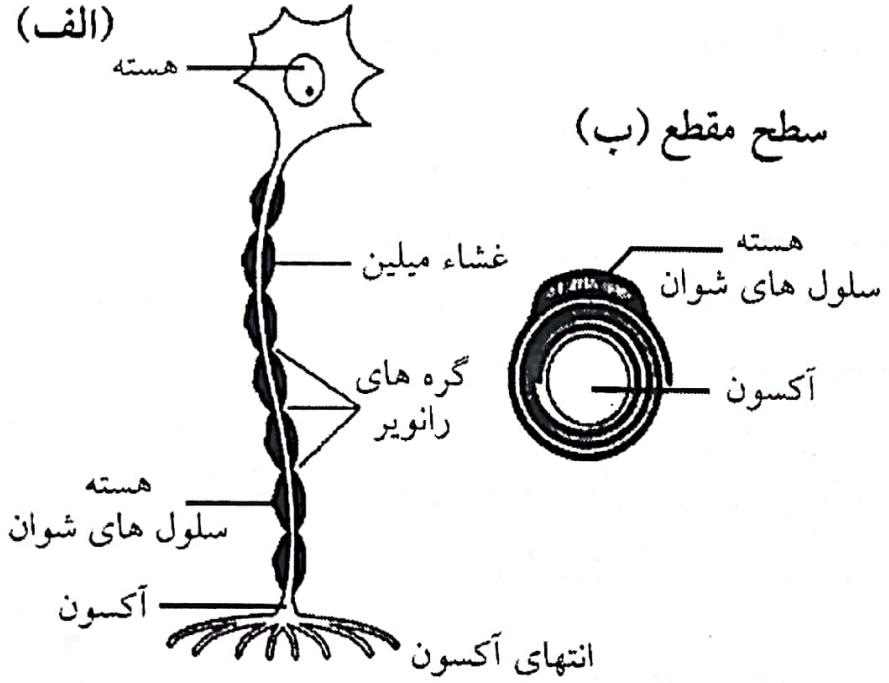
۷-۱۸- ساختار سیستم اعصاب

سیستم عصبی از دو بخش تشکیل شده است؛ سیستم اعصاب محیطی[1] و سیستم اعصاب مرکزی[2] که در فیزیولوژی و عملکرد متفاوت هستند. سیستم اعصاب مرکزی شامل مغز، طناب نخاعی و شبکیه می‌شود. سیستم عصبی محیطی شامل نورون‌های حسی که پیام‌ها را به سیستم اعصاب مرکزی ارسال می‌کنند و نورون‌های حرکتی که پیام‌ها را به عضلات و غدد می‌فرستند می‌شود. مهم‌ترین سلول‌های سیستم عصبی، نورون‌ها و گلیا هستند. نورون‌های سلول‌هایی هستند که پیام‌ها را در میان سیستم عصبی انتقال می‌دهند. سلول‌های گلیا در تماس مستقیم با نورون‌ها بوده و معمولاً در اطراف آن‌ها قرار دارند. نورون‌های اجزاء اصلی ساختاری و عملکردی سیستم عصبی هستند و شامل هسته‌ای می‌باشند که بدنه نامید می‌شود و زوائد آن (آکسون و دندریت‌ها). گلیاها سلول‌هایی هستند که نقش حمایتی در عملکرد نورون‌ها دارند و شامل سلول‌های شوآن در سیستم اعصاب محیطی و آستروسیت‌ها و الیگودندروسیت‌ها در سیستم اعصاب مرکزی هستند. تعداد سلول‌های گلیا بسیار بیش‌تر از تعداد نورون‌ها است و برخلاف نورون‌ها که قادر به تقسیم میتوز نیستند، این سلول‌ها ظرفیتی برای تقسیم دارند. اگرچه نورون‌ها نمی‌توانند با میتوز تقسیم شوند اما تحت شرایط خاصی قادرند جوانه‌زنی نموده و بخشی از ناحیه آسیب دیده عصب را بازتولید نمایند.

اعصاب محیطی دارای آکسون‌های حسی و حرکتی می‌باشد. گفتیم که هر نورون از بدنه و آکسونی تشکیل شده است که معمولاً طول آن به یک متر می‌رسد. محافظ میلین که توسط سلول‌های شوآن تولید می‌شود، از آکسون محافظت کرده و این سلول‌ها در فرایند بازتولید آکسون نقش مهمی دارند (شکل ۷-۷).

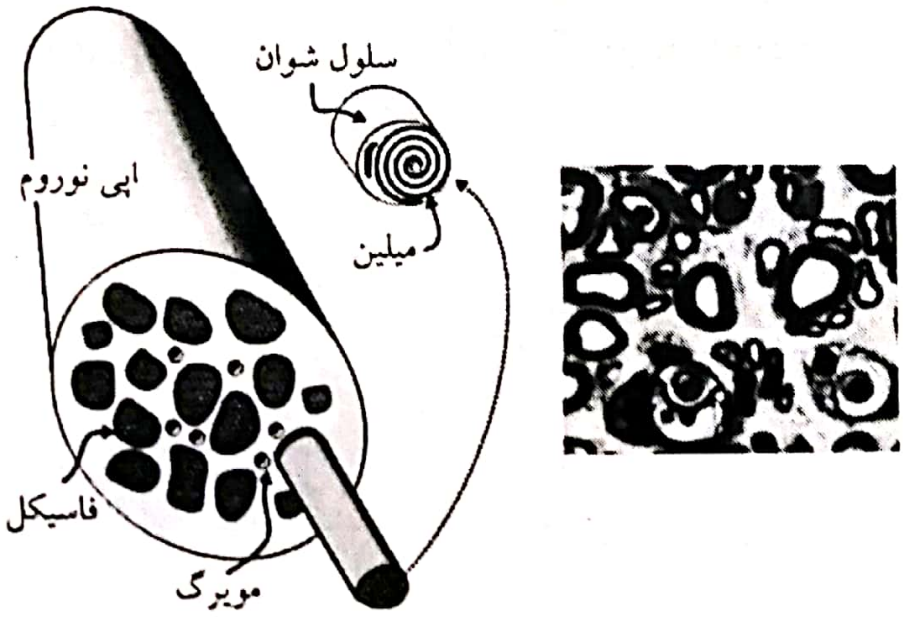
[1] Peripheral Nervous System
[2] Central Nervous System

