



تقنية النانو وهندسة الأنسجة

حاملة الخلايا والأنسجة

تحرير

كاتو بي. لاورنسين

لاكشمي اس. نير

ترجمة

الدكتور المهندس

محمد فائز نادر الرز

أستاذ الهندسة الطبية الحيوية المساعد، قسم العلوم الطبية التطبيقية

كلية المجتمع بالرياض

دار جامعة الملك سعود للنشر

ص ب ٦٨٩٥٣ - الرياض ١١٥٣٧ - المملكة العربية السعودية



ح) دار جامعة الملك سعود للنشر، ١٤٣٥ هـ (٢٠١٤ م)

هذه ترجمة عربية مصرح بها من مركز الترجمة بالجامعة لكتاب:

Nanotechnology and Tissue Engineering: The Scaffold

By: Cato T. Laurencin and Lakshmi S. Nair (Eds.)

© Taylor & Francis Group, LLC, 2008

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

لاورنسين، كاتو

تقنية النانو وهندسة الأنسجة: حاملة الخلايا والأنسجة / كاتو لاورنسين؛ لاکشمی. اس نیر؛ محمد

فائز نادر الرز - الرياض، ١٤٣٥ هـ

٦٨١ ص؛ ٢٨×٢١ سم

ردمك: ٩٧٨-٦٠٣-٥٠٧-٢٥٢-٦

١- تقنية النانو ٢- علم الأنسجة أ. نیر، لاکشمی أس (مؤلف مشارك) ب. الرز، محمد فائز نادر

(مترجم) ج. العنوان

١٤٣٥ / ٣٠٥٢

ديوي ٥، ٦٢٠

رقم الإيداع: ١٤٣٥ / ٣٠٥٢

ردمك: ٩٧٨-٦٠٣-٥٠٧-٢٥٢-٦

حكمت هذا الكتاب لجنة متخصصة، وقد وافق المجلس العلمي على نشره في اجتماعه السادس للعام الدراسي

١٤٣٤ / ١٤٣٥ هـ المعقود بتاريخ ١٥ / ١ / ١٤٣٥ هـ الموافق ١٨ / ١١ / ٢٠١٣ م

دار جامعة الملك سعود للنشر، ١٤٣٥ هـ



إهداء المترجم

قَالَ تَعَالَى: ﴿وَقُلْ أَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ﴾ التوبة: ١٠٥

إلهي لا يطيب الليل إلا بشرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك .. ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك ..
ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك .. ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك ..
سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة .. ونصح الأمة .. إلى نبي الرحمة ونور العالمين ..
سيدنا محمد ﷺ

إلى الملك المعطاء .. راعي العلم والعلماء .. أسأل الله عز وجل أن يحفظه ويسدد خطاه ويوفقه لما يحبه ويرضاه ..
خادم الحرمين الشريفين الملك عبد الله بن عبد العزيز حفظه الله

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار .. إلى من علمني العطاء بدون انتظار .. إلى من أحمل أسمه بكل افتخار ..
إلى من افتقده منذ الصغر .. أسأل الله عز وجل أن يتغمده برحمته ويسكنه فسيح الجنان ..
والدي الحبيب

إلى من كان ملاكي في الحياة .. ووهبني الحب والحنان .. إلى من كان لي بسمه الحياة ..
إلى من كان دعائها سر نجاعي وحنانها بلسم جراحي .. أسأل الله عز وجل أن يتغمدها برحمته ويسكنها فسيح الجنان ..
أمي الحبيبة

إلى رفاق دربي ونوره وأحبابي .. ومن يشاركني الحياة بجلوها ومرها .. ومن انشغلت عنهم في كثير من الأوقات ..
زوجتي وأولادي

إلى من بهم أكبر وعليهم أعتمد .. إلى من بوجودهم أكتسب قوة ومحبة لا حدود لها ..
إخوتي وأخواتي

إلى إخوة لم تلدهم أمي .. إلى من تحلّوا بالإخاء وتميزوا بالوفاء والعطاء .. إلى من معهم سعدت ، وبرفقتهم في دروب الحياة
الحلوة والحزينة سرت .. إلى من كانوا معي على طريق النجاح والخير .. إلى من عرفت كيف أجدهم وعلموني أن لا أضيعهم ..
أصدقائي وزملائي

إلى كل من سينهل من هذا التاج ..
أساتذة ومهندسين ومتخصصين وطلاب

إلى كل محب ..

أهدي هذا الكتاب

المترجم

كلمة شكر

بسم الله، والحمد لله، والصلاة والسلام على رسول الله وخاتم الأنبياء محمد ﷺ، وبعد:

فالشكر أولاً وآخرًا لله - عز وجل - الذي وفقني بعونه وفضله تعالى لإتمام هذا العمل. لقد تم بذل الكثير من الوقت والجهد لترجمة هذا الكتاب مع توخي الحرص على ترجمة المصطلحات إلى اللغة العربية بدقة وصياغة الترجمة بطريقة سلسلة وواضحة قدر الإمكان لتعكس المفهوم العلمي والمعنى الصحيح بشكل دقيق ومفهوم للقارئ. ولم يكن لهذا الأمر أن يتحقق لولا دعم وتحفيز الأهل والأصدقاء والزملاء لمتابعة هذا العمل إلى انتهاءه، فلهم مني خالص الشكر والتقدير. كما أود أن أشكر كل من ساهم وساعد وقدم يد العون وأعطى من خبرته لإتمام هذا العمل المتواضع، وأخص بالذكر كلًا من أستاذي وزميلي سعادة الدكتور محمد سمير طليمات وصديق دربي في الدراسة والعمل سعادة المهندس أحمد الحموي. كما أتوجه بالشكر الجزيل لعائلتي لما تحملته من عناء لتوفير بيئة العمل المناسبة ودعمها غير المحدود لي. ولا أنسى في هذا المجال أن أشكر المحكمين والمراجعين وكل من ساهم في إنجاز هذا العمل.

ولا بد هنا من وقفة شكر أُعبر فيها أيضًا عن امتناني وشكري الجزيل لجامعة الملك سعود بجميع ما يضمه هذا الصرح الكبير، وبما فيه مركز الترجمة، على دعم وتشجيع منسوبي الجامعة على التميز والريادة في جميع ميادين الترجمة والتأليف والنشر والبحث العلمي في المجالات المختلفة، للتقدم بالأمّة فكريًا وثقافيًا وعلميًا ومواكبة الأمم المتقدمة، فلها مني كل الشكر والتقدير.

وأخيرًا، أرجو من الله أن أكون قد وفّقت إلى ذلك العمل، وأسأل الله - عز وجل - أن يتقبله ويجعله خالصًا لوجهه الكريم، وأن تعمّ فائدته على القراء والمهتمين في هذا المجال، وأن يكون مساهمة ولو يسيرة في إثراء المكتبة العلمية العربية بمثل هذا النوع من الكتب المتخصصة. والله من وراء القصد وهو يهدي السبيل.

الترجم

مقدمة المترجم

يوفر تطبيق تقنيات التصنيع النانوي المتقدمة القدرة على محاكاة البنى البيولوجية مع دقة في المستوى الجزيئي، وهو بالتالي يسمح بالتحكم أو تعديل الوظائف الخلوية. وقد أظهر تطبيق هذه التقنيات في المستوى النانوي فائدة لا تُقَدَّر بثمن في تصميم وتطوير أنظمة مُهندَسة من أجل التطبيقات البيولوجية والهندسية الحيوية.

تعد هندسة الأنسجة فرع حديث جداً من فروع الهندسة الطبية الحيوية الحديثة، والتي هي نتاج التفاعل المستمر بين مجالات علم المواد والهندسة والطب والبيولوجيا والكيمياء.

يُقدِّم كتاب "تقنية النانو وهندسة الأنسجة: حاملة الخلايا والأنسجة" بين طياته ملخصاً دقيقاً وشاملاً عن الوضع الحالي للأبحاث الرائدة في مجالات تقنية النانو الحيوية وهندسة الأنسجة، والتي تهدف إلى تطوير حاملات خلايا وأنسجة مُتَّسمة بالمحاكاة الحيوية من أجل استخدامها في تجديد الأنسجة.

مؤكدًا على أهمية حاملات الخلايا والأنسجة في مجال هندسة الأنسجة، يُقدم هذا الكتاب ضمن فصوله المختلفة تفصيلاً عن المفاهيم الأساسية والمتطورة للتصنيع النانوي وبحث في التفاعلات الخلوية في المستوى النانوي. ويستعرض بنية ووظيفة المصفوفة خارج الخلية ويناقش التعديلات السطحية البيولوجية المختلفة في المستوى النانوي، والتي يمكن أن تُحسِّن من الاستجابات الخلوية. كما يستعرض هذا الكتاب تقنيات التصنيع النانوي الواعدة التي تُسهم في تطوير حاملات الخلايا والأنسجة المستخدمة في تطبيقات هندسة الأنسجة المتنوعة، بما في ذلك تقنيات الغزل الكهربائي والحفر والتجميع الذاتي. كما أنه يناقش الآثار والتطبيقات السريرية من خلال استعراض التطورات المثيرة في هندسة الأنسجة العظمية والعصبية والقلبية الوعائية والعظمية الهيكلية باستخدام البنى النانوية.

تفتقر المكتبة العربية العلمية إلى الكتب المتخصصة في مجال الهندسة الطبية عمومًا وإلى الكتب في مجال هندسة الأنسجة وتقنية النانو الحيوية خصوصًا. يُعد هذا الكتاب مفيدًا للغاية كمصدر أساسي قيّم ومرجع هام من المراجع المتخصصة في مجال الهندسة الطبية الحيوية لكل من يهتم ويعمل في مجال المواد الحيوية وهندسة الأنسجة وتقنية النانو الحيوية من مهندسين طبيين حيويين وعلماء وباحثين وطلاب وحتى الأطباء المهتمين بمتابعة آخر التطورات في مجال هندسة الأنسجة وحاملات الخلايا والأنسجة، فهو يجمع بين الاكتشافات الحالية والمعلومات الأساسية عن العمليات الهندسية التي أدت إلى تطوير عدد من الأنسجة المفيدة للغاية.

يتميز هذا الكتاب بنسخته الأصل والنسخة المعرّبة بكثرة وتنوع المصطلحات المستخدمة في مجالات هندسة الأنسجة والطب والكيمياء وعلوم النانو، كما توفر فصول هذا الكتاب أيضاً قائمة مراجع واسعة للقارئ الذي يريد أن يستكشف المواضيع المختلفة بمزيد من التعمق. أسأل الله عز وجل أن يتقبله وينفع به كل قارئ ومهتم في تلك المجالات.

المترجم

مقدمة الكتاب

Foreword

يسرني أن أكتب مقدمة كتاب تقنية النانو وهندسة الأنسجة: حاملة الخلايا والأنسجة الذي تم تحريره من قبل الأستاذ لاورنسين والدكتور نير. هذا الكتاب سيكون مفيداً للغاية كمصدر مرجعي لجميع العاملين في مجال المواد الحيوية وهندسة الأنسجة وتقنية النانو الحيوية. إن العلوم والتقنية في مستوى النانومتر هي قادرة اليوم على توفير فهم وتحكم ومعالجة لم يسبق لها مثيل للمادة في المستوى الذري والجزيئي. لقد كان لتقنية النانو تأثيرٌ كبيرٌ على الطب الحديث من خلال تطوير علاجات جديدة هادفة، وتقنيات تشخيص وتصوير، وكذلك من خلال تقديم إستراتيجيات جديدة لإصلاح وتجديد الأنسجة. لقد فتحت تقنيات التصنيع النانومتري الباب نحو تطوير بنى فريدة، والتي من شأنها أن تكون ذات قيمة كبيرة في الطب التجديدي، وذلك بإعطائنا القدرة على محاكاة البنى البيولوجية مع دقة في المستوى الجزيئي، وبالتالي التحكم أو تعديل الوظائف الخلوية. يأتي العمل الحالي في الوقت المناسب، ويقدم ملخصاً دقيقاً عن الوضع الحاضر لتقنية النانو الحيوية التي تهدف إلى تطوير حاملات خلايا وأنسجة مُتَّسمة بالمحاكاة الحيوية من أجل تجديد الأنسجة. تكمن جاذبية الكتاب في الجمع الحكيم لفصول موجزة وشاملة تغطي أسس حاملات الخلايا والأنسجة المثالية لهندسة الأنسجة، والسلوك الخلوي تجاه البنى النانوية، وأحدث تقنيات التصنيع النانوي المستخدمة حالياً من أجل تطوير بنى نانوية تتسم بالمحاكاة الحيوية لاستخدامات هندسة الأنسجة. تقدم مجموعة الفصول الأربعة عشر التي كتبها خبراء في مجالاتهم من مختلف أنحاء العالم نظرة عامة ممتازة لهذا الموضوع لجمهور واسع. وفي رأيي، سيقدم هذا الكتاب مصدراً قيماً لمجال تقنية النانو الحيوية وهندسة الأنسجة.

سي. إن. آر. راو

الرئيس الفخري لمركز جواهر لال نهرو للبحث العلمي المتقدم، الهند

أستاذ زائر بارز، قسم المواد، جامعة كاليفورنيا، سانتا باربرا

تمهيد

Preface

إن الهدف من تقنية النانو وهندسة الأنسجة : حاملة الخلايا والأنسجة هو تقديم وصف شامل عن الوضع الحالي للبحث في مجالات هندسة الأنسجة وتقنية النانو الناشئة بسرعة. لقد أثر التقدم الهائل في تقنية النانو الحيوية خلال العقد الماضي وبشكل ملحوظ على مجال هندسة الأنسجة ، وفتح آفاقاً جديدة لتحقيق حلم الطب التجديدي. إن هذا الكتاب هو عرض طبيعي لارتباط تقنية النانو وهندسة الأنسجة ، كتقنية ناشئة لديها القدرة على إحداث ثورة في الطب في المستقبل القريب. لقد تمت كتابة محتوى كل فصل بخلفية مفصلة بحيث يغطي الكتاب نطاقاً متعدد التخصصات لجمهور بمجالات مهن مختلفة تتراوح من المهندسين والأطباء والعلماء إلى طلاب الدراسات العليا وطلاب المرحلة الجامعية العليا. توفر الفصول أيضاً قائمة مراجع واسعة للقارئ الذي يريد أن يستكشف هذا الموضوع بمزيد من العمق.

لقد تم تنظيم هذا الكتاب في أربعة عشر فصلاً ، تنقل القارئ من خلال أساسيات هندسة الأنسجة والتحليل الشامل للاستجابات الخلوية الفريدة تجاه المواد ذات البنية النانوية وتقنيات التصنيع النانوي الناشئة وأحدث النشرات عن التطورات المعرفية المهمة والمثيرة باستخدام البنى النانوية في هندسة ثلاثة أنسجة رئيسية في جسم الإنسان هي : الأنسجة العصبية والوعائية والعضلية الهيكلية. إن كل فصل من الفصول الأربعة عشر مُفهرس بشكل فرعي ومعنون بحيث يمكن استخدام الكتاب بسهولة كمصدر مرجعي.

لقد اخترنا أن نُقدّم المواد تحت أربعة أقسام : يؤكد القسم الأول وبوضوح أهمية حاملات الخلايا والأنسجة في هندسة الأنسجة. يتضمن هذا القسم أربعة فصول. يعرض الفصل الأول نظرة عامة واسعة على مجال هندسة الأنسجة ويمهد الطريق لبقية الكتاب. ويقدم الفصل الثاني وبوضوح بنية ووظائف المصفوفة خارج الخلية ، وهي البنية التي يحاول مهندسو الأنسجة إعادة إنتاجها باستخدام تقنيات جديدة. يناقش الفصل الثالث وظائف ومتطلبات حاملات الخلايا والأنسجة التركيبية لهندسة الأنسجة ويستعرض الفصل الرابع التقنيات المتنوعة للتصنيع المايكروبي التي يجري اختبارها حالياً من أجل تطوير حاملات هندسة الأنسجة. ويهدف القسم الثاني إلى التأكيد على تأثير البنى النانوية على الاستجابات الخلوية وتجديد الأنسجة. يعرض الفصل الخامس مناقشة متعمقة للمراجع الحالية حول الاستجابات الخلوية تجاه المواد ذات البنى النانوية. ويعطي الفصل السادس لمحة عامة عن التعديلات المختلفة للسطوح البيولوجية في المستوى النانوي للمواد الحيوية وذلك

لتحسين الاستجابات الخلوية. أما القسم الثالث فيقدم لمحة عامة عن بعض تقنيات التصنيع النانوي الواعدة جداً لتطوير حاملات الخلايا والأنسجة المستخدمة من أجل هندسة الأنسجة. تعطي الفصول من السابع إلى التاسع وصفاً شاملاً لعملية الغزل الكهربائي وفائدة استعمالها كتقنية تصنيع لتشكيل حاملات هندسة الأنسجة. يناقش الفصل العاشر تقنيات الحفر المختلفة المستخدمة لتطوير حاملات خلايا وأنسجة ذات بنى نانوية من أجل هندسة الأنسجة. ويعرض الفصل الحادي عشر التجميع الذاتي كطريقة تصنيع فريدة لتطوير حاملات خلايا وأنسجة نشطة بيولوجياً من أجل التجديد المتسارع للأنسجة. ويقدم القسم الرابع نظرة عامة على بعض من تطبيقات حاملات الخلايا والأنسجة ذات البنية النانوية في مجال علم الأحياء والطب. ويناقش الفصل الثاني عشر تطبيقات المواد ذات البنية النانوية في هندسة الأنسجة العصبية، والفصل الثالث عشر في هندسة الأنسجة القلبية الوعائية، والفصل الرابع عشر في هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية.

ونأمل بأن تزود كل فصول الكتاب، والتي تمت كتابتها من قبل خبراء بارزين في هذا المجال بقاعدة لفهم تأثير تقنية النانو في مجال هندسة الأنسجة والطب التجديدي بشكل أفضل.

كاتو تي. لاورنسين

لاكشمي اس. نير

المحرران Editors

كاتو تي. لاورنسين هو أستاذ الهندسة الطبية الحيوية والهندسة الكيميائية في جامعة فرجينيا. وهو أيضاً أستاذ ليليان تي. برات البارز ورئيس قسم جراحة العظام في جامعة فرجينيا، وكبير أطباء جراحة العظام في منظومة جامعة فرجينيا الصحية. حصل الدكتور لاورنسين على البكالوريوس في الهندسة الكيميائية من جامعة برنستون، وعلى شهادة الطب من كلية الطب بجامعة هارفارد حيث تخرّج بتقدير امتياز، وعلى شهادة الدكتوراه في هندسة الكيمياء الحيوية/التقنية الحيوية من معهد ماساتشوستس للتقنية، حيث كان باحثاً علمياً لهيوج هامبتون يونغ. أكمل الدكتور لاورنسين الإقامة في جراحة العظام في جامعة هارفارد، حيث كان رئيس المقيمين في مستشفى بيت إسرائيل، كلية الطب بجامعة هارفارد. كما حصل على الزمالة الطبية في جراحة الكتف والطب الرياضي في مستشفى الجراحة الخاصة، كلية الطب في جامعة كورنيل في نيويورك. من الناحية الطبية، فإن الدكتور لاورنسين مُعتمد من هيئة جراحة العظام. وهو زميل الكلية الأمريكية للجراحين، وزميل الجمعية الجراحية الأمريكية، وزميل الأكاديمية الأميركية لجراحي العظام. ومن ناحية عمله السريري، فقد تم اختيار الدكتور لاورنسين كأحد أفضل الأطباء الـ ١٠١ في أمريكا من قبل بلاك انتربرايس، وتم اختياره كأفضل أطباء أمريكا وكأفضل جراحي أمريكا.

الاهتمامات الأكاديمية للدكتور لاورنسين هي في مجالات هندسة الأنسجة والمواد الحيوية وتوزيع الدواء وتقنية النانو. لقد تم تكريم الدكتور لاورنسين في البيت الأبيض، حيث حصل على جائزة زمالة الكلية الرئاسية من الرئيس وليم جيفرسون كلينتون تقديراً لأبحاثه التي تربط بين الطب والهندسة. الدكتور لاورنسين هو زميل دولي في علوم وهندسة المواد الحيوية. وهو حائز على جائزة وليام غرايمز من المعهد الأمريكي للمهندسين الكيميائيين، وجائزة نيكولاس أندري من جمعية جراحي العظام والمفاصل لبحوث العظام، وجائزة كليمسون من جمعية المواد الحيوية للمساهمات في مؤلفات المواد الحيوية، وجائزة الريادة في التقنية من مؤسسة الألفية الجديدة.

يعمل الدكتور لاورنسين في هيئة تحرير اثنتا عشرة مجلة تتضمن مجلة أبحاث المواد الطبية الحيوية، والمواد الحيوية، ومجلة تقنية النانو الطبية الحيوية. وهو أيضاً محرر مساعد للجراحة العظمية السريرية والبحوث ذات الصلة.

في السياسة العامة، الدكتور لاورنسين هو عضو مجلس إدارة المؤسسة الوطنية للعلوم باللجنة الاستشارية الهندسية (ADCOM)، وكان عضواً في الهيئة الاستشارية الوطنية للعلوم في الإدارة الأمريكية للغذاء والدواء (FDA). كما أنه عمل مؤخراً في قيادة الجمعية الطبية الوطنية كرئيس مجلس أعضاء الوفود، وكان عضواً في المجلس الاستشاري الوطني للأمراض العضلية الهيكلية وأمراض الجلد (NIAMS) بالمعهد الوطني للصحة (NIH). الدكتور لاورنسين هو عضو منتخب في معهد الطب التابع للأكاديمية الوطنية للعلوم.

لاكشمي نير هي أستاذ مساعد في قسم جراحة العظام في جامعة فرجينيا. لقد حصلت على ماجستير في الكيمياء التحليلية وماجستير في الكيمياء من جامعة ولاية كيرالا بالهند. وحصلت الدكتوراة نير على الدكتوراه في كيمياء البوليمرات في مجال تعديل سطح البوليمرات من معهد تري شيترا تيرونال للعلوم الطبية والتقنية بالهند. وقد أنهت التدريب ما بعد الدكتوراه في مجالات المواد الحيوية وهندسة الأنسجة في جامعة دريكسيل وجامعة فرجينيا قبل الالتحاق بعملها الحالي. تتضمن اهتماماتها البحثية الهُلامات المائية والمواد النانوية وهندسة الأنسجة. ولها أكثر من ستين عملاً منشوراً في مجال المواد الحيوية والهلامات المائية وتوزيع الدواء وهندسة الأنسجة.

المساهمون

Contributors

C. Mauli Agrawal

قسم الهندسة الطبية الحيوية
جامعة تكساس، سان أنطونيو
سان أنطونيو، تكساس

Ravi Bellamkonda

قسم والاس اتش كولتر للهندسة الطبية الحيوية
معهد جورجيا للتقنية، أتلانتا، جورجيا
وجامعة إموري
أتلانتا، جورجيا

Christopher J. Bettinger

قسم علم وهندسة المواد
معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساتشوستس

Mina J. Bissell

قسم علوم الحياة
مختبر لورنس بيركلي الوطني
بيركلي، كاليفورنيا

Tejas Shyam Karande

قسم الهندسة الطبية الحيوية
جامعة تكساس في أوستن
أوستن، تكساس
وقسم جراحة العظام
جامعة تكساس، مركز العلوم الصحية في سان أنطونيو
سان أنطونيو، تكساس

Michael Cho

قسم الهندسة الحيوية
جامعة إلينوي
شيكاغو، إلينوي

Batur Ercan

قسم الهندسة
جامعة براون
بروفيدانس، رود آيلاند

Akihiro Horii

معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساتشوستس
وشركة أولمبوس
هاشيوجي-شي، طوكيو، اليابان

Jeffrey T. Borenstein

مركز الهندسة الطبية الحيوية
مختبر تشارلز ستارك دريبر
كامبريدج، ماساتشوستس

Jeffrey M. Karp

قسم الطب
مستشفى بريغهام والنساء
كلية الطب بجامعة هارفارد
كامبريدج، ماساتشوستس
وجامعة هارفارد-قسم علوم وتقنية الصحة
معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساتشوستس

Edward A. Botchwey
أقسام الهندسة الطبية الحيوية وجراحة العظام

جامعة فرجينيا
شارلوتسفيل، فرجينيا

Casey K. Chan
قسم الهندسة الحيوية
كلية الهندسة

جامعة سنغافورة الوطنية، سنغافورة
وقسم جراحة العظام
مدرسة يونغ لو لين للطب
جامعة سنغافورة الوطنية، سنغافورة

Robert Langer
قسم الهندسة الكيميائية والهندسة الحيوية
قسم الهندسة الميكانيكية
معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساتشوستس
وجامعة هارفارد-قسم علوم وتقنية الصحة
معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساتشوستس

Cato T. Laurencin
قسم جراحة العظام،
الهندسة الطبية الحيوية والهندسة الكيميائية
جامعة فرجينيا
شارلوتسفيل، فرجينيا

Duron A. Lee
قسم الهندسة الطبية الحيوية
جامعة دريكسيل
فيلادلفيا، بنسلفانيا

Susan Liao
قسم الهندسة الحيوية
كلية الهندسة
جامعة سنغافورة الوطنية، سنغافورة
وقسم جراحة العظام
مدرسة يونغ لو لين للطب
جامعة سنغافورة الوطنية، سنغافورة

Sangamesh G. Kumbar
قسم جراحة العظام

جامعة فرجينيا
شارلوتسفيل، فرجينيا

Gregory S. McCarty
قسم الهندسة الطبية الحيوية
جامعة ولاية كارولينا الشمالية
رالي، كارولينا الشمالية
وجامعة كارولينا الشمالية في تشابل هيل
تشابل هيل، كارولينا الشمالية

Constantine M. Megaridis
قسم الهندسة الميكانيكية والصناعية
جامعة إلينوي
شيكاغو، إلينوي

Jonathan G. Merrell
قسم الهندسة الطبية الحيوية
جامعة فرجينيا
شارلوتسفيل، فرجينيا

Benjamin Moody
قسم الهندسة الطبية الحيوية
جامعة ولاية كارولينا الشمالية
رالي، كارولينا الشمالية
وجامعة كارولينا الشمالية في تشابل هيل
تشابل هيل، كارولينا الشمالية

Michael J. Moore
قسم الهندسة الطبية الحيوية
جامعة تولين
نيو أورليانز، لويزيانا

Vivek Mukhatyar
قسم والاس كوتلر للهندسة الطبية الحيوية
معهد جورجيا للتقنية
أتلانتا، جورجيا
وجامعة إموري
أتلانتا، جورجيا

Chwee Teck Lim

قسم الهندسة الحيوية، كلية الهندسة
جامعة سنغافورة الوطنية، سنغافورة
وقسم الهندسة الميكانيكية، كلية الهندسة
جامعة سنغافورة الوطنية، سنغافورة

Syam Prasad Nukavarapu

قسم جراحة العظام
جامعة فرجينيا
شارلوتسفيل، فرجينيا

Seeram Ramakrishna

قسم الهندسة الحيوية، كلية الهندسة
جامعة سنغافورة الوطنية، سنغافورة
وقسم الهندسة الميكانيكية، كلية الهندسة
جامعة سنغافورة الوطنية، سنغافورة

Anita Shukla

قسم الهندسة الكيميائية
معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساشوستس

Eunice Phay Shing Tan

قسم الهندسة الحيوية
كلية الهندسة
جامعة سنغافورة الوطنية، سنغافورة

Eva A. Turley

أقسام الأورام والكيمياء الحيوية
جامعة أونتاريو الغربية
أونتاريو، كندا
وبرنامج لندن الإقليمي للسرطان
ومركز لندن للعلوم الصحية
لندن، أونتاريو، كندا

Mandana Veisheh

قسم علوم الحياة
مختبر لورنس بيركلي الوطني
بيركلي، كاليفورنيا

Xiumei Wang

مركز الهندسة الطبية الحيوية
معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساشوستس

William L. Neeley

قسم الهندسة الكيميائية
معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساتشوستس

Thomas Webster

قسم الهندسة وقسم العظام
جامعة براون
بروفيدانس، رود آيلاند

Kristen A. Wiegand

قسم الهندسة الطبية الحيوية
جامعة فرجينيا
شارلوتسفيل، فرجينيا

Joel K. Wise

قسم الهندسة الحيوية
جامعة إلينوي
شيكاغو، إلينوي

Fan Yang

قسم الهندسة الكيميائية
معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساشوستس

Alexander L. Yarin

قسم الهندسة الميكانيكية والصناعية
جامعة إلينوي
شيكاغو، إلينوي

Julie Yeh

قسم والاس اتش كولتر للهندسة الطبية الحيوية
معهد جورجيا للتقنية، أتلانتا، جورجيا
وجامعة إموري
أتلانتا، جورجيا

Shuguang Zhang

مركز الهندسة الطبية الحيوية
معهد ماساتشوستس للتقنية
كامبريدج، ماساشوستس

Eyal Zussman

كلية الهندسة الميكانيكية
التخنيون، المعهد الإسرائيلي للتقنية
حيفا، إسرائيل

المحتويات

Contents

إهداء المترجم	هـ
كلمة شكر	ز
مقدمة المترجم	ط
مقدمة الكتاب	ك
تمهيد	م
المحرران	س
المساهمون	ف
الباب الأول: أهمية حاملات الخلايا والأنسجة في هندسة الأنسجة	١
الفصل الأول: هندسة الأنسجة: الإستراتيجية العلاجية للقرن الحادي والعشرين	٣
الفصل الثاني: التحليل من أعلى لأسفل لبيئة ديناميكية: بنية ووظيفة المصفوفة خارج الخلية	٤٩
الفصل الثالث: وظائف ومتطلبات حاملات الخلايا والأنسجة الاصطناعية في هندسة الأنسجة	٧٧
الفصل الرابع: تقنيات التصنيع المايكروفي في تطوير حاملات الخلايا والأنسجة	١٣٣
الباب الثاني: تأثير البنى النانوية على الاستجابات الخلوية وتجديد الأنسجة	١٨٧
الفصل الخامس: استجابة الخلايا للسمات في المستوى النانوي وآثارها في تجديد الأنسجة: من منظور العظام	١٨٩
الفصل السادس: تعديل سطح المواد الحيوية في المستوى النانوي: حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا من أجل تطبيقات	
هندسة الأنسجة	٢٥٣

الباب الثالث: تقنيات التصنيع النانوي الواعدة لتطوير حاملات خلايا وأنسجة من أجل هندسة الأنسجة.....	٣٠٥
الفصل السابع: حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف بوليمرية نانوية مغزولة كهربائياً من أجل تجديد الأنسجة.....	٣٠٧
الفصل الثامن: الخصائص البنيوية والميكانيكية لألياف النانو ومركبات النانو المغزولة كهربائياً.....	٣٣٩
الفصل التاسع: تقنيات الغزل الكهربائي للتحكم بالترسيب والتراصيف البنيوي لحاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية من أجل التوجيه الخلوي وإعادة التنظيم الهيكلي الخلوي	٣٦٩
الفصل العاشر: تقنيات الحفر النانوي في هندسة الأنسجة.....	٣٩٧
الفصل الحادي عشر: حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية التجميع من أجل هندسة الأنسجة والطب التجديدي.....	٤٣١
الباب الرابع: تطبيقات حاملات الخلايا والأنسجة ذات البنية النانوية في علم الأحياء والطب.....	٤٤٩
الفصل الثاني عشر: تقنيات النانو في هندسة الأنسجة العصبية	٤٥١
الفصل الثالث عشر: تقنيات النانو من أجل هندسة الأنسجة القلبية الوعائية	٤٧٧
الفصل الرابع عشر: البنى النانوية من أجل هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية.....	٥٠٥
ثبت المصطلحات	٥٤٣
أولاً : عربي - إنجليزي	٥٤٣
ثانياً : إنجليزي - عربي	٦١١
كشّاف الموضوعات	٦٧٩

الباب الأول

أهمية حاملات الخلايا والأنسجة في هندسة الأنسجة

هندسة الأنسجة: الإستراتيجية العلاجية

للقرن الحادي والعشرين

Tissue Engineering: The Therapeutic Strategy of the Twenty-First Century

Fan Yang, William L. Neeley, Michael J. Moore, Jeffrey M. Karp, Anita Shukla, and Robert Langer

المحتويات CONTENTS

٥	Introduction مقدمة (١, ١)
٧	Cells الخلايا (١, ٢)
٧	Cell Sources for Tissue Engineering مصادر الخلايا من أجل هندسة الأنسجة (١, ٢, ١)
٨	Potential of Stem Cells for Tissue Engineering Applications قدرة الخلايا الجذعية لتطبيقات هندسة الأنسجة (١, ٢, ٢)
٨	Stem Cell Source مصدر الخلايا الجذعية (١, ٢, ٣)
١٠	Pure Stem Cell-Based Therapies العلاجات الصرفة المبنية على أساس الخلايا الجذعية (١, ٢, ٤)
١١	Scaffold-Based Stem Cell Therapies العلاجات بالخلايا الجذعية المبنية على أساس حاملات الخلايا والأنسجة (١, ٢, ٥)
١٤	Scaffolds and Fabrication حاملات الخلايا والأنسجة وعملية التصنيع (١, ٣)
١٤	Importance of Scaffolds to Promote Tissue Formation أهمية حاملات الخلايا والأنسجة لتعزيز تشكيل الأنسجة (١, ٣, ١)
١٥	Scaffold Fabrication تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة (١, ٣, ٢)
١٥	Conventional Methods and Limitations الطرق التقليدية والقيود (١, ٣, ٢, ١)
١٦	Solid Freeform Fabrication Methods طرق تصنيع الشكل الحر الصلب (١, ٣, ٢, ٢)
١٦	Fused Deposition Modeling تشكيل الترسيب المصهور (١, ٣, ٢, ٢, ١)
١٨	3D Printing الطباعة ثلاثية الأبعاد (١, ٣, ٢, ٢, ٢)

١٨	Selective Laser Sintering باستخدام الليزر	(١,٣,٢,٢,٣)
١٨	Wax Printing الطباعة الشمعية	(١,٣,٢,٢,٤)
١٩	Stereolithography الطباعة المجسمة	(١,٣,٢,٢,٥)
١٩	Nanofibrous Scaffolds حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو	(١,٣,٢,٣)
١٩	Electrospinning الغزل الكهربائي	(١,٣,٢,٣,١)
١٩	Self-Assembling Scaffolds حاملات الخلايا والأنسجة ذاتية التجميع	(١,٣,٢,٣,٢)
٢٠	Hybrid (Cell / Scaffold) Constructs (خلية / حامل الخلية)	(١,٣,٢,٤)
٢٠	Conventional Cell-Laden Hydrogels الهلامات المائية التقليدية الحاملة للخلايا	(١,٣,٢,٤,١)
٢١	3D Patterning of Cell-Laden Hydrogels التشكيل الثلاثي الأبعاد للهلامات المائية الحاملة للخلايا	(١,٣,٢,٤,٢)
٢١	Delivery of Tissue-Inducing Factors توصيل العوامل المحفزة للأنسجة	(١,٤)
	Potential of Controlled Release System to Enhance Tissue Formation قدرة نظام الإطلاق المتحكم به لتعزيز تشكيل الأنسجة	(١,٤,١)
٢١	Types of Tissue-Inducing Factors أنواع العوامل المحفزة للأنسجة	(١,٤,٢)
٢٣	Small Molecule Delivery for Tissue Engineering توصيل الجزيء الصغير من أجل هندسة الأنسجة	(١,٤,٣)
٢٤	Protein Delivery for Tissue Engineering توصيل البروتين من أجل هندسة الأنسجة	(١,٤,٤)
٢٤	Challenges for Controlled Protein Delivery التحديات في توصيل البروتين المتحكم به	(١,٤,٤,١)
٢٥	Strategies for Protein Delivery إستراتيجيات لتوصيل البروتين	(١,٤,٤,٢)
	Controlled Release of Growth Factors to Enhance Tissue Formation الإطلاق المتحكم به لعوامل النمو لتعزيز تشكيل الأنسجة	(١,٤,٤,٣)
٢٥	Nucleic Acid Delivery for Tissue Engineering توصيل الحمض النووي من أجل هندسة الأنسجة	(١,٤,٥)
٢٧	Techniques for Gene Delivery تقنيات لتوزيع الجينات	(١,٤,٥,١)
	Major Barriers in Gene Delivery and Conventional Solutions العوائق الرئيسية في توصيل الجينات والحلول التقليدية	(١,٤,٥,٢)
٢٨	High-Throughput Approach to Identify Novel Biodegradable Material for Gene Delivery طريقة عالية الإنتاجية لتحديد مواد جديدة قابلة للتحلل الحيوي لتوصيل الجينات	(١,٤,٥,٣)
٢٩	Sustained DNA Release from Polymeric Scaffolds for Tissue Engineering إطلاق المتواصل للحمض النووي (DNA) من حاملات خلايا وأنسجة بوليمرية من أجل هندسة الأنسجة	(١,٤,٥,٤)
٣٠	Targeted Gene Delivery for In Vivo توصيل الجينات المستهدف من أجل التطبيقات في الجسم الحي	(١,٤,٥,٥)
٣٢	Applications	

١,٤,٥,٦)	توصيل قليلة النوكليوتيدات المضادة للاتجاه والـ (RNA) (الحَمْضُ النَّوَوِيُّ الرَّيِّي) قصير التداخل Antisense
٣٢	Oligonucleotides and siRNA Delivery
٣٣	BIOREACTORS IN TISSUE ENGINEERING المفاعلات الحيوية في هندسة الأنسجة
٣٣	Requirements for Bioreactors in Tissue Engineering متطلبات المفاعلات الحيوية في هندسة الأنسجة
٣٤	Bioreactors for Dynamic Cell Seeding المفاعلات الحيوية لبذر الخلايا الديناميكي
٣٥	Bioreactors to Improve Mass Transfer المفاعلات الحيوية لتحسين النقل الكتلي
٣٥	Bioreactors to Provide Mechanical Stimuli المفاعلات الحيوية لتوفير محفزات ميكانيكية لتشكيل أنسجة مُحسَّنة
٣٦	Stimuli for Enhanced Tissue Formation
٣٦	Future Directions for Using Bioreactors الاتجاهات المستقبلية لاستخدام المفاعلات الحيوية في هندسة الأنسجة
٣٧	in Tissue Engineering
٣٧	CONCLUSIONS الاستنتاجات
٣٨	REFERENCES المراجع

(١,١) مقدمة INTRODUCTION

يعد فقدان أو فشل عضو أو نسيج واحدة من أكثر المشاكل المتكررة والمسببة للصدمة والمكلفة في مجال الرعاية الصحية. وقد ولدت هندسة الأنسجة على الأغلب حاجة الباحثين للانتقال إلى طرق متعددة التخصصات لحل هذه المشكلة التي طال أمدها في مجال الطب. وقد تمت مواكبة التطورات في الطب من خلال التفاعلات المتزايدة بين العديد من التخصصات مثل علم الأحياء وعلوم المواد والهندسة، والتي أدت إلى إحراز تقدم في التشخيص والمراقبة وظهور أجهزة مزروعة (implanted devices) وطُعوم نسيجية (tissue grafts). بالإضافة إلى ذلك، فقد واصل الطب تقدمه وازداد عدد الناجين من الاضطرابات والإصابات الشديدة، وكذلك فقد ازداد عدد المرضى الذين يتلقون وينتظرون هذه العلاجات الحاسمة، وأصبحت الحاجة إلى علاجات بديلة ظاهرة بشكل واضح.

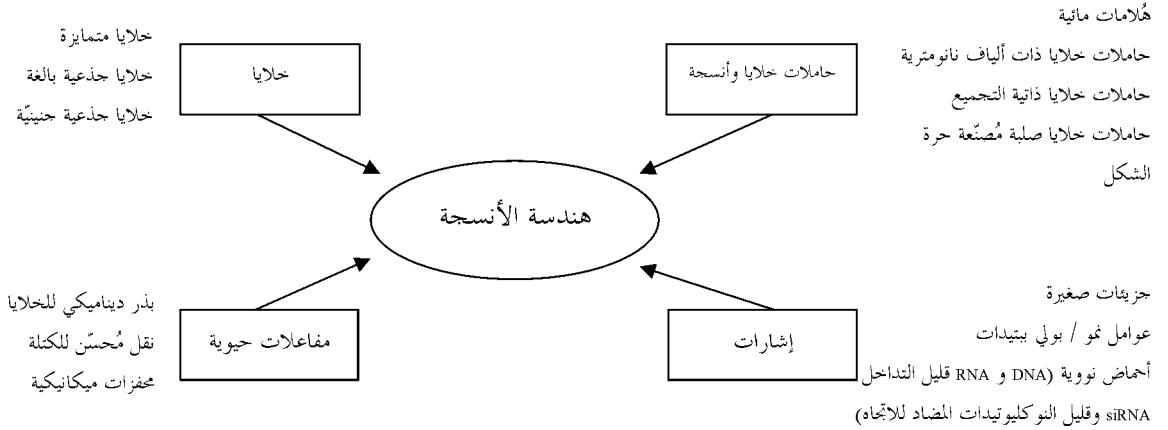
وقد كان الأطباء السَّرِريُّون قوة دفع قوية للابتكار في مجال الطب. إن أصل هندسة الأنسجة (tissue engineering) نابع من حاجات الجراحين لتجديد أنسجة نشطة وظيفياً لتحل محل تلك التي فقدت بسبب الجروح أو التشوهات الخلقية أو التطورات المرضية المختلفة. تستخدم الطرق الحالية لاستبدال الأعضاء والأنسجة بشكل أساسي طُعوماً ذاتية (autografts) أو طُعوماً خفيفة (غيرية) (allografts) (طُعوم خيفي: طُعوم من فرد ينتمي لنفس النوع) أو أجهزة معدنية (metallic devices). ترتبط تلك الطرق الفعالة بقيود واضحة تتضمن مرض الجانب المتبرع ونقصاً في البدائل المتوفرة واندماجاً ضعيفاً وردود فعل مناعية محتملة. وتؤكد هذه القيود أيضاً على أهمية التطوير في الوقت المناسب والترجمة الناجحة لعلاجات تقوم على مبادئ هندسة الأنسجة. تاريخياً، فقد عمل الأطباء الباطنيون أيضاً على علاجات أكثر تعقيداً، من الإدارة الدوائية للجزيئات الصغيرة إلى استخدام البروتينات والحمض النووي وجزيئات ضخمة أخرى إلى الأجهزة خارج الجسم وذلك لاستبدال وظيفة الخلايا

أو الأنسجة المفقودة. وأصبحت العلاجات القائمة على أساس الخلايا مرغوبة لقدرتها على القيام بالعديد من الوظائف الكيميائية الحيوية المعقدة. وهكذا، فقد ألهمت هذه المشاكل الصعبة في الطب السريري العلماء والأطباء باستمرار في بحثهم للكشف عن الآليات البيولوجية لاستثمارها عند سرير المريض.

لقد بدأت أبحاثنا بالتعاون مع مجموعة فاكنتي في البحث عن بديل للمرضى الذين ينتظرون عمليات زرع الكبد. وقد بحثنا معاً طرق توسيع مفهوم بذر الخلايا إلى بذر ثلاثي الأبعاد كمحاولة في اتجاه استبدال كامل العضو. وأدى تعاوننا إلى عملٍ منشور يصف استخدام الشبكات البوليمرية الاصطناعية القابلة للامتصاص (synthetic, resorbable, polymeric meshes) من أجل زرع الخلايا (cell transplantation) (Vacanti et al. 1988). وقد تم اعتماد هذه الطريقة من قبل عدد من المهندسين الكيميائيين وغيرهم من العاملين في مجال البوليمرات الاصطناعية، مؤثرةً على الكثير في استخدام تقنيات مماثلة مع بوليمرات قابلة للتحلل.

لقد حوّل العديد مهاراتهم في مجال علم الأحياء أو الهندسة باتجاه هندسة الأنسجة، ورأوا في ذلك الإثارة في القطاع الأكاديمي كما هو الحال في القطاع الخاص. إن بحوث هندسة الأنسجة تتمتع بتدفقٍ كبير في التمويل من القطاع الخاص، وذلك بسبب ميل الوكالات الاتحادية المبكر في اتجاه تمويل البحوث التي من المفترض أنها ذات أولوية من جهة ومن جهة أخرى بسبب الموجة المعاصرة لاستثمار الشركات في مجال التقنية الحيوية. فمُنذ منتصف الثمانينات حتى نهاية الألفية، تم استثمار أكثر من ٣.٥ مليار دولار في جميع أنحاء العالم في مجال البحث والتطوير، وأكثر من ٩٠٪ من تلك الأموال تم توفيرها من قبل القطاع الخاص. وفي نهاية العام ٢٠٠٠، شاركت أكثر من ٧٠ شركة في البحث والتطوير و/أو التصنيع في مجال هندسة الأنسجة. وكانوا ينفقون ما يُقدّر بنحو ٦٠٠ مليون دولار سنوياً، وقد تم توظيف ما يقارب من ٣٣٠٠ عالم وموظف دعم بدوام كامل، في حين أن اثنين فقط من جميع المنتجات قد حصلوا على موافقة إدارة الأغذية والأدوية (Lysaght and Reyes 2001).

في العقد الأول من القرن الواحد والعشرون، تتواصل التقدمات العلمية بخطى ثابتة. وقد أصبحت الوكالات الاتحادية وعلى نحوٍ متزايد قوية في رعاية هذا المجال، سواءً في الولايات المتحدة أو في خارجها، ليس فقط عن طريق زيادة التمويل، ولكن أيضاً عن طريق رعاية ورشات العمل والدراسات والمساعدة على تحديد مستقبل هذا المجال (McIntire 2003; Viola et al. 2003). والأهم من ذلك، فقد أصبحت التعقيدات والتحديات التي تواجه هندسة الأنسجة الحية مفهومة بشكلٍ كاملٍ تماماً، ووصلت البحوث أعماقاً أكبر من أي وقتٍ مضى في الابتكار والتقنية. وأصبح مهندسو الأنسجة يتوجهون بشكلٍ متزايد نحو مجالات جانبية، بشكلٍ خاص نحو الخلايا الجذعية (stem cell) وعلم الأحياء التطوري (developmental biology) وتقنية النانو (nanotechnology) (Ingber et al. 2006; Vunjak-Novakovic and Kaplan 2006). وبالتالي؛ ومع أن منتجات الجيل الأول لا تزال تأتي إلى السوق، فإنه يجري حالياً وضع الأساس العلمي لهندسة أنسجة وظيفية أكثر تعقيداً من أي وقتٍ مضى. في هذا الفصل، سنستعرض بإيجاز عدداً من الإنجازات المهمة في هذا المجال من بدايتها وحتى يومنا هذا، بما في ذلك الخلايا (cells) وحاملات الخلايا والأنسجة (scaffolds) والعوامل المحفزة لنسج (tissue - inducing factors) والمفاعلات الحيوية (bioreactors) (الشكل رقم ١.١).



الشكل رقم (١,١). المكونات الرئيسية لهندسة الأنسجة.

(١,٢) الخلايا CELLS

(١,٢,١) مصادر الخلايا من أجل هندسة الأنسجة Cell Sources for Tissue Engineering

الخلايا هي لبنات بناء الأنسجة ، و يُعتقد أن الخلايا الموجودة في الأنسجة المطعّمة تلعب دوراً حاسماً في تعزيز شفاء الأنسجة وتجديدها (tissue healing and regeneration). وبالتالي ؛ فإن معظم طرق هندسة الأنسجة تشمل عزل وتوسيع نمو الخلايا في المختبر (in vitro). يعد مصدر الخلية عاملاً مهماً عند تطبيق إستراتيجيات هندسة الأنسجة ؛ وذلك لإعادة إنتاج الأنسجة والوظائف المفقودة. واحدة من العقبات الرئيسية في بُنى هندسة الأنسجة من أجل الاستخدام السريري هي النقص في الخلايا البشرية المتاحة. تستخدم الطرق التقليدية عادةً أنواع خلايا بالغة متميزة بشكلٍ كامل ، والتي تشكل العضو أو النسيج المستهدف. وهذا يتطلب في كثيرٍ من الأحيان جمع النسيج من المانح كنسيج ذاتي المنشأ (autogenous tissue) أو كنسيج خيفي (allogeneic tissue) وهضم النسيج إنزيمياً (enzymatically digesting) لتحرير الخلايا وزراعة الخلايا المنفصلة في حوجلات (قوارير) زرع الأنسجة (tissue culture flasks) للبدء في توسيع نمو الخلايا. على سبيل المثال ، إن عملية زرع الخلايا الغضروفية ذاتية المنشأ (autologous chondrocytes transplantaion - ACT) هي إجراء مبني على الخلايا من أجل إصلاح الغضروف ، ويشمل هذا الإجراء الحصول على الخلايا الغضروفية من المريض وتوسيع نمو الخلايا في المختبر وإعادة زرع الخلايا مرة أخرى في نفس المريض (Brittberg et al. 1994; Peterson et al. 2000). وعلى أي حال ، فإن طرق هندسة الأنسجة بحاجة إلى عددٍ كبير من الخلايا ، في حين أن قدرة تكاثر الخلايا المتميزة تماماً محدودة جداً. بالإضافة إلى ذلك ، فإن الخلايا البالغة المتميزة بشكلٍ كامل تميل لأن تفقد نمطها الظاهري (phenotype) أو تمايزها (differentiate) أثناء النمو في المختبر (Schnabel et al. (in vitro) 2002). ونظراً للقيود المفروضة على الخلايا المتميزة بشكلٍ كامل ، فقد تعاون العلماء والأطباء للاستفادة من قدرة الخلايا الجذعية ، والتي يعتقد العديد بأنها تملك المفتاح لفتح أسرار تجديد الأنسجة. سُرّكز في هذا الفصل وبشكلٍ أساسي على التطوّرات في مجال الخلايا الجذعية التي ولّدت إثارةً كبيرة في العقد الماضي.

(١,٢,٢) قدرة الخلايا الجذعية لتطبيقات هندسة الأنسجة Potential of Stem Cells for Tissue Engineering Applications

توفر الخلايا الجذعية مصادر بديلة للخلايا من أجل هندسة الأنسجة، مثل الإصلاح القحفي الوجهي (craniofacial repair) (Bruder et al. 1994; Aubin 1998; Shamblott et al. 1998; Thomson et al. 1998; Pittenger et al. 1999; Sottile et al. 2003; Cowan et al. 2004; Kim et al. 2005a) وعلى عكس الأنواع الأخرى من الخلايا في الجسم، فإن الخلايا الجذعية هي خلايا غير متخصصة (unspecialized cells) قادرة على تجديد نفسها لفترات طويلة مع الحفاظ على قدرتها على التمايز إلى عدة أنواع متخصصة من الخلايا وذلك عند التعرض لتنبهات أو إشارات تحفيزية محددة (specific induction cues). ويمكن لتطوير تقنيات زراعة وتنظيم الخلايا الجذعية البشرية أن يؤدي إلى علاجات تجديدية (regenerative treatments) لم يسبق لها مثيل وعلاجات لأمراض لا يمكن أن تُعالج في الوقت الحاضر عن طريق وسائل أخرى. وتشير التقديرات إلى أن ما يقرب من ٣٠٠٠ شخص يموتون كل يوم في الولايات المتحدة من الأمراض التي كان يمكن أن تُعالج باستخدام أنسجة مستمدة من الخلايا الجذعية (Lanza et al. 2001). فبالإضافة إلى توليد الأنسجة والأعضاء لعلاج السرطان (cancer) أو الرضوض (trauma) أو الالتهابات (inflammation) أو تدهور الأنسجة المرتبط بالمر (age - related tissue deterioration)، يمكن للخلايا الجذعية أن تكون مفيدة أيضاً لعلاج العديد من الأمراض بما فيها مرض باركنسون (Parkinson) ومرض الزهايمر (Alzheimer) وهشاشة العظام (osteoporosis) وأمراض القلب. ويجري حالياً اختبار الخلايا الجذعية من الناحية العلاجية لعلاج أمراض الكبد وأمراض الشرايين التاجية (coronary) واضطرابات المناعة الذاتية والاضطرابات الاستقلابية (autoimmune and metabolic disorders) والأمراض الالتهابية المزمنة وأمراض السرطان المتقدمة الأخرى. ويمكن أن تكون الخلايا الجذعية خلايا أجنبية (xenogenic) أو خلايا خيفية (allogeneic) أو خلايا ذاتية المنشأ (autologous)، حيث تُفضل الخلايا ذاتية المنشأ لأنها لن تثير استجابة مناعية (immunologic response)؛ وبالتالي يمكن تجنب التأثيرات الجانبية الضارة للعوامل المثبطة للمناعة (immunosuppressive agents). ويمكن للخلايا الجذعية ذاتية المنشأ وخلايا السلف (الخلايا الأصل) (progenitor cells) ذاتية المنشأ أن تُستمد بعد الولادة (postnatally) في مرحلة البلوغ أو في سن مبكرة من دم الحبل السري (umbilical cord) (Cetrulo 2006) أو من نسيج الحبل السري (Baksh et al. 2007). ويمكن أيضاً توليد خلايا مشابهة لذاتية المنشأ (autologous - like cells) باستخدام الاستنساخ العلاجي (therapeutic cloning) أو بنقل نواة خلية جسدية (somatic cell nuclear transfer - SCNT)، وهي العملية التي تم من خلالها استنساخ النعجة دوللي في عام ١٩٩٧ (Hwang et al. 2004). وقد أظهرت الدراسات حتى الآن بأنه يمكن توسيع نمو الخلايا المشتقة أو المستمدة بواسطة الـ (SCNT) في مزرعة خلايا ويمكن تنظيم هذه الخلايا في بُنى نسيجية بعد الزراعة في الجسم الحي (transplantation in vivo) وذلك بالاشتراك مع حاملات خلايا وأنسجة قابلة للتحلل الحيوي (biodegradable scaffolds) (Lanza et al. 1999).

(١,٢,٣) مصدر الخلايا الجذعية Stem Cell Source

اعتماداً على مرحلة تطوّر الأنسجة التي يتم عزل الخلايا الجذعية منها، يمكن للخلايا الجذعية أن تُقسم بصورة عامة إلى فئتين: الخلايا الجذعية البالغة (adult stem cells) والخلايا الجذعية الجنينية (embryonic stem cells) (Shamblott et al. 1999; Thomson et al. 1998; Pittenger et al. 1999). يمكن العثور على الخلايا الجذعية البالغة في العديد من أنواع الأنسجة البالغة بما في ذلك نقي العظم (bone marrow) أو الدم المحيطي (peripheral blood) أو الأنسجة الشحمية (adipose tissue)

أو الأنسجة العصبية (nervous tissue) أو العضلات (muscle) أو الأدمة (dermis) (باطن الجلد تحت البشرة)، .. إلخ (الجدول رقم ١.١). ويمكن أن يُنتج عن الخلايا الجذعية البالغة، والتي تُعتبر متعددة القدرات (multipotent)، العديد من أنواع الخلايا الأخرى. ومن بين الخلايا الجذعية البالغة، أظهرت الخلايا الجذعية المشتقة من نقي العظم (bone marrow - derived stem cells - MSCs) أن لديها القدرة على التمايز إلى أنواع متعددة من الأنسجة، بما في ذلك العظم (bone) والغضروف (cartilage) والعضلات والوتر (tendon) وغيرها، ولها قدرة كبيرة في العلاج المبني على أساس الخلايا ذاتية المنشأ (autologous cell - based therapy) (Pittenger et al. 1999). وهناك ميزة أخرى مهمة للخلايا الجذعية المشتقة من نقي العظم (MSCs) في الطب التجديدي (regenerative medicine) وهي قدرة استخدامها كخلايا خفيفة من دون استخدام علاج مثبّط للمناعة (immunosuppressive therapy) (Le Blanc et al. 2003; Maitra et al. 2004; Aggarwal and Pittenger 2005). بالإضافة إلى الأنسجة البالغة المذكورة أعلاه، فقد تم أيضاً تحديد الخلايا الجذعية في أنسجة جنينية (fetal tissues) مثل دم الحبل السري وهلام وارطون (Wharton's jelly) (المادة الهلامية في الحبل السري). وبالرغم من أنه كان يُعتقد أصلاً أن الخلايا الجذعية المستمدة من نسيج محدد يمكن أن تجدد فقط أنسجة معينة، فقد دحضت دراسات عديدة هذه الفكرة (Macpherson et al. 2005). فعلى سبيل المثال، يمكن لكل من الخلايا الجذعية المتوسطة (mesenchymal stem cells - MSCs) المشتقة من نقي العظم ومن الأنسجة الشحمية التمايز إلى الخلايا والأنسجة ذات المنشأ أو الأصل الأديمي المتوسطي (mesodermal origin) بما في ذلك الخلايا الشحمية (adipocytes) والخلايا الغضروفية (chondrocytes) والخلايا البانية للعظم (osteoblasts) والخلايا العضلية الهيكلية (skeletal myocytes)، كما يمكن استخدامها لتوليد أنسجة خاصة بها بما في ذلك الدهن والغضروف والعظم والعضلات (Caplan and Bruder 2001; Zuk et al. 2001; Baksh et al. 2003; Izadpanah et al. 2006). بخلاف عزل نقي العظم، والذي يتطلب عادةً عمليات بزل متعددة (multiple punctures) باستخدام إبرة ذات ثقب كبير، فإنه من الممكن الحصول على الأنسجة الشحمية تحت الجلد (subcutaneous) عن طريق الاستئصال الجراحي باستخدام مشارط أو من خلال شفط الشحوم (liposuction)، والتي قد يراها بعض المرضى أنها مفيدة. ومع ذلك، وعلى الرغم من قدرتها على التمايز إلى أنواع متعددة من الخلايا، تُعتبر الخلايا الجذعية البالغة وبشكل عام بأنها تنتج فقط مجاًلاً محدداً من أنواع الخلايا المتميزة وذلك بالمقارنة مع الخلايا الجذعية الجنينية. بالمقارنة مع الخلايا الجذعية المتوسطة (MSCs)، والتي يمكن أن يُوسّع نموها في حالة غير متميزة ولمراحل محدودة، فإن الخلايا الجذعية الجنينية (embryonic stem cells - ES) أو الخلايا الجنسية الجنينية (embryonic germ cells - EG) يمكن أن تجدد نفسها بدون تمايز لفترة أطول. إن هذه الخاصية تجعلها من المرشحين المرغوبين كمصادر خلايا من أجل هندسة الأنسجة، والتي تحتاج في كثير من الأحيان إلى أعداد كبيرة من الخلايا. تُشتق الخلايا الجذعية الجنينية من كتلة الخلايا الداخلية لكيسات أُرِيَمِيَّة (inner cell mass of blastocyst)، وتُعزل الخلايا الجنسية الجنينية من حرف الغدة التناسلية النامية (developing gonadal ridge). وبما أن هذه الخلايا معزولة من المرحلة الجنينية، فهي تُعتبر متعددة القدرات (pluripotent)، ويمكن أن تتطور إلى أي من الطبقات المنتشة (germ layers) الثلاث وهي: الأديم الباطن (endoderm) (البطانة الداخلية للمعدة (interior stomach lining)، السبيل الهضمي المعدي المعوي (gastrointestinal tract)، الرئتين) أو الأديم المتوسط (mesoderm) (العضلات، العظم، الدم، والسبيل البولي التناسلي (urogenital)) أو الأديم الظاهر (ectoderm) (أنسجة

البشرة (epidermal tissues) والجهاز العصبي (nervous system)). وقد اندلع الجدل السياسي والأخلاقي حول الخلايا الجذعية فقط في عام ١٩٩٨ مع إنشاء خلايا جذعية جنينية بشرية مُستمدة من الأجنة البشرية (human embryos) التي تم التخليص منها (Thomson et al. 1998). فبالإضافة إلى الاستخدام العلاجي المباشر، تُمثل الخلايا الجذعية الجنينية مصدراً جذاباً للخلايا من أجل دراسة البيولوجيا التطورية ومن أجل دراسات التحري أو الفحص الدوائي / السُمّي (drug / toxin screening) ومن أجل تطوير العوامل العلاجية (therapeutic agents) للمساعدة في علاجات استبدال نسيج أو عضو. وعلى الرغم من أن الخلايا الجذعية الجنينية (ES) قد تملك السر لعلاجات متعددة ولتطورات رائدة في مجال الطب التجديدي، إلا أنها تثير مخاوف أخلاقية كبيرة لأنها تُجنى من الأجنة.

الجدول رقم (١، ١). أنواع ومصادر الخلايا الجذعية البشرية.

المنشأ (Origin)	أنواع الخلايا الجذعية (Types of Stem Cells)	مصادر العزل (Sources of Isolation)
خلايا بالغة (Adult)	خلايا جذعية مُتوسّطية (Mesenchymal stem cells)	نقي العظم (Bone marrow)
	خلايا جذعية مُكوّنة للدم (Hemopoietic stem cells)	نقي العظم والدم المحيطي (Bone marrow and peripheral blood)
	خلايا جذعية عصبية (Neural stem cells)	نسيج عصبي (Neural tissue)
	خلايا جذعية مشتقة من الشحم (Adipose - derived stem cells)	نسيج شحمي (Adipose tissue)
	خلايا جذعية مشتقة من العضلات (Muscle - derived stem cells)	عضلات (Muscle)
	خلايا جذعية مشتقة من البشرة (Epidermal - derived stem cells)	جلد، شعر (Skin, hair)
	خلايا جذعية من دم الحبل السُريّ (Umbilical cord blood stem cells)	دم الحبل السُريّ (Umbilical cord blood)
	خلايا جذعية من مصفوفة الحبل السُريّ (Umbilical cord matrix stem cells)	هلام وارطون (Wharton's jelly)
خلايا جنينية (Embryonic)	خلايا جذعية جنينية (Embryonic stem cells)	كتلة خلايا داخلية لكيسة أُرَمِيّة بعمر ٥ - ٧ أيام (Inner cell mass of 5 - 7 day blastocyst)
	خلايا جنسية جنينية (Embryonic germ cells)	حرفُ الغُدّة التَناسُلية لجنين بعمر ٦ - ١١ أسبوعاً (Gonadal ridge of 6 - 11 week fetus)

(١، ٢، ٤) العلاجات الصّرفة المبنية على أساس الخلايا الجذعية Pure Stem Cell-Based Therapies

على الرغم من أن أبحاث الخلايا الجذعية لا تزال في مرحلة الطفولة، إلا أن هناك بعض قصص النجاح الجديرة بالملاحظة تتضمن عمليات نقل الدم (blood transfusions) وزرع نقي العظم (bone marrow transplantation) والتي استُخدمت في آلاف المرضى للعلاج الناجح لحجم الدم المنخفض (low blood volume) وأمراض الدم ونقي العظم مثل الأورام اللمفاوية (lymphoma). إن زرع نقي العظم يُمثل الطريقة الأكثر شيوعاً الموافق عليها سريريّاً للعلاج المبني على أساس الخلايا الجذعية (stem cell - based therapy). ويتم هنا إعطاء عوامل نمو (growth factors) في البداية مثل عامل تحفيز مستعمرة

الخلايا المحببة (granulocyte colony - stimulating factor - G-CSF) لتضخيم وتحريك الخلايا الجذعية المكونة للدم في الدورة الدموية المحيطية حيث يمكنها بسهولة أن تُجمع باستخدام تقنيات فِصادة الكُرَيَات البيض (leukapheresis techniques). تقوم عملية زرع نقي العظم والتي كانت تُستخدم منذ الستينيات على نقل أو حقن الخلايا الجذعية في الدورة الدموية المحيطية للمتلقي من خلال قُطْطَار وريدي (intravenous catheter). تصل الخلايا الجذعية إلى نقي العظم، حيث تتكاثر وتبدأ في إنتاج خلايا الدم. ومن اللافت للنظر، أنه حتى خلية جذعية واحدة مُكونة للدم يمكن أن تُستخدم لإعادة تشكيل الجملة اللمفاوية المكونة للدم (lymphohematopoietic system) بشكلٍ كامل (Osawa et al. 1996). إن العديد من العلاجات الصرّفة القائمة على أساس الخلايا الجذعية هي حاليًا في طور التجارب السريرية. فعلى سبيل المثال، تعمل شركة أوزيريس للعلاج (Osiris Therapeutics Inc.) على مُنتج يُسمّى بروشيمال (Prochymal)، وهو علاج لمرض يهدد الحياة يدعى داء الطُعم حيال التّويّ الحاد (acute graft versus host disease - AGHD) والذي يهاجم الجهاز الهضمي المعدي المعوي والجلد والكبد. ويؤثر داء الطُعم حيال التّويّ الحاد (AGHD) على نصف مجموع المرضى الذين يحصلون على زرع نقي العظم لعلاج فقر الدم (anemia) وأمراض أخرى. كما يجري حاليًا إجراء تجارب باستخدام بروشيمال لتقييم قدرته على الحد من أعراض داء كرون (Crohn's disease) المتوسط إلى الشديد (داء الورم الحبيبيّ الالتهابي الهضمي المزمن). وقد بدأت مؤخرًا شركة أسترالية للخلايا الجذعية البالغة، ميسوبلاست المحدودة (Mesoblast Ltd.)، المرحلة الثانية من التجارب السريرية في علاجها لمرضى النوبات القلبية (heart attacks) باستخدام الخلايا الجذعية البالغة الخفيفة. ويقوم هذا العلاج على حقن الخلايا الجذعية عن طريق قُطْطَار في عضلة القلب المتضررة ويهدف إلى تحسين وظيفة القلب والحد من فشل القلب الاحتقاني (congestive heart failure).

(١,٢,٥) **العلاجات بالخلايا الجذعية المبنية على أساس حاملات الخلايا والأنسجة Scaffold-Based Stem Cell Therapies**

على عكس العلاجات المبنية على أساس الخلايا الصرّفة، حيث يتم حقن الخلايا الجذعية مباشرة في الدورة الدموية المحيطية (الدوران المحيطي) (peripheral circulation) أو في نسيج معين، فإن العديد من التطبيقات يتطلب حاملًا للخلايا (cell carrier)، وذلك لنقل و/أو ترتيب الخلايا الجذعية ضمن تكوين ثلاثي الأبعاد، أو لعزلها ضمن مكان معين في الجسم. بالإضافة إلى ذلك، فإن بعض التطبيقات تتطلب تمايز الخلايا إلى سلالات أدنى محددة (down particular lineages) قبل عملية الزرع. إن هذه الطرق شائعة في مجال هندسة الأنسجة، حيث يتم دمج الخلايا الجذعية مع المصفوفات المهندسة (engineered matrices) إما لبناء أنسجة خارج الجسم الحي (ex vivo) قابلة للزراعة، وإما لحقن أو زرع بُنى حية مبرمجة لتحفيز وإما لبدء التجديد. ففي حين أن مراكز البحوث الأساسية تركز على تطوير فهم الآليات التي تنظم الخلايا الجذعية، تهدف المجالات التطبيقية مثل هندسة الأنسجة إلى تسخير هذه المعرفة للبدء في تجديد أنسجة معينة. وقد شجّع مجال هندسة الأنسجة على الانتقال من أنظمة زراعة الخلايا الجذعية القياسية ثنائية الأبعاد (2D stem cell culture systems) إلى منصات (وحدات) ثلاثية الأبعاد (3D platforms) في محاولة لمحاكاة بيئة الزراعة ثلاثية الأبعاد في الجسم الحي والتي قد تكون أكثر ملائمة لتنظيم وظيفة الخلايا الجذعية.

وقد ركزت أبحاث سابقة للخلايا الجذعية الجنينية (ES cells) بشكل أساسي على فهم بيولوجيا الخلايا الجذعية (stem cell biology)، ولا تزال تطبيقات هندسة الأنسجة باستخدام الخلايا الجذعية الجنينية أو الخلايا الجنسية الجنينية (EG cells) بالاشتراك مع حاملات الخلايا والأنسجة في مرحلة الطفولة (Elisseeff et al. 2006; Hwang et al. 2006). يمكن للحاملات أن تُعزز من تطوير الخلايا والأنسجة وذلك عن طريق توفير بيئة ثلاثية الأبعاد يمكن للخلايا فيها أن تتكاثر وأن تلتصق وأن تُرسَّب المصفوفة خارج الخلية (extracellular matrix - ECM) (Peppas and Langer 1994; Hubbell 1995; Langer and Tirrell 2004; Lutolf and Hubbell 2005). ويمكن أيضاً للإشارات البيولوجية (biological signals) المختلفة مثل عوامل النمو أو الببتيدات (peptides) أن تُدمج في حاملات الخلايا والأنسجة وذلك لتحفيز التمايز المرغوب (Hubbell 1999; Healy et al. 1999). على سبيل المثال، لقد تبين أنه يمكن للخلايا الجذعية المتوسطة المشتقة من العظم (Bone MSCs) أن تخضع لعملية تكوّن العظم (osteogenesis) في حاملة خلايا ثلاثية الأبعاد مصنوعة من الهلام المائي (3D hydrogel scaffold)، كما أن دمج ببتيد التصاق خلايا الـ (YRGDS) في الحاملة يُحفّز الخلايا الجذعية المشتقة من العظم على تكوين العظم بطريقة تعتمد على الجرعة (dosage - dependent manner)، ويكون التركيز الأمثل عند استخدام ٢,٥ ميلي مولا (Yang et al. 2005b).

إن أحد التحديات الرئيسية لزراعة الخلايا المبنية على حاملة الخلايا والأنسجة هو نقص نمو الطعم (engraftment) الذي ينشأ عادةً ضمن النسيج اللاوعائي (avascular tissue) المتضرر بسبب النقص في النقل الكتلي (mass transport) للأوكسجين والمواد المغذية، والذي يعد شرطاً أساسياً من أجل بقاء الخلايا على قيد الحياة (cell survival) ومن أجل وظيفة سليمة للخلايا. إن المعدلات القصوى المذكورة لتكوين الأوعية الدموية هي تقريباً ١ ميليمتر/اليوم (Folkman 1971; Li et al. 2000) وتحتاج الخلايا إلى أن تكون ضمن تقريباً من ١٠٠ إلى ٢٠٠ ميليمتر من أقرب وعاء دموي (Muschler et al. 2004). وبالتالي؛ فإن الخلايا المزروعة في مركز العيوب الكبيرة (< ١ - ٢ سنتيمتر) لا تعيش طويلاً بما يكفي لتساهم في عملية الشفاء (healing process). وعلى وجه التحديد، قد يستغرق استكمال التوعي (vascularization) (تكوّن الأوعية الدموية) للعب عدة أسابيع أو عدة أشهر (Mooney et al. 1994; Sanders et al. 2002)؛ مما يؤدي إلى حدوث نقص تروية (ischemia) ونخر الأنسجة (necrosis) (Helmlinger et al. 1997) (موت الخلايا والأنسجة) في أماكن الطعم بحجم أصغر من ١-٢ ميليمتر (Muschler et al. 2004). إن هذا يقلل وبشكل كبير من قدرة مصدر الخلايا خارجية المنشأ (exogenous cell source) على المساهمة في عملية التجديد. بالإضافة إلى ذلك، فإن معظم إستراتيجيات هندسة الأنسجة المبنية على حاملة الخلايا والأنسجة تسمح وبشكل غير مباشر بملاءم مسام حاملة الخلايا (scaffold pores) بخلّة دموية (blood clot) (Karp et al. 2004)، وهذا يمثل بيئة ساكنة من المحتمل أن تكون قاسية على الخلايا المزروعة. وعلى الرغم من أن الأورام الدموية (hematomas) تحتوي على عوامل مثل عامل النمو البطانيّ الوعائي (vascular endothelial growth factor - VEGF) الذي يُحرّض على التوعي الحديث (neovascularization) (تكوّن أوعية دموية جديدة) (Street et al. 2000)، فإن الأورام الدموية تكون حمضية (acidic) وناقصة التأكسج (hypoxic) وتُظهر مستويات مرتفعة من الفوسفور (phosphorous) والبوتاسيوم (potassium)

وحمض اللاكتيك (lactic acid)، والتي تكون سامة لأنواع متعددة من الخلايا (Wray 1970). وبالتالي؛ فإن الخلايا المزروعة تكون عُرضة للموت نظراً لبعدها عن الجملة الوعائية للمضيف (host vasculature) وموقعها ضمن البيئة الساكنة والقاسية نسبياً في الخثرة الدموية. وقد حدّ هذا وبشكل ملحوظ من التقدم في مجال استبدال الأنسجة والأعضاء (tissue and organ replacement). وبعد ثلاثة عقود من البحوث الأساسية في هذا المجال، لم تتحقق بشكل كامل القدرة على توفير الأنسجة والأعضاء للملايين المرضى الذين يعانون من الرُضوض والعيوب الخَلَقِيَّة (congenital defects) والأمراض المزمنة (chronic diseases) (Mikos et al. 2006). وعلى الرغم من أن ذلك يعود وبشكل جزئي إلى عدم اليقين والصعوبات في الأسواق السريرية، إلا أن النتائج المثالية في النماذج الحيوانية قبل السريرية تبقى متغيرة جداً مع معدلات نجاح متدنية في العيوب الأكبر وأنواع الحيوانات الأعلى والذي ربما يعود إلى النسبة الضعيفة لبقاء الخلايا المزروعة على قيد الحياة (Petite et al. 2000; Muschler et al. 2004). وعلى الرغم من أنه ليس من المستغرب أن فعالية العلاجات القائمة على الخلايا تعتمد على الحفاظ على قدرة الخلايا على الحياة والنمو بعد عملية الزرع (Wilson et al. 2002; Kruyt et al. 2003)، إلا أن القليل من الاهتمام قد تم تركيزه على هذه المشكلة.

في الآونة الأخيرة، استُعملت وبنجاح طريقة متطورة لهندسة أنسجة مُوجَّهة للخلايا (cell - instructive tissue engineering) والتي استخدمت (١) لجائن لالتصاق الخلايا (cell adhesion ligands) تحتوي على الحمض الأميني أرجينين، غليسين، حمض الأسبارتيك (RGD) (arginine, glycine, aspartic acid - RGD) بكثافة عالية، و (٢) مصدر خلايا أرومة عضلية متميزة خارجية المنشأ (exogenous differentiated myoblast)، و (٣) عوامل نمو لتعزيز القدرة التجديدية للخلايا المزروعة من خلال تعزيز بقائها على قيد الحياة ومنع تمايزها النهائي وتشجيع هجرتها نحو الخارج (outward migration) (Hill et al. 2006). وعلى وجه التحديد، تم توزيع الخلايا على حاملات خلايا مسامية مصنوعة من أَلِجِنَات / سلفات أو كبريتات الكالسيوم (porous alginate / calcium sulfate scaffolds) والتي احتوت على كلٍّ من عامل نمو الخلايا الكبدية (hepatocyte growth factor - HGF) وعامل نمو خلايا الأرومة الليفية-٢ (FGF-2 - fibroblast growth factor-2)، والتي استُعملت للحفاظ على الخلايا في حالة نشطة وفي حالة تكاثر ولكن في حالة غير متميزة. وفي حين كان لمجموعات عينات المراقبة (control groups) تأثير متواضع على تجديد العضلات فقط، فقد عزّزت إستراتيجية الجمع باستخدام الإطلاق المتحكم به (controlled release) لعامل نمو الخلايا الكبدية (HGF) ولعامل نمو خلايا الأرومة الليفية-٢ (FGF-2) وبالإشتراك مع الحاملات والخلايا وبشكل كبير مشاركة الخلايا المزروعة مما أدى إلى تجديد كبير في الأنسجة. وعلى الرغم من الحجم الصغير نسبياً لحاملات الخلايا والأنسجة المستخدمة هنا (50 mm³) والشكوك في نقل هذه الإستراتيجية سريرياً إلى عيوب أكبر ذات صلة، فإن هذا العمل يُظهر وبوضوح دليلاً على مفهوم العلاجات المبنية على الخلايا التي يمكن وضعها لتجديد الأنسجة بشكل مباشر.

(١,٣) حاملات الخلايا والأنسجة وعملية التصنيع SCAFFOLDS AND FABRICATION

(١,٣,١) أهمية حاملات الخلايا والأنسجة لتعزيز تشكيل الأنسجة Importance of Scaffolds to Promote Tissue Formation

هناك ثلاث إستراتيجيات شائعة مستخدمة في تجديد الأنسجة، وهي حقن الخلايا المعزولة (infusion of isolated cells) والمعالجة باستخدام مواد مُحفزة للأنسجة (tissue - inducing substances) وزرع مُركَّب خلايا - حاملة (cell - scaffold composite) (Langer and Vacanti 1993). من الإستراتيجيات الثلاث، عادةً ما يؤدي استخدام مركبات الخلايا - الحاملة إلى نتائج أكثر نجاحًا. وغالبًا ما تكون هذه الحاملات مهمة، في المختبر (in vitro) وكذلك في الجسم الحي (in vivo)، من أجل استعادة العملية الطبيعية لتطوّر الأنسجة والسماح للخلايا بصوغ بيئاتها المايكروية (microenvironments) الخاصة بها. وعلى العكس من استخدام الخلايا وحدها، تزوّد حاملة الخلايا والأنسجة بمصفوفة ثلاثية الأبعاد (3D matrix) يمكن للخلايا أن تتكاثر عليها وتهاجر وتنتج مصفوفة وتُشكّل أنسجة وظيفية بالشكل المطلوب. كما تُزوّد حاملة الخلايا والأنسجة بالثبات البنيوي (structural stability) من أجل تطوير الأنسجة وتسمح بدمج إشارات بيولوجية أو ميكانيكية لتعزيز تشكيل الأنسجة. ويمكن للخصائص البيولوجية والميكانيكية لحاملات الخلايا والأنسجة أن تختلف اعتمادًا على التطبيق، ويمكن أن تكون مُصممة لتوفير بيئة ذات إشارات ملائمة تُحفّز الخلايا للتكاثر و / أو تتمايز.

يجب عدم الاستهانة بأهمية حاملة الخلايا والأنسجة ذات المصفوفة خارج الخلية (ECM) في تطوّر الخلايا. فمنذ ما يقرب من ٣٠ عامًا، اقترح Bissell التبادلية الديناميكية (dynamic reciprocity)، والتي تنص على أن نسيجًا ما يُنجز وظيفة محددة في جزء منه من خلال تفاعلات الخلايا مع المصفوفة خارج الخلية (ECM) (Bissell et al. 1982). وقد وُضّح عملٌ لاحق أنه يمكن للتعبير الجيني (gene expression) أن يُعدّل بواسطة ربط المصفوفة خارج الخلية (ECM) بمستقبلات المصفوفة خارج الخلية (ECM receptors) على سطح الخلية، والتي توفر رابطًا لهيكل الخلية (cytoskeleton) وفي نهاية المطاف توفر رابطًا للمصفوفة النووية (nuclear matrix) (Nickerson 2001). إن تضمين تفاعلات الخلايا المجاورة والإشارات الذوابة (soluble signals) الناشئة بشكلٍ نظامي أو الناشئة من الخلايا في المنطقة المجاورة المباشرة أو البعيدة يقدم نموذجًا أكثر اكتمالاً لبيئة النسيج (Nelson and Bissell 2006).

وقد أولي اهتمامٌ كبير لمحاكاة (simulation) البيئة خارج الخلية. وأُعطي عناية خاصة لإنشاء حاملات الخلايا والأنسجة كبداية للمصفوفة خارج الخلية (ECM). تحتل حاملات الخلايا والأنسجة المستخدمة لتجديد الأنسجة دورًا أساسيًا في تطوّر الأنسجة لأنها يجب أن تدعم تكاثر (proliferation) وتمايز (differentiation) الخلايا عندما تنضج إلى أنسجة وظيفية. إن التجديد للحالة الأصلية يستلزم إزالة أو تبديد حاملة الخلايا والأنسجة الاصطناعية (artificial scaffold)، والأكثر شيوعًا عن طريق الامتصاص الحيوي (bioabsorption). وتحقيقًا لهذه الغاية، فقد تم اقتراح العديد من المواد الطبيعية (natural materials) والمواد التركيبية أو الاصطناعية (synthetic materials) من أجل الاستخدام في حاملات الأنسجة (Nair and Laurencin 2006; Velema and Kaplan 2006). إلا أنه يوجد هناك عقبات لاستخدام المواد الموجودة في تطبيقات

محددة لهندسة الأنسجة ؛ ومع ذلك يُشكّل اليوم تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد ودمج العوامل الحيوية في الحاملة التحديات المركزية في هذا المجال. بالإضافة إلى ذلك وعلى الرغم من أن المواد الحيوية قد تلقت الكثير من الاهتمام خلال التسعينيات، فإن التركيز الحالي على الأنظمة الاصطناعية - الحية الهجينة (hybrid living - artificial systems) يتطلب تطويراً مستمراً لطرق التصنيع.

كبدل للمصفوفة خارج الخلية (ECM)، ينبغي على حاملة الخلايا والأنسجة وبشكلٍ عام نقل الشكل الهندسي ثلاثي الأبعاد (3D geometry) وأن تكون لها خصائص ميكانيكية (mechanical properties) مناسبة وأن تسمح بالتصاق الخلايا (cell attachment) وأن تُسهّل عملية التطوّر لنسيج وظيفي. فعلى المستوى المجهرى، هناك حاجة إلى بنية مسامية عالية جداً (highly porous structure) من أجل انتشار (diffusion) المواد المغذية ونواتج الفضلات من خلال حاملة الخلايا والأنسجة. وينبغي تكييف الحجم الأمثل للمسام (optimal pore size) مع النوع المحدد من الخلايا وينبغي أن يكون حجم المسام كبيراً بما يكفي للسماح لتَنقّل أو هجرة الخلايا وتشكيل المصفوفة خارج الخلية (ECM) وألا يكون أيضاً صغيراً جداً بحيث يؤدي إلى حدوث انسداد في المسام (pore occlusion). ويجب على التصميم البنوي الهندسي والتركيب الكيميائي السطحي (surface architecture and chemistry) لحاملة الخلايا والأنسجة تسهيل تَنقّل الخلايا عبر الحاملة وتوفير إشارات تطويرية للخلايا وتعزيز عملية إجلاّب الخلايا (cell recruitment) من الأنسجة المحيطة. بالإضافة إلى ذلك، وفي معظم الحالات يجب أن تُبنى حاملة الخلايا والأنسجة من مادة غير سامة قابلة للتحلل (degradable nontoxic material) (Leong et al. 2003). وستتم مناقشة التطورات الأخيرة في تقنيات تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة أدناه.

(١،٣،٢) تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة Scaffold Fabrication

(١،٣،٢،١) الطرق التقليدية والقيود Conventional Methods and Limitations

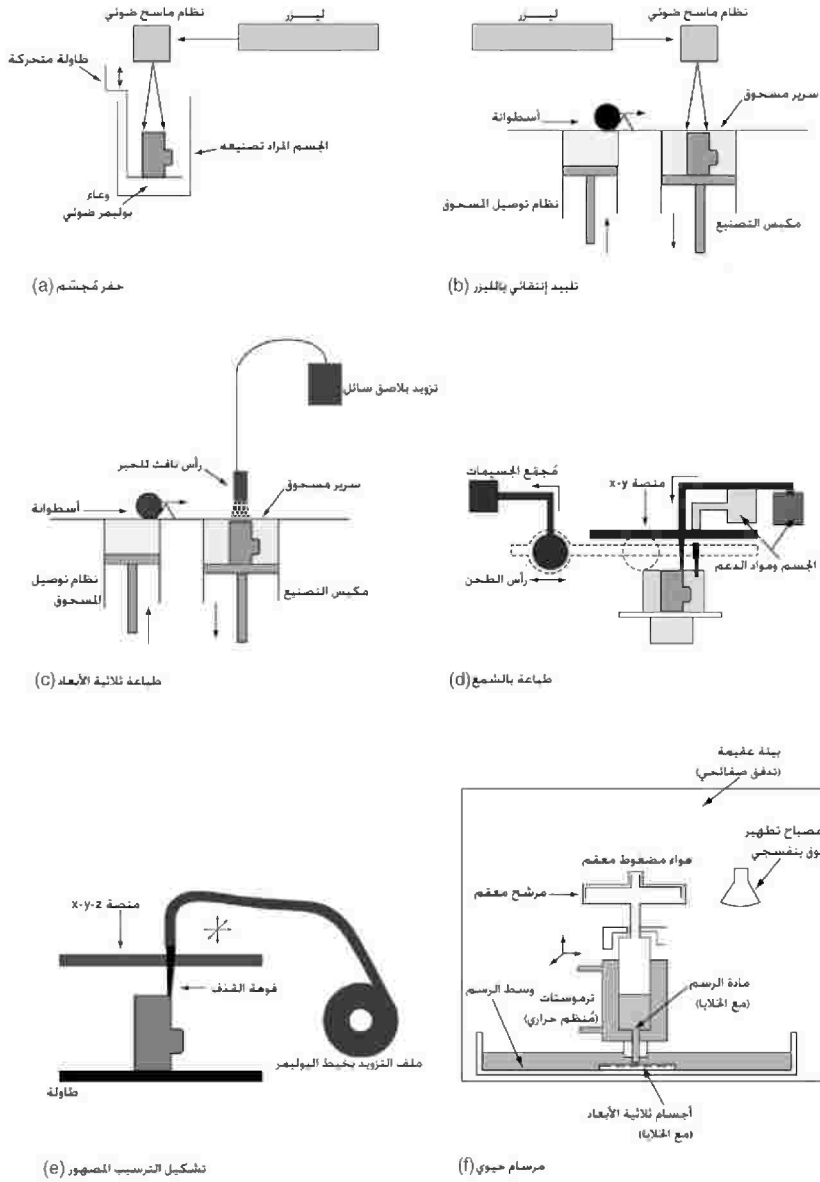
يعد تشكيل البنية المسامية الهدف الرئيسي لتصنيع حاملة الخلايا والأنسجة وقد تم تطوير عدد من التقنيات لتحقيق هذا الهدف تتضمن تقنية فصل الطور (Lo et al. 1995) (فصل الطور المحدث باستخدام اللامذيبات (nonsolvent - induced phase separation) وفصل الطور المحدث حرارياً (thermally induced phase separation)) وتقنية رغوة الغاز (gas foaming) (Mooney et al. 1996) وتقنية صب المذيبات / انْتِفاذ أو ترشيح الجسيمات (solvent casting / particulate leaching) (Wald et al. 1993) وتقنية التجفيف بالتجميد (التجفيد) (freeze drying) (Dagalakis et al. 1980). وبسبب السهولة النسبية في استخدام هذه التقنيات في صنع حاملات الخلايا والأنسجة، فإنها لا تزال تُستخدم بشكلٍ شائع. إن التقيد الأساسي لهذه التقنيات هو نقص التحكم الدقيق بمواصفات الحاملة مثل حجم وشكل وتوزيع وترابط المسامات البيني (pore interconnectivity) بالإضافة إلى الشكل الكلي للحاملة. يُظهر العديد من الدراسات أهمية حجم المسام في قدرة الخلايا على الالتصاق والتكاثر على حاملة الخلايا والأنسجة (Hulbert et al. 1970)، ولكن يقترح عمل حديث لحاملات خلايا وأنسجة تم إنتاجها باستخدام تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (solid freeform fabrication - SFF) حيث يتم التحكم بحجم المسام بشكلٍ دقيق، بأن التخلص من أو تجاهل التغيّر في حجم وبنية المسام يلغي اعتماد التصاق الخلايا وتكاثرها على

خصائص المسام (pore characteristics) (Itala et al. 2001; Hollister 2005) (الشكل رقم ١,٢). ومع ذلك، فإن مسامية المادة (porosity)، والتي تُعرَّف على أنها نسبة مساحة الفراغ في جسم صلب، لا تزال تشكل عاملاً حاسماً (Karageorgiou and Kaplan 2005). إن تصنيع البنى المسامية التراتبية أو الهرمية (hierarchical porous structures) (ذات ترتيب هرمي)، والتي تتكوّن من كلٍّ من البنية المسامية النانوية أو المايكروية المجهرية (nano- or microscopic) والبنية المسامية المايكروية العيانية (macroscopic)، يتم بسهولة أكبر بواسطة استخدام طرق تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF). إن هذه التقنيات تسمح بتصنيع قابل لإعادة الإنتاج (reproducible fabrication) لحاملات الخلايا والأنسجة بشكلٍ مباشر من ملف التصميم بمساعدة الحاسوب (computer - aided design - CAD). إن القدرة على ترجمة مجموعة البيانات الإلكترونية إلى حاملة خلايا وأنسجة يفتح الإمكانية لحاملات محددة للمرضى مبنية على أساس بيانات التصوير المقطعيّ المحوسَّب (computed tomography - CT) أو التصوير بالرنين المغناطيسي (MRI) (Mankovich et al. 1990; Hollister et al. 2000; Wettergreen et al. 2005).

(١,٣,٢,٢) طرق تصنيع الشكل الحر الصلب Solid Freeform Fabrication Methods

(١,٣,٢,٢,١) تشكيل الترسيب المصهور Fused Deposition Modeling

إن تشكيل الترسيب المصهور (fused deposition modeling - FDM) (Crump 1992) هي عملية يتم بموجبها قذف مادة مُنصهرة (molten material) من خلال أنبوب حقن وتُرْسَبُها كطبقة على سطح. وعند الانتهاء من ترسيب الطبقة، يتم تخفيض مستوى العينة؛ ومن ثم يتم ترسيب طبقة جديدة. في هذا النمط، تصنع تلك التقنية بنية ثلاثية الأبعاد. إن فائدة هذه الطريقة هي غياب المذيبات العضوية في عملية التصنيع. ويتم التحكم بهذه العملية بواسطة الحاسوب الذي يسمح باستخدام بيانات الـ (CAD) في تصميم حاملة الخلايا والأنسجة. وقد تم استخدام هذه التقنية لإعداد حاملات خلايا وأنسجة مسامية من بوليمرات مثل البولي كابرولاكتون (PCL) (Hutmacher et al. 2001) و الـ (PEG - PCL - PLA) (Hoque et al. 2005) ومركب الـ (HA / PCL) (Sun et al. 2007). إن شرط وجود تغذية مُنصهرة يُحدّد من مجال المواد التي يمكن استخدامها ويستثني جزيئات حساسة (sensitive molecules) مثل البروتينات من أن تُدمج بشكلٍ مباشر في حاملة الخلايا والأنسجة.



الشكل رقم (١,٢). أنظمة تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) مصنفة حسب تقنية المعالجة. (a, b) أنظمة المعالجة المبنية على الليزر، تتضمن (a) نظام الطباعة المُحسَّنة، الذي يقوم باللمرة الضوئية لسائل و (b) أنظمة التليد أو التصلب الانتقائي (تحويل المادة إلى الشكل الصلب بالحرارة) باستخدام الليزر (SLS)، والتي تُلبَّد أو تُصلَّب المواد المسحوقة. في كل نظام، يتم فرش مادة على منصة مبنية بحيث يتم تخفيض مستواها من أجل كل طبقة. (c, d) أنظمة مبنية على الطباعة، تتضمن (c) طباعة ثلاثية الأبعاد و (d) آلة طباعة شمعية. طباعة ثلاثية الأبعاد لمادة كيميائية رابطة على طبقة مسحوق. يطبع النظام المبنى على الشمع نوعين من المواد الشمعية على التسلسل. (e, f) أنظمة مبنية على أنبوب الحقن. (e) يطبع جهاز تشكيل الترسيب المُصهور خيط رفيع من مادة يتم تسخينها من خلال أنبوب الحقن. (f) تطبع المُرسَّمة الحيوية مادة يتم معالجتها إما حرارياً وإما كيميائياً. (من Hollister, S.J., *Nat. Mater.*, 4, 7, 518, 2005).

١,٣,٢,٢,٢) الطباعة ثلاثية الأبعاد 3D Printing

تتكون تقنية الطباعة ثلاثية الأبعاد (3D printing) (Sachs et al. 1993) من نشر طبقة من مسحوق (layer of powder) على سطح واستخدام رأس طابعة الحبر النفث (ink - jet printer) لرش السطح بشكل دقيق بمادة رابطة تساعد على التماسك (binder) لربط جزيئات المسحوق. ويتم تكرار هذه العملية بعد نشر طبقة جديدة من المسحوق فوق الطبقة السابقة مما يؤدي إلى إنشاء بنية ثلاثية الأبعاد. لقد تم في الماضي استخدام المذيبات العضوية كمواد رابطة تساعد على التماسك (Giordano et al. 1996)؛ بينما تُؤكّد الأمثلة الحديثة على استخدام المواد المتوافقة حيويًا. ففي أحد الأمثلة، استُخدم مسحوق هيدروكسي آباتيت (hydroxyapatite) لتحضير حاملات خلايا وأنسجة لإصلاح العظم باستخدام مواد رابطة تتألف من ٢٥٪ حجم/حجم من حمض البولي أكرليك (polyacrylic acid) في مزيج من ماء - غليسيرول (water - glycerol mixture) (Dutta Roy et al. 2003). كما تم استخدام محلول حمض الستريك المائي (aqueous citric acid) كمادة رابطة في إعداد سيراميك مبني على أساس فوسفات الكالسيوم (calcium phosphate - based ceramics) (Khalyfa et al. 2007).

١,٣,٢,٢,٣) التصلب الانتقائي باستخدام الليزر Selective Laser Sintering

بشكل مشابه للطباعة ثلاثية الأبعاد، تبدأ أيضًا عملية التليد أو التصلب الانتقائي باستخدام الليزر (Selective Laser Sintering - SLS) من خلال تطبيق طبقة رقيقة من مسحوق على سطح. يقوم شعاع من الليزر (laser beam) بتليد جزيئات المسحوق مع بعضها في الشكل المطلوب. وعند الانتهاء من تشكيل الطبقة، يتم ترسيب طبقة مسحوق جديدة وتكرر نفس العملية. لقد تم استخدام هذه التقنية لتحضير حاملات خلايا وأنسجة من البوليمرات القابلة للتحلل الحيوي (biodegradable polymers) مثل: بولي إثير إثير كيتون (polyetheretherketone) وبولي (فينيل الكحول) (poly(vinyl alcohol)) وبولي كابرولاكتون (polycaprolactone) (Williams et al. 2005) وبولي (حمض إل - لاكتيك) (poly(L-lactic acid)) (Tan et al. 2005). كما تم تحضير مركبات من بعض هذه البوليمرات والهيدروكسي آباتيت باستخدام عملية التصلب الانتقائي بواسطة الليزر (SLS) (Chua et al. 2004; Tan et al. 2005; Wiria et al. 2007).

١,٣,٢,٢,٤) الطباعة الشمعية Wax Printing

يتم في تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد باستخدام طابعة شمعية (wax printer) إنشاء قالب سلبي عن طريق طباعة قطرات (droplets) من شمع بناء (build wax) وشمع دعم (support wax) على سطح، والتي تتصلب بعد التبريد. وبمجرد طباعة طبقة، يتم وضع السطح بشكلٍ مستوٍ وتُطبع طبقة أخرى. تستمر هذه العملية حتى اكتمال البنية وعند هذه النقطة ينحلّ شمع الدعم لينتج قالب مسامي سلبي (porous negative mold). تُضاف المادة المرغوبة لحاملة الخلايا والأنسجة إلى القالب كمحلول صب (casting solution) وتترك لتتصلب، ومن ثم يتم حلّ أو إذابة القالب السلبي لتحرير حاملة الخلايا والأنسجة. لقد تم استخدام هذه التقنية لتحضير، على سبيل المثال، حاملات خلايا وأنسجة لاستبدال العظم والغضروف (Manjubala et al. 2005). وكمعظم عمليات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF)، لم تكن هذه التقنية مصممة أصلاً للاستخدام في الأنظمة البيولوجية (biological systems). إن الشموع والمذيبات المستخدمة هي غالبًا ما تكون عبارة

عن تركيبات مُسجَّلة الملكية وتحتوي على أصباغ، وكلاهما يمكن أن يُلوّث حاملة الخلايا والأنسجة بعوامل غير متوافقة حيويًا (nonbiocompatible agents) (Sachlos et al. 2003). وتشير التقارير الحديثة إلى استخدام شموع مُسجَّلة الملكية ومتوافقة حيويًا بشكل واضح (BioSupport و BioBuild) بحيث يمكن حلّها بشكل مستقل (orthogonally) باستخدام الإيثانول (ethanol) والماء (Sachlos et al. 2006)؛ بينما لم يتم الكشف عن هويّات هذه المواد في المراجع.

(١,٣,٢,٢,٥) الطباعة المُجسّمة Stereolithography

تعتمد الطباعة المُجسّمة (stereolithography) على التفاعلات الكيميائية بواسطة الضوء (light - mediated chemical reactions) لإنشاء كائن ثلاثي الأبعاد (3D object) من بوليمر سائل. في هذه العملية، يتم إنزال سطح في حامل من البوليمر القابل للتصلب بواسطة الضوء (photocurable polymer) ويتم تعريض طبقة البوليمر السائل الناتجة على الجزء العلوي من السطح إلى الليزر وذلك لكي يتصلب البوليمر. ومن ثم يُغمر السطح برفق، بحيث يُغطّى بطبقة جديدة من البوليمر السائل التي يمكن تعريضها للليزر. ويمكن رفع أو خفض السطح بحسب الحاجة لإنشاء الكائن ثلاثي الأبعاد. وتشمل المواد الحيوية المستخدمة في هذا التطبيق بولي (فومارات البروبيلين) (poly(propylene fumarate)) (Cooke et al. 2003; Lee et al. 2007)، الذي يحتوي على روابط ثنائية قابلة للارتباط بواسطة الضوء (photocrosslinkable double bonds)، وبولي (غليكول الإيثيلين) المضاف إليه الأكريليت (acrylated poly(ethylene glycol)) (Dhariwala et al. 2004; Arcaute et al. 2006).

(١,٣,٢,٣) حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو Nanofibrous Scaffolds

(١,٣,٢,٣,١) الغزل الكهربائي Electrospinning

تُنتج هذه التقنية ألياف نانو (nanofibers) بطريقة مستمرة بحيث تكون مترابطة مع بعضها. ويمكن لقطر الليف أن يتراوح بين ٥ نانومترات (nm) إلى أكثر من ١ مايكرومتر (μm) (Murugan and Ramakrishna 2006). ويختلف الغزل الكهربائي (electrospinning) عن التقنيات الحالية لتصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) حيث أنه يُنتج حاملة خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية. إن مثل هذا البناء يحاكي المصفوفة خارج الخلية (ECM) من خلال امتلاكه مساحة سطح كبيرة ونسبة مرتفعة للعرض إلى الارتفاع (نسبة البعد الأكبر إلى البعد الأصغر) (aspect ratio) ومسامية عالية وحجم مسام صغير وكثافة منخفضة (Murugan and Ramakrishna 2007). ونظرًا لطبيعة عملية الغزل الكهربائي، فإنه يتم إنتاج ألياف مُوجّهة بشكل عشوائي (randomly oriented fibers) (Matthews et al. 2002). ولقد ركّزت الجهود المبذولة مؤخرًا على الغزل الكهربائي لألياف متراصة (aligned fibers) (Yang et al. 2005a). إن كلاً من المواد الطبيعية والاصطناعية قد تم غزلها كهربائيًا في شبكات عشوائية ومتراصة (random and aligned meshes) بما في ذلك الكولاجين (collagen) والجيلاتين (gelatin) والشيتوزان (chitosan) (Murugan and Ramakrishna 2006).

(١,٣,٢,٣,٢) حاملات الخلايا والأنسجة ذاتية التجميع Self-Assembling Scaffolds

يعتمد التجميع الذاتي (self - assembly) على تفاعلات غير تساهمية (noncovalent interactions) لتحقيق الهدف المتمثل في تجميع بنية ثلاثية الأبعاد (3D structure) بطريقة تلقائية. تمتلك هذه الخاصية بوليمرات حيوية (biopolymers) مثل الببتيدات

والأحماض النووية (nucleic acids) والتي تُعتبر مناسبة بشكلٍ مثالي لهذا الدور. إن الببتيدات المصممة بشكلٍ محكم والتي تُشكّل تلقائيًا حاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد استجابةً لمحفزات بيئية (environmental triggers) محددة قد تمتلك إمكانات كبيرة في مجال هندسة الأنسجة. وقد ذُكرت عدة طرق رائدة للاستفادة من الببتيدات (Hartgerink et al. 2001, 2002; Beniaash et al. 2005). بالإضافة إلى ذلك، فقد وُصفت مؤخرًا حاملات خلايا وأنسجة ببتيدية مصممة ذاتية التجميع (designer self - assembling peptide scaffolds) لإصلاح النسيج العصبي ولإيقاف النزيف (bleeding) في ثوانٍ ولإصلاح أنسجة عضلة القلب المتضررة (الميتة) (infarctuated myocardia)، بالإضافة إلى كونها أجهزة طبية (medical devices) مفيدة من أجل الإطلاق البطيء للدواء (slow drug release) (Zhang et al. 2005; Gelain et al. 2007). كما تم تطبيق هذا المفهوم على الحمض النووي (DNA) (الحمض الريبيّ النووي المنزوع الأكسجين)، فقد تم تصميم الجزيئات المتفرعة (branched molecules) بحيث يمكن لأذرع الحمض النووي (DNA) أن تتجهّز (hybridize) مع بعضها البعض. وفي وجود ليغاز (ligase) الحمض النووي (DNA) (إنزيم رابط)، والذي يعمل على ربط الحمض النووي (DNA)، تتجمّع جزيئات الحمض النووي (DNA) بشكلٍ ذاتي في هلام مائي (hydrogel) (Um et al. 2006).

(١,٣,٢,٤) النّبي الهجينة (خلايا / حاملة الخلايا) Hybrid (Cell / Scaffold) Constructs

(١,٣,٢,٤,١) الهلامات المائية التقليدية الحاملة للخلايا Conventional Cell-Laden Hydrogels

تكون الهلامات المائية منتفخة، وهي عادةً عبارة عن شبكات مترابطة (crosslinked networks) وتكون مفيدة بشكلٍ خاص لتعليق (suspending) الخلايا في الأبعاد الثلاثة. لقد تم استخدام مجموعة متنوعة من البوليمرات الاصطناعية والطبيعية لهذا التطبيق وتتضمن بولي (غليكول الإيثيلين) (poly(ethylene glycol) - PEG) وبوليمرات مشتركة (copolymers) تحتوي على البولي (غليكول الإيثيلين) (PEG) (Tessmar and Gopferich 2007a) وحمض الهيالورونيك (Baier hyaluronic acid) (Leach et al. 2003) والشيتوزان (Leach et al. 2004) والألجينات (alginate) (Mosahebi et al. 2001). وقد استُخدمت أنظمة قابلة للارتباط بواسطة الضوء على نطاقٍ واسع لتشكيل الهلامات، وتم تطوير طرق أخرى تتضمن أنظمة إنزيمية (enzymatic systems) (Um et al. 2006) وأنظمة حساسة للحرارة (thermosensitive system) (Park et al. 2007) وذلك لتجنّب استخدام الضوء فوق البنفسجي (UV light) والجذور (radicals) التي من المحتمل أن تكون سامة للخلايا (cytotoxic). لقد استُخدمت الهلامات المائية على نطاقٍ واسع لتجنّب الالتصاقات وذلك بسبب النقص النسبي في لصوقيّتها للخلايا (cell adhesiveness) (Sawada et al. 2001; Yeo et al. 2006). ووفقًا لذلك، فقد تم مزج بروتينات التصاق الخلايا في الهلامات المائية لتعزيز التصاق الخلايا (Hern and Hubbell 1998; Rowley et al. 1999; Shu et al. 2004). إن تحلل الهلامات المائية يحدث عادةً بواسطة الحلمة أو التحلل المائي (hydrolysis) (شطر مُركّب بإقحام الماء)؛ إلا أنه قد تمت الإشارة إلى الهلامات المائية التي تنحل إنزيميًا (He and Jabbari 2007). إن الخصائص الميكانيكية للهلامات المائية تُعتبر ضعيفة عمومًا لذلك فقد بُدِلت جهود لإنشاء هلامات مائية قوية (Kaneko et al. 2005). ومن أجل تشكيل بنية ثلاثية الأبعاد، تُستخدم الهلامات المائية التقليدية الحاملة للخلايا قالبًا (mold) يُصبّ فيه الهلام المائي الحامل للخلايا (cell - laden hydrogel).

(١,٣,٢,٤,٢) التشكيل الثلاثي الأبعاد للهلامات المائية الحاملة للخلايا 3D Patterning of Cell-Laden Hydrogels

من أجل إنجاز المزيد من التحكم بالموضع الثلاثي الأبعاد للخلايا داخل الهلامات المائية وتحقيق أشكال هندسية محددة للمرضى (patient - specific geometries)، تم تكييف عدد من تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) للاستخدام مع الهلامات المائية الحاملة للخلايا. تُستخدم الكتابة المباشرة الموجهة بالليزر (laser - guided direct writing) شعاعاً من الليزر مُركّزاً بشكلٍ خفيف لحصر الخلايا ومن ثم ترسيبها على سطح (Odde and Renn 2000; Nahmias et al. 2005). تسمح هذه التقنية بتشكيل (patterning) ذي مِيز أو تباين بمقدار خلية واحدة (single - cell resolution)، وقد تم استخدام هذه التقنية لكتابة أو طباعة الخلايا البطانية بشكلٍ مباشر بحيث تتجمع ذاتياً في بُنى الأوعية الدموية (Nahmias et al. 2005). باستخدام طباعة حبر نفّاث معدّلة وهلامات حساسة للحرارة، يمكن طباعة طبقات متعددة من أنواع مختلفة من الخلايا لإنشاء عضو ثلاثي الأبعاد (طباعة عضو organ printing) (Boland et al. 2003). تحاول هذه التقنية تقليد أو محاكاة (mimic) التصميم البنوي الهندسي للأعضاء، والتي تتكوّن من بُنى معقدة تحتوي على العديد من أنواع الخلايا المتوضّعة في مواقع دقيقة. تُستخدم المرسّمة الحيوية (bioplotter)، وهي أداة متوفرة تجارياً، إبرة لتوزيع مادة بطريقة طبقة تلو الطبقة (layer - by - layer) في وسط التخطيط أو الرسم (plotting medium)، وهو ما يسبب التصلب للمادة. ويمكن لمزيج من بوليمر - خلايا (polymer - cell mixture) أن يُوزّع باستخدام هذه التقنية مؤدياً إلى تشكيل هلام مائي حامل للخلايا (Landers and Mülhaupt 2000). كما تم استخدام الجريانات المايكروية (microfluidics) لإنشاء بُنى ثلاثية الأبعاد باستخدام طريقة طبقة تلو الطبقة (Tan and Desai 2004). في هذه الطريقة، يتم استخدام جريانات مايكروية مُوجّهة بواسطة الضغط (pressure - driven microfluidics) لنقل محاليل بوليمر - خلايا، والتي ترسّب على هيئة طبقات ضمن القنوات المايكروية (microchannels). وقد تم استخدام الطباعة أو الحفر الضوئي (photolithography) لإنشاء بُنى من هلامات مائية مُنطبعة أو مُشكّلة بحيث تُغلّف الخلايا (Liu and Bhatia 2002). كما تم إنشاء هلامات مائية حاملة للخلايا من محاليل بوليمرية قابلة للبلمرة الضوئية (photopolymerizable) حيث تتوضّع الخلايا بدأي باستخدام قوى رَحَلَانِيَّة مُزدوجة (dielectrophoretic forces) ومن ثم تثبتت في المكان عن طريق تشكيل هلام مائي بوساطة الضوء (Albrecht et al. 2006). كما ركّزت الجهود التي بُذلت مؤخراً على تكييف تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) التقليدية للاستخدام مع الهلامات المائية، على سبيل المثال باستخدام الطباعة المُجَسّمة لإنشاء هلامات مائية مُركّبة من بولي (غليكول الإيثيلين) (PEG) (Arcaute et al. 2006).

(١,٤) توصيل العوامل المُحفّزة للأنسجة DELIVERY OF TISSUE-INDUCING FACTORS

(١,٤,١) قدرة نظام الإطلاق المُتحكّم به لتعزيز تشكيل الأنسجة Potential of Controlled Release System to Enhance Tissue Formation

منذ بداية البيولوجيا الجزيئية، عمل علماء الأحياء بشكلٍ ثابت على تحديد وعزل عوامل جزيئية (molecular agents) مسؤولة عن تشكيل وإصلاح الأنسجة. ويجري باستمرار توضيح آليات التطوير والتئام أو شفاء الجروح (wound healing) كما يجري

دائماً استكشاف قواعدها الجزيئية للاستغلال العلاجي. إن العلاجات الخلوية (cellular therapies) المهمة لهندسة الأنسجة تعتمد أيضاً وبشكل كبير على عوامل نقل الإشارات الخلوية (cell - signaling factors)، كما أن زراعة الخلايا المتميزة بشكل كافٍ أو غير المتميزة غالباً ما تتطلب إضافة العوامل الجزيئية المعزولة التي تعزز المحافظة على أنماط ظاهرية محددة للخلايا (specific cell phenotypes). فعلى سبيل المثال، يمكن الحفاظ على خلايا السلف المعزولة من شبكية العين (retina) في حالة غير متميزة لفترات زمنية طويلة في وجود عامل نمو البشرة المأشوب (المعاد تركيبه) (recombinant epidermal growth factor - EGF). وبالتالي يمكن لهذه الخلايا أن تُزرع مع عامل نمو البشرة (EGF) عوضاً عن عامل النمو العصبي (nerve growth factor - NGF) وعامل التغذية العصبية المستمد من الدماغ (brain - derived neurotrophic factor - BDNF) وعامل نمو خلايا الأرومة الليفية الأساسي (basic fibroblast growth factor - bFGF) للحث على التمايز إلى خلايا تُعبر عن دلالات عصبية ودبقية (neuronal and glial markers) (Tomita et al. 2006). إن الهدف في هندسة الأنسجة هو تزويد الخلايا بالعوامل الضرورية للحث على التكاثر و / أو التمايز بحيث يمكن للخلايا بالتالي أن تُفرز مكونات مناسبة خارج الخلية لتكوين الأنسجة. ويمكن لعملية إضافة العوامل المحفزة للنسيج في وسط النمو (growth medium) أن تكون كافية لنمو الأنسجة في المختبر، ولكن إعطاء مثل هذه الجزيئات الحيوية من أجل الحث على تشكيل الأنسجة في الجسم الحي هو عموماً غير كافٍ، كما أن الجزيئات تنتشر بشكل سريع بعيداً عن الموقع المطلوب وتتحلل بسرعة. لهذا السبب، فإنه غالباً ما تكون أنظمة توصيل الدواء المتحكم به (controlled drug - delivery systems) ضرورية.

عندما كانت طرق هندسة الأنسجة تتبلور في منتصف السبعينيات، كانت تُنجز تطورات في مجال مختلف على ما يبدو والذي سيعُد في نهاية المطاف واحداً من أكثر التقنيات المساعدة أهمية في هندسة الأنسجة. ففي عام ١٩٧٦، عرض Langer و Folkman، في بحث الطرق التجريبية لاختبار عوامل توليد الأوعية الدموية (angiogenesis factors) في الجسم الحي، الإطلاق المتواصل (sustained release) لإنزيم من بوليمرات اصطناعية (Langer and Folkman 1976). وقد ساهم هذا التطور بتمهيد الطريق لتطوير أنظمة توصيل متنوعة قادرة على توصيل جزيئات حيوية بطريقة مُتحكَّم بها. وقد تمت الإشارة إلى أنظمة توصيل بوليمرية على شكل أقراص ورقاقات وألياف وزرعات مقذوفة (extruded implants) وأفلام (films) وجسيمات مايكروية (microparticles) وغيرها الكثير (Wise 2000). في الواقع، لقد تقدمت تقنية الإطلاق البوليمري المتحكم به (polymeric controlled release) إلى درجة أنها أصبحت تقريباً من أجل كل جزيء ماكروي عياني (macromolecule) خاضع للتطوير العلاجي، إلا أنه وعلى الأرجح قد تم أخذ الإطلاق البوليمري قليلاً بعين الاعتبار (Schwendeman 2002). لقد أجرى الباحثون تجارب متعددة على أنظمة توصيل الدواء المصنوعة من بوليمرات قابلة للتحلل الحيوي، والتي تم الموافقة عليها من قبل إدارة الغذاء والدواء (FDA) لاستخدامات أخرى. وبالمصادفة، بدأت مجموعات بحثية في هندسة الأنسجة بشكل مبكر باستخدام نفس المواد لتصنيع حاملة الخلايا والأنسجة، ولم يكن بالوقت الطويل قبل أن يتم البدء باستخدام الحاملة كجهاز توصيل لكل من الخلايا والجزيئات الحيوية المحفزة للنسيج (Sokolsky - Papkov et al. 2007) (tissue - inducing biomolecules).

(١,٤,٢) أنواع العوامل المحفزة للأنسجة Types of Tissue-Inducing Factors

لقد تم اختبار مجموعة كبيرة من الجزيئات الحيوية للتحفيز المتحكم به لتشكيل الأنسجة (controlled induction of tissue formation)، ولكن يمكن تقسيم غالبية العوامل المهمة إلى ثلاثة فئات: جزيئات صغيرة (small molecules)، و بروتينات و ببتيدات متعددة (polypeptides)، وقليلي النوكليوتيدات (oligonucleotides).

١ - الجزيئات الصغيرة (تم جمعها هنا بشكلٍ كافي في فئة واحدة من أجل الملاءمة) هي مكونات مهمة في العديد من تآليات نقل إشارات الخلايا (cell signaling cascades)، في كلٍّ من الاتصالات بين الخلايا (intercellular communication)، كما في حالة الستيرويدات القشرية (corticosteroids) والهرمونات الأخرى، وفي نقل الإشارات داخل الخلايا (intracellular signaling). تقوم هذه الجزيئات عادةً بقدح أو إثارة تآليات من الإشارات داخل الخلايا بواسطة الارتباط مع مستقبلات بروتينية (protein receptors) محددة، الأمر الذي يؤدي إلى النسخ الجيني (gene transcription).

٢ - الببتيدات المتعددة، في معظم الأحيان كبروتينات كاملة، يمكن أن تعمل على الخلايا كمُحفِّثات للانقسام الفيتيلي (mitogens) ومُحفِّثات للتخلُّق (morphogens) وعوامل نمو وعوامل بقاء (survival factors) وسيتوكينات (cytokines) (إن هذه المصطلحات هي تقنياً ليست مترادفة ولا تتنافى مع بعضها البعض، ولكن لأغراض هذا الفصل سوف لن يتم التمييز بينها). يمكن لهذه البروتينات المحفزة للأنسجة أن تكون قابلة للذوبان أو مرتبطة بالصفوفة خارج الخلية (ECM)، وتعمل عادةً على الخلايا من خلال ارتباط مستقبل - لجين (receptor - ligand binding).

٣ - قليلي النوكليوتيدات، إما كحمض نووي (DNA) أو كحمض نووي (RNA)، يمكن أن ترتبط إما بالحمض النووي (DNA) لتؤثر على النسخ الجيني وإما بالحمض النووي (RNA) لتؤثر على النقل الجيني (gene translation) أو عندما يتم توصيلها على هيئة جينات كاملة، تصبح مندجة بشكلٍ مباشر في جينوم الخلية (cell's genome).

إن التحديات والإستراتيجيات اللازمة لتوصيل هذه الأنواع من المركبات تختلف بسبب الاختلافات في خصائصها الفيزيائية والكيميائية. وسوف نقوم هنا وبشكلٍ مختصر باستعراض الاعتبارات المهمة لتوصيل كل واحدٍ منها وتقديم بعض الأمثلة البارزة. ومع ذلك، ولأن الغالبية العظمى من العوامل المحفزة للأنسجة التي تم اختبارها لهندسة الأنسجة هي جزيئات ماكروية، فسوف يتم تخصيص الجزء الأكبر من هذا القسم لمناقشة توصيل البروتينات والجينات.

(١,٤,٣) توصيل الجزيء الصغير من أجل هندسة الأنسجة Small Molecule Delivery for Tissue Engineering

بسبب حجمها، تميل الجزيئات الصغيرة للانتشار بسرعة، لذلك يعتمد التوصيل المتحكم به بشكلٍ كبير على إستراتيجيات تخفيف أو منع الانتشار. تختلف هذه الإستراتيجيات إلى حدٍ كبير اعتماداً على بنية الجزيء الذي سيتم توصيله والبيئة المستهدفة. تشمل بعض طرق تأخير الانتشار الاستفادة من التفاعلات الأيونية (ionic interactions) لتشكيل مركبات غير قابلة للذوبان (insoluble complexes) أو تطابق خصائص الألفة للماء (hydrophilic) (امتصاص الماء) وخصائص الألفة للدهون (lipophilic) (امتصاص الشحوم) للدواء والجهاز التوصيل وذلك لتأخير الإطلاق. وهناك المزيد من التقنيات المتقدمة التي

تشمل تعديل الجزيء بشكل كيميائي أو ربطه إلى جهاز التوصيل. فعلى سبيل المثال، قام Nuttelman وزملاؤه مؤخراً بتركيب هلامات مائية من بولي (جليكول الإيثيلين) (PEG) تحتوي على الديكساميثازون (dexamethasone) المرتبط بشكل تساهمي (covalently) مع أساس الهلام المائي (hydrogel backbone) بواسطة وحدات من اللاكتيد (lactide) القابل للتحلل. إن الديكساميثازون هو ستيرويد قشري يُشجّع وعلى نحو موثوق التمايز المكوّن للعظم (osteogenic differentiation) للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs). وقد أظهر المؤلفون بأنه قد تم إطلاق الديكساميثازون ببطء من الهلام المائي وقد حفّز الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) لتعبّر عن أنماط ظاهرية لتشكيل الخلايا العظمية (osteocytic phenotypes) (Nuttelman et al. 2006).

إن الجزيئات الصغيرة هي بمثابة عناصر مهمّة في الاتصالات بين الخلايا، كما في حالة الهرمونات ونقل الإشارات داخل الخلايا وبشكل خاص كرُسُل ثانوية (second messengers). وغالباً ما يكون في هذا الرّسال الثانوي القدرة بحيث تُستخدم الجزيئات الصغيرة لتحفيز الأنسجة، كما يتضح من خلال إعطائها بالمشاركة مع غيرها من العوامل. على سبيل المثال، لقد وُجد بأن أحاديّ فوسفات الأدينوزين الحلقيّ (cyclic adenosine monophosphate - cAMP) يعمل بشكل تآزريّ (synergistically) عندما يُعطى بشكل مشترك مع غرّسات خلايا شفان (Schwann cell implants) (خلايا مُعمّدة للألياف العصبية) في الحبل الشوكي (spinal cord) المصاب (Pearse et al. 2004). وقد قامت مجموعة بحثية أخرى بتوصيل أحاديّ فوسفات الأدينوزين الحلقيّ (cAMP) جنباً إلى جنب مع عامل النمو العصبيّ (neurotrophic factor) عبر جسيمات مايكروية تم حقنها في العين وقد وُجد بأن هذه التركيبة فعّالة لتعزيز تجديد العصب البصري (optic nerve regeneration) (Yin et al. 2006). وبما أن توصيل العديد من العوامل بتشكيلات إطلاق مختلفة أصبح أكثر شيوعاً، فمن المرجح أن يزداد دور الجزيئات الصغيرة في هندسة الأنسجة.

(١,٤,٤) توصيل البروتين من أجل هندسة الأنسجة Protein Delivery for Tissue Engineering

(١,٤,٤,١) التحديات في توصيل البروتين المُتحكّم به Challenges for Controlled Protein Delivery

لقد تم اختبار التوصيل المُتحكّم به للبروتينات والببتيدات المتعددة على نطاق واسع ولجالٍ عريض من التطبيقات وقد لاقى بعض النجاح؛ ولكن تبقى هناك تحديات كبيرة. وبسبب أن البروتينات معقدة للغاية وتعتمد وظائف جزيئاتها المرتبة على السلامة الكيميائية والبنوية، فإن أكبر الصعوبات في ابتكار أنظمة إطلاق بروتين مُتحكّم به تنشأ من عدم الاستقرار في تركيبة وتخزين وإطلاق البروتين (Fu et al. 2000). ولقد شرّع بالكثير من العمل لتوضيح آليات تحلل (degradation) وتعطيل (inactivation) البروتين ومن ثم ابتكار طرق لتسهيل هذه العمليات. تشمل الآليات الرئيسية لتعطيل البروتين في أنظمة التوصيل البوليمرية التكدّس (aggregation) الناتج عن التجفاف (dehydration) (ضياغ السوائل والشوارد) والإمهاء (rehydration) (تعويض السوائل)، ونشر (unfolding) أو تكدّس البروتين على طول السطوح الكارهة للماء (hydrophobic surfaces) أو عند السطوح البينية المائية - العضوية (aqueous - organic interfaces)، وتحميض (acidification) البيئة المايكروية الدقيقة (microclimate) داخل نظام التوصيل (Schwendeman 2002). تتضمن الطرق

المذكورة للتغلب على هذه التحديات تشكيل مُركَّب زنكي (zinc complexation) (Johnson et al. 1997) أو إضافة وإقيات الذوبان (lyoprotectants) (Prestrelski et al. 1993) لمنع التكدُّس المرتبط بالرطوبة، واختيار تقنيات معالجة لطيفة بالبروتين لمنع التكدُّس على سطوح البوليمرات والسطوح البينية (Herbert et al. 1998; Burke 2000)، وإضافة مُضادَّات الحموضة (antacids) (Zhu et al. 2000) أو سواغات تشكيل المسام (pore - forming excipients) مثل بولي (غليكول الإيثيلين) (PEG) (Jiang and Schwendeman 2001) لمنع تَحْمِض البيئة المايكروية الدقيقة. ففي حين أن هذه التحسينات كانت مفيدة، إلا أن بروتينات مختلفة تكون عُرضة لأشكال مختلفة من عدم الاستقرار؛ وبالتالي فمن الضروري تحسين كل نظام توصيل على حدا بحسب تطبيقه المحدد.

(١,٤,٤,٢) إستراتيجيات لتوصيل البروتين Strategies for Protein Delivery

يمكن لتوصيل البروتين المتحكَّم به من أجل هندسة الأنسجة أن يُنجز باستخدام وسائل نقل أو توصيل (delivery vehicles) متعددة بما في ذلك الخلايا المزروعة التي تم تعديلها وراثياً أو جينياً (genetically modified) (Chang et al. 1999; Tresco et al. 2000) والجسيمات البوليمرية المايكروية (polymer microparticles) (Edelman et al. 1991; Krewson et al. 1996; Oldham et al. 2000; Lu, Yaszemski, and Mikos 2001) وحاملات الخلايا والأنسجة. إن الميزة الرئيسية للطريقة التي لا تستعمل حاملة هي أن متطلبات نظام التوصيل يمكن أن تتحقق بشكلٍ مستقل عن تلك المتطلبات الخاصة بحاملة الخلايا والأنسجة. ومع ذلك، فقد تحوَّل الباحثون وبشكلٍ متزايد إلى استخدام حاملات الخلايا والأنسجة نفسها كوسائل للتوصيل. ومن أجل تحقيق هذا الهدف، يتم امتزاز أو امتصاص (adsorb) البروتينات على سطح الحاملة أو تغليفها (encapsulate) في كتلة الحاملة أو ربطها بشكلٍ تساهمي إلى حاملة الخلايا والأنسجة (Tessmar and Gopferich 2007b). إن الحفاظ على استقرار البروتين في هذه الحالات هو أمرٌ مهم وعنصر أساسي بشكلٍ واضح. إن الطاقات الحركية (kinetics) لإطلاق البروتين ستتغير بشكلٍ طبيعي فيما بين هذه التقنيات، وقد بُدِّت بأن استخدام مجموعات من تقنيات الإطلاق يكون مفيداً. على سبيل المثال، لقد وصفت مجموعة بحثية إطلاق اثنين من عوامل النمو مع طاقات حركية مختلفة من خلال إدراج جسيمات مايكروية من الجيلاتين ضمن حاملة خلايا وأنسجة مصنوعة من الهلام المائي (Holland et al. 2005). كما وصفت مجموعة بحثية أخرى إطلاق حركية مزدوجة (dual release kinetics) عن طريق استخدام تقنية المستحلَّب أو المزيج التتابعية (sequential emulsion technique) لتشكيل طبقات غلاف خارجية (coatings) تحتوي على البروتين على حاملة خلايا تم تشكيلها مسبقاً (Sohier et al. 2006).

(١,٤,٤,٣) الإطلاق المُتحكَّم به لعوامل النمو لتعزيز تشكيل الأنسجة Controlled Release of Growth Factors to Enhance Tissue Formation

لقد تم اختبار توصيل مجموعة ضخمة من البروتينات من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة، ويرجع ذلك بشكلٍ جزئي إلى الأهمية البالغة للبروتينات في نقل الإشارات الخلوية (cellular signaling). وقد تمت دراسة مجموعات البروتينات المحفزة للأنسجة على نطاقٍ واسع وهي غالباً ما تسمى مجتمعةً عوامل النمو (Tessmar and Gopferich 2007b). تشمل إستراتيجيات عوامل النمو المستخدمة من أجل تشكيل الأنسجة: تعزيز تكاثر الخلايا، والتمايز إلى أنواع الخلايا المرغوبة المشكلة للأنسجة، والهجرة أو التَّنَقُّل إلى المواقع المطلوبة، ونمو الخلايا جنباً إلى جنب مع إفراز المصفوفة (secretion of matrix) من أجل تشكيل الأنسجة،

وتوليد تغذية دموية (blood supply) (Boontheekul and Mooney 2003; Tabata 2003; Tessmar and Gopferich 2007b). وغالباً ما تعمل عوامل النمو بالتنسيق مع بعضها بعضاً، ويمكن أن يعمل كل واحدٍ منها على العديد من أنواع الأنسجة ويُنتج تأثيرات متفاوتة على أنواع مختلفة من الخلايا. بالإضافة إلى ذلك، فإنها تعمل بطرقٍ مختلفة، على سبيل المثال بواسطة ربط مستقبلات سطح الخلية قبل الاستيعاب أو التدخيل (internalization) أو بواسطة ربط المصفوفة خارج الخلية (ECM) قبل تفاعل الخلية، وغالباً ما تستجيب الخلايا لعوامل النمو القابلة للذوبان وفقاً لتدرج التركيز (Boontheekul and Mooney 2003). لهذه الأسباب، تُعتبر هندسة نظام التوصيل المستخدم لتقديم هذه الجزيئات الحيوية للخلايا المشكلة للأنسجة ذات أهمية بالغة.

لقد أثبتت حاملات الخلايا والأنسجة وأنظمة التوصيل أنها فعالة لتوليد بُنى أنسجة جديدة بسيطة نسبياً في المختبر وفي الجسم الحي. ومع ذلك، فإن تطور والتئام الأنسجة غالباً ما يستجيب لتراكيز عابرة أو متدرجة لجزيئات نقل الإشارات؛ لذلك فإن تشكيل أنسجة معقدة فراغياً (spatially complex tissues) سيتطلب على الأرجح تقديم جزيئات حيوية بطريقة مُتحكَّم بها مكانياً وزمانياً (spatiotemporally controlled manner) (Saltzman and Olbricht 2002). فبينما هو صعب، فقد حفزَ هذا التحدي ابتكارات مثيرة للإعجاب. حيث يمكن للطرق الجديدة لبذر حاملات الخلايا والأنسجة مثل ترسيب فيلم (film deposition) بطريقة طبقة تلو الطبقة أن تساعد في توجيه مجموعات زمنية معقدة داخل الأنسجة، وذلك من خلال دمج عوامل النمو والبروتينات وغيرها من المكونات الخلوية المهمة داخل طبقات معينة (Wood et al. 2005). ويمكن أن يساعد هذا في التحكم بامتدادات سرعة وزمن التكاثر والتمايز أثناء عملية زراعة الخلايا (culture process). وقد أظهرت حاملات الخلايا والأنسجة المزودة بتدرج مكاني (spatial gradient) لعامل النمو العصبي (NGF) نجاحاً في توجيه الانبثاث أو النمو المحواري (axonal outgrowth) (Moore et al. 2006)، وشجعت تلك الحاملات المزودة بتدرج لعامل نمو خلايا الأرومة الليفية الأساسي (bFGF) التَّنَقُّلَ الموجَّهَ لخلايا العضلات الوعائية الملساء (vascular smooth muscle cells) (DeLong et al. 2005). وقد طورت إحدى المجموعات البحثية وسيلة لتليد أو توصيل كُرَيَّات مايكرولية (microspheres) تحتوي على البروتين والتي سمحت بإطلاق بروتينات متعددة بمعدلات مختلفة ومن مناطق مختلفة داخل حاملات الخلايا والأنسجة (Suciati et al. 2006). كما أن التحكم المكاني والزمني قد أظهر فعالية أيضاً في الجسم الحي. على سبيل المثال، لقد وصف Chen وزملاؤه عملية إطلاق اثنين من عوامل النمو وعائية المنشأ (angiogenic growth factors) مع طاقات إطلاق حركية مختلفة من داخل مناطق معينة بحاملة الخلايا والأنسجة. فعندما زُرعت في قائمة خلفية إقفارية (ischemic hindlimb) (تعاني من نقص التروية)، عززت منطقة حاملات الخلايا والأنسجة التي أطلقت عاملي النمو بشكلٍ تسلسلي تطوير شبكة وعائية ناضجة (mature vascular network) بحيث كانت أفضل بكثير من تلك الموجودة في المنطقة التي توزع عامل نمو واحد فقط (Chen et al. 2007). من ناحية أخرى، ومن أجل الأنسجة التي تخضع لمنبهات أو محفزات ميكانيكية (mechanical stimuli)، مثل العظم والعضلات والأوعية الدموية، فقد وصف Lee وآخرون نظام إطلاق عامل نمو مُتحكَّم به يمكن أن يستجيب لمنبهات ميكانيكية متكررة (Lee et al. 2000). فلقد تم إطلاق عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) المغلف في هلامات مائية مصنوعة من الأجنينات استجابةً لتطبيق الضغط (compression) في كلٍّ من المختبر والجسم الحي، وقد ظهر بأن التنبيه الميكانيكي يزيد من معدل تشكيل الأوعية الدموية في الجسم الحي.

(١,٤,٥) توصيل الحمض النووي من أجل هندسة الأنسجة Nucleic Acid Delivery for Tissue Engineering

(١,٤,٥,١) تقنيات لتوزيع الجينات Techniques for Gene Delivery

لقد أتاحت التطورات في توصيل الجينات (gene delivery) مكاناً بديلاً لاختصار عملية تطوير الأنسجة الطبيعية لأغراض هندسة الأنسجة. فمن أجل مختلف تطبيقات هندسة الأنسجة، يمكن نقل جين مستهدف (target gene) لأنواع معينة من الخلايا، مثل الخلايا الجذعية، وذلك من أجل تعزيز التمايز المطلوب للخلايا وتشكيل الأنسجة. فيمكن للخلايا أن تُعدّل جينياً في المختبر؛ ومن ثم تُبذر على حاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد ليتم زراعتها في الجسم الحي، أو أنه من الممكن تعديلها جينياً في الجسم الحي بشكل مباشر.

يمكن لتقنيات توصيل المواد الجينية (genetic materials) في خلايا الثدييات (mammalian cells) أن تُقسم إلى فئتين: طرق فيروسية (viral - based methods) وطرق تركيبية غير فيروسية (synthetic nonviral methods). إن لكلٍ من الطريقتين مزاياها وعيوبها، ولا يوجد هناك ناقل (vector) وحيد مناسب لجميع تطبيقات توصيل الجينات. تُستخدم الطريقة الفيروسية خاصة رئيسية للفيروسات، حيث إنها تقوم بتوصيل الجينوم الخاص بها إلى الخلايا المستهدفة. يمكن تحويل العديد من الأنواع المختلفة من الفيروسات، مثل الفيروس القهقريّ أو الارتجاعي (retrovirus) والفيروس الغدانيّ (adenovirus) والفيروس البطيء (lentivirus) إلى وسائل للنقل الجيني عن طريق استبدال جزء من الجينوم الفيروسي (viral genome) بجين مستهدف (Vile et al. 1996; During 1997). وبما أن الطريقة الفيروسية تُستخدم وبشكلٍ أساسي آلية مُطورة بشكلٍ طبيعي للتسُخ أو التكاثر الفيروسي الذاتي (viral self - replication)، فهي عادةً فعّالة جداً ولذلك فقد كانت تُعتبر على أنها الطريقة الرئيسية لمعظم التطبيقات. في الواقع، تُستخدم ٦٩٪ من التجارب السريرية الجارية حالياً الطريقة الفيروسية (التجارب السريرية للعلاج الجيني على الإنترنت، <http://www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/>، تم الوصول إلى هذا الموقع في عام ٢٠٠٥). وعلى الرغم من الكفاءة العالية للتعديل الجيني، إلا أن الطريقة الفيروسية ترتبط أيضاً بالعديد من القيود الرئيسية. فبما أن الفيروسات مُستَمِنعة (immunogenic) بطبيعتها ومن المحتمل أن تكون مُمرضة (pathogenic)، فهناك دائماً مخاوف تتعلق بالسلامة وتُعتبر مشكلة رئيسية في التطبيقات السريرية (clinical applications) لتوصيل الجينات المبني على الطريقة الفيروسية. بالإضافة إلى ذلك، فإن النواقل الفيروسية لا تُسهّل تصميم تحديدية الخلية المستهدفة (target cell specificity) وهي مرتبطة بتكاليف تصنيع عالية نسبياً.

تزود الناقلات التركيبية غير الفيروسية، غالباً البوليمرات الكاثيونية (cationic polymers) والدهون أو الشحوم (lipids)، بوسيلة نقل جذابة أخرى لتوصيل الجينات. وبشكلٍ عام، تكون الناقلات التركيبية مواد كاثيونية يمكنها أن ترتبط من خلال الكهرباء الساكنة بالحمض النووي (DNA) أو الحمض النووي (RNA) لتُشكّل جسيمات نانوية مُكثّفة (condensed nanoparticles) (الضفائر المتعددة (polyplexes) أو الضفائر الشحمية (lipoplexes)). تشمل المواد الحيوية التي تم استكشافها: البوليمرات الكاثيونية والشحوم الكاثيونية والليبوزومات (liposomes) (جسيمات شحمية) والشيترانات (chitosans) (عديدات السكر في الحشرات) والمتغصّات (dendrimers) (جزيئات كروية كبيرة متفرعة) والجسيمات النانوية غير العضوية (inorganic nanoparticles) (Merdan et al. 2002; Partridge and Oreffo 2004; Wagner et al. 2004). تتغلب

هذه النواقل الاصطناعية على المشاكل المرتبطة بالطريقة الفيروسية وهي غير مُسْتَمْنَعَة (nonimmunogenic). كما أنها تسمح بقدر أكبر من المرونة في تصميم البنية وإدماج الجزء أو العنصر المستهدف (targeting moiety)، بالإضافة إلى التركيب السهل نسبياً وانخفاض تكاليف التصنيع. ومع ذلك، فقد عانت الناقلات المبنية على أساس الطريقة غير الفيروسية من الكفاءة المنخفضة في عملية إدخال الأحماض النووية في الخلايا (التعديل الجيني) (transfection) والسُمِّيَّة (toxicity) التي تظهر في بعض الأحيان، كما أن معظم الناقلات التركيبية (synthetic vectors) تكون غير مستقرة في وجود المصل (serum)، وبالتالي فإن هذا يمنع وبشدة تطبيقاتها في الجسم الحي.

(١،٤،٥،٢) العوائق الرئيسية في توصيل الجينات والحلول التقليدية Major Barriers in Gene Delivery and Conventional Solutions

لتعزيز توصيل الجينات المستهدفة إلى نواة الخلية (cell nucleus)، فإنه من المهم جداً فهم العوائق الرئيسية التي تحتاج ناقلات الجينات (gene vectors) التغلب عليها. فقبل الوصول إلى نواة الخلية المستهدفة، يجب على الضفائر المتعددة أن تلتصق أولاً بسطح الخلية (cell surface) وأن تُدخل من خلال الالتقام (endocytosis) وأن تُفلت من الدُخُول (endosome) (جُسيم داخلي) / الِيَحْلُول (lysosome) (جُسيم حال) الناتجة وأن تنتقل من خلال السيتوبلازم (cytoplasm) نحو نواة الخلية وأخيراً أن تعبر الغشاء النووي (nuclear membrane) (Pack et al. 2005). بالإضافة إلى ذلك، يجب على الضفائر المتعددة أن تتحرر عند نقطة زمنية معينة بحيث يمكن إطلاق الحمض النووي (DNA).

يتطلب التغلب على العوائق أو الحواجز خارج الخلية (extracellular barriers) تكثيف فعال لبلازميدة الحمض النووي (plasmid DNA) (البنية جينية التركيب خارج الصبغيات) واستقرار الجسيمات النانوية في مجرى الدم والأنسجة المحيطة والاستهداف المحدد للخلايا ذات الاهتمام. تشكل الضفائر المتعددة تلقائياً عند مزج بوليمرات كاثيونية مع الحمض النووي (DNA) وتتكتف في جسيمات نانوية بحجم يتراوح بين ثلاثين إلى عدة مئات نانومتر. تحمي الضفائر المتعددة الحمض النووي المكشوف من أن ينحل بواسطة الدِنَاز (DNase). يعتمد استقرار الضفائر المتعددة في المصل على التركيب الكيميائي (chemistry) للبوليمر وعلى نسبة شحنة (charge ratio) الحمض النووي (DNA) / البوليمر. وبشكل عام، تُظهر الضفائر المتعددة موجبة الشحنة استقراراً أفضل في ظل الظروف المِلْحِيَّة الفيزيولوجية (physiological salt conditions) وذلك بالمقارنة مع الضفائر المتعددة متعادلة الشحنة. ولكن بوجود المصل يمكن للبروتينات سالبة الشحنة مثل الألبومين (albumin) أن تُمتَرِّز فوق الجسيمات النانوية وتُحدث تَكْدُساً (aggregation)، الأمر الذي يؤدي إلى إزالة الجسيمات النانوية من قبل الخلايا البَلْعَمِيَّة (phagocytic cells) (Dash et al. 1999).

يتم إدخال الضفائر المتعددة بمجرد أن تلتصق بسطح الخلية وذلك إما عن طريق الالتقام بواسطة مُسْتَقْبَلَات سطح الخلية (cell - surface receptor - mediated endocytosis) وإما عن طريق الاحتساء الامتزازي (adsorptive pinocytosis) (Mislick and Baldeschwieler 1996). عندئذٍ تصبح الضفائر المتعددة مُتَوَضَّعة في الجُسيمَات الداخلية (endosomes)، والتي هي عبارة عن حُويَصِلَات (vesicles) تُحَمَّض (acidify) بسرعة لدرجة حموضة (pH) من ٥ إلى ٦ نتائج لعمل إنزيم مضخة - بروتون الأَتَبَاز (ATPase proton - pump enzyme) (ATPase): فَسْفَاتاز ثَلَاثِيٌّ فَسْفَاتِ الأَدِينُوزِين) في غشاء الحويصلة. ويمكن للضفائر المتعددة أن تُنقل بعد ذلك إلى الجُسيمَات الحَالَّة (lysosomes)، والتي هي عُضَيَّات (organelles) ذات درجة

محموضة داخلية حوالي ٤.٥. ووافرة بالإنزيمات الحالة (degradative enzymes). ويُعتقد أن كميات كبيرة من الحمض النووي (DNA) تحلّ خلال الطور دُخُول / يَحْلُول، ويمكن فقط لتلك التي تفلت إلى السيتوبلازم أن تصل إلى نواة الخلية. وهناك طريقة واحدة للتغلب على هذا العائق وهي باستخدام بوليمرات "إسفنج - بروتون" ("proton - sponge" polymers)، مثل المتعصّنات العديدة (dendrimers) للبولي إيثيلين إيمين (polyethylenimine - PEI) والبولي أميدو أمين (polyamidoamine - PAMAM) (Haensler and Szoka 1993; Boussif et al. 1995). تحتوي هذه البوليمرات على العديد من الأمينات الثانوية (secondary amines) والأمينات الثالثية (tertiary amines)، وتخضع لتبدلات كبيرة في إضافة البروتون أثناء المرور الالْتِقَائِيّ (endocytic trafficking). وتكون هذه العملية مترافقة بالاندِفاق متزايد للأيونات المعاكسة (counterions) وضغط تناضحيّ (osmotic pressure) متزايد وتمزق الحويصلة الذي يؤدي إلى إطلاق الصفائر المتعددة في السيتوبلازم (Behr 1997). وفي محاولة لمحاكاة آليات إفلات الدُخُول التي تستخدمها الفيروسات، فقد تم أيضاً إدراج ببتيدات ذات غشاء فعّال (membrane active peptides)، مثل مُتَوَالِيَةِ الجين الخاص بفيرسُ العَوَزِ المَنَاعِيّ البَشَرِيّ (فيرسُ الإيدز) (HIV TAT sequence) ووَحِيْدَةُ الرَاصَّةِ الدَمَوِيَّةِ لفيروس الإنفلونزا (influenza virus hemagglutinin subunit - HA-2)، في بوليمرات متعددة الكاثيونات (polycationic polymers) (Plank et al. 1998; Beerens et al. 2003). بالإضافة إلى ذلك، يمكن لمتواليّة التَوْضُّع النووي (nuclear localization sequence) أن تكون مُقْتَرَنَةً أيضاً بناقِلٍ من البوليمر (polymer vector) لتعزيز استهداف الحمض النووي (DNA) لنواة الخلية (Cartier and Reszka 2002; Chan and Jans 2002).

High-Throughput (1,4,5,3) طريقة عالية الإنتاجية لتحديد مواد جديدة قابلة للتحلل الحيوي لتوصيل الجينات
Approach to Identify Novel Biodegradable Material for Gene Delivery

لتحسين التوافق الحيوي (biocompatibility) وإطلاق الحمض النووي (DNA)، فقد أدرجت الأعمال البحثية الأخيرة في مجال توصيل الجينات المبني على أساس البوليمرات مكونات قابلة للتحلل الحيوي، مثل روابط الإستر القابلة للحلمهة (hydrolyzable ester bonds)، في التصميم البنيوي (structural design). وقد تم تركيب العديد من النواقل الجينية البوليمرية القابلة للتحلل الحيوي بما في ذلك البولي (أمينو إستر) (poly(amino - ester)) (Lim et al. 2002) وحمض البولي أمينو (poly - amino acid) (Guping et al. 2005) والبولي (بيتا - أمينو إسترات) (poly(β -amino esters)) (Lynn and Anderson et al. 2004; Kim et al. 2005b; Langer 2000; Lynn et al. 2001; Akinc et al. 2003a,b). من بين هؤلاء البوليمرات، تُعتبر البولي (بيتا - أمينو إسترات) مرغوبة بشكل خاص نظراً لتركيبها السهل وكفاءتها العالية للتعديل الجيني وسميتها المنخفضة. وعلى عكس الطريقة التقليدية لتركيب البوليمرات، والتي تشمل غالباً عمليات تنقية (purifications) متعددة المراحل وإجراءات الحماية / إزالة الحماية، فإن هذه البوليمرات يمكن تركيبها بسهولة من خلال الإضافة المتتالية (conjugate addition) لأمينات أولية (primary amines) أو أمينات ثانوية مُضَاعَفَة (bis - secondary amines) لمركبات أكريليت ثنائية (diacrylate compounds) (Lynn and Langer 2000). بالإضافة إلى ذلك، فإن تركيب البوليمرات المستخدمة وفحصها على أساس فردي هي عملية بطيئة وتحتاج إلى عمل مخبري مكثف وهي غير فعّالة. ويسمح التركيب (synthesis) والفحص (screening) عالي الإنتاجية لمكتبة واسعة من البوليمرات باستخدام طرق اندماجية (combinatorial methods) باكتشاف أسرع لنقلات البوليمر المحتملة وفهم أفضل لعلاقة البنية/الخاصية (structure / property relationship).

وتصميم مُحكم لبوليمرات جديدة من أجل التوصيل الجيني. وفي الآونة الأخيرة، ذكر Anderson وآخرون عملية تركيب وفحص على التوازي شبه آلية في الطور السائل (solution - phase) لمكتبة ضخمة تتكون من ٢٣٥٠ بولي (بيتا - أمينو إسترات) متنوعة بنيوياً وقابلة للتحلل وذلك باستخدام مَوَاحيد (مونومرات) (monomers) متوفرة تجارياً (Anderson et al. 2003). وقد اكتشف الفحص عالي الإنتاجية ٤٧ بوليمراً وهي تُظهر كفاءة تعديل جيني أفضل من البولي إيثيلين إيمين (PEI)، والذي يعد أفضل كاشف تعديل جيني بوليمري متاح تجارياً (Anderson et al. 2003). وقد أظهرت تحليل البنية/الخاصية تشابه بنيوي في البوليمرات عالية الأداء، والتي تشكل جميعها من كُحولات أمينية (amino alcohols). إن مثل هذا التقارب البنيوي يوفر فكرة قيمة حول التصميم المحكم لنواقل البوليمر المستخدمة من أجل التوصيل الجيني (Anderson et al. 2005). إن (C32) هو البوليمر ذو الكفاءة الأعلى للتعديل الجيني، وهو بوليمر ينتهي بالأمينو بنتانول (aminopentanol) مع وزن جزيئي (molecular weight) حوالي ١٨ كيلو دالتون (kDa) نسبةً إلى معايير البوليسترين (polystyrene). فعندما يتم حقنه داخل ورم (intratumorally) في الجسم الحي في الفئران، يُظهر البوليمر (C32) توافقاً حيوياً كبيراً ويقلل بشكل ملحوظ من حجم الورم (tumor)، وهي الصفة المميزة التي تُعزى إلى موت الخلايا المبرمج (cell apoptosis) (Anderson et al. 2004; Peng et al. 2007). كما أظهرت البولي (بيتا - أمينو إسترات) عالية الأداء فعالية كبيرة وسُمّية منخفضة في التعديل الجيني للخلايا البطانية الوعائية البشرية الأولية (primary human vascular endothelial cells - HUVEC) في وجود المصل، وهو ما كان يُشكّل تحدياً كبيراً (Green et al. 2006). وقد أظهرت هذه النتائج إمكانية كبيرة لاستخدام هذه البوليمرات من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة الوعائية (vascular tissue engineering).

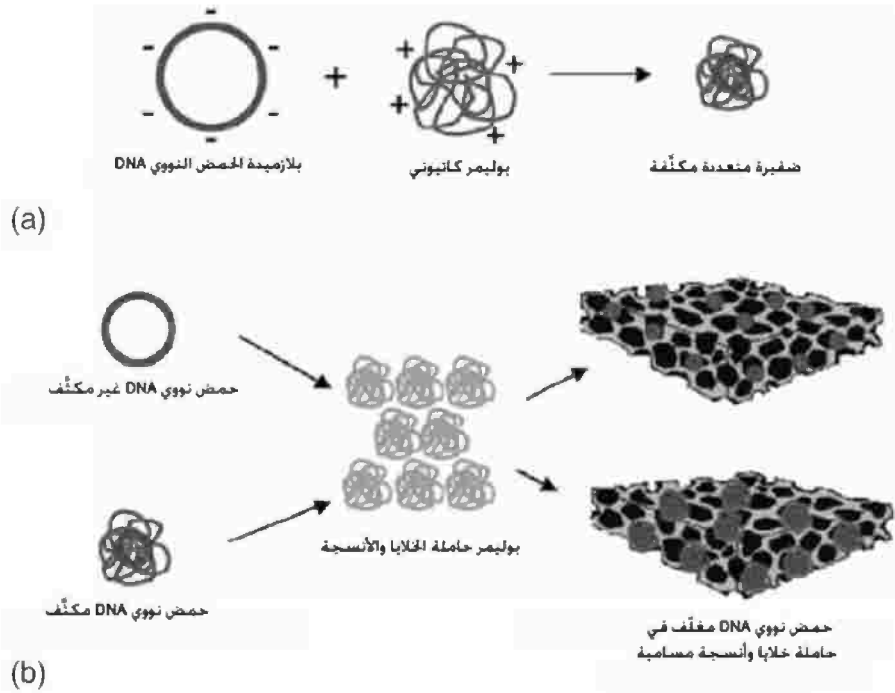
وقد أظهرت البولي (بيتا - أمينو إسترات) المنتهية بالأمين (amine) بأنها وبشكل عام ذات كفاءة أكثر في فعالية التعديل الجيني. ولمواصلة دراسة تأثير نوع مجموعة الأمينات في نهاية السلسلة على التوصيل الجيني، فقد عُرضت طريقة تم تعميمها لتعديل البولي (بيتا - أمينو إسترات) دون الحاجة لعملية التنقية (Zugates et al. 2007). يسمح هذا النظام بالتركيب والفحص السريع للعديد من الأشكال البنيوية المختلفة في نهاية سلسلة البوليمر. إن تعديل نهاية البوليمر (C32) يُحسن وإلى حد كبير من كفاءته في التعديل الجيني في المختبر. وعلى نحو بارز، فقد أدت إستراتيجية تعديل النهاية إلى اكتشاف العديد من البوليمرات الفعالة التي تعمل بشكل جيد جداً في وجود المصل، والتي تتغلب على عقبة كبيرة في استخدام النواقل غير الفيروسية (nonviral vectors) للتوصيل الجيني. في الجسم الحي، يؤدي التوصيل الجيني داخل الصفاق (intraperitoneal - IP) باستخدام بوليمرات الـ (C32) ذات النهاية المعدلة إلى مستويات تعبير ولأكثر من نوع ذات مقدار أعلى من المستويات التي بلغت باستخدام بوليمرات الـ (C32) غير المعدلة.

(١،٤،٥،٤) الإطلاق المتواصل للحمض النووي (DNA) من حاملات خلايا وأنسجة بوليمرية من أجل هندسة

الأنسجة Sustained DNA Release from Polymeric Scaffolds for Tissue Engineering

يسمح توصيل بلازميدات الحمض النووي (DNA) باستخدام حاملات خلايا وأنسجة بوليمرية (polymeric scaffolds) بتوصيل محدد الموقع (localized delivery) على مدى فترة زمنية مَديدة. ففي هذه الطريقة يمكن لبلازميدات الحمض النووي (DNA)، إما المعرّاة وإما المكثفة، أن تُغلّف في حاملات الخلايا والأنسجة البوليمرية وأن تُستخدم مع أو بدون خلايا (الشكل رقم ١.٣). وقد تم استخدام حاملات الخلايا والأنسجة البوليمرية على نطاق واسع

لأغراض إطلاق الدواء المتحكم به (controlled drug release) ويمكن للمعرفة المكتسبة من تلك التطبيقات أن تُطبق أيضاً على توصيل الحمض النووي (DNA). فعلى سبيل المثال، يمكن للتوصيل المحلي لعوامل النمو أن يُشجّع التمايز المطلوب للخلايا وتشكيل الأنسجة، ولكنه عادةً ما يرتبط بمشاكل مثل شكل الإطلاق الانفجاري (burst release profile) وفقد النشاط البروتيني بعد التغليف (encapsulation). وفي المقابل، فإن الإطلاق المتحكم به لبلازميدات الحمض النووي (DNA) يُرمز (encoding) عوامل النمو تلك باستخدام حاملات الخلايا والأنسجة البوليمرية ويمكنه أن يتغلب على القيود المذكورة أعلاه. وقد تم استخدام كل من البوليمرات الاصطناعية والطبيعية المتوافقة حيويًا لأغراض توصيل الحمض النووي (DNA) مثل بولي (لاكتيد-كو-جليكوليد) (PLGA) - poly(lactide-co-glycolide) (PLGA)، والكولاجين والهيالورونان (Cohen et al. 2000; Walter et al. 2001; Eliaz and Szoka 2002; Huang et al. 2003, 2005a; Segura et al. 2005). وقد تبين بأن توصيل الجينات المحدد الموقع باستخدام حاملات الخلايا والأنسجة يُحسن تجديد العظم (bone regeneration) (Huang et al. 2005b)، وتولّد الأوعية الدموية (angiogenesis) (Shea et al. 1999)، بالإضافة إلى تجديد الجلد (skin regeneration) وتجديد الأعصاب (nerve regeneration) (Tyrone et al. 2000; Berry et al. 2001).



الشكل رقم (١,٣). رسم تخطيطي لتكثيف وتغليف الحمض النووي (DNA) في أنظمة تخزين بوليمرية. (a) تجميع الحمض النووي (DNA) مع البوليمرات الكاثيونية (cationic polymers) يؤدي إلى تشكيل ضفائر متعددة بأحجام نانوية (nanometer sized) (polyplexes). (b) يمكن للحمض النووي (DNA) المكثف أو غير المكثف أن يُغلف في حاملات الخلايا والأنسجة البوليمرية للتوصيل المستدام (sustained delivery). (من Sorrie, H. et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 58, 500, 2006).

(١,٤,٥,٥) توصيل الجينات المستهدف من أجل التطبيقات في الجسم الحي Targeted Gene Delivery for In Vivo Applications

لتوصيل الجينات في الجسم الحي، تُعتبر التحديدية (النوعية) (specificity) أمراً بالغ الأهمية، وإحدى الطرق لتحقيق التحديدية هي ربط اللجائن (ligands) المستهدفة بسطح الجسيمات النانوية بحيث يتم التعديل الجيني فقط لنوع الخلايا المستهدفة. إن أحد التحديات الرئيسية يكمن في دراسة التغير في الخصائص الفيزيائية الحيوية (biophysical properties) للجسيمات النانوية بعد عملية التغطية (coating) (Suh et al. 2002; Kursu et al. 2003). وقد تم في الآونة الأخيرة تطوير طريقة عامة لتغطية الجسيمات النانوية للبوليمر / الحمض النووي (DNA)، وقد عُثر على جسيمات نانوية مغلّفة (coated) بالببتيد تمتلك خصائص فيزيائية حيوية ملائمة بما في ذلك جسيمات صغيرة الحجم وجهد زيتا شبه المحايد (near - neutral zeta potential) والاستقرار في المصل (Green et al. 2007). وعند شروط التشكيل المناسبة والتي تتضمن نسبة شحنة شبه محايدة (near - neutral charge ratio)، تسمح الجسيمات النانوية المغلفة بتوصيل جيني فعال محدد الأجن (ligand - specific gene delivery) للخلايا البطانية البشرية الأولية (human primary endothelial cells) في الأوساط التي تحتوي على المصل. ولأن نظام توصيل الدواء الجُسِمانيّ النانوي (nanoparticulate drug delivery system) هذا (المكوّن من جُسِمات نانوية) ذو فعالية عالية ونوعية مبنية على الأجن (ligand - based specificity) وقابلية للتحلل الحيوي (biodegradability) وسُميّة منخفضة للخلايا (cytotoxicity)، فإنه من المحتمل أن يكون مفيداً في العديد من التطبيقات السريرية.

(١,٤,٥,٦) توصيل قليلة النوكليوتيدات المضادة للاتجاه والـ (RNA) (الحمضُ النَّوَوِيّ الرَّيْبِيّ) قصير التداخل Antisense Oligonucleotides and siRNA Delivery

على العكس من توصيل الحمض النووي (DNA)، حيث تتم إثارة جينات معينة، يمكن أيضاً لقليلات النوكليوتيدات (oligonucleotides) المحتوية على تسلسل مُتَمِّم لجين معين أو الحمض النووي (RNA) المرسل (mRNA) أن يتم توصيلها بحيث تبدأ عملية تحليلها وتفككها. وقد تبين أن قليلات النوكليوتيدات المضادة للاتجاه (antisense oligonucleotides) تُخمد من تعبير جينات معينة لإنجاز وظيفة خلوية مرغوبة. وقد وسّع اكتشاف جديد لمسار تداخل الحمض النووي الريبي (RNA interference - RNAi) مجال التوصيل الجيني وفتح أبواباً جديدة لتنظيم النمط الظاهري للخلية (cell phenotype). وقد كان *Caenorhabditis elegans* أول من اكتشف ووصف مسار تداخل الحمض النووي الريبي (RNAi) في عام ١٩٩٨ (Fire et al. 1998)، وبعد ذلك عُثر على هذه الظاهرة موجودة أيضاً في خلايا الثدييات (Elbashir et al. 2001). إن تداخل الحمض النووي الريبي (RNAi) هو عملية التخميد الجيني بعد النسخ (posttranscriptional gene silencing) والمحدد التسلسل وذلك بواسطة الحمض النووي الريبي قصير التداخل (small interfering RNA - siRNA)، وهو نوع من جزيئات الحمض النووي الريبي مزدوج الضفيرة (double - stranded) والتي عادةً ما يكون طولها من ٢٠ إلى ٢٥ نوكليوتيداً. وقد أظهرت العديد من المجموعات البحثية بأن تداخل الحمض النووي الريبي (RNAi) يمكن أن يُحدث في خلايا الثدييات باستخدام الحمض النووي الريبي قصير التداخل (siRNA)

المستمد بشكلٍ خارجي (Caplen et al. 2001; Elbashir et al. 2001). ونظراً لكفاءته العالية في تخميد التعابير الجينية وسهولة الاستخدام، فقد لفت وبشكلٍ سريع انتباهاً كبيراً في الجينومات الوظيفية (functional genomics) وتحليل المسار (pathway analysis) وتجارب التحقق من صحة الهدف الدوائي (drug target validation).

لا يزال التوصيل الآمن والفعال للأحماض النووية يُشكّل التحدي الرئيسي للعلاجات المبنية على الأحماض النووية. ويمكن استخدام العديد من الطرق لتوصيل الحمض النووي الريبي قصير التداخل (siRNA) إلى خلايا الثدييات بما في ذلك النُفوذِيّة الكهربائية (electroporation) والتعديل الجيني العكسي (reverse transfection) والتعديل الجيني الكيميائي (chemical transfection). إن التوصيل غير الفيروسي باستخدام الشحوم أو البوليمرات الكاثيونية هي آمنة وواعدة، إلا أن المجموعة الحالية من مواد التوصيل المتاحة لا تزال محدودة وكفاءة التعديل الجيني ليست مثالية بعد. ومن المأمول في المستقبل أن يؤدي استخدام الطرق عالية الإنتاجية لتركيب وفحص مكتبات ضخمة من جزيئات توصيل غير فيروسية محتملة إلى تحديد مواد جديدة يمكن أن يكون لها تطبيقات واسعة للعلاجات بواسطة توصيل الحمض النووي الريبي قصير التداخل (siRNA) أو قليلة النوكليوتيدات المضادة للاتجاه.

(١,٥) المفاعلات الحيوية في هندسة الأنسجة BIOREACTORS IN TISSUE ENGINEERING

(١,٥,١) متطلبات المفاعلات الحيوية في هندسة الأنسجة Requirements for Bioreactors in Tissue Engineering

مع التقدم السريع في مجال هندسة الأنسجة اكتسبت المفاعلات الحيوية (bioreactors) اهتماماً متزايداً باعتبارها أداة قوية لتقديم محفزات خارجية (exogenous stimuli) إضافية لبناء الأنسجة المهندسة (engineered tissue) من أجل تحقيق النجاح على المدى الطويل. وكوعاء يمكن فيه أن يُتحكم وبشكلٍ دقيق بالعديد من المحددات أو البارامترات (parameters)، يمكن تصميم المفاعلات الحيوية لتوفير الظروف المطلوبة للخلايا لتجديد الأنسجة الوظيفية. أمثلة عن مثل هذه المتغيرات تتضمن الإشارة الميكانيكية (mechanical signal) ودرجة الحرارة ومعدل تدفق أوساط التغذية (media flow rate) وتراكيز الأكسجين وثنائي أكسيد الكربون ومحفزات أخرى خاصة بأنسجة محددة. ولتعزيز تجديد الأنسجة في المختبر، يجب أن يتم تلبية العديد من المتطلبات عند تصميم المفاعلات الحيوية. هذه المتطلبات موصوفة على أفضل وجه بحسب ما يلي:

- (١) وجود الحاجة لمحاكاة (simulate) البيئة في الجسم الحي واللازمة لتكاثر الخلايا وتمييزها، و (٢) أهمية التوزيع الخلوي المتجانس (uniform cellular distribution) في حاملات الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد (3D scaffolds)، و (٣) ضرورة المحافظة على تراكيز كافية من المواد المغذية، و (٤) نقل كتلي (mass transfer) ملائم للمواد المغذية إلى الأنسجة النامية، و (٥) التعرض للمحفزات الفيزيائية (physical stimuli) التي تحاكي ظروف الأنسجة في الجسم الحي (Freed and Vunjak - Novakovic 2000; Ellis, Jarman - Smith, and Chaudhuri 2005).

لتقييم أداء مفاعل حيوي تم تصميمه، ينبغي تقييم الأنسجة المهندسة المزروعة داخل المفاعل الحيوي بشكلٍ بنيوي ووظيفي معاً، ويعتمد التقييم المحدد على نوع الأنسجة المستهدفة. وبشكلٍ عام، يجب على جميع الأنسجة أن تمتلك توزيعاً كافياً للخلايا والمصفوفة خارج الخلية (ECM) والمكونات ذات الخصائص المحددة للأنسجة. فعلى سبيل المثال، تُعتبر كمية الغلوكوزامينوغليكان (glucosaminoglycan - GAG) المقدمة مُطلَباً بنيوياً محدداً من أجل الغضروف المهندس (engineered cartilage) (Freed and Vunjak - Novakovic 2000). ولتحديد الخصائص الوظيفية للأنسجة معينة، مثل الغضروف والأنسجة القلبية، ينبغي أن يتم أيضاً فحص الخصائص الميكانيكية والخصائص الفيزيولوجية الكهربائية (electrophysiological properties)، على التوالي (Bursac et al. 1999; Vunjak - Novakovic et al. 1999). وبالإضافة إلى المتطلبات العامة لجميع المفاعلات الحيوية، يجب أخذ المتطلبات البنيوية والوظيفية الخاصة للأنسجة المستهدفة بعين الاعتبار عند تصميم واتخاذ قرار استخدام أي مفاعل حيوي.

(١،٥،٢) المفاعلات الحيوية لبذر الخلايا الديناميكي Bioreactors for Dynamic Cell Seeding

يمكن استخدام المفاعلات الحيوية لبنية مُهندسة في هياكل مختلفة بحيث تضمن تعزيز بذر الخلايا (cell seeding) وزيادة حجم البنية والخلاوية (cellularity) وتعزيز ترسيب المصفوفة خارج الخلية (ECM). وبشكلٍ عام، فإن الخطوة الأولى في هندسة نسيج ما تشمل بذر الخلايا المناسبة على حاملات الخلايا والأنسجة. وعادةً ما تكون هذه الحاملات بُنى بوليميرية ثلاثية الأبعاد (3D polymeric constructs) قابلة للتحلل الحيوي وتتكون عادةً من البوليمرات الاصطناعية: بولي غليكولايد (polyglycolide) وبولي لاكتيد (polylactide) وبولي لاكتيد كو غليكولايد (poly(lactide coglycolide) (Griffith and Naughton 2002). إن الطريقة التقليدية لبذر الخلايا على حاملات الخلايا والأنسجة تتم في الحالة الساكنة (static manner)؛ مما يؤدي في كثيرٍ من الأحيان إلى كفاءة بذر منخفضة وتوزيع غير متجانس (heterogeneous distribution) للخلايا المبذورة. وعلى أي حال، يتطلب النمو المتجانس للأنسجة عملية ذات قدرة إنتاجية عالية في بذر الخلايا ودرجة كبيرة من التجانس في التصاق الخلايا. وقد تبين بأن البذر المتجانس للخلايا (uniform cell seeding) وبكثافات عالية يؤدي إلى تشكيل أنسجة ثلاثية الأبعاد مُحسنة عند عملية زراعة الخلايا (Martin et al. 2004). وعلى النقيض من عملية البذر الساكنة (static seeding)، قد تُحفز عملية البذر الديناميكي (dynamic seeding) التدفق في الوعاء، سواءً عن طريق مزج الحمل (convective mixing) باستخدام المفاعلات الحيوية ذات الحَوَاجِلَة الدَوَّارة (spinner flask bioreactors) أو عن طريق تدفق الحمل (convective flow) باستخدام المفاعلات الحيوية ذات التدفق المتواصل (perfused bioreactors). تؤدي هذه الطريقة إلى نقل كتلي يظهر من خلال الحمل إلى سطح حاملة الخلايا والأنسجة ومن ثم وبشكلٍ أساسي عن طريق الانتشار عبر حاملة الخلايا والأنسجة. ونظراً لدمج النقل الكتلي بواسطة الحمل، فقد تبين بأن عملية البذر الديناميكي تُنتج كفاءات بذر أعلى (Martin et al. 2004). وعلى الرغم من تلك الكفاءات العالية، فقد لا يؤدي النقل الكتلي بواسطة الحمل إلى توزيعات خلايا متجانسة بشكلٍ كبير. ولضمان التجانس فإنه ومن بين العديد من المحددات الأخرى، يجب تحسين شروط التدفق أو السرعات الدورانية (rotational speeds) وذلك بناءً على خصائص الأنسجة المطلوبة ونوع حاملات الخلايا والأنسجة، الخ. وقد تبين على سبيل المثال، أن التدفق المتواصل المباشر (direct perfusion) في أنظمة البذر يزيد من مستوى التجانس لعملية

البذر والأنسجة اللاحقة، وذلك بالمقارنة مع الأوعية الساكنة (static vessels) والأوعية ذات حَوَاجِل المزج بالتحريك (stirred - flask vessels) (Wendt et al. 2003). في هذه الدراسة، جرى التدفق المتواصل المباشر ضمن المفاعل الحيوي المستخدم للزراعة اللاحقة للأنسجة أيضاً. إن هذه الطريقة تُزيل كل الصعوبات المرتبطة بنقل حاملات الخلايا والأنسجة المبذورة إلى المفاعل الحيوي من أجل الزراعة. بالإضافة إلى ذلك، ومن أجل الخلايا الحساسة للقص (shear sensitive)، فإنه يجب تقليل الوقت الذي تستغرقه في المعلّق (suspension) أثناء عملية البذر إلى الحد الأدنى (Freed and Vunjak - Novakovic 2000). تعتمد الطريقة الدقيقة التي يتم اختيارها في عملية بذر الخلايا وبشكل كبير على نوع الخلايا والأنسجة. وقد أظهرت الدراسات أن الحَوَاجِل المازجة تعمل بشكل جيد من أجل الغضروف، حيث إن معدل الحركة (kinetic rate) ومعدلات تشوهات الخلايا (cell deformation rates) هي أقل ما يمكن (Vunjak - Novakovic et al. 1998). وفي حالة الأنسجة القلبية (cardiac tissues)، فإن الطريقة المختارة لعملية البذر والزراعة هي استخدام أوعية المفاعلات الحيوية الدوّارة (rotating bioreactor vessels) حيث إنها تترافق مع فعّالية استقلابية (metabolic activity) عالية (Carrier et al. 1999).

(١،٥،٣) المفاعلات الحيوية لتحسين النقل الكتلي Bioreactors to Improve Mass Transfer

إن أحد أكبر التحديات في هندسة البنى النسيجية يكمن في السماح لنقل كتلي كافٍ من المواد المغذية إلى حاملات الخلايا والأنسجة المبذورة. وقد تبين أن الجملة الوعائية التي تقوم بالتزويد بالمواد المغذية تكون عادةً ضمن المجال من ١٠٠ إلى ٢٠٠ ميليمتر لنسيج حي في الجسم الحي (Yang et al. 2001)، في حين يجب أن تكون للأنسجة المهندسة على الأقل ضمن مجال عدة ملليمترات في الحجم لتكون مفيدة (Martin et al. 2004). إن ضمان نقل الأكسجين والمواد المغذية على طول هذا المجال مهم جداً في إنشاء أنسجة متعددة الطبقات (multilayer tissues) في تمام الصحة. ولمعالجة هذه المشكلة، فقد تم تطوير العديد من المفاعلات الحيوية بما في ذلك الحَوَاجِل الساكنة / الدوّارة المازجة (static/mixed spinner flasks) والأوعية الجانبية ذات الدّوران البطيء (slow turning lateral vessels - STLTV) والأوعية الدّورانية ذات النسبة الجانبية العالية (نسبة العرض إلى الارتفاع) (high aspect ratio rotating vessels - HARV) والأوعية ذات التدفق المتواصل والجدار الدّوار (rotating wall perfused vessels - RWPV) وأعمدة التدفق المتواصل (perfused columns) وحُجَيرات التدفق المتواصل (perfed chambers) (للمراجعة، انظر (Freed and Vunjak - Novakovic 2000)). في أوعية التدفق المتواصل، يتم الاحتفاظ بالخلايا داخل حُجيرة بدلاً من إزالتها بشكل مستمر وتضمن هذه الحُجيرة التزويد المستمر بالمواد المغذية؛ مما يؤدي إلى إنتاج كثافات خلايا عالية ضمن النسيج. إن جميع أوعية المزج بالتحريك تؤدي أيضاً إلى إنتاج كثافات مرتفعة من الخلايا، ولكن يجب توخي الحذر لضمان ألا يتم المزج بشكل قوي جداً في حالة الخلايا الحساسة للقص. لقد تم في البداية تطوير الأوعية الدّورانية، مثل الأوعية الجانبية ذات الدّوران البطيء (STLTV) والأوعية ذات التدفق المتواصل والجدار الدّوار (RWPV)، من قبل الإدارة الوطنية للملاحة الجوية والفضاء (NASA) لاستخدامها في تجارب الجاذبية المايكروية (microgravity)، مما أسفر عن حاملات خلايا وأنسجة عائمة بشكل حر (free - floating scaffolds) (حرّة الحركة أو غير مرتبطة) وشروط تدفق صَفَائِحِيّ (laminar flow) بشكل عالٍ. ومع وجود التدفق الصَفَائِحِيّ بشكل كبير، فإنه يتم التقليل إلى الحد الأدنى من قيود النقل الكتلي إلى سطح حاملات الخلايا والأنسجة ويمكن أن ينشئ النقل الفعّال للمواد المغذية (Ellis et al. 2005). وقد تم

فحص تأثيرات استخدام الأوعية الجانبية ذات الدوران البطيء (STLVs) والأوعية ذات التدفق المتواصل والجدار الدوار (RWPVs) في مزارع الغضاريف والجلد، وقد أنتج كلٌّ منهما أنسجة ذات خصائص أفضل بشكلٍ عام مما كانت عليه عندما كانت تُستخدم الأوعية الأخرى (Ellis et al. 2005).

عند التصميم واتخاذ القرار أي من المفاعلات الحيوية سيتم تنفيذه، فمن المهم الأخذ بعين الاعتبار مجالات الطول الضرورية والتوازنات بين النقل الكتلي بواسطة الحمل وبواسطة الانتشار (عدد بيكلت (Peclet number, Pe)، ولا سيما في حالة بذر الخلايا. وأثناء عملية الزراعة، فإنه من الأهمية بمكان الأخذ بعين الاعتبار التوازن بين معدلات التفاعل (reaction rates) والنقل الكتلي الانتشاري (diffusional mass transfer) (عدد دامكولار (Damköhler number, Da)، وهو النمط السائد للنقل الكتلي ضمن حاملات الخلايا والأنسجة. إن معدلات التفاعل ذات الصلة هي تلك الخاصة باستهلاك المواد المغذية (nutrient consumption). وبأخذ متطلبات الأنسجة بعين الاعتبار، فإن تجريب أعداد مختلفة من Pe و Da يمكن أن يساعد على تحديد القيم المثلى لمحددات أو بارامترات المفاعل الحيوي (bioreactor parameters)، مثل الفترات الزمنية للإقامة (residence times) وتركيب المواد المغذية المستخدمة.

(١,٥,٤) المفاعلات الحيوية لتوفير محفزات ميكانيكية لتشكيل أنسجة مُحسَّنة Bioreactors to Provide Mechanical Stimuli for Enhanced Tissue Formation

تسمح المفاعلات الحيوية أيضاً بدراسات المحفزات الميكانيكية على الخلايا وبُنَى الأنسجة ثلاثية الأبعاد. وقد تبين أن المحفزات الميكانيكية، مثل إجهاد القص (shear stress) الناشئ عن خصائص التدفق، يكون لها تأثير كبير على تطور الأنسجة (Ellis et al. 2005). على سبيل المثال، تواجه عضلة القلب (cardiac muscle) في الجسم الحي تدفقات نابضة (pulsatile flows) قوية، في حين يواجه العظم وبشكلٍ مستمر إجهاد وضغط ميكانيكي. وفي محاولة لمحاكاة الظروف في الجسم الحي، أدى التعرض لمحفزات ميكانيكية مختلفة أثناء عملية البذر والزراعة في المفاعلات الحيوية إلى تحسُّن كبير في وظائف الأنسجة المهندسة. فعلى سبيل المثال، يؤدي تعريض الخلايا القلبية (cardiac cells) إلى شدِّ ميكانيكي دوري (cyclical mechanical stretching) إلى تحسُّن ملحوظ في تكاثر وتوزيع الخلايا بالإضافة إلى تنظيم المصفوفة خارج الخلية (ECM)، الأمر الذي يؤدي في نهاية المطاف إلى زيادة أكبر في قوة النسيج (Akhyari et al. 2002). وفي حالة الخلايا الغضروفية، يُحسَّن كلٌّ من الضغط الديناميكي (dynamic compression) والقص الديناميكي (dynamic shearing) من إنتاج المصفوفة خارج الخلية (ECM) والخصائص الميكانيكية للأنسجة (Waldman et al. 2003). ومن المثير للاهتمام، فقد لوحظ أيضاً أن نقل إجهادات القص على النسيج الغضروفي النامي يؤدي إلى مزيدٍ من التحسُّن في الخواص الميكانيكية بالمقارنة مع الضغط على الأنسجة المعرضة (Waldman et al. 2003). تدعم هذه النتيجة فكرة أن التأثيرات الدقيقة للمحفزات الميكانيكية المختلفة على هذه الأنسجة تختلف بشكلٍ كبير مع نوع المحفزات المطبقة ونوع النسيج، وهي تؤكد أيضاً على الحاجة لدراسة تأثيرات المحددات أو البارامترات الفردية على تطور الأنسجة بشكلٍ منفصل.

(١,٥,٥) الاتجاهات المستقبلية لاستخدام المفاعلات الحيوية في هندسة الأنسجة Future Directions for Using Bioreactors in Tissue Engineering

تُعتبر المفاعلات الحيوية أدوات قوية لتوفير بيئة أكثر ملاءمة لهندسة بُنى نسيجية في المختبر. وتمثل تطبيقاتها لزراعة الأنسجة المهندسة من أجل الاستخدام في التطبيقات الطبية الحيوية الاتجاهات الحالية والمستقبلية والتي اكتسبت جاذبية كبيرة. ولقد كان (Dermagraft) المنتج الأول الذي أظهر استخدام المفاعلات الحيوية على نطاقٍ واسع، وهو عبارة عن طُعمٍ جلديّ (skin graft) تم تطويره من قبل علوم الأنسجة المتقدمة (Advanced Tissue Sciences) (Martin et al. 2004). فبالإضافة إلى قدرتها الكبيرة في إنشاء طُعمٍ نسيجيّ (tissue grafts) من أجل التطبيقات السريرية، تُعتبر المفاعلات الحيوية وستستمر كأدوات مفيدة جداً لدراسة نمو الأنسجة بشكلٍ عام. وعلى عكس الشروط في الجسم الحي، تسمح المفاعلات الحيوية بالتحكم وفحص تأثيرات العوامل المحددة على تطوير الأنسجة بشكلٍ فردي أو في تركيبات متنوعة. إن المعرفة المكتسبة من مثل هذه الدراسات الميكانيكية ستوفر بدورها التوجيه للبحوث في مجال تصنيع الأنسجة من أجل الاستخدامات السريرية. وكمجال آخر مثير للاهتمام، حيث يمكن استخدام المفاعلات الحيوية باعتبارها أداة قيمة، هو دراسة تأثير المحددات المختلفة على تطوير الأنسجة أثناء العمليات الباثولوجية (المَرَصِيَّة) (pathological processes) والأمراض المختلفة (Griffith and Naughton 2002). وستؤدي مثل هذه الأفكار الجديدة جنباً إلى جنب مع تطوير أنظمة تحكم جديدة على وشك الظهور والدراسات الحاسوبية لديناميكية السوائل إلى تطوير مفاعلات حيوية وأنسجة مُهندسة أكثر تطوراً في المستقبل.