Scanned with CamScanner



شکل ۷-۷- الف: نورون حرکتی در اعصاب محیطی، ب: سطح مقطع نورون

آکسون‌ها در مجموعه‌ای به نام فسیکل در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. فسیکل‌ها نیز به نوبه خود در مجموعه‌ای به نام اپی نوروم (پوششی سست از الیاف کلاژن) با یکدیگر متحد شده و رشته عصب محیطی تولید می‌نمایند (شکل ۷-۸). با توجه به حرکات اعضای بدن و نیروهای کششی و فشاری حاصل، اپی نوروم به عنوان ساختاری محافظ برای آکسون‌ها عمل می‌کند.



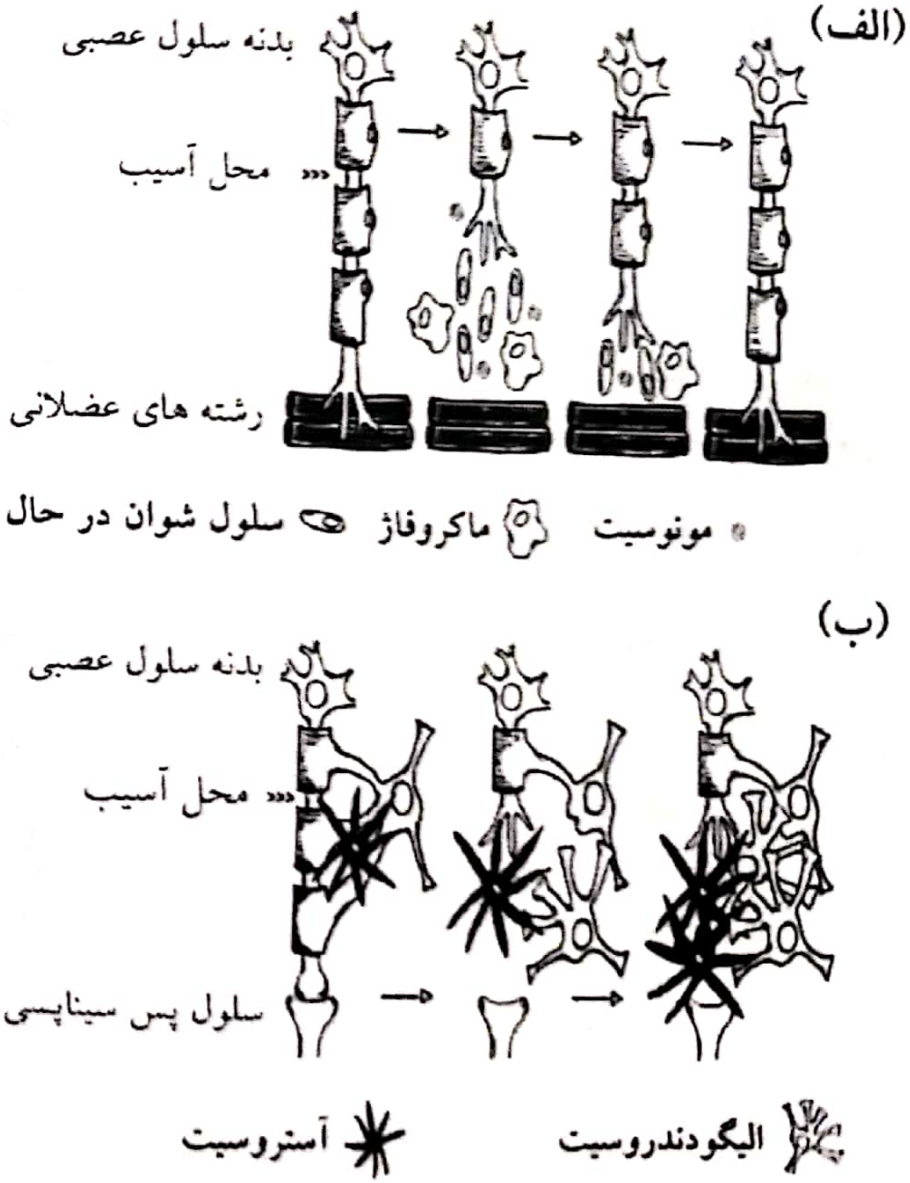
شکل ۷-۸- آناتومی رشته عصب محیطی

در سیستم عصبی مرکزی، طناب نخاعی و مغز دارای ماده سفید و خاکستری هستند. ماده سفید از دسته‌ای از آکسون‌ها تشکیل شده که با پوشش میلین محافظت می‌شوند. ماده

Scanned with CamScanner

خاکستری تجمعی از بدنه‌ها و دندریت‌های سلولی هستند که هریک توسط سیناپس پوشیده شده‌اند. در طناب نخاعی ماده سفید در سطح و ماده خاکستری در داخل قرار دارد و این ترتیب در مورد مغز پستانداران برعکس می‌باشد.

تفاوت کلیدی بین سیستم اعصاب مرکزی و محیطی بعد از آسیب در شکل ۷-۹ نشان داده شده است. سلول‌های شوآن اهمیت فراوانی در ظرفیت بازتولید سیستم اعصاب محیطی دارند. به این ترتیب که سلول‌های شوآن در حال تکثیر، ماکروفاژها و مونوسیت‌ها همراه با یکدیگر عمل می‌کنند تا دبری‌های میلین را پاکسازی کنند، عوامل رشد عصب را رهایش دهند و آکسون‌ها را به سمت مقاصد خود که سیناپس‌ها هستند هدایت کنند. در سیستم عصبی مرکزی اسکار و تجمعی از سلول‌های گلیا، آستروسیت‌ها و الیگودندروسیت‌ها تولید می‌شود و از رسیدن نورون در حال رشد به سیناپس خود جلوگیری می‌کنند.



شکل ۷-۹- فرایند بازتولید عصب بعد از آسیب، الف: سیستم عصبی محیطی و ب: سیستم عصبی مرکزی

Scanned with CamScanner

۷-۱۹- ترمیم سیستم اعصاب محیطی

۷-۱۹-۱- پیوند عصب

جراحات اعصاب محیطی معمولاً در اثر آسیب یا جدا شدن رشته‌های عصبی اتفاق می‌افتد. آکسون‌ها بعد از آسیب تا حدودی قادر به بازتولید خود هستند. اما وقتی آکسونی قطع می‌شود یا بخش زیادی از آن آسیب می‌بیند باید عملکرد آن را اصلاح نمود. به منظور بهبود و پیشرفت سریع ترمیم عصب در شیارهای آسیب دیدگی اندک می‌توان از بخیه زدن دو انتهای عصب نیز استفاده نمود. بخیه زدن تنها در مواردی که آکسون تحت کشش شدید قرار نگیرد یعنی در حالتی که دو بخش عصب در مجاورت یکدیگر قرار گرفته باشند، امکان‌پذیر است. در این رابطه، توجه ویژه‌ای باید به حفظ جهت‌مندی راستای فسیکل‌ها باشد. در صورتی که دو سر آکسون پاره شده نیز آسیب دیده باشند، بخیه زدن مستقیم باعث تحت کشش قرار گرفتن آکسون می‌شود. بنابراین به واسطه‌ای نیاز است تا همانند پلی در شیار ایجاد شده عمل نماید و امکان بازتولید آکسون را فراهم کند. متداول‌ترین روش اتوگرفت است. وقتی پایانه‌های قطع شده اعصاب قادر به اتصال مجدد به یکدیگر نباشند، از یک عصب به عنوان پل استفاده می‌شود و توسط بخیه به دو سمت دیگر پیوند زده می‌شود. به این ترتیب که بخش آسیب دیده عصب قطع می‌شود و عصب جدید از محل دیگری مانند پشت پا برداشت همی‌شود و پیوند زده می‌شود. محدودیت‌هایی در مورد استفاده از اتوگرفت وجود دارد که عبارتند از؛ هماهنگی قطر اتوگرفت و آکسون، تهاجمی بودن روش و درمان تنها قسمتی از ضایعه. هم‌چنین معمولاً عملکرد عضو اهدا کننده عصب با اختلال مواجه می‌شود و یا از بین می‌رود. به علاوه، تعداد اعصاب دهنده اندک است و در این رابطه ظرفیت کمی وجود دارد. این محدودیت‌ها انگیزه‌ای برای یافتن روش‌هایی بهتر برای بازتولید عصب هستند. گزینه دیگر، الوگرفت عصب از منابع دیگر نظیر اجساد است که این روش چندان موفقیتی نداشته است.

۷-۱۹-۲- مجاری هدایتگر عصب

مجاری هدایتگر عصب[1] باید به عنوان بستری برای رشد سلول‌های شوآن عمل کنند تا در نهایت، رشد و هدایت آکسون نیز انجام شود [۱۹۰]. ویژگی‌های یک مجرای هدایتگر عصب عبارتند از؛ زیست‌تخریب‌پذیری و تخلخل دیواره مجرا، قابلیت رهایش عوامل رشد عصب، افزودن سلول‌های حمایت کننده رشد عصب، ساختار جهت‌مند و فعالیت الکتریکی. در این زمینه از لوله‌های سیلیکونی استفاده شده است. اما این لوله‌ها تولید رشته‌های عصبی را در

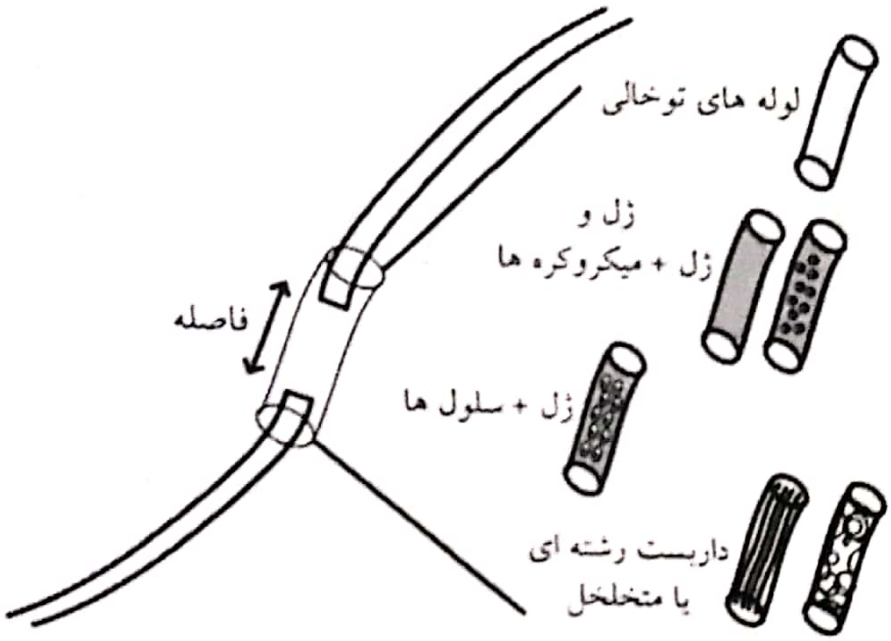
[1] Nerve Guidance Channel

Scanned with CamScanner

شیار کم‌تر از ۱۰ میلی‌متر می‌توانند انجام دهند. یکی از دلایل موفقیت این لوله‌ها تعیین محدوده برای فاکتورهای رشد رهایش یافته از بافت نزدیک عصب صدمه دیده در پاسخ به آسیب است. اساساً این لوله‌ها می‌توانند نفوذ فاکتورهای رشد را به خارج از بافت عصب محدود کنند و غلظت موضعی آن‌ها را به قدری بالا ببرند که منجر به تحریک ترمیم عصب شود. اما در هر حال، موفقیت استفاده از لوله‌های سیلیکونی به‌اندازه موفقیت حاصل از اتوگرفت نمی‌باشد. لوله‌های ساخته شده از مواد تخریب‌پذیر منجر به تولید آکسون‌هایی می‌شود که غلاف میلین ضخیم‌تری دارند.