(١,٦) الاستنتاجات CONCLUSIONS

لقد نما مجال هندسة الأنسجة نمواً سريعاً على مدى العقدين الماضيين، مدفوعاً بالطلب الهائل والقدرة الواقعية لهذا التخصص الجديد. وقد أُحرز تقدّم كبير بما في ذلك عزل واستخدام الخلايا البالغة والخلايا الجذعية الجنينية وتطوير حاملات خلايا وأنسجة قابلة للتحلل الحيوي وتوصيل العديد من العوامل المحفزة للأنسجة وتطبيقات المفاعلات الحيوية لتعزيز تشكيل الأنسجة. وعلى الرغم من تحقيق تقدمات كبيرة، إلا أن معظم العلاجات التجديدية (regenerative therapies) لا تزال في المرحلة التطويرية. إن فهم البيولوجيا الأساسية (fundamental biology) المرتبطة بتطوير الأنسجة الطبيعية هو أمرٌ مهم جداً لتطوير طرق أكثر قوة لإنجاز تمايز الخلايا المتحكم به وتشكيل الأنسجة. ويمكن لطريقة أكثر كميّة مثل بيولوجيا النظام (system biology) والنمذجة الحاسوبية (computational modeling) أن تُسلط الضوء أيضاً على فك رموز الشبكة المعقدة لنقل الإشارات. ويمكن للتطورات في تقنية التصنيع المايكرو (microfabrication technology) أن تساعد أيضاً في تصميم حاملات خلايا وأنسجة اصطناعية (artificial scaffolds) وأن تسمح بدراسات ميكانيكية للمنبهات المكانية (spatial cues) والتدرجات (gradients)، ... إلخ. إن توليد أنسجة تحتوي على أوعية دموية هو شرط أساسي لمعظم أنواع الأنسجة لتكون مفيدة سريريّاً. وباختصار، فإن تحقيق مزيد من التقدم في هذا المجال سيعتمد على التقدم والتفاعلات الدقيقة بين التخصصات المتعددة، مثل البيولوجيا التطورية وتقنية النانو وعلوم المواد (material sciences) وعلم المناعة (immunology) والبيولوجيا الحاسوبية (computational biology).

المراجع REFERENCES

- Aggarwal, S. and M.F. Pittenger. 2005. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 105(4):1815–1822.
- Akhyari, P., P.W.M. Fedak, R.D. Weisel, T.Y.J. Lee, S. Verma, D.A.G. Mickle, and R.K. Li. 2002. Mechanical stretch regimen enhances the formation of bioengineered autologous cardiac muscle grafts. *Circulation* 106:1137–1142.
- Akinc, A., D.G. Anderson, D.M. Lynn, and R. Langer. 2003a. Synthesis of poly(beta-amino ester)s optimized for highly effective gene delivery. *Bioconjug Chem* 14(5):979–988.
- Akinc, A., D.M. Lynn, D.G. Anderson, and R. Langer. 2003b. Parallel synthesis and biophysical characterization of a degradable polymer library for gene delivery. *J Am Chem Soc* 125(18):5316–5323.
- Albrecht, D.R., G.H. Underhill, T.B. Wassermann, R.L. Sah, and S.N. Bhatia. 2006. Probing the role of multicellular organization in three-dimensional microenvironments. *Nat Methods* 3(5):369–375.
- Anderson, D.G., A. Akinc, N. Hossain, and R. Langer. 2005. Structure/property studies of polymeric gene delivery using a library of poly(beta-amino esters). *Mol Ther* 11(3):426–434.
- Anderson, D.G., D.M. Lynn, and R. Langer. 2003. Semi-automated synthesis and screening of a large library of degradable cationic polymers for gene delivery. *Angew Chem Int Ed Engl* 42(27):3153–3158.
- Anderson, D.G., W. Peng, A. Akinc, N. Hossain, A. Kohn, R. Padera, R. Langer, and J.A. Sawicki. 2004. A polymer library approach to suicide gene therapy for cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(45): 16028–16033.
- Arcaute, K., B.K. Mann, and R.B. Wicker. 2006. Stereolithography of three-dimensional bioactive poly (ethylene glycol) constructs with encapsulated cells. *Ann Biomed Eng* 34(9):1429–1441.
- Aubin, J.E. 1998. Bone stem cells. *J Cell Biochem Suppl* 30–31:73–82.
- Baier Leach, J., K.A. Bivens, C.W. Patrick, Jr., and C.E. Schmidt. 2003. Photocrosslinked hyaluronic acid hydrogels: Natural, biodegradable tissue engineering scaffolds. *Biotechnol Bioeng* 82(5):578–589.
- Baksh, D., J.E. Davies, and P.W. Zandstra. 2003. Adult human bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells are capable of adhesion-independent survival and expansion. *Exp Hematol* 31(8):723–732.
- Baksh, D., R. Yao, and R.S. Tuan. 2007. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells* 25(6):1384–1392.
- Beerens, A.M., A.F. Al Hadithy, M.G. Rots, and H.J. Haisma. 2003. Protein transduction domains and their utility in gene therapy. *Curr Gene Ther* 3(5):486–494.
- Behr, J.P. 1997. The proton sponge: A trick to enter cells the viruses did not exploit. *Chimia* 51(1–2):34–36.
- Beniash, E., J.D. Hartgerink, H. Storrie, J.C. Stendahl, and S.I. Stupp. 2005. Self-assembling peptide amphiphile nanofiber matrices for cell entrapment. *Acta Biomater* 1(4):387–397.
- Berry, M., A.M. Gonzalez, W. Clarke, L. Greenlees, L. Barrett, W. Tsang, L. Seymour, J. Bonadio, A. Logan, and A. Baird. 2001. Sustained effects of gene-activated matrices after CNS injury. *Mol Cell Neurosci* 17(4):706–716.
- Bissell, M.J., H.G. Hall, and G. Parry. 1982. How does the extracellular matrix direct gene expression? *J Theor Biol* 99(1):31–68.
- Boland, T., V. Mironov, A. Gutowska, E.A. Roth, and R.R. Markwald. 2003. Cell and organ printing 2: Fusion of cell aggregates in three-dimensional gels. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 272(2): 497–502.
- Boontheekul, T. and D.J. Mooney. 2003. Protein-based signaling systems in tissue engineering. *Curr Opin Biotechnol* 14(5):559–565.
- Boussif, O., F. Lezoualc'h, M.A. Zanta, M.D. Mergny, D. Scherman, B. Demeneix, and J.P. Behr. 1995. A versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and in vivo: Polyethylenimine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(16):7297–7301.

- Brittberg, M., A. Lindahl, A. Nilsson, C. Ohlsson, O. Isaksson, and L. Peterson. 1994. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 331(14): 889–895.
- Bruder, S.P., D.J. Fink, and A.I. Caplan. 1994. Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy. *J Cell Biochem* 56(3):283–294.
- Burke, P.A. 2000. Controlled release protein therapeutic effects of process and formulation on stability. In *Handbook of Pharmaceutical Release Technology*, edited by D.L. Wise. New York: Marcel Dekker.
- Bursac, N., M. Papadaki, R.J. Cohen, F.J. Schoen, S.R. Eisenberg, R. Carrier, G. Vunjak-Novakovic, and L.E. Freed. 1999. Cardiac muscle tissue engineering: Toward an in vitro model for electrophysiological studies. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 277(2):433–444.
- Caplan, A.I. and S.P. Bruder. 2001. Mesenchymal stem cells: Building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Mol Med* 7(6):259–264.
- Caplen, N.J., S. Parrish, F. Imani, A. Fire, and R.A. Morgan. 2001. Specific inhibition of gene expression by small double-stranded RNAs in invertebrate and vertebrate systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(17): 9742–9747.
- Carrier, R., M. Papadaki, M. Rupnick, F.J. Schoen, N. Bursac, R. Langer, L.E. Freed, and G. Vunjak-Novakovic. 1999. Cardiac tissue engineering: Cell seeding, cultivation parameters and tissue construct characterization. *Biotechnol Bioeng* 64(5):580–589.
- Cartier, R. and R. Reszka. 2002. Utilization of synthetic peptides containing nuclear localization signals for nonviral gene transfer systems. *Gene Ther* 9(3):157–167.
- Cetrulo, C.L. Jr. 2006. Cord-blood mesenchymal stem cells and tissue engineering. *Stem Cell Rev* 2(2): 163–168.
- Chan, C.K. and D.A. Jans. 2002. Using nuclear targeting signals to enhance non-viral gene transfer. *Immunol Cell Biol* 80(2):119–130.
- Chang, P.L., J.M. Van Raamsdonk, G. Hortelano, S.C. Barsoum, N.C. MacDonald, and T.L. Stockley. 1999. The in vivo delivery of heterologous proteins by microencapsulated recombinant cells. *Trends Biotechnol* 17(2):78–83.
- Chen, R.R., E.A. Silva, W.W. Yuen, and D.J. Mooney. 2007. Spatio-temporal VEGF and PDGF delivery patterns blood vessel formation and maturation. *Pharm Res* 24(2):258–264.
- Chua, C.K., K.F. Leong, K.H. Tan, F.E. Wiria, and C.M. Cheah. 2004. Development of tissue scaffolds using selective laser sintering of polyvinyl alcohol/hydroxyapatite biocomposite for craniofacial and joint defects. *J Mater Sci Mater Med* 15(10):1113–1121.
- Cohen, H., R.J. Levy, J. Gao, I. Fishbein, V. Kousaev, S. Sosnowski, S. Slomkowski, and G. Golomb. 2000. Sustained delivery and expression of DNA encapsulated in polymeric nanoparticles. *Gene Ther* 7(22):1896–1905.
- Cooke, M.N., J.P. Fisher, D. Dean, C. Rimnac, and A.G. Mikos. 2003. Use of stereolithography to manufacture critical-sized 3D biodegradable scaffolds for bone ingrowth. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 64B(2):65–69.
- Cowan, C.M., Y.Y. Shi, O.O. Aalami, Y.F. Chou, C. Mari, R. Thomas, N. Quarto, C.H. Contag, B. Wu, and M.T. Longaker. 2004. Adipose-derived adult stromal cells heal critical-size mouse calvarial defects. *Nat Biotechnol* 22(5):560–567.
- Crump, S.S. 1992. Apparatus and method for creating three-dimensional objects. Stratasys Inc., assignee. U.S. Patent 5,121,329.
- Dagalakis, N., J. Flink, P. Stasikelis, J.F. Burke, and I.V. Yannas. 1980. Design of an artificial skin. Part III. Control of pore structure. *J Biomed Mater Res* 14(4):511–528.
- Dash, P.R., M.L. Read, L.B. Barrett, M.A. Wolfert, and L.W. Seymour. 1999. Factors affecting blood clearance and in vivo distribution of polyelectrolyte complexes for gene delivery. *Gene Ther* 6(4):643–650.
- DeLong, S.A., J.J. Moon, and J.L. West. 2005. Covalently immobilized gradients of bFGF on hydrogel scaffolds for directed cell migration. *Biomaterials* 26(16):3227–3234.

- Dhariwala, B., E. Hunt, and T. Boland. 2004. Rapid prototyping of tissue-engineering constructs, using photopolymerizable hydrogels and stereolithography. *Tissue Eng* 10(9–10):1316–1322.
- During, M.J. 1997. Adeno-associated virus as a gene delivery system. *Adv Drug Deliv Rev* 27(1):83–94.
- Dutta Roy, T., J.L. Simon, J.L. Ricci, E.D. Rekow, V.P. Thompson, and J.R. Parsons. 2003. Performance of hydroxyapatite bone repair scaffolds created via three-dimensional fabrication techniques. *J Biomed Mater Res A* 67(4):1228–1237.
- Edelman, E.R., E. Mathiowitz, R. Langer, and M. Klagsbrun. 1991. Controlled and modulated release of basic fibroblast growth factor. *Biomaterials* 12(7):619–626.
- Elbashir, S.M., J. Harborth, W. Lendeckel, A. Yalcin, K. Weber, and T. Tuschl. 2001. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 411(6836):494–498.
- Eliaz, R.E. and F.C. Szoka, Jr. 2002. Robust and prolonged gene expression from injectable polymeric implants. *Gene Ther* 9(18):1230–1237.
- Elisseeff, J., A. Ferran, S. Hwang, S. Varghese, and Z. Zhang. 2006. The role of biomaterials in stem cell differentiation: Applications in the musculoskeletal system. *Stem Cells Dev* 15(3):295–303.
- Ellis, M., M. Jarman-Smith, and J.B. Chaudhuri. 2005. Bioreactor systems for tissue engineering: A fourdimensional challenge. In *Bioreactors for Tissue Engineering*, edited by J. Chaudhuri and M. Al-Rubeai. Dordrecht: Springer.
- Fire, A., S. Xu, M.K. Montgomery, S.A. Kostas, S.E. Driver, and C.C. Mello. 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391(6669):806–811.
- Folkman, J. 1971. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Engl J Med* 285(21):1182–1186.
- Freed, L.E. and G. Vunjak-Novakovic. 2000. Tissue engineering bioreactors. In *Principles of Tissue Engineering*, edited by R.P. Lanza, R. Langer, and J. Vacanti. San Diego: Academic Press.
- Fu, K., A.M. Klibanov, and R. Langer. 2000. Protein stability in controlled-release systems. *Nat Biotechnol* 18(1):24–25.
- Gelain, F., A. Horii, and S. Zhang. 2007. Designer self-assembling peptide scaffolds for 3-d tissue cell cultures and regenerative medicine. *Macromol Biosci* 7(5):544–551.
- Gene Therapy Clinical Trials online, <http://www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/>. Accessed 2005.
- Giordano, R.A., B.M. Wu, S.W. Borland, L.G. Cima, E.M. Sachs, and M.J. Cima. 1996. Mechanical properties of dense polylactic acid structures fabricated by three dimensional printing. *J Biomater Sci Polym Ed* 8(1):63–75.
- Green, J.J., E. Chiu, E.S. Leshchiner, J. Shi, R. Langer, and D.G. Anderson. 2007. Electrostatic ligand coatings of nanoparticles enable ligand-specific gene delivery to human primary cells. *Nano Lett* 7(4): 874–879.
- Green, J.J., J. Shi, E. Chiu, E.S. Leshchiner, R. Langer, and D.G. Anderson. 2006. Biodegradable polymeric vectors for gene delivery to human endothelial cells. *Bioconjug Chem* 17(5):1162–1169.
- Griffith, L.G. and G. Naughton. 2002. Tissue engineering-current challenges and expanding opportunities. *Science* 295:1009–1016.
- Guping, Y., T. Guping, and Yanjie. 2005. A new biodegradable poly-amino acid: Alpha,beta-poly[(N-hydroxypropyl/ aminoethyl)-DL-aspartamide-co-L-lysine], a potential nonviral vector for gene delivery. *Drug Deliv* 12(2):89–96.
- Haensler, J. and F.C Szoka. 1993. Polyamidoamine cascade polymers mediate efficient transfection of cells in culture. *Bioconjug Chem* 4(5):372–379.
- Hartgerink, J.D., E. Beniash, and S.I. Stupp. 2001. Self-assembly and mineralization of peptide-amphiphile nanofibers. *Science* 294(5547):1684–1688.
- Hartgerink, J.D., E. Beniash, and S.I. Stupp. 2002. Peptide-amphiphile nanofibers: A versatile scaffold for the preparation of self-assembling materials. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(8):5133–5138.

- He, X. and E. Jabbari. 2007. Material properties and cytocompatibility of injectable MMP degradable poly (lactide ethylene oxide fumarate) hydrogel as a carrier for marrow stromal cells. *Biomacromolecules* 8(3):780–792.
- Healy, K.E., A. Rezaia, and R.A. Stile. 1999. Designing biomaterials to direct biological responses. *Ann N Y Acad Sci* 875:24–35.
- Helmlinger, G., F. Yuan, M. Dellian, and R.K. Jain. 1997. Interstitial pH and pO₂ gradients in solid tumors in vivo: High-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nat Med* 3(2):177–182.
- Herbert, P., K. Murphy, O. Johnson, N. Dong, W. Jaworowicz, M.A. Tracy, J.L. Cleland, and S.D. Putney. 1998. A large-scale process to produce microencapsulated proteins. *Pharm Res* 15(2):357–361.
- Hern, D.L. and J.A. Hubbell. 1998. Incorporation of adhesion peptides into nonadhesive hydrogels useful for tissue resurfacing. *J Biomed Mater Res* 39(2):266–276.
- Hill, E., T. Boontheekul, and D.J. Mooney. 2006. Regulating activation of transplanted cells controls tissue regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(8):2494–2499.
- Holland, T.A., Y. Tabata, and A.G. Mikos. 2005. Dual growth factor delivery from degradable oligo (poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogel scaffolds for cartilage tissue engineering. *J Control Release* 101(1–3):111–125.
- Hollister, S.J. 2005. Porous scaffold design for tissue engineering. *Nat Mater* 4(7):518–524.
- Hollister, S.J., R.A. Levy, T.M. Chu, J.W. Halloran, and S.E. Feinberg. 2000. An image-based approach for designing and manufacturing craniofacial scaffolds. *Int J Oral Maxillofac Surg* 29(1):67–71.
- Hoque, M.E., D.W. Hutmacher, W. Feng, S. Li, M.H. Huang, M. Vert, and Y.S. Wong. 2005. Fabrication using a rapid prototyping system and in vitro characterization of PEG–PCL–PLA scaffolds for tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed* 16(12):1595–1610.
- Huang, Y.C., M. Connell, Y. Park, D.J. Mooney, and K.G. Rice. 2003. Fabrication and in vitro testing of polymeric delivery system for condensed DNA. *J Biomed Mater Res A* 67(4):1384–1392.
- Huang, Y.C., K. Riddle, K.G. Rice, and D.J. Mooney. 2005a. Long-term in vivo gene expression via delivery of PEI-DNA condensates from porous polymer scaffolds. *Hum Gene Ther* 16(5):609–617.
- Huang, Y.C., C. Simmons, D. Kaigler, K.G. Rice, and D.J. Mooney. 2005b. Bone regeneration in a rat cranial defect with delivery of PEI-condensed plasmid DNA encoding for bone morphogenetic protein-4 (BMP-4). *Gene Ther* 12(5):418–426.
- Hubbell, J.A. 1995. Biomaterials in tissue engineering. *Biotechnology (N Y)* 13(6):565–576.
- Hubbell, J.A. 1999. Bioactive biomaterials. *Curr Opin Biotechnol* 10(2):123–129.
- Hulbert, S.F., F.A. Young, R.S. Mathews, J.J. Klawitter, C.D. Talbert, and F.H. Stelling. 1970. Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses. *J Biomed Mater Res* 4(3):433–456.
- Hutmacher, D.W., T. Schantz, I. Zein, K.W. Ng, S.H. Teoh, and K.C. Tan. 2001. Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling. *J Biomed Mater Res* 55(2):203–216.
- Hwang, N.S., M.S. Kim, S. Sampattavanich, J.H. Baek, Z. Zhang, and J. Elisseeff. 2006. Effects of threedimensional culture and growth factors on the chondrogenic differentiation of murine embryonic stem cells. *Stem Cells* 24(2):284–291.
- Hwang, W.S., Y.J. Ryu, J.H. Park, E.S. Park, E.G. Lee, J.M. Koo, H.Y. Jeon, B.C. Lee, S.K. Kang, S.J. Kim, C. Ahn, J.H. Hwang, K.Y. Park, J.B. Cibelli, and S.Y. Moon. 2004. Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science* 303(5664):1669–1674.
- Ingber, D.E., V.C. Mow, D. Butler, L. Niklason, J. Huard, J. Mao, I. Yannas, D. Kaplan, and G. Vunjak-Novakovic. 2006. Tissue engineering and developmental biology: Going biomimetic. *Tissue Eng* 12(12): 3265–3283.

- Itala, A.I., H.O. Ylanen, C. Ekholm, K.H. Karlsson, and H.T. Aro. 2001. Pore diameter of more than 100 microm is not requisite for bone ingrowth in rabbits. *J Biomed Mater Res* 58(6):679–683.
- Izadpanah, R., C. Trygg, B. Patel, C. Kriedt, J. Dufour, J.M. Gimble, and B.A. Bunnell. 2006. Biologic properties of mesenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue. *J Cell Biochem* 99(5):1285–1297.
- Jiang, W. and S.P. Schwendeman. 2001. Stabilization and controlled release of bovine serum albumin encapsulated in poly(D,L-lactide) and poly(ethylene glycol) microsphere blends. *Pharm Res* 18(6): 878–885.
- Johnson, M.E., D. Blankschtein, and R. Langer. 1997. Evaluation of solute permeation through the stratum corneum: Lateral bilayer diffusion as the primary transport mechanism. *J Pharm Sci* 86(10): 1162–1172.
- Kaneko, T., S. Tanaka, A. Ogura, and M. Akashi. 2005. Tough, thin hydrogel membranes with giant crystalline domains composed of precisely synthesized macromolecules. *Macromolecules* 38(11):4861–4867.
- Karageorgiou, V. and D. Kaplan. 2005. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials* 26(27):5474–5491.
- Karp, J.M., F. Sarraf, M.S. Shoichet, and J.E. Davies. 2004. Fibrin-filled scaffolds for bone-tissue engineering: An in vivo study. *J Biomed Mater Res A* 71(1):162–171.
- Khalyfa, A., S. Vogt, J. Weisser, G. Grimm, A. Rechtenbach, W. Meyer, and M. Schnabelrauch. 2007. Development of a new calcium phosphate powder-binder system for the 3D printing of patient specific implants. *J Mater Sci Mater Med* 18(5):909–916.
- Kim, M.S., N.S. Hwang, J. Lee, T.K. Kim, K. Leong, M.J. Shambloft, J. Gearhart, and J. Elisseeff. 2005a. Musculoskeletal differentiation of cells derived from human embryonic germ cells. *Stem Cells* 23(1): 113–123.
- Kim, T.I., H.J. Seo, J.S. Choi, J.K. Yoon, J.U. Baek, K. Kim, and J.S. Park. 2005b. Synthesis of biodegradable cross-linked poly(beta-amino ester) for gene delivery and its modification, inducing enhanced transfection efficiency and stepwise degradation. *Bioconjug Chem* 16(5):1140–1148.
- Krewson, C.E., R. Dause, M. Mak, and W.M. Saltzman. 1996. Stabilization of nerve growth factor in controlled release polymers and in tissue. *J Biomater Sci Polym Ed* 8(2):103–117.
- Kruyt, M.C., J.D. de Bruijn, C.E. Wilson, F.C. Oner, C.A. van Blitterswijk, A.J. Verbout, and W.J. Dhert. 2003. Viable osteogenic cells are obligatory for tissue-engineered ectopic bone formation in goats. *Tissue Eng* 9(2):327–336.
- Kursa, M., G.F. Walker, V. Roessler, M. Ogris, W. Roedl, R. Kircheis, and E. Wagner. 2003. Novel shielded transferrin-polyethylene glycol-polyethylenimine/DNA complexes for systemic tumor-targeted gene transfer. *Bioconjug Chem* 14(1):222–231.
- Landers, R. and R. Mülhaupt. 2000. Desktop manufacturing of complex objects, prototypes and biomedical scaffolds by means of computer-assisted design combined with computer-guided 3D plotting of polymers and reactive oligomers. *Macromol Mater Eng* 282:17–21.
- Langer, R. and J. Folkman. 1976. Polymers for the sustained release of proteins and other macromolecules. *Nature* 263(5580):797–800.
- Langer, R. and D.A. Tirrell. 2004. Designing materials for biology and medicine. *Nature* 428(6982):487–492.
- Langer, R. and J.P. Vacanti. 1993. Tissue engineering. *Science* 260(5110):920–926.
- Lanza, R.P., J.B. Cibelli, and M.D. West. 1999. Prospects for the use of nuclear transfer in human transplantation. *Nat Biotechnol* 17(12):1171–1174.
- Lanza, R.P., J.B. Cibelli, M.D. West, E. Dorff, C. Tauer, and R.M. Green. 2001. The ethical reasons for stem cell research. *Science* 292(5520):1299.
- Le Blanc, K., L. Tammik, B. Sundberg, S.E. Haynesworth, and O. Ringden. 2003. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. *Scand J Immunol* 57(1):11–20.

- Leach, J.B., K.A. Bivens, C.N. Collins, and C.E. Schmidt. 2004. Development of photocrosslinkable hyaluronic acid-polyethylene glycol-peptide composite hydrogels for soft tissue engineering. *J Biomed Mater Res A* 70(1):74–82.
- Lee, K.W., S. Wang, B.C. Fox, E.L. Ritman, M.J. Yaszemski, and L. Lu. 2007. Poly(propylene fumarate) bone tissue engineering scaffold fabrication using stereolithography: Effects of resin formulations and laser parameters. *Biomacromolecules* 8(4):1077–1084.
- Lee, K.Y., M.C. Peters, K.W. Anderson, and D.J. Mooney. 2000. Controlled growth factor release from synthetic extracellular matrices. *Nature* 408(6815):998–1000.
- Leong, K.F., C.M. Cheah, and C.K. Chua. 2003. Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs. *Biomaterials* 24(13):2363–2378.
- Li, G., A.S. Virdi, D.E. Ashhurst, A.H. Simpson, and J.T. Triffitt. 2000. Tissues formed during distraction osteogenesis in the rabbit are determined by the distraction rate: Localization of the cells that express the mRNAs and the distribution of types I and II collagens. *Cell Biol Int* 24(1):25–33.
- Lim, Y.B., S.M. Kim, H. Suh, and J.S. Park. 2002. Biodegradable, endosome disruptive, and cationic networktype polymer as a highly efficient and nontoxic gene delivery carrier. *Bioconjug Chem* 13(5):952–957.
- Liu, V.A. and S.N. Bhatia. 2002. Three-dimensional photopatterning of hydrogels containing living cells. *Biomed Microdev* 4(4):257–266.
- Lo, H., M.S. Ponticciello, and K.W. Leong. 1995. Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation. *Tissue Eng* 1(1):15–28.
- Lu, L., M.J. Yaszemski, and A.G. Mikos. 2001. TGF-beta1 release from biodegradable polymer microparticles: Its effects on marrow stromal osteoblast function. *J Bone Joint Surg Am* 83-A Suppl 1(Pt 2):S82–S91.
- Lutolf, M.P. and J.A. Hubbell. 2005. Synthetic biomaterials as instructive extracellular microenvironments for morphogenesis in tissue engineering. *Nat Biotechnol* 23(1):47–55.
- Lynn, D.M., D.G. Anderson, D. Putnam, and R. Langer. 2001. Accelerated discovery of synthetic transfection vectors: Parallel synthesis and screening of a degradable polymer library. *J Am Chem Soc* 123(33): 8155–8156.
- Lynn, D.M. and R. Langer. 2000. Degradable poly(beta-amino esters): Synthesis, characterization, and selfassembly with plasmid DNA. *J Am Chem Soc* 122(44):10761–10768.
- Lysaght, M.J. and J. Reyes. 2001. The growth of tissue engineering. *Tissue Eng* 7(5):485–493. Macpherson, H., P. Keir, S. Webb, K. Samuel, S. Boyle, W. Bickmore, L. Forrester, and J. Dorin. 2005. Bone marrow-derived SP cells can contribute to the respiratory tract of mice in vivo. *J Cell Sci* 118(Pt 11): 2441–2450.
- Maitra, B., E. Szekely, K. Gjini, M.J. Laughlin, J. Dennis, S.E. Haynesworth, and O.N. Koc. 2004. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation. *Bone Marrow Transplant* 33(6):597–604.
- Manjubala, I., A. Woesz, C. Pilz, M. Rumpler, N. Fratzl-Zelman, P. Roschger, J. Stampfl, and P. Fratzl. 2005. Biomimetic mineral-organic composite scaffolds with controlled internal architecture. *J Mater Sci Mater Med* 16(12):1111–1119.
- Mankovich, N.J., A.M. Cheeseman, and N.G. Stoker. 1990. The display of three-dimensional anatomy with stereolithographic models. *J Digit Imaging* 3(3):200–203.
- Martin, I., D. Wendt, and M. Heberer. 2004. The role of bioreactors in tissue engineering. *Trends Biotechnol* 22(2):80–86.
- Matthews, J.A., G.E. Wnek, D.G. Simpson, and G.L. Bowlin. 2002. Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules* 3(2):232–238.
- McIntire, L.V. 2003. WTEC panel report on tissue engineering. *Tissue Eng* 9(1):3–7.
- Merdan, T., J. Kopecek, and T. Kissel. 2002. Prospects for cationic polymers in gene and oligonucleotide therapy against cancer. *Adv Drug Deliv Rev* 54(5):715–758.

- Mikos, A.G., S.W. Herring, P. Ochareon, J. Elisseeff, H.H. Lu, R. Kandel, F.J. Schoen, M. Toner, D. Mooney, A. Atala, M.E. Van Dyke, D. Kaplan, and G. Vunjak-Novakovic. 2006. Engineering complex tissues. *Tissue Eng* 12(12):3307–3339.
- Mislick, K.A. and J.D. Baldeschwieler. 1996. Evidence for the role of proteoglycans in cation-mediated gene transfer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(22):12349–12354.
- Mooney, D.J., D.F. Baldwin, N.P. Suh, J.P. Vacanti, and R. Langer. 1996. Novel approach to fabricate porous sponges of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) without the use of organic solvents. *Biomaterials* 17(14): 1417–1422.
- Mooney, D.J., G. Organ, J.P. Vacanti, and R. Langer. 1994. Design and fabrication of biodegradable polymer devices to engineer tubular tissues. *Cell Transplant* 3(2):203–210.
- Moore, K., M. MacSween, and M. Shoichet. 2006. Immobilized concentration gradients of neurotrophic factors guide neurite outgrowth of primary neurons in macroporous scaffolds. *Tissue Eng* 12(2):267–278.
- Mosahebi, A., M. Simon, M. Wiberg, and G. Terenghi. 2001. A novel use of alginate hydrogel as Schwann cell matrix. *Tissue Eng* 7(5):525–534.
- Murugan, R. and S. Ramakrishna. 2006. Nano-featured scaffolds for tissue engineering: A review of spinning methodologies. *Tissue Eng* 12(3):435–447.
- Murugan, R. and S. Ramakrishna. 2007. Design strategies of Tissue engineering scaffolds with controlled fiber orientation. *Tissue Eng*.
- Muschler, G.F., C. Nakamoto, and L.G. Griffith. 2004. Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering. *J Bone Joint Surg Am* 86-A(7):1541–1558.
- Nahmias, Y., R.E. Schwartz, C.M. Verfaillie, and D.J. Odde. 2005. Laser-guided direct writing for threedimensional tissue engineering. *Biotechnol Bioeng* 92(2):129–136.
- Nair, L.S. and C.T. Laurencin. 2006. Polymers as biomaterials for tissue engineering and controlled drug delivery. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 102:47–90.
- Nelson, C.M. and M.J. Bissell. 2006. Of extracellular matrix, scaffolds, and signaling: Tissue architecture regulates development, homeostasis, and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol* 22:287–309.
- Nickerson, J. 2001. Experimental observations of a nuclear matrix. *J Cell Sci* 114(Pt 3):463–474.
- Nuttelman, C.R., M.C. Tripodi, and K.S. Anseth. 2006. Dexamethasone-functionalized gels induce osteogenic differentiation of encapsulated hMSCs. *J Biomed Mater Res A* 76(1):183–195.
- Odde, D.J. and M.J. Renn. 2000. Laser-guided direct writing of living cells. *Biotechnol Bioeng* 67(3): 312–318.
- Oldham, J.B., L. Lu, X. Zhu, B.D. Porter, T.E. Hefferan, D.R. Larson, B.L. Currier, A.G. Mikos, and M.J. Yaszemski. 2000. Biological activity of rhBMP-2 released from PLGA microspheres. *J Biomech Eng* 122(3):289–292.
- Osawa, M., K. Hanada, H. Hamada, and H. Nakauchi. 1996. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science* 273(5272):242–245.
- Pack, D.W., A.S. Hoffman, S. Pun, and P.S. Stayton. 2005. Design and development of polymers for gene delivery. *Nat Rev Drug Discov* 4(7):581–593.
- Park, K., H.H. Jung, J.S. Son, J.-W. Rhie, K.D. Park, K.-D. Ahn, and D.K. Han. 2007. Thermosensitive and cell-adhesive pluronic hydrogels for human adipose-derived stem cells. *Key Engineering Materials* 342–343 (Advanced Biomaterials VII):301–304.
- Partridge, K.A. and R.O. Oreffo. 2004. Gene delivery in bone tissue engineering: Progress and prospects using viral and nonviral strategies. *Tissue Eng* 10(1–2):295–307.
- Pearse, D.D., F.C. Pereira, A.E. Marcillo, M.L. Bates, Y.A. Berrocal, M.T. Filbin, and M.B. Bunge. 2004. cAMP and Schwann cells promote axonal growth and functional recovery after spinal cord injury. *Nat Med* 10(6):610–616.

- Peng, W., D.G. Anderson, Y. Bao, R.F. Padera, Jr., R. Langer, and J.A. Sawicki. 2007. Nanoparticulate delivery of suicide DNA to murine prostate and prostate tumors. *Prostate* 67(8):855–862.
- Peppas, N.A. and R. Langer. 1994. New challenges in biomaterials. *Science* 263(5154):1715–1720.
- Peterson, L., T. Minas, M. Brittberg, A. Nilsson, E. Sjogren-Jansson, and A. Lindahl. 2000. Two- to 9-year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin Orthop Relat Res* (374):212–234.
- Petite, H., V. Viateau, W. Bensaid, A. Meunier, C. de Pollak, M. Bourguignon, K. Oudina, L. Sedel, and G. Guillemain. 2000. Tissue-engineered bone regeneration. *Nat Biotechnol* 18(9):959–963.
- Pittenger, M.F., A.M. Mackay, S.C. Beck, R.K. Jaiswal, R. Douglas, J.D. Mosca, M.A. Moorman, D.W. Simonetti, S. Craig, and D.R. Marshak. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284(5411):143–147.
- Plank, C., W. Zauner, and E. Wagner. 1998. Application of membrane-active peptides for drug and gene delivery across cellular membranes. *Adv Drug Deliv Rev* 34(1):21–35.
- Prestrelski, S.J., N. Tedeschi, T. Arakawa, and J.F. Carpenter. 1993. Dehydration-induced conformational transitions in proteins and their inhibition by stabilizers. *Biophys J* 65(2):661–671.
- Rowley, J.A., G. Madlambayan, and D.J. Mooney. 1999. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. *Biomaterials* 20(1):45–53.
- Sachlos, E., D. Gotor, and J.T. Czernuszka. 2006. Collagen scaffolds reinforced with biomimetic composite nano-sized carbonate-substituted hydroxyapatite crystals and shaped by rapid prototyping to contain internal microchannels. *Tissue Eng* 12(9):2479–2487.
- Sachlos, E., N. Reis, C. Ainsley, B. Derby, and J.T. Czernuszka. 2003. Novel collagen scaffolds with predefined internal morphology made by solid freeform fabrication. *Biomaterials* 24(8):1487–1497.
- Sachs, E.M., S.H. John, J.C. Michael, and A.W. Paul, 1993. Three-dimensional printing techniques. Massachusetts Institute of Technology, assignee. U.S. Patent 5,204,055.
- Saltzman, W.M. and W.L. Olbricht. 2002. Building drug delivery into tissue engineering. *Nat Rev Drug Discov* 1(3):177–186.
- Sanders, J.E., S.G. Malcolm, S.D. Bale, Y.N. Wang, and S. Lamont. 2002. Prevascularization of a biomaterial using a chorioallantoic membrane. *Microvasc Res* 64(1):174–178.
- Sawada, T., K. Tsukada, K. Hasegawa, Y. Ohashi, Y. Udagawa, and V. Gomel. 2001. Cross-linked hyaluronate hydrogel prevents adhesion formation and reformation in mouse uterine horn model. *Hum Reprod* 16(2):353–356.
- Schnabel, M., S. Marlovits, G. Eckhoff, I. Fichtel, L. Gotzen, V. Vecsei, and J. Schlegel. 2002. Dedifferentiation-associated changes in morphology and gene expression in primary human articular chondrocytes in cell culture. *Osteoarthritis Cartilage* 10(1):62–70.
- Schwendeman, S.P. 2002. Recent advances in the stabilization of proteins encapsulated in injectable PLGA delivery systems. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 19(1):73–98.
- Segura, T., P.H. Chung, and L.D. Shea. 2005. DNA delivery from hyaluronic acid-collagen hydrogels via a substrate-mediated approach. *Biomaterials* 26(13):1575–1584.
- Shamblott, M.J., J. Axelman, S. Wang, E.M. Bugg, J.W. Littlefield, P.J. Donovan, P.D. Blumenthal, G.R. Huggins, and J.D. Gearhart. 1998. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(23):13726–13731.
- Shea, L.D., E. Smiley, J. Bonadio, and D.J. Mooney. 1999. DNA delivery from polymer matrices for tissue engineering. *Nat Biotechnol* 17(6):551–554.
- Shu, X.Z., K. Ghosh, Y. Liu, F.S. Palumbo, Y. Luo, R.A. Clark, and G.D. Prestwich. 2004. Attachment and spreading of fibroblasts on an RGD peptide-modified injectable hyaluronan hydrogel. *J Biomed Mater Res A* 68(2):365–375.

- Sohier, J., T.J. Vlugt, N. Cabrol, C. Van Blitterswijk, K. de Groot, and J.M. Bezemer. 2006. Dual release of proteins from porous polymeric scaffolds. *J Control Release* 111(1-2):95-106.
- Sokolsky-Papkov, M., K. Agashi, A. Olaye, K. Shakesheff, and A.J. Domb. 2007. Polymer carriers for drug delivery in tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev* 59(4-5):187-206.
- Sottile, V., A. Thomson, and J. McWhir. 2003. In vitro osteogenic differentiation of human ES cells. *Cloning Stem Cells* 5(2):149-155.
- Street, J., D. Winter, J.H. Wang, A. Wakai, A. McGuinness, and H.P. Redmond. 2000. Is human fracture hematoma inherently angiogenic? *Clin Orthop Relat Res* (378):224-237.
- Suciati, T., D. Howard, J. Barry, N.M. Everitt, K.M. Shakesheff, and F.R. Rose. 2006. Zonal release of proteins within tissue engineering scaffolds. *J Mater Sci Mater Med* 17(11):1049-1056.
- Suh, W., S.O. Han, L. Yu, and S.W. Kim. 2002. An angiogenic, endothelial-cell-targeted polymeric gene carrier. *Mol Ther* 6(5):664-672.
- Sun, J.J., C.J. Bae, Y.H. Koh, H.E. Kim, and H.W. Kim. 2007. Fabrication of hydroxyapatite-poly(epsilon-caprolactone) scaffolds by a combination of the extrusion and bi-axial lamination processes. *J Mater Sci Mater Med* 18(6):1017-1023.
- Tabata, Y. 2003. Tissue regeneration based on growth factor release. *Tissue Eng* 9(Suppl 1):S5-S15.
- Tan, K.H., C.K. Chua, K.F. Leong, C.M. Cheah, W.S. Gui, W.S. Tan, and F.E. Wiria. 2005. Selective laser sintering of biocompatible polymers for applications in tissue engineering. *Biomed Mater Eng* 15(1-2):113-124.
- Tan, W. and T.A. Desai. 2004. Layer-by-layer microfluidics for biomimetic three-dimensional structures. *Biomaterials* 25(7-8):1355-1364.
- Tessmar, J.K. and A.M. Gopferich. 2007a. Customized PEG-derived copolymers for tissue-engineering applications. *Macromol Biosci* 7(1):23-39.
- Tessmar, J.K. and A.M. Gopferich 2007b. Matrices and scaffolds for protein delivery in tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev* 59(4-5):274-291.
- Thomson, J.A., J. Itskovitz-Eldor, S.S. Shapiro, M.A. Waknitz, J.J. Swiergiel, V.S. Marshall, and J.M. Jones. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282(5391):1145-1147.
- Tomita, M., T. Mori, K. Maruyama, T. Zahir, M. Ward, A. Umezawa, and M.J. Young. 2006. A comparison of neural differentiation and retinal transplantation with bone marrow-derived cells and retinal progenitor cells. *Stem Cells* 24(10):2270-2278.
- Tresco, P.A., R. Biran, and M.D. Noble. 2000. Cellular transplants as sources for therapeutic agents. *Adv Drug Deliv Rev* 42(1-2):3-27.
- Tsuboi, R., M. Yamazaki, Y. Matsuda, K. Uchida, R. Ueki, and H. Ogawa. 2007. Antisense oligonucleotide targeting fibroblast growth factor receptor (FGFR)-1 stimulates cellular activity of hair follicles in an in vitro organ culture system. *Int J Dermatol* 46(3):259-263.
- Tyrone, J.W., J.E. Mogford, L.A. Chandler, C. Ma, Y. Xia, G.F. Pierce, and T.A. Mustoe. 2000. Collagenembedded platelet-derived growth factor DNA plasmid promotes wound healing in a dermal ulcer model. *J Surg Res* 93(2):230-236.
- Um, S.H., J.B. Lee, N. Park, S.Y. Kwon, C.C. Umbach, and D. Luo. 2006. Enzyme-catalysed assembly of DNA hydrogel. *Nat Mater* 5(10):797-801.
- Vacanti, J.P., M.A. Morse, W.M. Saltzman, A.J. Domb, A. Perez-Atayde, and R. Langer. 1988. Selective cell transplantation using bioabsorbable artificial polymers as matrices. *J Pediatr Surg* 23(1) (Pt 2):3-9.
- Velema, J. and D. Kaplan. 2006. Biopolymer-based biomaterials as scaffolds for tissue engineering. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 102:187-238.
- Vile, R.G., A. Tuszynski, and S. Castleden. 1996. Retroviral vectors. From laboratory tools to molecular medicine. *Mol Biotechnol* 5(2):139-158.

- Viola, J., B. Lal, and O. Grad. 2003. The Emergence of Tissue Engineering as a Research Field. Arlington, VA: National Science Foundation.
- Vunjak-Novakovic, G. and D.L. Kaplan. 2006. Tissue engineering: The next generation. *Tissue Eng* 12(12): 3261–3263.
- Vunjak-Novakovic, G., I. Martin, B. Obradovic, S. Treppo, A.J. Grodzinsky, R. Langer, and L.E. Freed. 1999. Bioreactor cultivation conditions modulate the composition and mechanical properties of tissue engineered cartilage. *J Orthop Res* 17(1):130–138.
- Vunjak-Novakovic, G., B. Obradovic, P. Bursac, I. Martin, R. Langer, and L.E. Freed. 1998. Dynamic seeding of polymer scaffolds for cartilage tissue engineering. *Biotechnol Prog* 14(2):193–202.
- Wagner, E., R. Kircheis, and G.F. Walker. 2004. Targeted nucleic acid delivery into tumors: New avenues for cancer therapy. *Biomed Pharmacother* 58(3):152–161.
- Wald, H.L., G. Sarakinos, M.D. Lyman, A.G. Mikos, J.P. Vacanti, and R. Langer. 1993. Cell seeding in porous transplantation devices. *Biomaterials* 14(4):270–278.
- Waldman, S.D., C.G. Spiteri, M.D. Gryn timer, R.M. Pilliar, J. Hong, and R.A. Kandel. 2003. Effect of biomechanical conditioning on cartilaginous tissue formation in vitro. *J Bone Joint Surg Am* 85:101–105.
- Walter, E., D. Dreher, M. Kok, L. Thiele, S.G. Kiama, P. Gehr, and H.P. Merkle. 2001. Hydrophilic poly(DLlactide-co-glycolide) microspheres for the delivery of DNA to human-derived macrophages and dendritic cells. *J Control Release* 76(1–2):149–168.
- Wendt, D., A. Marsano, M. Jakob, M. Heberer, and I. Martin. 2003. Oscillating perfusion of cell suspensions through three-dimensional scaffolds enhances cell seeding efficiency and uniformity. *Biotechnol Bioeng* 84(2):205–214.
- Wettergreen, M.A., B.S. Bucklen, W. Sun, and M.A. Liebschner. 2005. Computer-aided tissue engineering of a human vertebral body. *Ann Biomed Eng* 33(10):1333–1343.
- Williams, J.M., A. Adewunmi, R.M. Schek, C.L. Flanagan, P.H. Krebsbach, S.E. Feinberg, S.J. Hollister, and S. Das. 2005. Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering. *Biomaterials* 26(23):4817–4827.
- Wilson, C.E., W.J. Dhert, C.A. Van Blitterswijk, A.J. Verbout, and J.D. De Bruijn. 2002. Evaluating 3D bone tissue engineered constructs with different seeding densities using the alamarBlue assay and the effect on in vivo bone formation. *J Mater Sci Mater Med* 13(12):1265–1269.
- Wilton, S.D., A.M. Fall, P.L. Harding, G. McClorey, C. Coleman, and S. Fletcher. 2007. Antisense oligonucleotide-induced exon skipping across the human dystrophin gene transcript. *Mol Ther* 15(7): 1288–1296.
- Wiria, F.E., K.F. Leong, C.K. Chua, and Y. Liu. 2007. Poly-epsilon-caprolactone/hydroxyapatite for tissue engineering scaffold fabrication via selective laser sintering. *Acta Biomater* 3(1):1–12.
- Wise, D.L., ed. 2000. *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. New York: Marcel Dekker.
- Wood, K.C., S.R. Little, R. Langer, and P.T. Hammond. 2005. A family of hierarchically self-assembling linear-dendritic hybrid polymers for highly efficient targeted gene delivery. *Angew Chem Int Ed Engl* 44(41):6704–6708.
- Wray, J.B. 1970. The biochemical characteristics of the fracture hematoma in man. *Surg Gynecol Obstet* 130(5):847–852.
- Yang, F., R. Murugan, S. Wang, and S. Ramakrishna. 2005a. Electrospinning of nano/micro scale poly(L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. *Biomaterials* 26(15):2603–2610.
- Yang, F., C.G. Williams, D.A. Wang, H. Lee, P.N. Manson, and J. Elisseeff. 2005b. The effect of incorporating RGD adhesive peptide in polyethylene glycol diacrylate hydrogel on osteogenesis of bone marrow stromal cells. *Biomaterials* 26(30):5991–5998.
- Yang, S., K.F. Leong, Z. Du, and C.K. Chua. 2001. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Eng* 7(6):679–689.

- Yeo, Y., C.B. Highley, E. Bellas, T. Ito, R. Marini, R. Langer, and D.S. Kohane. 2006. In situ cross-linkable hyaluronic acid hydrogels prevent post-operative abdominal adhesions in a rabbit model. *Biomaterials* 27(27):4698–4705.
- Yin, Y., M.T. Henzl, B. Lorber, T. Nakazawa, T.T. Thomas, F. Jiang, R. Langer, and L.I. Benowitz. 2006. Oncomodulin is a macrophage-derived signal for axon regeneration in retinal ganglion cells. *Nat Neurosci* 9(6):843–852.
- Zhang, S., F. Gelain, and X. Zhao. 2005. Designer self-assembling peptide nanofiber scaffolds for 3D tissue cell cultures. *Semin Cancer Biol* 15(5):413–420.
- Zhu, G., S.R. Mallery, and S.P. Schwendeman. 2000. Stabilization of proteins encapsulated in injectable poly(lactide-co-glycolide). *Nat Biotechnol* 18(1):52–57.
- Zugates, G.T., W. Peng, A. Zumbuehl, S. Jhunjhunwala, Y.H. Huang, R. Langer, J.A. Sawicki, and D.G. Anderson. 2007. Rapid optimization of gene delivery by parallel end-modification of poly(betaamino ester)s. *Mol Ther* 15(7):1306–1312.
- Zuk, P.A., M. Zhu, H. Mizuno, J. Huang, J.W. Futrell, A.J. Katz, P. Benhaim, H.P. Lorenz, and M.H. Hedrick. 2001. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 7(2):211–228.

التحليل من أعلى للأسفل لبيئة ديناميكية:

بنية ووظيفة المصفوفة خارج الخلية

Top–Down Analysis of a Dynamic Environment: Extracellular Matrix Structure and Function

Mandana Veischi, Eva A. Turley, and Mina J. Bissell

المحتويات CONTENTS

٥٠	INTRODUCTION مقدمة (٢,١)
	STRUCTURE AND FUNCTION OF NORMAL ORGANS AND بنية ووظيفة الأعضاء والأنسجة الطبيعية (٢,٢)
٥١	TISSUES
٥٣	EXTRACELLULAR MATRIX المصفوفة خارج الخلية (٢,٣)
٥٤	Composition of ECM تركيب المصفوفة خارج الخلية (٢,٣,١)
٥٥	Structural Elements of ECM العناصر البنيوية للمصفوفة خارج الخلية (٢,٣,٢)
٥٥	Nonfibrous Components المكونات غير الليفية (٢,٣,٢,١)
٥٦	Fibrous Components المكونات الليفية (٢,٣,٢,٢)
٥٧	Multidomain Proteins البروتينات متعددة المجالات (٢,٣,٢,٣)
٥٩	FUNCTIONS OF EXTRACELLULAR MATRIX وظائف المصفوفة خارج الخلية (٢,٤)
٦٠	Cell–Extracellular Matrix Interactions تفاعلات خلية–مصفوفة خارج الخلية (٢,٤,١)

٦٤	PLAYERS	٢,٥	تفاعل الخلايا-المواد الحيوية: العناصر الرئيسية CELL-BIOMATERIALS INTERACTION: THE CENTRAL
٦٤	Adhesion الالتصاق	٢,٥,١	
٦٦	Ultra-Signaling To Ultra-Patterns	٢,٥,٢	نقل إشارات فائقة لأنماط فائقة
٦٧	CONCLUSIONS	٢,٦	الاستنتاجات
٦٧	FUTURE DIRECTION	٢,٧	التوجه المستقبلي
٦٧	ACKNOWLEDGMENTS		شكر وتقدير
٦٨	REFERENCES		المراجع

٢,١ مقدمة INTRODUCTION

تعتبر المصفوفة خارج الخلية (ECM) وشكلها المتخصص والغشاء القاعدي (basement membrane - BM) عناصر ديناميكية وأساسية لا غنى عنها لجميع الأعضاء فهي تقوم بتوفير الحمل البنيوي للخلايا والأنسجة والمعلومات السياقية [1,2]. إن المصفوفة خارج الخلية (ECM)، بكونها عنصراً من الأنسجة، هي ثلاثية الأبعاد (3D) وهي عبارة عن مركب كيميائي غير متجانس (heterogeneous) مصنوعة من وحدات بنيوية ووظيفية متعددة والتي تماثل لَجِيناً (ligand) (جزء بلتحم بجزء آخر) متعدد التكافؤ (multivalent). إن المفهوم الذي يتجلى وراء وظائف المصفوفة خارج الخلية (ECM) بتوفيرها لبيئة ساكنة أو بنيوية كان قد عُرض في الأصل في دراسات البيولوجيا التطورية [3] كما أن وجود النقل المتبادل (cross - talk) بين المصفوفة خارج الخلية والكروماتين (chromatin)، والمسمى اصطلاحاً "التبادلية الديناميكية" ("dynamic reciprocity") كان قد اقترح بالبداهة في نموذج نظري في عام ١٩٨٢ [4]. هذه النتائج هي الآن قيد النقل في هندسة الأنسجة: "وهو مجال متعدد التخصصات يُطبّق مبادئ العلوم الهندسية وعلوم الحياة في اتجاه تطوير بدائل بيولوجية (biological substitutes) من أجل إصلاح أو تجديد وظائف الأنسجة أو الأعضاء" [5,6].

إن الفهم المفصّل لبنية ووظيفة الأنسجة الطبيعية، بالإضافة إلى القدرة على محاكاة الوظائف الموضعية (in situ) بشكلٍ دقيق هو أمر أساسي لتطوير الأعضاء الاصطناعية (artificial organs) وإستراتيجيات هندسة الأنسجة. وهذا ليس ممكناً من دون الأخذ بعين الاعتبار الأدوار التي تلعبها المصفوفة خارج الخلية (ECM) في تفاعلاتها مع الخلايا والخلايا - المواد الحيوية. فما إن توضع الخلايا على تماس مع مادة حيوية ملائمة [7]، حتى تستمر في الازدياد والتكاثر والتمايز وإفراز العوامل (secrete factors) بما في ذلك جزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM) وتقوم بإعادة تشكيل (remodel) بيئتها. ومن أجل التوصل إلى الفهم الجزيئي لهذه العملية، فقد اعتمد علماء البيولوجيا الجزيئية والخلوية ولعقود على زراعة الخلايا على ركائز (طبقات

سطحية) ثنائية الأبعاد (2D substrata). وعلى أي حال، فإن وظائف الخلية - المصفوفة خارج الخلية (ECM) تكون مختلفة بشكل كبير في الأنظمة ثنائية الأبعاد مقابل الأنظمة ثلاثية الأبعاد (3D) أو حتى في الأنظمة ثلاثية الأبعاد مقابل الأنظمة في الجسم الحي [8-12]. وقد تم في عددٍ من النشرات الحديثة من مختبرنا وصف أهمية البيئة المايكروية والمصفوفة خارج الخلية (ECM) والبنية الهندسية ثلاثية الأبعاد في تحديد نوعية العضو بتفصيلٍ أكثر مما سوف يُنظر إليه هنا [13-15].

لقد أدى فهمنا الحالي لأهمية نقل الإشارات بواسطة البيئة المايكروية (microenvironment - mediated signaling) في تحديد نوعية الأنسجة وبنيتها الهندسية، وعلى التوازي مع التقدم في تقنية النانو، إلى إمكانية ابتكار منتجات نسيجية مهندسة (tissue - engineered products) ذات خصائص أكثر شبيهاً بخصائص الأنسجة الأصلية. وحيث إن سياق البيئة المايكروية والبنية الهندسية للأنسجة قد سبق بحثها في الغدد الثديية (mammary glands)، فإننا نلفت الانتباه هنا إلى "البيئة النانوية" ("nanoenvironment") من خلال النظر في البنى النانوية الوظيفية الرئيسية التي تشكل المصفوفة خارج الخلية (ECM). في الواقع، فإن العديد من الجزيئات البيولوجية (مثل البروتينات والاتصالات البؤرية (focal adhesions)) هي بنى نانوية؛ وبالتالي فإن الخلايا في أجسامنا مبرمجة على التفاعل مع المواد ذات الطور النانوي (nanophase materials). باستخدام الطريقة من أعلى إلى أسفل (top - down approach)، والتي تُعرّف في تقنية النانو بأنها الطرق والأدوات اللازمة لبناء المكونات الصغيرة بدءاً من المواد المنتظمة الأكبر [16]، وسنشرح البيئة المايكروية للأنسجة (المادة الأكبر) في مكوناتها الأصغر (مكونات المصفوفة خارج الخلية) وسنحلل بعضاً من أدوارها التنظيمية في بنية الأنسجة الهندسية ووظيفتها في هذا الفصل. وسنصف على وجه التحديد المبادئ الرئيسية التي تنظم بنية ووظيفة الأعضاء والأنسجة الطبيعية باستخدام تخلق أو تكون غدة الثدي (mammary gland morphogenesis) كمثال (على الرغم من أن هذه المبادئ الأساسية تتجاوز هذا العضو)، إضافة إلى تلك المبادئ الخاصة بتفاعل المصفوفة خارج الخلية (ECM) مع الخلايا داخل الأنسجة أو المواد الحيوية الصلبة. وسنستنتج أنه على الرغم من أننا نعرف الحروف الأبجدية ولو لبعض من لغة الجينات المشاركة في هذه العمليات، إلا أننا لا نفهم حتى الآن الحروف الأبجدية ومنطق البنية الهندسية للعضو في المستوى الفيزيولوجي النانوي، والذي يُعد أمراً ضرورياً لمحاكاة (imitate) وظيفة العضو بشكل دقيق في هندسة الأنسجة.

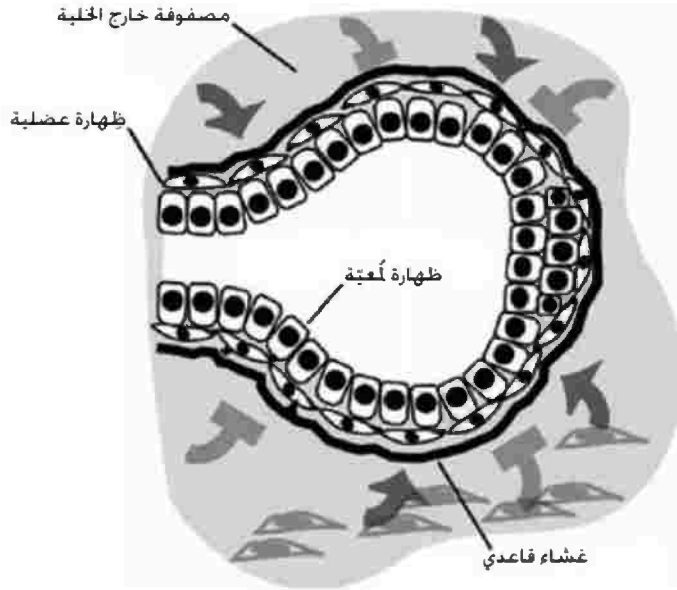
(٢,٢) بنية ووظيفة الأعضاء والأنسجة الطبيعية STRUCTURE AND FUNCTION OF NORMAL ORGANS AND TISSUES

تتكون الأعضاء من أنواع مختلفة من الخلايا والمصفوفات خارج الخلايا (ECM) منظمة في أنماط بنوية معقدة مكانياً. وكل عضو له شكل مميز (أي نمط بنوي فريد) مصمم خصيصاً لتنسيق وظائفه الفيزيولوجية. على سبيل المثال، تتكون العضلة الهيكلية (skeletal muscle) من خلايا الأرومة العضلية (myoblasts) مُدمجة في ألياف عضلية مَحْلُوَّة (syncytial myofibers) كبيرة ومرتبطة في حزم كثيفة وبتنظيم يسمح بنقل مُنسَق للقوى الميكانيكية لمسافات طويلة، وهي مهمة غير ممكنة لخلايا الأرومة الليفية العضلية (myofibroblasts) المفردة. وتظهر علاقات فريدة بين الشكل والوظيفة في الأنسجة ذات

الوظائف الامتصاصية (absorptive functions) أو الوظائف الإفرازية (secretory functions) مثل الرئة والكلية والأمعاء وغدة الثدي، حيث تكون الظهارة (epithelium) منظمة في وحدات بنوية مصممة لزيادة مساحة السطح إما للامتصاص أو الإفراز [17]. وبالتالي؛ تتكون بنية جميع الأعضاء من عناصر خلوية وخارج خلوية محددة، وتُفرض البنية الهندسية من خلال الحاجة الوظيفية. تحتفظ مكونات الخلية والمصفوفة خارج الخلية (ECM) في الأعضاء بذاكرة العمليات التطورية (developmental processes) التي أدت إليها، وتبقى هذه مستقرة طالما لا تتوقف التفاعلات الفيزيولوجية لخلية-خلية وخلية-مصفوفة خارج الخلية مع الإشارات الخلوية (humoral signals) المناسبة. ويمكن لفقدان أو سوء تنظيم هذه التفاعلات أن يؤدي إلى حالات مرضية ينتج عنها فقدان اكتمال البنية الهندسية وبالتالي إخلال بوظيفة الأنسجة.

وعلى الرغم من أن معظم الأعضاء تبلغ حالتها التطورية الثابتة في نهاية مرحلة التكوّن الجنيني (embryogenesis)، إلا أن بعضها يخضع أيضاً إلى تغييرات تطورية كبيرة في مرحلة البلوغ. إن غدة الثدي والأمعاء هما مثالان على ذلك، فكلاهما يقدم نماذج ممتازة لتخلق الأنسجة (tissue morphogenesis) والاستتباب (homeostasis) (التوازن الداخلي) في بيئات ثلاثية الأبعاد بما في ذلك حاملات الخلايا والأنسجة المصممة (designer scaffolds) والمستخدمه في هندسة الأنسجة. ستركز في هذا الفصل على غدة الثدي (الشكل رقم ٢.١) [18]. بغض النظر عن حالتها التطورية، فإن ظهارة الثدي (mammary epithelium) هي بنية مُستقطبة ثنائية الطبقات (polarized bilayered structure) مكونة من تجمع داخلي مستمر لخلايا لمعية ظهارية (luminal epithelial cells) محاطة بطبقة خارجية من الخلايا الظهارية العضلية (myoepithelial cells). وهذه الطبقة الثنائية مفصولة عن السدى (stroma) بواسطة غشاء قاعدي غني ببروتين اللامينين (laminin - rich basement membrane). يُعد السدى وسطاً ضامماً (connective milieu) يتألف من خلايا الأرومة الليفية (fibroblasts) وخلايا شحمية (adipocytes) وأعصاب وأوعية دموية وأوعية لمفاوية (lymphatics) وخلايا مناعية (لمزيد من التفاصيل، انظر [19-21]). خلال فترة البلوغ تتفرّع ظهارة غدة الثدي إلى العديد من القنوات (ducts) ذات البنى الانتهائية والمعروفة باسم العُنبيات (acini) لوحدات فُصيصية قنوية انتهائية (terminal ductal lobular units - TDLU) في البشر.

يتم الحفاظ على هذا النمط البنيوي في الغدة العذراء بعد البلوغ (postpubertal virgin gland) ولكن يتم تعديلها أثناء الحمل والرضاعة والأوب (involution) (الالتفاف أو الانطواء إلى الداخل). تصل غدة الثدي المرضعة حالتها التطورية بشكل كامل وحالتها الوظيفية بشكل كامل فقط بعد الولادة. ويُحرّض إفراز الحليب عبر الحلمة (nipple) بواسطة الرضاعة وينتج عن التقلص المتزامن (synchronized contraction) للخلايا الظهارية العضلية (والتي هي نفسها مُحرضة بواسطة الأوكسيتوسين (oxytocin)، وهو هرمون معجل للولادة، من الغدة النخامية (pituitary)) التي تحيط بالخلايا المنتجة للحليب (الخلايا اللُمعية الظهارية) والتي تعصر الحليب عبر الشجرة الثديية (mammary tree). وتعيد الغدة الثديية بناء نفسها عائدةً إلى حالة الراحة المشابهة للحالة العذراء أثناء الأوب: حيث يموت العديد من الخلايا الظهارية عن طريق الموت المبرمج للخلايا (apoptosis)، وتنهار الأسناخ (alveoli) (الحويصلات) وتفقد قدرتها على إنتاج الحليب. وهكذا يؤدي العمل المنسق للهرمونات وإنزيمات البروتيناز المعدنية (metalloproteinases)، والجزيئات الميتة للخلايا (apoptotic molecules) والمنتجات الجينية الأخرى [22-24] إلى إظهار الوظائف المحددة للعضو.



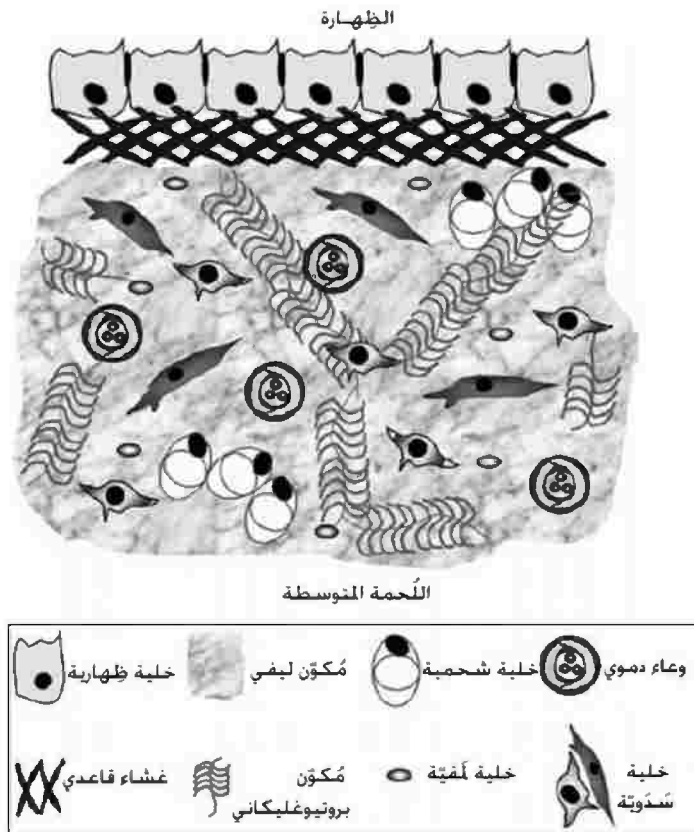
الشكل رقم (٢,١). بنية هندسية طبيعية لغدة الثدي (mammary gland architecture) في الحالة "العذراء" ("virgin" state). وحدة البنية الثديية هي الغنية (acinus) حيث الطبقة المستمرة من الخلايا اللمعية الظهارية (luminal epithelial cells) محاطة بطبقة من الخلايا الظهارية العضلية (myoepithelial cells)، وهذه البنية ثنائية الطبقات (bilayered structure) مغلقة بواسطة غشاء قاعدي (BM). (معدلة من Bissell, M.J. and LaBarge, M.A., *Cancer Cell*, 7, 17, 2005).

(٢,٣) المصفوفة خارج الخلية EXTRACELLULAR MATRIX

هي عملياً موجودة في جميع الأنسجة وبشكل خاص مهيمنة في الأنسجة الضامة (connective tissues)، وتقع المصفوفة خارج الخلية (ECM) في فئتين رئيسيتين: مصفوفة خارج الخلية (ECM) خلالية (interstitial) / سدوية (stromal) وغشاء قاعدي (BM) [25]. توجد المصفوفة خارج الخلية (ECM) الخلالية كمادة بين الخلايا، بين وحول خلايا النسيج الضام، في حين أن الغشاء القاعدي (BM) موجود عند سطح القاعدة الجانبية (basolateral surface) للعديد من أنواع الخلايا الظهارية في عدد من الأنسجة [2]. إن الغشاء القاعدي (BM) يشبه ركيزة من الورق الرقيق الصلب [26] تلتصق عليه الخلايا ويزود بكل من الدعم البنيوي والمعلومات السياقية. وهو على وجه الخصوص منظم هام لقطبية (polarity) وتمايز ونمو الخلايا والموت المبرمج والتعبير الجيني (gene expression) للخلايا [27]. تقوم أنواع الخلايا المتوسطة (mesenchymal cell) مثل خلايا الأرومة الليفية والخلايا العضلية الملساء (smooth muscle cells) بإنتاج المصفوفة خارج الخلية (ECM) بشكل فعال بينما يتم إنتاج الغشاء القاعدي (BM) في أعضاء ظهارية غدية (glandular epithelial organs) عبر تعاون أنواع مختلفة من الخلايا [28].

(٢,٣,١) تركيب المصفوفة خارج الخلية Composition of ECM

كيميائياً، المصفوفة خارج الخلية (ECM) هي شبكة مُمَيَّهَة (hydrated network) من الجزيئات تتكون من بروتينات وجليكوبروتينات (glycoproteins) (بروتينات سُكَّرِيَّة) وبروتيوغليكانات (proteoglycans) وجزيئات نقل إشارات (signaling molecules) قابلة للذوبان وغير قابلة للذوبان. ويتكون الغشاء القاعدي (BM) بشكل أساسي من بروتينات اللامينين (laminins - Lns) وكولاجين من النمط الرابع (type IV collagen)، وبروتين إنتاكتين / نيدوجين (/ entactin / nidogen) وبروتيوغليكانات مثل سلفات (كبريتات) الهيبارين (heparin sulfate) [2]. وبشكل تخطيطي، تشبه المصفوفة خارج الخلية (ECM) مُركَّباً ثلاثي الأبعاد مُقَوَّى بالألياف (fiber - reinforced) تنتظم فيه البروتينات مثل الكولاجين والإيلاستين (elastin) في بنى ليفية بينما تُشكِّل البروتيوغليكانات والجليكوبروتينات بالإضافة إلى جزيئات نقل الإشارات القابلة للذوبان وغير القابلة للذوبان من الوسط بين الألياف (interfibrous milieu) (الشكل رقم ٢.٢).



الشكل رقم (٢,٢). عرض تخطيطي للظهارة (epithelium) واللحمة المتوسطة (mesenchyme) بما في ذلك عناصرها البنيوية (غير مرسومة بالمقاييس الحقيقية).

(٢,٣,٢) العناصر البنيوية للمصفوفة خارج الخلية STRUCTURAL ELEMENTS OF ECM

(٢,٣,٢,١) المكونات غير الليفية Nonfibrous Components

إن الكربوهيدرات (carbohydrates) (السكريات) المرتبطة بالبروتين وبعض أنواع الكولاجين (على سبيل المثال، النمط الرابع والسادس والثامن والثامن عشر والخامس عشر) والموجودة في النسيج الخلالي والأغشية القاعدية هي مكونات غير ليفية (nonfibrous components) للمصفوفة خارج الخلية (ECM). تتكون الكربوهيدرات من عَدِيدَات السَّكَّارِيد (polysaccharides) طويلة السلسلة ومشحونة سلبياً معروفة باسم الغليكوز أمينوغليكانات (glycosaminoglycans - GAGs). إن الغليكوز أمينوغليكان هي سلاسل من عَدِيدَات السَّكَّارِيد مشحونة بشكل عالٍ (وغالباً ما تحوي كبريتات) وهي مصنوعة من تكرار وحدات ثنائي السَّكَّارِيد (disaccharide) غير المتفرَّعة (الواحدة منها هي سَكَّر أمينيّ (amino sugar)). وهي مصنَّعة في أربع فئات رئيسية:

١ - حَمَضُ الهَيَالُورُونِيك (hyaluronic acid) لهيالورونان (hyaluronan - HA)، الغليكوز أمينوغليكان الوحيد غير الحاوي على كبريتات والذي هو أيضاً في الغالب غير مرتبط بشكلٍ تساهمي بالبروتين[

٢ - كبريتات الكُنْدُرُوتِين (chondroitin sulfate) وكبريتات الديرماتان (dermatan sulfate)

٣ - كبريتات الهيباران (heparan sulfate) والهيبارين

٤ - كبريتات الكيراتين (Keratin sulfate) (والتي تتكون من تكرار ثنائيَّات السَّكَّارِيد لـ إن - أسيتيل غلوكوز أمين (n-acetylglucosamine) وغلالاتوز (galactose) بدلاً من حمض اليورونيك (uronic acid)، ويمكن أن تكون مُسَلَّفَنَة (sulphonated) ومرتبطة بالبروتينات)

مع الاستثناء الممكن للهَيَالُورُونَان (HA)، يتم ربط الغليكوز أمينوغليكانات (GAGs) بشكلٍ تساهمي مع الجزء الأساسي للبروتين (protein backbone) لتشكيل بروتيوغليكانات ذات بنية "فرشاة القارورة" ("bottle brush"). وتتنوع البروتيوغليكانات بسبب بروتيناتها المركزية المختلفة والغليكوز أمينوغليكانات المختلفة: وهي تُصنَّف من خلال الغليكوز أمينوغليكان السائد الذي يقوم بتعديل مركز البروتين. على سبيل المثال، السينديكانات (syndecans) (بروتينات مفردة في نطاق عبر الغشاء) هي أمثلة على بروتيوغليكانات كبريتات الهيبارين. بالإضافة إلى أدوارها البنيوية للمصفوفة خارج الخلية (ECM)، تُعدِّل معظم البروتيوغليكانات أيضاً نمو وتمايز الخلايا من خلال تنظيم نقل إشارات الخلية. إن الكثير منها، ولكن ليس كلها هي بروتينات غشائية متكاملة. على سبيل المثال، يملك البروتين المركزي للسينديكانات تسلسل غشاء ممتد (membrane spanning sequence) وذيلًا عُصَارِيًّا خُلُويًّا قصيراً (short cytosolic tail). يتم تعديل النطاق الخارجي الكبير بواسطة عدد قليل من سلاسل كبريتات الهيبارين. وترتبط السينديكانات بكولاجين المصفوفة خارج الخلية (ECM) وبالفبرونيكتين (fibronectin) (بروتين لاصق للخلايا)، وبالترومبوسبوندين (thrombospondin) (بروتينات مُفَرَّزَة ذات قدرات مضادة للتخثر الوعائي)، ومثل العديد من البروتيوغليكانات الأخرى تقوم السينديكانات بتعديل نشاط عوامل النمو [29].

إن الهيالورونان (HA) هو غليكوز أمينوغليكان خطي غير مُسلفن (nonsulfated) مؤلف من تكرار وحدات ثنائيي السكريد لحمض بيتا-دي-غلوکورونيك (β -D-glucuronic acid) وإن-أسيتيل-دي-غلوکورامين (N-acetyl-D-glucosamine). وهو من الناحية الفيزيولوجية وفي معظم الأحيان مزيج من الأوزان الجزيئية التي تتراوح من قليلات السكريد (oligosaccharides) إلى الأشكال الجزيئية الكبيرة (على سبيل المثال أكبر من ١٠٠٠ كيلو دالتون) والتي تنتج من التوازن بين تجميع واحد أو أكثر من ثلاثة من إنزيمات السيتاز (HA synthases - HAS) المختلفة [30-32]. خلافاً لإنزيمات السيتاز الخاصة بتركيب الغليكوز أمينوغليكان، تقع إنزيمات السيتاز (HAS1-3) في غشاء البلازما. إن الهيالورونان (HA) هو عنصر مُكوّن للمصفوفة خارج الخلية يتعبّر بشكلٍ عالٍ، وبشكلٍ خاص للمصفوفة خارج الخلية (ECM) الخلالية. ومن الجدير بالملاحظة أنه ربما يكون الغليكوز أمينوغليكان الأكثر استخداماً وعلى نطاقٍ واسعٍ في هندسة الأنسجة [33] ولكن الغليكوز أمينوغليكان هو الأقل فهماً من حيث الآليات التي بواسطتها يؤثر على وظيفة الأنسجة. وهذا على الأرجح بسبب تركيز الأبحاث الأولية على لزوجته (viscoelastic) الملحوظة وخصائصه بالارتباط بالماء (water binding) / التميّة (hydrating). على سبيل المثال، فهو يُشكل هلام مُميّة (مائي) لزج (viscous hydrated gel)، والذي يعطي النسيج الضام ضغط التورّم (turgor pressure) (أي ضغط محتويات الخلية مقابل جدار الخلية) والقدرة على مقاومة الانضغاط في نفس الوقت لتوفير المرونة أو الرجوعية للجسم (resilience). وتسهم الخصائص اللزجة للهيالورونان (HA) أيضاً في وظائفه الفريدة للتزليق (lubricating) والتي تتسم بأهمية خاصة في غضاريف المفاصل (joint cartilages). ويشكل الهيالورونان (HA) داخل الأنسجة معطفاً محيطاً بالخلايا (pericellular coat) وبشكلٍ خاص حول الخلايا المتنقلة أو المهاجرة (migrating cells) ولكن أيضاً حول الخلايا المستقرة غير المتنقلة (sedentary cells) مثل الخلايا الغضروفية (chondrocytes) [34]. وهو عنصر أساسي للتطور الجنيني، حيث يؤدي الحذف الجنيني لإنزيم السيتاز (HAS2) إلى الإماتة الجنينية (embryonic lethality)، وهو عيب يرجع على الأقل في جزء منه إلى وجود خلل في التنقل أو الهجرة والتحوّل الظهاريّ إلى اللحميّ المتوسّطيّ (epithelial - to - mesenchymal transformation - EMT) أثناء تطور القلب. كما أنه يلعب أدواراً وظيفية متعددة في عدد من الحالات الفيزيولوجية والمرضية وخاصةً الالتهاب المزمن (chronic inflammation) والأمراض الوعائية (vascular disease) والتطور الورميّ (tumor progression) [34-38]. إن الوسيط في تفاعلات الهيالورونان - الخلايا هي مستقبلات سطح الخلية (cell surface receptors)، والتي تشمل (CD 44) و (RHAMM / HMMR) [39] و (LYVE-1) وهو مستقبل الهيالورونان للمفاوي و (layilin) وهو ليكتين من النمط سي [40] (C - type lectin) ومستقبل ٢، ٤ المشابه للمستقبلات المذهلة (Toll - like receptor 2,4) الذي يربط قليلات السكريد بالهيالورونان (HA) [41]. ويتم توصيف نقل إشارات الخلية بواسطة الهيالورونان (HA) على أفضل وجه من أجل الـ (CD44) والـ (RHAMM / HMMR) [34,37,42].

(٢,٣,٢,٢) المكونات الليفية Fibrous Components

تقوم المكونات الليفية للمصفوفة خارج الخلية بوظائف حمل الخلايا والأنسجة، وتوفر التحكم بالصلابة (stiffness) ومقاومة التوتر (tension resistance)، ولكنها أيضاً تربط وتحتجز عوامل الالتصاق (على سبيل المثال الفيبرونيكتين) وبعض

عوامل النمو (على سبيل المثال بروتين تَحَلُّق العظم-٢ (bone morphogenic protein-2)) [43]. تشمل البروتينات الليفية البنيوية الأولية الكولاجين والفيبرين (fibrin) والإيلاستين. وهذه البروتينات هي أساس المصفوفة خارج الخلية (ECM) في جميع الكائنات الحية المتعددة الخلايا. وسيتم مناقشته الكولاجين، وهو عائلة لما لا يقل عن ١٩ من عَدِيدَات البَيْتِد (polypeptides) المختلفة جينياً ووظيفياً [44]، بمزيد من التفصيل هنا.

تتميز فصيلة البروتينات الكولاجينية بامتداد طويل لطاقات حلزونية ثلاثية (triple helical domains) يمكن أن تنشأ فقط من خلال كون كل ثالث حمض أميني عبارة عن غليسين (glycine) وكل خامس حمض أميني عبارة عن بروتين (proline) (لعرض المزيد عن الكولاجين اقرأ [44,45]). وتوفر عملية إدخال زمرة الهيدروكسيل (hydroxylation) لحوالي ٥٠٪ من بقايا البرولين الاستقرار للتشكيل الحلزوني (helix conformation). وتنقسم الكولاجينات إلى عدد من الأنواع بناءً على الاختلافات في بنيتها البوليمرية [46]. على سبيل المثال، يتكون الكولاجين من النمط الأول، وهو بروتين خطي حلزوني ثلاثي، من سلاسل من اثنين من (α_1) وواحد من (α_2) بطول ٣٠٠ نانومتر ويعرض ٠,٥ نانومتراً وبدورية (periodicity) من ٦٧ نانومتراً [47]، إن الكولاجين من النمط الرابع هو عنصر أساسي مهم للأغشية القاعدية. وتعتبر الأنماط الأول والثاني والثالث والخامس والحادي عشر والرابع والعشرون والسابع والعشرون كلها كولاجينات ليفية (fibrous collagens) [43]. يتم تركيب الكولاجينات على عَدِيدَات الرَيُوسُومات المرتبطة بالغشاء (membrane - bound polysomes) كأشكال طليعة البروكولاجين (procollagen precursor) القابلة للذوبان، والتي يتم معالجتها بشكلٍ حالٍ للبروتين بعد الإفراز والتجميع الذاتي في لُيُفَات (fibrils). ويحدث الربط العَرَضِيّ أو التشابك (cross linking) مع مرور الوقت ككولاجينات ناضجة في بروتينات ليفية غير قابلة للذوبان في الحيز خارج الخلية. وعلى عكس الكولاجين، يمكن للإيلاستينات (elastins) أن تُفَرَز وتبقى بشكلٍ أساسي في أعضاء لينة مثل الجلد والشرايين. ويمكن للألياف المرنة للمصفوفة خارج الخلية (ECM) أن تكون مُثَبَّة إلى أغشية الخلايا بواسطة بروتينات مُهَيَّئَة (adaptor proteins) مثل الفيولين-٢ (Fibulin-2) [48].

(٢,٣,٢,٣) البروتينات متعددة المجالات Multidomain Proteins

البروتينات متعددة المجالات، والتي تشمل الفيرونيكتين واللامينين والفيترونيكتين (vitronectin) والإنكتين (entactin) هي المسؤولة عن التصاق وتحرك (motility) الخلايا ضمن المصفوفة خارج الخلية (ECM) وتُستخدَم في حاملات الخلايا والأنسجة الاصطناعية لنفس الغرض. وسنناقش بإيجاز نوعين رئيسيين من بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) متعددة المجالات: الفيرونيكتين (Fn) واللامينين، والتي تؤدي وظائف مختلفة خارج الخلية.

يَعْبَرُ الفيرونيكتين بشكلٍ عالٍ وهو بروتين سُكْرِيّ (جليكوبروتين) ذو وزن جزيئي كبير (تقريباً ٤٤٠ كيلو دالتون kDa) ويمتلك أماكن ارتباط متعددة لمجموعة متنوعة من مكونات المصفوفة خارج الخلية (ECM). ويتم تركيبه كبروتين كروي (globular protein) قابل للذوبان ويفتح عند الإفراز [49,50]. يُعد الفيرونيكتين دَيَمَر (dimer) (مُرَكَّب ينتج عن ارتباط جزيئين متشابهتين) يتكون من اثنين من المواحيد (monomers) (مونومرات) المرتبطة بنهاية الطرف (C) بواسطة رابط ثنائي

السُّلفيد (disulfide bond)، بسماكة من ٢ إلى ٣ نانومترات وبطول من ٦٠ إلى ٧٠ نانومتراً. يتكون كل مَوْحُود (مونومر) من سلسلة من أكثر من ٢٥ وحدة كروية مَطْوِيَّة بإحكام ومرتبطة بشكلٍ خطي بواسطة سلاسل قصيرة بين المجالات بمرونة متغيرة [50-52]. يتكون كل مَوْحُود من العديد من المجالات (تسمى Fn1 و Fn2 و Fn3) [53] والتي تُظهر قدرات ارتباط مختلفة من أجل لجأين المصفوفة خارج الخلية (ECM ligands) الأخرى التي تشمل الكولاجينات والفبرين والهيبارينات وسلفات الكُنْدُرُوتِين (مادة من مكونات الغضروف). يحتوي الفبرونيكتين أيضاً على مناطق ارتباط من أجل الحمض النووي (DNA) ومن أجل عدد من مستقبلات سطح الخلية. لقد كان النطاق الأول الذي تم تحديده لربط مستقبل الخلية بالفبرونيكتين عبارة عن تسلسل قطعة من ١٢ كيلو دالتون، وهي أرجينين - غليسين - حمض الأسبارتيك (Arg - Gly - Asp - RGD)، والتي تُظهر أفضلية للارتباط بأطراف مستقبلات الإنتغرين (integrin receptors) مثل $(\alpha_5\beta_1)$ [54-57]. إن الفبرونيكتين مرن للغاية ويمكن أن يتأثر شكله بصورة ملحوظة عن طريق الترسيب على السطوح [51-58]. تلعب هذه الخصائص ووظائف الالتصاق للفبرونيكتين دوراً رئيسياً في تخثر الدم (blood clotting) والتحكم بالالتصاق والتقل (الهجرة).

يتم تعيين بروتينات اللامينين كبروتينات سكرية مشوية مغايرة ($\alpha_x\beta_y\gamma_z$ heterodimer glycoproteins)، وهي بروتينات الالتصاق والبروتينات الهيكلية الرئيسية في الغشاء القاعدي والمطلوبة لتجميعه. لقد تم حتى الآن وصف ما لا يقل عن ١٥ من بروتينات اللامينين التي يتم اشتقاقها من وحدات فرعية خمسين من (α) وثلاث من (β) وثلاث من (γ) . وهي بروتينات سكرية كبيرة (تقريباً ٩٠٠ كيلو دالتون) تتألف من ثلاثة عديدات ببتيد مختلفة في التكوين إما بشكلٍ عرضيٍّ وإما بشكلٍ حرف (T) مع ثلاث أذرع قصيرة (بطول 34 ± 4 وتقريباً 34 ± 4 و 48 ± 4 نانومترات)، وذراع واحدة طويل (بطول ٧٧ نانومتراً) [59,60]. وتتكون الأذرع القصيرة من أجزاء لسلسلة واحدة، في حين يتم تشكيل الذراع الطويلة بواسطة أجزاء لكل من السلاسل الثلاث. وتُربط كل السلاسل الفردية مع بعضها البعض بواسطة روابط ثنائية السُّلفيد. ومثل الفبرونيكتين، يتكون اللامينين من سلسلة من المجالات المختلفة مع خصائص المصفوفة خارج الخلية (ECM) والالتصاق الخلايا [61,62]: يرتبط اللامينين مع الكولاجين من النمط الرابع وإنتغرينات (مستقبلات) سطح الخلية ومستقبلات الديستروغليكان (dystroglycan) (مستقبلات بروتينية) [63] والسينديكانات والسلفاتيدات (sulfatides) [62]. وعلى وجه التحديد ترتبط مناطق الـ (LG1-3) و (LG4) بالإنتغرين (β_1) والديستروغليكان، على التوالي [64]. إن اللامينين وارتباطه مع هذه المستقبلات الخلوية هو مطلب للعمليات التطويرية والتنظيم الخلوي وتمايز الخلايا [62-65]. على سبيل المثال، يؤدي تفاعل اللامينين ١١١ (أي $\alpha_1\beta_1\gamma_1$) مع مستقبلات الإنتغرين والديستروغليكان إلى تغييرات في شكل الخلية وتفعيل تاليات نقل الإشارات التي تنظم تعبير بروتينات الحليب في غدة الثدي [12,64,66,67] حيث يُنتج بشكلٍ أساسي من قبل الخلايا الظهارية العضلية [68]. وهذه هي وظيفة الخلايا الظهارية العضلية التي تسمح لها أن تكون مصدر التنظيم للقبطية الظهارية (epithelial polarity) والوظيفة الظهارية (epithelial function) [69].

(٢,٤) وظائف المصفوفة خارج الخلية FUNCTIONS OF EXTRACELLULAR MATRIX

تلعب المصفوفة خارج الخلية (ECM) أدواراً حاسمة تؤثر على جميع جوانب استئجاب (توازن) الأنسجة والكائن الحي. وهي تشمل تكاثر وتمايز وتحرك وموت الخلايا. وتؤثر المصفوفة خارج الخلية (ECM) على هذه العمليات من خلال تقديم الدعم البنيوي والمنبهات (cues) أو الإشارات (signals) إلى الخلايا. وتعتبر كلتا الوظيفتين أساسية للحفاظ على البنية الهندسية للأنسجة. ومن المسلم به بشكل جيد الآن أن المصفوفة خارج الخلية (ECM) تؤثر على شكل ومصير الخلايا عبر بنيتها المعقدة والمرتبطة بتتاليات نقل الإشارات داخل الخلايا [4,67,70,71]. يُحفّز ارتباط هذه المستقبلات بجزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM) إشارة كلاسيكية في الخارج تفعل تتاليات نقل الإشارات متحكمّة بدورها بتنظيم هيكل الخلية الهيولي (cytoplasmic cytoskeleton) والهيكل النووي (nuclear skeleton) لتغيير الوظائف الخلوية مثل التعبير الجيني [17]. وما يثير الاهتمام، أن حالة الخلية يمكن أن تؤثر أيضاً على خاصية نقل الإشارات تلك للمصفوفة خارج الخلية؛ فعلى سبيل المثال يمكن لتعديل مستقبلات الإنتغرين بواسطة الأحداث داخل الخلية أن يُغيّر من انجذابها للجائن المصفوفة خارج الخلية (ECM)، والذي بدوره يُعدّل المزيد من نقل الإشارات داخل الخلية. يسمح هذا التفاعل الديناميكي بضبط دقيق ومذهل للنشاط الخلوي استجابةً للتغيرات حتى وإن كانت صغيرة في تركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM). كما توفر المصفوفة خارج الخلية (ECM) الدعم لالتصاق الأغشية القاعدية في الجسم الحي وفي طبقات الركائز في مزارع الخلايا؛ ويمارس هذا التفاعل أيضاً التحكم بالشكل الخلوي [12]. بالتالي وباختصار، على الرغم من أن بعض مركّبات المصفوفة خارج الخلية (ECM) مصممة لوظيفة معينة مثل المتانة (الوتر tendon) أو الترشيح (filtration) (الغشاء القاعدي في الكُبيبة الكلوية (kidney glomerulus)) أو الالتصاق (الغشاء القاعدي الذي يدعم معظم الظّهائر epithelia)، إلا أنها أكثر انخراطاً عموماً في:

- ١ - تأسيس البيئة المايكروية / النانوية للأنسجة
- ٢ - الدعم الميكانيكي والبنيوي
- ٣ - تحديد شكل الخلية وقطبية الخلية
- ٤ - احتجاز وتخزين وتقديم الجزيئات التنظيمية القابلة للذوبان
- ٥ - نقل الإشارات الكيميائية الحيوية في الخارج
- ٦ - تنظيم وظيفة الخلايا بما في ذلك: التكاثر والنمو والبقاء على قيد الحياة والتنقل والتمايز

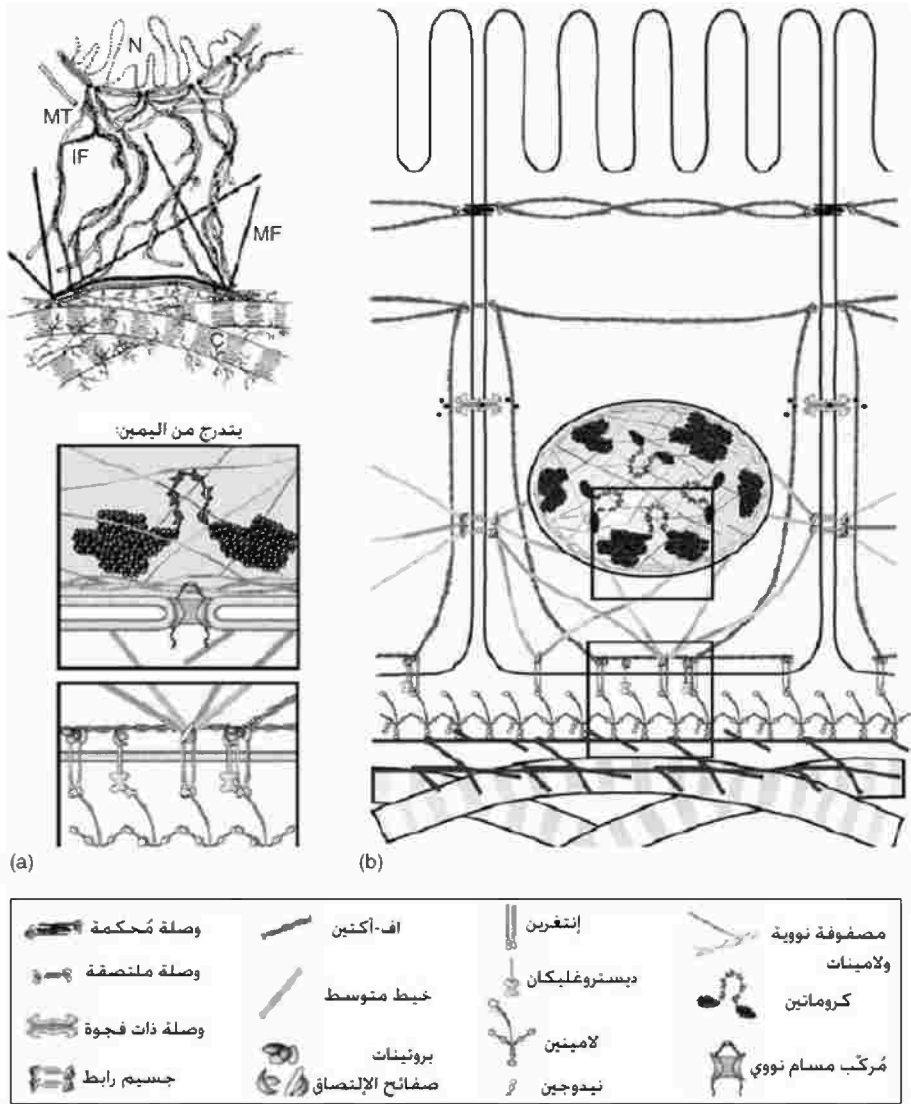
تعيد المصفوفة خارج الخلية (ECM) تشكيل نفسها بشكل مستمر (حتى داخل نسيج مفرد) طوال العمليات الطبيعية مثل التطور والشيخوخة وكذلك أثناء ترميم الجروح وتطور المرض. وتحدث عملية إعادة التشكيل نتيجة التعرض لمؤثرات مختلفة مثل عوامل النمو والسيتوكينات (cytokines) والبروتينات الوظيفية القوية والهرمونات [25,72,73]. وعلى أي حال يختلف مدى إعادة تشكيل المصفوفة خارج الخلية (ECM) إلى حد بعيد في العمليات العادية مقارنةً مع الحالات المرضية مثل السرطان (cancer). ففي حين أن الأولى مُنظمة، تكون الأخيرة غير متوازنة. على سبيل المثال، تحدث تجزئة واسعة لجزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM) في سدّ الورم (tumor stroma) بسبب إنزيمات البروتيناز الفليزية بالمصفوفة

(matrix metalloproteases - MMPs)، وغيرها من إنزيمات البروتياز (proteases) وإنزيمات الهالورونيداز (hyaluronidases). وغالباً ما تمتلك هذه الأجزاء نشاطاً بيولوجياً غير موجود في المكوّن السليم للمصفوفة خارج الخلية والذي على سبيل المثال يشجع التنقل والتكاثر [34,38,74,75]. وفي المقابل فإن عمليات التحرك الموجه للخلايا والتي تظهر أثناء تحلّق غدة الثدي تشمل أحداثاً حالة للبروتين (proteolytic events) محددة الموقع بشكلٍ عالٍ ومنظمة على نحوٍ محكم ومرتبطة فقط بانخفاضات عابرة في الموصلات (junctions) (نقاط الاتصال) المحكّمة بين الخلايا المجاورة والتي تسمح بخرق عدد محدد من الخلايا عبر الغشاء القاعدي [74,76,77]. ومع ذلك، تشابه مظاهر إعادة تشكيل المصفوفة خارج الخلية (ECM) في ترميم الجروح مع تلك التي تحدث أثناء تطور الورم، وربما ليس من المستغرب أن الخلايا السرطانية تنمو بسرعة أكبر في بيئة الجرح منها في الأنسجة الاستتبابية أو المتوازنة (homeostatic tissue). تعتبر طريقة زراعة الخلايا في بيئات حيوية محاكية (biomimetic environments) من أجل استعادة المنبهات الموجودة في الجسم الحي إحدى الطرق التي لاقت بعض النجاح في فك رموز الآليات التي بواسطتها تمارس عملية إعادة تشكيل المصفوفة خارج الخلية (ECM) مثل تلك الوظائف المتنوعة والآليات التي هي على وجه الخصوص مشتركة بين الجرح والورم [67,78,79].

(٢,٤,١) تفاعلات خلية-مصفوفة خارج الخلية CELL-EXTRACELLULAR MATRIX INTERACTIONS

يشمل تفاعل خلية - مصفوفة خارج الخلية العمليات المعقدة المحددة إلى الآن والتي تتطلب تعرّفاً مبدئياً وتؤدي إلى الالتصاق ونقل الإشارات وإعادة التنظيم الهيكلي الخلوي (cytoskeletal reorganization) والتعبير الجيني. وتكون لجائن المصفوفة خارج الخلية (ECM ligands) التي تتفاعل معها الخلايا بشكلٍ عام مُثبّته وليست في المحلول بينما كان التركيز سابقاً على دور اللجائن القابلة للذوبان مثل الهرمونات وعوامل النمو. فعلى سبيل المثال، تربط المصفوفة خارج الخلية (ECM) وتثبت عدداً من عوامل النمو والمستفعلات (effectors) (المستجيبيات) القابلة للذوبان مثل عامل النمو المحوّل-بيتا (transforming growth factor- β) وعامل نمو الخلايا البطانية الوعائية (vascular - endothelial - cell growth factor - VEGF) وعامل نمو الخلايا الكبدية (hepatocyte growth factor - HGF) [80,81]. وحيث إن المصفوفة خارج الخلية (ECM) تشجع أيضاً التصاقات الخلية، والتي تمثل نقاط الفحص لتنظيم شكل الخلية والتعبير الجيني من خلال ارتباطها مع هيكل الخلية ومسارات نقل الإشارات الخلوية، فهي في الواقع تربط عامل النمو والمستجيبيات الأخرى مع عملية نقل الإشارات بطريقة تعتمد على البنية الهندسية للخلية. ويدمج هذا التّقرُّن العوامل القابلة للذوبان وغير القابلة للذوبان ليسمح بتدفق مُتبادل (reciprocal flow) للإشارات الميكانيكية والكيميائية الحيوية بين الخلية والبيئة المايكروية (الشكل رقم ٢,٣) [17].

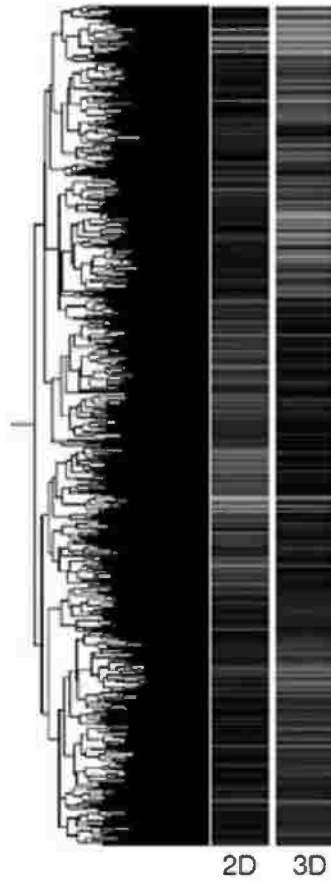
وقد تم عرض التدفقات المتبادلة (reciprocal flows) بين الظهارة (epithelium) واللحمة المتوسطة (mesenchyme) للعديد من الأعضاء مثل الرئة والكلية وغدة البروستات والغدة اللعابية والغدة الثديية (معروضة في [82-86]). كما تم عرض تدفق مثل هذه المعلومات المتبادلة التي تحدث بين أنواع الخلايا والأنسجة غير المتجانسة، على سبيل المثال يبدو أن الظهارة واللحمة المتوسطة للعديد من الأعضاء، مثل الرئة والكلية وغدة البروستات والغدة اللعابية والغدة الثديية (معروضة في [82-86])، بحاجة لتأسيس وتعزيز البنية الهندسية المتفرعة لهذه الأعضاء؛ إن الآليات التي يحدث من خلالها هذا الأمر ليست مفهومة بشكلٍ كامل ولكن العديد من المبادئ الجزيئية آخذة في الظهور.



الشكل رقم (٢،٣). (a) النموذج الأصلي للتبادلية الديناميكية (dynamic reciprocity)، أو الوحدة المطلوبة كحد أدنى للوظائف المحددة للأنسجة. (N) نواة (nucleus)؛ (MT) أنابيب (microtubules)؛ (IF) خيوط مُتوسطة (intermediate filaments)؛ (MF) خيوط مايكروية (microfilaments)؛ (C) كولاجين. (b) عرض أكثر اكتمالاً للتبادلية الديناميكية. (مُعَدَّلَة من (Nelson, C.M. and Bissell, M.J., *Ann. Rev. Cell Develop. Biol.*, 22, 287, 2006).

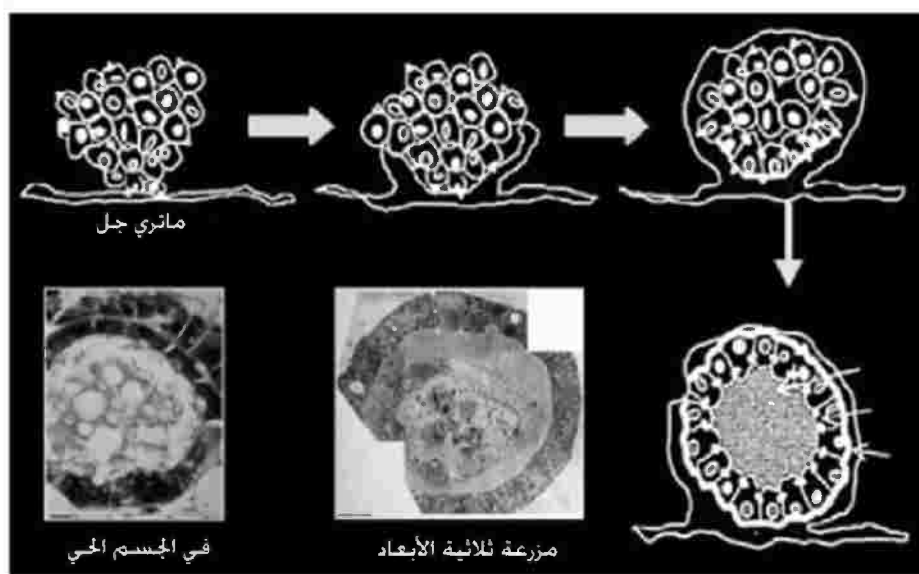
يمكن لتفاعل خلية - مصفوفة خارج الخلية (Cell - ECM interaction) إما تشجيع وإما تثبيط عملية التمايز (differentiation process). على سبيل المثال، يبدو أن للفيبرونيكتين واللامينين أدواراً متعارضة على الأقل في غدة الثدي. ففي حين أن اللامينين يكون مطلوباً لتشكيل العُنَيَات (acinus) وللقيام بوظيفتها الطبيعية، فقد ظهر بأن الفيبرونيكتين يكون مساهماً في خَبَاثَة الثدي (mammary malignancy) [87]. وعلى وجه الخصوص تعتبر الأنماط المتغيرة للتعبير الجيني من

خلال سلسلة من الآليات المثبطة لردود الفعل والمعالجة الانتقائية واحدة من التأثيرات الوظيفية الأخرى للمصفوفة خارج الخلية على الخلايا [4]. وقد أصبح من المؤكد وبشكل جيد أن المصفوفة خارج الخلية (ECM) تتصل بالنوى (nuclei) أو الكروماتين فيزيائياً وكيميائياً حيويًا [88,89] ؛ وهذا يؤدي إلى تأثير عميق على تفعيل عامل النسخ (transcription factor) وإعادة تشكيل الكروماتين. يوضح الشكل رقم (٢.٤) مثالاً عن مثل هذه التأثير للمصفوفة خارج الخلية على أشكال التعبير الجيني للخلايا المزروعة. وكما هو مبين في الشكل ، تُعبّر الخلايا النامية على (IrECM) ثلاثي الأبعاد عن أنماط مختلفة من الجينات مقارنة مع نظرائها المزروعة بشكل ثنائي الأبعاد والنامية على ركائز صلبة من البلاستيك. وتشير البيانات إلى أن سياق البيئة المايكروية يمكن أن يكون له آثار عميقة على أنماط التعبير الجيني.



الشكل رقم (٢, ٤). تحليل التعبير الجيني (gene expression analysis) للخلايا الظهارية الثديية البشرية الحميدة (غير الخبيثة) (nonmalignant human mammary epithelial cells S1) المزروعة على البلاستيك (ثنائي الأبعاد) أو على الـ (IrECM) (ثلاثي الأبعاد). كشفت مجسات (probes) الـ (1873 Affymetrix) نسخًا (transcripts) كانت مُتعبّرة بشكلٍ تفريقي (القطع (cutoff) $\leq$ ١,٥ ضعفًا). (من (Kenny, P., PhD Thesis).

وهناك تأثير إضافي للمصفوفة خارج الخلية وهو على مورفولوجيا أو شكل الخلايا. تتخذ الخلايا مورفولوجيا مختلفة عندما تنمو في الـ (IrECM) ثلاثي الأبعاد. فتشكل الخلايا الظهارية المنطّمة (embedded) ضمن الـ (IrECM) المرنة وبوجود المنبهات المحفّزة للإلبان (lactogenic cues) (مثل الهرمونات) بنى عُنيّية (acinar structures) مستقطبة ثلاثية الأبعاد تقوم باستعادة النمط الظاهري السِنْخِيّ (alveolar phenotype) في الجسم الحي (الشكل رقم ٢,٥) [90-93]؛ وبعد ٤ أيام تخضع الخلايا للموت المبرمج لتكوين لُمعة مركزية مجوفة (central hollow lumina)، والتي فيها يمكن أن تُفرز بروتينات الحليب [64,93-96]. وعلى أي حال، لا يحدث هذا عندما تُزرع نفس الخلايا الظهارية على ركائز ثنائية الأبعاد من البلاستيك؛ بل تنتشر كطبقة أحادية ولا يمكن أن تنتج الحليب حتى في وجود الهرمونات المحفّزة للإلبان (lactogenic hormones) في وسط التغذية.



الشكل رقم (٢,٥). تشكيل نموذج عُنيّيات الفأر (mouse acini) في مزرعة خلايا (cell culture) على مصفوفة خارج الخلية غنية ببروتين اللامينين (laminin - rich ECM). ويمكن ملاحظة أوجه الشبه بين العُنيّيات في الجسم الحي وفي مزرعة الخلايا ثلاثية

الأبعاد. (مُعدّلة من Streuli, C.H. and Bissell, M.J., *Regulatory Mechanisms in Breast Cancer*, Kluwer Academic Publishers, Boston, 1991; Barcellos-Hoff, M.H. and Bissell, M.J., *Autocrine and Paracrine Mechanisms in* (Reproductive Endocrinology, Plenum Press, New York, 1989).

تلعب المصفوفة خارج الخلية (ECM) أدوراً حاسمة في مسارات عامل النمو (growth factor pathways) ومسارات الالتصاق (adhesion pathways). ففي حين تتخاطب كلٌّ من مسارات عامل النمو ومسارات الالتصاق مع بعضها بعضاً في البيئة ثلاثية الأبعاد، أي أن تثبيط أحد مسارات نقل الإشارة (signaling pathways) يؤدي إلى تعطيل تعديل المسار الآخر [97,98]، فإنها تعمل بشكلٍ مستقلٍ في البيئة ثنائية الأبعاد (الجدول ٢,١).

الجدول رقم (١، ٢). التعديل الهجين لبروتين (β_1) وبروتين (EGFR).

	3D			2D		
	S1	T4-2	T4-2	T4-2	T4-2 "treated"	
						
كابتح مضاف	-	-	كابتح الإنتغرين بينا-1	كابتح الـ EGFR	كابتح الإنتغرين بينا-1	كابتح الـ EGFR
إنتغرين بينا-1 (مستويات كلية)	+	+++	+	+	+++	+++
EGFR (مستويات كلية)	+	++++	+	+	++++	++++
EGFR (نشطة)	+	++++	+	+	++++	+

المصدر: مُعدّل من Bissell M J, et al., *Cancer Res.*, 59, 1757s, 1999.

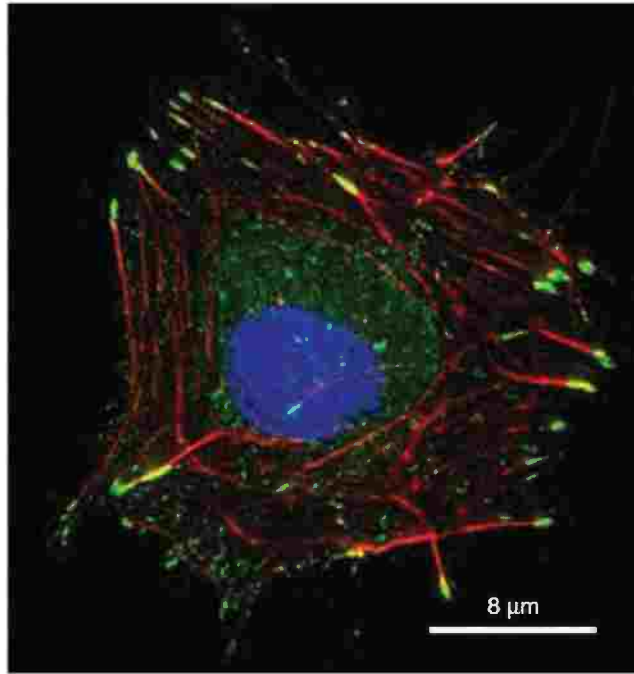
عندما تُعالج خلايا (T4-2) في بيئة ثلاثية الأبعاد مع مثبطات وظيفية (functional inhibitors) إما من الإنتغرين (β_1) وإما الـ (EGFR) (خلايا T4-2 المعالجة) لعودة الخلايا، يتم تعطيل تعديل مستويات بروتينات الـ (β_1) والـ (EGFR) داخلية المنشأ بشكلٍ متناسق. وأخيراً، وكميئة اتصال متعددة التكافؤ، يمكن للمصفوفة خارج الخلية أن تؤثر على تَعَقُّد (clustering) (تجمع) عوامل النمو ويمكن أن تُعدّل الإشارات [90,100].

(٢,٥) تفاعل الخلايا - المواد الحيوية: العناصر الرئيسية CELL-BIOMATERIALS INTERACTION: THE CENTRAL PLAYERS

(٢,٥,١) الالتصاق Adhesion

إن التصاق الخلية بالمصفوفة خارج الخلية (ECM) والخلايا الأخرى والمواد الحيوية [7] (على سبيل المثال، حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من الهلام المائي [101-103]) هي عملية معقدة ومنظمة. ولا يمكن لعملية التصاق وانتشار الخلايا على / أو ضمن المواد الحيوية الصلبة أن تُدرس دون النظر إلى المعدل السريع لامتزاز البروتين (protein adsorption) على سطوح المواد الحيوية [104-106]. بشكلٍ عام، تتفاعل الخلايا المبذورة من أوساط تغذية تحتوي على المصل (serum) على الأرجح أكثر مع طبقة مُمتزة من البروتين مما هي عليه مع السطح الفعلي للمادة الحيوية. إذا كانت الخصائص الفيزيائية الكيميائية لحاملات الخلايا والأنسجة والبروتينات وغيرها من الأجزاء المترسبة التي تشكل المصفوفة خارج الخلية (ECM) الاصطناعية مناسبة، فإن الخلايا تلتصق وتعمل بشكلٍ صحيح. وإن لم تكن الخصائص كذلك، فتبقى الخلايا أساساً كروية، مُظهرةً التصاقاً ضئيلاً أو معدوماً على السطح. ويتجلى هذا السلوك من خلال الالتصاق الانتقائي لبروتينات محددة من المصفوفة خارج الخلية (ECM) على مناطق سطوح المواد الحيوية عبر عدة تقنيات [107-110]. على سبيل المثال، عندما تعرضت خلايا البلاعم (macrophage cells) لسطوح تم تعديلها بشكلٍ مُتغير (heterogeneously) مع جزيئات لاصقة من المصفوفة خارج الخلية (ECM) مقابل خَلْفِيَّة (background) من مادة بولي غليكول الإيثيلين (poly(ethylene glycol) - PEG) غير مُجمَّع عليها أي مادة (خاملة بيولوجياً)، التصقت الخلايا بشكلٍ انتقائي فوق بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) وعملت بشكلٍ صحيح لفترة طويلة [111].

عندما تلامس خلية سطحًا لاصقًا صلبًا يحدث الالتصاق من خلال لويحات التصاق (adhesion plaques) أو مواقع معينة تُعرف باسم الالتصاقات البؤرية [112-114]. ويتأثر تشكيل مواقع الالتصاق هذه بشدة بأنواع البروتينات الموجودة على السطح الذي ترتبط به الخلايا. وعندما ترتبط الخلية يجري تسلسل معين من الأحداث التي تعتمد على طبيعة مستقبلات سطح الخلية/تفاعل المصفوفة خارج الخلية. على سبيل المثال، ترتبط مستقبلات الإنتغرين أولاً (بوجود منطقة مصممة لحوالي 25mm^2 من المشوي المغاير الغير مُتعدد nonclustered heterodimer) ببروتينات المصفوفة خارج الخلية المغلفة على السطوح [115]. ثم تتراكم بعد ذلك مجموعة من البروتينات داخل الخلايا (intracellular) المهتة لهيكل الخلية (تالين (talin)، فينكولين (vinculin)، باكسيلين (paxillin)، ألفا-أكتينين (α -actinin)) وبأبعاد في مجال النانومتر ضمن لويحة تشكيل الالتصاق التي تربط الإنتغرينات بهيكل الخلية الأكتيني (actin cytoskeleton). وهذا يؤدي إلى ارتباط وظيفي لهيكل الخلية الخلوي (cellular cytoskeleton) مع السطوح الصلبة (الشكل رقم ٢,٦).



الشكل رقم (٢,٦). صورة مؤلفة (fluorescence image) للخلايا البطانية الوريدية البشرية للحبل السري (human umbilical cord vein) endothelial cells - HUVECs) الملتصقة على سطح زجاجي ثنائي الأبعاد بوجود بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) والبروتيوجليكانات (proteoglycans). ترتبط خيوط الأكتين (actin filaments) (الحمراء) والإنتغرينات (integrins) من خلال بروتينات الفينكولين (vinculin proteins) (الخضراء). الأزرق: نواة - DAPI (nucleus - DAPI)، الأخضر: مضاد الفينكولين - FITC (antivinculin - FITC)، الأحمر: أليكسا فلور ٥٩٤ فلوئورين - إ - أكتين (Alexa Fluor 594 phalloidin - F - actin). (من: Veisheh, M.، عرض غير منشور).

يمكن للهيكل الخلوي للخلية الارتباط مع المصفوفة خارج الخلية (ECM) من خلال تفاعل مصفوفة خارج الخلية / إنتغرين مفرد أو متعدد التكافؤ. ويُعد الأخير أكثر استقراراً وهو يوجد عادةً في لويحات الالتصاق. كل اللويحات اللاصقة في مستوى خلية / خلية وخلية / مصفوفة خارج الخلية وخلية / سطوح المواد الحيوية الصلبة هي ذات بنية نانوية. وعلى الرغم من عدم وجود كل أنواع التصاقات الخلايا بين الخلايا والمواد الحيوية، فقد تبين ما يلي عند السطح الفاصل خلية/مادة حيوية صلبة [113,116]:

١- الالتصاقات البؤرية: بتباعد من ١٠ إلى ١٥ نانومتراً بين الغشاء الشحمي (lipid membrane) والمادة الحيوية الصلبة (solid biomaterial)

٢- اتصالات وثيقة (غالباً حول الالتصاقات البؤرية): بتباعد من ٣٠ إلى ٥٠ نانومتراً بين سطح الخلية والمادة الحيوية الصلبة

٣- اتصالات المصفوفة خارج الخلية (ECM): بتباعد من ٥٠ إلى ١٠٠ نانومتراً بين جدار الخلية البطني (ventral cell wall) والمادة الحيوية الصلبة الباطنة مع اتصال فراديّ (sporadic connection) بالمكونات الخيطية للمصفوفة خارج الخلية (filamentous ECM components)

إن كلاً من الأحجام النانومترية للإنتغرينات والبروتينات المشاركة بالالتصاق البؤري والبنى العنقودية الناتجة والمشمولة في عملية الالتصاق تشير معاً إلى ضرورة دمج وتحليل البنى اللاصقة بتباينات (بميز) (resolutions) في المجال النانوي (أو المجال الجزيئي) في تصاميم هندسة الأنسجة.

(٢,٥,٢) نقل إشارات فائقة لأنماط فائقة Ultra-Signaling to Ultra-Patterns

إلى جانب الاستجابة للتفاعلات الكيميائية متعددة التكافؤات (multivalent chemical interactions)، تستجيب الخلايا أيضاً لأنماط مكانية ولدورية بنيوية (structural periodicity) محددة للمصفوفة خارج الخلية (ECM) في كلٍّ من المستوى المايكروي والنانوي. وتعتمد كلٌّ من المسافات المكانية لتكرار البنى وتنظيمها في تراتيب أعلى على تركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM) [4,117]. ويشير العديد من خطوط الأدلة إلى أن الخلايا تُحسّ وتنقل الإشارة استجابةً لتكرار البنى النانوية والأبعاد الهندسية.

وقد حدد Vogel وآخرون [118] "إستشعار الأشكال الهندسية (geometry sensing) وتشكيل مُركّبات نقل الإشارات (signaling complexes) عن طريق التبدلات في حيز مواضع التعرف الجزيئي (molecular recognition sites)" وقد أظهر Yim وآخرون بأن التمايز العَصَبونيّ (neuronal differentiation) للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) قد تأثر بشدة بالطوبوغرافيا (السمات السطحية) النانوية (nanotopography) [119]. وعندما دمج Semino وآخرون ألياف النانو المحبوكة أو المنسوجة (weaved nanofibers) بالتجميع الذاتي للبتيدات (self-assembling peptides) في شبكة ذات بنية مناسبة تماماً للإطلاق البطيء للمواد الغذائية والجزيئات البيولوجية الأساسية لغرس الخلايا الجذعية الكبدية، لاحظوا بأن الخلايا الجذعية

قد تجددت ذاتياً وتمايزت على حدٍ سواء إلى خلايا كبدية ناضجة [120]. ولم يتم التعرف بعد على الآليات الجزيئية (molecular mechanisms) وراء هذه الملاحظات، ولكن تحديدها سوف يُوضَّح بالتأكيد المفاهيم عن كيفية حث أنماط البيئة النانوية والمجال النانوي (nanoenvironment and nanorange patterns) لنقل إشارات الخلية (cell signaling).

(٢,٦) الاستنتاجات CONCLUSIONS

تتطلب المحافظة على بنية ووظيفة الأنسجة تزامناً حيوياً لتتاليات نقل الإشارات (signaling cascades) لبقاء ونمو وتمايز الخلايا مع منبهات الخلية - المصفوفة خارج الخلية (ECM). إن الخلايا تستجيب بشكلٍ عميق للأنماط التراتبية الهرمية (hierarchical patterns) والخصائص الفيزيائية الكيميائية (physicochemical properties) للبيئة المحيطة بها. ففي حين تم كشف وفهم الكثير حول بنية ووظائف المصفوفة خارج الخلية (ECM) في المجال المايكروني (micron - scale) إلا أننا نعتقد بأنه من الضروري أن يتم تحديد خريطة طريق جديدة لنقل الإشارات ضمن المستوى الفيزيولوجي الفعلي، أي ضمن المجال النانومتري (nanometric scale).

(٢,٧) التوجه المستقبلي FUTURE DIRECTION

وصلت الأدوات التكنولوجية (technological tools) لإظهار البنى البيولوجية إلى المستوى الذي يمكن أن يسمح بضبط دقيق لتحليل تركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM) وبُناها النانوية وربما حتى نقل الإشارات الديناميكية في مجال النانو (nanoscale dynamic signaling). وسيساعد المزيد من الاقتراب من بيولوجيا الخلية في تركيب مصفوفة خارج خلية أصلية (native ECM) وفهم أحداث إعادة التشكيل (remodeling events). إن الوصف الدقيق للمصفوفات خارج الخلية المحاكية حيوياً (biomimetic ECMs) في المستوى النانوي وتفاعلاتها في الزمن الحقيقي (أي التصوير الديناميكي (dynamic imaging) للخلايا المفردة ومكونات المصفوفة خارج الخلية ضمن البيئات ثلاثية الأبعاد) لا بد منه.

شكر وتقدير ACKNOWLEDGMENTS

نشكر الدكتور Ren Xu و Jamie L. Inman للقراءة النقدية والاقتراحات المفيدة على النسخة الأولية المطبوعة، والدكتور Richard Schwarz والدكتور Paraic A. Kenny من أجل الجزء الخاص بالكولاجين والشكل رقم (٢,٤)، على التوالي. لقد تم دعم هذه البحوث من خلال المنح وجائزة الزمالة الجامعية المتميزة المقدمة قبل من وزارة الطاقة الأميركية (U.S. Department of Energy)، مكتب البحوث البيولوجية والبيئية (Office of Biological and Environmental Research) (DE - AC03 SF0098) ومن قبل وزارة الدفاع (Department of Defense) وبرنامج بحوث سرطان الثدي (Breast Cancer Research Program) (W81XWH0510338) لـ M.J. Bissell ومن قبل جائزة مبتكر من وزارة الدفاع،

برنامج بحوث سرطان الثدي (DAMD170210438) لـ M.J. Bissell ومن قبل المعهد الوطني للسرطان (National Cancer Institute) (CA64736 to M.J. Bissell, CA57621 to Zenawerb and M.J. Bissell). إن E.A. Turley و M.J. Bissell هما أيضاً حاصلان على منحة وزارة الدفاع لبرنامج بحوث سرطان الثدي (BC044087). وقد تم دعم E.A. Turley من قبل الجمعية الكندية لسرطان الثدي (Breast Cancer Society of Canada).

المراجع REFERENCES

- [1] Badylak, S.E. 2002. The extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 13(5): 377–383. <Go to ISI>://000178731800008.
- [2] Kalluri, R. 2003. Basement Membranes: Structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nature Reviews Cancer* 3(6): 422–433. <Go to ISI>://000183424100015.
- [3] Gilbert, S.F. 2006. *Developmental Biology*. Eighth edition, Chapter 6. Sinauer Associates, Inc., USA.
- [4] Bissell, M.J., H.G. Hall, and G. Parry. 1982. How does the extracellular matrix direct gene expression? *Journal of Theoretical Biology* 99: 31–68.
- [5] Langer, R. and J. Vacanti. 1993. Tissue engineering. *Science* 260: 920–926.
- [6] Murugan, R. and S. Ramakrishna. 2007. Design strategies of tissue engineering scaffolds with controlled fiber orientation. *Tissue Engineering* 13(8): 1845–1866. <Go to ISI>://000248742200006.
- [7] Ratner, B.D. and S.J. Bryant. 2004. Biomaterials: Where we have been and where we are going. *Annual Review of Biomedical Engineering* 6: 41–75. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15255762.
- [8] Bissell, D.M., L.E. Hammaker, and U.A. Meyer. 1973. Parenchymal cells from adult rat-liver in nonproliferating monolayer culture. I. Functional studies. *Journal of Cell Biology* 59(3): 722–734. <Go to ISI>://A1973R469000016.
- [9] Bissell, M.J. 1981. The differentiated state of normal and malignant cells or how to define a “normal” cell in culture. *International Review of Cytology* 70: 27–100. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7228573.
- [10] Bissell, M.J., A. Rizki, and I.S. Mian. 2003. Tissue architecture: The ultimate regulator of breast epithelial function-commentary. *Current Opinion in Cell Biology* 15(6): 753–762. <Go to ISI>://000187109200016.
- [11] Pampaloni, F., E.G. Reynaud, and E.H. Stelzer. 2007. The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17684528.
- [12] Roskelley, C.D., P.Y. Desprez, and M.J. Bissell. 1994. Extracellular matrix-dependent tissue-specific gene-expression in mammary epithelial-cells requires both physical and biochemical signal-transduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(26): 12378–12382. <Go to ISI>://A1994PY29400006.
- [13] Bissell, M.J., D.C. Radisky, A. Rizki, V.M. Weaver, and O.W. Petersen. 2002. The organizing principle: Microenvironmental influences in the normal and malignant breast. *Differentiation* 70(9–10): 537–546. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12492495.

- [14] Nelson, C.M. and M.J. Bissell. 2006. Of extracellular matrix, scaffolds, and signaling: Tissue architecture regulates development, homeostasis, and cancer. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 22: 287–309. <Go to ISI>://000242325100013.
- [15] Schmeichel, K.L. and M.J. Bissell. 2003. Modeling tissue-specific signaling and organ function in three dimensions. *Journal of Cell Science* 116(12): 2377–2388. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12766184.
- [16] Gordon, A.T., G.E. Lutz, M.L. Boninger, and R.A. Cooper. 2007. Introduction to nanotechnology: Potential applications in physical medicine and rehabilitation. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation* 86(3): 225–241. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17314708.
- [17] Hagios, C., A. Lochter, and M.J. Bissell. 1998. Tissue architecture: The ultimate regulator of epithelial function? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 353: 857–870.
- [18] Bissell, M.J. and M.A. LaBarge. 2005. Context, tissue plasticity, and cancer: Are tumor stem cells also regulated by the microenvironment? *Cancer Cell* 7(1): 17–23. <Go to ISI>://000226533000004.
- [19] Drife, J.O. 1986. Breast development in puberty. *Annals of the New York Academy of Sciences* 464:58–65. <Go to ISI>://A1986E223100006.
- [20] Ronnov-Jessen, L., O.W. Petersen, and M.J. Bissell. 1996. Cellular changes involved in conversion of normal to malignant breast: Importance of the stromal reaction. *Physiological Review* 76(1): 69–125. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8592733.
- [21] Sakakura, T., Y. Nishizuka, and C.J. Dawe. 1976. Mesenchyme-dependent morphogenesis and epithelium-specific cytodifferentiation in mouse mammary-gland. *Science* 194(4272): 1439–1441. <Go to ISI>://A1976CP27400028.
- [22] Neville, M.C., T.B. McFadden, and I. Forsyth. 2002. Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 7(1): 49–66. <Go to ISI>://000175924200005.
- [23] Talhouk, R.S., M.J. Bissell, and Z. Werb. 1992. Coordinated expression of extracellular matrix-degrading proteinases and their inhibitors regulates mammary epithelial function during involution. *Journal of Cell Biology* 118(5): 1271–1282. <Go to ISI>://A1992JL55000023.
- [24] Talhouk, R.S., J.R. Chin, E.N. Unemori, Z. Werb, and M.J. Bissell. 1991. Proteinases of the mammarygland-developmental regulation in vivo and vectorial secretion in culture. *Development* 112(2):439–449. <Go to ISI>://A1991FR42700008.
- [25] Guo, W.J. and F.G. Giancotti. 2004. Integrin signalling during tumour progression. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 5(10): 816–826. <Go to ISI>://000224558200015.
- [26] Schoen, F.J. and R.N. Mitchell. 2004. Tissues, the extracellular matrix, and cell-biomaterial interactions. In *Biomaterials Sciences: An Introduction to Materials in Medicine*, B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen and J.E. Lemons (Eds.), pp. 260–272: Elsevier Academic Publishers.
- [27] Adams, J.C. and F.M. Watt. 1993. Regulation of development and differentiation by the extracellularmatrix. *Development* 117(4): 1183–1198. <Go to ISI>://A1993LD08900001.
- [28] Kedinger, M., P.M. Simon, J.F. Grenier, and K. Haffen. 1981. Role of epithelial–mesenchymal interactions in the ontogenesis of intestinal brush-border enzymes. *Developmental Biology* 86(2): 339–347. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6793427.
- [29] Ratner, B.D., A.S. Hoffman, F.J. Schoen, and J.E. Lemons (Eds.). 2004. *Biomaterials Sciences: An Introduction to Materials in Medicine*, Second edition, Chapter 3. Elsevier Academic Publishers, USA.
- [30] McDonald, J.A. and T.D. Camenisch. 2002. Hyaluronan: Genetic insights into the complex biology of a simple polysaccharide. *Glycoconjugate Journal* 19(4–5): 331–339. Abstract available at

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12975613.

- [31] Stern, R. and M.J. Jedrzejewski. 2006. Hyaluronidases: Their genomics, structures, and mechanisms of action. *Chemical Reviews* 106(3): 818–839. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16522010.
- [32] Weigel, P.H. 2002. Functional characteristics and catalytic mechanisms of the bacterial hyaluronan synthases. *IUBMB Life* 54(4): 201–211. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12512859.
- [33] Allison, D.D. and K.J. Grande-Allen. 2006. Review. Hyaluronan: A powerful tissue engineering tool. *Tissue Engineering* 12(8): 2131–2140. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16968154.
- [34] Toole, B.P. 2004. Hyaluronan: From extracellular glue to pericellular Cue. *Nature Reviews Cancer* 4(7): 528–539. <Go to ISI>://000222435500013.
- [35] Adamia, S., C.A. Maxwell, and L.M. Pilarski. 2005. Hyaluronan and hyaluronan synthases: Potential therapeutic targets in cancer. *Current Drug Targets. Cardiovascular & Haematological Disorders* 5(1): 3–14. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15720220.
- [36] Bartolazzi, A., R. Peach, A. Aruffo, and I. Stamenkovic. 1994. Interaction between Cd44 and hyaluronate is directly implicated in the regulation of tumor development. *The Journal of Experimental Medicine* 180(1): 53–66. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7516417.
- [37] Evanko, S.P., M.I. Tammi, R.H. Tammi, and T.N. Wight. 2007. Hyaluronan-dependent pericellular matrix. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59(13): 1351–1365. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17804111.
- [38] Tammi, M.I., A.J. Day, and E.A. Turley. 2002. Hyaluronan and homeostasis: A balancing act. *The Journal of Biological Chemistry* 277(7): 4581–4584. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11717316.
- [39] Hamilton, S.R., S.F. Fard, F.F. Paiwand, et al. 2007. The hyaluronan receptors Cd44 and Rhamm (Cd168) form complexes with Erk1,2 that sustain high basal motility in breast cancer cells. *The Journal of Biological Chemistry* 282(22): 16667–16680. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17392272.
- [40] Bono, P., K. Rubin, J.M. Higgins, and R.O. Hynes. 2001. Layilin, a novel integral membrane protein, is a hyaluronan receptor. *Molecular Biology of Cell* 12(4): 891–900. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11294894.
- [41] Jiang, D., J. Liang, and P.W. Noble. 2006. Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17506690.
- [42] Turley, E.A., P.W. Noble, and L.Y. Bourguignon. 2002. Signaling properties of hyaluronan receptors. *The Journal of Biological Chemistry* 277(7): 4589–4592. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11717317.
- [43] Griffith, L.G. and M.A. Swartz. 2006. Capturing complex 3D tissue physiology in vitro. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7(3): 211–224. <Go to ISI>://000235590500016.
- [44] Prockop, D.J. 1995. Collagensm: Molecular biology, diseases, and potentials for therapy. *Ann. Rev Biochem* 64: 403–434.

- [45] Wess, T.J. 2005. Collagen fibril form and function. *Advances in Protein Chemistry* 70: 341–374. <Go to ISI>://000229968800010.
- [46] Hulmes, D.J. 1992. The collagen superfamily—diverse structures and assemblies. *Essays in Biochemistry* 27: 49–67. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1425603.
- [47] Gutsman, T., G.E. Fantner, J.H. Kindt, et al. 2004. Force spectroscopy of collagen fibers to investigate their mechanical properties and structural organization. *Biophysical Journal* 86(5): 3186–3193. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15111431.
- [48] Sasaki, T., K. Mann, H. Wiedemann, et al. 1997. Dimer model for the microfibrillar protein fibulin-2 and identification of the connecting disulfide bridge. *The EMBO Journal* 16(11): 3035–3043. <Go to ISI>://A1997XE74800007.
- [49] Erickson, H.P. and N.A. Carrell. 1983. Fibronectin in extended and compact conformations—electronmicroscopy and sedimentation analysis. *Journal of Biological Chemistry* 258(23): 4539–4544. <Go to ISI>://A1983RT93700079.
- [50] Johnson, K.J., H. Sage, G. Briscoe, and H.P. Erickson. 1999. The compact conformation of fibronectin is determined by intramolecular ionic interactions. *Journal of Biological Chemistry* 274(22): 15473–15479. <Go to ISI>://000080560100027.
- [51] Hynes, R.O. (Ed.). 1989. *Fibronectins*. Edited by A. Rich. New York: Springer-Verlag.
- [52] Williams, E.C., P.A. Janmey, J.D. Ferry, and D.F. Mosher. 1982. Conformational states of fibronectin. *The Journal of Biological Chemistry* 257(24): 14973–14978.
- [53] Potts, J.R. and I.D. Campbell. 1996. Structure and function of fibronectin modules. *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology* 15(5): 313–320; discussion 21. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8981327.
- [54] Bokel, C. and N.H. Brown. 2002. Integrins in development: Moving on, responding to, and sticking to the extracellular matrix. *Developmental Cell* 3(3): 311–321. <Go to ISI>://000178132800006.
- [55] Hynes, R.O. 1992. Integrins: Versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69: 11–25.
- [56] Pasqualini, R., E. Koivunen, and E. Ruoslahti. 1996. Peptides in cell adhesion: Powerful tools for the study of integrin-ligand interactions. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 29(9): 1151–1158. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9181058.
- [57] Ruoslahti, E. and M.D. Pierschbacher. 1986. Arg-Gly-Asp: A versatile cell recognition signal. *Cell* 44(4): 517–518. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2418980.
- [58] Jonsson, U., Ivarsson, B., Lundstrom, I., Berghem, L. 1982. Adsorption behavior of fibronectin on wellcharacterized silica surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* 90(1): 148–163.
- [59] Bruch, M., R. Landwehr, and J. Engel. 1989. Dissection of laminin by cathepsin G into its long-arm and short-arm structures and localization of regions involved in calcium dependent stabilization and selfassociation. *European Journal of Biochemistry* 185(2): 271–279. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2511014.
- [60] Engel, J., E. Odermatt, A. Engel, et al. 1981. Shapes, domain organizations and flexibility of laminin and fibronectin, two multifunctional proteins of the extracellular matrix. *Journal of Molecular Biology* 150(1): 97–120. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6795355.

- [61] Aumailley, M., L. Bruckner-Tuderman, W.G. Carter, et al. 2005. A simplified laminin nomenclature. *Matrix Biology* 24(5): 326–332. <Go to ISI>://000231205300002.
- [62] Li, S.H., D. Edgar, R. Fassler, W. Wadsworth, and P.D. Yurchenco. 2003. The role of laminin in embryonic cell polarization and tissue organization. *Developmental Cell* 4(5): 613–624. <Go to ISI>://000185787200005.
- [63] Weir, M.L., M.L. Oppizzi, M.D. Henry, et al. 2006. Dystroglycan loss disrupts polarity and beta-casein induction in mammary epithelial cells by perturbing laminin anchoring. *Journal of Cell Science* 119(19): 4047–4058. <Go to ISI>://000240630300015.
- [64] Streuli, C.H., C. Schmidhauser, N. Bailey, et al. 1995b. Laminin mediates tissue-specific gene-expression in mammary epithelia. *Journal of Cell Biology* 129(3): 591–603. <Go to ISI>://A1995QW14200004.
- [65] Beck, K., I. Hunter, and J. Engel. 1990. Structure and function of laminin—anatomy of a multidomain glycoprotein. *Faseb Journal* 4(2): 148–160. <Go to ISI>://A1990CM41800003.
- [66] Muschler, J., A. Lochter, C.D. Roskelley, P. Yurchenco, and M.J. Bissell. 1999. Division of labor among the alpha 6 beta 4 integrin, beta 1 integrins, and an e3 laminin receptor to signal morphogenesis and betacasein expression in mammary epithelial cells. *Molecular Biology of the Cell* 10(9): 2817–2828. <Go to ISI>://000082598500003.
- [67] Streuli, C.H., N. Bailey, and M.J. Bissell. 1991. Control of mammary epithelial differentiation-basementmembrane induces tissue-specific gene-expression in the absence of cell-cell interaction and morphological polarity. *Journal of Cell Biology* 115(5): 1383–1395. <Go to ISI>://A1991GT48800018.
- [68] Gudjonsson, T., L. Ronnov-Jessen, R. Villadsen, et al. 2002. Normal and tumor-derived myoepithelial cells differ in their ability to interact with luminal breast epithelial cells for polarity and basement membrane deposition. *Journal of Cell Science* 115(1): 39–50. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11801722.
- [69] Gudjonsson, T., M.C. Adriance, M.D. Sternlicht, O.W. Petersen, and M.J. Bissell. 2005. Myoepithelial cells: Their origin and function in breast morphogenesis and neoplasia. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 10(3): 261–272. <Go to ISI>://000238224600007.
- [70] Muschler, J., D. Levy, R. Boudreau, et al. 2002. A role for dystroglycan in epithelial polarization: Loss of function in breast tumor cells. *Cancer Research* 62(23): 7102–7109. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12460932.
- [71] Saunders, S., M. Jalkanen, S. O'Farrell, and M. Bernfield. 1989. Molecular cloning of syndecan, an integral membrane proteoglycan. *The Journal of Cell Biology* 108(4): 1547–1556. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2494194.
- [72] Labat-Robert, J. 2003. Age-dependent remodeling of connective tissue: Role of fibronectin and laminin. *Pathologie-Biologies (Paris)* 51(10): 563–568. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14622946.
- [73] Mott, J.D. and Z. Werb. 2004. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Current Opinion in Cell Biology* 16(5): 558–564. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15363807.
- [74] Lochter, A., S. Galosy, J. Muschler, et al. 1997. Matrix metalloproteinase stromelysin-1 triggers a cascade of molecular alterations that leads to stable epithelial-to-mesenchymal conversion and a premalignant phenotype in mammary epithelial cells. *Journal of Cell Biology* 139(7): 1861–1872. <Go to ISI>://000071266100023.
- [75] Lochter, A., M. Navre, Z. Werb, and M.J. Bissell. 1999. Alpha1 and alpha2 integrins mediate invasive activity of mouse mammary carcinoma cells through regulation of stromelysin-1 expression. *Molecular*

- Biology of the Cell 10(2): 271–282. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9950676.
- [76] Fata, J.E., Z. Werb, and M.J. Bissell. 2003. Regulation of mammary gland branching morphogenesis by the extracellular matrix and its remodeling enzymes. *Breast Cancer Research* 6(1): 1–11. <Go to ISI>://000187112000006.
- [77] Simian, M., Y. Hirai, M. Navre, et al. 2001. The interplay of matrix metalloproteinases, morphogens and growth factors is necessary for branching of mammary epithelial cells. *Development* 128(16): 3117–3131. <Go to ISI>://000170825900007.
- [78] Boudreau, N., C.J. Sympon, Z. Werb, and M.J. Bissell. 1995. Suppression of ice and apoptosis in mammary epithelial-cells by extracellular-matrix. *Science* 267(5199): 891–893. <Go to ISI>://A1995QG20700060.
- [79] Hahn, U., A. Stallmach, E.G. Hahn, and E.O. Riecken. 1990. Basement membrane components are potent promoters of rat intestinal epithelial cell differentiation in vitro. *Gastroenterology* 98(2): 322–335. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2295387.
- [80] Paralkar, V.M., S. Vukicevic, and A.H. Reddi. 1991. Transforming growth factor beta type 1 binds to collagen IV of basement membrane matrix: Implications for development. *Developmental Biology* 143(2): 303–308. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1991553.
- [81] Ruhrberg, C., H. Gerhardt, M. Golding, et al. 2002. Spatially restricted patterning cues provided by heparin-binding vegf-a control blood vessel branching morphogenesis. *Genes & Development* 16(20): 2684–2698. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12381667.
- [82] Cardoso, W.V. 2001. Molecular regulation of lung development. *Annual Review of Physiology* 63: 471–494. <Go to ISI>://000168071900020.
- [83] Hieda, Y. and Y. Nakanishi. 1997. Epithelial morphogenesis in mouse embryonic submandibular gland: Its relationships to the tissue organization of epithelium and mesenchyme. *Development Growth & Differentiation* 39(1): 1–8. <Go to ISI>://A1997WX47100001.
- [84] Marker, P.C., A.A. Donjacour, R. Dahiya, and G.R. Cunha. 2003. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Developmental Biology* 253(2): 165–174. <Go to ISI>://000180688400001.
- [85] Parmar, H. and G.R. Cunha. 2004. Epithelial–stromal interactions in the mouse and human mammary gland in vivo. *Endocrine-Related Cancer* 11(3): 437–458. <Go to ISI>://000224343000004.
- [86] Yu, J., A.P. McMahon, and M.T. Valerius. 2004. Recent genetic studies of mouse kidney development. *Current Opinion in Genetics & Development* 14(5): 550–557. <Go to ISI>://000224337700014.
- [87] Sandal, T., K. Valyi-Nagy, V.A. Spencer, et al. 2007. Epigenetic reversion of breast carcinoma phenotype is accompanied by changes in DNA sequestration as measured by Alui restriction enzyme. *American Journal of Pathology* 170(5): 1739–1749. <Go to ISI>://000246050400029.
- [88] Maniotis, A.J., C.S. Chen, and D.E. Ingber. 1997. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94(3): 849–854. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9023345.
- [89] Xu, R., V.A. Spencer, and M.J. Bissell. 2007. Extracellular matrix-regulated gene expression requires cooperation of Swi/Snf and transcription factors. *Journal of Biological Chemistry* 282(20): 14992–14999.

- [90] Aggeler, J., J. Ward, L.M. Blackie, et al. 1991. Cytodifferentiation of mouse mammary epithelial cells cultured on a reconstituted basement membrane reveals striking similarities to development in vivo. *Journal of Cell Science* 99(Pt 2): 407–417. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1885677.
- [91] Barcellos-Hoff, M.H., J. Aggeler, T.G. Ram, and M.J. Bissell. 1989. Functional differentiation and alveolar morphogenesis of primary mammary cultures on reconstituted basement membrane. *Development* 105(2): 223–235. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2806122.
- [92] Emerman, J.T. and D.R. Pitelka. 1977. Maintenance and induction of morphological-differentiation in dissociated mammary epithelium on floating collagen membranes. *In vitro* 13(5): 316–328. <Go to ISI>://A1977DL36900008.
- [93] Lee, E.Y.H.P., W.H. Lee, C.S. Kaetzel, G. Parry, and M.J. Bissell. 1985. Interaction of mouse mammary epithelial-cells with collagen substrata-regulation of casein gene-expression and secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82(5): 1419–1423. <Go to ISI>://A1985ADL3900028.
- [94] Lee, E.Y.H., G. Parry, and M.J. Bissell. 1984. Modulation of secreted proteins of mouse mammary epithelial-cells by the collagenous substrata. *Journal of Cell Biology* 98(1): 146–155. <Go to ISI>://A1984RX39500017.
- [95] Streuli, C.H. and M.J Bissell. 1991. Mammary epithelial cells, extracellular matrix, and gene expression. In *Regulatory Mechanisms in Breast Cancer*, edited by M. Lippman and R. Dickson, pp. 365–381. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- [96] Barcellos-Hoff, M.H. and Bissell M.J. 1989. A role for the extracellular matrix in autocrine and paracrine regulation of tissue-specific functions. In *Autocrine and Paracrine Mechanisms in Reproductive Endocrinology*, edited by L. Krey, B.J. Gulyas, and J.A McCracken, pp. 137–155. New York: Plenum Press.
- [97] Bissell M.J, V.M. Weaver, S.A. Lelievre, et al. 1999. Tissue structure, nuclear organization, and gene expression in normal and malignant breast. *Cancer Research* 59(7): 1757s–1763s. <Go to ISI>://000079582000026.
- [98] Wang, F., V.M. Weaver, O.W. Petersen, et al. 1998. Reciprocal interactions between beta 1-integrin and epidermal growth factor receptor in three-dimensional basement membrane breast cultures: A different perspective in epithelial biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95(25): 14821–14826. <Go to ISI>://000077436700043.
- [99] Schwartz, M.A. and V. Baron. 1999. Interactions between mitogenic stimuli, or, a thousand and one connections. *Current Opinion in Cell Biology* 11(2): 197–202. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10209147.
- [100] Trusolino, L., A. Bertotti, and P.M. Comoglio. 2001. A signaling adapter function for alpha6beta4 integrin in the control of hgf-dependent invasive growth. *Cell* 107(5): 643–654. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11733063.
- [101] Hoffman, A.S. 2001. Hydrogels for biomedical applications. *Annals of the New York Academy of Sciences* 944: 62–73. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11797696.
- [102] Pratt, A.B., F.E. Weber, H.G. Schmoekel, R. Muller, and J.A. Hubbell. 2004. Synthetic extracellular matrices for in situ tissue engineering. *Biotechnology and Bioengineering* 86(1): 27–36. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15007838.
- [103] Wichterle, O. and D. Lim. 1960. Hydrophilic gels for biological use. *Nature* 185: 117–118.

- [104] Horbett, T.A. 1982. Protein adsorption on biomaterials. In *Biomaterials: Interfacial Phenomena and Applications*, edited by S.L. Cooper, N.A. Peppas, A.S. Hoffman, and B.D. Ratner, pp. 233–243. Washington DC: American Chemical Society.
- [105] Horbett, T.A. 1993. Principles underlying the role of adsorbed plasma proteins in blood interactions with foreign materials. *Cardiovascular Pathology* 2(3): 137s–148s.
- [106] Horbett, T.A. 1994. The role of adsorbed proteins in animal cell. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2: 225–240.
- [107] Chen, C.S., M. Mrksich, S. Huang, G.M. Whitesides, and D.E. Ingber. 1997. Geometric control of cell life and death. *Science* 276: 1425–1428.
- [108] Folch, A. and M. Toner. 2000. Microengineering of cellular interactions. *Annual Review of Biomedical Engineering* 2: 227–256.
- [109] Veiseh, M., M.H. Zareie, and M. Zhang. 2002. Highly selective protein patterning on gold–silicon substrates for biosensor applications. *Langmuir* 18(17): 6671–6678. <Go to ISI>://000177487600033.
- [110] Xia, Y. and G.M. Whitesides. 1998. Soft lithography. *Angewandte Chemie* 110(5): 568–594.
- [111] Veiseh, M. and M. Zhang. 2006. Effect of silicon oxidation on long-term cell selectivity of cell-patterned Au/SiO₂ platforms. *Journal of American Chemical Society* 128(4): 1197–1203.
- [112] Bray, D. 1992. *Cell Movements*. New York: Garland Publishing, Inc.
- [113] Hjortso, M.A. and Joseph W.R. (Eds.). 1994. *Cell Adhesion: Fundamentals and Biotechnological Applications*: CRC.
- [114] Zimmerman, B., M. Arnold, J. Ulmer, et al. 2004. Formation of focal adhesion-stress fibre complexes coordinated by adhesive and non-adhesive surface domains. *IEE Proceeding. Nanobiotechnology* 151 (2): 62–66. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16475844.
- [115] Ballestrem, C., B. Hinz, B.A. Imhof, and B. Wehrle-Haller. 2001. Marching at the front and dragging behind: Differential Alpha_vbeta₃-integrin turnover regulates focal adhesion behavior. *The Journal of Cell Biology* 155(7): 1319–1332. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11756480.
- [116] Ratner, B.D., A.S. Hoffman, F.J. Schoen, and J.E. Lemons. 1996. *Biomaterial Science: An Interdisciplinary Endeavor*. San Diego: Academic Press.
- [117] Gordon, J.R. and M.R. Bernfield. 1980. The basal lamina of the postnatal mammary epithelium contains glycosaminoglycans in a precise ultrastructural organization. *Developmental Biology* 74(1): 118–135. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7350005.
- [118] Vogel, V. and M. Sheetz. 2006. Local force and geometry sensing regulate cell functions. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 7(4): 265–275. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16607289.
- [119] Yim, E.K.F., S.W. Pang, and K.W. Leong. 2007. Synthetic nanostructures inducing differentiation of human mesenchymal stem cells into neuronal lineage. *Experimental Cell Research* 313(9): 1820–1829. <Go to ISI>://000246348400007.
- [120] Semino, C.E., J.R. Merok, G.G. Crane, G. Panagiotakos, and S. Zhang. 2003. Functional differentiation of hepatocyte-like spheroid structures from putative liver progenitor cells in three-dimensional peptide scaffolds. *Differentiation* 71(4–5): 262–270. Abstract available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12823227.

وظائف ومتطلبات حاملات الخلايا والأنسجة

الاصطناعية في هندسة الأنسجة

Functions and Requirements of Synthetic Scaffolds in Tissue Engineering

Tejas Shyam Karande and C. Mauli Agrawal

المحتويات CONTENTS

٧٩	 INTRODUCTION مقدمة (٣, ١)
٧٩	FUNCTIONS AND REQUIREMENTS OF SCAFFOLDS وظائف ومتطلبات حاملات الخلايا والأنسجة (٣, ٢)
٨٠	 Biocompatibility التوافقية الحيوية (٣, ٢, ١)
٨٠	 Biodegradation التحلل الحيوي (٣, ٢, ٢)
	Matching Rates of Degradation of الأنسجة الجديدة وإعادة نمو الأنسجة وإعانة نمو الأنسجة الجديدة (٣, ٢, ٣)
٨١	 Scaffold and Regrowth of New Tissue
٨٣	 Mechanical Properties الخصائص الميكانيكية (٣, ٢, ٤)
٨٥	 Surface Properties خصائص السطح (٣, ٢, ٥)
٨٧	 Architectural Properties الخصائص البنية الهندسية (٣, ٢, ٦)
٨٧	 Pore Size and Shape حجم وشكل المسام (٣, ٢, ٦, ١)
٨٩	 Porosity المسامية (٣, ٢, ٦, ٢)
٩١	 Pore Interconnectivity الربط البيني للمسام (٣, ٢, ٦, ٣)

٩٢	Permeability	النفاذية (٣, ٢, ٦, ٤)
٩٤	Scaffold Fabrication	تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة (٣, ٢, ٧)
٩٤	Solvent Casting and Particulate Leaching	صب المذيب واستغسال الجسيمات (٣, ٢, ٧, ١)
٩٥	Gas Foaming	الرغوة الغازية (٣, ٢, ٧, ٢)
٩٦	Emulsion Freeze Drying	التجفيف بتجميد المستحلب (٣, ٢, ٧, ٣)
٩٦	Thermally Induced Phase Separation	الفصل الطوري المحرض حرارياً (٣, ٢, ٧, ٤)
٩٨	Gravity and Microsphere Sintering	الجاذبية وتليبد الكرات المايكروية (٣, ٢, ٧, ٥)
٩٩	Rapid Prototyping/Solid Freeform Fabrication	النماذج الأولية السريعة/تصنيع الشكل الحر الصلب (٣, ٢, ٧, ٦)
١٠٢	Hydrogels	الهلامات المائية (٣, ٢, ٧, ٧)
١٠٥	Electrospinning	الغزل الكهربائي (٣, ٢, ٧, ٨)
١٠٩	MODIFICATION OF SCAFFOLDS	تعديل حاملات الخلايا والأنسجة (٣, ٣)
١١١	TYPES OF SCAFFOLD MATERIALS	أنواع مواد حاملات الخلايا والأنسجة (٣, ٤)
١١٢	Polyesters	البوليسترات (٣, ٤, ١)
١١٣	Polyfumarates	البولي فومارات (٣, ٤, ٢)
١١٤	Polyanhydrides	البولي أنهيدريدات (٣, ٤, ٣)
١١٥	Poly(Ortho Esters)	البولي (أورثو إستر) (٣, ٤, ٤)
١١٦	Poly(Amino Acids) Or Polycarbonates	بولي (الأحماض الأمينية) أو البولي كربونات (٣, ٤, ٥)
١١٦	Polyphosphazenes	البولي فوسفازينات (٣, ٤, ٦)
١١٧	Composites	المواد المركبة (٣, ٤, ٧)
١١٨	CONCLUSIONS	الاستنتاجات (٣, ٥)
١١٨	REFERENCES	المراجع (٣, ٥)

(٣، ١) مقدمة INTRODUCTION

هندسة الأنسجة هي حقل متعدد التخصصات (interdisciplinary) ظهر لتلبية الاحتياجات التي نشأت عن عدد من المشاكل المترابطة بما في ذلك النقص في الأعضاء المتبرع بها، واعتلال الجهة المتبرعة، وفشل الأجهزة الميكانيكية [1]. وقد ظلت هذه الحلول الناقصة تعطي قوة دفع كبيرة لمجال جديد نسبياً يقوم على تطبيق مبادئ الهندسة وعلوم الحياة نحو تطوير بدائل بيولوجية (biological substitutes) للإصلاح أو الصيانة أو تحسين وظيفة الأنسجة [1]. إن معظم تقنيات هندسة الأنسجة تستخدم حاملات خلايا وأنسجة مسامية ثلاثية الأبعاد (3D porous scaffold) مبدورة بالخلايا. وتلعب حاملات الخلايا والأنسجة هذه دوراً حيوياً في تطوير أنسجة جديدة.

إن الهدف من هذا العرض هو مناقشة وظائف ومتطلبات حاملات الخلايا والأنسجة في هندسة الأنسجة بالإضافة إلى تعديلها. وستتم في هذه الدراسة مناقشة أنواعاً مختلفة من حاملات الخلايا والأنسجة الاصطناعية بالتفصيل مع دراسة طرق تصنيعها.

(٣، ٢) وظائف ومتطلبات حاملات الخلايا والأنسجة FUNCTIONS AND REQUIREMENTS OF SCAFFOLDS

تُقدم حاملات الخلايا والأنسجة وظائف عديدة حاسمة من أجل نجاح عملية تجديد الأنسجة (tissue regeneration)، والتي تشمل [2]:

- ١- العمل كحاملات فراغية لمنع تجاوز الأنسجة من المنطقة المجاورة المباشرة إلى الموقع المتأثر.
- ٢- توفير بنية مؤقتة داعمة للأنسجة المراد أن تحل محلها.
- ٣- إنشاء ركيزة تسمح بالتصاق ونمو وتكاثر وهجرة وتمايز الخلايا عليها.
- ٤- العمل بمثابة مركبة لتوصيل الخلايا، لتسهيل الاحتفاظ بها وتوزيعها في المنطقة المراد نمو الأنسجة الجديدة فيها.
- ٥- توفير مساحة لحدوث التوعي (vascularization) (تكوّن الأوعية الدموية) وتشكيل أنسجة جديدة (neotissue formation) وإعادة تشكيلها.
- ٦- التمكين من النقل الفعّال (efficient transport) للمواد الغذائية وعوامل النمو والأوعية الدموية وإزالة مواد الفضلات.

ولكي تقوم حاملات الخلايا والأنسجة بأداء الوظائف المذكورة أعلاه، يجب أن تتوافر فيها بعض المتطلبات الأساسية، والتي تحتم عليها [3-5]:

- ١- أن تكون متوافقة حيوياً (biocompatible)، وهذا يعنى أنها لا تُنتج رد فعل فيزيولوجي غير مرغوب فيه.

- ٢- أن تكون قابلة للتحلل الحيوي (biodegradable)، وهذا يعنى أنها تتحلل في نهأى المطاف ويتخلص الجسم منها عن طريق العمليات التي تحدث بشكل طبيعي.
 - ٣- تتحلل بمعدل يتناسب مع إعادة نمو الأنسجة الجديدة.
 - ٤- لها خصائص ميكانيكية تنسجم مع النسيج الذي تحل محله.
 - ٥- لديها خصائص سطحية مرغوبة لتمكين التصاق ونمو وتكاثر وتمايز الخلايا بالإضافة إلى تشكيل المصفوفة خارج الخلية.
 - ٦- لديها خصائص بنيوية هندسية (architectural properties) هي الأمثل من حيث حجم المسام (pore size) والمسامية (porosity) والترابط فيما بين المسام (pore interconnectivity) والنفاذية (permeability)، والسماح بكفاءة في توصيل المواد الغذائية وعوامل النمو والأوعية الدموية والتخلص من الفضلات.
 - ٧- أن تتم معالجتها بسهولة في أشكال معقدة ثلاثية الأبعاد بطريقة يمكن التحكم فيها بشكل جيد وبطريقة قابلة لإعادة الإنتاج.
- وستتم أدناه مناقشة هذه المتطلبات بمزيد من التفصيل.

(٣,٢,١) التوافقية الحيوية Biocompatibility

وهي الشرط الأساسي لأي نوع من أنواع حاملات الخلايا والأنسجة. إن المطلوب من حاملة الخلايا والأنسجة هو إظهار استجابة مفيدة من الخلايا التي بُذرت عليها واستجابة مناعية (immune response) مناسبة من الأنسجة المضيفة عند تنفيذ عملية الزراعة، وهذا يعني أن التفاعلات التي تحدث بين الحاملة والخلايا والأنسجة المضيفة ينبغي أن تكون ملائمة من دون أي احتمال للضرر بسبب سُمِّية الخلايا (cytotoxicity) المحرّضة أو توليد استجابة مناعية معاكسة (adverse immune response) أو تفعيل تخثر الدم أو المسارات المتّمة [6]. وهناك عدد من العوامل التي تساهم في هذا النوع من استجابة الأنسجة التي تولدها المادة الحيوية ويشمل ذلك شكل وحجم الطعم (implant) وتفاعليته الكيميائية (chemical reactivity) والآلية (mechanism) ومعدل التحلل والمنتجات الثانوية للتحلل (byproducts of degradation) وموقع الزراعة ونوع المضيف [6]. وبالتقدم مع ذلك خطوة إلى الأمام، يمكن للمرء توسيع معنى مصطلح التوافقية الحيوية ليشمل التحديد الوظيفي الحيوي (biofunctionality) الذي يدل على قدرة المادة على دعم وتعزيز تفاعلات الخلايا - المواد وفقاً للتطبيق المحدد للأنسجة المحلية [7].

(٣,٢,٢) التحلل الحيوي Biodegradation

بما أن حاملات الخلايا والأنسجة الاصطناعية تعمل بمثابة بُنى مؤقتة يتم استبدالها بالأنسجة الأصلية في وقت لاحق، فهي بحاجة لأن تُزال بشكل تدريجي من موقع الزرع من خلال عملية يُشار إليها بشكل عام بعملية التحلل الحيوي

(biodegradation). وفي الغالب يتم استعمال المصطلحات التالية بشكل غير صحيح و / أو بالتبادل في مراجع هندسة الأنسجة المنشورة مثل قابلية التحلل الحيوي (biodegradable) وقابلية الارتشاف الحيوي (bioresorbable) وقابلية التآكل الحيوي (bioerodable) وقابلية الامتصاص الحيوي (bioabsorbable) [8]. يشير مصطلح قابلية التحلل الحيوي إلى الانحلال الناجم عن التحلل الجزيئي الذي تسببه العناصر البيولوجية مما يؤدي إلى إنتاج أجزاء أو غيرها من منتجات التحلل الثانوية التي لا يتم إزالتها بالضرورة من الجسم ؛ ويعني مصطلح قابلية الارتشاف الحيوي القضاء التام على المواد الأجنبية والتحلل الكتلي للمنتجات الثانوية عن طريق الامتصاص داخل الجسم ، أي عن طريق المسارات الطبيعية مثل الترشيع أو الاستقلاب (metabolization) ؛ ويدل مصطلح قابلية التآكل الحيوي على تحلل السطح في حين يعني مصطلح قابلية الامتصاص الحيوي الانحلال في سوائل الجسم بدون أي انقسام لسلسلة البوليمر أو نقصان في الكتلة الجزيئية [9].

وبشكل عام ، تخضع بوليمرات مجموعة البولي (حمض ألفا-هيدروكسي) poly (α -hydroxy acid) للتحلل الكتلي. وبالتالي ، يبدأ وزنها الجزيئي في الانخفاض بشكل فوري عند التماس مع الأوساط السائلة ولكن تنقص كتلتها ببطء أكثر من ذلك بكثير بسبب الوقت المطلوب من قبل السلاسل الجزيئية لتتخفف إلى الحجم المناسب لها للانتشار (diffuse) بحرية خارج مصفوفة البوليمر (polymer matrix). وينتج عن هذه الظاهرة تأخر التفكك في البداية ولكن بعد ذلك يحدث تفكك سريع للطعم المزروع مصحوباً في نفس الوقت بزيادة في إطلاق المنتجات الثانوية للتحلل الحمضي. وفي الجسم الحي ، لا يمكن أن ينتج عن هذا فقط تفاعلات التهابية (inflammatory reactions) ، ولكن الانخفاض المفاجئ في درجة الحموضة (pH) قد يؤدي إلى مزيد من التعارض في التوافقية الحيوية للطعم المزروع ما لم يكن هناك ما يكفي من الدرع (buffering) المقدم عن طريق سوائل الجسم المحيطة والجملة الوعائية [8,10]. وتؤثر مواد الحشو (filler materials) على آلية التحلل من خلال منع تأثير التحفيز الذاتي (autocatalytic) لمجموعات النهاية الحمضية الذي يحدث نتيجة حلمهة (hydrolysis) (التحلل بالماء) سلسلة البوليمر [5]. وبالتالي ، وللتحكم في تسارع التحلل الحمضي ؛ قام الباحثون في مجالات هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية (musculoskeletal tissue engineering) بإدراج مادة حشو مثل ثلاثي فوسفات الكالسيوم tricalcium phosphate (TCP) - [11] أو الزجاج الحيوي (Bioglass) [12] أو الأملاح الأساسية [10] في مصفوفة البوليمر لإنتاج مادة مركبة مع الفكرة القائلة بأن منتجات الارتشاف (resorption) لتلك المضافات سوف تدرئ أو تعزل منتجات الارتشاف الثانوية الحمضية لمصفوفة البوليمر الأصلية وبذلك تستعيد التوافقية الحيوية وتمنع الالتهاب [8].

(٣,٢,٣) مطابقة معدلات تحلل حاملات الخلايا والأنسجة وإعادة نمو الأنسجة الجديدة Matching Rates of Degradation of Scaffold and Regrowth of New Tissue

إن هذا المعيار مهم للغاية لكنه صعب التنفيذ. فمن الضروري لحاملة الخلايا والأنسجة أن تنقل وبشكل تدريجي وظيفة نشر الحمل ودعمه إلى النسيج النامي حديثاً ، وخصوصاً في التطبيقات العضلية الهيكلية (musculoskeletal applications) حيث تتعرض حاملات الخلايا والأنسجة بشكل عام لحمولات أعلى مقارنة مع المناطق الأخرى. من الناحية المثالية ، فإن معدل الارتشاف الحيوي أو معدل التآكل الحيوي أو معدل تحلل حاملات الخلايا والأنسجة يجب أن يتطابق مع معدل إعادة نمو

الأنسجة الجديدة في موقع وضع حاملية الخلايا والأنسجة وذلك لتوفير نقل سلس تقريباً للحمل من حاملية الخلايا والأنسجة التي تتفكك إلى الأنسجة التي تتعزز وتتطور من دون حدوث تعارض مع سلامة الطعم المزروع. وهناك عيوب مرتبطة إما بالمعدل السريع للغاية لتحلل حاملية الخلايا والأنسجة وإما بالمعدل البطيء جداً، نسبةً إلى معدل إعادة النمو للأنسجة الجديدة. فإذا كان معدل تفكك حاملية الخلايا والأنسجة مرتفعاً، فإن الأنسجة المكونة حديثاً ستعرض فجأة لقوى أكبر من ما يمكن أن تتحملة لأنها سوف لن يكون لديها ما يكفي من الوقت للتكيف مع نشر القوى الجديدة ويمكن بالتالي أن تتأثر سلباً. ومن ناحية أخرى، إذا كان معدل تحلل حاملية الخلايا والأنسجة بطيئاً للغاية، فيمكن أن يؤدي إلى تدريع الإجهاد (stress shielding) للأنسجة النامية وبالتالي حمايتها من القوى المقصود منها تقويتها أثناء تطويرها، وبالتالي فإن هذا يجعلها أكثر عرضة للإصابة بالضرر في وقت لاحق. وقد حدد Hutmacher [8] استراتيجيتين من أجل اختيار المواد البوليمرية لحاملة الخلايا والأنسجة في تطبيقات هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية وذلك اعتماداً على الوقت الذي تحتاجه حاملية الخلايا والأنسجة للقيام بدور نشر الحمل. في الحالة التي يكون مطلوباً فيها أن تلعب مادة حاملية الخلايا والأنسجة الدور الرئيسي في الدعم إلى حين الوقت الذي يتم فيه إعادة تشكيل البنية بشكل كامل من قبل الأنسجة المضيفة، فإن تلك المادة تحتاج إلى أن تكون مصممة بطريقة تمكنها من الاحتفاظ بقوتها إلى حين ذلك الوقت الذي تستطيع فيه الأنسجة النامية أن تبدأ في القيام بدورها البيوي. ففي حالة العظم، فإن المطلوب من حاملية الخلايا والأنسجة الإبقاء على خصائصها الميكانيكية لمدة ٦ أشهر على الأقل، هذا يعني ٢٤ أسبوعاً (٣ أسابيع لبذر الخلايا و ٣ أسابيع لنمو الأنسجة غير الناضجة في بيئة ديناميكية و ٩ أسابيع لنمو الأنسجة الناضجة في مفاعل حيوي و ٩ أسابيع في موضع الزرع) والتي تبدأ بعدها وبشكل تدريجي في فقد خصائصها الميكانيكية ويجب أن يتم استقلالها عن طريق الجسم من دون رد فعل للجسم الغريب بعد ١٢ - ١٨ شهراً. في الاستراتيجية الثانية، تلعب حاملية الخلايا والأنسجة الدور الأساسي لتدعيم وبشكل ميكانيكي تكاثر وتمايز الخلايا فقط إلى أن يحين الوقت الذي يتم فيه وضع الأنسجة غير الناضجة في المفاعل الحيوي (bioreactor)، والذي يتم بعده تولي الوظيفة من خلال المصفوفة خارج الخلية (ECM) التي تفرزها الخلايا أثناء تحلل حاملية الخلايا والأنسجة. وهكذا، فإن الاختيار الدقيق لمختلف المحددات أو البارامترات المرتبطة بحاملة الخلايا والأنسجة وبتربكها، اعتماداً على حجم الخل وموقعه التشريحي يعتبر حاسماً. وهذه تشمل الكراهية للماء (hydrophobicity) والتبلور (crystallinity) والمتانة الميكانيكية (mechanical strength) والوزن الجزيئي (molecular weight) ونوع التعطل، ... إلخ.

إن استخدام المواد المركبة هو الآن في تصاعد لمواكبة معدلات التحلل والطاقات الحركية للارتشاف (resorption kinetics) [8]. وقد استخدم Shikinami و Okuno [13] مركب من هيدروكسي آباتيت (hydroxyapatite - HA) غير مُتكلّس وغير مُتصلّب أو مُتلبّد مع بولي - إل - لاكتيد (poly-L-lactide - PLL) ليس فقط لكسب تحكم أفضل بالارتشاف ولكن أيضاً لتعزيز المتانة الميكانيكية. وقد تمكّن Roether [14] وآخرون من صنع رغوات (foams) من بولي (دي إل - حمض اللاكتيك) (poly(DL-lactic acid) - PDLLA) تم تغطيتها وتشريبها بواسطة الزجاج الحيوي كحاملة خلايا وأنسجة لهندسة الأنسجة العظمية. إن التغطية بطبقة من الزجاج الحيوي على الجدران المسامية قد أثّر على معدل ومدى تحلل البوليمر عن

طريق العمل كحاجز وقائي ضد الحَلْمَهَة (التحلل بالماء) [14,15]. يوفر التبادل السريع للبروتونات (protons) في الماء من أجل القلوية في الزجاج تأثير الدَّرء لدرجة الحموضة (pH) عند سطح البوليمر؛ وبالتالي يبطئ من معدل التحلل نتيجة للتغيرات الصغيرة في درجة الحموضة (pH) أثناء انحلال الزجاج النشط حيويًا (bioactive glass) [16]. ومع ذلك، فقد وجد Ang وآخرون [17] أنه عندما تم إدراج الهيدروكسي آباتيت (HA) كمادة حشو في مصفوفة من البولي كابرولاكتون (polycaprolactone - PCL) تحللت المصفوفات ذات التراكيز الأعلى للهيدروكسي آباتيت (HA) بشكل أسرع بكثير من تلك المصفوفات ذات التركيز المنخفض على الرغم من أن خصائصها الميكانيكية وفعاليتها الحيوية قد تحسّنت مبدئيًا. ويمكن أن يُعزى هذا إلى الانشقاقات أو الانقسامات العشوائية للسلسلة الحَلْمَهِيَّة (hydrolytic chain) في المناطق غير المتبلورة (amorphous regions) لحاملة الخلايا والأنسجة من البولي كابرولاكتون (PCL) أو الزيادة في حب امتصاص الماء (hydrophilicity) المنقولة عن طريق إضافة الهيدروكسي آباتيت (HA) إلى حاملات الخلايا والأنسجة من البولي كابرولاكتون (PCL) والتي تم وضعها في وسط قاعدي بدرجة عالية من هيدروكسيد الصوديوم (5M NaOH) للتسريع الفعلي في معدل التحلل البطيء للبولي كابرولاكتون (PCL) [17]. حتى في الحالات التي يمكن التحكم بها، يمكن للتحلل الكيميائي والميكانيكي للبوليمر أن يتفاوت بشكل كبير بين الأصناف أو الأنواع الرئيسية والأنواع الفردية والمواقع التشريحية مما يجعل بالتالي من الصعب للغاية تحديد معدل مثالي للتحلل [2]. إن معظم استراتيجيات التصميم تؤيد تمديد فترة التحلل على مدى أشهر لتقليل خطر الفشل المبكر في البنية بدلاً من خطر تأخر الارتشاف [2].

(٣،٢،٤) الخصائص الميكانيكية Mechanical Properties

يُشار عادةً إلى حاملة الخلايا والأنسجة المبذورة بالخلايا وعوامل النمو على أنها بناء أو بنية (construct). وينبغي أن تتطابق الخصائص الميكانيكية (المتانة (strength) ومُعامل المرونة أو الرجوعية (modulus) والصلابة (toughness) وقابلية السَّحْب أو الليونة (ductility)) للبنية مع تلك الخصائص التي في نسيج المضيف بقدر الإمكان في وقت الزراعة حتى لا يكون الشَّام الأنسجة مُنْقوصًا من خلال الفشل الميكانيكي لحاملة الخلايا والأنسجة قبل أن يحدث التوليد الجديد للأنسجة [2,8]. وقد جمع Freeman وآخرون [18] بين تقنيات تجديل (braiding) (تضفير) وفتل (twisting) (التواء) ألياف البوليمر لتصنيع حاملة خلايا وأنسجة مجدولة - مفتولة من بولي (إل - حمض اللاكتيك) (poly(L-lactic acid) - PLLA)، وذلك من أجل إعادة بناء (reconstruction) الرِّبَاط التَّصَالِبِيَّ الأمامي (anterior cruciate ligament). وقد أدت هذه الإضافة من التواء الألياف لحاملة الخلايا والأنسجة المجدولة إلى خصائص ميكانيكية أفضل بشكل كبير (متانة شد قصوى (ultimate tensile strength) وأقصى توتر أو انفعال (ultimate strain) ومنطقة إصبع (toe region) أكبر) مقارنة مع حاملات الخلايا والأنسجة المضفورة فقط. وقد أيد Webster و Ahn [19] استخدام الهيدروكسي آباتيت ذي البنية النانوية (nanostructured HA) كأساس لهندسة الأنسجة العظمية، وحيث إنه بالإضافة إلى كونه أقوى ميكانيكيًا، فإن الركائز ذات الطور النانوي (nanophase substrates) تعزز وظيفة الالتصاق والوظائف الأخرى للخلايا البَانيَّة للعظم (osteoblast) كما توفر أيضًا الاستقرار الكيميائي والبيئي. وقد أدرج Horch وآخرون [20] جسيمات الألوموكسين النانوية (alumoxane nanoparticles) الوظيفية في بولي (بروبيلين فومارات)

poly (propylene fumarate) - diacrylate / بولي (بروبيلين فومارات) - ثنائي الأكريليت (poly (propylene fumarate) - DA) للحصول على مركب مع زيادة تصل إلى حد الثلاثة أضعاف في قيمة معامل الانحناء أو الشني (flexural modulus) مقارنة مع الراتنج البوليمري (polymer resin). وقد عزوا هذا التحسن الكبير في خصائص الانحناء إلى التشتت المتجانس (uniform dispersion) لجسيمات النانو ضمن البوليمر بالإضافة إلى التفاعلات التساهمية (covalent interactions) الأكبر بين السطح المحدد وظيفياً لمادة الحشو وسلاسل البوليمر. وبالتالي؛ يغير الباحثون الأساليب القائمة وذلك من أجل تحسين الخصائص المطلوبة عن طريق تعديل بعض جوانب تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة، سواء كان ذلك عن طريق الجمع بين التقنيات أو باستخدام مزيج من البوليمرات أو تقليل حجم المكونات.

إن التحكم بالخصائص الميكانيكية للبنية مع مرور الوقت هو مهمة صعبة للغاية. فحاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من المعدن والسيراميك لا تتحلل وستوفر خصائص ميكانيكية مثالية في ظل ظروف محددة، ولكن ذلك وبشكل عام سيتعارض مع إصلاح ووظيفة الأنسجة نتيجة لتدريج الإجهاد، والكسر أو التمزق المحتمل عند السطح البيني فيما بين الطُعم - الأنسجة (tissue - implant interface)، وتضاؤل المساحة لاستيعاب نمو الأنسجة الجديدة بسبب الوجود الدائم للطُعم المزروع [2]. وبشكل عام، تفتقر البوليمرات إلى الوظيفة الحيوية النشطة، أي القدرة على إنتاج رباط بيني (interfacial bond) قوي مع الأنسجة النامية، على سبيل المثال، مع النسيج العظمي (bone tissue) عبر تشكيل طبقة الآباتيت (apatite layer) الفعالة بيولوجياً [5,21]. إن هذه الطبيعة المرنة والضعيفة المقترنة بالبوليمرات تحد من قدرتها على تلبية المتطلبات الميكانيكية في الجراحة والبيئة الموضعية بعد ذلك، مما يدفع إلى استخدام المواد المركبة والتي تتكون من بوليمرات قابلة للتحلل وأنواع سيراميك نشطة حيوياً [5,21]. تُشكل مواد معينة من السيراميك مثل الهيدروكسي آباتيت (HA)، وثلاثي فوسفات الكالسيوم (TCP)، والزجاج النشط حيوياً (Bioglass) روابط قوية مع النسيج العظمي من خلال النشاط الخلوي (cellular activity) في وجود السوائل الفيزيولوجية (physiological fluids) ويُشار إليها بالتالي على أنها "نشطة حيوياً" ("bioactive") [14,22].

ويتم استخدام تقنية أخرى لتحسين خصائص نشر الحمل (load - bearing) للبنية تنطوي على استخدام مفاعل حيوي وذلك للتكييف المسبق للطُعم بشكل ميكانيكي وبالتالي تحضيره بشكل أفضل لنشر الأحمال التي سيتعرض لها بعد عملية الزرع، وبطريقة فعّالة. ويمكن تعريف المفاعل الحيوي كأى جهاز يحاول محاكاة (تقليد) وإعادة إنتاج الشروط الفيزيولوجية للحفاظ على وتشجيع زرع الخلايا من أجل نمو الأنسجة [23]. وقد كتب Bilodeau و Mantovani [23] عرضاً ممتازاً للخصائص المختلفة للمفاعلات الحيوية المصممة لزراعة الغضاريف والعظم والأربطة والأنسجة القلبية والوعائية والصمامات القلبية والكبد. وقد ناقشوا كيف أن الإجهادات الميكانيكية (mechanical stresses) المتولدة ضمن المفاعلات الحيوية تؤثر على نوعية المصفوفة خارج الخلية (ECM) في حالة العظم والأربطة والغضاريف وكيف تتأثر جوانب أخرى مثل تكاثر وتمايز الخلايا أكثر في حالة الأنسجة الأخرى. وقد اختبر Androjna وآخرون [24] وبشكل ميكانيكي تأثير تكييف حاملات تحت مخاطية المعى الدقيق (small intestine submucosa - SIS) مع وبدون خلايا الوتر (tenocytes)، في المختبر

وضمن المفاعلات الحيوية، من أجل تعزيز إصلاح الوتر (tendon repair). وقد وجدوا أن الخصائص الميكانيكية الحيوية (على سبيل المثال الصلابة stiffness) لحاملات الخلايا والأنسجة المبذورة بالخلايا تزداد كنتيجة لتوتير الخلية (cell - tensioning) بسبب التحميل الدوري (cyclic loading) بالمقارنة مع حاملات الخلايا والأنسجة غير المبذورة بالخلايا والبني التي بدون أحمال أو البني ذات الأحمال الاستاتيكية الساكنة (static load constructs) (مع أو بدون خلايا). وربما تكون إعادة تنظيم المصفوفة قد أسهمت أيضاً في هذه الزيادة في الصلابة كما أن تطبيق الحمل الميكانيكي قد يكون ساهم في إعادة توجيه البنية الهندسية للكولاجين على طول محور الحمل المطبق. وقد قام Mahmoudifar و Doran [25] ببذر خلايا غضروفية على حاملات خلايا وأنسجة من بولي (حمض الغليكولايد) (poly(glycolic acid) - PGA)، والتي تمت زراعتها في مفاعلات حيوية ذات أعمدة إعادة الدوران (recirculation column bioreactors) لإنتاج بُنى غضروفية. إن تدفق الأوساط الغذائية من خلال البنية يُولد قوى قص والتي توفر محفزات ميكانيكية للخلايا؛ وبالتالي تُحسن من نوعية الغضروف المنتج [25,26]. وكذلك، فإن الضغط الهيدروستاتيكي (hydrostatic pressure) يُنتج قوى ضاغطة والتي تعود بالفائدة على تشكيل الغضروف [26]. وقد قام Jeong وآخرون [27] وبنجاح بتعريض حاملات الخلايا والأنسجة من بولي (لاكتيد - كو - كابرولاكتون)، (PLCL) - poly (lactide-co-caprolactone) [50] والمبذورة بخلايا عضلية ملساء إلى انفعال نابض (pulsatile strain) وإجهاد قص (shear stress) في مفاعل حيوي ذي حقن أو تدفق متواصل لتحفيز تطوير الأنسجة العضلية الوعائية الملساء والاحتفاظ بنمطها الظاهري المتميز. وتلعب الإشارات الميكانيكية دوراً حيوياً كذلك في هندسة البنى وذلك من أجل الأنسجة القلبية [28]. وقد عرض Akhyari وآخرون [29] مصفوفة من الجيلاتين (gelatin matrix) مبذورة بخلايا قلبية إلى نظام شدّ ميكانيكي دورويّ (cyclical mechanical stretch)، والذي لم يُحسن فقط تكاثر وتوزيع الخلايا ولكنه زاد أيضاً من المتانة الميكانيكية للطعم وذلك بحسب الحجم. إن إعادة تشكيل الخلايا والأنسجة مهم من أجل تحقيق شروط ميكانيكية مستقرة في موقع زرع الطعم. وبالتالي، فإن هناك ضرورة لاستخدام البنية وذلك للحفاظ على سلامة بنوية كافية أثناء طور النمو وإعادة التشكيل في المختبر و / أو في الجسم الحي [8].