۷-۱۹-۳- داربست مهندسی بافت

محدودیت دسترسی به بافت اهدا کننده عصب و نیز موفقیت محدود هدایتگرهای عصب، منجر به توسعه روش‌های دیگر برای ترمیم سیستم اعصاب محیطی شده است. این روش‌های شامل استفاده از الیاف، ژل و داربست‌های متخلخل به منظور کمک در هدایت فیزیکی و نیز استفاده از فاکتور رشد برای بازتولید آکسون هستند (شکل ۷-۱۰).



شکل ۷-۱۰- تصویری از استفاده از لوله و داربست برای ترمیم سیستم اعصاب محیطی

با توجه به تحقیقات به عمل آمده، آکسون‌ها بعد از جوانه‌زنی مقصد و مسیر خود را جست‌وجو می‌کنند. آکسون‌ها با توجه به ترکیب شیمیایی سطح زیرین و مولکول‌های اطراف هدایت می‌شوند. با طراحی مناسب ترکیب شیمیایی سطح و ساختار داربست‌های مهندسی بافت می‌توان آکسون‌ها را جهت رشد، تحریک نمود. به علاوه، داربست‌ها پتانسیل هدایت جهت‌گیری آکسون‌ها را از طریق تخلخل‌های خود و نیز فراهم نمودن نقاطی برای لنگراندازی آکسون‌ها در

Scanned with CamScanner

حین بازتولید دارند. یکی از ساده‌ترین داربست‌ها با ساختار جهت‌یابی شده برای هدایت آکسون‌ها، داربستی است که از مجموعه‌ای از الیاف تشکیل شده باشد. در مورد شیار ایجاد شده با طول ۱۸-۱۴ میلی‌متر، رشته‌های پلی- ال- لاکتیک اسید که در داخل لوله‌ای توخالی جای گرفته‌اند، در بازتولید تعداد محدودی آکسون موفق بوده است. بخیه‌های قابل جذب که از رشته‌های پلیمری زیست‌تخریب‌پذیر ساخته می‌شوند نیز در شیارهای ۱۵-۷ میلی‌متری نتایجی مشابه دارند. اما بازتولید آکسون در شیارهای بزرگ‌تر ناقص انجام می‌شود.

دسته دیگری از داربست‌ها ژل‌های طبیعی و مصنوعی هستند. با اینکه در ظاهر ژل‌ها ساختارهایی بسیار ساده هستند اما در مقیاس مولکولی بسیار پیچیدگی دارند. در مقایسه با استفاده از هدایتگر عصب به صورت توخالی، استفاده از ژل حاوی پروتئین (مانند لامینین یا کلاژن) در داخل لوله هدایتگر عصب، منجر به ترمیم رشته‌های عصبی در شیارهای بزرگ‌تر می‌شود. ژل‌های عامل‌دار شده با پروتئین که دارای سیستم رهایش فاکتور رشد عصب[1] نیز می‌باشند، همانند اتوگرفت در شیارهای ۱۰ میلی‌متری موفق بوده‌اند. بنابراین هنوز در زمینه ترمیم عصب در شیارهای بزرگ‌تر چالش وجود دارد.

برای آکسون‌های با قطر زیاد، داربست‌های متخلخل کلاژنی می‌توانند نقش پل را در میان شیار ایفا کنند. این داربست‌ها برای هدایت بازتولید آکسون‌ها از طریق تخلخل‌های جهت‌مند خود عمل می‌کنند. پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر فراوانی پتانسیل استفاده در مهندسی بافت عصب را دارند. پلی‌استرهایی مانند پلی‌گلایکولیک اسید، پلی‌لاکتیک اسید، پلی‌لاکتیک کو گلایکولیک اسید و پلی‌هیدروکسی بوتیرات موادی هستند که مورد تأیید سازمان غذا و دارو قرار گرفته‌اند. یکی از محدودیت‌های روش‌های فوق، رشد محدود سلول‌های شوآن به داخل لوله یا داربست است که منجر به فراهم نشدن محیط مناسب برای بازتولید آکسون‌های در حال تولید و میلینه نشدن آن‌ها می‌شود. اگر به روشی بتوان مهاجرت سلول‌های شوآن را بهبود بخشید، می‌توان بازتولید آکسون را نیز افزایش داد. می‌توان میکروکره‌هایی را که رهایش کنترل شده فاکتور رشد عصب را انجام می‌دهند به ژل‌های داخل لوله هدایتگر عصب افزود تا محیطی مشابه اتوگرفت ایجاد شود و نیز قابلیت میلینه کردن رشته‌های در حال تولید بیش‌تر شود. اگرچه این پیشرفت‌ها نویدی برای بهبود کامل عصب هستند اما هنوز به موفقیت کامل نرسیده‌اند و هم چنان بهترین گزینه برای درمان آسیب‌های عصبی، استفاده از اتوگرفت به شمار می‌رود.

داربست‌های مهندسی بافت برای بازتولید عصب محیطی هنوز در مرحله تحقیق هستند. برای نسل بعدی داربست‌ها باید بررسی گردد که چه عوامل و ویژگی‌هایی باعث می‌شود که داربست

[1] Nerve Growth Factor

Scanned with CamScanner

سریع‌تر و راحت‌تر بازتولید را انجام دهد. کلید حل مشکل در حال حاضر این است که ساختار، ترکیب شیمیایی سطح داربست، استفاده از عوامل رشد عصب و نیز چگونگی هدایت آکسون به سمت جهت‌مند شدن بررسی گردند.

۷-۲۰- عوامل رشد عصب

همان‌گونه که قبلاً نیز ذکر گردید، عوامل رشد عصب در بازسازی عصب اهمیت ویژه‌ای دارند. تأثیر این عوامل در رشد، بقاء و پیشروی سلولی هم از دیدگاه مولکولی و هم از دیدگاه پاسخ بافت بررسی شده است. بدون در نظر گرفتن محل آسیب (سیستم عصبی محیطی یا مرکزی) عوامل رشد عصب می‌توانند پاسخ عصب را تحریک نمایند [۱۹۵, ۱۹۶]. این عوامل عبارتند از؛ فاکتور رشد عصب، فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز[1]، نوروتروفین-۳[2]، نوروتروفین ۴/۵[3]، فاکتور رشد مشتق شده از رده سلولی گلیا[4] و فاکتور رشد فیبروبلاستی- اسیدی و قلیایی[5].

۷-۲۱- مهندسی بافت رگ

بیماری‌های قلبی- عروقی مهم‌ترین علت مرگ در کشورهای غربی است. چالش‌های پیش روی مهندسی بافت رگ:

- استحکام و خاصیت ارتجاعی کافی به منظور تحمل تنش‌های دوره‌ای
- تطابق مکانیکی مشابه با بافت اصلی
- وجود لایه‌ای در مجرای رگ با خاصیت ضدانعقادی

رگ خونی تولید شده به روش مهندسی بافت[6]، باید بلافاصله بعد از کاشت در بدن عملکرد خود را داشته باشد. این در حالی است که در مورد بافت‌های دیگری که به روش مهندسی بافت تولید می‌شوند، جایگزینی عملکرد بافت جدید با گذشت زمان انجام می‌شود و وابسته به بازسازی بافت در بدن است.

ویژگی‌هایی که در طراحی یک رگ خونی ایده‌آل باید رعایت شود، عبارتند از:

---

[1] brain-derived neurotrophic factor (BDNF)
[2] neurotrophin-3 (NT-3)
[3] neutotrophin-4/5 (N/T-4/5)
[4] glial cell line-derived growth factor (GDNF)
[5] acidic and basic fibroblast growth factor (aFGF, bFGF)
[6] Tissue Engineered Blood Vessels (TEBVs)

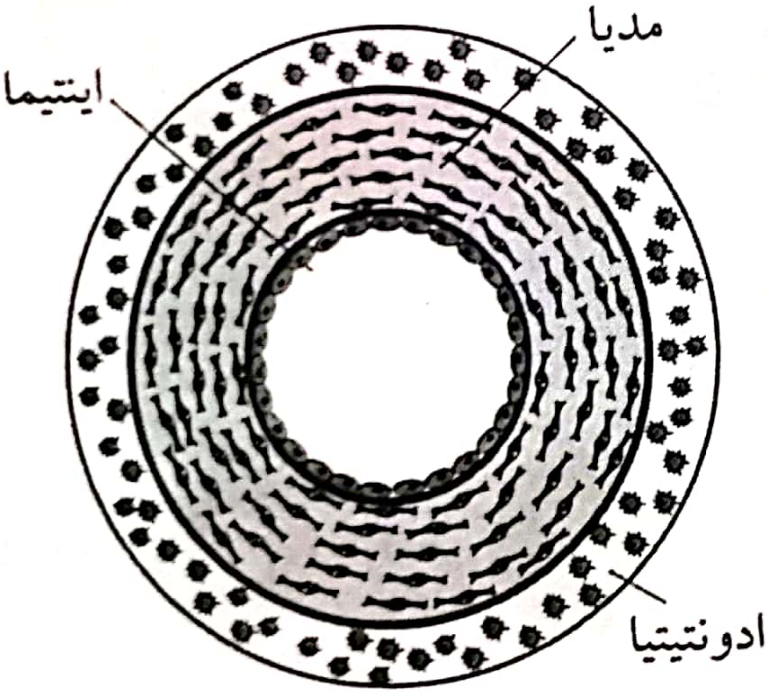
Scanned with CamScanner

- ضد انعقاد بودن
- عدم تحریک پاسخ ایمنی نامطلوب
- تحمل جریان خون با سرعت‌های زیاد
- داشتن ویسکوالاستیسیته مشابه با بافت‌های طبیعی

بنابراین برای تقلید دقیق از رگ خونی، شناخت تمامی اجزاء رگ طبیعی ضروری می‌نماید [۱۹۷-۱۹۹].

۷-۲۲- ساختار رگ

دیواره رگ سه لایه اصلی دارد (شکل ۷-۱۱) که هر لایه در عملکرد رگ نقش مهمی دارد. این لایه‌ها به ترتیب از داخل به خارج عبارتند از؛ اینتیما، مدیا و ادونتیتیا.