(٣,٢,٥) خصائص السطح Surface Properties

إن معظم البوليمرات التقليدية لا تلبي على نحو كافٍ المتطلبات السطحية لحاملات الخلايا والأنسجة مما يستلزم تعديل سطح المادة الحيوية التي تعرض بالفعل خصائص كتلية جيدة وتحديد وظيفي حيوي جيد [30]. لقد طور Moroni وآخرون [31] نظاماً جديداً لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة من أجل إصلاح الغضروف مع شبكة بوليمر ثنائية الطور (biphasic) مصنوعة من بولي [(أكسيد الإيثيلين) تيريفثالات - كو بولي (بوتيلين) تيريفثالات] (poly[(ethylene oxide) terephthalate] - PEOT / PBT copoly(butylene) terephthalate) وذلك للحصول على بنية هندسية لألياف ذات قشر - ولب (shell - core fiber)، حيث زود اللب بالخصائص الميكانيكية الأساسية والتنظيم لحاملة الخلايا والأنسجة في حين عمل القشر كطبقة غلاف خارجي لتعزيز خصائص السطح. وقد احتوى بوليمر القشر على وزن جزيئي عالٍ لأجزاء من بولي (غليكول الإيثيلين) (poly(ethylene glycol) - PEG) التي تم استخدامها في البلمرة المشتركة (copolymerization) بالإضافة إلى نسبة

متوية من وزن أكبر لمجالات البولي (أكسيد الإثيلين) تيريفثاللات (PEOT) بالنسبة إلى اللب [31]. وقد قام Liu وآخرون [32] بتصنيع حاملات خلايا وأنسجة من بولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA) ذات ألياف نانوية مُعدّلة السطح باستخدام كرات من الجيلاتين كمولد مسام (porogen). وقد التصقت جزيئات الجيلاتين بسطح حاملة الخلايا والأنسجة أثناء عملية التصنيع. لقد حسّن هذا التعديل السطحي وبشكل ملحوظ الالتصاق والتكاثر الأولي للخلايا البانية للعظم وكذلك فقد حفّز هذا التعديل على زيادة إفراز المصفوفة (matrix secretion). وقد اكتشف Li وآخرون [33] طريقة جديدة من أجل طلاء أو تغليف (coating) حاملات خلايا وأنسجة سميكة مصنوعة من بولي (حمض لاكتيك-كو-غليكوليك) (poly(lactic-co-glycolic acid) - PLGA) بطبقة غلاف خارجي من الآباتيت متجانسة نسبياً وحتى في العمق ضمن المناطق الداخلية؛ وذلك لتعزيز موصليّتها العظمية (osteoconductivity). ففي البداية قاموا بتغليف طبقة من الآباتيت على سطح كرات البارافين (paraffin spheres) بالحجم المطلوب، والتي تم تشكيلها بعد ذلك في رغوة. وقد تمت صناعة محلول من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) / بيريدين (pyridine) لاختراق الأماكن البينية فيما بين الكرات. وقد تم استخدام السيكلوهيكسان (cyclohexane) لإذابة الكرات؛ مما أسفر عن حاملة خلايا وأنسجة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) ذات مسامية عالية مع حجم مسام يمكن التحكم به وبترباط بيني ممتاز بوجود طبقة غلاف خارجي من الآباتيت المتجانسة على السطح المسامي. وقد قام Cai وآخرون [34] بتعديل سطح حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من بولي (دي إل - حمض اللاكتيك) (PDLLA)، الذي تم تحضيره من خلال عملية الفصل الطوري المحرّض حرارياً (thermally induced phase separation - TIPS)، مع البايكالين (baicalin) باستخدام طريقة الانفخاخ الفيزيائي (physical entrapment)؛ وذلك من أجل زيادة إمكانية تشكيل العظم وزيادة التوافقية الحيوية والتي تم تقييمها هيسولوجياً (نسيجياً) باستخدام نموذج كُعبريّ معطوب (radialis defect model) لأرنب في الجسم الحي. إن البايكالين هو مركب فلافونويد (flavonoid compound)، وهو شكل مُنقى من نبات عشبي طبي صيني، وهو يمتلك خصائص مضادة للأكسدة (antioxidant) فضلاً عن الخصائص المضادة للالتهاب (anti-inflammatory).

تتحكم البيئة الكيميائية الموضعية في التفاعلات بين الخلايا وحاملات الخلايا والأنسجة التي تحدث عند السطح. وبشكل عام، يتم على الفور تغليف جميع المواد المزروعة بطبقة خارجية من البروتينات والدهون (الشحم)، والتي تعمل كوسيط في الاستجابة الخلوية لهذه المواد. وأخيراً، يأتي التفاعل بين سطح حاملة الخلايا والأنسجة والجزيئات الحيوية التي تُمتز عليه، وهذا ما يحدد التأثير النهائي [2]. وقد شكّل Koegler و Griffith [35] طرازاً للتركيب الكيميائي والبنية الهندسية لسطح حاملة الخلايا والأنسجة وذلك من أجل دراسة استجابة الخلايا؛ لأن ذلك من شأنه أن يُسهّل النمو أو التطوير المنظم للأنسجة الجديدة. وقد قاما بتقييم كيفية استجابة الخلايا الجرّذية البانية للعظم (rat osteoblasts) إلى حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) والمعدّلة بواسطة بولي (أكسيد الإثيلين) (PEO)، ووجدوا بأن تراكيز البولي (أكسيد الإثيلين) (PEO) الأعلى قد خفضت الالتصاق والتكاثر والانتشار والهجرة ولكنها عززت من نشاط إنزيم الفُسفاتاز القلويّ (alkaline phosphatase).

ويلعب تعديل السطح دوراً مهماً جداً في تقنيات هندسة الأنسجة التي تستخدم الأفلام أو الأغشية الرقيقة. وقد عرضَ Tiaw وآخرون [36] أفلاماً شديدة الرقة مصنوعة من البولي كابرولاكتون (PCL) إلى الاقتطاع أو الانفصال بواسطة ليزر الفيمتو ثانية (femtosecond laser) وليزر الإكزامير (excimer laser) وذلك من أجل إنتاج ثقوب مفتوحة النهاية (drilled - through holes) وثقوب مغلقة النهاية (blind holes)، على التوالي، وذلك لتعزيز النفاذية لتطبيقات مثل هندسة أنسجة البشرة (epidermal tissue engineering). إن المعالجة بالليزر قد جعلت الغشاء أكثر حياً للماء مما يمهّد الطريق بالتالي لمزيد من الدراسة في مجال هندسة أنسجة الأغشية. وقد قام Nakayama وآخرون [37] بدراسة تأثير كثافة المسامات المايكروية لأفلام حاملات الخلايا والأنسجة المستخدمة في تطبيقات هندسة الأنسجة القلبية الوعائية. فقد قاموا بتشكيل طراز زخرفة مايكروية (micropattern) لأربع مناطق في فيلم من البولي يوريثين (polyurethane) مع كثافات مختلفة للمسّامات واستخدموا هذا الفيلم لتغطية دعامة (stent) (واقية الطعم) تم زرعها في الشرايين في نموذج كَلْبِيّ (canine model) على اعتبار أنه نموذج لنشوب أو نمو نسيج كامل الجدار (transmural tissue ingrowth) في الجسم الحي. وكان تشكيل الخثرة (thrombus formation) في حده الأقصى في المناطق غير المسامية وفي المناطق ذات الكثافة الأقل للمسّامات المايكروية. وقد وجدوا أيضاً أن سماكة جدار باطنة الشريان الحديث (neointimal wall) تتناقص مع الزيادة في كثافة المسّامات المايكروية.

(٣،٢،٦) خصائص البنية الهندسية Architectural Properties

إن خصائص البنية الهندسية لحاملة الخلايا والأنسجة تحدد وبشكل أساسي النقل الذي يحدث في داخلها، والذي هو في الأصل وظيفة للانتشار. تتضمن مشاكل النقل توصيل الأكسجين وغيره من المواد الغذائية وإزالة الفضلات ونقل البروتينات وهجرة الخلايا والتي بدورها يتم التحكم فيها بواسطة مسامية ونفاذية حاملة الخلايا والأنسجة [38]. ويؤثر الحجم والشكل الهندسي (geometry) والتوجيه والترابط البيني (interconnectivity) والتفرع (branching) والتركيب الكيميائي السطحي (surface chemistry) للمسّامات والقنوات تأثيراً مباشراً على مدى وطبيعة انتشار (diffusion) المواد الغذائية ونشوب أو نمو الأنسجة [39,40]. وبشكل عام، يُلاحظ وجود الأنسجة الحية في المناطق الخارجية من حاملات الخلايا والأنسجة في حين تفشل المناطق الداخلية في دعم الأنسجة الحية بسبب عدم وجود ما يكفي من الانتشار [41]. وهذا قد ينشأ نتيجة لحقيقة أن الخلايا داخل مسامات حاملة الخلايا والأنسجة تبدأ بالتكاثر وإفراز المصفوفة خارج الخلية (ECM)، فهي تبدأ في نفس الوقت في إغلاق المسامات؛ مما يقلل من التزويد بالمواد الغذائية إلى الداخل. وتتم الإشارة إلى تشكيل هذه الطبقة السطحية من الأنسجة مع المصفوفة الفراغية في الداخل بتأثير "أم أند أم" ("M & M effect")، في إشارة إلى علامة تجارية شائعة من الحلوى لها قشرة صلبة ولُبّ ناعم [38].

(٣،٢،٦،١) حجم وشكل المسام Pore Size and Shape

لا يمكن لحاملة الخلايا والأنسجة أن تكون صلبة تماماً حيث إن الخلايا تحتاج إلى أن تنمو في داخلها وهي تحتاج إلى أن يتم تزويدها بالمواد الغذائية. وبالتالي؛ فالحاجة لأن تملك حاملة الخلايا والأنسجة ثقوباً أو مسامات أو قنوات تبدو واضحة، ولكن

ما ليس واضحاً تماماً هو ما يجب أن يكون شكلها وأبعادها. ينبغي أن يكون حجم المسام على الأقل أضعافاً قليلة من حجم الخلايا التي سيتم بذرها عليها لتوفير مساحة كافية لدخول وخروج المواد الغذائية والفضلات، على التوالي. وكذلك فقد تحتاج الأوعية الدموية وعوامل النمو إلى الدخول إلى البنية أيضاً. ولا يوجد هناك مجال عام لحجم المسام أو القناة بحيث يناسب جميع أنواع نمو الأنسجة لأن الخلايا تُشكّل أنسجة مختلفة تكون لها أبعاد مختلفة. وقد أعدّ Sosnowski وآخرون [42] حاملات خلايا وأنسجة من بولي إيل-لاكتيد (PLL) / بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) من جسيمات مايكروية (microparticles) مع توزيع حجم مسامي ثنائي النسق (bimodal). وقد شجّعت المسامات الماكروية في المجال من ٥٠ إلى ٤٠٠ مايكرومتر نمو وتكاثر الخلايا البانية للعظم ضمن حاملات الخلايا والأنسجة في حين أن المسامات المايكروية في المجال من ٢ نانومتر إلى ٥ مايكرومترات في جدران حاملات الخلايا والأنسجة قد سمحت بانتشار المواد الغذائية والمستقلّبات (metabolites) بالإضافة إلى منتجات حلمهة (تحلل) البوليستر (polyester hydrolysis). وقد استخدم Draghi وآخرون [43] ثلاثة أنواع مختلفة من مولدات المسام (كرات مايكروية من الجيلتين، وكرات مايكروية من البارافين، وبلورات من الملح) لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة من مواد قابلة للتحلل الحيوي يتم استخدامها بشكلٍ شائع وذلك عبر تقنية صبّ (قوالب) المذيب (solvent casting) / انفاذ أو استغسال (ترشيح) مولد المسام (porogen leaching) لمعرفة ما يسمح بتوفير أقصى قدر ممكن من التحكم بمورفولوجيا (morphology) (شكل) حاملات الخلايا والأنسجة. وعلى الرغم من أن جميع مولدات المسام قد ساهمت في إنتاج حاملات خلايا وأنسجة مسامية بشكلٍ عالٍ، إلا أن انفاذ أو استغسال الكرات المايكروية قد أنتج مسامات كروية محددة بشكلٍ جيد وأسفر عن خصائص ميكانيكية أفضل ومقاومة أقل للتدفق.

لقد قام الباحثون بتصنيع حاملات خلايا وأنسجة مع أحجام مختلفة للمسامات أو حتى مع مجال من أحجام المسامات ضمن نفس حاملات الخلايا والأنسجة لمعرفة تأثيرها على نمو الخلايا ولحاكاة أنواع معينة من الأنسجة. وقد صنع Oh وآخرون [44] حاملات خلايا وأنسجة أسطوانية من البولي كابرولاكتون (PCL) مع زيادة تدريجية بأحجام المسامات على طول محور طولي باستخدام طريقة جديدة للتنبيد (centrifugation) (الطرد المركزي) لتقييم تأثير حجم المسام على تفاعل حاملات الخلايا والأنسجة - الخلايا. وقد ازدادت أحجام المسامات داخل حاملات الخلايا والأنسجة بشكلٍ تدريجي من ٨٨ إلى ٤٠٥ مايكرومتر والمسامية من ٨٠٪ إلى ٩٤٪ وذلك بسبب الزيادة التدريجية بقوة الطرد المركزي على طول المحور الأسطواني. وقد جرى تقييم تفاعل الخلايا الغضروفية والخلايا البانية للعظم وخلايا الأرومة الليفية (الخلايا الليفية) في المختبر مع حاملات الخلايا والأنسجة تلك المصنوعة من البولي كابرولاكتون (PCL) وفي الجسم الحي باستخدام عيوب قُبِيَّة (calvarial defects) في نموذج أرنب. وقد أظهر الجزء من حاملات الخلايا والأنسجة الموجود فيه أحجام مسامات في المجال من ٣٨٠ إلى ٤٠٥ مايكرومتر نمواً أفضل للخلايا الغضروفية والخلايا البانية للعظم في حين أن المجال من ١٨٦ إلى ٢٠٠ مايكرومتر كان أكثر ملاءمة لنمو خلايا الأرومة الليفية. وعلاوة على ذلك، فقد بدا الجزء من حاملات الخلايا والأنسجة مع حجم مسام في المجال من ٢٩٠ إلى ٣١٠ مايكرومتر أنه الأنسب لتشكيل عظم جديد. وهذا يشير إلى وجود مجالات من المسامات تكون مثالية من أجل نمو بعض أنواع الخلايا، وأن هذا المجال يمكن أن يتغير في حين تتمايز الخلايا لتشكّل الأنسجة.

وقد قام Woodfield وآخرون [45] باختبار قدرة البنى الهندسية للمسامات المتباينة الخصائص (anisotropic) للتحكم بالتنظيم المناطقيّ (zonal organization) للخلايا الغضروفية ومكونات المصفوفة خارج الخلية (ECM) في حاملات خلايا وأنسجة مصنوعة من بولي (جليكول الإثيلين)-تيريفثاللات / بولي (بوتيلين تيريفثاللات) (PEGT / PBT). وقد استخدم الباحثون تقنية ترسيب الألياف ثلاثية الأبعاد لإنتاج حاملات خلايا وأنسجة إما مع مسامات متباعدة بشكل متجانس (تباعدا الألياف بمقدار ١ ميليمتر وحجم المسام بقطر ٦٨٠ مايكرومتر) وإما مع تدرجات في حجم المسام (تباعدا الألياف بمقدار من ٠.٥ إلى ٢ ميليمتر وحجم المسام بقطر من ٢٠٠ إلى ١٦٥٠ مايكرومتر)، ولكنها تملك مسامية إجمالية متماثلة لحوالي ٨٠٪. وقد وجدوا أن التدرج يشجع على التوزيع المتباين الخصائص للخلايا والمماثل لذلك الموجود في المناطق العليا والوسطى والدنيا لغضروف مفصلي (articular cartilage) بقري غير ناضج، بغض النظر عما إذا كانت طريقة بذر الخلايا ساكنة أو ديناميكية. وبالإضافة إلى ذلك، فقد اكتشفوا وجود علاقة مباشرة بين المسامية المناطقيّة وكل من محتوى الحمض النووي (DNA) والجليكوز أمينوغليكان (glycosaminoglycan - GAG). وكذلك، فقد أنتج Harley وآخرون [46] حاملات خلايا وأنسجة أسطوانية مع بنية مسامية مترافقة (aligned pore structure) بشكل شعاعي (نصف قطري) لها متوسط حجم مسام أصغر ومسامية أقل باتجاه الخارج. إن زيادة زمن الغزل (spinning time) و/ أو السرعة تتسبب في تشكيل أنبوب مجوّف بقطر داخلي كبير وتدرج في المسامية على طول نصف القطر نظراً لزيادة الترسيب. وبالتالي؛ فإن الاتجاه الهام الأساسي هو الحاجة إلى أن تكون هناك حاملات خلايا وأنسجة ذات مسامية ملائمة.

(٣,٢,٦,٢) المسامية Porosity

المسامية هي مقدار سعة الفراغ داخل بنية حاملات الخلايا والأنسجة. وقد كرر العديد من الدراسات أن هناك حاجة لأن تمتلك حاملات الخلايا والأنسجة مسامية عالية ونسبة مرتفعة لمساحة السطح إلى الكتلة من أجل تعزيز توزيع متجانس للخلايا ونشوب أو نمو أنسجة متجانس [47] وبالإضافة إلى ذلك أن تكون لديها شبكة مسامية مفتوحة من أجل الحصول على انتشار مثالي للمواد الغذائية والفضلات [48]. وقد أشارت دراسة أخرى بأن حاملات الخلايا والأنسجة يجب أن تمتلك بشكل مثالي مسامية من ٩٠٪ للسماح للانتشار الكافي أثناء زراعة الأنسجة وتوفير مساحة كافية من أجل تفاعلات البوليمر- الخلايا [49]. ومع ذلك، فقد اقترح Goldstein وآخرون [50] بأن يتم تحضير حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من حمض بولي لاكتيك - بولي غليكوليك (polylactic - polyglycolic (PLG) acid) مع مسامية لا تتجاوز ٨٠٪ من أجل الزراعة في مناطق العيوب العظمية وخلاف ذلك قد يتعارض مع سلامة حاملات الخلايا والأنسجة. وهكذا، ففي حالة حاملات الخلايا والأنسجة البوليمرية قد يكون هناك تعارض بين تحسين المسامية وزيادة الخصائص الميكانيكية إلى الحد الأقصى. بالإضافة إلى ذلك، فقد وجد Agrawal وآخرون [51] بأن مسامية ونفاذية أولية أقل تؤدي إلى معدل أسرع للتحلل وذلك من أجل حاملات خلايا وأنسجة من البولي لاكتيك - بولي غليكوليك (PLG) وخصائص ميكانيكية أقل أثناء الأسابيع الأولى. وقد قام Wu و Ding [52] باختبار تأثيرات المسامية (من ٨٠٪ إلى ٩٥٪) وحجم المسام (من ٥٠ إلى ٤٥٠ مايكرومتر) على تحلل حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من ٨٥ / ١٥ بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك)

(PLGA)، والذي تم القيام به في محلول ملحي مَدْرُوء بالفوسفات (phosphate - buffered saline - PBS) عند درجة حرارة ٣٧ مئوية لمدة تصل إلى ٢٦ أسبوعاً. إن حاملات الخلايا والأنسجة التي تملك مسامية أعلى أو حجم مسامات أصغر قد تحللت ببطء أكثر من تلك التي بمسامية أقل أو حجم مسامات أكبر حيث أن هذه الأخيرة كان لها جدران مسام أكثر سماكة ومساحات سطحية أصغر، الأمر الذي حال دون انتشار منتجات التحلل الحمضية مما ينتج عنه زيادة في الحُلْمَهَة (التحلل بالماء) المحفزة بواسطة الحمض.

وهكذا، وفي ضوء هذه العوامل المتناقضة، فإن هناك حاجة لتحسين حاملات الخلايا والأنسجة من أجل تجديد العظم بناءً على متطلباتها الميكانيكية المحددة والمتوازنة مع خصائصها المرغوبة الصالحة للحياة والانتشار. ويمكن تحقيق ذلك عن طريق تحسين المسامية فيما يتعلق بتوافر المواد الغذائية واستخدامها مع المواد الحيوية التي يمكن أن توفر خصائص ميكانيكية كافية. وقد طور Lin وآخرون [53] استراتيجية عامة لتحسين تصميم البنية الهندسية الداخلية ثلاثية الأبعاد لحاملة الخلايا والأنسجة لتكون لها الخصائص الميكانيكية والمسامية المطلوبة في نفس الوقت، وذلك من خلال استخدام خوارزمية تحسين الطوبولوجيا المبنية على التجانس (homogenization - based topology optimization algorithm) من أجل هندسة الأنسجة العظمية. وقد أظهر Howk و Chu [54] بأنه كان من الممكن زيادة المسامية والمتانة لحاملة الخلايا والأنسجة المستخدمة لهندسة الأنسجة العظمية من خلال تكرارات بسيطة في تصميم البنية الهندسية باستخدام برامج التصميم بمساعدة الكمبيوتر (computer - aided design - CAD) وتحليل العناصر المحددة. وقد كان الهدف من تحسينها هو الحفاظ على قوة التصميم ثابتة وفي الوقت نفسه زيادة المسامية. وقد اختار Xie وآخرون [55] حاملات خلايا وأنسجة نشطة ميكانيكياً (mechano - active scaffolds) والتي تستجيب لضغط الإجهاد المطبّق من دون أن يحدث تشوه (deformation) دائم من أجل هندسة غضروف مفصلي من وجهة نظر ميكانيكية حيوية وبعد ذلك قاموا بتحديد المسامية الأفضل. فقد استخدموا إسفنجة البولي (إل-لاكتيد-كو-كابريولاكتون) (PLCL) (حجم المسام: من ٣٠٠ إلى ٥٠٠ مايكرومتر، والمسامية: من ٧١٪ إلى ٨٦٪) كحاملات خلايا وأنسجة نشطة ميكانيكياً وحددوا بأنه كلما انخفضت مساميتها، اقتربت خصائصها الميكانيكية نحو تلك التي للغضروف الأصلي. وبالتالي؛ فقد وُجد بأن حاملة الخلايا والأنسجة ذات المسامية من ٧١٪ هي الأنسب من أجل توليد الغضروف. وقد غيّر Moroni وآخرون [56] في حجم وشكل المسام عن طريق تغيير قطر الألياف والمسافات بينها بالإضافة إلى توجيه الألياف وسماكة الطبقة باستخدام طريقة ترسيب الألياف ثلاثية الأبعاد وذلك لدراسة تأثيرها على الخصائص الميكانيكية الديناميكية. وقد لاحظوا انخفاضاً في خصائص المرونة (elastic properties) مثل الصلابة الديناميكية (dynamic stiffness) ومعامل التوازن (equilibrium modulus) فضلاً عن الزيادة بمحددات أو بارامترات اللزوجة (viscous parameters) مثل عامل التخميد (damping factor) وانفعال تغيير الشكل غير المسترد (creep unrecovered strain) عندما زادت المسامية.

(٣,٢,٦,٣) الربط البيئي للمسام Pore Interconnectivity

إنه ليس من الكافي لحاملة الخلايا والأنسجة أن تكون مسامية، ولكن المسامات في حاملة الخلايا والأنسجة تحتاج إلى أن تكون مترابطة فيما بينها وذلك من أجل توصيل فعال للمواد الغذائية إلى المناطق الداخلية وإزالة الفضلات إلى خارج حاملة الخلايا والأنسجة. وللربط البيئي للمسام أيضاً تأثيرات بقدر تلك المرتبطة بنقل البروتينات وهجرة الخلايا ونشوب أو نمو الأنسجة.

وقد وجد Griffon وآخرون [57] أن تكاثر الخلايا الغضروفية والنشاط الاستقلابي (metabolic activity) يتحسن مع زيادة حجم المسام المترابطة فيما بينها لإسفنجة من الشيتوزان (chitosan sponges). وقد أنتج Lee وآخرون [58] حاملات خلايا وأنسجة مصنوعة من البولي (بروبيلين فومارات) (PPF) مع بنية هندسية للمسام يمكن التحكم بها وذلك من أجل دراسة تأثيرات الحجم والربط البيئي للمسام على نمو العظم. فقد قاموا بصناعة حاملات خلايا وأنسجة مع ثلاثة أحجام للمسام (٣٠٠ و ٦٠٠ و ٩٠٠ مايكرومتر) ومغلقة المسام بشكل عشوائي بنسبة ٠٪ أو ١٠٪ أو ٢٠٪ أو ٣٠٪. لقد انخفضت المسامية والنفاذية عندما ازداد عدد المسامات المغلقة، وبشكل خاص عندما كان حجم المسام ٣٠٠ مايكرومتر؛ وذلك نتيجة لانخفاض المسامية وانسداد المسام. وقد قام Suh وآخرون [59] بمقارنة تكاثر الخلايا الغضروفية على حاملات خلايا وأنسجة من بولي لاكتيك - بولي غليكوليك (PLG) بمسامية متساوية (٩٥٪) تم إعدادها بتقنية صب المذيب وانتفاذ أو استغسال (ترشيح) الجسيمات (SCPL) باستخدام اثنين من مولدات المسام المختلفة: الملح والجيلاتين. فحاملات الخلايا والأنسجة التي تم إنتاجها باستخدام الجيلاتين أظهرت التصاق وتكاثر خلايا أفضل ويعزى هذا إلى الربط البيئي الأفضل للمسام عند نفس المسامية. وقد اقترح Hou وآخرون [60] أن استخراج جسيمات الملح في عملية انتفاذ أو استغسال الملح يعني أن المسامات الناتجة عن ذلك كانت مترابطة فيما بينها. ومع ذلك، فإن الإزالة الكاملة للملح لا يعني بالضرورة ضمان وجود بنية نفوذه كما قد تكون هناك فراغات ذات طريق مسدود غير نافذة مع فتحة واحدة فقط؛ وبالتالي لا يسمح ذلك بالربط البيئي من النهاية إلى النهاية لكامل البنية [38].

تم تعديل التقنيات التقليدية لتصنيع حاملات الخلايا والأنسجة لزيادة الربط البيئي المسامي. فقد أضفى Murphy وآخرون [61] تحسناً على الربط البيئي المسامي لحاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) عن طريق صهر أو إذابة الملح بشكل جزئي قبل إنشاء مصفوفة البوليمر إما عبر عملية صب المذيب / انتفاذ أو استغسال (ترشيح) الملح وإما عبر عملية الرغوة الغازية (gas foaming) / استغسال الملح. وقد صنع Gross و Rodriguez - Lorenzo [62] جسيمات كروية من الملح في اللهب وتم تليدها أو توصيلها لإنتاج قالب ملح مترابط بيئياً، والذي كان مملوءاً بمسحوق فلور أباتيت المكون (carbonated fluorapatite powder) وبوليمر البولي لاكتيك (polylactic polymer) لتشكيل حاملة خلايا وأنسجة مركبة. وقد كان من الممكن الحصول على حجم مسام أكبر مع استخدام جسيمات ملح كروية كبيرة وقد أمكن استخدام هذه التقنية بنجاح لإنتاج حاملات خلايا وأنسجة مع ربط بيئي جيد وأحجام مسام متدرجة. وقد قام Hou وآخرون [63] بصناعة حاملات خلايا وأنسجة ذات مسامية عالية (من ٩٣٪ إلى ٩٨٪) وترابط بيئي

عالٍ عن طريق تجفيف محاليل البوليمرات بالتجميد في وجود قالب قابل للإنفاذ أو الترشيح متبوعاً بانتفاذ أو استئصال القالب نفسه. وقد تم صهر جسيمات السكر أو الملح لتشكيل قالب مترابط بشكل جيد، وفجوات هذا القالب مملوءة بمحلول بوليمر في مذيب، وقد تلى ذلك تجفيف المذيب بالتجميد واستئصال القالب لاحقاً. وقد أدى ذلك إلى ظهور مسامات بأحجام كبيرة نسبياً مترابطة بينياً مبنية على أساس القالب ومسامات بحجم أصغر ناتجة من عملية التجفيف بالتجميد (freeze - drying process).

وقد استخدم Darling و Sun و Wang [64] وآخرون [65] التصوير المقطعي المحوسب المايكروبي (microCT) وذلك لتحديد الكمّي للربط البيني للمسام ضمن حاملات الخلايا والأنسجة التي قاموا بتحضيرها من البولي كابرولاكتون (PCL) من أجل هندسة الأنسجة العظمية وتم تصنيعها عن طريق استخدام نوع من تقنية تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) يُدعى الترسيب بالقذف الدقيق (precision extrusion deposition). فقد أنجزوا ربطاً بينياً للمسام أكبر من ٩٨٪ في حاملات الخلايا والأنسجة التي صنعوها. وقد استخدم Moore وآخرون [66] أيضاً التصوير المقطعي المحوسب المايكروبي (microCT) متبوعاً بخوارزمية (algorithm) مخصصة لتحديد الكمّي للربط البيني للمسام بشكل غير تحريبي. قام البرنامج بحساب المساميات التي يمكن الحصول عليها على طول مجال أحجام ارتباط في الحد الأدنى. لقد تغيرت المسامية التي يمكن الوصول إليها مع اختلاف حجم الارتباط كوظيفة لمحتوى مولد المسام. وعلى أي حال، لا يزال التصوير المقطعي المحوسب المايكروبي (microCT) غير متوفر على نطاق واسع وقد ارتجل الباحثون، مثل Li وآخرون [67] الذين أدركوا إدراكاً كاملاً مدى الصعوبة في الحصول على معلومات ثلاثية الأبعاد حول الربط البيني للمسام من خلال صور ثنائية الأبعاد وابتكروا تجربة فريدة وبسيطة إلى حد ما للتحقق من ذلك. فلقد قاموا بنقع هيدروكسي آباتيت (HA) مسامي في صباغ تَبْعَثِرِيّ (pigment dispersion) أسود وقاموا بتثقيله بطريقة الطرد المركزي. وبعد إزالة الأصباغ، قاموا بتقطيع وتجفيف وتصوير العينة ووجدوا أن المسامات الملونة باللون الأسود يمكن الوصول إليها إما مباشرةً أو عبر المسامات المجاورة.

(٣,٢,٦,٤) النفاذية Permeability

النفاذية هي قياس لمدى السهولة التي معها يمكن أن يتدفق سائل من خلال بنية ما. وبشكل عام، تؤدي الزيادة في المسامية إلى الزيادة في النفاذية، ولكن من أجل حدوث هذا تحتاج المسامات إلى أن تكون مترابطة فيما بينها للغاية [38]. وقد أظهر أحد المؤلفين (Agrawal) في وقت سابق بأن حاملات الخلايا والأنسجة يمكن أن تكون لها نفاذيات مختلفة بينما تحافظ على مسامية متشابهة [51,68]؛ لذا ينبغي أن تُعالج النفاذية كبارامتر أو مُحدّد تصميم مستقل لحاملة الخلايا والأنسجة. ويمكن للنفاذية العالية أن تؤدي إلى انتشار أعلى داخل حاملة الخلايا والأنسجة، والذي من شأنه أن يُسهّل تدفق المواد الغذائية والتخلص من منتجات التحلل والفضلات الاستقلابية [38]. وتتأثر النفاذية أيضاً بتفاعلات المادة - السائل (fluid - material interactions)؛ وبالتالي فإنها تُؤثر على الاستجابة للزوجة لحاملة الخلايا والأنسجة. وهذا بدوره، يُؤثر على حركة ضخ السوائل لحاملة الخلايا والأنسجة وهو ما يُعدّ أمراً مهماً أثناء تصميم حاملات الخلايا والأنسجة وذلك من أجل إصلاح الغضروف المفصلي، بينما يمكن أن يتأثر التَحَاسّ (التحسس) الميكانيكي (mechanotransduction) وموت الخلايا المبرمج (cell apoptosis) عن طريق الضغط الهيدروستاتيكي للخلية والقص المحرّض أو الناتج عن التدفق (flow - induced shear) [69].

وترتبط مسامية ونفاذية حاملات الخلايا والأنسجة بشكل واضح بالخصائص الفيزيائية والميكانيكية التي تمتلكها حاملات الخلايا والأنسجة. فعلى سبيل المثال، يمكن الحصول على خصائص ميكانيكية أفضل لحاملة خلايا وأنسجة إذا تم جعلها أكثر صلابة وأقل مسامية. وما هو أقل وضوحاً هو حقيقة أن المسامية والنفاذية يمكن أيضاً أن يكون لها تأثير كبير على السلوك الكيميائي لحاملة الخلايا والأنسجة، وبشكل خاص على خصائص تحللها [38]. على سبيل المثال، وكما تم ذكره من قبل، فقد تبين أن حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي لاكتيك - بولي غليكوليك (PLG) ذات المسامية والنفاذية المنخفضة تتحلل بشكل أسرع [51,70]. وكذلك، فإن حاملات الخلايا والأنسجة تلك تُظهر انخفاضاً أقل في كتلتها، ووزنها الجزيئي، وخصائصها الميكانيكية تحت شروط التدفق الديناميكي للسوائل بالمقارنة مع الشروط الاستاتيكية الساكنة [51]. وقد عزيت هذه الظاهرة إلى تشييط أو كبح التحلل ذاتي التحفيز (autocatalytic degradation) الناتج عن الانتشار الأفضل أو تدفق السوائل القسري (forced fluid flow).

وقد اقترح Li وآخرون [71] استخدام نسبة النفاذية / المسامية لوصف إمكانية الحصول على الفراغات الداخلية في حاملات الخلايا والأنسجة ذات المسامية الماكروية (العيانية الكبيرة) (macroporous scaffolds) حيث وُجد أن المسامية وحجم المسام لن يكونا كافيين كمعايير للوصف. إن النسبة المذكورة أعلاه هي مؤشر لمدى الكفاءة الترشيحية أو الترحيلية (percolative efficiency) (فصل الأجزاء المذابة من محلول) بوحدة الحجم المسامي لحاملة الخلايا والأنسجة، حيث يمكن وصف النفاذية على أنها المواصلَة (conductance) (النقلية) التي يتم تسويتها أو جعلها طبيعية عن طريق حجم العينة ولزوجة السائل (fluid viscosity). ويمكن للربط البيئي الجيد للمسام أن يؤدي إلى ترابط إيجابي بين المسامية والنفاذية. ويمكن للنفاذية أن تمثل توليفة أو مجموعة من خمسة بارامترات أو محددات مهمة لحاملة الخلايا والأنسجة وهي: المسامية وحجم المسام وتوزيعها والربط البيئي وحجم النُفَدة (fenestration size) (الفتحات أو النوافذ) وتوزيعها وتوجيه المسام.

لقد أراد Wang وآخرون [72] تحسين مورفولوجيا (شكل) حاملات الخلايا والأنسجة من أجل هندسة الأنسجة الضامة (connective tissue engineering) وذلك للتغلب على مشكلة ارتفاع تشكيل الأنسجة على نحو غير متناسب عند سطوح حاملات الخلايا والأنسجة والتي نمت في مفاعلات حيوية وذلك بالنسبة لداخل هذه الحاملات. ولذلك؛ فقد حددوا بارامترات أو محددات الشكل الهندسي لحاملات خلايا وأنسجة مصنوعة من بولي (غليكول الإثيلين) - تيريفثالات / بولي (بوتيلين تيريفثالات) (PEGT / PBT) باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) والتصوير المقطعي المحوسب المايكروبي (microCT) وقياسات نفاذية التدفق وبعد ذلك بذروا خلايا الأرومة الليفية على هذه الحاملات تحت شروط تدفق ديناميكي لمدة أسبوعين. إن حاملات الخلايا والأنسجة ذات الربط البيئي المسامي المتوسط هي فقط التي دعمت التشكيل المتجانس للأنسجة في جميع أنحاء حاملات الخلايا والأنسجة مع تعبئة جميع المسامات. وقد استخدم Hollister وآخرون [73] تصميمًا مُدمجاً مبنياً على الصور جنباً إلى جنب مع تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة بالمرونة والنفاذية المطلوبة من مجموعة متنوعة من المواد الحيوية بما في ذلك البوليمرات القابلة للتحلل والتيتانيوم (titanium) والسيراميك (ceramics) لتناسب أي خلل قحفيّ وجّهيّ (craniofacial defect). فقد دعمت حاملات الخلايا والأنسجة

هذه وبشكل كبير نمو العظم في الفكوك السفلية (mandibles) لخنائير صغيرة وذلك من أجل مجال من أحجام المسام تتراوح من ٣٠٠ إلى ١٢٠٠ مايكرومتر. وقد استخدم Huang وآخرون [74] حاملات خلايا وأنسجة مصنوعة من الشيتوزان ومن البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) ذات قنوات موجهة بشكل طولي تنتشر من خلالها لتعمل كأدلة لتوليد العصب (nerve generation). وقد وجدوا بأن الشيتوزان هو أفضل حاملة خلايا وأنسجة لتوجيه العصب مقارنةً مع البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) وذلك بسبب نفاذيته العالية وبنيته المسامية ذات الخصائص المميزة.

بالإضافة إلى تجارب النفاذ أو الاختراق (permeation) المباشر المستخدمة على نحو تقليدي والتي أجريت من قبل Spain وآخرون [75] و Li وآخرون [71]، فقد بدأ الباحثون كذلك في استخدام التصوير بالرنين المغناطيسي (magnetic resonance imaging - MRI) وأيضاً التصوير المقطعي المحوسب المايكروبي (microCT) وذلك من أجل قياس النفاذية. وقد استخدم Neves وآخرون [76] التصوير بالرنين المغناطيسي (MRI) لتحديد نفاذية البنية لعامل تباين الرنين المغناطيسي (MR contrast agent) ذي الوزن الجزيئي المنخفض ولربط النتائج مع قياسات نمو وطاقات الخلايا. وقد استخدموا مفاعلات حيوية ذات حقن أو تدفق متواصل لبذر خلايا غضروفية ليفية هلالوية (meniscal fibrochondrocytes) ناضجة من الأغنام على نسيج من البولي إيثيلين تيريفثالات (polyethylene terphthalate - PET) لإنتاج بُنى غضروفية هلالوية اصطناعية حيوية. وقد استخدم Knackstedt وآخرون [77] التصوير المقطعي المحوسب المايكروبي (microCT) مع دقة تباين بقيمة ١٦.٨ مايكرومتر؛ وذلك من أجل قياس عدد من الخصائص البنيوية المميزة مثل نسبة حجم المسام إلى مساحة السطح وتوزيع حجم المسام والنفاذية والتعرج (tortuosity) والانتشارية (diffusivity) ومعامل المرونة (elastic modulus) لعينات طُغوم عظمية مَرَجَانِيَّة (coral bone grafts).

(٣,٢,٧) تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة Scaffold Fabrication

إن التوليد الناجح لأنسجة وظيفية بشكل كامل ينبغي أن يكون موجهاً ليس فقط في المستوى المايكروبي لتعريض الخلايا لبيئة تساعد على عملها على النحو الأمثل، ولكن أيضاً في المستوى الماكروبي للأنسجة وذلك من أجل امتلاك الخصائص الميكانيكية المناسبة وتسهيل نقل المواد الغذائية وتعزيز التنسيق بين العمليات الخلوية المتعددة [78].

(٣,٢,٧,١) صب المذيب واستغسال الجسيمات Solvent Casting and Particulate Leaching

إن التقنية الأكثر شيوعاً المستخدمة لتصنيع حاملة الخلايا والأنسجة هي صب أو قَوْلَب المذيب المتبوعة بانتفاذ أو استغسال الجسيمات، حيث يتم التحكم في حجم مسام حاملة الخلايا والأنسجة الناتجة عن طريق حجم مولد المسام، ويتم التحكم في المسامية عن طريق نسبة مولد المسام / البوليمر. وتنطوي هذه الطريقة على خلط أو مزج مولد المسام القابل للذوبان في الماء في محلول بوليمر متبوع بصب المزيج في قالب بالشكل المرغوب. ويتم إزالة المذيب عن طريق التبخير أو التجفيد (تجفيف بالتجميد) (lyophilization) ويتم استغسال أو ترشيح مولد المسام للخارج عن طريق الغمر في ماء مُزال الأيونات (deionized water). وقد استخدم Widmer وآخرون [79] طريقة صب المذيب متبوعة بالثق (extrusion) (وهي عملية

تشكيل المادة بضغطها لتخرج من فتحة معينة متخذة الشكل المطلوب للمنتج)، وذلك لتشكيل بنية أنبوبية، ومن ثم قاموا باستئصال الملح لتوليد حاملات خلايا وأنسجة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) والبولي (حمض اللاكتيك) (PLA - poly(lactic acid)) مع حجم مسام من ٥ إلى ٣٠ مايكرومتراً ومسامية في المجال من ٦٠٪ إلى ٩٠٪. وعلى الرغم من أن الملح هو مولد المسام المستخدم بشكل أكثر شيوعاً، فإن السكر وكذلك كرات الجيلاتين [32,59] والبارافين [80] هي أيضاً مستخدمة وهي في بعض الأحيان مُعدّلة لتعزيز التحديد الوظيفي (functionality) لحاملة الخلايا والأنسجة [33]. ففي الحالة التي يتم فيها استخدام كرات البارافين كمولد مسام، فإن المذيب المستخدم يكون عضوياً (مثل الهكسان hexane) [80] وليس الماء. إن هذه الطريقة هي الأكثر استخداماً وعلى نطاق واسع نظراً لبساطتها. ومع ذلك، يسمح التبثر الطبيعي لمولد المسام بالقليل من التحكم بالبنية الهندسية الداخلية لحاملة الخلايا والأنسجة والربط البيئي للمسام. وكذلك، فإن سماكة حاملة الخلايا والأنسجة التي يمكن أن تُصنع بواسطة هذه الطريقة يعوقها صعوبة إزالة مولد المسام من داخل أعماق حاملة الخلايا والأنسجة [81]. وقد أدى هذا إلى التعديل على تقنية صبّ المذيب واستئصال (ترشيح) الجسيمات (SCPL) لإنتاج قدر أكبر من الربط البيئي للمسام في بعض الحالات [61,68,80,82]، وأدى إلى تقنيات جديدة مثل النماذج الأولية السريعة (rapid prototyping - RP)، والمعروفة أيضاً بتصنيع الشكل الحر الصلب (SFF)، في حالات أخرى [40,83-85]. وقد قام Agrawal وآخرون [68] بتعديل هذه التقنية عن طريق هزّ قالب أثناء تذويب الملح، مما يمنع الجسيمات من الترسيب بسبب الجاذبية، وبالتالي فإن هذه الطريقة تعزز نفاذية حاملة الخلايا والأنسجة من خلال إنشاء ربط بيئي أفضل للمسام بل وأكثر من ذلك توزيعاً أفضل للمسام.

(٣,٢,٧,٢) الرغوة الغازية Gas Foaming

يمكن استخدام هذه التقنية لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة ذات مسامية عالية في غياب المذيبات العضوية (organic solvents). ويعمل ثاني أكسيد الكربون (carbon dioxide - CO₂) بشكل عام على اعتبار أنه "مولد المسام" في هذه الطريقة في شكله الغازي الطبيعي [86,87] أو دون الحرج (subcritical) [88] أو فوق الحرج (supercritical) [89,90]. فعندما يتم تعريض الأقراص البوليمرية الصلبة إلى ضغط مرتفع من غاز ثاني أكسيد الكربون (CO₂) في درجة حرارة الغرفة تصبح مشبعة (saturated) بالغاز. وتنخفض قابلية ذوبان الغاز في البوليمر بشكل سريع عن طريق خفض الضغط إلى مستويات الضغط الجوي، مما يُنشئ بذلك عدم استقرار ترموديناميكي (thermodynamic) (ديناميكي حراري) لغاز ثاني أكسيد الكربون (CO₂) المتحلل أو المذاب مما يؤدي إلى تنوُّي (nucleation) ونمو الفقاعات الغازية في داخل مصفوفة البوليمر. وباستخدام هذه الطريقة قام Mooney وآخرون [86] بإنشاء حاملات خلايا وأنسجة من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) مع حجم مسام من حوالي ١٠٠ مايكرومتراً ومسامية تصل إلى ٩٣٪. ومع ذلك، أدت هذه الطريقة إلى نشوء طبقة قشرية (skin layer) غير مسامية نسبياً نتيجة الانتشار السريع لغاز ثاني أكسيد الكربون (CO₂) المذاب من السطح وبنية المسام المغلقة مع ربط بيئي مسامي محدود. وقد تم تحسين هذه العيوب عن طريق الجمع بين العملية المذكورة أعلاه مع استئصال أو ترشيح الجسيمات [87,91-93]. وقد قام Harris وآخرون [87] بإنجاز قوالب انضغاطية (compression molded) لبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك)

(PLGA) وجسيمات الملح وبعد ذلك تم تعريضها لرغوة غازية كما هو موضح سابقاً. وقد انصهرت جسيمات البوليمر والملح لتشكل مصفوفة مستمرة مع جسيمات الملح والتي تم في وقت لاحق استئصالها أو ترشيحها إلى الخارج تاركة وراءها رغوة ذات مسامية ماكروية (عيانية كبيرة) مع ربط بيني جيد. وقد وجد Kim وآخرون [94] بأن حاملات الخلايا والأنسجة من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك) / هيدروكسي آباتيت (PLGA / HA) والمصنوعة عن طريق الرغوة الغازية واستئصال أو ترشيح الجسيمات قد عززت من تجديد العظم وذلك مقارنةً مع حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة عن طريق تقنية صب المذيب واستئصال أو ترشيح الجسيمات (SCPL).

(٣,٢,٧,٣) التجفيف بتجميد المستحلب Emulsion Freeze Drying

تتطوي هذه العملية على إنشاء مستحلب (emulsion) عن طريق تجانس (homogenization) مزيج من محلول البوليمر والماء والذي يتم تبريده بسرعة ليبدو في بنية الحالة السائلة (liquid state) [81]. ومن ثم تتم إزالة المذيب والماء عن طريق التجفيف بالتجميد [81]. ومن سيئات هذه التقنية هي أنها تُنتج حاملات خلايا وأنسجة ذات بنية مسام مغلقة [95]. وقد قام Whang وآخرون [82] بدراسة تأثير متوسط حجم المسام وتحميل البروتين على الطاقات الحركية لإطلاق البروتين (protein release kinetics) من حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) والناشئة باستخدام طريقة التجفيف بتجميد المستحلب. وقد أشارت الصور الجانية إلى انفجار أولي (initial burst) متبوع بإطلاق أبطأ مستمر. إن معامل تعرج (tortuosity coefficient) ومعامل تقسيم (partition coefficient) حاملة الخلايا والأنسجة لامتزاز أو امتصاص البروتين قد خُفّض وبشكل كبير من انتشارية البروتين. وقد تم إظهار فعالية البروتين المحرّر عن طريق التوصيل الناجح لـ (rhBMP-2) من حاملة الخلايا والأنسجة إلى موقع مُتَبَدِّ (ectopic site) (خارجي) في جُرَد [96]. وأجرى Moshfeghian وآخرون [97] تقييماً لتشكيل حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) / الشيتوزان باستخدام معدل تجميد وتجميد (تجفيف بالتجميد) يمكن التحكم به. وقد تأثرت البنية الهندسية المايكروية لحاملة الخلايا والأنسجة بشكل كبير بالمذيب وبدرجة حرارة التجميد. وأسفر التحكم بتركيز الشيتوزان عن إنتاج حاملات خلايا وأنسجة مع مسامية تتجاوز ٩٠٪.

(٣,٢,٧,٤) الفصل الطوري المُحرَّض حراريًا Thermally Induced Phase Separation

تشمل هذه العملية ذوبان البوليمر في مذيب عند درجة حرارة عالية متبوعاً بفصل طوري سائل - سائل أو صلب - سائل مُحرَّض عن طريق تخفيض درجة حرارة المحلول [81]. ويُسبب الاستخدام اللاحق للتصعيد (sublimation) (التبخُّر) إزالة للطور المصلَّب (solidified) الغني بالمذيب. وهذا يؤدي إلى صنع حاملة خلايا وأنسجة مسامية مع خصائص ميكانيكية جيدة [81]. وقد تم استخدام الفصل الطوري المُحرَّض حراريًا (TIPS) لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة تغطي مجالاً واسعاً من البوليمرات والمواد المركبة: من البولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA) والبولي (دي إل - حمض اللاكتيك) (PDLLA) والبولي (دي إل - حمض اللاكتيك غليكوليك) (PDLLGA) [98] والبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك)

(PLGA) النظامية [99] إلى البولي (إستر يوريثين) يوريا (poly(ester urethane) urea) / كولاجين [100] وفوسفات الكالسيوم غير المتبلور (calcium phosphate amorphous) / بولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA) [101] والبولي (دي إل - حمض اللاكتيك) (PDLLA) / الزجاج الحيوي [102] الأكثر تطوراً على سبيل المثال لا الحصر. وقد قام Rowland وآخرون [103] بتصنيع حاملة خلايا وأنسجة مركبة من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) / بولي يوريثين (polyurethane - PU) باستخدام الفصل الطوري المحرّض حرارياً (TIPS) مظهرين كيف يمكن لهذه العملية الجمع بين اثنين من البوليمرات المختلفة جداً، والتي يمكن معالجة شكلها عن طريق التحكم في سلوك الفصل الطوري لمحلول البوليمر الأولي المتجانس. وقد وجد Helen وآخرون [104] بأن مركب رغوات البولي (دي إل - حمض اللاكتيك) (PDLLA) / الزجاج الحيوي والمحرّض بواسطة الفصل الطوري المحرّض حرارياً (TIPS) لتوفير بيئة مايكروية مناسبة من أجل زراعة وتكاثر الخلايا الليفية الحلقية البقرية (bovine annulus fibrosus - BAF cells) بالإضافة إلى إنتاج الغليكوز أمينوغليكانات الكبريتية (sulphated glycosaminoglycans - sGAG)، والكولاجين من النمط الأول والكولاجين من النمط الثاني، يقدم دليلاً أولياً لمدى ملاءمتها من أجل معالجة الأقراص بين الفقرات (intervertebral disks) ذات المناطق الليفية الحلقية المتضررة. واستخدم Gong وآخرون [105] الفصل الطوري المحرّض حرارياً (TIPS) لإنتاج حاملات خلايا وأنسجة من البولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA)، والتي كانت مليئة بالخلايا الغضروفية المحصورة أو المجمعة في هلام مائي من الأغار (agar hydrogel)، مما يؤدي بالتالي إلى طُعْم ذي خصائص ميكانيكية مناسبة وشكل عيانيّ (كبير) (macroscopic shape) بينما يمتلك بنية داخلية تكون مماثلة للمصفوفة خارج الخلية (ECM) الأصلية. واستخدم Mo وآخرون [106] الفصل الطوري المحرّض حرارياً (TIPS) لإنتاج طبقة غلاف مسامية من محلول البولي كابرولاكتون (PCL) على السطح الخارجي لأنبوب مضفور من ألياف البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) لإنتاج حاملة خلايا وأنسجة أنبوبية مركبة من بولي كابرولاكتون / بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PCL / PLGA) من أجل هندسة أنسجة الأوعية الدموية صغيرة القطر. وقد تم استخدام طبقة الغلاف الخارجية المسامية من البولي كابرولاكتون (PCL) بقصد توفير سطح مناسب لالتصاق، وتكاثر الخلايا، وتجديد الأنسجة. وقد أجرى Cao وآخرون [107] مقارنة لخصائص تحلل حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) في المختبر وفي الجسم الحي والتي تم إنتاجها عن طريق الفصل الطوري المحرّض حرارياً (TIPS) وصبّ المذيب واستغسال الجسيمات (SCPL). إن طريقة الفصل الطوري المحرّض حرارياً (TIPS) قد أنتجت تغييرات أقل بكثير في البعد والكتلة والتصميم الهندسي الداخلي (internal architecture) والخصائص الميكانيكية مقارنة مع طريقة صبّ المذيب واستغسال الجسيمات (SCPL) لفترة ٦ أسابيع. وأشارت مقارنة قياس الشكل إلى نشوب أو نمو أفضل قليلاً للأنسجة مترافقاً مع خسارة أكبر في بنية حاملة الخلايا والأنسجة في الحملات المصنوعة بطريقة صبّ المذيب واستغسال الجسيمات (SCPL). وقد صنع Chun وآخرون [108] حاملات خلايا وأنسجة من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) باستخدام طريقة الفصل الطوري المحرّض حرارياً (TIPS) من أجل التوصيل المتحكم به لبلازميدة الحمض النووي (plasmid DNA) على مدى فترة

٢١ يوماً. إن المحددات أو البارامترات المختلفة في صناعة الفصل الطوري المحرّض حرارياً (TIPS) والتي تؤثر بشكل مباشر على بنية المسام والربط البيني للمسام، مثل تركيز البوليمر (polymer concentration) ونسبة المذيب / لغير المذيب (solvent / nonsolvent ratio) وطرق الإخماد (quenching methods) فضلاً عن زمن التلدين (annealing time)، قد تم أيضاً اختبارها لتحديد تأثيراتها على الإطلاق المستمر لبلازمية الحمض النووي.

(٣,٢,٧,٥) الجاذبية وتليد الكرات المايكروية Gravity and Microsphere Sintering

قام Qiu وآخرون [109] بتصليب أو تليد كرات مايكروية مجوفة من السيراميك مغلّفة بطبقة خارجية من الهيدروكسي آباتيت (HA) والتي تم تطويرها في أوعية ذات جدران دوّارة (rotating - wall vessels)، وذلك لإنشاء حوامل مايكروية (microcarriers) من أجل تشكيل أنسجة عظمية ثلاثية الأبعاد. وقد قام Borden وآخرون [110] بتكديس كرات مايكروية من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) بشكل عشوائي لتشكيل مصفوفة هلامية من الكرات المايكروية (gel microsphere matrix)، والتي كان لها معامل Young مرتفع ولكن مع نظام مسامي أقل مثالية لنمو العظم، ومصفوفة متلبدة (متصلبة) من الكرات المايكروية (sintered microsphere matrix)، والتي كانت لها خصائص ميكانيكية في المجال المتوسط لعظم إسفنجي (cancellous bone) مترافقة مع نظام مسامي مترابط بشكل جيد. وقد تم إنشاء المصفوفات المتلبدة من الكرات المايكروية عن طريق الانصهار بشكل حراري (thermally fusing) لكرات البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) المايكروية في مصفوفة ثلاثية الأبعاد بدون أي استخدام للهيدروكسي آباتيت (HA). وقد واصلوا عملهم في دراسة الموصليّة العظمية والمظهر أو الشكل الجانبي لتحلل حاملات الخلايا والأنسجة تلك عن طريق تقييم كيف تتفاعل الخلايا العظمية والخلايا الليفية مع هذه الحاملات وإنجاز دراسات التحلل [111,112]. وواصلت المجموعة عملها في تقييم فعالية المصفوفات عن طريق استخدامها في خلل زندي (ulnar defect) بطول ١٥ ميليمترًا في الأرانب، ووجدوا أنها ساعدت كثيراً في تشكيل العظم عند السطح البيني الفاصل بين الطعم - والعظم (implant - bone interface) [113]. وصنع Jiang وآخرون [114] حاملات خلايا وأنسجة مركبة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) / الشيتوزان بواسطة التليد أو التصليب ووجدوا بأن الخلايا المشابهة للخلايا العظمية (osteoblast - like cells) تتكاثر أفضل على هذه الحاملات المركبة بالمقارنة مع حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA). إن وجود الشيتوزان على سطوح الكرات المايكروية نظّم التعبير الجيني (gene expression) لإنزيم الفسفاتاز القلوي (ALP) وبروتين الأوستيوبونتين (osteopontin) والبروتين اللعابي العظمي (bone sialoprotein) بالإضافة إلى ذلك فقد زاد من فعالية إنزيم الفسفاتاز القلوي (ALP). وقد طوّر Kofron وآخرون [115] مصفوفات أنبوبية متلبدة من كرات مايكروية من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) / هيدروكسي آباتيت (PLGA / HA) باستخدام تبخر المذيب (solvent evaporation) من أجل تجديد العظم. لقد تم صنع المركبات الأنبوبية (tubular composites) لتحاكي عن كثب أكثر تجويف نقيّ العظم (bone marrow cavity) وقد وُجد أن لها خصائص ميكانيكية مشابهة للمركبات الأسطوانية (cylindrical composites) ذات نفس الأبعاد.

(٣,٢,٧,٦) النماذج الأولية السريعة/تصنيع الشكل الحر الصلب Rapid Prototyping/Solid Freeform Fabrication

تنطوي تقنيات النماذج الأولية السريعة (RP) على بناء أجسام ثلاثية الأبعاد باستخدام طرق تصنيع الطبقات وتقدم العديد من المزايا زيادةً على الطريقة التقليدية لاستِغْسَال أو ترشيح مولد المسام، وبشكلٍ أساسي تقوم بالتحكم المستقل بالسمات في المستوى المايكروبي والماكروبي بحيث تُمكن من تصنيع بُنى معقدة قابلة للتخصيص وفقاً لشكل الخلل أو الإصابة [78]. وقد استعرض Yang وآخرون [39] مزايا وقيود تقنيات النماذج الأولية السريعة (RP) المختلفة. وقام Leong وآخرون [116] بجدولة إيجابيات وسلبيات الطرق التقليدية وناقشوا القدرات والقيود المفروضة على تقنيات النماذج الأولية السريعة (RP) المهمة. وتشمل هذه العملية، بشكلٍ عام، تصميم نموذج لحاملة الخلايا والأنسجة باستخدام برامج التصميم بمساعدة الكمبيوتر (CAD)، وهو ما يُعبر عنه بعد ذلك على شكل سلسلة من المقاطع العرضية (cross sections) [117]. وفي مقابل كل مقطع، تقوم آلة صنع النماذج الأولية السريعة (RP) بوضع طبقة من المادة بدءاً من الأسفل وتتحرك بمقدار طبقة صعوداً في كل مرة لإنشاء حاملة الخلايا والأنسجة. وتلتصق كل طبقة جديدة بالطبقة التي تحتها، وبهذا فإنها توفر السلامة للمنتج النهائي. وقد قدّم كلٌّ من Agrawal و Ray [3] و Yang وآخرون [118] عروضاً شاملة تقوم بوزن إيجابيات وسلبيات المواد وطرق التصنيع التقليدية لحاملات الخلايا والأنسجة. إن الأنواع المختلفة للتقنيات المشمولة بتصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) تتضمن نموذجاً أو تشكيل الترسيب المصهور (fused deposition modeling - FDM) والترسيب بالقذف الدقيق (precision extrusion deposition - PED) والتصليب أو التليد الانتقائي بواسطة الليزر (selective laser sintering - SLS) والحفر المَجَسَّم (ثلاثي الأبعاد) (stereolithography - STL) والطباعة ثلاثية الأبعاد (3D printing - 3DP) [40].

تستخدم نموذجاً أو تشكيل الترسيب المصهور (FDM)، [4,85,119-121] فوهة متحركة (moving nozzle) تقذف ليفاً بوليمرياً في سطح مستوي أفقي وحالماً يتم الانتهاء من طبقة، يتم تخفيض السطح المستوي ويتم تكرار هذا الإجراء. ويعتبر الترسيب بالقذف الدقيق (PED) مشابهاً جداً لنموذج أو تشكيل الترسيب المصهور (FDM)، باستثناء أن مادة حاملة الخلايا والأنسجة التي هي في شكل حبيبات أو كريات يتم قذفها بشكلٍ مباشر ويتم ترسيبها في شكل ألياف من دون الحاجة إلى وجوب تغيير هذه إلى خيوط طليعة (precursor filaments) كما هو الحال مع نموذج أو تشكيل الترسيب المصهور (FDM) [65].

وتشبه المحقنة المايكروية التي تعمل بالضغط (pressure - assisted microsyringe - PAM) [78] نموذجاً أو تشكيل الترسيب المصهور (FDM) ولكن لا تتطلب حرارة ولها دقة تباين أكبر إلا أنها لا تستطيع أن تُنشئ مسامات مايكروية باستخدام انفاذ أو استِغْسَال الجسيمات بسبب أبعاد المحقنة. وتنطوي هذه الطريقة على ترسيب محلول بوليمر في مذيّب من خلال محقنة مزودة بإبرة شعرية (capillary needle) من الزجاج بقياس من ١٠ إلى ٢٠ مايكرومتراً. ويعمل المذيب كعامل ربط (binding agent) ويمكن تغيير كمية تدفق البوليمر الذي يتم ترسيبه عن طريق تغيير ضغط المحقنة ولزوجة المحلول وقطر رأس المحقنة بالإضافة إلى سرعة المحرك [122].

وينطوي التصليب أو التليد الانتقائي بواسطة الليزر (SLS) على بناء الأجسام عن طريق تصليب أو تليد مسحوق على سرير مسحوق (powder bed) باستخدام حزمة من أشعة الليزر تحت الحمراء (infrared laser). ويتفاعل شعاع الليزر مع المسحوق لزيادة درجة الحرارة الموضعية إلى درجة حرارة التحول الزجاجي (glass transition temperature) للمسحوق، مما يتسبب في صهر الجسيمات مع بعضها البعض فضلاً عن الطبقة في الأسفل [39]. تؤثر استطاعة الليزر (Laser power) وسرعة المسح الضوئي (scanning speed) بشكل كبير على التليد [127]. وكذلك، يمكن أن يُنجز التحكم في المنتج النهائي من خلال تغيير محددات أو بارامترات المعالجة بالليزر، حيث إن هذه تتحكم بدورها في درجة انصهار الجسيمات والمسامية [127].

ويستخدم الحفر المجسم (ثلاثي الأبعاد) (STL) [128-130] حزمة من أشعة الليزر فوق البنفسجية (ultraviolet - UV) لبلورة (polymerize) مونومر (مَوْحُود) سائل قابل للمعالجة الضوئية (liquid photocurable monomer) وبشكل انتقائي، كطبقة واحدة في وقت واحد [117]. وتقوم بيانات التصميم بمساعدة الكمبيوتر (CAD) بتوجيه حزمة من الأشعة فوق البنفسجية على سطح السائل، والذي يتم بعد ذلك تخفيضه إلى الأسفل لتمكين البوليمر الضوئي السائل (liquid photopolymer) من تغطية السطح. وقد قام Arcaute وآخرون [130] بتغليف خلايا الأرومة الليفية الجلدية البشرية (human dermal fibroblasts) في هلامات مائية نشطة حيويًا مصنوعة من بولي (جليكول الإثيلين) (PEG) والتي كانت متشابكة ضوئيًا باستخدام الحفر المجسم (ثلاثي الأبعاد) (STL).

وتشمل الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) عملية الطباعة بتقنية نفث الحبر (ink - jet printing) لرباط (binder) على سطح يحوي مسحوقًا من السيراميك [131,132] أو من البوليمر [117,133,134] أو من مادة مركبة [135,136] كطبقة واحدة في وقت واحد. ويتم التحكم بحركة الرأس النفّاث، الذي يقوم بتوزيع الرباط، عن طريق البيانات المقطعية العرضية لنظام التصميم بمساعدة الكمبيوتر (CAD). وتلتصق جسيمات المسحوق المتجاورة مع بعضها البعض بمجرد أن يذوب الرباط [117]. ويتم أحيانًا استخدام الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) غير المباشرة وذلك للتغلب على القليل من العقبات التي تواجه الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP). وقد استخدم Lee وآخرون [137] الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) غير المباشرة، حيث تمت في البداية طباعة القوالب ومن ثم تم صب المادة النهائية في تجويف القالب (mold cavity)، وذلك للتغلب على بعض القيود المفروضة على الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP). وتشمل هذه القيود المسامات الأكبر في الحجم، بسبب الحاجة إلى زيادة سماكة كل طبقة إضافية إلى المجال الحجمي لمولد المسام والتي يمكن أن تؤدي في نهاية الأمر إلى اتصال الطبقة تلو الطبقة (layer - to - layer connectivity) مما يترتب عليه عيوب في التصفيح (lamination) (الترقيق) [137]. وكذلك، فإن تعقيد الشكل عندما تتطلب مادة المسحوق مذيبيًا عضويًا كرابط سائل والآلات المخصصة وبرامج التحكم الخاصة بها والخبرة الواسعة للمشغل تجعل الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) مفيدة ولكنها في بعض الأحيان تقنية يصعب استخدامها [137].

وقد جمع بعض الباحثين بين تقنيتي تصنيع أو أكثر وذلك لتحسين تصاميمهم الخاصة بحاملات الخلايا والأنسجة. فقد ربط Taboas وآخرون [40] تقنية تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) مع تقنيات تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة

الإسفنجية التقليدية (الفصل الطوري وانتشار المستحلب-المذيب وارتشاح أو انتفاذ مولد المسام) وذلك لتطوير طرق من أجل صب أو قولبة حاملات الخلايا والأنسجة ذات البنيات الهندسية المصممة، والتي يتم التحكم بها موضعياً وكذلك الحاملات ذات البنيات الهندسية الداخلية المسامية. وقد استخدم Dellinger وآخرون [138] تقنية تصنيع الشكل الحر الصلب المبنية على أساس الترسيب الروبوتي (robotic deposition) (باستخدام جهاز روبوت آلي) لمعاجين غروانية (colloidal pastes) وذلك لإنتاج حاملات خلايا وأنسجة من الهيدروكسي آباتيت (HA) مختلفة البنى الهندسية وذات مساميات تمتد إلى مستويات طويلة متعددة. وقد تم الحصول على مسامات عيانية كبيرة (من ١٠٠ إلى ٦٠٠ مايكرومتر) عن طريق المبادعة بين قضبان الهيدروكسي آباتيت (HA rods) بشكل مناسب في حين تم إنتاج مسامات مايكروية دقيقة (أصغر من ٣٠ مايكرومتر) عن طريق تضمين مولدات المسام الكروية المايكروية المصنوعة من البوليمر في معجون الهيدروكسي آباتيت (HA paste) والتحكم بتصلب أو تليد حاملات الخلايا والأنسجة. وقد جمع Moroni وآخرون [31] بين الترسيب ثلاثي الأبعاد للألياف (3D fiber deposition) والفصل الطوري (phase separation) وذلك لإنشاء بنية هندسية لألياف ذات قشر - ولُب عن طريق التغليف أو التمحفظ اللزج (viscous encapsulation)؛ مما يؤدي إلى إنتاج حاملات خلايا وأنسجة ذات شبكة بوليمرية ثنائية الطور (biphasic polymer network).

متأثراً بالبيولوجيا التطويرية، قام Varghese وآخرون [139] بالجمع بين إجراءات النماذج الأولية السريعة (RP) مع تغليف أو تمحفظ الخلايا وذلك لطباعة بُنى عملية قابلة للتطبيق ذات شكل حر باستخدام طابعات نافثة للحبر متخصصة أو مصممة حسب الطلب، على أمل أن توفر هذه الطريقة الإشارات (signals) والقواعد والإطار العام (البنية) المطلوبة من أجل التجميع الذاتي ذي الشكل الهرمي (hierarchical selfassembly). فلقد قاموا "بطبع" الخلايا البطانية الأبهريّة البقرية (bovine aortic endothelial cells) في أوساط زراعة الخلايا (والتي أطلقوا عليها مصطلح "الحبر الحيوي" "bioink") على إطار مطلي أو مُغطّى بطبقة من الألجينات (alginate - coated frame) والذي استخدموه كحاملة للخلايا والأنسجة، وذلك لتوليد أنبوب بطول قدره ٥٠ ميليمتراً وبقطر خارجي قدره ٤ ميليمترات. وقد قام Smith وآخرون [140] بعملية القذف المشترك للخلايا المعلقة في بوليمرات باستخدام أداة التجميع الحيوي ثلاثي الأبعاد (3D bioassembly) بالكتابة المباشرة وذلك لإنشاء بُنى هندسة أنسجة عملية قابلة للتطبيق ومُشكّلة أو مزخرفة. وقد قدّم Mironov وآخرون [141,142] المفهوم المستقبلي لطباعة الأعضاء (organ printing)، وهي هندسة الأعضاء البشرية الحية ثلاثية الأبعاد المبنية على عملية النفث بمساعدة الكمبيوتر، وذلك للتغلب على عقبات توليد الأعضاء ذات الأوعية الدموية. حيث يقترحون استخدام طابعة خلايا قادرة على طباعة خلايا فردية، ومجموعات خلايا وهلامات مائية على "ورق طباعة" ("printing paper") يتألف من طبقات مرتبة بصورة متسلسلة من الهلام المائي القابل للانعكاس حرارياً (thermoreversible gel). وقد أعطى Sun وآخرون [143] لمحة واسعة عن تصميم حاملة الأنسجة بمساعدة الكمبيوتر، بما في ذلك النمذجة المحاكية حيويًا (biomimetic modeling) بالإضافة إلى الطباعة ثلاثية الأبعاد للخلايا والأعضاء.

إن الميزة الأساسية لتقنيات النماذج الأولية السريعة هي قدرتها على التحكم بشكلٍ دقيقٍ بالبنية المايكروية الدقيقة والبنية الماكروية العيانية لحاملات الخلايا والأنسجة وبالتالي إنتاج طوبوغرافيات (topographies) (سمات سطحية) معقدة من نموذج كمبيوتر؛ بينما سلباتها الأساسية هي دقات التباين المنخفضة التي يمكن تحقيقها عن طريق الأنظمة الحالية وأنواع المواد البوليمرية التي يمكن استخدامها [39]. لم يناقش Sachlos و Czernuska [117] تقنيات تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة التقليدية وعيوبها فحسب بل قاما أيضاً بوصف العديد من تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) وكيف يمكنها التغلب على القيود الخاصة بتصميم حاملة الخلايا والأنسجة الحالية. وقد ناقش Tsang و Bhatia [78] العديد من تقنيات التصنيع وذلك عن طريق تقسيمها بناءً على غط تجميعها، أي التصنيع بالحرارة وبالروابط وب الضوء وبالقولبة، في حين وصف Hutmacher وآخرون [144] تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) وذلك عن طريق تقسيمها بناءً على تقنية معالجتها. وقد عرض Yeong وآخرون [145] وبشكلٍ جيد العديد من تقنيات النماذج الأولية السريعة (RP) وكذلك فروعها الجزئية المنبثقة عنها وبالإضافة إلى ذلك فقد قاموا بمقارنة هذه الطرق وعرضوا نقاط ضعفها وقوتها.

(٣,٢,٧,٧) الهلامات المائية Hydrogels

في كثيرٍ من الأحيان يتم تصميم حاملات الخلايا والأنسجة اللاخَلَوِيَّة (acellular scaffolds) لتوفير الخصائص الميكانيكية المطلوبة ولكن في نهاية المطاف من الصعب ملؤها بالخلايا بشكلٍ متماثل، ففي حين أن البنى التي تكون قادرة على أن تُنجز وينجاح توزيعاً عالياً للخلايا بشكلٍ متجانس بسبب مساميتها العالية تكون في نهاية الأمر ضعيفة ميكانيكياً [78]. وبالتالي؛ يحاول الباحثون وبشكلٍ متزايد الجمع بين الاستقرار البنيوي مع كثافة خلايا عالية ومع الحفاظ على بيئة مثل بيئة الجسم الحي لإنجاز الأفضل لكلا العالمين عن طريق تصنيع هلامات مائية، والتي هي عبارة عن شبكات مترابطة (crosslinked networks) من البوليمرات المحبة للماء (hydrophilic polymers) والقادرة على امتصاص كميات كبيرة من السوائل. ويمكن أن تكون الهلامات المائية قابلة للتحلل أو غير قابلة للتحلل ويؤثر محتواها من المياه على قدرة الخلايا المغلفة (encapsulated cells) على البقاء على قيد الحياة؛ وبالتالي على معدل تطوير الأنسجة [146]. فهي تزداد في الانتشار بسبب محتواها العالي من المياه وخصائصها الميكانيكية التي تشابه الأنسجة الرخوة مثل الغضروف [147]. وتوفر حاملات الخلايا والأنسجة الصلبة ركيزة للخلايا كي تلتصق وتتثبت بها بينما تعمل حاملات الخلايا والأنسجة الهلامية والسائلة على حجز الخلايا بشكلٍ فيزيائي [148]. ويمكن تشكيل الهلامات المائية في الموضع ضمن موقع الخلل ويمكن تغليف الخلايا أثناء عملية تشكيل الهلام المائي. ويمكن التحكم في خصائصها الميكانيكية عن طريق تغيير تركيب المونومر المشترك (comonomer)، وتغيير كثافة تشابكها أو ترابطها المتشابك، وتعديل شروط بلمرتها (وقت التفاعل ودرجة الحرارة وكمية ونوع المذيب) [149].

إن البلمرة الضوئية (photopolymerization) هي تقنية يتم استخدامها عادةً من أجل صنع الهلامات المائية. ويمكن أن يتفاعل الضوء المرئي أو الضوء فوق البنفسجي مع مركبات معينة حساسة للضوء تسمى البادئات الضوئية (photoinitiators) لتشكيل هلامات مائية متشابكة الروابط (crosslinked) في المختبر أو في الجسم الحي أو في الموضع. وبالتالي، تقدم البلمرة

الضوئية العديد من المزايا زيادةً على طرق البلمرة التقليدية، وبالتحديد التحكم الحيزي أو المكاني (spatial control) فضلاً عن التحكم الزماني (temporal control) بالبلمرة ومعدلات المعالجة من أقل من ثانية إلى بضع دقائق في درجة حرارة الغرفة أو درجة الحرارة الفيزيولوجية وإنتاج أدنى حرارة وكذلك القدرة على تشكيل الأشكال المعقدة التي تلتصق وتتطابق مع موقع الخلل [147]. وعلى الرغم من أن الأنظمة البيولوجية تضع قيوداً على استخدام البلمرة الضوئية في الجسم الحي، بسبب حدود درجات الحرارة المقبولة ودرجة الحموضة (pH) وكذلك سمية معظم المونومرات والمذيبات العضوية، فإنه من الممكن عموماً التغلب على ذلك عن طريق تنفيذ شروط البلمرة المعتدلة (مثل تقليل كثافة الضوء ومستويات المذيب العضوي وتقليل زمن التشعيع (irradiation time) ودرجة الحرارة الفيزيولوجية) [147].

وعلى الرغم من أنه قد يبدو وكأن أنظمة حاملات الخلايا والأنسجة المبنية على أساس الهلامات المائية في وضع غير مؤاتٍ من ناحية الخصائص الميكانيكية للنظام الهيكلي (skeletal system)، إلا أنها توفر بيئة من أجل التشكيل المتسارع للأنسجة والذي يوفر بدوره الاستقرار الميكانيكي المنشود [148]. وقد وجد Ferruti وآخرون [150] أن الهلامات المائية المبنية على أساس البولي (أميدو - أمين) (poly(amido-amine) - PAA) المذبذب (amphoteretic) (التمتع بخصائص متضادة) والتي تحتوي على مجموعات كربوكسيلية (carboxyl groups) ومجموعات أمينية (amino groups) في وحداتها المتكررة، لديها إمكانية جيدة لتكون كحاملات خلايا وأنسجة، وذلك بناءً على توافقيتها الخلوية (cytocompatibility) مع خلايا الأرومة الليفية (fibroblasts) بالإضافة إلى منتجات التحلل غير السامة للخلايا (nontoxic)، إلا أن خصائصها الميكانيكية قد احتاجت إلى تحسين. وقد قاموا بمزيد من التعديل على الهلامات المائية المبنية من البولي (أميدو - أمين) (PAA) من خلال إدخال مجموعات الغوانيدين (guanidine) الجانبية لتحسين التصاق وتكاثر الخلايا ووجد أن الخصائص الميكانيكية تتحسن عندما تم استخدام بولي (أميدو-أمين) (PAA) ثانٍ يحمل مجموعات أمينية أساسية كعامل للربط التشابكي (crosslinking agent) [151]. وغالباً ما يتم تعديل الهلامات المائية بواسطة ببتيدات التصاق الخلايا لتعزيز التصاق وانتشار الخلايا [152]. وقد قام Sannino وآخرون [155] بالجمع بين رد فعل الربط التشابكي الضوئي مع عملية تشكيل الرغوة للحث على تكوين مسامية ذات ترابط بيني ضمن الهلامات المائية المبنية من بولي (جليكول الإيثيلين) (PEG) والتي تم تعديلها باستخدام تنابعات متسلسلة من الببتيدات وذلك من أجل تعزيز التصاق الخلايا.

هناك عدة مجموعات بحثية تعمل على صنع هلامات مائية باستخدام بوليمرات مشتركة اصطناعية (synthetic copolymers) [156]، أو باستخدام توليفة أو تركيبة من البوليمرات الطبيعية والاصطناعية [157,158]. وقد قام Martens وآخرون [156] بالتغليف الضوئي (photoencapsulation) للخلايا الغضروفية في شبكة بوليمر مشترك من بولي (جليكول الإيثيلين) - بولي (كحول الفينيل) (PEG - PVA) وقد وجد أن الحمض النووي (DNA)، والجليكوز أمينوغليكسان (GAG)، وإجمالي محتوى الكولاجين يتزايد مع زمن الزراعة، مما يؤدي إلى إنتاج أنسجة غضروفية جديدة موزعة بشكل متجانس في نهاية مدة الستة أسابيع. وقد أعد Hiemstra وآخرون [159] هلامات مائية من بولي (جليكول الإيثيلين) - بولي (حمض اللاكتيك) (PEG - PVA) للاستفادة من الخصائص الممتازة المانعة للتلوث (antifouling properties) والتصفية

الكلىوية (renal clearance) الأقل من ٣٠ كيلو دالتون (kDa) لبولي (جليكول الإيثيلين) (PEG) والتحليل الحيوي للبولي (حمض اللاكتيك) (PLA)، فضلاً عن التوافقية الحيوية لكليهما، وذلك لهندسة الغضروف. وقد أعد Cascone وآخرون [160] خلأط (blends) من بولي (كحول الفينيل) (poly(vinyl alcohol) - PVA) غير القابل للتحلل الحيوي (nonbiodegradable) مع جزيئات ماكروية بيولوجية مختلفة مثل حمض الهيالورونيك (hyaluronic acid) والديكستران (dextran) والجيلاتين لتحسين التوافقية الحيوية للبولي (حمض اللاكتيك) (PLA) وبالتالي إنتاج هلامات مائية اصطناعية حيوية كحاملات خلايا وأنسجة محتملة لهندسة الأنسجة. إن الخاصية الفريدة حول الهلامات المائية والتي يجري استغلالها على نحو متزايد من قبل مهندسي الأنسجة هي القدرة على جعلها مستجيبة حيويًا وبالتالي، جعلها "مواد حيوية ذكية" ("intelligent biomaterials") [161]. وقد قام Wang وآخرون [161] بتركيب هلام مائي من فسفو إستر (phosphoester) - بولي (جليكول الإيثيلين) (PhosPEG) لتغليف الخلايا الجذعية المتوسطة المستمدة من النقي (marrow - derived mesenchymal stem cells) (MSCs) من أجل هندسة العظم. وقد ازداد معدل التحلل الحَلْمِيّ (hydrolytic degradation) لهذه الهلامات المائية الحاوية على الفُسْفُور في وجود إنزيم الفُسْفَانَاز القلوي (ALP)، وهو عبارة عن إنزيم مشتق من العظم. إن وجود الفُسْفُور قد زاد أيضاً من وتيرة التمعدن (mineralization) وقد وُجد كذلك أن الفسفو إستر - بولي (جليكول الإيثيلين) (PhosPEG) يزيد من التعبير الجيني للواسمات المحددة للعظم (bone - specific markers).

وقد تم البدء أيضاً باستخدام تقنيات النماذج الأولية السريعة (RP) من أجل تصنيع الهلامات المائية. فقد استخدم Landers وآخرون [162] الرسم ثلاثي الأبعاد، والذي يُمثل توزيعاً ثلاثي الأبعاد في وسط سائل، وذلك لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة من الهلامات المائية بخاصية حرارية قابلة للعكس ومع شكل خارجي محدد وبنية مسام داخلية محددة بشكل جيد. وقد استطاعوا أيضاً طلاء سطح حاملة الخلايا والأنسجة بطبقة غلاف خارجي لتسهيل التصاق الخلايا ونموها. وقد قام Dhariwala وآخرون [163] بحجز خلايا المبيض (ovary cells) لهامستر صيني (حيوان من القوارض) في حاملة خلايا هلامية من البولي (أكسيد الإيثيلين) (PEO) تم تشكيلها باستخدام الحفر المَجَسَّم (ثلاثي الأبعاد) (STL). وقد تم تخفيض تأثير البادئة (initiator) السام للخلايا إلى الحد الأدنى باستخدام ٥٠ مايكرو لترًا من البادئة في كل ميلي لتر من الوسط وقد كان وقت التعرض لأشعة الليزر فوق البنفسجية من أجل تجارب السمية الخلوية في المختبر أطول مما هو مُستخدم عموماً، معطياً الثقة للمؤلفين في انخفاض تأثير البادئة السام للخلايا. وعلى أي حال، فقد وُجد أن معامل المرونة يكون قابلاً للمقارنة مع قيم الأنسجة الرخوة مثل أنسجة الثدي وليس الأنسجة الغضروفية. وقد استخدم Arcaute وآخرون [130] أيضاً الحفر المَجَسَّم (ثلاثي الأبعاد) (STL) لتصنيع هلامات مائية من بولي (جليكول الإيثيلين) (PEG) لتغليف خلايا الأرومة الليفية الجلدية البشرية، مع ما لا يقل عن ٨٧٪ من الخلايا التي وُجد أنها قابلة للحياة لمدة تصل إلى ٢٤ ساعة بعد التصنيع.

وقد أعطى Hoffman [164] نظرة عامة ممتازة على المحددات أو البارامترات الفيزيائية الكيميائية الهامة وخصائص الهلامات المائية ذات الصلة لاستخدامها كمصفوفات في تطبيقات هندسة الأنسجة جنباً إلى جنب مع مناقشة مزاياها وعيوبها. وقد قدّم Drury و Mooney [165] استعراضاً شاملاً للهلامات المائية المستخدمة كحاملات خلايا من أجل هندسة الأنسجة. وقد قاموا

بمناقشة البوليمرات الاصطناعية والطبيعية الرئيسية التي تُستخدم من أجل صنع حاملات خلايا وأنسجة من الهلامات المائية جنباً إلى جنب مع متغيرات تصميم حاملات الخلايا والأنسجة وحددوا ثلاثة فئات من تطبيقات حاملات الخلايا والأنسجة: عوامل ملء الحيز أو الفراغ (space filling agents) وتوصيل الجزيئات النشطة حيويًا (bioactive molecule delivery) وتوصيل الخلايا / الأنسجة. وقد وصف Brandl وآخرون [166] طريقة معقولة لتصميم الهلامات المائية من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة مع التركيز على الخصائص الفيزيائية وأوجز تأثيرها على وظيفة الخلايا وتُخَلَّق أو تُشكَّل الأنسجة (tissue morphogenesis).

(٣,٢,٧,٨) الغزل الكهربائي Electrospinning

تلقي تقنية أخرى لتصنيع حاملات الخلايا والأنسجة أهمية متزايدة وهي الغزل الكهربائي (electrospinning) لألياف الناتو من أجل إنتاج حاملات خلايا وأنسجة وذلك بسبب تشابهها واسع النطاق مع المصفوفة خارج الخلية (ECM) الأصلية [167]. ففي هذه العملية يتم إنتاج ألياف البوليمر بقطر في مستوى النانومتر باستخدام قوى كهربائية (electrical forces) [168]. وعندما يتم تطبيق حقل كهربائي (electric field) تنشأ قوى كبيرة بما يكفي على سطح محلول البوليمر للتغلب على التوتُّر السطحي (surface tension)، فيتم إخراج نفاث مشحون كهربائياً (electrically charged jet) حيث يتصلب بدوره إلى ليف مشحون كهربائياً، والذي يمكن معالجته في أشكال مختلفة عن طريق القوى الكهربائية [168]. إن البوليمرات المستخدمة عادةً من أجل هذه الطريقة في التصنيع هي البولي إسترات الأليفاتية (aliphatic polyesters) (وهي عبارة عن مركب هيدروكربوني ذي سلسلة مفتوحة) [169]. فعلى سبيل المثال، يتم استخدام البولي-إل - حمض اللاكتيك (PLLA) من أجل التصاق وتمايز الخلايا الجذعية العصبية [170]؛ والبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) من أجل القدرة على البقاء على قيد الحياة ونمو وتمايز الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (MSCs) [171]؛ والبولي كابريولاكتون (PCL) من أجل التصاق خلايا الأرومة الليفية الجلدية البشرية [172] بالإضافة إلى تشكيل العظم من الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (MSCs) [173]. وقد درس Li وآخرون [167] تفاعل خلايا الأرومة الليفية والخلايا الجذعية المتوسطة البشرية المشتقة من نقي العظم (bone - marrow derived - MSCs) على بنية ذات ألياف نانوية مغزولة كهربائياً من البولي لاكتيك - بولي غليكوليك (PLG) بقطر من ٥٠٠ إلى ٨٠٠ نانومتر. وبما أنه قد تم تشكيل المسام في البنية عن طريق الألياف الموجهة بشكل عشوائي (randomly oriented fibers) والموجودة على نحوٍ حر الواحد فوق الآخر، فإن الخلايا أثناء هجرتها عبر المسامات ربما تدفع جانباً تلك الألياف المحيطة غير المقاومة ولكنها قوية ميكانيكياً، وتتسبب بالتالي في توسيع المسام [167]. وقد افترض المؤلفون أن هذا النوع من البنية الهندسية الديناميكية لحاملة الخلايا والأنسجة قد سمح للخلايا بحرية ضبط قطر المسام وفقاً لميولها وكذلك سمح لها بالمرور عبر مسامات صغيرة نسبياً ولكنهم نبهوا إلى أن نظريتهم احتاجت إلى المزيد من البحث. وقد قام Li وآخرون [174] أيضاً بتقييم حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً من البولي كابريولاكتون (PCL) بقطر ٧٠٠ نانومتر وذلك من حيث قدرتها على الاحتفاظ بوظائف الخلايا الغضروفية واقترحوا استخدامها كحاملات خلايا وأنسجة مناسبة من أجل هندسة الأنسجة الغضروفية. كما قام Yoshimoto وآخرون [175] أيضاً بزراعة الخلايا الجذعية المتوسطة الجذعية بنجاح على حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً من البولي كابريولاكتون (PCL) بقطر ٤٠٠ نانومتر (± 200 نانومتر) لإظهار قدرتها كحاملات خلايا وأنسجة مناسبة من أجل

هندسة الأنسجة العظمية. وعلى أي حال، فقد وجدوا أن للألياف أقطاراً مختلفة على امتداد أطوالها وأن أسطحها غير منتظمة. وقد تمكّن Chen وآخرون [176] من إنجاز ألياف نانوية مع أقطار بلغت إلى حد ١١٧ نانومتر إلا أنهم وجدوا أنها تحتوي على خرزات (beads)، والتي بدورها أثرت بشكل سلبي على التصاق الخلايا وعلى الطاقات الحركية للنمو، مما قادهم إلى استنتاج أن التماثل أو الانتظام وقطر الألياف قد لعبا دوراً مهماً في تعديل أو ضبط التصاق وانتشار الخلايا. وبالرغم من هذه العيوب الطفيفة، إلا أن الألياف النانوية تبشر بحاملات خلايا وأنسجة واعدة نظراً لامتلاكها مسامية عالية ونسبة عالية من مساحة السطح إلى الحجم، والتي تعتبر بارامترات أو محددات مرغوبة للتصاق ونمو وانتشار الخلايا بالإضافة إلى امتلاكها خصائص ميكانيكية مفضلة [167].

وقد قام Deng وآخرون [177] بدراسة المورفولوجيا (الشكل) وكذلك التوافقية الحيوية لحاملات الخلايا والأنسجة الهجينة ذات ألياف النانو المصنوعة من هيدروكسي أباتيت-بولي (حمض اللاكتيك) (PLA - HA) والتي تم تحضيرها من خلال عملية الغزل الكهربائي. وقد وجدوا أن سطح الألياف خشن نظراً لتشكل رابط سطحي جديد من الـ (-COO) وشاهدوا تحسناً في التصاق وانتشار خلايا الـ (MG-63) مقارنة مع حاملات الخلايا والأنسجة الصرفة المصنوعة فقط من البولي (حمض اللاكتيك) (PLA). وقد وجد Meng وآخرون [178] أن خلايا الـ (NIH 3T3) تلتصق وتنمو بصورة أكثر فعالية على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً والمركبة من البولي (٣-هيدروكسي بوتيرات-كو-٣-هيدروكسي فاليرات) (PHBV - poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)) / الكولاجين وذلك نسبةً إلى حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المصنوعة من البولي (٣-هيدروكسي بوتيرات-كو-٣-هيدروكسي فاليرات) (PHBV). وقد قام Li وآخرون [179] بدراسة التوافقية الخلوية (cytocompatibility) لحاملة خلايا وأنسجة مغزولة كهربائياً بشكل مشترك ومركبة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) والجيلاتين والألفا-إيلاستين (PGE) (α -elastin) كمادة محتملة من أجل هندسة الأنسجة الرخوة (soft tissues) مثل القلب والرئة والأوعية الدموية. وقد أنشأ Pan وآخرون [180] حاملة خلايا وأنسجة مغزولة كهربائياً عالية المسامية من الديكستران / البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) وذلك عن طريق المزج الفيزيائي لبوليمرين وقد قام بتحديد خصائصها من أجل استجابات خلوية (cellular responses) مختلفة باستخدام خلايا الأرومة الليفية الجلدية (dermal fibroblasts) وذلك من منظور استخدام هذا المركب في تعزيز التئام (شفاء) الجروح المزمنة (chronic wounds) أو الجروح الناجمة عن الصدمات (trauma wounds). وقد استخدم Townsend - Nicholson و Jayasinghe [181] ترتيباً من إبرة متمحورة (coaxial needle) حيث تدفق مُعلّق الخلايا الحية المركز (concentrated living cell suspension) من خلال الإبرة الداخلية وتدفق بولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS - poly (dimethylsiloxane)) ذو التصنيف الطبي والمسامية العالية مع خاصية التوصيل الكهربائي (electrical conductivity) المنخفض من خلال الإبرة الخارجية، وذلك لتشكيل خيوط مايكروية دقيقة مركبة تحتوي على الخلايا. ولم يظهر أن عملية التصنيع النانوي الحيوي (bionanofabrication process) هذه تؤثر على قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة بعد عملية الغزل الكهربائي؛ مما يثبت جدوى استخدام عملية الغزل الكهربائي المتمحور (coaxial electrospinning) لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة بيولوجية فعّالة (active biological scaffolds).

لقد درس الباحثون النواحي المختلفة لعلمية الغزل الكهربائي لمعرفة كيف يؤثر تغيير المحددات أو البارامترات المحددة والمرتبطة بإنتاج الألياف على خصائصها. وقد وجد Thomas وآخرون [182] أن الاختلافات في سرعات دوران المجمع (collector) (أداة تجميع الألياف) قد أثرت على متانة الشد (tensile strength) ومعامل المرونة (modulus) لشبكات البولي كابريولاكتون (PCL) الليفية النانوية المتراصة المستخدمة من أجل حاملات الخلايا والأنسجة العظمية، وذلك نظراً لزيادة تراصف وحشو الألياف بالإضافة إلى انخفاض حجم المسام بين الألياف (interfiber) عند معدلات السحب الأعلى. وبصورة ماثلة، فقد وجد Li وآخرون [183] بأن تنظيم الألياف النانوية قد تأثر بشكل كبير بسرعة الهدف الدوار (rotating target): فكلما كانت سرعة الدوران أكبر، كان تراصف الألياف أفضل، وهو ما أثر بدوره وبشكل عميق على الخصائص الميكانيكية. واستخدم Pham وآخرون [184] تقنية تعدد الطبقات لبناء حاملة خلايا وأنسجة من البولي كابريولاكتون (PCL) تحتوي على طبقات متناوبة من الألياف المايكروية والنانوية المغزولة كهربائياً وذلك للجمع بين ميزاتها في بنية واحدة. تُظهر الألياف المايكروية ميزة توفير حجم مسامات أكبر، الأمر الذي يُسهّل الاختراق الخلوي (cellular penetration) وانتشار المواد الغذائية داخل البنية، في الوقت الذي توفر فيه الألياف النانوية مساحة سطحية أكبر من أجل التصاق وانتشار الخلايا [184]. وقد وصف Li وآخرون [185] الخصائص الفيزيائية والبيولوجية لستة أنواع من البولي (إيستر ألفا-هيدروكسي) poly (α -hydroxy esters) المستخدمة بشكل شائع. وقد درس Moroni وآخرون [186] تأثير أقطار الألياف المختلفة والطوبولوجيا النانوية السطحية (nanotopology) للألياف على عملية بذر والتصاق وتكاثر الخلايا. وقد وجدوا أن الألياف الملساء التي يبلغ قطرها ١٠ نانومترات تدعم عملية البذر والتصاق الأمثل للخلايا ضمن المجال الذي تم تحليله، في حين أنه قد وُجد أن الأسطح ذات المسامات النانوية تُعزز وبصورة كبيرة تكاثر وانتشار الخلايا. واستخدم Vaz وآخرون [178] عملية الغزل الكهربائي المتتابع متعدد الطبقات (multilayering electrospinning - ME) وذلك لإنتاج حاملة خلايا وأنسجة أنبوبية مؤلفة من طبقتين (bilayered tubular scaffold) حيث تحتوي على طبقة خارجية من ألياف البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) الصلبة والمتراصة (المتحاذية) وطبقة داخلية من ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) المرنة والموجهة بشكل عشوائي من أجل الاستخدام في هندسة الأوعية الدموية.

وقد حاول الباحثون أيضاً دمج الجسيمات النانوية (nanoparticles) ضمن الألياف أو استخدام المركبات النانوية لتعزيز قدرات حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً. فقد صنع Wutticharoenmongkol وآخرون [188] حاملات خلايا وأنسجة جديدة مغزولة كهربائياً من أجل هندسة الأنسجة العظمية وذلك باستخدام محلول من البولي كابريولاكتون (PCL) الذي يحتوي على جسيمات نانوية من كربونات الكالسيوم (calcium carbonate) أو الهيدروكسي أباتيت (HA) وقد تم تقييمها بشكل ناجح في المختبر فيما يتعلق بالتصاق والتكاثر ونشاط أو فعالية إنزيم الفوسفاتاز القلوي باستخدام الخلايا البشرية البانية للعظم (human osteoblasts). وقد قام Lee وآخرون بالجمع جنباً إلى جنب بين تقنية التركيب النانوي مع تقنية الغزل الكهربائي وذلك لإنتاج حاملة خلايا وأنسجة مع حجمين مختلفين للمسامات: مسامات نانوية الحجم من أجل نقل المواد المغذية والفضلات، ومسامات مايكروية الحجم من أجل ارتشاح الخلايا وتوغلها في الأوعية الدموية. وقد تم

تحقيق ذلك عن طريق دمج صفيحات مونت موريللونيت (montmorillonite platelets) ذات الحجم النانوي في محلول من البولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA) الذي تم غزله كهربائياً بشكلٍ متتابع وتعرضه للقبولة بالضغط على البارد (cold compression molding) وقد تبع ذلك عملية ارتشاح الملح (salt leaching) / إرغاء الغاز (gas foaming) للحصول على مسامات مايكروية الحجم. وقد أنشأ Thomas وآخرون [190] حاملة خلايا وأنسجة مركبة نانوية (nanocomposite scaffold) عن طريق الغزل الكهرستاتيكي (الكهربائي الساكن) المشترك (electrostatic cospinning) لألياف البولي كابريولاكتون النانوية (PCL) والهيدروكسي آباتيت النانوي (nanoHA) وذلك لمحاكاة أفضل لسمات أو خصائص المصفوفة خارج الخلية (ECM) الطبيعية.

وقد وجدت حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائية أيضاً تطبيقات في مجال هندسة الأنسجة القلبية الوعائية (cardiovascular tissue engineering) وهندسة الأنسجة الهيكلية العضلية (skeletal muscle tissue engineering). وقد قارن van Lieshout وآخرون [191] حاملة خلايا وأنسجة صمامية (electrospun valvular scaffold) مغزولة كهربائياً وحاملة خلايا وأنسجة صمامية منسوجة (knitted valvular scaffold)، وكلتاهما مصنوعتان من البولي كابريولاكتون (PCL)، وذلك للتحقق من ملاءمتهما في هندسة الصمام الأورطي (aortic valve) (الأبهرى) واستنتجوا أن حاملة الخلايا والأنسجة المثالية تحتاج إلى الحصول على متانة البنية المنسوجة مجتمعة مع قدرة البنية المغزولة على ترشيح الخلايا. وقد فحص Zong وآخرون [192] نمو الخلايا العضلية القلبية (cardiomyocytes) على أغشية من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) المغزول كهربائياً ذي البنية النانوية مع مركبات مختلفة وذلك لتقييم التصاق وبنية ووظيفة الخلايا على بُنى أنسجة القلب المحتملة تلك. وقد قيّم Riboldi وآخرون [193] مدى ملاءمة البولي إستر يوريثان (polyesterurethane) الكتلي المغزول كهربائياً والقابل للتحلل والمتوفر تجارياً والمسمى بالـ (DegraPol)، كحاملة من أجل هندسة الأنسجة الهيكلية العضلية، وذلك من خلال وصف خصائصها الشكلية والتحليلية والميكانيكية.

وقد تم البدء أيضاً باستخدام حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً من أجل توصيل الدواء وعوامل النمو والحمض النووي (DNA). وقد عرض Kim وآخرون [194] وبشكلٍ ناجح عملية الدمج والإطلاق (التحرير) المتواصل لمضاد حيوي محب للماء (hydrophilic antibiotic) من حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية مبنية على أساس البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) المغزول كهربائياً من دون أي فقد في البنية والفعالية الحيوية للدواء. وقد أظهر Luu وآخرون [195] وبصورة ناجحة عملية الدمج والإطلاق المتحكم به لبلازميدة الحمض النووي (plasmid DNA) من مركب مؤلف من بوليمر اصطناعي مغزول كهربائياً / حمض نووي (DNA)؛ مما يدل على استخدامه المحتمل من أجل التوصيل الجيني العلاجي (therapeutic gene delivery). وقد احتوى البوليمر الاصطناعي على بوليمر عشوائي مشترك من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) وبوليمر كتلي مشترك من البولي (حمض اللاكتيك) - بولي (غليكول الإيثيلين) (PLA - PEG).

لقد ناقشت منشورات أخرى حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً بشكلٍ تفصيلي. فعلى سبيل المثال، استعرض Nair وآخرون [196] التقدمات الأخيرة في تطوير حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية اصطناعية قابلة للتحلل الحيوي ومُصنَّعة عن طريق الغزل الكهربائي. وقد استعرض Boudriot وآخرون [197] محددات أو بارامترات الغزل ذات الصلة من أجل تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة وناقشوا أيضاً حاملات الخلايا والأنسجة المركبة من الألياف النانوية. وناقش Teo وآخرون [198] المصفوفة خارج الخلية (ECM) وكيف يمكن لتقنيات الغزل الكهربائي المجتمعة مع تعديل السطح والربط المتشابك لألياف النانو أن تساعد المرء في تعديل حاملة الخلايا والأنسجة لتفي بمتطلبات الأنسجة التي يُود تجديدها. إن الغزل الكهربائي ليس العملية الوحيدة التي يمكن من خلالها إنتاج حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية. فقد ناقش Smith و [199] Ma الكيفية التي يمكن أن تنتج بها عمليات التجميع الذاتي والغزل الكهربائي والفصل الطوري حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية وذلك بغزل المجال الكامل من أحجام كولاجين المصفوفة خارج الخلية (ECM).

(٣,٣) تعديل حاملات الخلايا والأنسجة MODIFICATION OF SCAFFOLDS

يمكن تعديل حاملات الخلايا والأنسجة أيضاً لتوصيل الجزيئات الحيوية (biomolecules) مثل البروتينات وعوامل النمو بالإضافة إلى الأدوية [200]. إن عوامل النمو هي ببتيدات متعددة (polypeptides) والتي إما أن تحفز أو أن تكبح الفعاليات الخلوية مثل التكاثر والتمايز والهجرة والالتصاق والتعبير الجيني [201]. ويمكن دمج عوامل النمو بشكلٍ مباشر في حاملة الخلايا والأنسجة أثناء أو بعد التصنيع. وقد دمج Sheridan وآخرون [92] عامل النمو البطاني الوعائي (vascular endothelial growth factor - VEGF) في حاملات خلايا وأنسجة مصنوعة من البولي لكتيك - بولي غليكوليك (PLG) أثناء عملية التصنيع وتم إطلاقها بطريقة مُتحكم بها. واتضح أن عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) يحتفظ بأكثر من ٩٠٪ من نشاطه الحيوي. وقد دمج Hu وآخرون [202] عامل النمو المحفز للعظم (osteoinductive growth factor) وهو البروتين المكوّن للعظم (bone morphogenetic protein - BMP) في حاملات خلايا وأنسجة مُركبة مصنوعة من الهيدروكسي آباتيت / الكولاجين (HAC) والبولي (حمض اللاكتيك) (PLA)، والتي تم زراعتها في مناطق العيوب الجذلية (diaphyseal defects) للكلاب. وقد كشفت الدراسات النسيجية أن البروتين المكوّن للعظم (BMP) لم يحفز تكوين العظم فحسب بل أدى أيضاً إلى التسريع في عملية تحلل مادة حاملة الخلايا والأنسجة. وقد قام Williams وآخرون [124] ببذر حاملات خلايا وأنسجة من البولي كابرولاكتون (PCL) تم صنعها من خلال التصليب أو التليد الانتقائي بواسطة الليزر (SLS) بخلايا الأرومة الليفية المحوّلة بالبروتين المكوّن للعظم (BMP-7) وقاموا بزرع هذه البنى تحت جلد الفئران وذلك لتقييم الخصائص البيولوجية. وقد أكد التقييم النسيجي والتحليل باستخدام جهاز التصوير الطبقي المحوري المايكروبي (microCT) توليد العظم. وقد قام Grondahl وآخرون [203] بتعديل البولي (٣-هيدروكسي بوترات-كو-٣-هيدروكسي فاليرات) (PHBV) بـ حمض الأكريليك عن طريق البلمرة المشتركة للطعم. ويُستخدم البولي (٣-هيدروكسي بوترات-كو-٣-هيدروكسي فاليرات) (PHBV) في هندسة الأنسجة العظمية نظراً لتوافقيته الحيوية ومميزاته التحليلية الملائمة وخصائصه الميكانيكية المناسبة ودعمه لالتصاق الخلايا البانية للعظم. وقد تم استخدام حمض الأكريليك (acrylic acid) لتحفيز امتصاص أو حب السطح للماء

(surface hydrophilicity)، وذلك لتحسين نمو الهيدروكسي آباتيت (HA) في نهاية الأمر وزيادة توافقية الخلايا (cell compatibility). وعلاوة على ذلك، فقد ارتبطت المجموعات الحمضية الكربوكسيلية (carboxylic acid groups) التي تم إدخالها على سطح البولي (٣-هيدروكسي بوترات-كو-٣-هيدروكسي فاليرات) (PHBV) بواسطة حمض الأكرليك بالغلوكوز أمين (glucosamine)، وهو جزيء حيوي نموذجي، وذلك لإظهار القدرة على تعديل المادة من أجل استخدامها في تطبيقات هندسة الأنسجة. وبصورة مماثلة، فقد أدخل Ma وآخرون [204] طبقة من الكولاجين المستقر على سطح حاملة خلايا وأنسجة مصنوعة من البولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA)، من خلال التطعيم ببولي حمض الميثاكرليك (polymethacrylic acid - PMAA)، وذلك من أجل دمج عامل النمو الأساسي لخلايا الأرومة الليفية (basic fibroblast growth factor - bFGF) لتحسين التوافقية الحيوية وتعزيز نمو الخلايا ومحاكاة المصفوفة خارج الخلية (ECM) الطبيعية عن كذب. وقد دمج Ennet وآخرون [93] عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) إما بشكل مباشر في حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) وإما بتغليفها بشكل مسبق في الكريات المايكروية الدقيقة المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) والتي تم استخدامها لتصنيع حاملات الخلايا والأنسجة من خلال استخدام إرغاء الغاز (الرغوة الغازية). وقد أدى التغليف المسبق (pre - encapsulation) إلى إدخال أو إقحام عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) إلى عمق أبعد ضمن حاملة الخلايا والأنسجة؛ مما نتج عنه تأخير في عملية الإطلاق أو الإفراز. وفي الجسم الحي، عزز عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) المحرر تشكّل الأوعية الدموية الموضعية بشكل كبير مع تحرير كميات صغيرة جداً (مهملة) في جهاز الدوران النظامي (systemic circulation). وقد قام Park وآخرون [205] بعملية التغليف المشترك للخلايا الغضروفية البقريّة وجسيمات الجيلاتين المايكروية الدقيقة المحملة بعامل النمو التحويلي (transforming growth factor- $\beta 1$) في مركّب جديد من الهلامات المائية القابل للحقن وهو أوليغو (فومارات بولي (غليكول الإيثيلين)) (oligo (OPF) - (poly (ethylene glycol) fumarate) وذلك لاستخدامه من أجل نمو الغضروف.

وتتم أيضاً متابعة دراسة توصيل البروتين والدواء باستخدام حاملات الخلايا والأنسجة وذلك لغرض تعزيز النشاط الخلوي ومعالجة الالتهاب الموضعي الحاد (local acute inflammation)، على التوالي. وقد طور Lenza وآخرون [206] حاملات خلايا وأنسجة نشطة حيويًا من شأنها السماح بدمج وتوصيل البروتينات بمعدلات يتم التحكم بها وذلك من أجل تعزيز وظائف الخلايا ونمو الأنسجة الملساء. وقد قام Yoon وآخرون [91] بتصنيع حاملات خلايا وأنسجة مسامية من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) تحتوي على الديكساميثازون (dexamethasone) من خلال طريقة إرغاء (رغوة) الغاز / انتفاذ (ارتشاح) الملح لإنشاء دعامة قابلة للتحلل الحيوي وذلك من أجل تقليل فرط تنسج (تضخم) باطنة الشريان (intimal hyperplasia) في عودة التضيّق (restenosis). وقد تم إطلاق الديكساميثازون، وهو دواء ستيرويدي مضاد للالتهاب (steroidal anti - inflammatory drug)، بصورة بطيئة من حاملة الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) بطريقة مُتحكم بها لأكثر من شهر بدون إظهار إطلاق انفجاري أو اندفاعي أولي (initial burst release) وقد كان ناجحًا في قمع أو إيقاف تكاثر الخلايا اللمفية (lymphocytes) وخلايا العضلات الملساء (smooth muscle cells) بشكل جذري في المختبر.

إن العيب الحاد في توصيل البروتين المباشر هو التحلل السريع في الجسم الحي والاستقرار المحدود حتى لو كانت مُغلّقة في حامل أو ناقل توصيل بوليمري (polymeric delivery vehicle) [207]. والحل الواعد لذلك هو استخدام العلاج الجيني الموضوعي لتعزيز إنشاء عامل النمو المطلوب في الموقع المحدد المرغوب دراسته [207]. وبالتالي؛ فإنه يمكن استخدام حاملات الخلايا والأنسجة أيضاً كحاملات أو ناقلات من أجل التوصيل الجيني وذلك لتعزيز تعبير التعديل الجيني الموضوعي لتحفيز تشكيل الأنسجة الوظيفية [208]. وقد استخدم Jang وآخرون [208] التوصيل بواسطة الركيزة (substrate-mediated delivery) والذي ينطوي على تثبيت مركبات الحمض النووي (DNA) على سطح البوليمر من أجل التوصيل النهائي إلى الخلايا التي تنمو على البوليمر. وقد قاموا بدراسة تثبيت مركب البولي إيثيلين إيمين (polyethylenimine - PEI) / الحمض النووي (DNA) والتعديل أو النقل الخلوي (cellular transfection) النهائي على حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي لاكتيك - بولي غليكوليك (PLG). وقد تمكنوا بهذه التقنية من توصيل الحمض النووي (DNA) بشكل منتظم أو مؤحد من خلال حاملة الخلايا والأنسجة وبذلك تم تعديل أو نقل أكثر من ٦٠٪ من الخلايا باستخدام كميات قليلة من الحمض النووي (DNA) على السطح.

(٣، ٤) أنواع مواد حاملات الخلايا والأنسجة TYPES OF SCAFFOLD MATERIALS

إن مواد حاملات الخلايا والأنسجة تكون إما مصنوعة من البوليمرات الاصطناعية (التركيبية) وإما مشتقة من البوليمرات الموجودة طبيعياً. تمتاز البوليمرات الاصطناعية بامتلاكها خصائص متانة ومعدل تحلل وبنية مايكروية دقيقة قابلة للتحكم بشكل عالٍ بالإضافة إلى اتساق أو تطابق الدفعة تلو الدفعة (batch - to - batch) [81,209]. وتمتاز المواد المشتقة طبيعياً بخاصية التمييز أو التعرف البيولوجي (biological recognition) التي يمكن أن تعزز التصاق ووظائف الخلايا [81]. وعلى أي حال، فإن لها مساوئاً معينة أيضاً تشمل التحكم المحدود بالخصائص الميكانيكية وقابلية التحلل الحيوي واتساق أو تطابق الدفعة تلو الدفعة والتوفر المحدود؛ مما يساهم في ارتفاع تكلفتها والإظهار المحتمل للاستمناع (immunogenicity) وامتلاك الشوائب الممرضة (pathogenic impurities) [81]. وقد قام Velema و Kaplan [6] بكتابة عرض ممتاز يناقش ثلاثة أنواع مهمة من الفئتين الرئيسيتين للبوليمرات المشتقة طبيعياً، والتي يتم استخدامها في تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة. وهذه البوليمرات هي البولي ساكريدات أو عديدات السكاريد (polysaccharides) (الألجينات (alginate) والشيتوزان (chitosan) والهيالورونان (hyaluronan)) والبروتينات الليفية (الكولاجين (collagen) وفبروين الحرير (silk fibroin) والإيلاستين (elastin)). وسنناقش هنا البوليمرات الاصطناعية فقط. وقد ناقش Nair و Laurencin [210] بصورة أنيقة جداً البوليمرات الأساسية الاصطناعية والطبيعية المستخدمة في هندسة الأنسجة وتوصيل الدواء في حين ذكر كلٌّ من Gunatillake و Adhikari [209] بالتفصيل الفئات الرئيسية من البوليمرات الاصطناعية القابلة للتحلل الحيوي في هندسة الأنسجة وناقشا هذه البوليمرات من حيث تركيبها وخصائصها بالإضافة إلى توافقيتها الحيوية وقابليتها للتحلل الحيوي. وقد ناقش كلٌّ من Holland و Mikos [211] مختلف

البوليمرات الاصطناعية القابلة للتحلل ، والتي يتم استخدامها من أجل توصيل الدواء في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية في الوقت الذي ناقش فيه Agrawal و Ray [3] البوليمرات الرئيسية الاصطناعية القابلة للتحلل الحيوي التي يتم استخدامها من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية وطرق تصنيعها.

(٣,٤,١) البوليسترات Polyesters

إن البوليمرات الاصطناعية الأكثر استخداماً هي البوليسترات (ألفا-هيدروكسي) الأليفاتية (aliphatic (α -hydroxy) polyesters). وهي تشمل بولي (حمض الغليكولايد) (PGA)، وبولي (حمض اللاكتيك) (PLA)، وبوليمرهما المشترك بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA)، التي يتم استخدامها بصورة واسعة في عدد من التطبيقات السريرية (clinical applications)، وبشكل أساسي كغُرَز أو خيوط قابلة للارتشاف (resorbable sutures) يتم استخدامها في الجراحة وأيضاً كصفائح ومثبتات لأجهزة تثبيت الكسور (fracture fixation) [209,210]. إن البولي (حمض الغليكولايد) (PGA) هو مادة بلورية جداً مع نقطة انصهار تتجاوز ٢٠٠ درجة مئوية وتتراوح درجة حرارة تحوله الزجاجي (T_g) من حوالي ٣٥ إلى ٤٠ درجة مئوية [209,210]. ونظراً لدرجة تبلوره العالية، فهو يمتاز بمتانة شد عالية ومعامل شد عالٍ بالإضافة إلى ذوبانيته (solubility) المنخفضة في معظم المذيبات العضوية. ويُستخدم بولي (حمض اللاكتيك) (PLA) بصورة عامة في شكل بولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA) وبولي (دي إل - حمض اللاكتيك) (PDLLA) لتصنيع حاملات الخلايا والأنسجة. إن بولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA) هو مادة شبه بلورية (semicrystalline) مع درجة تبلور (crystallinity) تعتمد على الوزن الجزيئي ومحددات أو بارامترات المعالجة. وهو يمتاز أيضاً بمتانة شد عالية ومعامل شد عالٍ، وتبلغ نقطة انصهاره ١٧٠ درجة مئوية وتتراوح درجة حرارة تحوله الزجاجي (T_g) بين ٦٠ و ٦٥ درجة مئوية. ومن ناحية أخرى، فإن بولي (دي إل - حمض اللاكتيك) (PDLLA) هو مادة غير متبلورة (amorphous) مع درجة حرارة تحول زجاجي (T_g) تتراوح بين ٥٥ و ٦٠ درجة مئوية. إن البنية الكيميائية للبولي (حمض اللاكتيك) (PLA) والبولي (حمض الغليكولايد) (PGA) متشابهة باستثناء أن البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) يمتلك مجموعة متدلّية من الميثيل (pendant methyl group) مما يجعله أكثر كُرْهًا للماء (hydrophobic)، وبالتالي أكثر مقاومة للهجوم الحلمهي (hydrolytic attack) (التحلل بالماء) من البولي (حمض الغليكولايد) (PGA). وهذا يؤدي إلى حدوث اختلافات في الطاقات الحركية لتحلل البوليمرين وبالتالي يتم التحكم في معدل تحلل بوليمرهما المشترك البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) من خلال النسبة التي يتواجد بهما هذين البوليمرين [3]. ويخضع كلٌّ من البولي (حمض اللاكتيك) (PLA)، والبولي (حمض الغليكولايد) (PGA)، والبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) إلى تحلل كتلي عن طريق الحلمهة العشوائية لروابط الإستر الخاصة بهما، حيث يتم فقدان المادة من الحجم الكلي للبوليمر في نفس الوقت نظراً إلى تغلغل أو اختراق الماء في كتلة حاملية الخلايا والأنسجة. يتحلل البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) لتكوين حمض اللاكتيك، الذي يوجد بصورة طبيعية في الجسم، ويدخل في دورة الحمض الثلاثي الكربوكسيل (tricarboxylic acid - TCA) ليتم إفرازه على شكل ماء وثاني أكسيد الكربون. ويتحلل البولي (حمض الغليكولايد) (PGA) عن طريق الحلمهة (التحلل بالماء) وعن طريق إنزيمات الإستراز (esterases) وإنزيمات الكربوكسي ببتيداز

(carboxypeptidases) غير المحددة. ويتم إفراز الموحد أو المونومر حمض الغليكوليك عن طريق البول أو يدخل في دورة الحمض الثلاثي الكربوكسيل (TCA) [3]. وتتضمن بعض سليلات البوليسترات الأليفاتية الخصائص الميكانيكية الرديئة وإطلاق منتجات تحلل حمضية وإمكانية المعالجة المحدودة [209].

إن البولي كابرولاكتون (PCL) هو بوليستر شبه بلوري وينصهر عند درجة حرارة حوالي ٦٠ درجة مئوية وتبلغ درجة حرارة تحوله الزجاجي (T_g) ناقص ٦٠ درجة مئوية. ويتحلل بمعدل أبطأ بكثير مقارنة مع البوليسترات الأليفاتية الأخرى؛ وبالتالي يتم استخدامه وعلى نطاق واسع في مجال توصيل الدواء المتحكم به على المدى الطويل. فهو مرن ويسهل معالجته بالإضافة إلى أنه ثابت أو مستقر بنيوياً وحرارياً، في حين أنه في الوقت نفسه أقل حساسية للتغيرات البيئية [85]. وهو يمتاز بقدرة استثنائية على تشكيل الخلائط باستخدام مجموعة متنوعة من البوليمرات؛ مما يجعله مادة تُستخدم بصورة واسعة من أجل تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة، وبصفة خاصة فيما يتعلق بتطبيقات هندسة الأنسجة الغضروفية والأنسجة العظمية [4]. ويتحلل البولي كابرولاكتون (PCL) بالحلقة عبر كل من التآكل الكتلي والسطحي مع أحماض ٥-هيدروكسي هيكسانويك (5-hydroxyhexanoic acids) (أحماض الكابرويك) (caproic acids) كونها منتج التحلل [17].

(٣، ٤، ٢) البولي فومارات Polyfumarates

إن البولي (بروبيلين فومارات) (PPF) هو الأكثر دراسةً وعلى نطاق واسع من فئة البوليسترات المشتركة المبنية على حمض الفوماريك (fumaric acid). وهو يُشتر بالخير كمادة لهندسة الأنسجة العظمية [212] وذلك من أجل ملء أو تعبئة العيوب الهيكلية العظمية حيث أنه يمتاز بالخصائص الميكانيكية المشابهة للخصائص الميكانيكية للعظم التريبيقي (trabecular bone) ويمتلك القدرة على العلاج بشكل موضعي مما يُمكن من ملء العيوب الهيكلية العظمية أيًا كان شكلها أو حجمها بأقل تدخل [213]. وتتوفر البوليمرات المبنية على أساس البولي (بروبيلين فومارات) (PPF) على شكل أنظمة قابلة للحقن، والتي تُستخدم طريقة الربط الكيميائي المستعرض أو المتشابك (chemical cross-linking)؛ مما يسهل معالجة الشقوق العميقة في العظم وعيوب الأشكال غير المنتظمة عن طريق ربطها بشكل مستعرض أو متشابك في الموضع [214]. ويمتلك البولي (بروبيلين فومارات) (PPF) مواقع غير مشبعة (unsaturated sites) في جزئه الأساسي والتي تُستخدم في تفاعلات الربط المستعرض أو المتشابك؛ مما يؤدي إلى إنتاج بُنى معقدة [209]. وحيث إنه من الصعب إنجاز أو الحصول على بولي (بروبيلين فومارات) (PPF) ذي وزن جزيئي كبير نظراً للتفاعلات الجانبية الناتجة عن وجود الرباط المزدوج للجزء الأساسي، فإنه يتم دمج بالسيراميك مثل ثلاثي فوسفات الكالسيوم (TCP) أو كربونات الكالسيوم أو سلفات (كبريتات) الكالسيوم (calcium sulfate) وذلك لتحسين خصائصه الميكانيكية [209, 214]. ولم يزد بيتا-ثلاثي فوسفات الكالسيوم (β -TCP) المتانة الميكانيكية فحسب بل عمل أيضاً كحاجز أو عازل (buffer) عن طريق التقليل من تغير درجة الحموضة (pH) إلى الحد الأدنى أثناء عملية التحلل [214]. وقد استنتج Peter وآخرون [215] بأنه من الممكن تحضير معاجين البولي (بروبيلين فومارات) / بيتا-ثلاثي فوسفات الكالسيوم (PPF / β -TCP) بمعالجة الخصائص المناسبة من أجل التطبيقات

السريية لجراحة تقويم العظام (orthopaedic) وقد وجدوا أن الخصائص الميكانيكية للمركبات التي تمت معالجتها مناسبة من أجل استبدال العظم التريقي. وقد قاموا أيضاً بدراسة التحلل والتوافقية الحيوية في الجسم الحي لمركبات البولي (بروبيلين فومارات) / بيتا-ثلاثي فوسفات الكالسيوم (PPF / β -TCP) ووجدوا بأنها تثير الاستجابة الالتهابية الأولية التي تصحب عملية التغليف الليفي (fibrous encapsulation) الرقيق [216]، وقد وجدوا أيضاً أن هذا المركب موصل للعظم في المختبر [217]. وقد تم ربط البولي (بروبيلين فومارات) / بيتا - ثلاثي فوسفات الكالسيوم (PPF / β -TCP) بشكل متشابك أو مستعرض مع بوليمرات أخرى مثل بولي (غليكول الإثيلين) - ثنائي ميثا كريات (PEG - DMA) [218]، في حين أنه تمت تقوية بعض مركبات البولي (بروبيلين فومارات) (PPF) بجسيمات نانوية [20] وذلك لتعزيز خصائصها الميكانيكية من أجل تطبيقات هندسة أنسجة جراحة تقويم العظام. وقد تم أيضاً استخدام مركبات البولي (بروبيلين فومارات) (PPF) بصورة ناجحة كناقلات من الكريات المايكروية الدقيقة التي تحمل الأدوية النموذجية [219] أو الجسيمات المايكروية الدقيقة التي تُغلف الخلايا البانية للعظم من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية [220]. وُجد أن النشاط الحيوي للبولي (بروبيلين فومارات) (PPF) قد تعزز في الجسم الحي من خلال دمج الهيدروكسي آباتيت النانوي (nano - HA) [221]، في حين أنه وُجد أن البولي (بروبيلين فومارات) (PPF) المغلف بـ (rhTGF- β 1) يُحفز بصورة كافية تكوين العظم في قحف أو جمجمة (cranium) الأرانب [222]. وتخضع بعض الفومارات الجديدة مثل البولي (فومارات E-كابرولاكتون) poly (ϵ -caprolactone fumarate) [223] والبولي (فومارات غليكول الإثيلين) poly (ethylene glycol fumarate) وبوليمرهما المشترك للدراسة من أجل التطبيقات المتنوعة لهندسة الأنسجة [224]. ويخضع البولي (بروبيلين فومارات) (PPF) للتحلل الكتلي أو الحجمي عن طريق الحلمهة (التحلل المائي) وذلك لإنتاج حمض الفوماريك الذي يعتبر مادة تنشأ طبيعياً في دورة الحمض الثلاثي الكربوكسيل (دورة كريب (Kreb's cycle)، وغليكول البروبيلين (propylene glycol) [209].

(٣, ٤, ٣) البولي أنهيدريدات Polyanhydrides

البولي أنهيدريدات هي بوليمرات تتآكل سطحياً وذات ثبات أو استقرار حلمهي منخفض؛ مما يجعلها مواد مثالية مرشحة للتطبيقات الخاصة بتوصيل الدواء [225]. ولديها جزء أساسي كاره للماء (hydrophobic) بشكل كبير مما يحول دون اختراق أو تسرب الماء إلى الجزء الداخلي من حامله الخلايا والأنسجة، ورياط أنهيدريد حساس للحلمهة يقوم على اقتصار التحلل على السطح؛ مما يؤدي إلى إنتاج طاقات حركية لفقدان خطي للكتلة وطاقات حركية لإطلاق الدواء في النظام الصفري (zero - order) (عند انعدام حركية النظام) وذلك عندما يتم استخدامها كأنظمة لتوصيل الدواء [210, 226]. وتساهم سرعة تحللها في ضعف خصائصها الميكانيكية مما يحفز على دمج شرائح أو قطع من الإيميد (imide) لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة من البولي (أنهيدريد-كو-إيميد) poly (anhydride-co-imide) [227]، وتُستخدم بشكل خاص من أجل تطبيقات جراحة تقويم العظام [228]. وقد درس Ibim وآخرون [229] التوافقية الحيوية والتوافقية العظمية (osteocompatibility) للبولي (أنهيدريد-كو-إيميد) ووجدوا بأنها تُنتج نمو بطانة العظم (endosteal bone) ونمو العظم القشري (cortical bone) وتُحدث استجابة في النسيج الموضعي مشابهة للبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA). وقد أيدوا استخدام هذه البوليمرات في تطبيقات جراحة تقويم العظام

التي تتحمل الوزن. واستخدم Burkoth وآخرون [230] ارتشاح أو انتفاذ مولد المسام؛ وذلك لإنشاء بُنى من البولي أنهيدريد (polyanhydride) يمكن تعبئتها لاحقاً بخلايا بانية للعظم وتغليفها في هلام مائي لإنشاء طعم خيفي اصطناعي (synthetic allograft) من المحتمل استخدامه في هندسة العظم. ومن الممكن تعديل معدل تحلل البولي أنهيدريدات، التي تتحلل عن طريق حلمهة رباط الأنهيدريد (anhydride linkage)، من خلال إجراء تغييرات طفيفة في بنية الجزء الأساسي للبوليمر وذلك عبر الاختيار الحكيم لمونومر (موجود) حمضي ثنائي القاعدة (diacid monomer) [209]. إن الجمع بين كميات مختلفة من هذه المونومرات (المواحد) يمكن أن يُنتج بوليمرات ذات خصائص تحلل مصممة حسب الطلب [214].

(٣, ٤, ٤) البولي (أورثو إسترات) Poly (Ortho Esters)

تخضع البولي (أورثو إسترات) (Poly (ortho esters) - POEs) للتآكل السطحي (surface erosion) ويمكن التحكم بمعدل التحلل عن طريق استخدام ديولات (diols) تتسم بدرجات مختلفة من مرونة السلسلة أو بدمج سواغات (excipients) حمضية أو قاعدية [210]. وقد وجد Andriano وآخرون [231] بأن البولي (أورثو إسترات) (POE) يمتاز بتحكم أفضل بفقدان كتلة البوليمر عند تكوين أنسجة جديدة بالإضافة إلى أنه يمتاز بكمال بنيوي أفضل عند نسبة ٥٠:٥٠ من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA). وقد وُجد أيضاً أن الكثافة المعدنية للعظم في حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي (أورثو إسترات) (POE) أكبر بنسبة ٢٥٪ من حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA)، على الرغم من أن كمية العظم الذي تكوّن كان غير هام (قليل). وقد افترض Ng وآخرون [232] بأن الاختيار الملائم للديولات ونسبها يمكن أن يؤدي إلى تكوين بولي (أورثو إسترات) (POEs)، حيث كانت عبارة عن سوائل لزجة في درجة حرارة تتراوح في المجال بين ٣٧ و ٤٥ درجة مئوية، والتي تحولت إلى مواد شديدة اللزوجة وغير قابلة للتشوه أو تغيير الشكل عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية أو أقل. ويمكن أن يُستخدم هذا بشكل مفيد جداً في الحالات التي يمكن أن تُحقن فيها المواد التي يتم تسخينها بشكل طفيف في الموقع المطلوب من الإصابة أو موقع توصيل الدواء، حيث إنها تتصلب لاحقاً عند درجة حرارة الجسم في حاملات الخلايا والأنسجة المحتملة، التي تقوم بإطلاق أو تحرير الدواء. ويمكن إنجاز أو تحقيق عملية دمج البروتينات أو المستضدات (antigens) عن طريق المزج البسيط مع البوليمر معتدل الدفء بدون الحاجة إلى مذيبات أو ماء. وقد وجد Kellomaki وآخرون [233] أن معدل الحلمهة (التحلل المائي) للبولي (أورثو إسترات) (POEs)، حيث يتم قياسه عن طريق فقدان متانة البوليمرات، يكون سريعاً جداً من أجل التطبيقات المتعلقة بجراحة تقويم العظام التي تتحمل الوزن. وقد استخدم Ng وآخرون [232] البولي (أورثو إسترات) (POEs) التي تحتوي على كميات مختلفة من شرائح أو أجزاء مثنوية (dimer) (مزدوجة الصيغة الجزيئية) من حمض الغليكوليك في الجزء الأساسي من البوليمر (الركيزة الأساسية للبوليمر) وذلك من أجل التحكم بدقة في معدل التآكل الناجم عن الطاقات الحركية في النظام الصفري (عند انعدام حركية النظام). فعندما يُوضع هذا البوليمر في بيئة مائية، فإنه يتحلل بواسطة الحلمهة (التحلل المائي) لإنتاج حمض الغليكوليك الذي يُحفّز حلمهة روابط البولي (أورثو إسترات) (POEs) في الجزء الأساسي من البوليمر. وهكذا، ومن خلال تغيير كمية الجزء الحمضي في الركيزة الأساسية للبوليمر فإنه يمكن للمرء ضبط معدل التحلل بشكل دقيق من بضعة أيام إلى عدة أشهر [210].

(٣، ٤، ٥) بولي (الأحماض الأمينية) أو البولي كربونات Poly (Amino Acids) Or Polycarbonates

إن بولي (الأحماض الأمينية) أو البولي كربونات الاصطناعي مشابهة جداً للبروتينات التي تنشأ بصورة طبيعية إلا أنها تمتلك معدلات تحلل منخفضة وخصائص ميكانيكية غير مُفضَّلة واستِمناعاً [234]. وبالتالي، يتم استخدام الأحماض الأمينية كبلوكات (وحدات) بناء مونومرية أو أحادية في البوليمرات التي تفتقر إلى بنية الركيزة الأساسية التقليدية التي توجد في الببتيدات وذلك من أجل التغلب على هذه السليبيات [234]. إن البولي كربونات المشتقة من التيروسين (Tyrosine) هي الأكثر دراسة وعلى نطاقٍ واسعٍ من هذه المجموعة وتقع درجة حرارة تحولها الزجاجي (T_g) في المجال بين ٥٢ و ٩٣ درجة مئوية وتتجاوز درجة حرارة تفككها أو تحللها الـ ٢٩٠ درجة مئوية [234]. وتتم حلمهة رابط الكربونات في الركيزة الأساسية بصورة أسرع من رابط الإستر في السلسلة المتدلية، ما عدا في الظروف الحمضية جداً ($pH \leq 3$) عندما يحصل تبدل في المعدلات ناتج عن التحلل المائي المحفَّز حمضياً لرابط الإستر [235]. إن منتجات التحلل النهائية للبولي كربونات في المختبر هي ديس إمينو تيروسيل - تيروسين (desaminotyrosyl - tyrosine) والكحول في حين أنه يمكن للمرء توقع تحلل الأول بفعل الإنزيمات في الجسم الحي إلى ديس إمينو تيروسين (desaminotyrosine) وإل - تيروسين (L - tyrosine) [234]. ومن منظور التحلل-التوافقية الحيوية، فقد وُجد أن البولي كربونات المشتقة من التيروسين مشابهة لبولي (حمض اللاكتيك) (PLA) عندما تمت دراستها في نموذج تجويف عظم الكلب [236] وقد أظهرت قدرة جيدة في استخدامها كمادة زراعية أو غرس في جراحة تقويم العظام [237]. وللتقليل من الاستقرار الحلمي للبولي كربونات، فقد تم استبدال أكسجين الكربونيل (carbonyl oxygen) بمجموعة إيمينو (imino)؛ مما أدى إلى إنتاج بولي إيمينو كربونات (polyiminocarbonates) ذات الألياف القابلة للتحلل بواسطة الحلمهة والتي حافظت على متانة البولي كربونات [238]. وقد أظهرت البولي كربونات التي تمتلك مجموعة متدلية من إيثيل إستر (ethyl ester) أنها موصلة جداً للعظم، مع نمو جيد للعظم وهي تمتلك خصائص ميكانيكية كافية من أجل مُثبتات العظام التي تتحمل الوزن [209]. وقد استخدم Meechaisue وآخرون [239] الغزل الكهربائي لتصنيع حصيرة أو شريحة (mat) من ألياف البولي (دي تي إي كربونات) (poly (DTE carbonate) كمادة حاملة للأنسجة والتي تدعم التصاق وتكاثر ثلاثة أنواع مختلفة من الخلايا.

(٣، ٤، ٦) البولي فوسفازينات Polyphosphazenes

تمتلك البولي فوسفازينات (polyphosphazenes) أساساً غير عضوي من ذرات الفسفور والنروجين المتناوبة والتي يمكن جعلها غير مستقرة بواسطة الحلمهة وذلك عن طريق استبدالها بمجموعة جانبية عضوية مناسبة على ذرات الفسفور. إن توافقيتها الحيوية الجيدة ومرونتها الاصطناعية وعدم استقرارها الحلمي ومنتجات تحللها غير السامة وسهولة تصنيعها ونفاذية مصفوفتها جعلها قابلة للتكيف بشكلٍ كبير من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة [210] وتوصيل الدواء [240] وتوصيل الجينات [241]. وتوفر خاصية التكافؤ الخماسي للفسفور في البولي فوسفازينات مواقع نشطة من أجل التصاق جزيئات الدواء. إن منتجات تحلل تلك البوليمرات هي الفُسفات (phosphates) والأمونيا (ammonia) والمجموعات الجانبية المقابلة، وهي جميعها طبيعية وغير سامة [210]. وقد عدل Laurencin وآخرون [242] نمو الخلايا وتحلل البوليمر عن طريق

تغيير طبيعة السلاسل الجانبية غير المستقرة بواسطة الحلمهة للبولي فوسفازينات. وقد وجدوا أن البوليمر يدعم التصاق وتكاثر الخلايا البانية للعظم مظهرين القدرة على تجديد الأنسجة الهيكلية [243]. وقد قام Ambrosio وآخرون [244] و Krogman وآخرون [245] بتصميم خلائط من البولي فوسفازينات مع البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) لتقليل الحموضة لمنتجات تحلل البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) وذلك من خلال تحديد التأثير الناتج عن طريق منتجات تحلل البولي فوسفازين. وقد وُجد أن شبكات ألياف النانو غير المحبوكَة (nonwoven)، والتي تم إنشاؤها عن طريق الغزل الكهربائي تقوم على تعزيز التصاق وتكاثر الخلايا المشابهة للخلايا البانية للعظم [246]. وقد شكّل Greish وآخرون [247] مركبات من الهيدروكسي آباتيت (HA) والبولي فوسفازينات عند درجات حرارة فيزيولوجية عبر عملية الذوبان - الترسيب (dissolution - precipitation process)، والتي نتج عنها بيئة قلبية بشكل معتدل مناسبة من أجل إزالة بروتونات البولي فوسفازين الحمضي وتشكيل روابط الكالسيوم المتشابكة. وقد استخدم Carampin وآخرون [248] الغزل الكهربائي لتوليد مصفوفات مسطحة أو أنبوبية من البولي فوسفازين تحتوي على ألياف رفيعة جداً لمحاكاة الأوعية الدموية. وقد شكّلت الخلايا البطانية العصبية الوعائية الدقيقة طبقة أحادية على كامل السطح بعد ١٦ يوماً من الحضانة، مما يدل بالتالي على جدوى هذا البوليمر لتشكيل الأنسجة البشرية مثل الأوعية والصمامات القلبية.

(٣, ٤, ٧) المواد المركبة Composites

كما تمت مناقشته في وقت سابق، فإن حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من المواد المركبة تسمح بتفصيل أو تشكيل الخصائص الميكانيكية ومعدلات الارتشاف وفقاً للاحتياجات المحددة لموقع زراعة الطعم، بالإضافة إلى تعزيز النشاط الحيوي [5,14,21]. ويكون استخدام المواد المركبة في الغالب في مجالات هندسة الأنسجة العظمية الهيكلية، وبشكل أساسي العظم، حيث إنه المكان الذي يكون فيه تشكيل الخصائص الميكانيكية هو الأكثر أهمية. وتشتمل مجموعات المواد المركبة الأكثر استخداماً على: الهيدروكسي آباتيت (HA) أو ثلاثي فوسفات الكالسيوم (TCP) أو جسيمات الزجاج النشط حيوياً أو الألياف المستخدمة كحشوات أو طبقات غلاف خارجي أو كلاهما على حد سواء في البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) أو البولي (حمض الغليكولايد) (PGA) أو غيرها من البوليمرات القابلة للارتشاف [14,21]. وقد أدرج Zhang و Ma [249] الهيدروكسي آباتيت (HA) في البولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA) والبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة من أجل هندسة الأنسجة العظمية والتي كان لها خصائص توصيل عظمي أفضل بالإضافة إلى قدرة درء أعلى وخصائص ميكانيكية مُحسّنة. وقد استخدم Marra وآخرون [250] خلائط من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA)، والبولي كابرولاكتون (PCL)، والهيدروكسي آباتيت (HA) بينما قام Roether وآخرون [14] بتصنيع رغوات من البولي (دي إل - حمض اللاكتيك) (PDLLA) المغلفة والمشرّبة (impregnated) بالزجاج الحيوي كحاملات خلايا وأنسجة من أجل هندسة الأنسجة العظمية. وقد أنشأ Taboas وآخرون [40] حاملات خلايا وأنسجة ثنائية الطور ذات مناطق متشابكة ميكانيكياً من البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) والهيدروكسي آباتيت (HA) المتلبّد أو المتصلب والتي لها مسامات كروية واسعة بحجم ٦٠٠ مايكرومتر و ٥٠٠ مايكرومتر، على التوالي.

(٣,٥) الاستنتاجات CONCLUSIONS

تشكل حاملات الخلايا والأنسجة واحداً من أهم مكونات بنية هندسة الأنسجة. وقد تمت مناقشة وظائفها ومتطلباتها وطرق تصنيعها وتعديلاتها بالإضافة إلى مواد حاملات الخلايا والأنسجة الاصطناعية المستخدمة عادةً وذلك بهدف إقناع القارئ بكمية البحوث التي يجري القيام بها لإنشاء حاملة خلايا وأنسجة مثالية. ويجب على المرء أن يُقدّر أن متطلبات الأنسجة المختلفة في الجسم هي فريدة من نوعها وعلى الرغم من أن معظم مواد حاملات الخلايا والأنسجة تلبي هذه المتطلبات وبدرجات متفاوتة، إلا أن هناك بعض المواد أو تركيبات من المواد تصلح بشكل أفضل لتطبيقات محددة. وسيكون من المفيد للغاية، ولكنه من الصعب، القيام بمقارنة بين أفضل مرشحي المواد الحيوية من أجل تطبيقات الأنسجة المختلفة من خلال النظر في مجموعة مشتركة من المحددات أو البارامترات وإجراء التقييم وذلك لتحديد أي واحدة من المواد الحيوية ستعمل بشكل أفضل. ومع تقنيات تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة الناشئة حديثاً مثل الغزل الكهربائي بالإضافة إلى التعديل المستمر للطرق القائمة، مثل طباعة الخلايا والأعضاء، وجنباً إلى جنب مع ظهور المواد المركبة والهجينة وكذلك فوائد إضافة الجسيمات النانوية / المركبات النانوية، فإن السعي من أجل إيجاد أفضل حاملة للخلايا والأنسجة يبدو أنه في متناول اليد في المستقبل غير البعيد جداً.

المراجع REFERENCES

- [1] Langer, R. and J.P. Vacanti, Tissue engineering. Science, 1993, 260(5110): 920–926.
- [2] Muschler, G.F., C. Nakamoto, and L. Griffith, Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering. J. Bone Joint Surg., 2004, 86-A(7): 1541–1558.
- [3] Agrawal, C.M. and R.B. Ray, Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. J. Biomed. Mater. Res., 2001, 55(2): 141–150.
- [4] Hutmacher, D.W., T. Schantz, I. Zein, K.W. Ng, S.H. Teoh, and K.C. Tan, Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling. J. Biomed. Mater. Res., 2001, 55(2): 203–216.
- [5] Boccaccini, A.R. and J.J. Blaker, Bioactive composite materials for tissue engineering scaffolds. Expert Rev. Med. Devices, 2005, 2(3): 303–317.
- [6] Velema, J. and D. Kaplan, Biopolymer-based biomaterials as scaffolds for tissue engineering. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 2006, 102: 187–238.
- [7] Rickert, D., A. Lendlein, I. Peters, M.A. Moses, and R.-P. Franke, Biocompatibility testing of novel multifunctional polymeric biomaterials for tissue engineering applications in head and neck surgery: An overview. Eur. Arch. Otorhinolaryngol., 2006, 263: 215–222.
- [8] Hutmacher, D.W., Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. Biomaterials, 2000, 21(24): 2529–2543.
- [9] Vert, M., S.M. Li, G. Spenlehauer, and P. Guerin, Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. J. Mater. Sci.: Mater. Med., 1992, 3(6): 432–446.
- [10] Agrawal, C.M. and K.A. Athanasiou, Technique to control pH in vicinity of biodegrading PLA-PGA implants. J. Biomed. Mater. Res., 1997, 38(2): 105–114.

- [11] Hutmacher, D.W., A. Kirsch, K.L. Ackermann, and M.B. Hurzeler, A tissue engineered cell-occlusive device for hard tissue regeneration—a preliminary report. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, 2001, 21(1): 49–59.
- [12] Maquet, V., A.R. Boccaccini, L. Pravata, I. Notingher, and R. Jerome, Porous poly(α -hydroxyacid)/Bioglass® composite scaffolds for bone tissue engineering. I: Preparation and in vitro characterisation. *Biomaterials*, 2004, 25(18): 4185–4194.
- [13] Shikunami, Y. and M. Okuno, Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): Part I. Basic characteristics. *Biomaterials*, 1999, 20(9): 859–877.
- [14] Roether, J.A., J.E. Gough, A.R. Boccaccini, L.L. Hench, V. Maquet, and R. Jerome, Novel bioresorbable and bioactive composites based on bioactive glass and polylactide foams for bone tissue engineering. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2002, 13(12): 1207–1214.
- [15] Stamboulis, A., L.L. Hench, and A.R. Boccaccini, Mechanical properties of biodegradable polymer sutures coated with bioactive glass. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2002, 13(9): 843–848.
- [16] Rezwan, K., Q.Z. Chen, J.J. Blaker, and A.R. Boccaccini, Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2006, 27(18): 3413–3431.
- [17] Ang, K.C., K.F. Leong, C.K. Chua, and M. Chandrasekaran, Compressive properties and degradability of poly(ϵ -caprolactone)/hydroxyapatite composites under accelerated hydrolytic degradation. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2007, 80A(3): 655–660.
- [18] Freeman, J.W., M.D. Woods, and C.T. Laurencin, Tissue engineering of the anterior cruciate ligament using a braid-twist scaffold design. *J. Biomech.*, 2007, 40(9): 2029–2036.
- [19] Webster, T.J. and E.S. Ahn, Nanostructured biomaterials for tissue engineering bone. *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.*, 2007, 103: 275–308.
- [20] Horch, R.A., N. Shahid, A.S. Mistry, M.D. Timmer, A.G. Mikos, and A.R. Barron, Nanoreinforcement of poly(propylene fumarate)-based networks with surface modified alumoxane nanoparticles for bone tissue engineering. *Biomacromolecules*, 2004, 5(5): 1990–1998.
- [21] Misra, S.K., S.P. Valappil, I. Roy, and A.R. Boccaccini, Polyhydroxyalkanoate (PHA)/inorganic phase composites for tissue engineering applications. *Biomacromolecules*, 2006, 7(8): 2249–2258.
- [22] Hench, L.L., *Bioceramics*. *J. Am. Ceram. Soc.*, 1998, 81(7): 1705–1728.
- [23] Bilodeau, K. and D. Mantovani, Bioreactors for tissue engineering: Focus on mechanical constraints. A comparative review. *Tissue Eng.*, 2006, 12(8): 2367–2383.
- [24] Androjna, C., R.K. Spragg, and K.A. Derwin, Mechanical conditioning of cell-seeded small intestine submucosa: A potential tissue-engineering strategy for tendon repair. *Tissue Eng.*, 2007, 13(2): 233–243.
- [25] Mahmoudifar, N. and P.M. Doran, Tissue engineering of human cartilage in bioreactors using single and composite cell-seeded scaffolds. *Biotechnol. Bioeng.*, 2005, 91(3): 338–355.
- [26] Darling, E.M. and K.A. Athanasiou, Articular cartilage bioreactors and bioprocesses. *Tissue Eng.*, 2003, 9(1): 9–26.
- [27] Jeong, S.I., J.H. Kwon, J.I. Lim, S.-W. Cho, Y. Jung, W.J. Sung, S.H. Kim, Y.H. Kim, Y.M. Lee, B.-S. Kim, C.Y. Choi, and S.-J. Kim, Mechano-active tissue engineering of vascular smooth muscle using pulsatile bioreactors and elastic PLCL scaffolds. *Biomaterials*, 2005, 26(12): 1405–1411.
- [28] Shachar, M. and S. Cohen, Cardiac tissue engineering, ex-vivo: Design principles in biomaterials and bioreactors. *Heart Fail. Rev.*, 2003, 8(3): 271–276.
- [29] Akhyari, P., P.W.M. Fedak, R.D. Weisel, T.-Y.J. Lee, S. Verma, D.A.G. Mickle, and R.-K. Li, Mechanical stretch regimen enhances the formation of bioengineered autologous cardiac muscle grafts. *Circulation*, 2002, 106(12 (Supplement I)): I-137–I-142.

- [30] Yarlagadda, P.K.D.V., M. Chandrasekharan, and J.Y.M. Shyan, Recent advances and current developments in tissue scaffolding. *Biomed. Mater. Eng.*, 2005, 15(3): 159–177.
- [31] Moroni, L., J.A.A. Hendriks, R. Schotel, J.R.D. Wijn, and C.A.V. Blitterswijk, Design of biphasic polymeric 3-dimensional fiber deposited scaffolds for cartilage tissue engineering applications. *Tissue Eng.*, 2007, 13(2): 361–371.
- [32] Liu, X., Y. Won, and P. Ma, Porogen-induced surface modification of nano-fibrous poly(L-lactic acid) scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*, 2006, 27(21): 3980–3987.
- [33] Li, J., A. Beaussart, Y. Chen, and A.F. Mak, Transfer of apatite coating from porogens to scaffolds: Uniform apatite coating within porous poly(DL-lactic-co-glycolic acid) scaffold in vitro. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2007, 80(1): 226–233.
- [34] Cai, K., K. Yao, Z. Yang, and X. Li, Surface modification of three-dimensional poly(D,L-lactic acid) scaffolds with baicalin: A histological study. *Acta Biomater.*, 2007, 3(4): 597–605.
- [35] Koegler, W.S. and L.G. Griffith, Osteoblast response to PLGA tissue engineering scaffolds with PEO modified surface chemistries and demonstration of patterned cell response. *Biomaterials*, 2004, 25(14): 2819–2830.
- [36] Tiaw, K.S., S.W. Goh, M. Hong, Z. Wang, B. Lan, and S.H. Teoh, Laser surface modification of poly(ϵ -caprolactone) (PCL) membrane for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 2005, 26(7): 763–769.
- [37] Nakayama, Y., S. Nishi, H. Ishibashi-Ueda, and T. Matsuda, Surface microarchitectural design in biomedical applications: In vivo analysis of tissue ingrowth in excimer laser-directed micropored scaffold for cardiovascular tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2000, 51(3): 520–528.
- [38] Karande, T.S., J.L. Ong, and C.M. Agrawal, Diffusion in musculoskeletal tissue engineering scaffolds: Design issues related to porosity, permeability, architecture and nutrient mixing. *Ann. Biomed. Eng.*, 2004, 32(12): 1728–1743.
- [39] Yang, S., K.-F. Leong, Z. Du, and C.-K. Chua, The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques. *Tissue Eng.*, 2002, 8(1): 1–11.
- [40] Taboas, J.M., R.D. Maddox, P.H. Krebsbach, and S.J. Hollister, Indirect solid free form fabrication of local and global porous, biomimetic and composite 3D polymer–ceramic scaffolds. *Biomaterials*, 2003, 24(1): 181–194.
- [41] Ishaug-Riley, S., G.M. Crane, M.J. Miller, A.W. Yasko, M.J. Yaszemski, and A.G. Mikos, Bone formation by three-dimensional stromal osteoblast culture in biodegradable polymer scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1997, 36(1): 17–28.
- [42] Sosnowski, S., P. Wozniak, and M. Lewandowska-Szumiel, Polyester scaffolds with bimodal pore size distribution of tissue engineering. *Macromol. Biosci.*, 2006, 6(6): 425–434.
- [43] Draghi, L., S. Resta, M.G. Pirozzolo, and M.C. Tanzi, Microspheres leaching for scaffold porosity control. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2005, 16(12): 1093–1097.
- [44] Oh, S.H., I.K. Park, J.M. Kim, and J.H. Lee, In vitro and in vivo characteristics of PCL scaffolds with pore size gradient fabricated by a centrifugation method. *Biomaterials*, 2007, 28(9): 1664–1671.
- [45] Woodfield, T.B., C.A.V. Blitterswijk, J.D. Wijn, T.J. Sims, A.P. Hollander, and J. Riesle, Polymer scaffolds fabricated with pore-size gradients as a model for studying the zonal organization within tissueengineered cartilage constructs. *Tissue Eng.*, 2005, 11(9–10): 1297–1311.
- [46] Harley, B.A., A.Z. Hastings, I.V. Yannas, and A. Sannino, Fabricating tubular scaffolds with a radial pore size gradient by a spinning technique. *Biomaterials*, 2006, 27(6): 866–874.
- [47] Mooney, D.J., K. McNamara, D. Hern, J.P. Vacanti, and R. Langer, Stabilized polyglycolic acid fibrebased tubes for tissue engineering. *Biomaterials*, 1996, 17(2): 115–124.

- [48] Vacanti, J.P., M.A. Morse, W.M. Saltzman, A.J. Domb, A. Perez-Atayde, R. Langer, C.L. Mazzoni, and C. Breuer, Selective cell transplantation using bioabsorbable artificial polymers as matrices. *J. Pediatr. Surg.*, 1988, 23: 3–9.
- [49] Freed, L.E., G. Vunjak-Novakovic, R.J. Biron, D.B. Eagles, D.C. Lesnoy, S.K. Barlow, and R. Langer, Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Biotechnology (NY)*, 1994, 12(7): 689–693.
- [50] Goldstein, A.S., G. Zhu, G.E. Morris, R.K. Meszlenyi, and A.G. Mikos, Effect of osteoblastic culture conditions on the structure of poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foam scaffolds. *Tissue Eng.*, 1999, 5(5): 421–433.
- [51] Agrawal, C.M., J.S. McKinney, D. Lancot, and K.A. Athanasiou, Effects of fluid flow on the in vitro degradation kinetics of biodegradable scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*, 2000, 21(23): 2443–2452.
- [52] Wu, L. and J. Ding, Effects of porosity and pore size on in vitro degradation of three-dimensional porous poly(D,L-lactide-co-glycolide) scaffolds for tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2005, 75(4): 767–777.
- [53] Lin, C.Y., N. Kikuchi, and S.J. Hollister, A novel method for biomaterial scaffold internal architecture design to match bone elastic properties with desired porosity. *J. Biomech.*, 2004, 37(5): 623–636.
- [54] Howk, D. and T.M. Chu, Design variables for mechanical properties of bone tissue scaffolds. *Biomed. Sci. Instrum.*, 2006, 42: 278–283.
- [55] Xie, J., M. Ihara, Y. Jung, I.K. Kwon, S.H. Kim, Y.H. Kim, and T. Matsuda, Mechano-active scaffold design based on microporous poly(L-lactide-co-epsilon-caprolactone) for articular cartilage tissue engineering: Dependence of porosity on compression force-applied mechanical behaviors. *Tissue Eng.*, 2006, 12(3): 449–458.
- [56] Moroni, L., J.R.D. Wijn, and C.A.V. Blitterswijk, 3D fiber-deposited scaffolds for tissue engineering: Influence of pores geometry and architecture on dynamic mechanical properties. *Biomaterials*, 2006, 27(7): 974–985.
- [57] Griffon, D.J., M.R. Sedighi, D.V. Schaeffer, J.A. Eurell, and A.L. Johnson, Chitosan scaffolds: Interconnective pore size and cartilage engineering. *Acta Biomater.*, 2006, 2(3): 313–320.
- [58] Lee, K.W., S. Wang, L. Lu, E. Jabbari, B.L. Currier, and M.J. Yaszemski, Fabrication and characterization of poly(propylene fumarate) scaffolds with controlled pore structures using 3-dimensional printing and injection molding. *Tissue Eng.*, 2006, 12(10): 2801–2811.
- [59] Suh, S.W., J.Y. Shin, J. Kim, J. Kim, C.H. Beak, D.-I. Kim, H. Kim, S.S. Jeon, and I.-W. Choo, Effect of different particles on cell proliferation in polymer scaffolds using a solvent-casting and particulate leaching technique. *ASAIO J.*, 2002, 48: 460–464.
- [60] Hou, Q., D.W. Grijpma, and J. Feijen, Porous polymeric structures for tissue engineering prepared by a coagulation, compression moulding and salt leaching technique. *Biomaterials*, 2003, 24: 1937–1947.
- [61] Murphy, W.L., R.G. Dennis, J.L. Kileny, and D.J. Mooney, Salt fusion: An approach to improve pore interconnectivity within tissue engineering scaffolds. *Tissue Eng.*, 2002, 8(1): 43–52.
- [62] Gross, K.A. and L.M. Rodriguez-Lorenzo, Biodegradable composite scaffolds with an interconnected spherical network for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2004, 25(20): 4955–4962.
- [63] Hou, Q., D.W. Grijpma, and J. Feijen, Preparation of interconnected highly porous polymeric structures by a replication and freeze-drying process. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2003, 67(2): 732–740.
- [64] Darling, A.L. and W. Sun, 3D microtomographic characterization of precision extruded poly-epsilon-caprolactone scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, 2004, 70B(2): 311–317.
- [65] Wang, F., L. Shor, A. Darling, S. Khalil, W. Sun, S. Guceri, and A. Lau, Precision extruding deposition and characterization of cellular poly-epsilon-caprolactone tissue scaffolds. *Rapid Prototyp. J.*, 2004, 10(1): 42–49.

- [66] Moore, M.J., E. Jabbari, E.L. Ritman, L. Lu, B.L. Currier, A.J. Windebank, and M.J. Yaszemski, Quantitative analysis of interconnectivity of porous biodegradable scaffolds with micro-computed tomography. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2004, 71(2): 258–267.
- [67] Li, S.H., J.R.D. Wijn, P. Layrolle, and K. de Groot, Synthesis of macroporous hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 61: 109–120.
- [68] Agrawal, C.M., J.S. McKinney, D. Huang, and K.A. Athanasiou, The use of the vibrating particle technique to fabricate highly porous and permeable biodegradable scaffolds, in *Synthetic Bioabsorbable Polymers for Implants*, ASTM STP 1396, C.M. Agrawal, J.E. Parr, and S.T. Lin, Editors. 2000, American Society for Testing and Materials: West Conshohocken, PA. pp. 99–114.
- [69] LeBaron, R.G. and K.A. Athanasiou, Ex vivo synthesis of articular cartilage. *Biomaterials*, 2000, 21: 2575–2587.
- [70] Athanasiou, K.A., J.P. Schmitz, and C.M. Agrawal, The effects of porosity on degradation of PLA-PGA implants. *Tissue Eng.*, 1998, 4: 53–63.
- [71] Li, S., J.R.D. Wijn, J. Li, P. Layrolle, and K. de Groot, Macroporous biphasic calcium phosphate scaffold with high permeability/porosity ratio. *Tissue Eng.*, 2003, 9(3): 535–548.
- [72] Wang, H., J. Pieper, F. Peters, C.A. van Blitterswijk, and E.N. Lamme, Synthetic scaffold morphology controls human dermal connective tissue formation. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2005, 74(4): 523–532.
- [73] Hollister, S.J., C.Y. Lin, E. Saito, C.Y. Lin, R.D. Schek, J.M. Taboas, J.M. Williams, B. Partee, C.L. Flanagan, A. Diggs, E.N. Wilke, G.H. Van Lenthe, R. Muller, T. Wirtz, S. Das, S.E. Feinberg, and P.H. Krebsbach, Engineering craniofacial scaffolds. *Orthod. Craniofac. Res.*, 2005, 8(3): 162–173.
- [74] Huang, Y.C., Y.Y. Huang, C.C. Huang, and H.C. Liu, Manufacture of porous polymer nerve conduits through a lyophilizing and wire-heating process. *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, 2005, 74(1): 659–664.
- [75] Spain, T.L., C.M. Agrawal, and K.A. Athanasiou, New technique to extend the useful life of a biodegradable cartilage implant. *Tissue Eng.*, 1998, 4(4): 343–352.
- [76] Neves, A.A., N. Medcalf, M. Smith, and K.M. Brindle, Evaluation of engineered meniscal cartilage constructs based on different scaffold geometries using magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Tissue Eng.*, 2006, 12(1): 53–62.
- [77] Knackstedt, M.A., C.H. Arns, T.J. Senden, and K. Gross, Structure and properties of clinical coralline implants measured via 3D imaging and analysis. *Biomaterials*, 2006, 27(13): 2776–2786.
- [78] Tsang, V.L. and S.N. Bhatia, Fabrication of three-dimensional tissues. *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.*, 2007, 103: 189–205.
- [79] Widmer, M.S., P.K. Gupta, L. Lu, R.K. Meszlenyi, G.R.D. Evans, K. Brandt, T. Savel, A. Gurlek, C.W.P. Jr, and A.G. Mikos, Manufacture of porous biodegradable polymer conduits by an extrusion process for guided tissue regeneration. *Biomaterials*, 1998, 19: 1945–1955.
- [80] Ma, P.X. and J.-W. Choi, Biodegradable polymer scaffolds with well-defined interconnected spherical pore network. *Tissue Eng.*, 2001, 7(1): 23–33.
- [81] Liu, X. and P.X. Ma, Polymeric scaffolds for bone tissue engineering. *Ann. Biomed. Eng.*, 2004, 32(3): 477–486.
- [82] Whang, K., T.K. Goldstick, and K.E. Healy, A biodegradable polymer scaffold for delivery of osteotropic factors. *Biomaterials*, 2000, 21: 2545–2551.
- [83] Li, J.P., J.R. de Wijn, C.A. van Blitterswijk, and K. de Groot, Porous Ti6Al4V scaffold directly fabricating by rapid prototyping: Preparation and in vitro experiment. *Biomaterials*, 2006, 27(8): 1223–1235.
- [84] Sodian, R., P. Fu, C. Lueders, D. Szymanski, C. Fritsche, M. Gutberlet, S.P. Hoerstrup, H. Hausmann, T. Lueth, and R. Hetzer, Tissue engineering of vascular conduits: Fabrication of custom-made scaffolds using rapid prototyping techniques. *Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 2005, 53(3): 144–149.

- [85] Zein, I., D.W. Hutmacher, K.C. Tan, and S.H. Teoh, Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 2002, 23: 1169–1185.
- [86] Mooney, D.J., D.F. Baldwin, N.P. Suh, J.P. Vacanti, and R. Langer, Novel approach to fabricate porous sponges of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) without the use of organic solvents. *Biomaterials*, 1996, 17(14): 1417–1422.
- [87] Harris, L.D., B.S. Kim, and D.J. Mooney, Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1998, 42(3): 396–402.
- [88] Maspero, F.A., K. Ruffieux, B. Muller, and E. Wintermantel, Resorbable defect analog PLGA scaffolds using CO₂ as solvent: Structural characterization. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 62: 89–98.
- [89] Cooper, A.I., Polymer synthesis and processing using supercritical carbon dioxide. *J. Mater. Chem.*, 2000, 10(2): 207–234.
- [90] Montjovent, M.O., L. Mathieu, B. Hinz, L.L. Applegate, P.E. Bourban, P.Y. Zambelli, J.A. Manson, and D.P. Pioletti, Biocompatibility of bioresorbable poly(L-lactic acid) composite scaffolds obtained by supercritical gas foaming with human fetal bone cells. *Tissue Eng.*, 2005, 11(11–12): 1640–1649.
- [91] Yoon, J.J., J.H. Kim, and T.G. Park, Dexamethasone-releasing biodegradable polymer scaffolds fabricated by a gas-foaming/salt-leaching method. *Biomaterials*, 2003, 24(13): 2323–2329.
- [92] Sheridan, M.H., L.D. Shea, M.C. Peters, and D.J. Mooney, Bioabsorbable polymer scaffolds for tissue engineering capable of sustained growth factor delivery. *J. Control. Release*, 2000, 64: 91–102.
- [93] Ennet, A.B., D. Kaigler, and D.J. Mooney, Temporally regulated delivery of VEGF in vitro and in vivo. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2006, 79(1): 176–184.
- [94] Kim, S.S., K.M. Ahn, M.S. Park, J.H. Lee, C.Y. Choi, and B.S. Kim, A poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffold with enhanced osteoconductivity. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2007, 80(1): 206–215.
- [95] Nam, Y.S. and T.G. Park, Porous biodegradable polymeric scaffolds prepared by thermally induced phase separation. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1999, 47: 8–17.
- [96] Whang, K., D.C. Tsai, E.K. Nam, M. Aitken, S.M. Sprague, P.K. Patel, and K.E. Healy, Ectopic bone formation via rhBMP-2 delivery from porous bioabsorbable polymer scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1998, 42(4): 491–499.
- [97] Moshfeghian, A., J. Tillman, and S.V. Madhally, Characterization of emulsified chitosan-PLGA matrices formed using controlled-rate freezing and lyophilization technique. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2006, 79(2): 418–430.
- [98] Nam, Y.S. and T.G. Park, Biodegradable polymeric microcellular foams by modified thermally induced phase separation method. *Biomaterials*, 1999, 20(19): 1783–1790.
- [99] Cao, Y., T.I. Croll, A.J. O'Connor, G.W. Stevens, and J. Cooper-White, Systematic selection of solvents for the fabrication of 3D combined macro- and microporous polymeric scaffolds for soft tissue engineering. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2006, 17(4): 369–402.
- [100] Guan, J., J.J. Stankus, and W.R. Wagner, Development of composite porous scaffolds based on collagen and biodegradable poly(ester urethane)urea. *Cell Transplantation*, 2006, 15(S1): S17–S27.
- [101] Gao, Y., W. Weng, K. Cheng, P. Du, G. Shen, G. Han, B. Guan, and W. Yan, Preparation, characterization and cytocompatibility of porous ACP/PLLA composites. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2006, 79(1): 193–200.
- [102] Blaker, J.J., V. Maquet, R. Jerome, A.R. Boccaccini, and S.N. Nazhat, Mechanical properties of highly porous PDLLA/Bioglass composite foams as scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomater.*, 2005, 1(6): 643–652.

- [103] Rowland, A.S., S.A. Lim, D. Martin, and J.J. Cooper-White, Polyurethane/poly(lactic-co-glycolic) acid composite scaffolds fabricated by thermally induced phase separation. *Biomaterials*, 2007, 28(12): 2109–2121.
- [104] Helen, W., C.L. Merry, J.J. Blaker, and J.E. Gough, Three-dimensional culture of annulus fibrosus cells within PDLA/Bioglass composite foam scaffolds: Assessment of cell attachment, proliferation and extracellular matrix production. *Biomaterials*, 2007, 28(11): 2010–2020.
- [105] Gong, Y., L. He, J. Li, Q. Zhou, Z. Ma, C. Gao, and J. Shen, Hydrogel-filled polylactide porous scaffolds for cartilage tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. B, Appl. Biomater.*, 2007, 82(1): 192–204.
- [106] Mo, X., H.J. Weber, and S. Ramakrishna, PCL–PGLA composite tubular scaffold preparation and biocompatibility investigation. *Int. J. Artif. Organs*, 2006, 29(8): 790–799.
- [107] Cao, Y., G. Mitchell, A. Messina, L. Price, E. Thompson, A. Penington, W. Morrison, A. O'Connor, G. Stevens, and J. Cooper-White, The influence of architecture on degradation and tissue ingrowth into three-dimensional poly(lactic-co-glycolic acid) scaffolds in vitro and in vivo. *Biomaterials*, 2006, 27(14): 2854–2864.
- [108] Chun, K.W., K.C. Cho, S.H. Kim, J.H. Jeong, and T.G. Park, Controlled release of plasmid DNA from biodegradable scaffolds fabricated using a thermally-induced phase-separation method. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2004, 15(11): 1341–1353.
- [109] Qiu, Q.Q., P. Ducheyne, and P.S. Ayyaswamy, Fabrication, characterization and evaluation of bioceramic hollow microspheres used as microcarriers for 3-D bone tissue formation in rotating bioreactors. *Biomaterials*, 1999, 20(11): 989–1001.
- [110] Borden, M., M. Attawia, Y. Khan, and C.T. Laurencin, Tissue engineered microsphere-based matrices for bone repair: Design and evaluation. *Biomaterials*, 2002, 23(2): 551–559.
- [111] Borden, M., M. Attawia, and C.T. Laurencin, The sintered microsphere matrix for bone tissue engineering: In vitro osteoconductivity studies. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 61(3): 421–429.
- [112] Borden, M., S.F. El-Amin, M. Attawia, and C.T. Laurencin, Structural and human cellular assessment of a novel microsphere-based tissue engineered scaffold for bone repair. *Biomaterials*, 2003, 24(4): 597–609.
- [113] Borden, M., M. Attawia, Y. Khan, S.F. El-Amin, and C.T. Laurencin, Tissue-engineered bone formation in vivo using a novel sintered polymeric microsphere matrix. *J. Bone Joint Surg. Br.*, 2004, 86(8): 1200–1208.
- [114] Jiang, T., W.I. Abdel-Fattah, and C.T. Laurencin, In vitro evaluation of chitosan/poly(lactic acid-glycolic acid) sintered microsphere scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2006, 27(28): 4894–4903.
- [115] Kofron, M.D., J.A.J. Cooper, S.G. Kumbar, and C.T. Laurencin, Novel tubular composite matrix for bone repair. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2007, 82(2): 415–425.
- [116] Leong, K.F., C.M. Cheah, and C.K. Chua, Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs. *Biomaterials*, 2003, 24(13): 2363–2378.
- [117] Sachlos, E. and J.T. Czernuska, Making tissue engineering scaffolds work. Review: The application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur. Cell. Mater.*, 2003, 5: 29–40.
- [118] Yang, S., K.-F. Leong, Z. Du, and C.-K. Chua, The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Eng.*, 2001, 7(6): 679–689.
- [119] Schantz, J.-T., A. Brandwood, D.W. Hutmacher, H.L. Khor, and K. Bittner, Osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells in computer designed fibrin-polymer-ceramic scaffolds manufactured by fused deposition modeling. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2005, 16(9): 807–819.

- [120] Cao, T., K.-H. Ho, and S.-H. Teoh, Scaffold design and in vitro study of osteochondral coculture in a three-dimensional porous polycaprolactone scaffold fabricated by fused deposition modeling. *Tissue Eng.*, 2003, 9 (Supplement 1(4)): S103-S112.
- [121] Rohner, D., D.W. Huttmacher, T.K. Cheng, M. Oberholzer, and B. Hammer, In vivo efficacy of bonemarrow- coated polycaprolactone scaffolds for the reconstruction of orbital defects in the pig. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2003, 66B(2): 574-580.
- [122] Vozzi, G., C. Fliam, A. Ahluwalia, and S. Bhatia, Fabrication of PLGA scaffolds using soft lithography and microsyringe deposition. *Biomaterials*, 2003, 24(14): 2533-2540.
- [123] Wiria, F.E., K.F. Leong, C.K. Chua, and Y. Liu, Poly-epsilon-caprolactone/hydroxyapatite for tissue engineering scaffold fabrication via selective laser sintering. *Acta Biomater.*, 2007, 3(1): 1-12.
- [124] Williams, J.M., A. Adewunmi, R.M. Schek, C.L. Flanagan, P.H. Krebsbach, S.E. Feinberg, S.J. Hollister, and S. Das, Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering. *Biomaterials*, 2005, 26(23): 4817-4827.
- [125] Tan, K.H., C.K. Chua, K.F. Leong, C.M. Cheah, W.S. Gui, W.S. Tan, and F.E. Wiria, Selective laser sintering of biocompatible polymers for applications in tissue engineering. *Biomed. Mater. Eng.*, 2005, 15(1-2): 113-124.
- [126] Chua, C.K., K.F. Leong, K.H. Tan, F.E. Wiria, and C.M. Cheah, Development of tissue scaffolds using selective laser sintering of polyvinyl alcohol/hydroxyapatite biocomposite for craniofacial and joint defects. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2004, 15(10): 1113-1121.
- [127] Hao, L., M.M. Savalani, Y. Zhang, K.E. Tanner, and R.A. Harris, Selective laser sintering of hydroxyapatite reinforced polyethylene composites for bioactive implants and tissue scaffold development. *Proc. Inst. Mech. Eng. H, J. Eng. Med.*, 2006, 220(4): 521-531.
- [128] Cooke, M.N., J.P. Fisher, D. Dean, C. Rimnac, and A.G. Mikos, Use of stereolithography to manufacture critical-sized 3D biodegradable scaffolds for bone ingrowth. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2003, 64B(2): 65-69.
- [129] Sodian, R., M. Loebe, A. Hein, D.P. Martin, S.P. Hoerstrup, E.V. Potapov, H. Hausmann, T. Lueth, and R. Hetzer, Application of stereolithography for scaffold fabrication for tissue engineered heart valves. *ASAIO J.*, 2002, 48(1): 12-16.
- [130] Arcaute, K., B.K. Mann, and R.B. Wicker, Stereolithography of three-dimensional bioactive poly (ethylene glycol) constructs with encapsulated cells. *Ann. Biomed. Eng.*, 2006, 34(9): 1429-1441.
- [131] Khalyfa, A., S. Vogt, J. Weisser, G. Grimm, A. Rechtenbach, W. Meyer, and M. Schnabelrauch, Development of a new calcium phosphate powder-binder system for the 3D printing of patient specific implants. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2007, 18(5): 909-916.
- [132] Seitz, H., W. Rieder, S. Irsen, B. Leukers, and C. Tille, Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. B, Appl. Biomater.*, 2005, 74(2): 782-788.
- [133] Giordano, R.A., B.M. Wu, S.W. Borland, L.G. Cima, E.M. Sachs, and M.J. Cima, Mechanical properties of dense polylactic acid structures fabricated by three dimensional printing. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 1996, 8(1): 63-75.
- [134] Park, A., B. Wu, and L.G. Griffith, Integration of surface modification and 3D fabrication techniques to prepare patterned poly(L-lactide) substrates allowing regionally selective cell adhesion. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 1998, 9(2): 89-110.
- [135] Sherwood, J.K., S.L. Riley, R. Palazzolo, S.C. Brown, D.C. Monkhouse, M. Coates, L.G. Griffith, L.K. Landeen, and A. Ratcliffe, A three-dimensional osteochondral composite scaffold for articular cartilage repair. *Biomaterials*, 2002, 23: 4739-4751.
- [136] Roy, T.D., J.L. Simon, J.L. Ricci, E.D. Rekow, V.P. Thompson, and J.R. Parsons, Performance of degradable composite bone repair products made via three-dimensional fabrication techniques. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2003, 66A: 283-291.

- [137] Lee, M., J.C. Dunn, and B.M. Wu, Scaffold fabrication by indirect three-dimensional printing. *Biomaterials*, 2005, 26(20): 4281–4289.
- [138] Dellinger, J.G., J. Cesarano, and R.D. Jamison, Robotic deposition of model hydroxyapatite scaffolds with multiple architectures and multiscale porosity for bone tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2007, 82(2): 383–394.
- [139] Varghese, D., M. Deshpande, T. Xu, P. Kesari, S. Ohri, and T. Boland, Advances in tissue engineering: Cell printing. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 2005, 129(2): 470–472.
- [140] Smith, C.M., A.L. Stone, R.L. Parkhill, R.L. Stewart, M.W. Simpkins, A.M. Kachurin, W.L. Warren, and S.K. Williams, Three-dimensional bioassembly tool for generating viable tissue-engineered constructs. *Tissue Eng.*, 2004, 10(9–10): 1566–1576.
- [141] Mironov, V., T. Boland, T. Trusk, G. Forgacs, and R.R. Markwald, Organ printing: Computer-aided jetbased 3D tissue engineering. *Trends Biotechnol.*, 2003, 21(4): 157–161.
- [142] Boland, T., V. Mironov, A. Gutowska, E.A. Roth, and R.R. Markwald, Cell and organ printing 2: Fusion of cell aggregates in three-dimensional gels. *Anat. Rec. A. Discov. Mol., Cell. Evol. Biol.*, 2003, 272(2): 497–502.
- [143] Sun, W., A. Darling, B. Starly, and J. Nam, Computer-aided tissue engineering: Overview, scope and challenges. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 2004, 39(Part 1): 29–47.
- [144] Hutmacher, D.W., M. Sittinger, and M.V. Risbund, Scaffold-based tissue engineering: Rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems. *Trends Biotechnol.*, 2004, 22(7): 354–362.
- [145] Yeong, W.Y., C.K. Chua, K.F. Leong, and M. Chandrasekaran, Rapid prototyping in tissue engineering: Challenges and potential. *Trends Biotechnol.*, 2004, 22(12): 643–652.
- [146] Bryant, S.J., C.R. Nuttelman, and K.S. Anseth, The effects of crosslinking density on cartilage formation in photocrosslinkable hydrogels. *Biomed. Sci. Instr.*, 1999, 35: 309–314.
- [147] Nguyen, K.T. and J.L. West, Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 2002, 23(22): 4307–4314.
- [148] Elisseeff, J., C. Puleo, F. Yang, and B. Sharma, Advances in skeletal tissue engineering with hydrogels. *Orthod. Craniofac. Res.*, 2005, 8(3): 150–161.
- [149] Anseth, K.S., C.N. Bowman, and L. Brannon-Peppas, Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination. *Biomaterials*, 1996, 17(17): 1647–1657.
- [150] Ferruti, P., S. Bianchi, E. Ranucci, F. Chiellini, and V. Caruso, Novel poly(amido-amine)-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering. *Macromol. Biosci.*, 2005, 5(7): 613–622.
- [151] Ferruti, P., S. Bianchi, E. Ranucci, F. Chiellini, and A.M. Piras, Novel agmatine-containing poly (amidoamine) hydrogels as scaffolds for tissue engineering. *Biomacromolecules*, 2005, 6(4): 2229–2235.
- [152] Mann, B.K., A.S. Gobin, A.T. Tsai, R.H. Schmedlen, and J.L. West, Smooth muscle cell growth in photopolymerized hydrogels with cell adhesive and proteolytically degradable domains: Synthetic ECM analogs for tissue engineering. *Biomaterials*, 2001, 22(22): 3045–3051.
- [153] Schmedlen, R.H., K.S. Masters, and J.L. West, Photocrosslinkable polyvinyl alcohol hydrogels that can be modified with cell adhesion peptides for use in tissue engineering. *Biomaterials*, 2002, 23(22): 4325–4332.
- [154] Burdick, J.A. and K.S. Anseth, Photoencapsulation of osteoblasts in injectable RGD-modified PEG hydrogels for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2002, 23(22): 4315–4323.
- [155] Sannino, A., P.A. Netti, M. Madaghiele, V. Cocco, A. Luciani, A. Maffezzoli, and L. Nicolais, Synthesis and characterization of macroporous poly(ethylene glycol)-based hydrogels for tissue engineering applications. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2006, 79A(2): 229–236.

- [156] Martens, P.J., S.J. Bryant, and K.S. Anseth, Tailoring the degradation of hydrogels formed from multivinyl poly(ethylene glycol) and poly(vinyl alcohol) macromers for cartilage tissue engineering. *Biomacromolecules*, 2003, 4(2): 283–292.
- [157] Leach, J.B., K.A. Bivens, C.N. Collins, and C.E. Schmidt, Development of photocrosslinkable hyaluronic acid–polyethylene glycol–peptide composite hydrogels for soft tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2004, 70(1): 74–82.
- [158] Moffat, K.L. and K.G. Marra, Biodegradable poly(ethylene glycol) hydrogels crosslinked with genipin for tissue engineering applications. *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, 2004, 71(1): 181–187.
- [159] Hiemstra, C., Z. Zhong, P.J. Dijkstra, and J. Feijen, PEG-PLA hydrogels by stereocomplexation for tissue engineering of cartilage. *J. Control. Release*, 2005, 101(1–3): 332–334.
- [160] Cascone, M.G., L. Lazzeri, E. Sparvoli, M. Scatena, L.P. Serino, and S. Danti, Morphological evaluation of bioartificial hydrogels as potential tissue engineering scaffolds. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2004, 15(12): 1309–1313.
- [161] Wang, D.A., C.G. Williams, F. Yang, N. Cher, H. Lee, and J. Elisseeff, Bioresponsive phosphoester hydrogels for bone tissue engineering. *Tissue Eng.*, 2005, 11(1–2): 201–213.
- [162] Landers, R., U. Hubner, R. Schmelzeisen, and R. Mulhaupt, Rapid prototyping of scaffolds derived from thermoreversible hydrogels and tailored for applications in tissue engineering. *Biomaterials*, 2002, 23(23): 4437–4447.
- [163] Dhariwala, B., E. Hunt, and T. Boland, Rapid prototyping of tissue-engineering constructs, using photopolymerizable hydrogels and stereolithography. *Tissue Eng.*, 2004, 10(9–10): 1316–1322.
- [164] Hoffman, A., Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2002, 43(1): 3–12.
- [165] Drury, J.L. and D.J. Mooney, Hydrogels for tissue engineering: Scaffolds design variables and applications. *Biomaterials*, 2003, 24(24): 4337–4351.
- [166] Brandl, F., F. Sommer, and A. Goepferich, Rational design of hydrogels for tissue engineering: Impact of physical factors on cell behavior. *Biomaterials*, 2007, 28(2): 134–146.
- [167] Li, W.-J., C.T. Laurencin, E.J. Caterson, R.S. Tuan, and F.K. Ko, Electrospun nanofibrous structure: A novel scaffold for tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 60(4): 613–621.
- [168] Reneker, D.H. and I. Chun, Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. *Nanotechnology*, 1996, 7: 216–223.
- [169] Boland, E.D., G.E. Wnek, D.G. Simpson, K.J. Pawlowski, and G.L. Bowlin, Tailoring tissue engineering scaffolds using electrostatic processing techniques: A study of poly(glycolic acid) electrospinning. *J. Macromol. Sci. A, Pure Appl. Chem.*, 2001, 38(12): 1231–1243.
- [170] Yang, F., C.Y. Xu, M. Kotaki, S. Wang, and S. Ramakrishna, Characterization of neural stem cells on electrospun poly(L-lactic acid) nanofibrous scaffold. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2004, 15(12): 1483–1497.
- [171] Xin, X., M. Hussain, and J.J. Mao, Continuing differentiation of human mesenchymal stem cells and induced chondrogenic and osteogenic lineages in electrospun PLGA nanofiber scaffold. *Biomaterials*, 2007, 28(2): 316–325.
- [172] Kim, G. and W. Kim, Highly porous 3D nanofiber scaffold using an electrospinning technique. *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, 2007, 81(1): 104–110.
- [173] Shin, M., H. Yoshimoto, and J.P. Vacanti, In vivo bone tissue engineering using mesenchymal stem cells on a novel electrospun nanofibrous scaffold. *Tissue Eng.*, 2004, 10(1–2): 33–41.
- [174] Li, W.-J., K.G. Danielson, P.G. Alexander, and R.S. Tuan, Biological response of chondrocytes cultured in three-dimensional nanofibrous poly(epsilon-caprolactone) scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2003, 67A(4): 1105–1114.