شکل ۷-۱۱- ساختار رگ خونی طبیعی

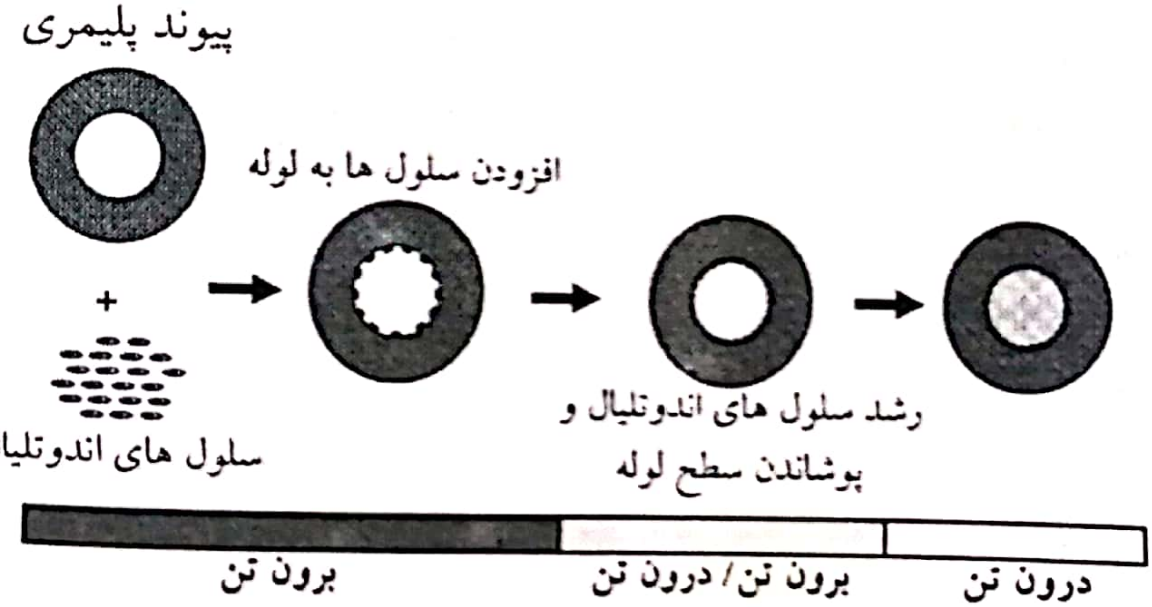
در عروق خونی سالم، لایه اینتیما تک لایه‌ای از سلول‌های اندوتلیال است که لایه‌ای مسطح است و سلول‌های آن در راستای جریان خون جهت‌مند شده‌اند. این لایه در تنظیم ساختمان رگ نقش مهمی ایفا می‌نماید. نکته این است که یک اندوتلیوم سالم با ترشح مولکول‌های خاصی از چسبندگی پلاکت‌ها و گلبول‌های سفید خون به سطح رگ جلوگیری می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که اکسید نیتریک واسطه‌ای اصلی برای تنظیم تجمع پلاکت، تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال می‌باشد که در نهایت بر تولید لخته خونی در عروق تأثیرگذار است. اکسید نیتریک، به‌علاوه از تکثیر و مهاجرت سلول‌های عضلانی صاف نیز جلوگیری می‌نماید. لایه مدیا، خود از چند لایه تشکیل شده است. مدیا بیش‌ترین حجم دیواره رگ را

Scanned with CamScanner

اشغال می‌کند و نیز استحکام مکانیکی رگ را فراهم می‌کند. مدیا از سلول‌های عضلانی صاف، کلاژن، الاستین و پروتئوگلیکان تشکیل شده است. سلول‌های عضلانی صاف در اکثر عروق حلقوی هستند و قطر رگ را توسط انقباض رگ کنترل می‌کنند. الاستین موجود در مدیا خاصیت الاستیک را برای رگ فراهم می‌آورد و امکان افزایش حجم را در هنگام ضرورت برای رگ فراهم می‌کند. در برابر آن، کلاژن موجود در مدیا از باز شدن بیش از حد رگ جلوگیری می‌کند. بنابراین ترکیبات مدیا تحمل تغییرات فشار خون را برای رگ امکان‌پذیر می‌کند.

لایه ادونتیتیا از فیبروبلاست، اعصاب، کلاژن نوع ۱ و الیاف الاستین تشکیل شده است. در شریان‌های بزرگ‌تر یک شبکه عروقی دیگر نیز در زیر لایه ادونتیتیا به نام vasa vasorum وجود دارد. لایه ادونتیتیا به ویژه توسط لنگراندازی به بافت اطراف در خواص مکانیکی رگ اثر دارد.

از آنجایی که یکی از اصلی‌ترین دلایل از بین رفتن پیوندهای مصنوعی رگ، انسداد به دلیل تولید لخته خونی است، نیاز به تولید جایگزین‌های رگ قابل‌اطمینان‌تر و خون‌سازگارتر احساس می‌شود. اولین یافته‌ها در این زمینه به پوشش دهی پیوند ساخته شده از پلیمر مصنوعی با لایه‌ای از سلول‌های اندوتلیال زنده مربوط می‌شود (شکل ۷-۱۲).



شکل ۷-۱۲- نشاندن لایه‌ای از سلول‌های اندوتلیال بر روی پروتز عروقی تخریب ناپذیر

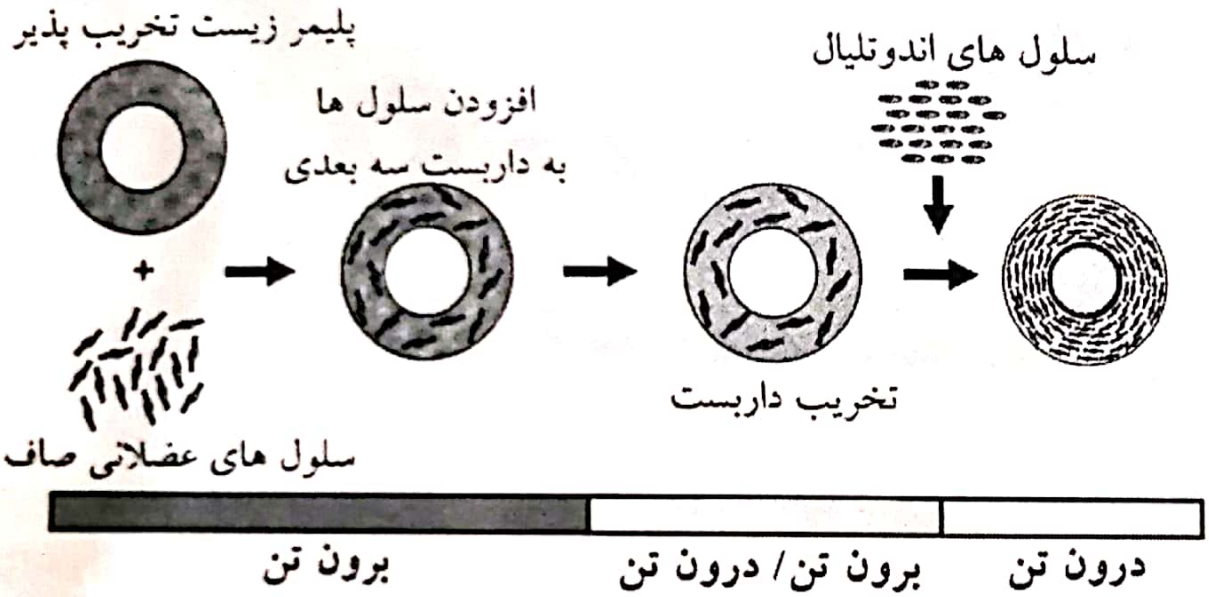
این روش به صورت بالینی نیز موفق بوده است. به طوری که سلول‌های اندوتلیال اتولوگ از سیاهرگ زیرپوستی بیمار استخراج می‌شود و بعد از ۲۱ روز کشت در محیط برون‌تن، به پروتز عروقی از جنس پلی‌تترافلورواتیلن منتقل می‌شود و ۹ روز دیگر نیز تحت کشت قرار می‌گیرد. در مورد پیوند رگ با قطر ۶ میلی‌متر سرعت در هفت سال بعد به ۶۰ درصد می‌رسد. علیرغم