- [175] Yoshimoto, H., Y.M. Shin, H. Terai, and J.P. Vacanti, A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2003, 24(12): 2077–2082.
- [176] Chen, M., P.K. Patra, S.B. Warner, and S. Bhowmick, Role of fiber diameter in adhesion and proliferation of NIH 3T3 fibroblast on electrospun polycaprolactone scaffolds. *Tissue Eng.*, 2007, 13(3): 579–587.
- [177] Deng, X.L., G. Sui, M.L. Zhao, G.Q. Chen, and X.P. Yang, Poly(L-lactic acid)/hydroxyapatite hybrid nanofibrous scaffolds prepared by electrospinning. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2007, 18(1): 117–130.
- [178] Meng, W., S.Y. Kim, J. Yuan, J.C. Kim, O.H. Kwon, N. Kawazoe, G. Chen, Y. Ito, and I.K. Kang, Electrospun PHBV/collagen composite nanofibrous scaffolds for tissue engineering. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2007, 18(1): 81–94.
- [179] Li, M., M.J. Mondrinos, X. Chen, M.R. Gandhi, F.K. Ko, and P.I. Lekes, Co-electrospun poly(lactide-co-glycolide), gelatin, and elastin blends for tissue engineering scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2006, 79(4): 963–973.
- [180] Pan, H., H. Jiang, and W. Chen, Interaction of dermal fibroblasts with electrospun composite polymer scaffolds prepared from dextran and poly lactide-co-glycolide. *Biomaterials*, 2006, 27(17): 3209–3220.
- [181] Townsend-Nicholson, A. and S.N. Jayasinghe, Cell electrospinning: A unique biotechnique for encapsulating living organisms for generating active biological microthreads/scaffolds. *Biomacromolecules*, 2006, 7(12): 3364–3369.
- [182] Thomas, V., M.V. Jose, S. Chowdhury, J.F. Sullivan, D.R. Dean, and Y.K. Vohra, Mechano-morphological studies of aligned nanofibrous scaffolds of polycaprolactone fabricated by electrospinning. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2006, 17(9): 969–984.
- [183] Li, W.J., R.L. Mauck, J.A. Cooper, X. Yuan, and R.S. Tuan, Engineering controllable anisotropy in electrospun biodegradable nanofibrous scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. *J. Biomech.*, 2007, 40(8): 1686–1693.
- [184] Pham, Q.P., U. Sharma, and A.G. Mikos, Electrospun poly(epsilon-caprolactone) microfiber and multilayer nanofiber/microfiber scaffolds: Characterization of scaffolds and measurement of cellular infiltration. *Biomacromolecules*, 2006, 7(10): 2796–2805.
- [185] Li, W.J., J.A.J. Cooper, R.L. Mauck, and R.S. Tuan, Fabrication and characterization of six electrospun poly(alpha-hydroxy ester)-based fibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Acta Biomater.*, 2006, 2(4): 377–385.
- [186] Moroni, L., R. Licht, J. de Boer, J.R. de Wijn, and C.A. van Blitterswijk, Fiber diameter and texture of electrospun PEOT/PBT scaffolds influence human mesenchymal stem cell proliferation and morphology, and the release of incorporated compounds. *Biomaterials*, 2006, 27(28): 4911–4922.
- [187] Vaz, C.M., S. van Tuijl, C.V. Bouten, and F.P. Baaijens, Design of scaffolds for blood vessel tissue engineering using a multi-layering electrospinning technique. *Acta Biomater.*, 2005, 1(5): 575–582.
- [188] Wutticharoenmongkol, P., N. Sanchavanakit, P. Pavasant, and P. Supaphol, Novel bone scaffolds of electrospun polycaprolactone fibers filled with nanoparticles. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2006, 6(2): 514–522.
- [189] Lee, Y.H., J.H. Lee, I.G. An, C. Kim, D.S. Lee, Y.K. Lee, and J.D. Nam, Electrospun dual-porosity structure and biodegradation morphology of montmorillonite reinforced PLLA nanocomposite scaffolds. *Biomaterials*, 2005, 26(16): 3165–3172.
- [190] Thomas, V., S. Jagani, K. Johnson, M.V. Jose, D.R. Dean, Y.K. Vohra, and E. Nyairo, Electrospun bioactive nanocomposite scaffolds of polycaprolactone and nanohydroxyapatite for bone tissue engineering. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2006, 6(2): 487–493.
- [191] van Lieshout, M.I., C.M. Vaz, M.C. Rutten, G.W. Peters, and F.P. Baaijens, Electrospinning versus knitting: Two scaffolds for tissue engineering of the aortic valve. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2006, 17(1–2): 77–89.

- [192] Zong, X., H. Bien, C.Y. Ching, L. Yin, D. Fang, B.S. Hsiao, B. Chu, and E. Entcheva, Electrospun finetextured scaffolds for heart tissue constructs. *Biomaterials*, 2005, 26(26): 5330–5338.
- [193] Riboldi, S.A., M. Sampaolesi, P. Neuenschwander, G. Cossu, and S. Mantero, Electrospun degradable polyesterurethane membranes: Potential scaffolds for skeletal muscle tissue engineering. *Biomaterials*, 2005, 26(22): 4606–4615.
- [194] Kim, K., Y.K. Luu, C. Chang, D. Fang, B.S. Hsiao, B. Chu, and M. Hadjiargyrou, Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly(lactide-co-glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds. *J. Control. Release*, 2004, 98(1): 47–56.
- [195] Luu, Y.K., K. Kim, B.S. Hsiao, B. Chu, and M. Hadjiargyrou, Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA-PEG block copolymers. *J. Control. Release*, 2003, 89(2): 341–353.
- [196] Nair, L.S., S. Bhattacharyya, and C.T. Laurencin, Development of novel tissue engineering scaffolds via electrospinning. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2004, 4(5): 659–668.
- [197] Boudriot, U., R. Dersch, A. Greiner, and J.H. Wendorff, Electrospinning approaches toward scaffold engineering—a brief overview. *Artif. Organs*, 2006, 30(10): 785–792.
- [198] Teo, W.E., W. He, and S. Ramakrishna, Electrospun scaffold tailored for tissue-specific extracellular matrix. *Biotechnol. J.*, 2006, 1(9): 918–929.
- [199] Smith, L.A. and P.X. Ma, Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2004, 39(3): 125–131.
- [200] Nof, M. and L.D. Shea, Drug-releasing scaffolds fabricated from drug-loaded microspheres. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 59(2): 349–356.
- [201] Babensee, J.E., L.V. McIntire, and A.G. Mikos, Growth factor delivery for tissue engineering. *Pharm. Res.*, 2000, 17(5): 497–504.
- [202] Hu, Y., C. Zhang, S. Zhang, Z. Xiong, and J. Xu, Development of a porous poly(L-lactic acid)/hydroxyapatite/collagen scaffold as a BMP delivery system and its use in healing canine segmental bone defect. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2003, 67(2): 591–598.
- [203] Grondahl, L., A. Chandler-Temple, and M. Trau, Polymeric grafting of acrylic acid onto poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate): Surface functionalization for tissue engineering applications. *Biomacromolecules*, 2005, 6(4): 2197–2203.
- [204] Ma, Z., C. Gao, Y. Gong, and J. Shen, Cartilage tissue engineering PLLA scaffold with surface immobilized collagen and basic fibroblast growth factor. *Biomaterials*, 2005, 26(11): 1253–1259.
- [205] Park, H., J.S. Temenoff, T.A. Holland, Y. Tabata, and A.G. Mikos, Delivery of TGF- α 1 and chondrocytes via injectable, biodegradable hydrogels for cartilage tissue engineering applications. *Biomaterials*, 2005, 26(34): 7095–7103.
- [206] Lenza, R.F.S., W.L. Vasconcelos, J.R. Jones, and L.L. Hench, Surface-modified 3D scaffolds for tissue engineering. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2002, 13(9): 837–842.
- [207] Chen, R.R. and D.J. Mooney, Polymeric growth factor delivery strategies for tissue engineering. *Pharm. Res.*, 2003, 20(8): 1103–1112.
- [208] Jang, J.-H., Z. Bengali, T.L. Houchin, and L.D. Shea, Surface adsorption of DNA to tissue engineering scaffolds for efficient gene delivery. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2006, 77A(1): 50–58.
- [209] Gunatillake, P.A. and R. Adhikari, Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *Eur. Cell. Mater.*, 2003, 20(5): 1–16.
- [210] Nair, L.S. and C.T. Laurencin, Polymers as biomaterials for tissue engineering and controlled drug delivery. *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.*, 2006, 102: 47–90.
- [211] Holland, T.A. and A.G. Mikos, Review: Biodegradable polymeric scaffolds. Improvements in bone tissue engineering through controlled drug delivery. *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.*, 2006, 102: 161–185.

- [212] Wang, S., L. Lu, and M.J. Yaszemski, Bone-tissue-engineering material poly(propylene fumarate): Correlation between molecular weight, chain dimensions, and physical properties. *Biomacromolecules*, 2006, 7(6): 1976–1982.
- [213] Peter, S.J., M.J. Yaszemski, L.J. Suggs, R.G. Payne, R. Langer, W.C. Hayes, M.R. Unroe, L.B. Alemany, P.S. Engel, and A.G. Mikos, Characterization of partially saturated poly(propylene fumarate) for orthopaedic application. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 1997, 8(11): 893–904.
- [214] Temenoff, J.S. and A.G. Mikos, Injectable biodegradable materials for orthopaedic tissue engineering. *Biomaterials*, 2000, 21(23): 2405–2412.
- [215] Peter, S.J., P. Kim, A.W. Yasko, M.J. Yaszemski, and A.G. Mikos, Crosslinking characteristics of an injectable poly(propylene fumarate)/beta-tricalcium phosphate paste and mechanical properties of the crosslinked composite for use as a biodegradable bone cement. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1999, 44(3): 314–321.
- [216] Peter, S.J., S.T. Miller, G. Zhu, A.W. Yasko, and A.G. Mikos, In vivo degradation of a poly(propylene fumarate)/beta-tricalcium phosphate injectable composite scaffold. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1998, 41(1): 1–7.
- [217] Peter, S.J., L. Lu, D.J. Kim, and A.G. Mikos, Marrow stromal osteoblast function on a poly(propylene fumarate)/beta-tricalcium phosphate biodegradable orthopaedic composite. *Biomaterials*, 2000, 21(12): 1207–1213.
- [218] He, S., M.J. Yaszemski, A.W. Yasko, P.S. Engel, and A.G. Mikos, Injectable biodegradable polymer composites based on poly(propylene fumarate) crosslinked with poly(ethylene glycol)-dimethacrylate. *Biomaterials*, 2000, 21(23): 2389–2394.
- [219] Kempen, D.H., L. Lu, C. Kim, X. Zhu, W.J. Dhert, B.L. Currier, and M.J. Yaszemski, Controlled drug release from a novel injectable biodegradable microsphere/scaffold composite based on poly(propylene fumarate). *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2006, 77(1): 103–111.
- [220] Payne, R.G., J.S. McGonigle, M.J. Yaszemski, A.W. Yasko, and A.G. Mikos, Development of an injectable, in situ crosslinkable, degradable polymeric carrier for osteogenic cell populations. Part 3. Proliferation and differentiation of encapsulated marrow stromal osteoblasts cultured on crosslinking poly(propylene fumarate). *Biomaterials*, 2002, 23(22): 4381–4387.
- [221] Lewandrowski, K.U., S.P. Bondre, D.L. Wise, and D.J. Trantolo, Enhanced bioactivity of a poly(propylene fumarate) bone graft substitute by augmentation with nano-hydroxyapatite. *Biomed. Mater. Eng.*, 2003, 13(2): 115–124.
- [222] Vehof, J.W.M., J.P. Fisher, D. Dean, J.-P.C.M.v.d. Waerden, P.H.M. Spauwen, A.G. Mikos, and J.A. Jansen, Bone formation in transforming growth factor beta-1-coated porous poly(propylene fumarate) scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 60: 241–251.
- [223] Jabbari, E., S. Wang, L. Lu, J.A. Gruetzmacher, S. Ameenuddin, T.E. Hefferan, B.L. Currier, A.J. Windebank, and M.J. Yaszemski, Synthesis, material properties, and biocompatibility of a novel self-crosslinkable poly(caprolactone fumarate) as an injectable tissue engineering scaffold. *Biomacromolecules*, 2005, 6(5): 2503–2511.
- [224] Wang, S., L. Lu, J.A. Gruetzmacher, B.L. Currier, and M.J. Yaszemski, Synthesis and characterizations of biodegradable and crosslinkable poly(epsilon-caprolactone fumarate), poly(ethylene glycol fumarate), and their amphiphilic copolymer. *Biomaterials*, 2006, 27(6): 832–841.
- [225] Chasin, M., D. Lewis, and R. Langer, Polyanhydrides for controlled drug delivery. *Biopharm. Manuf.*, 1998, 1: 33–46.
- [226] Gopferich, A. and J. Tessmar, Polyanhydride degradation and erosion. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2002, 54(7): 911–931.
- [227] Uhrich, K.E., S.E. Ibim, D.R. Larrier, R. Langer, and C.T. Laurencin, Chemical changes during in vivo degradation of poly(anhydride-imide) matrices. *Biomaterials*, 1998, 19(22): 2045–2050.

- [228] Attawia, M.A., K.E. Uhrich, E.A. Botchwey, R.S. Langer, and C.T. Laurencin, In vitro bone biocompatibility of poly(anhydride-co-imides) containing pyromellitylimidoalanine. *J. Orthop. Res.*, 1996, 14(3): 445–454.
- [229] Ibim, S.E., K.E. Uhrich, M. Attawia, V.R. Shastri, S.F. El-Amin, R. Bronson, R. Langer, and C.T. Laurencin, Preliminary in vivo report on the osteocompatibility of poly(anhydride-co-imides) evaluated in a tibial model. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1998, 43(4): 374–379.
- [230] Burkoth, A.K., J.A. Burdick, and K.S. Anseth, Surface and bulk modifications to photocrosslinked polyanhydrides to control degradation behavior. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2000, 51(3): 352–359.
- [231] Andriano, K.P., Y. Tabata, Y. Ikada, and J. Heller, In vitro and in vivo comparison of bulk and surface hydrolysis in absorbable polymer scaffolds for tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1999, 48(5): 602–612.
- [232] Ng, S.Y., T. Vandamme, M.S. Taylor, and J. Heller, Synthesis and erosion studies of self-catalyzed poly(ortho ester)s. *Macromolecules*, 1997, 30(4): 770–772.
- [233] Kellomaki, M., J. Heller, and P. Tormala, Processing and properties of two different poly(ortho esters). *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2000, 11(6): 345–355.
- [234] Bourke, S.L. and J. Kohn, Polymers derived from the amino acid L-tyrosine: Polycarbonates, polyarylates and copolymers with poly(ethylene glycol). *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2003, 55(4): 447–466.
- [235] Tangpasuthadol, V., S.M. Pendharkar, R.C. Peterson, and J. Kohn, Hydrolytic degradation of tyrosinederived polycarbonates, a class of new biomaterials. Part II: 3-yr study of polymeric devices. *Biomaterials*, 2000, 21(23): 2379–2387.
- [236] Choueka, J., J.L. Charvet, K.J. Koval, H. Alexander, K.S. James, K.A. Hooper, and J. Kohn, Canine bone response to tyrosine-derived polycarbonates and poly(L-lactic acid). *J. Biomed. Mater. Res.*, 1996, 31(1): 35–41.
- [237] Ertel, S.I., J. Kohn, M.C. Zimmerman, and J.R. Parsons, Evaluation of poly(DTH carbonate), a tyrosinederived degradable polymer, for orthopaedic applications. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1995, 29(11): 1337–1348.
- [238] Pulapura, S., C. Li, and J. Kohn, Structure–property relationships for the design of polyiminocarbonates. *Biomaterials*, 1990, 11(9): 666–678.
- [239] Meechaisue, C., R. Dubin, P. Supaphol, V.P. Hoven, and J. Kohn, Electrospun mat of tyrosine-derived polycarbonate fibers for potential use as tissue scaffolding material. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2006, 17(9): 1039–1056.
- [240] Lakshmi, S., D.S. Katti, and C.T. Laurencin, Biodegradable polyphosphazenes for drug delivery applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2003, 55(4): 467–482.
- [241] Luten, J., J.H. van Steenis, R. van Someren, J. Kemmink, N.M. Schuurmans-Nieuwenbroek, G.A. Koning, D.J. Crommelin, C.F. van Nostrum, and W.E. Hennink, Water-soluble biodegradable cationic polyphosphazenes for gene delivery. *J. Control. Release*, 2003, 89(3): 483–497.
- [242] Laurencin, C.T., M.E. Norman, H.M. Elgendy, S.F. El-Amin, H.R. Allcock, S.R. Pucher, and A.A. Ambrosio, Use of polyphosphazenes for skeletal tissue regeneration. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1993, 27(7): 963–973.
- [243] Laurencin, C.T., S.F. El-Amin, S.E. Ibim, D.A. Willoughby, M. Attawia, H.R. Allcock, and A.A. Ambrosio, A highly porous 3-dimensional polyphosphazene polymer matrix for skeletal tissue regeneration. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1996, 30(2): 133–138.
- [244] Ambrosio, A.M., H.R. Allcock, D.S. Katti, and C.T. Laurencin, Degradable polyphosphazene/poly(alpha-hydroxyester) blends: Degradation studies. *Biomaterials*, 2002, 23(7): 1667–1672.
- [245] Krogman, N.R., A. Singh, L.S. Nair, C.T. Laurencin, and H.R. Allcock, Miscibility of bioerodible polyphosphazene/poly(lactide-co-glycolide) blends. *Biomacromolecules*, 2007, 8(4): 1306–1312.

- [246] Nair, L.S., S. Bhattacharyya, J.D. Bender, Y.E. Greish, P.W. Brown, H.R. Allcock, and C.T. Laurencin, Fabrication and optimization of methylphenoxy substituted polyphosphazene nanofibers for biomedical applications. *Biomacromolecules*, 2004, 5(6): 2212–2220.
- [247] Greish, Y.E., J.D. Bender, S. Lakshmi, P.W. Brown, H.R. Allcock, and C.T. Laurencin, Formation of hydroxyapatite-polyphosphazene polymer composites at physiologic temperature. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2006, 77(2): 416–425.
- [248] Carampin, P., M.T. Conconi, S. Lora, A.M. Menti, S. Baiguera, S. Bellini, C. Gandhi, and P.P. Parnigotto, Electrospun polyphosphazene nanofibers for in vitro rat endothelial cells proliferation. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2007, 80(3): 661–668.
- [249] Zhang, R. and P.X. Ma, Poly(α -hydroxyl acids)/hydroxyapatite porous composites for bone-tissue engineering. I. Preparation and morphology. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1999, 44(4): 446–455.
- [250] Marra, K.G., J.W. Szem, P.N. Kumta, P.A. DiMilla, and L.E. Weiss, In vitro analysis of biodegradable polymer blend/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1999, 47(3): 324–335.

تقنيات التصنيع المايكروي في

تطوير حاملة الخلايا والأنسجة

Microfabrication Techniques in Scaffold Development

Christopher J. Bettinger, Jeffrey T. Borenstein, and Robert Langer

المحتويات CONTENTS

١٣٥.....	INTRODUCTION مقدمة (٤,١)
	APPLICATION OF TRADITIONAL MICROFABRICATION تطبيق تقنيات التصنيع المايكروي التقليدية (٤,٢)
١٣٨.....	TECHNIQUES
١٣٨.....	Replica Molding Of Biomaterials قولبة النسخة المطابقة للأصل للمواد الحيوية (٤,٢,١)
	Micromolding القولبة المايكروية والقولبة النانوية للمواد الحيوية من أجل طبوغرافية حاملة الخلايا والأنسجة (٤,٢,٢)
١٣٩.....	And Nanomolding Of Biomaterials For Scaffold Topography
	Micromolding القولبة المايكروية وربط المواد الحيوية من أجل حاملات هندسة الأنسجة ذات الجريان المايكروي (٤,٢,٣)
١٤١	And Bonding Of Biomaterials For Microfluidic Tissue Engineering Scaffolds
	Microfluidic حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجريان المايكروي باستخدام بوليمرات اصطناعية (٤,٢,٣,١)
١٤١	Scaffolds Using Synthetic Polymers
	Microfluidic Scaffolds حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجريان المايكروي باستخدام بوليمرات طبيعية (٤,٢,٣,٢)
١٤٢.....	Using Natural Polymers

- (٤,٢,٣,٣) مستقبل أنظمة الجريان المايكروفي في هندسة الأنسجة Future of Microfluidic Systems in Tissue Engineering ١٤٦
- (٤,٢,٤) الحفر اللين (الطري) للمواد الحيوية Soft Lithography Of Biomaterials ١٤٧
- (٤,٢,٤,١) الطباعة بالاتصال المايكروفي Microcontact Printing ١٤٨
- (٤,٢,٤,٢) الحفر بالقوة الشعرية وتقنيات الحفر اللين (الطري) الأخرى Capillary Force Lithography and Other Soft Lithography Techniques ١٤٩
- (٤,٢,٤,٣) تطبيقات الحفر اللين (الطري) في تطوير حاملة الخلايا والأنسجة Applications of Soft Lithography in Scaffold Development ١٥١
- (٤,٢,٥) الترسيب الكهربائي للمواد الحيوية Electrodeposition Of Biomaterials ١٥١
- (٤,٢,٦) تقنيات التشكيل (الزخرفة) المتقدمة Advanced Patterning Techniques ١٥٢
- (٤,٢,٦,١) القطع (الحفر) الآلي المايكروفي بأشعة الليزر Laser Micromachining ١٥٣
- (٤,٢,٦,٢) الحفر الغرواني Colloidal Lithography ١٥٤
- (٤,٢,٦,٣) الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس Dip-Pen Nanolithography ١٥٥
- (٤,٣) تصنيع حاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد FABRICATION OF THREE-DIMENSIONAL SCAFFOLDS ١٥٥
- (٤,٣,١) الحفر المجسم (ثلاثي الأبعاد) والتصليب (التليد) الانتقائي بواسطة أشعة الليزر Stereolithography And Selective Laser Sintering ١٥٨
- (٤,٣,٢) الطباعة ثلاثية الأبعاد Three-Dimensional Printing ١٦٠
- (٤,٣,٣) النمذجة (التشكيل) بترسيب المصهور Fused Deposition Modeling ١٦٠
- (٤,٣,٤) الترسيب بالمحقنة المايكروية Microsyringe Deposition ١٦١
- (٤,٣,٥) الامتصاص ثنائي الفوتون Two-Photon Absorption ١٦٢
- (٤,٣,٦) الطوبوغرافيا (السمات السطحية) النانوية ثلاثية الأبعاد Three-Dimensional Nanotopography ١٦٢
- (٤,٣,٦,١) الغزل الكهربائي Electrospinning ١٦٢
- (٤,٣,٦,٢) الامتزاز (الامتصاص) الغرواني Colloidal Adsorption ١٦٣
- (٤,٣,٧) مستقبل تصنيع الشكل الحر الصلب من أجل هندسة الأنسجة Future Of Solid Free-Form Fabrication For Tissue Engineering ١٦٤

١٦٥.....	٤,٤) التصنيع المايكروفي لحاملات الخلايا والأنسجة باستخدام الخصائص الفيزيائية MICROFABRICATION OF SCAFFOLDS USING PHYSICAL PROPERTIES
١٦٦.....	٤,٤,١) الفصل الطوري المايكروفي Microphase Separation
١٦٧.....	٤,٤,٢) التجميع الذاتي بمساعدة المواد الغروانية Colloidal-Assisted Self-Assembly
١٦٩.....	٤,٤,٣) التجميع الذاتي فوق الجزيئي Supramolecular Self-Assembly
١٧٠.....	٤,٥) التصنيع المايكروفي لحاملات الخلايا والأنسجة المبذورة بالخلايا MICROFABRICATION OF CELL-SEEDED SCAFFOLDS
١٧١.....	٤,٥,١) ترسيب طبقة تلو الطبقة Layer-By-Layer Deposition
١٧٢.....	٤,٥,٢) التَمَحُّظُ (التغليف) الضوئي لُبْنَى حاملات الخلايا والأنسجة-خلايا Photoencapsulation Of Cell-Scaffold Constructs
١٧٤.....	٤,٥,٣) الترسيب المباشر للخلايا في المستوى المايكروفي Microscale Direct Deposition Of Cells
١٧٤.....	٤,٥,٣,١) إِرْذَاذ (رش) الخلايا Cell Spraying
١٧٥.....	٤,٥,٣,٢) طباعة الخلايا بتقنية نفث الحبر Inkjet Printing of Cells
١٧٥.....	٤,٥,٣,٣) الطرق الضوئية لترسيب الخلايا بدون اتصال Optical Methods for Noncontact Cell Deposition
١٧٧.....	٤,٦) مستقبل تكنولوجيا التصنيع المايكروفي لتطوير حاملة الخلايا والأنسجة FUTURE OF MICROFABRICATION TECHNOLOGY FOR SCAFFOLD DEVELOPMENT
١٧٩.....	المراجع REFERENCES

٤,١) مقدمة INTRODUCTION

لقد قدّم مجيء صناعة أنصاف النواقل (semiconductors) في القرن العشرين منفعة ثانوية لعمليات التصنيع المتقدم بما في ذلك الدقة (precision) المتزايدة للتصنيع المايكروفي (microfabrication) للمواد الهندسية الحديثة مثل المعادن والبوليمرات. وقد أدّى التقدم في تقنيات التصنيع المايكروفي بما فيها القطع (الحفر) المايكروفي (micromachining) وعمليات التصنيع بمساعدة الحفر الضوئي (photolithography - aided processes) مثل الحفر أو الخُطْر الجاف (dry etching) والحفر الرطب (wet etching) والترسيب المعدني (metal deposition) وإنتاج طبقة فيلم رقيقة (thin film growth) إلى القدرة على هندسة أنظمة ومواد ذات سمات (خصائص) محددة بشكل جيد بمقياس المايكرون وما دون المايكرون. وقد سمحت تقنيات أكثر

تقدماً مثل الحفر الضوئي بالحزمة الإلكترونية (electron-beam (e-beam) photolithography) والتلاعب أو المعالجة النانوية (nanomanipulation) بتصنيع بُنى ذات دقة بمستوى النانومتر. وعلى الرغم من أن هذه التقنيات قد صممت في البداية لدعم احتياجات التطوير السريع المرتبطة بصناعة الدارات المتكاملة أو المدمجة (integrated circuits)، فقد أظهر تطبيق تقنيات التصنيع في المستوى المايكرومترى والمستوى النانومتري فائدة لا تُقَدَّر بثمن في تصميم وتطوير أنظمة مُهندَسة من أجل تطبيقات بيولوجية وهندسية حيوية.

وقد أتاحت الدقة المتزايدة في الأجهزة المصنعة مايكروياً وبشكلٍ منهجي معالجة أنظمة بيولوجية (biological systems) بمقاييس طولية واسعة التنوع تبدأ من أنسجة وأعضاء كاملة بطول سنتيمترات، إلى خلايا مفردة بمقياس المايكرون، فجزئيات حيوية مفردة بمقياس النانومتر. وعلى وجه الخصوص، فإن واحدة من التطبيقات الواعدة تكمن في مجال هندسة الأنسجة (tissue engineering)، وهي أحد فروع الهندسة الحيوية (bioengineering) حيث تكتسب، وسوف تستمر، الأنظمة المايكروية والنانوية في اكتساب أهمية كبرى. لقد أثبتت تطبيقات هذه الأنظمة المصنعة مايكروياً فائدتها ليس فقط في تطوير وهندسة الجيل التالي للأنظمة المهندسة نسيجياً، ولكن أيضاً في مساندة جهود الأبحاث الأساسية. تستطيع التجهيزات العاملة في مستوى أطوال بمقياس المايكرون وما دون المايكرون أن تسبر خلايا وأنسجة عند مقاييس طول تناسبها بيولوجياً، والتي أدت إلى توضيح بعض المحددات أو البارامترات الأساسية للبيئة المايكروية الخلوية (cellular microenvironment) والتي تؤثر على العمليات البيولوجية الأساسية المتنوعة مثل تمايز الخلايا [1] وهجرة الخلايا [2] والتطور الجنيني (embryonic development) [3] وموت الخلايا المبرمج (apoptosis) [4]. إن تطبيق الأنظمة المصنعة مايكروياً وذلك باتجاه دراسة وهندسة تفاعلات الخلايا - المصفوفة هو أيضاً غاية في الأهمية. ففي حين أن التفاعلات الكيميائية والبيولوجية للخلايا - المصفوفة قد تم دراستها بشكلٍ مركز، فإن الطبوغرافية السطحية (topography) (السمات السطحية) لهذا السطح البيني الفاصل (interface) تلعب أيضاً دوراً مهماً في تنظيم وظائف الخلايا. تتكون المصفوفة خارج الخلية (ECM) من عدد من البروتينات البنيوية والمعروفة باحتوائها سمات أو خصائص عند مستويات طول تتراوح من ميليمترات حتى نانومترات. فبينما يتم تصميم البنى الأكبر لتوفر دعم ماكروى (macroscopic support)، فإنه من المعروف أن السمات في المستوى النانوي للمصفوفة خارج الخلية (ECM) تقدم إشارات أو منبهات (cues) تُؤثر على الوظائف الأساسية للخلايا مثل التكاثر (proliferation) والهجرة (migration) والانتشار (spreading) والقلوصية (contractility) والتوتر (tension) وقوى الجذب أو الجرّ (traction forces). وقد تم استخدام أنظمة اصطناعية مع مجموعة متنوعة من أحجام السمات والأشكال الهندسية في مستوى ما دون المايكرون؛ وذلك لدراسة سلوك الخلايا في استجابتها لركائز غنية بالإشارات أو المنبهات الطبوغرافية السطحية [5].

وبالإضافة إلى الركائز المحددة بشكلٍ جيد، فإن الخلايا وكما هو معروف تستجيب أيضاً للطبوغرافية السطحية الموجهة بشكلٍ عشوائي (randomly oriented topography) مثل الخشونة (roughness) في المستوى النانومتري. ويمكن أن تؤثر سمات أو خصائص الطبوغرافية السطحية بمقياس واحد مايكرومتر أو أصغر على وظائف الخلايا، والتي قد تكون حاسمة من أجل

الأنظمة المهندسة نسيجياً بما في ذلك التصاق الخلايا وشكلها وهجرتها المباشرة، والتي هي كلها عمليات خلوية حاسمة من أجل التحكم بالنمط الظاهري للخلايا (cell phenotype) في بُنى الخلايا - حاملات الخلايا والأنسجة. على سبيل المثال، لقد تبين أن تراصف أو محاذاة الخلايا (cell alignment) يلعب دوراً مهماً في تطوير أنسجة أقوى في حالة الخلايا العضلية الملساء والعضلات الهيكلية وخلايا الأرومة الليفية. وقد أظهرت الطوبوغرافية السطحية أيضاً أنها تؤثر على النمط الجيني (genotype) والنمط الظاهري [6] بما في ذلك تنظيم مستويات الفبرونيكتين (fibronectin) للحمض النووي الـ RNA (الحمض النوويّ الريبي) المرسل (mRNA) في خلايا الأرومة الليفية [7]. وقد تم استعراض التفاعل المعمم للخلايا مع الطوبوغرافية السطحية وعلى نطاق واسع في مكان آخر [5,8,9] بما في ذلك الفصول الأخرى ضمن هذا الكتاب. إن فهم العمليات الأساسية المرتبطة بتفاعلات الخلايا - الخلايا وتفاعلات المصفوفة - الخلايا والمبنية على إشارات أو منبهات كيميائية وفيزيائية وطوبوغرافية سطحية وبيئية مايكروية مكانية هو أحد المفاهيم الأساسية من أجل التصميم المنطقي لأنظمة هندسة الأنسجة. ومن المهم أيضاً أن تكون هناك قدرة على تطبيق هذه الاكتشافات العلمية من خلال هندسة كل من المواد وتقنيات تصنيع المواد من أجل تحقيق مزيد من الإمكانية لاستخدامها في هندسة الأنسجة والطب التجديدي (regenerative medicine).

وسوف يستمر نمو الأنظمة المتطورة المصنّعة مايكروبياً بشكل متزايد لتلعب دوراً مهماً في تقدم هندسة الأنسجة والطب التجديدي. وعلى الرغم من أن النموذج الحالي لتصميم وتصنيع حاملات هندسة الأنسجة هو نموذج المحاكاة الحيوية (biomimicry)، فإن التطورات في علم الجينات (genomics) وبيولوجيا الخلايا (cell biology) والبيولوجيا التطورية (developmental biology) ستؤدي إلى تطورات متناسبة في مجموعة الأدوات المستخدمة من أجل تصنيع حاملة لهندسة الأنسجة بما في ذلك القدرة على التحكم بالبيئتين الخلوية المكانية والخلوية الزمانية (spatial and temporal cellular environments) في مستوى المايكرون وفي مستوى ما دون المايكرون. ويتواجد حالياً مجال واسع من عمليات "الحفر من الأعلى - إلى الأسفل" ("top - down") و "الحفر من الأسفل - إلى الأعلى" ("bottom - up") والتي تم تطويرها لتلبي الاحتياج المتزايد لتحقيق دقة في مستوى المايكرومتر والنانومتر في هندسة المواد الحيوية من أجل أنظمة تجديد الأعضاء والأنسجة [10,11]. وعلى أي حال، هناك الكثير من التحديات الهندسية التي لا يزال يتعين معالجتها، والتي تتضمن الدمج الفعّال (efficient incorporation) للخلايا في حاملات الخلايا والأنسجة مع دقة مكانية كافية وتحويل العمليات المبنية في الأساس على الحفر الضوئي ثنائي الأبعاد (2D photolithographic) إلى حفر ثلاثي الأبعاد (3D). يُركّز هذا الفصل على تصميم وتصنيع حاملات هندسة الأنسجة مع سمات أو خصائص في مستوى المايكرون وما دون المايكرون. وقد تم استطلاع الحالة الراهنة للمواد ومعالجة المواد من أجل هندسة الأنسجة مع تركيز خاص على ربط هذه التخصصات مع تقنيات التصنيع المايكروبي والنانوبي.

(٤,٢) تطبيق تقنيات التصنيع المايكروني التقليدية APPLICATION OF TRADITIONAL MICROFABRICATION TECHNIQUES

(٤,٢,١) قوالب النسخة المطابقة للأصل للمواد الحيوية Replica Molding Of Biomaterials

إن قوالب النسخة المطابقة للأصل (replica molding - RM) هي مصطلح عام يشمل مجالاً واسعاً من عمليات القوالب (molding processes) بما في ذلك النقش الساخن (hot embossing) وصبّ (قوالب) المذيب (solvent casting) والقوالب بالحقن (injection molding). وعلى الرغم من أن قوالب النسخة المطابقة للأصل قد تم استخدامها بشكل تقليدي لإنشاء بُنى مقبولة في مجموعة متنوعة من المواد الهندسية [12]، إلا أن قوالب النسخة المطابقة للأصل (RM) للمواد الحيوية هي أكثر تقنية مباشرة لإنشاء بُنى مُصنّعة مايكروياً من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة. ويبقى الحفر الضوئي (photolithography) تقنية أساسية في تصنيع القوالب من أجل استخدامها في عمليات قوالب النسخة المطابقة للأصل (RM). تتضمن ميزات قوالب النسخة المطابقة للأصل (١) دقات تباين السمات (feature resolutions) التي تصل إلى أقل من ٣٠ نانومتراً باستخدام مواد بوليمرية، و (٢) الإنتاج السريع والقابل للتجسيم (scalable) (لتغيير القياس) للبنى المايكروية على مساحات سطحية كبيرة، و (٣) البساطة الكامنة في هذه العملية. ومع ذلك، فإن هذه المزايا تؤدي إلى قيود بما في ذلك الطبيعة ثنائية الأبعاد للقوالب من أجل قوالب النسخة المطابقة للأصل (RM) باستخدام عمليات الحفر الضوئي. وقد تم استخدام قوالب النسخة المطابقة للأصل (RM) وعلى نطاق واسع لمواد غير عضوية (inorganic materials) مثل بولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (poly(di-methylsiloxane) - PDMS) من أجل تطبيقات طبية حيوية بما في ذلك الحساسات الحيوية (biosensors) وشبكات الجريان المايكروني (microfluidic networks) من أجل زراعة الخلايا (cell culture) [13-14]. وعلى أي حال، فإن قوالب النسخة المطابقة للأصل (RM) للمواد الحيوية تتطلب تكييفاً أو تعديلاً (adaptation) للعمليات التقليدية للملاءمة الخصائص الكيميائية والفيزيائية لكل من المواد الحيوية الاصطناعية والمواد الحيوية الطبيعية.

يمكن صب البوليمرات الاصطناعية القابلة للتحلل الحيوي وكذلك المواد الحيوية الطبيعية على حد سواء على قوالب مصنّعة مايكروياً لإنتاج بُنى على ركائز مع دقات تباين للسمات أصغر من ٣٠ نانومتراً. وقد تم معالجة بوليمرات حيوية تركيبة لدنة بالحرارة (thermoplastic) مثل بولي (ε-كابرولاكتون) (poly(ε-caprolactone) - PCL) وبولي (إل - حمض اللاكتيك) (poly(L-lactic acid) - PLA) وبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (poly(L-lactic-co-glycolic acid) - PLGA) في هذه الطريقة من أجل تطبيقات طبية حيوية متنوعة بما في ذلك حاملات وأجهزة هندسة الأنسجة من أجل إطلاق الدواء المتحكم به (controlled drug release) [10,17]. ويمكن استخدام كل من صبّ (قوالب) المصهور (melt casting) وصبّ المذيب (solvent casting) والقوالب بالحقن والنقش الساخن وذلك للحصول على أشكال هندسية ذات سمات محددة بشكل جيد في المواد الحيوية الاصطناعية اللدنة بالحرارة متعددة البلورات (polycrystalline) أو غير المتبلورة (amorphous). ويمكن لعمليات مشابهة أن تُكيّف أو تُعدّل ليتم تصنيع حاملات خلايا لهندسة الأنسجة باستخدام بوليمرات توصيلية (conductive polymers) من أجل الاستخدام المحتمل في تطبيقات تجديد الأعصاب (nerve regeneration applications) [18,19]. إن المواد الحيوية المجهزة حرارياً والتي تحوي شبكات مرنة متقاطعة (متشابكة) (crosslinked elastomeric networks) مثل البولي (غليسيرول-كو-حمض السيسايك) (poly (glycerol-co-sebacic acid) - PGS) [20] والبولي (٨، ١-أوكتانيدول-كو-حمض السيتريك)

(POC) - poly (1,8-octanediol-co-citric acid) [21] تتطلب أن تُوضع في شكلٍ محدد مسبقاً عند قولبتها الأولية متبوعة بعملية ربط تقاطعي أو تشابكي كيميائي أو فيزيائي. وبالتالي ؛ يمكن أن تتطلب معالجة مثل هذه المواد استخدام طبقة لتحرير القالب المستخدم والتي تتألف من مادة حميدة بيولوجياً (biologically benign material) لتجنب التصاق هذه المواد الهجومية (aggressive materials) المضغفة لمقاومة القالب المستخدم أثناء عملية البلمرة النهائية. إن محاليل السُكروز المخففة (dilute sucrose solutions)، والتي يتم استخدامها في العادة للوقاية من التندُّف (flocculation) (التلبد) والتخثر (coagulation) في صيغ أو تشكيلات الجسيمات المايكروية، يمكن استخدامها لإنشاء طبقات أفلام رقيقة (thin films) من أجل المساعدة على تحرير طبقات الأفلام في القالب بينما تقوم بالحفاظ على دقة السمات بحجم ما دون المايكرون [22].

وقد تم استخدام قولبة النسخة المطابقة للأصل (RM) لإنتاج سمات أو خصائص بمستوى المايكرون وما دون المايكرون في المواد الحيوية الطبيعية بما في ذلك البروتينات البنيوية مثل الكولاجين والماتري جل (Matrigel) والجزئيات المبنية على السكر بما في ذلك الآغاروز (agarose) [23-26]. وقد تم ذكر طريقة من خلال Tang وآخرين قادرة على دمج خلايا ضمن بُنى هلامية مُصنَّعة مايكروياً تم إنتاجها عن طريق القولبة المايكروية (micromolding). وعلى أي حال، فإن هناك قيوداً صارمة أكثر بشكل ملحوظ على المعالجة المرتبطة بتجهيز البروتينات، بشكل خاص تلك التي تدمج أيضاً الخلايا في داخل البنى. إن احتمال فقدان الوظيفة من خلال تَمَسُّخ البروتين (protein denaturation) تحد من شروط المعالجة إلى عمليات منخفضة الحرارة بشكل عام باستخدام شروط مائية (aqueous conditions). إن عدم القدرة على استخدام درجات حرارة مرتفعة أو مذيبات عضوية (organic solvents) يحد من ملائمة التقنيات المحتملة. وعلى أي حال، فإن هناك طرقاً كيميائية محتملة يمكن تطبيقها بما في ذلك الربط الكيميائي المتشابه من خلال طرق الاقتران الحيوي (bioconjugation) التي يتم إنشاؤها مثل ١-ميثيل-٣-ثنائي-ميثيل أمينو برويل [كاربو ثنائي الإيميد هيدروكلوريد (1-ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl] carbodiimide hydrochloride) - EDC] و/أو-هيدروكسي سوسين إيميد (N-hydroxysuccinimide - NHS)، والتي تُعتبر طريقاً كيميائياً يتم إنشاؤه من أجل الاقتران الحيوي بين الأمينات (amines) والكاربوكسيلات (carboxylates). إن البلمرة الضوئية (photopolymerization) هي طريقة أخرى لتصنيع رقائق مستوية من البوليمر مُقابلة عن طريق النسخة المطابقة للأصل باستخدام شروط معالجة معتدلة مثل درجات حرارة منخفضة ومذيبات مائية.

(٤,٢,٢) القولبة المايكروية والقولبة النانوية للمواد الحيوية من أجل طوبوغرافية حاملة الخلايا والأنسجة

Micromolding And Nanomolding Of Biomaterials For Scaffold Topography

تحتوي المصفوفة خارج الخلية (ECM) سمات في مستوى النانومتر (nanometer - scale features)، والتي توفر إشارات أو منبهات تتوسط الوظائف الأساسية للخلايا مثل التكاثر والهجرة وإعادة تشكيل هيكل الخلية (cytoskeleton remodeling) والتمايز. وقد تم استخدام أنظمة اصطناعية مع أحجام وأشكال هندسية مختلفة لسمات في مستوى ما دون المايكرون وذلك من أجل دراسة سلوك الخلايا في استجابتها لركائز غنية بإشارات أو منبهات طوبوغرافية سطحية في مستوى النانومتر [5]. وقد تمت كذلك الإشارة إلى أن الخلايا تستجيب أيضاً للطوبوغرافية (السمات السطحية) الموجهة بشكل عشوائي مثل الخشونة في المستوى النانومتري بالإضافة إلى الركائز المحددة بشكل جيد مع سمات أو خصائص في مستوى ما دون

الميكرون. ويمكن أن تؤثر السمات الطبوغرافية السطحية والتي هي بقياس في مستوى ١ مايكرومتر أو أقل على عدد من وظائف الخلايا التي تتضمن ارتكاز (attachment) والتصاق (adhesion) وشكل (morphology) (مورفولوجيا)، وهجرة (migration) الخلايا. كما تؤثر الطبوغرافية السطحية أيضاً على البروفيل (الشكل) الجيني (gene profile) [6] بما في ذلك تنظيم مستويات الفبرونيكتين للحمض النووي الـ (RNA) (الحمض النوويّ الريبي) المرسل (mRNA) في خلايا الأرومة الليفية [7]. وقد تم استعراض التفاعل المعمّم للخلايا مع الطبوغرافية السطحية وعلى نطاق واسع في مكان آخر (في مراجع أخرى) [5,8,9] وبما في ذلك في فقرات أخرى ضمن هذا الكتاب.

ونظراً للفائدة التي تم استعراضها على قدرة التحكم بوظيفة الخلية من خلال استخدام طبوغرافية سطحية نانوية؛ فإنه يمكن لهذه التقنية أن تستمر في لعب دور مهم في تطوير حاملة الخلايا والأنسجة؛ وذلك نظراً لكون الطبوغرافية السطحية النانوية تطبق على المواد الحيوية الطبيعية والمواد الحيوية الاصطناعية. وكما ذكر سابقاً، يمكن لقبولة النسخة المطابقة للأصل (RM) إعادة إنتاج سمات تصل إلى ٣٠ نانومتراً، والتي تعتبر بدورها أكثر من كافية من أجل إحداث تغييرات في وظيفة الخلية. وقد تم تكييف أو تعديل عمليات قبولية النسخة المطابقة للأصل (RM) وذلك لتصنيع طبوغرافية سطحية نانوية للركيزة باستخدام مجموعة متنوعة من المواد الحيوية [23,27,28]. إن بعض المواد الحيوية تحتاج إلى إضافة طبقات تحرير، والتي تشجع على تحرير القالب المستخدم [22]. ينبغي أن تكون المواد المستخدمة في عوامل تحرير القالب غير سامة وغير مكلفة وأن تكون قابلة للذوبان في عوامل مائية وذلك لتسهيل الذوبان والتحرير في الشروط المعتدلة.

على الرغم من أن قبولية النسخة المطابقة للأصل (RM) هي طريقة سريعة وقابلة للتجسيم (لتغيير القياس) وسهلة من أجل إنتاج ركائز بطوبوغرافية سطحية نانوية، إلا أن هناك عمليات أخرى متوفرة من أجل إنتاج سمات طبوغرافية سطحية نانوية، والتي سيتم استعراضها لاحقاً في هذا الفصل. إن أحد القيود الظاهرة مع الركائز ذات الطبوغرافية السطحية النانوية والمنتجة باستخدام قبولية النسخة المطابقة للأصل (RM) التقليدية هو التقييد على هندسة الأنظمة ثنائية الأبعاد خصوصاً. إن هذا التقييد لا يحد من تصميم وتصنيع أنظمة مهندسة نسيجياً، والتي هي بشكل أساسي بُنى ثنائية الأبعاد مثل البشرة (epidermis) والظهارة (epithelium) لأعضاء مختلفة. فعلى سبيل المثال، تم استخدام رقائق مُصنّعة مايكروياً بواسطة أشعة الليزر وذلك لتصنيع قوالب رئيسية من بولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) من أجل قبولية النسخة المطابقة للأصل (RM) لإسفنجات الكولاجين من النمط الأول (collagen I sponges) في العمل المقدم من قبل Pins وآخرون. وقد احتوت هذه الإسفنجات على سمات أو خصائص ذات قياس يتراوح من ٤٠ إلى ٣١٠ مايكرومتر، والتي تم تصميمها لمحاكاة بُنى البشرة الأصلية (native epidermis). لقد شكلت الإسفنجات المصنّعة مايكروياً بواسطة قبولية النسخة المطابقة للأصل (RM) صفيحة قاعدية (basal lamina) متناظرة عندما يتم بذرها بخلايا كيراتينية بشرية (human epidermal keratinocytes). وتطبيق محتمل آخر من أجل الأنظمة ثنائية الأبعاد هو في شبكية العين (retina of the eye). فقد أظهرت الظهارة القرنية (corneal epithelium) بأنها تستجيب للطبوغرافية السطحية النانوية لركائز ذات حاجز أو إطار شبكي الشكل محددة بشكل جيد مع سمات بحجم أصغر من ٤٠ نانومتراً مصنوعة باستخدام السيلكون [29]. وعلى أي حال، يجب إنجاز المزيد من العمل في مواد حيوية جديدة لإتاحة الفرصة لإمكانية زرعها. ويمكن توسيع قبولية النسخة المطابقة

للأصل (RM) ثنائية الأبعاد ليتم استخدامها في تطبيقات أخرى، حيث تكون البنية السائدة في الطبقة الأحادية. فعلى سبيل المثال، يمكن أيضاً تصور قولبة النسخة المطابقة للأصل (RM) لركائز باستخدام مواد حيوية ملائمة من أجل تطبيقات الطُعوم (الغرسات) الوعائية (vascular implant applications) [30]، حيث إن توجيه الخلايا قد يُثبت أنه مهم في توليد النمط الظاهري المناسب. كما يمكن كذلك تشكيل أنابيب من طبقات رقيقة مستوية ثنائية الأبعاد من أجل استخدامها في تطبيقات تجديد الأعصاب المحيطية (peripheral nerve regeneration) [31].

تتطلب هندسة الأعضاء الحيوية ذات البنى الهندسية المايكروية المعقدة التوسع من المستوى ثنائي الأبعاد. ولتحديد هذه الاحتياجات غير المحققة، تتجه استراتيجيات هندسة الأنسجة وتقنيات تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة نحو تطوير أنظمة ثلاثية الأبعاد. وسوف يتوجب أيضاً في نهاية المطاف على طرق تصنيع الطوبوغرافية السطحية النانوية اللاحقة التوسع إلى الأنظمة ثلاثية الأبعاد لاستيعاب أنظمة حاملات هندسة الأنسجة المتقدمة. إن واحدة من الطرق للسعي نحو تحقيق هذا الهدف هي إلغاء استخدام عملية المعالجة بالحفر الضوئي وبدلاً من ذلك استخدام الخصائص الفيزيائية للمواد لإنتاج مواد ذات طوبوغرافية سطحية نانوية تكون تفاعلية مع الخلايا [32]. وسوف يتم وصف هذه التقنيات بشكل مفصل في مكان آخر في هذا الفصل.

(٤,٢,٣) القولبة المايكروية وربط المواد الحيوية من أجل حاملات هندسة الأنسجة ذات الجريان المايكروفي Micromolding And Bonding Of Biomaterials For Microfluidic Tissue Engineering Scaffolds

لقد تم ربط قولبة النسخة المطابقة للأصل (RM) مع مواد بوليمرية غير قابلة للتحلل من أجل تصنيع أجهزة ذات جريان مايكروفي (microfluidic devices) [33]. إن تطوير الجريانات المايكروية (microfluidics) من أجل تطبيقات الهندسة الطبية الحيوية هو واسع النطاق ويتخلل في مجالات دراسة مثل اكتشاف الدواء (drug discovery) والفحص عالي الإنتاجية (high throughput screening). ومع ذلك، يجب أن تكون العمليات المناسبة مفصلة بشكل ملائم من أجل تأسيس عمليات فعالة تستخدم مواد قابلة للتحلل الحيوي. وقد أثبتت قولبة النسخة المطابقة للأصل (RM) للمواد الحيوية أنها مفيدة في مجموعة متنوعة من التطبيقات الطبية الحيوية بما في ذلك توزيع أو توصيل الدواء (drug delivery). وقد أدت قولبة النسخة المطابقة للأصل (RM) المقترنة بعمليات تصفيح (lamination processes) مناسبة إلى مجال فرعي حديث لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة ذات جريان مايكروفي. إن هذا الفرع من هندسة الأنسجة هو مصمم لمعالجة مشكلة النقل السطحي للمواد المغذية (facile nutrient transport) وإزالة الفضلات ضمن حاملات الخلايا والأنسجة المبذورة بالخلايا. وهناك مجال واسع من المواد الحيوية الاصطناعية والمواد الحيوية الطبيعية، وكلٌّ من هذه المواد تتطلب عمليات على مواد محددة، والتي تم اختيارها لتلبية هذا الاحتياج من أجل حاملات خلايا وأنسجة ذات جريان مايكروفي وقابلة للتحلل الحيوي.

(٤,٢,٣,١) حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجريان المايكروفي باستخدام بوليمرات اصطناعية Microfluidic Scaffolds Using Synthetic Polymers

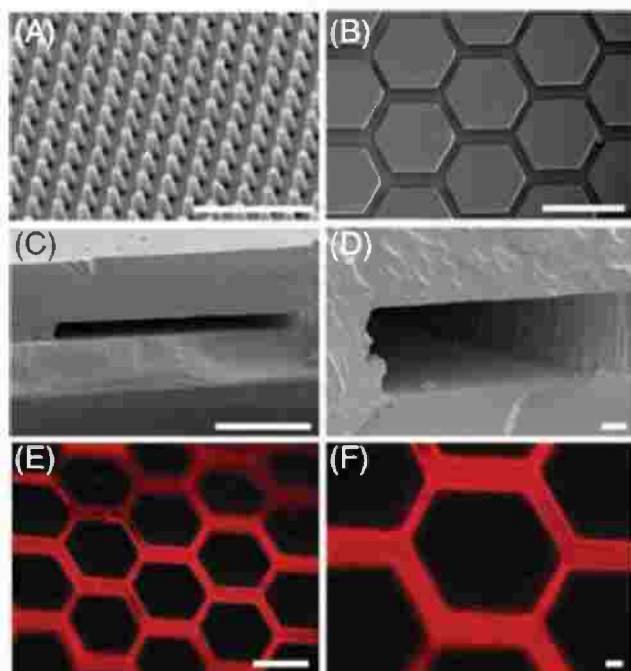
إن الميزات الرئيسية للبوليمرات الاصطناعية هي المجال الواسع من الخصائص والعمليات، والتي هي متوفرة من أجل الاستخدام في التصميم والتصنيع. إن البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) هو من بين المواد الحيوية الأولى المستخدمة في أنظمة الجريان المايكروفي القابلة للتحلل الحيوي [34]. فباستخدام تقنية النقش الساخن المعدلة، تمت قولبة طبقات البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) مع سمات في مستوى المايكرون وذلك باستخدام

قالب من البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS). إن تسخين البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) إلى درجة حرارة قريبة من نقطة الذوبان (melting point) جنباً إلى جنب مع كميات مناسبة من الضغط الميكانيكي قد أدى إلى انصهار البوليمر عند السطح البيني الفاصل. ومن ثم يتم تصفيح طبقات متعددة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) مع بعضها البعض باستخدام عملية الربط الدقيق بالانصهار الحراري وذلك لتشكيل قنوات الجريان المايكروبي المغلقة. وقد تم تطوير عمليات ربط ونقش المذيب من أجل حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجريان المايكروبي (microfluidic scaffolds) والتي تتألف من البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) والبولي (حمض الغليكولايد) (PGA) والبوليمرات المشتركة المقابلة لبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) [35,36]. وقد تم كذلك تطوير قوالب النسخة المطابقة للأصل (RM) وعمليات التصفيح من أجل تصنيع حاملات خلايا وأنسجة ذات جريان مايكروبي مبدورة بالخلايا من بوليمرات مرنة مُجهّزة حراريًا وقابلة للتحلل الحيوي. وقد تم تصنيع بُنى ذات طبقة واحدة وُبنى متعددة الطبقات باستخدام البولي (غليسيرول-كو-حمض السيباسيك) (PGS)، والتي تم استخدامها لدعم مزرعة خلايا طويلة الأمد ذات تدفق أو حقن متواصل (long-term perfused cell culture) داخل لُمعة (lumen) (تجويف) القنوات المايكروبية (microchannels) [37]. وقد أظهرت هذه الأنظمة القدرة على دعم أنواع متعددة من الخلايا بما في ذلك الخلايا البطانية (endothelial cells) والخلايا الكبدية (hepatocytes).

(٤,٢,٣,٢) حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجريان المايكروبي باستخدام بوليمرات طبيعية Microfluidic Scaffolds Using Natural Polymers

تُوفر المواد الحيوية الطبيعية العديد من المزايا زيادة على البوليمرات الاصطناعية المستخدمة كمادة منصة أو قاعدة (platform) من أجل حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجريان المايكروبي. وعادةً ما تتألف المواد الحيوية الطبيعية من البروتينات التي يمكن أن تدعم عادةً الارتباط السريع بالخلايا وتملك الطاقات الحركية المرغوبة للتحلل بما في ذلك الفترات الزمنية الطويلة للتحلل والمنتجات الثانوية غير السامة. وكما هو الحال في البوليمرات الاصطناعية، فإن تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة باستخدام المواد الحيوية الطبيعية يتطلب تكييف تقنيات مبتكرة للحفر اللين (الطري) (soft - lithography techniques) من أجل قوالب وتصفيح طبقات أفلام البروتين (طبقات رقيقة من البروتين). وقد تم تصنيع أجهزة جريان مايكروبي من الجيلاتين، وهو عبارة عن بروتين يتألف بشكل أساسي من الكولاجين، وتم بذرها بخلايا ظهارية فأرية ثديية طبيعية (normal murine mammary epithelial cells - NMuMG). إن شكل أو مورفولوجيا الخلايا الظهارية الفأرية الثديية الطبيعية (NMuMG) الملاحظ في مزرعة خلايا ذات جهاز جريان مايكروبي مبني على الجيلاتين ومزرعة خلايا ساكنة كانت متشابهة. وعلى رغم أن الحافز من تصنيع هذه الأجهزة كان إنشاء بيئة مايكروبية أصيلة أكثر (مشابهة لتلك في الكائن الحي) من أجل تجارب زرع الخلايا في المختبر، فإنه من الممكن استخدام العمليات الخاصة بالمواد والمطورة لهذا الغرض من أجل تطوير حاملات خلايا وأنسجة متطورة. ويتم استخدام مادة حيوية طبيعية أخرى من أجل تصنيع حاملات خلايا وأنسجة ذات جريان مايكروبي هي فبروين الحرير (silk fibroin)، وهو عبارة عن بروتين ذي وزن جزيئي ٣٩١ كيلو دالتون (kDa) ويتم إنتاجه عن طريق دودة الحرير (Bombyx mori). إن فبروين الحرير هو مادة حيوية قابلة للتحلل الحيوي [38] وقد أظهر قدرة من أجل استخدامه كمادة حيوية في العديد من التطبيقات الطبية الحيوية [39] بما في ذلك استخدامه كمادة حيوية لحاملة الخلايا والأنسجة [40,41]. ويمكن تحويل فبروين الحرير، مثل العديد من البروتينات الطبيعية، إلى محاليل مائية. وقد تم استخدام محاليل فبروين الحرير المائية لإنتاج

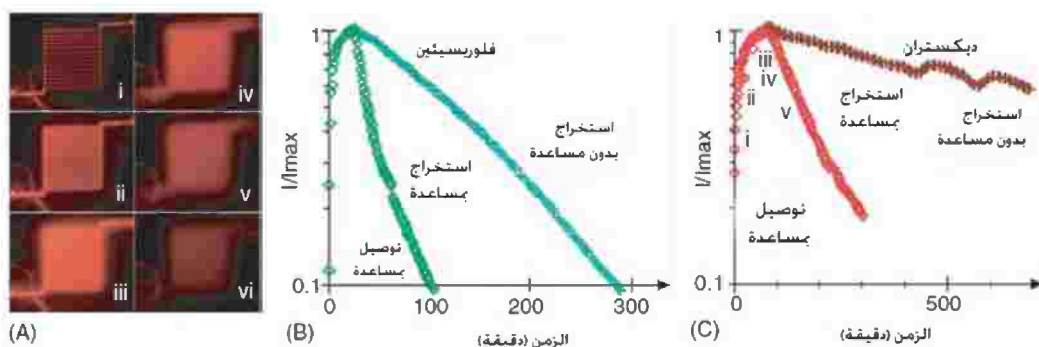
طبقات أفلام ذات سمات في مستوى المايكرون والنانومتر عن طريق قولبة النسخة المطابقة للأصل (RP) على قوالب رئيسية سلبية من البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) [23]. وقد تم ربط طبقات أفلام من فبروين الحرير غير المصفحة لتشكيل أجهزة ذات جريان مايكروي (الشكل رقم ٤.١). وقد تم بذر الخلايا الكبدية وزراعتها تحت التدفق المتواصل لغاية خمسة أيام، مع الحفاظ على مورفولوجيا أو شكل الخلايا وإنتاج الخلايا للألبومين للخلايا النامية في مزرعة ساكنة (static culture).



الشكل رقم (٤, ١). أجهزة جريان مايكروي مبنية من فبروين الحرير (silk fibroin - based microfluidic devices). يمكن استخدام قولبة النسخة المطابقة للأصل (replica molding) بالتعاون مع صب المذيب (solvent - casting) لخلايل مائية من فبروين الحرير على قوالب رئيسية مرنة (elastomeric masters) تم تصنيعها مايكروياً. تُنتج طبقات أفلام من فبروين الحرير المقولبة بالنسخة المطابقة للأصل خصائص أو سمات ذات بدقة عالية بما في ذلك (A) ركائز عامودية (أعمدة على شكل نتوءات) في مستوى النانو (nanoscale posts) مع أدنى عرض من ٤٠٠ نانومتر تقريباً، و (B) قنوات جريان (fluidic channels) في مستوى المايكرون، والتي تم استخدامها في تجارب لاحقة. (أطوال شريط المقياس هي ٥ مايكرومترات و ٥٠٠ مايكرومتر في كل من (A) و (B)، على التوالي). (C و D) صور مايكروية أو مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) للمقاطع العرضية (cross sections) لأجهزة تم تصنيعها مايكروياً (microfabricated devices) تُظهر الحفاظ على خصائص الأشكال الهندسية في طبقات أفلام رقيقة ذات قنوات مايكروية (microchannel) بعرض من حوالي (C) ٢٤٠ مايكرومتر و (D) ٩٠ مايكرومتر. (أطوال شريط المقياس هي ٢٠٠ مايكرومتر و ١٠ مايكرومترات في كل (C) و (D)، على التوالي). (E و F) أجهزة جريان مايكروي واضحة معروضة بصورة مايكروية مجهرية متألقة لأجهزة تم ترويتها بتدفق من محلول الرودامين (rhodamine solution). إن الحفاظ على سائل الإرواء (perfusate) ضمن القنوات المايكروية يقترح ربط قوي عند السطح البيني الفاصل (interface). (أطوال شريط المقياس هي ٥٠٠ مايكرومتر و ٥٠ مايكرومتر في كل (E) و (F)، على التوالي). (من (Bettinger, C.J. et al., *Adv. Mater.*, 19, 2847, 2007).

لقد تم وصف أجهزة ذات جريان مايكرومي تم تصنيعها من الجيلاتين ومن فبروين الحرير لدعم زرع الخلايا ضمن لمعة (تجويف) الأجهزة. إن قلة النفاذية (permeability) النسبية للسوائل ضمن هذه المواد الحيوية تمكن من التحكم الدقيق بالسوائل ضمن وحدات هذه الأجهزة. ويوفر عزل أو حجز السائل في لمعة الجهاز وحدها التزويد بالغذاء وإزالة الفضلات للخلايا المبذورة ضمن القنوات المايكروية للأجهزة. وعلى أي حال، فإن أحد التطبيقات الواعدة لحاملات الخلايا والأنسجة ذات الجريان المايكرومي هو استخدام النقل الكتلي بمساعدة الحمل (convection - aided mass transfer) من أجل حاملات هندسة الأنسجة ذات الحجم الكبير. إن تحقيق هذا المبدأ يتطلب تصنيع حاملات خلايا وأنسجة ذات جريان مايكرومي باستخدام مواد حيوية عالية النفاذية للماء. ولتحقيق هذه الغاية، فقد تم تصنيع أجهزة جريان مايكرومي باستخدام الألجينات (alginate) [25]، وهي عبارة عن عديد السكاريد (polysaccharide) تنشأ بشكل طبيعي وتم استخدامها على نطاق واسع في تطبيقات هندسة الأنسجة [42,43]. إن إحدى الخصائص المفيدة على وجه التحديد للمواد الحيوية المبنية من الألجينات هي القدرة على الربط المتشابك القابل للعكس (reversible crosslink) لهذه المواد باستخدام محاليل تحتوي على الكالسيوم وذلك للتحكم بخصائص المواد [44]. وقد تم تصنيع حاملات خلايا وأنسجة ذات جريان مايكرومي من الألجينات عن طريق قولبة النسخة المطابقة للأصل لطبقات أفلام من الألجينات متبوعة بعملية الربط بواسطة الربط المتشابك المحرض بأيونات الكالسيوم (calcium ion - induced crosslinking). ويتم سد أو إحكام إغلاق القنوات عبر الربط الكيميائي المتشابك عن طريق نزع الكالسيوم أولاً من كل الوجوه للتخلص من الروابط المتشابكة، ومن ثم تصفيح ألواح أو شرائح من الهلامات المائية مع بعضها بعضاً، وبعد ذلك إنتاج ارتباطات كيميائية عبر إضافة كلوريد الكالسيوم (calcium chloride). ويؤدي التدفق أو الحقن المتواصل للشبكة (الشكل رقم ٤.٢ A) باستخدام محاليل تحتوي على كل من المركبات ذات الوزن الجزيئي المرتفع وأخرى ذات الوزن الجزيئي المنخفض إلى مجموعة متنوعة من الإمكانيات لبروفيلات أو لأشكال التراكيز العابرة (transient concentration profiles) من خلال شبكة الهلام المائي (الشكل رقم ٤.٢ B و C). ويمكن ضبط المحددات أو البارامترات مثل الشكل الهندسي للتدفق (flow geometry) ومعدل التدفق الحجمي (volumetric flow rate) وتركيز المذاب (solute concentration) والوزن الجزيئي للمذاب (molecular weight of solute) وكثافة الربط المتشابك للهلام المائي (crosslinking density of hydrogel) وذلك من أجل التحكم بالإحداثيات المكانية والزمانية للتركيز. وتكمن الفائدة من استخدام مثل هذا النظام في القدرة على الإرواء أو التدفق المتواصل (perfuse) المحتمل لشبكة الهلام المائي المحيطة، والذي من المفترض أن يغطي بدوره الخلايا المبذورة، لتعزيز الإمداد بالغذاء والتخلص من الفضلات. وسيكون هذا التطبيق مفيداً على وجه الخصوص من أجل الخلايا ذات النشاط الاستقلابي العالي مثل الخلايا الكبدية. إن تطوير انتشار الجزيئات الحيوية بمساعدة الحمل من خلال الشبكات ذات الجريان المايكرومي باستخدام مواد حيوية طبيعية هو أساس التطوير في تقدم مجال حاملات الخلايا المهندسة نسيجياً والتي تكون قادرة على تجاوز القيود المكانية المحددة من خلال القيود على الانتشار. إن الانتشار السريع من خلال الشبكات سيدعم نمو الخلايا المغلفة (encapsulated cells) عبر الشبكة. وقد تم أيضاً تصنيع شبكات ذات جريان مايكرومي باستخدام الآغاروز (agarose) [45]، وهو عبارة عن عديد سكاريد غير متفرع ينشأ بشكل طبيعي ويتواجد في جدار خلايا بعض الكائنات الدقيقة (microorganisms). وبشكل مشابه للألجينات، فإن الآغاروز هو عبارة عن بوليمر طبيعي يمكن صبه في هلامات نفوذة (تسمح بالنفوذ) (permeable gels). وقد تم تصنيع شبكات ذات جريان مايكرومي باستخدام عمليات قولبة النسخة المطابقة للأصل جنباً إلى جنب مع تقنيات التصفية الفيزيائية. إن هذه المعالجة المائية المعتدلة هي ميزة تمكن من المساعدة على تغليف الخلايا مع قابلية كافية للحياة والنمو. وقد تم تصنيع شبكات ذات جريان مايكرومي من الألجينات مع خلايا كبدية فأرية مغلفة

(AML-12) وتم إروائها بشكل متواصل بوسط التغذية. وقد كانت قابلية الخلايا للحياة والنمو في الشبكات التي يتم ترويتها بالحقن أو التدفق المتواصل ٥٨٪. بينما بقيت قابلية الخلايا للحياة والنمو (cell viability) في الشبكات الساكنة (static networks) أقل من ٢٠٪. وذلك في اليوم الثالث بعد عملية بذر الخلايا. ويوضح العمل الموجز في هذا القسم، بالإضافة إلى أعمال أخرى لم يتم الإشارة إليها هنا، المنفعة المحتملة من استخدام حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجريان المايكروفي التي يتم ترويتها بالتدفق أو الحقن المتواصل كأداة من أجل الجيل التالي من حاملات هندسة الأنسجة والتي تهدف إلى تجاوز القيود القائمة منذ فترة طويلة.



الشكل رقم (٤,٢). وصف خصائص النقل الكتلي (mass transfer) في مادة حيوية ذات جريان مايكروفي (μ FBM) مُصنَّعة من أجهزة جريان مايكروفي من الألجينات (alginate microfluidic devices). (A) صور مجهرية تألقية لمادة حيوية ذات جريان مايكروفي (μ FBM) أثناء التوصيل بمساعدة (assisted delivery) (i-iii) والاستخلاص أو الطرح بمساعدة (assisted extraction) (iv-vi) مادة الـ (RITC - dextran). يشير التوصيل بمساعدة إلى النمط التشغيلي للجهاز، والذي يتم فيه إرواء أو تدفق المذاب من خلال القنوات المايكروية وينحل في كل مكان من الشبكة. ويشير الاستخلاص أو الطرح بمساعدة إلى النمط التشغيلي حيث تتم إزالة المذاب المحل داخل شبكة الألجينات عن طريق الإرواء أو التدفق بالحقن المتواصل لشبكة القنوات المايكروية مع محلول مائي. تقابل هذه الأنماط حالات التزويد بالغذاء وإزالة الفضلات، على التوالي. إن معدل الانتشار (rate of diffusion) هو بشكل أساسي وظيفة للوزن الجزيئي للمذاب (solute molecular weight) وكثافة الترابط المتشابك للشبكة (crosslinking density of the network) وتركيز المذاب في محلول الإرواء المتدفق (solute concentration in the perfused solution) ومعدل التدفق لوسط التغذية المتدفق (flow rate of the perfused medium). (B و C) التطور الزمني للشدة الكلية الطبيعية من الصور المتألقة، مثل تلك الصور في (A)، أثناء توصيل واستخلاص أو طرح المواد المذابة (الفلوريسئين (fluorescein)، مُلوّن متألّق، الوزن الجزيئي $MW = 376$ Da؛ (RITC - dextran)، الوزن الجزيئي $MW = 70$ kDa). تمثل الرموز الأمامية على المخطط الشدات أثناء التوصيل بمساعدة والاستخلاص أو الطرح بمساعدة. بينما تمثل رموز التقاطع على المخطط الشدات أثناء الاستخلاص أو الطرح بدون مساعدة (unassisted extraction) من نفس الشرط الأولي (أي المنحرفة عن طريق التوصيل عبر القنوات) كما هو في تجربة الاستخلاص أو الطرح بمساعدة. وقد تم إزاحة زمن البدء للتفريغ بدون مساعدة (unassisted evacuation) ليطابق ذلك الزمن في الاستخلاص أو الطرح بمساعدة. إن أبعاد البنية هي كالتالي؛ ارتفاع الهلامية $H = 0.29$ cm، والبعد الجانبي للهلامية $L = 1$ cm، وارتفاع القناة المايكروية $h = 200$ μ m، وعرض القناة $w = 100$ μ m. السرعات الخطية (flow velocities) لتدفق السائل خارج البنية هي $u_r = 1$ cm/s، بينما سرعة السائل داخل القنوات المايكروية هي $u_c = 0.6$ cm/s. وتركيز المذاب هي $c_0 = 20$ μ mol/L من أجل الفلوريسئين و 10 μ mol/L من أجل الـ (RITC - dextran). (تمت إعادة إنتاجها من Cabodi, M. et al., J. Amer. Chem. Soc., 127, 13788, 2005).

(٤,٢,٣,٣) مستقبل أنظمة الجريان المايكرو في هندسة الأنسجة Future of Microfluidic Systems in Tissue Engineering

لقد ركز النمو السريع لاستخدام الجريانات المايكروية كأنظمة هندسية وبشكل كبير على تصغير التحليل الجزيئي (molecular analysis) والجينومات (genomics) والأجهزة المحمولة من أجل حساسات حيوية قابلة للانتشار الحقل (field - deployable biosensors) وربط معالجة السوائل مع أنظمة إلكترونية ميكانيكية مايكروية (MEMS - microelectromechanical systems) وذلك من أجل تحسين الأتمتة (automation) (المعالجة الآلية) [46]. وعلى أي حال، يمكن أن يستفيد مجال هندسة الأنسجة أيضًا وبشكل كبير من التقدم في تقنية الجريانات المايكروية، نظرًا إلى أن المواد الحيوية والعمليات المتوافقة حيويًا الملائمة تكون مرتبطة بطرق التصنيع المايكروية التقليدية. إن التحديات التي تواجه تطبيقات الجريانات المايكروية من أجل تصنيع حاملة خلايا وأنسجة متقدمة توازي تلك التحديات التي واجهت صناعة الإلكترونيات المايكروية الدقيقة (microelectronic) في منتصف القرن العشرين. وتوجد هناك مشاكل تقليدية تواجه أي حقل دراسة مبني على التصنيع المايكروية بما في ذلك زيادة إنتاجية الجهاز (device yield) والتغليف (packaging)، وهو المصطلح من أجل ربط الأدوات المايكروية العيانية (macroscopic) بشكل سلس مع الأجهزة التي تعمل بأبعاد طولية مايكروية. وهناك حجر أساس جوهري آخر لتطوير الجيل التالي لحاملات الخلايا والأنسجة ذات الجريان المايكروية وهو التصميم والتركيب والتحقق من صحة قدرات المواد والعمليات الجديدة. إن تطبيق البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) كمادة من أجل تصنيع أجهزة جريان مايكروية [13] والمعدة من أجل تطبيقات تحليلية وتشخيصية كان أساسيًا لأن البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) قد وُفّي بمعايير اختيار المادة المنصوص عليها عن طريق الاحتياجات الجماعية للمستخدم النهائي. إن المرحلة المتوسطة لتبني أو تطبيق الجريانات المايكروية من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة هي تصميم وتصنيع بنية هندسية مايكروية معقدة من أجل زرع الخلايا باستخدام مواد هندسية تقليدية، مثل البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) الذي تم ذكره سابقًا. على سبيل المثال، لقد تم إنجاز الكثير من العمل في إنشاء بيئات مايكروية مصممة (designer microenvironments) من أجل الخلايا الكبدية ضمن أجهزة ذات جريان مايكروية [47,48]. هذه الأنظمة، ورغم أنها في النهاية مقيدة بموادها غير العضوية وغير القابلة للتحلل الحيوي، فهي مفيدة من أجل دراسة الشروط المثالية بما في ذلك التأثيرات البيئية المايكروية (microenvironmental effects) مثل إجهاد القص (shear stress) ونقل الكتلة (mass transport) والزراعة المشتركة (coculture). وقد تجاوز Lee وآخرون الأشكال الهندسية التقليدية للجريان المايكروية من أجل تصنيع جهاز يحاكي الشكل الهندسي في الجسم الحي وخصائص نقل الكتلة في الجيوب الكبدية (liver sinusoid) [49]. وعلى الرغم من أن هذه الأنظمة وغيرها هي غير قابلة للتطبيق بشكل مباشر في تطبيقات هندسة الأنسجة وتطبيقات تجديد الأعضاء، إلا أن التطورات التقنية المحيطة بالتصميم والتصنيع وتقنيات زراعة الخلايا بهذه الأجهزة تستمر في تمهيد الطريق من أجل أنظمة مستقبلية مهندسة نسيجياً قابلة للتطبيق بشكل مباشر. وعلى أي حال، يتطلب استخدام الجريانات المايكروية من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة مجموعة أكثر صرامة من متطلبات المواد. إن المواد المستخدمة من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة ذات الجريان المايكروية ستكون وبشكل مثالي قابلة للارتشاف (resorbable) وتشجع على ارتكاز أو ارتباط الخلايا (cell attachment) وتسمح بتعديل السطح (surface modification) وتكون قابلة للمعالجة السهلة. وستستمر هذه الاحتياجات غير

المحققة في قيادة البحث الفعّال في تركيب وتطوير المواد الحيوية الاصطناعية بالإضافة إلى تنقية (purification) وتحديد خصائص (characterization) المواد الحيوية الطبيعية. وبالإضافة إلى تطوير المواد، يجب أن تتم متابعة التقدم أيضاً في عمليات المواد وذلك من أجل السماح باستراتيجيات تصنيع مايكروفي فعّالة للمواد الجديدة. فعلى سبيل المثال، يجب القيام بالتوسع إلى أنظمة جريان مايكروفي ثلاثية الأبعاد متقدمة باستخدام البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) [50] وذلك من أجل تسهيل استراتيجيات مشابهة باستخدام مواد قابلة للتحلل الحيوي. وبشكل عام، فإن تطوير استراتيجيات موازية من أجل تركيب ومعالجة مواد حيوية جديدة متوافقة مع الخلايا سيؤدي إلى إنتاج حاملات خلايا وأنسجة متقدمة ذات جريان مايكروفي وإلى مزيد من تطوير حاملة الخلايا والأنسجة وفي نهاية المطاف سيؤدي إلى تطوير هندسة الأنسجة.

(٤,٢,٤) الحفر اللين (الطري) للمواد الحيوية Soft Lithography of Biomaterials

تكمّن عمليات التشكيل أو الزخرفة بالحفر الضوئي (photolithographic patterning processes) عند حجر الزاوية لأنظمة في مستوى المايكرون كواحدة من الأدوات الأكثر تطبيقاً على نطاق واسع من أجل إنتاج بُنى مصنعة مايكروياً. لقد تم نقل مبادئ الحفر الضوئي التقليدي بشكل مباشر إلى تطبيقات طبية حيوية من أجل استخدامها في التشكيل أو الزخرفة الانتقائية (selective patterning) للبروتينات والمواد الحيوية الاصطناعية والمواد الحيوية المبذورة بالخلايا. تنطوي إحدى هذه التقنيات على استخدام التنشيط الضوئي (photoactivation) لإنتاج مناطق نشطة موضعياً يمكن أن تُثبت البروتينات والجزيئات الحيوية الأخرى بسهولة. وعلى الرغم من فعاليتها، فإن بدائل التطعيم الضوئي (photografting) للجزيئات الحيوية سوف تثبت أنها مفيدة لتعزيز المعالجة السريعة والقابلة للتجسيم (لتغيير القياس) وغير المكلفة مع الحفاظ على النشاط البيولوجي لأنواع العينات. إن الطباعة بالاتصال المايكروفي (μ CP - microcontact printing)، والتي تم تطويرها في الأساس من أجل تشكيل أو زخرفة أنواع العينات الكيميائية [51]، تم تعديلها منذ ذلك الحين من أجل تشكيل أو زخرفة الجزيئات الحيوية [52]. ويتم جمع الطباعة بالاتصال المايكروفي (μ CP) والعمليات المرتبطة بها معاً في تقنية عامة تُعرف باسم الحفر اللين (الطري) (soft lithography). وقد أدّى تشكيل أو زخرفة المواد البيولوجية باستخدام الحفر اللين (الطري) من خلال تقنيات متنوعة إلى إنتاج حاملات هندسة أنسجة متقدمة. ويُظهر الجدول رقم (٤.١) موجز عن العمليات التي تستخدم الحفر اللين (الطري) والتقنيات المرتبطة بها.

الجدول رقم (٤,١). مقارنة بين تقنيات التشكيل (الزخرفة) المايكروية (micropatterning) للمواد الحيوية من أجل استخدامها في تصنيع وتطوير حاملة هندسة الأنسجة.

التقنية	نمط التشكيل أو الزخرفة	المواد المتوافقة	دقة التباين الصغرى للميزة	المراجع
قوالب النسخة المطابقة للأصل (Replica molding - RM)	قالب رئيسي من (Silicon / PDMS)	بوليمرات طبيعية واصطناعية	30 nm	[13,22,23,26,34,37,143]
طباعة بالاتصال المايكروي (Microcontact Printing - μ CP)	طبعة من (PDMS)	جزئيات صغيرة، بوليمرات، بروتينات	35 nm (جزئيات صغيرة، بروتينات)	[52,144]
	طبعة من الآغاروز	خلايا	10 - 15 μ m (خلايا مفردة)	[58]
حفر بالقوة الشعرية (Capillary force Lithography - CFL)	طبعة من (PDMS)	بوليمرات، بوليمرات حيوية	100 nm	[57,62,63]
تشكيل أو زخرفة بالجريان مايكروي (Microfluidic patterning)	جريانات مايكروية باستخدام (PDMS) ثلاثي الأبعاد	جزئيات صغيرة، بروتينات، خلايا	3 - 10 μ m (بروتينات) 15 - 50 μ m (خلايا)	[67,68,128-130]
تشكيل أو زخرفة مايكروية بالمرسام (Stencil micropatterning)	مرسام من (PDMS)	خلايا	100 μ m	[65,66]
حفر نانوي بالقلم المنغمس (Dip - pen Nanolithography - DPN)	رأس مجهر القوة الذرية (AFM tip)	جزئيات صغيرة، بروتينات	10 nm	[86,89-145]

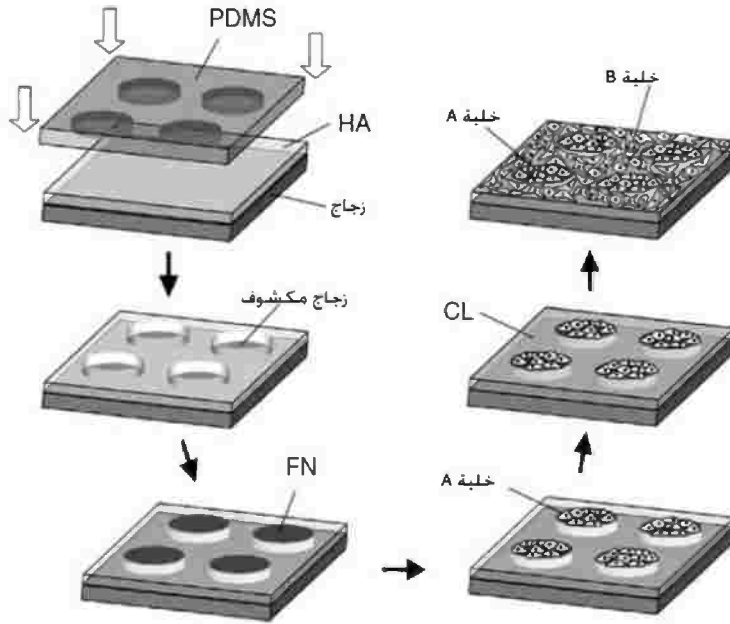
(٤,٢,٤,١) الطباعة بالاتصال المايكروي Microcontact Printing

إن الطباعة بالاتصال المايكروي (μ CP) هي الترسيب المباشر (direct deposition) للجزئيات باستخدام ختم أو طبعة مرنة (elastomeric stamp) مقلوبة بالنسخة المطابقة للأصل، وعادةً ما يتم صنعها من البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS)، وعلى الرغم من أن الطباعة بالاتصال المايكروي (μ CP) قد تم استخدامها منذ منتصف التسعينيات من أجل تشكيل أو زخرفة الجزئيات، إلا أن هذه التقنية قد تم تطبيقها فقط منذ عهد قريب في تطبيقات هندسة الأنسجة. وقد تم توظيف الطباعة بالاتصال المايكروي (μ CP) عادةً في هذا الصدد عبر التشكيل أو الزخرفة المايكروية لبروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) التي تعزز الالتصاق وذلك من أجل الالتصاق الانتقائي للخلايا (selective adhesion of cells). وقد تم وصف الطباعة بالاتصال المايكروي (μ CP) على مجموعة متنوعة من المواد الحيوية بما في ذلك بولي (حمض اللاكتيك) (PLA) وبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) [53]، وحتى على مستوى الأنسجة البشرية [54]. وقد أظهرت البروتينات المشكّلة أو المزخرفة باستخدام هذه الطريقة قدرتها على التحكم بشكل الخلايا (cell morphology) وانتشارها (spreading) وأبعادها

الهندسية (geometry) [55] وترتيبها المكاني (spatial arrangement) وتوجيهها النسبي [56] (relative orientation). وقد تم كذلك استعراض الطباعة بالاتصال المايكروفي (μ CP) لبروتينات متعددة. وقد أدى تشكيل أو زخرفة البروتين متعدد الخطوات باستخدام الطباعة بالاتصال المايكروفي (μ CP) والمتبوعة بردم أو ملء (backfilling) بروتينات إضافية من خلال تقنيات الطبقة - تلو - الطبقة (layer - by - layer techniques) إلى القدرة على تطوير أنظمة زراعة مشتركة بشكل دقيق مع تفاعلات الخلايا - الخلايا غيرية النمط (heterotypic) محددة بشكل جيد [57]. وربما تُثبت القدرة على التحكم بمورفولوجيا أو شكل الخلايا المفردة وتوجيهها وتفاعلات الخلايا - الخلايا أنها حاسمة في هندسة بيئات مايكروية محاكية حيويًا ضمن حاملات هندسة الأنسجة. ولذلك فقد تم أيضًا تبني التقدم في الطباعة بالاتصال المايكروفي (μ CP) من أجل استخدامها في التشكيل أو الزخرفة المباشرة للخلايا [58]. وقد استعرض Stevens وآخرون استخدام طبقات الآغاروز المرنة (elastomeric agarose stamps) المقبولة بالنسخة المطابقة للأصل من أجل الترسيب المباشر للخلايا البشرية البانية للعظم (human osteoblasts) على حاملات خلايا وأنسجة مسامية من الهيدروكسي آباتيت (porous hydroxyapatite scaffolds) من أجل التطبيقات في هندسة أنسجة العظم. يسلط هذا العمل الضوء على منافع استخدام مواد "صديقة للخلايا" ("cell - friendly") في الطباعة بالاتصال المايكروفي (μ CP) والتي تسمح بتشكيل أو زخرفة سريعة وذات خطوة واحدة لخلايا الثدييات. وسيتم تناول موضوع التشكيل أو الزخرفة المباشرة للخلايا بمزيد من التفصيل في فقرات لاحقة من هذا الفصل.

(٤,٢,٤,٢) الحفر بالقوة الشعرية وتقنيات الحفر اللين (الطري) الأخرى Capillary Force Lithography and Other Soft Lithography Techniques

هناك أيضًا عدد من التقنيات المشتقة التي ترتبط بالطباعة بالاتصال المايكروفي (μ CP) والمصممة من أجل بُنى بوليمرية مُصنَّعة بدقة عالية باستخدام قوالب مرنة (elastomeric molds) ومرسامات أو استنسل (stencils) وركائز (substrates). وتتضمن هذه التقنيات القوالب المايكروية في الشعيرات المايكروية (MIMIC - micromolding in microcapillaries) [59] والقوالب بالاتصال المايكروفي بمساعدة المذيب (SAMIM - solvent - assisted microcontact molding) [60] والقوالب بالنقل المايكروفي (microtransfer molding - μ TM) [61]. وعلى أي حال، فإن إحدى التقنيات والتي هي بصورة خاصة مفيدة من أجل تطوير حاملة الخلايا والأنسجة هي الحفر بالقوة الشعرية (capillary force lithography - CFL)، وهي تقنية حفر لين (طري) مُكمَّلة للطباعة بالاتصال المايكروفي (μ CP) [62]. وكما هو الحال في الطباعة بالاتصال المايكروفي (μ CP) يمكن استخدام الحفر بالقوة الشعرية (CFL) من أجل تشكيل أو زخرفة البنى مع أحجام سمات أو خصائص تصل إلى أقل من ١٠٠ نانومتر في مجموعة متنوعة من المواد البوليمرية. ويستخدم الحفر بالقوة الشعرية (CFL) قوالب مرنة لحجز أو عزل البوليمرات في فراغات القالب، والذي يُنتج بُنى مايكروية بعد إزالة القالب. إن الحفر بالقوة الشعرية (CFL) مفيد على وجه الخصوص في تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة؛ نظرًا للارتفاعات الكبيرة للسمات أو الخصائص (large feature heights) التي يمكن إنجازها بالإضافة إلى المصفوفة الكبيرة (large array) للمواد الحيوية المتوافقة [63]. فعلى سبيل المثال، تم استخدام هذه التقنية من أجل التشكيل أو الزخرفة المايكروية لمواد حيوية مُنْفَرَّة أو طاردة (repellant biomaterials) مثل بولي (غليكول الإيثيلين) - PEG (poly(ethylene glycol)) وحمض الهالورونيك (hyaluronic acid - HA)، والتي عندما تُستخدم بالاشتراك مع بروتينات الالتصاق (الشكل رقم ٤.٣)، يمكن أن يتم استخدامها لتشكيل أو زخرفة الخلايا بشكل انتقائي [64].



الشكل رقم (٣، ٤). مخطط تصنيع نظام زراعة الخلايا المشترك (coculture system) باستخدام الحفر بالقوة الشعرية (capillary force) lithography) وترسيب الطبقة - تلو - الطبقة (layer - by - layer deposition). ويمكن الجمع بين أنواع متعددة من تقنيات الحفر اللين (الطري) لتشكيل مجموعة متنوعة من أنظمة الزراعة المشتركة للخلايا. يستعرض هذا المخطط واحد من هذه الأمثلة، والذي يتم فيه الجمع بين التشكيل أو الزخرفة بالحفر بالقوة الشعرية لحمض الهيالورونيك (HA) والترسيب طبقة - تلو - الطبقة لبروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) لزخرفة حمض الهيالورونيك وذلك من أجل إنشاء مزرعة مشتركة خلايا الأرومة الليفية (3T3 fibroblasts) والخلايا الجذعية الجنينية الفأرية (murine embryonic stem cells). وبشكل مختصر، فقد تم غزل بضع قطرات من محلول حمض الهيالورونيك (HA) وطلاؤها على شريحة من الزجاج، وتم وضع قالب من البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) مباشرة على طبقة حمض الهيالورونيك (HA) الرقيقة. وقد تراجع حمض الهيالورونيك (HA) تحت المساحة الفارغة لقالب البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) إلى أن أصبح السطح الزجاجي مكشوفاً. وقد تم تغليف أو طلاء المنطقة المكشوفة على الركيزة الزجاجية بمادة الفيرونيكتين، حيث يمكن للخلايا الأولية أن تلتصق بشكل انتقائي. وبعد ذلك، تم تجميع سطح حمض الهيالورونيك (HA) مع الكولاجين، مما يسمح بالالتصاق اللاحق للخلايا الثانوية. إن هذا الإجراء هو إجراء عام ويمكن تكييفه عملياً لأي زوج من أنواع الخلايا. (تمت إعادة إنتاجها من Fukuda, J. et al., *Biomaterials*, 27, 1479, 2006).

وقد أدى انتشار التصنيع المايكروني ومختبرات تقنيات المايكرو والكلفة المنخفضة للمواد إلى العديد من الاختلافات في تقنيات الحفر اللين (الطري). وقد توسع الحفر اللين (الطري) إلى ما هو أبعد من تقنيات الختم أو الطبع البسيطة من أجل التشكيل أو الزخرفة المباشرة للبروتينات والخلايا. وقد طور Folch وآخرون مرسامات (استنسل) مرنة (elastomeric stencils) مصنعة مايكروياً باستخدام بولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) وذلك من أجل تشكيل أو زخرفة خلايا ثديية على ركائز ثنائية الأبعاد [65]. وبعد التغلب على التحديات التقنية المرتبطة بالطبيعة غير المتوافقة الكارهة للماء (hydrophobic) للبولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) والبيئة المائية للمواد الحيوية، تم تشكيل أو زخرفة الخلايا على

مجموعة متنوعة من مواد الركائز مع درجات انحناء أو تقوس (curvatures) مختلفة بما في ذلك الذهب والبوليسترين (polystyrene) وهلامات الكولاجين. وقد تم استخدام التشكيل أو الزخرفة المايكروية باستخدام مرسامات أو استنسل مرنة في مزرعة مشتركة من الخلايا الكبدية مع خلايا كُوفّر (Kupffer cells) (خلايا وعائية كبدية) وذلك لتحسين وظيفة الخلايا الكبدية في المختبر [66]. وقد استخدم Chiu وآخرون أجهزة جريان مايكروفي معقدة من أجل التشكيل أو الزخرفة المايكروية لبروتينات وخلايا متعددة [67]. وقد استخدمت هذه التقنية دارات جريان مايكروفي ثلاثية الأبعاد (3D microfluidic circuits) معقدة والتي تم تركيبها على الركيزة ليتم تشكيلها أو زخرفتها. وبعد ذلك تم ضخ محاليل من البروتينات المتعددة في جميع أنحاء الشبكة، بحيث يحدث الامتزاز أو الامتصاص بشكل انتقائي (selectively adsorbing) للركيزة فقط في المناطق المحددة من خلال بُنى الجريان المايكروفي (microfluidic structures). ويمكن أن يتم بعد إزالة البنية لإظهار الركيزة النهائية المشكّلة أو المزخرفة. لقد تم تطوير هذه الطريقة سابقاً من قبل Delamarche وآخرون وذلك من أجل تشكيل أو زخرفة الغلوبولين المناعي (immunoglobulins) [68].

(٤,٢,٤,٣) تطبيقات الحفر اللين (الطري) في تطوير حاملة الخلايا والأنسجة Applications of Soft Lithography in Scaffold Development

سيستمر الحفر اللين (الطري) في لعب دورٍ مهمٍّ في تطبيقات الهندسة الطبية الحيوية الأساسية والتطبيقية. فعلى سبيل المثال، لقد ساعد تشكيل أو زخرفة البروتينات في توضيح أساسيات بيولوجيا الخلايا من خلال استخدام بيئات مايكروية مُصممة (تركيبية). وسيعمل الحفر اللين (الطري) أيضاً في مساعدة فحوصات التَحَرِّي عالية الإنتاجية (high - throughput screening assays) من أجل تطوير الدواء أو ترسيب المواد الحيوية من أجل دراسات تمايز الخلايا [69,70]. وعلى الرغم من أن الحفر اللين (الطري) قد تم استخدامه لوضع الأرضية من أجل الدراسات الأساسية في بيولوجيا الخلايا، إلا أن التطبيق المباشر للحفر اللين (الطري) في هندسة الأنسجة من خلال تطوير حاملة خلايا وأنسجة متقدمة كان إلى حدٍّ ما محدوداً. إن السبب في ذلك هو بشكلٍ رئيسي ناتج عن الطبيعة ثنائية الأبعاد الكامنة في هذه التقنيات، والتي سبق وأن تمت الإشارة إليها. وبما أنه لا يزال يتم تطوير نماذج من أجل هندسة أنسجة أعضاء معقدة في الأبعاد الثلاثة، فإن الحفر اللين (الطري) سوف يحتاج إلى أن يحذو حذوها إذا أُريد له أن يحظى بدورٍ مهمٍّ في الجيل التالي من حاملات الخلايا والأنسجة.

(٤,٢,٥) الترسيب الكهربائي للمواد الحيوية Electrodeposition of Biomaterials

لقد تم استخدام عمليات الترسيب الكهربائي (electrodeposition processes) بالاشتراك مع الحفر الضوئي وعلى نطاقٍ واسعٍ في التصنيع المايكروفي التقليدي في عملية أُطلق عليها مصطلح (LIGA). إن (LIGA) هو أوائل حروف الكلمات الألمانية (Lithographie, Galvanoformung, Abformung) والتي تُترجم في اللغة الإنجليزية إلى الكلمات "lithography, electroplating, and molding" أي "الحفر، والتلييس (الطلاء) الكهربائي أو التشكيل الغلفاني، والقولبة". ويتم استخدام (LIGA) في تصنيع البنى مع سمات أو خصائص ذات أحجام تقع بين القطع (الحفر) الآلي المايكروفي (micromachining) لسطح من السيليكون والقطع (الحفر) الآلي المايكروفي الدقيق (precision micromachining). ويتم استخدام (LIGA) للبنى المصنّعة مع أبعاد جانبية

بعرض من بضعة مايكروونات وعدة ميليمترات، وهي تؤدي إلى إنتاج بُنى ذات نسبة جانبية عالية للغاية. ويمكن تصنيع مجموعة واسعة من المواد باستخدام (LIGA) بما في ذلك المعادن والسبائك المعدنية (metal alloys) والبلاستيك (اللدائن) والسيراميك. وقد تم استعراض (LIGA) وكذلك العمليات المرتبطة بها من أجل القطع أو الحفر الآلي المايكروني عالي الدقة باستخدام مواد هندسية تقليدية على نحوٍ واسع في مكان آخر [71]. وقد كان هناك اهتمام في الآونة الأخيرة في استخدام بوليمرات قابلة للتحلل الحيوي ومُوصلة كهربائياً (eclectically conducting) في هندسة الأنسجة [72,73]، مع اهتمام خاص في تطبيقات تجديد الأنسجة العصبونية (neuronal tissue regeneration) [19]. وتُقدم (LIGA) طريقة مناسبة من أجل التصنيع المايكروني لبوليمرات مُوصلة كهربائياً من أجل استخدامها إما كبذائيات (بدائل) عصبية (neural prosthetics) وإما كحاملات خلايا وأنسجة عصبية وذلك للمساعدة في توجيه نمو العصب من أجل التطبيقات في تجديد الأعصاب المحيطية (peripheral nerve regeneration). وفي العمل المقدم من قبل Lavan وآخرين تم ترسيب البولي (بيروكس) (poly(pyrrole) - PPy) كهربائياً، وهو بوليمر مُوصّل كهربائياً يُستخدم على نطاقٍ واسع في التطبيقات الطبية الحيوية [18,74]، على جُزُر من الذهب (gold islands) تم بناؤها أو زخرفتها مايكروياً وذلك لتشكيل بُنى من البولي (بيروكس) (PPy) في مستوى المايكرون على ركيزة من السيليكون [75]. إن هذه العملية هي قادرة أيضاً على التشكيل الكهربائي لبُنى ثلاثية الأبعاد مع ارتفاعات متفاوتة للسمات وذلك عن طريق تصميم التباعد المناسب للسمات الموصلة على الركيزة العازلة. إن التصنيع المايكروني لمادة مُوصلة كهربائياً يمكن أن يملك مجموعة متنوعة من التطبيقات بما في ذلك التشكيل أو الزخرفة المايكروية (micropatterning) وتوجيه اتصال العصبونات (contact guidance of neurons). وعلى الرغم من أنه توجد هناك حالياً مجموعة واسعة من البوليمرات الموصلة والمتاحة من أجل التطبيقات الطبية الحيوية، إلا أنه يوجد هناك الكثير من القيود التي تحول دون الاستخدام واسع الانتشار للبوليمرات الموصلة في هندسة الأنسجة بما في ذلك المعدلات البطيئة للتحلل الحيوي والخصائص الميكانيكية الهشة والارتكاز أو الالتصاق الضعيف للخلايا في بعض الحالات. إن قصور هذه المواد والتحريك من أجل مواد حيوية مُوصلة قابلة للزرع أو الغرس سيدفع أيضاً إلى تطوير عمليات جديدة للمواد الموصلة من أجل مجموعة مشابهة من تطبيقات هندسة الأنسجة العصبونية (العصبية) (neuronal tissue engineering). وكما هو الحال مع العمليات الأخرى للمواد، يجب أن يُصاحب التحرك لتطوير المواد بالسعي وعلى التوازي للحصول على قدرات معالجة جديدة للمواد.

(٤,٢,٦) تقنيات التشكيل (الزخرفة) المتقدمة Advanced Patterning Techniques

يمكن لقلوبة النسخة المطابقة للأصل (RM) وللحفر اللين (الطري) مجتمعين معاً إعادة تشكيل سمات تكون ذات دقات تباين مناسبة من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة والخلايا. وتوجد هناك تطبيقات أخرى يمكن أن تعيد إنتاج سمات في مستوى ما دون المايكرون من دون الحاجة إلى عمليات الحفر الضوئي. عوضاً عن ذلك، تُوظف هذه التقنيات تجهيزات أو أدوات دقيقة لإنجاز دقة تباين للسمات في مستوى المايكرون وما دون المايكرون. وعلى أي حال، وكما هو الحال في عمليات الحفر الضوئي، فإن هذه التقنيات تكون مقصورة بشكلٍ أساسي على تشكيل أو زخرفة السطوح ثنائية الأبعاد.

(٤,٢,٦,١) القطع (الحفر) الآلي المايكروفي بأشعة الليزر Laser Micromachining

إن القطع أو الحفر الآلي المايكروفي باستخدام أشعة الليزر (laser micromachining) هو عملية حفر من الأعلى إلى الأسفل من أجل الإنتاج السريع لسمات أو خصائص في مستوى المايكرون. ويتم إنجاز فصل أو جَدّ البوليمرات بأشعة الليزر (laser ablation of polymers) عادةً باستخدام أنواع من أشعة ليزر فوق البنفسجية (UV laser) مثل الإكزامير (excimer) والآرغون - أيون (argon - ion) والفلورين (fluorine) والهيليوم - كاديوم (helium - cadmium) وبخار المعدن (metal vapor) والنيتروجين (nitrogen). ويتم حفر البوليمرات عندما تكون طاقة الفوتو إلكترون (photoelectron) (إلكترون مُحَرَّض بالإصدار بالضوء) الوارد أو الساقط كبيرة بما يكفي لفصل الروابط الكيميائية بشكل مباشر في حين يتم حدوث ضرر حراري طفيف على المناطق غير المشكلة أو المعالجة بالحفر الآلي. ويمكن إنجاز التصنيع المايكروفي للبوليمرات باستخدام الفصل أو الجَدّ بأشعة الليزر (laser ablation) إما عن طريق تعريض كامل ركيزة البوليمر للتشعيع فوق البنفسجي (UV irradiation) من خلال قناع ضوئي (photomask) أو عن طريق استخدام عملية الطباعة أو الكتابة المباشرة (direct writing process). إن دقة التباين الصغرى للسمات باستخدام الفصل أو الجَدّ بأشعة الليزر هي تقريباً ١٠٠ نانومتر [76]، والتي تعتبر أنها قياس طولي مقبول للبنى المصنعة مايكروياً من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة. إن مزايا كل طريقة هي قابلية التحجيم (تغيير القياس) والتخلص من أشكال أو زخارف الحفر الضوئي، على التوالي. وقد تم استخدام الفصل أو الجَدّ بأشعة الليزر لتصنيع عدد من الأنظمة المايكروية والتي، من ناحية أخرى، سيكون من الصعب إنتاجها باستخدام تقنيات قولبة النسخة المطابقة للأصل (RM). فعلى سبيل المثال، يمكن إنتاج أشكال هندسية مثل الثقوب مفتوحة النهاية (through holes) والخنادق أو الأثلام (trenches) في ركائز قابلة للتحلل الحيوي مع حد أدنى من أحجام السمات بما يقارب ١٠ مايكرومترات في بوليمرات مثل بولي (إيثر-إيثر-كيتون) (poly(ether-ether-ketone) PEEK) - [77]، وبولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA - poly(methyl methacrylate) [78]، وبولي (فينيل الكحول) (PVA - poly(vinyl alcohol))، وبولي كابرولاكتون (PCL)، وبولي (حمض اللاكتيك) (PLA) [79]. وقد تم أيضاً استخدام الفصل أو الجَدّ بأشعة الليزر بالاشتراك مع تقنيات التصفيح (lamination techniques) مثل تقنيات التصفيح الحراري أو تقنيات تصفيح المذيب (solvent) وذلك لتصنيع نماذج أولية ذات جريان مايكروفي [78,80]. يمكن للفصل أو الجَدّ بأشعة الليزر، حيث تم إثبات فائدته بشكل مباشر من أجل القطع أو الحفر الآلي المايكروفي، أن يضيف وفي نفس الوقت مجموعات وظيفية على السطوح التي خضعت للمعالجة بأشعة الليزر. ويمكن للتشعيع بواسطة الليزر (laser irradiation) أن يؤدي إلى دمج جزيئات النتروجين أو جزيئات الأكسجين وبالتالي إنشاء مجموعات وظيفية (functional groups) مثل الأمينات (amines) أو الأحماض الكربوكسيلية (carboxylic acids). ويمكن لهذه المجموعات الوظيفية أن تعمل كمجموعات طليعية (precursors) من أجل تعديلات السطوح مثل الروابط التساهمية (covalent linkages) للبيتيدات أو عوامل الأوساخ (الفضلات) غير الحيوية (non - bio - fouling agents). ويمكن لتعديلات السطوح هذه أن تؤدي أيضاً إلى عدد من التأثيرات الضارة على المواد المستخدمة في الجريانات المايكروية في تطبيقات محددة. فعلى سبيل المثال، لقد تبين أن الفصل أو الجَدّ بأشعة الليزر لا يؤثر بشكل كبير على الخصائص السطحية للبولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA)، بل يؤثر على التنقل أو التحرك التناضحي الكهربائي (electroosmotic mobility) للقنوات المايكروية البوليمرية في مواد مثل بولي (غليكول تيريفثالالات الإيثلين) (poly(ethylene terephthalate glycol)) وبولي (كلورايد الفينيل) (poly(vinyl chloride)) وبولي (كربونات) (poly(carbonate) [81]. وكما اقترح سابقاً، فإن أحد القيود المحتملة

للفصل أو الجَدَّ بأشعة الليزر هو اختيار المادة، وذلك اعتماداً على التطبيق النهائي المستهدف. يجب على البوليمر العضوي المثالي الذي سيتم استخدامه من أجل الفصل أو الجَدَّ بأشعة الليزر أن يكون مستقرّاً حراريّاً وميكانيكياً، بل وأن يكون أيضاً قابلاً لتفكك الروابط (bond dissociation) عند تعرضه للتشعيع فوق البنفسجي. بالإضافة إلى ذلك، فإن من شأن عملية الفصل أو الجَدَّ بأشعة الليزر أن تؤدي من الناحية المثالية إلى التعديل المرغوب للسطح وذلك لتسهيل معالجة المادة النهائية مثل التعديل الكيميائي (chemical modification) أو امتزاز (امتصاص) البروتين (protein adsorption) أو يمكن أن تؤدي إلى خصائص فيزيائية مناسبة من أجل استخدامها في أنظمة الجريانات المايكروية.

(٤,٢,٦,٢) الحفر الغرواني Colloidal Lithography

تتيح الجسيمات النانوية (nanoparticles) الفرصة من خلال استغلالها في السعي لتحقيق تصنيع مايكروني لمناطق سطحية كبيرة من دون الحاجة إلى استخدام القناع الضوئي أو الطباعة (الكتابة) المباشرة. ويمكن صناعة عدد كبير من الجسيمات النانوية مع أبعاد ذات قياس من ٥٠ نانومتراً باستخدام مجموعة متنوعة من المنهجيات المبنية على المحلول مثل طريقة الفصل الطوري للمُستَحْلَب (emulsion phase separation). يمكن استخدام تقنيات الفصل أو الجَدَّ بأشعة الليزر بالاشتراك مع الجسيمات النانوية من أجل التصنيع السريع لركائز البوليمرات مع مصفوفات ذات سمات أو خصائص في مستوى النانو وبأبعاد أصغر بكثير من طول موجة الضوء، والتي تكون عادةً محدودة باستخدام الحفر الضوئي التقليدي. تقوم إحدى الطرق، والتي يُطلق عليها مصطلح الحفر بالكُرَّات النانوية (nanosphere lithography)، باستخدام قالب مُرتب من جسيمات في مستوى النانو وبأبعاد أصغر بكثير من طول موجة الليزر والذي يتم توجيهه مباشرةً إلى سطح ركيزة البوليمر لإنشاء مصفوفات من الحفر (التجاويف) في مستوى النانو (arrays of nanoscale pits) [82]. ويتم ترسيب محلول من جسيمات السيليكا (ثنائي أكسيد السيليوم) النانوية (silica nanoparticles) على سطح الركيزة. وعندما يتبخر المذيب، يؤثر التوتر السطحي (surface tension) بشكل يفوق إلى حدٍ كبير الطاقة الحرارية (thermal energy) (kT)، والذي يؤدي إلى حالة التعبئة المرغوبة بشكلٍ قوي. والنتيجة هي ترتيب تلقائي عفوي للجسيمات النانوية في تشكيلة سداسية مغلقة ومعبأة. ويمكن استخدام طريقة مطابقة تقريباً لإنشاء قوالب مرتبة في المستوى المايكروني من أجل استخدامها في تصنيع حاملة خلايا وأنسجة بواسطة انْتِفاذ أو اسْتِغْسَال مولد المسام (porogen - leaching)، والتي سيتم وصفها بالقسم القادم في التجميع الذاتي في المستوى المايكروني. يتم إنجاز الفصل أو الجَدَّ الموضعي بأشعة الليزر عندما تقوم جسيمات السيليكا النانوية المرتبة بتركيز التشعيع فوق البنفسجي، والذي يمكن أن يُنتج خصائص أو سمات مثل الحُفَر ذات الأقطار الأقل من ٣٠ نانومتراً. ويمكن تغيير الحجم والشكل الهندسي للسمات من خلال ضبط بارامترات أو محددات المعالجة بما في ذلك قطر الجسيمات النانوية وطول موجة أشعة الليزر وطاقة الأشعة وزاوية سقوط التشعيع [83]. إن الحفر بالكُرَّات النانوية يوفر طريقة ملائمة من أجل إنشاء مصفوفات كبيرة مرتبة مع أبعاد سمات أو خصائص تكون بالطرق الأخرى بطيئة جداً ومكلفة وفي حالة السمات ذات القياس من رتبة ١٠ نانومترات فإنها تكون مستحيلة باستخدام طرق الحفر الضوئي التقليدية. ففي حين أن مجموعة الأشكال الهندسية للسمات المحتملة تكون مقيدة أو محدودة في جوهرها من خلال طبيعة عمليات الحفر بالكُرَّات النانوية من الأعلى - إلى الأسفل، فإن مصفوفة المواد المناسبة تكون مشابهة بشكلٍ أساسي لتلك المستخدمة في عملية الفصل أو الجَدَّ بأشعة الليزر. ومع ذلك، يمكن أن تعمل هذه الطريقة لتكون مفيدة في هندسة الركائز البوليمرية وذلك من أجل دراسة أو تعزيز تفاعلات الخلايا - المصفوفة عن طريق توفير إشارات طبوغرافية سطحية نانوية (nanotopographic signals).

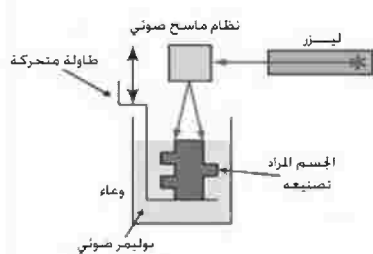
(٤,٢,٦,٣) الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس Dip-Pen Nanolithography

إن الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس (dip-pen nanolithography - DPN) هو طريقة تُوظف استخدام تجهيزات أو أدوات مجهر القوة الذرية (atomic force microscopy - AFM) من أجل تشكيل أو زخرفة جزئيات مفردة (single molecules) [84] أو جزيئات متعددة (multiple molecules) [85] مع دقة تباين في مستوى النانومتر. لقد تم تكييف الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس (DPN) من أجل تشكيل أو زخرفة الجزيئات العضوية بما في ذلك أسلاك البوليمر النانوية (polymer nanowires) والبروتينات [86] والغلوبولين المناعي [87] وقليلات النوكليوتيدات (oligonucleotides) المعدلة كيميائياً [88] والكولاجين من النمط الأول [89]. وقد تم تطوير الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس (DPN) في الأصل لإنجاز دقات تباين للتشكيل أو الزخرفة في المستوى النانوي وذلك من أجل إنشاء وتعديل الأجهزة في المستوى النانوي. لقد قدّم تطور الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس (DPN) بعض الحلول لأوجه القصور التي شهدتها الجيل الأول من التقنيات مثل التركيبة الأكثر توسعاً لكيميائية السطح وتحسين التحكم بدقة التباين والطباعة [90]. وعلى أي حال، فإنه يوجد هناك بعض القيود الملازمة والمعقدة لاستخدام مجهر القوة الذرية (AFM) كأداة من أجل الحفر في المستوى النانوي بما في ذلك الأجهزة المكلفة وقابلية التحجيم (تغيير القياس) الضعيفة والقيود للطباعة على السطوح ثنائية الأبعاد في المقام الأول. على أي حال، وكما هو الحال مع العديد من تقنيات التصنيع المايكروني التي تم ذكرها سابقاً، فإنه توجد هناك مجموعة واسعة من تطبيقات هندسة الأنسجة من أجل الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس (DPN)، وإن كانت مجموعة أقل قدرًا بالنظر إلى تقنيات الحفر اللين (الطري). وكما هو الحال في التقنيات التي تم ذكرها سابقاً، فمن الممكن استخدام الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس (DPN) دائماً من أجل التحديد الوظيفي (functionalizing) لحاملات الخلايا والأنسجة ثنائية الأبعاد من أجل القيام بمزيد من التحكم في توجيه شكل (مورفولوجيا) والتصاق وهجرة وتفاعلات الخلايا - الخلايا.

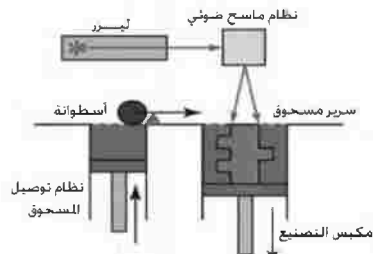
(٤,٣) تصنيع حاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد FABRICATION OF THREE-DIMENSIONAL SCAFFOLDS

إن الدافع من أجل تصميم حاملة خلايا وأنسجة يكون مُركّزاً عادةً على القدرة على إنشاء حاملات خلايا وأنسجة ذات أشكال هندسية لوحات خلايا محددة مسبقاً ومُتحكم بها بدقة. إن تحسين بُنى المسام سيكون مفيداً في تكييف محددات أو بارامترات التصميم مثل النسبة المئوية للفراغ (void percentage) من أجل بذر الخلايا والخصائص الميكانيكية الكتلية (bulk mechanical properties) والتراكيز المتوقعة للمواد الغذائية والفضلات في كل مكان من حاملة الخلايا والأنسجة. ويتطلب التحكم ببنية المسام في مستوى المايكرون توظيف تقنيات تصنيع ثلاثية الأبعاد متقدمة وأدوات تصميم طوبولوجيا حسابية (computational topology design tools). يقوم المجال العام للنماذج الأولية السريعة (RP)، والذي تم تطويره في الأصل من أجل تقنيات التصنيع السريعة، بتشكيل أجسام ثلاثية الأبعاد بمساعدة عتاد أو أجهزة تصنيع مخصصة ونماذج صلبة أو سطحية مُولدة بواسطة الحاسب. وقد سمحت برامج مثل برامج التصميم بمساعدة الحاسب (computer - aided design - CAD)

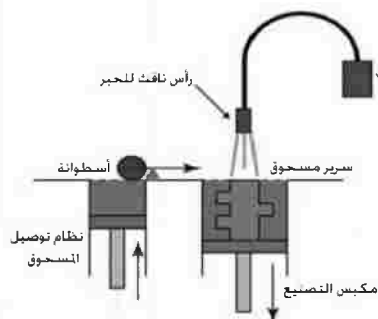
والمقترنة مع القدرة على تصنيع بُنى ثلاثية الأبعاد كيفية ومعقدة من خلال استخدام نماذج أولية سريعة وتقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) بإنتاج حاملات خلايا وأنسجة تركيبية مُصممة ذات بنية هندسية مايكروية محددة مسبقاً. لقد كان أحد القيود الرئيسية في حاملات الخلايا والأنسجة المصنّعة مايكروياً هو التقييد الكامن في الحفر الضوئي وعلوم السطح للمنصات المستوية ثنائية الأبعاد. يمكن تعديل بعض عمليات الحفر الضوئي لإنشاء بُنى ثلاثية الأبعاد بما في ذلك استخدام تقنيات الحُطّي (الخطوة) (stepping techniques) والأوريغامي في المستوى المايكرو (microscale origami) (فن صناعة المجسمات من خلال طي الورق). وعلى أي حال، فإن هذه التقنيات هي تقنيات مُكلفة وغير عملية من أجل الكثير من التطبيقات بما في ذلك تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة من أجل استخدامها في هندسة الأنسجة. إن تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF)، من خلال تطبيق الترسيب المتحكم به باستخدام برامج الحاسب، لا تتطلب استخدام أقنعة ضوئية متعددة أو محاذاة الخطوة بين الطبقات. إن الأنظمة التي يمكنها أن تدمج وبشكلٍ حر عمليات التصنيع المايكرو المتحكم بها في "الاتجاه - z" (البعد الثالث) تملك تحكماً كاملاً بالأشكال الهندسية في المستوى المايكرو والخصائص الماكروسكوبية (الماكروية) ذات الصلة الناتجة عنها. وقد تم ابتكار طرق تصنيع تتحكم بالتصنيع ثلاثي الأبعاد من أجل تصنيع أنواع متعددة من المواد بما في ذلك البوليمرات والمركبات والسيراميك (الشكل رقم ٤.٤). وهناك اهتمام خاص في التحكم بالمسامية (porosity) والمعاملات الميكانيكية (mechanical moduli) والتفاعل (interplay) بينها وبين محددات أو بارامترات تصميم حاملات الخلايا والأنسجة الأخرى. فعلى سبيل المثال، قد يكون من المفيد تصميم حاملات خلايا وأنسجة ذات مُعاملات ميكانيكية تُطابق مجال المعاملات التي وُجدت سواءً في الأنسجة الرخوة (soft tissues) (من ٠.٥ إلى ٣٥ ميغا باسكال MPa) أو في الأنسجة الصلبة (hard tissues) (من ١٠ إلى ١٥٠٠ ميغا باسكال). وتستعرض الفقرة التالية الحالة الراهنة لتطور تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) كما أنها تستعرض التقدم المحتمل والتطبيقات المحتملة من أجل استخدامها في تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة.



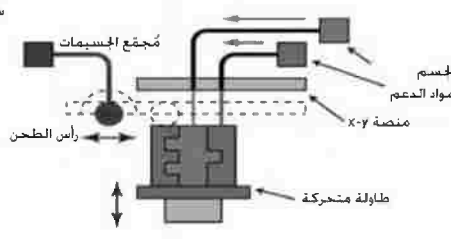
(A) حفر نُجسَم



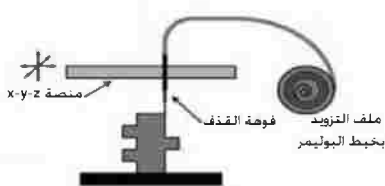
(B) تلييد إنتقائي بالليزر



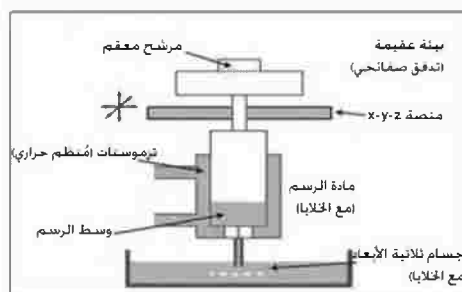
(C) طباعة ثلاثية الأبعاد



(D) طباعة بالشمع



(E) تشكيل الترسيب المصهور



(F) مرسام حيوي

الشكل رقم (٤، ٤). مخططات أنظمة تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) مُصنَّفة حسب تقنية المعالجة. (A، B) أنظمة معالجة مبنية على أشعة الليزر تتضمن أنظمة الحفر المُجسَّم (ثلاثي الأبعاد) (SLA)، والتي تقوم باللمرة الضوئية (photopolymerizes) لسائل (A) وأنظمة تصليب أو تلييد انتقائي بواسطة الليزر (SLS)، والتي تقوم بتصليب أو تلييد مادة مسحوقة على شكل بودرة (powdered material) (B). في كل نظام، يتم رش أو فرش مادة على منصة مستوية مبنية والتي يتم تخفيضها من أجل كل طبقة. (C، D) أنظمة مبنية على الطباعة، تتضمن الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) (C) وآلة الطباعة بواسطة الشمع (D). تقوم أنظمة الطباعة ثلاثية الأبعاد بطباعة رابط كيميائي على سرير مفروش بمسحوق. ويقوم نظام الطباعة المبنى على استخدام الشمع بطباعة نوعين من المواد الشمعية على التسلسل. (E، F) أنظمة طباعة مبنية على استخدام الفوهة. يطبع الجهاز المُشكَّل للنموذج بواسطة ترسيب المصهور خيط رفيع من المادة التي يتم تسخينها من خلال فوهة (E). وتطبع الراسمة الحيوية (bioplotter) مادة تتم معالجتها إما كيميائياً وإما حرارياً (F). (من موقع Springer Science and Business Media and Worldwide and Guide to Rapid Prototyping، حقوق الطبع والنشر لـ Castle Island Co.، <http://home.att.net/~castleisland/>).

(٤,٣,١) الحفر المُجَسَّم (ثلاثي الأبعاد) والتصليب (التليد) الانتقائي بواسطة أشعة الليزر Stereolithography And Selective Laser Sintering

إن الحفر المُجَسَّم ثلاثي الأبعاد (stereolithography - SLA) والتصليب (التليد) الانتقائي بواسطة أشعة الليزر (SLS) هي تقنيات تصنيع للشكل الحر الصلب (SFF) والتي تستخدم جهاز معالجة مبنياً على أشعة الليزر وذلك من أجل البلمرة الضوئية لمونومات (مواحد) سائلة (liquid monomers) أو من أجل تصليب أو تليد مواد على شكل مسحوق بودرة (powered materials)، على التوالي (الشكل رقم ٤,٤ A و B). وتبدأ كل من عمليتي الحفر المُجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA) وكذلك التصليب أو التليد الانتقائي بواسطة أشعة الليزر (SLS) من خلال تحويل بنية ثلاثية الأبعاد محددة من قبل المستخدم باستخدام برامج التصميم بمساعدة الحاسب (CAD) أو برامج حاسب مشابهة، والتي يتم تحويلها بعد ذلك إلى سلسلة من "الشرائح" ("slices") ثنائية الأبعاد مُشَكَّلَة أو مُزخرفة بأشكال هندسية ذات سماكة من حوالي ١٠٠ مايكرومتر. تُرسل آليّة مُنَاظِمَة (آلية للتضييق بالارتجاع) يتم التحكم بها بواسطة حاسب (computer - controlled servo mechanism) معلومات إلى أشعة ليزر ماسحة تقوم بتوجيه الموقع ضمن المستوى ثنائي الأبعاد $(x - y)$ ، رابطةً بشكل انتقائي المادة لتشكيل البنية. ويتم بعد ذلك إنزال المنصة المستوية (platform) المبنية بخطوة إلى الأسفل بنفس المسافة المعادلة لسماكة الشريحة ومن ثم يتم مسح شريحة جديدة. ويقوم الحفر المُجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA) ببلمرة المادة بشكل انتقائي من وعاء لمحلول بوليمري ضوئي في عملية طبقة تلو الطبقة (layer - by - layer process). وقد تم استخدام الحفر المُجَسَّم لتصنيع حاملات الخلايا والأنسجة من البولي (فومارات البروبلين) poly(propylene fumarate) وخلائط من فومارات ثنائي الإيثيل (diethyl fumarate mixtures) من أجل الأنسجة الصلبة بما في ذلك إصلاح العيوب العظمية (bone defects) [91]. وقد تم استخدام الهلامات المائية المصنوعة من بولي (غليكول الإثيلين) (PEG) التي تم تعديلها بشكل نهائي مع مجموعات من الأكريلات النشطة ضوئياً (photoactive acrylate) وهي البولي (غليكول الإثيلين) - ثنائي ميثا كريات (poly(ethylene glycol) - di methacrylate) - PEG - DMA وعلى نطاق واسع من أجل الأنظمة القابلة للربط الضوئي المتشابك (photocrosslinkable systems) ليتم استخدامها مع هندسة الأنسجة. وقد تم كذلك تصنيع حاملات خلايا وأنسجة من بولي (غليكول الإثيلين) - ثنائي ميثا كريات (PEG - DMA) مندمجة مع جسيمات مايكروية من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) من أجل استخدامها في هندسة الأنسجة الرخوة [92]. وقد ذكرت العديد من المجموعات البحثية استخدام أجهزة مرايا مايكروية رقمية (digital micromirror devices - DMDs) للمساعدة في الحفر المُجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA) لمواد متنوعة بما في ذلك البوليمرات [93] والسيراميك [94]. إن أحد القيود السابقة للعمليات المبنية على الحفر المُجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA) كانت عدم القدرة على تصنيع حاملات خلايا وأنسجة كبيرة بما فيه الكفاية من أجل استخدامها في التطبيقات الطبية. لقد تم تجاوز هذا القيد في العمل المقدم من قبل Cooke وآخرين، حيث يمكن تصنيع المستويات الطولية المطلوبة ذات الصلة من أجل إصلاح العيوب العظمية ذات الأحجام الحرجة باستخدام الحفر المُجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA). إن التصليب أو التليد الانتقائي بواسطة أشعة الليزر (SLS)، وهو طريقة لتصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) والذي يعمل بشكل مشابه للحفر المُجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA)، يقوم بالربط وبشكل انتقائي لمادة من سطح مستوي يحوي مسحوق البودرة باستخدام أشعة ليزر ثاني أكسيد

الكربون (carbon dioxide laser) يتم توجيهها على سرير مستوي يحوي على مسحوق بودرة المادة. تتم عملية المسح بواسطة أشعة الليزر عبر كامل السطح وتقوم بتصليب أو تليد البوليمرات أو المركبات في شكل أو زخرفة يتم برمجتها بشكل مسبق لكل طبقة. وتؤدي قوى الضغط المنخفضة (low compaction forces) أثناء التصنيع باستخدام طريقة التصليب أو التليد الانتقائي بواسطة أشعة الليزر (SLS) إلى بُنى مسامية للغاية. لقد تم استخدام التصليب أو التليد الانتقائي بواسطة أشعة الليزر (SLS) لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة باستخدام فوسفات الكالسيوم (calcium phosphate) وبولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLA) وبولي كابرولاكتون (PCL) وبولي (إيثر-إيثر-كيتون) (PEEK).

يتم ضبط دقة التباين المكاني (spatial resolution) والحجم الأدنى للميزة أو السمة (feature) في عملية الحفر المَجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA) وعملية التصليب أو التليد الانتقائي بواسطة أشعة الليزر (SLS) من خلال حجم بقعة أشعة الليزر (laser spot) في المستوى السطحي ($x-y$) ومن خلال سماكة الشريحة في البعد (z). ومن الممكن عادةً إحراز أحجام بقع ليزرية من رتبة ٢٥٠ مايكرومتر، في حين تم إنجاز أحجام بقع ليزرية أقل من ٧٠ مايكرومترًا من أجل الأنظمة المعدلة. إن دقة تباين الميزة أو السمة في المحور (z) تكون محدودة نظريًا من خلال دقة نظام الخطى (الخطوة) الميكانيكي (mechanical stepping system) الذي يقوم بضغط سماكة الشريحة وهي عادةً ليست أصغر من ١٠٠ مايكرومتر. وبشكل عام، فإن تقليص دقة تباين الميزة أو السمة وسماكة الشريحة في عمليات الحفر المَجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA) والتصليب أو التليد الانتقائي بواسطة أشعة الليزر (SLS) يؤدي إلى انخفاض شديد في سرعة الإنتاج. ويتطلب النموذج الحالي من أجل هندسة الأنسجة فقط تقنيات تصنيع مايكروني تكون قادرة على إنتاج سمات أو خصائص تكون ذات قياس أو ترتيب مشابه لحجم عدد قليل من الخلايا أو ما يقارب من ٥٠ مايكرومترًا. وبالرغم من ذلك، فإنه يوجد هناك حلول هندسية محتملة لتجاوز مشاكل دقة التباين وذلك في حال الحاجة إلى تطوير حاملة خلايا وأنسجة ذات دقات تباين من رتبة ١ مايكرومتر. يمكن للتغيرات في عمليات الحفر المَجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA) أن تغلب على القيود المتعلقة بسماكة الشريحة. ويمكن للربط المتشابك للمواد الحيوية عبر إثارة الفوتونات المتعددة (multiphoton excitation) أن يوفر أيضًا طريقة فعالة للتصنيع المايكروني لحاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد. وقد تم تطبيق الربط المتشابك من خلال إثارة الفوتونات المتعددة باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (UV) لتشكيل مصفوفات ثلاثية الأبعاد وذلك لنطاق واسع من البوليمرات والتشكيلات أو الصيغ البروتينية الكتلية مثل الكولاجين واللامينين (laminin) والفيبرونيكتين والبولي أكريلاميد (polyacrylamide) وألبومين (زلال) المصل البقري (bovine serum albumin) والفوسفاتاز القلوي (alkaline phosphatase) وخلائط متنوعة مما سبق ذكره [95]. إن توزيع شدة الإشعاع (intensity of irradiation) في المحور (z) يمكن أن يُخَفَّض نظريًا من الأحجام الدنيا للسمات أو الخصائص في هذا المحور إلى ما يقرب من ٢٠ مايكرومترًا أو أصغر. ومن الجدير بالملاحظة، أن مصفوفات البروتين التي يتم تصنيعها باستخدام هذه الطريقة قد أظهرت أنها تبقى فعالة في هذه البيئة من مصفوفة البوليمر [96]. إن المزيد من التقدم في هذه التقنية يمكن أن يؤدي إلى تصنيع سريع وفعال لبُنى ثلاثية الأبعاد باستخدام مجموعة متنوعة من المواد الحيوية بينما تقوم وفي نفس الوقت بالمحافظة على الشروط الدقيقة التي يمكنها أن تصون أو تحافظ على النشاط البيولوجي (الحيوي).

(٤,٣,٢) الطباعة ثلاثية الأبعاد Three-Dimensional Printing

إن عملية الطباعة ثلاثية الأبعاد (three - dimensional printing - 3DP) هي مشابهة عملياً لتلك الخاصة بالحفر المَجَسَّم ثلاثي الأبعاد (SLA) والتصلب أو التليد الانتقائي بواسطة أشعة الليزر (SLS) والتي يتم فيها تصنيع جسم ثلاثي الأبعاد من شريحة واحدة ثنائية الأبعاد في وقت واحد باستخدام نظام الخطوة. والاستثناء الوحيد هو أن الطباعة ثلاثية الأبعاد (DP3) تستخدم تقنية الطباعة النافثة للحبر (ink - jet printer) وذلك للتحكم بترسيب رابط كيميائي وصهر المادة بشكل انتقائي في سطح مستوٍ من مسحوق بودرة المادة (سُرير مسحوق powder bed) من أجل إنشاء الجسم. وقد تم تصنيع أجهزة توصيل الدواء وأجهزة هندسة الأنسجة من بولي (أكسيد الإيثيلين) (poly(ethylene oxide) - PEO)، وبولي كابرولاكتون (PCL) وبولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) باستخدام الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP). وعلى أي حال، يمكن من حيث المبدأ تصنيع أي مادة بيولوجية باستخدام الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) وذلك وفقاً لاختيار رابط كيميائي (chemical binder) مناسب. وتختلف دقة تباين الأجسام التي يتم إنشاؤها باستخدام الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) بناءً على تعقيد الجسم. وقد تم إنتاج خطوط ذات عرض من ٢٠٠ و ٥٠٠ مايكرومتر وذلك باستخدام الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) لمحايل من البوليمرات ومذيبات نقية، على التوالي. إن دقات تباين لسمات أو خصائص من رتبة حوالي ١ ميليمتر تكون مناسبة أكثر على الأرجح من أجل الأشكال الهندسية المعقدة. إن أحد القيود الهامة في تطبيق الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) من أجل حاملات الخلايا والأنسجة هو إضافة الرابط الكيميائي. فحتى لو كان تركيب الرابط الكيميائي نفسه غير سام ومتوافق حيويًا، فإن تقديم مذيبات عضوية سامة للخلايا مثل الكلوروفورم (chloroform) أو كلوريد الميثيلين (methylene chloride) يكون غير مرغوب فيه. إن جهود ما بعد التصنيع من أجل إزالة ما تبقى من المذيب مثل التجفيف بالتخلية أو السحب (vacuum drying) هي ليست فعالة تمامًا؛ وبناءً على ذلك تبقى مشكلة سمية الخلايا في حاملات الخلايا والأنسجة المصنعة عن طريق الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP).

(٤,٣,٣) النمذجة (التشكيل) بترسيب المصهور Fused Deposition Modeling

إن النمذجة أو التشكيل بترسيب المصهور (fused deposition modeling - FDM) هي طريقة أخرى من أجل تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) والتي تم توظيفها في تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد (الشكل رقم ٤، ٤). تستخدم النمذجة أو التشكيل بترسيب المصهور (FDM) تقنيات ترسيب طبقة تلو الطبقة والتي يتم فيها قذف بوليمرات مصهورة أو سيراميك مصهور من خلال فوهة (nozzle) ذات فتحة صغيرة، والتي تندمج مع المادة على الطبقة التي تم ترسيبها سابقاً. ويتم التحكم بنمط أو شكل كل طبقة عن طريق التلاعب الميكانيكي (mechanical manipulation) لموقع الفوهة في المستوي (x - y) وهذا النمط أو الشكل يمكن أن يكون مختلفاً أو كفيًا من أجل كل طبقة يتم ترسيبها. لقد تم تطبيق هذه التقنية من أجل إنتاج حاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد باستخدام بوليمرات بولي كابرولاكتون (PCL) وبولي إيثيلين عالي الكثافة (HDPE) ومركبات (بولي كابرولاكتون) (PCL) / هيدروكسي آباتيت (HA). وقد تم أيضاً تطوير ترسيب مصهور السيراميك من أجل تصنيع حاملات خلايا وأنسجة من بي - فوسفات ثلاثي الكالسيوم (B - tricalcium phosphate). يمكن لعمليات النمذجة أو التشكيل بترسيب المصهور (FDM) أن تُنجز أحجام مسام تقع في المجال من ١٦٠ إلى ٧٠٠ مايكرومتر مع مسامية تقع ضمن المجال من ٤٨٪ إلى ٧٧٪.

إن حاملات الخلايا والأنسجة التي يتم تصنيعها من البولي كابرولاكتون (PCL) من خلال النمذجة أو التشكيل بترسيب المصهور (FDM) تملك صلابة ضاغطة (compressive stiffness) تتراوح من ٤ إلى ٧٧ ميغا باسكال، والتي تتجاوز الصلابة الميكانيكية (mechanical stiffness) لكل من الأنسجة الرخوة والأنسجة الصلبة [97]. إن واحدة من الميزات الأساسية للنمذجة أو التشكيل بترسيب المصهور (FDM) والعمليات المرتبطة بها هي درجة الدقة التي يمكن الوصول إليها في المستوى ($x - y$). وعلى أي حال، يبقى التحكم في البعد الثالث على المحور (z) محدوداً ويتم ضبطه عن طريق قطر المادة المقذوفة من خلال الفوهة. إن القيود الإضافية بما في ذلك تباين المسام (pore anisotropy) وكذلك الشكل الهندسي لتربط أو اتصال المسام (pore connectivity) تكون محدودة بصورة ملحوظة وذلك بسبب عملية الترسيب المستمرة. وتحد عملية القذف من أنواع المواد التي يمكن معالجتها وبالتالي فقد حُدّت من قابلية التطبيق الواسع للنمذجة أو التشكيل بترسيب المصهور (FDM) من أجل تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة. إن عملية النمذجة أو التشكيل بترسيب المصهور (FDM) هي عادةً محدودة للبوليمرات الاصطناعية اللدنة بالحرارة وبالتالي فإنها تستبعد العديد من المواد الحيوية الطبيعية أو البوليمرات الاصطناعية التي تتصلد (تتصلب) بالحرارة.

(٤,٣,٤) الترسيب بالمحقنة المايكروية Microsyringe Deposition

إن الترسيب بالمحقنة المايكروية (microsyringe deposition) هو عملياً مشابه للنمذجة أو التشكيل بترسيب المصهور (FDM) والذي يتم فيه تشكيل أو زخرفة بوليمر على شكل سطح مُتحكم به بدقة باستخدام جريان مادة مستمر من خلال ترسيب طبقة تلو الطبقة وذلك من أجل إنشاء بُنى ثلاثية الأبعاد [98]. ويستخدم الترسيب المبني على المحقنة المايكروية بمساعدة الضغط (PAM - pressure assisted microsyringe - based deposition) هواءً مضغوطاً لقذف أو دفع محلول من البوليمر في مذيب طيار (volatile solvent) من خلال إبرة شعرية (capillary needle) ضيقة ذات قطر بين ١٠ و ٢٠ مايكرومتراً. يتم التحكم بوضع المحلول في المستوى ($x - y$) عن طريق نظام استيضاع (وضع) مايكروفي (micropositioning system)، والذي يمكنه أن ينجز دقات جانبية (lateral precisions) بمقدار ٠,١ مايكرومتراً بينما يمكن أن تتراوح الأبعاد الفيزيائية للبُنى من ٥ إلى ٦٠٠ مايكرومتر اعتماداً على بارامترات أو محددات المعالجة المختلفة. وقد تم استخدام الترسيب المبني على المحقنة المايكروية بمساعدة الضغط (PAM) من أجل تصنيع حاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد مُصنّعة مايكروياً من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA)، ولكن يمكن نظرياً توسيعه إلى أي بوليمر، اصطناعي أو طبيعي قابل للذوبان في المذيبات الطيارة. يُقدم الترسيب المبني على المحقنة المايكروية بمساعدة الضغط (PAM) العديد من المزايا المختلفة زيادةً على طرق تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) بما في ذلك دقة تباين جانبية وأبعاد سمات أو خصائص مُحسّنة بشكل كبير. ومن المعروف أن عمليات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) تملك الحد الأدنى من دقات التباين وهي من رتبة ١٠٠ مايكرومتر أو أكبر وكذلك فإنها تملك قيوداً رئيسية عند الحد الأدنى من حجم السمة أو الميزة. إن الترسيب المبني على المحقنة المايكروية بمساعدة الضغط (PAM) يوفر طريقة مريحة وملائمة نحو تصنيع حاملات خلايا وأنسجة متعددة الأطوار (multiphase scaffolds) مع دقة وضع في مستوى المايكرون للعديد من البوليمرات. كما تسمح درجات الحرارة المنخفضة أيضاً بأنظمة دمج محتملة من أجل الإطلاق المتحكم به للبروتينات والجزيئات الحيوية الأخرى وذلك من أجل إنشاء بيئات مايكروية مناسبة لتجديد الأنسجة.

(٤,٣,٥) الامتصاص ثنائي الفوتون Two-Photon Absorption

إن الامتصاص ثنائي الفوتون (two - photon absorption) هو تقنية تصنيع مايكروبي ثلاثية الأبعاد قادرة على إنتاج سمات أو خصائص ذات دقات تباين من ١٢٠ نانومتر، أي أقل بكثير من حد الانعراج (diffraction limit) لعمليات الحفر الضوئي الأخرى [99]. إن المواد التي يتم استخدامها في هذه التقنية هي راتينات (راتنجات) اليورثين المعدلة بالأكريلات (acrylate - modified urethane resins)، والتي تكون مترافقة مع بادئات أو مُحَرِّضَات ضوئية (photoinitiators) وذلك من أجل الحث على البلمرة (polymerization). وتكون راتينات البولييمرات الأولية تلك شفافة للأشعة تحت الحمراء (infrared)، بحيث تسمح بالاختراق (penetration) العميق للتشعيع والتحكم اللاحق بعمق الشكل الهندسي للسمة أو الميزة ضمن البنى ذات السمات أو الخصائص. وعلى الرغم من أن هذه التقنيات قد تم تصميمها في الأصل من أجل استخدامها في الأنظمة الكهربائية الميكانيكية الدقيقة (MEMS)، إلا أنه قد تم استخدامها في تطوير حاملة الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد. وقد تم استخدام تقنيات البلمرة ثنائية الفوتون (two - photon polymerization techniques) وذلك من أجل تصنيع حاملات خلايا وأنسجة باستخدام (ORMOCER)، وهي مادة مُلكية هجينة مركبة من مواد غير عضوية - عضوية قابلة للبلمرة الضوئية. وقد تم بذل مجموعة متنوعة من أنواع الخلايا على حاملات الخلايا والأنسجة تلك بما في ذلك الخلايا البطانية وخلايا الأورام الأرومية العصبية (neuroblastoma cells) [100]. ويوجد هناك العديد من المزايا الواضحة لاستخدام التقنيات ثنائية الفوتون من أجل التصنيع المايكروبي ثلاثي الأبعاد بما في ذلك دقات التباين للسمات أو الخصائص الصغيرة والمعالجة السريعة نسبياً. وعلى أي حال، فإن هناك سيئات مختلفة بما في ذلك تكلفة الأجهزة والخصائص الضعيفة للمواد المتوفرة حالياً من أجل الاستخدام في الأنظمة ثنائية الفوتون. إن هذه السيئات من المرجح أكثر أن توجد فقط بسبب عدم نضوج هذه التقنية بشكل كامل في المجال التجاري. ونظراً إلى أن التقنيات ثنائية الفوتون تصبح أكثر دقة ويتم اعتمادها في مجالات مختلفة من التطبيقات مثل هندسة الأنسجة وتجديد الأعضاء، فإنه سيتم الاستجابة للحاجة إلى تجهيزات بأسعار معقولة ومواد حيوية جديدة مناسبة لقدرات معالجة هذه المواد.

(٤,٣,٦) الطوبوغرافيا (السمات السطحية) النانوية ثلاثية الأبعاد Three-Dimensional Nanotopography**(٤,٣,٦,١) الغزل الكهربائي Electrospinning**

يعتبر الغزل الكهربائي (electrospinning) طريقة ملائمة من أجل إنتاج شبكات ليفية (fibrous networks) تحتوي على نسيج غني بالمستوى النانومتري مع أقطار ألياف مفردة من رتبة مئات النانومترات. تقوم عملية الغزل الكهربائي بسحب جريان أو دفق مادة ضيق ومستمر من مُستودع (خزان) من البوليمر المنصهر (polymer melt) أو محلول البوليمر إلى صفيحة تجمع حيث تتراكم عليها المادة؛ مما يؤدي إلى إنتاج طبقة ليفية رقيقة مستوية (fibrous mat) (حصيرة ليفية). ويتم إنجاز ذلك عن طريق تحريض شحنة متراكمة على سطح المحلول عبر تطبيق جهود قوية (strong voltages). فعندما يكون الجهد قوياً بما فيه الكفاية، يتجاوز الجهد الكهربائي الساكن (electrostatic potential) الطاقة المرتبطة بالتوتر السطحي (surface tension) للمادة الكتلية

عند الفوهة ويتم تسريع المحلول باتجاه المجمّع المؤرّض (grounded collector) (الموصل بالأرض). وفي اللحظة التي يتم فيها دفع محلول البوليمر باتجاه المجمّع يتبخّر المذيب؛ مما يؤدي إلى نشوء جريان أو دفع مستمر من الألياف الرفيعة جداً. وقد تم استخدام الغزل الكهربائي من أجل تصنيع حاملات خلايا وأنسجة ليفية باستخدام مجموعة متنوعة من المواد الطبيعية مثل فبروين الحرير [101] والكولاجين والبولي ببتيدات والبوليمرات الاصطناعية مثل البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) والبولي كابريولاكتون (PCL) وبولي (فينيل الكحول) (PVA) وبولي (أكسيد الإيثيلين) (PEO). وقد تم إنتاج شبكات ألياف من السيراميك ومن المواد المركبة باستخدام تقنيات الغزل الكهربائي [102]. ويمكن أن تتراوح أقطار الألياف المفردة من ٣٠ نانومتراً تقريباً إلى ١ مايكرومتر، ويختلف هذا القطر من خلال التحكم بخصائص العملية مثل تركيز البوليمر (polymer concentration) واللزوجة (viscosity) والناقلية (conductivity) والجهد المطبق (applied voltage). إن حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية (nanofibrous scaffolds) (المكونة من ألياف النانو) التي يتم إنتاجها عن طريق الغزل الكهربائي تؤدي عادةً إلى إنتاج طبقة فيلم رقيقة ثلاثية الأبعاد من شبكة غير محبوكة (nonwoven mesh) تتألف من ألياف موجهة بشكل عشوائي. ويمكن بعد ذلك تصفيح البنى الشبكية مع بعضها عن طريق التقنيات الحرارية (thermal techniques) أو تقنيات المذيب (solvent techniques)، كما تمت الإشارة إلى ذلك سابقاً. تقوم هذه العمليات بإنتاج روابط عند نقاط الاتصال بين الألياف ويؤدي ذلك إلى إنتاج شبكة ذات ألياف متشابكة (crosslinked network). وقد تم أيضاً تصنيع أنظمة ليفية نانوية ذات ألياف متراصة أو متحاذاة (aligned fibers) باستخدام أسطوانة دوّارة كمجمّع (rotating drum) [103] أو كما هو الحال مع البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA)، عن طريق تلدين أو تصلب (annealing) الشبكة الليفية بعد تطبيق قوى ميكانيكية [104]. يمكن لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة غنية طوبوغرافياً (بالسمات السطحية) وذات ألياف نانوية متراصة أن يستغل أو يستثمر استجابة التوجيه بالاتصال (contact guidance response) في الخلايا ويمكن أن يؤدي ذلك إلى وظائف خلايا مهندسة (engineered cell functions) مثل التحرك الموجه (directed motility). وقد تم عرض العمليات والتطبيقات التفصيلية فيما يتعلق بالغزل الكهربائي لحاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو وعلى نطاق واسع في مكان آخر [105] بما في ذلك ضمن الأجزاء الأكثر تفصيلاً في هذا الكتاب.

(٤,٣,٦,٢) الامتزاز (الامتصاص) الغرواني Colloidal Adsorption

إن امتزاز (الامتصاص الكيميائي) المواد الغروانية (adsorption of colloids) من المحاليل من خلال الطلاء أو التغليف بالغمس (dip coating) هي طريقة اقتصادية أخرى من أجل إضفاء طوبوغرافية سطحية نانوية (nanotopography) على حاملات هندسة الأنسجة ثلاثية الأبعاد [106]. ببساطة يتم حضان حاملة الخلايا والأنسجة المراد تغليفها بطبقة غلاف خارجية في مُستعلَق (مُعلَق) غرواني (colloidal suspension) لجسيمات نانوية ذات حجم وتركيب محددين، والتي يتم بعد ذلك امتزازها أو امتصاصها على سطح حاملة الخلايا والأنسجة. ويمكن لتركيبة الجسيمات النانوية أن يكون من البوليمرات القابلة للارتشاف (resorbable polymers) مثل البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) أو من المعادن الحاملة حيويًا (bioinert metals) مثل الذهب أو من السيراميك مثل ثاني أكسيد السيليكون (silicon dioxide) وثاني أكسيد

التيتانيوم (titanium dioxide). ويجب بذل العناية لضمان أن تكون الخصائص السطحية لحاملة الخلايا والأنسجة والمادة الغروانية متوافقة؛ وذلك لضمان امتزاز أو امتصاص مستقر وغير قابل للعكس على السطح. ويتضمن ذلك أخذ الطاقات النسبية للسطح وتفاعلات الشحنات في الوسط الأيوني بعين الاعتبار. إن مزايا هذه التقنية واضحة إلى حد ما، وهي أن الامتزاز أو الامتصاص الغرواني متوافق مع حاملات الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد ذات الأشكال غير المنتظمة. كما أن الامتزاز أو الامتصاص الغرواني غير مكلف وسريع وقابل للتجسيم (لتغيير القياس). وعلى أي حال، فإن هناك قيوداً مهمة بما في ذلك التحديد أو التشكيل الوظيفي المحدود (limited functionality) الذي يمكن أن يكون مفروضاً على حاملة الخلايا والأنسجة الموجودة. كما أنه من الصعب الحصول على مستعلقات غروانية من جسيمات نانوية ذات أقطار أحادية التبثر (monodisperse diameters)، والذي يؤثر بشكل سلبي على القدرة على تشكيل بُنى ذات ترتيب طويل المدى. إن الطوبوغرافية السطحية النانوية بدون الترتيب طويل المدى غير كافية من حيث التحكم في وظائف الخلايا في المستوى الذي يكون مطلوباً عادةً من أجل تصميم حاملة الخلايا والأنسجة. إن الامتزاز أو الامتصاص الغرواني مناسب من أجل تغيير التركيب الكيميائي للسطح (surface chemistry) والطوبوغرافية السطحية بشكل فعال وذلك من أجل ضبط ارتكاز والتصاق وانتشار الخلايا على حاملات الخلايا والأنسجة.

(٤،٣،٧) مستقبل تصنيع الشكل الحر الصلب من أجل هندسة الأنسجة Future Of Solid Free-Form Fabrication For Tissue Engineering

لقد تم تأسيس تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) كمجموعة ملائمة من الطرق من أجل الاستخدام في تصنيع حاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد من مواد متنوعة بما في ذلك البوليمرات والهلامات المائية والسيراميك والمواد الحيوية المعدنية. إن واحداً من العناصر الأساسية في الاستخدام المستمر للنماذج الأولية السريعة (RP) في تطوير حاملة الخلايا والأنسجة هو القدرة ليس فقط على تطوير طرق تصنيع تكون متوافقة مع المواد الهندسية فحسب، بل أيضاً القدرة على تعديل تقنيات التصنيع وذلك للتمكن من معالجة المواد الحيوية. فعلى سبيل المثال، تم استخدام تقنيات الطباعة بالحبر النافث في تصنيع حاملات خلايا وأنسجة من الكولاجين [107]. ويجب تحسين التقنيات المماثلة من أجل التمكن من معالجة مواد حيوية أخرى ذات نوافذ المعالجة المحدودة باستخدام النماذج الأولية السريعة (RP).

وقد سمح التصميم الهندسي المعقول المقترن مع تقنيات معالجة المواد المتحكم بها من قبل الحاسب بتقنيات تصنيع دقيقة والتي تُمكن من التحكم بالبنية الهندسية المايكروية لحاملات الخلايا والأنسجة المسامية ثلاثية الأبعاد. وفي المدى القريب، سيسمح تصميم حاملات الخلايا والأنسجة باستخدام تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) بإمكانية التحكم غير المباشر بالخصائص الماكروسكوبية العيانية (macroscopic properties) (العيانية الكبيرة) مثل الخصائص الميكانيكية الكتلية والنفاذية من أجل اعتبارات نقل المواد الغذائية. ويمكن أن يؤدي التحكم بتحديد خصائص المسام في مستوى المايكرون مثل الشكل الهندسي للمسام والاتصال بين المسام والمسامية إلى تصنيع حاملة خلايا وأنسجة من أجل نسيج محدد. كما يسمح تصنيع الشكل الحر الصلب أيضاً بإمكانية تصنيع حاملات خلايا وأنسجة مصممة من أجل تطبيقات تجديد عضو ما لمريض محدد. وبشكل عام،

فإن مفهوم حاملات الخلايا والأنسجة المصنّعة حسب الطلب (made - to - order scaffolds) هو مسعى منشود، والذي يمكن ان يخدم الاحتياجات السريرية التي لم يتم تلبيتها حالياً مثل حاملات الخلايا والأنسجة من أجل الجراحة الترميمية (reconstructive surgery). وعلى الرغم من أن تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) قد ثبت أنه مفيد في هندسة الخصائص الكتلية من خلال التصميم الهرمي (hierarchal design)، إلا أن أنظمة هندسة الأنسجة المستقبلية ربما تتطلب حاملات خلايا وأنسجة مع سمات أو خصائص ذات أحجام بدقات تباين أصغر من تلك التي تكون قابلة للإنجاز باستخدام طرق تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) الحالية. وتعمل استراتيجيات التصميم والتصنيع الحالية عند مستوى طول من ١٠٠ مايكرومتر أو أطول، وهذه الاستراتيجيات يمكن أن تكون دقيقة بشكلٍ غير كافٍ من أجل التحكم بوظيفة خلايا محددة. ولناخذ في عين الاعتبار مثال هندسة الأنسجة العظمية باستخدام حاملة خلايا وأنسجة مسامية. فعلى الرغم من أنه قد تم اقتراح أحجام مسام مثالية بين ٢٠٠ و ٦٠٠ مايكرومتر، إلا أن المعطيات التجريبية لعدد من الأنظمة تقترح خلاف ذلك. إن تغيير أحجام المسام بين ٥٠٠ و ١٦٠٠ مايكرومتر لم يكن له تأثير كبير في نمو العظم لحاملات خلايا وأنسجة مصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) بتقنية الطباعة ثلاثية الأبعاد (3DP) ومبدورة بخلايا عظمية [108,109]. وقد تم استخدام حاملات خلايا وأنسجة مصنوعة من الهيدروكسي أباتيت (HA) مع أحجام مسام تتراوح من ٤٠٠ إلى ١٢٠٠ مايكرومتر في نموذج فكّ سفلي معطوب (mandibular defect model). ومرة ثانية، لم يتم الكشف عن أي فرق كبير في نمو العظم عبر مجال أحجام المسام المستخدمة في هذه الدراسة. إن هذه الاكتشافات تتفق مع المفهوم المثبت بشكلٍ تجريبي وهو بأن المستويات الطولية للبنى التي تحكم أو تضبط الكثير من وظائف الخلايا المهمة مثل الالتصاق والهجرة والانتشار والتمايز هي من رتبة ١٠ مايكرومترات أو أصغر. ففي حين أنه يجب عدم استبعاد قيمة أو أهمية التحكم بالخصائص الماكروسكوبية عبر التصميم الهرمي بشكلٍ تام، فإن تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) الحالية والتي تقف وحدها وراء تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة ربما تكون غير كافية من أجل إنتاج استجابات بيولوجية (biological responses) مناسبة. إن واحداً من الخيارات من أجل تصنيع حاملات خلايا وأنسجة مع سمات أو خصائص في مستوى النانو باستخدام تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) هو ببساطة تحسين دقة التباين الحالية للعمليات، والذي ربما يُثبت بأنه أيضاً مُلحٌّ من الناحية التقنية أو مكلف وذلك من أجل تبرير العمل المستقبلي. إن تحسين دقة التباين إلى دقة في مستوى ما دون المايكرون من شأنه أن يبطئ على الأرجح من سرعة التصنيع ومن شأنه أن يُخفّض الحد الأعلى لحجم حاملة الخلايا والأنسجة. ومن أجل ذلك، قد يحدث في المدى القريب تقدم أكثر في هذا المجال من خلال دمج البنى المايكروية والبنى ما دون المايكروية كتعديل لما بعد تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة التي يتم إنتاجها عن طريق تقنية تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) مثل تقنيات الغزل الكهربائي أو الامتزاز الغرواني أو الفصل الطوري والتجفيف بالتجميد والتي سيتم مناقشتها في القسم التالي.

(٤,٤) التصنيع المايكروفي لحاملات الخلايا والأنسجة باستخدام الخصائص الفيزيائية MICROFABRICATION OF SCAFFOLDS USING PHYSICAL PROPERTIES

من المعروف جيداً أن سلوك مجموعة متنوعة من الخلايا النامية في البيئات المايكروية ثلاثية الأبعاد يختلف إلى حدٍ كبير عن سلوك الخلايا النامية على السطوح ثنائية الأبعاد [110-112]. وقد شجعت هذه الظاهرة المفهومة على نطاقٍ واسع على

التوجه إلى تصميم وتصنيع حاملات لهندسة الأنسجة تقوم بتوفير بنية ثلاثية الأبعاد مناسبة لدعم الوظيفة الأصلية للخلية. وقد أظهر التجاذب نحو حاملات الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد تحديات كبيرة في دمج التحكم بالتوزيع المكاني (spatial distribution) والأشكال الهندسية للبنى. وفي كثيرٍ من الأحيان، على أي حال، ربما ليس من الضروري التحكم ببنى محددة عند المستوى الطولي المايكرومترى. وبدلاً من ذلك، فإن تصميم المتوسط الإجمالي للشكل الهندسي وتحديد خصائص حاملة الخلايا والأنسجة يمكن أن يتم عن طريق التحكم بمحددات أو بارامترات مثل تركيب البوليمر بالتزامن مع بارامترات أو محدّدات المعالجة الفيزيائية. وقد تم إنجاز تقنيات تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة باستخدام مجموعة متنوعة من طرق معالجة المواد التي تقوم بهندسة الظاهرة الفيزيائية الكيميائية (physiochemical phenomenon). وقد تم مسح أو استطلاع بعض من هذه التقنيات في القسم التالي، مع وجود استعراض أكثر تفصيلاً لهذه التقنيات في فصول أخرى ضمن هذا الكتاب.

(٤,٤,١) الفصل الطوري المايكرو Microphase Separation

يوفر سلوك الفصل الطوري المميز (characteristic phase separation) لخلائط بوليمر-مذيب وبوليمر-بوليمر وسائل مفيدة من أجل التصنيع السريع لحاملات هندسة أنسجة مسامية مع سمات أو خصائص مرتبة في مستوى طولي من رتبة المايكرون وما دون المايكرون. ويمكن ضبط المورفولوجيا أو الشكل الطوري المايكرو (microphase morphology) والمستوى الطولي المميز للسمات أو الخصائص في خلائط البوليمرات عن طريق تعديل البارامترات أو المحدّدات التي تعتمد على الديناميكية الحرارية (thermodynamic - dependent parameters) (البارامترات الترموديناميكية) مثل تركيب المزيج وبارامترات الطاقة الحركية (kinetic parameters) مثل الحرارة، والتي تحكم أو تضبط القدرة على حدوث التفكك الطوري (spinodal decomposition) (أي تحول المركب الكيميائي متعدد الأطوار إلى مركبات أحادية ذات طور مستقر) والقدرة على الفصل (demixing) اللاحق لمكونات مزيج البوليمر. إن المورفولوجيات أو الأشكال الطورية المايكروية الأكثر شيوعاً التي تتم ملاحظتها هي الأشكال الكروية والأسطوانية والصفائحية على الرغم من أن غيرها من الأصناف العديدة من المورفولوجيات أو الأشكال قد تمت ملاحظتها في مجموعة متنوعة من الأنظمة بما في ذلك الخلائط الكتلية للبوليمرات المشتركة (block copolymer blends) [113]. ويمكن أن يؤدي تعديل هذه الخلائط الكتلية للبوليمرات من خلال الحفر أو التذويب الانتقائي للبوليمر إلى تطوير حاملات لهندسة الأنسجة ذات ترتيب قصير المدى. كما يمكن أيضاً تكييف ظاهرة فصل مكونات مزيج البوليمر والفصل الطوري للبوليمر وذلك من أجل تطوير طبقات أفلام رقيقة كطريقة تُستخدم من أجل التعديل الطوبولوجي المحرّض كيميائياً (chemical - induced topological modification). فعلى سبيل المثال، يمكن لغزل خلائط من البوليمرات المتوافقة جزئياً والمغلّفة في داخل طبقة فيلم رقيقة أن يُنتج سطوحاً غنية بالسمات الطوبوغرافية مع بُنى ذات مورفولوجيات أو أشكال لركائز عامودية (أعمدة) مستديرة (rounded pillar morphologies) من رتبة ١٠٠ نانومتر في الارتفاع والعرض [114]. وقد أظهرت السطوح مع بوليمرات ذات طوبوغرافية سطحية نانوية مفصولة المكونات أنها تؤثر على نمو وانتشار خلايا الأرومة الليفية البشرية. يمكن للتجميع الذاتي (self - assembly) للبوليمرات الكتلية المشتركة أن يُجمع جنباً إلى جنب أيضاً مع ركائز مُشكّلة أو مُخرّفة نانويّاً وذلك من أجل تحقيق تحكم إضافي بعمليات

الفصل الطوري. وقد عرض Kim وآخرون طريقة من أجل الحصول على صفائح متماثلة الشكل على نحو كبير مع كميات متغيرة من تراتيب طويلة المدى باستخدام طبقات أحادية مُجمّعة ذاتياً ومُشكّلة أو مُرخفة نانويّاً على ركيزة ثنائية الأبعاد [115]. ويمكن أن يؤدي التطوير الإضافي لعملية مشابهة إلى تطوير عملية الدمج لسطوح غنية بالسّمات الطبوغرافية مع بُنى مسامية ثلاثية الأبعاد معقدة والتي تسمح بدورها بمظهر متماثل الشكل لإشارات أو منبهات طبوغرافية سطحية في جميع أنحاء الحيز المكاني لحاملة الخلايا والأنسجة. إن الغزل الكهربائي لخلائط البوليمرات يوفر طريقاً آخر من أجل تصنيع ألياف في المستوى النانومتري مع فصل طوري مشترك متواصل من خلال استخدام خلائط ثلاثية من بولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLA) وبولي (بيروليدون) poly(pyrrolidone) [116].

تقدم طريقة التجفيف بالتجميد (freeze drying) (التجفيد) طريقاً آخر ممكناً لإنتاج حاملات خلايا وأنسجة ذات سمات أو خصائص في مستوى المايكرون [117]، على الرغم من أنه يتم تقليل التحكم بالمواقع والتوزيعات المكانية. يبدأ الإجراء النموذجي للتجفيف بالتجميد بإضافة الماء إلى محلول من مواد حيوية اصطناعية شائعة مثل بولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLA) أو بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) في مذيب عضوي مثل تيتراهدرو فوران (tetrahydrofuran) (رباعي هيدرو الفوران) أو كلوريد الميثيلين (methylene chloride) [118]. يتم صب المحلول المتجانس في القالب المناسب، ثم يتم تبريده بشكلٍ سريع عند درجة حرارة - ١٨٠ مئوية باستخدام النتروجين السائل (liquid nitrogen). يؤدي إجراء التبريد السريع هذا إلى فصل طوري فوري ضمن حاملة الخلايا والأنسجة، والتي يتم بعد ذلك تجفيفها (تجفيفها بالتجميد) لإزالة الماء وما تبقى من المذيب. يمكن أن تُنتج هذه العملية حاملات خلايا وأنسجة ذات أحجام مسامات تقع في المجال من ١٥ إلى ٣٥ مايكرومتراً. وقد تم استعراض طريقة مشابهة في إنتاج حاملات خلايا وأنسجة مسامية من البولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLA) مع إدراج جزيئات فعّالة حيوياً (bioactive molecules) والتي يمكن أن توفر إشارات أو منبهات لعمليات بيولوجية محددة عند عملية الزرع أو الغرس [119]. وتشير الطاقات الحركية للإطلاق أو التحرير لمثل هذه الأنظمة بأن درجات الحرارة المرتفعة بشكلٍ طفيف في المجال من ٥٥ إلى ٨٥ درجة مئوية، واستخدام المذيبات العضوية أثناء عملية تحضير حاملات الخلايا والأنسجة تلك قد أظهرت بأنها تُؤثر بشكلٍ سلبي وطفيف على فعالية الجزيئات التي يتم إطلاقها. وفي سياق هندسة البنية في المستوى المايكروفي لحاملات الخلايا والأنسجة هذه، يكون التحكم الدقيق بحجم المسام والشكل الهندسي والترابط البيني (interconnectivity) محدوداً للغاية وذلك من خلال تأجيل عمليات التوازن في تحضير حاملات الخلايا والأنسجة تلك (تأجيل الزمن اللازم لتصبح شروط التفاعل مستقرة). ويؤدي ذلك إلى التحكم بالسّمات أو الخصائص المتوسطة لحاملة الخلايا والأنسجة (متوسط أبعاد المسامات)، والتي يمكن أن يتم معالجتها من خلال تعديل بارامترات أو محددات عملية المعالجة.

(٤,٤,٢) التجميع الذاتي بمساعدة المواد الغروائبة Colloidal-Assisted Self-Assembly

إن اتّيفاد أو استغسّال مولد المسام (porogen leaching) (ترشيح مولد المسام) هو طريقة شائعة لتطوير حاملات خلايا وأنسجة مسامية كبيرة ثلاثية الأبعاد. يتم في هذه التقنية الوطيدة دمج مادة حاملة الخلايا والأنسجة مع مولد مسام غير

متوافق معها كيميائياً أو فيزيائياً. ووفقاً لتصنيع حاملة الخلايا والأنسجة عبر عمليات مثل تبخر المذيب أو الربط المتشابك الكيميائي أو الفيزيائي تتم إزالة مولد المسام بشكل انتقائي. إن إحدى نتائج طريقة التصنيع هذه هي الدرجة العالية من المسامية (تكون عادةً في المجال ٩٠٪ أو أكثر)، والتي تكون ضرورية لإنجاز شبكة مترابطة بينياً من أجل التنظيم العشوائي لمولد المسام. تعتبر حاملات الخلايا والأنسجة ذات المساميات العالية جداً مفيدة من أجل هندسة أنسجة نشطة استقلابياً (metabolically active) من خلال سماحها بانتشار أكثر سرعة للمواد الغذائية وإزالة منتجات الفضلات. وتوفر المساميات العالية أيضاً مساحات سطحية كبيرة في نفس الحجم والذي يسمح بالتصاق أو ارتكاز الخلايا وانتشارها. وعلى أي حال، فإن الخصائص الميكانيكية للشبكات ذات المسامية المرتفعة تكون منقوصة بشكلٍ شديد بما في ذلك النقص الشديد في الصلابة النسبية لحاملات الخلايا والأنسجة المسامية والصلبة، ($E_{cellular}$) و (E_{solid})، على التوالي، مع زيادة المسامية (P). فمن أجل الحالة الخلوية الصلبة مع سمات أو خصائص مسامية مرتبة بشكلٍ عشوائي، فإن هذه العلاقة تكون متناسبة مع الثابت المحدد لأبعاد الشكل الهندسي (الجيويمتري) من خلال المعادلة التالية:

$$(٤.١) \quad \frac{E_{cellular}}{E_{solid}} = C(1 - P)^2$$

حيث إن (C) هو ثابت اعتباطي أو كافي. ويمكن الحصول على تقليل المسامية المطلوب من أجل الربط البيني من خلال التجميع المرتب لجسيمات غروانية كروية متماثلة الشكل في مستوى المايكرون [120]. يمكن لعملية القولية الفيزيائية من خلال استخدام القيود الهندسية أن تُنتج حاملات خلايا وأنسجة تُظهر زيادة في الصلابة بشكلٍ شديد وتحسناً في المتانة، والتي ظهر بأن لها تأثيراً على سلوك الخلايا (cell behavior)، عندما تقارن مع بُنى من مولد المسام مُجمعة بشكلٍ عشوائي. لقد تم توظيف تقنية التصنيع هذه من أجل الاستخدام في إنشاء شبكات من الهلامات المائية مع زيادة في معاملات المرونة (moduli) وذلك باستخدام الربط المتشابك لشبكة مكونة من جسيمات كروية مايكروية مرتبة من مولد المسام. لقد تم ترسيب جسيمات كروية مايكروية من البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) ذات أقطار تتراوح من ٢٠ إلى ٦٠ مايكرومتراً في مزيج من الماء / الإيثانول (ethanol) بنسبة ٣٠ إلى ٧٠ تحت اضطراب فيزيائي (physical perturbation) وذلك لتعزيز الترتيب أو التنظيم المميز لأشكال سداسية الأضلاع (hexagonal) متقاربة ومعبأة. وقد تمت إضافة محلول من بولي (غليكول الإثيلين) - ثنائي ميثاكريلات (PEG - DMA) ذي وزن جزيئي منخفض ومعدّل بواسطة ببتيدات تساعد على الالتصاق إلى القالب ومن ثم تم القيام بعملية التشيع باستخدام الأشعة فوق البنفسجية وذلك للحث على الربط المتشابك لحاملة الخلايا والأنسجة. وتم حفر شبكة مولد المسام المكونة من البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) باستخدام حمض الأسيتيك (acetic acid) (حمض الخليك)، تاركاً شبكة مسامية من الهلامات المائية والتي أظهرت بأنها تدعم التصاق وهجرة خلايا الأرومة الليفية (NR6). لقد أظهر استخدام البنية المسامية التقريبية المرتبة زيادة في الصلابة بنسبة تصل إلى عدة مضاعفات المطال حتى مجال ١٠ كيلو باسكال (kPa)، والتي تماثل صلابة الأنسجة الرخوة. ومن حيث المبدأ، يمكن تطبيق هذه العملية على أي عدد من أنظمة مولد المسام - البوليمر التي تُظهر خصائص فيزيائية تسمح بالتخلص من الطور التقريبي (sacrificial phase) مثل الانتقائية النسبية في الانحلال أو التحلل أو نقاط الذوبان المتباينة.

(٤,٤,٣) التجميع الذاتي فوق الجزيئي Supramolecular Self-Assembly

يمكن أيضاً إنجاز تجميع قالب مُرتَّب من خلال التجميع الذاتي لجزيئات حيوية مثل البروتينات أو الحمض النووي (DNA). يتطلب التجميع الذاتي لأنظمة الببتيدات في بُنى فوق جزيئية (supramolecular structures) دمجاً منطقيّاً أو معقولاً لتفاعلات محددة وانتقائية فيما بين كتل بناء الأحماض الأمينية. ويمكن ضبط البنى الناتجة عن طريق المعالجة أو التلاعب بتسلسلات الأحماض الأمينية (amino acid sequences) التي توفر المجموعات المناسبة من الخصائص مثل الشحنة والبقايا المحبة للماء (residue hydrophilicity). ويمكن إنتاج بُنى بيتا الصفيحية (الورقية) (beta sheet structures) من خلال دمج ببتيدات مع سطح كاره للماء (hydrophobic surface) و سطح محب للماء (hydrophilic surface) في محلول مائي. تصبح السطوح الكارهة للماء محمية في حين تبقى البقايا المشحونة المحبة للماء على اتصال مع البيئة المائية في حالة تنظيم والتي تشبه في الطبيعة البروتينات القابلة للطي (protein folding) في الجسم الحي. إن البنية الهرمية لعملية التجميع هذه تكون واضحة من خلال القدرة على تركيب أو تجميع بُنى من رتبة ٣٠ - ١٠٠ نانومتر من خلال التأثير على كتل بناء الببتيدات المفردة ذات الأطوال من رتبة واحد نانومتر. وقد تم استخدام هذه التقنية مع تسلسلات الأحماض الأمينية الطبيعية لإنتاج مجال واسع من البنى مع سمات أو خصائص في مستوى النانومتر بما في ذلك السطوح المعدلة (modified surfaces) والخيوط (filaments) والليفات (fibrils) والأنابيب النانوية الببتيدية (peptide nanotubes) من أجل مجموعة متنوعة من التطبيقات بما في ذلك هندسة الأنسجة وتوصيل الدواء [121].

يمكن لجزيئات ماكروية (كبيرة) أيضاً أن تُجمع لإنتاج شبكات مستقرة من ألياف في مستوى النانومتر. ويمكن هندسة قليلات النوكليوتيدات لتشكيل بُنى من الحمض النووي (DNA) بالتجميع الذاتي مع سمات أو خصائص كبيرة بقدر ١٠٠ نانومتر ومع دقة تباين من ٦ نانومترات [122,123]. في العمل المقدم من قبل Rothmund، تم وصف تقنية للتجميع، تُدعى "أوريغامي الحمض النووي DNA origami" ("DNA origami") (الأوريغامي هو فن صناعة المجسمات من خلال طي الورق) وهي تنطوي على تركيب "حاملات خلايا وأنسجة" من الحمض النووي DNA ("DNA scaffolds") التي توفر المكونات الكتلية للمادة، "والأجزاء الأساسية" للحمض النووي DNA ("DNA staples") التي تُحفّز على التجميع الذاتي في مجموعة متنوعة من البنى المبرمجة مسبقاً. وقد تم استخدام شبكات التجميع الذاتي للببتيدات وذلك لدعم أنظمة زراعة الخلايا وتوفير أقطار ألياف من رتبة ١٠ نانومترات مع أحجام مسام بين ٢٠٠ و ٥٠٠ نانومتر [124]. كما تم أيضاً تركيب بُنى قابلة للعكس من الهلامات المائية عن طريق هندسة بُنى ببتيدية اصطناعية ثلاثية الكتلة (tri - block peptide structures) [125]. وقد تم استخدام البنى الببتيدية لإنتاج أنابيب ببتيدية نانوية مرتبة، والتي قد تشمل مواد أخرى من أجل الاستخدام في تطبيقات متعددة. ففي واحدة من الطرق، تم استخدام ببتيدات ألياف الأميلويد (amyloid fiber peptides) (ألياف نَشَوَانِيَّة)، وهي طلائع للبريونات (precursors to prions) (جزيئات بروتينية تسبب العدوى) والتي يمكن أن تؤدي إلى مرض الزهايمر (Alzheimer's disease)، حيث يمكن للتجميع الذاتي أن يُنتج أسلاك الفضة النانوية (silver nanowires) بقطر من رتبة ١٠٠ نانومتر [126]. وعلى الرغم من أن القصد الأصلي من دراسة هذه العمليات كان للمساعدة في تجميع مواد غير عضوية مثل الأسلاك المعدنية النانوية من

أجل التطبيقات في مجال الإلكترونيات [127]، إلا أنه من المكن تطبيق طرق مماثلة وذلك لتطوير بُنى متقدمة لهندسة الأنسجة. إن واحد من القيود المحتملة لهذا النوع من المواد من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة هو المستوى الطولي المميز والصغير للغاية للتجميع الذاتي للبيتيدات. وقد يكون من الضروري لتصنيع بُنى هندسة الأنسجة عند تحديد السمات أو الخصائص أن تمتد على نطاق واسع من المستويات الطولية. فعلى الرغم من أن السمات أو الخصائص في المستوى النانوي يمكنها أن تُعدّل الوظيفة البيولوجية في المستوى الخلوي، إلا أن التحكم بُنى حاملات الخلايا والأنسجة في المستوى الطولي من مئات المايكرومترات أو أكبر قد يكون هناك حاجة له من أجل بعض الأنسجة وذلك لإنشاء أشكال هندسية ماكروسكوبية (عيانية كبيرة) تتسم بالمحاكاة الحيوية أو لتحسين القوة الميكانيكية أو لتحسين الاتصالات المسامية وذلك لتعزيز نقل المواد الغذائية والتخلص من الفضلات. ويمكن أن يؤدي توسيع المستوى الطولي الممكن إجراؤه لهذه التقنية إلى إحراز تقدم في التجميع في المستوى المتوسط للبُنى الأكبر مع أحجام سمات أو خصائص من رتبة عشرات المايكرومترات؛ مما قد يؤدي إلى إنتاج بيئة مايكروية لهندسة الأنسجة تدعم بشكل أفضل عمليات الخلايا التي تعتمد على المكان مثل الهجرة والانتشار وإعادة تشكيل المصفوفة (matrix remodeling). وربما يكون الجمع بين تقنيات القالب أو التجميع الذاتي مع غيرها من تقنيات تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة مع الحد الأدنى لدقات تباين تكون أعلى من ذلك بكثير حلاً للتحكم بسمات أو خصائص حاملة الخلايا والأنسجة وشكلها الهندسي عبر عدة درجات من الحجم.