Scanned with CamScanner

حصول این موفقیت‌ها در کشت سلول‌های اندوتلیال در پروتز عروقی با قطر بزرگ، استفاده از این روش برای عروق باریک با قطر اندک امکان‌پذیر نمی‌باشد [۱۹۷-۱۹۹].

۷-۲۳- داربست‌های مصنوعی زیست‌تخریب‌پذیر

شکل ۷-۱۳ استفاده از روش مهندسی بافت را در بازسازی عروق نشان می‌دهد. این روش شامل افزودن سلول‌های کشت داده شده به داربست پیش‌ساخته متخلخل و تخریب‌پذیر است.



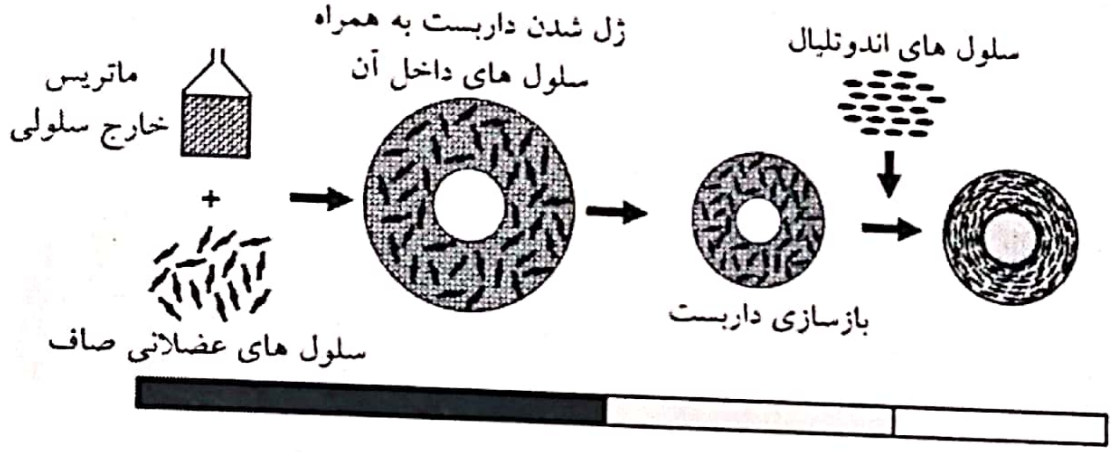
شکل ۷-۱۳- استفاده از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر مصنوعی به صورت داربست متخلخل از پیش‌ساخته شده برای بازتولید بافت رگ

متداول‌ترین پلیمرهای سازنده داربست برای پیوند عروق پلی‌استرهای می‌باشند. از داربست پلی‌گلایکولیک اسید به همراه فیبروبلاست، سلول‌های عضلانی صاف و سلول‌های اندوتلیال استفاده شده و رگی با قطر ۱۵ میلی‌متر تولید شده است. طبق بررسی‌های حاصل این رگ به مدت ۲۴ هفته دوام داشته است. در حالی که پلیمر فاقد سلول به دلیل تولید لخته دچار انسداد شده است. داربست پلیمری طی ۱۱ هفته تخریب شده است. برای افزایش مدت زمان حفظ استحکام داربست، از کامپوزیت پلی‌گلایکولیک اسید- پلی‌هیدروکسی بوتیرات استفاده گردید و با همان سه نوع سلول ذکر شده به مدت ۷ روز در برون‌تن کشت داده و سپس در رگ آئورت کاشته شد. این کاشتنی تا ۲۲ هفته ساختار رگ را حفظ کرد، در حالی که داربست فاقد سلول از همین پلیمرها طی ۱۴ هفته دچار انسداد شد. تخریب داربست‌های از جنس پلی‌استر باعث کاهش pH و در نتیجه آسیب رسیدن به سلول‌های اطراف می‌شود. بنابراین احتمال ایجاد واکنش‌های التهابی و پاسخ ایمنی نامطلوب وجود دارد.