(٤,٥) التصنيع المايكروبي لحاملات الخلايا والأنسجة المبذورة بالخلايا MICROFABRICATION OF CELL-SEEDED SCAFFOLDS

إن تنسيق المواقع الدقيقة لوضع الخلايا على حاملات الخلايا والأنسجة هو طريقة واحدة للاستفادة من تفاعلات الخلايا - الخلايا المحددة والتي يمكن أن تؤدي إلى ظروف مُفضّلة من أجل تشكيل الأنسجة. وعلى أي حال، فإن حاملات الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد التي يتم بذرها لاحقاً بالخلايا لا يمكنها عادةً الإبقاء أو الحفاظ على الفصل المكاني أو التحكم في تفاعلات الخلايا - الخلايا المحددة عبر أنواع متعددة من الخلايا. ففي حين تعتبر تقنيات التشكيل أو الزخرفة باستخدام الخلايا والمبينة على الحفر الضوئي وسيلة قوية من أجل التحكم بمثل هذه التفاعلات في بيئة مايكروية ثنائية الأبعاد، فإن هذه الطرق نادراً ما تنتقل أو تتحول بكفاءة إلى أنظمة ثلاثية الأبعاد. لقد أدى التقدم في التصنيع المايكروبي للمواد الحيوية وتصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) إلى القدرة على التحكم بوضع البوليمرات والخلايا مع دقة في مستوى المايكرون. إن الجمع بين جوانب هذه التكنولوجيات القائمة مع طريقة طبقة تلو الطبقة هو طريقة واحدة لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة يتم تحميلها مسبقاً بالخلايا التي يتم التحكم بها مكانياً في أشكال هندسية اعتباطية أو كيفية. وفي كثير من الأحيان تستخدم تقنيات تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة النموذجية ظروفًا قاسية مثل استخدام المذيبات السامة للخلايا (cytotoxic solvents) أو درجات حرارة مرتفعة. وبالتالي، فإن تطوير عمليات تصنيع جديدة لحاملة الخلايا والأنسجة التي تكون قادرة على الحفاظ على خلايا يمكنها البقاء على قيد الحياة هو أمر أساسي. إن هذا القيد يعمل أيضاً على تقليل عدد المواد الحيوية بشكل كبير، والتي تكون مناسبة لمثل هذه العمليات. وعلى الرغم من هذه التحديات، فقد تم عرض عدد من الإمكانيات باستخدام هذه الطريقة من أجل تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة.

(٤,٥,١) ترسيب طبقة تلو الطبقة Layer-By-Layer Deposition

توفر المنصات ذات الجريان المايكروفي (microfluidic platforms) طريقة مناسبة من أجل التحكم بالعديد من جوانب البيئة المايكروية الخلوية بما في ذلك التراكيز المحددة مكانياً للمواد الغذائية والأكسجين وإجهادات القص الميكانيكية (mechanical shear stresses) كما هو مُدرك من خلال تدفق السوائل (fluid flow). كما يمكن استخدام الجريانات المايكروية أيضاً للتحكم بالتوجيه المكاني من خلال الحجز داخل القنوات المايكروية. وقد تم استخدام التشكيل أو الزخرفة من خطوة واحدة بواسطة الخلايا في أجهزة الجريان المايكروفي؛ وذلك لإنشاء مصفوفات خلوية من أجل الأغراض التشخيصية (diagnostic purposes). فعندما تم استخدامها بالاشتراك مع استراتيجية التجميع طبقة تلو الطبقة والتشكيل أو الزخرفة المايكروية والجريانات المايكروية، أثبتت أنها مفيدة من أجل التجميع المتحكم به (controlled assembly) للبنى الهرمية للعديد من أنواع المصفوفات خارج الخلية وللعديد من أنواع الخلايا [128]. وقد تم وصف نظام زراعة خلايا مشترك تم زخرفته أو تشكيله بالجريان المايكروفي مع ثلاثة أنواع من الخلايا من أجل استخدامه المحتمل في تطبيقات هندسة الأنسجة الوعائية (vascular tissue engineering applications). حيث يمكن مزج كلٍ من الخلايا البطانية وخلايا العضلات الملساء (smooth muscle cells) وخلايا الأرومة الليفية (fibroblasts) مع محاليل بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) مثل الكولاجين والكولاجين - شيتوزان (collagen - chitosan) والماتري جل (Matrigel) وترسيبها بشكل متسلسل في طريقة طبقة تلو الطبقة [129,130]. والنتيجة هي طبقة ثلاثية الأبعاد من أنواع متعددة من الخلايا التي تم تضمين كل واحدٍ منها ببروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) المحددة مسبقاً. ففي البداية، تم تعديل سطوح أكسيد السيليكون (silicon oxide surfaces) مع ٣ - أمينو بروبييل تريثوسيلين (3-aminopropyltriethoxysilane) باستخدام ترسيب البخار (vapor deposition) وذلك لتعزيز التصاق بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM). وقد تم تصنيع أجهزة جريان مايكروفي من البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) على الزجاج باستخدام سطوح أكسيد السيليكون المعدلة. ويتم تحديد التصميم المكاني للأنسجة عن طريق تصميم شبكة الجريان المايكروفي. بعد ذلك يتدفق واحد من المحاليل المختارة للمصفوفة - خلايا في الشبكة ذات الجريان المايكروفي عند درجة حرارة ٢ مئوية وعند هذه النقطة يتم تسخين النظام إلى درجة حرارة ٣٨ مئوية وذلك للحث على إنتاج الدبق أو الهلام (gelation). ويمكن إضافة طبقات لاحقة من أنظمة المصفوفة - خلايا بطريقة ماثلة. وبعد تشكيل بُنى الزراعة المشتركة، تتم إزالة طبقة البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) للسماح لمزيد من وصف (characterization) وظائف الخلايا أو خصائص المصفوفة. إن الميزة الواضحة لهذه العملية هي استخدام الظروف الصديقة للخلايا (cell - friendly conditions) أثناء عملية التصنيع مثل عدم وجود المواد الكيميائية السامة كالمذيبات أو البادئات الضوئية (photoinitiators) (المحرّضات الضوئية) والتشعيع باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (UV irradiation)، والتي يمكن أن تُحسّن من قدرات الخلايا المبذورة للبقاء على قيد الحياة. إن تكييف تركيبات أو مجموعات محددة من المصفوفة - خلايا يمكن أن تتم هندسته وذلك لإنتاج الظروف المثلى التي من شأنها أن تُحسّن الأداء الكلي لحاملات الخلايا والأنسجة المبذورة بالخلايا. وعلى الرغم من أن استخدام جهاز جريان مايكروفي واحد يحد من الزخرفة أو التشكيل المستقل لأنواع متعددة من الخلايا، إلا أنه من المحتمل أنه يمكن التغلب على هذا القيد من خلال استخدام التقنيات المتعددة لزخرفة أو تشكيل الجريان المايكروفي، والتي تم وصفها في أنظمة أخرى [131].

(٤,٥,٢) التَمَحُظُ (التغليف) الضوئي لُبْنَى حاملات الخلايا والأنسجة-خلايا Photoencapsulation Of Cell-Scaffold Constructs

عادةً ما تُستخدم الأقنعة الضوئية (photomasks) من أجل الحفر الضوئي (photolithography) في عمليات التصنيع المايكروني التقليدية والتي يمكن أن تُستخدم بالاشتراك مع محاليل من بولي (جليكول الإثيلين) - ثنائي ميثا كريلات (PEG - DMA) لتشكيل أو زخرفة بُنى من الهلامات المائية مع دقة تباين لا تقل عن ١٠ مايكرومترات. وفي واحدة من الطرق المذكورة، يمكن للخطوات المتعددة لعمليات البلمرة الضوئية المشكّلة أو المزخرفة مايكروياً (micropatterned photopolymerization processes) أن تُربط أو تُقرن معاً لإنتاج بُنى ثلاثية الأبعاد من المصفوفة - الخلايا مع دقة تباين في مستوى المايكرون [132]. وقد تم في البداية إجراء تحديد وظيفي لسطوح ركائز مصنوعة من ثاني أكسيد السيليكون باستخدام ٣ - (تري ميثو إكسيليل) - بروبيل ميثا كريلات (3-TPM) - propyl methacrylate (3-trimethoxysilyl) وذلك للسماح بالربط التساهمي (covalent bonding) للهلامات المائية. وقد تم تطبيق طبقات رقيقة من محاليل هلامات مائية مصنوعة من البولي (جليكول الإثيلين)-ثنائي ميثا كريلات (PEG - DMA) الحاوية على الخلايا مع نموذج خلايا الـ (HepG2) على السطح المحدد وظيفياً (functionalized surface)؛ ومن ثم تم تعريضها للتشعيع بواسطة الأشعة فوق البنفسجية من خلال قناع ضوئي. وقد تم إظهار الركيزة (توضيح تفاصيلها) عن طريق غسلها في محلول متساوي التوتر (isotonic solution) لإزالة المناطق غير المترابطة أو المتشابكة. بعد ذلك يتم تحريك الركيزة خطوة في الاتجاه (z) عن طريق إدراج مُباعد من السيليكون (silicone spacer). ويمكن تكرار هذه العملية باستخدام معلقات اعتباطية أو كيفية من الخلايا في محاليل بولي (جليكول الإثيلين) - ثنائي ميثا كريلات (PEG - DMA) وذلك لإنشاء طبقات إضافية مُشكّلة أو مزخرفة مايكروياً. توفر البلمرة الضوئية للهلامات المائية المغلفة بالخلايا (cell - encapsulated hydrogels) في تقنية طبقة تلو الطبقة المرونة لتشكيل أو زخرفة طبقات من الخلايا في أشكال هندسية اعتباطية أو كيفية. ويمكن لجزيئات بولي (جليكول الإثيلين) - ثنائي ميثا كريلات (PEG - DMA) المعدلة مع ببتيدات محددة والتي تعزز وظائف الخلايا مثل الالتصاق أو الهجرة أن تكون مدججة مع حاملة الخلايا والأنسجة بسهولة. والنتيجة هي منصة مرنة لتصنيع حاملة خلايا وأنسجة من الهلامات المائية التي يمكن استخدامها للتحكم بالبيئة المايكروية لأنواع متعددة من الخلايا في حين أنها وفي نفس الوقت تضبط التكوين أو التشكيل المكاني مع دقة في مستوى المايكرون. إن واحداً من العيوب لمثل هذا النظام هو استخدام البادئات الضوئية (المحرّضات الضوئية) التي من المحتمل أن تكون سامة للخلايا بالاشتراك مع التشعيع بواسطة الأشعة فوق البنفسجية كوسيلة لإنشاء بُنى مايكروية دقيقة (microstructures) (بُنى مجهرية). ففي هذه الطريقة المذكورة، يتم التقليل من قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة، والتي يتم قياسها عن طريق فحص الـ MTT (MTT assay)، بطريقة تعتمد على الجرعة وذلك عندما يتم تغيير وقت التعرض للأشعة فوق البنفسجية وتركيز البادئة أو المحرّض الضوئية أسيتوفينون (acetophenone) بين صفر و ٦٠ ثانية، وصفر و ٣ ملليغرامات / ميليلتر، على التوالي. ويمكن للتشعيع بواسطة الأشعة فوق البنفسجية أيضاً أن يسبب أضراراً للحمض النووي (DNA) لا رجعة فيها (غير عكوسة)، والذي قد يؤثر على إمكانية استخدامه مع الخلايا الجذعية (stem cells) وخلايا الطليعة (progenitor cells) (الخلايا

الأولية) الأخرى. وثمة عامل آخر يمكن أن يحد من إمكانية استخدام حاملات الخلايا والأنسجة التي يتم تصنيعها مايكروياً والمبدورة بالخلايا باستخدام الهلامات المائية القابلة للتشابه أو الترابط الضوئي وهو الحفاظ على صحة الشكل أو النمط (pattern fidelity) للسمات أو الخصائص الصغيرة مع وجود درجة عالية من الدقة. فبينما يتم الحفاظ على دقة تباين للسمات أو الخصائص الأكبر من ٢٠٠ مايكرومتر عند حوالي ١٠٪ من حجم السمة أو الميزة، فإن الحد الأدنى لدقة التباين المكاني يزداد بشكل كبير عندما يتم تقليل حجم السمة أو الميزة إلى أقل من ١٠٠ مايكرومتر. ويمكن زيادة الأبعاد الفعلية للسمات أو الخصائص إلى ما يصل من ٢٠٠٪ أكبر من أحجام السمات أو الخصائص على القناع الضوئي، حيث إن هذه النسبة تعتمد وبشكل أساسي على زمن التعرض. إن واحدة من الآليات التي يمكن أن تُفسر الزيادة في حجم السمة أو الميزة قد تكون الطبيعة المنتفخة (swelling nature) الكامنة في الهلامات المائية المصنوعة من بولي (جليكول الإيثيلين) (PEG). وقد تكون الاحتمالات الأخرى هي الهجرة السريعة للأنواع أو الأصناف المتفاعلة ضوئياً داخل الهلامات المائية أثناء عملية البلمرة، والتي من شأنها أن تؤدي إلى نقص أو عجز شامل في إنتاج سمات أو خصائص أصغر من ٥٠ مايكرومتر مع دقة تباين ضيقة. وعلى الرغم من أنه قد تم تكييف هذه العملية من أجل تصنيع الهلامات المائية من البولي (جليكول الإيثيلين) (PEG)، إلا أنه يمكن توسيعها لأنواع أخرى من الأصناف البوليمرية المتفاعلة ضوئياً [133].

وقد أظهرت تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) بشير نجاح كبير في مجال تصميم وتصنيع حاملات هندسة أنسجة قابلة للتخصيص. إن حاملات الخلايا والأنسجة المبدورة لاحقاً بالخلايا، والتي يتم تصنيعها عبر تقنيات تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) أو الطرق الأخرى، تحد من تعلق أو ارتكاز الخلايا على سطح حاملة الخلايا والأنسجة وحدها، والذي يؤدي إلى كثافات خلايا منخفضة نسبياً في الحجم. إن الجمع بين جوانب الحفر المجسم ثلاثي الأبعاد (SLA) مع محاليل البوليمرات - الخلايا يسمح بإمكانية دمج الخلايا بشكل مباشر في حاملة الخلايا والأنسجة وذلك لإنجاز كثافة عالية للخلايا. وقد تم ذكر مثل هذا النظام، حيث تم إجراء عملية التمحفظ أو التغليف الضوئي (photoencapsulation) لخلايا مبيض الهامستر الصيني (Chinese hamster ovary - CHO) في الهلامات المائية المصنوعة من البولي (جليكول الإيثيلين) - ثنائي ميثا كريات (PEG - DMA) باستخدام عملية الحفر المجسم ثلاثي الأبعاد (SLA) المعدلة [134]. إن المشاكل التقنية المرتبطة مع تقنية التصنيع تلك هي ببساطة اتحادها مع عمليات الحفر المجسم ثلاثي الأبعاد (SLA) المعيارية والتمحفظ أو التغليف الضوئي للخلايا الحية. إن مثل هذه التحديات تشمل تحقيق الحد الأدنى الصغير والمعقول لحجم السمة أو الميزة وإنتاج دقات تباين ضيقة والحفاظ على قدرة عالية لبقاء الخلايا على قيد الحياة من أجل الخلايا المغلفة. وفي العملية التي تم تطويرها من قبل Dhariwala وآخرين، تم إنجاز الحد الأدنى من أحجام السمات أو الخصائص من ١٥٠ مايكرومتر في الاتجاه (z) و ٢٥٠ مايكرومتر في المستوي (x - y)، والتي هي مماثلة لعمليات الحفر المجسم ثلاثي الأبعاد (SLA) التقليدية. وكما ورد في دراسات التمحفظ أو التغليف الضوئي السابقة، فقد كانت قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة معتمدة بشكل كبير على تركيز البادئة أو المحرصة الضوئية.

(٤,٥,٣) الترسيب المباشر للخلايا في المستوى المايكرو Microscale Direct Deposition Of Cells

إن مفهوم الترسيب المباشر للخلايا (direct deposition of cell) هو طريقة أخرى واعدة ومحتملة وذلك من أجل الحصول على أنماط أو زخارف من الخلايا في أشكال هندسية اعتباطية أو كيفية. وقد تمت في هذه المعالجة الإشارة سابقاً إلى طريقتين من أجل ترسيب الخلايا المباشر باستخدام الحفر بالاتصال (contact lithography). هاتان الطريقتان هما: (١) استخدام ختم أو طبعة من الآغاروز (agarose stamp) من أجل ترسيب الخلايا المباشر المتحكم به على الركائز [58]، و (٢) استخدام مرسام أو استنسل من اللدائن المرنة (elastomeric stencil) من أجل الترسيب الخلوي المشكّل أو المزخرف [65]. وعلى أي حال، فإنه يمكن إنجاز الترسيب المباشر للخلايا باستخدام تقنيات أخرى أيضاً.

(٤,٥,٣,١) إِرْدَاذ (رش) الخلايا Cell Spraying

إن الترسيب المباشر للخلايا باستخدام تقنية الإِرْدَاذ أو الرش (spraying technique) بالتزامن مع استخدام قناع التشكيل أو الزخرفة (patterning mask) هو طريقة ملائمة من أجل إنشاء تشكيل أو زخرفة ثنائية الأبعاد للخلايا بشكلٍ متتابع؛ مما يؤدي إلى إنتاج حاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد من الخلايا المشكّلة أو المزخرفة مايكروياً (micropatterned cells). تقوم هذه الطريقة البسيطة بنشر محلول من الخلايا باستخدام جهاز مرذاذ (رش) هوائي جاهز للاستخدام لإنشاء مُعلّق من قطرات سائلة (suspension of liquid droplets) (قطرات صغيرة جداً) تحتوي على الخلايا، والتي يتم توجيهها نحو سطح مادة الكولاجين الهلامية [135]. فعندما تتم عملية ترسيب الخلايا، يتم إزالة القناع تاركاً الخلايا المشكّلة أو المزخرفة على ركيزة من الكولاجين مع دقات تباين تقرب من ١٠٠ مايكرومتر. بعد ذلك يتم امتزاز أو امتصاص مادة هلامية ثانية من الكولاجين (بسمائة من حوالي ٤٠٠ مايكرومتر) على سطح الركيزة ويعقب ذلك مرحلة إضافية من إِرْدَاذ أو رش الخلايا. ويمكن تكرار هذه التسلسلات من الخطوات بشكلٍ متتابع وذلك لإنتاج طبقات متناوبة من الخلايا وبروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM). وقد لوحظ تزايد في نشاط السيتوكروم (cytochrome P450 activity) (P450)، وهو فحص وظيفة الخلايا المحددة للكبد (liver - specific cell function)، عندما يتم تشكيل أو زخرفة خلايا الأرومة الليفية (NIH 3T3) بالمشاركة مع خلايا الكبد الأساسية (primary hepatocytes) المتوضعة في مزرعة خلايا قصيرة المدى. إن القدرة على إنشاء أشكال هندسية كيفية أو اعتباطية من الخلايا المشكّلة أو المزخرفة في شطيرة (بين شريحتين) من الكولاجين (collagen sandwich) هي تقنية جذابة من أجل الحفاظ على قطبية (polarity) ووظيفة الخلايا الكبدية التي يتم زراعتها في المختبر [136]. وقد تبين أن عملية الإِرْدَاذ أو الرش لا تؤثر بشكلٍ كبير على قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة أو وظيفة خلايا الحبل السُريّ البطانيّة البشرية (human umbilical endothelial cells) أو خلايا الكبد الأساسية. ففي حين أن هذه الطريقة تشبه من حيث المبدأ غيرها من التقنيات الخاصة بتشكيل أو زخرفة الخلايا بما في ذلك استخدام الأختام (الطبقات) أو الاستنسل (المرسام) المشكّلة أو المزخرفة مايكروياً [65]، إلا أنها توفر تحديداً وظيفياً إضافياً من خلال الجمع بين ترسيب الخلايا المشكّلة أو المزخرفة مع طريقة طبقة تلو الطبقة، والتي تتحكم بموقع الخلايا في الاتجاه (z). وعلى الرغم من أن الكولاجين كان قد تم استخدامه كبروتين للمصفوفة خارج الخلية (ECM) في هذا المثال المحدد، إلا أنه يمكن استخدام أي من

البروتينات المناسبة للمصفوفة خارج الخلية (ECM) في ما بين طبقات الخلايا، كما يمكن تحسينها اعتماداً على الأنسجة المحددة التي هي قيد الاهتمام والدراسة. كما يوجد هناك بعض العيوب لهذه الطريقة وللتقنيات المشابهة. فإرذاذ أو رش الخلايا يتطلب استخدام أقنعة متعددة (multiple masks) من أجل تشكيل أو زخرفة الخلايا في أشكال هندسية مختلفة لكل شريحة متناظرة في المستوي $(x - y)$. وكذلك فإن الحد الأدنى لدقة التباين لا يزال أكبر من المقياس الطولي المميز من أجل العديد من البنى الهندسية المايكروية الدقيقة (microarchitectures) الموجودة في أنسجة الأعضاء المعقدة. على سبيل المثال، فإن كلاً من البنى الموجودة في الحويصلات الرئوية (lung alveoli) وأسرة الشعيرات (capillary beds) والجيوب الكبدية (liver sinusoids) لديها بنية هندسية مايكروية دقيقة والتي تتطلب نظرياً دقة من ٥ إلى ١٠ مايكرومترات لوضع خلية مفردة.

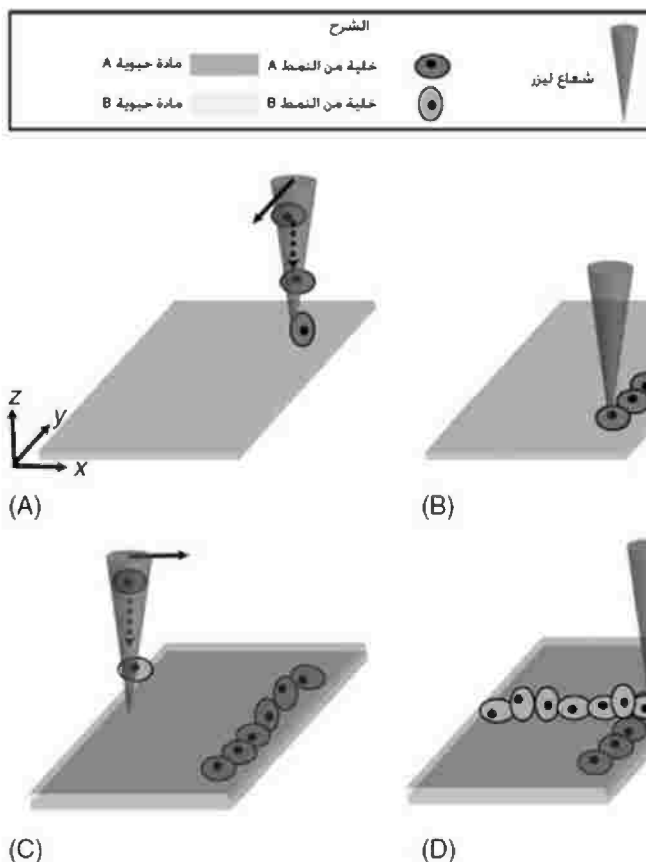
(٤,٥,٣,٢) طباعة الخلايا بتقنية نفث الحبر Inkjet Printing of Cells

هناك طريقة أخرى للترسيب المباشر للخلايا تعمل على استخدام طابعة نافثة للحبر جاهزة للاستخدام حيث تستخدم طريقة الترسيب الحراري للحبر الذي يتم تحميله مع مُعلّق (suspension) من خلايا مبيض الهامستر الصيني (CHO) في محلول الدّرء (العزل) (buffer solution). ومن ثم يتم ترسيب الخلايا بطريقة دقيقة على ركائز مبنية من الهلامات المائية باستخدام برنامج رسوم بيانية (graphics program) بسيط لتحديد مكان الخلايا المترسبة في المستوي $(x - y)$ (الشكل ٤, ٤). إن هذه العملية تتطلب القليل من التعديل في الطابعة المتاحة تجارياً، فعلى الرغم من الإجهادات الشديدة (extreme stresses) المطبقة على الخلايا والتي تكون مرتبطة بعملية الطباعة، فقد تم المحافظة على قدرات الخلايا على البقاء على قيد الحياة لحوالي ٩٠٪ في ترسيب نوع خلايا مبيض الهامستر الصيني (CHO) القوية وذلك كإثبات لصحة المفهوم. وقد تبين إن دقة التباين لطباعة مُعلّقات من الخلايا بتقنية نفث الحبر تكون من رتبة مئات المايكرومترات، والتي هي نموذجية في معظم طرق تصنيع الشكل الحر الصلب (SFF) التي سبق وأن تم وصفها. وعلى الرغم من أن هذه الطريقة قد عرضت فقط الترسيب المشكّل أو المزخرف بشكل ثنائي الأبعاد ولنوع واحد من الخلايا، إلا أن هذه التكنولوجيا تمثل منصة مرنة (flexible platform) للتطوير المستقبلي لحاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد مبدورة بالخلايا.

(٤,٥,٣,٣) الطرق الضوئية لترسيب الخلايا بدون اتصال Optical Methods for Noncontact Cell Deposition

إن التلاعب بالخلايا أو معالجتها بدون اتصال (noncontact manipulation of cells) من خلال استخدام المصائد الضوئية المتدرجة ذات الحزمة المفردة (single - beam gradient optical traps) هي طريقة فعّالة للتحكم بالإحداثيات المكانية لمجموعة متنوعة من أنواع الخلايا في المعلّقات. وقد تم عرض هذه التكنولوجيا، والتي يُطلق عليها أيضاً مصطلح الملاقيط البصرية أو الضوئية (optical tweezers)، في التلاعب أو معالجة مجموعة متنوعة من المكونات البيولوجية بما في ذلك الخلايا والمكونات دُوَيْن (دون) الخلوية (subcellular components) والجسيمات المايكروية أو المجهرية الدقيقة (microparticles) المغلفة بجزيئات حيوية وظيفية. ويؤدي استخدام عدسات الفتحة الرقمية العالية (high numerical aperture lenses) إلى الحجز المحكم (tight confinement) للجسيمات على طول محور الحزمة مما يحد من مجال الحركة في هذا الاتجاه، الأمر الذي يؤدي في نهاية المطاف إلى انخفاض كبير في كفاءة ترسيب الخلايا في هذه الطريقة. ببساطة وعن طريق تصغير الفتحة الرقمية للعدسة، يمكن توجيه

الجسيمات ذات الحجم المايكروني وما دون المايكروني على طول مسار الحزمة في تدفق مستمر، ويمكن أن تُمتص على الهدف المراد دراسته. إن هذه التقنية العامة والتي يُطلق عليها مصطلح الكتابة المباشرة الموجهة بالليزر (laser - guided direct writing - LGDW) قد تم تطبيقها على مجموعة متنوعة من الجسيمات العضوية وغير العضوية بالإضافة إلى خلايا الثدييات [137]. فأتداء عملية الكتابة المباشرة للخلايا الموجهة بالليزر (LGDW)، يتم تكوين أشعة ليزر ينبعث منها إشعاع قريب من الأشعة تحت الحمراء بالقرب من عدسة يتم التحكم بها باستخدام معالج مايكروني ثلاثي المحاور (three - axis micromanipulator) ويتم توجيهها إلى غرفة معقمة (sterile chamber) تحتوي على مُعلّق من الخلايا وركيزة هدف في قعر المكان المخصص لزراعة الخلايا (well). فعندما يحدث انزياح للخلايا بشكل عشوائي في مسار أشعة الليزر، تسيطر قوة التدرج (gradient force) وتجلب الخلية إلى مركز الشعاع أو الحزمة. ومن ثم تقوم حزمة أشعة الليزر بتوجيه الخلية على طول مسار الحزمة حتى تصل إلى الركيزة. ويمكن توجيه موقع الخلايا المفردة أو تدفقات الخلايا عن طريق المعالجة أو التلاعب بموقع العدسة. وقد تم استخدام هذه التقنية من أجل الترسيب المباشر لخلايا الحبل الشوكي الجنينية لصُوص (صغير الطائر) (embryonic chick spinal cord cells) على ركيزة هدف مصنوعة من الزجاج غير المعالج، إن واحدة من ميزات هذه التقنية هي أنه يمكن ترسيب الخلايا على ركائز مختلفة بما في ذلك الكولاجين والماتري جل (Matrigel)، والتي ربما تفتقر إلى الخصائص الميكانيكية القوية واللازمة من أجل غيرها من تقنيات الطباعة اللينة (الطرية) أو التشكيل اللين (الزخرفة اللينة). فعلى سبيل المثال، لقد تم نقش أو زخرفة الخلايا البطانية الوعائية السريعة البشرية (human umbilical vascular endothelial cells - HUVECs) بشكل مباشر على أفلام رقيقة من الماتري جل، وهو معروف بأنه يقوم بتعزيز التنظيم الوعائي [138,139]. ويمكن الجمع بين تقنية الطبقة تلو الطبقة تلك مع ترسيب فيلم أو طبقة رقيقة من المواد الحيوية للمصفوفة خارج الخلية (ECM) وذلك من أجل إنشاء بُنى ثلاثية الأبعاد (الشكل رقم ٤.٥). ويمكن تدوير العديد من التسلسلات لترسيب أنواع مختلفة من الخلايا متبوعاً بامتزاز أو امتصاص طبقة رقيقة من مادة حيوية وذلك من أجل إنشاء بُنى ثلاثية الأبعاد مبدورة بالخلايا. يمكن ترسيب أنواع متعددة من الخلايا بسهولة، والتي يمكن أن تُستخدم لإنتاج مزارع خلايا مشتركة وذلك من أجل الاستفادة من تفاعلات الخلايا - الخلايا غيرية النمط (heterotypic cell - cell interactions). في العمل المقدم من قبل Nahmias وآخرين، تم تشكيل أو زخرفة الخلايا الكبدية بالاشتراك مع الخلايا البطانية الوعائية السريعة البشرية (HUVECs) وذلك لتشكيل بُنى جيبانية (شبه جيبية) كبدية ناشئة أو حديثة الولادة (nascent liver sinusoid structures). ويمكن أن تكون أحد العيوب المحتملة للتنفيذ على مستوى كبير الحجم باستخدام هذه التكنولوجيا هو السرعة البطيئة لعملية الترسيب. ففي النظام المذكور، تم ترسيب الخلايا على السطح بمعدل ٢.٥ خلية في الدقيقة الواحدة؛ مما يوحي بأن الترسيب المشكّل أو المزخرف من ١٠٠ إلى ١٠٠٠ خلية سيأخذ ساعات لاستكمالها. ويمكن لهذا المعدل أن يزداد بشكلٍ نظري عن طريق زيادة تركيز الخلايا داخل المعلق أو عن طريق استخدام مصفوفة من أشعة الليزر لتشكيل أو زخرفة مناطق متعددة في وقت واحد.



الشكل رقم (٤,٥). رسم تخطيطي للكتابة المباشرة بالليزر (LGDW) من أجل هندسة أنسجة ثلاثية الأبعاد. (A) يتم وضع مُعلّق من الخلايا (suspension of cells) على الطبقة العلوية لركيزة من مادة حيوية (biomaterial substrate) في وجود أشعة الليزر التي تكون قابلة للتحرك على طول المحور $(x-y)$. (B) عندما يحدث انزياح للخلايا في مسار أشعة الليزر، يتم توجيهها نحو الركيزة. ويمكن عندئذٍ لأشعة الليزر أن تتحرك لإنشاء خطوط فردية من الخلايا أو لتشكيل أشكال هندسية مُنقطّة (rasterized geometries). (C) يمكن لطبقات إضافية من المادة الحيوية أن تلتصق على السطح وذلك لإنشاء ركائز جديدة من أجل (D) الترسيب اللاحق لنوع مختلف من الخلايا، إذا كان ذلك مرغوباً. ويمكن القيام بعملية تكرار خطوات الكتابة المباشرة وترسيب المادة الحيوية من أجل استخدامها في إنشاء ركائز ثلاثية الأبعاد، والتي من المحتمل أن تكون مفيدة من أجل مجموعة متنوعة من ركائز الأنسجة (انظر النص).

(٤,٦) مستقبل تكنولوجيا التصنيع المايكروفي لتطوير حاملة الخلايا والأنسجة FUTURE OF MICROFABRICATION TECHNOLOGY FOR SCAFFOLD DEVELOPMENT

إن أساس التقدم في تطوير حاملة الخلايا والأنسجة هو التسهيل وبشكل مستمر للتفاعل بين ما لا يقل عن ثلاثة مجالات رئيسية للدراسة، وهي: (١) علم المواد والهندسة والمعالجة و (٢) علم بيولوجيا الخلايا و (٣) علم الكيمياء وتركيب المواد.

ومما لا شك فيه أن هذه المجالات والمجالات المرتبطة بها ستتقدم بشكلٍ عفوي عندما تستمر التطورات الكبيرة في مجالات مثل تركيب البوليمر وتوصيل الدواء وتحديد خصائص البروتين والعلاج الجيني والخلايا الجذعية بمعدلٍ سريع ونشط. وعلى أي حال، فإن هذا التفاعل أو الارتباط سيكون ضرورياً في تصميم حاملات الخلايا والأنسجة، والذي سيُسَهِّل استجابات تجديد الأنسجة المخطط لها مسبقاً. ولا بد من دراسة بيولوجيا الخلايا وتركيب المواد في نفس الوقت وذلك لتحديد خصائص تفاعلات الخلايا - المواد الحيوية، والذي سيُخدم في نهاية المطاف ليكون كأساس من أجل تصميم وتركيب المواد الحيوية الذكية (smart biomaterials). ويجب المضي قدماً في تركيب المواد وفي معالجة المواد بشكلٍ متآزر وذلك من أجل تطوير استراتيجيات لمعالجة المواد والتي لا تكون فقط متوافقة مع المواد الحيوية المناسبة، وإنما تكون قادرة كذلك على استيعاب العوامل التقنية والاقتصادية أيضاً. وأخيراً لا بد من تنفيذ علم المواد وبيولوجيا الخلايا في انسجام تام لدراسة، وفي نهاية المطاف لهندسة بيئات مايكروية مكانية وزمانية في مستوى دقيق والذي يُعتبر أمراً حاسماً من أجل إحداث الاستجابة الخلوية المطلوبة، وهو أمرٌ مهم بشكلٍ خاص في مجال هندسة الأنسجة وتجديد الأعضاء. إن واحداً من التوجهات الرئيسية لتطوير المتبادل يكمن في القدرة على إنشاء مواد وأنظمة في المستوى الطولي النانومتري. وقد دفعت القيود المفروضة على الحفر الضوئي التقليدي إلى تنفيذ عمليات تصنيع نانوي أخرى بما في ذلك الحفر باستخدام الطبعة النانوية. وتكون عمليات الحفر باستخدام الطبعة النانوية (nanoimprint lithography) قادرة على إنشاء سمات أو خصائص قابلة لإعادة الإنتاج في مستوى أقل من ٣٠ نانومتراً [140]. ومن المحتمل لسمات أو خصائص في هذا المستوى الطولي أن تُستخدم لتصنيع بُنى أغشية قاعدية تركيبية (synthetic basement membrane)، والتي من المعروف أنها تحتوي على سمات أو خصائص في مستوى طولي مماثل [141,142]. ويمكن استخدام ركائز الخلايا الاصطناعية وذلك كي تتفاعل وبشكلٍ دقيق مع الأرجل الكاذبة الخيطية للخلايا (filopodia of cells) ومع الأرجل الكاذبة الصفائحية للخلايا (lamellopodia of cells)، والتي من المحتمل أن يتم استخدامها من أجل التحكم في وظائف الخلايا مثل الهجرة والتميز.

إن نموذج هندسة الأنسجة الحالي يشير إلى أن القوة الدافعة من أجل تصميم وتصنيع حاملة الخلايا والأنسجة هي الرغبة في إنشاء نظام محاكٍ حيويًا (biomimetic system). إن هذه المتابعة المناسبة وإن كانت بدائية في الوقت الراهن غالباً ما تتجلى في تصميم المواد المحاكية حيويًا والعمليات وبُنى الحاملة - الخلايا التي تحاول أن تحاكي خصائص البيئة المايكروية للأنسجة مثل الشكل أو النمط الظاهري للخلية والبنية الهندسية المايكروية أو الدقيقة والخصائص الميكانيكية والطوبوغرافيا السطحية (السمات السطحية) والإشارات أو المنبهات الكيميائية. وتوفر الاستراتيجيات المحاكية حيويًا المستخدمة في تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة تحديات تؤدي إلى التحسين الشامل في تقنيات التصنيع المايكروبي من أجل تطوير حاملة الخلايا والأنسجة وهندسة الأنسجة بشكلٍ عام. وقد تأتي هذه التحسينات في شكل مواد جديدة مع تحسّن في استجابة الأنسجة أو سهولة المعالجة، أو في شكل طرق جديدة من أجل التحكم بتفاعلات الخلايا - الخلايا أو الخلايا - المواد الحيوية، أو في شكل طرق جديدة من أجل التصنيع السهل للمواد الحيوية لحاملات خلايا وأنسجة وظيفية، والتي يمكن أن تعزز عمليات التجديد عبر جميع المستويات الهرمية من البروتينات والخلايا إلى الأنسجة والأعضاء.

إن الدور الأساسي للتصنيع المايكروفي في تطوير حاملة الخلايا والأنسجة وفي هندسة الأنسجة هو أن يعمل كأداة يمكنها تقديم العون والمساعدة في تقدم المجالات الفردية للعلوم والهندسة، والتي إما أن تكون مرتبطة بشكل مباشر وإما أن تكون بشكل غير مباشر بتجديد الأنسجة والأعضاء. بالإضافة إلى ذلك، يجب أن يُنظر إلى تقنيات التصنيع المايكروفي للمواد الحيوية على اعتبار أنها أيضاً أداة توحيد من أجل إنشاء منصات (platforms) للأبحاث متعددة التخصصات (interdisciplinary research). وبالنسبة للجزء الأكبر، فقد تم تثبيت الدور الفعال للتصنيع المايكروفي في تجديد الأنسجة والأعضاء بصورة دائمة فقط في الآونة الأخيرة. وعلى أي حال، فإن دور تكنولوجيا التصنيع المايكروفي في هندسة الأنسجة سيصبح أكثر وضوحاً عندما يصبح أكثر وأكثر جدوى من الناحية الاقتصادية وواسع الانتشار في كل مكان وسهل المنال أو يمكن الحصول عليه في المجالات العلمية الأخرى ويستمر في اكتساب القوة كأداة من أجل كل من العلوم الأساسية والعلوم البيولوجية التطبيقية (applied biological sciences).

المراجع REFERENCES

- [1] McBeath R, Pirone DM, Nelson CM, Bhadriraju K, and Chen CS. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment. *Dev Cell* 2004;6:483–495.
- [2] Jiang X, Bruzewicz DA, Wong AP, Piel M, and Whitesides GM. Directing cell migration with asymmetric micropatterns. *Proc Nat Acad Sci USA* 2005;102(4):975–978.
- [3] Lucchetta EM, Lee JH, Fu AL, Patel NH, and Ismagilov RF. Dynamics of Drosophila embryonic patterning network perturbed in space and time using microfluidics. *Nature* 2005;434:1134–1138.
- [4] Chen CS, Mrksich M, Huang S, Whitesides GM, and Ingber DE. Geometric control of cell life and death. *Science* 1997;276:1425–1428.
- [5] Flemming RG, Murphy CJ, Abrams GA, Goodman SL, and Nealey PF. Effects of synthetic micro- and nano-structured surfaces on cell behavior. *Biomaterials* 1999;20:573–588.
- [6] Dalby MJ, Riehle MO, Yarwood SJ, Wilkinson CDW, and Curtis ASG. Nucleus alignment and cell signaling in fibroblasts: Response to a micro-grooved topography. *Exp Cell Res* 2003;284:274–282.
- [7] Chou L, Firth JD, Uitto VJ, and Brunette DM. Substratum surface topography alters cell shape and regulates fibronectin mRNA level, mRNA stability, secretion and assembly in human fibroblasts. *J Cell Sci.* 1995;108:1563–1573.
- [8] Curtis ASG and Wilkinson CDW. Reactions of cells to topography. *J Biomater Sci Polym Ed* 1998; 9(12):1313–1329.
- [9] Curtis A and Wilkinson C. Topographical control of cells. *Biomaterials* 1997;18(24):1573–1581.
- [10] Armani DK and Liu C. Microfabrication technology for polycaprolactone, a biodegradable polymer. *J Micromech Microeng* 2000;10:80–84.
- [11] Chen SC and Lu Y. Micro- and nano-fabrication of biodegradable polymers. In: Mallapragada S, Narasimhan B (Eds.), *Handbook of Biodegradable Polymeric Materials and Their Applications*: American Scientific Publishers 2005:1–17.
- [12] Hecke M and Schomburg W. Review on micro molding of thermoplastic polymers. *J Micromech Microeng* 2004;14:R1–R14.

- [13] Duffy DC, McDonald JC, Schueller JA, and Whitesides GM. Rapid prototyping of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Anal Chem* 1998;70(23):4974–4984.
- [14] Borenstein JT, Terai H, King KR, Weinberg EJ, Kaazempur-Mofrad MR, and Vacanti JP. Microfabrication technology for vascularized tissue engineering. *Biomed Microdevices* 2002;4(3):167–175.
- [15] Leclerc E, Sakai Y, and Fujii T. Microfluidic PDMS (polydimethylsiloxane) bioreactor for large-scale culture of hepatocytes. *Biotechnol Prog* 2004;20:750–755.
- [16] Leclerc E, Yasuyuki S, and Fujii T. Cell culture in 3-dimensional microfluidic structure of PDMS (polydimethylsiloxane). *Biomed Microdevices* 2003;5(2):109–114.
- [17] Richards-Grayson AC, Choi IS, Tyler BM, Wang PP, Brem H, Cima MJ, et al. Multi-pulse drug delivery from a resorbable polymeric microchip device. *Nat Mater* 2003;2:767–772.
- [18] Schmidt CE, Shastri VR, Vacanti JP, and Langer R. Stimulation of neurite outgrowth using an electrically conducting polymer. *Proc Nat Acad Sci USA* 1997;94:8948–8953.
- [19] George PM, Lyckman AW, LaVan DA, Hegde A, Leung Y, Avasare R, et al. Fabrication and biocompatibility of polypyrrole implants suitable for neural prosthetics. *Biomaterials* 2005;26:3511–3519.
- [20] Wang Y, Ameer GA, Sheppard BJ, and Langer R. A tough biodegradable elastomer. *Nat Biotechnol* 2002;20:602–606.
- [21] Yang J, Webb AR, and Ameer GA. Novel citric acid-based biodegradable elastomers for tissue engineering. *Adv Mater* 2004;16(6):511–515.
- [22] Bettinger CJ, Orrick B, Misra A, Langer R, and Borenstein JT. Microfabrication of poly(glycerolsebacate) for contact guidance applications. *Biomaterials* 2006;27:2558–2565.
- [23] Bettinger CJ, Cyr KM, Matsumoto A, Langer R, Borenstein JT, and Kaplan DL. Silk fibroin microfluidic devices. *Adv Mater* 2007;19(19):2847–2850.
- [24] Paguirigan A and Beebe DJ. Gelatin based microfluidic devices for cell culture. *Lab Chip* 2005;6:407–413.
- [25] Cabodi M, Choi NW, Gleghorn JP, Lee CSD, Bonassar LJ, and Stroock AD. A microfluidic biomaterial. *J Am Chem Soc* 2005;127:13788–13789.
- [26] Tang MD, Golden AP, and Tien J. Molding of three-dimensional microstructures of gels. *J Am Chem Soc* 2003;125(43):12988–12989.
- [27] Owen GR, Jackson J, Chehroudi B, Burt H, and Brunette DM. A PLGA membrane controlling cell behaviour for promoting tissue regeneration. *Biomaterials* 2005;26:7447–7456.
- [28] Mills CA, Escarr J, Engel E, Martinez E, Errachid A, Bertomeu J, et al. Micro and nanostructuring of poly(ethylene-2,6-naphthalate) surfaces, for biomedical applications, using polymer replication techniques. *Nanotechnology* 2005;16(4):369.
- [29] Teixeira AI, Abrams GA, Bertics PJ, Murphy CJ, and Nealey PF. Epithelial contact guidance on welldefined micro- and nanostructured substrates. *J Cell Sci* 2003;116:1881–1892.
- [30] Sarkar S, Dadhania M, Rourke P, Desai TA, and Wong JY. Vascular tissue engineering: Microtextured scaffold templates to control organization of vascular smooth muscle cells and extracellular matrix. *Acta Biomater* 2005;1(1):93–100.
- [31] Belkas JS, Shoichet MS, and Midha R. Peripheral nerve regeneration through guidance tubes. *Neurol Res* 2004;26(2):151–160.
- [32] Jiang X, Takayama S, Qian X, Ostuni E, Wu H, Bowden N, et al. Controlling mammalian cell spreading and cytoskeletal arrangement with conveniently fabricated continuous wavy features on poly(dimethylsiloxane). *Langmuir* 2002;18:3273–80.
- [33] Metz S, Holzer R, and Renaud P. Polyimide-based microfluidic devices. *Lab Chip* 2001;1:29–34.
- [34] King KR, Wang CCJ, Kaazempur-Mofrad MR, Vacanti JP, and Borenstein JT. Biodegradable microfluidics. *Adv Mater* 2004;16(22):2007–2009.

- [35] Ryu W, Min SW, Hammerick KE, Vyakarnam M, Greco RS, Prinz FB, et al. The construction of threedimensional micro-fluidic scaffolds of biodegradable polymers by solvent vapor based bonding of micromolded layers. *Biomaterials* 2007;28(6):1174–1184.
- [36] Wang GJ, Chen CL, Hsu SH, and Chiang YL. Bio-MEMS fabricated artificial capillaries for tissue engineering. *Microsyst Technol* 2005;12:120–127.
- [37] Bettinger CJ, Weinberg EJ, Kulig KM, Vacanti JP, Wang Y, Borenstein JT, et al. Three-dimensional microfluidic tissue engineering scaffolds using a flexible biodegradable polymer. *Adv Mater* 2006;18:165–169.
- [38] Horan RL, Antle K, Collette AL, Wang Y, Huang J, Moreau JE, et al. In vitro degradation of silk fibroin. *Biomaterials* 2005;26:3385–3393.
- [39] Altman GH, Diaz F, Jakuba C, Calabro T, Horan RL, Chen J, et al. Silk-based biomaterials. *Biomaterials* 2003;24:401–416.
- [40] Sofia S, McCarthy MB, Gronowicz G, and Kaplan DL. Functionalized silk-based biomaterials for bone formation. *J Biomed Mater Res* 2001;54:139–148.
- [41] Karageorgiou V, Meinel L, Hofmann S, Malhotra A, Volloch V, and Kaplan D. Bone morphogenetic protein-2 decorated silk fibroin films induce osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. *J Biomed Mater Res* 2004;71A(3):528–537.
- [42] Alsberg E, Anderson KW, Albeiruti A, Franceschi RT, and Mooney DJ. Cell-interactive alginate hydrogels for bone tissue engineering. *J Dent Res* 2001;80(11):2025–2029.
- [43] Kuo CK and Ma PX. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials* 2001;22(6):511–521.
- [44] Lee KY, Rowley JA, Eiselt P, Moy EM, Bouhadir KH, and Mooney DJ. Controlling mechanical and swelling properties of alginate hydrogels independently by cross-linker type and cross-linking density. *Macromolecules* 2000;33:4291–4294.
- [45] Ling Y, Rubin J, Deng Y, Huang C, Demirci U, Karp JM, et al. A cell-laden microfluidic hydrogel. *Lab Chip* 2007;7:756–762.
- [46] Whitesides GM. The origins and the future of microfluidics. *Nature* 2006;442:368–373.
- [47] Shito M, Kim NH, Baskaran H, Tilles AW, Tompkins RG, Yarmush ML, et al. In vitro and in vivo evaluation of albumin synthesis rate of porcine hepatocytes in a flat-plate bioreactor. *Artif Organs* 2001;25(7):571–578.
- [48] Park J, Berthiaume F, Mehmet T, Yarmush ML, and Tilles AW. Microfabricated grooved substrates as platforms for bioartificial liver reactors. *Biotechnol and Bioeng* 2005;90(5):632–644.
- [49] Lee PJ, Hung PJ, and Lee LP. An artificial liver sinusoid with a microfluidic endothelial-like barrier for primary hepatocyte culture. *Biotechnol and Bioeng* 2007;97(5):1340–1346.
- [50] Wu H, Odom TW, Chiu DT, and Whitesides GM. Fabrication of complex three-dimensional microchannel systems in PDMS. *J Am Chem Soc* 2003;125:554–559.
- [51] Xia Y and Whitesides GM. Soft lithography. *Angew Chem Int Edit* 1998;37(5):550–575.
- [52] Bernard A, Renault JP, Michel B, Bosshard HR, and Delamarche E. Microcontact printing of proteins. *Adv Mater* 2000;12(14):1067–1070.
- [53] Lin CC, Co CC, and Ho CC. Micropatterning proteins and cells on polylactic acid and poly(lactide-co-glycolide). *Biomaterials* 2005;26(17):3655–3662.
- [54] Lee CJ, Blumenkranz MS, Fishman HA, and Bent SF. Controlling Cell Adhesion on Human Tissue by Soft Lithography. *Langmuir* 2004;20(10):4155–4161.

- [55] Lehnert D, Wehrle-Haller B, David C, Weiland U, Ballestrem C, Imhof BA, et al. Cell behaviour on micropatterned substrata: Limits of extracellular matrix geometry for spreading and adhesion. *J Cell Sci* 2004;117:41–52.
- [56] McDevitt TC, Woodhouse KA, Hauschka SD, Murry CE, and Stayton PS. Spatially organized layers of cardiomyocytes on biodegradable polyurethane films for myocardial repair. *J Biomed Mater Res* 2003;66A(3):586–595.
- [57] Fukuda J, Khademhosseini A, Yeh J, Eng G, Cheng J, Farokhzad OC, et al. Micropatterned cell cocultures using layer-by-layer deposition of extracellular matrix components. *Biomaterials* 2006; 27(8):1479–1486.
- [58] Stevens MM, Mayer M, Anderson DG, Weibel DB, Whitesides GM, and Langer R. Direct patterning of mammalian cells onto porous tissue engineering substrates using agarose stamps. *Biomaterials* 2005; 26(36):7636–7641.
- [59] Kim E, Xia Y, and Whitesides GM. Polymer microstructures formed by moulding in capillaries. *Nature* 1995;376:581–584.
- [60] Kim E, Xia Y, Zhao XM, and Whitesides GM. Solvent-assisted microcontact molding: A convenient method for fabricating three-dimensional structures on surfaces of polymers. *Adv Mater* 1997;9:651–654.
- [61] Zhao XM, Xia Y, and Whitesides GM. Fabrication of three-dimensional micro-structures: Microtransfer molding. *Adv Mater* 1996;8:837–840.
- [62] Suh KY, Kim YS, and Lee HH. Capillary force lithography. *Adv Mater* 2001;13(18):1386–1389.
- [63] Suh KY and Lee HH. Capillary force lithography: Large-area patterning, self-organization, and anisotropic dewetting. *Adv Funct Mater* 2002;12(6–7):405–413.
- [64] Suh KY, Seong J, Khademhosseini A, Laibinis PE, and Langer R. A simple soft lithographic route to fabrication of poly(ethylene glycol) microstructures for protein and cell patterning. *Biomaterials* 2001;25:557–563.
- [65] Folch A, Jo BH, Hurtado O, Beebe DJ, and Toner M. Microfabricated elastomeric stencils for micropatterning cell cultures. *J Biomed Mater Res* 2000;52:346–353.
- [66] Zinchenko YS, Schrum LW, Clemens M, and Cogger RN. Hepatocyte and kupffer cells co-cultured on micropatterned surfaces to optimize hepatocyte function. *Tissue Eng* 2006;12(4):751–761.
- [67] Chiu DT, Jeon NL, Huang S, Kane RS, Wargo CJ, Choi IS, et al. Patterned deposition of cells and proteins onto surfaces by using three-dimensional microfluidic systems. *Proc Nat Acad Sci USA* 2000;12:2408–2413.
- [68] Delamarche E, Bernard A, Schmid H, Michel B, and Biebuyck H. Patterned delivery of immunoglobulins to surfaces using microfluidic networks. *Science* 1997;276(5313):779–781.
- [69] Flaim CJ, Chien S, and Bhatia SN. An extracellular matrix microarray for probing cellular differentiation. *Nat Methods* 2005;2(2):119–125.
- [70] Anderson DG, Levenberg S, and Langer R. Nanoliter-scale synthesis of arrayed biomaterials and application to human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2004;22:863–866.
- [71] Malek CK and Saile V. Applications of LIGA technology to precision manufacturing of high-aspect-ratio micro-components and -systems: A review. *Microelectron J* 2004;35(2):131–143.
- [72] Rivers TJ, Hudson TW, and Schmidt CE. Synthesis of a novel, biodegradable electrically conducting polymer for biomedical applications. *Adv Funct Mater* 2002;12(1):33–37.
- [73] Zelikin AN, Lynn DM, Farhadi J, Martin I, Shastri V, and Langer R. Erodible conducting polymers for potential biomedical applications. *Angew Chem Int Edit* 2002;41(1):141–144.
- [74] Gomez N and Schmidt CE. Nerve growth factor-immobilized polypyrrole: Bioactive electrically conducting polymer for enhanced neurite extension. *J Biomed Mater Res* 2007;81A(1):135–149.

- [75] Lavan DA, George PM, and Langer R. Simple, three-dimensional microfabrication of electrodeposited structures. *Angew Chem Int Edit* 2003;42(11):1262–1265.
- [76] Koch J, Fadeeva E, Engelbrecht M, Ruffert C, Gatzten HH, Stendorf AO, et al. Maskless nonlinear lithography with femtosecond laser pulses. *Appl Phys A-Mater* 2006;82:23–26.
- [77] Jensen MF, McCormack JE, Helbo B, Christensen LH, Christensen TR, and Geschke O. Rapid prototyping of polymer microsystems via excimer laser ablation of polymeric moulds. *Lab Chip* 2004;4:391–395.
- [78] Snakenborg D, Klank H, and Kutter JP. Microstructure fabrication with a CO2 laser system. *J Micromech Microeng* 2004;14:182–189.
- [79] Kancharla VV and Chen S. Fabrication of biodegradable polymeric micro-devices using laser micromachining. *Biomed Microdevices* 2002;4(2):105–109.
- [80] Locascio LE, Ross DJ, Howell PB, Gaitan M. Fabrication of polymer microfluidic systems by hot embossing and laser ablation. *Methods Mol Biol* 2006;339:37–46.
- [81] Pugmire DL, Waddell EA, Haasch R, Tarlov MJ, and Locascio LE. Surface characterization of laserablated polymers used for microfluidics. *Anal Chem* 2002;74(4):871–878.
- [82] Lu Y, Theppakuttai S, and Chen SC. Marangoni effect in nanosphere-enhanced laser nanopatterning of silicon. *Appl Phys Lett* 2003;82(23):4143–4145.
- [83] Kosiorek A, Kandulski W, Glaczynska H, and Giersig M. Fabrication of nanoscale rings, dots, and rods by combining shadow nanosphere lithography and annealed polystyrene nanosphere masks. *Small* 2005;1(4):439–444.
- [84] Piner RD, Zhu J, Xu F, Hong S, and Mirkin CA. “Dip-pen” nanolithography. *Science* 1999;283(5402):661–663.
- [85] Hong S, Zhu J, and Mirkin CA. Multiple ink nanolithography: Toward a multiple-pen nano-plotter. *Science* 1999;286(5439):523–525.
- [86] Noy A, Miller AE, Klare JE, Weeks BL, Woods BW, and DeYoreo JJ. Fabrication of luminescent nanostructures and polymer nanowires using dip-pen nanolithography. *Nano Lett* 2002;2(2):109–112.
- [87] Lee K-B, Park S-J, Mirkin CA, Smith JC, and Mrksich M. Protein nanoarrays generated by dip-pen nanolithography. *Science* 2002;295(5560):1702–1705.
- [88] Demers LM, Ginger DS, Park SJ, Li Z, Chung SW, and Mirkin CA. Direct patterning of modified oligonucleotides on metals and insulators by dip-pen nanolithography. *Science* 2002;296(5574):1836–1838.
- [89] Wilson DL, Martin R, Hong S, Cronin-Golomb M, Mirkin CA, and Kaplan DL. Surface organization and nanopatterning of collagen by dip-pen nanolithography. *Proc Nat Acad Sci USA* 2001;98(24):13660–13664.
- [90] Ginger DS, Zhang H, and Mirkin CA. The evolution of dip-pen nanolithography. *Angew Chem Int Ed* 2004;43,30.
- [91] Cooke MN, Fisher JP, Dean D, Rimnac C, and Mikos AG. Use of stereolithography to manufacture critical-sized 3D biodegradable scaffolds for bone ingrowth. *J Biomed Mater Res* 2002;64B:65–69.
- [92] Lu Y, Mapili G, Chen SC, and Roy K. Proceedings of the 30th annual meeting and exposition; 2003; Glasgow, Scotland.
- [93] Lu Y, Mapili G, Suhali G, Chen S, and Roy K. A digital micro-mirror device-based system for the microfabrication of complex, spatially patterned tissue engineering scaffolds. *J Biomed Mater Res* 2006;77A:396–405.
- [94] Chen W, Kirihaara S, and Miyamoto Y. Fabrication of three-dimensional micro photonic crystals of resinincorporating TiO2 particles and their terahertz wave properties. *J Am Cer Soc* 2007;90(1):92–96.

- [95] Basu S and Campagnola PJ. Properties of crosslinked protein matrices for tissue engineering applications synthesized by multiphoton excitation. *J Biomed Mater Res* 2004;71A(2):359–368.
- [96] Basu S and Campagnola PJ. Enzymatic activity of alkaline phosphatase inside protein and polymer structures fabricated via multiphoton excitation. *Biomacromolecules* 2004;5(2):572–579.
- [97] Hollister SJ. Porous scaffold design for tissue engineering. *Nat Mater* 2005;4:518–524.
- [98] Vozzi G, Flaim C, Ahluwalia A, and Bhatia S. Fabrication of PLGA scaffolds using soft lithography and microsyringe deposition. *Biomaterials* 2003;24:2533–2540.
- [99] Kawata S, Sun H-B, Tanaka T, and Takada K. Finer features for functional microdevices. *Nature* 2001;412(6848):697–698.
- [100] Schlie S, Ngezahayo A, Ovsianikov A, Fabian T, Kolb HA, Haferkamp H, et al. Three-dimensional cell growth on structures fabricated from ORMOCER by two-photon polymerization technique. *J Biomater Appl* 2007;22:275–287.
- [101] Jin HJ, Fridrikh SV, Rutledge GC, and Kaplan DL. Electrospinning *Bombyx mori* silk with poly(ethylene oxide). *Biomacromolecules* 2002;3:1233–1239.
- [102] Li D, Wang Y, and Xia Y. Electrospinning of polymeric and ceramic nanofibers as uniaxially aligned arrays. *Nano Letters* 2003;3(8):1167–1171.
- [103] Xu CY, Inai R, Kotaki M, and Ramakrishna S. Aligned biodegradable nanofibrous structure: A potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials* 2004;25:877–886.
- [104] Zhong XH, Ran SF, Fang DF, Hsiao BS, and Chu B. Control of structure, morphology, and property in electrospun poly(glycolide-co-lactide) non-woven membranes via post-draw treatments. *Polymer* 2003;44:4959.
- [105] Ma Z, Kotaki M, Inai R, and Ramakrishna S. Potential of nanofiber matrix as tissue engineering scaffolds. *Tissue Eng* 2005;11:101–109.
- [106] Wood MA. Colloidal lithography and current fabrication techniques producing in-plane nanotopography for biological applications *J R Soc Interface* 2007;4:1–17.
- [107] Yeong W-Y, Chua C-K, Leong K-F, Chandrasekaran M, and Lee M-W. Indirect fabrication of collagen scaffold based on inkjet printing technique. *Rapid Prototyping J* 2006;12(4):229–237.
- [108] Roy TD, Simon JL, Ricci JL, Rekow ED, Thompson VP, and Parsons JR. Performance of degradable composite bone repair products made via three-dimensional fabrication techniques. *J Biomed Mater Res A* 2003;66(2):283–291.
- [109] Simon JL, Roy TD, Parsons JR, Rekow ED, Thompson VP, Kemnitzer VP, et al. Engineered cellular response to scaffold architecture in a rabbit trephine defect. *J Biomed Mater Res A* 2003;66(2):275–282.
- [110] Cukierman E, Pankov R, and Yamada KM. Cell interactions with three-dimensional matrices. *Curr Opin Cell Biol* 2002;14:633–639.
- [111] Petersen OW, Ronnov-Jessen L, Howlett AR, and Bissell MJ. Interaction with basement membrane serves to rapidly distinguish growth and differentiation pattern of normal and malignant human breast epithelial cells. *Proc Nat Acad Sci USA* 1992;89:9064–9068.
- [112] Liu H and Roy K. Biomimetic three-dimensional cultures significantly increase hematopoietic differentiation efficacy of embryonic stem cells. *Tissue Eng* 2005;11(1–2):919–330.
- [113] Tang P, Qui F, Zhang H, and Yang Y. Morphology and phase diagram of complex block copolymers: ABC linear triblock copolymers. *Phys Rev E* 2004;69:031803, 1–8.
- [114] Dalby MJ, Childs S, Riehle MO, Johnstone H, Affrossman S, and Curtis ASG. Fibroblast reaction to island topography: Changes in cytoskeleton and morphology with time. *Biomaterials* 2003;24:927–935.
- [115] Kim SO, Solak HH, Stoykovich MP, Ferrier NJ, Pablo JJD, and Nealey PF. Epitaxial self-assembly of block copolymers on lithographically defined nanopatterned substrates. *Nature* 2003;424(6947):411–414.

- [116] Bognitzki M, Frese T, Steinhart M, Greiner A, and Wendorff JH. Preparation of fibers with nanoscaled morphologies: Electrospinning of polymer blends. *Polym Eng Sci* 2001;41(6):982–989.
- [117] Whang K, Thomas H, and Healy KE. A novel method to fabricate bioabsorbable scaffolds. *Polymer* 1995;36:837–841.
- [118] Yang F, Murugan R, Ramakrishna S, Wang X, Ma YX, and Wang S. Fabrication of nano-structured porous PLLA scaffold intended for nerve tissue engineering. *Biomaterials* 2004;25(10):1891–1900.
- [119] Lo H, Ponticciello MS, and Leong KW. Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation. *Tissue Eng* 1995;1:15–27.
- [120] Stachowiak AN, Bershteyn A, Tzatzalos E, and Irvine DJ. Bioactive hydrogels with and ordered cellular structure combine interconnected macroporosity and robust mechanical properties. *Adv Mater* 2005;14(4):399–403.
- [121] Zhang S. Emerging biological materials through molecular self-assembly. *Biotechnol Adv* 2002;20:321–339.
- [122] Park SH, Pistol C, Ahn SJ, Reif JH, Lebeck AR, Dwyer C, et al. Finite-size, fully addressable DNA tile lattices formed by hierarchical assembly procedures. *Angew Chem Int Ed* 2006;735–739.
- [123] Rothmund PWK. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature* 2006;440:297–302.
- [124] Zhang S. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. *Nat Biotechnol* 2003;21:1171–1178.
- [125] Petka WA, Harden JL, McGrath KP, Wirtz D, and Tirrell DA. Reversible hydrogels from self-assembling artificial proteins. *Science* 1998;281(5375):389–392.
- [126] Reches M and Gazit E. Casting metal nanowires within discrete self-assembled peptide nanotubes. *Science* 2003;300:625–627.
- [127] Scheibel T, Parthasarathy R, Sawicki G, Lin XM, Jaeger H, and Lindquist SL. Conducting nanowires built by controlled self-assembly of amyloid fibers and selective metal deposition. *Proc Nat Acad Sci USA* 2003;100(8):4527–4532.
- [128] Tan JL, Liu W, Nelson CM, Raghavan S, and Chen CS. Simple approach to micropattern cells on common culture substrates by tuning substrate wettability. *Tissue Eng* 2004;10(5/6).
- [129] Tan W and Desai TA. Layer-by-layer microfluidics for biomimetic three-dimensional structures. *Biomaterials* 2004;24:1355–1364.
- [130] Tan W and Desai TA. Microscale multilayer cocultures for biomimetic blood vessels. *J Biomed Mater Res* 2005;72A:146–160.
- [131] Khademhosseini A, Yeh J, Eng G, Karp J, Kaji H, Borenstein J, et al. Cell docking inside microwells within reversibly sealed microfluidic channels for fabricating multiphenotype cell arrays. *Lab Chip* 2005;5:1380–1386.
- [132] Liu VA and Bhatia SN. Three-dimensional patterning of hydrogels containing living cells. *Biomed Microdevices* 2002;4(4):257–266.
- [133] Nijst CLE, Bruggeman JP, Karp JM, Ferreira L, Zumbuehl A, Bettinger CJ, et al. Synthesis and characterization of photocurable elastomers from poly(glycerol-co-sebacate). *Biomacromolecules* 2007;8(10):3067–3073.
- [134] Dhariwala B, Hunt E, and Boland T. Rapid prototyping of tissue-engineering constructs using photopolymerizable hydrogels and stereolithography. *Tissue Eng* 2004;10(9/10):1316–1322.
- [135] Nahmias Y, Arneja A, Tower TT, Renn MJ, and Odde DJ. Cell patterning on biological gels via cell spraying through a mask. *Tissue Eng* 2005;11(5–6):701–708.
- [136] Moghe PV, Berthiaume F, Ezzell RM, Toner M, Tompkins RG, and Yarmush ML. Culture matrix configuration and composition in the maintenance of hepatocyte polarity and function. *Biomaterials* 1996;17(3):373–385.

- [137] Odde DJ and Renn MJ. Laser-guided direct writing of living cells. *Biotechnol Bioeng* 2000;67:312–318.
- [138] Nahmias Y, Schwartz RE, Verfaillie CM, and Odde DJ. Laser-guided direct writing for three-dimensional tissue engineering. *Biotechnol Bioeng* 2005;92(2):129–136.
- [139] Nahmias Y and Odde DJ. Micropatterning of living cells by laser-guided direct writing: Application to fabrication of hepatic-endothelial sinusoid-like structures. *Nat Protocols* 2006;1(5):2288–2296.
- [140] Chou SY, Krauss PR, and Renstrom PJ. Imprint of sub-25 nm vias and trenches in polymers. *Appl Phys Lett* 1995;67(21):3114.
- [141] Abrams GA, Goodman SL, Nealey PF, Franco M, and Murphy CJ. Nanoscale topography of the basementmembrane underlying the corneal epithelium of the rhesus macaque. *Cell Tissue Res* 2000;299:39–46.
- [142] Abrams GA, Schaus SS, Goodman SL, Nealey PF, and Murphy CJ. Nanoscale topography of the corneal epithelial basement membrane and Descemet's membrane of the human. *Cornea* 2000;19:57–64.
- [143] Xia Y, Kim E, Zhao X-M, Rogers JA, Prentiss M, and Whitesides GM. Complex optical surfaces formed by replica molding against elastomeric masters. *Science* 1996;273(5273):347–349.
- [144] Kumar A and Whitesides GM. Features of gold having micrometer to centimeter dimensions can be formed through a combination of stamping with an elastomeric stamp and an alkanethiol ink followed by chemical etching. *Appl Phys Lett* 1993;63(14):2002–2004.
- [145] Ginger DS, Zhang H, and Mirkin CA. The evolution of dip-pen nanolithography. *Angew Chem Int Edit* 2004;43(1):30–45.

الباب الثاني

تأثير البنى النانوية على الاستجابات الخلوية وتجديد الأنسجة

استجابة الخلايا للسّمات في المستوى النانوي

وأثارها في تجديد الأنسجة: من منظور العظام

Cell Response to Nanoscale Features and Its Implications in Tissue Regeneration: An Orthopedic Perspective

Batur Ercan and Thomas Webster

المحتويات CONTENTS

١٩٠.....	BONE PHYSIOLOGY	العظم (علم وظائف)	(٥,١)
١٩٠.....	Properties and Structure of Bone	خصائص وبنية العظم	(٥,١,١)
١٩٣.....	Micro- and Nano-Architecture of Bone	البنية الهندسية المايكروية والنانوية للعظم	(٥,١,٢)
١٩٥.....	Bone Cells and Remodeling	الخلايا العظمية وإعادة التشكيل	(٥,١,٣)
١٩٥.....	Osteoblasts and Osteocytes	الخلايا البانية للعظم والخلايا العظمية	(٥,١,٣,١)
١٩٦.....	Osteoclasts	الخلايا الناقضة للعظم	(٥,١,٣,٢)
١٩٧.....	Cell Adhesion on Implant Surfaces	التصاق الخلايا على سطوح الطُعوم (المواد المغروسة)	(٥,١,٤)
٢٠٣.....	PROBLEMS WITH CURRENT IMPLANTS	المشاكل مع الطُعوم أو المواد المزروعة الحالية	(٥,٢)
٢٠٤.....	Mechanical Factors	العوامل الميكانيكية	(٥,٢,١)
٢٠٤.....	Stress-Strain Imbalance	الاختلال الإجهادي-الانفعالي	(٥,٢,١,١)
٢٠٥.....	Implant Migration	هجرة الطعم أو المادة المزروعة	(٥,٢,١,٢)
٢٠٦.....	Wear	الاقتراء	(٥,٢,١,٣)
٢٠٧.....	Biological Factors	العوامل البيولوجية	(٥,٢,٢)

٢٠٧.....	Host Response to Foreign Materials	استجابة المضيف للمواد الغريبة (٥,٢,٢,١)
٢٠٩.....	EMERGING FIELD: NANOTECHNOLOGY	المجال الناشئ حديثاً: تقنية النانو (٥,٣)
٢٠٩.....	Introduction	مقدمة (٥,٣,١)
٢١٠.....	Differences in Mechanical Properties	الاختلافات في الخصائص الميكانيكية (٥,٣,٢)
	Stress-Strain Imbalances and Implant	الاختلالات الإجهادية-الانفعالية وهجرة الطعم أو المادة المزروعة (٥,٣,٢,١)
٢١٠.....	Migration	الهجرة (٥,٣,٢,٢)
٢١٣.....	Wear	الاهتراء (٥,٣,٢,٢)
٢١٥.....	Differences In Biological Response And Bioactivity	الاختلافات في الاستجابة البيولوجية والنشاط الحيوي (٥,٣,٣)
	Comparison for Wound Healing and Foreign Body	مقارنة التئام الجرح واستجابات الجسم الغريب (٥,٣,٣,١)
٢١٥.....	Responses	الاستجابات (٥,٣,٣,٢)
٢١٨.....	Comparison of Bioactivity	مقارنة النشاط الحيوي (٥,٣,٣,٢)
٢١٨.....	Metals	المعادن (٥,٣,٣,٢,١)
٢٢٠.....	Ceramics	السيراميك (٥,٣,٣,٢,٢)
٢٢٨.....	Polymers	البوليمرات (٥,٣,٣,٢,٣)
٢٣٢.....	Composites	المركبات (٥,٣,٣,٢,٤)
٢٣٦.....	Novel Materials	المواد الجديدة (٥,٣,٣,٢,٥)
	Bone Cell Recognition on	التعرف على الخلايا العظمية على المواد التقليدية والمواد ذات الطور النانوي (٥,٣,٣,٣)
٢٤٠.....	Conventional and Nanophase Materials	المواد التقليدية والمواد ذات الطور النانوي (٥,٣,٣,٣)
٢٤٣.....	FUTURE DIRECTIONS	الاتجاهات المستقبلية (٥,٤)
٢٤٣.....	REFERENCES	المراجع (٥,٤)

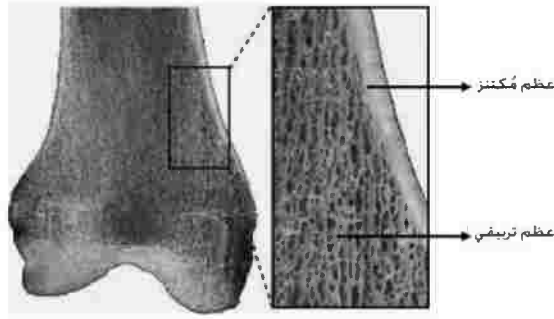
(٥,١) فيزيولوجيا (علم وظائف) العظم BONE PHYSIOLOGY

(٥,١,١) خصائص وبنية العظم Properties and Structure of Bone

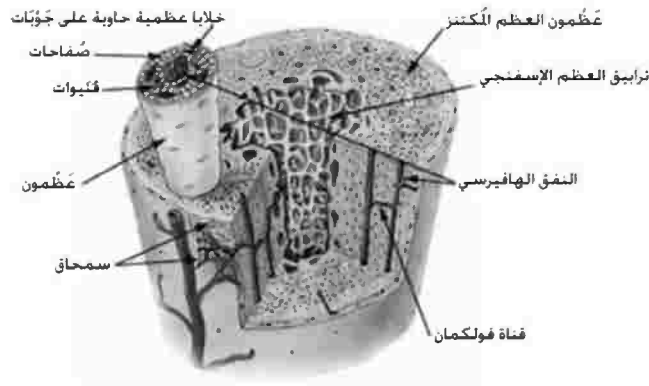
العظم هو النسيج الحي والنامي الذي يشكل الهيكل الداخلي للفقاريات (endoskeleton of vertebrates). إن الوظائف الرئيسية للعظم هي حمائي الأعضاء الداخلية وتحمل الإجهادات والانفعالات الفيزيولوجية (physiological stresses and strains) وتخزين الكالسيوم والفوسفور وتكوّن الدم (hematopoiesis) (أو إنتاج خلايا الدم في نخاع أو نقيّ العظم bone marrow) والتوازن الحمضي - القاعدي (acid - base balance) عن طريق امتصاص (absorbing) أو إطلاق الأملاح

القلوية (alkaline salts) لدرء أو عزل الدم عن التغييرات الزائدة في درجة الحموضة (pH) والتخلص من السموم (detoxification) في الجسم وذلك عن طريق إزالة المعادن الثقيلة من الدم [1].

يمكن تقسيم بنية العظم (bone structure) إلى فئتين رئيسيتين وفقاً إلى شكلها (وفقاً إلى المورفولوجيا) وهي: بنية قشرية (cortical) (مُكْتَنَزَة compact) أو إسْفَنْجِيَّة (cancellous) (تَرْبِيْقِيَّة trabecular). ويمكن ملاحظة الوضع المميز لكل من هذين العظمين في الأشكال رقم (٥,١) و (٥,٢) [2,3].



الشكل رقم (٥,١). العظم المُكْتَنَز (compact bone) والعظم التَرْبِيْقِي (trabecular bone) في النهاية القاصية (البعيدة) لعظم الفخذ (distal end of the femur). (من جامعة غلاسكو، <http://www.gla.ac.uk/ibls/fab/public/docs/xbone1x.html>).

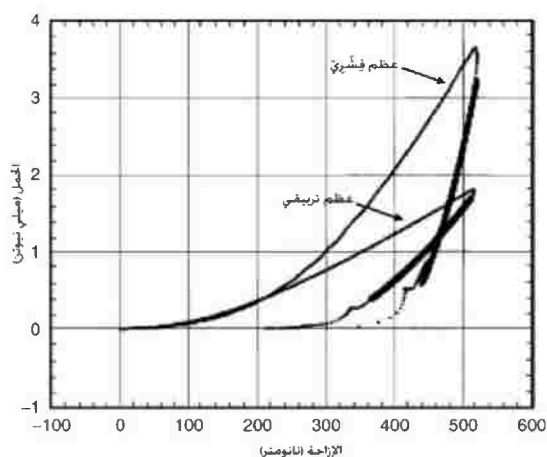


الشكل رقم (٥,٢). العظام المُكْتَنَزَة (compact) والتَرْبِيْقِيَّة (trabecular) تُسَلِّطُ الضوء على الصَّفَاحات (lamellae) الفردية والعَظْمُونات (osteons) والقنوات الهافيرسية (Haversian canals). العظم التَرْبِيْقِي هو الجزء الداخلي من العظم. السمحاق (periosteum) هو غشاء من النسيج الضام يغطي السطح الخارجي للعظام. قناة فولكمان (Volkmann's canal) تربط العَظْمُونات مع بعضها البعض ومع السمحاق. (من Young, J.L., Fritz, A., Adamo, M.P. et al., U.S. National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program, Structure of bone tissue, http://training.seer.cancer.gov/module_anatomy/unit3_2_bone_tissue.html).

إن طبقة العظم الخارجية البيضاء الملساء والصلبة وهي العظم القشريّ (cortical bone)، تُمثل نسبة ٨٠ ٪ من مجموع كتلة العظم وتحتوي على مسامية (porosity) بنسبة ٣٠ ٪. وتتألف هذه الطبقة من عَظْمُونات (osteons) (الوحدات الأساسية في بناء العظم) متراصة بشكلٍ مُحكم، وهي تمثل مصفوفة العظم (matrix of the bone) الواقعة على التوازي مع المحور الطويل للعظم. ويوجد في وسط هذه العَظْمُونات قناة مركزية تُسمّى "النفق الهافيرسي" ("Haversian canal") وهي تحتوي على أوعية دموية وأعصاب وتحيط بها مصفوفات مُتراكزة (متحدة المركز) من العظم القشريّ أو الصُفّاحات (lamellae) ذات شكل حلقي. وتحتوي هذه الصُفّاحات على خلايا عظمية تكون محصورة ضمن مساحات تُسمّى جَوَوات (lacunae) (فجوات صغيرة). يتم الاتصال بين هذه الجَوَوات والقنوات (الأنفاق) الهافيرسية عن طريق قنوات صغيرة تُسمّى القُنُيَوات أو النُفَيقَات (canaliculi) [4].

وفي المقابل، فإن العظم التريبيقيّ (trabecular bone) هو الجزء الداخلي من العظم. وهو يمثل ٢٠ ٪ من كتلة العظم، وتتألف بنيته المايكروية الدقيقة من مساحات كبيرة بين الترابيق (trabeculae) المفردة (على شكل صفائح (plates))، والتي تؤدي إلى محتوى عالٍ من المسامية التي تقترب من نسبة ٥٠ ٪ إلى ٩٠ ٪ [5] مما يقلل من وزن البنية الكلية للعظم. وعلى الرغم من أنه يبدو أن الترابيق تكون مرتبة بشكلٍ عشوائي، إلا أنها مُنظمة لتعطي أكبر قدر من المتانة (أقصى متانة maximum strength). وبالإضافة إلى ذلك، فإن العظم التريبيقيّ يكون مُحاطاً بنخاع أو نقيّ العظم، وهو لا يحتوي على الدم أو العضلات أو الأعصاب [5]. وبالمقارنة بين هذين النوعين من العظام، فإن العظم المكتنّز لديه صلابة أعلى من العظم التريبيقيّ.

يبين الشكل رقم (٥،٣) الرسم البياني للحمل مقابل الإزاحة (load versus displacement) لعظم فخذ إنسان (human femur) تحت ثلثة أحمود نانوية (فجوة نانوية عميقة) (nano - indentation)، والذي يصف الاختلافات في معاملات المرونة (elastic moduli) من أجل هذين النوعين من العظام [6]. وقد لوحظ بأن لعظم الفخذ لدى إنسان بعمر من ٢٠ إلى ٣٩ سنة متانة شد (tensile strength) بقيمة ١٢٤ ميغا باسكال (MPa) مع معامل مرونة شد (tensile elastic modulus) بقيمة ١٧،٦ غيغا باسكال (GPa) ومتانة ضغط (compressive strength) بقيمة ١٧٠ ميغا باسكال [7]. ومن المهم الإشارة إلى أن الخصائص الميكانيكية للعظم تتغير بشكلٍ شديد بالنسبة إلى العمر والأصناف أو الأجناس والنوع (مُكتنّز أو إسْفَنجِيّ) والمسامية والاختلافات التشريحية (anatomical differences) والظروف الصحية للفرد. وعلى سبيل المثال، يمكن لمعامل مرونة عظم فخذ جثة إنسان أن ينخفض من ١٥،٦ إلى ١١،٥ غيغا باسكال بالنسبة للمرضى الذين تم تشخيص أمراض العظام لديهم [8].



الشكل رقم (٣، ٥). منحنيات القوة-الإزاحة (force - displacement curves) التي تم الحصول عليها عن طريق اختبارات ثلثة الأخدود أو الفجوة العميقة (indentation tests) (يُظهر الجزء العريض معامل مرونة العظم). للعظم القشري معامل مرونة (elastic modulus) أعلى من العظم التريبي. (من (Zysset, P.K., Guo, X.E., Hoffer, C.E. et al., *J. Biomech.*, 32, 1005, 1999).

بالإضافة إلى ذلك، فإن للعظم بنية متباينة جداً، ولديه معامل مرونة مختلف وذلك اعتماداً على اتجاه التحميل (direction of loading). فعلى سبيل المثال، فإن لنسيج العظم القشري معامل مرونة طولاني (longitudinal elastic modulus) قدره ١٧,٤ غيغا باسكال ومعامل مُستعرض (transverse modulus) قدره ٩,٦ غيغا باسكال ومعامل انحناء (bending modulus) قدره ١٤,٨ غيغا باسكال، ومعامل قص (shear modulus) قدره ٣,٥ غيغا باسكال. بالإضافة إلى هذه الخصائص، فإنه حساس لمعدل الانفعال (strain rate) [9] وهو مطاطي لزج (viscoelastic) [10]. وعندما يصل عمر الشخص إلى ٤٠ سنة أو أكثر، تنقص كتلة العظم التريبيّ بنسبة ٥٠ ٪ تقريباً وتنقص كتلة العظم القشري بنسبة حوالي ٢٥ ٪ وذلك بسبب ارتشاف العظم (bone resorption) عندما يكبر الإنسان في العمر؛ مما يؤدي إلى نقص في المتانة (strength) وزيادة في الصلابة (stiffness).

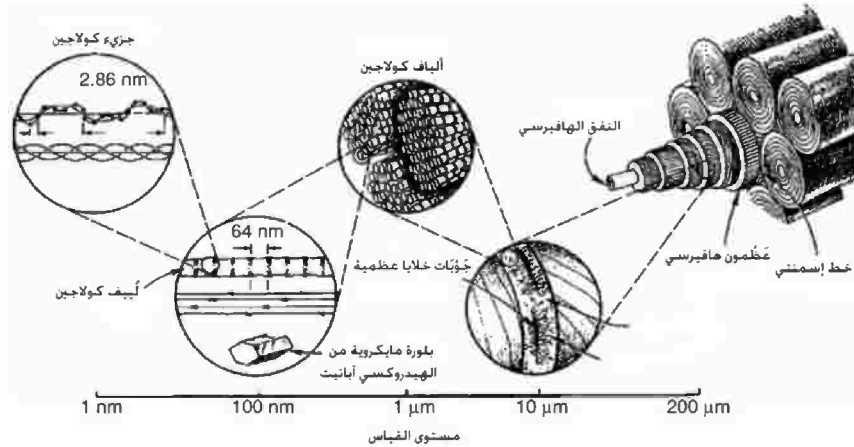
(٥، ١، ٢) البنية الهندسية المايكروية والنانوية للعظم Micro- and Nano-Architecture of Bone

يمكن تصنيف العظام إلى فئتين اعتماداً على بنيتها الهندسية المايكروية الدقيقة (micro - architecture): عظم مُحبوك (woven bone) وعظم صُفاحي (lamellar bone). يتألف العظم المحبوك من ألياف الكولاجين الخشنة (coarse collagen fibers) الموجهة بطريقة غير منتظمة. ونتيجة لهذا التنظيم العشوائي لألياف الكولاجين؛ فإن الخصائص الميكانيكية للعظم المحبوك تكون مُتسقة أو موحدة (isotropic) أكثر من تلك الخصائص للعظم الصفاحي. ونظراً لوجود العظم المحبوك وبشكل أساسي في كل العظام الجنينية (fetal bones)؛ فإن العظم الصفاحي يحل محل العظم المحبوك بشكل تدريجي عندما ينمو الشخص. وعلاوة على ذلك، فإنه موجود أيضاً في المناطق النامية بشكل سريع، والمناطق التي تتكون بشكل جديد (مثل منطقة الشام الكسر fracture healing)، وكذلك المناطق الكُردوسية (metaphyseal regions) (أو منطقة العظم النامية).

وعلى أي حال ، فإن ألياف الكولاجين في العظم الصفاحي تكون متراففة بطريقة متوازية لتكوين الصفاحات. إن هذا التوجيه المتوازي لألياف الكولاجين يعطي العظم الصفاحي خصائصه الميكانيكية المتباينة (anisotropic mechanical properties) ، والتي تكون لها المثانة الأكبر بالتوازي مع المحور الطولي لألياف الكولاجين. ويحل العظم الصفاحي محل العظم المحبوك الناضج أو مكتمل النمو وهو يحتوي على مصفوفة معدنة (mineralized matrix) أكثر بدرجة تصل إلى حد ١٠٠ مرة [7].

وبغض النظر عما إذا كان العظم محبوكاً أو صفاحياً ، يعتبر العظم مادة مركبة ذات بنية نانوية تتألف من طورين رئيسيين هما: طور المصفوفة العضوية (organic matrix phase) (والذي يُسمى الطور العظماني (osteoid)) ، وهو مكون بشكل أساسي من البروتينات ، وطور غير عضوي (inorganic phase) والذي يتألف من الأملاح المترسبة ضمن المصفوفة. إن مصفوفة عظم فخذ الإنسان هي حوالي ٧٠ ٪ من الأملاح غير العضوية و ٢٠ ٪ من الطور العضوي و ١٠ ٪ من الماء [7].

إن المكون الرئيسي للطور العضوي هو الكولاجين من النمط الأول (٩٠ ٪ حجم / حجم). ويتم تركيب الكولاجين من النمط الأول عن طريق الخلايا البانية للعظم (أو الخلايا المكونة للعظم (bone forming cells)) التي تُنتج جزيء خطي يبلغ طوله ٣٠٠ نانومتر، وقطره ٠.٥ نانومتراً. وتصطف جزيئات الكولاجين (collagen molecules) تلك بانتظام لإنشاء ليفيات الكولاجين (collagen fibrils) ، والتي تتجمع مع بعضها بعضاً لتكوّن ألياف الكولاجين (collagen fibers) التي تضم كذلك صفاحات العظم. ويظهر هذا التنظيم البنيوي في الشكل رقم (٥.٤) [11]. وتتألف نسبة الـ ١٠ ٪ الباقية من الطور العضوي للعظم من البروتينات غير الكولاجينية (noncollagenous proteins) مثل بروتينات العظم التحريضية (inductive proteins) (أي الأوستيو نيكيتين (osteonectin) والأوستيو بونتين (osteopontin) والأوستيو كالسين (osteocalcin)) وعوامل النمو (مثل عامل النمو الذي يشبه الإنسولين (insulin like growth factor)) وبروتين العظم اللعابي (sialoprotein) والبروتيوغليكانات والدهون البروتينية (proteolipids) [7]. إن هذه البروتينات تتواسط وظائف خلايا العظم مثل تعزيز (promoting) أو تثبيط (inhibiting) أو تنظيم (regulating) تركيب وارتشاف العظم.



الشكل رقم (٥.٤). البنية الهرمية للعظم البشري المُكْتَنَز (human compact bone). الخط المِلَاطِيّ أو الإسمنتي هو الحد الخارجي لعظمون

(osteon). وتبلغ درجة الميل أو طول الاهتزاز لجزيء الكولاجين الحلزوني (helical collagen molecule) ٢,٨٦

نانومتراً ويبلغ طول الشريط المميز الملاحظ على ليفيات الكولاجين (collagen fibrils) ٦٤ نانومتراً. (من) Lakers, R.S.,

(Nature, 361, 511, 1993).

ويتألف الطور غير العضوي بشكل أساسي من هيدروكسي أباتيت (HA) الكالسيوم البلوري (crystalline calcium hydroxyapatite). وتركيبه الكيميائي هو $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ (ويتم كتابته بصورة تقليدية على الشكل $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) وذلك للتأكيد على أن جزيئي الهيدروكسي أباتيت (HA) ضمن خلية الوحدة) وذو بنية خلية وحدة سداسية الشكل (hexagonal unit cell structure). ويمكن أن يتراوح سمك وطول هذه البلورات من ٢ إلى ٥ نانومترات ومن ٢٠ إلى ٨٠ نانومتراً، على التوالي. إن زيادة بلورات الهيدروكسي أباتيت (HA) تلك تكون ناجمة عن نضج أو اكتمال نمو العظم وتشير البلورات الأصغر إلى أن مصفوفة العظم جديدة [5]. وتكون صلابة العظم ناجمة بشكل أساسي عن وجود بلورات الهيدروكسي أباتيت (HA) تلك.

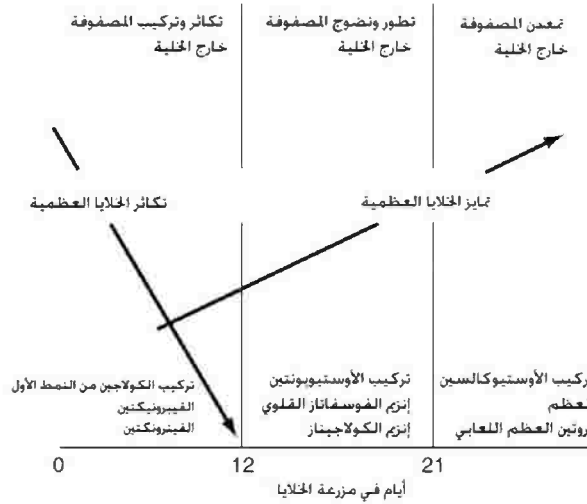
(٥،١،٣) الخلايا العظمية وإعادة التشكيل Bone Cells and Remodeling

توجد ثلاثة أنواع من الخلايا العظمية هي: الخلايا البانية للعظم (osteoblasts)، والخلايا العظمية (osteocytes)، والخلايا الناقضة للعظم (osteoclasts). ونظراً للبنية الهرمية للعظم؛ فقد اعتادت كل الخلايا العظمية على أن تتفاعل بشكل طبيعي مع الكيانات ذات البنية المايكروية والنانوية. إن وظائف هذه الخلايا موصوفة أدناه.

(٥،١،٣،١) Osteoblasts and Osteocytes الخلايا البانية للعظم والخلايا العظمية

الخلايا البانية للعظم والخلايا العظمية (أو الخلايا البانية للعظم المتميزة (differentiated osteoblasts)) هي خلايا مُكوّنة للعظم وهي تتميز من خلايا السلف المتوسّطة متعددة القدرات (pluripotent mesenchymal progenitor cells) [12]. تُفرز الخلايا البانية للعظم المستقطبة (polarized) بجهاز غولجي (Golgi apparatus)، وهو نموذجي في الخلايا عالية الإفراز [12]، مصفوفة عظمية (bone matrix) (عظمانيّة osteoid) والتي من ناحية أخرى تتمعدن لتُكوّن العظم. وهي تُفرز أيضاً بروتينات عضوية (أي الكولاجين من النمط الأول والأوستيو بونتين والأوستيو كالسين وبروتين العظم اللعابي، ... إلخ) وإنزيم الفسفاتاز القلوي (alkaline phosphatase) (وهو إنزيم نَزَع الفُسفات النشط في البيئات القلوية، والذي يُعتبر مؤشراً للتحوّل العظمي ووظيفة الخلايا العظمية). بعد ذلك تتمعدن بروتينات المصفوفة تلك من خلال تشكيل بلورات الهيدروكسي أباتيت (HA)، ولم تُفهم الآلية الخاصة بها تماماً حتى الآن.

عندما تكون الخلايا البانية للعظم محصورة ضمن المصفوفة العظمية، فإنه يتم تركيبها أو إنشاؤها، وتسمى "بالخلايا العظمية". توجد الخلايا العظمية داخل الجُوبَات التي تقع داخل صُفاحات العظم الفردية. وهي تلعب دوراً مهماً في تكوين العظم عن طريق إفراز عوامل النمو مثل عامل النمو الأول المشابه للإنسولين وعامل نمو الأنسجة بيتا (tissue growth factor β)، التي تتحكم من ناحية أخرى في وظائف الخلايا البانية للعظم وذلك عن طريق تعزيز تمايزها من خلايا بانية للعظم غير ناضجة (immature osteoblasts) (التي لا تفرز الكالسيوم) إلى خلايا بانية للعظم ناضجة (mature osteoblasts) (التي تفرز الكالسيوم) [13]. وقد أظهرت الدراسات التي أجريت في المختبر (in vitro) أن الخلايا البانية للعظم تستمر لثلاث مراحل مختلفة من النمو بعد الالتصاق بسطح المادة المزروعة (المغروسة) وهي: التكاثر (proliferation) وتركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM synthesis)، وتطوير ونُضج المصفوفة خارج الخلية (ECM)، وتمعدن المصفوفة خارج الخلية (mineralization). هذه المراحل مُوجزة في الشكل رقم (٥.٥) [7].



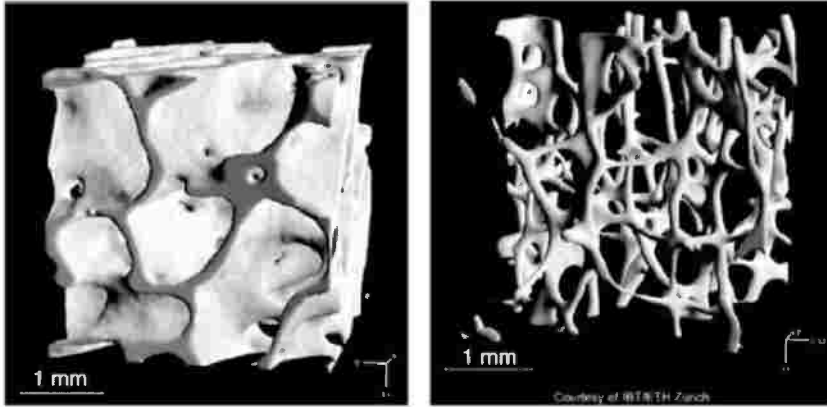
الشكل رقم (٥,٥). أطوار التمايز (differentiation phases) التي تكملها الخلايا البانية للعظم (osteoblasts) بعد التصاقها على سطح جديد (أي على مادة حيوية مزروعة (implanted biomaterial)). هذه المراحل هي التكاثر (proliferation) وتركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM synthesis) وتطوير ونضج المصفوفة خارج الخلية (ECM development and maturation) وتعدن المصفوفة خارج الخلية (ECM mineralization). (من Webster, T.J., Adv. Chem. Eng., 27, 125, 2001).

(٥,١,٣,٢) الخلايا الناقضة للعظم Osteoclasts

تنشأ من سلالة الخلايا الجذعية المكوّنة للدم (hematopoietic stem cell lineage)، والخلايا الناقضة للعظم هي خلايا ترتشف العظم (bone resorbing cells) وتكون كبيرة ومتعددة النوى (multinucleated) (عادةً من ٦ إلى ٨ نوى [12] nuclei). فأثناء ارتشاف العظم، تشكل هذه الخلايا حواف غشاء خلية تغضني (ruffled cell membrane) والتي تزيد من مساحة الارتكاز أو الالتصاق. وتفرز هذه الخلايا إنزيم الفوسفاتاز الحمضي المقاوم للطُّرَّطات (tartrate - resistant acid phosphatase - TRAP) وتُشكِّل جَوَّيات هاوشيب (Howship's lacunae) (ذُرُوات ارتشافية resorption peaks). وتستخدم هذه الخلايا نشاط إنزيم الأنهيداز الكربوني (carbonic anhydrase) (تَمِيَّة hydration ثاني أكسيد الكربون CO₂) لتخفيض درجة حموضة البيئة (pH)؛ مما يزيد من ذوبانية الهيدروكسي أباتيت (HA).

تخضع العظام في جسم الإنسان وبشكلٍ مستمر إلى إعادة التشكيل (remodeling) وذلك من خلال تكوين وحدة صوغ أو تشكيل العظم (bone modeling unit - BMU). وتعمل كلُّ من الخلايا البانية للعظم والخلايا الناقضة للعظم وفي نفس الوقت في اتجاه إعادة تشكيل العظم والتي هي في الأساس، إحلال للأنسجة العظمية الجديدة محل القديمة. ويحدث تنشيط الخلايا الناقضة للعظم في طريقتين مختلفتين، كما في الاستشعار بالشقوق المايكروية (sensing of microcracks) بواسطة الخلايا العظمية. وتقوم الخلايا الأولية البانية للعظم المعطّلة (inactivated preosteoblasts) بتنشيط الخلايا الأولية الناقضة للعظم (preosteoclasts) عن طريق لجين الـ (RANK) (RANK ligand) (أي البروتين الذي ينشط مستقبل الـ (RANK) في الخلايا

الأولى الناقضة للعظم). وتؤدي هذه العملية إلى توحيد أو ربط الخلايا الأولى الناقضة للعظم وتشكيل خلايا ناقضة للعظم متعددة النوى (multinuclear osteoclasts)، والتي ترتشف العظم في مدة تقرب من أسبوعين. وفي نهاية عملية ارتشاف العظم، تخضع هذه الخلايا للموت المبرمج (apoptosis) (أو انتحار الخلايا). إن المرحلة التالية في إعادة تشكيل العظم هي الإفراز العظماني (osteoid secretion) عن طريق الخلايا البانية للعظم. وتستغرق حوالي ١١ يوماً للبدء بعملية التمعدن وفي نهاية المطاف من ٢ إلى ٣ أشهر لتشكيل عظم ناضج جديد (new mature bone) [14]. إن سرعة عملية إعادة التشكيل تلك تخضع لبعض التغيرات طوال فترة حياة الشخص، وهي تتباطأ عندما يهرم الشخص. فبعد سن الأربعين، لا يمكن مواكبة عملية تشكيل العظم مع عملية ارتشاف العظم؛ مما يؤدي إلى نقص في كثافة العظم (bone density) [5]. إن واحداً من أمراض العظام الرئيسية التي تسببها الزيادة في ارتشاف العظم هو مرض هشاشة أو ترقق العظام (osteoporosis). في الشكل (٥،٦)، تتم مقارنة البنية المايكروية الدقيقة لعظم صحي وعظم مترقق أو هش (osteoporotic bone) [15]. إن المرضى الذين يعانون من مرض هشاشة أو ترقق العظام لديهم عظام أضعف وأكثر هشاشة والتي تكون عرضة للكسر. وبعد سن معينة، فإن العلاج الطبي الوحيد القابل للتطبيق للمرضى الذين لديهم كسر في العظم هو إدراج أو إدخال طُعْم عظمي (orthopedic implant).



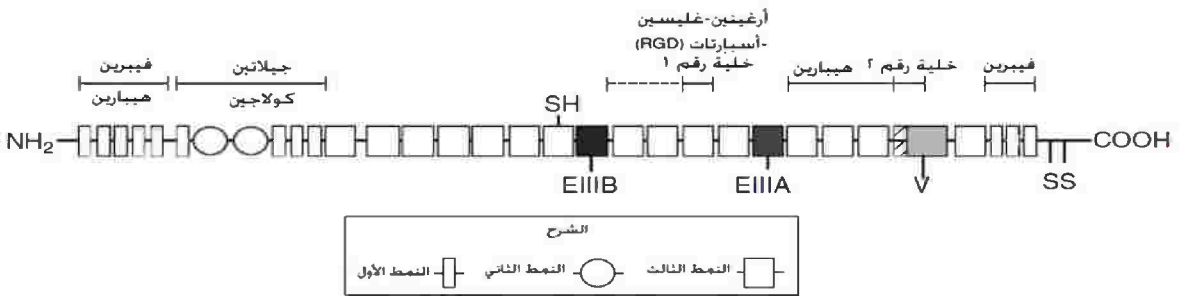
الشكل (٥،٦). صور مجهرية لعظم صحي طبيعي (normal healthy bone) (على اليسار) وعظم مترقق أو هش (osteoporotic bone) (على اليمين). (من Rügsegger P., *Calcified Tissue International*. 58(1), 24, 1996).

(٥،١،٤) التصاق الخلايا على سطوح الطُعوم (المواد المغروسة) Cell Adhesion on Implant Surfaces

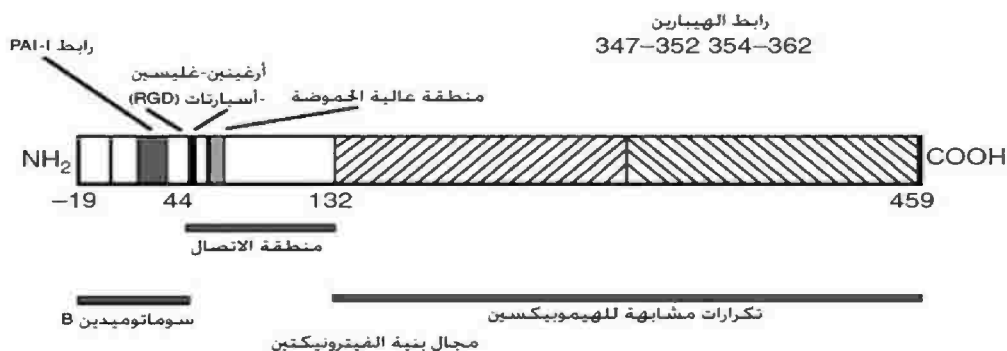
لقد تم مناقشة أن مصير الطُعْم أو المادة المغروسة يتحدد في الثواني الأولى بعد عملية الزرع (implantation). فعندما يتم إدخال طُعْم في الجسم، تحدث عملية امتزاز البروتين (protein adsorption) في الثواني القليلة الأولى. إن هذا الامتزاز للبروتين هو حاسم لأنه يتوسط من ناحية أخرى عملية التصاق الخلايا على سطح مادة الطعم المزروعة. وفي الدرجة الأولى، فإن نوع البروتينات الممزوجة على سطوح الطُعوم أو المواد المغروسة وتشكلها عندما يتم امتزازها تعتبر المحددات أو البارامترات الرئيسية التي تتحكم في التصاق الخلايا [16-18]. ويتم التحكم بشكل أساسي بالامتزاز الأولي للبروتين عن

طريق خصائص سطح الطعم (implant surface properties) مثل الطبوغرافيا السطحية (surface topography) (السمات السطحية) وقابلية الابتلال أو الترطيب (wettability) والتركيب الكيميائي (chemistry) [17,19-21]. وقد أُجري العديد من الدراسات للتحقق من تأثيرات الامتزاز الأولي للبروتين على التصاق الخلايا بسطوح المواد الحيوية. ويوجد هناك نوعان رئيسيان من البروتينات المعروفة بتأثيرها على ارتكاز أو التصاق الخلايا العظمية بسطح الطعم أو المادة المغروسة، وهما الفيترونيكتين (vitronectin) والفبرونيكتين (fibronectin).

الفبرونيكتين هو غليكوبروتين (glycoprotein) ذو وزن جزيئي كبير بعض الشيء (٢٧٣٧١٥ دالتون Da) [7]، وهو يوجد في بلازما الدم (blood plasma) والمصفوفة خارج الخلية (ECM) [22]. ويعزز الفبرونيكتين التصاق وهجرة وتمايز الخلايا ويؤثر على مورفولوجيا أو شكل الخلايا. ويبين الشكل رقم (٥.٧) بنية جزيء الفبرونيكتين. إن الفيترونيكتين هو أيضاً غليكوبروتين آخر لبلازما الدم وهو يوجد في المصفوفة خارج الخلية (ECM) للعديد من الأنسجة [22]. ويوجد الفيترونيكتين البشري في شكلين: على شكل سلسلة واحدة وعلى شكل سلسلتين. إن للفيترونيكتين ذي السلسلة الواحدة شريطاً ذا وزن جزيئي بقيمة ٧٥ كيلو دالتون (kDa) ويتفكك الفيترونيكتين ذو السلسلتين إلى شريطين مع وزن جزيئي بقيمة ٦٥ و ١٠ كيلو دالتون بالرحلان الكهربائي (electrophoresis) على هلام البولي أكريل أميد (polyacrylamide gel) [22]. ويلعب الفيترونيكتين دوراً مهماً في الكثير من العمليات الفيزيولوجية (مثل التوسط في الاستجابة المناعية (mediating the immune response) والاستتباب أو التوازن (homeostasis) وتثخن الدم (blood coagulation)). وهو أيضاً هام جداً في التوسط في التصاق وهجرة الخلايا [7]. وتظهر بنية الفيترونيكتين في الشكل رقم (٥.٨). ومن المهم ملاحظة أن الفبرونيكتين والفيترونيكتين (وكذلك جميع البروتينات) هي مواد طبيعية ذات بنية نانوية وهي التي تتفاعل معها الخلايا العظمية بشكل مستمر.



الشكل رقم (٥.٧). بنية الفبرونيكتين (structure of fibronectin). وهو يتألف من ثلاثة أنواع من تكرار الوحدات الفرعية، وهي النوع الأول والنوع الثاني والنوع الثالث والتي تتكون تقريباً من نحو ٤٥ و ٦٠ و ٩٠ حمضاً أمينياً، على التوالي. ويسبب الربط المتناوب في المواضع الثلاث (EIIIB و EIIIA و V) اختلافات في البنية. ويُشاهد ربط المنطقة (V) في البشر حيث يمكن لهذه المنطقة (V) أن تتغير من ٠ إلى ١٢٠ حمضاً أمينياً. ويُشار إلى موقعي ربط الخلايا (cell-binding sites) في الشكل كخلية رقم ١ (cell # 1) و خلية رقم ٢ (cell # 2) وتتضمن تسلسل الببتيد (RGD) (حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك) المعروف بشكل جيد. وقد تمت الإشارة أيضاً إلى مواقع ربط الفيبرين والجيلاتين والكولاجين والهيبارين / سلفات (كبريتات) الهيبارين. (من Kreis, T. and Vale, R., *Guidebook to the Extracellular Matrix*, Oxford: Oxford University Press, 1999).



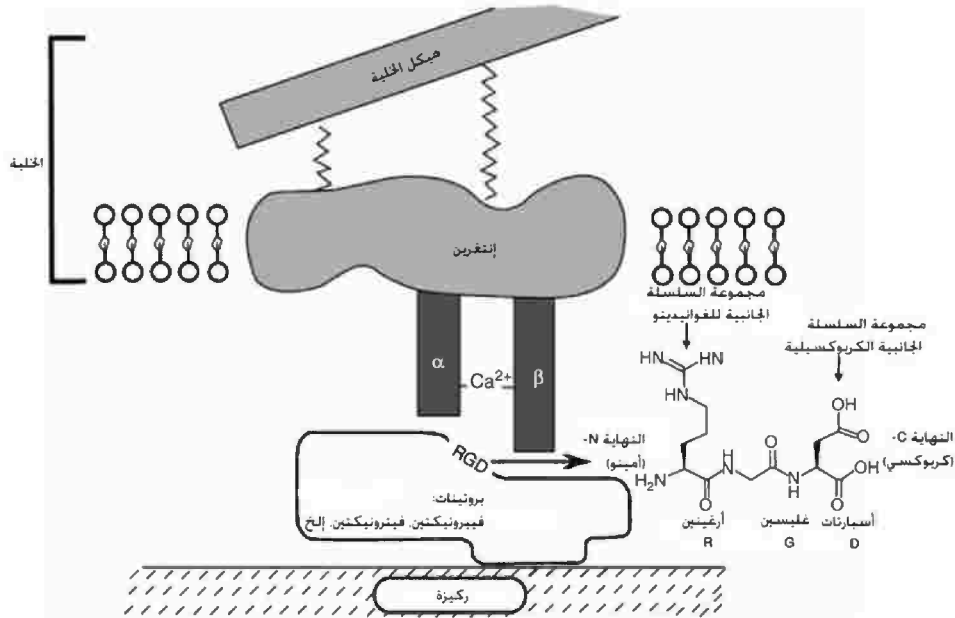
الشكل رقم (٨، ٥). بنية الفيترونكتين (structure of vitronectin). مجال السوماتوميدين (B) (somatomedin B) (في موقع الحمض الأميني من ١ إلى ٤٤ عند النهاية - N) يحتوي على موقع ربط المُنَشِّط المُثَبِّط-١ (activator inhibitor-1- PAI-1). ويكون هذا متبوعاً بمنطقة حمضية للغاية (highly acidic region)، والتي تساهم في البنية الثلاثية للبروتين (tertiary structure of the protein). وتوجد أيضاً منطقة ربط ومنطقة مشابهة للهميموبيكسين (heme group-like region) (أي البروتين الذي يرتبط بالحديد والذي يحتوي على مجموعة الهيم (heme group)). ويوجد مجال الـ (RGD) (حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك) مباشرة بعد مجال السوماتوميدين (B)، بين الأحماض الأمينية ٤٥ و ٤٧. إن موقعي ربط الهيبارين (heparin binding sites -) يكونا بين الأحماض الأمينية ٣٤٧ - ٣٥٢ و ٣٥٤ - ٣٦٢. (من: Kreis, T. and Vale, R., 1999. *Guidebook to the Extracellular Matrix, Anchor, and Adhesion Proteins*, Oxford: Oxford University Press, 1999).

إن هذه البروتينات هامة على وجه التحديد من أجل الخلايا العظمية. على سبيل المثال، لقد لوحظ أن السطوح ذات درجة الامتصاص العالي للربطية (high hydrophilicity) (السطوح المحبة للماء) وذات الخشونة العالية تزيد من التصاق الفيترونكتين والفيبرونيكتين [18,23]. ولم يُلاحظ أي انتشار للخلايا على سطوح التيتانيوم (titanium surfaces) في غياب الفيترونكتين والفيبرونيكتين والمصل العجلى الجنيني (fetal calf serum) [18]. وقد وُجد بأن التصاق وانتشار الخلايا المستمدة من العظم (bone derived cells -) كان قد انخفض بنسبة من ٧٣٪ إلى ٨٣٪ فقط عندما تمت إزالة الفيترونكتين من وسط زراعة الخلايا [24]. وعندما تمت إزالة الفيبرونيكتين فقط من وسط زراعة الخلايا، كان الانخفاض في انتشار والتصاق الخلايا على هذه السطوح أقل بشكل ملحوظ مما كان عليه عندما تم استخدام وسط زراعة خلايا مصلي (serum cell culture medium) يُستفد منه الفيبرونيكتين. وعندما لم يكن أي من هذه البروتينات موجود في وسط زراعة الخلايا، فشلت الخلايا المستمدة من العظم في الالتصاق [24]. إضافة إلى ذلك، فقد لوحظ أن قوة التصاق الخلايا تزداد خطياً مع الكثافة السطحية للفيبرونيكتين المتمتر على الركيزة في طريقة غير محددة [25,26]. وقد ظهر بأن كلا من هذين البروتينين يغيران التشكل (conformation) عند التعرض إلى بيئة خارج خلوية (extracellular environment). وقد ظهر بأن درجة الحرارة ودرجة الحموضة (pH) وتركيز الأملاح والارتباط بالسطوح (سطوح الطعوم أو المواد المغروسة) والارتباط بالجزئيات الحيوية الفعالة (bioactive molecules) تُحدث هذه التغيرات في التشكل [5,22]. إن ثمة مثلاً مهماً لهذه الظاهرة وهو تغيير تشكل الفيترونكتين عند الامتزاز. وبصورة خاصة، فقد أظهر Garcia وآخرون أنه

وبالرغم من أن نفس الكمية من الفيترونيكتين قد تم امتزازها أو امتصاصها على ركائز مختلفة، إلا أن الالتصاق المطابق للخلايا المشابهة للخلايا البانية للعظم (osteoblast-like cell) يمكن أن يختلف وذلك بسبب التغيرات الشكلية في الفيترونيكتين الممتز [26]. وفيما يتعلق بتقنية النانو، فقد لوحظ أهمية مشابهة لتشكل البروتين في التصاق الخلايا (cell adhesion). وعلى وجه التحديد، فقد أظهرت دراسة الألومينا ذي الطور النانوي (nanophase alumina) زيادة في تفتُّح أو تَكشُّف الفيترونيكتين (unfolding of vitronectin) بالمقارنة مع نظيره ذي الطور التقليدي (أو بحجم الحبيبات المايكروية (micron grain size) [17]). وقد عرضت الزيادة في تفتُّح أو تَكشُّف الفيترونيكتين مواقع لاصقة وفعالة حيويًا أكثر، الأمر الذي أدى أيضاً إلى تعزيز التصاق الخلايا البانية للعظم على سطوح الألومينا ذي الطور النانوي.

توجد آليتان رئيسيتان لارتكاز أو التصاق الخلايا (cell attachment) على البروتينات الممتزة على سطح الطعم أو المادة المغروسة: من خلال تسلسلات ببتيدية (peptide sequences) معينة (مثل حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك - arginine - glycine - aspartic acid أو RGD) أو من خلال منطقة ارتباط الهيبارين (heparin-binding region) كبروتين لاصق.

تحتوي بعض البروتينات خارج الخلوية (مثل الفيترونيكتين والفبرونيكتين والكولاجين واللامينين (laminin)) على تسلسلات ببتيدية من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD). ومن خلال التسلسل الببتيدي لهذا الحمض (RGD) تلتصق البروتينات بالمستقبلات الخاصة بها على أغشية الخلايا (cell membrane receptors) والتي تُدعى الإنتغرينات (integrins). يبين الشكل رقم (٥،٩) ارتكاز أو التصاق الخلية من خلال مستقبل الإنتغرين (integrin receptor) [20].



الشكل رقم (٥،٩). ارتكاز أو التصاق الخلية (cell attachment) من خلال مستقبل الإنتغرين (integrin receptor) على رَكِيزَة. (من

إن الإنتغرينات هي غليكوبروتينات عبر غشائية (transmembrane glycoproteins) وتتألف من وحدتين فرعيتين، هما الوحدة الفرعية ألفا (α) والوحدة الفرعية بيتا (β). إن الوحدة الفرعية (α) هي بطول من ١٠٠٨ إلى ١١٥٢ حمض أميني، مع منطقة هَيُولِيَّة (cytoplasmic region) تتكون من ٢٢ إلى ٣٢ حمضاً أمينياً ومنطقة عبر غشائية تتكون من ٢٠ إلى ٢٩ حمضاً أمينياً [19]. وتكون الوحدة الفرعية (β) بطول ٧٧٠ حمضاً أمينياً مع جزء داخل غشائي (intramembranous part) يتكون من ٢٦ إلى ٢٩ حمضاً أمينياً وجزء هَيُولِيَّة يتكون من ٢٠ إلى ٥٠ حمضاً أمينياً [19]. تُشكِّل الأجزاء خارج الخلية لهذه الوحدات الفرعية الإنتغرينية مركباً مُتَنَوِّياً مُغَايِراً (heterodimer) (مركباً ثنائياً ذا صيغة جزيئية غير متجانسة). وتملك الخلايا البانية للعظم مجالاً واسعاً من التعابير الإنتغرينية (integrin expressions). هذه التعابير هي: (α_1 و α_2 و α_3 و α_4 و α_5 و α_6 و α_v و β_1 و β_3 و β_5). إن تركيبات أو مجموعات مختلفة (different combinations) من هذه الوحدات الفرعية ممكنة وتملك كل مجموعة أو تركيبة إمكانية الارتباط بواحدٍ أو أكثر من اللِّجائِن (ligands) (اللجين هو جزيء يلتحم بجزيء آخر)، مع بعض التداخل في التحديدية (النوعية) (specificity)، حيث يمكن للعديد من الإنتغرينات أن ترتبط بأكثر من بروتين واحد ويمكن للعديد من البروتينات أن تكون لجين لأكثر من إنتغرين واحد [19]. ومن المرجح أن يكون ذلك على الأغلب بسبب التعرف على التسلسل الببتيدي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) عن طريق العديد من الإنتغرينات. وتلعب الإنتغرينات ($\alpha_v\beta_3$) و ($\alpha_v\beta_5$) دوراً رئيسياً في التصاق الخلايا البانية للعظم بالفيترونكتين في الوقت الذي يتم فيه استخدام الإنتغرين ($\alpha_1\beta_5$) من أجل الفيترونكتين ويتم استخدام الإنتغرين ($\alpha_2\beta_1$) من أجل الكولاجين [3]. وتلعب القوى الداخلية (internal forces) بين الإنتغرينات ولجائنها المطابقة لها دوراً مهماً في التوسط في وظائف الخلايا. وتُظهر الدراسات أن قوة التصاق الخلايا البانية للعظم بين الإنتغرين ($\alpha_5\beta_1$) والببتيد (GRGDSP) (Gly - Arg - Gly - Asp - Ser - Pro) هي 32 ± 2 بيكو نيوتن (pN) [27]. ويمكن أن تؤدي التغييرات في هذه القوى أيضاً إلى تغييرات في تشكيل (زخرفة) وبنية الأنسجة. بالإضافة إلى ذلك، تلعب الخصائص السطحية للطعم أو المادة المغروسة دوراً مهماً في التعبير الإنتغريني؛ حيث يعتبر التركيب الكيميائي والطوبوغرافيا أو السماوات السطحية وقابلية الابتلال أو الترطيب (الحب للماء) الخاصة بالطعم أو المادة المغروسة من العوامل الرئيسية. فعلى سبيل المثال، على ركيزة من البوليسترين (polystyrene substrate)، كانت الوحدات الفرعية (subunits) المعبر عنها بواسطة المستقبلات الإنتغرينية للخلايا البانية للعظم (α_2 و α_4 و α_6 و α_v و β_1 و β_3) [28]. وعلى أي حال، على ركيزة خشنة (rough) من خليط معدني من الـ (CoCrMo)، لم يتم التعبير عن الوحدات الفرعية (α_6 و β_3) على هذه الخلايا [28]. ومن أجل الحالة التي استُخدمت فيها ركيزة مَصْقولة من خليط معدني من التيتانيوم (polished titanium alloy) (على وجه التحديد، من التيتانيوم - الألومنيوم - الفاناديوم (titanium - aluminum - vanadium))، قامت الخلايا البانية للعظم بالتعبير وبشكلٍ إضافي عن الإنتغرين (α_3) [28].

وقد التصقت أيضاً الخلايا البانية للعظم بشكلٍ مختلف اعتماداً على الطوبوغرافيا السطحية. وفي محاولة لمحاكاة البنية الطبيعية للعظم، فقد تم استخدام تقنية النانو. وعلى وجه التحديد، فإن المواد النانوية تحتوي على العديد من السماوات أو الخصائص السطحية النانومترية التي يتم إنشاؤها بشكلٍ بيولوجي. وقد ظهر بأن الخلايا البانية للعظم تلتصق بفعالية أكبر بكثير من المواد

المستخدمة حالياً [29]. ومن الواضح بأن أي تغيير في كل من التركيب الكيميائي والطوبوغرافيا أو السمات السطحية وقابلية الابتلال أو الترطيب يؤثر على تكون العظم. فعندما تتغير هذه البارامترات أو المحددات فإنها تغير الامتزاز الأولي للبروتين على سطوح المواد الحيوية، والذي يؤثر من ناحية أخرى على التعبير الإلتغريني والتصاق الخلايا وانتشار الخلايا على هذه السطوح.

وعلى أي حال، ونظراً إلى حقيقة أن التسلسلات الببتيدية لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) تدعم التصاق الخلايا البانية للعظم، فقد تم وبشكل واسع دراسة الطلاء أو التغليف المسبق للركائز (precoating substrates) باستخدام هذا التسلسل الببتيدي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD). وقد وُجد بأن تثبيت السطوح باستخدام التشكيل أو الزخرفة المايكروية الدقيقة مع ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGDS) يعزز وبشكل كبير من التصاق الخلايا البانية للعظم وخلايا الأرومة الليفية [30]. وعلى الرغم من أن هذه الطريقة تُظهر بشير نجاح في الاختبارات التي أجريت في المختبر (والتي تشمل الزيادة في انتشار وتكاثر وتمايز الخلايا)، فإن بعض المشاكل قد حالت دون الاستخدام الكامل لهذه التقنية في الاختبارات التي تُجرى في الجسم الحي. فعلى سبيل المثال، تزداد فعالية الإلتغرينات التي ترتبط بببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) مع وجود الببتيدات الأخرى في البروتينات المتمزة على الركيزة (مثل (Pro - His - Ser - Arg - Asn - PHSRN)، والذي يرتبط بالإلتغرين ($\alpha_5\beta_1$) الخاص بالخلايا البانية للعظم [19,31]). بالإضافة إلى ذلك، يبدو أن طبيعة التقنية الجراحية تلعب أيضاً دوراً مهماً. فالعمليات الجراحية لتقويم العظام باستخدام الطعوم أو المواد المغروسة تعتبر مُحَرَّبة ميكانيكياً لقوى الالتصاق الضعيفة (weak adhesive forces) للببتيدات المثبتة على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة. فأنشاء العملية الجراحية، يمكن لطبقة طلاء الببتيد (peptide coating) أن تتضرر بشدة. كما يمكن أن يكون هناك سبب آخر للنتائج السيئة في الجسم الحي وهو أنه عند إدخال الطعم أو المادة المغروسة والمطلية مسبقاً بطبقة من بببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) في الجسم، فإن بروتينات أخرى كبيرة ستبقى مَمْرُوزة على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة، الأمر الذي يؤدي إلى منع تفاعل التسلسل الببتيدي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) مع المستقبل الإلتغريني للخلايا البانية للعظم. ونتيجة للأسباب المذكورة أعلاه، كان الباحثون أكثر اهتماماً في تعديل سطح الطعم أو المادة المغروسة الخام (raw implant surface) نفسها بدلاً من استخدام عملية المعالجة الببتيدية (peptide treatment process). وكما ستم مناقشته فيما بعد، فقد قدمت تقنية النانو العديد من التقنيات المختلفة وذلك لتغيير الخصائص السطحية من أجل تعزيز تكون العظم.

إن الآلية الثانية لالتصاق الخلايا البانية للعظم على سطوح المواد الحيوية هي من خلال بروتيوغليكانات سلفات أو كبريتات الهيبارين (heparin sulfate proteoglycans) في غشاء الخلايا. إن الالتصاق أو الارتباط بمجالات ربط الهيبارين (heparin - binding domains) للبروتينات هو بطبيعته التصاق كهروستاتيكي (كهربائي ساكن). ويحتوي المجال الذي يرتبط بالهيبارين على بعض الأحماض الأمينية الأساسية المشحونة إيجابياً والتي تتفاعل مع مجموعات الكربوكسيلات (carboxylate groups) ومجموعات السلفات أو الكبريتات (sulfate groups) المشحونة سلبياً والخاصة بالجليكوز أمينو غليكانات (glycosaminoglycans) الموجودة في غشاء الخلية [32]. وقد لوحظ بأن حجب أو منع مواقع ارتباط الهيبارين الخاصة بالفيبرونيكتين باستخدام الأجسام المضادة (الأضداد antibodies) (مثل عامل الصفائح الرابع (platelet factor IV)) قد أدى

إلى تثبيط التصاق الخلايا البانية للعظم بالفبرونيكتين بنسبة ٤٥ ٪ [33]، وأن التشكيل أو الزخرفة المايكروية الدقيقة (micropatterning) لسطوح الركائز باستخدام ببتيد الـ (KRSR) (وهو ببتيد ارتباط سلفات أو كبريتات الهيبارين (heparin sulfate - binding peptide)) قد زاد وبشكل كبير من التصاق الخلايا البانية للعظم [30]. ومن المثير للاهتمام أنه قد وجد بأن ببتيد الـ (KRSR) المثبت على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة يقلل من التصاق الأرومة الليفية (fibroblast) (وهي نسيج ليفي (fibrous tissue) مُكوّن للخلايا). وبالتالي ؛ فإن وجود المواقع التي ترتبط بالهيبارين في البروتينات المزروعة هو أيضاً ضروري من أجل زيادة التصاق الخلايا البانية للعظم على المواد الحيوية إلى الحد الأقصى.

وأخيراً، تتوسط الإنتغرينات وبروتيوغليكانات سلفات (كبريتات) الهيبارين في عملية الاتصال بين بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) والخلية، وفي تمرير المعلومات من المصفوفة خارج الخلية (ECM) إلى الخلية والعكس بالعكس. إن هذه العملية لنقل الإشارات داخل الخلايا (intracellular signaling) معقدة جداً ولا تزال غير واضحة حتى الآن. ويُعتقد أن الخطوة الأولى هي الفسْفَنة الآلية (autophosphorylation) (وهي الإدخال الآلي لزمرة فسفات إلى الجزيء) لإنزيم الكيناز الخاص بالالتصاق البؤري (focal adhesion kinase - FAK)، متبوعة بفسْفَنة التيروسين (tyrosine phosphorylation) (حمض أميني) وتراكم أو تجميع البروتينات الأخرى [19]. وتؤثر هذه البروتينات من ناحية أخرى على تبديل الإشارة (signal transduction) وتفعيل بعض عوامل النسخ (transcription factors) (مثل البروتين المنشط الأول AP-1 - activator protein - 1) من خلال مسارات معقدة (complex pathways) تتحكم بتكاثر وتمايز الخلايا [5].

(٥،٢) المشاكل مع الطعوم أو المواد المزروعة الحالية PROBLEMS WITH CURRENT IMPLANTS

إن جراحة العظام (orthopedics) هي صناعة بمليارات الدولارات. وقد بلغ إجمالي تكاليف العلاج لاستبدال كامل الورك (total hip replacements) في الولايات المتحدة الأمريكية وحدها ٦.٧٧ مليار دولار في العام ٢٠٠٣ [34]. وفي العام ٢٠٠٤، بلغ عدد عمليات استبدال كامل الورك ٢٣٤٠٠٠ عملية، والذي بلغ ضعف عدد العمليات الجراحية لاستبدال كامل الورك في العام ١٩٩١ [35]. ولسوء الحظ، فقد تضاعف أيضاً عدد عمليات استبدال الورك من ٢٣٠٠٠ إلى ٤٦٠٠٠ في الفترة بين عامي ١٩٩٢ و ٢٠٠٣ [36]. وتُظهر الإحصائيات المشار إليها أعلاه وبصورة واضحة فشل الطرق المستخدمة حالياً في تلبية احتياجات المرضى ويجب إجراء التحسينات وبشكل جذري على إطالة عمر هذه الطعوم أو المواد المزروعة.

في الولايات المتحدة الأمريكية وفي عام ٢٠٠٤ كان متوسط عمر المرضى الذين يخضعون لعمليات جراحية لاستبدال كامل الورك ٦٦ عاماً [37]، ٣٣ ٪ منهم كان تحت عمر ٦٥ عاماً. وعند مقارنة متوسط العمر (mean age) المتوقع لشخص في عمر ٦٥ (١٧.٩ عاماً [5]) مع متوسط العمر لطعم أو مادة مزروعة (والذي هو من ١٢ إلى ١٥ عاماً [38])، فإنه يمكننا ملاحظة أن الأخير أقصر نسبياً؛ ولهذا السبب فإنه من السهل فهم السبب وراء ارتفاع العدد الإجمالي لعمليات الاستبدال الجراحية اللازمة حالياً. وهذا يعني ان غالبية الأشخاص الذين خضعوا لعمليات جراحية لاستبدال كامل الورك سوف يحتاجون على الأقل إلى عملية استبدال جراحية واحدة، وفي حالة المرضى صغار السن فقد يتطلب الأمر عمليات جراحية متعددة. ومن أجل تقليل عدد عمليات الاستبدال الجراحية وتحسين نوعية حياة الكثير من المرضى، فإن هناك حاجة كبيرة إلى طعوم أو مواد مزروعة أفضل وتبقى ثابتة لفترة أطول.

منذ أول عملية استبدال ورك جراحية معروفة تم إجراؤها باستخدام مفاصل كروية الشكل (ball joints) ومفاصل سَنْخِيَّة الشكل (socket joints) مُكوَّنة من العاج وبراجي من الفولاذ المطلي بطبقة من النيكل وذلك للمساعدة في عملية التثبيت [39]، كان فشل الطعم أو المادة المزروعة مشكلة رئيسية تواجه عمليات تقويم العظام الجراحية. وقد كان من الممكن إجراء تحسينات في تصميم مادة الطعم المزروعة فقط من خلال استخدام طرق التجربة والخطأ (trial and error methods) [20] وذلك نظراً لعدم فهم الأسباب الرئيسية التي تؤدي إلى فشل الطعم أو المادة المزروعة [5]. وهناك العديد من الأسباب التي تؤدي إلى فشل الطعم أو المادة المزروعة. فعلى الرغم من أنه لم يتم فهمها أو التغلب عليها بشكل تام حتى الآن، إلا أنه يمكن تصنيفها إلى فئتين هما: العوامل الميكانيكية (mechanical factors) (وتتضمن الاختلالات أو فقد التوازنات الإجهادية - الانفعالية (stress - strain imbalances) وهجرة أو تحرك الطعم أو المادة المزروعة (implant migration) والحطام الناتج عن الاهتراء (wear debris))، وعوامل بيولوجية (biological factors) (وتتضمن رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب أو الدخيل (foreign body reaction)). وإلى الآن، فقد اعتمدت عملية التجربة والخطأ النموذجية من أجل تطوير طعم أو مادة مزروعة أفضل على تعديل التركيب الكيميائي للطعم أو المادة المزروعة (أي (CoCrMo) مقابل التيتانيوم (Ti) مقابل الفولاذ المقاوم للصدأ (stainless steel)، ... إلخ). بينما تتبع تقنية النانو أسلوباً آخر. فهي تُنشئ سمات أو خصائص سطحية نانوية (nanosurface features) من خلال مجموعة متنوعة من الوسائل على أي تركيب كيميائي للطعم أو المادة المزروعة. وتوفر هذه التقنية خاصية للمادة (وهي السمات أو الخصائص السطحية التي يتم إنشاؤها بشكل بيولوجي) والتي يمكن أن تُستخدم من أجل أي تركيب كيميائي للطعم أو المادة المزروعة وذلك لتعزيز نمو العظم (bone growth). في هذا الجزء الباقي من هذا القسم، سيكون التركيز الرئيسي على الأساسيات المتعلقة بالسطح البيني لطعم أو مادة الورك المزروعة / العظم (implant / bone interface)، وكيف يمكن لهذا التزاوج أو الربط أن يفشل من خلال استخدام طعوم أو مواد مزروعة تقليدية حيث أن تعزيز هذا التزاوج أو الربط هو الميزة الأساسية لتقنية النانو [5].

(٥،٢،١) العوامل الميكانيكية Mechanical Factors

(٥،٢،١،١) الاختلال الإجهادي-الانفعالي Stress-Strain Imbalance

يتوقف تأثير الإجهاد على السطح البيني الفاصل بين النسيج ومادة الطعم المزروعة (tissue - implant interface) على العديد من العوامل (مثل التصميم والشكل الهندسي للطعم أو للمادة المزروعة ووجود الإسمنت أو الملاط العظمي (bone cement) والذي يتم استخدامه لربط مادة الطعم المزروعة بالعظم المحيط والخصائص الميكانيكية للطعم أو للمادة المزروعة نفسها) [40]. فعندما يكون توزيع الإجهاد والانفعال غير متساوٍ، يخضع العظم المجاور مباشرةً للطعم أو للمادة المزروعة إلى مستويات غير فيزيولوجية من القوة، والتي ستؤدي من ناحية أخرى إلى تفكك أو تخلخل عقيم (aseptic loosening) (لا إثنائي) [41] وإرتشاف العظم نتيجة لحجب أو تدريع الإجهاد (stress shielding) وتضرر في الأنسجة المحيطة وألم لدى المريض وفي نهاية المطاف فشل الطعم أو المادة المزروعة (implant failure). وقد أشارت النتائج التجريبية التي أجريت باستخدام مقاييس الانفعال (strain gauges) وتحليل العناصر المحدودة (finite element analysis) أن تركيز الإجهاد يكون موجوداً عند النهايات الدانية (proximal ends) (العلوية) والقاصية (distal ends) (السفلية) لطعم أو مادة الورك المزروعة. وباستخدام طرق تحليل العناصر

المحدودة، فإنه من الممكن إنشاء التصميم الأفضل الذي يسمح بالنقل الأمثل للحمل (optimal load transfer) ويقلل من تراكيز الإجهاد - الانفعال (stress - strain concentrations) عند السطح البيني الفاصل بين مادة الطعم المزروعة - والنسيج بنسبة تصل إلى حد ٧٠ ٪ [42]. وبالطبع فإن الزيادة في نمو العظم في هذه الأماكن سيوفر دعماً أكبر.

(٥,٢,١,٢) هجرة الطعم أو المادة المزروعة Implant Migration

إن التحرك أو الهجرة (migration) تعني الحركة المايكروية الدقيقة (micromotion) (من ٠,١ إلى ١ ميليمتر) لطعم أو مادة مزروعة عبر الزمن [43]. فعندما تزداد الهجرة المايكروية، لا يحدث نمو أو نُشُوب (ingrowth) للعظم في داخل سطح مادة الطعم المزروعة [44]. بالإضافة إلى ذلك، تؤدي هجرة الطعم أو المادة المزروعة والحركة المايكروية الدقيقة عند السطح البيني الفاصل بين العظم والمفصل الاصطناعي البديل (bone - prosthetic interface) إلى إزالة ربط مادة الطعم المزروعة بالأنسجة المجاورة (juxtaposed tissue)، الأمر الذي يؤدي إلى فشل الطعم أو المادة المزروعة. وقد ظهر بأن هجرة الكأس الحُقِّي (acetabular cup) تكون أكبر بكثير من أجل تلك الكؤوس التي فشلت منها من أجل تلك الكؤوس التي كانت ناجحة. ونتيجة لهذه الأسباب، فإن تقليل الحركة المايكروية الدقيقة إلى الحد الأدنى هو أحد المشاكل الرئيسة المتعلقة بمجال جراحة تقويم العظام.

إن استخدام الإسمنت أو الملاط العظمي هو الطريقة الرئيسية لتقليل تحرك أو هجرة الطعم أو المادة المزروعة وقد ظهر بأنه فعال عند استخدامه بتنظيم الحجم في منع الحركة المايكروية الدقيقة [45]. إن الإسمنت أو الملاط العظمي هو في الأساس مادة حشو (filler material)، تتوضع بين العظم ومادة الطعم المزروعة. وإن المادة الأكثر استخداماً كإسمنت أو ملاط عظمي هي البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA - poly(methyl methacrylate)). وعلى الرغم من أن استخدام البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) يمنع الحركة المايكروية الدقيقة، إلا أن هناك بعض العيوب المتأصلة أو الملازمة للبولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA). فعلى سبيل المثال، عند إزالة العظم لإفساح المجال للإسمنت أو الملاط العظمي، تم تحديد العيوب التالية: نُخر خلايا العظم (necrosis of bone cells) نتيجة لعملية بلمرة البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) (polymerization) التي تتم عند درجة حرارة عالية (من ٦٧ إلى ١٢٤ درجة مئوية) والمطلقة للحرارة (الأمر الذي يضر في عملية الدوران الدموي الموضعي (local blood circulation) [46]) وتسرب المونومرات غير المتفاعلة (unreacted monomers) قبل عملية البلمرة والانكماش أو التقلص (shrinkage) أثناء عملية البلمرة وعدم التطابق الكبير للصلابة بين الإسمنت أو الملاط العظمي والأنسجة المحيطة وإنشاء سطوح بينية فاصلة إضافية (المادة المزروعة - الإسمنت، الإسمنت - العظم) [47]. وعند عدم استخدام الإسمنت أو الملاط العظمي، تصبح عملية التثبيت الأولية للطعم أو المادة المزروعة بالعظم مشكلة كبيرة. ويجب أن يرتبط العظم بشكل كامل بسطح مادة الطعم المزروعة قبل تطبيق أي قوة على المادة المزروعة. لهذا السبب، فإن الترسيب المبكر للعظم (early bone deposition) ضروري وحيوي في عمليات جراحة تقويم العظام. ويجب على المواد المستخدمة في الطعوم المزروعة أن تُعزز تَكُون العظم وأن تُحرّض على الترسيب المبكر للعظم.

Wear (٥, ٢, ١, ٣) الاهتراء

الاهتراء (wear) هو توليد للجسيمات عندما يتحرك سطحان متقابلان بالنسبة إلى بعضهما بعضاً تحت حمل، وهكذا يتم إنتاج حطام الاهتراء (wear debris). لا يسبب الاهتراء في الطعوم أو المواد المزروعة ترققاً في المكونات مع ظهور اختلافات أو فقد في التوازنات الإجهادية - الانفعالية وهجرة للطعم أو المادة المزروعة فحسب، بل يُنتج أيضاً حطام الاهتراء الذي يتم إطلاقه في البيئة البيولوجية [48]. ويمكن أن يكون سبب الاهتراء عوامل ميكانيكية (مثل الالتصاق والسحج أو الانسحال (abrasion) والتعب أو الإجهاد (fatigue)، ... إلخ) أو عوامل بيولوجية (مثل تآكل (corrosion) سطح مادة الطعم المزروعة بفعل الأنشطة أو الفعاليات البيولوجية، ... إلخ).

يسبب الحطام الناتج عن الاهتراء انحلال العظم (osteolysis) (أو الارتشاف الموضعي (localized resorption) أو ذوبان (dissolution) النسيج العظمي) في العظم المحيط. ولكي يسبب الحطام الناتج عن الاهتراء انحلالاً للعظم، فإنه توجد قيمة حدية عملية للاهتراء (عتبة الاهتراء (wear threshold)) والتي تم اقتراحها على أنها ٠,٥ ميليمتر / سنة [49]. وعندما يتم تجاوز هذه القيمة الحدية أو العتبة، يزيد على الأرجح احتمال حدوث انحلال العظم. ومن المقبول وعلى نطاق واسع أنه كلما قلت نسبة الاهتراء، قل احتمال حدوث الانحلال العظمي. وقد أكد بعض الباحثين على أن المهم ليس هو التركيز الإجمالي لحجم الاهتراء، ولكن تركيز حجم الاهتراء ضمن المجال الحجمي الحرج أو الحدي (من ٠,٢ إلى ٠,٨ مايكروناً) هو الأهم من أجل الاستجابة البيولوجية (biological response) [50].

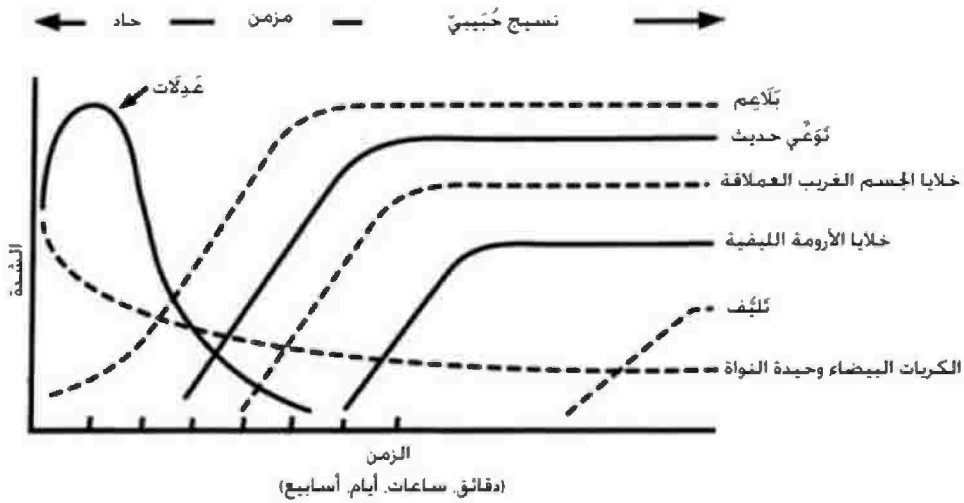
إن نوع المادة ونصف القطر الرأسي (head radius) والخلوص (clearance) وتشطيب أو إنهاء السطح (surface finish) والتزيت أو التشحيم (lubrication)، هي كلها عوامل مهمة ويمكن أن تزيد من خصائص الاهتراء الخاصة بمادة الطعم المزروعة. وبناءً على هذه المحددات أو البارامترات، يمكن أن تختلف خصائص الاهتراء الخاصة بالطعوم أو المواد المزروعة بشكل ملحوظ. فعلى سبيل المثال، يمتلك المعدن على البولي إيثيلين ذي الوزن الجزيئي العالي جداً (ultrahigh molecular weight polyethylene - UHMWPE)، معدل اهتراء قدره من ١٠٠ إلى ٣٠٠ مايكرومتر / سنة، ويمتلك السيراميك على البولي إيثيلين ذي الوزن الجزيئي العالي جداً (UHMWPE) معدل اهتراء قدره من ٥٠ إلى ١٥٠ مايكرومتر/سنة، ويمتلك المعدن على المعدن معدل اهتراء قدره من ٢ إلى ٢٠ مايكرومتر / سنة، ويمتلك السيراميك على السيراميك معدل اهتراء قدره من ٢ إلى ٣٠ مايكرومتر / سنة [51]. وعلى أي حال، وبالرغم من معدلات اهترائها المنخفضة، فقد تم انتقاد استخدام المعدن على الطعوم المعدنية المزروعة وذلك لأن لها معدلات تفكك أو تخلخل (loosening rates) أعلى؛ مما يسبب حساسية معدنية (metal sensitivity) تؤدي إلى حدوث تفاعلات بيولوجية للمكونات أو العناصر الرئيسية للخليط المعدني والذي يؤدي إلى إنتاج حطام اهتراء في مستوى النانومتر [52,53]. وهكذا، ونظراً لأنه يتم قياس معدل اهتراء منخفض؛ فإنه يجب أخذ العوامل البيولوجية لحطام الاهتراء المرافق في عين الاعتبار.

(٥,٢,٢) العوامل البيولوجية Biological Factors

عندما يتم إدخال طعم أو مادة مزروعة، تحدث بعض التفاعلات البيولوجية بالقرب من المنطقة المزروعة بالطعم. وتمثل هذه التفاعلات استجابة الجسم لهذه المادة الغريبة المزروعة حديثاً. إن مادة الطعم المزروعة الناجحة تعزز عملية التصاق الخلايا البانية للعظم على سطح الطعم المزروع وعملية تكوين نسيج عظمي جديد، ودمج الطعم أو المادة المزروعة في الجسم. وعلى أي حال، إذا غلّف الجسم المادة المزروعة عن طريق تكوين أنسجة ليفية ملساء (soft fibrous tissue) وحاول فصله قدر الإمكان عن العظم المحيط، فإن ذلك يمثل علامة للزراعة غير الناجحة. إن الهدف العام للطعوم أو المواد المزروعة المستخدمة في جراحة تقويم العظام هو تقليل مقدار تكوين الأنسجة الليفية حول المادة المزروعة إلى الحد الأدنى وزيادة نمو العظم الجديد إلى الحد الأقصى.

(٥,٢,٢,١) استجابة المضيف للمواد الغريبة Host Response to Foreign Materials

بعد إجراء عملية الزراعة، يتبع الجسم سلسلة من الأحداث الموضعية أثناء الاستجابة للالتئام (healing response). وهذه الأحداث هي الالتهاب الحاد (acute inflammation) والالتهاب المزمن (chronic inflammation) وتكوين الأنسجة الحبيبية (granulation tissue) ورد فعل أو استجابة الجسم الغريب والتليف (fibrosis). إن الخطوات وأنواع الخلايا السائدة أثناء خطوات التئام أو شفاء الجرح تلك هي موضحة في الشكل رقم (٥,١٠) [54].



الشكل رقم (٥,١٠). الرسم البياني للوقت مقابل الشدة (time versus intensity) لردود الفعل أو الاستجابة للالتئام أو شفاء الجروح (wound healing responses) والذي يُظهر أنواع الخلايا السائدة أو المهيمنة في موقع الالتهاب (inflammation).

(site). (Anderson, J.M., Cardiovascular pathology, 2(3), 33, 1993).

إن الالتهاب هو رد فعل أو استجابة النسيج الحي المتوعي (vascularized living tissue) لضرر أو أذى موضعي [54]. فهو ينشط سلسلة من الأحداث التي يمكن أن تشفي أو تُلثم النسيج بعد عملية الزراعة وذلك عن طريق جلب الخلايا المتنيّة (parenchymal cells) أو الخلايا المراد بها تغليف (encapsulate) الطعام أو المادة المزروعة بأنسجة ليفية [55]. ويتم تفعيل الاستجابة الأولية المتعلقة بالالتهاب بغض النظر عن نوع المادة الحيوية وموضع الضرر أو الأذى. ويعتبر الالتهاب الحاد استجابة قصيرة الأمد (short-term response) (بضعة أيام) للضرر أو الأذى. فيزداد تدفق الدم إلى منطقة الضرر بعد العملية الجراحية مباشرةً. وهذا يعني زيادة في تدفق البروتينات (البعض منها يمكن أن يعزز التصاق الخلايا المعتمدة على الثبيت) والمواد الغذائية والخلايا المناعية (immune cells) والخلايا التي يمكن أن تساعد في الشفاء والخلايا الجذعية المتوسطة (mesenchymal stem cells)، ... إلخ. إن الخلايا التي تظهر أولاً في منطقة الزراعة هي خلايا الدم البيضاء (white blood cells) وبشكل أساسي العدلات (neutrophils). بعد ذلك تقوم العدلات بجلب الوحيدات (monocytes) (وهي نوع من الكريات البيضاء وحيدة النواة) إلى منطقة الالتهاب (حيث ستميز الوحيدات من ناحية أخرى إلى خلايا بلعمية أو بلّاع (macrophages) والتي من المعروف جيداً بأنها تساعد في تحلل مادة الطعام المزروع). ومن ثم يتم جلب العدلات إلى منطقة الالتهاب عن طريق وسائط كيميائية (chemical mediators) (عن طريق الانجذاب الكيميائي chemotaxis) لتُبْلَع (phagocytose) الميكروبات أو الكائنات الحية المجهرية الدقيقة (microorganisms) والمواد الغريبة [55]. فهي تلتصق بسطوح المادة الحيوية عن طريق البروتينات الممزوجة، وبصورة أساسية الغلوبولين المناعي (immunoglobulin G - IgG) (G) والجزء المتّممّ المفعلّ (complement - activated C3b) (fragment - C3b) من خلال عملية تُسمّى "الطهاية" ("opsonization"). ونظراً للاختلاف النسبي في الحجم بين المواد الحيوية الخاصة بجراحة تقويم العظام والخلايا البلعمية (phagocytotic cells)، فإنه لا يمكن للخلايا استيعاب الطعام أو المادة المزروعة. وهذا يؤدي إلى حالة تُسمّى "البلعمة المحبطة" ("frustrated phagocytosis")، والتي هي تفعيل للخلايا البلعمية من أجل إنتاج منتجات خارج خلوية تسعى إلى تحلل المادة الحيوية، وفي نفس الوقت تقوم بجلب المزيد من الخلايا إلى منطقة المادة المزروعة. وبعد ذلك تُفرز البّالّاع عوامل مُحلّلة (مثل فوق الأكسيدات (superoxides) والجذور الحرة (free radicals)) والتي تُضرّ بكل من الأنسجة المجاورة وربما بالمادة المزروعة بشكلٍ شديد.

تؤدي الاستجابات أو ردود الفعل المستمرة المتعلقة بالالتهاب إلى الالتهاب المزمن [55]. إن أهم أنواع الخلايا الرئيسية التي يتم ملاحظتها أثناء الالتهاب المزمن هي الوحيدات أو الكريات البيضاء أحادية النواة والبّالّاع أو الخلايا البلعمية واللمفاويات أو الخلايا اللمفاوية (lymphocytes). ويبدأ التوعيّ الحديث (neovascularization) (تكوّن أوعية دموية جديدة) أيضاً أثناء هذه الخطوة من التئام الجرح. إن البّالّاع أو الخلايا البلعمية هي نوع الخلايا الأكثر أهمية في حالة الالتهاب المزمن وذلك نظراً لإفراز عدد كبير من المنتجات الفعالة بيولوجياً مثل: البروتيازات (proteases) (وهي إنزيمات بروتينية) ومُستقلّبات حمض الأراكيدونيك (arachidonic acid metabolites) ومُستقلّبات الأكسجين التفاعلية (reactive oxygen metabolites) وعوامل التخثر (coagulation factors) وعوامل النمو (growth factors) (والتي هي مهمة لجلب وتعزيز وظائف خلايا الأرومات الليفية).

إن الخطوة الثالثة في رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب هي تكوين النسيج الحبيبي (granulation tissue). تُشكّل خلايا الأرومة الليفية النسيج الحبيبي. وهذا النسيج هو السمة المميزة للاستجابة الشفائية. وهو حبيبي المظهر ويحتوي على العديد من الأوعية الدموية الصغيرة [5]. بالإضافة إلى ذلك، تندمج البلاعم مع بعضها بعضاً لتشكيل خلايا الجسم الغريب العملاقة (foreign body giant cells) وذلك لمحاولة بلعمة المواد الغريبة بفعالية أكبر بكثير. وتحدد كمية النسيج الحبيبي مدى التليف [5].

تحتوي الخطوة الرابعة في شفاء أو التئام الجرح، وهي رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب، على خلايا الجسم الغريب العملاقة ونسيج حبيبي (وهي تشمل خلايا الأرومة الليفية والشعيرات الدموية والبلاعم، ... إلخ). وتعتبر خصائص المادة الحيوية العامل الرئيسي المحدد في هذه الخطوة. وقد اتضح بأن السطوح الملساء (النعمومة في مستوى المايكرون micron smooth) تحفز رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب وهي تتألف من بلاعم يبلغ سمكها من خلية واحدة إلى خليتين [55]. وعلى أي حال، فعندما تزداد الخشونة (الخشونة في مستوى المايكرون micron rough)، يزداد رد الفعل أو الاستجابة للجسم الغريب.

الخطوة الأخيرة في رد الفعل أو الاستجابة لشفاء أو التئام الجرح هو التليف، والذي هو تغليف للطعم أو المادة المزروعة بنسيج ليفي. ويتوقف نجاح عملية الزراعة بصورة عامة على قدرة تكاثر الخلايا في النسيج. إن الأنسجة التي تحتوي على خلايا غير مستقرة (labile cells) (تتكاثر طوال الوقت) أو خلايا مستقرة (stable cells) (تتوسع) هي أقل احتمالاً في دخول مرحلة التليف. وعلى أي حال، إذا كانت الخلايا التي تضم تلك الأنسجة مستقرة (لا تنمو، وذات قدرة محدودة على التكاثر)، فإن فرص تشكيل الأنسجة الليفية تكون أكبر نسبياً. وبحسب ما ذكر آنفاً، فإن التغليف الليفى (fibrous encapsulation) غير مرغوب فيه في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية لأنه يؤدي إلى فشل الطعم أو المادة المزروعة نظراً إلى الاختلالات أو فقد التوازنات الإجهادية - الانفعالية. وبكل بساطة، لا يمكن للأنسجة الليفية أن تدعم الإجهادات الفيزيائية (physical stresses) التي يمكن للعظم أن يدعمها. إن الحالة المرغوب فيها للطعم أو مادة الزراعة الخاصة بجراحة تقويم العظام هي جلب الخلايا المثبتة، وعلى وجه التحديد خلايا بانية للعظم أكثر، حول الطعم أو المادة المزروعة في أسرع وقت ممكن.

(٥,٣) المجال الناشئ حديثاً: تقنية النانو EMERGING FIELD: NANOTECHNOLOGY

(٥,٣,١) مقدمة Introduction

إن تقنية النانو هي تطوير المواد والأجهزة والأنظمة التي تعرض وبشكل ملحوظ خصائص مُعدّلة وجديدة وذلك عن طريق التحكم بالمستوى الذري (atomic level) والمستوى الجزيئي (molecular level) والمستوى فوق الجزيئي (supramolecular level) [56,57]. لقد أحدثت هذه التقنية ثورة في العديد من المجالات، بما في ذلك صناعة الطعوم أو المواد المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام.

عندما يتم تقليل الأبعاد التقليدية للمادة إلى مستوى النانو، تحدث بعض التغيرات غير العادية في الخصائص الفيزيائية الكيميائية (physiochemical properties). ويمكن أن يُعزى ذلك إلى الحجم (أي توزيع الحجم (size distribution)) والتركيب الكيميائي (chemical composition) (أي النقاء (purity)) والتبلور (crystallinity) والخصائص الإلكترونية (electronic

((properties)) والبنية السطحية (surface structure) (أي التفاعلية (reactivity) والمجموعات السطحية (surface groups)) والذوبانية أو القابلية للذوبان (solubility) والشكل (shape) وتكدُّس أو تجمُّع (aggregation) المواد في المستوى النانومتري مقارنة بالمواد في المستوى المايكروي [58]. وبالرغم من أن مختلف الخبراء يُعرِّفون "المادة النانوية" ("nanomaterial") بطرق مختلفة، إلا أن التعريف الأكثر قبولاً هو أن المادة النانوية هي مادة ذات وحدة بنيوية أساسية في المجال من ١ إلى ١٠٠ نانومتر.

إن طب النانو (Nanomedicine) هو مجموعة فرعية من تقنية النانو وهو تطبيق لتقنية النانو من أجل تشخيص الأمراض أو علاجها أو منع حدوثها. وعلى الرغم من أن هذا المجال لا يزال في مراحله الأولى، إلا أنه يتمتع بإمكانية كبيرة لتغيير منهجية العلوم الطبية في القرن الواحد والعشرين. على سبيل المثال، فإن كلاً من اكتشاف الخلايا السرطانية (cancer cell detection) [59] أو توصيل الدواء والجينات (drug and gene delivery) [60,61] وهندسة الأنسجة (tissue engineering) [62] والتصوير الحيوي (bioimaging) [63,64] سيستفيد من التطورات في طب النانو بشكل كبير جداً. وفي الوقت الحالي، لم يتم إظهار إلا القليل من مزايا تقنية النانو من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية والتي سوف يتم توضيحها أدناه.

واحدة من القوى الدافعة الأساسية لاكتشاف مواد نانوية في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية هي أن الأنسجة في جسم الإنسان ذات بنية نانوية، مما يفتح الأبواب وبشكل واضح على العديد من الفرص لتحسين الطب. فعلى سبيل المثال وحسب ما تمت الإشارة إليه، فإن جزيئات الهيدروكسي أباتيت (HA)، وهي المكوّن الرئيسي للطور غير العضوي للعظم، وهي ذات سماكة من ٢ إلى ٥ نانومترات والكولاجين من النمط الأول، وهو المكوّن الرئيسي للطور العضوي للعظم، وهو ذو قطر يبلغ ٠,٥ نانومتراً. وهذا يعني أن خلايا العظم معتادة على أن تتفاعل بشكل طبيعي مع السمات أو الخصائص والسطوح في المستوى النانوي. فعندما تتم هندسة سطوح الطعوم أو المواد المزروعة لمحاكاة المكونات الرئيسية للعظم، يمكن توقع دمج أفضل للطعم أو للمادة المزروعة مع الجسم. بالإضافة إلى ذلك، فإن للمواد في المستوى النانوي (nanoscale materials) مساحة سطحية أكبر وغيوباً سطحية أكثر وعدداً أكبر من الذرات على السطح وتوزيعات مُعدّلة أكثر للإلكترونات، الأمر الذي يغير من خصائص سطوحها (أي التفاعلية) بالمقارنة مع المواد التقليدية، ويؤثر من ناحية أخرى على التفاعلات بين السطح والبروتينات. وعلاوة على ذلك، فإن النقص في حجم الحبيبات أو الجسيمات في النظام النانومتري سيغير أيضاً من الخصائص الميكانيكية والخصائص الكهروضغطية (piezoelectric properties) والخصائص الكهربائية. وباختصار، يمكن تصنيف مزايا استخدام المواد في المستوى النانوي في التطبيقات المتعلقة بجراحة تقويم العظام إلى فئتين رئيسيتين: المزايا الميكانيكية والمزايا البيولوجية.

(٥,٣,٢) الاختلافات في الخصائص الميكانيكية Differences In Mechanical Properties

(٥,٣,٢,١) الاختلالات الإجهادية-الانفعالية وهجرة الطعم أو المادة المزروعة Stress-Strain Imbalances and Implant Migration

تسبب معظم أنواع السيراميك والمعادن المستخدمة في تطبيقات جراحة تقويم العظام تدريجاً أو وقاية من الإجهاد (وهو واحد من الأسباب الرئيسية لارتشاف العظم) نظراً إلى عدم تطابق الخصائص الميكانيكية بين مادة الطعم المزروعة والعظم المحيط،

مسبباً تفكك أو تخلخل عقيم (لا إئتاني) وهجرة الطعم أو المادة المزروعة. ولهذا السبب، فإن توزيع إجهادي - انفعالي (stress - strain distribution) أكثر انتظاماً ومنع التفكك أو التخلخل على السطح البيني الفاصل (interfacial loosening) هو الدافع الرئيسي لتعديل الخصائص الميكانيكية لمواد للطعوم العظمية المزروعة. وعلى وجه التخصيص، يبدو أن المواد ذات الطور النانوي تحقق مزايا كبيرة في هذا الصدد.

لتقديم أفضل أداء لمادة الطعم المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام، ينبغي أن تحاكي مادة الطعم المزروعة معامل المرونة، والمتانة، وصلابة أو متانة الكسر (fracture toughness) للعظم الطبيعي. فمن أجل شق أو صدع ذي حجم محدد، فإنه كلما زادت صلابة الكسر لمادة الطعم المزروعة، زادت متانتها، الأمر الذي يحل مشكلتين في آن واحد [65]. وفيما يتعلق بتطبيقات جراحة تقويم العظام، فإن زيادة أو تعزيز صلابة الكسر تكون ناجحة بشكل عام عن طريق استخدام طرق إنتاج المركب. فيمكن لاستخدام طور ثانوي من أجل الحصول على تحسن في صلابة الكسر أن يزيد من الطاقة لنشر شق (crack) أو أن يبدد الطاقة لانتشار شق بصورة أكثر فعالية من خلال آلية انحراف أو تغيير مسار الشق (crack deflection mechanism) أو آلية تجسير الشق (crack bridging mechanism) أو آلية التحول الطوري (phase transformation mechanism) [65].

وقد ركّز الباحثون على استخدام الهيدروكسي أباتيت (HA) من أجل إنتاج المركب، حيث يتم استخدام الهيدروكسي أباتيت (HA) إما كمصفوفة (matrix) وإما كعامل معزز أو داعم (reinforcing agent). لقد زاد الباحثون من صلابة الكسر عن طريق إضافة عوامل معززة أو داعمة. فعلى سبيل المثال، فإن إضافة الزركونيا المستقر جزئياً (partially stabilized zirconia - PSZ) كعامل معزز أو داعم إلى الهيدروكسي أباتيت (HA) (ذي الحجم التقليدي) يزيد من صلابة الكسر من ١.٧٣ ميغا باسكال × متر^{٢/١} إلى ٢.٣ ميغا باسكال × متر^{٢/١}؛ مما يؤدي إلى إنتاج صلابة أكبر عن طريق التحول الطوري للزركونيا المستقر جزئياً (PSZ) [66]. وعلى أي حال، فإن تقنية النانو ليست حول التراكيب الكيميائية الجديدة، بل هي حول استخدام نطاق حجمي جديد.

يمكن لمعاملات الانحناء التي يتم الحصول عليها من خلال استخدام المواد في المستوى النانوي أن تحاكي بشكل أفضل بكثير معاملات الانحناء لعظم فخذ إنسان (١٩ غيغا باسكال) مقارنة مع نظيراتها التقليدية في مستوى المايكرون. فعلى سبيل المثال، تمتلك الألومينا التقليدية (conventional alumina) معامل انحناء قدره ٥٢ غيغا باسكال، ولكن الألومينا ذات الطور النانوي (nanophase alumina) تمتلك معامل انحناء قدره ٣٥ غيغا باسكال، والتي تقلد العظم بشكل أكثر فعالية [67].

ومن خلال استخدام الهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA) كطور للمصفوفة مع نسبة ١.٥ ٪ من الزركونيا كعامل للتعزيز أو الدعم، ازدادت متانة المادة المركبة من ١٨٣ إلى ٢٤٣ ميغا باسكال. وبإضافة طور ثانوي بنسبة ٤ ٪ وزن من أنابيب الكربون النانوية (carbon nanotube - CNT) إلى الهيدروكسي أباتيت (HA) ازدادت صلابة الكسر بنسبة ٥٦ ٪ [68] وبإضافة نسبة ٠.١ ٪ وزن من أنابيب الكربون النانوية (CNT) المعدلة وظيفياً بسلفات دودييسيل الصوديوم (sodium dodecyl sulfate) إلى بولي (فومارات البروبيلين) (poly(propylene fumarate)) ازداد معامل ضغط (compressive

(modulus) البوليمر من ٣١٨ إلى ٩٨١ ميغا باسكال وذلك بسبب تكوّن الربط المتشابك [69]. وقد وُجد بأن دمج الهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) بنسبة ٥٥ ٪ وزن في البولي أميد القطبي (polar polyamide - PA66) هو أكثر فعالية من دمج الهيدروكسي آباتيت المايكروي (micro-HA)؛ مما يزيد من متانة الانحناء (bending strength) ومتانة الشد (tensile strength) ومتانة الصدم أو التأثير (impact strength) للمادة المركبة بنسبة ٣١,٣ ٪ و ٣٨,٩ ٪ و ٦٨ ٪، على التوالي [70]. وقد سمحت الطاقة السطحية (surface energy) العالية والفعالية السطحية (surface activity) العالية لبلورات الهيدروكسي آباتيت النانوية (nano-HA) بالمقارنة مع بلورات الهيدروكسي آباتيت المايكروية (micro-HA) بربط أقوى للهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) مع البولي أميد القطبي (PA66)؛ مما يؤدي إلى تحسّن في الخصائص الميكانيكية.

عند النظر في متانة المادة السيراميكية المحضّرة من خلال تقنية رص أو ضغط المسحوق (powder compaction technique)، فإن السيراميك النانوي (nanoceramics) يعتبر أقوى بكثير من نظرائه ذوي الحجم التقليدي. على سبيل المثال، فإن متانة انحناء الهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم التقليدي هي من ٣٨ إلى ١٦٠ ميغا باسكال، وهي للهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) ١٨٣ ميغا باسكال [71]. إن سبب هذا التحسن في المتانة هو تقليل حجم العيب إلى الحد الأدنى من خلال استخدام المساحيق النانوية (nanopowders)، والتي ينبغي أن تكون أقل من أبعاد المساحيق لو تمت معالجتها بصورة مناسبة. إلا أنه وبسبب العيوب الكبيرة التي تظهر أثناء استخدام تقنيات معالجة السيراميك، لم تتحقق ميزة المتانة الزائدة عبر استخدام الهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) لتصل إلى كامل قدرته. وسوف تزيد التحسينات التي تتم على تقنيات المعالجة من متانة السيراميك النانوي وصلابة أو متانة الكسر.

ونظراً إلى حقيقة أن العظم هو مركب من بروتينات الكولاجين (بوليمر) وسيراميك مبني على أساس الهيدروكسي آباتيت (HA)، فإن استخدام أنواع السيراميك كطور ثانوي (secondary phase) داخل البوليمرات يعتبر طريقة يجري دراستها على نطاق واسع [72]. وقد وُجد بأن معاملات الانحناء لمركبات السيراميك (الألومينا (alumina) أو التيتانيا (titania) أو الهيدروكسي آباتيت (HA) / البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) ذات الطور النانوي بنسبة ٤٠ ٪ و ٥٠ ٪ وزن كانت أكبر بـ ٢ إلى ٤,٥ مرة بالمقارنة مع مركبات السيراميك / البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) التقليدية المقابلة [72]. على سبيل المثال، لقد زادت إضافة نسبة ٥٠ ٪ وزن من الألومينا معامل الانحناء للبولي (حمض اللاكتيك) (PLA) النقي من ٦٠ ميغا باسكال إلى ٣,٥ غيغا باسكال، محاكياً معامل انحناء عظم فخذ الإنسان بشكل أفضل بكثير والبالغ قدره ١٩ غيغا باسكال. وبصورة مشابهة، فقد أدت مركبات السيراميك (التيتانيا أو الهيدروكسي آباتيت) / البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) ذات الطور النانوي إلى زيادة معامل الانحناء وذلك بالمقارنة مع صيغ مركبات السيراميك / البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) التقليدية [72].

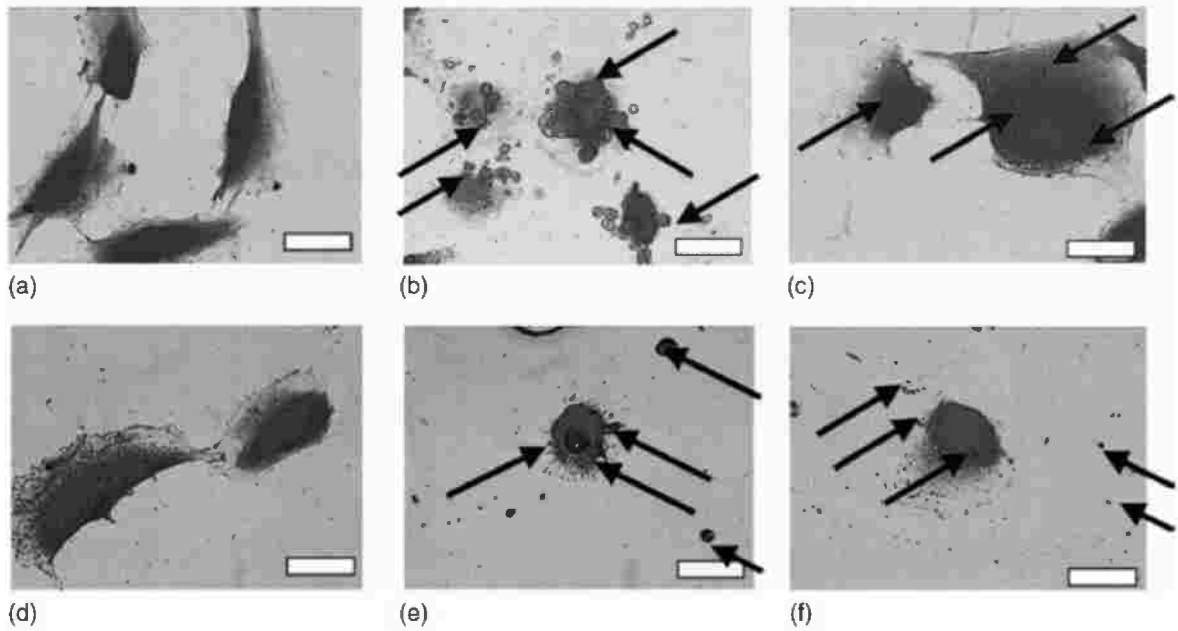
وبحسب ما تمت مناقشته سابقاً، فإن هجرة أو تحرك الطعام أو المادة المزروعة يمثل مشكلة أساسية في مجال جراحة تقويم العظام. ولمنع هجرة أو تحرك الطعام أو المادة المزروعة، يتم عادةً استخدام الإسمنت أو الملاط العظمي. إلا أن الخصائص الميكانيكية السيئة (وعلى وجه التحديد خصائص الإجهاد أو التعب) والتأثيرات الضائرة أو العكسية (adverse effects)

لاستخدام البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) تستلزم إجراء بعض التحسينات ليس فقط في التراكيب الكيميائية للإسمنت أو الملاط العظمي، ولكن أيضاً في الخصائص الميكانيكية لهذا الإسمنت. إن تَكُونُ أو تَجَمُّعُ المبادعات الراديوية (radiospacifiers) (وهي عادةً عبارة عن ١٠ ٪ وزن من جسيمات الـ (ZrO_2) أو $(BaSO_4)$ كعوامل تباين لأشعة إكس (x-ray contrast agents) وبادات أو مسببات للتفاعل (reaction initiators) والمستخدم في البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) هو واحد من الأسباب التي تؤدي إلى الخصائص الميكانيكية السيئة للبولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA). وقد زاد استبدال المبادعات الراديوية ذات الحجم المايكروبي بمبادعات راديوية ذات حجم نانوي وبشكل كبير من متانة الشد للإسمنت أو الملاط العظمي ذي التركيب النانوي مقارنة مع تلك من أجل الإسمنت أو الملاط العظمي ذي التركيب المايكروبي وذلك نظراً لانخفاض حجم تجمُّع الجسيمات (particle agglomerate size) والمقاومة الزائدة لانتشار الكسر (crack propagation) [73,74]. وقد وُجد أن إضافة نسبة من ٥ إلى ١٠ ٪ وزن من مساحيق الهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) إلى البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) يزيد من متانة الشد ومعامل يونغ (Young's modulus) وصلابة أو متانة البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA). إن دمج نَبَاتِيَّت أو عَيْدَان نانوية من الهيدروكسي آباتيت (HA nanorods) إلى مصفوفة الشيتوزان (chitosan matrix)، والذي تم اقتراحه من أجل الإسمنت أو الملاط العظمي، يُحسِّن من متانتها ومن معامل انحنائها؛ مما يؤدي إلى إنتاج صيغة أو تركيبة يبلغ قوتها ضعف قوة البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA). بالإضافة إلى ذلك، يمكن لإضافة الهيدروكسي آباتيت (HA) أن تقلل من امتصاص الماء (water absorption)، مما يؤخر من الإبقاء على الخصائص الميكانيكية لمركب الشيتوزان (CS) / الهيدروكسي آباتيت (HA) في ظل ظروف الرطوبة (moisture conditions) [75].

(٥,٣,٢,٢) الاهتراء Wear

لقد تمت دراسة التأثير الضار لحطام الاهتراء ذي الحجم التقليدي لمدة طويلة. وقد ذكر العديد من الدراسات أن حطام الاهتراء ذا الحجم التقليدي (من ١ إلى ١٠٠ مايكرومتر) قد قلل من تكاثر الخلايا البانية للعظم؛ مما يزيد من تأثيره الضار عندما تقل أحجام الجسيمات [76]، مؤكدةً على وجه التحديد الآثار الضارة للجسيمات التي يقل حجمها عن ١ مايكرومتر [77,78]. وعلى أي حال، لم يتم تأكيد تأثير حطام الاهتراء ذي الحجم النانوي (nanosize wear debris) في هذه الجهود البحثية. ولا زالت مسألة ما إذا كان حطام الاهتراء ذو الحجم النانوي أفضل أو أسوأ من حطام الاهتراء ذي الحجم المايكروبي (micron sized wear debris) موضوعاً مثيراً للجدل يقوم العديد من الباحثين بدراسته في الوقت الحالي. وبشكل خاص، تُسلِّط بعض الدراسات الضوء على الآثار الضارة لحطام الاهتراء ذي الحجم النانوي عن طريق التأكيد على الزيادة في عددها ومساحتها السطحية وقابلية ذوبانها بالمقارنة مع حطام الاهتراء ذي الحجم التقليدي [79]. فعلى سبيل المثال، لقد وُجد بأن التيتانيا وأنابيب الكربون النانوية (CNTs) تُحدث تغييرات مورفولوجية أو شكلية في العَدَلَات وتقلل من معدل بقائها على قيد الحياة [80]. بالإضافة إلى ذلك، فقد أشارت بعض التقارير بأنه وعلى أساس تساوي - الوزن (equal - weight basis)، فإن أنابيب الكربون النانوية (CNTs) سامة أكثر بكثير من الكربون الأسود، ويمكن أن تكون حتى أكثر سُميَّة من الكوارتز (quartz)، الذي يعتبر خطراً على الصحة المهنية بشكلٍ جسيم عند التعرض لاستنشاقه بصورة مزمنة أو متكررة [81].

ومن ناحية أخرى ، فقد ذكرت تقارير أخرى بأن استجابات أو ردود فعل حطام الاهتراء ذي المستوى النانوي تكون أكثر ملاءمةً من خلال إظهار أن الخلايا البانية للعظم قد عاشت لفترة أطول في وجود السيراميك ذي الجسيمات النانوية مقارنةً بالسيراميك ذي الجسيمات المايكروية [82]. بالإضافة إلى ذلك ، فقد لوحظ أيضاً أن المورفولوجيا أو الشكل يكون ذا انتشار جيد وبدرجة أكبر ولوحظ زيادة في تكاثر الخلايا في وجود الجسيمات ذات الطور النانوي مقارنةً بالجسيمات في المستوى المايكروي ؛ مما يعني أن هناك استجابة أو رد فعل عكسي أقل للخلايا تجاه حطام الاهتراء في السيراميك ذي الطور النانوي [83]. ويظهر في الشكل رقم (٥،١١) مورفولوجيا أو أشكال الخلايا البانية للعظم في وجود جسيمات الألومينا ذات الحجم المايكروي أو النانوي. وقد أشارت هذه النتائج إلى أنه وعن طريق إنقاص حجم جسيمات الألومينا والتيتانيا إلى حجم النظام النانومتري ، فإنه من الممكن التقليل من الآثار السلبية أو العكسية لحطام الاهتراء على الخلايا البانية للعظم والخلايا الغضروفية (chondrocytes) (خلايا الغضروف (cartilage cells)) إلى الحد الأدنى. وبالإضافة إلى ذلك ، فقد أظهرت دراسات السُميّة بالاتصال المباشر (direct contact toxicity) تأثيرات ضارة أقل لألياف الكربون النانوية على الخلايا البانية للعظم بالمقارنة مع ألياف الكربون ذات الحجم التقليدي [84]. ولم يتم بعد توضيح آلية التحسن في صحة الخلايا البانية للعظم في وجود الجسيمات النانوية بالمقارنة مع الجسيمات المايكروية.



الشكل رقم (٥،١١). مورفولوجيا أو شكل الخلايا البانية للعظم (osteoblast morphology) في وجود جسيمات الألومينا (alumina particles) بعد ساعتين (a, b, c) وبعد ست ساعات (d, e, f). (a, d) لا يوجد جسيمات (عينة مراقبة)، و (b, e) تقليدية، و (c, f) جسيمات الألومينا ذات الطور النانوي (nanophase alumina particles) بتركيز من ١٠٠ مايكروغرام / ميليلتر. تشير الأسهم إلى جسيمات الألومينا. شريط المقياس هو ١٠ مايكرومترات. (من Gutwein, (L.G. and Webster, T.J., *J. Nanoparticle Res.*, 4, 231, 2002).

(٥,٣,٣) الاختلافات في الاستجابة البيولوجية والنشاط الحيوي Differences In Biological Response and Bioactivity

(٥,٣,٣,١) مقارنة التّام الجرح واستجابات الجسم الغريب Comparison for Wound Healing and Foreign Body Responses

بحسب ما تمت مناقشته في القسم (٥,٢,٢)، فإن التّام أو شفاء الجرح هو استجابة الجسم الطبيعية للطعم أو للمادة المزروعة. ويشمل التّام أو شفاء الجرح جلب الأنواع المختلفة من الخلايا مثل العدلات والوَحيدات والبلاعم وخلايا الجسم الغريب العملاقة. ويمكن تفسير ظهور أي من هذه الأنواع من الخلايا بالقرب من السطح البيني الفاصل بين الطعم أو المادة المزروعة والنسيج على أنه علامة على التّام أو شفاء الجرح وهو غير مرغوب فيه وذلك بسبب التثبيط (inhibition) المصاحب لتكوّن العظم.

وقد ارتبط التصاق الوَحيدات (الخلايا أحادية النواة) بشكلٍ إيجابي بمولد الليف (الفيبرينوجين) (fibrinogen) المُمزور على العديد من السطوح البوليمرية. ولقد تبين أن البروتينات المُمزورة بشكلٍ مسبق (مثل الغلوبولين المناعيّ (G) (IgG) تنظم وبدرجة كبيرة إطلاق العامل ألفا الخاص بنخر ورم الوحيدات (monocyte tumor necrosis factor- α) ونشاط مُحفّز التّخثّر (procoagulant activity) [85]، ولا يُرغب بوجود أيٍّ منهما على أو حول الطعم أو المادة المزروعة. إن منع التصاق الوحيدات هو الخطوة الحاسمة؛ لأنّ الوحيدات تتميز إلى بلاعم عند السطح البيني الفاصل بين الطعم أو المادة المزروعة والنسيج. وقد ظهر بأن السطوح الملساء (ذات النعومة في مستوى المايكرون) تُحفّز تفاعل أو استجابة الجسم الغريب والذي يتألف من بلاعم ذات سماكة من خلية إلى خليتين. وعلى أي حال، كلما ازدادت الحشونة المايكروية، ازداد تفاعل أو رد فعل الجسم الغريب [88]. ومن الجدير بالذكر أن هذه الدراسات قد تناولت فقط بحث الطبوغرافيات (topographies) (السّمات السطحية) في المجال المايكروي وليس في المجال النانوي. ومع ذلك، فقد قدمت هذه الدراسات دليلاً على أن الطبوغرافيا السطحية للطعم أو للمادة المزروعة تلعب دوراً مهماً في كثافة تفاعلات أو ردود فعل الجسم الغريب.

وقد أظهر البحث الأخير المقدم من قبل Liu-Snyder وآخرين انخفاضاً في التصاق وتكاثر البلاعم بشكلٍ ملحوظ على الألومينا ذات الطور النانوي بالمقارنة مع الألومينا التقليدية بعد ١٢ و ٢٤ ساعة [86]. فعندما يقل التصاق البلاعم، فإن الآثار الضارة للالتهاب الزائد سوف تقل أيضاً، وهذا يمثل ميزة أخرى لاستخدام المواد النانوية كطعم أو مادة مزروعة خاصة بجراحة تقويم العظام. ولم تُظهر اختبارات التوافق الخلوي (cytocompatibility assays) على بلورات الهيدروكسي أباتيت النانوية (nano-HA crystals) باستخدام بلاعم بشرية مستمدة من الوحيدات إطلاقاً كبيراً لستوكينات التهابية (inflammatory cytokines) (عامل نخر الورم ألفا (TNF- α)) ولكن تم قياس زيادة في إنزيم نازعة هيدروجين اللاكتات (lactate dehydrogenase - LDH)، وهو مؤشر على السُميّة، عند تراكيز عالية للهيدروكسي أباتيت النانوي (nano-HA 100) مليون جسيم / ٠.٥ مليون خلية [87]. بالإضافة إلى ذلك، فإن كمية الإنزيمات التي يتم إطلاقها أو تحريرها من البلاعم وخلايا الجسم الغريب العملاقة أثناء البلعمة المحبطة تتوقف على حجم جسيمات المادة الحيوية؛ فكلما كان حجم الجسيم الأساسي أصغر، قل عدد الإنزيمات التي يتم إطلاقها [55]. ويمكن تفسير هذا الإطلاق بأنه عندما يقل حجم الحبيبة أو الجسيم مادة ما إلى الحجم النانوي، فينبغي توقع استجابات أو ردود فعل التهابية أقل.

فأثناء استجابة أو رد فعل الجسم الغريب، إذا حدثت البلعمة المحبطة، يتم إطلاق محتويات الخلايا البلعمية (إنزيمات مُحلِّلة degradative enzymes) وفوق الأكسيدات وجذور الأكسجين الحرة (free oxygen radicals)، ... إلخ إلى السطح البيني الفاصل بين الطعام أو المادة المزروعة والأنسجة، والتي تكون تأثيراتها عكسية أو ضارة على كل من مادة الطعام المزروعة والأنسجة المجاورة. وعلى أي حال، ففي الوقت الذي يتم فيه إنتاج جذور الأكسجين الحرة تلك أثناء البلعمة المحبطة، فإن الطريقة الوحيدة للتخلص منها هي ربطها بسطح آخر. وفي هذا الشأن، لا يزال دور المواد ذات المستوى النانوي قيد المناقشة. فمن المعروف أن جسيمات النانو تجذب الجذور الحرة في المستوى الخلوي (cellular level) [88]، ونتيجة لهذه الخاصية، فقد تم الاقتراح بأن يتم استخدامها كعوامل دوائية (pharmacological agents) مثل كاسحات جذور الأكسجين الحرة (free radical scavengers of oxygen). ويمكن أن يكون استخدام الطعام أو المواد المزروعة ذات الطور النانوي مفيداً من أجل جذب جذور الأكسجين الحرة على سطوحها، الأمر الذي سيحفز من ناحية أخرى المزيد من الاستجابة أو رد الفعل الضار للجسم الغريب. وعلى أي حال، فإنه من الواضح أيضاً أنه بالإضافة إلى جذب جذور الأكسجين الحرة، فإن المواد النانوية تُؤَلِّد وبشكل طبيعي أنواع نشطة من الأكسجين [58]. ويُؤَلِّد الانكماش في حجم المواد النانوية عيوباً بنيوية ويعطل الترتيب أو التوزيع الإلكتروني للمواد؛ مما يؤدي إلى حدوث تغيير في الخصائص الكهربائية التي من الممكن أن تُنشئ مجموعات سطحية محددة تعمل كمواقع تفاعلية (reactive sites). فعلى سبيل المثال، في حالة نشوء أو إنتاج جذر فوق أكسيد الأكسجين (oxygen superoxide radical)، تتفاعل هذه المواقع التفاعلية مع جزيء الأكسجين ويُحدث التقاط الإلكترون جذر فوق أكسيد (O_2^-) إن نشوء عينات الأكسجين التفاعلية (reactive oxygen species) يعتبر حتى الآن أكثر مسألة يتم انتقادها على نطاق واسع في سمية المواد النانوية؛ لأن الإجهاد التأكسدي (oxidative stress) في الجسم يمكن أن يُحدث التهاباً وبكميات كبيرة؛ ويمكن أن يؤدي حتى إلى استماتة الخلايا (أو موت الخلايا المبرمج) [58]. وفي الوقت الحالي، لا توجد بيانات كافية عن الآثار السُمِّية للمواد في المستوى النانوي؛ إلا أن ذلك يعتبر مسألة سلامة خطيرة للغاية يجب معالجتها على نحو شامل قبل استخدام المواد ذات الطور النانوي بشكل واسع في التطبيقات البيولوجية.

وبشكل مشابه في الاهتمام، فإن هناك ميزة أخرى لاستخدام المواد في المستوى النانوي وهي تفاعلها مع الغلوبولين المناعي (IgG) (G). لقد تبين أن الغلوبولين المناعي (IgG) (G). يُمتاز أو يُمتص بصورة أقل على الألومينا ذات الطور النانوي بالمقارنة مع أنواع السيراميك التقليدية [17]. بسبب الامتصاص أو الامتزاز الأقل للغلوبولين المناعي (IgG) (G). التصاقاً أقل للعدلات على سطوح السيراميك ذات الطور النانوي، والذي يُعتبر الخطوة الأولى في تقليل استجابة أو رد فعل الجسم الغريب. وسيؤدي الامتصاص أو الامتزاز الأقل للغلوبولين المناعي (IgG) (G). أيضاً إلى جلب أقل للوحدات إلى منطقة الالتهاب، والذي سيؤدي في نهاية المطاف إلى تشكيل أقل للبلاعم أو الخلايا البلعمية وتشكيل أقل لخلايا الجسم الغريب العملاقة. إن السطوح التي تمتص الغلوبولين المناعي (IgG) (G). تُعزز وبشكل كبير الالتصاق طويل الأمد للخلايا البلعمية (long - term macrophage adhesion)، والتي يجب تفاديها [89]. بالإضافة إلى ذلك، عندما يتم جلب كميات أقل من الخلايا البلعمية إلى منطقة الالتهاب، فسيكون هناك إفراز كمية أقل من الجذور الحرة والإنزيمات المحلِّلة، التي تضر بالخلايا

الموجودة بالقرب من منطقة الالتهاب. وتكشف هذه النتائج عن بشرى نجاح واعد لاستخدام المواد ذات الطور النانوي لتقليل التأثيرات العكسية الضارة لاستجابة أو رد فعل الجسم الغريب. فإذا تمّ التمكن من تقليل كثافة ومدة جميع الخطوات الخمسة في شفاء أو التئام الجرح (وهي الالتهاب الحاد والالتهاب المزمن وتكوين الأنسجة الحبيبية واستجابة أو رد فعل الجسم الغريب والتليّف)، الأمر الذي تمّ تحقيقه مسبقاً بشكلٍ جزئي عن طريق استخدام السيراميك ذي الطور النانوي، فإن المريض يمكن أن يُشفى بسرعة وتزداد فرص نجاح الطعم أو المادة المزروعة بشكلٍ كبير. وعلى الرغم أنه من الصعب إجمال تأثيرات استخدام المواد ذات الطور النانوي على الاستجابة الشفائية للجرح من امتصاص أو امتزاز البروتين فقط وكذلك من بيانات التصاق البلاعم والعدلات وحدها، إلا أن النتائج مُبشّرة.

بالإضافة إلى ذلك، فإن استجابة أو رد فعل الجهاز المناعي للمواد ذات الطور النانوي والمواد ذات الحجم التقليدي مختلفة. إن استجابة الجهاز المناعي لمادة الطعم المزروع غير مرغوب فيها؛ لأنها تسبب انحلال (lysis) خلايا الأنسجة المجاورة للطعم أو المادة المزروعة وتُثبّط الخلايا في عملية شفاء أو التئام الجرح من خلال الالتصاق الخلوي الذي يتوسّط فيه المستقبل - اللّجين (ligand - receptor)، والتي تلعب في نهاية المطاف دوراً مهماً في فشل الطعم أو المادة المزروعة. في الأساس، وحتى يتسنى للنظام المكمل (complement system) (وهو الجزء من الجهاز المناعي الذي يستجيب للتعرف على الجسيمات الغريبة والقضاء عليها) أن يكون مُفعّلاً، فإنه يتم شق رابطة الثيو إستر (thioester bond) الخاص بالبروتين المكمل (C4) (complement protein C4). وتشق المادة ذات الطور النانوي هذا الرابط بصورة أقل فعالية بكثير من المادة ذات الحجم التقليدي؛ مما يؤدي نظرياً إلى تفعيل مُكمل واستجابات أو ردود فعل مناعية لاحقة أقل. إن واحداً من أسباب هذا السلوك يمكن أن يكون نتيجة للزيادة في عدم تمرکز الإلكترونات (delocalization of electrons)، والذي يجعل المواد ذات الطور النانوي أكثر استقراراً.

إضافة إلى ذلك، فإن الوظيفة الأخرى للجسم المضاد (الضدّ) الغلوبولين المناعي (G) (IgG antibody) في الجسم هو تنشيط الجهاز المناعي. فعندما يلتصق على سطوح الطعم أو المادة المزروعة، يُسهّل مختلف جوانب الاستجابة المناعية (immune response). وكما تم ذكره أعلاه، فإن المواد ذات الطور النانوي تعزز امتصاص أو امتزاز أقل للغلوبولين المناعي (G) (IgG). على سطوحها بالمقارنة مع نظيراتها التقليدية ذات الحجم الحبيبي، الأمر الذي يؤدي من ناحية أخرى إلى استجابات مناعية أقل [17].

إلى جانب هذه الدراسات التي تحدد مزايا المواد النانوية في تقليل الاستجابة المناعية إلى الحد الأدنى، فقد كانت هناك دراسات حول تفاعلات الخلايا (T) مع المواد النانوية. تعتبر الخلايا (T) واحدة من الأنواع الرئيسية للخلايا في الاستجابة المناعية. فعندما لا تستجيب هذه الخلايا لمادة حيوية ما، فسيكون هناك استجابة أقل للنظام المناعي. ولقد تبين أن استجابة الخلايا (T) للمواد ذات الطور النانوي تختلف تماماً عن استجابتها للمواد التقليدية. فعلى التيتانيا التقليدية، لم تكن الخلايا (T) متحركة جداً، مما يعني أنها كانت ملتصقة بشكلٍ قوي. وعلى أي حال، فقد وُجد بأنه على التيتانيا ذات الطور النانوي تكون الخلايا متحركة أكثر بكثير. وقد أظهرت هذه النتائج بأن المواد ذات الطور النانوي يمكن أن تتعرف عليها الخلايا (T) بصورة أقل من المواد التقليدية [90].

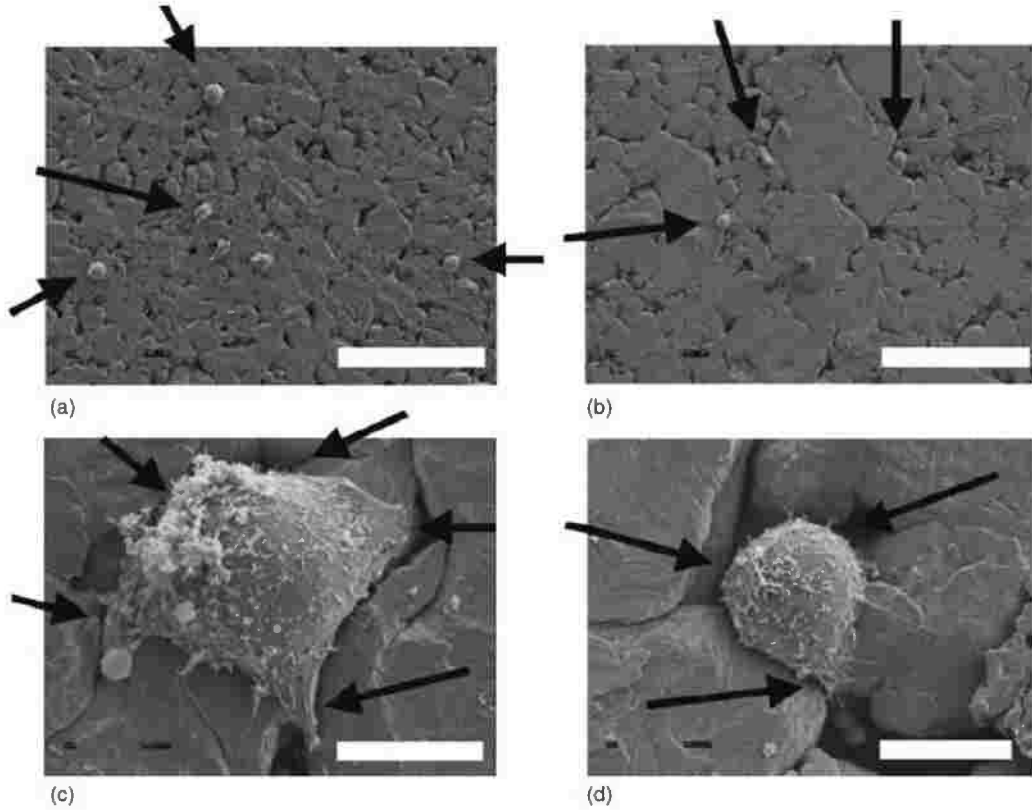
بعد تقليل الاستجابات الشفائية للجرح والاستجابات الالتهابية، يجب على المادة الناجحة المستخدمة في جراحة تقويم العظام أن تُعزز تكوين العظم. وقد كان هناك الكثير من البحوث التي أظهرت بأن المواد في المستوى النانوي تتيح فرصة كبيرة لسد هذه الفجوة لتعزيز تكوين العظم حيث فشلت فيه المواد التقليدية.

(٥,٣,٣,٢) مقارنة النشاط الحيوي Comparison of Bioactivity

(٥,٣,٣,٢,١) المعادن Metals

في معظم الحالات، يتحقق إنشاء السمات أو الخصائص البنيوية النانوية على المعادن عن طريق الحفر الكيميائي (chemical etching) (مثل استخدام H_2O_2) للمعادن التقليدية [91]. وعلى أي حال، فإن عملية الحفر الكيميائي لا تُحدث طوبوغرافيا نانوية (سمات سطحية نانوية) فحسب، بل إنها تغير أيضاً من التركيب الكيميائي للسطح العلوي؛ مما يؤدي إلى إنشاء طبقة رقيقة من أكسيد المعدن (thin metal oxide layer). ولهذا السبب؛ فإنه من الصعب تحديد ما إذا كانت التغيرات في سلوك الخلايا (cell behavior) هي نتيجة مباشرة للطوبوغرافيا النانوية المحدثة أو للتغير في التركيب الكيميائي للسطح. في هذا الاستعراض وفي تقنية النانو بصورة عامة، فإن التركيز الرئيسي هو دراسة ما الذي يغير نمو العظم، هل هو التركيب الكيميائي أم الخشونة. إن تقنيات معالجة المساحيق (powder processing techniques)، وبشكل أكثر تحديداً، توحيد أو دمج (consolidation) المساحيق النانوية للمعادن بدون استخدام الحرارة، هي إحدى الطرق التي كان يستخدمها الباحثون لدراسة آثار التغيرات الطوبوغرافية للسطوح النانوية على نمو العظم.

وقد أظهرت مقارنة التصاق الخلايا البانية للعظم والترسيب المعدني (mineral deposition) بين المعادن التقليدية (Ti و $Ti6Al4V$ و $CoCrMo$) المستخدمة بشكل تقليدي في جراحة تقويم العظام ونظيراتها ذات الطور النانوي زيادة في وظائف الخلايا البانية للعظم على المعادن ذات الطور النانوي [92]، ويظهر أكبر ترسيب معدني على الـ ($CoCrMo$) ذي الطور النانوي [93]. وعلاوة على ذلك، فقد لوحظ التصاق موجّه للخلايا (directed cell adhesion) على حدود الجسيمات المعدنية (metal particle boundaries). إن خاصية الالتصاق تلك موصّحة في الشكل رقم (٥,١٢) من أجل التيتانيوم (Ti) ذي الطور النانوي والتيتانيوم (Ti) التقليدي على سبيل المثال. إن حقيقة أنه توجد هناك حدود حبيبية (grain boundaries) أكثر على سطوح التيتانيوم (Ti) ذات الطور النانوي بالمقارنة مع سطوح التيتانيوم (Ti) التقليدية، والتصاق الخلايا البانية للعظم عند حدود الجسيمات المعدنية، يمكن أن تكون توضيحاً لماذا يحدث نمو عظم أكثر على المعادن النانوية [94]. وقد ثبت أيضاً أن الزيادة في قيم الخشونة للمساحيق الفردية هي عامل حاسم في تنظيم أو تعديل طوبوغرافيا العينات وأظهرت الدراسات أنه كلما زادت الخشونة النانوية للمساحيق، كلما زاد الالتصاق [95]. بالإضافة إلى ذلك، فقد كان التيتانيوم (Ti) ذو الطور النانوي أكثر قوة في تعزيز التصاق الخلايا البانية للعظم من تثبيت الببتيدات (immobilizing peptides) (مثل ببتيد الـ (RGD) وببتيد الـ (KRSR) السالفة الذكر) على سطوح التيتانيوم (Ti) التقليدية [96].



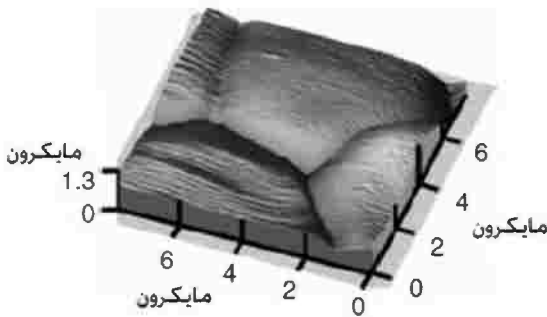
الشكل رقم (١٢، ٥). صور مجهرية بالإنجهر الإلكتروني الماسح (SEM) تُظهر (a، c) التصاق الخلايا البانية للعظم (osteoblast adhesion) على سطح تيتانيوم ذي الطور النانوي (nanophase Ti)؛ (b، d) والتصاق الخلايا البانية للعظم على سطح تيتانيوم (Ti) تقليدي. طول شريط المقياس يساوي ١٠٠ و ١٠ مايكرومترات للصور ذات التكبير المنخفض والعالي، على التوالي. وتشير الأسهم إلى الخلايا (تكبير منخفض) والمنطقة حيث يُلاحظ تنوعات أو بروزات الخلية (cell protrusions)، وتحديدًا عند حدود الجسم (particle boundaries) (تكبير عالٍ). (من Webster, T.J. and Ejiofor, J.U., *Biomaterials*, 25, 19, 4731, 2004).

وقد أظهرت الفلزات المعدنية ذات الطور النانوي (nanophase metalloids) أيضاً بشير نجاح في تطبيقات جراحة تقويم العظام. وعلى وجه التحديد، يُبدي الكثير من المرضى الذين يخضعون لزراعة الطعم هذا التفاؤل نتيجة لإزالة العظم السرطاني (cancerous bone). ولمساعدة هؤلاء المرضى؛ فقد تمت مؤخراً دراسة مركب كيميائي مضاد للسرطان (anticancer chemistry)، وهو السيلينيوم (selenium - Se) كطعم يُستخدم في جراحة تقويم العظام. إن الأساس المنطقي وراء استخدام السيلينيوم (Se) هو أن منتجات التآكل (corrosion products) يمكن أن تتفاعل مع الخلايا السرطانية أو يمكن أن تُستخدم من خلال الأنسجة المحيطة لمنع إعادة ظهور أو تكرار السرطان مرة أخرى. وقد وُجد أن أكثر التصاق للخلايا البانية للعظم يكون على مركبات السيلينيوم (Se) المدججة المكونة من جسيمات نانومترية [97].

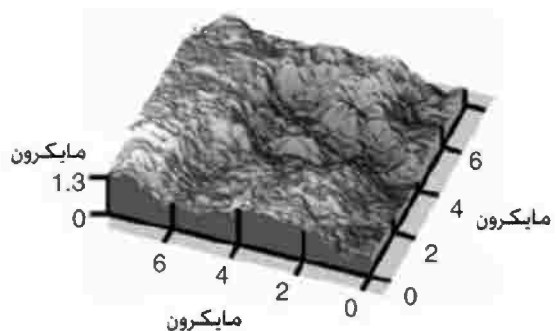
Ceramics السيراميك (٥, ٣, ٣, ٢, ٢)

إن معظم الأبحاث في مجال هندسة الأنسجة العظمية ذات الطور النانوي (nanophase bone tissue engineering) هي على أنواع السيراميك ذي الطور النانوي، بما في ذلك التقرير الأول المعروف الذي يربط وظيفة الخلايا العظمية المتزايدة مع حجم الحبيبات المتناقصة [98]. وقد عرضت كل الدراسات زيادة في التصاق وتكاثر وترسيب الكالسيوم (calcium deposition) (وهو مؤشر لتمعدن المصفوفة العظمية)، والتركيب البروتيني للمصفوفة خارج الخلية (ECM protein synthesis) (مثل إنزيم الفوسفاتاز القلوي) للخلايا البانية للعظم في التجارب التي أجريت في المختبر وذلك عندما ينقص الحجم الجسيماني (particulate size) لمادة إلى النظام النانومتري، وبشكل خاص إلى أقل من ١٠٠ نانومتر [17, 29, 99-104].

إن أكثر أنواع السيراميك ذي الطور النانوي التي تمت دراستها من أجل تطبيقات جراحة تقويم العظام هي الهيدروكسي آباتيت (HA) والتيتانيا والألومينا. إن الطريقة الرئيسية لإنتاج مواد الطعوم السيراميكية ذات الطور النانوي الخاصة بجراحة تقويم العظام هي توحيد أو دمج المسحوق المتبوع بالتليد أو التصلب (sintering). فعن طريق معالجة زمن ودرجة حرارة التليد أو التصلب، فإنه من الممكن الحصول على الأحجام المرغوبة للحبيبات. وقد أظهرت تجارب التصاق الخلايا البانية للعظم زيادة بنسبة ٣٠٪ و ٤٠٪ على التيتانيا ذات الطور النانوي (مع حجم حبيبي بقيمة ٣٢ نانومتراً). والألومينا (مع حجم حبيبي بقيمة ٤٦ نانومتراً)، على التوالي، عند المقارنة بأنواع السيراميك التقليدية [99]. يصف الشكل رقم (٥.١٣) الطوبوغرافيا أو السمات السطحية للألومينا ذات الطور النانوي والألومينا التقليدية. بالإضافة إلى ذلك، فقد لوحظ زيادة خطوة - وظيفة (step - function) في التصاق الخلايا البانية للعظم بالنسبة للألومينا ذات الأحجام الحبيبية بين ٤٩ و ٦٧ نانومتراً وللتيتانيا بين ٣٢ و ٥٦ نانومتراً. ويعتبر هذا الحجم الحاسم مهماً لأنه لوحظ أن السيراميك الذي يقل حجمه الحبيبي عن ١٠٠ نانومتر يعزز الخصائص الأخرى للسيراميك مثل الخصائص الكهربائية والتحفيزية (catalytic) والميكانيكية، ... إلخ [58]. كما أنه يعطي أيضاً دليلاً على أن البنى السطحية المثالية للسيراميك هي ذات أبعاد أقل من ٦٠ نانومتراً.



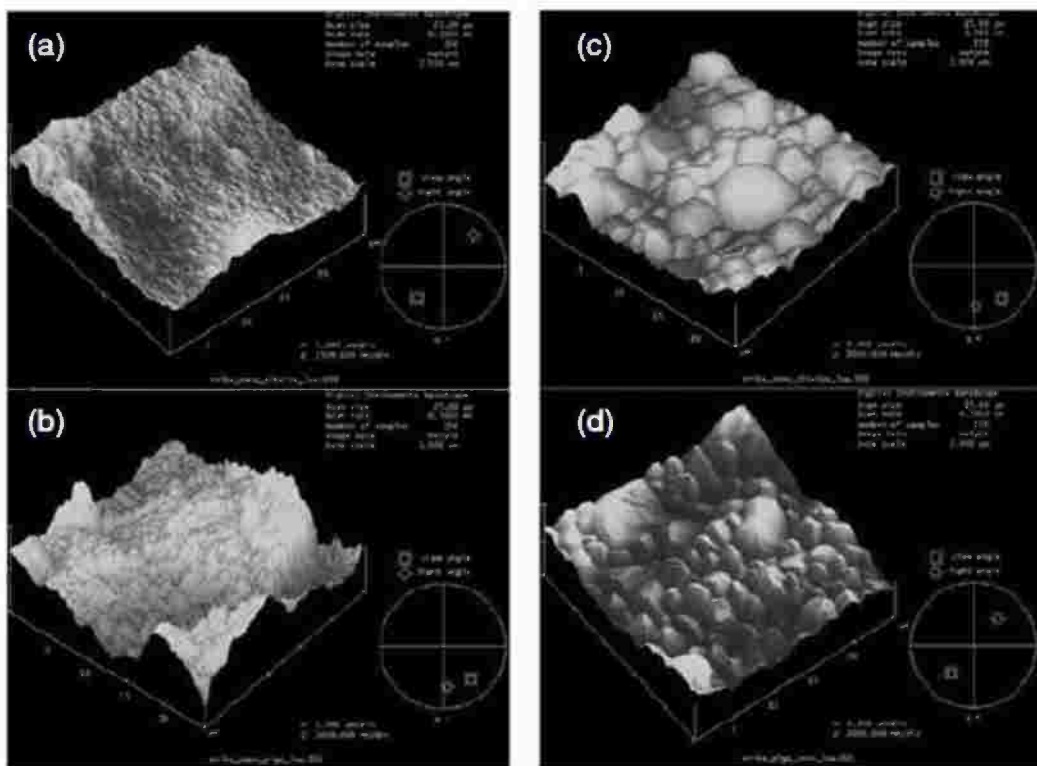
(a) حجم جسيم الألومينا التقليدي



(b) حجم جسيم الألومينا ذي الطور النانوي

الشكل رقم (٥.١٣). صور مجهر القوة الذرية (AFM) لـ (a) الألومينا التقليدية (conventional alumina) و (b) الألومينا ذات الطور النانوي (nanophase alumina). (من Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R., *Biomaterials*, 20, 13, 1221, 1999).

إن نقل الطوبوغرافيات أو السمات السطحية النانوية للتيتانيا التقليدية والتيتانيا ذات الطور النانوي إلى قالب نموذجي مصنوع من البولي (حمض اللاكتيك-كو-جليكوليك) (poly(lactic-co-glycolic acid) - PLGA) قد زاد أيضاً من التصاق وتكاثر الخلايا البانية للعظم. ويُظهر الشكل رقم (٥،١٤) الطوبوغرافيات أو السمات السطحية للتيتانيا ذات الطور النانوي والتيتانيا التقليدية مع قوالب البولي (حمض اللاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) المقابلة. وقد أثبتت هذه النتيجة بأن السطوح السيراميكية ذات البنية النانوية المحوّلة أو المنقولة إلى البوليمرات تعزز من زيادة التصاق وتكاثر الخلايا البانية للعظم. فكلما كانت السمات أو الخصائص النانوية محاكية أكثر لتلك من أجل العظم الطبيعي، كانت الزيادة أكثر في التصاق وتكاثر الخلايا البانية للعظم [105].



الشكل رقم (٥،١٤). صور مجهر القوة الذرية (AFM) لـ (a) التيتانيا ذات الطور النانوي (nanophase titania)، و (b) قالب من البولي (حمض اللاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA mold) للتيتانيا ذات الطور النانوي، و (c) التيتانيا التقليدية، و (d) قالب من البولي (حمض اللاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) للتيتانيا التقليدية. إن قيم مربع متوسط الجذر (root - mean - square) من مجهر القوة الذرية (AFM) لمقاطع مسحية (a) و (b) و (c) و (d) من $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ و $25 \times 25 \mu\text{m}^2$ هي ٢٩ و ٢٢ و ١٣ و ١٢ نانومتر، على التوالي. (من التوالي. (Palin, E., Liu, H., and Webster, T.J., *Nanotechnology*, 16, 1828, 2005).

علاوة على ذلك، فقد لوحظ أن محتوى الكالسيوم (calcium content) في المصفوفة خارج الخلية (ECM) الخاصة بالخلايا البانية للعظم والمزروعة على سطوح الألومينا والتيتانيا والهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الطور النانوي يكون أكبر بأربع مرات وست مرات ومرتين منه للخلايا المزروعة على السطوح السيراميكية التقليدية بعد ٢٨ يوماً على التوالي. وقد وُجد أن تركيب إنزيم الفوسفاتاز القلوي المقابل لذلك يكون أكبر بنسبة ٣٦ ٪ و ٢٢ ٪ و ٣٧ ٪ على صيغ أو تركيبات الألومينا والتيتانيا والهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الطور النانوي مقارنة بالصيغ أو التركيبات التقليدية. بالإضافة إلى ذلك، فقد نقصت مساحة المستعمرة الخلوية للخلايا البانية للعظم (osteoblast cell colony) (وهي قياس لالتصاق الخلايا؛ فكلما التصقت الخلايا بقوة، قلت هجرتها أو تحركها، محتلةً مساحةً سطحية أقل) على الألومينا والتيتانيا والهيدروكسي آباتيت (HA) عندما تم تقليل الحجم الحبيبي إلى المستوى النانوي. يلخص الجدول رقم (٥،١) أنشطة الخلايا البانية للعظم على هذه الأنواع الثلاثة من السيراميك التي تمت دراستها بصورة جيدة مع أحجام حبيبية نانوية وتقليدية [100].

الجدول رقم (٥،١). الزيادة بالنسبة المئوية في إنزيم الفوسفاتاز القلوي (Alkaline Phosphatase) ومحتوى كالسيوم المصفوفة خارج الخلية (Extracellular Matrix Calcium) من أجل الخلايا البانية للعظم المزروعة على الألومينا والتيتانيا والهيدروكسي آباتيت (HA) النانوية بالمقارنة مع التقليدية بعد ٢٨ يوماً.

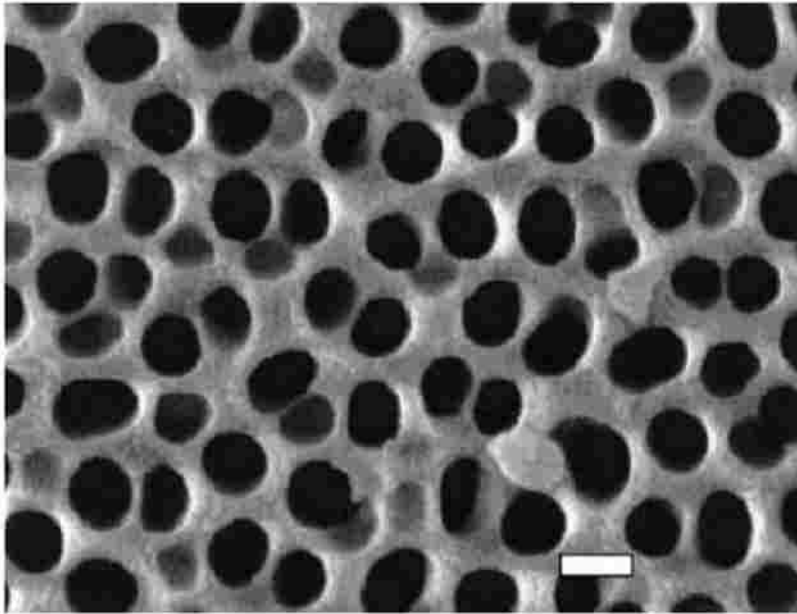
التركيب الكيميائي Chemistry	الحجم الحبيبي (نانومتر) Grain Size (nm)	نسبة الزيادة المئوية في تركيب إنزيم الفوسفاتاز القلوي على الطور النانوي مقارنة بالتقليدي	الزيادة في كالسيوم المصفوفة خارج الخلية على الطور النانوي مقارنة بالتقليدي
Al ₂ O ₃	تقليدي	٣٦	أربع مرات
	نانوي		
TiO ₂	تقليدي	٢٢	ست مرات
	نانوي		
(HA)	تقليدي	٣٧	مرتين
	نانوي		

المصدر: من Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H. et al., *Biomaterials*, 21, 17, 1803, 2000

ملاحظة: (HA) = هيدروكسي آباتيت

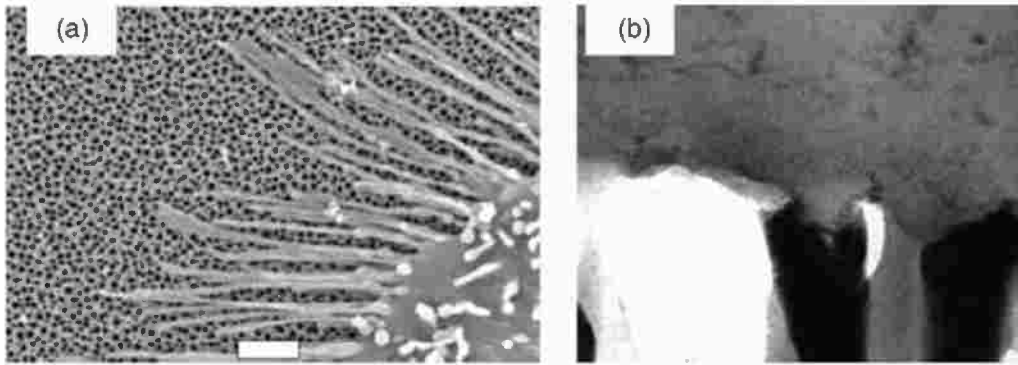
الطريقة الأخرى الممكنة لإنشاء سمات أو خصائص ذات بنية نانوية (nanostructured features) على المواد هي طريقة المعالجة الأنودية (anodization) (عملية طلاء أو تغطية معدن بطبقة أكسيد واقية باستخدام وسائل كهربية)، وهي عملية تشكيل طبقة أكسيد ذات مسامات نانوية (oxide nanopore layer) أو طبقة أكسيد ذات أنابيب نانوية (oxide nanotube layer) على سطح المعادن عن طريق استخدام الطرق الكهركيميائية (electrochemical methods). ويوضح

الشكل رقم (٥,١٥) البنية المايكروية الدقيقة لغشاء الألومينا المعدّ من خلال طريقة المعالجة الأنودية. وقد تمت دراسة الألومينا والتيتانيوم والـ (Ti6A14V) المؤكسدة أو المطلية بطبقة من الأكسيد من أجل التطبيقات الخاصة بجراحة تقويم العظام [106-108]. وقد لوحظ بأن كلاً من الالتصاق والتكاثر والترسيب المعدني للخلايا البانية للعظم يزداد على هذه السطوح. وعلاوة على ذلك، فقد لوحظ أن امتصاص أو امتزاز الفيترونيكتين والفبرونيكتين يكون أكبر على البنى النانوية الأنبوبية التي تم تشكيلها عن طريق المعالجة الأنودية أو أكسدة التيتانيوم [109] (Ti). ومن المثير للاهتمام، أنه قد وُجد أن المسامات التي تم إنشاؤها على سطوح الألومينا المؤكسدة عن طريق المعالجة الأنودية لها نفس حجم الفيليبوديا (filipodia) (الامتدادات الخلوية للخلايا البانية للعظم) حيث من الممكن اختراق هذه الامتدادات الخلوية داخل الغشاء المسامي؛ مما يسبب التصاقاً قوياً للخلايا من خلال العمل كنقاط تثبيت (anchorage points) للخلايا البانية للعظم [108]. إن هذا السلوك مبين في الشكل رقم (٥,١٦).



الشكل رقم (٥,١٥). صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لأغشية الألومينا (alumina membranes) عند جهد ٦٠ فولتًا تظهر البنية المسامية (porous structure). شريط المقياس = ١٠٠ نانومتر. (من Swan, E.E.L., Popat, K.C., Grimes, C.A. et al.,

J. Biomed. Mater. Res. A, 72A, 3, 288, 2005).



الشكل رقم (٥, ١٦). (a) صور مجهرية بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لخلية بانية للعظم (osteoblast) على غشاء الألومينا (alumina membrane) و (b) مقطع عرضي بالمجهر الإلكتروني الانتقالي (transmission electron microscope - TEM) يظهر اختراق الفيليبوديا (filipodia) في مسام الألومينا (alumina pores). شريط المقياس = ٢ مايكرومتر. (من Karlsson, M., Palsgard, E., Wilshaw, P.R. et al., *Biomaterials*, 24(18), 3039, 2003).

وكذلك تعتبر النسبة الجانبية للجسيم (particle aspect ratio) (نسبة طوله إلى عرضه) مُحدِّداً أو بارامتراً آخر يؤثر على الاستجابة البيولوجية للمادة النانوية. ويمكن للشكل الهندسي لألياف النانو أن يحاكي بأبعاده أبعاد الأطوار التأسيسية للعظم (constituent phases of bone) وبلورات الهيدروكسي آباتيت (HA) وألياف الكولاجين التي اعتادت الخلايا العظمية على التفاعل معها. وقد أكدت التجارب التي أجريت في المختبر هذه الفرضية من خلال إظهار زيادة في وظائف الخلايا البانية للعظم على الألومينا ذات الألياف النانوية (بقطر من ٢ نانومتر، وبطول أكبر من ٥٠ نانومتراً) وذلك بالمقارنة مع الألومينا ذات الشكل الهندسي الكروي النانوي [104,110]. وقد لوحظ زيادة قدرها ٢٩ ٪ في تكاثر الخلايا البانية للعظم وزيادة قدرها ٥٧ ٪ في ترسيب الكالسيوم على الألومينا ذات الألياف النانوية بالمقارنة مع سطوح الألومينا الأخرى [111].

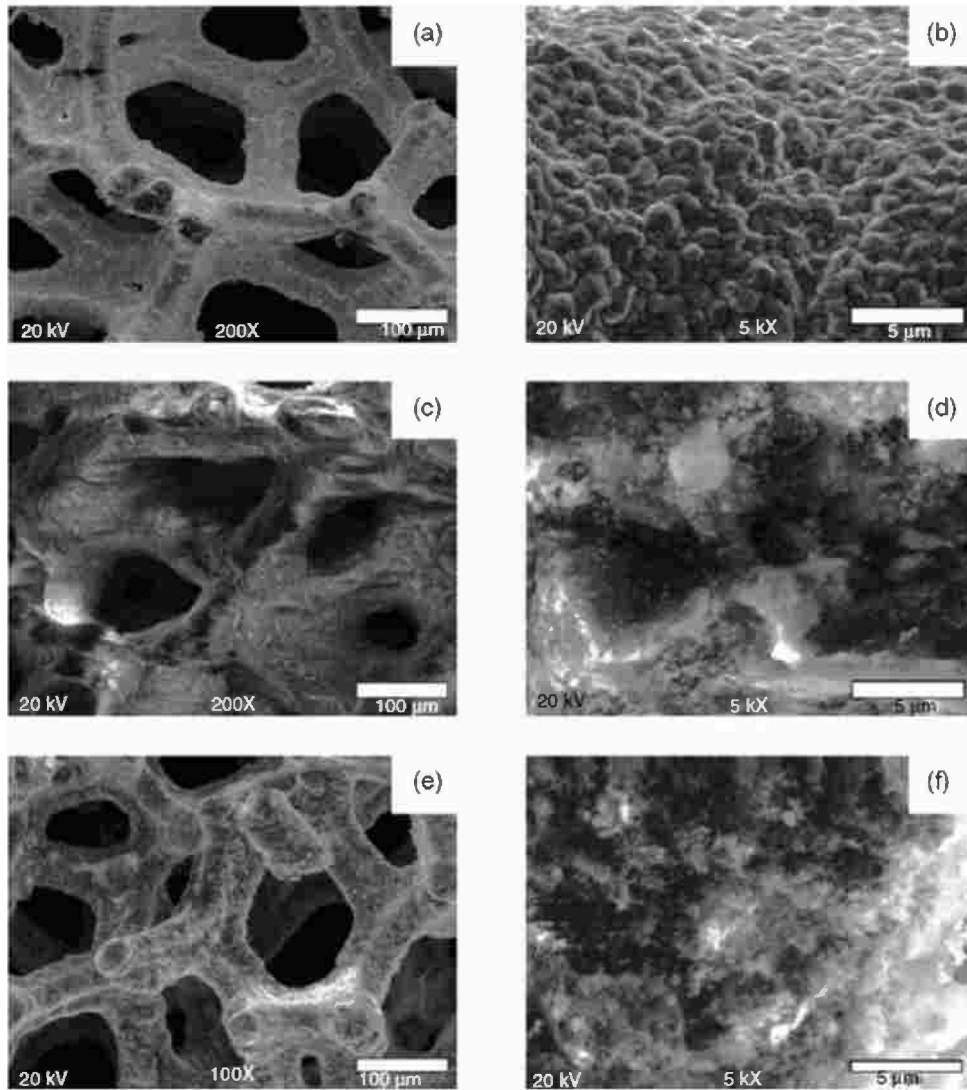
وعلى الرغم من أن الطور والتركيب الكيميائي للمواد لم تكن هي نفسها في هذه الدراسة الأخيرة، إلا أنها قد أظهرت بشير نجاح كبير في زيادة وظائف الخلايا البانية للعظم بناءً على تغييرات النسب الجانبية للجسيمات النانوية.

ونظراً لوجود الهيدروكسي آباتيت (HA) في العظم؛ فقد بحث العديد من الدراسات أنواع سيراميك الهيدروكسي آباتيت (HA) وسيراميك فوسفات الكالسيوم من أجل التطبيقات الخاصة بجراحة تقويم العظام [112-114]. وفي الوقت الحالي، يتم استخدام الهيدروكسي آباتيت (HA) بشكل أساسي كمادة طلاء أو تغليف (coating material) على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة والطريقة الأكثر انتشاراً للطلاء أو التغليف هي الترسيب برش البلازما (plasma spray deposition). وعلى أي حال، فإنه من الصعب الحصول على أحجام حبيبية نانوية نتيجة لدرجات الحرارة العالية والتبريد السريع جداً أثناء عملية رش البلازما. ولهذا السبب، يقوم الباحثون في الوقت الحالي بدراسة طرق جديدة لطلاء أو تغطية مواد الطعوم بالهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) [115,116]. وقد تم اقتراح طرق التركيب الكيميائي الرطبة (wet chemistry methods)، حيث

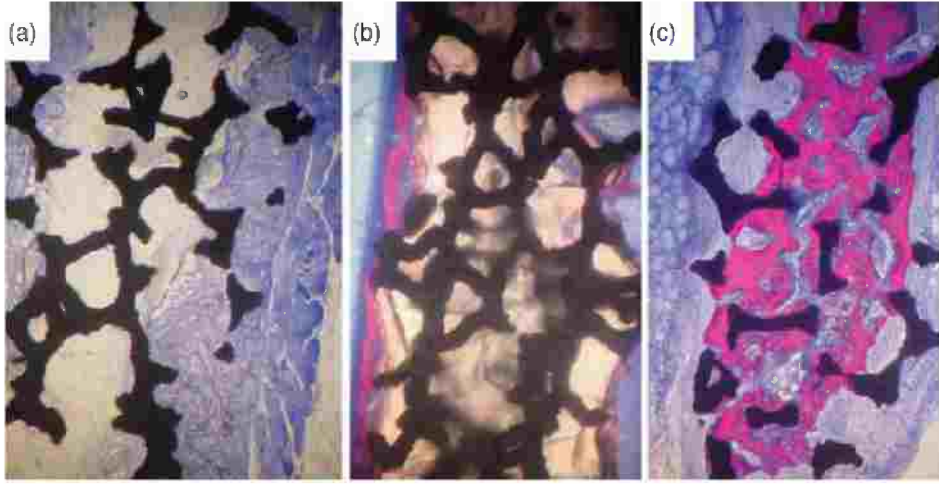
يُسمح للهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) بالترسب من أجل طلاء أو تغطية السطوح بالهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA). وعلى الرغم من أنه يمكن تطبيق عملية طلاء أو تغليف طبقات من الآباتيتات في الطور النانوي (nanophase coatings of apatites) بصورة ناجحة على سطوح التيتانيوم (Ti) وأنه من الممكن تعزيز تشكيل العظم في الجسم الحي [117]، فإن عمليات الطلاء أو التغليف المعدة من خلال طرق الترسيب لا يمكن التحكم بها تماماً وتستغرق وقتاً كبيراً. وتعتبر طريقة (IonTite)، وهي طريقة للطلاء أو التغليف عند درجة حرارة منخفضة وتعتمد على الضغط العالي، طريقة أخرى مقترحة أيضاً للطلاء أو التغليف. وقد أظهرت الدراسات أن عمليات الطلاء أو التغليف بالهيدروكسي آباتيت (HA) البلوري النانوي المترسب باستخدام طريقة (IonTite) تعزز المزيد من التصاق الخلايا البانية للعظم والمزيد من ترسيب الكالسيوم بالمقارنة مع عمليات الطلاء أو التغليف بالهيدروكسي آباتيت (HA) باستخدام طريقة رش البلازما المتوفرة تجارياً [113].

وبشكلٍ مشابه في الاهتمام، تُبين النتائج الأخيرة أن الهيدروكسي آباتيت البلوري النانوي (nanocrystalline HA) وفوسفات الكالسيوم غير المتبلور (amorphous calcium phosphate) يمكن تحديدهما وظيفياً باستخدام التسلسل الببتيدي (peptide sequence) لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) اللاصق للخلايا حيث خضعا لدراسة واسعة على نظرائهما ذوي الحجم التقليدي. وقد تبين أن الانقاص من حجم الجسيمات إلى النظام النانومتري جنباً إلى جنب مع التقليل من تبلور سيراميك فوسفات الكالسيوم يعزز من التصاق الخلايا البانية للعظم بنفس الدرجة التي يحققها التحديد الوظيفي للهيدروكسي آباتيت (HA) التقليدي باستخدام حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) [112]. علاوة على ذلك، يتم في الوقت الحالي دراسة فوسفات الكالسيوم النانوي غير المتبلور والهيدروكسي آباتيت النانوي البلوري المطليان أو المغلفان بالجسيمات النانوية المغناطيسية (Fe_3O_4) (magnetic nanoparticles) كأنظمة جديدة لحمل أو نقل الأدوية ترتبط بشكل خاص بالعظم المخلخل أو الهش (osteoporotic bone) عن طريق الأجسام المضادة ذات السطوح المحددة وظيفياً (surface functionalized antibodies) والتي يمكن توجيهها أيضاً من خلال استخدام حقل مغناطيس خارجي (external magnet field) [114].

ومن الجدير بالذكر أن جميع الدراسات التي تم مناقشتها حتى الآن قد تم إجراؤها في المختبر. إن الظروف في جسم الإنسان معقدة أكثر بكثير مما يمكن توليده بشكل مصطنع في بيئة المختبر. ولهذا السبب، فإنه من الأهمية بمكان اختبار فعالية هذه النتائج المخبرية في الجسم الحي. وقد أفادت دراسة حالية بأن المزايا المذكورة أعلاه للسيراميك ذي الطور النانوي كانت أيضاً صالحة في الجسم الحي (الشكلين رقم ٥.١٧ و ٥.١٨). فعلى سبيل المثال، في هذه الدراسة، تم طلاء أو تغليف حاملات خلايا وأنسجة مسامية مصنوعة من التانتالوم (tantalum) باستخدام إما جسيمات من الهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الطور النانوي وإما جسيمات الهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الحجم التقليدي. فبعد ٦ أسابيع من الزراعة في قبة قحف أو جمجمة (calvaria) جُرذ، لوحظ اندماج عظمي (osseointegration) أكبر بكثير من أجل حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من التانتالوم، والتي تم طلاؤها أو تغليفها بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الطور النانوي بالمقارنة مع حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من التانتالوم، والتي تم طلاؤها أو تغليفها بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم التقليدي [118].



الشكل رقم (١٧، ٥). صور مجهرية بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) للتانتالوم غير المطلي أو المُغلف (uncoated tantalum) عند (a) تكبير منخفض و (b) تكبير عالٍ. طلاء أو تغليف التانتالوم إما بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم الجببي المايكروي عند (c) تكبير منخفض و (d) تكبير عالٍ، وإما بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم الجببي النانوي عند (e) كبير منخفض و (f) تكبير عالٍ. شريط المقياس = ١٠٠ و ٥ مايكرومترات، على التوالي. (من Sato, M., An, Y.H., Slamovich, E.B. et al., *Int. J. Nanomedicine*, 2008).



الشكل رقم (١٨، ٥). صور هيسولوجية نسيجية (histology) بعد ٦ أسابيع من عملية الزرع في قبة قحف أو هجمة جُرْد (rat calvaria) لـ (a) التانتالوم غير المطلي أو المُغلف وطلاء أو تغليف التانتالوم، و (b) الهيدروكسي آباتيت (HA) ذو الحجم الحبيبي المايكروي، و (c) الهيدروكسي آباتيت (HA) ذو الحجم الحبيبي في الطور النانوي. المُلَوَّن = أزرق (Stevenel) ومُلَوَّن مُباين البيكروفسين بحسب فان غيزون (van Gieson's picrofuchsin). في حين لوحظ نمو قليل في العظم من أجل (a) التانتالوم غير المطلي أو المُغلف، و (b) التانتالوم المطلي أو المُغلف بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم الحبيبي المايكروي، وقد لوحظ كثيراً من أجل (c) التانتالوم المطلي أو المُغلف بالهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم الحبيبي النانوي. (من Sato, M., An, Y.H., Slamovich, E.B. et al., *Int. J. Nanomedicine*, 2008).

والأهم من ذلك، أن استجابة الخلايا التنافسية (competitive cell response) تكون مختلفة على السيراميك ذي الطور النانوي بالمقارنة مع السيراميك التقليدي. فبعد إدخال الطعم أو المادة المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام في الجسم، وعندما تبدأ عملية التئام أو شفاء الجرح (والتي يمكن أن تنتهي إما باندماج ناجح لمادة الطعم المزروعة وإما بتكوين خلايا متينة حول مادة الطعم المزروعة أو بفشل الطعم أو المادة المزروعة)، يمكن أن تبدأ عملية التمحفظ أو التغليف الليفي وتكوين الثفن أو الدشبذ (callus formation) (نسيج صلب يتكون في منطقة انكسار العظم في مرحلة الترميم) حول مادة الطعم المزروعة. ويتم تركيب النسيج الليفي بشكل أساسي عن طريق الخلايا البانية للعظم؛ لذا فإن التصاق الخلايا البانية للعظم على مادة الطعم المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام هو غير مرغوب فيه. وهو كذلك وبنفس القدر من الأهمية من أجل الخلايا التنافسية الأخرى (مثل الخلايا البطانية (endothelial cells)) ألا تلتصق بسطح مادة الطعم المزروعة؛ لأن التصاقها يعني توفر مساحة أقل لالتصاق الخلايا البانية للعظم. وقد أوضحت الدراسات أن هناك التصاقاً أقل لخلايا الأرومة الليفية والخلايا البطانية على سطوح التيتانيا والألومينا والهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الطور النانوي بالمقارنة مع نظرائهم في الحجم التقليدي [29,119]. علاوة على ذلك، فقد كان التصاق الخلايا البانية للعظم أكبر وبنسبة تتجاوز ٣٠٠٪ على هذه الأنواع من السيراميك ذي الطور النانوي بالمقارنة مع التصاق خلايا الأرومة الليفية والخلايا البطانية [29]. وعلى عكس الخلايا البانية للعظم، فقد لوحظ أن التصاقات خلايا الأرومة الليفية والخلايا البطانية تقل مع ازدياد الحشونة النانوية [119].

يجب ألا تعزز مادة الطعم المثالية المزروعة تكوين العظم (bone formation) فحسب، بل يجب أن تدعم أيضًا إعادة تشكيل العظم من خلال تعزيز عملية ارتشاف العظم. إن هذا الأمر مهم وذلك للعديد من الأسباب مثل منع سوء التغذية (malnourishment) الناتج عن الترسيب الزائد للعظم والتحكم في إفراز عامل النمو بواسطة الخلايا الناقضة للعظم والتي تعزز بدورها ترسيب العظم (كما يعني أن نمو العظم يحدث بعد ارتشاف العظم مباشرة). وبطريقة مماثلة للخلايا البانية للعظم، فقد لوحظ أن وظيفة الخلايا الناقضة للعظم تزداد على السيراميك ذي الطور النانوي [119]. وقد كان تركيب إنزيم الفوسفاتاز الحمضي المقاوم للطَّطَرَّات وتشكيل فجوات أو حفر ارتشاف (resorption pits) على الألومينا والهيدروكسي أبائيت (HA) ذات الطور النانوي أكبر بالمقارنة مع نظرائهم في الحجم التقليدي. وقد اقترح بأن الزيادة في ذوبانية السيراميك ذي الطور النانوي عند التعرض لإنزيم الفوسفاتاز الحمضي المقاوم للطَّطَرَّات (TRAP) هي السبب وراء هذا السلوك [120]. ومن المعروف جيدًا أن لأنواع السيراميك ذات الطور النانوي خصائص ذوبانية زائدة.

وقد تم أيضًا اقتراح السيراميك ذي الطور النانوي للزراعة نظرًا لخصائصه المقاومة للبكتيريا (antibacterial properties). فأتثناء العملية الجراحية، تدخل البكتيريا (وبالتحديد العقنوديات البشرية *Staphylococcus epidermidis*) من جلد المريض نفسه أو من غشائه المخاطي (mucosa) إلى مكان الجرح؛ مما يؤدي إلى تكوين غشاء (فيلم) حيوي مبني على الكربوهيدرات (carbohydrate - based biofilm) متعذر الغاؤه ولا رجعة فيه على سطح الطعم أو المادة المزروعة مما يسبب الفشل السريري (clinical failure). ونتيجة لذلك؛ فإن التركيب الكيميائي لمادة الطعم المزروعة الذي يقلل من إنشاء مستعمرة بكتيريا العقنوديات البشرية (*S. epidermidis* colonization) هو ضروري. ويقلل كلٌّ من أكسيد الزنك (ZnO) ذي الطور النانوي، والمعروف عنه بشكل جيد أنه عامل مضاد للبكتيريا (antibacterial agent)، وثاني أكسيد التيتانيوم (TiO_2) ذي الطور النانوي من التصاق بكتيريا العقنوديات البشرية، مع انخفاض في نشوء المستعمرة عند استخدام أكسيد الزنك (ZnO) النانوي أكثر منه عند استخدام ثاني أكسيد التيتانيوم (TiO_2) النانوي [121]. مقرونًا بالنمو الزائد للعظم على هذه الأنواع من السيراميك ذات الطور النانوي، يمكن لمثل هذه التراكيب الكيميائية أن يكون لها ميزتان أساسيتان للزراعة وهما: مقاومة العدوى (resist infection) وزيادة نمو العظم.

والأهم من كل ذلك، هو أن جميع الدراسات المذكورة أعلاه قد قدمت دليلًا على زيادة وظائف الخلايا العظمية عند انخفاض الأحجام الحبيبية إلى أقل من ١٠٠ نانومتر؛ مما يضيف خاصية أخرى جديدة للمواد ذات المستوى النانوي في هذا المجال.

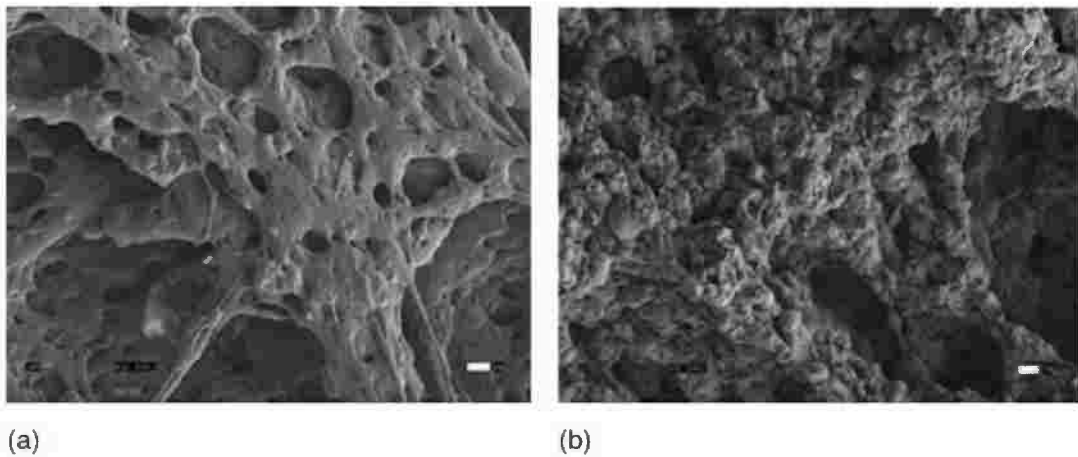
(٥,٣,٣,٢,٣) البوليمرات Polymers

بحسب ما ذكر آنفًا، فإن المكوّن الرئيسي للطور العضوي للعظم هو مادة الكولاجين المبنية على أساس بوليمري. بالإضافة إلى ذلك، فإن تشكيل تراكيب كيميائية بوليمرية قابلة للتحلل الحيوي من أجل هندسة الأنسجة العظمية يكون مرغوبًا فيه بشكل كبير. ويحاول الباحثون التحكم بهذه البوليمرات ومطابقة معدل تحللها مع معدل نمو العظم بحيث أنه عندما يذوب البوليمر، يمكن للنسيج الأصلي أن يخترق أو يتوغل في داخل الجزء المتحلل من الطعم أو المادة المزروعة، مشكلًا الحيز

الجديد المفتوح إلى الأعلى. إن التراكيب الكيميائية البوليمرية الرئيسية ذات الطور النانوي المستخدمة في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية هي البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) والبولي (حمض الغليكوليك) (PGA) والبولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) والبولي كابرولاكتون (PCL).

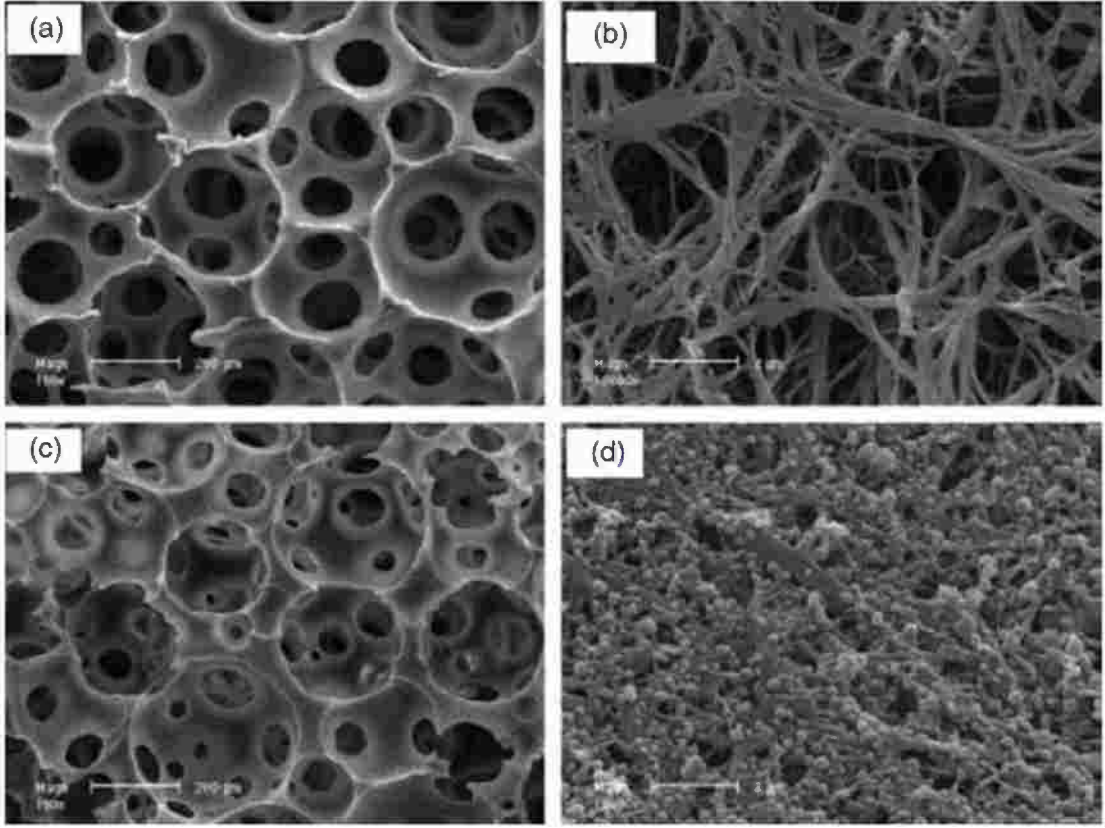
إن التقنيات المستخدمة لإنشاء طوبوغرافيات أو سمات سطحية نانوية في البوليمرات هي الحفر بواسطة الحزمة الإلكترونية (electron beam lithography) والحفر الضوئي (photolithography) من أجل إنشاء طوبوغرافيا مُنظمة أو مرتبة (ordered topography) وإزالة خلط أو مزج البوليمر (polymer demixing) والفصل الطوري (phase separation) والحفر الغرواني (colloidal lithography) والحفر الكيميائي (chemical etching) والغزل الكهربائي (electrospinning) من أجل إنشاء سطوح غير مُنظمة (unordered surfaces) (ويمكن استخدام الغزل الكهربائي أيضاً لتشكيل طوبوغرافيات أو سمات سطحية مُنظمة من الألياف المتحاذية أو المتراصفة (aligned fibers) [122]).

تعتبر المعالجة الكيميائية للبوليمرات ذات البنية المايكروية الدقيقة (microstructured polymers) حلاً سهلاً ورخيصاً لإنشاء طوبوغرافيات أو سمات سطحية نانوية. ويمكن للبوليمرات ذات البنية الحمضية (acidic structured polymers) (مثل البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) والبولي كابرولاكتون (PCL)) أن تُعالج باستخدام أساس أو قاعدة، مثل هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)، في حين أن البوليمرات الأساسية (مثل البولي يوريثان (polyurethane - PU)) يمكن معالجتها باستخدام حمض، مثل حمض النتريك (HNO_3) وذلك لإنشاء سمات أو خصائص سطحية نانومترية. يبين الشكل رقم (٥.١٩) سطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) النانوية المعدة عن طريق الحفر في (IN) هيدروكسيد الصوديوم (IN) لمدة عشر دقائق [123]. وبالمقارنة مع سطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) التقليدية، أظهرت سطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) ذات الحشونة النانوية زيادة في التصاق الخلايا البانية للعظم على كل من حاملات الخلايا والأنسجة ثنائية الأبعاد [124] وثلاثية الأبعاد [123]. وبصورة مثيرة، فقد لوحظ أن التصاق وتكاثر الخلايا البطانية (والتي هي مقبولة مبدئياً كخلايا تنافسية في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية) ينخفض على السطوح ذات البنية النانوية المعالجة كيميائياً [125]. وعلى الرغم من عدم ارتباطها بتطبيقات هندسة الأنسجة العظمية إلا أنه من المهم الإشارة هنا إلى أنه قد لوحظ أن التصاق وتكاثر الخلايا الغضروفية والخلايا العضلية المثنائية الملساء (bladder smooth muscle cells) والخلايا العضلية القلبية (cardiac muscle cells) هو أفضل بكثير على سطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) ذات البنية النانوية، والتي تم إنشاؤها من خلال طريقة الحفر الجديدة هذه [126-128].



الشكل (٥, ١٩). صور مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) تُظهر (a) البولي (حمض اللاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) التقليدي، و (b) البولي (حمض اللاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) النانوي التي يتم إنتاجها من خلال طريقة الحفر بالملح (salt etching method). شريط المقياس = ١٠ ميكرومترات. (من: Pattison, M.A., Wurster, S., Webster, T.J. et al., *Biomaterials*, 26, 15, 2491, 2005).

وقد تم أيضاً استخدام قابلية التحلل الحيوي (biodegradability) للبوليمرات وذلك لأغراض توصيل الدواء (drug delivery). ففي ورقة بحث حديثة، تم استخدام طرق الفصل الطوري وطرق انتفاذ أو استغسال القالب (template leaching methods) وذلك لإنتاج حاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد جديدة من البولي (إل - حمض اللاكتيك) ذات مسامات مايكروية (microporous) وألياف نانوية (nanofibrous)، والتي تم تثبيت سطحها بجسيمات كروية نانوية (nanospheres) من البولي (حمض اللاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA). وقد تم تغليف بروتين تشكيل العظم البشري المأشوب أو المعاد تجميعه (recombinant human bone morphogenic protein 7 - rhBMP-7)، والذي يحفز نمو ووظيفة الخلايا العظمية ضمن هذه الجسيمات الكروية النانوية من البولي (حمض اللاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) [129]. إن البنية المايكروية الدقيقة للقالب الجديد موصّحة في الشكل رقم (٥, ٢٠). وقد أظهرت حاملات الخلايا والأنسجة المزودة بسطوح البولي (حمض اللاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) المثبتة إطلاقاً أو تحريراً للدواء (drug release) بفعالية أعلى بكثير بالمقارنة مع حاملات الخلايا والأنسجة الممتصة أو الممتازة ببروتين تشكيل العظم البشري المأشوب أو المعاد تجميعه (rhBMP-7)، والمطابق لتكوين العظم الأعلى بكثير في الجسم الحي.



الشكل رقم (٥, ٢٠). صور مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لحاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية مصنوعة من البولي (إل - حمض اللاكتيك) (PLLA) (b, a) قبل، و (d, c) بعد دمج بروتين تشكيل العظم البشري المأشوب أو المعداد تجميعه rhBMP-7) في الجسيمات الكروية النانوية المصنوعة من البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA nanospheres). شريط المقياس = ٢٠٠ مايكرومتر (c, a) و ٢ مايكرومتر (d, b). (من Wei, G., Jin, Q., Giannobile, W.V. et al., *Biomaterials*, 28, 12, 2087, 2007).

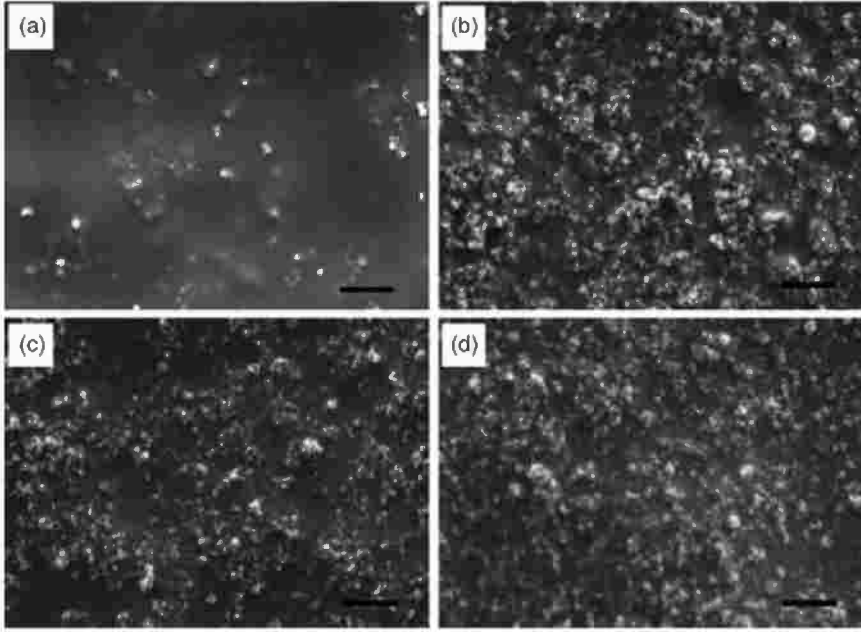
ويعتبر الغزل الكهربائي طريقة جديدة أخرى لتصنيع بوليمرات نانوية (nanopolymers). إن الغزل الكهربائي هو عملية حقن محلول البوليمر من خلال إبرة، حيث يتم تطبيق جهد كهربائي عالي للتغلب على التوتر السطحي (surface tension) لمحلول البوليمر؛ مما يسبب البدء في عملية الدفع أو النفث (jet). ويمكن للبوليمرات المغزولة كهربائياً (electrospun polymers) أن تحاكي الأبعاد النانوية للبروتينات خارج الخلية المترسبة بواسطة الخلايا العظمية ويمكن أن تحوز على مساميات (porosities) تصل إلى ٩٠ ٪ مع أقطار مسام تصل إلى ١٠٠ مايكرومتر [130]. وقد تبين أن حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً ذات الأساس النشوي (starch - based scaffolds) والتي تحتوي على كلٍّ من الألياف ذات الحجم النانوي وذات الحجم المايكروبي تحاكي وبصورة أفضل مورفولوجيا أو شكل المصفوفة خارج الخلية (ECM) الخاصة بالعظم وتزيد من تكاثر الخلايا البانية للعظم ونشاط إنزيم الفوسفاتاز القلوي وتحدث انتشاراً جيداً أكثر لمورفولوجيا أو شكل الخلايا البانية للعظم وذلك بالمقارنة

مع حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف المايكروية الدقيقة فقط [131]. كما لوحظ أيضاً وللمرة الأولى أن استخدام نفس حاملة الخلايا والأنسجة البوليمرية، المصنوعة من البولي كابرولاكتون (PCL) النانوي قد أدى إلى تمايز الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (human mesenchymal stem cells) المعزولة وبشكل انتقائي إلى سلالة الخلايا المكوّنة للعظم [132]. بالإضافة إلى ذلك، فقد تبين أيضاً أن ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية المعزولة كهربائياً تعزز التمايز المكوّن للعظم (osteogenic differentiation) من الخلايا الجذعية المتوسطة في الجسم الحي، مُظهرةً خلايا بانية للعظم مُدمجة أو مغروسة وتمعدناً في جميع أنحاء حاملة الخلايا والأنسجة البوليمرية النانوية (nanopolymer scaffold) [133].

(٥,٣,٣,٢,٤) المركّبات Composites

على الرغم من أن كلاً من السيراميك والبوليمرات ذات الطور النانوي تزيد من وظائف الخلايا البانية للعظم، فإن الضعف المتأصل فيهما كل على حده (أي متانة أو صلابة الكسر المنخفضة للسيراميك والمتانة المنخفضة للبوليمرات) قد قاد الباحثين إلى دراسة تركيبات أو مجموعات مختلفة من المواد المركبة، حيث يمكن دمج مزايا الأنواع المختلفة من المواد لتحقيق الغرض النهائي لطعم أو مادة مزروعة مندمجة بشكل أفضل.

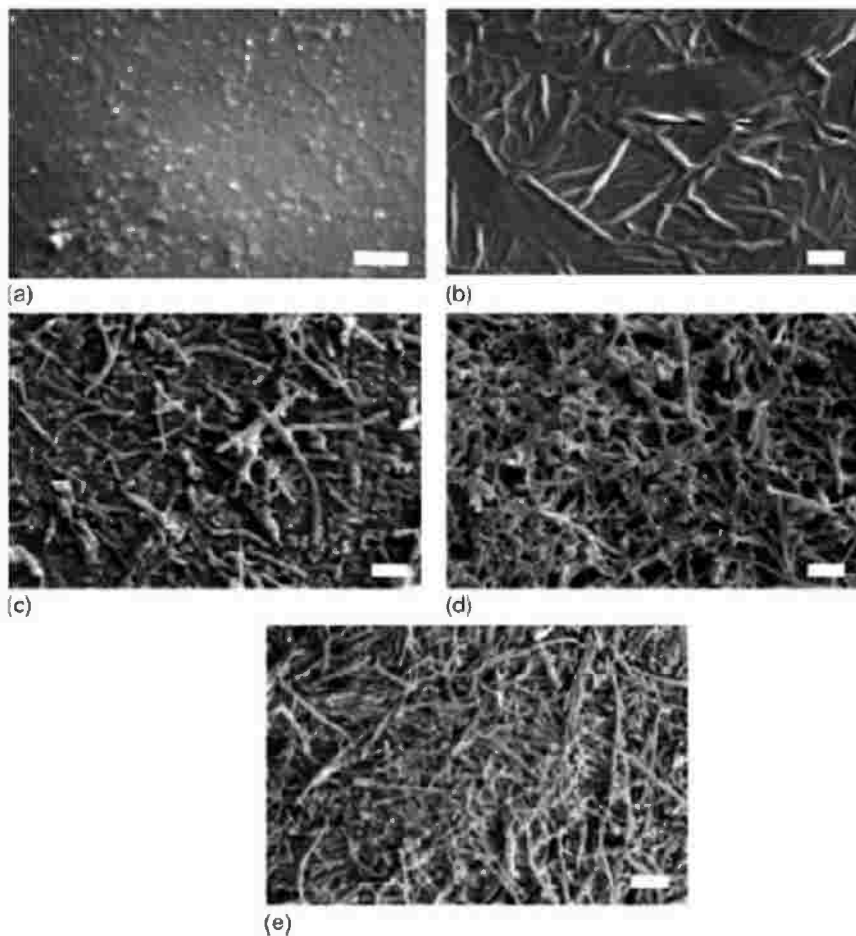
لقد ركّزت معظم الأبحاث في مجال المركبات ذات الطور النانوي على مركبات المصفوفات البوليمرية مع السيراميك ذي الطور النانوي المدمج أو المغروس نظراً لمقدرتها على محاكاة العظم الطبيعي (mimic natural bone). إن واحداً من التراكيب الكيميائية التي تمت دراستها على نطاق واسع هو البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) / التيتانيا (PLGA / titania). وقد اتضح أنه بإضافة التيتانيا ذات الطور النانوي كطور ثانوي إلى داخل البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) القابل للتحلل الحيوي يُحسن من التصاق الخلايا البانية للعظم ونشاط إنزيم الفوسفاتاز القلوي وترسيب الكالسيوم، والتي زادت من وظيفة الخلايا البانية للعظم (إن ما تمت دراسته يصل إلى حد ٣٠ ٪ وزن من التيتانيا) [134]. بالإضافة إلى ذلك، فقد أظهرت مركبات التيتانيا ذات الطور النانوي / البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) ذات الطور النانوي (PLGA / titania) أعلى معدلات التصاق للخلايا البانية للعظم بالمقارنة مع تركيبات مركب التيتانيا / البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA / titania) التقليدية الأخرى [135]. ومن أجل فهم تأثير محددات أو بارامترات إنتاج المركب، وعلى وجه التحديد قوة التشتت أو التبدد (dispersion power) على خصائص المادة وسلوك الخلايا البانية للعظم، فقد تم استخدام قوى صوتية (sonication powers) مختلفة (التعريض للأصوات) عند مزج التيتانيا داخل البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA). ويظهر في الشكل رقم (٥.٢١) الصور المجهرية (micrographs) للعينات التي تم إنتاجها. وقد ربطت النتائج تشتت (dispersion) التيتانيا الزائد مع انخفاض في التكتل (agglomeration) في نفس الوقت مع ازدياد في وظائف الخلايا البانية للعظم [136]. وفي الواقع، لقد تمت ملاحظة أن الكمية الأكبر من تركيب الكولاجين (المكوّن العضوي الرئيسي في العظم) كانت على العينات التي تمت صوتتها (تعريضها للأصوات الصوتية) عند أكبر قوة [137]. علاوة على ذلك، فقد ظهر بأن العينات التي تحاكي الخشونة النانوية للعظم بشكل أفضل، هي أكثرها تحسناً لالتصاق ووظيفة الخلايا البانية للعظم [138].



الشكل رقم (٥,٢١). صور مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لمركبات البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) / التيتانيا (PLGA / titania composites) تم صوتتها أو تعريضها للأمواج الصوتية (sonicated) لمدة ١٠ دقائق عند (a) ٢٥ % و (b) ٤٥ % و (c) ٤٥ % و (d) ٧٠ % من القوة القصوى للصوتنة أو الأمواج الصوتية (maximum sonication) (power)، والتي تعتبر مؤشراً لمستوى التبدد أو التشتت (dispersion). شريط المقياس = ١ مايكرومتر. (من Liu, H., Slamovich, E.B., and Webster, T.J., *Nanotechnology*, 16, 601, 2005).

نظراً للخصائص الكهربائية والميكانيكية والشكلية الهندسية الفريدة لأنابيب الكربون النانوية (carbon nanotubes) وألياف الكربون النانوية (carbon nanofibers)، فقد كانت لها أهمية كبرى في هندسة الأنسجة العظمية. وقد تم بحث استخدام ألياف الكربون النانوية (CNFs) كطور ثانوي في المواد المركبة على نطاق واسع. لقد زادت مركبات البولي يوريثان/ألياف الكربون النانوية (PU / CNF) من كثافة الخلايا البانية للعظم عندما ازداد محتوى ألياف الكربون النانوية (CNF) في المركبات. ومن المثير أن كثافة خلايا الأرومة الليفية (والتي تسبب التمحفظ أو التغليف الليفي للطعم أو المادة المزروعة الخاصة بجراحة تقويم العظام) انخفضت عندما زاد محتوى ألياف الكربون النانوية في مركبات البولي يوريثان/ألياف الكربون النانوية (PU / CNF) [139]. وتظهر صور هذه المركبات باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (scanning electron microscopy - SEM) في الشكل رقم (٥,٢٢). إن هذه النزعات أو الاتجاهات في التصاق الخلايا والتي لوحظت عند استخدام مركبات البولي يوريثان / ألياف الكربون النانوية (PU / CNF) كانت قد لوحظت أيضاً من أجل مركبات البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) / ألياف الكربون النانوية (PLGA / CNF). لقد ضاعف دمج أو مزج نسبة ٥ % وزن من ألياف الكربون النانوية داخل مصفوفة البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) من التصاق الخلايا البانية للعظم بالمقارنة مع مركبات البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) النقية. وفي حالة المواد المركبة من بولي

كربونات اليوريثان (polycarbonate urethane) وألياف الكربون النانوية (PCU / CNF)، فقد زاد دمج أو مزج ٢٥ ٪ وزن من ألياف الكربون النانوية من التصاق الخلايا البانية للعظم لأكثر من ثلاثة أضعاف وقلل من التصاق خلايا الأرومة الليفية بنسبة ٣٥ ٪ تقريباً [141]. بالإضافة إلى ذلك، فإن وجود الطبقة السطحية الخارجية التي تتحلل بالحرارة (pyrolytic outer surface layer) حول ألياف الكربون النانوية (CNFs)، والتي تقلل من الطاقة السطحية للألياف، كان فعالاً أيضاً في تعزيز التصاق الخلايا البانية للعظم [141]. وعلى الرغم من عدم وجود أي ارتباط لها بهندسة الأنسجة العظمية، فقد نقص أيضاً التصاق وتكاثر ووظيفة الخلايا النجمية (astrocyte) (نسيج ندبيّ دُبقيّ (glial scar tissue) يُكوّن الخلايا في الجهاز العصبي) على ألياف الكربون النانوية (CNFs) بالمقارنة مع ألياف الكربون ذات الحجم التقليدي [142].



الشكل رقم (٢٢، ٥). صور مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لمركبات البولي يوريثان / ألياف الكربون النانوية (PU / CNF composites) مع نسبة مئوية وزن من (PU / CNF) (a) ١٠٠:٠ و (b) ٩٨:٢ و (c) ٩٠:١٠ و (d) ٧٥:٢٥ و (e) ٥٠:٥٠. شريط المقياس = ١ مايكرومتر. من Webster, T.J., Waid, M.C., McKenzie, J.L. et al., (Nanotechnology, 15, 48, 2004).

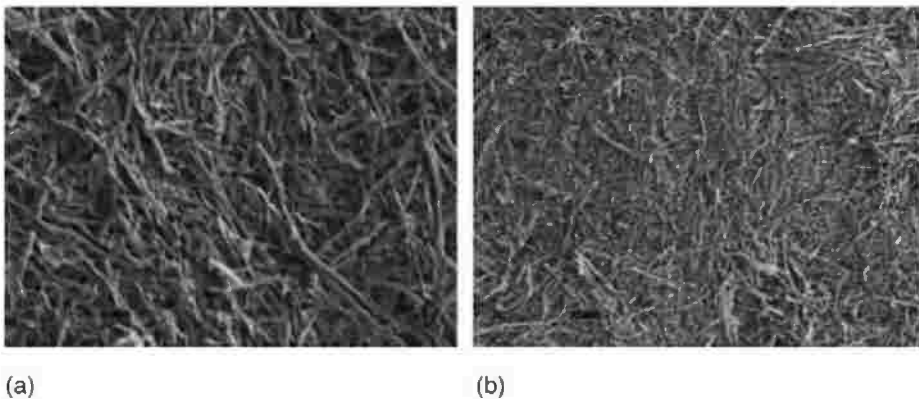
إن استخدام الهيدروكسي آباتيت (HA) كطور ثانوي لصيغة مركب هو أيضاً شائع في هندسة الأنسجة العظمية [143]. وذلك نظراً لأن مادة مركب الهيدروكسي آباتيت النانوي / الكولاجين (nano-HA / collagen) تمتلك كلاً من المكونات العضوية وغير العضوية التي تشبه العظم، والتي لا تحاكي تركيبه الكيميائي فحسب، بل تحاكي أيضاً خصائصه الطوبوغرافيا أو سماته السطحية. فعندما تتم زراعة مثل هذه المركبات بشكل مشترك في المختبر مع الخلايا البانية للعظم، فإنه من الممكن إنشاء بنية ثلاثية الأبعاد من الخلايا المكوّنة للعظم / المركب، حيث يمكن أن يتحقق فيها تركيب مصفوفة العظم الجديد (new bone matrix synthesis) [141]. إن الاختبارات التي يتم إجراؤها في الجسم الحي تقدم الدليل على أن المركبات المؤلفة من الهيدروكسي آباتيت النانوي / الكولاجين (nano-HA / collagen) تتحلل حيويًا عندما تتوسطها خلايا الجسم الغريب العملاقة وتعزز تشكيل العظم الجديد [145]. ومن أجل تحسين الخصائص الميكانيكية الرديئة لمركبات الهيدروكسي آباتيت النانوي / الكولاجين (nano-HA / collagen) المسامية، فإنه من الممكن دمج أو مزج بوليمر ثانوي، وهو البولي (حمض اللاكتيك) (PLC) [146]. وقد أظهرت الدراسات التي تم إجراؤها في المختبر نمو الخلايا البانية للعظم على طول حاملة الخلايا والأنسجة وعلى عمق حوالي من ٢٠٠ إلى ٤٠٠ مايكرومتر في ١٢ يوماً [147]. وقد أظهرت النتائج التصاقاً وانتشاراً وتكاثراً ناجحاً للخلايا البانية للعظم بعد أسبوع واحد، معطيةً نتائج واعدة في المختبر وفي الجسم الحي معاً [146]. بالإضافة إلى ذلك، فإنه يمكن دمج أو مزج الهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) في البولي (حمض اللاكتيك) (poly(lactic acid) - PLA) وذلك عن طريق استخدام تقنية الفصل الطوري المحرّصة حراريًا (thermally induced phase separation technique)، والتي يمكن أن تُنتج مركبًا ثلاثي الأبعاد ذا مسامية عالية (٩٠ %) [148]. وقد وُجد أن إضافة الهيدروكسي آباتيت النانوي (nano-HA) تزيد من امتزاز أو امتصاص البروتين على حاملات الخلايا والأنسجة تلك عند مقارنتها بجسيمات الهيدروكسي آباتيت (HA) ذات الحجم التقليدي [148].

كما أن إضافة طور ثانوي من السيراميك قد حسّن أيضاً الخصائص الميكانيكية لحاملات الخلايا والأنسجة البوليمرية. وقد أدى ذلك إلى قيام الباحثين بدراسة المركبات المؤلفة من السيراميك / السيراميك. إن مركبات الزركونيا المستقر جزئياً / الهيدروكسي آباتيت (PSZ / HA)، حيث إنه من المعروف عن الزركونيا ومنذ فترة طويلة أنه يُحسن الصلابة أو المتانة (toughness) عن طريق إخضاعه لتقوية التحول المحرّض بالإجهاد (stress - induced transformation toughening) [149]، يمكن استخدامها كطور ثانوي لتحسين صلابة أو متانة الكسر للهيدروكسي آباتيت (HA) [150]. وقد لوحظ بالنسبة للتركيزات التي تم اختبارها (١٠ و ٢٥ و ٤٠ % وزن من الزركونيا المستقر جزئياً)، أنه كلما قل الحجم الحبيبي إلى المستوى النانوي، زاد التصاق الخلايا البانية للعظم. وعلاوة على ذلك، فقد تم استخدام الهيدروكسي آباتيت (HA) لتحسين التوافقية الحيوية للمركبات النانوية (nanocomposites) المصنوعة من ثاني أكسيد الزركونيوم - أكسيد الألومنيوم (ZrO_2 - Al_2O_3)، حيث أعطت إضافة نسبة ٣٠ % حجم الاستجابة المثلى للخلايا البانية للعظم وتركيبية ميكانيكية خاصة [151].

Novel Materials الجديدة (٥,٣,٣,٢,٥)

بالمقارنة مع ألياف الكربون ذات الحجم التقليدي، فإن ألياف الكربون النانوية (CNFs) تمتلك خصائص ميكانيكية مُحسَّنة (أي أنها أقوى، فهي تمتلك معدلات أعلى من المتانة إلى الوزن (strength to weight ratios)) وخصائص كهربائية مُحسَّنة (الموصلية conductivity) وخصائص سطحية مُحسَّنة (القدرة على تحديدها أو تخصيصها وظيفياً) [152]، والعديد منها مرغوب من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية. وعلاوة على ذلك، يمكن استخدام النسبة الجانبية (aspect ratio) (نسبة الطول إلى العرض) المرتفعة لألياف الكربون النانوية / أنابيب الكربون النانوية وذلك لمحاكاة المكونات الأساسية للعظم بشكل أفضل. إن الاستخدام الرئيسي لألياف الكربون النانوية / أنابيب الكربون النانوية هو استخدامها كطور ثانوي في صيغة المركب، الأمر الذي تمت مناقشته في القسم (٥,٣,٣,٢,٤). وعلى أي حال، توجد أبحاث إضافية تبين تفاعلات حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف الكربون النانوية [154-159] وحاملات الخلايا والأنسجة ذات أنابيب الكربون النانوية [155-159] فقط مع الخلايا الحية، وعلى وجه التحديد الخلايا البانية للعظم.

وقد أظهرت مثل هذه الدراسات زيادة في التصاق [110] وتكاثر ووظيفة الخلايا البانية للعظم (أي تركيب إنزيم الفوسفاتاز القلوي وترسيب الكالسيوم خارج الخلية) على مركبات من ألياف الكربون النانوية (CNF) بالمقارنة مع ألياف الكربون ذات الحجم التقليدي [152]. وقد تم توضيح ذلك أيضاً عن طريق صب أو قولبة (molding) مركبات من ألياف الكربون ذات الحجم التقليدي ومركبات من ألياف الكربون ذات الحجم النانوي على سطح نموذجي من البولي (حمض اللاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA)، بحيث تم فقط تكرار تأثيرات السمات أو الخصائص السطحية لألياف الكربون النانوية (CNF). وقد ازداد التصاق الخلايا البانية للعظم على قوالب بوليمر ألياف الكربون النانوية (CNF polymer) بالمقارنة مع قوالب بوليمر ألياف الكربون النانوية (CNF polymer) التقليدية [160]. ويوضح الشكل رقم (٥,٢٣) البنى المايكروية الدقيقة لألياف الكربون التقليدية وألياف الكربون النانوية (CNFs) [161].



(a)

(b)

الشكل رقم (٥,٢٣). صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) تصف (a) ألياف الكربون التقليدية (ذات قطر ١٢٥، ٠، ١٢٥ ميكرومتر) بالمقارنة مع (b) ألياف الكربون النانوية (ذات قطر ٦٠ نانومتر). وتمثل الأشربة ١ مايكرومتر. إن وظيفة الخلايا العظمية

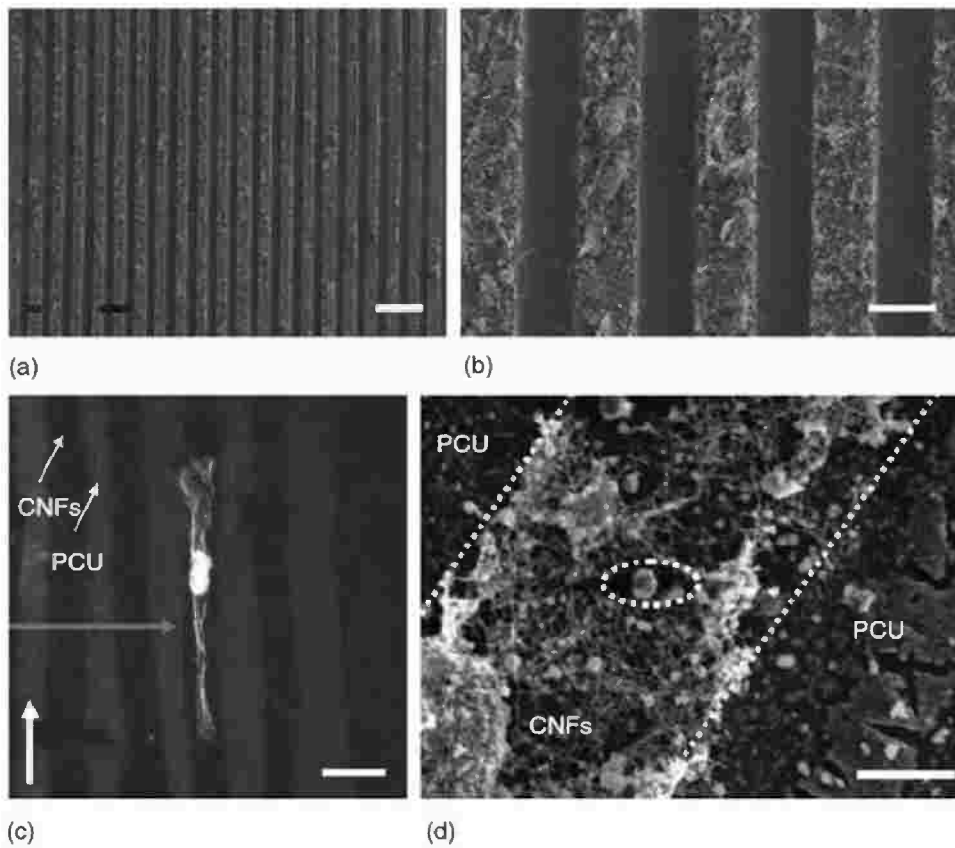
تحسن على الطور النانوي بالمقارنة مع ألياف الكربون التقليدية. (من Sato, M. and Webster, T.J., *Exp. Rev. Med.*

(Dev., 1, 1, 105, 2004).

في دراسة حديثة، تم تطوير أنماط أو أشكال من ألياف الكربون النانوية (CNF) على بوليمر نموذجي (بولي كربونات اليوريثان (PCU)) باستخدام طريقة الطبقات الجديدة (novel imprinting method). وقد لوحظ التصاق انتقائي وتراسف أو محاذة انتقائية للخلايا البانية للعظم على أنماط أو زخارف من ألياف الكربون النانوية (CNF). وقد أظهرت النتائج أيضاً ترسيب مباشر للكالسيوم على أنماط أو زخارف من ألياف الكربون النانوية (CNF) على بولي كربونات اليوريثان (PCU) وذلك نتيجة للتصاق التفضيلي (preferential adhesion) للخلايا البانية للعظم على ألياف الكربون النانوية (CNFs) بشكل أفضل من الالتصاق على سطوح بولي كربونات اليوريثان (PCU) [153,154]. إن هذه النتائج واعدة في اتجاه محاكاة التراسف أو المحاذة المايكروية (micro - alignment) لبلورات فوسفات الكالسيوم التي تنشأ بشكل طبيعي في العظام الطويلة للجسم عن طريق تشكيل أو زخرفة سطح ألياف الكربون النانوية (CNF). ويُظهر الشكل رقم (٥.٢٤) سطح ألياف الكربون النانوية (CNF) المشكّلة أو المزخرفة والالتصاق التفضيلي للخلايا البانية للعظم على أشكال أو زخارف من ألياف الكربون النانوية [153]. أن أهمية هذه الطريقة هي أنه يمكن دمجها باستخدام التحفيز الكهربائي (electrical stimulation)، والذي يُعرف بأنه يُحسن من وظيفة الخلايا البانية للعظم [162]، ويمكن أن يؤدي إلى ترسيب اتجاهي (directional deposition) أسرع للكالسيوم على سطوح ألياف الكربون النانوية (CNF). في الواقع قامت إحدى الدراسات بالتحفيز الكهربائي للخلايا البانية للعظم على حاملات هندسة الأنسجة العظمية (bone tissue engineering scaffolds) لمركبات مصنوعة من بولي حمض اللاكتيك - أنابيب الكربون النانوية (polylactic acid - carbon nanotube) (بنسبة ٨٠ / ٢٠ ٪ وزن). وعلى الرغم من أن بولي (حمض اللاكتيك) (PLA) هو مادة عازلة، إلا أن إضافة ٢٠ ٪ من أنابيب الكربون النانوية (CNT) تجعله مادة موصلة؛ مما يسمح بمرور التيار الكهربائي. وعندما يتم تعريض هذا المركب إلى تيار كهربائي متناوب بشدة ١٠ مايكرو أمبير لمدة ٦ ساعات في اليوم، لوحظ زيادة بنسبة ٤٦ ٪ في تكاثر الخلايا البانية للعظم بعد يومين ولوحظ زيادة بنسبة ٣٠٧ ٪ في ترسيب الكالسيوم بعد ٢١ يوماً بالمقارنة مع العينات التي تم تحفيزها بكهرباء نانوية؛ مما يُظهر وظائف مُحسّنة للخلايا البانية للعظم [163].

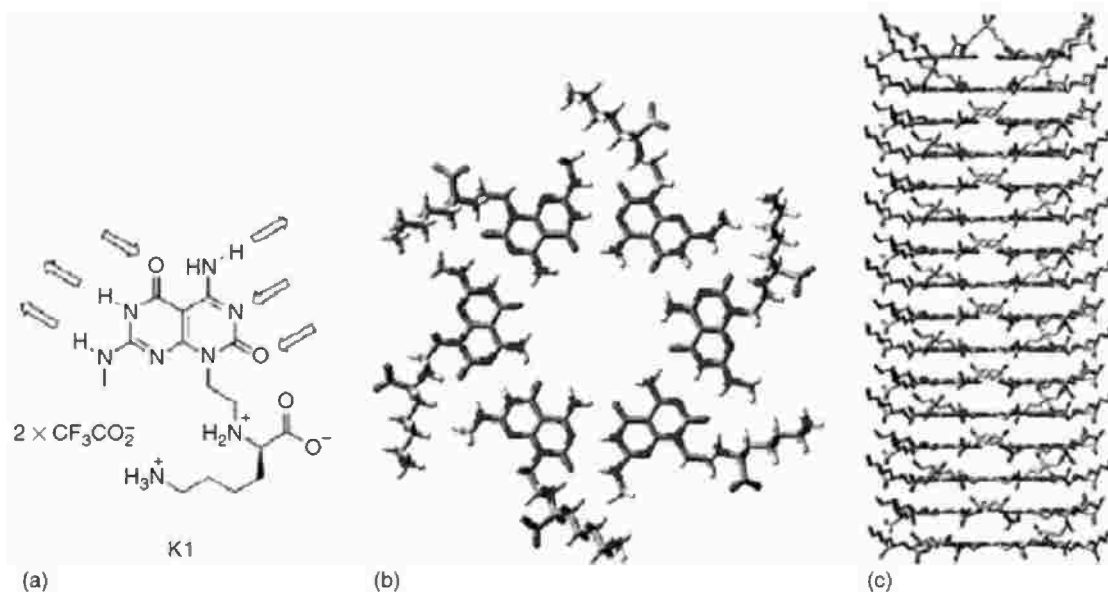
بالإضافة إلى ذلك، لم تُظهر الخلايا البانية للعظم المزروعة على أنابيب الكربون النانوية (CNTs) انخفاضاً في نشاط القناة الأيونية للغشاء (membrane ion channel)، والتي تكون ضرورية من أجل إفراز البروتينات الرئيسية المرتبطة بالعظم من خلال الخلايا البانية للعظم؛ مما يؤكد ملائمة أنابيب الكربون النانوية (CNTs) من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية [156]. وعلاوة على ذلك، فقد لوحظ شكل ممدود للخلايا البانية للعظم (extended osteoblast morphology) على أنابيب الكربون النانوية (CNTs) [155]. وقد تم تأكيد هذه النتيجة من قبل باحثين آخرين أظهروا المعدل الأعلى للتكاثر على ألياف الكربون النانوية (CNTs) أحادية الجدار ومتعادلة الشحنة [159]. ومن المثير للاهتمام أكثر، فقد قام Tsuchiya وآخرون بربط التصاق الخلايا البانية للعظم بقطر أنبوب الكربون النانوي. وقد أظهرت أنابيب الكربون النانوية (CNTs) مع قطر بقيمة ١٠ نانومتر تصاقاً أكبر للخلايا وتركيباً أكبر لعامل النمو (TGE- β_1) (وهو مؤشر على النمو الطبيعي للخلايا) وذلك بالمقارنة مع أنابيب الكربون النانوية (CNTs) مع قطر بقيمة ٢٠٠ نانومتر [157]. ومن ناحية أخرى، فقد أكدت بعض الدراسات نتائج متناقضة [158]. فعلى سبيل المثال، وُجد أن للخلايا البانية للعظم مجال من المورفولوجيات أو الأشكال،

بحيث أظهر بعضها انتشاراً أقل وأظهر البعض الآخر توسعاً أقل ولكن استطالة متزايدة على أسطح أنابيب الكربون النانوية (CNTs). ويُظهر الاختلاف في استجابة الخلايا البانية للعظم لأنابيب الكربون النانوية (CNTs) بوضوح بأن الكثير من المحددات أو البارامترات تلعب دوراً في الاستجابات لهذه الأسطح وبأن ليس جميع أنابيب الكربون النانوية (CNTs) متساوية. وعلى وجه التحديد، فإن طريقة إنتاج أنابيب الكربون النانوية (CNT) (والتي تحدد من ناحية أخرى البنية المايكروية والنانوية للأنابيب) ووجود المادة الكيميائية المحفزة غير المتفاعلة (unreacted catalyst) (بشكل عام، الحديد (iron) أو النيكل (nickel) أو الكوبالت (cobalt) التي تعتبر معادن ثقيلة) والشحنة السطحية (surface charge) والتركيب الكيميائي للسطح (surface chemistry) والقطر، ... إلخ، كلها تتغير كثيراً من أنبوب كربوني نانوي (CNT) إلى آخر.

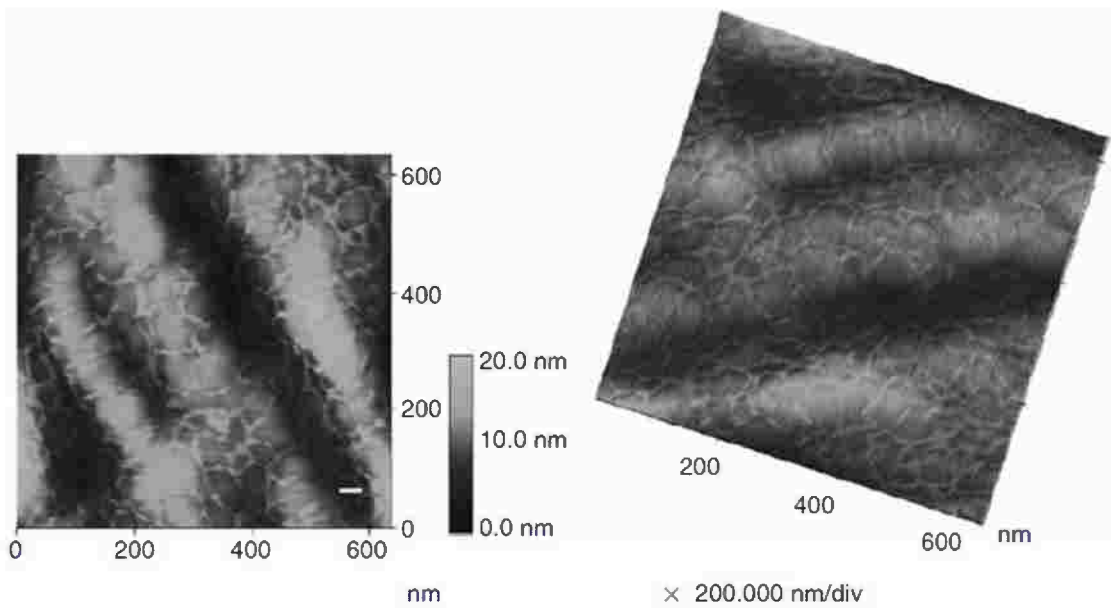


الشكل رقم (٥، ٢٤). صور مجهرية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لـ (a، b) تشكيل أو زخرفة بألياف الكربون النانوية (CNF) على بولي كربونات البوريتان (PCU) في تكبير منخفض وعالي، على التوالي؛ (c) أكتين متراص أو متحاذاي (aligned actin) في خلية بانية للعظم ملتصقة بشكل انتقائي على ليف كربون نانوي (CNF)؛ (d) بلورة فوسفات الكالسيوم (calcium phosphate crystal) على ليف كربون نانوي (CNF). شرائط القياس هي (a) ١٠٠ مايكرومتر و (b) ٣٠ مايكرومترًا، و (c) ٢٠ مايكرومترًا، و (d) ١٠ مايكرومترات. (من Khang, D., Sato, M., Price, R.L. et al., *Int. J. Nanomedicine*, 1, 1, 65, 2006).

تقدم البيولوجيا أو علم الأحياء نماذج ملهمة لتقنية النانو. وباعتبار أن العظم هو مجموعة ذاتية التجميع من ألياف النانو [164]، فإن البنى النانوية ذاتية التجميع (self - assembled nanostructures) يمكن أن تعطي نتائج مباشرة. إن الأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (على شكل وردة) (Helical Rosette Nanotubes - HRN)، والتي هي أنابيب نانوية عضوية ذاتية التجميع وذات أبعاد تحاكي المكونات الأساسية للعظم ذات البنية النانوية، هي واحدة من هذه الصيغ الجديدة [165]. ويُظهر الشكل رقم (٥.٢٥) تنظيم هذا الأنبوب النانوي. يبلغ قطر الأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) 3.5 نانومتراً، ويبلغ طولها عدة مايكروونات. وهي تتألف من أزواج قاعدية من القوانين (guanine) والسيتوزين (cytosine) في الحمض النووي (DNA) والتي يتم الحصول عليها من خلال التجميع الذاتي الموجّه بواسطة الإنتروبي (self - assembly entropically driven) (بواسطة نظام ديناميكي حراري) في الظروف الفيزيولوجية (عندما تُضاف إلى الماء) أو عند تعريضها لدرجات حرارة الجسم. وقد أظهرت ركائز التيتانيوم (titanium substrates) المطلية أو المغلفة بالأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) زيادة في التصاق الخلايا البانية للعظام. ويظهر الشكل رقم (٥.٢٦) ركائز التيتانيوم المطلية أو المغلفة بالأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) [166]. تقوم الأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) ذاتية التجميع المقادة أو الموجهة بالحرارة (عند درجة حرارة ٦٨ درجة مئوية) على التيتانيوم بتعزيز التصاق الخلايا البانية للعظم بقدر ما يعززه التيتانيوم غير المطلي أو المغلف في وجود بروتينات مصّل الدم (serum proteins)؛ مما يبين قدرة الأنابيب النانوية الحلزونية الوردية (HRN) على العمل كمادة بديلة للبروتين (protein substitute).



الشكل رقم (٥.٢٥). (a) الوحدة ذاتية التجميع (K1) (self-assembling module K1) تخضع إلى تجميع ذاتي عفوي (spontaneous self-assembly) في الظروف الفيزيولوجية بدأي في (b) دورة فوق ماكروية وردية (rosette super-macrocyclic) يتم الحفاظ عليها عن طريق الروابط (H) ومن ثم في (c) كومة حلزونية من وريدات (helical stack of rosettes) بطول عدة مايكرومترات. (من (Chun, A.L., Moralez, J.G., Webster, T.J. et al., *Biomaterials*, 26, 35, 7304, 2005).



الشكل رقم (٥،٢٦). صور مجهرية باستخدام مجهر القوة الذرية (AFM) لركائز من التيتانيوم (Ti) مطلية أو مغلّفة بـ (1 mg / mL) من المثير للاهتمام أن نسأل: لماذا تتصرف الخلايا البانية للعظم بشكلٍ إيجابي جداً على هذه المواد الجديدة ذات الطور النانوي؟ ويصبح هذا السؤال أكثر إثارة للاهتمام عندما نسأل: لماذا لا تتصرف الأنواع الأخرى من الخلايا (مثل خلايا الأرومة اللبكية) هكذا؟. إن هذا الأمر مُوضَّح في القسم التالي.

(Chun, A.L., Moralez, J.G., Webster, T.J. et al., *Biomaterials*, 26, 35, 7304, 2005).

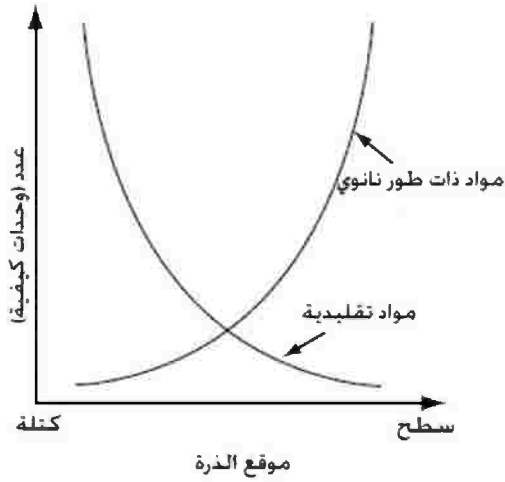
ونظراً لهذه النزعات أو الاتجاهات الشاملة لزيادة وظائف الخلايا البانية للعظم على الكثير من المواد النانوية، فإنه من المثير للاهتمام أن نسأل: لماذا تتصرف الخلايا البانية للعظم بشكلٍ إيجابي جداً على هذه المواد الجديدة ذات الطور النانوي؟ ويصبح هذا السؤال أكثر إثارة للاهتمام عندما نسأل: لماذا لا تتصرف الأنواع الأخرى من الخلايا (مثل خلايا الأرومة اللبكية) هكذا؟. إن هذا الأمر مُوضَّح في القسم التالي.

(٥،٣،٣،٣) التعرف على الخلايا العظمية على المواد التقليدية والمواد ذات الطور النانوي Bone Cell Recognition on Conventional and Nanophase Materials

إن فهم الأسباب وراء السلوك المعزّز للخلايا البانية للعظم على المواد ذات الطور النانوي والمواد التقليدية هو أكثر خطوة حاسمة في تصاميم الطعوم أو المواد المزروعة المستقبلية. في القسم (٥،١،٣)، تم تقديم موضوع التصاق الخلايا العظمية على سطح الطعم أو المادة المزروعة. في هذا القسم، ستم دراسة السؤال "لماذا النانو؟" من وجهة نظر هندسة الأنسجة العظمية.

كما ذكر آنفاً، فإن التغييرات في خصائص المادة تُعالج ببراعة أو تقوم بالتلاعب بخصائص امتصاص أو ارتشاف البروتين؛ مما يغير من سلوك امتصاص أو ارتشاف البروتين، والذي يؤثر أيضاً على التصاق الخلايا على سطوح المواد الحيوية. وعندما يقل الحجم الحبيبي لمادة إلى النظام النانوي، تتغير بعض الخصائص مثل الزيادة في عدم تمركز الإلكترونات (electron delocalization) وزيادة المساحة السطحية وزيادة عدد الذرات عند السطح وزيادة العيوب السطحية، والتي تعتبر تفاعلات سطحية / بروتينية مؤثرة. يبين الشكل رقم (٥،٢٧) الاختلافات في مواضع الذرات من أجل المواد التقليدية

بالمقارنة مع المواد ذات الطور النانوي. ويتأثر امتصاص أو ارتشاف معظم البروتينات اللاصقة للخلايا والتي تحتوي على التسلسل الببتيدي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) (الفيترونيكتين والفبرونيكتين والكولاجين واللامينين) بسبب هذه التغييرات في الخصائص السطحية ؛ ونتيجة لذلك تُمتص أو تُتمز البروتينات على السطوح بطريقة مختلفة، وعلى وجه التحديد بكميات أكبر وفي تعديلات أو تشكيلات أكثر مثالية فإنها تزيد من توفر مجالات ربط الخلايا. فعند توفر الكثير من تسلسلات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) النشطة حيويًا، يلتصق الكثير من الخلايا البانية للعظم. ونظرًا إلى حقيقة أن كلاً من تكاثر ووظائف الخلايا البانية للعظم تعتمد على الالتصاق الأولي على سطوح الطعوم أو المواد المزروعة، فإن الخطوة الأولى، وهي التصاق الخلايا البانية للعظم، تكون ذات أهمية قصوى.

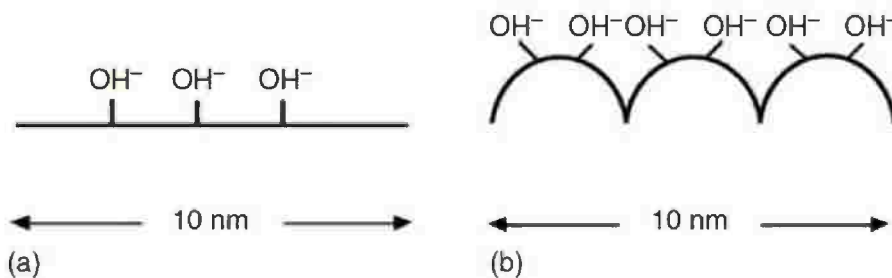


الشكل رقم (٥،٢٧). رسم بياني لعدد الذرات (atom position) المقابل لموقع الذرات (number of atoms). ويظهر أن العدد الأكبر من الذرات يكون على سطوح المواد ذات الطور النانوي. (من Webster, T.J., *Adv. Chem. Eng.*, 27, 125, 2001).

وكما تم التأكيد هنا عدة مرات، فإن المواد ذات الطور النانوي تزيد من التصاق وتكاثر الخلايا البانية للعظم. إن امتصاص أو ارتشاف كميات أكبر من البروتينات، مثل الفيترونيكتين، على البنى ذات الطور النانوي بالمقارنة مع المواد التقليدية هو واحدٌ من الأسباب لهذا السلوك. وقد أظهرت الأبحاث أن امتصاص أو ارتشاف الفيترونيكتين يكون أكبر بنسبة ٣٠٪ من أجل الألومينا ذات الطور النانوي بالمقارنة مع الألومينا التقليدية، وفي المقابل يزداد التصاق الخلايا [17]. والسبب الآخر لهذا السلوك هو الامتصاص أو الارتشاف المنخفض للبروتين التنافسي (competitive protein) (مثل الامتصاص أو الارتشاف المنخفض لصميم البروتين الشحمي (apolipoprotein) والألبومين (albumin) على الألومينا ذات الطور النانوي [17]). فعندما يكون هناك امتصاص أو ارتشاف أقل للبروتين التنافسي على السطوح ذات الطور النانوي، فستتوفر مواقع أكثر للبروتينات مثل الفيترونيكتين الذي يدعم التصاق الخلايا البانية للعظم. بالإضافة إلى ذلك، يعتبر الامتصاص أو الارتشاف الأولي المعزّز للكالسيوم على السطوح المحبة للماء (hydrophilic surfaces) أيضاً عاملاً مساهماً، حيث تم

اقترح آلية يدعمها أو يتوسطها الكالسيوم لتكون مسؤولة عن امتصاص أو امتزاز الفيترونيكتين. والأهم من كل ذلك، هو أن المواد ذات الطور النانوي تغير من تشكل البروتينات الممتصة أو الممزوجة عن طريق تعزيز نشرها على السطح. وكمثال لهذا السلوك نشر (unfolding) الفيترونيكتين. فعند امتصاص أو امتزاز الفيترونيكتين على السطوح ذات الطور النانوي، يتغير تشكل البروتين في مثل الطريقة التي يتم فيها التعرض للحواتم (epitopes) (في المستضد) أو الببتيدات اللاصقة للخلايا (RGD و KRSR)، مما يعزز من ناحية أخرى التفاعلات مع المستقبلات الخاصة بالخلية البانية للعظم - الغشاء.

وبصورة عامة، تزداد وظائف الخلايا البانية للعظم على السطوح ذات الخشونة النانوية الأعلى (أي النقصان في الحجم الحبيبي أو قطر الألياف إلى النظام النانوي، والزيادة في محتوى الألياف النانوية، ... إلخ) [5]. إن أبسط تفسير لهذا الأمر هو أن حجم البروتينات التي تتوسط التصاق الخلايا البانية للعظم هو في النظام النانومتري. ويؤثر السطح ذو الطوبوغرافيا أو السمات النانوية على توافر بروتينات التصاق الخلايا بقدر أكبر من السطوح التقليدية ذات النعومة النانوية. وبصورة علمية أكثر، فإن سبب زيادة التصاق الخلايا البانية للعظم هو الزيادة في عدم تركز الإلكترونات من أجل المواد في المستوى النانوي. ففي نفس الحيز الخطي (linear space)، توجد مساحة سطحية (surface area) أكبر للمواد ذات الطور النانوي. وهذا يؤدي إلى عدم تركز أكبر للإلكترونات. وتوضيحاً لهذا الأمر، فإن لأكسيد المغنسيوم (MgO) مجموعات هيدروكسيد حمضية (OH^-) أقل على السطح بسبب وجود نسبة أعلى بكثير من المواقع الحدية (edge sites) لأكسيد المغنسيوم ذي الطور النانوي (nanophase MgO)، مما يسبب عدم تركز للإلكترونات. ويوضح الشكل رقم (٥.٢٨) الرسم التخطيطي لعدم تركز الإلكترونات. ويؤدي ارتفاع عدم تركز الإلكترونات في المواد ذات الطور النانوي إلى إنشاء سطوح ذات شحنات كهربائية سالبة أكثر وذلك بالمقارنة مع المواد التقليدية، والتي تزيد من التجاذبات الكهرستاتيكية (electrostatic attractions) (التجاذبات الكهربائية الساكنة) بين السطوح والبروتينات؛ مما يغير وبشكل جذري من الطريقة التي تتفاعل بها السطوح مع البروتينات. إن سبب زيادة امتصاص أو امتزاز البروتينات على السطوح ذات الطور النانوي يرجع إلى ذلك التغيير في التجاذبات الكهرستاتيكية [29].



الشكل رقم (٥.٢٨). رسم تخطيطي يظهر (a) مواد تقليدية و (b) مواد ذات طور نانوي. (من Sato, M. and Webster, T.J., *Exp. Rev. Med.*

وتعتبر قابلية الابتلال أو الترطيب (الحب للماء) أيضًا محددًا أو بارامترًا آخر يتغير عندما ينقص الحجم الحبيبي للمادة إلى النظام النانوي. وبصورة عامة، فإنه كلما قل الحجم الحبيبي، ازداد الحب إلى الماء أو الاضطراب. ومثال ذلك هو الألومينا ذات الطور النانوي، والتي تُظهر زوايا اتصال مائي (aqueous contact angles) أصغر بثلاث مرات عندما ينقص الحجم الحبيبي من ١٦٧ إلى ٢٤ نانومترًا [99]. وتؤدي زيادة الحب إلى الماء على السطح أو الاضطراب السطحي (surface hydrophilicity) إلى زيادة في امتصاص أو ارتشاف البروتين، والذي يزيد من ناحية أخرى من التصاق الخلايا على المواد الحيوية. وقد تبين بأن امتصاص أو ارتشاف الفيترونيكتين، والذي يعتبر عاملاً حاسماً في التصاق الخلايا البانية للعظم، يزداد على السيراميك ذي الطور النانوي مع قابلية أكبر للابتلال أو الترطيب.

(٥،٤) الاتجاهات المستقبلية FUTURE DIRECTIONS

على الرغم من أن المحاولات الأولية لاستخدام المواد في المستوى النانوي في هندسة الأنسجة العظمية تبدو مشجعة، إلا أن الأسئلة المهمة لا تزال بدون إجابة. ولا تزال سمية الجسيمات النانوية بحاجة إلى معالجة من وجهة نظر التصنيع على نطاق تجاري والاستخدام كقطع أو مادة مزروعة. فعلى سبيل المثال، يمكن للجسيمات النانوية الصغيرة أن تتوغل في داخل الجسم البشري من خلال المسام، والآثار الصحية لهذه الجسيمات غير معروفة بعد. أما وقد لوحظ الآن زيادة كبيرة في نمو العظم على العديد من المواد النانوية، فقد حان الوقت لدراسة سميتها بشكل كامل أثناء عملية التصنيع و / أو الزراعة.

المراجع REFERENCES

- [1] Marieb, E.N. 1998. Human Anatomy & Physiology, 4th ed. Menlo Park, California: Benjamin/Cummings Science Publishing.
- [2] University of Glasgow. <http://www.gla.ac.uk/ibls/fab/public/docs/xbone1x.html>
- [3] Young, J.L., Fritz, A., Adamo, M.P. et al. U.S. National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program, Structure of bone tissue, http://training.seer.cancer.gov/module_anatomy/unit3_2_bone_tissue.html
- [4] Young, J.L., Fritz, A., Adamo, M.P. et al. U.S. National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program. <http://www.web-books.com/eLibrary/Medicine/Physiology/Skeletal/Skeletal.htm>
- [5] Price, R.L. 2004. Evaluation of nanofiber carbon and alumina for orthopedic/dental applications, PhD dissertation, Purdue University.
- [6] Zysset, P.K., Guo, X.E., Hoffer, C.E. et al. 1999. Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by nano-indentation in the human femur. Journal of Biomechanics, 32: 1005–1012.
- [7] Webster, T.J. 2001. Nanophase ceramics: The future orthopedic and dental implant material. Advances in Chemical Engineering, 27: 125–166.
- [8] Dickenson, R.P., Hutton, W.C., and Stott, J.R.R. 1981. The mechanical properties of bone in osteoporosis. Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume, 63B(2): 233–238.

- [9] Linde, F., Norgaard, P., Hvid, I. et al. 1991. Mechanical properties of trabecular bone. Dependency on strain rate. *Journal of Biomechanics*, 24(9): 803–809.
- [10] Linde, F. 1994. Elastic and viscoelastic properties of trabecular bone by a compression testing approach. *Danish Medical Bulletin*, 41(2): 119–138.
- [11] Lakers, R.S. 1993. Materials with structural hierarchy. *Nature*, 361: 511–515.
- [12] Doll, B.A. 2005. Basic Bone Biology and Tissue Engineering in *Bone Tissue Engineering*, eds., Hollinger, J.O., Einhorn, T.A., Doll, B.A., Sfeir, C., pp. 3–90, CRC Press, LLC.
- [13] Kaplan, F.S., Hayes, W.C., Keaveny, T.M. et al. 1994. Form and function of bone. In: *Orthopaedic Basic Science*, ed., Simon, S.R., pp. 127–184. American Academy of Orthopedic Surgeons, Rosemont, IL.
- [14] American Society for Bone and Mineral Research, *Bone Curriculum, Bone Growth and Remodeling*. 2007. <http://depts.washington.edu/bonebio/ASBMRed/growth.html>
- [15] Rüegsegger, P. 1996. “A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture”. *Calcified Tissue International*, 58(1):24–29.
- [16] Garcia, A.J., Ducheyne, P., and Boettiger, D. 1998. Effect of surface reaction stage on fibronectin-mediated adhesion of osteoblast-like cells to bioactive glass. *Journal of Biomedical Materials Research*, 40(1): 48–56.
- [17] Webster, T.J., Schadler, L.S., Siegel, R.W. et al. 2001. Mechanisms of enhanced osteoblast adhesion on nanophase alumina involve vitronectin. *Tissue Engineering*, 7(3): 291–301.
- [18] Degasne, I., Basle, M.F., Demais, V. et al. 1999. Effects of roughness, fibronectin and vitronectin on attachment, spreading, and proliferation of human osteoblast-like cells (saos-2) on titanium surfaces. *Calcified Tissue International*, 64: 499–507.
- [19] Siebers, M.C., Brugge, P.J., Walboomers, X.F. et al. 2005. Integrins as linker proteins between osteoblasts and bone replacing materials. A critical review. *Biomaterials*, 26(2): 137–146.
- [20] Balasundaram, G. and Webster, T.J. 2006. A perspective on nanophase materials for orthopedic implant applications. *Journal of Materials Chemistry*, 16: 3737–3745.
- [21] Christenson, E.M., Anseth, K.S., Beucken, J.J.J.P. et al. 2006. Nanobiomaterial applications in orthopedics. *Journal of Orthopaedic Research*, 25(1): 11–22.
- [22] Kreis, T. and Vale, R. 1999. *Guidebook to the Extracellular Matrix, Anchor, and Adhesion Proteins*, Oxford: Oxford University Press.
- [23] Lopes, M.A., Monteiro, F.J., Santos, J.D. et al. 1999. Hydrophobicity, surface tension, and zeta potential measurements of glass-reinforced hydroxyapatite composites. *Journal of Biomedical Materials Research*, 45(4): 370–375.
- [24] Howlett, C.R., Evans, D.M.M., Walsh, W.R. et al. 1994. Mechanism of initial attachment of cells derived from human bone to commonly used prosthetic materials during cell culture. *Biomaterials*, 15(3): 213–222.
- [25] Garcia, A.J., Ducheyne, P., and Boettigert, D. 1997. Cell adhesion strength increases linearly with adsorbed fibronectin surface density. *Tissue Engineering*, 3(2): 197–206.
- [26] Garcia, J.A., Duecheyne, P., and Boettiger, D. 1998. Effect of surface reaction stage on fibronectin-mediated adhesion of osteoblast-like cells to bioactive glass. *Journal of Biomedical Materials Research*, 40(1): 48–56.
- [27] Lehenkari, P.P. and Horton, M.A. 1999. Single integrin molecule adhesion forces in intact cells measured by atomic force microscopy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 259: 645–650.
- [28] Sinha, R.K. and Tuan, R.S. 1996. Regulation of human osteoblast integrin expression by orthopedic implant materials. *Bone*, 18: 451–457.
- [29] Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H. et al. 2000. Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research*, 51(3): 475–483.
- [30] Hasenbein, M.E., Andersen, T.T., and Bizios, R. 2002. Micropatterned surfaces modified with select peptides promote exclusive interactions with osteoblasts. *Biomaterials*, 23(19): 3937–3942.

- [31] Aota, S., Nomizu, M., and Yamada, K.M. 1994. The short amino acid sequence Pro-His-Ser-Arg-Asn in human fibronectin enhances cell-adhesive function. *Journal of Biological Chemistry*, 269: 24756–24761.
- [32] Rezania, A. and Healy, K.E. 1999. Biomimetic peptide surfaces that regulate adhesion, spreading, cytoskeletal organization, and mineralization of the matrix deposited by osteoblast-like cells. *Biotechnology Progress*, 15: 19–32.
- [33] Puleo, D.A. and Bizios, R. 1992. Mechanisms of fibronectin mediated attachment of osteoblasts to substrates in vitro. *Bone and Mineral*, 18: 215–226.
- [34] American Academy of Orthopedic Surgeons, Agency for Healthcare Research and Quality, Total hospitalization costs for hip replacements. [http://www.aaos.org/Research/stats/Total %20Hospital %20Charges %20for %20Hip %20Replacement %20Chart.pdf](http://www.aaos.org/Research/stats/Total%20Hospital%20Charges%20for%20Hip%20Replacement%20Chart.pdf)
- [35] American Academy of Orthopedic Surgeons. Number of total hip replacement surgeries. National Hospital Discharge Survey, 1991–2004. [http://www.aaos.org/Research/stats/Total %20Hip %20Replacement %20Chart.pdf](http://www.aaos.org/Research/stats/Total%20Hip%20Replacement%20Chart.pdf)
- [36] American Academy of Orthopedic Surgeons, Number revision hip replacement, procedures. National Hospital Discharge Survey, 1991–2004. [http://www.aaos.org/Research/stats/Hip %20Revision %20Chart.pdf](http://www.aaos.org/Research/stats/Hip%20Revision%20Chart.pdf)
- [37] American Academy of Orthopedic Surgeons, Facts on hip replacement. National Hospital Discharge Survey. 2004. [http://www.aaos.org/Research/stats/Hip %20Facts.pdf](http://www.aaos.org/Research/stats/Hip%20Facts.pdf)
- [38] Dowson, D. 2001. New joints for the millennium: Wear control in total replacement hip joints. *Proceedings of the Institute of Mechanical Engineers. Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 215(4): 335–358.
- [39] Hastings, G.W. 1980. Biomedical engineering and materials for orthopaedic implants. *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, 13: 599–607.
- [40] Akay, M. and Aslan, N. 1996. Numerical and experimental stress analysis of a polymeric composite hip joint prosthesis. *Journal of Biomedical Materials Research*, 31(2): 167–182.
- [41] Jacob, H.A.C., Bereiter, H.H., and Buergi, M.L. 2007. Design aspects and clinical performance of the thrust plate hip prosthesis. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 221(1): 29–37.
- [42] Huiskes, R. and Boeklagen, R. 1989. Mathematical shape optimization of hip prosthesis design. *Journal of Biomechanics*, 22(8–9): 793–804.
- [43] Nunn, D., Freeman, M.A., Hill, P.F. et al. 1989. The measurement of migration of the acetabular component of hip prostheses. *Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, 71B(4): 629–631.
- [44] Burke, D.W., O'Connor, D.O., Zalenski, E.B. et al. 1991. Micromotion of cemented and uncemented femoral components. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 73B(1): 33–37.
- [45] Charnley, J. and Kettlewell, J. 1965. The elimination of slip between prosthesis and femur. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 47B(1): 56–60.
- [46] Mjoberg, B. 1986. Loosening of the cemented hip prosthesis. The importance of heat injury. *Acta Orthopaedica Scandinavica. Supplementum*, 221: 1–40.
- [47] Gladius, L. 1997. Properties of acrylic bone cement: state of the art review. *Journal of Biomedical Materials Research*, 38(2): 155–182.
- [48] Schmalzried, T.P. and Callaghan, J.J. 1999. Current concepts review wear in total hip and knee replacements. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 81A(1): 115–136.
- [49] Dumbleton, J.H., Manley, M.T., and Edidin, A.A. 2002. A literature review of the association between wear rate and osteolysis in total hip arthroplasty. *The Journal of Arthroplasty*, 17(5): 649–661.
- [50] Ingham, E. and Fisher, J. 2000. Biological reactions to wear debris in total joint replacement. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 214(1): 21–37.

- [51] Dowson, D. 2001. New joints for the millennium: Wear control in total replacement hip joints. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers*, 215(4): 335–358.
- [52] Dumbleton, J.H. and Mantley, M.T. 2005. Metal-on-metal total hip replacement. What does the literature say? *The Journal of Arthroplasty*, 20(2): 174–188.
- [53] Buscher, R., Tager, G., Dudzinski, W. et al. 2005. Subsurface microstructure of metal-on-metal hip joints and its relationship to wear particle generation. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 72B(1): 206–214.
- [54] Anderson, J.M., 1993. Mechanisms of inflammation and infection with implanted devices. *Cardiovascular pathology*, 2(3):33–41.
- [55] Anderson, J.M., Gristina, A.G., Hanson, S.R. et al. 1996. Host reactions to biomaterials and their evaluation. In: *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, eds. Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, A.S., and Lemons, J.E., pp. 165–214, San Diego: Academic Press, Inc.
- [56] Webster, T.J. 2003. Improved bone tissue engineering materials. *American Ceramic Society Bulletin*, 82(6): 23–28.
- [57] Roco, M.C. 2003. Nanotechnology: Convergence with modern biology and medicine. *Current Opinion in Biotechnology*, 14: 337–346.
- [58] Nel, A., Xia, T., Madler, L. et al. 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311: 622–627.
- [59] Ferrar, M. 2005. Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges. *Nature Reviews Cancer*, 5(3): 161–171.
- [60] Lu, Y. and Chen, S.C. 2004. Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(11): 1621–1633.
- [61] Cohen, H., Levy, R.J., Gao, J. et al. 2000. Sustained delivery and expression of DNA encapsulated in polymeric nanoparticles. *Gene Therapy*, 7: 1896–1905.
- [62] Smith, L.A. and Ma, P.X. 2004. Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 39: 125–131.
- [63] Kobayashi, H. and Brechbiel, M.W. 2005. Nano-sized MRI contrast agents with dendrimer cores. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57: 2271–2286.
- [64] Thalhammer, S. and Heckl, W.M. 2004. Nanotechnology and medicine. *4th IEEE Conference on Nanotechnology*, 577–579.
- [65] Webster, T.J. and Ahn, E.A. 2006. Nanostructured biomaterials for tissue engineering bone. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 103: 275–308.
- [66] Ioku, Y., Yoshimura, M., and Somiya, S. 1990. Microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite ceramics with zirconia dispersion prepared by post-sintering. *Biomaterials*, 11(1): 57–61.
- [67] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 2001. Enhanced surface and mechanical properties of nanophase ceramics to achieve orthopaedic/dental implant efficacy. *Key Engineering Materials*, 192–195: 321–324.
- [68] Balania, K., Andersonb, R., Lahaa, T. et al. 2007. Plasma-sprayed carbon nanotube reinforced hydroxyapatite coatings and their interaction with human osteoblasts in vitro. *Biomaterials*, 28(4): 618–624.
- [69] Shi, X., Hudson, J.L., Spicer, P.P. et al. 2006. Injectable nanocomposites of single-walled carbon nanotubes and biodegradable polymers for bone tissue engineering. *Biomacromolecules*, 7(7): 2237–2242.
- [70] Wang, X., Li, Y., Wei, J. et al. 2002. Development of biomimetic nano-hydroxyapatite/poly (hexamethylene adipamide) composites. *Biomaterials*, 23(24): 4787–4791.
- [71] Ahn, E.S., Gleason, N.J., and Ying, J.Y. 2005. The effect of zirconia reinforcing agents on the microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite-based nanocomposites. *Journal of the American Ceramic Society*, 88(12): 3374–3379.

- [72] McManus, A.J., Doremus, R.H., Siegel, R.W. et al. 2005. Evaluation of cytocompatibility and bending modulus of nanoceramic/polymer composites. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 72(1): 98–106.
- [73] Turell, M. and Bellare, A. 2007. A USAXS study of dispersion of barium sulfate particles in polymethylmethacrylate bone cement, <http://aps.anl.gov/>
- [74] Gomoll, A.H., Bellare, A., Fitz, W. et al. 1999. Nano-composite poly(methyl-methacrylate) bone cement, MRS Fall Meeting; Nanophase and Nanocomposite Materials II: 399–404.
- [75] Hu, Q., Li, B., Wang, M. et al. 2004. Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: A potential material as internal fixation of bone fracture. *Biomaterials*, 25(5): 779–785.
- [76] Martínez, M.E., Medina, S., Campo, M.T.D. et al. 1998. Effect of polyethylene particles on human osteoblastic cell growth. *Biomaterials*, 19(1–3): 183–187.
- [77] Vermes, C., Chandrasekaran, R., Jacobs, J.J. et al. 2001. The effects of particulate wear debris, cytokines, and growth factors on the functions of MG-63 osteoblasts. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 83A(2): 201–211.
- [78] Shanbhag, A.S., Jacobs, J.J., Glant, T.T. et al. 1994. Composition and morphology of wear debris in failed uncemented total hip replacement. *Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, 76B(1): 60–67.
- [79] Papageorgiou, I., Brown, C., Schins, R. et al. 2007. The effect of nano- and micron-sized particles of cobalt-chromium alloy on human fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 28(19): 2946–2958.
- [80] Tamura, K., Takashi, N., Akasaka, T. et al. 2004. Effects of micro/nano particle size on cell function and morphology. *Key Engineering Materials*, 254–256: 919–922.
- [81] Lam, C.W., James, J.T., McCluskey, R. et al. 2004. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicology Science*, 77: 126–134.
- [82] Gutwein, L.G. and Webster, T.J. 2005. Increased viable osteoblasts density in the presence of nanophase compared to conventional alumina and titania particles. *Biomaterials*, 25(18): 4175–4183.
- [83] Gutwein, L.G. and Webster, T.J. 2002. Osteoblast and chondrocyte proliferation in the presence of alumina and titania nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 4: 231–238.
- [84] Price, R.L., Haberstroh, K.M., and Webster, T.J. 2004. Improved osteoblast viability in the presence of smaller nanometer dimensioned carbon fibres. *Nanotechnology*, 15: 892–900.
- [85] Shen, M. and Horbett, T.A. 2001. The effects of surface chemistry and adsorbed proteins on monocyte/macrophage adhesion to chemically modified polystyrene surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research*, 57(3): 336–345.
- [86] Liv-Synder, P., Khang, D., and Webster, T.J., Reduced responses of macrophages to nanophase alumina, Unpublished work.
- [87] Huang, J., Best, S.M., and Bonfield, W. 2004. In vitro assessment of the biological response to nanosized hydroxyapatite. *Journal of Materials Science in Medicine*, 15: 441–445.
- [88] Rzigalinski, B.A., Danilisen, I., Strawn, E.T. et al. 2007. Nanoparticles for cell engineering—A radical concept. In: *Nanotechnologies for the Life Sciences, Tissue, Cell and Organ Engineering*, ed., Kumar, C.S.S.R., Volume 9, pp. 361–387, Wiley-VCH.
- [89] Jenney, C.R. and Anderson, J.M. 2000. Adsorbed serum proteins responsible for surface dependent human macrophage behavior. *Journal of Biomedical Materials Research*, 49(4): 435–447.
- [90] Khang, D., Webster, T.J., Unpublished work.
- [91] Oliveira, P.T.D. and Nanci, A. 2004. Nanotexturing of titanium-based surfaces upregulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by culture osteogenic cells. *Biomaterials*, 25(3): 403–413.
- [92] Ward, B.C. and Webster, T.J. 2007. Increased functions of osteoblasts on nanophase metals. *Materials Science and Engineering C*, 27: 575–578.

- [93] Ward, B.C. and Webster, T.J. 2006. The effect of nanotopography on calcium and phosphorus deposition on metallic materials in vitro. *Biomaterials*, 27(16): 3064–3074.
- [94] Webster, T.J. and Ejiofor, J.U. 2004. Increased osteoblast adhesion on nanophase metals: Ti, Ti6Al4V, and CoCrMo. *Biomaterials*, 25(19): 4731–4739.
- [95] Ejiofor, J.U. and Webster, T.J. 2004. Bone cell adhesion on titanium implants with nanoscale surface features. *International Journal of Powder Metallurgy*, 40(2): 43–54.
- [96] Balasundaram, G. and Webster, T.J. 2007. Increased osteoblast adhesion on nanograined Ti modified with KRSR. *Journal of Biomedical Research Part A*, 80(3): 602–611.
- [97] Perla, V. and Webster, T.J. 2005. Better osteoblast adhesion on nanoparticulate selenium—A promising orthopedic implant material. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 75A(2): 356–364.
- [98] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 1998. An in vitro evaluation of nanophase alumina for orthopaedic/dental applications, *Bioceramics 11: Proceedings of the 11th International Symposium on Ceramics in Medicine*, eds. LeGeros, R.Z., LeGeros, J.P., pp. 273–276, New York: World Scientific.
- [99] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 1999. Osteoblast adhesion on nanophase ceramics. *Biomaterials*, 20(13): 1221–1227.
- [100] Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H. et al. 2000. Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics. *Biomaterials*, 21(17): 1803–1810.
- [101] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 1999. Design and evaluation of nanophase alumina for orthopaedic/dental applications. *NanoStructured Materials*, 12: 983–986.
- [102] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 2001. Nanoceramic surface roughness enhances osteoblast and osteoclast functions for improved orthopaedic/dental implant efficacy. *Scripta Materialia*, 44: 1639–1642.
- [103] Price, R.L., Gutwein, L.G., Kaledin, L. et al. 2003. Osteoblast function on nanophase alumina materials: Influence of chemistry, phase, and topography. *Journal of Biomedical Materials Research*, 67: 1284–1293.
- [104] Webster, T.J., Hellenmeyer, E.L., and Price, R.L. 2005. Increased osteoblast functions on thetadelta nanofiber alumina. *Biomaterials*, 26(9): 953–960.
- [105] Palin, E., Liu, H., and Webster, T.J. 2005. Mimicking the nanofeatures of bone increases bone-forming cell adhesion and proliferation. *Nanotechnology*, 16: 1828–1835.
- [106] Swan, E.E.L., Popat, K.C., Grimes, C.A. et al. 2005. Fabrication and evaluation of nanoporous alumina membranes for osteoblast culture. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 72A(3): 288–295.
- [107] Yao, C., Perla, V., McKenzie, J. et al. 2005. Anodized Ti and Ti6Al4V possessing nanometer surface features enhances osteoblast adhesion. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 1(1): 68–73.
- [108] Karlsson, M., Palsgaard, E., Wilshaw, P.R. et al. 2003. Initial in vitro interaction of osteoblasts with nanoporous alumina. *Biomaterials*, 24(18): 3039–3046.
- [109] Yao, C. and Webster, T.J. 2006. Anodization: A promising nano-modification technique of titanium implants for orthopedic applications. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6(9–10): 2682–2692.
- [110] Price, R.L., Haberstroh, K.M., and Webster, T.J. 2003. Enhanced functions of osteoblasts on nanostructured surfaces of carbon and alumina. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 41: 372–375.
- [111] Price, R.L., Gutwein, L.G., Kaledin, L. et al. 2003. Osteoblast function on nanophase alumina materials: Influence of chemistry, phase and topography. *Journal of Biomedical Materials Research*, 67(4): 1284–1293.
- [112] Balasundaram, G., Sato, M., and Webster, T.J. 2006. Using hydroxyapatite nanoparticles and decreased crystallinity to promote osteoblast adhesion similar to functionalizing with RGD. *Biomaterials*, 27(14): 2798–2805.

- [113] Sato, M., Sambito, M.A., Aslani, A. et al. 2006. Increased osteoblast functions on undoped and yttriumdoped nanocrystalline hydroxyapatite coatings on titanium. *Biomaterials*, 27(11): 2358–2369.
- [114] Balasundaram, G. and Webster, T.J. 2006. Hydroxyapatite coated magnetic nanoparticles for the treatment of osteoporosis. Presented at the BMES Meeting, Chicago, IL.
- [115] Lee, S.H. and Kim, H.E. 2007. Nano-sized hydroxyapatite coatings on Ti substrate with TiO₂ buffer layer by e-beam deposition. *Journal of the American Ceramic Society*, 90(1): 50–56.
- [116] Wang, Z.C., Chen, F., Huang, L.M. et al. 2005. Electrophoretic deposition and characterization of nanosized hydroxyapatite particles. *Journal of Materials Science*, 40(18): 4955–4957.
- [117] Li, P., 2003. Biomimetic nano-apatite coating capable of promoting bone ingrowth. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 66A(1): 79–85.
- [118] Sato, M., An, Y.H., Slamovich, E.B. et al. 2008. Increased osteointegration for tantalum scaffolds coated with nanophase compared to conventional hydroxyapatite. *International Journal of Nanomedicine*, 2008.
- [119] Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. 2001. Nanoceramic surface roughness enhances osteoblast and osteoclast functions for improved orthopaedic/dental implant efficacy. *Scripta Materialia*, 44: 1639–1642.
- [120] Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H. et al. 2001. Enhanced osteoclast-like cell functions on nanophase ceramics. *Biomaterials*, 22(11): 1327–1333.
- [121] Colon, G., Ward, B.C., and Webster, T.J. 2006. Increased osteoblast and decreased *Staphylococcus epidermidis* functions on nanophase ZnO and TiO₂. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 78A(3): 595–604.
- [122] Norman, J.J. and Desai, T.A. 2006. Methods for fabrication of nanoscale topography for tissue engineering scaffolds. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(1): 89–101.
- [123] Pattison, M.A., Wurster, S., Webster, T.J. et al. 2005. Three-dimensional, nano-structured PLGA scaffolds for bladder tissue replacement applications. *Biomaterials*, 26(15): 2491–2500.
- [124] Kay, S., Thapa, A., Haberstroh, K.M. et al. 2002. Nanostructured polymer/nanophase ceramic composites enhance osteoblast and chondrocyte adhesion. *Tissue Engineering*, 8(5): 753–761.
- [125] Miller, D.C., Thapa, A., Haberstroh, K.M. et al. 2004. Endothelial and vascular smooth muscle cell function on poly(lactic-co-glycolic acid) with nano-structured surface features. *Biomaterials*, 25(1): 53–61.
- [126] Park, G.E., Pattison, M.A., Park, K. et al. 2005. Accelerated chondrocyte functions on NaOH-treated PLGA scaffolds. *Biomaterials*, 26(16): 3075–3082.
- [127] Thapa, A., Miller, D.C., Webster, T.J. et al. 2003. Nano-structured polymers enhance bladder smooth muscle cell function. *Biomaterials*, 24(17): 2915–2926.
- [128] Miller, D.C., Thapa, A., Haberstroh, K.M. et al. 2002. Enhanced functions of cells on polymers with nanostructures surfaces. *Proceedings of the Second Joint EMBS/BMES Conference*, Houston, TX, 1: 755–756.
- [129] Wei, G., Jin, Q., Giannobile, W.V. et al. 2007. The enhancement of osteogenesis by nano-fibrous scaffolds incorporating rhBMP-7 nanospheres. *Biomaterials*, 28(12): 2087–2096.
- [130] Pham, Q.P., Sharma, U., and Mikos, A.G. 2006. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: A review. *Tissue Engineering*, 12(5): 1197–1211.
- [131] Tuzlakogu, K., Bolgen, N., Salgado, A.J. et al. 2005. Nano- and micro-fiber combined scaffolds: A new architecture for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16(12): 1099–1104.
- [132] Li, W.J., Tuli, R., Huang, X. et al. 2005. Multilineage differentiation of human mesenchymal stem cells in a three-dimensional nanofibrous scaffold. *Biomaterials*, 26(25): 5158–5166.

- [133] Shin, M., Yoshimoto, H., and Vacanti, J.P. 2004. In vivo bone tissue engineering using mesenchymal stem cells on a novel electrospun nanofibrous scaffold. *Tissue Engineering*, 10(1-2): 33-41.
- [134] Webster, T.J. and Smith, T.A. 2005. Increased osteoblast functions on PLGA composites containing nanophase titania. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 74A(4): 677-686.
- [135] Kay, S., Thapa, A., Haberstroh, K.M. et al. 2002. Nanostructured polymer/nanophase ceramic composites enhance osteoblast and chondrocyte adhesion. *Tissue Engineering*, 8(5): 753-761.
- [136] Liu, H., Slamovich, E.B., and Webster, T.J. 2005. Increased osteoblast functions on (poly-lactic-coglycolic acid) with highly dispersed nanophase titania. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 1(1): 83-89.
- [137] Liu, H., Slamovich, E.B., and Webster, T.J. 2005. Increased osteoblast functions on nanophase titania dispersed in poly-lactic-co-glycolic acid composites. *Nanotechnology*, 16: 601-608.
- [138] Liu, H., Slamovich, E.B., and Webster, T.J. 2006. Increased osteoblast functions among nanophase titania/poly(lactide-co-glycolide) composites of the highest nanometer surface roughness. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 78A(4): 798-807.
- [139] Webster, T.J., Waid, M.C., McKenzie, J.L. et al. 2004. Nano-biotechnology: Carbon nanofibres as improved neural and orthopaedic implants. *Nanotechnology*, 15: 48-54.
- [140] Price, R.L., Haberstroh, K.M., and Webster, T.J. 2002. Increased adhesion on carbon nanofibers/polymer composite materials, *Proceedings of the Second Joint EMBS/BMES Conference*, Houston, TX, 625-626.
- [141] Price, R.L., Waid, M.C., Haberstroh, K.M. et al. 2003. Selective bone cell adhesion on formulations containing carbon nanofibers. *Biomaterials*, 24(11): 1877-1887.
- [142] McKenzie, J.L., Waid, M.C., Shi, R. et al. 2004. Decreased functions of astrocyte on carbon nanofiber materials. *Biomaterials*, 25(7-8): 1309-1317.
- [143] Murugan, R. and Ramakrishna, S. 2005. Development of nanocomposites for bone grafting. *Composites Science and Technology*, 65(15-16): 2385-2406.
- [144] Du, C., Cui, F.Z., Zhu, X.D. et al. 1999. Three-dimensional nano-HAp/collagen matrix loading with osteogenic cells in organ culture. *Journal of Biomedical Materials Research*, 44(4): 407-415.
- [145] Du, C., Cui, F.Z., Feng, Q.L. et al. 1998. Tissue response to nano-hydroxyapatite/collagen composite implants in marrow cavity. *Journal of Biomedical Materials Research*, 42(4): 540-548.
- [146] Liao, S.S., Cui, F.Z., Zhang, W. et al. 2004. Hierarchically biomimetic bone scaffold materials: Nano-HA/collagen/PLA composite. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 69B(2): 158-165.
- [147] Liao, S.S., Cui, F.Z., and Zhu, Y. 2004. Osteoblasts adherence and migration through three dimensional porous mineralized collagen based composite: nHAC/PLA. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 19(2): 117-130.
- [148] Wei, G. and Ma, P.X. 2004. Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 25(19): 4749-4757.
- [149] Piconi, C. and Maccauro, G. 1999. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials*, 20(1): 1-25.
- [150] Evis, Z., Sato, M., and Webster, T.J. 2006. Increased osteoblast adhesion on nanograined hydroxyapatite and partially stabilized zirconia composites. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 78A(3): 500-507.
- [151] Kong, Y.M.K., Bae, C.J., Lee, S.H. et al. 2005. Improvement in biocompatibility of ZrO₂-Al₂O₃ nanocomposite by addition of HA. *Biomaterials*, 26(5): 509-517.
- [152] Elias, K.L., Price, R.L., and Webster, T.J. 2002. Enhanced functions of osteoblasts on nanometer diameter carbon fibers. *Biomaterials*, 23(15): 3279-3287.

- [153] Khang, D., Sato, M., Price, R.L. et al. 2006. Selective adhesion and mineral deposition by osteoblasts on carbon nanofibers patterns. *International Journal of Nanomedicine*, 1(1): 65–72.
- [154] Khang, D., Sato, M., and Webster, T.J. 2005. Directed osteoblast functions on micro-aligned patterns of carbon nanofibers on a polymer matrix. *Advanced Materials Science*, 3(10): 205–208.
- [155] Aoki, N., Yokoyama, A., Nodasaka, Y. et al. 2006. Strikingly extended morphology of cells grown on carbon nanotubes. *Chemistry Letters*, 25(5): 508–509.
- [156] Zanello, L.P. 2006. Electrical properties of osteoblasts cultured on carbon nanotubes. *Micro & Nano Letters*, 1(1): 19–22.
- [157] Tsuchiya, N., Sato, Y., Aoki, N. et al. 2007. Evaluation of multi-walled carbon nanotube scaffolds for osteoblast growth. *AIP Conference Proceedings*, 4th International Workshop on Water Dynamics, 898: 166–169.
- [158] George, J.H., Shaffer, M.S., and Stevens, M.M. 2006. Investigating the cellular response to nanofibrous materials by use of a multi-walled carbon nanotube model. *Journal of Experimental Nanoscience*, 1(1): 1–12.
- [159] Zanello, L.P., Zhao, B., Hu, H. et al. 2006. Bone cell proliferation on carbon nanotubes. *Nanoletters*, 6(3): 562–567.
- [160] Price, R.L., Ellison, K., Haberstroh, K.M. et al. 2004. Nanometer surface roughness increases select osteoblast adhesion on carbon nanofibers compacts. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 70A(1): 129–138.
- [161] Sato, M. and Webster, T.J. 2004. Nanobiotechnology: Implications for the future of nanotechnology in orthopedic applications. *Expert Review of Medical Devices*, 1(1): 105–114.
- [162] Wiesmann, H.P., Hartig, M., Stratmann, U. et al. 2001. Electrical stimulation influences mineral formation of osteoblast-like cells in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta—Molecular Cell Research*, 1538(1): 28–37.
- [163] Supronowicz, P.R., Ajayan, P.M., Ullmann, K.R. et al. 2001. Novel current-conducting composite substrates for exposing osteoblasts to alternating current stimulation. *Journal of Biomedical Materials Research*, 59(3): 499–506.
- [164] Thomas, J.B., Peppas, N.A., Sato, M. et al. 2006. Nanotechnology and biomaterials. In: *CRC Nanomaterials Handbook*, ed. Gogotsi, Y., pp. 605–636, Boca Raton, CRC Press.
- [165] Chun, A.L., Moralez, J.G., Webster, T.J. et al. 2005. Helical rosette nanotubes: A biomimetic coating for orthopedics? *Biomaterials*, 26(35): 7304–7309.
- [166] Chun, A.L., Moralez, J.G., Fenniri, H. et al. 2004. Helical rosette nanotubes: A more effective orthopaedic implant material. *Nanotechnology*, 15: 234–239.

تعديل سطح المواد الحيوية في المستوى النانوي:

حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا

من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة

Surface Modification of Biomaterials at Nanoscale: Biomimetic Scaffolds for Tissue Engineering Application

Duron A. Lee and Cato T. Laurencin

المحتويات CONTENTS

٢٥٤.....	INTRODUCTION مقدمة (٦, ١)
٢٥٦.....	EXTRACELLULAR MATRIX المصفوفة خارج الخلية (٦, ٢)
٢٥٧.....	CELLULAR ADHESION TO IMPLANTED BIOMATERIALS الالتصاق الخلوي بالمواد الحيوية المزروعة (٦, ٣)
	BIOMIMETIC SCAFFOLDS FOR حاملات الخلايا والأنسجة المحاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة (٦, ٤)
٢٥٩.....	TISSUE ENGINEERING
٢٦١.....	Proteins Versus Peptides البروتينات مقابل الببتيدات (٦, ٤, ١)
	RGD-Derived Oligopeptide أجزاء قلبية الببتيد المشتقة من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (٦, ٤, ٢)
٢٦٢.....	Fragments
	Design Strategy For Fabricating إستراتيجية التصميم لتصنيع مواد محاكية حيويًا (٦, ٤, ٣)
٢٦٥.....	Biomimetic Materials

Physical Immobilization of Bioactive المواد	(٦,٤,٣,١)
Peptides to Material Surfaces	٢٦٥
Chemical Immobilization of Bioactive المواد	(٦,٤,٣,٢)
Peptides to Material Surfaces	٢٦٧
Direct Covalent Immobilization of المباشر للتثبيت التساهمي للنشطة حيويًا	(٦,٤,٣,٢,١)
Bioactive Peptides	٢٦٨
Graft Polymerization بلمرة الطعم	(٦,٤,٣,٢,٢)
Effects of Oligopeptide Surface تأثيرات التركيز السطحي والتوزيع السطحي لقليل الببتيد	(٦,٤,٣,٣)
Concentration and Distribution	٢٧٨
BIOMIMETIC SCAFFOLDS حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة القلبية الوعائية	(٦,٥)
FOR CARDIOVASCULAR TISSUE ENGINEERING	٢٨٢
BIOMIMETIC SCAFFOLDS FOR حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة العظمية	(٦,٦)
ORTHOPAEDIC TISSUE ENGINEERING	٢٨٣
BIOMIMETIC SCAFFOLDS FOR حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة العصبية	(٦,٧)
NEURAL TISSUE ENGINEERING	٢٨٥
CONCLUSIONS الاستنتاجات	(٦,٨)
REFERENCES المراجع	٢٨٧

(٦,١) مقدمة INTRODUCTION

هناك وفرة في المواد الحيوية التركيبية والطبيعية التي تحتوي على خصائص مختلفة متاحة من أجل الاستخدام في تطبيقات سريرية وطبية حيوية متنوعة [1]. لقد تم استخدام المواد الحيوية في العديد من الأشكال مثل التعويضات أو البدلات (prostheses) ومواد الطعوم أو مواد الزراعة (implant materials) والمصفوفات (matrices) من أجل هندسة الأنسجة الموجهة (guided tissue engineering) والحساسات الحيوية (biosensors) وأجهزة تدفق السوائل أو الجريانات المايكروية (microfluidic devices) وحاملات الخلايا والأنسجة، وذلك على سبيل المثال لا الحصر [2]. وغالبًا ما تُخدم المواد الحيوية كركائز يمكن أن تلتصق وتهاجر عليها مجموعات الخلايا وتعمل كناقلات لتوصيل الخلايا (cell delivery vehicles) عندما يتم دمجها وزراعتها مع أنواع محددة من الخلايا، ويتم استخدامها كحاملات للأدوية (drug carriers) وذلك لتعزيز وظيفة خلوية معينة في منطقة موضعية محددة [3,4].

إن معظم المواد الحيوية المستخدمة حاليًا تمتلك خصائص ملائمة للتطبيقات التي تُستخدم فيها. فهي غير سامة (nontoxic) وتمتلك استقرارًا بنيويًا وميكانيكيًا وتمتلك خصائص تحلل ملائمة وهي متوافقة حيويًا على نحو كافٍ. في حين أن المواد الحيوية الحالية تلعب دورًا قيمًا في التطبيقات الطبية الحيوية قصيرة الأمد (short - term biomedical applications)، إلا أن الزرع أو الغرس طويل الأجل والدائم (long - term and permanent implantation) قد يشكل مشاكل سلامة ومشاكل ميكانيكية حيوية ومشاكل التهابية هامة. إن التحدي الرئيسي الذي يواجه تطوير الجيل التالي من المواد الحيوية هو الحاجة إلى تحديد أو تخصيص وظيفي بيولوجي (biological functionality) أكثر تعقيدًا وتوافقية حيوية (biocompatibility) مُحسَّنة. وفي محاولة لإنجاز هذه المهام، فقد تطلع العلماء والمهندسون نحو علم البيولوجيا من أجل الأفكار. تحاول المحاكاة البيولوجية (biological mimicry) (أو المحاكاة الحيوية biomimetics) أن تُنمذج الخصائص أو العمليات البيولوجية التي تحدث بشكل طبيعي في الجسم باتجاه تطوير مواد فعالة بيولوجيًا (biologically active materials) ذات خصائص مُعززة. ويمكن دمج الإشارات الجزيئية الحيوية (biomolecular signals) بشكل مباشر على سطح مادة أو ضمن كتلة المادة وذلك من خلال دمج الجزيئات الوظيفية بيولوجيًا (biologically functional molecules) والمشتقة أو المستمدة من البيئة المايكروية البيولوجية (biological microenvironment). وبالتالي؛ يمكن بناء مجموعة متنوعة من الوظائف البيولوجية في المواد من خلال دمج جزيئات حيوية محددة بما في ذلك اللجائن الجزيئية (molecular ligands) من أجل الارتباط مع مستقبلات سطح الخلية (cell surface receptors) أو الإنزيمات لتحفيز التفاعلات (catalyze reactions) أو عوامل نمو البروتين من أجل التوصيل إلى موقع محدد أو المادة الجينية (genetic material) من أجل التعديلات الجينية للخلايا (cell transfections).

تلعب المواد المحاكية حيويًا (biomimetic materials) دورًا خاصًا في إستراتيجيات هندسة الأنسجة. تستخدم هذه الطريقة متعددة الاختصاصات من أجل تصنيع الأنسجة في المختبر مزيًا من حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من مواد حيوية مُهندَسة (engineered biomaterial scaffolds) وخلايا وجزيئات فعالة بيولوجيًا وذلك لتحقيق هذه الغاية. وتعتبر المادة الحيوية حاسمة في هندسة أنسجة قابلة للحياة من أجل زراعتها، ولكونها كذلك، فقد تم تركيز الاهتمام حديثًا على تطوير حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا (biomimetic scaffolds) من أجل هندسة الأنسجة. إن الهدف هو تعديل سطوح المواد الحيوية لتتفاعل بشكل انتقائي مع مستقبلات الخلايا من خلال حالات التعرف الجزيئي الحيوي المحدد (specific biomolecular recognition) وذلك لاستنباط وظائف بيولوجية أو خلوية محددة (على سبيل المثال تعزيز الشفاء أو الالتئام الطبيعي لجرح أو تجديد الأنسجة) [5]. ويمكن الوصول إلى هندسة السلوك الخلوي والنسجي عند سطوح المواد الحيوية في المستوى النانوي وذلك عن طريق تعديل السطوح كيميائيًا باستخدام جزيئات ماكروية (macromolecules) (جزيئات عيانية كبيرة) فعالة بيولوجيًا (على سبيل المثال الببتيدات المشتقة من المصفوفة خارج الخلية ECM) أو تعديل طوبوغرافيا السطح (surface topography) فيزيائيًا عند المستوى النانوي. إن كلا العاملين المتغيرين يلعب دورًا مهمًا في التفاعل بين الخلايا وسطح المادة الحيوية [6].

سنقدم هنا بعض التطورات الحديثة في مجال تطوير حاملة الخلايا والأنسجة المحاكية حيويًا من خلال استكشاف الطرق المختلفة لتعديل سطوح المواد الحيوية. وسنسلط الضوء على الطرق المختلفة لتثبيت عناصر التعرف على الخلايا (cell recognition motifs) بسطوح المواد بشكل كيميائي وفيزيائي في محاولة للحصول على تفاعلات مُتحكَّم بها (controlled interactions) بين الخلايا والركائز الاصطناعية [1,2,7-13].

(٦,٢) المصفوفة خارج الخلية EXTRACELLULAR MATRIX

إن النسيج الغشائي أو المصفوفة خارج الخلية (extracellular matrix - ECM) هي كيان ذو بنية معقدة تحيط بالخلايا وتدعمها. ويُشار إليها بشكلٍ شائع على أنها المكوّن غير الخلوي (noncellular component) للأنسجة. تتألف المصفوفة خارج الخلية (ECM) من ثلاثة أصناف رئيسية من الجزيئات الحيوية وهي: (١) البروتينات الليفيّة البنيوية (structural fibrillar proteins) (على سبيل المثال الكولاجين والإيلاستين)؛ و (٢) مصفوفة بين ليفية لا بلّوريّة (غير متبلورة) (amorphous interfibrillar matrix) تتكون بشكلٍ أساسي من البروتيوغليكانات. وتُشكل هذه الجزيئات المكونات المعقدة ذات الوزن الجزيئي المرتفع للمصفوفة خارج الخلية (ECM) وهي تتألف من لب أو قلب بروتيني (protein core) مُلتصق به سلاسل طويلة من تكرار وحدات ثنائية السكّاريد (disaccharide)، والتي تُسمّى الغليكوز أمينو غليكانات (glycosaminoglycans - GAGs)؛ و (٣) بروتينات متخصصة (specialized proteins) (على سبيل المثال الفيبريلين (fibrillin) والفيبرونيكتين (fibronectin) واللامينين (laminin)). وبشكلٍ عام تكون الأنسجة الغشائية أو المصفوفات خارج الخلية (ECMs) متخصصة من أجل وظيفة معينة. وقد تكون المصفوفة مُعدنة (mineralized) لتقاوم الانضغاط (العظم مثلاً) أو يهيمن عليها ألياف مقاومة للتوتر أو الشد (tension) (الأوتار مثلاً).

يمكن لتركيب بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) أن يكون له تأثيرات مباشرة وعميقة على السلوك الخلوي (cellular behavior) لأن كثيراً من هذه الجزيئات البروتينية هي محددة لنوعية الأنسجة والخلايا بشكلٍ عالٍ. وتعتبر تأثيرات جزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM) على الخلايا هامة في نقل المحفزات الميكانيكية (mechanical stimuli) والمحفزات الكيميائية (chemical stimuli) للتأثير على الشكل الخلوي (cellular shape) والانتشار (spreading) والنمو؛ وعلى تنظيم الهيكل الخلوي الأكتيني (actin cytoskeleton)؛ وعلى نشاط الانّساح (transcription activity) والمحافظة على تمايز الخلايا (cell differentiation) [14-18]. وقد تبين أن التفاعل التآزريّ (synergistic interaction) بين جزيئات المصفوفة تلك وعوامل النمو يُنظم أيضاً سلوك الخلايا. ترتبط عوامل النمو بالمصفوفة خارج الخلية (ECM) من خلال السلاسل الجانبية للغليكوز أمينو غليكانات أو النوى البروتينية، مما يزيد من استقرار عامل النمو ويوفر البيئة المايكروية الخلوية (cellular microenvironment) المناسبة من أجل تنظيم تكاثر وتمايز الخلايا.

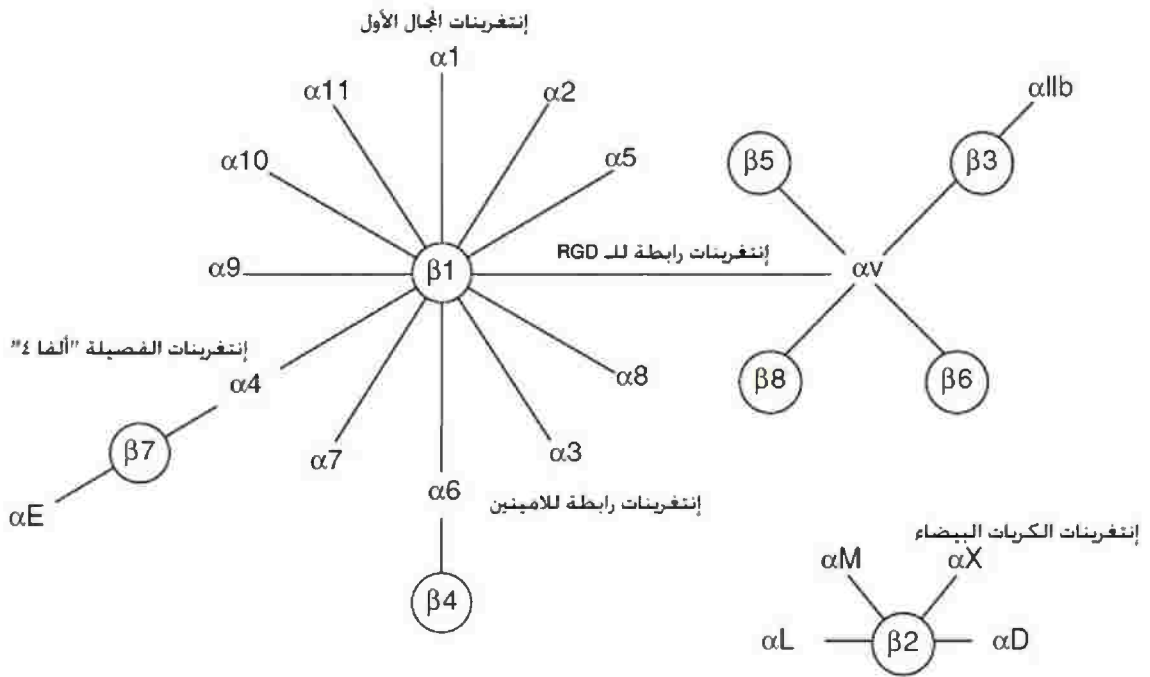
لا يمكن التأكيد على أهمية المصفوفة خارج الخلية (ECM) بما فيه الكفاية. يعتبر التفاعل في المستوى النانوي بين الخلايا والمصفوفة خارج الخلية (ECM) أساسياً من أجل العديد من الأنظمة البيولوجية الأساسية المختلفة [19-23]. إن دمج مكونات المصفوفة خارج الخلية (ECM) مع مستقبلات سطح الخلية والتنبُّغ أو التبادل (transduction) المتتابع للإشارات

عبر غشاء الخلية (cell membrane) يخدم في تغيير سلوك الخلية والمصير التطويري [24,25]. وبالتالي فإن الاضطرابات في المصفوفة خارج الخلية (ECM) يمكن أن تؤدي إلى نمو خلايا غير مُتحكم به ويمكن للتدمير التطويري (developmental destruction) للمصفوفة خارج الخلية (ECM) أثناء التطوير أن يؤدي إلى موت الأنسجة.

(٦,٣) الالتصاق الخلوي بالمواد الحيوية المزروعة CELLULAR ADHESION TO IMPLANTED BIOMATERIALS

تُشكل البروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) في جميع الأنسجة الأصلية وهي موجودة في جميع سوائل الجسم. وفي حين أن العديد منها موجود في شكل قابل للذوبان، إلا أن بروتينات أخرى موجودة ضمن مصفوفة الأنسجة خارج الخلية (ECM) المرتبطة بشكل متشابك والتي تكون على درجة عالية من التنظيم [26]. تمتلك الخلايا قدرة هائلة على إعادة نمذجة أو تشكيل (remodel) بيئة المصفوفة خارج الخلية (ECM) الخاصة بها [27] وذلك عن طريق إزالة البروتينات بواسطة تحلل البروتين (proteolysis) وإضافة بروتينات عن طريق التركيب (synthesis) والإفراز (secretion) وربط البروتينات بشكل متشابك (cross-linking) عن طريق الإنزيمات المرتبطة بالغشاء [28]. وعندما يتم زرع المواد الحيوية في الجسم الحي [29]، فإن ذوباناً غير نوعي (nonspecific soluble) وامتصاصاً لبروتين المصفوفة خارج الخلية (ECM protein absorption) يحدث فوراً على السطح [5]. وتترتب مجموعة كبيرة من البروتينات ذات السلسلة الطويلة على سطح المادة الحيوية في اتجاهات مختلفة وفي تشكيلات ثلاثية الأبعاد (3D) تتراوح من الأشكال الأصلية (native forms) إلى الأشكال الممتسخة (denatured forms).

تفاعل الخلايا بشكل غير مباشر مع سطح المادة الحيوية من خلال الطبقة الممتزة أو الممتصة (adsorbed layer) لبروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) [30]، ويتم توسط عملية الربط بواسطة التفاعلات مع مستقبلات سطح الخلية. من بينها، فصيلة الإنتغرين (integrin superfamily) التي تعتبر فئة هامة من مستقبلات سطح الخلية، والتي تلعب دوراً مهماً في الالتصاق الخلوي (cellular adhesion) على سطوح المواد الحيوية. وبالإضافة إلى دورها الرئيسي كجزيئات تثبيت (anchoring molecules)، فإن الإنتغرينات تشارك أيضاً في عمليات خلوية هامة مثل تنظيم الأنسجة وهجرة الخلايا أثناء مرحلة التطور الجنيني والتميز الخلوي والاستجابات المناعية والالتهابية [31-33]. إن الإنتغرينات هي عبارة عن مُتَنَوِّيات مُغَايَرة (heterodimers) مؤلفة من وحدتين فرعيتين عَبرَ غِشَائِيَّتَيْنِ (transmembrane) وهي: وحدة ألفا (α) الفرعية الكبيرة، والتي تحتوي على عدة مواقع رابطة للكاتيون (cation - binding sites)، ووحدة بيتا (β) الفرعية الأصغر مُجمَّعة معاً بشكل غير تساهمي (noncovalently) في وجود شوارد الكالسيوم (Ca^{2+}) خارج الخلية. وهناك العديد من الفصائل أو العوائل الفرعية للإنتغرينات، مُعرَّفة على نطاقٍ واسعٍ عن طريق وحدات بيتا (β) الفرعية التابعة لها. ومع أكثر من ١٨ وحدة ألفا (α) فرعية و ٨ وحدات بيتا (β) فرعية، فإن باستطاعة جزيئات الإنتغرين التجمع لتشكيل ما لا يقل عن ٢٤ من المُتَنَوِّيات الإنتغرينية المُغَايَرة المختلفة [34]. إن تركيب المُتَنَوِّيات المُغَايَرة ألفا بيتا ($\alpha\beta$) يحدد أيضاً تحديديّة الإنتغرين اتجاه لجائين بروتين مصفوفة خارج خلية (ECM) مختلفة. إن بعض التركيبات تكون محددة للغاية، في حين تُظهر تركيبات أخرى اختلاطاً باتجاه لجائين متعددة. وعلى العكس، فإن العديد من بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) تعمل بمثابة لجائين لجزيئات إنتغرينية (integrin molecules) عديدة (الشكل رقم ٦,١) [35].



الشكل رقم (١، ٦). فصيلة الإنتغرينات (Integrin superfamily).

تشارك الإنتغرينات في عملية تثبيت الخلايا فضلاً عن نقل أو تبادل الإشارات داخل الخلايا (intracellular signals) عبر غشاء الخلية [36,37]، وتشارك في العديد من التغييرات التكوينية (conformational changes) في جزيئات الإنتغرينات [38]. إن هناك تتالي مُنظم من الأحداث المتداخلة جزئياً والذي يميز التصاق الخلايا بواسطة الإنتغرين [39]. أولاً، تلتصق الخلايا في البداية ببروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) من خلال الربط المحدود للجين والذي يسمح للخلايا بتحمل قوى القص المنخفضة. ومن ثم تبدأ سيتوبلازم أو هيولى الخلية (cell cytoplasm) بالانتشار عبر الركيزة (substratum) عندما تتسطح الخلايا في المورفولوجيا أو الشكل (flatten in morphology). تنظم البروتينات الهيكلية الخلوية مثل إف - أكتين (F-actin) في حزم خيطية مايكروية (microfilamentous) معروفة باسم ألياف الإجهاد (stress fibers). وأخيراً، تقوم الإنتغرينات العُنقودية (clustered integrins) وبلاشتراك مع جزيئات أخرى مثل الجزيئات العُصارية الخلوية (cytosolic)، والجزيئات عبر الغشائية والجزيئات المرتبطة بالغشاء بتشكيل اتصالات التصاق بُؤرية (focal adhesion contacts) بين الخلية والركيزة [40-43]. يتم ربط وحدة بيتا (β) الفرعية بالإف - أكتين بواسطة بروتينات رابطة للأكتين (على سبيل المثال: الفينكولين (vinculin) والتالين (talins) والتنسيون (tension) والألفا أكتينين (α-actinin) والباكسيلين (paxillin))، والتي تعمل على ربط بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) بالهيكل الخلوي الأكتيني (actin cytoskeleton) للخلايا. يشارك المجال العُصاري الخلوي (cytosolic domain) لوحدة بيتا (β) الفرعية للإنتغرين أيضاً في تبادل الإشارة وذلك من خلال الربط مع مركب معقد من جزيئات نقل

الإشارة مؤلف من إنزيمات الكيناز (kinases) وإنزيمات الفوسفاتاز (phosphatases) والبروتينات المحوّلة (adaptor proteins) الأخرى. وبشكل خاص، يتم استهداف إنزيم الكيناز للاتصاق البُؤريّ من أجل الالتصاقات البُؤريّة، حيث يرتبط مع هيكل الخلية (cytoskeleton) ويتم تفعيله عن طريق عملية الفسّفة الذاتية (autophosphorylation) (وهي إدخال زمرة فسفات إلى الجزيء). وتظهر أحداث نقل الإشارات في اتجاه مجرى التدفق كنتيجة لذلك، مما يؤدي إلى تفعيل إنزيمات الكيناز المنظّمة بواسطة الإشارة خارج الخلية (extracellular signal regulated kinases - ERK)، وتفعيل إنزيمات الكيناز البروتينية المفعّلة بالميتوجين (mitogen - activated protein kinases - MAPK)، وتفعيل إنزيمات الـ (GTPases) [36,44,45]. وتُترجم النتيجة النهائية في تنظيم عملية التمايز وتنظيم الهيكل الخلوي ومفاهيم أخرى من السلوك الخلوي [46].

(٦،٤) حاملات الخلايا والأنسجة المحاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة BIOMIMETIC SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING

عندما تتضرر أو تُصاب الأنسجة أو الأعضاء الأصلية بشكلٍ بالغ، فإن العلاج المثالي هو أن تُستبدل الأنسجة المصابة بأنسجة أخرى تقوم بوظيفتها من الناحيتين البنوية والبيولوجية. إن إستراتيجيات العلاج الحالية، بما في ذلك الجراحات الترميمية (reconstruction surgeries) وزرّع الأنسجة والأعضاء (tissue and organ transplantation)، يمكن أن تؤدي في كثير من الأحيان إلى نتائج غير كافية ومؤقتة. وفي محاولة لمعالجة البدائل المحدودة المستخدمة حاليًا لاستبدال البنية والوظيفة النسيجية والعضوية المفقودة، وفي نفس الوقت العثور على بدائل مجدية للزرع الجزئي والكامل للأعضاء، فقد تم تطوير إستراتيجيات نسيجية جديدة [47-50]. لقد تم تقديم مصطلح هندسة الأنسجة للمرة الأولى في لقاء المؤسسة الوطنية للعلوم (National Science Foundation) في عام ١٩٨٧ وتم تعريفه في وقت لاحق على أنه "مجال متعدد التخصصات يُطبق مبادئ وطرق الهندسة وعلوم الحياة نحو الفهم الأساسي... وتطوير البدائل البيولوجية (biological substitutes) لاستعادة أو الحفاظ على أو تحسين وظائف أنسجة [بشرية] أو عضو كامل" [51-56]. إضافة إلى تعريف هندسة الأنسجة وهو "فهم مبادئ نمو الأنسجة، وتطبيق هذا الفهم لإنتاج أنسجة وظيفية بديلة من أجل الاستخدام السريري" [57]. لقد قام Laurencin وآخرون بوصف هندسة الأنسجة من ناحية أخرى على أنها "تجميع المبادئ البيولوجية والكيميائية والهندسية باتجاه إصلاح واستعادة واستبدال الأنسجة، باستخدام الخلايا وحاملات الخلايا والأنسجة والعوامل البيولوجية كل على حده أو مجتمعة معًا" [54].

إن المبدأ الأساسي لهندسة الأنسجة هو التطبيق والتحكم الموجه للخلايا والمواد والبيئة المايكروية التي تُوزع فيها الخلايا [58]. في واحدة من طرق هندسة الأنسجة، يمكن إنشاء الأنسجة أو الأعضاء في الجسم الحي أو في المختبر أو خارج الجسم الحي وزرعها في جسم المريض [59]. ولكي يحدث هذا، فإن هناك عمومًا ثلاثة عناصر تُستخدم في طريقة هندسة الأنسجة لتصنيع أنسجة بيولوجية وهي: (١) خلايا سريعة الاستجابة وقادرة على البقاء على قيد الحياة؛ و (٢) حاملة خلايا وأنسجة لدعم تشكيل الأنسجة؛ و (٣) محفز يحث على النمو (growth - inducing stimulus). يجب أن يحتوي موقع ترميم أو إعادة بناء الأنسجة (tissue reconstruction) أولاً عددًا كافيًا من خلايا السلف القابلة للبقاء على قيد الحياة (viable progenitor cells)

والقادرة على إنتاج النسيج المرغوب فيه. إذا كان عدد الخلايا غير كافٍ، فيجب هندسة الموقع بحيث يقوم بتوفير الأعداد الضرورية من الخلايا أو توفير بعض المحفزات لتعزيز الأعداد الضرورية من الخلايا في موقع الترميم أو إعادة البناء (reconstruction site) [60]. ثانياً، ينبغي أن يتم ملء موقع إعادة البناء بحاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد تسهل التصاق وهجرة وتكاثر الخلايا. وينبغي أن تسمح أيضاً بتركيب بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) ونشوب أو نمو الأنسجة (ingrowth of tissue) في جميع أنحاء الموقع. ثالثاً، يجب أن تتلقى الخلايا في موقع التطعيم المحفزات المناسبة على شكل جزيئات قابلة للذوبان ونشطة حيويًا (على سبيل المثال، عوامل النمو والسيتوكينات (cytokines) والهرمونات) التي من شأنها أن تؤثر على النمط الظاهري للخلايا (cell phenotype) وتعزيز النتيجة النهائية لتشكيل الأنسجة في موقع التطعيم [61,62].

إن زراعة خلايا معزولة على حاملة خلايا وأنسجة مصنوعة من مادة حيوية، على أن يتم زرعها لاحقاً في النسيج المستهدف من أجل تجديده [63]، هو المفهوم الأساسي لهندسة الأنسجة. وعلى هذا النحو، فإن المادة الحيوية تلعب دوراً مهماً في معظم إستراتيجيات هندسة الأنسجة [64]. ولذلك، فقد تم إبراز أهمية اختيار المواد الحيوية المناسبة التي يمكن أن تكون بمثابة حاملات خلايا وأنسجة من أجل الالتصاق والتكاثر والتمايز الخلوي في الكثير من بحوث هندسة الأنسجة [19]. إن هناك عدداً لا يحصى من المواد التي تُوجد بشكل طبيعي والمواد الاصطناعية التي يتم استخدامها حالياً في التطبيقات السريرية والطبية الحيوية، بما في ذلك المعادن والسيراميك والبوليمرات والزجاج الحيوي والمواد المركبة. وقد تم تصنيع أو تركيب أو معالجة الكثير من المواد الحيوية في مجموعة متنوعة الأشكال والصيغ من أجل تطبيقات محددة تتطلب منها التفاعل مع الأنظمة البيولوجية. وفي حين أن هناك العديد من المواد الاصطناعية المتاحة من أجل هندسة الأنسجة، إلا أن هناك مشكلة واحدة متكررة موجودة في المواد الحيوية المزروعة وهي التفاعل غير الكافي (inadequate interaction) بين الخلايا والركيزة. إن التفاعل الضعيف بين الخلايا - والركيزة يمكن أن يؤدي إلى عدد من المشاكل بما في ذلك: التليف في الجسم الحي (in vivo fibrosis) وتكيس أو تمحفظ الطعم المزروع (implant encapsulation) ورد فعل الجسم الغريب (foreign body reaction) والالتهاب والتفكك العقيم (aseptic loosening) والارتشاف الموضعي للأنسجة (local tissue resorption) [65].