Scanned with CamScanner

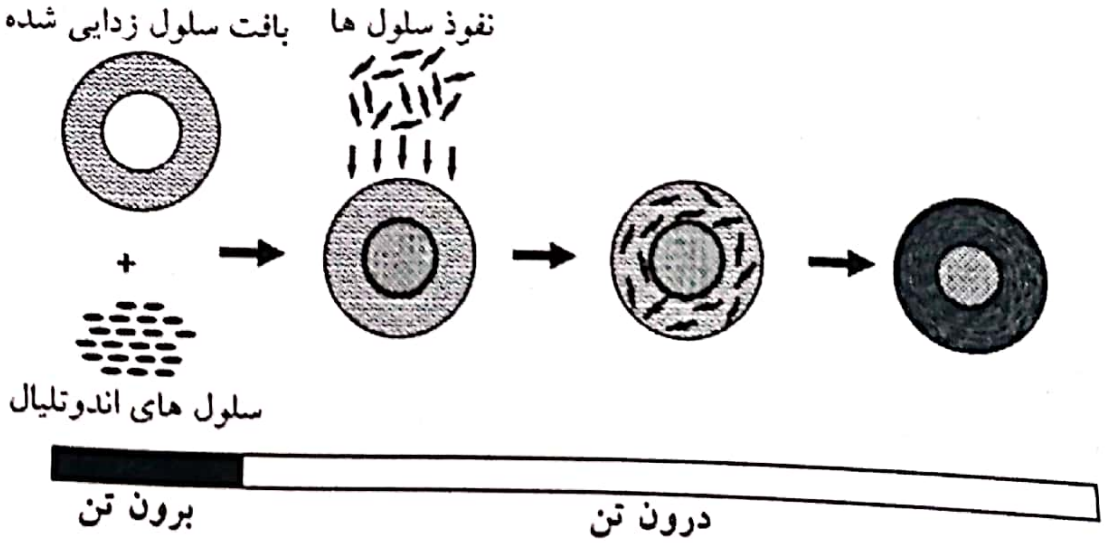
۷-۲۴- داربست‌های طبیعی

همانطور که بیان گردید، اصلی‌ترین اجزاء ساختاری رگ، الاستین و کلاژن نوع ۱، ۲ و ۳ است [۲۰۰-۲۱۴]. بنابراین این مواد می‌توانند گزینه مناسبی برای تولید بافت رگ باشند. در این حالت از دو روش می‌توان استفاده نمود. در روش اول (شکل ۷-۱۴)، سلول‌ها مستقیماً با محلول حاوی پروتئین‌های سازنده داربست مخلوط می‌شوند و سپس محلول به ژل تبدیل می‌شود.



شکل ۷-۱۴- استفاده از پروتئین‌های ماتریس خارج سلولی مانند کلاژن به عنوان بستر برای بازتولید رگ

در روش دوم (شکل ۷-۱۵)، بافت طبیعی آلوژن یا زنوژن تحت فرایندی سلول زدایی می‌شود تا تنها ماده زمینه‌ای از آن باقی بماند. از همین ماده زمینه در مرحله بعد به عنوان داربست برای رشد سلول‌های اتولوگ می‌توان استفاده نمود.



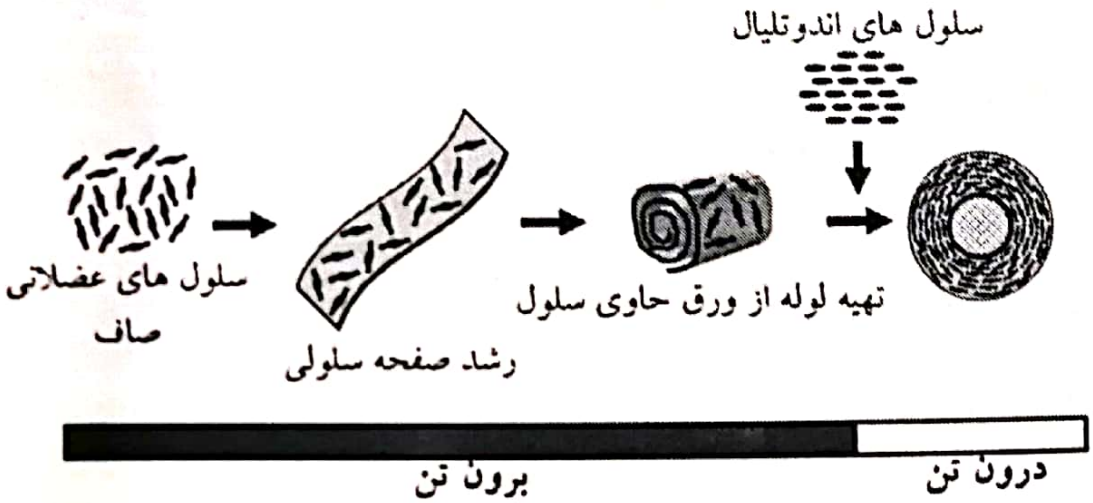
شکل ۷-۱۵- استفاده از بافت طبیعی فاقد سلول به عنوان بستر برای بازتولید رگ

Scanned with CamScanner

۷-۲۵- داربست‌های ترشح کننده سلول

ایده‌ای دیگر این است که به منظور تولید بافت‌های مهندسی نیاز به داربست خارجی برای حمایت اولیه ضروری نمی‌باشد، بلکه مناسب‌ترین ماده زمینه برای تولید بافت جدید، همان ماتریسی است که توسط سلول‌های تخصصی همان بافت تولید شده باشد. سازه حاصل کاملاً منشأ زیستی داشته و سلول‌های مستقر در محل نیز قادرند به خوبی با ماتریس، یکپارچه شوند و به علاوه، قابلیت تولید، تخریب و بازسازی ماتریس در پاسخ به تحریکات محیطی را دارند. اگرچه این روش در ظاهر ساده به نظر می‌رسد اما هدایت سلول‌ها به سمت تولید ورقه سلولی چالشی مهم در بازتولید بافت به این روش محسوب می‌شود.

بنابراین در مورد مهندسی بافت رگ یکی از روش‌های جدید این است که از لایه‌هایی از ورقه‌های سلولی کشت داده شده برای تهیه جایگزین لوله‌ای رگ خونی استفاده گردد. به این ترتیب طبق شکل ۷-۱۶، سلول‌های عضلانی صاف به صورت ورقه کشت داده شده‌اند. سپس این ورقه به حالت استوانه‌ای شکل درآورده شده و سلول‌های اندوتلیال به آن افزوده گردیده است.



شکل ۷-۱۶- استفاده از ورقه‌های بافت فاقد سلول در جهت تولید بستر مناسب برای بازسازی رگ

ایده‌ای دیگر این است که می‌توان از روند پاسخ طبیعی سیستم ایمنی و به دنبال آن تولید بافت گرانوله برای تهیه یک بافت کامل عروقی استفاده نمود (شکل ۷-۱۷). در این روش به این صورت عمل می‌شود که قطعه‌ای سیلیکونی در داخل حفره پری‌توئن کاشته می‌شود. بعد از مدت زمان معینی که توسط لایه‌ای از سلول‌های مزوتلیال پوشیده شد (در حدود ۲ هفته) لوله سیلیکونی خارج می‌گردد. می‌توان از سازه لوله‌ای حاصل به عنوان بستری برای تولید رگ جدید استفاده نمود.

Scanned with CamScanner