وفي محاولة لتجاوز هذه المشكلات، فقد تركّز تطوير المواد الحيوية من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة في الآونة الأخيرة على تصميم مواد محاكية حيويًا. إن تصميم المواد المحاكية حيويًا هو محاولة لمحاكاة النشاط البيولوجي للبيئة المايكروية الأصلية خارج الخلية وإنشاء مواد تكون قادرة على استنباط (eliciting) أو تعديل (modulating) استجابات بيولوجية محددة والتوجيه نحو تشكيل أنسجة جديدة في الجسم الحي [66]. وينبغي أن تكون الحاملة المثالية المستخدمة في هندسة الأنسجة بالتالي محاكية إلى أقرب ما يمكن للبيئة الطبيعية للمصفوفة خارج الخلية (ECM)، وذلك في كلٍ من الناحية البنيوية والوظيفية على حدٍ سواء. ويمكن لهذه المحاكاة الحيوية (biomimicry) أن تتحقق من خلال التعرف الجزيئي الحيوي المحدد، والذي يمكن التحكم به عن طريق تغيير تصميم محددات أو بارامترات المادة نفسها [67-69]، بدلاً من أن يتم استخلاصها عن طريق بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) الممزوجة أو الممتصة بشكل غير محدد.

إن الخطوة الأولى في تصميم المواد المحاكية حيويًا هي إدخال مركب جزيئي حيوي إلى المادة. وهناك مجموعة متنوعة وواسعة من الوظائف البيولوجية التي يمكن دمجها في المواد بما في ذلك : عناصر التعرف على الخلايا لتكون بمثابة لجائن من أجل الارتباط مع مستقبلات سطح الخلية ؛ وإنزيمات لتحفيز التفاعلات البيولوجية ؛ وجزيئات حيوية نشطة (على سبيل المثال، عوامل نمو وهرمونات وأجسام مضادة (antibodies) ومستحضرات دوائية (pharmaceuticals)) من أجل التوصيل محدد الموقع ؛ وناقلات الحمض النووي (DNA vectors) وناقلات البلازميد (DNA and plasmid vectors) من أجل التوصيل الجيني وعمليات النقل أو التعديل الجيني الخلوي. [70,71]. تستطيع هذه الجزيئات النشطة حيويًا بمجرد دمجها في المواد الحيوية أن تؤثر بشكل مباشر على مجموعة من الوظائف البيولوجية والاستجابات الخلوية، مثل التصاق وتكاثر وتماييز الخلايا [72,73].

(٦,٤,١) البروتينات مقابل الببتيدات Proteins Versus Peptides

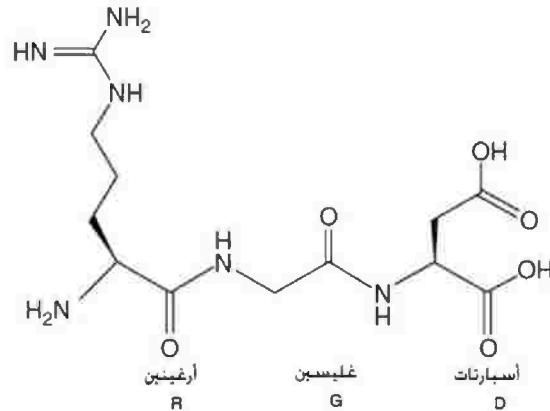
بعض أوائل الأعمال في تطوير السطوح المحاكية حيويًا (biomimetic surfaces) كان يتضمن استخدام البروتينات الموجودة بشكل طبيعي في المصفوفة خارج الخلية (ECM) كطبقات طلاء أو تغطية (coatings) على سطوح المواد، مثل الفبرونيكتين والفيترونيكتين والكولاجين واللامينين [74]. وعلى أي حال، فإن لاستخدام البروتينات ذات السلسلة الطويلة المستمدة من المصفوفة خارج الخلية (ECM) العديد من القيود. إن البروتينات، وبصفة عامة، هي عبارة عن جزيئات كبيرة غير مستقرة يتماسك تشكيلها ثلاثي الأبعاد مع بعضه عن طريق قوى ضعيفة غير تساهمية (weak, noncovalent forces). يتم عزل العديد من البروتينات من مصادر حيوانية، وعلى الرغم من أنه يتم تنقيتها ومعالجتها قبل استخدامها، إلا أنها لا تزال تثير استجابات مناعية (immunological responses) وتزيد من مخاطر العدوى (infections) المصاحبة [75-78]. وبناءً على تثبيت الركيزة (substrate immobilization)، فإن جزءًا فقط من بنية البروتينات الضخمة ذات التشكيلات ثلاثية الأبعاد سيكون في الاتجاه المناسب من أجل التفاعل الخلوي وذلك بسبب اتجاهها العشوائي (stochastic orientation) على سطح المادة [79]. ويمكن أيضًا للبروتينات طويلة السلسلة أن تصبح مطوية بشكل عشوائي (randomly folded) وذلك وفقًا لامتزاز أو امتصاص الركيزة (substrate adsorption) بحيث إن المجالات الرابطة لمستقبل الخلية (receptor binding domains) تكون غير متاحة فراغيًا من أجل تفاعل خلوي مناسب. إن الطوبوغرافيا السطحية للمادة وتركيبها الكيميائي (على سبيل المثال الشحنة (charge) والكره للماء (hydrophobicity)) يمكن أن تؤثر على اتجاه وتشكل البروتين المتصق أو الممزوز [80-82]، وبالتالي تؤثر على تحديدها أو تخصيصها الوظيفي (functionality). ويمكن أن يؤدي الاتجاه غير الصحيح للبروتين والتغيرات التشكيلية المحرّضة الناجمة عن تثبيت الركيزة إلى مزيد من ردود الفعل التحسسية (allergic reactions) غير المرغوب بها عندما تصبح الحواتم المستضدية أو المولدة للأضداد (antigenic epitopes) المعزولة والموجودة ضمن البروتين متاحة لتثير تفاعلات التهابية (inflammatory reactions) عند المضيف. يمكن للبيئة المضيفة الأصلية أن تكون حازمًا آخر في التطوير والبقاء لفترة طويلة الأمد للمواد المحاكية حيويًا عند استخدام بروتينات طويلة السلسلة. فيمكن أن يحدث فقدان للبروتين بسبب عدم القابلية للانحلال (insolubility) أو بسبب عدم الامتزاز أو اللفظ (desorption) من قبل سطح المادة [83] وبالتالي يتم طرحها من الجسم. ويمكن أيضًا للبروتينات الممتزة أو الممتصة كيميائيًا أن تحطم عن طريق الإنزيمات الموجودة بشكل طبيعي مما يجعل التطبيقات طويلة الأمد صعبة. كما أن الالتهاب والعدوى يمكن أن يُسرعا أيضًا من تحلل البروتين (protein degradation). بالإضافة إلى الاستقرار الإجمالي المنخفض لهذه البروتينات ذات السلسلة الطويلة والدفاعات الالتهابية للمضيف (host inflammatory defenses)، فإن عملية تثبيت البروتين والتخزين اللاحق قد يؤثر أيضًا على قيامها بوظيفتها.

يوفر استخدام التسلسلات المتعاقبة من الببتيدات القصيرة كجزيئات نشطة حيويًا العديد من المزايا. فعند تقديم مواد مع عناصر التعرف على الخلايا كببتيدات صغيرة مُثَبَّة، فإنه من الممكن تدارك أو علاج العديد من النواقص في استخدام البروتينات ذات السلاسل الطويلة كجزيئات حيوية نشطة. إن أجزاء قليل الببتيد (oligopeptide) الأقصر هي أكثر فعالية من حيث التكلفة وعلى درجة عالية من الاستقرار أثناء طرق التعقيم (sterilization methods) والمعالجة الحرارية (heat treatment) والتغيرات في درجة الحموضة (pH) والتخزين [84-86]. إن غياب التشكل ثلاثي الأبعاد (3D) يزيل المخاوف من تغيير البروتين لطبيعته ومن الحواتم المستضدية أو المولدة للأضداد غير المعزولة ومن عدم توفر مواقع الربط الخلوي (cell binding sites). وبالمقارنة مع بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM)، التي تملك العديد من العناصر المختلفة للتعرف على الخلايا، فإنه يمكن تركيب قليلات الببتيد بحيث تحتوي على عنصر وحيد (motif). وبالتالي، يمكن جعلها تتفاعل بشكل انتقائي مع نوع واحد من الخلايا أو مستقبلات الالتصاق (adhesion receptors) [1,87]. علاوة على ذلك، ولأن لهذه الأجزاء الصغيرة من قليلات الببتيد متطلبات مكانية أقل، فإنه من الممكن تثبيتها على سطوح المواد مع كثافة سطحية أعلى من البروتينات الأكبر حجمًا.

(٦،٤،٢) أجزاء قليلات الببتيد المشتقة من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك RGD-Derived Oligopeptide Fragments

يبدو أن دور الإلتغرينات في الالتصاق الخلوي ونقل أو تبادل الإشارة (signal transduction) مهمًا جدًا في تنظيم السلوك داخل الأنسجة مما يشير إلى أن البروتينات اللاصقة للخلايا من المصفوفة خارج الخلية (ECM) وتفاعلها مع الإلتغرينات ربما يكون بالتالي عنصرًا مهمًا في هندسة الأنسجة البيولوجية [88]. يؤدي المزيد من استكشاف ارتباط الإلتغرين مع بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) إلى اكتشاف مجالات نقل إشارات صغيرة تتألف من العديد من بقايا الأحماض الأمينية الموجودة داخل البنية الأساسية لبروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) ذات السلاسل الطويلة. لقد غيّر هذا الاكتشاف طريقة تطوير حاملات الخلايا والأنسجة المحاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة. فلقد وُجد أن هذه التسلسلات المتتابعة من قليلات الببتيد تتفاعل بشكل خاص مع مستقبلات غشاء الخلية (cell membrane receptors) لاستنباط تأثيرات خلوية مماثلة لتأثيرات بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) الأصلية. وهذا ما أدى إلى استخدام أجزاء قصيرة من قليلات الببتيد المشتقة أو المستمدة من المصفوفة خارج الخلية (ECM) وذلك من أجل العديد من دراسات تعديل السطوح المحاكية حيويًا.

إن قليلة الببتيد الأكثر شيوعًا في الاستخدام من أجل تعديل السطوح المحاكية حيويًا هي العنصر الثلاثي الببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) tripeptide motif (arginine - glycine - aspartic acid (RGD)، والذي هو مجال نقل إشارات الخلايا المشتق من الفيبرونيكتين واللامينين (الشكل رقم ٦،٢). إن قليلات الببتيد هذه ذات الوزن الجزيئي المنخفض والمعرّزة للالتصاق تستند إلى بنية أساسية لمجالات ارتباط مستقبلات الخلايا الموجودة ضمن بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) والتي ظهر بأنها تعدل السلوك الخلوي بشكل ملحوظ [89,90]. وقد وُجد العديد من التسلسلات الأخرى المحتوية على ثلاثي الببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) في البروتينات الأخرى للمصفوفة خارج الخلية (ECM). حاليًا، يوجد الكثير من العناصر ذات التسلسلات الخطية اللاصقة (linear adhesive sequence motifs) والتي تم تحديدها على أنها جزيئات فعّالة حيويًا ومحاكية حيويًا قادرة على تعزيز الهجرة والالتصاق والتكاثر الخلوي.



الشكل رقم (٢، ٦). بنية التسلسل المتتابع لقليل الببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD oligopeptide sequence).

لقد اكتسبت جزيئات قليلات الببتيد التي تحتوي على حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) وبسرعة رواجًا كمادة مرشحة محتملة من أجل تطوير حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا. وبما أن عناصر التصاق ببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) هذه موجودة في البروتينات المتعددة للمصفوفة خارج الخلية (ECM)، فإن باستطاعة مجموعة واسعة من أنواع الخلايا أن تتفاعل مع تسلسلات الببتيدات هذه. وقد تم وصف الاستخدام الانتقائي (selective use) للتسلسلات المتتابعة من ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) الخطية أو الدائرية وذلك لمنح الفعالية الحيوية للمواد في العديد من دراسات التصاق الخلايا [30]. وقد تم تثبيت ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGDs) على سطوح العديد من ركائز المواد الحيوية (على سبيل المثال، البوليمرات الاصطناعية والزجاج والسيراميك والسيليكون والكوارتز (quartz)) [91-93]، وذلك باستخدام تقنيات متنوعة لتثبيت الببتيدات وأنواع مختلفة من الخلايا. وقد تم تقييم النشاط البيولوجي لهذه السطوح المحاكية حيويًا والمعدلة بالببتيدات ووجد بأنها لا تدعم التصاق الأنواع المختلفة من الخلايا فحسب بل إنها أظهرت أيضًا تحديدية (نوعية) للمستقبل (receptor specificity) وألفةً للارتباط (binding affinity) ونقل إشارات استجابة خلوية (cellular response signaling) مماثلة لتلك التي يتم استنباطها عن طريق البروتين الأصلي [68,93]. إن السلوك الخلوي على السطوح المعدلة بالببتيد الثلاثي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) يعتمد أيضًا على بنية وتشكل قليل الببتيد من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD)، وكذلك على كثافة وترتيب ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGDs) على سطح الركيزة. إن بعض من قليلات الببتيد التي تحتوي على حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) الأكثر شيوعًا في الاستخدام من أجل المواد المحاكية حيويًا تتضمن: ببتيدات الـ (RGD) و (RGDS) و (GRGD) و (YRGDS) و (GRGDSP) [1]. وهناك أيضًا تسلسلات متتابعة أخرى من قليلات الببتيد محددة لنوعية معينة من الخلايا وغير مشتقة أو مستمدة من الببتيد الثلاثي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD)، مثل (YIGSR) و (IKVAV) و (VPGIG) و (FHRRIKA) وهي مشتقة من اللامينين والإيلاستين والمجالات الرابطة للهيبارين، على الترتيب، والتي تم تثبيتها على ركائز مصنوعة من مواد مختلفة (الجدول رقم ٦، ١) [94-98].

الجدول رقم (١، ٦). التسلسلات المتتابعة لقليلات الببتيد الاصطناعية المشتقة من الغشاء خارج الخلوي (ECM) - Extracellular Membrane (ECM) (Derived Synthetic Oligopeptide Sequences) والمستخدمه من أجل تعديل سطوح المواد الحيوية المختلفة.

المراجع	المواد	التسلسلات المتتابعة للحمض الأميني	جزء الغشاء خارج الخلوي (ECM)
[86,110,129,218,292]	PET, PTFE	RGD, RGDS, RGDT, RGDV, GRGD, GRGDS, GRGDY, GRGDF, PHSRN, PRRARV, YRGDG, YGRGD, GRGDSP, GRGDSY, GRGDVY, GRGDSPK, CGRGDSY, RGE, LDV, RGDYRAY, REDV, KRSR	فيبرونيكتين، فيترونيكتين (Fibronectin, Vitronectin)
[107,146,293,294]	PCL, PLLA, PLGA		
[171,223,245,281,295,296,297,298]	PEG		
[299,300]	PLA-co-Lys		
[301]	PS		
[302,303]	PCPU		
[218,304,305,306,307]	PU, PCU		
[308]	PE		
[309]	PMLG		
[119]	PEA		
[137,227,269]	PEG - PPF		
[159]	PU - PEG		
[129]	PHEMA		
[310]	PCEVE - PU		
[213,311]	PMMA		
[126,312,313,314]	PMMA - POEM		
[126]	FEP		
[160,315,316]	PVA		
[317]	PAN		
[85,109]	PEO / PPO / PEO		
[318]	DAS		
[206,319]	PPy		
[71]	p(NIPAAm)		
[252]	Dextran		
[157]	Silicone		
[93,94,128]	Glycophase glass		
[320,321]	Borosilicate glass		
[133,134,135,206]	Ti		
[100]	Si		
[199,320]	PEA	YIGSR, IKVAV	لامينين (Laminin)
[322]	PEP		
[320]	Borosilicate glass	KHIFSDDSSSE	جزء التصاق الخلايا العصبية (Neural cell adhesion molecule)
[323]	Borosilicate glass	DGEA, GFOGER	كولاجين (Collagen)
[324]	p(AAm-co-EG / AAc)		
[71,324]	p(NIPAAm), p(AAm-co-EG / AAc)	FHRRKA, PRGDT	بروتين اللعاب العظمي (Bone sialoprotein)
[325,326]	pAAm		

ملاحظة: PET، بولي (تيريفثالالات الإيثيلين)؛ PTFE؛ poly(ethylene terephthalate)، بولي (تترافلورو إيثيلين)؛ PCL؛ poly(tetrafluoro ethylene)، بولي (كابرولاكتون)؛ poly(caprolactone)؛ PLLA، بولي (حمض-إل-لاكتيك)؛ poly(L-lactic acid)؛ PLGA، بولي (حمض لاكتيك-كو-حمض غليكوليك)؛ PEG؛ poly(lactic acid-co-glycolic acid)، بولي إيثيلين غليكول؛ poly(ethylene glycol)؛ PLA-co-Lys، بولي (حمض اللاكتيك-كو-لايزين)؛ PS؛ poly(lactic acid-co-lysine)، بوليستيرين؛ PCPU؛ polystyrene، بولي (يوريا الكربونات)؛ PU؛ poly(carbonate urea)urethane، بولي يوريثان؛ PCU؛ (polyurethane)؛ PU، بولي يوريثان (يوريثان الكربونات)؛ PE؛ poly(carbonate urethane)، بولي إيثيلين PMLG؛ poly(ethylene glycol-co-glycolic acid)، بولي (غاما-ميثيل-إل-غلوتامات)؛ PEA؛ poly(γ-methyl-L-glutamate)، بوليستر مشترك حمض الأكرليك بولي إيثيلين poly(ethylene acrylic acid)؛ PEG - PPF؛ copolymer، بولي إيثيلين غليكول - بولي (فومارات البروبيلين)؛ PU - PEG؛ poly(ethylene glycol-co-propylene fumarate)، بولي (يوريثان المعدل بولي إيثيلين غليكول)؛ PHEMA؛ PEG-modified poly(urethane)، بولي (ميثا كريات هيدروكسي إيثيل)؛ PU - PCEVE؛ poly(hydroxyethyl methacrylate)، بولي (كلورو إيثيل فينيل إثير)؛ PU؛ poly(chloroethylvinylether)urethane، بولي (ميثا كريات الميثيل)؛ PMMA - POEM؛ poly(methyl methacrylate)، بولي (ميثا كريات الميثيل-آر-ميثا كريات بولي أوكسي إيثيلين)؛ FEP؛ poly(methyl methacrylate-co-polyoxyethylene methacrylate)، بولي (تترا فلورو إيثيلين-كو-هيكسا فلورو برويلين)؛ PEO / PPO / PEO؛ poly(acrylonitrile-co-ethylene glycol)، بولي أكريلو نيتريل؛ PAN؛ poly(vinyl alcohol)، بولي فينيل الكحول؛ PVA؛ poly(tetrafluoroethylene-co-hexafluoropropylene)، بوليستر مشترك بولي (أكسيد الإيثيلين) - بولي (أكسيد البروبيلين)؛ DAS؛ poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) copolymer، نشاء ثنائي الألكدهيد؛ dialdehyde starch؛ PPy، بولي (بيرول)؛ poly(pyrrrole)؛ P(NIPAAm)، بولي (إن-آيزو برويل أكريل أميد)؛ Ti؛ poly(N-isopropylacrylamide)، تيتانيوم؛ Si؛ silicone، سيليكون؛ PEP؛ poly(ethylene propylene)، بولي (بروبيلين الإيثيلين)؛ p(AAm-co-EG / AAc)، بولي (حمض أكريل أميد-كو-غليكول / أكرليك الإيثيلين)؛ poly(acrylamide-co-ethylene glycol / acrylic acid)، بولي (أكريل أميد)؛ pAAm، بولي (أكريل أميد)؛ poly(acrylamide).

(٦,٤,٣) إستراتيجية التصميم لتصنيع مواد محاكية حيويًا Design Strategy For Fabricating Biomimetic Materials

لقد اكتُشف أن جزيئات الالتصاق حاسمة بالنسبة للعلاقة بين الخلايا والمصفوفة خارج الخلية (ECM). وقد ثبت بأن تثبيت الببتيدات الصغيرة التي تحتوي على مجالات التصاق محددة بنوعية الخلايا (cell - specific adhesion domains) في بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) أو في عوامل النمو على المواد الأساسية هي طريقة واعدة لإنشاء مواد محاكية حيويًا من أجل تطبيقات الأعضاء والأجهزة الاصطناعية (artificial organs and devices) وطعوم الزراعة السنية والطبية (dental and medical implants) وتطبيقات هندسة الأنسجة. ويمكن التوصل إلى دمج المكونات الجزيئية الحيوية (biomolecular components) مع المواد لجعلها محاكية حيويًا، وذلك من خلال تثبيت العناصر الرابطة المحددة بنوعية الخلايا، عن طريق عدد من إستراتيجيات وتقنيات التصميم. تنطوي إحدى الطرق على دمج عناصر جزيئية حيوية للتعرف على الخلايا مباشرةً على سطح المادة نفسها من خلال مخططات تعديل كيميائي أو فيزيائي (chemical or physical modification) [30]. وتنطوي طريقة أخرى على دمج عوامل نشطة بيولوجيًا وقابلة للذوبان في كتلة المادة أو يتم تغليفها ضمن المادة الحيوية [99]، والتي يمكن إطلاقها أو تحريرها في الموقع للحصول على استجابة بيولوجية أو خلوية معينة أو تعديل تشكيل الأنسجة الجديدة [100-103]. ويمكن استخدام هذه المواد المعدلة (modified materials) في تطبيقات متنوعة، فمثلاً في تطبيقات توصيل الدواء (drug delivery) وتجديد الأنسجة المستهدفة (targeted tissue regeneration)، من بين التطبيقات الأخرى [104]. يمكن لهذه المواد المحاكية حيويًا والنشطة بيولوجيًا أن تلعب دورًا حاسمًا في تطبيقات هندسة الأنسجة وذلك من خلال تقديمها وظيفة مزدوجة وهي: (١) كحاملة خلايا وأنسجة لتوفير الاستقرار الميكانيكي (mechanical stability) لموقع الطعم المزروع وكركيمة من أجل تثبيت الخلايا (cell anchorage)، و (٢) كعامل دوائي نشط حيويًا (pharmacological agent) يُغيّر من مسار تجديد الأنسجة عبر إرسال إشارات بيولوجية (biological signals) إلى الخلايا في الأنسجة المحيطة [105,106].

(٦,٤,٣,١) التثبيت الفيزيائي للببتيدات النشطة حيويًا على سطوح المواد Physical Immobilization of Bioactive Peptides to Material Surfaces

لقد حاولت إستراتيجيات مختلفة تثبيت عناصر بيولوجية صغيرة على سطوح المواد الحيوية الاصطناعية الخالية من المجموعات الوظيفية الفعّالة (active functional groups). إن الامتزاز أو الامتصاص الكيميائي السلبي (passive adsorption) هو طريقة فيزيائية لتحضير سطوح ذات خصائص واضحة المعالم والتي لا تعتمد على المعالجة الكيميائية [107]. فيستخدم الامتزاز تفاعلات بين جزيئية (intermolecular interactions) ضعيفة وغير نوعية بين السطح وأنواع الببتيدات المعنية مثل: الربط الهيدروجيني (hydrogen bonding) والتفاعلات الكارهة للماء (hydrophobic interactions) وقوى فان دير فالز (van der Waals forces) وتفاعلات الإلكترونات ذات التكافؤ الضعيف (weak valence electron interactions) [105,108]. وللحصول على مواد محاكية حيويًا، فإنه يمكن ببساطة طلاء أو تغطية السطوح بببتيدات محاكية حيويًا (biomimetic peptides) أو مادة أخرى تمتلك مجموعات وظيفية نشطة [على سبيل المثال بولي (إل-لايزين) (poly(L-lysine) - PLL) [1,107]، والتي يمكن استخدامها لاحقًا لتفاعل كيميائيًا مع قليلات الببتيد. كما يمكن أيضًا تغطية المواد بجزيئات هجينة (hybrid molecules)، مثل

الجزئيات المصنوعة من البوليمر - الببتيد بولي (إل-لايزين) - حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (PLL - RGD)، والتي يمكن أن تُمتز أو تُمتص بشكلٍ سلبي على سطوح المواد أو على البلورونيكات (pluronic) المعدلة بواسطة الببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD)، والتي هي عبارة عن بوليمرات مشتركة (copolymers) من أكسيد الإيثيلين (ethylene oxide) وأكسيد البروبيلين (propylene oxide) (PEO / PPO) ذات كتلة ضخمة والتي يمكن طلاؤها على سطوح الركائز وتثبيتها من خلال التفاعلات الكارهة للماء (hydrophobic interactions) [1,109].

وقد أظهر Twedon وآخرون بأن البولي إيثيلين تيريفثالات (polyethylene terephthalate - PET) ذا السطح المعدل والبولي تترافلورو إيثيلين (polytetrafluoroethylene - PTFE)، الحاويين على ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) اللاصقة للخلايا والمتمزة على سطوح المواد، قد سرّعا من التئام والتصاق الخلايا البطانية [110,111]. وقد قام Reyes وآخرون بامتزاز قليلات الببتيد الخاصة بالإنتغرين ($\alpha_2\beta_1$) والمشتقة من الكولاجين على سطوح البوليسترين والتيتانيوم. وقد وُجد بأن هذه الببتيدات المحاكية للكولاجين من النمط الأول، والمحتوية على عنصر الالتصاق (GFOGER) تُفعّل إنزيم الكيناز للالتصاق البؤري (focal adhesion kinase) وتعبير إنزيم الفسفاتاز القلوي (ALP expression) [112]. بالإضافة إلى ذلك، فقد دعمت هذه الببتيدات ذات الثلاثية الحلزونية التعبير الجيني للخلايا البانية للعظم (osteoblast) والتمعدن المصفوفي أو النسيجي الغشائي (matrix mineralization) المماثل لذلك المحفّز عن طريق الكولاجين من النمط الأول [112] وقد حسّنت من تجديد العظم المجاور للطعم المزروع (peri - implant bone) ومن الاندماج العظمي (osseointegration) في الجسم الحي [113]. كما تم أيضاً استخدام ببتيدات الـ (GFOGER) المشتقة من الكولاجين وذلك من أجل تعديل سطوح البوليسترين عن طريق الربط المتشابك للببتيدات بشكلٍ كيميائي مع طبقة من الألبومين الممزور مسبقاً على سطوح البوليمر باستخدام (EDC). وقد تم أيضاً تثبيت الببتيدات المرتبطة بالبيوتين (biotinylated peptides) والتي تحتوي على رابط بولي أكسيد الإيثيلين (polyethylene oxide - PEO) على سطوح البوليسترين عبر طبقة ممزوجة من الأفيدين (avidin)، وهو بروتين رابط للبيوتين (يتحد مع البيوتين فيعوق امتصاصه) [114].

لقد وظّفت مجموعات بحثية أخرى أيضاً استخدام الجزئيات الناقلة (carrier molecules) وذلك للمساعدة في الامتزاز وفي تقديم ببتيدات محاكية حيويًا لسطوح المواد. فقد طوّر Quirk وآخرون طريقة بسيطة لتقديم الببتيدات إلى سطوح البوليمرات عن طريق الربط الأولي للببتيد ذي الأهمية مع بوليمرات البولي (إل-لايزين) (PLL) الخطية ذات السلسلة الطويلة. وقد تم استخدام هذا الجزيء الحامل من أجل تثبيت التسلسلات المتتابعة للببتيد من خلال الامتزاز أو الامتصاص الكيميائي البسيط على سطح البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) [115]. كما تم القيام أيضاً بعملية الامتزاز لجزئيات هجينة من البوليمر - الببتيد بولي (إل-لايزين) - (GRGDS) (PLL - GRGDS) على سطوح أفلام مصنوعة من البولي (حمض اللاكتيك) (PLA) [107,116]، وعلى حاملات خلايا وأنسجة رغوية ثلاثية الأبعاد (3D) مصنوعة من البولي (دي، إل - لاكتيد-كو-غليكولايد) (PLGA) [107]، والتي أظهرت عليها الخلايا البطانية الأبهريّة البقرية (bovine aortic endothelial cells) والخلايا المستمدة من نقيّ العظم البشري (human bone marrow) زيادة ملحوظة في الانتشار والتميز مما

هو عليه على حاملات الخلايا والأنسجة غير المعدلة. وقد وُجد أن جزيئات البولي (إل-لايزين)-جي-بولي (غليكول الإيثيلين) (poly(L-lysine)-g-poly(ethylene glycol) - PLL-g-PEG) تُمتص تلقائيًا من قبل المحاليل المائية على سطوح العديد من المواد الحيوية [117]. وعلى هذا النحو، فقد تم استخدام بوليمرات البولي (إل-لايزين)-جي-بولي (غليكول الإيثيلين) (PLL-g-PEG) المقترنة ببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) كطبقات طلاء أو تغطية سلبية (passive coatings) على أفلام من الزجاج وأفلام من البوليسترين وعلى جسيمات كروية مايكروية مصنوعة من البولي (دي، إل-لاكتيد-كو-غليكولايد) (PLGA) [118].

ففي حين أن الامتزاز السلبي هو طريقة فعالة لتثبيت الببتيدات المحاكية حيويًا على سطوح المواد، إلا أن طبقات الطلاء أو التغطية لا توفر سوى تعديل عابر أو وقتي لسطح المادة [1,119]. إن عدم القدرة على التحكم بتشكيل الببتيد وتوجيهه (peptide conformation and orientation) عند امتزاز الركيزة ؛ وبامتزاز الببتيد (peptide desorption) أو غسله ؛ وبالطاقات الحركية للانتشار (diffusion kinetics) ؛ وعدم إمكانية الوصول إلى جزيئات كبيرة على سطح المادة هي كلها أوجه قصور عند استخدام هذه الطريقة [120].

(٦،٤،٣،٢) التثبيت الكيميائي للببتيدات النشطة حيويًا على سطوح المواد **Chemical Immobilization of Bioactive Peptides to Material Surfaces**

من أجل تصنيع مواد محاكية حيويًا يمكنها أن تتحمل البقاء على المدى الطويل، فإن تثبيتًا مستقرًا (stable immobilization) لهذه العناصر الجزيئية الحيوية على سطح الركيزة يعتبر أمرًا حاسمًا للحفاظ على النشاط الحيوي وفي نهاية المطاف للقيام بالوظيفة على الشكل الصحيح. ينبغي على قلیلات الببتيد المحاكية حيويًا والتي تم تثبيتها على الركيزة أن تكون قادرة على مقاومة القوى التقلصية (contractile forces) المبذولة من قبل الخلايا الملتصقة (adhered cells) على سطح المادة الحيوية أثناء الالتصاق الخلوي الأولي (initial cellular attachment) وأن تقاوم الاستيطان أو التجمع (internalization) من قبل الخلايا [121,122]. إن أكثر الطرق التي تمت دراستها على نطاق واسع لتثبيت التسلسلات المتتابعة من قلیلات الببتيد الصغيرة والنشطة حيويًا هي من خلال الاقتران أو الربط التساهمي (covalent coupling) بشكل مباشر مع سطح المادة الحيوية. وعلى أي حال، فإن التثبيت عبر الطرق الكيميائية يمكن أن يتحقق فقط عندما تكون هناك مجموعات تفاعلية سطحية (surface reactive groups)، وهذا ليس دائمًا الحال مع بعض المواد (على سبيل المثال، البولي بيرول (polypyrrole)، والبولي (أحماض ألفا - هيدروكسي) (poly(α -hydroxy acids)).

وبالتالي ؛ فإن الربط التساهمي لجزيئات التعرف البيولوجية (biological recognition molecules) على سطوح بعض المواد الحيوية تتم إعاقته من خلال النقص بالتفاعلية الكيميائية السطحية (surface chemical reactivity) [123]. وللتغلب على هذه المشكلة، فقد قام الباحثون باستخدام العديد من الطرق المختلفة لإنشاء مجموعات وظيفية على سطح المواد الحيوية وذلك لدعم الربط التساهمي لعناصر التعرف البيولوجية (biological recognition motifs).

(١,٢,٣,٤,٦) التثبيت التساهمي المباشر للبتيدات النشطة حيويًا Direct Covalent Immobilization of Bioactive Peptides

لقد أولي اهتمام كبير نحو محاكاة وظائف المصفوفة خارج الخلية (ECM) من خلال اقتران أو ارتباط العناصر المحاكية حيويًا لخلايا محددة بسطوح المواد. ويمكن إنجاز إدخال جزيئات وظيفية مثلاً إلى سطوح حاملات الخلايا والأنسجة من أجل تحفيز تفاعلات مضيف مفضلة (preferable host interactions) أو زيادة الوظائف البيولوجية (biological functions) أو تعزيز استجابات خلوية محددة (specific cellular responses) [100] عن طريق التثبيت التساهمي (covalent immobilization) باستخدام مخططات التعديل الكيميائي. وعلى أي حال، فإن وجود مجموعات وظيفية سطحية فعّالة هو شرط أساسي ضروري من أجل تثبيت الجزيئات المحاكية حيويًا على سطوح المواد الحيوية. وفي معظم الحالات، يعتمد تثبيت الببتيدات على سطوح المادة على تشكيل رابط تساهمي مستقر (stable covalent bond) بين المجموعات الأمينية ذات النهاية الأمينية الأليفّة للنواة (nucleophilic N-terminus amine groups) الموجودة في جزيئات البروتين وبين غيرها من المجموعات الوظيفية المفعّلة على سطح المادة الصلبة. لقد تم تثبيت الببتيدات على سطوح المواد عن طريق تفاعل المجموعة الأمينية ذات النهاية الأمينية مع مجموعات الكربوكسي (carboxy groups) ومجموعات الهيدروكسيل (hydroxyl groups) ومجموعات الإيبوكسيد (epoxide groups) ومجموعات الألدهيد (aldehyde groups) أو غيرها من المجموعات الخارجة الفعّالة (efficient leaving groups) التي يتم تقديمها من قبل روابط موجودة على سطح المادة.

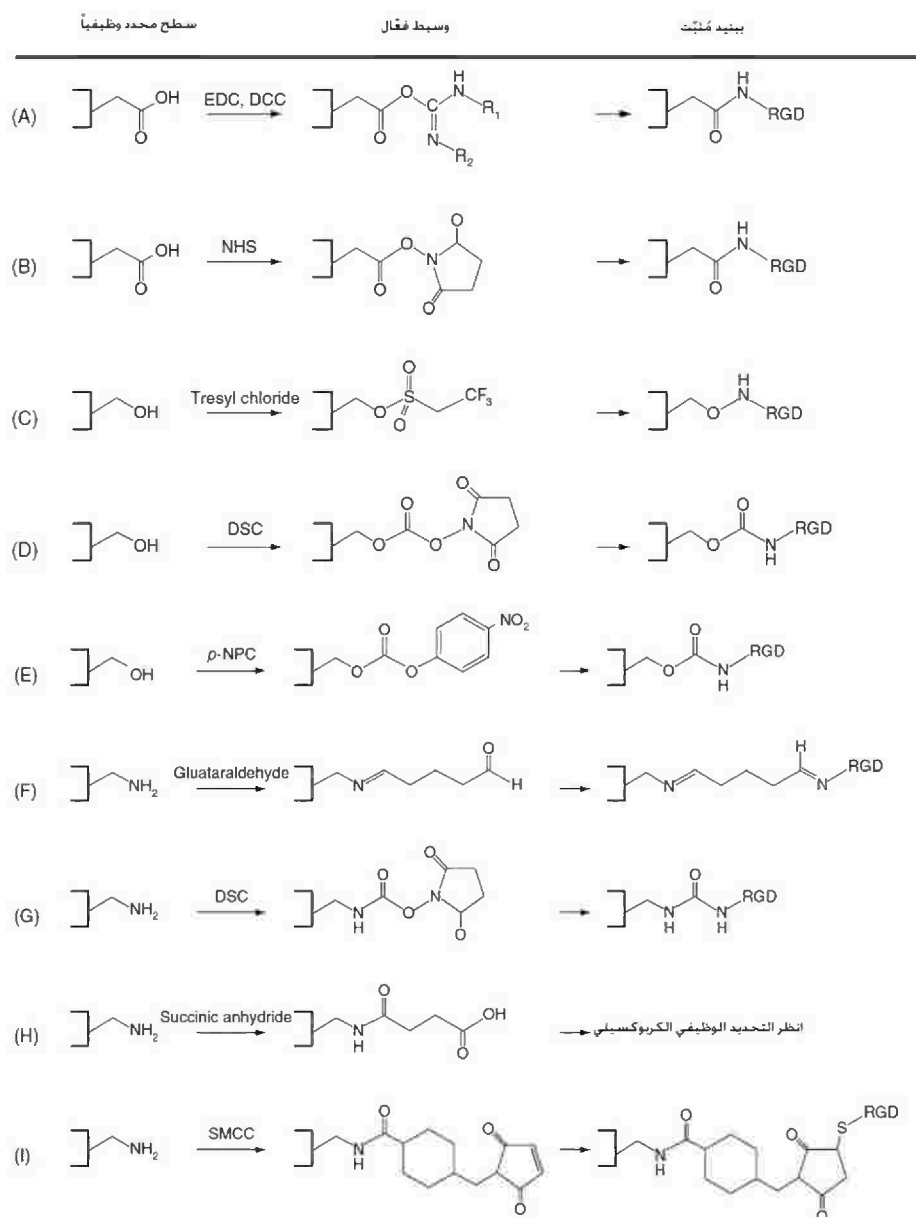
يمكن تفعيل المجموعات الوظيفية الحمضية الكربوكسيلية (carboxylic acid functional groups) على سطوح المواد الحيوية باستخدام كاشف اقتران الببتيد (peptide - coupling reagent)، مثل ثنائي إيميد الكربون (carbodiimide). إن ثنائيات إيميد الكربون هي عبارة عن روابط متشابكة غير وظيفية ثنائية الوظيفة (heterobifunctional cross - linkers) تتوسط في تشكيل الروابط الأميدية من الأحماض الكربوكسيلية (أو الفوسفات) والمجموعات الأمينية. ولقد تم استخدامها لتوليد روابط ببتيدية من المجموعات الحمضية والأمينات وذلك من خلال تشكيل مُشتقّ /الأو - يوريا (O-urea) المستقر، والذي يتفاعل بسهولة مع أليفات النواة (nucleophiles) [124]. وغالباً ما يتم استخدام ثنائيات إيميد الكربون في تثبيت الببتيدات على ركائز المواد مثل المشتقّ القابل للذوبان في الماء ١-إيثيل-٣-(٣-أمينو برويل ثنائي الميثيل) - ثنائي إيميد الكربون (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) - carbodiimide - EDC)، أو مثل المشتقّ القابل للذوبان في المحاليل العضوية ان، ان'-ديسيكلو هيكسيل - ثنائي إيميد الكربون (N,N'-dicyclohexyl - carbodiimide - DCC).

يعتبر التركيب الكيميائي لثنائي إيميد الكربون وسيلة فعّالة للغاية ومستخدم على نطاق واسع في تثبيت الببتيدات المحاكية حيويًا بشكل تساهمي على المواد المختلفة المحتوية على مجموعات كربوكسيلية (carboxylated materials) وذلك عن طريق روابط الأميد المستقرة (stable amide bonds). ولسوء الحظ، فإن طريقة الاقتران هذه ليست انتقائية بشكل عالٍ. وغالباً ما تحتوي الببتيدات المحاكية حيويًا على مجموعات وظيفية تفاعلية موجودة ضمن السلاسل الجانبية للحمض الأميني الأساسي (على سبيل المثال المجموعات الكربوكسيلية ومجموعات الغوانيديين (guanidine groups)) والتي يمكن أن تؤدي

إلى تفاعلات جانبية غير مرغوب فيها. وكثيراً ما يتم استخدام ان-هيدروكسي سوسين إيميد (N-Hydroxysuccinimide - NHS) للمساعدة في اقتران ثنائي إيميد الكربون عن طريق تشكيل مركب وسيط من الإستر النشط (active ester intermediate) عبر تكتيف مجموعة الحمض الكربوكسيلي السطحية وان-هيدروكسي سوسين إيميد (NHS). إن مشتق الإستر هو أقل عُرضة للتحلل المائي (hydrolysis) ويمكن تحضيره سلفاً وتخزينه أو استخدامه كأنواع مُفعّلة في الموقع (على سبيل المثال، في وجود أليف النواة الأميني (nucleophile amine)) من دون التعرض لخطر حدوث تفاعلات جانبية غير مرغوب فيها. إن مركب الإستر الوسيط التفاعلي مع ان-هيدروكسي سوسين إيميد (NHS) هو عُرضة للهجوم من قبل أليف النواة وذلك عن طريق الأمينات الأولية (primary amine) مما يؤدي إلى تشكيل روابط أميدية مستقرة بين سطح المادة الحيوية والنهاية الأمينية (N-terminus) للبتيد المحاكي حيويًا.

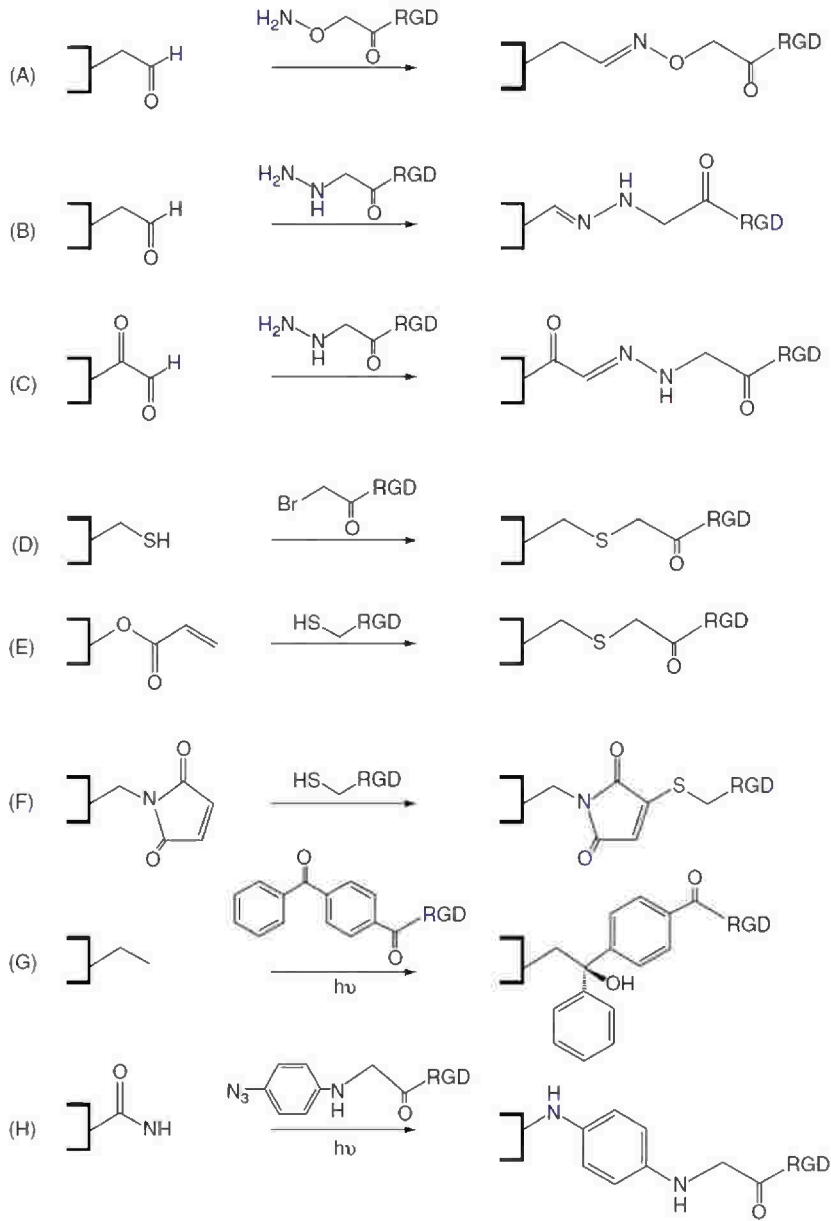
يمكن إنجاز تثبيت الجزيئات الحيوية بالمجموعات الهيدروكسيلية الموجودة على سطوح المواد الحيوية المختلفة بسهولة وبشكل مباشر وذلك بواسطة استخدام كلوريدات السلفونيل (sulfonyl chlorides) شديدة التفاعل، مثل كلوريد ٢،٢،٢-ثلاثي فلورو إيثان سلفونيل (كلوريد التريسيل) ((2,2,2-trifluoroethanesulfonyl chloride (tresyl chloride) [125]). ويمكن تنشيط السطوح المحتوية على الهيدروكسيل بشكل مسبق وذلك من خلال استخدام كلوريد التريسيل [126-129] لإنتاج سطوح مُسلفنة (sulfonated surfaces) يمكنها أن تخضع بسهولة لهجوم أليف النواة عن طريق الأمينات الأولية، والثيولات (thiols)، والمجموعات الإيميدازوليّة (imidazole groups) [130-132]. ويمكن تنشيط المجموعات الهيدروكسيلية للسيليكا (silica) والآغاروز (agarose) عبر التفاعل مع كلوريد التريسيل وذلك لتشكيل مجموعات هيدروكسيل تحتوي على التريسيل (tresylated hydroxyl groups)، والتي يمكن إقرانها بالإنزيمات أو الببتيدات عن طريق التفاعل المباشر مع مجموعة الأمين الأولية [130,131]. ويمكن للسطوح المنشطة بالتريسيل أن تخضع لاقتران أو ربط أكثر سرعة وكفاءة مع الببتيدات التي تحتوي على السلفهيدريل (sulfhydryl - containing peptides) مما هو عليه مع الأمينات الأولية عند درجة الحموضة (pH) الفيزيولوجية. وقد تم استخدام المعالجة بكلوريد التريسيل بنجاح لتثبيت بروتينات الفيرونيكتين اللاصقة للخلايا على سطوح التيتانيوم [133] من خلال التفاعلات التساهمية والأيونية بين أكسجين المجموعات الهيدروكسيلية الطرفية للتيتانيوم ومجموعة النيتروجين في الفيرونيكتين [134,135]. لقد تم التوصل إلى تثبيت البولي ميكسين بي (Polymyxin B - PMB) بشكل ناجح، وهو مضاد حيوي ببتيدي حَلَقِيّ متعدد الكاتيونات (cyclic polycationic peptide antibiotic)، على بوليمر مشترك مؤلف من إيثيل أكريلات (ethyl acrylate) و ٢-هيدروكسي إيثيل ميثا كريلات (2-hydroxyethyl methacrylate) باستخدام كلوريد التريسيل، بينما يتم الحفاظ على عمله المضاد للبكتيريا ضد *E. coli* [136]. وبدلاً من ذلك، فإنه من الممكن تنشيط المجموعات الهيدروكسيلية السطحية باستخدام إن، إن'-كربونات ثنائي السكسيني ميديل (N,N'-disuccinimidyl carbonate - DSC) أو بي-كلورو كربونات النيتروفينيل (p-nitrophenyl chlorocarbonate - p-NPC) وإقرانها مع الببتيدات في ظل الظروف المائية [137-140].

يمكن تثبيت السطوح المؤمّنة (aminated surfaces) (التي تم إدخال مركبات أمينية عليها) بفعالية مع ببتيدات نشطة حيويًا عن طريق تفاعل السطح الصلب مع روابط متماثلة (من نفس النوع) ثنائية الوظيفة (homobifunctional linkers)، مثل الغلوتارالدهيد (glutaraldehyde) أو غلوتارات ثنائي السكسيني ميديل (disuccinimidyl glutarate)، أو ثنائي إيزوثيوسيانات الفينيلين (phenylene diisothiocyanate) [141-143]، من خلال النهاية الأمينية (N-terminus) للبتيد. كما يمكن أن يحدث تثبيت النهاية الكربوكسية (carboxy - terminus) من خلال التثبيت بواسطة ثنائي إيميد الكربون على السطوح المؤمّنة. كما يمكن تحويل المجموعات الأمينية السطحية أيضًا إلى أنواع تفاعلية أخرى من أجل تفاعلات التثبيت. ويمكن تحويل المجموعات الأمينية إلى سطوح محتوية على الكربوكسيل عن طريق التفاعل مع أنهيدريد السكسينيك (succinic anhydride) أو المجموعات الكربوكسيلية المنشّطة مسبقًا باستخدام أجزاء ثنائية مُفعّلة (bis - activated moieties) (على سبيل المثال، تارتترات أو سوبيرات ثنائي السكسيني ميديل (disuccinimidyl tartrate or suberate) أو غليكول الإيثيلين-ثنائي (سكسينات السكسيني ميديل) (ethylene glycol-bis(succinimidyl succinate)) أو إن،/إن'-كربونات ثنائي السكسيني ميديل (N,N' -disuccinimidyl carbonate) [140,144,145] ويتم استخدامها من أجل التثبيت الببتيدي بواسطة كلوريد السلفونيل أو إستراتيجيات التثبيت الكيميائي الأخرى. لقد تم استخدام البيستريسيل - بولي (غليكول الإيثيلين) (Bistresyl - PEG) في هذه الطريقة كجزء رابط لتثبيت ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) على سطوح تم تخصيصها وظيفيًا بواسطة الأمينات وذلك من أجل تحسين التصاق خلايا الكبد (hepatocyte) [145]. كما يمكن تحويل السطوح المؤمّنة أيضًا إلى سطوح متفاعلة مع الثيول (thiol) من أجل الربط التساهمي للجزيئات الحيوية النشطة. لقد تم تصنيع جسيمات كروية نانوية (nanospheres) باستخدام سلاسل مربوطة ببولي (غليكول الإيثيلين) (PEG) على سطح يُنتج مجموعات أمينية أولية عند النهايات الطرفية. وقد تم تحويل المجموعات الأمينية الطرفية إلى أجزاء متفاعلة مع الثيول عن طريق تفاعل الجسيمات الكروية النانوية مع إن-سكسيني ميديل-٤- (إن-مالي إيميدو ميثيل) سيكلوهيكسان-١-كربونات (SMCC - N -succinimidyl-4-(N -maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylate) وذلك لإنتاج سطوح وظيفية من المالي إيميد (maleimide). يمكن للجزيئات الحيوية المحتوية على الثيول، مثل الجزء (F_{ab}) من البروتين الجينيّ - ألفا البشري المضاد (antihuman α -fetoprotein F_{ab} ' fragment) والببتيدات الغنية بالسيستئين (cysteine)، أن تقترب بشكلٍ تساهمي مع سطوح الجسيمات الكروية النانوية من خلال تفاعل الثيولات (thiols reaction) مع مجموعات المالي إيميد السطحية (الشكل رقم ٦.٣) [147].



الشكل رقم (٦,٣). التثبيت الكيميائي المباشر لببتيدات نشطة حيويًا على سطوح تفاعلية من خلال مجموعات أمينية طرفية. (A) مجموعات كربوكسيلية مُفعَّلة مسبقًا مع ثنائي إيميد الكربون (EDC, DCC) carbodiimide و (B) *ال-هيدروكسي سوسين إيميد* (N-hydroxysuccinimide) (NHS) و (C) مجموعات هيدروكسيلية مُفعَّلة مسبقًا مع كلوريد التريسيل (tresyl chloride) و (D) *إن، إن'-كربونات ثنائي السكسيني ميديل* (DSC) (*N,N'*-disuccinimidyl carbonate) أو (E) *بي-كلورو كربونات النيتروفينيل* (*p*-NPC) (*p*-nitrophenyl chlorocarbonate). (F) مجموعات أمينية مُفعَّلة مسبقًا مع الغلوتار ألدهيد (glutaraldehyde) و (G) محوَّلة إلى مجموعات كربوكسيلية مُفعَّلة بالان-هيدروكسي سوسين إيميد (NHS) عن طريق *إن، إن'-كربونات ثنائي السكسيني ميديل* (DSC) أو (H) محوَّلة إلى سطوح محتوية على الكربوكسيل مع أميدريد السكسينيك (succinic anhydride). كما يمكن للمجموعات الأمينية أن تُحوَّل أيضًا إلى سطوح مخصصة وظيفيًا بواسطة المالِي إيميد (maleimide) عن طريق الـ (SMCC) لتثبيت الببتيدات المحتوية على الثيول.

يُعتبر الربط الكيميائي الانتقائي (chemoselective ligation) طريقة أكثر حداثة لتعديل سطوح المواد الحيوية بشكل كيميائي، وهي تنطوي على اقتران انتقائي تساهمي (selective covalent coupling) لمجموعات وظيفية فريدة ذات تفاعلية متبادلة (mutually reactive functional groups) في الشروط المعتدلة. ويتم استخدام أزواج مختارة من المجموعات الوظيفية لتقرن أو تربط بببتيدات محاكية حيويًا وجزيئات أخرى نشطة حيويًا مع سطوح المواد من خلال روابط مستقرة من دون الحاجة إلى عوامل تفعيل أو من دون الحاجة إلى التداخل (interfering) مع المجموعات الوظيفية الأخرى [148]. إن هذه التفاعلات هي كيميائية انتقائية بشكل عالٍ وتتصرف مثل "فيلكرو" جزيئي (molecular "velcro") (وهو عبارة عن أداة ربط أو شريط لاصق) [149]. إن ربط الأوكسيم (oxime ligation)، والذي هو تفاعل كيميائي انتقائي بين مجموعة ألدهيد ومجموعة أمينية هيدروكسيلية، يمثل طريقة محددة الموقع لربط أجزاء ببتيديّة غير محمية محددة وظيفيًا بواسطة الأمينو أكسي (aminooxy) مع جزيئات واسمة (marker molecules) مختلفة أو مع ركائز مواد مختلفة. لقد تم إظهار الكفاءة والانتقائية العالية لتفاعل اقتران أمينو أكسي - ألدهيد (aminooxy - aldehyde) بشكل واضح عن طريق ربط مجموعة متنوعة من المواد مع البروتينات وتثبيت الببتيدات الحلقية لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) (RGD cyclopeptides) المنتهية بالأمينو أكسي على سطوح الركائز [150,151]. إن ربط الأوكسيم متوافق مع معظم بقايا الأحماض الأمينية المعيارية، وعلاوة على ذلك، فإن رابط الأوكسيم معروفٌ بكونه مستقرًا بشكلٍ معقول في المختبر وفي الجسم الحي على حدٍ سواء. ويمكن استخدام ربط الهيدرازون (hydrazine ligation) لتثبيت الببتيدات الاصطناعية الشبيهة بالهيدرازين (hydrazine) على السطوح المحددة وظيفيًا بواسطة الألدهيد (aldehyde) أو الألفا - أوكسو ألدهيد (α -oxoaldehyde). وقد تم تحضير جسيمات شحمية ببتيديّة (peptidoliposomes) اصطناعية من خلال التشكيل الكيميائي الانتقائي لروابط الألفا - أوكسو هيدرازون (α -oxohydrazine) بين الببتيدات المشتقة من البروتين الغشائي المرتبط بالجسيمات الحالّة (lysosomal - associated membrane protein - LAMP) والمثبتات الشحمية (lipidic anchors). وقد تم تأكيد وظيفة الببتيدات المطعّمة أو المضافة في المختبر بواسطة الجلب الانتقائي للبروتين الغشائي (AP-3) إلى الجسيمات الشحمية المقترنة مع المجال الهيولي (cytoplasmic domain) الاصطناعي للبروتين الغشائي المرتبط بالجسيمات الحالّة (LAMP) [152,153]. لقد تم تعديل السطوح المخصصة وظيفيًا بالثيول (thiol - functionalized surfaces) باستخدام الببتيدات الحلقية لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) المحتوية على البرومو أسيتيل (bromoacetyl) [154]، في حين أن بببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) المحتوية على الثيول قد تم ربطها مع السطوح المحددة وظيفيًا بواسطة إسترات أكريليكية (acrylic esters) وأميدات الأكريل (acryl amides) [155] ومالي إيميد [156,157]. وقد تم أيضًا تطوير بببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) المخصصة وظيفيًا بواسطة البنزوفينون (benzophenone) والازيد الأروماتي العطريّ (aromatic azide) ك تقنية متعددة الاستعمالات للتثبيت الكيميائي الضوئي (photochemically immobilize) لببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGDs) على سطوح مختلفة (الشكل رقم ٦.٤) [158-161].



الشكل رقم (٤,٦). الربط الكيميائي الانتقائي لأزواج منتقاة من مجموعات وظيفية. (A) الربط الأوكسيمي (oxime ligation) لسطح الألدهيد (aldehyde) والأمينو هيدروكسيل - حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (hydroxyl amino - RGD)، (B) الربط الهيدرازوني (hydrazone ligation) لسطح الألدهيد والهيدرازين - حمض (RGD) (hydrazine - RGD)، (C) الربط الهيدرازوني لسطح الأوكسو-الألدهيد والهيدرازين - حمض (RGD) (hydrazine - RGD)، (D)، سطح الثيول والبرومو أسيتيل - حمض (RGD) (bromoacetyl - RGD)، (E) سطح الإستر الأكريليكي (acrylic ester) والثيول - حمض (RGD) (thiol - RGD)، (F) سطح المالبي إيميد (maleimide) والثيول - حمض (RGD) (thiol - RGD)، (G) سطح البوليبستيرين (polystyrene) والبيزوفينون - حمض (RGD) (benzophenone RGD)، (H) سطح (PU - PEG) والازيد الأروماتي العطري - حمض (RGD) (aromatic azide - RGD).

إن المواد الحيوية التي تفتقر إلى المجموعات الوظيفية السطحية التي تنشأ بشكل طبيعي تتم إعاقتهما من خلال التفاعلية الكيميائية المحدودة لدعم الربط التساهمي للجزيئات الحيوية. لقد تم استخدام مجموعة متنوعة من المعالجات السطحية الكيميائية والفيزيائية وذلك للتغلب على هذه المشكلة وتوليد مضيف (host) للمواد المحاكية حيويًا. ويمكن تقديم المجموعات الوظيفية على سطح المادة عن طريق المعالجات الكيميائية، مثل تفاعلات الحلمهة القلوية (التحلل المائي القلوي) (alkaline hydrolysis reactions) وتفاعلات الحَلْمَنَة (التفكيك بإقحام جذر أميني) (aminolysis reactions) وتفاعلات الأكسدة / الاختزال (oxidation / reduction reactions). فيمكن على سبيل المثال تقديم مجموعات الهيدروكسيل على السطوح عبر الحلمهة القلوية، بينما يمكن إنتاج الحلمنة عن طريق تفاعل السطوح مع ثنائيات الأمين (diamines) (على سبيل المثال هيدرات الهيدرازين (hydrazine hydrate) وثنائي أمين الإيثيلين (ethylenediamine) وثنائي أمين الهيكسان (hexanediamine))؛ مما ينتج عنه سطوح محددة وظيفيًا بواسطة الأمينات (amino - functionalized surfaces) [162]. لقد تم تثبيت خيوط (sutures) مصنوعة من البولي (جليكولايد) ذي سطح مُحْلَمَة ((surface-hydrolyzed poly(glycolide)) مع جزيئات نشطة حيويًا باستخدام التركيب الكيميائي لثنائي إيميد الكربون [163]. وقد تم حلمهة جسيمات مايكروية مصنوعة من البولي (إل - لاكتيد) (poly(L-lactide) microspheres) في ظروف قلوية، وتم تثبيت سطوحها مع بيتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) من خلال الاقتران بثنائي إيميد الكربون من أجل الاستخدام كحاملات مايكروية للخلايا الغضروفية في شروط الزراعة الديناميكية (dynamic culture conditions) [164]. ولقد تمت حلمنة سطوح البولي كابريولاكتون (PCL) باستخدام الهيكسان ديان (hexanediane) [165] وتم ربط السطوح المؤمّنة مع التسلسلات المتتابعة المشتقة من اللامينين بشكل تساهمي عن طريق التركيب الكيميائي لثنائي إيميد الكربون [166]. وقد تم تعديل الأفلام المصنوعة من البولي (تيترا فلورو إيثلين - كو - هيكسا فلورو بروبيلين) (poly(tetrafluoroethylene-co-hexafluoropropylene) - FEP) بشكل كيميائي بواسطة البيتيدات اللاصقة المشتقة من اللامينين وذلك عن طريق اختزال أو تحويل السطوح بشكل كيميائي في البداية باستخدام نافثاليد الصوديوم (sodium naphthalide). وعلاوة على ذلك، فقد تم تعديل روابط الكربون - الكربون المزدوجة الناتجة وذلك لإدخال مجموعات الهيدروكسيل من خلال البُورْتَة المائية / الأكسدة (hydroboration / oxidation) أو لإدخال مجموعات كربوكسيلية من خلال الأكسدة. وتم إقران السطوح المخصصة وظيفيًا بالهيدروكسيل والكربوكسيل مع بيتيدات اللامينين اللاصقة باستخدام كلوريد التريسيل وقد أظهرت زيادة في التصاق وامتداد خلايا المحوار الحُصِينِيَّة (hippocampal neurite cell) [167]. وقد تم تصنيع أفلام محاكية حيويًا من الشيتوزان عن طريق المعالجة الكيميائية باستخدام أنهيدريد السكسينيك وذلك لتوليد مجموعات كربوكسيلية سطحية، والتي تم استخدامها من أجل التثبيت التساهمي لبيتيدات الـ (GRGDS) بواسطة ثنائي إيميد الكربون. وتم تثبيت بيتيدات الـ (GRGDS) عند كثافة سطحية قدرها 10^{-9} مول / سنتيمتر مربع مما عزز من التصاق وتكاثر وهجرة وتمايز خلايا الـ (MC3T3-E1) [168]. وقد تم تعديل ركائز زجاجية بواسطة بيتيدات اصطناعية مشتقة من مجال تعزيز انْتِبَات أو نمو المحوار (neurite - outgrowth) لسلسلة البيتا اثنان (β_2 -chain) في اللامينين. وتم إقران البيتيدات بنجاح مع السطوح المخصصة وظيفيًا بواسطة الأمينات باستخدام رابط متشابه غير وِوِي ثنائي الوظيفة (heterobifunctional cross - linker)، وتم استخدام

قناع ضوئي فوق بنفسجي (UV - photomasking) لتصنيع أنماط أو زخارف ببتيدية من أجل التصاق ونمو الخلايا العصبية [169]. وقد تم تخصيص شرائح زجاجية ذات طور أميني (aminophase glass slides) وظيفيًا عن طريق احتضانها في الأمينو بروبيل تري إيثوكسي سيلان (aminopropyltriethoxysilane) واستخدامها من أجل تثبيت ببتيدات الـ (RGDS) والـ (VAPG) والـ (KQAGDV) بمساعدة ثنائي إيميد الكربون [170,171]. وتم أيضًا تثبيت ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) على مصفوفات مسامية من الكولاجين (porous collagen matrices) باستخدام أكسدة البريودات (periodate oxidation reactions) [172]. تتضمن التفاعلات الكيميائية السطحية الأخرى تفاعلات السيلنة (silanization reactions) وتفاعلات الكلورة (chlorination reactions) وتفاعلات الأسيلة (acylation reactions) وتفاعلات الرّبع أو التّربيع (quarternization reactions) [123,173,174] وذلك لتحفيز المجموعات الوظيفية النشطة على سطوح المواد من أجل التثبيت البتيدي المحاكي حيويًا.

وقد تم استخدام السطوح المعالجة بالبلازما (Plasma - treated surfaces) وذلك لإدخال مجموعات وظيفية نشطة إلى سطوح المواد الحيوية من أجل التثبيت التساهمي المباشر للجزيئات المحاكية حيويًا. وقد استخدمت مجموعات بحثية المعالجات بالبلازما في ظل مجال واسع من أنواع الغازات التفاعل (reacting gas) (الأمونيا (ammonia) والأكسجين والنيتروجين (nitrogen) والهيدروجين (hydrogen) والأوزون (ozone)، ... إلخ) لإدخال مجموعات وظيفية مختلفة (على سبيل المثال، المجموعات الكربوكسيلية والهيدروكسيلية والكربونيلية (carbonyl) والبيروكسيلية (peroxyl) والإثيرية (ether) والأمينية) على سطح المواد [175-179]. لقد استخدم Hu وآخرون المعالجة ببلازما غاز الأمونيا (ammonia gas plasma treatment) لإنشاء مجموعات أمينية فعالة على سطوح الأفلام الرقيقة (thin films) وحاملات الخلايا والأنسجة الرغوية (foam scaffolds) البوليمرية المصنوعة من البولي (حمض اللاكتيك) (PLA). وقد تم إقران المجموعات الأمينية السطحية المدخلة مع الغلوتارالدهيد (glutaraldehyde)، متبوعًا بعناصر الألفة الخلوية (cellular affinity motifs) والبولي (إل-لايزين) (PLL) وثلاثي ببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD). لقد أظهرت السطوح المعدلة بـ حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) ربطًا أفضلًا للـ (OCP) من الأفلام الأخرى وزيادة في مستويات نشاط إنزيم الفوسفاتاز القلوي (ALPase) ومستويات الكالسيوم [178]. وتم تعديل ألياف البولي (تيترا فلورو إيثيلين) (poly(tetrafluoroethylene) fibers) سطحيًا باستخدام المعالجة ببلازما الأمونيا المفعلّة بالأشعة فوق البنفسجية لإنتاج مجموعات مخصصة أو محددة وظيفيًا بواسطة الأمينات (amine - functionalized groups) من أجل الاقتران بالببتيدات اللاصقة للخلايا المشتقة من اللامينين [179]. وقد تم استخدام تفريغ التوهج ذي التردد الراديوي (radio frequency glow discharge)؛ لتعديل سطوح البولي يوريثين (polyurethane surfaces) متبوعًا باقتران بببتيدات الـ (RGDS) [180].

Graft Polymerization (٦, ٤, ٣, ٢, ٢) بلمرة الطعم

يمكن إدخال مجموعات وظيفية نشطة أيضاً إلى سطوح المواد الحيوية عن طريق: تركيب بوليمرات طعم مشتركة (graft - copolymers) جديدة مع مجموعات تفاعلية مرغوب فيها يمكن أن تثبت عليها الجزيئات المحاكية حيويًا [181]؛ أو عن طريق إنشاء جزيئات بوليمرية - ببتيدية هجينة، والتي يمكن استخدامها كطبقات طلاء أو تغطية سلبية (غير فعّالة) أو استخدامها للتطعيم على سطوح المواد البيولوجية في محاولة لتوجيه التصاق الخلايا وتطويرها [182-186]؛ أو عن طريق الجمع بين المواد معاً لتشكيل خلائط تمتلك مواقع ارتباط تساهمية [187,188]. إن تطعيم النهاية (endgrafting) أو البلمرة في الموقع (in situ polymerization) هي طريقة شائعة من أجل تفعيل سطوح المواد الحيوية وذلك عن طريق ترسيب طبقات رقيقة من البوليمر على سطوح المواد الكتلية [189]. يتم في هذه العملية توليد جذور حرة (free radicals) أو أنواع وظيفية نشطة (active functional species) على سطح مادة لبدء بلمرة أنواع المواحيد (أنواع المونومرات (monomer species)). ويتألف فيلم البوليمر المطعم (grafted polymer film) من تركيب مختلف عن الركيزة الأساسية ويكون مربوطاً بشكلٍ تساهمي إلى سطح المادة. ويمكن هندسة خصائص فيزيائية كيميائية (physicochemical properties) وخصائص طوبولوجية في مستوى النانو (nanoscale topological properties) فريدة من نوعها على سطوح الركائز من خلال طور البوليمر المطعم. وتعتبر هذه الطريقة فعّالة لتعزيز الانتقائية الكيميائية (chemical selectivity) وتعديل الطوبولوجيا السطحية وتحسين التوافقية الحيوية والنشاط الحيوي لسطح مادة ما. وبالمقارنة مع الطرق الأخرى، فإنه من الممكن إجراء بلمرة الطعم بشكلٍ عام تحت شروط التفاعل المعتدلة ودرجات الحرارة المنخفضة، وهي طريقة بسيطة نسبياً وغير مكلفة ويمكن استخدامها في مجال واسع من التطبيقات.

لقد تم استخدام مجموعة متنوعة من التقنيات لتطعيم البوليمرات على سطوح المواد وذلك في محاولة لجعلها أكثر نشاطاً من الناحية البيولوجية، بما في ذلك طرق الجذور الحرة أو ترسيب البلازما (plasma deposition) أو الإيتداء (التحريض) الضوئي (photo - initiation) أو التشعيع بأشعة غاما (γ -irradiation) أو الطرق الكيميائية الرطبة (wet chemistry methods) [190]. ونظراً للتنوع الكبير بالمجموعات التفاعلية المناسبة تماماً، والمونومرات الوظيفية (functional monomers) [191-197] والببتيدات النشطة حيويًا المتاحة، فإن الاستخدام المحتمل لهذه العملية من أجل الضبط الدقيق للخصائص السطحية لتطبيقات طبية حيوية محددة قد جذب اهتماماً كبيراً من قبل مجتمع المواد الحيوية [198]. إن تفريغ الهالة أو البلازما (corona or plasma discharge) هي واحدة من أكثر الطرق استعمالاً لإدخال مجموعات وظيفية وجزيئات حيوية نشطة إلى سطوح المواد. حيث يتم في عملية بلمرة الطعم المحرّضة بالبلازما (plasma - induced graft polymerization) قذف سطوح المواد بأنواع غازية طاقية نشطة (energetic gaseous species) (على سبيل المثال، الأيونات والإلكترونات والجذور الحرة والفوتونات ذات الطاقة المنخفضة والحالات الجزيئية المهيجّة أو المثارة (excited molecular states) [198]) بحيث يتم نقل طاقتها وتبديدها من خلال المادة الصلبة عن طريق مجموعة متنوعة من العمليات الكيميائية والفيزيائية. والنتيجة هي تخصيص أو تحديد وظيفي (functionalization) لسطح المادة من خلال إدخال أنواع جزيئية تفاعلية (على سبيل المثال، مجموعات الأمينات ومجموعات البيروكسيدات (peroxide groups) ومجموعات الكربوكسيل). ويمكن لهذه السطوح المعالجة بالبلازما والمخصصة وظيفياً أن تُستخدم لاحقاً كبادئ أو محرّضات (initiators) لتفاعلات بلمرة الطعم من أجل التثبيت التساهمي للجزيئات المحاكية حيويًا [199-201].

لقد استخدم العديد من المجموعات البحثية القدرة على الجمع بين طرق المعالجة السطحية ومخططات بلمرة الطعم وذلك لتعديل سطوح المواد المختلفة. فقد جمع Nakaoka وآخرون بين المعالجة بالبلازما وبلمرة الطعم لتعديل سطح أفلام البولي إيثيلين (polyethylene - PE) مع جزيئات محاكية حيويًا. وقد تم تعريض أفلام البولي إيثيلين (PE) لتفريغ الهالة وذلك من أجل إدخال البيروكسيدات على سطح المادة، والتي بدأت بلمرة الطعم لموجود (مونومر) حمض الأكريليك (acrylic acid monomer) على سطح البولي إيثيلين (PE). وقد تم تثبيت ألبومين المصل البقري (bovine serum albumin) والكولاجين من النمط الأول وببتيدات الـ (RGDS) على سطوح الأفلام حيث لوحظ التمايز العصبي (neural differentiation) لخلايا الدماغ المتوسط (midbrain cells) [202]. وتم استخدام تفاعلات الإبتداء أو التحريض الضوئي (photoinitiation reactions) من أجل بلمرة الطعم لجزيئات بيتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) على سطوح المواد [203-205]. وقد قام DeGiglio وآخرون بتطعيم أفلام من حمض البولي-بيرو-3-أسيتيك (poly-pyrrole-3-acetic acid) بشكل كهروكيميائي (electrochemically) على صفائح أو شرائح من التيتانيوم، والتي تم عليها تثبيت بقايا 4-فلورو-فينيل آلانين (4-fluoro-phenylalanine) باستخدام ثنائي الهيكسيل الحلقي ثنائي إيميد الكربون (dicyclohexylcarbodiimide) [206]. وقد أنشأ Chung وآخرون سطوحًا حيوية محاكية بدائي عن طريق تحريض اضطرابات سطحية في مستوى النانو (nanoscale surface disturbances) على سطوح البولي كابريولاكتون (PCL - poly(ϵ -caprolactone)) من خلال الحفر بالمذيبات (solvent etching) باستخدام نظام المذيب المشترك. وتم طمر (تضمين) أنصاف أو أجزاء غليكول الإثيلين (ethylene glycol moieties) على سطوح البولي كابريولاكتون (PCL)، والتي تم تطعيمها في نفس الوقت بجزيئات الـ (GRGD) بشكل ضوئي كيميائي (photochemically) وذلك لتشكيل سطوح من البولي كابريولاكتون - بولي غليكول الإثيلين - حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (PCL - PEG - RGD). لقد دعمت السطوح المعدلة التصاق ونمو الخلايا البطانية البشرية للوريد السري (human umbilical vein endothelial cells - HUVEC) بشكل أكبر من السطوح غير المعدلة مما يُظهر بشير نجاح واعِد في تطبيقات هندسة الأنسجة الملساء [207]. وقد تم إجراء زخرفة أو تشكيل مايكروبي لبدائل اصطناعية قَرْنِيَّة محاكية حيويًا (biomimetic keratoprostheses) عن طريق تطعيم ثنائي بولي (غليكول الإثيلين) الأميني (di - amino - PEG) على سطوح البولي (ميثا كريات الميثيل) (PMMA) باستخدام الحلمهة (التحلل المائي) (hydrolysis) والتركيب الكيميائي لثنائي إيميد الكربون أو الحلمنة (aminolysis) المباشرة. وقد تم تثبيت السطوح المخصصة وظيفيًا والمطعمة بعد ذلك مع ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) باستخدام رابط متشابه غَيْرَوِيّ ثنائي الوظيفة (heterobifunctional) لإقران الببتيدات مع المجموعات الأمينية الطرفية على طبقة البولي (غليكول الإثيلين) (PEG) المطعمة من خلال مجموعات سلفهيدريل السيستئين ذات النهايات الأمينية (N-terminal cysteine sulfhydryl groups) [208]. يمكن تصنيع جزيئات هجينة من أجل استخدامها كطبقات طلاء للتغطية أو في تفاعلات بلمرة الطعم من أجل تصنيع مواد حيوية محاكية. وقد تم تطعيم قليلات الببتيد (GRGD) بشكل ضوئي كيميائي مع إن-سكسيني ميديل 6-4-إيزيدو-2-نيترو-فينيل الأميني-هيكسونات (N-succinimidyl-6-[4-azido-2-nitrophenylamino]-hexanoate - SANPAH)، والتي تم تطعيمها فيما بعد على سطوح الشيتوزان عن طريق التشعيع بواسطة الأشعة فوق البنفسجية. لقد أدت السطوح المعدلة إلى تحسن في التصاق ونمو الخلايا البطانية البشرية للوريد السري (HUVEC) [209].

يمكن أن تؤدي بلمرة الطعم إلى إنتاج خصائص سطحية محددة من أجل الاستخدام في تطبيقات مختلفة وذلك من أجل: تحسين الالتصاق والانتشار الخلوي وتعزيز قابلية التبلل السطحية (surface wettability) وتحسين التوافقية الحيوية للمادة وإنشاء طبقات طلاء أو تغطية لا تفسد (non - fouling coatings) ومن أجل التخصيص الوظيفي السطحي (surface functionalization) والتثبيت الجزيئي (molecular immobilization). إن السطوح المعدلة تكون مقتصرة على أعماق تتراوح بين عدة مئات من الأنغسترومات وحتى عشرات من المايكرومترات، من دون أن يؤثر ذلك على الخصائص الكتلية للمادة. وبذلك يمكن معالجة مجموعة متنوعة من المواد التي تحتوي على أشكال معقدة. كما يمكن استخدام بلمرة الطعم أيضاً في معالجة مناطق سطحية محددة وذلك عن طريق استخدام الأقنعة (masks) أو المقاومات (resists) [177,210].

(٦،٤،٣،٣) تأثيرات التركيز السطحي والتوزيع السطحي لقليل الببتيد Effects of Oligopeptide Surface Concentration and Distribution

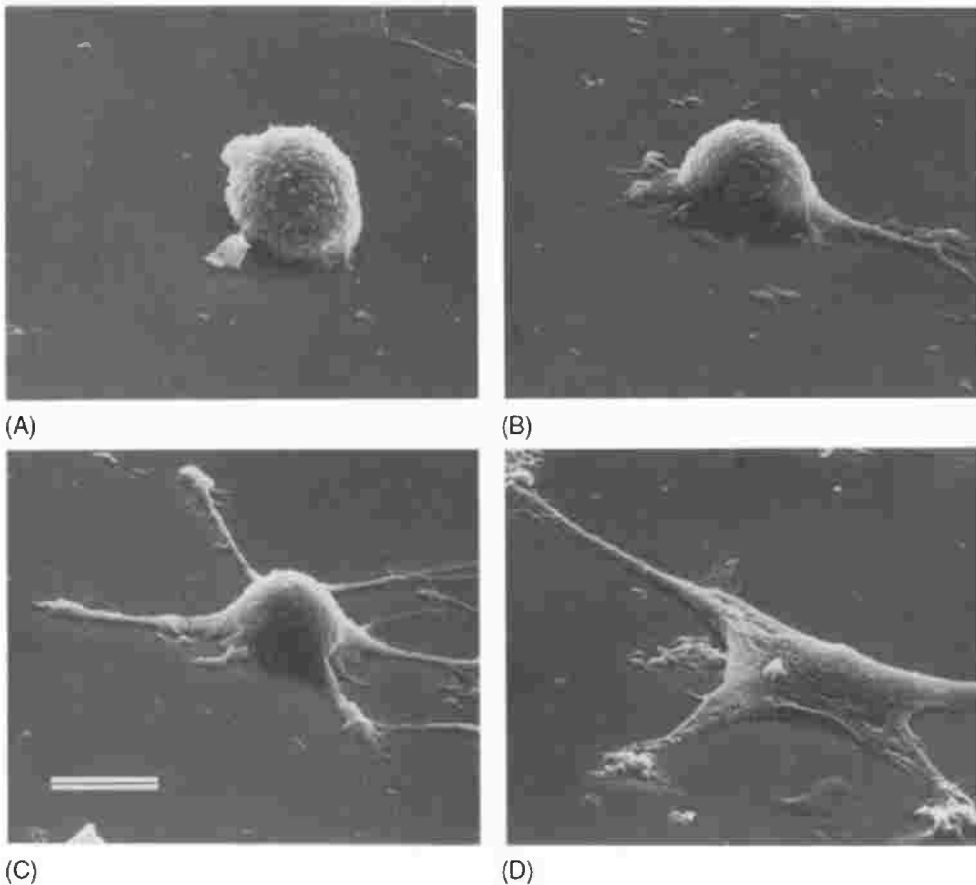
يمكن تصنيع حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة وذلك لغرض التنظيم أو التحكم بالاستجابات البيولوجية والخلوية عند السطح الفاصل (interface) بين المواد الحيوية والبيئة المضيفة. ويمكن التحكم بالاستجابات في المختبر وفي الجسم الحي لهذه المواد المعدلة ليس فقط عن طريق نوع الجزيء الحيوي المحاكى المثبت على سطح مادة حيوية ما، وإنما أيضاً عن طريق تركيز اللجين وتوزيعه المكاني وتوجيهه والألفة أو الانجذاب بين اللجين - المستقبل (receptor - ligand affinity) وهذه الجزيئات (الشكل رقم ٦.٥) [30]. وعلى هذا النحو، فإن لهذه المحددات (البارامترات) اعتبارات هامة يتعين أخذها في الحسبان في عملية تصميم حاملات الخلايا والأنسجة المحاكية حيويًا ومعدلة السطح من أجل هندسة الأنسجة.

يعتمد العديد من العمليات الخلوية ضمن الأنسجة على تركيب جزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM) الأساسية المشكلة لها. وبالتالي؛ فإن تغيير تركيز البروتينات الرابطة (binding proteins) المتوفرة يمكن أن يكون له تأثيرات مباشرة عميقة على السلوك الخلوي. لقد بحثت الدراسات المبكرة الاستجابة الخلوية لتراكيز مختلفة من بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) اللاصقة للخلايا والممتصة على سطوح الركائز. وقد تبين أنه كانت هناك حاجة إلى حد أدنى من التركيز السطحي للفيبرونيكتين والفيترونيكتين، يتراوح تقريباً من ١٠٠ إلى ٣٠٠ فيمتو مول في السنتيمتر مربع ($\text{fmol} / \text{cm}^2$)، وذلك للحصول على انتشار كافٍ للخلايا (sufficient cell spreading) [93,211,212]. وبالنسبة للسطوح المثبتة باستخدام ببتيديات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD)، فيبدو أن الالتصاق والانتشار الخلوي (cellular attachment and spreading) يُظهران تزايداً سينيئاً (sigmoidal increase) كوظيفة تابعة لتزايد التركيز السطحي لحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) [93,213,217]. وبالتالي؛ فإن هناك حاجة إلى حد أدنى من الكثافة السطحية من أجل الحصول على استجابات خلوية. لقد قام Massia وآخرون بإجراء دراسات كمية (quantitative studies) لفحص الاستجابة الخلوية للـ (GRGDY) المثبت على ركائز من الزجاج والمعدل بواسطة البولييمير من خلال بقايا الغليسين ذات النهاية الأمينية (N-terminal glycine residue) [218] (الشكل رقم ٦.٥). وقد وُجد أن حدًا أدنى من كمية ببتيديد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) (١ فيمتو مول في السنتيمتر مربع) ($1 \text{ fmol} / \text{cm}^2$) سيكون كافياً لانتشار خلايا الأرومة الليفية (fibroblast cell)، في حين أنه كانت هناك ويمكن للاستجابة الخلوية للمواد الحيوية معدلة السطح أن تتأثر أيضاً بالتوزيع المكاني في المستوى النانوي (nanoscale spatial distribution) للببتيديات المحاكية حيويًا على سطح المادة. فمن خلال توزيع

اللجان الببتيدية في طريقة يمكن أن تُسهّل تجميع مستقبلات التصاق الخلايا، فإنه من الممكن تعزيز استجابات خلوية محددة [222]. وقد تمّ توظيف طريقة لربط بوليمر اصطناعي بحيث سمحت بتغيير كلٍ من متوسط الكثافة السطحية والتوزيع المكاني الموضعي للببتيدات المثبتة بالسطح [223]. فتم ربط ببتيدات الـ (YGRGD) على سواير مُعدّلة بهلام مائي مصنوع من البولي (جليكول الإيثيلين) (PEG hydrogel - modified coverslips) باستخدام حبال نجمية من البولي (أكسيد الإيثيلين) (star PEO tethers)، ومؤلفة من العديد من أذرع البولي (أكسيد الإيثيلين) (PEO arms) المثبتة من لب أو نواة مركزية (central core). وقد تمّ تركيب جزيئات ببتيدية - بوليمرية هجينة تحتوي على ١ و ٥ و ٩ لجائن ببتيدية في الجزيء النجمي (star molecule) وتم تثبيتها عند مجال متوسط كثافات الجائن يتراوح بين ١٠٠٠ و ٢٠٠٠٠٠ لجين في المايكرومتر مربع ($1,000 - 200,000 \text{ ligands} / \mu\text{m}^2$) من أجل زراعة الخلايا. لقد لاحظ Maheshwari وآخرون بأن نسبة أكبر بكثير من الخلايا قد قاومت إجهادات القص الأعلى على السطوح المتعنّقة (clustered surfaces) بعد عملية التثفيل أو الطرد المركزي (centrifugation). وقد ازداد التصاق وهجرة الخلايا على السطوح المعدّلة بواسطة الـ (YGRGD) باستخدام متوسط الكثافة السطحية والحجم العنقوديّ الموضعي (local cluster size). كما أظهرت الخلايا أيضاً أليافاً إجهادية واتصالات بؤرية مُشكّلة بشكلٍ جيد عندما تمّ تقديم اللجان الببتيدية في أشكال متعنّقة أو مُجمّعة (clustered forms).

وفي حين يسمح تعنّقد أو تجميع (clustering) بببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) في المستوى النانوي بتعزيز استجابات خلوية محددة، إلا أن المسافة التي منها تكون الببتيدات مُوجّهة من سطح الركيزة يمكن أن تؤثر على سلوك الخلايا أيضاً. ومن الممكن أن تتطلب الخلايا بأن تكون ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) مثبتة مع حد أدنى من التباعد بينها وبين سطح الركيزة المثبت [94,224,225] بحيث تكون مرنة وتواجه الحد الأدنى من الإعاقة الفراغية (steric hindrance) [30]. لقد تمّ استخدام سلاسل قصيرة من بوليمر خامل حيويًا (bioinert polymer) وسلاسل قصيرة من الأحماض الأمينية (على سبيل المثال: PEG و Gly - Gly - Gly - Gly و Pro - Val - Glu - Leu - Pro) كفواصل من أجل تثبيت الببتيد [226-229]. وقد لاحظ Herm وآخرون بأن السطوح المعدّلة بواسطة ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) والتي تحتوي على فواصل من البولي (جليكول الإيثيلين) (PEG) عند كثافة سطحية منخفضة قدرها ٠.٠١ بيكو مولاً في السنتيمتر مربع ($0.01 \text{ pmol} / \text{cm}^2$) قد شجّعت من تعزيز التصاق الخلايا، في حين أن السطوح المعدّلة بواسطة ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGDs) من دون فواصل من البولي (جليكول الإيثيلين) (PEG) قد أظهرت التصاقاً محدوداً للخلايا وذلك حتى عند كثافات سطحية أعلى [230]. وقد ظهر بأن ارتباط الصفائح (platelet) بالخرزات (beads) المصنوعة من البولي (أكريلو نتريل) (poly(acrylonitrile)) يتعزز عن طريق إقران أو ربط ما يصل إلى ١٣ من بقايا الغليسين مع النهاية الأمينية لببتيد الـ (RGDF) [231]. وقد اقترح Beer وآخرون أن غالبية مواقع الارتباط لببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) يمكن الوصول إليها عن طريق ببتيدات تمتد باستطالة قدرها من ١١ إلى ٣٢ أنغستروماً ($11 - 32 \text{ Å}$) من سطح الركيزة وأن معظم مستقبلات الخلايا يمكن الوصول إليها بطول فاصل قدره ٤٦ أنغستروم (46 Å). وقد اكتشف Craig وآخرون بأن ١٢ من بقايا الحمض الأميني كانت مثالية للطول الفاصل في طبقات التغطية الجديدة باستخدام قليل الببتيد [232]. وتوجد هناك أمثلة حيث لا يكون فيها حاجة للجزيء الفاصل (spacer molecule) من أجل الالتصاق الكافي للخلايا بالإضافة إلى الالتصاق الضعيف للخلايا

وذلك عندما يكون الجزيء الفاصل طويلاً جداً [233-237]. وبالرغم من ذلك، فإن استخدام الفواصل (spacers) في تثبيت الببتيدات قد يفيد في: السماح لببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) بالوصول إلى موقع ارتباط الإنتغرين (integrin binding site) المتوضع ضمن الرأس الكروي للجزيء (globular head of the molecule)؛ أو تسهيل ترتيب الببتيدات في المجالات المكانية المايكروية على سطوح الركيزة وذلك من أجل التثبيت الخلوي المعزز؛ أو التعويض عن خشونة سطح الركيزة في المستوى المايكرووي [1].



الشكل رقم (٦،٥). صور مجهرية بواسطة المجهر الإلكتروني الماسح (SEMs) للخلايا الملتصقة على ركائز تحتوي على ببتيد الـ (GRGDY) مُطعم بشكلٍ تساهمي تبين عملية التصنيف إلى الأنماط ١-٤ (I-IV). لقد تم إظهار الخلايا الملتصقة على ركائز ذات تركيز سطحي متغير للببتيد وفقاً للأنماط المورفولوجية الأربعة المعروضة هنا. (A) النمط الأول، خلايا كروية (spheroid cells) مع عدم وجود امتدادات لأرجل كاذبة خيطية (filopodial extensions)، (B) النمط الثاني، خلايا كروية مع امتداد واحد إلى امتدادين من الأرجل الكاذبة الخيطية، (C) النمط الثالث، خلايا كروية مع أكثر من امتدادين من الأرجل الكاذبة الخيطية، (D) النمط الرابع، شكل مورفولوجيا مُسطح لخلايا منتشرة بشكل جيد. مقياس الشريط ١٠ مايكرومترات. (تم إعادة إنتاجها من Massia, S.P. and Hubbell, J.A., *J.Cell Biol.*, 114, 1089, 1991).

تساهم الألفة أو الانجذاب بين المستقبل - والليجين (receptor - ligand affinity) وانتقائية الخلايا (cell selectivity) في الالتصاق الناجح للخلايا وفي تعديل السلوك الخلوي على السطوح المعدلة بالببتيد. وبما أن لكل نوع من الخلايا نمطه النموذجي الخاص به للتعبير عن الإنتغرين (integrin expression)، فإنه من الممكن استخدام ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) لتعزيز الالتصاق الانتقائي للخلايا مع ألفة عالية للمستقبل على السطوح المعدلة [238]. لقد زرع Hirano وآخرون خمسة أنواع مختلفة من الخلايا على سطوح مُعدّلة بببتيدات الـ (RGD)، و (RGDS)، و (RGDT) [239]. وقد أظهرت رباعيات الببتيد (tetrapeptides) المشتقة من الفيبرونيكتين والكولاجين التصاقًا خلويًا أكبر، بالمقارنة مع التسلسلات المتتابعة من ثلاثيات الببتيد (tripeptide)، وذلك بسبب الألفة أو الانجذاب الأكبر للإنتغرين نحو جزئيات رباعيات الببتيد. إن استخدام ببتيدات حلقيّة (cyclopeptides) من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) أكثر انجذابًا في مخططات تعديل السطح يمكن أن يعزز أيضًا الالتصاق الخلوي. لقد لاحظت مجموعات بحثية زيادة في التصاق الخلايا على السطوح المعدلة باستخدام ببتيدات حلقيّة بالمقارنة مع تشكيلاتها الخطيّة [240,241]. وقد أظهرت بعض الدراسات في المختبر جدوى دمج تحديدية إنتغرينية (integrin specificity) على السطوح المعدلة بحمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) من أجل التصاق الخلايا الانتقائي [238]. وقد أظهرت الببتيدات الحلقيّة (Cyclo(RGDfV)) انجذابًا مماثلًا نحو الإنتغرينات $(\alpha_5\beta_1)$ و $(\alpha_{IIb}\beta_3)$ ؛ وعلى أي حال، فإن لها انجذابًا أعلى بشكل ملحوظ نحو إنتغرينات $(\alpha_5\beta_3)$ [242]. يمكن للببتيدات الحلقيّة (G*PenGRGDSPC*A) [243] و (cyclo(RGDf (NMe) V)) [244] أن تتوسط في تفاعلات الإنتغرين $(\alpha_v\beta_3)$ الانتقائية، بينما تعزز الببتيدات الخطيّة المشتقة من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) التصاق الخلايا بوساطة الإنتغرين $(\alpha_5\beta_1)$ [245-247]. تُظهر نفس هذه الببتيدات الخطيّة من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD)، مع بقايا الأحماض الأمينية المحبة للشمع (lipophilic amino acid residues) والمقدمة إلى جانب حمض الأسبارتيك (aspartic acid) (على سبيل المثال: GRGDF و GRGDY و GRGDVY و GRGDYPC) انجذابًا أعلى نحو الإنتغرينات $(\alpha_v\beta_3)$ و $(\alpha_{IIb}\beta_3)$ والتصاقًا انتقائيًا للخلايا من خلال هذه المستقبلات [218,248-250]. ويمكن لتراص أو لصق الصفائح (platelet agglutination) المضى قدمًا بشكل انتقائي على سطوح الـ (GRGDF) من خلال إنتغرينات الـ $(\alpha_{IIb}\beta_3)$ [251]، في حين تلتصق الخلايا البطانية بشكل انتقائي بسطوح الـ (GRGDVY) عبر إنتغرينات الـ $(\alpha_v\beta_3)$ [218,250]. لقد أظهرت السطوح المربوطة بالـ (RGDSPASSKP) التصاقًا تفضيليًا بخلايا الأرومة الليفية بدلاً من الخلايا البطانية من خلال انتقائية الإنتغرين $(\alpha_5\beta_1)$ [247]. وبشكل مشابه، فقد عززت سطوح الببتيد (cyclo(RGDfK)) ذي الانتقائية الأكبر لإنتغرين الـ $(\alpha_v\beta_3)$ التصاق الخلايا المتعلقة بالعظم والخلايا الغضروفية، في حين عززت السطوح المخصصة وظيفيًا بببتيد الـ (GRGDSP) الانتقائي للإنتغرين $(\alpha_5\beta_1)$ التصاق خلايا الأرومة الليفية، ودعمت سطوح الببتيد (G*PenGRGDSPC*A) الحلقي الانتقائي لإنتغرين $(\alpha_5\beta_3)$ كثافات أعلى للخلايا العضلية الملساء والخلايا البطانية [252].

(٦،٥) حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة القلبية الوعائية BIOMIMETIC SCAFFOLDS FOR CARDIOVASCULAR TISSUE ENGINEERING

تعتبر الأوعية الدموية الذاتية (autologous blood vessels) كخيار لمجرى استعاضوي بديل (replacement conduit) من أجل عمليات تحويل مجرى الأوعية الدموية صغيرة القطر (small - diameter bypass)، ومع ذلك فإنه في ٣٠ % من هؤلاء المرضى تكون الأوعية المقبولة غير موجودة أو غير كافية [253,254]. وكبديل عن ذلك، يمكن استخدام طُعوم قلبية وعائية اصطناعية (synthetic cardiovascular grafts). وعلى أي حال، فإن هذه الطُعوم تُظهر عمومًا معدل سَالِكِيَّة (patency rate) أقل بسبب تكوّن الخثرة (thrombus) وانسداد بَاطِنَةِ الشَّرِيَان (intimal occlusion) عند عملية الزرع [255]. لذلك؛ فقد تم بذل الجهود باتجاه تطوير طُعوم وعائية ذات توافقية حيوية مُحسَّنة ومُطَاوَعَة ميكانيكية (mechanical compliance) مُحسَّنة ومضادة لتكوّن الخثرات (anti - thrombogenicity) في طريقة هندسة الأنسجة لتصنيع أنسجة قلبية وعائية (cardiovascular tissues).

إن واحدة من الطرق المستخدمة في زيادة تولّد الأوعية الدموية (angiogenesis) تكمن في دمج عوامل النمو في بُنى المواد [256-258]، في حين تستخدم طريقة أخرى أجزاء ببتيّات بيولوجية مُثبتة على سطوح الركائز. وقد تم طلاء أو تغطية رباعي فلورو إيثيلين (tetrafluoroethylene) الموسّع وتثبيتته مع الفبرونيكتين والببتيّات المحتوية على حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) وذلك من أجل تحسين التصاق الخلايا البطانية [259]. وقد تم دمج تسلسلات متتابعة تحتوي على حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) في البولي يوريثانات (polyurethanes) عن طريق التعديل الكيميائي والتعديل الكيميائي الضوئي، وهو ما أظهر تحسُّنًا في التصاق وتكاثر الخلايا البطانية [260-262]. لقد تم استكشاف ببتيّات أخرى من أجل المزيد من تفاعلات الالتصاق النوعية التي تتم بواسطة المستقبل مع الخلايا البطانية. وقد وُجد بأن سطوح البولي (تيريفثالالات الإيثيلين) (poly(ethylene terephthalate)) والسطوح الزجاجية المثبتة بواسطة الببتيد (YIGSR) تعزز من التصاق وانتشار وهجرة الخلايا البطانية [263]. وقد تم تثبيت الببتيد (REDV) المشتق من الفبرونيكتين على السطوح وتفاعل مع مستقبلات الخلايا البطانية لتعزيز التصاقها وانتشارها، إلا أنه حد من التصاق الخلايا العضلية الوعائية الملساء (vascular smooth muscle cells) والصفائح (platelets) [94]. وتم إنشاء حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا وذلك عن طريق التثبيت التساهمي للإيفرين-إيه ١ (ephrin-A1) على سطح الهلامات المائية المصنوعة من بولي (جليكول الإيثيلين) - ثنائي الأكريلات (poly(ethylene glycol) - diacrylate) عن طريق التعديل الكيميائي والبلعمة الضوئية (photopolymerization) من أجل دراسة خصائصها الوعائية (angiogenic properties). وقد وُجد بأن الإيفرين-إيه ١ المثبت على الهلامات المائية يحتفظ بقدرته على تحفيز التصاق الخلايا البطانية في طريقة تعتمد على الجرعة كما هو الحال في نتائج مماثلة تم ملاحظتها على أطباق مزارع الخلايا المصنوعة من البوليسترين (polystyrene culture wells) والمتمتزة مسبقًا بالإيفرين-إيه ١ [264]. وقد تم تغليف أو تحفظ (encapsulate) الخلايا الجذعية الجنينية البشرية (human embryonic stem cells) في هلامات مائية مبنية على أساس الديكستران (dextran - based hydrogel) مع أو بدون عوامل تنظيمية مثبتة مثل: ببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك المربوط (tethered RGD peptide) وعامل النمو البطاني الوعائي المغلف

أو المَحْفَظ مايكروياً (microencapsulated vascular endothelial growth factor - VEGF). وقد أظهرت النتائج بأن جزء الخلايا المعبرة عن مستقبل عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF)، وهو (KDR / Flk-1)، والذي يعتبر واسمة وعائية (vascular marker)، قد ازداد حتى عشرين ضعفاً، بالمقارنة مع الأجسام الجنينية مُصْغِيَّة الشكل (embryoid bodies - EBs) المتميزة بطريقة عفوية [265].

(٦,٦) حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة العظمية BIOMIMETIC SCAFFOLDS FOR ORTHOPAEDIC TISSUE ENGINEERING

يعتبر إصلاح واستبدال الأنسجة المتضررة الصلبة والرخوة للجهاز العضلي الهيكلي (musculoskeletal system) - مثل العظم والرباط والوتر - من المشاكل السَّريَّة الرئيسة في الولايات المتحدة الأمريكية وحول العالم. لقد أصبحت المعالجة الوظيفية (functional treatment) للكسور غير الملتحمة (fracture nonunions) وفقدان العظم المرتبط بالرضوض (trauma) والسرطان (cancer) ورأب المفاصل التَّراجعي (revision joint arthroplasty) شائعة بشكل متزايد بالنسبة لجراح العظام ولا تزال تشكل تحدياً كبيراً في مجال جراحة تقويم العظام (orthopaedic surgery). ومع ما يقرب من ٣٠ مليون شخص في الولايات المتحدة يعانون من نوع من أنواع الإصابة العضلية الهيكلية (musculoskeletal injury) سنوياً، فإن هناك أكثر من ٣ ملايين إجراء جراحي تقويمي عظمي كل سنة [266].

لقد تم إقران ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) مع مواد مختلفة للتحقق من جدواها في تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية. فقد استخدم Sofia وآخرون و Chen وآخرون حاملات خلايا وأنسجة مبنية على أساس الحرير من أجل إقران حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) من خلال التركيب الكيميائي لثنائي إيميد الكربون من أجل التصاق ونشر وتكاثر وتمايز خلايا الـ (Saos-2) البشرية المشابهة للخلايا البانية للعظم (osteoblast) [267]، وخلايا الأرومة الليفية (fibroblasts)، وخلايا نقي العظم السَدَوِيَّة (bone marrow stromal cells) [268]. ولقد تم إقران بولي (حمض اللاكتيك) (PLA) وبولي (دي، إل-لاكتيد-كو-غليكولايد) (PLGA) مع ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) باستخدام البولي (إل-لايزين) (PLL) والامتزاز الفيزيائي (physical adsorption) وقد أظهرت التصاقاً ونموً ناجحاً للخلايا سَلَيْفَة العظمية البشرية (osteoprogenitor) [107]. كما تم أيضاً ربط ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) مع البوليستر المبنية على أساس الفومارات (fumarate-based polyesters) وقد ظهر بأنها تعزز من استجابة الخلايا الجذعية المتوسطة (mesenchymal stem cell) لدى الجرذان [137, 269]. وقد تم استخدام نموذج الأرنب من أجل التقييم في الجسم الحي للطعوم المزروعة المصنوعة من بولي (ميثا كريلات الميثيل) (PMMA) الذي تم طلاءه بطبقة من الـ (cycli(RGDfK)) من أجل تجديد العظم. لقد أظهرت الطعوم المزروعة المعدلة نُشُوباً أو نموًا عظمياً معزلاً ومُسرَّعاً، من دون تشكيل نسيج ليفي بيني (interfacial fibrous tissue)، وذلك بالمقارنة مع عينات المراقبة غير المطلوبة [213]. لقد استخدم Karageorgiou وآخرون التركيب الكيميائي لثنائي إيميد الكربون وذلك للتثبيت

التساهمي للبروتين المكوّن للعظم (BMP-2) على أفلام من فيبروين الحرير (silk fibroin films) وتم زراعتها بوجود خلايا نقي العظم السدويّة البشرية (human bone marrow stromal cells). وقد تم الحفاظ على البروتين المكوّن للعظم (BMP-2) والمقترن بشكلٍ تساهمي على سطح الحرير عند مستوى أعلى بكثير من السطوح الممزوجة وأنتج نشاطاً مرتفعاً للإنزيم الفوسفاتاز القلوي وترسيباً مرتفعاً للكالسيوم ومستويات نسخ عظمي (osteogenic transcript) أعلى [270].

لقد أثبت Kardestuncer وآخرون أن فيبروين الحرير المعدّل بواسطة بيتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) يمكن أن يعزز التصاق وتكاثر خلايا الوتر البشرية (human tenocytes) ودعم تمايزها كما هو مثبت من خلال مستويات النسخ المرتفعة للدكتورين (decorin) والكول-١ (Col-I) [271]، ويرجع ذلك على الأرجح إلى تفاعلات الخلايا - الخلايا المعززة من الكثافة الزائدة للخلايا. وقد ظهر أيضاً أن ألياف الحرير المعدلة بواسطة بيتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) تدعم التصاق وانتشار وتكاثر خلايا نقي العظم السدويّة البشرية وخلايا الأرومة الليفية للرباط التصالبي الأمامي (anterior cruciate ligament fibroblast) وإنتاج مصفوفة الكولاجين (collagen matrix) في المختبر [272].

لقد تم استخدام طلاء (تغطية) حاملات خلايا وأنسجة اصطناعية بطبقة من بيتيدات حلقيّة من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) لتفاعل مع مستقبلات محددة من الإنتغرينات على سطوح الخلايا. فتم زرع خلايا غضروفية (chondrocytes) ذات تعبير إنتغريني على سطوح معدلة وقد عزيت تحديديّة الربط إلى وجود حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) المثبت. وقد وُجد أن التصاق وشكل أو مورفولوجيا الخلايا الغضروفية يتغيران مع التزايد في كميات بيتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) الحلقيّة على السطح [273]. وتم القيام بمحفظة (تغليف) خلايا جذعية جنينية بشرية في هلامات مائية من البولي (جليكول الإيثيلين) - ثنائي الأكريلات (poly(ethylene glycol) - diacrylate) معدلة بواسطة الكولاجين من النمط الأول أو حمض الهيالورونيك (hyaluronic acid) أو بيتيدات الـ (YRGDS) وتم تقييمها فيما يتعلق بالنشاط المكوّن للغضروف (chondrogenic). وقد أظهرت الخلايا المَحْفَظَة في الهلامات المائية المعدلة بواسطة بيتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) تشكيل غضروف جديد (neocartilage) مع ترسيب مصفوفة خارج خلية قَعْدَة (basophilic extracellular matrix) (تتلون بالملونات القاعدية) في غضون ثلاثة أسابيع من الزراعة وأنتجت تنظيمًا عاليًا للجين المحدد للغضروف (cartilage-specific gene) [274]. لقد تم إجراء تعديل سطحي لجسيمات كروية مايكروية مصنوعة من البولي (حمض -إل -لاكتيك) (PLLA) باستخدام بيتيدات الـ (GRGDSPK) من خلال التركيب الكيميائي لثنائي إيميد الكربون وتم استخدامها كحاملات مايكروية لخلايا غضروفية مزروعة في مفاعل حيوي ذي تدفق مُتَقَطَّع (flow intermittency bioreactor). وقد أظهرت الحاملات المايكروية المعدلة السطح تَكَدُّسًا ثلاثي الأبعاد للخلايا على الجسيمات الكروية المايكروية المعدلة بواسطة بيتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) بعد سبعة أيام من الزراعة مع استمرار في النمو لأكثر من أربعة عشر يومًا [164]. وعلى أي حال، فقد أثبتت الأفلام الرقيقة المصنوعة من البولي (حمض -إل -لاكتيك) (PLLA) والبولي (حمض -إل -لاكتيك -كو-جليكوليك) (PLGA) بنسبة (٥٠ : ٥٠) والمعدلة بواسطة بيتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) - مجال الارتباط السيلولوزي (cellulose binding domain) (CBD - RGD) أنها لا

تكون مفيدة من أجل تشكيل الغضروف الجديد في المختبر [275]. لقد صنع Hsu وآخرون سلسلة من المواد الطبيعية القابلة للتحلل الحيوي، مؤلفة من مركبات الشيتوزان - الألجينات - الهيالورونات (chitosan - alginate - hyaluronate (C-A-H)) في أفلام وحاملات خلايا وأنسجة وقد تم تعديلها باستخدام ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) - مجال الارتباط السيلولوزي (CBD - RGD). لقد تمت زراعة الخلايا الغضروفية في المختبر على هذه المواد وأظهرت تعزيزًا في الالتصاق والتكاثر الخلوي وتعزيزًا في تصنيع الكولاجين والجليكوز أمينوغليكان (GAG)، في حين تم إصلاح العيوب في غضروف ركبة أرنب بشكل كامل في ستة أشهر [276]. وقام Meinel وآخرون بتقييم إسفنجات مسامية (porous sponges) من الحرير المعدل بواسطة حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) من أجل هندسة الأنسجة الغضروفية (cartilage tissue engineering). وقد كان الالتصاق والتكاثر والنشاط الأيضي (الاستقلابي) (metabolic activity) للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (human MSC) أفضل بشكل ملحوظ على حاملات الخلايا والأنسجة الحريرية التي تتحلل ببطء بالمقارنة مع مثيلاتها من عينات المراقبة المصنوعة من الإسفنج الكولاجيني (collagen sponge) والتي تتحلل بسرعة وقد دعمت التشكيل المستمر للأنسجة الشبيهة بالغضروف [277].

(٦,٧) حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة العصبية BIOMIMETIC SCAFFOLDS FOR NEURAL TISSUE ENGINEERING

إن الشلل (paralysis) الناتج عن تلف الأعصاب (nerve damage) هو إصابة مدمرة تُضعف عشرات الآلاف من الأمريكيين كل عام، ولقد كان العمل مع الجهاز العصبي لفترة طويلة تحديًا للأطباء والعلماء. تقليديًا، يتم استخدام زرع الأنسجة (tissue transplantation) أو تطعيم الأعصاب الطرفية (peripheral nerve grafting) لإصلاح المناطق التالفة أو المريضة في الجهاز العصبي المركزي (CNS)، ولكن غالبًا ما يواجه ذلك بنقص في المتبرعين ومشاكل مناعية مرتبطة مع أمراض معدية (infectious disease) [278,279]. إن التجديد ضعيف المستوى للأنسجة العصبية والتشكيل السريع للندبة (scar) بعد إصابة الحبل الشوكي (spinal cord injury) يعيقان الإصلاح الداخلي المنشأ (endogenous repair) للمنطقة المتضررة. وبالتالي؛ فإنه توجد هناك حاجة قوية لتقنيات إصلاح مبتكرة، مثل البنى العصبية المهندسة (engineered nerve constructs) التي يمكن أن تبني وتجدد الحبل الشوكي المتضرر [280]. تعتبر هندسة الأنسجة مجالًا مزدهرًا في الهندسة الطبية الحيوية لإصلاح أو استبدال الوظيفة المختلة للأنسجة. لقد وفرت هندسة الأنسجة بديلاً لطرق الزرع التقليدية وذلك من خلال استخدام مواد حيوية بوليمرية مع أو من دون خلايا سلف حية (living precursor cells).

لقد حسّنت السطوح المعدلة باستخدام ببتيدات مشتقة من اللامينين وال (YIGSR) وال (IKVAV) وبشكل ملحوظ من التصاق الخلايا العصبية (P12) [281]. وقد وجّهت هلامات الآغاروز (agarose gels) المشتقة مع قليل الببتيد المشتق من اللامينين ((CDPGYIGSR (Cys - Asp - Pro - Gly - Tyr - Ile - Gly - Ser - Arg)) نمو المحوار العصبي الموجه (guided neurite growth) من خلايا عُقد الجذّر الظهريّ (dorsal root ganglia) [282]، في حين عززت الهلامات المشتقة من

الـ (IKVAV) وبشكل ملحوظ النمو الخارجي للمحوار العصبي (neurite outgrowth) من الخلايا (PC12) [283]. لقد تم تثبيت خماسيات الببتيد (pentapeptides) المشتقة من اللامينين (YIGSR و IKVAV) على أفلام من برويلين الإيثيلين المفلور (fluorinated ethylene propylene) وأظهرت زيادة في التصاق الخلايا (NG108-15) بواسطة المستقبل [284,285]. وبشكل مائل، فإن الهلام المائي المصنوع من البولي (هيم-كو-إيما) (poly(HEMA-co-AEMA)) المعدل باستخدام الببتيدات المشتقة من اللامينين قد وجّه التصاق الخلايا والنمو الخارجي للمحوار العصبي [286]. وقد تم استخدام النشاط الإنزيمي للعامل (XIIIa) لدمج الببتيدات النشطة حيويًا بشكلٍ تساهمي ضمن الفيبرين أثناء عملية التخثر (coagulation). لقد تم دمج الببتيدات المشتقة من اللامينين (RGD, IKVAV, YIGSR, RNIAEIIKDI)، و (N-cadherin (HAV)) لوحدها وبشكل مزيج في هلامات الفيبرين (fibrin gels) وقد عززت امتداد المحوار العصبي (neurite extension) في المختبر وتجديد محوار عقدة الجذر الظهراني (dorsal root ganglion axon) في الجسم الحي [287]. وتم مؤخرًا استخدام العوامل البيولوجية، مثل حمض الهيالورونيك (hyaluronic acid) وأجزاء ببتيدية مشتقة من اللامينين، كعوامل تنشيط (doping agents) أثناء البلمرة الكهربائية (electropolymerization) للبولي بيرول (polypyrrole - PPy) وتم تثبيتها على السطوح لتتفاعل بشكلٍ موضعي مع الخلايا. ولقد عززت السطوح المعدلة بمحضر الهيالورونيك تكوّن الأوعية الدموية (vascularization) في الجسم الحي ولكنها لم تعزز التصاق الخلايا (PC-12) في المختبر [288]، في حين أن السطوح المعدلة بجزء اللامينين (CDPGYIGSR) قد أظهرت نموًا تفضيليًا لخلايا الورم الأرومي العصبي (neuroblastoma cells) في المختبر [289]. وعلاوة على ذلك، فقد أثبتت الدراسات التي تم إجراؤها في المختبر بأن سطوح الإلكترودات المعدلة باستخدام (PPy / CDPGYIGSR) أظهرت زيادة كبيرة في التلون الموضعي للخييط العصبي (neurofilament) بعد أسبوع واحد من عملية الزرع [290]. وقد ذكر Stauffer وآخرون بأنه قد تم استخدام أجزاء اللامينين، (CDPGYIGSR و RNIAEIIKDI)، كعوامل مُنشِطة (dopants) في البلمرة الكهربائية للبوليمر الموصل البولي بيرول (PPy). لقد دعمت السطوح المنشّطة باستخدام مزيج من الببتيد أعلى كثافة عصبية، في حين كان لدى السطوح المنشّطة باستخدام الـ (RNIAEIIKDI) محاور عصبية أساسية (primary neurites) أطول بشكلٍ ملحوظ والتصاقًا أقل للخلية النجمية (astrocyte) من مادة الإلكترودات الشائعة، وهي الذهب [291].

(٦,٨) الاستنتاجات CONCLUSIONS

إن التحدي الرئيسي الأول في تطوير بنية مُهندَسة نسيجياً يكمن في تطوير بيئة مايكروية اصطناعية (synthetic microenvironment) يمكن أن تحاكي عن كثب البنية المايكروية والنانوية الهرمية (hierarchical micro- and nanoarchitecture) المعقدة للمصفوفة خارج الخلية (ECM). إن لاستساخ التنظيم المكاني في المستوى الجزيئي للإشارات أو المنبهات البيولوجية (biological cues)، مثل عوامل النمو وإنزيمات السيتوكينات (cytokines enzymes)، الموجودة في الأنسجة الأصلية في الجسم الحي أهمية خاصة أيضاً في الطريقة المحاكية حيويًا لهندسة الأنسجة في المختبر. لقد أظهر الباحثون

أن هناك أنواعًا مختلفة من الجزيئات الحيوية قليلة الببتيد (oligopeptide biomolecules) يمكن تثبيتها على المواد بحيث توفر خيارات مفيدة ومن السهل الوصول إليها لمخططات تعديل السطح والتي تُستخدم لمنح المواد الحيوية لجائن نشطة حيويًا، بينما يتم الحفاظ على نشاطها البيولوجي. إن هذه الإستراتيجيات تفتح الأبواب لمزيد من الخيارات من أجل تثبيت الجزيئات الحيوية بشكل انتقائي على سطوح المواد في محاولة مُوجَّهة نحو ترميز الوظائف البيولوجية (encoding biological functions) لمواد هي في نهاية المطاف مرتبطة بالتجديد الموجه للخلايا والأنسجة (directed cell and tissue regeneration).

المراجع REFERENCES

- [1] Hersel U, Dahmen C, and Kessler H. 2003. RGD modified polymers: Biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. *Biomaterials* 24:4385–4415.
- [2] Hubbell JA. 1995. Biomaterials in tissue engineering. *Biotechnology* 13:565–576.
- [3] Marler JJ, Upton J, Langer R, and Vacanti JP. 1998. Transplantation of cell in matrices for tissue engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 13:165–182.
- [4] Murphy WL and Mooney DJ. 1999. Controlled delivery of inductive proteins, plasmid DNA and cells from tissue engineering matrices. *J. Periodontal. Res.* 34:413–419.
- [5] Ratner BD and Bryant SJ. 2004. Biomaterials: Where we have been and where are we going. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 6:41–75.
- [6] Lao HK, Renard E, Linossier I, Langlois V, and Vallée-Rehel K. 2007. Modification of poly(3-hydroxy butyrate-co-3-hydroxyvalerate) film by chemical graft copolymerization. *Biomacromolecules* 8:416–423.
- [7] Langer R. 2000. Biomaterials in drug delivery and tissue engineering: One laboratory's experience. *Acc. Chem. Res.* 33:94–101.
- [8] Elbert DL and Hubbell JA. 1996. Surface treatments of polymers for biocompatibility. *Annu. Rev. Mater. Sci.* 26:365–394.
- [9] Ikada Y. 1994. Surface modification of polymers for medical applications. *Biomaterials* 15:725–736.
- [10] Drumheller PD, Herbert CB, and Hubbell JA. 1996. Bioactive peptides and surface design. *Bioprocess. Technol.* 23:273–310.
- [11] Lebaron RG and Athanasiou KA. 2000. Extracellular matrix cell adhesion peptides: Functional applications in orthopedic materials. *Tissue Eng.* 6:85–103.
- [12] Shakesheff KM, Cannizzaro SM, and Langer R. 1998. Creating biomimetic micro-environments with synthetic polymer-peptide hybrid molecules. *J. Biomat. Sci. Polym. Ed.* 9:507–518.
- [13] Hubbell JA. 1999. Bioactive biomaterials. *Curr. Opin. Biotechnol.* 10:123–129.
- [14] Mooney D, Hansen L, Vacanti J, Langer R, Farmer S, and Ingber D. 1992. Switching from differentiation to growth in hepatocytes: Control by extracellular matrix. *J. Cell. Physiol.* 151:497–505.
- [15] Blaschke RJ, Howlett AR, Desprez PY, Peterson OW, and Bissell MJ. 1994. Cell differentiation by extracellular matrix components. *Methods Enzymol.* 245:535–556.
- [16] Chen CS, Mrksich M, Huang S, Whitesides GM, and Ingber DE. 1997. Geometric control of cell life and death. *Science* 276:1425–1428.
- [17] Streuli CH, Schmidhauser C, Kobrin M, Bissell MJ, and Derynck R. 1993. Extracellular matrix regulates expression of the TGF-beta 1 gene. *J. Cell Biol.* 120:253–260.

- [18] Lelievre SA, Weaver VM, Nickerson JA, Larabell CA, Bhaumik A, Petersen OW, et al. 1998. Tissue phenotype depends on reciprocal interactions between the extracellular matrix and the structural organization of the nucleus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 95:14711–14716.
- [19] Masuko T, Iwasaki N, Yamane S, Funakoshi T, Majima T, Minami A, et al. 2005. Chitosan-RGDSSGGC conjugate as a scaffold material for musculoskeletal tissue engineering. *Biomaterials* 26:5339–5347.
- [20] Hauschka SD and Konigsberg IR. 1966. The influence of collagen on the development of muscle colonies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 55:119–126.
- [21] Boudreau N, Myers C, and Bissell MJ. 1995. From lamini to lamin: Regulation of tissue-specific gene expression by the ECM. *Trends Cell. Biol.* 5:1–4.
- [22] Ingber D. 1991. Extracellular matrix and cell shape: Potential control points for inhibition of angiogenesis. *J. Cell Biochem.* 47:236–241.
- [23] Bissell MJ, Hall HG, and Parry G. 1982. How does the extracellular matrix direct gene expression? *J. Theor. Biol.* 99:31–68.
- [24] Borchiellini C, Coulon J, and Le Parco Y. 1996. The function of type IV collagen during drosophila muscle development. *Mech. Dev.* 58:179–191.
- [25] Murray MA, Fessler LI, and Palka J. 1995. Changing distributions of extracellular matrix components during early wing morphogenesis in *Drosophila*. *Dev. Biol.* 168:150–165.
- [26] Buck C and Horwitz AF. 1987. Cell surface receptors for extracellular matrix molecules. *Annu. Rev. Cell Bio.* 3:179–205.
- [27] Singer II, Scott S, Kawak DW, Kazazis DM, Gailit J, and Ruoslahti E. 1988. Cell surface distribution of fibronectin and vitronectin receptors depends on substrate composition and extracellular matrix accumulation. *J. Cell Biol.* 106:2171–2182.
- [28] Mosher DF. 1993. Assembly of fibronectin into extracellular matrix. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3:214–222.
- [29] Andeson JM. 2001. Biological responses to materials. *Annu. Rev. Mater. Res.* 31:81–110.
- [30] Shin H, Jo S, and Mikos AG. 2003. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials* 24:4353–4364.
- [31] Ruoslahti E and Pierschbacher MD. 1987. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science* 238:491–497.
- [32] Albelda SM and Buck CA. 1990. Integrins and other cell adhesion molecules. *FASEB J.* 4:2868–2880.
- [33] Travis J. 1993. Biotech gets a grip on cell adhesion. *Science* 260:906–908.
- [34] van der Flier A and Sonnenberg A. 2001. Function and interactions of integrins. *Cell Tissue Res.* 305:285–298.
- [35] Plow EF, Haas TA, Zhang L, Loftus J, and Smith JW. 2000. Ligand binding to integrins. *J. Biol. Chem.* 275:21785–21788.
- [36] van der Flier A and Sonnenberg A. 2001. Function and interactions of integrins. *Cell Tissue Res.* 305:285–298.
- [37] Hynes RO. 1992. Integrins: Versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69:11–25.
- [38] Gottschalk K-E, Adams PD, Brunger AT, and Kessler H. 2002. Transmembrane signal transduction of the α IIb β 3 integrin. *Protein Sci.* 11:1800–1812.
- [39] Lebaron R. 2000. Biomaterials in drug delivery and tissue engineering. *Tissue Eng.* 6:85–103.
- [40] Zamir E and Geiger B. 2001. Molecular complexity and dynamics of cell-matrix adhesions. *J. Cell Sci.* 114:3583–3590.
- [41] Geiger B and Bershadsky A. 2001. Assembly and mechanosensory function of focal contacts. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13:584–592.
- [42] Petit V and Thiery JP. 2000. Focal adhesions: Structure and dynamics. *Biol. Cell* 92:477–494.

- [43] Pande G. 2000. The role of membrane lipids in regulation of integrin functions. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12:569–574.
- [44] Boudreau NJ and Jones PL. 1999. Extracellular matrix and integrin signalling: The shape of things to come. *Biochem. J.* 339:481–488.
- [45] Schwartz MA. 2001. Integrin signaling revisited. *Trends Cell. Biol.* 11:466–470.
- [46] Bilezikian JP, Raisz LG, and Rodan GA, (Eds.). 1996. In *Principles of Bone Biology*, p. 268. San Diego: Academic Press.
- [47] Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson I, and Peterson L. 1994. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autogenous chondrocyte transplantation. *New Engl. J. Med.* 331:889–895.
- [48] Bell E, Ivarsson B, and Merrill C. 1979. Production of tissue-like structure and contraction of collagen lattices by human fibroblasts of different proliferative potential in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76:1274–1278.
- [49] Hansbrough JF, Christine D, and Hansbrough WB. 1992. Clinical trials of a living dermal tissue replacement placed beneath meshed, split-thickness skin graft on excised burn wounds. *J. Burn Care Rehabil.* 13:519–529.
- [50] Lundborg G, Gelberman RH, Longo FM, Dowell HC, and Varon S. 1982. In vivo regeneration of cut nerves encased in silicone tubes. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 41:412–422.
- [51] Langer R and Vacanti JP. 1993. *Tissue Engr. Sci.* 260:920–926.
- [52] Langer R. 1997. Tissue engineering: A new field and its challenges. *Pharm. Res* 14:840–841.
- [53] Vacanti CA and Bonassar LJ. 1999. An overview of tissue engineered bone. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 367S:S375–S381.
- [54] Laurencin CT, Attawia MA, Lu LQ, Borden MD, Lu HH, Gorum WJ, et al. 2001. Poly(lactide-coglycolide)/hydroxyapatite delivery of BMP-2-producing cells: A regional gene therapy approach to bone regeneration. *Biomaterials* 22:1271–1277.
- [55] Ibarra C, Koski JA, and Warren RF. 2000. Tissue engineering meniscus: Cells and matrix. *Orthop. Clin. North Am.* 31:411–418.
- [56] Cima LG, Vacanti JP, Vacanti C, Ingber D, Mooney D, and Langer R. 1991. Tissue engineering by cell transplantation using degradable polymer substrates. *J. Biomech. Eng.* 113:143–151.
- [57] MacArthur BD and Oreffo ROC. 2005. Bridging the gap. *Nature* 433:19.
- [58] Vacanti CA and Vacanti JP. 2000. The science of tissue engineering. *Orthop. Clin. North Am.* 31:351–356.
- [59] Musgrave DS, Fu FH, and Huard J. 2002. Gene therapy and tissue engineering in orthopaedic surgery. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* 10:6–15.
- [60] Fleming JE, Cornell CN, and Muschler GF. 2000. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop. Clin. North Am.* 31:357–374.
- [61] Laurencin CT, Attawia MA, Elgendy HE, and Herbert KM. 1996. Tissue engineered bone-regeneration using degradable polymers: The formation of mineralized matrices. *Bone* 19:93S–99S.
- [62] Attawia MA, Herbert KM, and Laurencin CT. 1995. Osteoblast-like cell adherence and migration through 3-dimensional porous polymer matrices. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 213:639–644.
- [63] Langer R and Vacanti JP. 1993. *Tissue engineering. Science* 260:920–926.
- [64] Hubbell JA. 1995. Biomaterials in tissue engineering. *Bio/Technology* 13:565–576.
- [65] Lee KB, Yoon KR, Woo SI, and Choi IS. 2003. Surface modification of poly(glycolic acid) (PGA) for biomedical applications. *J. Pharm. Sci.* 92:933–937.
- [66] Black J. 1999. *Biological Performance of Materials: Fundamentals of Biocompatibility*. New York: Marcel Dekker, Inc.

- [67] Sakiyama-Elbert SE and Hubbell JA. 2001. Functional biomaterials: Design of novel biomaterials. *Ann. Rev. Mater. Res.* 31:183–201.
- [68] Hubbell JA. 1999. Bioactive biomaterials. *Curr. Opin. Biotechnol.* 10:123–129.
- [69] Healy KE. 1999. Molecular engineering of materials for bioreactivity. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 4:381–387.
- [70] Hoffman AS. 1992. Molecular bioengineering of biomaterials in the 1990s and beyond: A growing liaison of polymers with molecular biology. *Artificial Organs* 16:43–49.
- [71] Healy KE, Rezanian A, and Stile RA. 1999. Designing biomaterials to direct biological responses. *Ann. NY Acad. Sci.* 875:24–35.
- [72] Ripamonti U. 1996. Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models. *Biomaterials* 17:31–35.
- [73] Shin H, Jo S, and Mikos AG. 2003. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials* 24:4353–4364.
- [74] Li JM, Menconi MJ, Wheeler HB, Rohrer MJ, Klassen VA, Ansell JE, et al. 1992. Precoating expanded polytetrafluoroethylene grafts alters production of endothelial cell-derived thrombomodulators. *J. Vasc. Surg.* 15:1010–1017.
- [75] Song E, Yeon KS, Chun T, Byun HJ, and Lee YM. 2006. Collagen scaffolds derived from a marine source and their biocompatibility. *Biomaterials* 27:2951–2961.
- [76] DeLustro F, Dasch J, Keefe J, and Ellingsworth L. 1990. Immune responses to allogeneic and xenogeneic implants of collagen and collagen derivatives. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 263–279.
- [77] Schlosser M, Zippel R, Hoene A, Urban G, Ueberrueck T, Marusch F, et al. 2005. Antibody response to collagen after functional implantation of different polyester vascular prostheses in pigs. *J. Biomed. Mater. Res. A* 72:317–325.
- [78] Schwartzmann M. 2000. Use of collagen membranes for guided bone regeneration: A review. *Implant. Dent.* 9:63–66.
- [79] Elbert DL and Hubbell JA. 2001. Conjugate addition reactions combined with free-radical cross-linking for the design of materials for tissue engineering. *Biomacromolecules* 2:430–441.
- [80] Lhoest JB, Detrait E, van den Bosch, de Aguilar, and Bertrand P. 1998. Fibronectin adsorption, conformation, and orientation on polystyrene substrates studied by radiolabeling, XPS, and ToF SIMS. *J. Biomed. Mater. Res.* 41:95–103.
- [81] Hlady V and Buijs J. 1996. Protein adsorption on solid surfaces. *Curr. Opin. Biotechnol.* 7:72–77.
- [82] Underwood PA, Steele JG, and Dalton BA. 1993. Effects of polystyrene surface chemistry on the biological activity of solid phase fibronectin and vitronectin, analysed with monoclonal antibodies. *J. Cell Sci.* 104: 793–803.
- [83] Stivaktakis N, Nikou K, Panagi Z, Beletsi A, Leondiadis L, and Avgoustakis K. 2005. Immune responses in mice of beta-galactosidase adsorbed or encapsulated in poly(lactic acid) and poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres. *J. Biomed. Mater. Res. A* 73:332–338.
- [84] Ito Y, Kajihara M, and Imanishi Y. 1991. Materials for enhancing cell adhesion by immobilization of cell-adhesive peptide. *J. Biomed. Mater. Res.* 25:1325–1337.
- [85] Neff JA, Caldwell KD, and Tresco PA. 1998. A novel method for surface modification to promote cell attachment to hydrophobic substrates. *J. Biomed. Mater. Res* 40:511–519.
- [86] Boxus T, Touillaux R, Dive G, and Marchand-Brynaert J. 1998. Synthesis and evaluation of RGD peptidomimetics aimed at surface bioderivatization of polymer substrates. *Bioorg. Med. Chem.* 6:1577–1595.
- [87] Ruoslahti E. 2003. The RGD story. A personal account. *Matrix Biol.* 22:459–465.
- [88] LeBaron RG and Athanasiou KA. 2000. Extracellular matrix cell adhesion peptides: Functional applications in orthopaedic materials. *Tissue Eng.* 6:85–103.

- [89] Pierschbacher MD and Ruoslahti E. 1984. Cell attachment activity of fibronectin can be duplicated by small synthetic fragments of the molecule. *Nature* 309:30–33.
- [90] Ruoslahti E and Pierschbacher MD. 1987. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science* 238:491–497.
- [91] Oosterom R, Ahmed TJ, Poulis JA, and Bersee HE. 2006. Adhesion performance of UHMWPE after different surface modification techniques. *Med. Eng. Phys.* 28:323–330.
- [92] Hoffmann K, Resch-Genger U, Mix R, and Friedrich JF. 2006. Fluorescence spectroscopic studies on plasma-chemically modified polymer surfaces with fluorophore-labeled functionalities. *J. Fluoresc.* 16:441–448.
- [93] Hubbell JA, Massia SP, and Drumheller PD. 1992. Surface-grafted cell-binding peptides in tissue engineering of the vascular graft. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 665:253–258.
- [94] Hubbell JA, Massia SP, Desai NP, and Drumheller PD. 1991. Endothelial cell-selective materials for tissue engineering in the vascular graft via a new receptor. *Biotechnology* 9:568–572.
- [95] Ranieri JP, Bellamkonda R, Bekos EJ, Vargo TG Jr, and Aebischer JAG. 1995. Neuronal cell attachment to fluorinated ethylene propylene films with covalently immobilized laminin oligopeptides YIGSR and IKVAV. II. *J. Biomed. Mater. Res.* 29:779–785.
- [96] Rezanian A and Healy KE. 1999. Biomimetic peptide surfaces that regulate adhesion, spreading, cytoskeletal organization, and mineralization of the matrix deposited by osteoblast-like cells. *Biotechnol. Prog.* 15:19–32.
- [97] Bellamkonda R, Ranieri JP, and Aebischer P. 1995. Laminin oligopeptide derivatized agarose gels allow three dimensional neurite extension in vitro. *J. Neurosci. Res.* 41:501–509.
- [98] Schense JC, Bloch J, Aebischer P, and Hubbell JA. 2000. Enzymatic incorporation of bioactive peptides into fibrin matrices enhances neurite extension. *Nature Biotech.* 18:415–419.
- [99] Drumheller PD and Hubbell JA. 1994. Polymer networks with grafted cell adhesion peptides for highly biospecific cell adhesive substrates. *Anal. Biochem.* 222:380–388.
- [100] Davis DH, Giannoulis CS, Johnson RW, and Desai TA. 2003. Immobilization of RGD to silicon surfaces for enhanced cell adhesion and proliferation. *Biomaterials* 23:4019–4027.
- [101] Whitaker MJ, Quirk RA, Howdle SM, and Shakesheff KM. 2001. Growth factor release from tissue engineering scaffolds. *J. Pharm. Pharmacol.* 53:1427–1437.
- [102] Babensee JE, McIntire LV, and Mikos AG. 2000. Growth factor delivery for tissue engineering. *Pharm. Res.* 17:497–504.
- [103] Richardson TP, Murphy WL, and Mooney DJ. 2001. Polymeric delivery of proteins and plasmid DNA for tissue engineering and gene therapy. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 11:47–58.
- [104] Hoffman AS. 1992. Molecular bioengineering of biomaterials in the 1990s and beyond: A growing liaison of polymers with molecular biology. *Artif. Organs* 16: 43–49.
- [105] Kouvroukoglou S, Dee KC, Bizios R, McIntire LV, and Zygourakis K. 2000. Endothelial cell migration on surfaces modified with immobilized adhesive peptides. *Biomaterials* 21:1725–1733.
- [106] Drumheller PD, Elbert DL, and Hubbell JA. 1994. Multifunctional poly(ethylene glycol) semi-interpenetrating polymer networks as highly selective adhesive substrates for bioadhesive peptide grafting. *Biotechnol. Bioeng.* 43:772–780.
- [107] Yang, Roach HI, Clarke NMP, Howdle SM, Quirk HR, Shakesheff KM, et al. 2001. Human osteoprogenitor growth and differentiation on synthetic biodegradable structures after surface modification. *Bone* 29:523–531.
- [108] Sanghvi AB, Miller KP, Belcher AM, and Schmidt CE. 2005. Biomaterials functionalization using a novel peptide that selectively binds to a conducting polymer. *Nat. Mater.* 4:496–502.

- [109] Neff JA, Tresco PA, and Caldwell KD. 1999. Surface modification for controlled studies of cell-ligand interactions. *Biomaterials* 20:2377–2393.
- [110] Tweden KS, Harasaki H, Jones M, Blevitt JM, Craig WS, Pierschbacher M, et al. 1995. Accelerated healing of cardiovascular textiles promoted by an RGD peptide. *J. Heart Valve Dis.* 4:S90–S97.
- [111] Olivieri MP and Tweden KS. 1999. Human serum albumin and fibrinogen interactions with an adsorbed RGD-containing peptide. *J. Biomed. Mater. Res.* 46:355–359.
- [112] Reyes CD and Garcia AJ. 2004. $\alpha 2 \beta 1$ integrin-specific collagen-mimetic surface supporting osteoblastic differentiation. *J. Biomed. Mater. Res.* 69A:591–600.
- [113] Reyes CD, Petrie TA, Burns KL, Schwartz Z, and Garcia AJ. 2007. Biomolecular surface coating to enhance orthopaedic tissue healing and integration. *Biomaterials* 28:3228–3135.
- [114] Reyes CD and Garcia AJ. 2003. Engineering integrin-specific surface with triple helical collagen-mimetic peptide. *J. Biomed. Mater. Res.* 65A:511–523.
- [115] Quirk RA, Davies MC, Tendler SJB, and Shakesheff KM. 2000. Surface engineering of poly(lactic acid) by entrapment of modifying species. *Macromolecules* 33:158–260.
- [116] Quirk RA, Chan WC, Davies MC, Tendler SJB, and Shakesheff KM. 2001. Poly(L-lysine)-GRGDS as a biomimetic surface modifier for poly(lactic acid). *Biomaterials* 22: 865–872.
- [117] Elbert DL and Hubbell JA. 1998. Self-assembly and steric stabilization at heterogeneous, biological surfaces using adsorbing block copolymers. *Chem. Biol.* 5:177–183.
- [118] Faraasen S, Vörös J, Csúcs, Textor M, Merkle HP, and Walter E. 2003. Ligand-specific targeting of microspheres to phagocytes by surface modification with poly(L-lysine)-grafted poly(ethylene glycol) conjugate. *Pharm. Res.* 20:237–245.
- [119] Hirano Y, Okuno M, Hayashi T, Goto K, and Nakajima A. 1993. Cell attachment activities of surface immobilized oligopeptides RGD, RGDS, RGDV, RGDT, and YIGSR toward five cell lines. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 4:235–243.
- [120] Cha T, Guo A, Jun Y, and Zhu XY. 2004. Immobilization of oriented protein molecules on poly(ethylene glycol)-coated Si(111). *Proteomics* 4:1965–1976.
- [121] Pelham RJ and Wang YL. 1998. Cell locomotion and focal adhesions are regulated by the mechanical properties of the substrate. *Biol. Bull.* 194:348–350.
- [122] Castel S, Pagan R, Mitjans F, Piulats J, Goodman S, Jonczyk A, et al. 2001. RGD peptides and monoclonal antibodies, antagonists of $\alpha v \beta 3$ -integrin, enter the cells by independent endocytic pathways. *Lab. Invest.* 81:1615–1626.
- [123] Awenat KM, Davis PJ, Moloney MG, and Ebenezer W. 2005. A chemical method for the convenient surface functionalisation of polymers. *Chem. Commun.* 8:990–992.
- [124] Katz E, Schlereth DD, and Schmidt HL. 1994. Electrochemical study of pyrrolquinoline quinone covalently immobilized as monolayer onto a cystamine modified gold electrode. *J. Electroanal. Chem.* 367:59–70.
- [125] Jenissen HP. 1995. Cyanogen bromide and tresyl chloride chemistry revisited: The special reactivity of agarose as a chromatographic and biomaterial support for immobilizing novel chemical groups. *J. Mol. Recognit.* 8:116–124.
- [126] Banerjee P, Irvine DJ, Mayes AM, and Griffith LG. 2000. Polymer latexes for cell-resistant and cellinteractive surface. *J. Biomed. Mater. Res.* 50:331–339.
- [127] Tong YW and Shoichet MS. 1998. Peptide surface modification of poly(tetrafluoroethylene-co-hexafluoropropylene) enhances its interaction with central nervous system neurons. *J. Biomed. Mater. Res.* 42:85–95.

- [128] Massia SP and Hubbell JA. 1991. Human endothelial cell interactions with surface-coupled adhesion peptides on a nonadhesive glass substrate and two polymeric biomaterials. *J. Biomed. Mater. Res.* 25:223–242.
- [129] Massia SP and Hubbell JA. 1990. Covalently attached GRGD on polymer surfaces promotes biospecific adhesion of mammalian cells. *Ann. NY Acad. Sci.* 589:261–270.
- [130] Nilsson K and Mosbach K. 1981. Immobilization of enzymes and affinity ligands to various hydroxyl groups carrying supports using highly reactive sulfonyl chlorides. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 102:449–457.
- [131] Nilsson K and Mosbach K. 1987. Tresyl chloride-activated supports for enzyme immobilization. *Methods Enzymol.* 135:65–78.
- [132] Nilsson K and Mosbach K. 1984. Immobilization of ligands with organic sulfonyl chlorides. *Methods Enzymol.* 104:56–69.
- [133] Hayakwa T, Yoshinar M, and Nemoto K. 2003. Direct attachment of fibronectin to tresyl chloride-activated titanium. *J. Biomed. Mater. Res* 67A:684–688.
- [134] Hayakawa T, Yoshinari M, Nagai M, Yamamoto M, and Nemoto K. 2003. X-ray photoelectron spectroscopic studies of the reactivity of basic terminal OH of titanium towards tresyl chloride and fibronectin. *Biomed. Res.* 24:223–230.
- [135] Hayakwa T, Yoshinar M, and Nemoto K. 2005. Quartz-crystal microbalance-dissipation technique for the study of initial adsorption of fibronectin onto tresyl chloride-activated titanium. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 73B:271–276.
- [136] Tzorisa A, Hall EAH, Besselinkb GAJ, and Bergveld P. 2003. Testing the durability of polymyxin B immobilization on a polymer showing antimicrobial activity: A novel approach with the ion-step method. *Analytical Letters* 36:1781–1803.
- [137] Jo S, Shin H, and Mikos AG. 2001. Modification of oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) macromere with a GRGD peptide for the preparation of functionalized polymer networks. *Biomacromolecules* 2:255–261.
- [138] Li JT, Carlsson J, Lin JN, and Caldwell KD. 1996. Chemical modification of surface active poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) triblock copolymers. *Bioconjug. Chem.* 7:592–599.
- [139] Woerly S, Laroche G, Marchand R, Pato J, Subr V, and Ulbrich K. 1995. Intracerebral implantation of hydrogel-coupled adhesion peptides: Tissue reaction. *J. Neural Transplant Plast.* 5:245–255.
- [140] Morpurgo M, Bayer EA, and Wilchek M. 1999. N-hydroxysuccinimide carbonates and carbamates are useful reactive reagents for coupling ligands to lysines on proteins. *J. Biochem. Biophys. Methods* 38:17–28.
- [141] Benters R, Niemeyer NM, and Whorle D. 2001. Dendrimer-activated solid supports for nucleic acid and protein microarrays. *ChemBiochem.* 2:686–694.
- [142] Ynag M, Kong RYC, Kazmi N, and Leung AKC. 1994. Covalent immobilization of oligonucleotides on modified glass/silicon surfaces for solid-phase DNA hybridization and amplification. *Chem. Lett.* 27:257–258.
- [143] Pack SP, Kamisetty NK, Nonogawa M, Devarayapalli KC, Ohtani K, Yamada K, et al. 2007. Direct immobilization of DNA oligomers onto the amine-functionalized glass surface for DNA microarray fabrication through the activation-free reaction of oxanine. *Nucleic Acids Res.* 35:e110.
- [144] Kondoh A, Makino K, and Matsuda T. 1993. 2-Dimensional artificial extracellular-matrix-boadhesive peptide-immobilized surface design. *J. Appl. Polym. Sci.* 47:1983–1988.
- [145] Kim MR, Jeong JH, and Park TG. 2002. Swelling induced detachment of chondrocytes using RGDmodified poly(N-isopropylacryl-amide) hydrogel beads. *Biotechnol. Prog.* 18:495–500.

- [146] Carlisle ES, Mariappan MR, Nelson KD, Thomes BE, Timmons RB, Constantinescu A, et al. 2000. Enhancing hepatocyte adhesion by pulsed plasma deposition and poly-ethylene glycol coupling. *Tissue Eng.* 6:45–52.
- [147] Matsuya T, Tashiro S, Hoshino N, Shibata N, Nagasaki Y, and Kataoka K. 2003. A core-shell-type fluorescent nanosphere possessing reactive poly(ethylene glycol) tethered chains on the surface for zeptomole detection of protein in time-resolved fluorometric immunoassay. *Anal. Chem.* 75:6124–6132.
- [148] Tam JP, Yu Q, and Miao Z. 1999. Orthogonal ligation strategies for peptide and 154. protein. *Biopolymers* 51:311–332.
- [149] Camarero JA, Kwon Y, and Coleman MA. 2004. Chemoselective attachment of biologically active proteins to surfaces by expressed protein ligation and its application for “protein chip” fabrication. *J. Am. Chem. Soc.* 126:14730–14731.
- [150] Thumshirn G, Hersel U, Goodman SL, and Kessler H. 2003. Multimeric cyclic RGD peptides for tumor targeting: Solid-phase peptide synthesis and chemoselective oxime ligation. *Chemistry* 9:2717–2725.
- [151] Scheibler L, Dumy P, Boncheva M, Leufgen K, Mathieu H-J, Mutter M, et al. 1999. Functional molecular thin films: Topological templates for the chemoselective ligation of antigenic peptides to self-assembled monolayers. *Angew. Chem. Int. Ed.* 38:696–699.
- [152] Bourel-Bonnet L, Pécheur E-I, Grandjean C, Blanpain A, Baust T, Melnyk O, et al. 2005. Anchorage of synthetic peptides onto liposomes via hydrazone and α -oxo hydrazone bonds. Preliminary functional investigations. *Bioconjug. Chem.* 16:450–457.
- [153] Dubs P, Bourel-Bonnet L, Subra G, Blanpain A, Melnyk O, Pinel A-M, et al. 2007. Parallel synthesis of a lipopeptide library by hydrazone-based chemical ligation. *J. Combinatorial Chem.* 9:973–981.
- [154] Ivanov B, Grzesik W, and Robey FA. 1995. Synthesis and use of a new bromoacetyl-derivatized heterotrifunctional amino acid for conjugation of cyclic RGD-containing peptides derived from human bone sialoprotein. *Bioconj. Chem.* 6:269–277.
- [155] Fields GB, Lauer JL, Dori Y, Forns P, Yu y-C, and Tirrell M. 1998. Proteinline molecular architecture: Biomaterial applications for inducing cellular receptor binding and signal transduction. *Biopolymers* 47:143–151.
- [156] Houseman BT, Gawalt ES, and Mrksich M. 2003. Maleimide functionalized self-assembled monolayers for the preparation of peptide and carbohydrate biochips. *Langmuir* 19:1522–1531.
- [157] Lateef SS, Boateng S, Hartman TJ, Crot CA, Russell B, and Hanley L. 2002. GRGDSP peptide-bound silicone membranes withstand mechanical flexing in vivo and display enhanced fibroblast adhesion. *Biomaterials* 23:3159–3168.
- [158] Herbert CB, McLernon TL, Hypolite CL, Adams DN, Pikus L, Huang CC, et al. 1997. Micropatterning gradients and controlling surface densities of photoactivatable biomolecules on self-assembled monolayers of oligo(ethylene glycol) alkanethiolates. *Chem. Biol.* 4:731–737.
- [159] Lin YS, Wang SS, Chung TW, Wang YH, Chiou SH, Hsu JJ, et al. 2001. Growth of endothelial cells on different concentrations of Gly-Arg-Gly-Asp photochemically grafted in polyethylene glycol modified polyurethane. *Artif. Organs* 25:617–621.
- [160] Sugawara T and Matsuda T. 1995. Photochemical surface derivatization of a peptide containing Arg-Gly Asp (RGD). *J. Biomed. Mater. Res.* 29:1047–1052.
- [161] Chung T-Z, Lu Y-F, Wang H-Y, Chen W-P, Wang S-S, Lin Y-S, et al. 2003. Growth of human endothelial cells on different concentrations of Gly-Arg-Gly-Asp grafted chitosan surface. *Artificial Organs* 27:155–161.
- [162] Massia SP and Hubbell JA. 1992. Binding domains for cell surface proteoglycan-mediated adhesion. *J. Biol. Chem.* 267:10133–10141.

- [163] Lee K-B, Yoon KR, Woo SI, and Choi IS. 2003. Surface modification of poly(glycolic acid) for biomedical applications. *J. Pharm. Sci.* 92:933–937.
- [164] Chen R, Curran SJ, Curran JM, and Hunt JA. 2006. The use of poly(L-lactide) and RGD modified microspheres as cell carriers in a flow intermittency bioreactor for tissue engineering cartilage. *Biomaterials* 27:4453–4460.
- [165] Zhu Y, Gao C, Liu X, and Shen J. 2002. Surface modification of polycaprolactone membrane via aminolysis and biomacromolecules immobilization for promoting cytocompatibility of human endothelial cells. *Biomacromolecules* 3:1312–1319.
- [166] Santiago LY, Nowak RW, Rubin PJ, and Marra KG. 2006. Peptide-surface modification of poly (caprolactone) with laminin-derived sequences for adipose-derived stem cell applications. *Biomaterials* 27:2962–2969.
- [167] Tong YW and Shoichet MS. 1998. Peptide surface modification of poly(tetrafluoroethylene-co-hexafluoropropylene) enhances its interaction with central nervous system neurons. *J. Biomed. Mater. Res.* 42:85–95.
- [168] Li J, Yun H, Gong Y, Zhao N, and Zhang X. 2006. Investigation of MC3T3-E1 cell behavior on the surface of GRGDS-coupled chitosan. *Biomacromolecules* 7:1112–1123.
- [169] Matsuzawa M, Liesi P, and Knoll W. 1996. Chemically modifying glass surfaces to study substratum-guided neurite outgrowth in culture. *J. Neurosci. Methods* 69:189–196.
- [170] Mann BK, Tsai AT, Scott-Burden T, and West JL. 1999. Modification of surfaces with cell adhesion peptides alters extracellular matrix deposition. *Biomaterials* 20:2281–2286.
- [171] Mann BK and West JL. 2002. Cell adhesion peptides alter smooth muscle adhesion, proliferation, migration and matrix protein synthesis on modified surfaces and in polymer scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res.* 60:86–93.
- [172] Ren D, Hou S, Wang H, Luo D, and Zhang L. 2006. Evaluation of RGD modification on collagen matrix. *Artif. Cells. Blood Substitutes Blood Technol. Biotechnol* 34:293–303.
- [173] McGrath MP, Sall ED, and Tremont SJ. 1995. Functionalization of polymers by metal-mediated processes *Chem. Rev.* 95:381–398.
- [174] Crist GT and Millan MJ. 1998. Conjugate addition of amino acid side chains to dyes containing alkynone, alkynoic ester and alkynoic amide linker arms. *Tetrahedron* 54:649–666.
- [175] Wan YQ, Qu X, Lu J, Zhu CF, Wan LJ, Yang JL, Bei J, and Wang S. 2004. Characterization of surface properties of poly(lactide-co-glycolide) after oxygen plasma treatment. *Biomaterials* 25:4777–4783.
- [176] Kim KS, Lee KH, Cho K, and Park CE. 2002. Surface modification of polysulfone ultrafiltration membrane by oxygen plasma treatment. *J. Membrane Sci.* 135–145.
- [177] Shen H, Hu X, Yang F, Bei J, and Wang S. 2007. Combining oxygen plasma treatment with anchorage of cationized gelatin for enhancing cell affinity of poly(lactide-co-glucolide). *Biomaterials* 28:4219–4230.
- [178] Hu Y, Shelley WR, Krajchich I, and Hollinger JO. 2002. Porous polymer scaffolds surface-modified with arginine-glycine-aspartic acid enhance bone cell attachment and differentiation in vitro. *J. Biomed. Mater. Res.* 64A:583–590.
- [179] Shaw D and Shoichet MS. 2003. Torard spinal cord injury repair strategies: Peptide surface modification of expanded poly(tetrafluoroethylene) fibers for guided neurite outgrowth in vitro. *J. Craniofac Sur.* 14:308–316.
- [180] Guan JJ, Sacks MS, Beckman EJ, and Wagner WRJ. 2002. Synthesis, characterization, and cytocompatibility of elastomeric, biodegradable poly(ester-urethane)ureas based on poly(caprolactone) and putrescine *J. Biomed. Mater. Res.* 61:493–503.
- [181] Hrkach J, Ou J, Lotan N, and Langer R. 1999. Poly(L-lactic acid-co-amino acid) graft copolymers. *J. Mater. Sci. Res.* 78:92–102.

- [182] Shakesheff K, Cannizzaro S, and Langer R. 1998. Creating biomimetic micro-environments with synthetic polymer-peptide hybrid molecules. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 9:507–518.
- [183] Quirk RA, Davies MC, Tendler SJB, and Shakesheff KM. 2000. Surface engineering of poly(lactic acid) by entrapment of modifying species. *Macromolecules* 33:158–260.
- [184] Quirk RA, Chan WC, Davies MC, Tendler SJB, and Shakesheff KM. 2001. Poly(L-lysine)-GRGDS as a biomimetic surface modifier for poly(lactic acid). *Biomaterials* 22:865–872.
- [185] Cannizzaro SM, Padera RF, Langer R, Rogers RA, Black FE, Davies MC, et al. 1998. A novel biotinylated degradable polymer for cell-interactive applications. *Biotechnol. Bioeng.* 58:529–535.
- [186] Demetriou M, Binkert C, Sukhu B, Tenenbaum HC, and Dennis JW. 1996. Fetuin/alpha2-HS glycoprotein is a transforming growth factor-beta type II receptor mimic and cytokine antagonist. *J. Biol. Chem.* 271:12755–12761.
- [187] Cook AD, Pajvani UB, Hrkach JS, Cannizzaro Sm, and Langer R. 1997. Colorimetric analysis of surface reactive amino groups on poly(lactic acid-co-lysine):poly(lactic acid) blends. *Biomaterials* 18:1417–1424.
- [188] Kubies D, Rypacek F, Kovarova J, and Lednicky F. 2000. Microdomain structure in polylactode-blockpoly(ethylene oxide) copolymer films. *Biomaterials* 21:529:36.
- [189] Elbert DL and Hubbell JA. 1996. Surface treatments of polymers for biocompatibility. *Annu. Rev. Mater. Sci.* 26:365–394.
- [190] Yosomiya R, Morimoto K, Nakajima A, Ikada Y, and Suzuki T., (Eds.). 1990. Surface modification of matrix polymer for adhesion. In *Adhesion and Bonding in Composites*. 83–100. New York: Marcel Dekker, Inc.
- [191] Candan S. 2002. Radio frequency-induced plasma polymerization of allyl alcohol and 1-propanol. *Turk J. Chem.* 26:783–791.
- [192] Hamerli P, Weigel T, Groth T, and Paul D. 2003. Surface properties of and cell adhesion onto allylamineplasma- coated polyethyleneterephthalat membranes. *Biomaterials* 24:3989–3999.
- [193] Harsch A, Calderon JG, Timmons RB, and Gross GW. 2000. Pulsed plasma deposition of allylamine on polysiloxane: A stable surface for neuronal cell adhesion. *J. Neurosci. Meth.* 98:135–144.
- [194] Whittle JD, Short RD, Douglas CWI, and Davies J. 2000. Differences in the aging of allyl alcohol, acrylic acid, allylamine, and octa-1,7-diene plasma polymers as studied by x-ray photoelectron spectroscopy. *Chem. Mater.* 12:2664–2671.
- [195] Tarducci C, Schofield WCE, Badyal JPS, Brewer SA, and Willis C. 2001. Cyano-functionalized solid surfaces. *Chem. Mater.* 13:1800–1803.
- [196] Butoi CI, Mackie NM, Gamble LJ, Castner DG, Barnd J, Miller AM, et al. 2000. Deposition of highly ordered cf2-rich films using continuous wave and pulsed hexafluoropropylene oxide plasmas. *Chem. Mater.* 12:2014–2024.
- [197] Kelly JM, Short RD, and Alexander MR. 2003. Experimental evidence of a relationship between monomer plasma residence time and carboxyl group retention in acrylic acid plasma polymers. *Polymer* 44:3173–3176.
- [198] Watkins L, Bismarck A, Lee AF, Wilson D, and Wilson K. 2006. An XPS study of pulsed plasma polymerised allyl alcohol film growth on polyurethane. *Appl. Surf. Sci.* 252(23):8203–8211.
- [199] Ivanov VB, Behnisch J, Hollander A, Mehdorn F, and Zimmermann H. 1996. Determination of functional groups on polymer surfaces using fluorescence labeling. *Surf. Interface Anal* 24:257–262.
- [200] Davies J, Nunnerley CS, Brisley AC, Sunderland RF, Edwards JC, Kruger P, Kaes R, Paul AJ, and Hibbert S. 2000. Argon plasma treatment of polystyrene microtiter wells. Chemical and physical characterization by contact angle, ToF-SIMS, XPS and STM. *Colloid Surf A* 174:287–295.
- [201] Poncin-Epaillard F and Legeay G. 2003. Surface engineering of biomaterials with plasma techniques. *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.* 14:1005–1028.

- [202] Nakaoka R, Tsuchiya T, and Nakamura A. 2003. Neural differentiation of midbrain cells on various protein-immobilized polyethylene films. *J. Biomed. Mater. Res.* 64A:439–446.
- [203] Thapa A, Webster J, and Haberstroh KM. 2003. Polymers with nanodimensioned surface features enhance bladders smooth muscle cell adhesion. *J. Biomed. Mater. Res.* 67A:1374–1383.
- [204] Chung TW, Lu YF, Wang SS, Lin YS, and Chu SH. 2002. Growth of human endothelial cells on photochemically grafted Gly-Arg-Gly-Asp (GRGD) chitosans. *Biomaterials* 23:4803–4809.
- [205] Calvert JW, Marra KG, Cook L, Kumta PN, DiMilla, and Weiss LE. 2000. Characterization of osteoblast-like behavior of culture bone marrow stromal cells on various polymer surfaces. *J. Biomed. Mater. Res.* 279–284.
- [206] DeGiglio E, Stefania C, Clavano C-D, Sabbatini L, Zambinin PG, Colucci S, et al. 2006. A new titanium biofunctionalized interface based on poly(pyrrole-3-acetic acid) coating: Proliferation of osteoblast-like cells and future perspectives. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 18:1781–1789.
- [207] Chung T-W, Yang M-G, Liu D-Z, Chen W-P, Pan C-I, and Wang S-S. 2005. Enhancing growth human endothelial cells on Arg-Gly-Asp (RGD) embedded poly(ϵ -caprolactone) (PCL) surface with nanometer scale of surface disturbance. *J. Biomed. Mater. Res.* 72A:213–219.
- [208] Patel S, Thkar RG, Wong J, McLeod SD, and Li S. 2006. Control of cell adhesion on poly(methyl methacrylate). *Biomaterials* 27:2890–2897.
- [209] Chung TW, Lu YF, Wang HY, Chen WP, Wang SS, Lin YS, et al. 2003. Growth of human endothelial cells on different concentrations of Gly-Arg-Gly-Asp grafted chitosan surface. *Artif. Organs* 27:155–161.
- [210] Konig U, Nitschke M, Pilz M, Simon F, Arnhold C, and Werner C. 2002. Stability and ageing of plasma treated poly(tetrafluoroethylene) surfaces. *Colloid Surf. B-Biointerf* 25:213–224.
- [211] Humphries MJ, Akiyama SK, Komoriya A, Olden K, and Yamada KM. 1986. Identification of an alternatively spliced site in human plasma fibronectin that mediates cell type-specific adhesion. *J. Cell Biol.* 103:2637–2647.
- [212] Underwood PA and Bennett FA. 1989. A comparison of the biological activities of the cell-adhesive proteins vitronectin and fibronectin. *J. Cell Sci.* 93:641–649.
- [213] Kantlehner M, Schaffner P, Finsinger D, Meyer J, Jonczyk A, Diefenbach B, et al. 2000. Surface coating with cyclic RGD peptides stimulates osteoblast adhesion and proliferation as well as bone formation. *Chembiochem* 1:107–114.
- [214] Jeschke B, Meyer J, Jonczyk A, Kessler H, Adamietz P, Meenen NM, et al. 2002. RGD-peptides for tissue engineering of articular cartilage. *Biomaterials* 23:3455–3463.
- [215] Danilov YN and Juliano RL. 1989. (Arg-Gly-Asp) $_n$ -albumin conjugates as a model substratum for integrin-mediated cell adhesion. *Exp. Cell Res.* 182:186–196.
- [216] Hern DL and Hubbell JA. 1998. Incorporation of adhesion peptides into nonadhesive hydrogels useful for tissue resurfacing. *J. Biomed. Mater. Res.* 39:266–276.
- [217] Drumheller PD and Hubbell JA. 1994. Polymer networks with grafted cell adhesion peptides for highly biospecific cell adhesive substrates. *Anal. Biochem.* 222:380–388.
- [218] Massia SP and Hubbell JA. 1991. An RGD spacing of 440 nm is sufficient for integrin α V β 3-mediated fibroblast spreading and 140 nm for focal contact and stress fiber formation. *J. Cell Biol.* 114:1089–1100.
- [219] Drumheller PD, Elbert DL, and Hubbell JA. 1994. Multifunctional poly(ethylene glycol) semi-interpenetrating polymer networks as highly selective adhesive substrates for bioadhesive peptide grafting. *Biotechnol. Bioeng.* 43:772–780.
- [220] Neff JA, Tresco PA, and Caldwell KD. 1999. Surface modification for controlled studies of cell–ligand interactions. *Biomaterials* 20:2377–2393.
- [221] Palecek SP, Loftus JC, Ginsberg MH, Luffenburger DA, and Horwitz AF. 1997. Integrin-ligand binding properties govern cell migration speed through cell-substratum adhesiveness. *Nature* 385:537–540.

- [222] Irvine DJ, Hue KA, Mayes AM, and Griffith LG. 2002. Simulations of cell-surface integrin binding to nanoscale-clustered adhesion ligands. *Biophys. J.* 82:120–132.
- [223] Maheshwari G, Brown G, Lauffenburger DA, Wells A, and Griffith LG. 2000. Cell adhesion and motility depend on nanoscale RGD clustering. *J. Cell Sci.* 113:1677–1686.
- [224] Craig WS, Cheng S, Mullen DG, Blevitt J, and Pierschbacher MD. 1995. Concept and progress in the development of RGD-containing peptide pharmaceuticals. *Biopolymers* 37:157–175.
- [225] Beer JH, Springer KT, and Collier BS. 1992. Immobilized Arg–Gly Asp (RGD) peptides of varying lengths as structural probes of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor. *Blood* 79:117–128.
- [226] Hern DL and Hubbell JA. 1998. Incorporation of adhesion peptides into nonadhesive hydrogels useful for tissue resurfacing. *J. Biomed. Mater. Res.* 39:266–276.
- [227] Shin H, Jo S, and Mikos AG. 2002. Modulation of marrow stromal osteoblast adhesion on biomimetic oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogels modified with Arg–Gly–Asp peptides and a poly(ethylene glycol) spacer. *J. Biomed. Mater. Res.* 61:169–179.
- [228] Loeb sack A, Greene K, Wyatt S, Culberson C, Austin C, Beiler R, et al. 2001. In vivo characterization of a porous hydrogel material for use as a tissue bulking agent. *J. Biomed. Mater. Res.* 57:575–581.
- [229] Sakiyama-Elbert SE, Panitch A, Hubbell JA. 2001. Development of growth factor fusion proteins for cell-triggered drug delivery. *FASEB J.* 15:1300–1302.
- [230] Hern DL and Hubbell JA. 1998. Incorporation of adhesion peptides into nonadhesive hydrogels useful for tissue resurfacing. *J. Biomed. Mater. Res.* 39:266–276.
- [231] Beer HJ, Springer KT, and Collier BS. 1992. Immobilized Arg–Gly–Asp (RGD) peptides of varying lengths as structural probes of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor. *Blood* 79:117–128.
- [232] Craig WS, Cheng S, Mullen DG, Blevitt J, and Pierschbacher MD. 1995. Concept and progress in the development of RGD-containing peptide pharmaceuticals. *Biopolymers* 37:157–175.
- [233] Elbert DL and Hubbell JA. 2001. Conjugate addition reactions combined with free-radical cross-linking for the design of materials for tissue engineering. *Biomacromolecules* 2:430–441.
- [234] Pelham RJ Jr, and Wang YL. 1998. Cell locomotion and focal adhesions are regulated by the mechanical properties of the substrate. *Biol. Bull.* 194:348–350.
- [235] Mammen M, Choi S-K, and Whitesides GM. 1998. Polyvalent interactions in biological systems: Implications for design and use of multivalent ligands and inhibitors. *Angew. Chem. Int. Ed.* 37:2755–2794.
- [236] Wong JY, Kuhl TL, Israelachvili JN, Mullah N, and Zalipsky S. 1997. Direct measurement of a tethered ligand-receptor interaction potential. *Science* 275:820–822.
- [237] Lo CM, Wang HB, Dembo M, and Wang YL. 2000. Cell movement is guided by the rigidity of the substrate. *Biophys. J.* 79:144–152.
- [238] Ruoslahti E. 2003. The RGD story. A personal account. *Matrix Biol.* 22:459–465.
- [239] Hirano Y, Okuno M, Hayashi T, Goto K, and Nakajima A. 1993. Cell-attachment activities of surface immobilized oligopeptides RGD, RGDS, RGDV, RGDT, and YIGSR toward five cell lines. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 4:235–243.
- [240] Delforge D, Gillon B, Art M, Dewelle J, Raes M, and Remacle J. 1998. Design of a synthetic adhesion protein by grafting RGD tailed cyclic peptides on bovine serum albumin. *Lett. Pept. Sci.* 5:87–91.
- [241] van der Pluijm G, Vloedgraven HJ, Ivanov B, Robey FA, Grzesik WJ, Robey PG, et al. 1996. Bone sialoprotein peptides are potent inhibitors of breast cancer cell adhesion to bone. *Cancer Res.* 56:1948–1955.

- [242] Pfaff M, Tangemann K, Muller B, Gurrath M, Muller G, Kessler H, et al. 1994. Selective recognition of cyclic RGD peptides of NMR defined conformation by $\alpha\text{Ib}\beta 3$, $\alpha\text{v}\beta 3$, and $\alpha 5\beta 1$ integrins. *J. Biol. Chem.* 269:20233–20238.
- [243] Pierschbacher MD and Ruoslahti E. 1987. Influence of stereochemistry of the sequence Arg–Gly–Asp–Xaa on binding specificity in cell adhesion. *J. Biol. Chem.* 262:17294–17298.
- [244] Dechantsreiter MA, Planker E, Mathä B, Lohof E, Hölzemann G, Jonczyk A, et al. 1999. N-methylated cyclic RGD peptides as highly active and selective $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin antagonists. *J. Med. Chem.* 42:3033–3040.
- [245] Kao WJ and Hubbell JA. 1998. Murine macrophage behavior on peptide-grafted polyethylene glycol containing networks. *Biotechnol. Bioeng.* 59:2–9.
- [246] Pierschbacher MD and Ruoslahti E. 1987. Influence of stereochemistry of the sequence Arg–Gly–Asp–Xaa on binding specificity in cell adhesion. *J. Biol. Chem.* 262:17294–17298.
- [247] Kao WJ, Hubbell JA, and Anderson JM. 1999. Protein-mediated macrophage adhesion and activation on biomaterials: A model for modulating cell behavior. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 10:601–605.
- [248] Lin HB, Sun W, Mosher DF, Garciaecheverria C, Schaufelberger K, Lelkes PI, et al. 1994. Synthesis, surface, and cell adhesion properties of polyurethanes containing covalently grafted RGD-peptides. *J. Biomed. Mater. Res.* 28:329–342.
- [249] Beer JH, Springer KT, and Collier BS. 1992. Immobilized Arg–Gly Asp (RGD) peptides of varying lengths as structural probes of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor. *Blood* 79:117–128.
- [250] Lin HB, Garciaecheverria C, Asakura S, Sun W, Mosher DF, and Cooper SL. 1992. Endothelial-cell adhesion on polyurethanes containing covalently attached RGD-peptides. *Biomaterials* 13:905–914.
- [251] Rezaia A and Healy KE. 1999. Integrin subunits responsible for adhesion of human osteoblast-like cells to biomimetic peptide surfaces. *J. Orthop. Res.* 17:615–623; *Cell Res.* 182:186–196.
- [252] Massia SP and Stark J. 2001. Immobilized RGD peptides on surface grafted dextran promotes biospecific cell attachment. *J. Biomed. Mater. Res.* 56:390–399.
- [253] Sayers RD, Raptis S, Berce M, and Miller JH. 1998. Long-term results of femorotibial bypass with vein or polytetrafluoroethylene. *Br. J. Surg.* 85:934–938.
- [254] Larsen CC, Kligman F, Tang C, Kottke-Marchant K, and Marchant RE. 2007. A biomimetic peptide fluorosurfactant polymer for endothelialization of ePTFE with limited platelet adhesion. *Biomaterials* 28:3537–3548.
- [255] Ratcliffe A. 2000. Tissue engineering of vascular grafts. *Matix Biol.* 19:353–357.
- [256] Nilsen ST, Geutjes PJ, Wismans R, Schalkwijk J, Daamen WF, and van Kuppevelt TH. 2006. Increased angiogenesis in acellular scaffolds by combined release of FGF2 and VEGF. *J. Control Release* 116:e88–e90.
- [257] Chang Y, Lai PH, Wei HJ, Lin WW, Chen CH, Hwang SM, et al. 2007. Tissue regeneration observed in a basic fibroblast growth factor-loaded porous acellular bovine pericardium populated with mesenchymal stem cells. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 134:65–73.e1–4.
- [258] Cushing MC, Liao JT, Jaeggli MP, and Anseth KS. 2007. Material-based regulation of the myofibroblast phenotype. *Biomaterials* 28:3378–3387.
- [259] Walluscheck KP, Steinhoff G, Kelm S, and Haverich A. 1996. Improved endothelial cell attachment on ePTFE vascular grafts pretreated with synthetic RGD-containing peptides. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 12:321–330.
- [260] Lin HB, Garcia-Echeverria C, Asakura S, Sun W, Mosher DF, and Cooper SL. 1992. Endothelial cell adhesion on polyurethanes containing covalently attached RGD-peptides. *Biomaterials* 13:905–914.

- [261] Lin Y-S, Wang S-S, Chung T-W, Wang Y-H, Chiou S-H, Jen-Ji H, et al. 2001. Growth of endothelial cells on different concentrations of Gly-Arg-Gly-Asp photo-chemically grafted in polyethylene glycol modified polyurethane. *Artif. Organs* 25:617–621.
- [262] Guan J, Stankus JJ, and Wagner WR. 2007. Biodegradable elastomeric scaffolds with basic fibroblast growth factor release. *J. Control Release* 120:70–78.
- [263] Dee KC, Anderson TT, and Bizios R. 1994. Cell function on substrates containing immobilized bioactive peptides. *Mar. Res. Soc. Symp. Proc.* 331:115–119.
- [264] Moon JJ, Lee SH, and West JL. 2007. Synthetic biomimetic hydrogels incorporated with ephrin-A1 for therapeutic angiogenesis. *Biomacromolecules* 8:42–49.
- [265] Ferreira LS, Gerecht S, Fuller J, Shieh HF, Vunjak-Novakovic G, and Langer R. 2007. Bioactive hydrogel scaffolds for controllable vascular differentiation of human embryonic stem cells. *Biomaterials* 28:2706–2717.
- [266] Market Dynamics: Bone Substitutes and Growth Factors. 2002. Datamonitor.
- [267] Sofia S, McCarthy MB, Gronowicz G, and Kaplan DL. 2001. Functionalized silk-based biomaterials for bone formation, *J. Biomed. Mater. Res* 54:139–148.
- [268] Chen J, Altman GH, Karageorgiou V, Horan R, Collette A, and Volloch V. 2003. Human bone marrow stromal cell and ligament fibroblast responses on RGD-modified silk fibers, *J. Biomed. Mater. Res. A*. 67:559–570.
- [269] Jo S, Engel PS, and Mikos AG. 2000. Synthesis of poly(ethylene glycol)-tethered poly(propylene fumarate) and its modification with GRGD peptides. *Polymer* 41:7595–7604.
- [270] Karageorgiou V, Meinel L, Hofmann S, Malhotra A, Volloch V, and Kaplan D. 2004. Bone morphogenetic protein-2 decorated silk fibroin films induce osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells, *J. Biomed. Mater. Res. A* 71:528–537.
- [271] Kardestuncer T, McCarthy MB, Karageorgiou V, Kaplan D, and Gronowicz G. 2006. RGD-tethered silk substrate stimulates the differentiation of human tendon cells. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 448:234–239.
- [272] Chen J, Altman GH, Karageorgiou V, Horan R, Collette A, Volloch V, et al. 2003. Human bone marrow stromal cell and ligament fibroblast responses on RGD-modified silk fibers. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 67:559–570.
- [273] Jeschke B, Meyer J, Jonczyk A, Kessler H, Adamietz P, Meenen NM, et al. 2002. RGD-peptides for tissue engineering of articular cartilage. *Biomaterials* 23:3455–3463.
- [274] Hwang NS, Varghese S, Zhang Z, and Elisseeff J. 2006. Chondrogenic differentiation of human embryonic stem cell-derived cells in arginine-glycine-aspartate-modified hydrogels. *Tissue Eng.* 12:2695–2706.
- [275] Hsu SH, Chang SH, Yen HJ, Whu SW, Tsai CL, and Chen DC. 2006. Evaluation of biodegradable polyesters modified by type II collagen and Arg-Gly-Asp as tissue engineering scaffolding materials for cartilage regeneration. *Artif. Organs* 30:42–55.
- [276] Hsu SH, Whu SW, Hsieh SC, Tsai CL, Chen DC, and Tan TS. 2004. Evaluation of chitosan-alginat hyaluronate complexes modified by an RGD-containing protein as tissue-engineering scaffolds for cartilage regeneration. *Artif. Organs* 28:693–703.
- [277] Meinel L, Hofmann S, Karageorgiou V, Zichner L, Langer R, Kaplan D, et al. 2004. Engineering cartilage-like tissue using human mesenchymal stem cells and silk protein scaffolds. *Biotechnol. Bioeng.* 88:379–391.
- [278] Hudson T, Evans G, and Schmidt C. 2003. Engineering strategies for peripheral nerve repair. *Orthop. Clin. North Am.* 31:485–498.
- [279] Yang F, Murugan R, Ramakrishna S, Wang X, Ma Y-X, and Wang S. 2004. Fabrication of nanostructured porous PLLA scaffold intended for nerve tissue engineering. *Biomaterials* 25:1891–1900.

- [280] Park H, Cannizzaro C, Vunjak-Novakovic G, Langer R, Vacanti CA, and Farokhzad OC. 2007. Nanofabrication and microfabrication of functional materials for tissue engineering. *Tissue Eng.* 13:1867–1877.
- [281] Dai W, Belt J, and Saltzman WM. 1994. Cell-binding peptides conjugated to poly(ethylene glycol) promote neural cell aggregation. *Biotechnology* 12:797–801.
- [282] Borkenhgen M, Clemence J-F, Sigrist H, and Aebischer P. 1999. Three dimensional extracellular matrix engineering in the nervous system. *J. Biomed. Mater. Res* 40:392–400.
- [283] Bellamkonda R, Ranieri JP, and Aebischer P. 1995. Laminin oligopeptide derivatized agarose gels allow three dimensional neurite extension in vitro. *J. Neurosci. Res.* 41:501–509.
- [284] Ranieri JP, Bellamkonda R, Bekos EJ, Vargo TG, Gardella JA Jr, and Aebischer P. 1995. Neuronal cell attachment to fluorinated ethylene propylene films with covalently immobilized laminin oligopeptides YIGSR and IKVAV. II. *J. Biomed. Mater. Res.* 29:779–785.
- [285] Ranieri JP, Bellamkonda R, Bekos EJ, Gardella JA Jr, Mathieu HJ, Ruiz L, et al. 1994. Spatial control of neuronal cell attachment and differentiation on covalently patterned laminin oligopeptide substrates. *Int. J. Dev. Neurosci.* 12:725–735.
- [286] Yu TT and Shoichet MS. 2005. Guided cell adhesion and outgrowth in peptide-modified channels for neural tissue engineering. *Biomaterials* 26:1507.
- [287] Schense JC, Bloch J, Aebischer P, and Hubbell JA. 2000. Enzymatic incorporation of bioactive peptides into fibrin matrices enhances neurite extension. *Nature Biotech.* 18:415–419.
- [288] Collier JH, Camp JP, Hudson TW, and Schmidt CE. 2000. Synthesis and characterization of polypyrrole/hyaluronic acid composite biomaterials for tissue engineering applications. *J. Biomed. Mater. Res.* 50:574–584.
- [289] Cui X, Lee VA, Raphael Y, Wiler JA, Hetke JF, and Anderson DJ. 2001. Surface modification of neural recording electrodes with conducting polymer/biomolecule blends. *J. Biomed. Mater. Res.* 56:261–272.
- [290] Cui X, Wiler J, Dzaman M, Altschuler RA, and Martin DC. 2003. In vivo studies of polypyrrole/peptide coated neural probes. *Biomaterials* 24:777–787.
- [291] Stauffer WR and Cui XT. 2006. Polypyrrole doped with 2 peptide sequences from laminin. *Biomaterials* 27:2405–2413.
- [292] Marchand-Brynaert J, Detrait E, Noiset O, Boxus T, Schneider YJ, and Remacle C. 1999. Biological evaluation of RGD peptidomimetics, designed for the covalent derivatization of cell culture substrata, as potential promoters of cellular adhesion. *Biomaterials* 20:1773–1782.
- [293] Yamaoka T, Hotta Y, Kobayashi K, and Kimura Y. 1999. Synthesis and properties of malic acid-containing functional polymers. *Int. J. Biol. Macromol.* 25:265–271.
- [294] Eid K, Chen E, Griffith L, and Glowacki J. Effect of RGD coating on osteocompatibility of PLGA polymer disks in a rat tibial wound. 2001. *J. Biomed. Mater. Res.* 57:224–231.
- [295] Kao WJ and Lee D. 2001. In vivo modulation of host response and macrophage behavior by polymer networks grafted with fibronectin-derived biomimetic oligopeptides: The role of RGD and PHSRN domains. *Biomaterials* 22:2901–2909.
- [296] Liu Y and Kao WJ. 2002. Human macrophage adhesion on fibronectin. The role of substratum and intracellular signaling kinases. *Cell Signal.* 14:145–152.
- [297] Kao WJ and Liu Y. 2001. Utilizing biomimetic oligopeptides to probe fibronectin–integrin binding and signaling in regulating macrophage function in vitro and in vivo. *Front. Biosci.* 6:D992–D999.
- [298] Kao WJ and Liu Y. 2002. Intracellular signaling involved in macrophage adhesion and FBGC formation as mediated by ligand–substrate interaction. *J. Biomed. Mater. Res.* 62:478–487.

- [299] Cook AD, Hrkach JS, Gao NN, Johnson IM, Pajvani UB, Cannizzaro SM, et al. 1997. Characterization and development of RGD-peptide-modified poly(lactic acid-co-lysine) as an interactive, resorbable biomaterial. *J. Biomed. Mater. Res.* 35:513–523.
- [300] Barrera DA, Zylstra E, Lansbury PT, and Langer R. 1993. Synthesis and RGD peptide modification of a new biodegradable copolymer poly(lactic acid-co-lysine). *J. Am. Chem. Soc.* 115:11010–11011.
- [301] McConachie A, Newman D, Tucci M, Puchett A, Tsao A, Hughs J, et al. 1999. The effect on bioadhesive polymers either freely in solution or covalently attached to a support on human macrophages. *Biomed. Sci. Instrum.* 35:45–50.
- [302] Gumusderelioglu M and Turkoglu H. 2002. Biomodification of non-woven polyester fabrics by insulin and RGD for use in serum-free cultivation of tissue cells. *Biomaterials* 23:3927–3935.
- [303] Krijgsman B, Seifalian AM, Salacinski HJ, Tai NR, Punshon G, Fuller BJ, et al. 2002. An assessment of covalent grafting of RGD peptides to the surface of a compliant poly(carbonate-urea)urethane vascular conduit versus conventional biological coatings: Its role in enhancing cellular retention. *Tissue Eng.* 8:673–680.
- [304] Yanagi M, Kishida A, Shimotakahara T, Matsumoto H, Nishijima H, Akashi M, et al. 1994. Experimental study of bioactive polyurethane sponge as an artificial trachea. *ASAIO J.* 40:M412–M418.
- [305] Lin HB, Zhao ZC, Garcia-Echeverria C, Rich DH, and Cooper SL. 1992. Synthesis of a novel polyurethane co-polymer containing covalently attached RGD peptide. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 3:217–227.
- [306] Lin HB, Garcia-Echeverria C, Asakura S, Sun W, Mosher DF, and Cooper SL. 1992. Endothelial cell adhesion on polyurethanes containing covalently attached RGD-peptides. *Biomaterials* 13:905–914.
- [307] Anderheiden D, Klee D, Höcker H, Heller B, Kirkpatrick CJ, and Mittermayer C. 1992. Surface modification of a biocompatible polymer based on polyurethane for artificial blood vessels. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 3:1–4.
- [308] Johnson R, Harrison D, Tucci M, Tsao A, Lemos M, Puckett A, et al. 1997. Fibrous capsule formation in response to ultrahigh molecular weight polyethylene treated with peptides that influence adhesion. *Biomed. Sci. Instrum.* 34:47–52.
- [309] Kugo K, Okuno M, Masuda K, Nishino J, Masuda H, and Iwatsuki M. 1994. Fibroblast attachment to Arg–Gly Asp peptide-immobilized poly(g-methyl l-glutamate). *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 5: 325–337.
- [310] Sanchez M, Deffieux A, Bordenave L, Borquey C, and Fontanille M. 1994. Synthesis of hemocompatible materials. Part 1: Surface modification of polyurethanes based on poly(chloroalkylvinylether)s by RGD fragments. *Clin. Mater.* 15:253–258.
- [311] Schaffner P, Meyer J, Dard M, Wenz R, Nies B, Verrier S, et al. 1999. Induced tissue integration of bone implants by coating with bone selective RGD-peptides in vitro and in vivo studies. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 10:837–839.
- [312] Irvine DJ, Mayes AM, and Griffith LG. 2001. Nanoscale clustering of RGD peptides at surfaces using Comb polymers. 1. Synthesis and characterization of Comb thin films. *Biomacromolecules.* 2:85–94.
- [313] Irvine DJ, Ruzette A-VG, Mayes AM, and Griffith LG. 2001. Nanoscale clustering of RGD peptides at surfaces using comb polymers-2. Surface segregation of comb polymers in polylactide. *Biomacromolecules* 2:545–556.
- [314] Koo LY, Irvine DJ, Mayes AM, Lauffenburger DA, and Griffith LG. 2002. Co-regulation of cell adhesion by nanoscale RGD organization and mechanical stimulus. *J. Cell Sci.* 115:1423–1433.
- [315] Kondoh A, Makino K, and Matsuda T. 1993. 2-Dimensional artificial extracellular-matrix bioadhesive peptide immobilized surface design. *J. Appl. Polym. Sci.* 47:1983–1988.
- [316] Kobayashi H and Ikada Y. 1991. Corneal cell adhesion and proliferation on hydrogel sheets bound with cell-adhesive proteins. *Curr. Eye Res.* 10:899–908.

- [317] Beer JH, Springer KT, and Collier BS. 1992. Immobilized Arg–Gly Asp (RGD) peptides of varying lengths as structural probes of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor. *Blood* 79:117–128.
- [318] Holland J, Hersch L, Bryhan M, Onyiriuka E, and Ziegler L. 1996. Culture of human vascular endothelial cells on an RGD containing synthetic peptide attached to a starch-coated polystyrene surface: Comparison with fibronectin-coated tissue grade polystyrene. *Biomaterials* 17:2147–2156.
- [319] De Giglio E, Sabbatini L, Colucci S, and Zamboni G. 2000. Synthesis, analytical characterization, and osteoblast adhesion properties on RGD-grafted polypyrrole coatings on titanium substrates. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 11:1073–1083.
- [320] Kam L, Shain W, Turner JN, and Bizios R. 2002. Selective adhesion of astrocytes to surfaces modified with immobilized peptides. *Biomaterials* 23:511–515.
- [321] Hasenbein ME, Andersen TT, and Bizios R. 2002. Micropatterned surfaces modified with select peptides promote exclusive interactions with osteoblasts. *Biomaterials* 23:3937–3942.
- [322] Ranieri JP, Bellamkonda R, Bekos EJ, Vargo TG Jr, and Aebischer JAG. 1995. Neuronal cell attachment to fluorinated ethylene propylene films with covalently immobilized laminin oligopeptides YIGSR and IKVAV. II. *J. Biomed. Mater. Res.* 40:371–377.
- [323] Mineur P, Guignandon A, Lambert ChA, Amblard M, Lapière ChM, and Nusgens BV. 2005. RGDS and DGEA-induced $[Ca^{2+}]_i$ signalling in human dermal fibroblasts. *Biochim. Biophys. Acta.* 1746:28–37.
- [324] Harbers GM and Healy KE. 2005. The effect of ligand type and density on osteoblast adhesion, proliferation, and matrix mineralization. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 75:855–869.
- [325] Graham KL, Zeng W, Takada Y, Jackson DC, and Coulson BS. 2004. Effects on rotavirus cell binding and infection of monomeric and polymeric peptides containing alpha2beta1 and alpha2beta2 integrin ligand sequences. *J. Virol.* 78:11786–11797.
- [326] Mizuno M and Kuboki Y. 2001. Osteoblast-related gene expression of bone marrow cells during the osteoblastic differentiation induced by type I collagen. *J. Biochem. (Tokyo).* 129:133–138.

الباب الثالث

**تقنيات التصنيع النانوي الواعدة لتطوير حاملات خلايا
وأنسجة من أجل هندسة الأنسجة**

حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف بوليمرية

نانوية مغزولة كهربائياً من أجل تجديد الأنسجة

Electrospun Polymeric Nanofiber Scaffolds for Tissue Regeneration

Syam Prasad Nukavarapu, Sangamesh G. Kumbar, Jonathan G. Merrell, and Cato T. Laurencin

المحتويات CONTENTS

٣٠٨	INTRODUCTION مقدمة (٧, ١)
٣١٠	ELECTROSPINNING: BASICS AND INSTRUMENTATION الغزل الكهربائي: الأساسيات والأدوات (٧, ٢)
٣١٠	Electrospinning Setup جهاز الغزل الكهربائي (٧, ٢, ١)
٣١١	Spinning Process and Mechanisms عملية الغزل والآليات (٧, ٢, ٢)
٣١١	Background and Statistics خلفية وإحصائيات (٧, ٢, ٣)
	Relevance of Electrospun أهمية حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً في هندسة الأنسجة (٧, ٢, ٤)
٣١٣	Scaffolds In Tissue Engineering
	ELECTROSPINNING TO توليد حاملات خلايا وأنسجة بوليمرية ذات ألياف نانوية (٧, ٣)
٣١٤	GENERATE NANOFIBROUS POLYMERIC SCAFFOLDS
	Key Parameters Influencing Fiber Diameter المحددات الرئيسية التي تؤثر على قطر وشكل الألياف (٧, ٣, ١)
٣١٤	and Morphology
٣١٥	Polymer Solution Variables متغيرات محلول البوليمر (٧, ٣, ١, ١)
٣١٥	Controlled Variables المتغيرات الخاضعة للتحكم (٧, ٣, ١, ٢)

٣١٦.....	Ambient Variables	متغيرات البيئة المحيطة (٧,٣,١,٣)
٣١٧.....	Various Scaffold Materials	المواد المختلفة لحاملات الخلايا والأنسجة (٧,٣,٢)
٣١٧.....	Synthetic Polymers	البوليمرات الاصطناعية (٧,٣,٢,١)
٣١٨.....	Natural Polymers	البوليمرات الطبيعية (٧,٣,٢,٢)
٣١٩.....	Polymer-Polymer Blends	خلاط بوليمر-بوليمر (٧,٣,٢,٣)
٣٢٠.....	Polymer-Ceramic Composites	مركبات بوليمر-سيراميك (٧,٣,٢,٤)
٣٢٠.....	Various Methods	الطرق المختلفة (٧,٣,٣)
٣٢٠.....	Solution and Melt Electrospinning	الغزل الكهربائي للمحلول والمصهور (٧,٣,٣,١)
	Electrospinning with Different	الغزل الكهربائي باستخدام أشكال هندسية مختلفة للمُجمّع (٧,٣,٣,٢)
٣٢١.....	Collector Geometries	
٣٢٢.....	Coaxial Electrospinning	الغزل الكهربائي المتمحور (٧,٣,٣,٣)
٣٢٢.....	Multispinneret Electrospinning	الغزل الكهربائي متعدد المغازل (٧,٣,٣,٤)
	ELECTROSPUN SCAFFOLDS IN	حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً في تحديد الأنسجة (٧,٤)
٣٢٤.....	TISSUE REGENERATION	
	ELECTROSPUN SCAFFOLDS	حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً لتوصيل الدواء والعوامل (٧,٥)
٣٢٧.....	FOR DRUG AND FACTOR DELIVERY	
٣٣٠.....	CONCLUSIONS AND CHALLENGES	الاستنتاجات والتحديات (٧,٦)
٣٣١.....	ACKNOWLEDGMENT	شكر وتقدير (٧,٦)
٣٣١.....	REFERENCES	المراجع (٧,٦)

(٧,١) مقدمة INTRODUCTION

الغزل الكهربائي (electrospinning) هو تقنية لإنتاج ألياف في مستوى ما دون المايكرون (submicron scale) إلى مستوى النانومتر (nanometer scale) من محاليل أو ذوائب البوليمرات. وهو معروف أيضاً بالغزل الإلكتروستاتيكي (الكهربائي الساكن) (electrostatic spinning) والذي يملك بعض الخصائص المشتركة مع الرش الكهربائي (electrospraying) وعملية سحب الألياف التقليدية. والغزل الكهربائي هو تقنية بسيطة وسهلة لإنتاج طبقات مستوية من ألياف نانوية غير محبوكة ومتشابكة (nonwoven interconnected nanofiber mats) لها تطبيقات محتملة في مجال الهندسة والطب [1-5]. وقد اعتمد الغزل الكهربائي في الطفرة الأخيرة في تقنية النانو كتقنية ممتازة لإنتاج بُنى من ألياف النانو من أجل التطبيقات الطبية الحيوية مثل التئام الجروح (wound healing) وهندسة الأنسجة وتوصيل الدواء [6-8].

في هندسة الأنسجة، تدعم حاملات الخلايا والأنسجة الفعاليات الخلوية الأولية (initial cellular activities) وتخفي في الوقت الذي يكتمل فيه تشكيل الأنسجة. المطلوب هو أنه على حاملات الخلايا والأنسجة في حد ذاتها أن تحاكي النسيج في البنية وأن توفر المتانة الميكانيكية (mechanical strength) اللازمة والمسامية الملائمة للارتشاح والنمو الخلوي (cellular infiltration and growth). تفتقر منهجيات حمل الخلايا والأنسجة التقليدية (scaffolding methodologies) مثل صبّ المذيبات (solvent casting) وإثفاذ أو ترشيح الجسيمات (particulate leaching) [9] وتشكيل الرغوة الغازية (gas foaming) [10] والتجفيد (التجفيف بالتجميد) (freeze drying) [11] والطباعة ثلاثية الأبعاد (3D printing) [12] إلى القدرة على تشكيل حاملات خلايا وأنسجة تنسخ بشكل مطابق بنية الأنسجة الأصلية (native tissue structure). ومن ناحية أخرى، أظهر الغزل الكهربائي قدرته على تصنيع حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو تحاكي إلى حد بعيد بنية المصفوفة خارج الخلية (ECM) الأصلية [13]. علاوة على ذلك، فقد أظهرت هذه التقنية براعتها لإنتاج حاملات خلايا وأنسجة مع مجموعة من الخصائص الميكانيكية (من البلاستيكية إلى المرنة plastic to elastic) والمسامية المحسنة وحجم المسام من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة [14,15].

وقد تم إجراء الغزل الكهربائي لبوليمرات اصطناعية قابلة للتحلل الحيوي مثل بولي (دي، إل-لاكتيد) poly(D,L-lactide) - PLA و بولي (دي، إل-لاكتيد-كوغليكولايد) poly(D,L-lactide-co-glycolide) - PLAGA و بولي كابرولاكتون (polycaprolactone - PCL) و بولي فوسفازينات (polyphosphazenes)، ... إلخ للحصول على حاملات خلايا وأنسجة مصنوعة من ألياف النانو [15-18]. وقد عرضت هذه المصفوفات من ألياف النانو تشابهاً قريباً مع لِيَفَات الكولاجين (collagen fibrils) و لِيَفَات الإيلاستين (elastin fibrils) في بنية المصفوفة خارج الخلية (ECM) الأصلية من حيث حجمها وترتيب الألياف. ولأنها تحاكي وبشكل وثيق بنية المصفوفة خارج الخلية (ECM)، فقد أظهرت حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الاصطناعية التصاقاً وسلوكاً غو خلوي ممتازاً لتطبيقاتها في هندسة الأنسجة [13,19]. كما تم استخدام الغزل الكهربائي لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة من بوليمرات موجودة بصورة طبيعية مثل الكولاجين والإيلاستين والفبرينوجين (fibrinogen) والشيتوزان (chitosan) والألجينات (alginate) وحمض الهالورونيك (hyaluronic acid) والحريز. وقد جذبت مثل تلك الحاملات ذات الألياف الطبيعية المغزولة كهربائياً، وذلك بسبب تشابهها البنوي والتركيب مع المصفوفة خارج الخلية (ECM) الأصلية، الكثير من الاهتمام من أجل تطبيقات تجديد الأنسجة (tissue regeneration applications) [20]. وقد تم إجراء الغزل الكهربائي لتراكيب مختلفة من البوليمرات مثل خلائط أو مركبات البوليمرات (polymer compositions) الاصطناعية - الاصطناعية والبوليمرات الاصطناعية - الطبيعية والبوليمرات الطبيعية - الطبيعية لإنتاج حاملات خلايا وأنسجة جديدة ذات نشاط حيوي وخصائص ميكانيكية مطلوبة ومناسبة لهندسة الأنسجة الوعائية والجلدية والعصبية والغضروفية [21-23]. كما تركزت الجهود على إنشاء حاملات خلايا وأنسجة مغزولة كهربائياً من بوليمر - سيراميك من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العظمية [24-26].

بالإضافة إلى الغزل الكهربائي، تعتبر طريقة الفصل الطوري المحرّض حراريًا (thermally induced phase separation) وطريقة التجميع الذاتي الجزيئي (molecular self-assembly) طرقًا أخرى تُستعمل لتصنيع حاملة خلايا وأنسجة من ألياف النانو [27,28]. ولكن يمكن تطبيق طريقة الفصل الطوري المحرّض حراريًا (TIPS) فقط على البوليمرات البلورية (crystalline polymers)، وحتى الآن تستخدم فقط على البولي (إل-حمض اللاكتيك) (poly(L-lactic acid) - PLLA) لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو. ومن ناحية أخرى، تعاني طريقة التجميع الذاتي الجزيئي من الكيمياء المعقدة المشاركة بالتجميع الذاتي للتركيب الببتيدي. وتتضمن السلبيات الأخرى لهاتين التقنيتين تحكماً أقل ببارامترات (محددات) العملية (process parameters) وعدم القدرة على إنتاج ألياف نانوية موجهة (oriented nanofibers). وفي المقابل، يعتبر الغزل الكهربائي عملية قابلة للتطبيق، وقد تم تطبيقها بالفعل على بوليمرات اصطناعية وطبيعية مختلفة لاشتقاق حاملات خلايا وأنسجة ذات خصائص فيزيائية وكيميائية حيوية ملائمة ومناسبة لتجديد الأنسجة المرغوبة.

(٧،٢) الغزل الكهربائي: الأساسيات والأدوات ELECTROSPINNING: BASICS AND INSTRUMENTATION

(٧،٢،١) جهاز الغزل الكهربائي Electrospinning Setup

يتكون جهاز الغزل الكهربائي الأساسي التجريبي وبشكل أساسي من نظام توصيل محلول أو مصهور البوليمر (polymer solution or melt delivery) ومصدر طاقة (power source) ومُجمّع أو هدف (collector or target). تزود مُحقنة (syringe) أو أنبوب شعري (capillary tube) بمحلول أو مصهور البوليمر بالمعدل المطلوب، وسيزود مصدر الطاقة العالية بالجهد الكهربائي اللازم للبدء في نفث البوليمر (polymer jet) من قطيرة معلقة أو متدلّية (pendent droplet). سيجمع الهدف أو المُجمّع المؤرّض (grounded) الواقع على مسافة معينة من مصدر البوليمر ألياف النانو المغزولة. لتوفير تدفق ثابت ومرغوب فيه من محلول أو مصهور البوليمر فإنه من المفيد أن يتضمن جهاز الغزل الكهربائي مضخة حقن (syringe pump)؛ وبالتالي جميع الاجهزة التجريبية الحديثة تستخدم مضخات قابلة للبرمجة. وقد اعتمدت الأجهزة التجريبية في وقت سابق على الجاذبية (gravity)، حيث يتم وضع المحقنة بزاوية مستقيمة بالنسبة إلى الأرض بحيث تضخ قطرات البوليمر بشكل حر بالمعدل المطلوب. يتم توصيل الطرف الموجب من مصدر الطاقة العالية بإبرة المحقنة ويتم تأريض الطرف الآخر بالهدف. ويحدد شكل وحجم وحركة الهدف محاذاة أو تراصف ألياف النانو (nanofiber alignment) وبالتالي يتم تصميم أنواع مختلفة من الأهداف أو المجمعات اعتماداً على التطبيق. وقد كان من الممكن ترسيب ألياف النانو بشكل عشوائي (random nanofibers deposition) باستخدام رقاقة ثابتة من الألومنيوم (stationary aluminum foil) كهدف، بينما تم استخدام أسطوانات دوّارة (rotating drums) أو عجلات معدنية (metal wheels) لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة أنبوبية ذات ألياف نانوية (tubular nanofiber scaffolds) متراصة. وتتحكم المسافة من طرف المحقنة إلى الهدف المؤرّض (والمسماة بالمسافة من الطرف إلى الهدف (tip - to - target distance) أو مسافة العمل (working distance)) أيضاً بأقطار الألياف أثناء الغزل الكهربائي.

(٧،٢،٢) عملية الغزل والآليات Spinning Process and Mechanisms

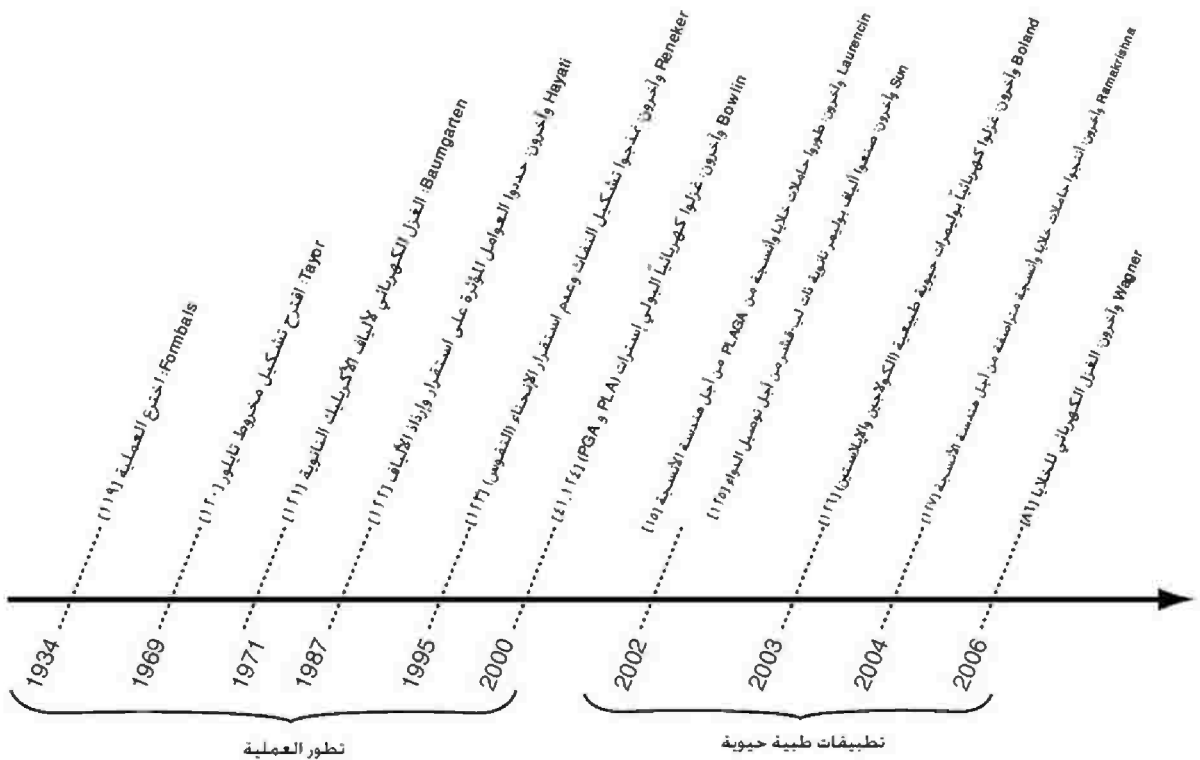
لقد تم إجراء الغزل الكهربائي لأنواع عديدة من البوليمرات والبوليمرات المشتركة (copolymers) وخلائط البوليمرات (polymer blends) ومركبات البوليمر - السيراميك (polymer - ceramic composites) بواسطة حلها بمذيبات مناسبة مثل الماء والأحماض غير العضوية (inorganic acids) والمذيبات العضوية (organic solvents) وكذلك خلائط المذيبات (solvent mixtures). تبدأ عملية الغزل الكهربائي بتطبيق جهد كهربائي عالي بقيمة تقريباً ١ كيلو فولت في السنتيمتر ($\approx 1\text{kV/cm}$) على القطرات المتدلية من محلول البوليمر. يحدث هذا الحقل الكهربائي على فصل الشحنة (charge separation)؛ وبالتالي يحدث تنافراً بالشحنة (charge repulsion) داخل قطيرة البوليمر. ويبدأ نفث البوليمر عندما تتغلب القوة الإلكتروستاتيكية (electrostatic force) المقابلة على التوتر السطحي (surface tension) لمحلول البوليمر. وبالضبط وقبل تشكيل النفث تتخذ قطيرة البوليمر تحت تأثير الحقل الكهربائي شكل مخروط (cone shape) ذي جوانب محدبة ورأس مدور، والذي يعرف باسم مخروط تايلور (Taylor cone). وما أن يتم البدء بالنفث حتى تدفع القوة الكهربائية المسيطرة إلى استطالة مستقيمة (straight elongation) لقطيرة البوليمر. وفي نهاية الاستطالة المستقيمة يظهر التفاعل الكولومي (Coulombic interaction) (التفاعل الإلكتروستاتيكي بين الجسيمات المشحونة كهربائياً) داخل النفث ومع الحقل الكهربائي الخارجي في مركب السرعة نصف القطري خارج المحوري (off - axial radial component of velocity) والذي يؤدي إلى تقوس ولف نفث البوليمر. وخلال كامل العملية يستطيل نفث البوليمر تحت تأثير القوة الكهربائية آلاف أو حتى ملايين المرات قبل أن تتجمع ألياف صلبة رفيعة للغاية (ultra thin solid fiber) على الهدف.

لقد حسنت الغالبية العظمى من الدراسات في المراجع المنشورة المحددات الرئيسية للعملية مثل لزوجة المحلول (solution viscosity) والحقل الكهربائي المطبق (applied electric field) للحصول على ألياف نانوية خالية من العيوب. وقد كان معروفاً ولوقتٍ طويل خلال عملية الغزل الكهربائي بأن فهم الطبيعة الفيزيائية وراء هذه العملية والنموذج الأساسي لشرح هذه العملية لا تزال ناقصة. وقد أدى مؤخراً عرض عملية الغزل باستخدام كاميرات عالية السرعة إلى نماذج قليلة لشرح العملية والتنبؤ بها بشكلٍ دقيق [29]. فاقترح Yarin و Reneker نموذجاً شاملاً وشرحا للملاحظات التجريبية من خلال إدخال عدم استقرار التقوس الخطي (linear bending instabilities) أثناء عملية استطالة الألياف (fiber elongation process) [30]. وفي وقتٍ لاحق، قام Rutledge وزملاؤه في العمل بنمذجة العملية لحساب سلوك اللف غير الخطي للنفثات (nonlinear whipping behavior of the jets) الذي لوحظ في عملية تشكيل ألياف النانو [31].

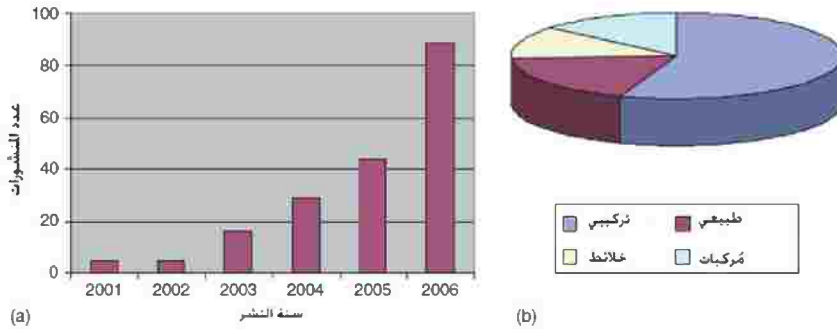
(٧،٢،٣) خلفية وإحصائيات Background and Statistics

تطورت تقنية الغزل الكهربائي على أساس الرش الكهربائي الذي استُخدم على نطاقٍ واسعٍ لنحو ١٠٠ سنة. وتتطلب كلتا العمليتين جهداً عالياً لبدء نفث السائل. يتجزأ النفث الكهربائي إلى مزيد من القطيرات والجزيئات الدقيقة في عملية الرش الكهربائي [32]، في حين ينتهي محلول ذو لزوجة عالية بما يكفي بتشكيل ألياف مستمرة في عملية الغزل الكهربائي. وتتلخص بعض المعالم المهمة في عملية الغزل الكهربائي والتطورات المتسلسلة زمنياً في الشكل رقم (٧.١). وعلى الرغم من أن الغزل الكهربائي قد ذُكر في عام ١٩٣٤، إلا أن المزيد من التطور والتقدم كان بطيئاً نسبياً في السنوات الخمسين التالية.

وبحلول العام ٢٠٠٠، وكجزء من ثورة تقنية النانو، جذبت تقنية الغزل الكهربائي المزيد من الاهتمام وقد تم إجراء عملية الغزل الكهربائي لأكثر من ١٠٠ بوليمر مختلف للعديد من التطبيقات التكنولوجية. وقد كان Laurencin وزملاؤه في العمل أول من ذكر جدوى استخدام حاملات الخلايا والأنسجة عالية المسامية ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً (electrospun highly porous nanofiber scaffolds) من أجل التطبيقات الطبية الحيوية [15]. ولأن حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو تجمع بين قابلية التحلل الحيوي للمادة (material biodegradability) وأقطار ألياف تقع في مجال ألياف المصفوفة خارج الخلية (ECM) الأصلية؛ فقد ولدت الكثير من الإثارة لتجديد أنسجة مثل الجلد والأوعية الدموية والعظم. وتشير الدراسة المسحية للمراجع المنشورة من SciFinder Scholar إلى نمو متسارع في عدد المنشورات حول حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً والقابلة للتحلل الحيوي كما هو مشاهد بسهولة من الشكل رقم (٧.٢). إن مثل هذا النمو السريع هو دليل على رواج هذه التقنية التي قد تتضمن أنواعاً عديدة من حاملات الخلايا والأنسجة المبنية على أساس ألياف النانو في المستقبل القريب من أجل تطبيقات تجديد الأنسجة (tissue regeneration applications).



الشكل رقم (٧.١). الأحداث بالتسلسل الزمني في عملية الغزل الكهربائي لتصنيع مصفوفات من ألياف النانو (nanofiber matrices) لمجموعة متنوعة من التطبيقات. الغزل الكهربائي والمعروف أيضاً باسم الغزل الإلكتروستاتيكي (electrostatic spinning) هو تقنية عمرها قرن، إلا أن قدرته في التطبيقات التقنية العالية والمتنوعة قد تم إدراكها مؤخراً. وقد برز الغزل الكهربائي في الآونة الأخيرة كتقنية رئيسية لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة ذات سمات في مستوى النانو (nanofeatured scaffolds) لتطبيقات تجديد الأنسجة (regeneration applications).



الشكل رقم (٧،٢). إحصائيات الغزل الكهربائي (electrospinning statistics). (a) عدد من الأوراق في المراجع المنشورة اعتماداً على البحث في (SciFinder Scholar) باستخدام المصطلحات "الغزل الكهربائي" (electrospinning)، حاملات الخلايا والأنسجة (scaffolds)، هندسة الأنسجة (tissue engineering). يشمل هذا البحث أيضاً ٧٧ عملاً تم نشرها في عام ٢٠٠٧ بين يناير وأكتوبر، وهي لا تظهر في الرسم البياني. (b) يمكن تصنيف هذه المنشورات إلى عدد من الأوراق التي تناول حاملات الخلايا والأنسجة الاصطناعية والطبيعية وخلاتنطها والمركبة على النحو المبين في الرسم البياني الدائري. تعاملت غالبية المنشورات مع البوليمرات الطبيعية، ومع ذلك فإن الجهود الأخيرة هي باتجاه الغزل الكهربائي للخلاتنط التي تجمع بين خصائص المواد الطبيعية والاصطناعية لتحقيق تحسين في الخصائص الميكانيكية (mechanical properties) والنشاط الحيوي (bioactivity).

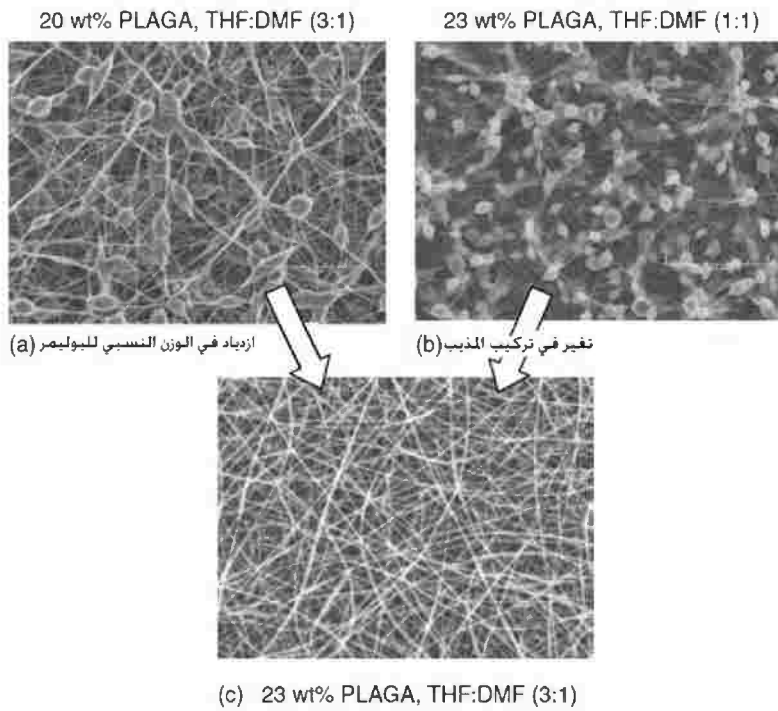
(٧،٢،٤) أهمية حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً في هندسة الأنسجة Relevance of Electrospun Scaffolds in Tissue Engineering

تُحاط الخلايا في الأنسجة والأعضاء بمصفوفة خارج الخلية (ECM) وتتوسط المصفوفة خارج الخلية (ECM) معظم الوظائف الخلوية (cellular functions) بالتعاون مع جزيئات نقل الإشارة (signaling molecules). وتضم المصفوفة خارج الخلية (ECM) ليفيات (fibrils) ذات حجم يتراوح من ١٠ إلى ١٠٠ نانومتر، والتي تتألف بشكل أساسي من الكولاجين والإيلاستين والفبرونيكتين. ونظراً لقربها الوثيق وارتفاع مساحتها السطحية، تتيح الليفيات النانوية للمصفوفة خارج الخلية (ECM) الفرصة للخلايا لتفاعل مع جزيئات نقل الإشارة؛ وبالتالي تتحكم في وظائف الخلية وخصائص الأنسجة. تتطلب هندسة الأنسجة حاملات خلايا تحاكي بشكل وثيق بنية ووظيفة المصفوفة خارج الخلية (ECM) [33]. إن الغزل الكهربائي هو طريقة مرنة لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة قابلة للتحلل الحيوي (biodegradable scaffolds) مع أحجام ألياف قريبة من ليفيات المصفوفة خارج الخلية (ECM). وبالتالي توفر حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً من الـ (PLLA) و (PLGA) و (PCL) والبولي فوسفازين (polyphosphazene) منبهات طوبوغرافية (topographical cues) تؤدي إلى أداء خلوي مُحسّن. وعلى وجه الخصوص يحاكي الكولاجين أو الإيلاستين أو خلاتنطهما مع البوليمرات التركيبية (PLGA) أو (PCL) المصفوفة خارج الخلية (ECM) في البنية والتركيب. وقد أظهرت هذه الحاملات ذات ألياف النانو تحسّناً في الالتصاق والتكاثر والتمايز والهجرة والتعبير الجيني للخلايا. ويمكن للاستجابة الخلوية المحسّنة والملاحظة لحاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً أن تترجم إلى تسريع التئام الأنسجة في الجسم الحي وبالتالي تخدم وعلى نحو أفضل كحاملات خلايا وأنسجة من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة.

(٧,٣) الغزل الكهربائي لتوليد حاملات خلايا وأنسجة بوليمرية ذات ألياف نانوية ELECTROSPINNING TO GENERATE NANOFIBROUS POLYMERIC SCAFFOLDS

(٧,٣,١) المحددات الرئيسية التي تؤثر على قطر وشكل الألياف Key Parameters Influencing Fiber Diameter and Morphology

إن الحصول على ألياف بأقطار في مستوى النانو يتم إنجازه بسهولة عن طريق الغزل الكهربائي. إلا أن الحصول على الدوام على ألياف بالقطر والشكل المطلوبين هو أكثر تحدياً. إن العيوب الشكلية الأكثر شيوعاً لألياف النانو هي الخرزات (beads) التي تبقى كتكدسات (aggregates) صغيرة من البوليمر في بنية ألياف النانو. وغالباً ما تنتج التراكيز المنخفضة لمحلول البوليمر خرزات أكثر من الألياف، وسينتج التركيز الأمثل للبوليمر مصفوفات من ألياف النانو خالية من الخرزات كما هو مبين في الشكل رقم (٧,٣).



الشكل رقم (٧,٣). تُظهر صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEMs) شكل مصفوفات ألياف النانو المغزولة كهربائياً، والتي تنتج عن تراكيز مختلفة للبوليمر ومكونات المذيب. وقد تم الحفاظ على محددات الغزل الأخرى عند مسافة عمل ثابتة بقيمة ٢٠ سم، وجهد كهربائي مُطبق بقيمة ٢٠ كيلوفولت، وإبرة ذات عيار ١٨، ومعدل تدفق بقيمة ٢ ميليلتر/ساعة. تظهر صور الـ (SEM) للبوليمر المغزول PLAGA 85/15 (0.7 dL/g) (a) تشكّل الخرزات والخيوط الرفيعة عند تركيز بوليمر بقيمة ٢٠٪ ووزن ومذيب THE:DMF (3:1)، (b) خرزات أكثر في بنية ألياف النانو عند تركيز ٢٣٪ وزناً، ومذيب THE:DMF (1:1)، (c) ألياف نانوية خالية من العيوب عند تركيز ٢٣٪ وزناً، ومذيب THE:DMF (3:1). تدل هذه التغيرات المورفولوجية الملاحظة من (a) إلى (c) وبوضوح على تأثير متغيرات المحلول على شكل ألياف النانو المغزولة كهربائياً.

بالإضافة إلى ذلك، تحتاج هذه المحددات أن تُحسن من أجل كل نظام بوليمر ومذيب (polymer and solvent system) حيث تختلف خصائص محلول البوليمر (polymer solution properties) لكل زوج. ويتم التحكم بالغزل الكهربائي بواسطة العديد من المحددات ومن الضروري تحسين هذه المحددات لإنتاج ألياف بالقطر والشكل المطلوبين. ويمكن تصنيف هذه المحددات إلى ثلاث فئات: متغيرات محلول البوليمر والمتغيرات الخاضعة للتحكم ومتغيرات البيئة المحيطة.

(٧,٣,١,١) متغيرات محلول البوليمر Polymer Solution Variables

إن البارامتر أو المحدد الأكثر أهمية في الغزل الكهربائي هو تركيز محلول البوليمر (polymer solution concentration). إن محاليل البوليمرات ذات التراكيز العالية هي أكثر لزوجة من المحاليل ذات التراكيز المنخفضة، ويمكن أن تُغزل كهربائياً إلى ألياف بسهولة. إن المحاليل منخفضة اللزوجة هي أكثر عرضة لإنتاج الخرزات (الشكل رقم ٧.٣ a)، ويتم تخفيض حالات الخرزات عندما تتم زيادة التركيز (الشكل رقم ٧.٣ c). على سبيل المثال، عندما غُزلت محاليل البوليستيرين (polystyrene - PS) في رباعي هيدروفوران (tetrahydrofuran - THF) كهربائياً أنتجت فقط خرزات عند تركيز أقل من ٢٠٪ وزناً، وخرزات وأليافاً عند تركيز بين ٢٠٪ و ٣٥٪ وزناً، وأليافاً فقط عند تركيز ٣٥٪ وزناً [34]. إن التراكيز التي تتجاوز عتبة عليا (upper threshold) معينة، وهي ملازمة وفريدة لكل بوليمر، تنتج محاليل لا يمكن أن تُغزل كهربائياً [35]. وعلى الرغم من أن الزيادة في اللزوجة تنتج خرزات أقل وتميل إلى الزيادة في قطر الألياف، فقد تكون هذه الميزة مرغوبة أو غير مرغوبة. وقد أنتجت محاليل بوليمر (PLAGA-b-PEG-NH₂) في مذيبات مختلفة وبتراكيز متساوٍ للزوج محلول مختلفة [36] تتراوح من ٢٢٠ إلى ١٢٦١ (cP) وقد أظهرت مصفوفات ألياف النانو المغزولة كهربائياً (electrospun nanofiber matrices) الناتجة متوسط أقطار ألياف من ٤٤٩ إلى ٧٦١ نانومتر، على التوالي.

إن كثافة شحنة محلول البوليمر (charge density of the polymer solution) هي متغير آخر والذي من الممكن أن يؤثر على حجم وشكل الألياف. يؤثر تركيب المذيب (solvent composition) ووجود الأنصاف أو الشوارد الموصلة (conducting moieties) (الأملاح والجزئيات المعدنية والألياف الكربونية النانوية) في المحلول على كثافة شحنة محلول البوليمر. وقد أدى إضافة أملاح مثل كلوريد الصوديوم (sodium chloride) بكميات صغيرة (١٪ وزن) إلى محلول البوليمر (PLA) إلى إنتاج ألياف نانوية خالية من الخرزات [35]. ومن المفترض أن تؤدي الزيادة في موصلية أو ناقلية المحلول (solution conductivity) إلى كثافة شحنة أكبر على سطح المحلول عندما يتم سحبه من مخروط تايلور. تولد الشحنة الزائدة المزيد من القوة التي تعمل على مد البوليمر إلى ألياف عند سحبها باتجاه الهدف.

(٧,٣,١,٢) المتغيرات الخاضعة للتحكم Controlled Variables

من الضروري تحسين المتغيرات الخاضعة للتحكم مثل الجهد المطبق (applied voltage) والقطر الشعري (capillary diameter) ومعدل تدفق محلول البوليمر (polymer solution rate) لإنتاج ألياف النانو المطلوبة. إن حداً أدنى من الجهد الكهربائي والمسمى بجهد العتبة (threshold voltage) سيكون ضرورياً لتوفير ما يكفي من القوة لاستخراج ألياف البوليمر من مخروط تايلور وسحبها إلى الهدف. إلا أن زيادة الجهد يمكن أن يؤثر سلباً على شكل الألياف مما يجعلها "أخشن" ("rougner") في المظهر. على سبيل المثال تم إنتاج ألياف ناعمة من البولي (أكسيد الإثيلين) (poly(ethylene oxide) - PEO)

المغزولة كهربائياً عند جهد ٥,٥ كيلو فولت وعندما تمت زيادة الجهد إلى ٩,٠ كيلوفولت أصبح سطح ألياف النانو خشناً [37]. وقد أدت زيادة الجهد أثناء عملية الغزل الكهربائي للـ (PLA) إلى إنتاج المزيد من الخرزات بالإضافة إلى أن شكل الخرزات قد تغير من كونه يشبه المغزل (spindle - like shape) إلى شكل أكثر كروية [35]. ويمكن لمثل هذه التغيرات المورفولوجية كنتيجة للجهود المطبقة أن تكون بسبب موضع البدء بنفث البوليمر [37].

إن لقطر الإبرة (needle diameter) أيضاً تأثيراً على حجم وشكل الألياف المشكلة. فتميل أقطار الإبر الأكبر إلى إنتاج عدد أقل من الخرزات. وقد أظهر Laurencin وزملاؤه في العمل في وقت سابق بأن الغزل الكهربائي للميثيل فينوكسي المعوض بالبولي فوسفازين (methylphenoxy substituted polyphosphazene - PNmPh) عند تركيز ٣٪ وزناً، وباستخدام إبرة ذات عيار ٢٥ (25 - gauge needle) أنتج أليافاً مع خرزات تشبه المغزل بينما غزلت الإبرة ذات العيار ١٨ أليافاً خالية من الخرزات [18]. وللمسافة من رأس الإبرة إلى الهدف المؤرض تأثير كبير على الألياف المغزولة كهربائياً. فتميل المسافات الأقصر إلى توليد عدد أقل من الخرزات. على سبيل المثال، كانت ألياف النانو للبولي كابريولاكتون (PCL) المغزولة كهربائياً في مختبرات Laurencin عند مسافة عمل ١٠ سنتيمترات خالية من الخرزات بينما احتوت على الكثير من الخرزات عند مسافة ٢٠ و ٣٠ سنتيمتراً.

يؤثر معدل تغذية (feed rate) محلول أو مصهور البوليمر على شكل ومعدل تصنيع ألياف النانو. على سبيل المثال، لقد أنتجت ألياف النانو المغزولة كهربائياً من الـ (PLLA) عند معدل تغذية أعلى من ٧٥ ميليلتراً / دقيقة أليافاً كبيرة مع خرزات كبيرة [35]. في حين صغر الانخفاض في معدل تغذية البوليمر قطر الألياف وأنتج خرزات صغيرة القطر.

(٧,٣,١,٣) متغيرات البيئة المحيطة Ambient Variables

هناك دراسات قليلة جداً أجريت لاختبار تأثيرات بارامترات البيئة المحيطة (ambient parameters) مثل درجة الحرارة والرطوبة وتدفق الهواء (airflow) على عملية الغزل الكهربائي. وأظهرت معظم الدراسات قطر ألياف منخفضاً عندما أجري الغزل الكهربائي في درجات حرارة مرتفعة. ويُعزى ذلك إلى اللزوجات المنخفضة لمحاليل البوليمرات الملاحظة عند درجات حرارة أعلى [38]. لقد درس Casper وآخرون تأثير الرطوبة على شكل سطح ألياف النانو [39]. لم تؤثر الرطوبة الأقل من ٢٥٪ على تشكيل ألياف البوليمرين، في حين أن الألياف المترسبة عند رطوبة فوق ٣٠٪ قد أظهرت تشكلاً مسامياً على سطح ألياف النانو. وقد سببت الزيادة في نسبة الرطوبة (من ٣٠٪ إلى ٧٠٪) عدداً أعلى من المسامات مع زيادة حجم وقطر المسام. ورغم ذلك لم يكن تشكل المسام (pore formation) مفهوماً بشكلٍ كامل، وكان ذلك يعزى بشكلٍ أساسي إلى ظاهرة التبريد التبخري (evaporative cooling phenomenon) التي تحدث عندما يتم الغزل في بيئة رطبة للغاية [40]. ويمكن لتدفق الهواء أن يؤثر سلباً على الغزل الكهربائي. فعندما يتم سحب سلاسل البوليمر المشحونة بشكلٍ عالٍ (highly charged polymer chains) نحو الهدف، فإنها تدور في حلقات حلزونية (spiral loops) كبيرة قبل الوصول إلى الهدف. أثناء الغزل الكهربائي تحمل جميع الألياف نفس الشحنة وتتنافر مع بعضها بعضاً إلى أن تصل إلى الهدف المؤرض (grounded target). ويمكن لتدفق الهواء أن يُعطل النمط أو الشكل الحلزوني (spiral pattern) عندما تتحرك الألياف نحو الهدف ويمكن أن يُشجع التفاعلات التي لن تجري بشكلٍ طبيعي. وبالتالي فإنه من المهم دائماً أن يُغلف جهاز الغزل الكهربائي باستخدام مادة غير موصلة (nonconducting material) لتجنب تدفق الهواء وأي تغييرات ممكنة في درجة الحرارة والرطوبة التي تؤثر على قطر وشكل الألياف النهائي.

(٧,٣,٢) المواد المختلفة لحاملات الخلايا والأنسجة Various Scaffold Materials

(٧,٣,٢,١) البوليمرات الاصطناعية Synthetic Polymers

أظهرت البوليمرات الاصطناعية القابلة للتحلل الحيوي (synthetic biodegradable polymers) وعدداً كبيراً كمواضع لحاملات الخلايا والأنسجة من أجل هندسة الأنسجة. إلى الآن قام الباحثون باختبار البولي (ألفا - إسترات) (poly(α -esters)) والبولي (أورثو إسترات) (poly(ortho esters)) والبولي (فوسفازينات) (poly(phosphazenes)) والبولي (أنهيدريدات) (poly(anhydrides)) كمواضع قابلة للتحلل ممكنة لتطبيقات حمل الخلايا والأنسجة. من بينها، فإن للبولي (ألفا - إسترات) بما في ذلك بولي (حمض الغليكوليك) (PGA) و (PLA) و (PLLA) و (PLGA) و (PCL) تاريخاً طويلاً من الاستخدام كمواضع اصطناعية قابلة للتحلل قد تم أخذها بعين الاعتبار في عملية الغزل الكهربائي لتوليد حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة.

لقد تم إنجاز الغزل الكهربائي للـ (PGA) عن طريق تذويب الـ (PGA) في ١، ١، ١، ٣، ٣، ٣، ٣ هيكسافلورو-٢-بروبانول (1,1,1,3,3,3 hexafluoro-2-propanol - HFIP) عند تراكيز مختلفة للحصول على ألياف في المجال من ٠.٢ إلى ١.٢ مايكرومتراً (0.2 - 1.2 μ m) [41]. وقد تم حل الـ (PLA)، والذي هو كاره للماء (hydrophobic) بشكل أكبر من الـ (PGA) بسبب مجموعة الميثيل (methyl group) الخاصة به، بسهولة في مذيبات عضوية لإنجاز الغزل الكهربائي. وكانت مصفوفات الألياف الناتجة قوية وغير لينة أو مطاوعة (noncompliant) وأظهرت فترات زمنية أطول للتحلل مقارنة مع مصفوفات ألياف النانو المصنوعة من الـ (PGA) [42]. وقد تم إجراء الغزل الكهربائي للـ (PLGA)، وهو بوليمر مشترك من (PGA) و (PLA) ذو خصائص ميكانيكية وتحليلية قابلة للضبط، لتوليد بُنى ثلاثية الأبعاد من ألياف النانو (3D nanofiber architectures) ذات مسامية ومتانة ميكانيكية عالية لاستخدامها كحاملات خلايا وأنسجة من أجل هندسة الأنسجة [15]. وفي وقت لاحق تم استخدام الـ (PLGA) بنسبة (٨٥ / ١٥) والـ (PLGA) بنسبة (٥٠ / ٥٠) على نطاق واسع لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو محاكية للمصفوفة خارج الخلية (ECM) مع قطر ألياف ومسامية ومتانة ميكانيكية واتجاه ألياف متغيرة من أجل أنواع مختلفة من تطبيقات تجديد الأنسجة [43,44]. وقد تم أيضاً إجراء الغزل الكهربائي للبولي ديوكسانون (polydioxanone)، وهو بوليمر عالي المرونة مع معدل تحلل يقع بين (PGA) و (PLA)، في الـ (HFIP) لتوليد حاملات خلايا وأنسجة مرنة من أجل هندسة الأنسجة الرخوة (soft tissue engineering) [45]. وقد تم أيضاً اختبار البولي كابرولاكتون (PCL) على نطاق واسع من أجل الغزل الكهربائي لتشكيل حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو ذات خصائص مثل التحلل البطيء (من ١ إلى ٢ سنة) ومُعامل مرونة عالٍ [46]. وتُعد البولي فوسفازينات أيضاً فئة أخرى من البوليمرات ذات خصائص فيزيائية كيميائية وميكانيكية وتحليلية خاضعة للتحكم ومناسبة لمختلف التطبيقات الطبية الحيوية. لقد قامت مختبرات Laurencin للمرة الأولى بالغزل الكهربائي للعديد من البولي فوسفازينات وتشمل قائمة هذه البوليمرات البولي إثنائي (بي-ميثيل فينوكسي) فوسفازين [poly[bis(ethyl) - PNmPh] - (إيثيل ألاناتو) فوسفازين]، والبولي إثنائي (إيثيل ألاناتو) فوسفازين [poly[bis(p-methylphenoxy)phosphazene] - PNEA]، وبوليمرهما المشترك (PNEAmPh) والبولي إثنائي (كربوكسي لاتوفينوكسي) فوسفازين [alanato)phosphazene] - PNEA]

(PCPP - poly[bis(carboxylatophenoxy)phosphazene]) [18,47,48]. لقد تحللت حاملات الخلايا والأنسجة الجديدة من ألياف النانو تلك في منتجات تحلل طبيعية ومتوافقة حيويًا وكانت مناسبة لتطبيقات هندسة الأنسجة العظمية [18,48]. وقد تم مؤخرًا أيضًا إجراء الغزل الكهربائي لبولي هيدروكسي بوتيرات (polyhydroxybutyrate - PHB) وبولي (هيدروكسي بوتيرات-كو-فاليرات) (poly(hydroxybutyrate-co-valerate) - PHBV) لتوليد حاملات خلايا وأنسجة لتجديد العظم [49].

(٧,٣,٢,٢) البوليمرات الطبيعية Natural Polymers

لقد أثبتت البوليمرات ذات الأصل الطبيعي بأنها متوافقة حيويًا ومعروفة بأنها تعتبر بمثابة المواد الأفضل لحاملات الخلايا والأنسجة من أجل هندسة الأنسجة. تحاكي مثل هذه المصفوفات ذات ألياف النانو الطبيعية المغزولة كهربائيًا وبشكل وثيق المصفوفة خارج الخلية (ECM) الطبيعية في البنية والتركيب والوظيفة. وكانت بعض المواد الطبيعية التي تم أخذها بعين الاعتبار من أجل الغزل الكهربائي: (١) بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) مثل الكولاجين من النمط الأول والثاني والثالث والإيلاستين، و(٢) بروتينات مصل الدم (serum proteins) مثل الفيبرينوجين (fibrinogen) والهيماغلوبين (hemoglobin) والميوغلوبين (myoglobin)، و(٣) البوليمرات التي توجد بشكل طبيعي مثل الشيتوزان والألجينات وحمض الهالورونيك والحرير.

إن الكولاجين هو المكون الرئيسي للمصفوفة خارج الخلية (ECM) في العديد من الأنسجة؛ وبالتالي تم اختياره من أجل الغزل الكهربائي لتوليد حاملات للخلايا والأنسجة المهندسة، والتي تحاكي الخصائص البنيوية والكيميائية والبيولوجية للكولاجين الأصلي. وقد تمت معالجة الكولاجين من النمط الأول والثالث كهربائيًا بواسطة المذيب العضوي (HFIP) وحققت أحجام ألياف 100 ± 40 نانومترًا و 250 ± 150 نانومتر، على التوالي [50]. إن الإيلاستين، وهو مكون رئيسي آخر للمصفوفة خارج الخلية (ECM)، غير قابل للذوبان في شكله الأصلي. وقد تم تطوير أشكال قابلة للذوبان مثل أجزاء الإيلاستين (α -إيلاستين و κ -إيلاستين) أو طليعة الإيلاستين البشري المنشوب (المؤتلف) (recombinant human tropoelastin) في حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو التي تُظهر مرونة (elasticity) وقدرة على الانكماش والرجوع (resilience) من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة الوعائية (vascular tissue engineering applications) [51]. وقد أنتج الغزل الكهربائي لبروتين المصل الفيبرينوجين مع المذيب (HFIP) والوسط الغذائي الأساسي البسيط (MEM - minimal essential medium) مصفوفات ألياف تحتوي على ألياف بقطر من ٨٠ إلى ٧٠٠ نانومتر مناسبة لتطبيقات التئام الجروح [14]. وقد تم أيضًا إجراء الغزل للبروتينات الكروية (globular proteins) مثل الهيماغلوبين (خضاب الدم) والميوغلوبين (بروتين في العضل) إلى أنابيب من ألياف النانو لتطبيقات التئام الجروح المحفّز بتوصيل الأكسجين (oxygen delivery induced wound healing applications) [52]. وبالإضافة إلى هذه البوليمرات الحيوية، فقد بُذلت أيضًا جهود لإنتاج حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية من مواد طبيعية قابلة للتحلل الحيوي مثل الشيتوزان والألجينات وحمض الهالورونيك والحرير عن طريق الغزل الكهربائي [53-55]. ومن أجل الملاءمة، غالبًا ما يتم مزج البوليمرات الطبيعية مع بولي (كحول الفينيل) (poly(vinyl alcohol) - PVA) وبولي (غليكول الإثيلين) (poly(ethylene glycol) - PEG) و (PEO) المتوافقة حيويًا والقابلة للذوبان في الماء وذلك للمساعدة في تشكيل الألياف مع الحفاظ على التوافق الحيوي [56,57]. وقد تم تعريف كل مصفوفات البوليمر الحيوية / الطبيعية تلك

لتفاعل الربط المستعرض (cross-linking reaction) باستخدام عوامل تشابك (crosslinking agents) مثل أبخرة الغلوتارالدهيد (vapors of glutaraldehyde) وأبخرة الفورمالدهيد (vapors of formaldehyde) والعديد من المجموعات المبنية على أساس الأكريليت (acrylate) والقابلة للربط الضوئي المستعرض أو المتشابك (photo cross - linkable) لاكتساب المتانة الميكانيكية اللازمة لاستخدامها كحاملات خلايا لهندسة الأنسجة.

(٧,٣,٢,٣) خلأط بوليمر-بوليمر Polymer-Polymer Blends

تمت صناعة ألياف النانو من بوليمرات تركيبيّة - تركيبيّة وبوليمرات طبيعيّة - طبيعيّة عن طريق الغزل الكهربائي. تجمع مثل هذه الحاملات ذات ألياف النانو خصائص البوليمرات الفردية، وقد أظهرت تحسناً في التوافق الحيوي والدعم الميكانيكي (mechanical support) أثناء تجديد الأنسجة. وتشمل بعض المجموعات الواسعة الانتشار التي تم غزلها كهربائياً في حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو خلأط الـ (PCL - PLA) و الـ (PLGA - دكستران) والـ (PLGA - جيلاتين - إيلاستين) والـ (PCL - جيلاتين) والـ (PHBV - كولاجين) وبولي ديوكسانون - إيلاستين (polydioxanone - elastin) وبولي أنيلين - جيلاتين (polyaniline - gelatin) وكولاجين - إيلاستين (collagen - elastin) و جيلاتين - حمض الهالورونيك (gelatin - hyaluronic acid).

تُظهر حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المصنوعة من الـ (PLG) و (PLA) و (PLGA) متانة ميكانيكية جيدة ومع ذلك فهي تفتقر إلى القدرة على التمدد (extensibility). وقد حسّنت إضافة (PCL) إلى (PLG) و (PLA) القدرة على التمدد (PGA إلى ٤٠٪ و PLA إلى ٢٠٪) لمصفوفات ألياف النانو؛ وأدى ذلك إلى إنتاج حاملات خلايا وأنسجة بالمتانة المطلوبة لتكون كطعموم شريانيّة (arterial grafts) [58]. وعلى الرغم من أن البوليمرات الطبيعية هي مواد مرشحة جيدة لهندسة الأنسجة، إلا أن نقص المتانة الميكانيكية وضعف القدرة على المعالجة العملية (processability) تحد من استخدامها من أجل تطبيقات حمل الخلايا والأنسجة (scaffolding applications). وقد أدى الغزل الكهربائي للبوليمرات الطبيعية بالاشتراك مع البوليمرات التركيبية لمجموعة جديدة من المواد مع توافق حيوي وأداء ميكانيكي محسّن. على سبيل المثال، لقد أدى الغزل الكهربائي للـ (PLGA - إيلاستين - جيلاتين) إلى إنتاج حاملات خلايا وأنسجة نشطة حيويّاً (bioactive) ومحاكية للمصفوفة خارج الخلية (ECM) وذات خصائص ميكانيكية / وخصائص مرنة مثالية مناسبة لهندسة الأنسجة الرخوة [59]. وقد حسّن مزج الجيلاتين مع الـ (PCL) من القدرة العملية للجيلاتين من أجل الغزل الكهربائي وحقق المتانة الميكانيكية والمرونة المطلوبة بدون الربط الكيميائي المستعرض (chemical cross - linking) [60]. كما تم أيضاً إنجاز ألياف نانوية من البولي أنيلين الموصل (conducting polyaniline) والقابل للتحلل الحيوي والحماية على الجيلاتين عن طريق الغزل الكهربائي لتوليد حاملات خلايا وأنسجة متوافقة حيويّاً وموصّلة من أجل هندسة الأنسجة العصبية (neural tissue engineering) [23]. يملك مزيج ألياف النانو في حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البوليمرات الحيوية الكولاجين - الإيلاستين مقاومة للتمزق (resistance from rupture) (من الكولاجين) والتشوه اللاعكوس (irreversible deformation) من تدفق الدم النابض (pulsatile blood flow) (من الإيلاستين) ليكون بمثابة حاملة خلايا وأنسجة مثالية من أجل هندسة الأنسجة الوعائية [61].

(٧,٣,٢,٤) مركبات بوليمر-سيراميك Polymer-Ceramic Composites

تُقدم ألياف النانو المحملة بجسيمات نانوية (nanoparticles) نظاماً مركباً لألياف النانو وهو معروف بأنه يزيد من المتانة الميكانيكية وكذلك الوظيفة الحيوية لحاملة الخلايا والأنسجة. ويُحسّن مثل هذا النظام الجسيمائي (particulate system) (نظام مُكوّن من جسيمات) والمؤلف من هيدروكسي أباتيت (HA) وجسيمات $(\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$ النانوية من التوافق العظمي، في حين تنقل أنابيب الكربون النانوية (CNTs) متانة ميكانيكية وتوصيلاً كهربائياً (electrical conductivity) أعلى لحاملات الخلايا والأنسجة الناتجة.

تُحاكي حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو ثلاثية الأطوار المغزولة كهربائياً (electrospun triphasic nanofiber scaffold) والمصنوعة من (الكولاجين من النمط الأول - البولي كابرولاكتون - الهيدروكسي أباتيت) (PCL - collagen I - HA) (٣٠ نانومتراً) العظم في البنية والتركيب. إن حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف بمتوسط قطر من ٥٠ إلى ١٨٠ نانومتر (تتوافق بشكل جيد مع حزمة الكولاجين الأصلي في المصفوفة خارج الخلية ECM) ومعامل شد بقيمة ٢,٢ غيغا باسكال (2.2 Gpa) مرشحة لتكون حاملات خلايا وأنسجة واعدة من أجل هندسة الأنسجة العظمية [24]. لقد أدت المعالجة الكهربائية للجيلاتين - هيدروكسي أباتيت (HA) إلى إنتاج حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو بمركبات نانوية محاكية حيوياً مع تركيب متدرج للهيدروكسي أباتيت (HA) قابل للتطبيق من أجل هندسة الأنسجة العظمية الموجهة [62]. كما تم أيضاً إجراء الغزل الكهربائي للبولي فوسفازين المعوّض بالإيثيل فاليناتو (ethyl valinato substituted polyphosphazene - PNEV) والقابل للتحلل الحيوي مع الهيدروكسي أباتيت (HA) لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة متوافقة عظمياً (osteocompatible scaffolds) ومتينة ميكانيكياً ذات ألياف بأقطار تتراوح بين ١٠٠ و ٨٠٠ نانومتر [63]. لقد أظهرت حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً من (PLA) والحاوية على الأنابيب الكربونية النانوية المتعددة الجدران (multiwalled carbon nanotubes) تعزيزاً في الخصائص الميكانيكية، وتعتبر مثل هذه الحاملات الموصلة كهربائياً مناسبة من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة العصبية [64]. وبما أن الأنابيب الكربونية النانوية (CNTs) موصلة كهربائياً؛ فقد أدى إضافة أنابيب الكربون النانوية (CNTs) إلى زيادة في كثافة الشحنة السطحية (surface charge density)؛ وبالتالي انخفاض في قطر الألياف أثناء الغزل الكهربائي. إن استخدام تركيبات مختلفة من الهيدروكسي أباتيت (HA) وأنابيب الكربون النانوية (CNTs) يمكن أن يؤدي إلى تحسين المتانة الميكانيكية والتوصيل الكهربائي لهذه الحاملات.

(٧,٣,٣) الطرق المختلفة Various Methods

(٧,٣,٣,١) الغزل الكهربائي للمحلول والمصهور Solution and Melt Electrospinning

يتم تطبيق الغزل الكهربائي بصفة عامة على السوائل أو الموائع العالية اللزوجة (higher viscosity fluids). ومن أجل البوليمرات التي لها درجة حرارة تحول زجاجي (glass transition) فوق درجة حرارة الغرفة، يتم بلوغ حالة اللزوجة العالية للسوائل فقط إما عن طريق حلها في مذيب مناسب وإما عن طريق معالجتها عند درجة حرارة قريبة من نقطة الانصهار (melting point). وقد استخدمت الغالبية العظمى من الأبحاث التي أجريت حتى الآن الغزل الكهربائي للمحلول ويرجع

ذلك إلى حقيقة أن محاليل البوليمرات (polymer solutions) يمكن أن تُغزل مع القليل من الاكثراث لدرجة الحرارة المحيطة وهي تنتج بسهولة أليافاً صغيرة جداً. ويتم بسهولة إحراز التحسين في قطر وشكل الألياف في غزل المحلول عن طريق ضبط تركيز البوليمر (polymer concentration) أو تركيب المذيب (solvent composition).

وقد كانت هناك بعض المحاولات في الأعمال المنشورة لتطوير بُنى من ألياف النانو باستخدام الغزل الكهربائي للمصهور (melt electrospinning). يشابه الجهاز المستخدم لغزل المصهور جهاز الغزل الكهربائي للمحلول باستثناء آلية التسخين (heating mechanism) المضافة إلى البوليمر المصهور الوارد، والتي تحافظ على المصهور ساخناً إلى أن يتم سحبه خارج الإبرة ووصوله إلى الهدف. إن المتغيرين المهمين في هذه العملية هما درجة الحرارة والوزن الجزيئي للبوليمر (polymer molecular weight). لقد استخدم Lyons وآخرون العديد من بوليمرات البولي بروبيلين (polypropylene) وبأوزان جزيئية متفاوتة، وقد أشاروا إلى أن الزيادة في الوزن الجزيئي استدعت زيادة في الجهد الكهربائي للتغلب على التوتر السطحي للمصهور [65]. وقد لوحظ أيضاً أن غزل المصهور يتطلب حقلاً كهربائياً أقوى تقريباً بعشر مرات مما هو مطلوب عادةً للغزل الكهربائي للمحلول. وقد أدى الغزل الكهربائي لبولي (الإثيلين غليكول-بي-كابرولاكتون) (poly(ethylene glycol-b-caprolactone) - PEG-b-PCL) عند درجات حرارة تتراوح بين ٦٠ و ٩٠ درجة مئوية (60° C - 90° C) إلى إنتاج ألياف صلبة خالية من العيوب (ذات قطر من ٢٠٠ إلى ١٢٠٠ نانومتر) عند معدلات تدفق للمصهور أقل من ٠.٠٥ ميليلتر / ساعة. وفي المقابل أدت معدلات التدفق الأعلى إلى إنتاج ألياف مصهورة بسبب عدم كفاية التبريد [17]. لقد استخدم Ogata وآخرون جهاز صهر بالليزر (laser melting device) لإنتاج ألياف النانو من (PLA) مع متوسط قطر ليف أقل من ١ مايكرومتر (1 µm) [66]. كما تم مؤخراً تطوير الغزل الكهربائي المتمحور لمصهور (coaxial melt electrospinning) وذلك لتغليف المواد الصلبة من أجل تطبيقات التغليف المايكروبي (microencapsulation) وتطبيقات التوصيل المتحكم به (controlled delivery) [67]. إن طريقة غزل المصهور ملائمة فقط مع البوليمرات التي تبقى مستقرة في درجات الحرارة المرتفعة. وهناك حاجة لمزيد من الاختبارات في هذا الاتجاه لتوسيع نطاق هذه الطريقة من أجل العديد من البوليمرات القابلة للتحلل الحيوي. وعلى الرغم من التحديات الفريدة من نوعها، يوفر الغزل الكهربائي لمصهور الفرصة لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو مع عدم وجود آثار للمواد العضوية السامة (toxic organics) من أجل العديد من تطبيقات تجديد الأنسجة.

(٧,٣,٣,٢) الغزل الكهربائي باستخدام أشكال هندسية مختلفة للمُجمّع Electrospinning with Different Collector Geometries

يفرض الشكل الهندسي للمجمّع (collector geometry) حالة تجميع الألياف في عملية الغزل الكهربائي. لقد تم اقتراح أشكال هندسية مختلفة للمجمّع لإنجاز توجيه الألياف (fiber orientation) وتشكيل الألياف (fiber patterning) والترسيب المتحكم به (controlled deposition) للألياف. وقد تم استخدام أشكال هندسية للمجمّع تتضمن الأسطوانة الدوّارة والمجمّع على شكل قرص (disc collector) والأقطاب الكهربائية المتوازية (parallel electrodes)، ومصفوفة الأقطاب الكهربائية المقابلة (array of counter electrodes) والأقطاب الكهربائية الحلقية (ring electrodes) للقيام بالتحكم بعملية الترسيب من خلال الشكل الهندسي للقطب الكهربائي أو المجمّع [68]. تُقاس سرعة النفث (jet velocity) في الغزل الكهربائي لتكون في

المجال من ٢ إلى ١٨٦ متر في الثانية. تنتج أسطوانة أو قرص يدور بسرعة قريبة من سرعة النفث تراصفاً كبيراً على طول محور الدوران (axis of rotation). تؤدي السرعات الدورانية الأقل أو الأعلى بكثير من سرعة النفث إلى توجيه مختلط أو عشوائي (mix or random orientation). وقد لوحظ بأن حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف الموجهة (oriented fiber scaffolds) تُظهر خصائص ميكانيكية أفضل بكثير على طول محور الدوران عند مقارنتها بحاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف الموجهة بشكل عشوائي (randomly oriented fibers) [69]. وقد تم استخدام المجمع ذي الشكل الهندسي القطب الكهربائي المقابل (الترسب على الكوارتز quartz) للحصول على مصفوفات متراصة طبقة تلو الطبقة (layer - by - layer aligned arrays) عن طريق تأريض زوج الأقطاب الكهربائية المتقابلة بشكل متناوب [70]. ومن ناحية أخرى تم استخدام أقطاب كهربائية حلقة للقيام بترسيب مُصَغَّر للألياف في منطقة معينة، والذي يُشار إليه بالغزل الكهربائي المتحكم به أو الضيق (controlled or constricted electrospinning) [37]. وتجد حاملات الخلايا والأنسجة المستمدة من استخدام أشكال هندسية مختلفة للمجمع تطبيقات مناسبة في هندسة الأنسجة.

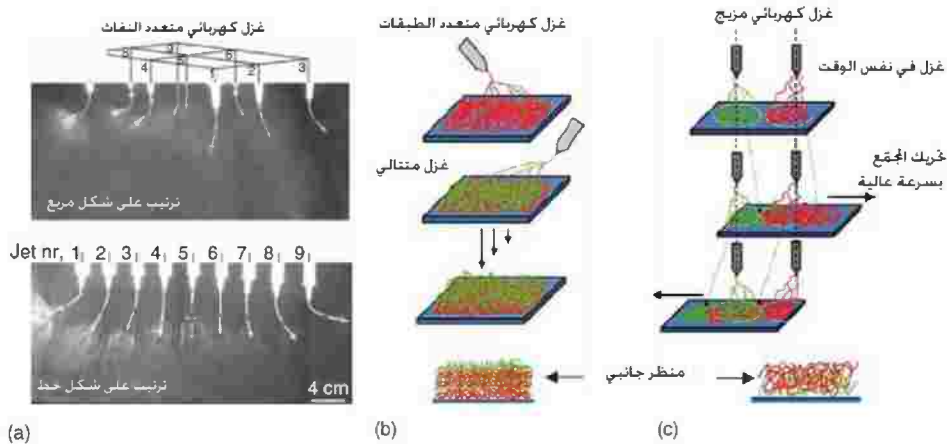
(٧,٣,٣,٣) الغزل الكهربائي المتمحور Coaxial Electrospinning

يتألف جهاز غزل كهربائي متمحور (coaxial electrospinning setup) بسيط من إبرتين متمحورتين (two coaxial needles) متصلتين بمحقتين فرديتين. باستثناء تجميع المغذي، فإن الجهاز التجريبي (experimental setup) الآخر يبقى نفسه كالجهاز المستخدم من أجل الغزل الكهربائي التقليدي. وبواسطة التغذية بمحلولين مختلفين من البوليمرات من خلال الرأس المتمحور (coaxial tip)، فمن الممكن الحصول على ألياف نانوية بوليميرية ذات لب وقشرة (core - shell polymer nanofibers). تتحكم هذه الطريقة بسماكة اللب والقشرة والقطر النهائي للألياف من خلال التحكم بمعدلات تدفق (flow rates) السائلين الداخلي والخارجي. ويؤدي دمج دواء أو عامل نمو مع بوليمر قابل للتحلل الحيوي كسائل داخلي إلى إنتاج حاملات مُهندَسة للأنسجة الوظيفية ذات نمط إطلاق متحكم به ومديد (controlled and sustainable release pattern). وكذلك يمكن للغزل المتمحور (coaxial spinning) أن يدمج النشاط الحيوي (عن طريق بوليمر القشرة) والمتانة الميكانيكية (عن طريق بوليمر اللب) لتطوير حاملة خلايا وأنسجة تُظهر خصائص ميكانيكية فائقة مع نشاط حيوي ممتاز [71]. إن الغزل الكهربائي الحيوي (bio - electrospinning) أو غزل الخلايا (cell spinning) هو واحد من التطبيقات الحديثة لطريقة الغزل الكهربائي المشترك (co - electrospinning method). بالإضافة إلى التطبيقات البيولوجية المذكورة أعلاه، تم استخدام الغزل المتمحور من ناحية أخرى لإنشاء ألياف مندمجة مع كلٍ من المكونات الفعالة وغير الفعالة من أجل التطبيقات التكنولوجية الحيوية (biotechnological applications) المتنوعة [72,73].

(٧,٣,٣,٤) الغزل الكهربائي متعدد المغازل Multispinneret Electrospinning

يحد التدفق المنخفض للسائل لنفاث مفرد (single jet) (١٠ مايكرو لترات / دقيقة - ١٠ ميليلترات / دقيقة) من الاستخدام الصناعي لعملية الغزل الكهربائي. إن إحدى الطرق لزيادة معدل الإنتاج هي عن طريق تقنية تسمى الغزل الكهربائي متعدد المغازل/الباعث (multispinneret / emitter electrospinning) [74]. في هذه الطريقة يتم ترتيب محاقن متعددة (multiple syringes) في شكل مربع أو خط للحصول على ألياف متماثلة تنتشر لتغطي مساحة واسعة كما هو موضح في الشكل رقم (٧,٤). لقد أدت

الدراسات الأولية باستخدام محقتين متوضعين جنباً إلى جنب إلى انحراف المسار عن الخط المستقيم بسبب التنافر الكولومي داخل النفثات (inter jet Columbic repulsion). ومع ذلك فقد تم تخفيض الانحراف (deviation) الملاحظ من خلال تقديم المزيد من النفثات في تشكيلة خط أو مصفوفة [75]. وقد تم نمذجة عملية المغازل المتعددة (multispinneret process) لتقييم المحددات المناسبة مثل المسافة بين النفثات وتكوين النفثات المتعدد ومعدل التدفق والمسافة بين الفوهات والمجمع؛ وذلك للحصول على طبقات مستوية متماثلة من ألياف نانوية غير محبوكة (uniform nonwoven nanofiber mats) بمعدل إنتاج متزايد. وبالإضافة إلى الترسيب بإنتاجية عالية فقد تم من ناحية أخرى استخدام طريقة النفثات المتعدد من أجل رصف طبقات متعددة (multilayering) (الشكل رقم ٧، ٤ b) أو من أجل الغزل الكهربائي المزيج (mixing electrospinning) (الشكل رقم ٧، ٤ c) [76]. في هذه الطرق تم استخدام اثنين أو أكثر من النفثات (مركزة في نفس المنطقة أو مغزولة على مغزل دوار (rotating mandrel)) مع محاليل بوليمرية مختلفة أو تعمل في شروط مختلفة لإنتاج مصفوفات من الألياف متعددة الطبقات أو الممزوجة (multilayered or mixed fiber matrices). إن التصميم الفراغي في مستوى الطول المتوسط (mesoscopic spatial designs) الجديدة المؤلفة من طبقات البوليمرات الحيوية (مع حجم ألياف متغير) والمصنعة عن طريق الغزل الكهربائي متعدد المغازل تحاكي الأنسجة الطبيعية في البنية وربما تجد تطبيقات في هندسة الأنسجة الوظيفية (functional tissue engineering).



الشكل رقم (٧، ٤). الطرق المختلفة للغزل الكهربائي: (a) الغزل الكهربائي متعدد النفثات (multijet electrospinning) حيث يتم ترتيب النفثات في تشكيلة مربع وخط. (من Theron, S.A., Polymer, 46, 2889, 2005). (b) الغزل الكهربائي متعددة الطبقات (multilayered electrospinning). (c) الغزل الكهربائي المهجين أو الخليط (mixing electrospinning). قدم الغزل الكهربائي متعدد النفثات الفرص لتحسين عملية الغزل للحصول على طبقات مستوية من ألياف النانو (nanofiber mats) سميكة ومتماثلة وذات مساحة واسعة، مع معدل إنتاج يتطابق مع عملية الإنتاج الصناعي للألياف. الأنسجة الأصلية هي في كثير من الأحيان متعددة المكونات ذات ترتيب طبقي أو مختلط (layered or mixed arrangement). الغزل الكهربائي متعدد الطبقات أو المهجين هما طريقتان جديدتان لبناء حاملات خلايا وأنسجة تقوم بالنسخ المطابق لبنية الأنسجة الأصلية. (من Kidoaki, S., Kwon, I.K., and Matsuda, T., *Biomaterials*, 26, 37, 2005).

(٧,٤) حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً في تجديد الأنسجة ELECTROSPUN SCAFFOLDS IN TISSUE REGENERATION

بسبب قدرتها على محاكاة المصفوفة خارج الخلية (ECM) في السمات السطحية والتركيب الكيميائي، يتسع انتشار البنى النانوية المغزولة كهربائياً بشكل متزايد لاستخدامها كحاملات في هندسة الأنسجة [77]. وقد تم استخدام الغزل الكهربائي بشكل فعال لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة ذات مسامية وحجم وتوجيه ألياف محدد والتي تتلاءم بشكل أفضل مع التطبيق المطلوب للحاملة [78]. ولهذه التقنية أيضاً القدرة على إنشاء حاملات خلايا وأنسجة ذات خصائص ميكانيكية متغيرة من المرنة إلى البلاستيكية (elastic to plastic) بناءً على اختيار البوليمر (مركبات تركيبيّة ومركبات طبيعية ومركبات - طبيعية ومركبات بوليمرية - سيراميكية) والشروط المستخدمة للغزل [69]. وقد أظهرت دراسات التوافق الخلوي (cytocompatibility) مع الخلايا بما في ذلك الخلايا البطانية والخلايا العضلية الملساء والخلايا العصبية وخلايا الأرومة الليفية والخلايا البانية للعظم والخلايا الغضروفية ومختلف أنواع الخلايا الجذعية وبشكل واضح إمكانية استخدام هذه الحاملات لمختلف تطبيقات تجديد الأنسجة [5,33,79]. ومن ناحية أخرى، يعرض التصاق وتكاثر وهجرة وتمايز الخلايا المعتمدة على حجم الألياف الملاحظ قدرة هذه الحاملات على التحكم لإثارة استجابة خلوية محددة (particular cellular response). يعرض الجدول رقم (٧,١) قائمة بحاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو البوليميرية القابلة للتحلل الحيوي (biodegradable polymer nanofiber scaffolds) ومحددات أو بارامترات الغزل (spinning parameters) وخصائص حاملة الخلايا والأنسجة (scaffold properties) وتطبيقاتها الممكنة.

الجدول رقم (٧,١). بوليمرات مختلفة قابلة للتحلل الحيوي (Biodegradable Polymers) مغزولة كهربائياً في حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية (Nanofiber Scaffolds): محددات الغزل (Spinning Parameters) وخصائص الحاملة (Scaffold Properties)

وتطبيقات هندسة الأنسجة (Tissue Engineering Applications)

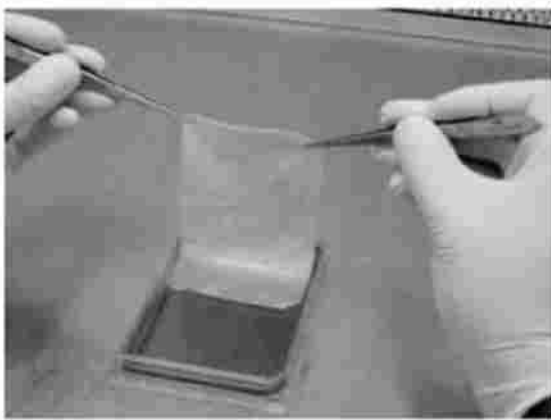
تطبيق هندسة الأنسجة Tissue Engineering Application	حجم الليف (نانومتر) Fiber Size (nm)	تركيز المذيب والبوليمر (وزن / حجم) Solvent and Polymer Concentration (wt / v)	البوليمر (Polymer)	تركيبي (Synthetic)
أنسجة ملساء (Smooth tissue) عظم، غضروف (Bone, cartilage)	500 - 800 550 - 970	THF : DMF (1:1), 5% THF + DMF	PLGA 85 / 15 [15]	
التئام الجروح (Wound healing)	340 - 1500	THF : DMF (3:1), 20% - 30%	PLGA 50 / 50 [44]	
عظم (Bone) غضروف (Cartilage) أنسجة قلبية (Cardiac tissue)	400 ± 200 700 250	Chloroform, 10% THF : DMF (1:1), 14% CHCl ₃ : CH ₃ OH (1:1), 10%	PCL [99-101]	
وعائية (Vascular)	700 - 800	HFIP, 3%	PLLA-b-PCL [102]	
عظم (Bone)	1200	Chloroform, 8%	PNmPh [18]	
التئام الجروح (Wound healing)	460	HFIP, 8%	Col I [82]	طبيعي (Natural)
غضروف (Cartilage)	60 - 270	HFIP, 4%	Col II [103]	
أنسجة رخوة (Smooth tissue)	500 - 1500	HFIP, 20%	Elastin [51]	
أنسجة رخوة (Smooth tissue)	200 - 500	HFIP, 8.3%	Gelatin [51]	
تضميد الجروح (Wound dressing)	80 - 700	HFIP : MEM (9:1), 8.3%	Fibrinogen [104]	

تابع الجدول رقم (٧، ١).

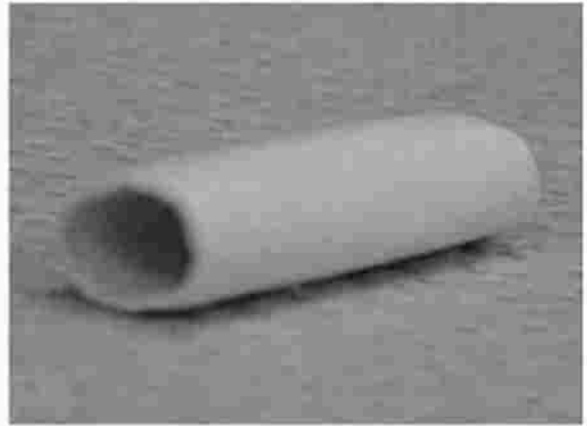
تطبيق هندسة الأنسجة Tissue Engineering Application	حجم الليف (نانومتر) Fiber Size (nm)	تركيز المذيب والبوليمر (وزن / حجم) Solvent and Polymer Concentration (wt / v)	البوليمر (Polymer)	
وعائية (Vascular)	720 ± 350	HFIP, 15%	Col I - Ela - PDLA [84]	خلائط بوليميرية - بوليميرية (- Polymer) (polymer blends)
وعائية (Vascular)	400 - 1200	HFIP, 30%	Polydioxanone [105]	
وعائية (Vascular)	100 - 200	HFIP, 5%	Col I - P(LLA - PCL) [106]	
وعائية (Vascular)	220 - 600	10 mM HCl, 1% - 5%	Col I - elastin [61]	
وعائية (Vascular)	1000	TFE, 10%	PCL - gelatin [60]	
جلدية (Dermal)	170	HFP + CHCl ₃ + CH ₃ - OH, 8%	PCL - Col I [98]	
التئام الجروح (Wound healing)	1000	DMSO : DMF (1:1), 60%	PLAGA - dextran [107,108]	
قلبية، عصبية (Cardiac, neural)	50 - 800	HFIP, 8%	Polyaniline - gelatin [23]	
أنسجة رخوة (Soft tissue)	380 ± 80	HFIP, 38%	PLAGA - Gel - Ela [59]	مركبات بوليميرية - سيراميكية (- Polymer) (ceramic composites)
عظم (Bone)	450 - 650	Chloroform, 20% nHA	PCL - nHA [85]	
	550 - 860	CHCl ₃ + DMF, 1% MWCNT	PLA - CNT [109]	
	100 - 800	DMF + THF, 50%	PNEA - nHA [25]	
	200 - 400	HFP, 16% - 53% HA	Gelatin - nHA [62]	
	180 ± 50	HFP, 20% nHA	PCL - nHA - collagen [24]	

(PLAGA 85 / 15)، بولي (دي، إل-لاكتيد-كو-١٥-غليكوليد)؛ (PLAGA 50 / 50)، بولي (دي، إل-لاكتيد-كو-٥٠-غليكوليد)؛ (PCL)، بولي كابرولاكتون؛ (PLLA-b-PCL)، بولي (إل-لاكتيد-كو-كابرولاكتون)؛ (PNmPh)، بولي [ثنائي (بي-ميثيل فينو كسي) فوسفازين]؛ (Col I)، كولاجين من النمط الأول؛ (Col II)، كولاجين من النمط الثاني؛ (Col III)، كولاجين من النمط الثالث؛ (Ela)، إيلاستين؛ (Gel)، جيلاتين؛ (PLA)، بولي (دي إل-لاكتيد)؛ (PNEA)، والبولي [ثنائي (إثيل ألاناتو) فوسفازين]؛ (nHA)، نانو هيدروكسي آباتيت؛ (THF)، رباعي هيدرو فوران؛ (DMF)، ثنائي ميثيل فورماميد؛ (DMSO)، ثنائي ميثيل سلفوكسيد؛ (HCl)، حمض الهيدروكلوريك؛ (MWCNT)، أنابيب الكربون النانوية متعددة الجدران.

لقد أدت القدرة على الحصول على بُنى من الألياف الموجهة (oriented fiber structures) إلى تطوير حاملات من أجل تجديد الأنسجة الرخوة (soft tissue) (الأنسجة الجلدية والوعائية والعصبية والغضروفية) [5]. تعتبر الأغشية المرنة المغزولة كهربائياً (electrospun flexible membranes) ذات المسامية وخصائص الحجز (barrier properties) المطلوبة جذابة لتضميد الجراح (wound dressing) [44,80]. وتقدم هذه الأغشية تبخر مياه متحكم به ونفاذية ممتازة للأكسجين (oxygen permeability) وإزالة الإفرازات (exudates removal)، وكذلك تأمين الجروح من الميكروبات الخارجية المنشأ (exogenous microorganisms) [81]. بالإضافة إلى تضميد الجراح، فإن طبقات ألياف النانو المستوية (nanofiber mats) التي يتم إنتاجها عن طريق الغزل الكهربائي (الشكل رقم ٧، ٥) تحاكي المصفوفة خارج الخلية (ECM)، ويمكن استخدامها كحاملات من أجل هندسة الأنسجة الجلدية (dermal tissue engineering) [22,82]. لقد كانت الانطلاقة المبكرة في هندسة الأنسجة في شكل بدائل الجلد الاصطناعي (synthetic skin substitutes). ومنذ ذلك الحين يوجد هناك قدرٌ كبيرٌ من الاهتمام والفرصة لتحسين الطُعم الجلدية (skin grafts) الحالية، ويمكن تحقيق ذلك باستخدام أغشية مغزولة كهربائياً غير محبوكة مترابطة فيما بينها (electrospun nonwoven interconnected membranes).



(a)



(b)

الشكل رقم (٥، ٧). أمثلة لحاملات الخلايا والأنسجة من ألياف النانو المغزولة كهربائياً والقابلة للتحلل الحيوي. (a) حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو في شكل أغشية لها تطبيقات محتملة كتضميد الجروح والتئام الجروح وهندسة الأنسجة الجلدية. (من Venugopal, J.R., *Artif. Organs*, 30, 440, 2005). (b) طُعوم بأقطار صغيرة من أجل هندسة الأوعية الدموية. على الرغم من أن الغزل الكهربائي قد تم استخدامه لإنتاج حاملات خلايا وأنسجة لمختلف تطبيقات هندسة الأنسجة، إلا أن هذه التقنية قد أسست سمعتها حتى الآن في إنتاج أغشية من ألياف النانو لالتئام الجروح وتجديد الأنسجة الجلدية والأنابيب صغيرة القطر لهندسة الأنسجة الوعائية. من وجهة نظر المؤلفين، فإن هذين النوعين من حاملات الخلايا والأنسجة قد ولدا الكثير من الإثارة وقد تجد قريباً تطبيقات في هندسة الأنسجة. (من Stitzel, J. et al., *Biomaterials*, 27, 1088, 2006).

إن الغزل الكهربائي هو تقنية سهلة لتوليد أنابيب صغيرة القطر (small diameter tubes) (أقل من ٦ ميليمترات) كقنوات من أجل هندسة الأنسجة الوعائية (الشكل رقم ٧، ٥). يمكن للقنوات الأنبوبية ذات ألياف النانو (nanofiber tube conduits) ومع خصائص مرنة ونشاط حيوي مناسبين أن تكون بمثابة طُعوم من أجل تطوير الأوعية الدموية [83,84]. بسبب السمات السطحية النانوية لحاملة الخلايا والأنسجة، يؤدي استخدام القناة الأنبوبية، إما مع شروط مهيأة مسبقاً للخلايا وإما في الجسم الحي، إلى ترسيب ألياف الكولاجين والإيلاستين التي تحل تدريجياً محل القناة الأنبوبية القابلة للتحلل الحيوي وتشكل وعاء مهندساً نسيجياً (tissue engineered vessel). ويمكن لهذه الاستراتيجية التخلص من استخدام الطعوم الوعائية الاصطناعية، والتي تبقى سائلة (patent) فقط ١٥٪ إلى ٣٠٪ بعد ٥ سنوات من الاستخدام لعلاج أمراض الشرايين التاجية والأوعية الدموية المحيطية (coronary artery and peripheral vascular diseases). وقد أخذ بعين الاعتبار أيضاً حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف الموجهة المغزولة كهربائياً من أجل الاستخدام في هندسة الأنسجة العصبية والغضروفية. لقد تم أيضاً بذل العديد من الجهود لتحميل الهيدروكسي أباتيت (HA) بجسيمات نانوية لإنجاز حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية مركبة تحاكي وبشكل أفضل العظم في البنية والتركيب من أجل إصلاح وتجديد الأنسجة العظمية [24,85].

إن حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية التي تضم خلايا وعوامل نمو هي تركيبات مثالية لهندسة الأنسجة. وقد تم في الآونة الأخيرة استخدام الغزل الكهربائي المشترك (co - electrospinning) من أجل الغزل الكهربائي الحيوي (bioelectrospinning) أو غزل الخلايا (cell spinning). وبما أن كائنات حية تكون مشاركة في هذه العملية؛ فإن

اختيار المذيب يشكل متطلبات صارمة. بالإضافة إلى القدرة على الغزل، يجب أن يكون المذيب متوافقاً حيوياً لبقاء الخلايا على قيد الحياة أثناء الغزل. كما تم طرح السؤال العالق حول كيف تتصرف الخلايا الحية تحت الحقول الكهربائية (electric fields) القوية. وفي محاولة للإجابة عن هذا السؤال، قام Wagner وآخرون بعملية الرش الكهربائي لخلايا عضلية ملساء (smooth muscle cells - SMCs) مع بولي (إستر يوريثان) (poly(ester urethane)) وهو من اللدائن المرنة القابلة للتحلل الحيوي [86]. لقد أنجزت هذه الدراسة وبنجاح الدمج المايكروبي للخلايا العضلية الملساء (SMCs) في مصفوفة قابلة للتحلل الحيوي دون ملاحظة أي تغييرات في قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة (cell viability). وفي دراسة حديثة عرض Jayasinghe وآخرون الغزل الكهربائي للخلايا باستخدام مُعلّق حيوي (biosuspension) مع تدفق (10^6 EHDJ / 1321N1) خلية/مليلتر (خلايا ورم نجمي دماغي بشري مُعمّرة (immortalized human brain astrocytoma)) في الإبرة الداخلية وتدفق الـ (PDMS) ذي الدرجة الطبية (بلزوجة عالية وتوصيل كهربائي منخفض) من خلال الإبرة الخارجية [87]. وعلى الرغم من أن الدراسة قد أظهرت تكدرات للخلايا على طول الألياف، إلا أن الخلايا لم تُظهر بعد المعالجة اختلافاً كبيراً في قدرتها على البقاء على قيد الحياة بالمقارنة مع الخلايا غير المعالجة. إن غزل الخلايا مع بوليمرات قابلة للتحلل الحيوي مُحمّلة بأنواع مختلفة من العوامل الفعالة حيوياً لا يزال تحدياً، ويمكن أن يُوفّر الفرصة لتصنيع بُنى نسيجية خلوية بشكلٍ عالٍ ووظيفية من الناحية الميكانيكية وذلك من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة الرخوة.

(٧,٥) حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً لتوصيل الدواء والعوامل DRUG AND FACTOR DELIVERY

إن حاملات الخلايا والأنسجة التي لديها القدرة على توصيل الأدوية أو عوامل النمو هي ذات قيمة عالية في هندسة الأنسجة. ويمكن للتوصيل الموضعي المستدام (sustained local delivery) للمضادات الحيوية (antibiotics) والعوامل المضادة للفطور (antifungal agents) والعوامل المضادة للجراثيم (antimicrobial agents) أن يحمي من أي عدوى محتملة، والتي قد تنتقل أثناء زرع الحاملة (scaffold implantation). ومن ناحيةٍ أخرى، يمكن استخدام الحاملة كوسيلة توصيل (delivery vehicle) لنقل الأدوية السامة للخلايا المضادة للسرطان والمضادة للسل (anticancer and antituberculosis) cytotoxic drugs بشكلٍ موضعي. كما أن نقل عوامل نمو وحيدة أو متعددة كمنبهات كيميائية (chemical cues) إلى الخلايا المحيطة هو أمرٌ ضروري في هندسة الأنسجة الناجحة. يظهر الجدول رقم (٧.٢) قائمة بحاملات خلايا وأنسجة قابلة للتحلل الحيوي مُحمّلة بالدواء والبروتين والحمض النووي (DNA) وعوامل النمو.

الجدول رقم (٧،٢). أنواع عديدة من البوليمرات القابلة للتحلل الحيوي (Biodegradable Polymers) والعوامل الفعالة حيويًا (Bioactive Agents) المستخدمة لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية مغزولة كهربائيًا من أجل توصيل الدواء والبروتين والحمض النووي (DNA) وعوامل النمو.

توصيل العامل (Agent Delivery)	خصائص الإطلاق (Release Characteristics)	دواء / بروتين / DNA / عامل نمو (Drug / Protein / DNA / Growth Factor)	حاملة الخلايا والأنسجة (Scaffold)
مضاد الجراثيم (Antibacterial)		السيفالوزين (Cefazolin)	PLGA 50 / 50 [44]
	إطلاق متواصل لخمسـة أيام	التتراسيكلين هيدروكلوريد (Tetracycline hydrochloride)	PDLA, PEVA, 50 PDLA / 50 PEVA [88]
	إطلاق متواصل لثلاثين يومًا	التتراسيكلين هيدروكلوريد (Tetracycline hydrochloride)	PLLA (cs) [110]
	إطلاق متواصل لسبعة أيام	سلفات الجنتاميسين (Gentamicin sulphate)	PCL (cs) [92]
	إطلاق انفجاري + إطلاق متواصل لسبعة أيام	ميفوكسين، سيفوكسين الصوديوم (Mefoxin, cefoxitin sodium)	PLGA / PEG- <i>b</i> -PLA [111]
مضاد الفطريات (Antifungal)	إطلاق متواصل ليوم واحد	الايترakonazole (Itraconazole)	HPMC [112]
مضاد المايكروبات (Antimicrobial)		بوتاسيوم ٥-نيترو-٨-كينولينات (Potassium 5 - nitro - 8 - quinolate)	Chitosan + PEO [113]
مضاد السرطان (Anticancer)	إطلاق متواصل لستين يومًا	الباكليتاكسيل (Paclitaxel)	PLGA [89]
	إطلاق انفجاري + إطلاق متواصل لعشر ساعات	دوكسوروبيسين هيدروكلوريد (Doxorubicin hydrochloride)	PEG- <i>b</i> -PLLA [114]
	إطلاق متواصل لأربع ساعات	دوكسوروبيسين هيدروكلوريد (Doxorubicin hydrochloride)	PLLA [115]
مضاد السل (Antituberculosis)	إطلاق متواصل لأربع ساعات	ريفامبين (Rifampin)	PLLA [116]
توصيل العامل (Agent Delivery)	خصائص الإطلاق (Release Characteristics)	دواء / بروتين / DNA / عامل نمو (Drug / Protein / DNA / Growth Factor)	حاملة الخلايا والأنسجة (Scaffold)
الحمض النووي (DNA)	إطلاق انفجاري + إطلاق متواصل لعشرين يومًا	بلازميدة الحمض النووي (Plasmid DNA)	PLGA, PLA - PEG [93]
	إطلاق متواصل لخمسـة وأربعين - خمسـة وخمسين يومًا	بلازميدة الحمض النووي لعامل النمو (BMP-2 plasmid DNA)	PLGA / HAp [94]
بروتين (Protein)	إطلاق متواصل لثلاثين يومًا	بروتين (BSA)، الليزوزيم (BSA, lysozyme)	PCL + PEG (cs) [117]
	إطلاق متواصل لثمانية وعشرين يومًا	بروتين (BSA)	PCL / Dextran / PEG (cs) [117]
عامل نمو (Growth factor)		عامل النمو (BMP-2)	Silk + PEO/Silk + nHA/Silk + PEO + nHA [95]
	إطلاق انفجاري + إطلاق متواصل لتسعين يومًا	(β -NGF/BSA)	PCLEP (cs) [96]
		(PDGF/BSA)	PCL (cs) [118]

ملاحظة: يتم الحصول على خصائص الإطلاق (release characteristics) المعروضة هنا من الدراسات خارج الجسم الحي في المختبر. (PLGA 50 / 50)، بولي (دي إيل-٥-لاكتيد-كو-٥-جليكوليد) (poly(D,L-50 lactide-co-50 glycolide))؛ (PLA)، بولي (دي إيل-لاكتيد) (poly(DL-lactide))؛ (PEVA)، بولي (إيثيلين-كو-فينيل أسيتات) (poly(ethylene-co-vinyl acetate))؛ (PCL)، بولي كابرولاكتون (polycaprolactone)؛ (PEG-b-PLA)، بولي (جليكول الإيثيلين-كو-دي إيل-لاكتيد) (poly(ethylene glycol-co-DL-lactide))؛ (HPMC)، هيدروكسي بروبيل ميثيل سيليلوز (hydroxypropylmethylcellulose)؛ (PEO)، أكسيد البولي إيثيلين (polyethylene oxide)؛ (PEG-b-PLLA)، بولي (إيثيلين غليكول-كو-إيل-لاكتيد) (poly(ethylene glycol-co-L-lactide))؛ (PCLEEP)، بولي (كابرولاكتون-كو-فوسفات إيثيل الإيثيلين) (poly(caprolactone-co-ethyl ethylene phosphate))؛ (cs)، ألياف النانو ذات اللب - القشرة (core-shell nanofibers)؛ (BMP-2)، بروتين تشكل العظم ٢ (bone morphogenic protein 2)؛ (BSA)، ألبومين المصل البقري (bovine serum albumin)؛ (β-NGF)، عامل النمو العصبي - بيتا (β-nerve growth factor)؛ (PDGF)، عامل النمو المشتق من الصفائح الدموية (platelet-derived growth factor)؛ (BR)، إطلاق انفجاري (burst release)؛ (SR)، إطلاق متواصل (sustained release).

لقد تم استخدام الغزل الكهربائي لصنع حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية مغلّفة بالدواء (drug encapsulated nanofiber scaffolds) من أجل العديد من تطبيقات هندسة الأنسجة. فقد استخدم Kenawy وآخرون البولي (إيثيلين-كو-فينيل أسيتات) (PEVA - poly(ethylene-co-vinylacetate)) وال (PLA) ومزيج من ال (50 PEVA - 50 PLA) لتحميل العامل المضاد للجراثيم (antibacterial agent) هيدروكلوريد التتراسيكلين (tetracycline hydrochloride) [88]. وقد تمت دراسة قابلية تنفيذ دمج السيفازولين (Cefazolin) (مضاد حيوي) في مصفوفات من ألياف النانو ذات قطر ٤٧٠ نانومتر تقريباً (≈ 470 nm) المصنوعة من ال (PLGA 50 / 50) القابل للامتصاص الحيوي من قبل Katti وآخرين من أجل أنظمة ألياف نانوية مَحْمَلَة بمضادات الجراثيم لتطبيقات تضميد الجروح [44]. وقد تم كذلك استخدام حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المبنية من (PLGA) لتغليف دواء الباكلتاكسيل المضاد للسرطان (anticancerous drug paclitaxel) [89]. وعلى الرغم من أن هذه الطريقة لتغليف الأدوية في ألياف النانو قد شهدت نجاحاً، إلا أن معظم حاملات الخلايا والأنسجة مع الأدوية القابلة للذوبان في الماء (water soluble drugs) قد عرضت نمط إطلاق أو تحرير انفجاري (burst release pattern) وأطلقت ٩٠٪ من الدواء في الساعات القليلة الأولى [35,88]. ويعود ذلك إلى حقيقة كون الأدوية محبة للماء (hydrophilic) بشكل عام، ويمكن ألا تكون متجانسة في المذيبات العضوية التي تُستخدم عادةً لصنع محاليل البوليمرات. وبسبب التأثير السطحي (surficial effect) في مستوى النانو، تميل جسيمات الأدوية (drug particles) إلى التراكم على سطح الألياف؛ مما أدى في نهاية المطاف إلى حدوث الإطلاق الانفجاري خارج الجسم الحي في المختبر وفي الجسم الحي [90].

وقد تم مؤخراً اعتماد الغزل الكهربائي المشترك كطريقة بديلة لتغليف الأدوية (encapsulating drugs) والعوامل الفعالة حيوياً (bioactive agents) في حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو. وكما هو موضح في القسم (٧.٣.٣.٣)، يمكن لهذا الطريقة التحكم بشكل فعال في كمية الدواء التي يتم تضمينها من خلال (١) تغيير تركيز الدواء و (٢) تغيير معدل تدفق المحلول عبر الإبرة الداخلية. لقد صنع Jiang وآخرون حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو باستخدام بروتينات (BSA) النموذجية القابلة للذوبان في الماء وإنزيم الليزوزيم (lysozyme) في ال (PEG) كلب (core) والبولي كابرولاكتون (PCL) كقشرة (shell). وقد أظهرت هذه الدراسة نمط إطلاق مستمر لدى الليزوزيم المطلق مع الحفاظ على نشاطه الإنزيمي. ومن ناحية أخرى، فقد تم التحكم بنمط الإطلاق عن طريق تغيير معدل التدفق عبر الإبرة الداخلية. وقد أدى هذا إلى سماكات لب - قشرة مختلفة والذي تُرجم في نهاية المطاف إلى أنماط إطلاق متنوعة [91]. وقد تمت دراسة دمج الأدوية وحدها في اللب من دون أي إضافات لتشكيل الألياف من قبل Huang وآخرين. وقد أظهرت حاملات الخلايا

والأنسجة المصنوعة من ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية مع المضاد الحيوي سلفات أو كبريتات الجنتاميسين (antibiotic gentamicin sulphate) ومضاد الأكسدة ريسفيراترول (antioxidant resveratrol) كلب نمط إطلاق مستمر من دون حدوث إطلاق انفجاري [92]. في هذه التقنية، حيث يتم عزل تجمعات مغذي اللب والقشرة بشكل جيد، يكون الدواء/العوامل الفعالة حيويًا أقل عرضة للمذيبات العضوية القاسية وتكون قادرة على الاحتفاظ ببنيتها وفعاليتها الحيوية.

توفر حاملات الخلايا والأنسجة القادرة على توصيل عوامل النمو منبهات كيميائية حيوية محددة إلى الخلايا المحيطة بها وتسرع في تشكيل الأنسجة. وقد تم استخدام الغزل الكهربائي بنجاح لتحميل عوامل النمو أو بلازميدة الحمض النووي (plasmid DNA) المكافئة التي تُرمز عوامل النمو المطلوبة. وقد طور Luu وآخرون مصفوفات من ألياف (PLAGA) و (PLA - PEG) النانوية المحملة ببلازميدة الحمض النووي (plasmid DNA) [93]. وقد لوحظ بأن الحمض النووي (DNA) المحرر من حاملة الخلايا والأنسجة كان قادرًا على تعديل الخلايا جينيًا (transfecting cells) لإطلاق البروتين المقصود. وقد تم اعتماد طريقة مشابهة لتحقيق إنتاج عامل النمو (BMP-2) (بروتين) وذلك عن طريق إطلاق بلازميدة الحمض النووي (plasmid DNA) لعامل النمو (BMP-2) من ألياف الـ (PLAGA / HA) النانوية. وقد أظهرت حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المحملة بجسيمات الحمض النووي (DNA / الشيتوزان) التصاق خلايا أعلى وقدرة أعلى لبقاء الخلايا على قيد الحياة وإنتاج أعلى للعامل (BMP-2) المطلوب من أجل هندسة أنسجة عظمية ناجحة [94]. وقد قام Li وآخرون بالغزل الكهربائي لحاملات خلايا وأنسجة من (فبرين الحرير / nHA / BMP-2). وقد وجد بأن (BMP-2) المحرر فعال حيويًا وقد حث أيضًا على تكوين العظم في المختبر من خلايا الـ (hMSCs) [95]. وقد أكدت دراسات أخرى أيضًا تغليف وتوصيل عامل النمو العصبي - بيتا (β-nerve growth factor - NGF) من حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائيًا من البوليمر المشترك E-كابرولاكتون - إيثيل فوسفات الإيثيلين (ε-caprolactone - ethyl ethylene phosphate - PCLEEO)، وتغليف وتوصيل عامل النمو المشتق من الصفائح الدموية (platelet - derived growth factor) من حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائيًا من E-كابرولاكتون [96,97].

(٧، ٦) الاستنتاجات والتحديات CONCLUSIONS AND CHALLENGES

لقد برز الغزل الكهربائي كتقنية أنيقة ورائدة لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو من أجل هندسة الأنسجة. وقد تم تطبيق هذه التقنية بنجاح لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة من أنواع متعددة من البوليمرات الاصطناعية والطبيعية القابلة للتحلل الحيوي إضافة إلى خلائتها ومركباتها. إن التحكم الدقيق بقطر الألياف وتوجيه الألياف وشكل الحاملة هي الميزات الأكثر قيمة لهذه العملية من غيرها في الطرق الأخرى لتصنيع حاملات الخلايا والأنسجة. إن حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من ألياف النانو المغزولة كهربائيًا مع خصائص ميكانيكية وكيميائية حيوية مناسبة مرشحة مثالية لتجديد الأنسجة مثل الجلد والأوعية الدموية والغضاريف والأعصاب والعظم. بالإضافة إلى ذلك، فقد أثبت الغزل الكهربائي قدرته على تغليف وتوصيل الدواء / عوامل النمو بطريقة يمكن التحكم بها من أجل تجديد أنسجة ناجح.

يتزايد انتشار المصفوفات المغزولة كهربائياً والقابلة للتحلل الحيوي بشكلٍ واسعٍ ؛ ولكن لا يزال هناك المجال والحاجة إلى المزيد من تحسين هذه التقنية لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة فعالة حيويًا من أجل الاستخدام المستقبلي لهندسة الأنسجة. تشمل بعض التحديات غزل البوليمرات الطبيعية بدون فقدان فعاليتها الحيوية وإنجاز حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف متراففة بشكلٍ عالٍ وبُنَى ثلاثية الأبعاد بطول وعرض وسماكة كبيرة.

غالبًا ما يؤدي الغزل الكهربائي للبوليمرات الحيوية مع مذيبات مفلورة مثل (HFIP) و ٢، ٢، ٢-ثلاثي فلوروإيثانول (2,2,2-trifluoroethanol - TFE) إلى انخفاض أو فقدان النشاط الحيوي. لذا ؛ فإن هناك حاجة إلى تطوير مذيبات معتمدة على الماء حيث تحتفظ البوليمرات الحيوية مثل الكولاجين والإيلاستين والفيبرينوجين ... إلخ، بنشاطها الحيوي بعد المعالجة الكهربائية. إن تقنية الغزل الكهربائي معروفة بقدرتها على إنشاء حاملات خلايا وأنسجة مُوجّهة من أجل تجديد الأنسجة الوعائية والجلدية والعصبية والغضروفية. ومع ذلك، فهناك حاجة لتطوير الطرق أو تعديل الشكل الهندسي للتجميع للحصول على شبكات ذات مساحة كبيرة مع نفس الدرجة من التوجيه على طول سماكة الحاملة. ولهذه التقنية سمعتها في توليد شبكات ليفية ولكنها لا تزال تفتقر إلى القدرة على إنشاء حاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد ذات سماكة معينة من أجل تطبيقات حمل الأنسجة العظمية أو الوعائية. وقد أظهر الغزل الكهربائي متعدد المغازل مؤخرًا بعض النجاح في إنشاء حاملات خلايا وأنسجة ذات مساحة واسعة مع سماكة موحدة ؛ ومع ذلك، فإن إنشاء حاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد ذات سماكة معينة لا يزال يشكل تحديًا مفتوحًا. ومن أجل تطبيقات هندسة الأنسجة فإنه من المهم أيضًا أن تُطوّر طرق تعقيم لا تؤثر على البنية النانوية والمسامية لهذه الحاملات المغزولة كهربائياً. وعلى الرغم من هذه التحديات، يستمر الغزل الكهربائي ليكون تقنية واسعة الانتشار لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة قابلة للتحلل الحيوي من أجل العديد من احتياجات هندسة الأنسجة.

شكر وتقدير ACKNOWLEDGMENT

يُعرب المؤلفون عن شكرهم للتمويل المقدم من المعهد الوطني للصحة (NIH) (R01 AR052536 و R01 EB004051). الدكتور Laurencin هو حاصل على جائزة زميل أعضاء هيئة التدريس الرئاسية من المؤسسة الوطنية للعلوم (National Science Foundation).

المراجع REFERENCES

- [1] Li, D. and Xia, Y.N. 2004. Electrospinning of nanofibers: Reinventing the wheel? Adv. Mater. 16:1151–1170.
- [2] Huang, Z., Zhang, Y., Kotaki, M., and Ramakrishna, S. 2003. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. Compos. Sci. Technol. 63:2223–2253.
- [3] Nair, L.S., Bhattacharyya, S., and Laurencin, C.T. 2004. Development of novel tissue engineering scaffolds via electrospinning. Expert. Opin. Biol. Ther. 4:659–668.
- [4] Chew, S.Y., Wen, Y., Dzenis, Y., and Leong, K.W. 2006. The role of electrospinning in the emerging field of nanomedicine. Curr. Pharm. Des. 12:4751–4770.

- [5] Kumbar, S.G., James, R., Nukavarapu, S.P., and Laurencin, C.T. 2007. Electrospun nanofiber scaffolds: Engineering soft tissues. *Biomed. Mater.* 2:1–15.
- [6] Laurencin, C.T. and Ko, F.K. 2004. Hybrid nanofibril matrices for use as tissue engineering devices. US patent 6689166.
- [7] Laurencin, C.T., Nair, L.S., Bhattacharyya, S., Allcock, H.R., Bender, J.D., Brown, P.W., and Greish, Y.E. 2005. Polymeric nanofibers for tissue engineering and drug delivery. US patent 7235295.
- [8] Kumbar, S.G., Nair, L.S., Bhattacharyya, S., and Laurencin, C.T. 2006. Polymeric nanofibers as novel carriers for the delivery of therapeutic molecules. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 6:2591–2607.
- [9] Mikos, A.G., Thorsen, A.J., Czerwonka, L.A., Bao, Y., Langer, R., Winslow, D.N., and Vacanti, J.P. 1994. Preparation and characterization of poly(L-lactic acid) foams. *Polymer* 35:1068–1077.
- [10] Mooney, D.J., Baldwin, D.F., Suh, N.P., Vacanti, J.P., and Langer, R. 1996. Novel approach to fabricate porous sponges of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) without the use of organic solvents. *Biomaterials* 17:1417–1422.
- [11] Hsu, Y.Y., Gresser, J.D., Trantolo, D.J., Lyons, C.M., Gangadharam, P.R., and Wise, D.L. 1997. Effect of polymer foam morphology and density on kinetics of in vitro controlled release of isoniazid from compressed foam matrices. *J. Biomed. Mater. Res.* 35:107–116.
- [12] Giordano, R.A., Wu, B.M., Borland, S.W., Cima, L.G., Sachs, E.M., and Cima, M.J. 1996. Mechanical properties of dense polylactic acid structures fabricated by three dimensional printing. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 8:63–75.
- [13] Srouji, S., Kizhner, T., Suss-Tobi, E., Livne, E., and Zussman, E. 2007. 3-D nanofibrous electrospun multilayered construct is an alternative ECM mimicking scaffold. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* (in press). www.springerlink.com/content/m727571243802621/fulltext.pdf.
- [14] McManus, M.C., Boland, E.D., Koo, H.P., Barnes, C.P., Pawlowski, K.J., Wnek, G.E., Simpson, D.G., and Bowlin, G.L. 2006. Mechanical properties of electrospun fibrinogen structures. *Acta. Biomater.* 2:19–28.
- [15] Li, W.J., Laurencin, C.T., Caterson, E.J., Tuan, R.S., and Ko, F.K. 2002. Electrospun nanofibrous structure: A novel scaffold for tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res.* 60:613–621.
- [16] Shortkroff, S., Li, Y., Thornhill, T.S., and Rutledge, G.C. 2002. Cell growth on electrospun PCL scaffolds. *PMSE Prepr.* 87:457–458.
- [17] Dalton, P.D., Lleixa Calvet, J., Mourran, A., Klee, D., and Moller, M. 2006. Melt electrospinning of poly(ethylene glycol-block-epsilon-caprolactone). *Biotechnol. J.* 1:998–1006.
- [18] Nair, L.S., Bhattacharyya, S., Bender, J.D., Greish, Y.E., Brown, P.W., Allcock, H.R., and Laurencin, C.T. 2004. Fabrication and optimization of methylphenoxy substituted polyphosphazene nanofibers for biomedical applications. *Biomacromolecules* 5:2212–2220.
- [19] Xu, C., Inai, R., Kotaki, M., and Ramakrishna, S. 2004. Electrospun nanofiber fabrication as synthetic extracellular matrix and its potential for vascular tissue engineering. *Tissue Eng.* 10:1160–1168.
- [20] Buschle-Diller, G., Hawkins, A., and Cooper, J. 2006. Electrospun nanofibers from biopolymers and their biomedical applications. In *Modified Fibers with Medical and Speciality Applications*, V. Edwards, G. Buschle-Diller, S. Goheen (Eds.), pp. 67–80. Springer, Netherlands.
- [21] Boland, E.D., Matthews, J.A., Pawlowski, K.J., Simpson, D.G., Wnek, G.E., and Bowlin, G.L. 2004. Electrospinning collagen and elastin: Preliminary vascular tissue engineering. *Front. Biosci.* 9:1422–1432.
- [22] Chong, E.J., Phan, T.T., Lim, I.J., Zhang, Y.Z., Bay, B.H., Ramakrishna, S., and Lim, C.T. 2007. Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Biomater.* 3:321–330.
- [23] Li, M., Guo, Y., Wei, Y., MacDiarmid, A.G., and Lelkes, P.I. 2006. Electrospinning polyaniline-contained gelatin nanofibers for tissue engineering applications. *Biomaterials* 27:2705–2715.
- [24] Catledge, S.A., Clem, W.C., Shrikishen, N., Chowdhury, S., Stanishevsky, A.V., Koopman, M., and Vohra, Y.K. 2007. An electrospun triphasic nanofibrous scaffold for bone tissue engineering. *Biomed. Mater. (Bristol, U.K.)* 2:142–150.

- [25] Bhattacharyya, S., Nair, L.S., Singh, A., Krogman, N.R., Bender, J., Greish, Y.E., Brown, P.W., Allcock, H.R., and Laurencin, C.T. 2005. Development of biodegradable polyphosphazene–nanohydroxyapatite composite nanofibers via electrospinning. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* 845:91–96.
- [26] Deng, X.L., Xu, M.M., Li, D., Sui, G., Hu, X.Y., and Yang, X.P. 2007. Electrospun PLLA/MWNTs/HA hybrid nanofiber scaffolds and their potential in dental tissue engineering. *Key Eng. Mater.* 330–332, 393–396.
- [27] Ma, P.X. 2004. Scaffolds for tissue fabrication. *Mater. Today* 7:30–40.
- [28] Silva, G., Czeisler, C., Niece, K., Beniash, E., Harrington, D., Kessler, J., and Stupp, S. 2004. Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers. *Science* 303:1352–1355.
- [29] Xu, H. 2003. PhD dissertation, University of Akron.
- [30] Yarin, A.L., Koombhongse, S., and Reneker, D.H. 2001. Bending instability in electrospinning of nanofibers. *J. Appl. Phys.* 89:3018–3026.
- [31] Fridrikh, S.V., Yu, J.H., Brenner, M.P., and Rutledge, G.C. 2003. Controlling the fiber diameter during electrospinning. *Phys. Rev. Lett.* 90:144502–144505.
- [32] Kumbar, S.G., Bhattacharyya, S., Sethuraman, S., and Laurencin, C.T. 2007. A preliminary report on a novel electrospray technique for nanoparticle based biomedical implants coating: Precision electrospraying. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 81:91–103.
- [33] Nukavarapu, S.P., Kumbar, S.G., Nair, L.S., and Laurencin, C.T. 2007. Nanostructures for tissue engineering/regenerative medicine. In *Biomedical Nanostructures*, K. Gonsalves, C. Halberstadt, C.T. Laurencin and L.K. Nair (Eds.), pp. 371–401. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey.
- [34] Shenoy, S., Bates, W.D., Frisch, H., and Wnek, G. 2005. Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: Good solvent, non-specific polymer–polymer interaction limit. *Polymer* 46:3372–3384.
- [35] Zong, X., Kim, K., Fang, D., Ran, S., Hsiao, B., and Chu, B. 2002. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer* 43:4403–4412.
- [36] Kim, T.G. and Park, T.G. 2006. Biomimicking extracellular matrix: Cell adhesive RGD peptide modified electrospun poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) nanofiber mesh. *Tissue Eng.* 12:221–233.
- [37] Deitzel, J.M., Kleinmeyer, J., Harris, D., and Beck Tan, N.C. 2001. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer* 42:261–272.
- [38] Pitt, S., Chidchanok, M., Manit, N. 2005. Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: Effects of solvent system and emitting electrode polarity on morphology and average fiber diameter. *Macromol. Mater. Eng.* 290:933–942.
- [39] Casper, C.L., Stephens, J.S., Tassi, N.G., Chase, D.B., and Rabolt, J.F. 2004. Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: Effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. *Macromolecules* 37:573–578.
- [40] Megelski, S., Stephens, J.S., Chase, D.B., and Rabolt, J.F. 2002. Micro- and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. *Macromolecules* 35:8456–8466.
- [41] Boland, E.D., Wnek, G.E., Simpson, D.G., Pawlowski, K.J., and Bowlin, G.L. 2001. Tailoring tissue engineering scaffolds using electrostatic processing techniques: A study of poly(glycolic acid) electrospinning. *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.* A38:1231–1243.
- [42] Stitzel, J.D., Pawlowski, K.J., Wnek, G.E., Simpson, D.G., and Bowlin, G.L. 2001. Arterial smooth muscle cell proliferation on a novel biomimicking, biodegradable vascular graft scaffold. *J. Biomater. Appl.* 16:22–33.
- [43] Xin, X., Hussain, M., and Mao, J.J. 2006. Continuing differentiation of human mesenchymal stem cells and induced chondrogenic and osteogenic lineages in electrospun PLGA nanofiber scaffold. *Biomaterials* 28:316–325.
- [44] Katti, D.S., Robinson, K.W., Ko, F.K., and Laurencin, C.T. 2004. Bioresorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: Optimization of fabrication parameters. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 70:286–296.

- [45] Boland, E.D., Coleman, B.D., Barnes, C.P., Simpson, D.G., Wnek, G.E., and Bowlin, G.L. 2005. Electrospinning polydioxanone for biomedical applications. *Acta Biomater.* 1:115–123.
- [46] Reneker, D.H., Kataphinan, W., Theron, A., Zussman, E., and Yarin, A.L. 2002. Nanofiber garlands of polycaprolactone by electrospinning. *Polymer* 43:6785–6794.
- [47] Kumbar, S.G., Bhattacharyya, S., Nukavarapu, S.P., Khan, Y.M., Nair, L.S., and Laurencin, C.T. 2006. In vitro and in vivo characterization of biodegradable poly(organophosphazenes) for biomedical applications. *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* 16:365–385.
- [48] Bhattacharyya, S., Nair, L.S., Singh, A., Krogman, N.R., Greish, Y.E., Brown, P.W., Allcock, H.R., and Laurencin, C.T. April 2006. Electrospinning of poly[bis(ethyl alanato) phosphazene] nanofibers. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2:36–45.
- [49] Sombatmankhong, K., Sanchavanakit, N., Pavasant, P., and Supaphol, P. 2007. Bone scaffolds from electrospun fiber mats of poly(3-hydroxybutyrate), poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and their blend. *Polymer* 48:1419–1427.
- [50] Matthews, J.A., Wnek, G.E., Simpson, D.G., and Bowlin, G.L. 2002. Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules* 3:232–238.
- [51] Li, M., Mondrinos, M.J., Gandhi, M.R., Ko, F.K., Weiss, A.S., and Lelkes, P.I. 2005. Electrospun protein fibers as matrices for tissue engineering. *Biomaterials* 26:5999–6008.
- [52] Barnes, C.P., Smith, M.J., Bowlin, G.L., Sell, S.A., Tang, T., Matthews, J.A., Simpson, D.G., and Nimtz, J.C. 2006. Feasibility of electrospinning the globular proteins hemoglobin and myoglobin. *J. Eng. Fibers Fabrics* 1:16–29.
- [53] Bhattarai, N., Edmondson, D., Veis, O., Matsen, F.A., and Zhang, M. 2005. Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials* 26:6176–6184.
- [54] Bhattarai, N., Li, Z., Edmondson, D., and Zhang, M. 2006. Alginate-based nanofibrous scaffolds: Structural, mechanical, and biological properties. *Adv. Mater.* 18:1463–1467.
- [55] Yin, G. and Zhang, Y. 2006. Structure and properties of electrospun regenerated silk fibroin nanofibers. *Jingxi Huagong* 23:882–886.
- [56] Duan, B., Wu, L., Li, X., Yuan, X., Li, X., Zhang, Y., and Yao, K. 2007. Degradation of electrospun PLGA-chitosan/PVA membranes and their cytocompatibility in vitro. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 18:95–115.
- [57] Huang, L., Nagapudi, K., Apkarian, R.P., and Chaikof, E.L. 2001. Engineered collagen-PEO nanofibers and fabrics. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 12:979–993.
- [58] Reneker, D.H. and Fong, H. 2006. *Polymeric Nanofibers*. Oxford University Press.
- [59] Li, M., Mondrinos, M.J., Chen, X., Gandhi, M.R., Ko, F.K., and Lelkes, P.I. 2006. Co-electrospun poly(lactide-co-glycolide), gelatin, and elastin blends for tissue engineering scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. A* 79:963–973.
- [60] Zhang, Y., Ouyang, H., Lim, C.T., Ramakrishna, S., and Huang, Z.M. 2005. Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 72:156–165.
- [61] Buttafoco, L., Kolkman, N.G., Engbers-Buijtenhuijs, P., Poot, A.A., Dijkstra, P.J., Vermes, I., and Feijen, J. 2006. Electrospinning of collagen and elastin for tissue engineering applications. *Biomaterials* 27:724–734.
- [62] Kim, H.-W., Song J.-H., and Kim, H.-E. 2005. Nanofiber generation of gelatin–hydroxyapatite biomimetics for guided tissue regeneration. *Adv. Funct. Mater.* 15:1988–1994.
- [63] Bhattacharyya, S., Nair, L.S., Singh, A., Krogman, N.R., Bender, J., Greish, Y.E., Brown, P.W., Allcock, H.R., and Laurencin, C.T. 2005. Development of biodegradable polyphosphazene–nanohydroxyapatite composite nanofibers via electrospinning. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* 845:91–96.
- [64] Seth, D. Mc., Kelly, L.S., Derrick, R.S., Wesley, A.R., Nancy, A.M., Laura, I.C., and Russell, E.G. 2007. Development, optimization, and characterization of electrospun poly(lactic acid) nanofibers containing multi-walled carbon nanotubes. *J. Appl. Polym. Sci.* 105:1668–1678.
- [65] Lyons, J., Li, C., and Ko, F. 2004. Melt-electrospinning part I: Processing parameters and geometric properties. *Polymer* 45:7597–7603.

- [66] Nobuo, O., Shinji, Y., Naoki, S., Gang, Lu., Toshiharu, I., Koji, N., and Takashi, O. 2007. Poly(lactide) nanofibers produced by a melt-electrospinning system with a laser melting device. *J. Appl. Polym. Sci.* 104:1640–1645.
- [67] McCann, J.T., Marquez, M., and Xia, Y. 2006. Melt coaxial electrospinning: A versatile method for the encapsulation of solid materials and fabrication of phase change nanofibers. *Nano. Lett.* 6:2868–2872.
- [68] Teo, W.E. and Ramakrishna, S. 2006. A review on electrospinning design and nanofibre assemblies. *Nanotechnology* 17:R89–R106.
- [69] Kwon, I.K., Kidoaki, S., and Matsuda, T. 2005. Electrospun nano- to microfiber fabrics made of biodegradable copolyesters: Structural characteristics, mechanical properties and cell adhesion potential. *Biomaterials* 26:3929–3939.
- [70] Li, D., Wang, Y., and Xia, Y. 2004. Electrospinning nanofibers as uniaxially aligned arrays and layer-by-layer stacked films. *Adv. Mater.* 16:361–366.
- [71] Kwon, I.K. and Matsuda, T. 2005. Co-electrospun nanofiber fabrics of poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) with type I collagen or heparin. *Biomacromolecules* 6:2096–2105.
- [72] Lam, H., Ye, H., Gogotsi, Y., and Ko, F. 2004. Structure and properties of electrospun single-walled carbon nanotubes reinforced nanocomposite fibrils by co-electrospinning. *Polym. Prepr.* 45:124–125.
- [73] Yang, H., Loh, L., Han, T., and Ko, F. 2003. Nanomagnetic particle filled piezoelectric polymer nanocomposite wires by co-electrospinning. *Polym. Prepr.* 44:163.
- [74] Bowman, J., Taylor, M., Sharma, V., Lynch, A., and Chadha, S. 2003. Multispinneret methodologies for high throughput electrospun nanofiber. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* 752:15–19.
- [75] Theron, S.A., Yarin, A.L., Zussman, E., and Kroll, E. 2005. Multiple jets in electrospinning: Experiment and modeling. *Polymer* 46:2889–2899.
- [76] Kidoaki, S., Kwon, I.K., and Matsuda, T. 2005. Mesoscopic spatial designs of nano- and microfiber meshes for tissue-engineering matrix and scaffold based on newly devised multilayering and mixing electrospinning techniques. *Biomaterials* 26:37–46.
- [77] Pham, Q.P., Sharma, U., and Mikos, A.G. 2006. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: A review. *Tissue Eng.* 12:1197–1211.
- [78] Nam, J., Huang, Y., Agarwal, S., and Lannutti, J. 2007. Improved cellular infiltration in electrospun fiber via engineered porosity. *Tissue Eng.* 13:2249–2257.
- [79] Kumbar, S.G., Kofron, M.D., Nair, L.S., and Laurencin, C.T. 2007. Cell behavior toward nanostructured surfaces. In *Biomedical Nanostructures*, K. Gonsalves, C. Halberstadt, and C.T. Laurencin and L.S. Nair (Eds.), 257–291. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey.
- [80] Simpson, D.G. 2006. Dermal templates and the wound-healing paradigm: The promise of tissue regeneration. *Expert. Rev. Med. Devices* 3:471–484.
- [81] Myung-Seob, K., Dong-Il, C., Hak-Yong, K., In-Shik, K., Narayan, B. 2003. Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 67B:675–679.
- [82] Rho, K.S., Jeong, L., Lee, G., Seo, B.M., Park, Y.J., Hong, S.D., Roh, S., Cho, J.J., Park, W.H., and Min, B.M. 2006. Electrospinning of collagen nanofibers: Effects on the behavior of normal human keratinocytes and early-stage wound healing. *Biomaterials* 27:1452–1461.
- [83] Inoguchi, H., Tanaka, T., Maehara, Y., and Matsuda, T. 2007. The effect of gradually graded shear stress on the morphological integrity of a huvec-seeded compliant small-diameter vascular graft. *Biomaterials* 28:486–495.
- [84] Stitzel, J., Liu, J., Lee, S.J., Komura, M., Berry, J., Soker, S., Lim, G., Van Dyke, M., Czerw, R., Yoo, J.J., and Atala, A. 2006. Controlled fabrication of a biological vascular substitute. *Biomaterials* 27:1088–1094.
- [85] Thomas, V., Jagani, S., Johnson, K., Jose, M.V., Dean, D.R., Vohra, Y.K., and Nyairo, E. 2006. Electrospun bioactive nanocomposite scaffolds of polycaprolactone and nanohydroxyapatite for bone tissue engineering. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 6:487–493.
- [86] Stankus, J.J., Guan, J., Fujimoto, K., and Wagner, W.R. 2006. Microintegrating smooth muscle cells into a biodegradable, elastomeric fiber matrix. *Biomaterials* 27:735–744.

- [87] Townsend-Nicholson, A. and Jayasinghe, S.N. 2006. Cell electrospinning: A unique biotechnique for encapsulating living organisms for generating active biological microthreads/scaffolds. *Biomacromolecules* 7:3364–3369.
- [88] Kenawy, E., Bowlin, G.L., Mansfield, K., Layman, J., Simpson, D.G., Sanders, E.H., and Wnek, G.E. 2002. Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend. *J. Controlled Release* 81:57–64.
- [89] Xie, J. and Wang, C.H. 2006. Electrospun micro- and nanofibers for sustained delivery of paclitaxel to treat C6 glioma in vitro. *Pharm. Res.* 23:1817–1826.
- [90] Zhang, Y., Lim, C.T., Ramakrishna, S., and Huang, Z. 2005. Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 16:933–946.
- [91] Jiang, H., Hu, Y., Li, Y., Zhao, P., Zhu, K., and Chen, W. 2005. A facile technique to prepare biodegradable coaxial electrospun nanofibers for controlled release of bioactive agents. *J. Control. Release* 108:237–243.
- [92] Huang, Z.M., He, C.L., Yang, A., Zhang, Y., Han, X.J., Yin, J., and Wu, Q. 2006. Encapsulating drugs in biodegradable ultrafine fibers through co-axial electrospinning. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 77:169–179.
- [93] Luu, Y.K., Kim, K., Hsiao, B.S., Chu, B., and Hadjiargyrou, M. 2003. Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA–PEG block copolymers. *J. Control. Release* 89:341–353.
- [94] Nie, H. and Wang, C.H. 2007. Fabrication and characterization of PLGA/HAp composite scaffolds for delivery of BMP-2 plasmid DNA. *J. Control. Release* 120:111–121.
- [95] Li, C., Vepari, C., Jin, H.J., Kim, H.J., and Kaplan, D.L. 2006. Electrospun silk-BMP-2 scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 27:3115–3124.
- [96] Chew, S.Y., Wen, J., Yim, E.K.F., and Leong, K.W. 2005. Sustained release of proteins from electrospun biodegradable fibers. *Biomacromolecules* 6:2017–2024.
- [97] Liao, I.C., Chew, S.Y., and Leong, K.W. 2006. Aligned core–shell nanofibers delivering bioactive proteins. *Nanomed* 1:465–471.
- [98] Venugopal, J.R., Zhang, Y., and Ramakrishna, S. 2006. In vitro culture of human dermal fibroblasts on electrospun polycaprolactone collagen nanofibrous membrane. *Artif. Organs* 30:440–446.
- [99] Yoshimoto, H., Shin, Y.M., Terai, H., and Vacanti, J.P. 2003. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials* 24:2077–2082.
- [100] Li, W.W., Tuli, R., Okafor, C., Derfoul, A., Danielson, K.G.K.G., Hall, D.J.D.J., and Tuan, R.S.R.S. 2005. A three-dimensional nanofibrous scaffold for cartilage tissue engineering using human mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 26:599–609.
- [101] Zong, X., Bien, H., Chung, C., Yin, L., Fang, D., Hsiao, B.S., Chu, B., and Entcheva, E. 2005. Electrospun fine-textured scaffolds for heart tissue constructs. *Biomaterials* 26:5330–5338.
- [102] Inoguchi, H., Kwon, I., Inoue, E., Takamizawa, K., Maehara, Y., and Matsuda, T. 2006. Mechanical responses of a compliant electrospun poly(l-lactide-co-ε-caprolactone) small-diameter vascular graft. *Biomaterials* 27:1470–1478.
- [103] Matthews, J.A., Boland, E.D., Wnek, G.E., Simpson, D.G., and Bowlin, G.L. 2003. Electrospinning of collagen type II: A feasibility study. *J. Bioact. Compat. Polym.* 18:125–134.
- [104] Wnek, G.E., Carr, M.E., Simpson, D.G., and Bowlin, G.L. 2003. Electrospinning of nanofiber fibrinogen structures. *Nano. Lett.* 3:213–216.
- [105] Sell, S.A., McClure, M.J., Barnes, C.P., Knapp, D.C., Walpoth, B.H., Simpson, D.G., and Bowlin, G.L. 2006. Electrospun polydioxanone–elastin blends: Potential for bioresorbable vascular grafts. *Biomed. Mater.* 1:72–80.
- [106] He, W., Yong, T., Teo, W.E., Ma, Z., and Ramakrishna, S. 2005. Fabrication and endothelialization of collagen-blended biodegradable polymer nanofibers: Potential vascular graft for blood vessel tissue engineering. *Tissue Eng.* 11:1574–1588.
- [107] Jiang, H., Fang, D., Hsiao, B.S., Chu, B., and Chen, W. 2004. Optimization and characterization of dextran membranes prepared by electrospinning. *Biomacromolecules* 5:326–333.

- [108] Pan, H., Jiang, H., and Chen, W. 2006. Interaction of dermal fibroblasts with electrospun composite polymer scaffolds prepared from dextran and poly lactide-co-glycolide. *Biomaterials* 27:3209–3220.
- [109] McCullen, S.D., Stano, K.L., Stevens, D.R., Roberts, W.A., Monteiro-Riviere, N.A., Clarke, L.I., and Gorga, R.E. 2007. Development, optimization, and characterization of electrospun poly(lactic acid) nanofibers containing multi-walled carbon nanotubes. *J. Appl. Polym. Sci.* 105:1668–1678.
- [110] He, C., Huang, Z., Han, X., Liu, L., Zhang, H., and Chen, L. 2006. Coaxial electrospun poly(l-lactic acid) ultrafine fibers for sustained drug delivery. *J. Macromol. Sci., Part B* 45:515–524.
- [111] Kim, K., Luu, Y.K., Chang, C., Fang, D., Hsiao, B.S., Chu, B., and Hadjiargyrou, M. 2004. Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly(lactide-co-glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds. *J. Control. Release* 98:47–56.
- [112] Verreck, G., Chun, I., Peeters, J., Rosenblatt, J., and Brewster, M.E. 2003. Preparation and characterization of nanofibers containing amorphous drug dispersions generated by electrostatic spinning. *Pharm. Res.* 20:810–817.
- [113] Spasova, M., Manolova, N., Paneva, D., and Rashkov, I. 2004. Preparation of chitosan-containing nanofibers by electrospinning of chitosan/poly(ethylene oxide) blend solutions. *e-Polymers* 56:1–2.
- [114] Xu, X., Yang, L., Xu, X., Wang, X., Chen, X., Liang, Q., Zeng, J., and Jing, X. 2005. Ultrafine medicated fibers electrospun from W/O emulsions. *J. Control. Release* 108:33–42.
- [115] Zeng, J., Yang, L., Liang, Q., Zhang, X., Guan, H., Xu, X., Chen, X., and Jing, X. 2005. Influence of the drug compatibility with polymer solution on the release kinetics of electrospun fiber formulation. *J. Control. Release* 105:43–51.
- [116] Zeng, J., Xu, X., Chen, X., Liang, Q., Bian, X., Yang, L., and Jing, X. 2003. Biodegradable electrospun fibers for drug delivery. *J. Control. Release* 92:227–231.
- [117] Jiang, H., Hu, Y., Zhao, P., Li, Y., and Zhu, K. 2006. Modulation of protein release from biodegradable core-shell structured fibers prepared by coaxial electrospinning. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 79:50–57.
- [118] Liao, I.C., Chew, S.Y., and Leong, K.W. 2006. Aligned core-shell nanofibers delivering bioactive proteins. *Nanomed* 1:465–471.
- [119] Formhals, A. 1934. US Patent 1975504.
- [120] Taylor, G.I. 1969. *Proc. Roy. Soc. London A* 313:453.
- [121] Baumgarten, P. 1971. Electrostatic spinning of acrylic microfibers. *J. Colloid Interface Sci.* 36:71–79.
- [122] Hayati, I., Bailey, A.I., and Tadros, T.F. 1987. Investigations into the mechanisms of electrohydrodynamic spraying of liquids: I. Effect of electric field and the environment on pendant drops and factors affecting the formation of stable jets and atomization. *J. Colloid Interface Sci.* 117:205–221.
- [123] Doshi, J. and Reneker, D. 1995. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *J. Electrostatics* 35:151–160.
- [124] Deitzel, J.M., Kosik, W., McKnight, S.H., Beck Tan, N.C., DeSimone, J.M., and Crette, S. 2001. Electrospinning of polymer nanofibers with specific surface chemistry. *Polymer* 43:1025–1029.
- [125] Sun, Z., Zussman, E., Yarin, A.L., Wendorff, J.H., and Greiner, A. 2003. Compound core-shell polymer nanofibers by co-electrospinning. *Adv. Mater.* 15:1929–1932.
- [126] Boland, E.D., Simpson, D.G., Wnek, G.E., and Bowlin, G.L. 2003. Electrospinning of biopolymers for tissue engineering. Abstracts of Papers, 226th ACS National Meeting, New York, United States, September 7–11, 533.
- [127] Xu, C.Y., Inai, R., Kotaki, M., and Ramakrishna, S. 2004. Aligned biodegradable nanofibrous structure: A potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials* 25:877–886.

الخصائص البنيوية والميكانيكية لألياف النانو ومركبات النانو المغزولة كهربائياً

Structure and Mechanical Properties of Electrospun Nanofibers and Nanocomposites

Eunice Phay Shing Tan and Chwee Teck Lim

المحتويات CONTENTS

٣٤٠	INTRODUCTION مقدمة (٨, ١)
	MECHANICAL TESTING OF SINGLE (٨, ٢) الاختبار الميكانيكي لألياف نانو مغزولة كهربائياً مفردة
٣٤١	ELECTROSPUN NANOFIBERS
	EFFECT OF FIBER PROCESSING ON (٨, ٣) تأثير معالجة الألياف على البنية والخصائص الميكانيكية
٣٤٤	STRUCTURE AND MECHANICAL PROPERTIES
٣٤٥	Electrospinning Parameters بارامترات الغزل الكهربائي (٨, ٣, ١)
٣٤٥	Fiber Take-Up Velocity سرعة سحب الألياف (٨, ٣, ١, ١)
٣٤٧	Polymer Concentration تركيز البوليمر (٨, ٣, ١, ٢)
٣٤٨	Other Processing Parameters بارامترات المعالجة الأخرى (٨, ٣, ١, ٣)
٣٤٨	Solution Conductivity موصلية المحلول (٨, ٣, ١, ٣, ١)
٣٤٩	Electric Field Strength قوة الحقل الكهربائي (٨, ٣, ١, ٣, ٢)
٣٤٩	Post-Electrospinning Treatments المعالجات ما بعد الغزل الكهربائي (٨, ٣, ٢)
٣٤٩	Cross-Linking الربط المتشابك (٨, ٣, ٢, ١)

٣٥٠	Chemical Treatment المعالجة الكيميائية (٨,٣,٢,٢)
٣٥٢	Temperature درجة الحرارة (٨,٣,٢,٣)
٣٥٣	Composite Nanofibers ألياف النانو المركبة (٨,٣,٣)
٣٥٤	Filler-Reinforced Composites المركبات المعززة بالحشوات (٨,٣,٣,١)
٣٥٤	Fiber-Reinforced Nanofibers ألياف النانو المعززة بالألياف (٨,٣,٣,١,١)
٣٥٦	Particulate-Reinforced Nanofibers ألياف النانو المعززة بالجسيمات (٨,٣,٣,١,٢)
٣٥٧	Polymer Mixture Composites مركبات خلطات البوليمرات (٨,٣,٣,٢)
٣٥٨	Randomly Blended Nanofibers ألياف النانو المخلوطة بشكل عشوائي (٨,٣,٣,٢,١)
٣٥٩	Coaxial Nanofibers ألياف النانو المتمحورة (٨,٣,٣,٢,٢)
٣٦٠	FIBER DEFORMATION AND FAILURE MECHANISMS آليات تشوه وفشل الألياف (٨,٤)
٣٦١	Single-Phase Nanofibers ألياف النانو أحادية الطور (٨,٤,١)
٣٦٢	Composite Nanofibers ألياف النانو المركبة (٨,٤,٢)
٣٦٥	SUMMARY AND FUTURE OUTLOOK الخلاصة والآفاق المستقبلية (٨,٥)
٣٦٦	REFERENCES المراجع (٨,٥)

(٨,١) مقدمة INTRODUCTION

على الرغم من أن تقنية الغزل الكهربائي قد نشأت في ثلاثينيات القرن العشرين (Formhals 1934)، إلا أن التطور السريع لهذه التقنية لإنتاج ألياف مستمرة في مستوى النانو لم يحدث إلا في العقد الماضي. ويرجع هذا إلى التطور في مختلف المجالات التي تتطلب التحكم بإنتاج ألياف النانو مثل هندسة الأنسجة وخلايا الوقود (fuel cells) وأوساط الترشيح (filter media) والكيمياء والحساسات الحيوية (biosensors)، ... إلخ. (Huang et al. 2003; Chronakis 2005; Subbiah et al. 2005; Zhang et al. 2005; Pham et al. 2006). ويمكن أن يعزى الطلب على ألياف النانو المغزولة كهربائياً إلى سهولة وفعالية وتكلفة الإنتاج الضخم، بالإضافة إلى ارتفاع نسبة المساحة السطحية إلى الحجم (high surface area - to - volume ratio) والخواص الميكانيكية الممتازة التي هي متضمنة في ألياف النانو المغزولة كهربائياً. ومن أجل زيادة تعزيز الخصائص الفريدة لألياف النانو فقد تم إنتاج ألياف نانو مركبة من خلال إضافة مواد تقوية أو تعزيز (reinforcement materials) أو الجمع بين اثنين أو أكثر من البوليمرات.

إن فهم الخواص الميكانيكية وآليات تشوه (deformation mechanisms) ألياف النانو المغزولة كهربائياً (electrospun nanofibers) هو أمر أساسي لفهم أكبر لمساهمات ألياف النانو تلك بالخصائص الميكانيكية والخصائص ذات الصلة بالأداء

لمركبات ألياف النانو. وعلى الرغم من أن معظم الاختبارات الميكانيكية قد أجريت على الطبقات المستوية لألياف النانو (nanofiber mats)، إلا أن تقنيات اختبار ألياف نانو وحيدة قد تم تطويرها فقط في السنوات الأخيرة. وسيعرض ملخص عن تقنيات الاختبار الميكانيكية في الفقرة التالية.

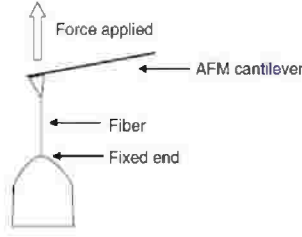
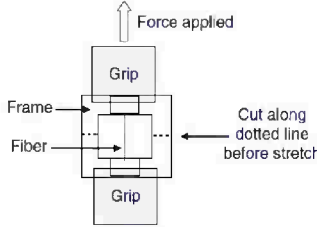
وبشكل عام تملك ألياف النانو المغزولة كهربائياً خصائص ميكانيكية متفوقة مثل معامل مرونة (elastic modulus) أعلى ومتانة (strength) أعلى بالمقارنة مع المواد الكتلية (bulk materials) ويرجع ذلك بشكل أساسي إلى التوجيه الجزيئي (molecular orientation) العالي لجزيئات البوليمرات. وينتج هذا التوجيه الجزيئي من خلال تمدد (stretching) نفث البوليمر (polymer jet) أثناء الغزل الكهربائي (Reneker and Chun 1996). تعتمد الخصائص الميكانيكية لألياف النانو المغزولة كهربائياً بشكل كبير على الشكل وهذا بدوره يعتمد على بارامترات معالجة الغزل الكهربائي (electrospinning processing parameters) وطريقة تعزيز ألياف النانو (nanofiber reinforcement). وبالتالي فإن الهدف من هذا الفصل هو استكشاف كيف تؤثر معالجة وإضافة مادة أخرى للبوليمرات النقية على البنية والخصائص الميكانيكية لألياف النانو المغزولة كهربائياً. وعلى الرغم من أن الألياف المغزولة كهربائياً قد تم صنعها من مواد أخرى مثل السيراميك (Chronakis 2005)، إلا أن هذا الفصل يركز على ألياف النانو البوليمرية (polymer nanofibers).

(٨،٢) الاختبار الميكانيكي لألياف نانو مغزولة كهربائياً مفردة MECHANICAL TESTING OF SINGLE ELECTROSPUN NANOFIBERS

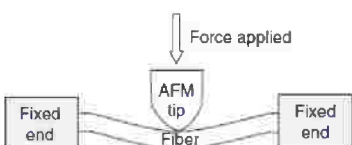
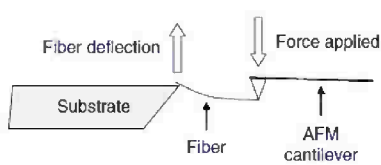
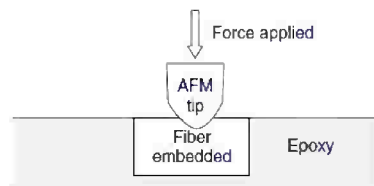
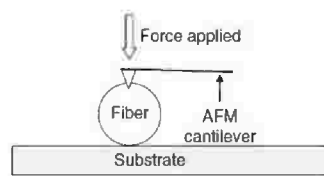
نظراً للتحديات المرتبطة بعزل ومعالجة ألياف النانو المفردة (single nanofibers)؛ فإن غالبية الاختبارات الميكانيكية يتم إنجازها على الطبقات المستوية لألياف النانو المغزولة كهربائياً المتراصة (aligned) وغير المتراصة (nonaligned). إن الاختبار الأكثر شيوعاً هو اختبار الشد أحادي المحور (uniaxial tensile test) لطبقات ألياف النانو المستوية (Huang et al. 2001; Lee et al. 2003b; Pedicini and Farris 2003; Bolgen et al. 2005; Huang et al. 2005; Bhattarai et al. 2006; Chen et al. 2006; Choi et al. 2006; Junkasem et al. 2006; Li et al. 2006; Sombatmankhong et al. 2006; Sun et al. 2006; Zhang et al. 2006; Zussman et al. 2006; Chuangchote et al. 2007; Han et al. 2007; Hwang et al. 2007; McCullen et al. 2007). تتضمن الخصائص الميكانيكية المكتسبة معامل يونغ (Young's modulus) ومتانة الشد (tensile strength) وانفعال الشد (tensile strain) عند القطع. كما تم أيضاً إنجاز التحليل الميكانيكي الديناميكي (dynamic mechanical analysis) (Jose et al. 2007) للحصول على معامل التخزين (storage modulus) لطبقة ألياف النانو المستوية. ومن أجل تقييم تأثيرات تغيير بارامترات أو محددات عملية الغزل الكهربائي أو إضافة مواد الحشوات (filler materials)، فإن الاختبار الميكانيكي لطبقة ألياف النانو المستوية يعتبر كافياً. ومع ذلك، فإن سلوك تشوه الشكل (deformation behavior) الملاحظ يتضمن التفاعل بين الألياف (interfiber interaction). وبالتالي لا يزال هناك حاجة لتحديد خصائص ألياف النانو المفردة.

مع تطور مجهر القوة الذرية (atomic force microscopy - AFM) والأنظمة الكهربائية الميكانيكية المايكروية (micro - electro - mechanical systems - MEMS) وأنظمة الاختبار الميكانيكي (mechanical testing systems) التجارية القادرة على إجراء قياسات أحمال في مجال النانو نيوتن (nano - Newton load measurements)، فإنه من الممكن الآن القيام بتحديد الخصائص الميكانيكية (mechanical characterization) لألياف النانو المفردة المغزولة كهربائياً. يعرض الجدول رقم (٨،١) ملخصاً لتقنيات تحديد الخصائص الميكانيكية لألياف النانو المفردة المغزولة كهربائياً. ويمكن للقراء المهتمين الرجوع إلى أعمالنا السابقة (Tan and Lim 2006b) من أجل مناقشة تفصيلية لأنواع عديدة من تقنيات تحديد الخصائص الميكانيكية.

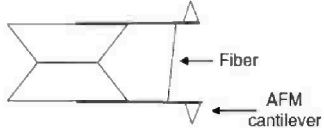
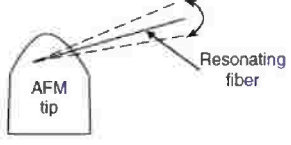
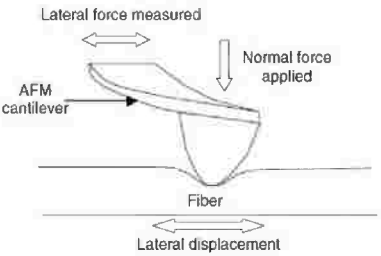
الجدول رقم (٨،١). تحديد الخصائص الميكانيكية لألياف النانو المفردة المغزولة كهربائياً.

طريقة الاختبار	الأدوات والتقنيات	المواد	المراجع
اختبار الشد (Tensile test)	(أ) عتلة مجهر القوة الذرية (AFM cantilever) 	أكسيد البولي إيثيلين (Polyethylene oxide - PEO) نايلون ٦، ٦ (Nylon 6, 6) بولي أكريلونيتريل المتحلل بالحرارة (Pyrolyzed polyacrylonitrile - PAN)	(Warner et al. 1999; Tan et al. 2005) (Zussman et al. 2006) (Zussman et al. 2005)
(ب) جهاز فحص الشد النانوي التجاري (Commercial nano tensile tester)		بولي كابرولاكتون (Polycaprolactone) بولي (إل-حمض اللاكتيك) Poly (L-lactic acid) - PLLA مركب نايلون-٦ / مونت موريللونيت (MMT) (مكون من جسيمات) Nylon-6 / montmorillonite (MMT) composite (particulate)	(Tan et al. 2005) (Inai et al. 2005; Tan and Lim 2006a) (Ramakrishna et al. 2006)
(ت) أجهزة الـ (MEMS)		بولي - فورفوريل الكحول المتحلل بالحرارة (Pyrolyzed poly - furfuryl alcohol)	(Samuel et al. 2007)

تابع الجدول رقم (٨، ١).

طريقة الاختبار	الأدوات والتقنيات	المواد	المراجع
اختبار الانحناء (Bend test)	(أ) اختبار الانحناء ثلاثي النقاط باستخدام مجهر القوة الذرية (Three - point bend test using AFM) 	بوليمرات فعالة كهربائياً (Electroactive polymers) مركب نايلون-٦ / (مكون من جسيمات*) Nylon-6 / MMT composite (particulate) PEO (Piezoelectric) كهرضغطي PLLA مركب بولي (فينيل الكحول) / فيريتين (مكون من جسيمات*) Poly (vinyl alcohol) / ferritin composite (particulate)	(Shin et al. 2006b) (Li et al. 2006) (Bellan et al. 2005) (Xu et al. 2006) (Tan and Lim 2006a) (Shin et al. 2006a)
	(ب) الانحراف العمودي للنهاية الحرة للليف، مع نهاية ثابتة مرتبطة بطرف مجهر القوة الذرية (Vertical deflection of free - end of fiber,) (with fixed end attached to AFM tip) 	PAN	(Gu et al. 2005)
تتليم نانووي (Nanoindentation)	(أ) تتليم بلاستيكي - مرن لمقطع عرضي بليف باستخدام مجهر القوة الذرية (Elastic - plastic indentation of fiber cross) (section using AFM) 	مركب حرير / PEO (خليط*) (Silk / PEO composite (blend))	(Wang et al. 2004)
	(ب) تتليم مرن باستخدام مجهر القوة الذرية (Elastic indentation using AFM) 	مركب PAN / غرافيت (مكون من جسيمات) PAN / graphite composite (particulate) مركب بولي (بوتيلين تيريفثاللات) / أنابيب الكربون النانوية (ألياف*) Poly(butylene terephthalate) / carbon nanotube (CNT) composite (fiber)	(Mack et al. 2005) (Mathew et al. 2005)

تابع الجدول رقم (٨, ١).

طريقة الاختبار	الأدوات والتقنيات	المواد	المراجع
رنين ميكانيكي (Mechanical resonance)	(أ) نظام ألياف النانو - العتلة المايكروية الرنان Resonating microcantilever - (nanofiber system) 	PAN (Yuya et al. 2007)	
رنين ميكانيكي مع نهاية واحدة لليف حر (Mechanical resonance with one end (of fiber free)	(ب) 	PAN الملتحل بالحرارة (Pyrolyzed PAN) (Zussman et al. 2005)	
تقنيات أخرى (Others)	مجهر تعديل قوة القص (Shear modulation force microscopy) 	مركب بوليستيرين / MMT (مكون من جسيمات) Polystyrene / MMT composite (particulate) (Ji et al. 2006)	

(*) يدل على نوع المركب، أي مُعزز بالجسيمات أو مُعزز بالألياف أو مزيج بوليمري ذو طورين متميزين.

(٨, ٣) تأثير معالجة الألياف على البنية والخصائص الميكانيكية EFFECT OF FIBER PROCESSING ON STRUCTURE AND MECHANICAL PROPERTIES

لقد تم استخدام أنواع عديدة من إستراتيجيات المعالجة لتعزيز الخصائص الكيميائية والكهربائية والميكانيكية لألياف النانو المغزولة كهربائياً لتتناسب مع التطبيقات المقصودة. وتشمل هذه الإستراتيجيات تحسين بارامترات أو محددات الغزل الكهربائي (optimization of electrospinning parameters) وتطبيق المعالجة ما بعد الغزل الكهربائي (post - electrospinning treatment) وإنتاج ألياف النانو المركبة (production of composite nanofibers). وسيتم في هذه الفقرة استكشاف تأثير هذه الإستراتيجيات على البنية والخصائص الميكانيكية لألياف النانو المغزولة كهربائياً.

(٨,٣,١) بارامترات الغزل الكهربائي Electrospinning Parameters

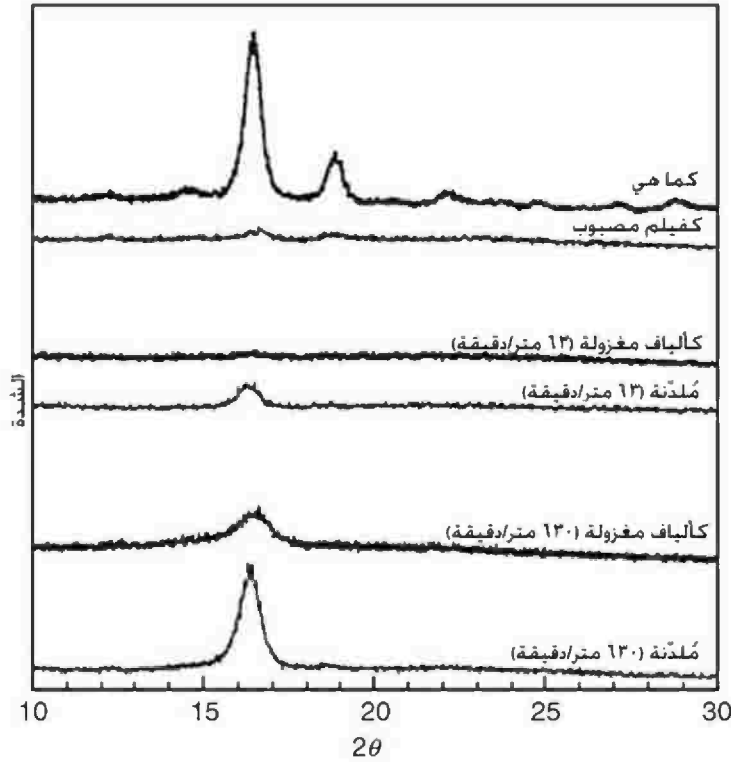
تم تصنيف بارامترات الغزل الكهربائي من قبل Doshi و Reneker (١٩٩٥) إلى ثلاث مجموعات، وهي خصائص المحلول (solution properties)، والمتغيرات الخاضعة للتحكم (controlled variables)، وبارامترات البيئة المحيطة (ambient parameters). تشمل خصائص المحلول اللزوجة (viscosity) والموصلية (conductivity) والتوتر السطحي (surface tension) والوزن الجزيئي للبوليمر (polymer molecular weight) وعزم القطب المزدوج (dipole moment) وثابت العزل الكهربائي (dielectric constant). وتشمل المتغيرات الخاضعة للتحكم معدل التدفق (flow rate) وقوة الحقل الكهربائي (electric field strength) والمسافة بين طرف المحقنة والمجمع (distance between tip and collector) وتركيب المجمع (collector composition) والشكل الهندسي (geometry). وتشمل بارامترات البيئة المحيطة درجة الحرارة والرطوبة وسرعة الهواء (air velocity) (Pham et al. 2006). ويمكن ملاحظة أن هناك مجموعة متنوعة من البارامترات التي يمكن التحكم بها. وقد قدم Pham وآخرون استعراضاً عن تأثير بارامترات العملية على شكل الألياف (Pham et al. 2006) لمعظم الدراسات التي تختبر تأثيرات بارامترات عملية المعالجة على قطر الألياف وتجانس الألياف. وتؤثر بارامترات عملية المعالجة على الشكل والخصائص الميكانيكية لألياف النانو بدرجات متفاوتة ولكن لن يتم استعراض كل علاقات بارامترات عملية المعالجة - الشكل - الخصائص الميكانيكية تلك. وسيتم عرض البارامترات المختبرة بشكلٍ شائع في هذه الفقرة.

بشكلٍ عام، فإن أي عملية تؤدي إلى إنتاج ألياف متجانسة ذات أقطار صغيرة ستنتج ألياف صلبة وقوية مع ليونة أو قابلية سحب (ductility) منخفضة. إن الألياف المتجانسة ذات الأقطار الأكبر هي أقل صلابة وقوة ولكنها قابلة للسحب أكثر. ويمكن تفسير تأثير الحجم هذا من خلال محاذاة السلسلة الجزيئية الناجمة عن القص (shear - induced molecular chain alignment) أثناء الغزل الكهربائي. وقد قامت قوى القص (shear forces) الكبيرة المقترنة بالتصلب (solidification) السريع لنفاث البوليمر بتمديد سلاسل البوليمر على طول محور الألياف ومنعت السلاسل الجزيئية من الاسترخاء والعودة إلى هيئاتها التوازنية (equilibrium conformations) (Jaeger et al. 1996). بما أن الألياف ذات الأقطار الصغيرة قد لاقت إجهاداً أعلى من تلك ذات الأقطار الأكبر، فإن درجة توجيه السلسلة الجزيئية (molecular chain orientation) في الألياف ذات الأقطار الصغيرة هي أعلى من الألياف ذات الأقطار الأكبر. وبالتالي؛ تميل الألياف الدقيقة إلى أن تكون ذات صلابة (stiffness) ومتانة أعلى من الألياف ذات الأقطار الأكبر.

(٨,٣,١,١) سرعة سحب الألياف Fiber Take-Up Velocity

إن بارامتر المعالجة الأكثر شيوعاً الذي تمت دراسته فيما يتعلق بالبنية والخصائص الميكانيكية لألياف النانو المغزولة كهربائياً هو معدل جمع الألياف (rate of fiber collection) (Inai et al. 2005; Thomas et al. 2006; Zussman et al. 2006; Jose et al. 2007). تقوم عملية جمع ألياف النانو المغزولة كما هي من دون معالجة إضافية على أسطوانة دوّارة (rotating drum) أو عجلة دوّارة (rotating wheel) بمحاذاة ألياف النانو في اتجاه الدوران. وتمدد طريقة الجمع هذه أيضاً نفاث الغزل الكهربائي

بشكلٍ إضافي ؛ مما يؤدي إلى إنتاج ألياف بأقطار أصغر ودرجة توجيه جزيئي أعلى عند المقارنة مع ألياف النانو المغزولة التي لم تخضع لمعالجة إضافية. يكون هذا التأثير أكثر وضوحاً عندما يتم زيادة معدل الجمع أو سرعة السحب (take - up velocity). ويمكن ملاحظة هذا من نتائج انعراج الأشعة السينية (x-ray diffraction) لألياف النانو التي تم جمعها عند سرعتي سحب مختلفتين في الشكل رقم (٨، ١).

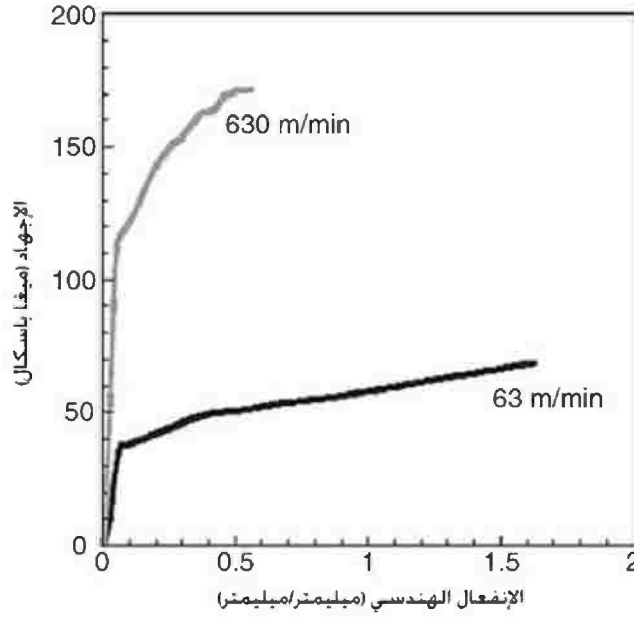


الشكل رقم (٨، ١). تأثير سرعة السحب (take - up velocity): مخطط انعراج الأشعة السينية (X-ray diffraction (XRD) diagram) لألياف

الـ (PLLA) المغزولة كهربائياً عند سرعة سحب ٦٣ و ٦٣٠ متر / دقيقة. (من Inai, R., Kotaki, M., and

(Ramakrishna, S., *Nanotechnology*, 16, 208, 2005).

لقد أظهرت ألياف النانو المغزولة كهربائياً عند سرعة سحب ٦٣٠ متر / دقيقة ذروة واسعة (broad peak) عند 2θ بحدود ١٧ درجة، في حين لم تُظهر ألياف النانو المغزولة كهربائياً عند ٦٣ متر / دقيقة أي ذروة. وأشارت النتائج إلى أن زيادة سرعة السحب قد أنتجت بنية جزيئية (molecular structure) مرتبة بشكلٍ عالٍ. وقد تم كذلك تأكيد هذه الميزة عن طريق تصليب (annealing) الألياف. ونتيجة لارتفاع درجة التمدد والتوجيه الجزيئي، تمتلك الألياف التي تنتج من سرعات السحب الأعلى معامل Young أعلى ومثانة شد أعلى ولكن انفعالاً أقل عند القطع (Inai et al. 2005; Thomas et al. 2006; Zussman et al. 2006) كما هو مبين في الشكل رقم (٨، ٢).

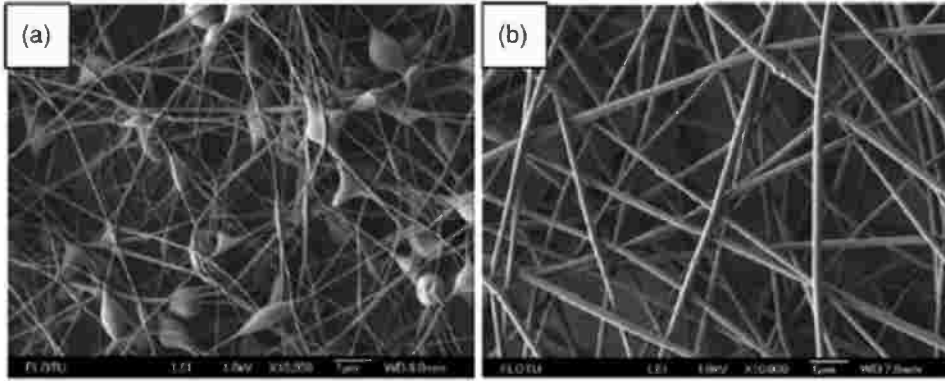


الشكل رقم (٨,٢). منحنيات إجهاد - انفعال الشد (tensile stress - strain curves) لألياف (PLLA) النانوية المفردة المغزولة كهربائياً عند سرعات سحب ٦٣ و ٦٣٠ متر / دقيقة. (من (Inai, R., Kotaki, M., and Ramakrishna, S., *Nanotechnology*, 16, 208, 2005).

وفي دراسة قام بها Jose وآخرون (Jose et al. 2007)، وُجد بأن سرعات السحب الأعلى تُنتج تحولات طورية (phase transformations) لبلورات النايلون-٦ (nylon-6 crystals) من الطور متبدل الاستقرار (metastable phase) γ إلى الطور α والمعروف بأن له خصائص ميكانيكية أفضل.

(٨,٣,١,٢) تركيز البوليمر Polymer Concentration

لقد وُجد أن لزوجة المحلول، والتي يتم التحكم بها عن طريق ضبط تركيز البوليمر، هي واحدة من العوامل التي لديها التأثير الأكبر على حجم وشكل الألياف. عند تراكيز منخفضة للبوليمر تتشكل عيوب (defects) في الشكل تكون على شكل خرزات كروية (spherical - shaped beads) أو على شكل خرزات مغزلية (spindle - shaped beads) على طول الألياف. ويرجع هذا إلى تراكم سلسلة غير كافٍ لتشكيل ألياف متجانسة (uniform fibers) في المحاليل المخففة (dilute solutions) (Pham et al. 2006). تملك الألياف المشكلة عند تراكيز منخفضة أقطاراً أصغر. وعند زيادة تركيز البوليمر يقل تشكيل الخرزات وتصبح الألياف أكثر تجانساً ويزاد قطر الألياف. وعندما يكون المحلول مُركّزاً جداً أو لزجاً (viscous) تجف القطيرة (droplet) عند رأس المحقنة قبل أن يتمكن النفث من البدء. يُظهر الشكل رقم (٨,٣) ألجينات الصوديوم / أكسيد البولي إيثيلين (sodium alginate / PEO) المغزولة كهربائياً عند تركيزين مختلفين للبوليمر (Lu et al. 2006). فعند تركيز أقل للبوليمر شوهدت الخرزات بينما عند تركيز أعلى للبوليمر شوهدت ألياف نانو ملساء (smooth nanofibers).



الشكل رقم (٨,٣). شكل الألياف المغزولة كهربائياً (morphology of electrospun fibers) عند تراكيز محلول مختلفة: (a) ١٪ و (b) ٣٪. (من (Lu, J.-W., Zhu, Y.-L., Guo, Z.-X., Hu, P., and Yu, J., *Polymer*, 47, 8026, 2006)

وقد أشارت كل الدراسات المتضمنة إنشاء رابط بين تركيز البوليمر والشكل والخصائص الميكانيكية بأن لألياف النانو خصائص ميكانيكية رديئة عند تواجد الخرزات في ألياف النانو (Huang et al. 2004; Bolgen et al. 2005; Lu et al. 2006). فتمتلك ألياف النانو مع الخرزات معامل Young ومتانة شد واستطالة (elongation) أقل عند القطع. ويعود هذا إلى تراكيز الإجهاد (stress concentrations) الناجمة عن الخرزات عندما تتمدد ألياف النانو. ومع ذلك فمن المثير للاهتمام ملاحظة أنه في حال أمكن إنتاج ألياف نانو متجانسة عند تركيز معين للبوليمر فإن الزيادة في التركيز ستؤدي إلى انخفاض في المعامل والمتانة (Huang et al. 2004). ويمكن أن يرجع ذلك إلى حقيقة أن الألياف الناتجة عند تراكيز أقل للبوليمر تملك أقطاراً أصغر؛ وبالتالي يمكن لتأثيرات الحجم أن تلعب دوراً مهماً (Tan et al. 2005a,b; Chew et al. 2006; Ramakrishna et al. 2006). وسبب آخر محتمل هو الطبيعة الأقل لزوجة للمحاليل المخففة التي من شأنها أن توحى بأن سلاسل البوليمر تبدي تحركاً أكثر لتتحدى في اتجاه محور الليف (fiber axis) أثناء الغزل الكهربائي. وبالتالي؛ يمكن أن يكون هناك توجيه جزئي أعلى لسلاسل البوليمر على طول محور الليف في الألياف الأصغر الناتجة بواسطة المحاليل المخففة أكثر.

(٨,٣,١,٣) بارامترات المعالجة الأخرى Other Processing Parameters

(٨,٣,١,٣,١) موصلية المحلول Solution Conductivity

في بعض الحالات يملك المذيب الذي يكون البوليمر فيه قادراً على الانحلال موصلية منخفضة؛ وبالتالي يمكن إنتاج ألياف فقط بحجم مايكروني عن طريق الغزل الكهربائي. وعادةً يُضاف مذيب ثانٍ ذو ثابت عزل كهربائي (dielectric constant) أعلى لزيادة موصلية المحلول؛ مما يسمح بالتالي بإنتاج ألياف بحجم نانوي (Lee et al. 2003a). وقد درس Bolgen وآخرون (٢٠٠٥) تأثيرات تغيير النسبة المئوية لمذيب ذي ثابت عزل كهربائي عالٍ. وقد أدت زيادة النسبة المئوية لهذا المذيب إلى انخفاض كبير في قطر الألياف. ورغم أنه من المتوقع أن الألياف الأصغر الناتجة تعني بأن معامل Young والمتانة يجب أن يزدادان في حين يجب أن تنقص الاستطالة عند القطع، إلا أن نتائج Bolgen والآخرين قد أظهرت أن جميع الخصائص الميكانيكية أعلاه قد انخفضت عندما انخفض قطر الألياف. وقد يعود ذلك إلى سبب وجود الخرزات في الألياف الدقيقة.

Electric Field Strength (٨,٣,١,٣,٢) قوة الحقل الكهربائي

يمكن أن يؤدي تطبيق جهد كهربائي أعلى إلى إنتاج حقل كهربائي أقوى وإلى تسريع الشحنات في نفاث الغزل الكهربائي (electrospinning jet). وهذا يؤدي إلى زيادة في استطالة الألياف وبالتالي تشكيل ألياف دقيقة (Deitzel et al. 2001). وفي دراسة قام بها Gu وآخرون (٢٠٠٥)، وُجد بأن تطبيق جهد كهربائي أعلى يؤدي إلى توجيه جزئي أعلى داخل ألياف النانو. وقد أدى ذلك إلى قياس معامل Young أعلى من أجل الياف النانو المفردة.

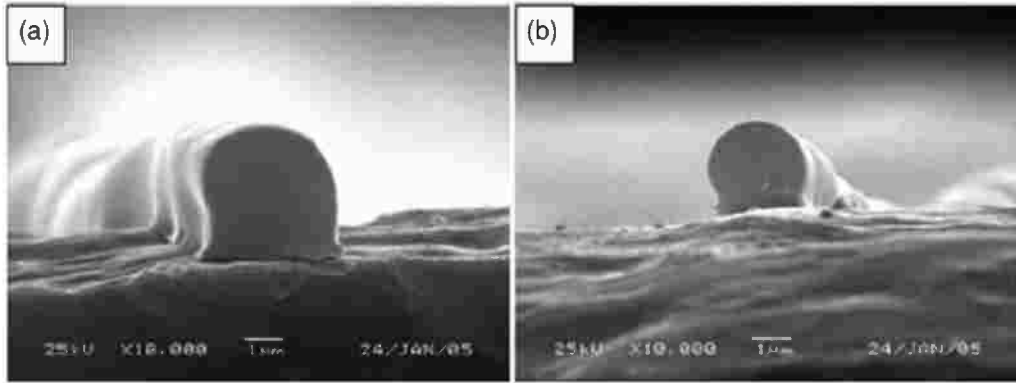
Post-Electrospinning Treatments (٨,٣,٢) المعالجات ما بعد الغزل الكهربائي

يمكن أن تطبق معالجات فيزيائية أو كيميائية على ألياف النانو المغزولة كما هي، والتي لم تخضع لمعالجة إضافية من أجل تحسين الصلابة أو المتانة أو قابلية السحب (الليونة) للمنتج النهائي. وقد يكون ذلك مهماً في التطبيقات الطبية الحيوية، كما هو في الحالات التي يتوجب فيها على ألياف النانو أن تتحلل ببطء أكثر في بيئة رطبة عند درجة حرارة الجسم.

Cross-Linking (٨,٣,٢,١) الربط المتشابك

يشترك الربط المتشابك (cross - linking) بتشكيل روابط تساهمية (covalent bonds) بين سلاسل البوليمر، ويتم تطبيقه في كثير من الأحيان لتحسين الأداء الميكانيكي الحراري (thermomechanical performance) لطبقات ألياف النانو المستوية الناتجة (Zhang et al. 2006). ويتضمن الربط المتشابك باستخدام وسائل فيزيائية مثل التشعيع فوق البنفسجي (UV irradiation) إضافة عامل ربط متشابك (cross - linking agent) إلى محلول البوليمر وتشعيع المنتج المغزول كهربائياً مباشرة بعد الغزل (Choi et al. 2006). وقد درس Choi وآخرون تأثيرات زيادة كثافة عامل الربط المتشابك، ووجدوا بأن معامل Young والمتانة تزداد مع الزيادة في كثافة عامل الربط المتشابك (Choi et al. 2006). وقد أدت زيادة كثافة عامل الربط المتشابك أيضاً إلى إنتاج ألياف ذات شكل أفضل عند الاحتفاظ بدرجة حرارة الغرفة لبوليمر ذي درجة حرارة تحول زجاجي (glass transition temperature) منخفضة جداً كما هو موضح في الشكل (٨,٤). وقد أنشأ الربط المتشابك روابط تساهمية داخل الألياف (intrafiber) وكذلك بين الألياف (interfiber)؛ وبالتالي يمكن تفسير تحسن أداء الشد في هذه الدراسة عن طريق العدد المتزايد من نقاط الاتصال المرتبطة (bonded junction points) بشكلٍ دائم بين الألياف بواسطة التصلب المشترك (co - curing) بين الألياف المتراكبة، وكذلك عن طريق الصلابة المتزايدة للألياف نفسها بواسطة الربط المتشابك لجزيئات البوليمر داخل الليف.

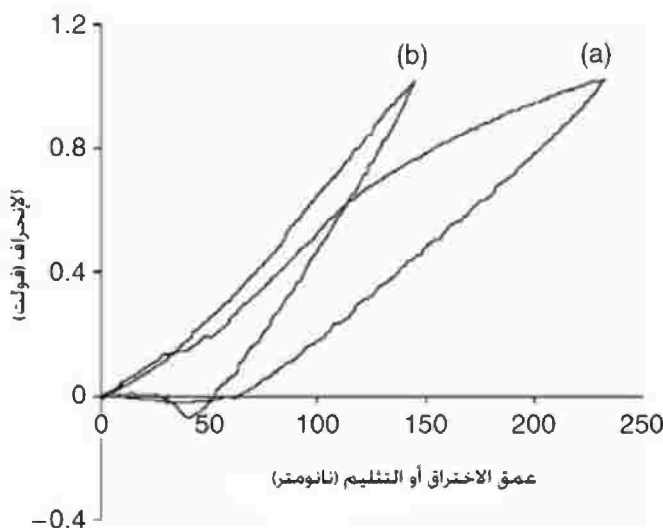
ويتضمن الربط المتشابك باستخدام الوسائل الكيميائية تعريض الطبقات المستوية لألياف النانو إلى عامل ربط متشابك عن طريق الغمر (immersion) في محلول الربط المتشابك أو عن طريق التعريض (exposure) لبخار عامل الربط المتشابك في بيئة مغلقة (Zhang et al. 2006). وقد ذُكر بأن الربط المتشابك باستخدام الوسائل الكيميائية هو أكثر كفاءة من الوسائل الفيزيائية (Zhang et al. 2006). وفي دراسة قام بها Zhang وآخرون (٢٠٠٦)، عزز الربط المتشابك لألياف الجيلاتين النانوية معامل Young ومتانة الشد إلى ما يقرب من عشر مرات. وكما ذُكر في مثال الربط المتشابك السابق، يرجع هذا التحسن الهائل في الخصائص الميكانيكية إلى تشكيل روابط تساهمية داخل وبين الألياف. ومن المثير للاهتمام أن تمدد طبقة ألياف النانو لم يقل بواسطة عملية الربط المتشابك على الرغم من أن الصلابة والمتانة قد ازدادت.



الشكل رقم (٨،٤). صور مقطعية عرضية (cross - sectional images) بالجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لألياف البولي بوتادايين المغزولة كهربائياً (electrospun crosslinked polybutadiene fibers) والمرتبطة بشكل متشابك مع نسب مئوية مختلفة لعامل الربط المتشابك (crosslinker): (a) ٠,٥ ٪ وزن و (b) ٣ ٪ وزن. (نقلًا عن Hong, J.-P., Seo, Y.S., Choi, S.-S., Chung, S.M., and Nah, C., *J. Appl. Polym. Sci.*, 101, 2333, 2006).

(٨،٣،٢،٢) المعالجة الكيميائية Chemical Treatment

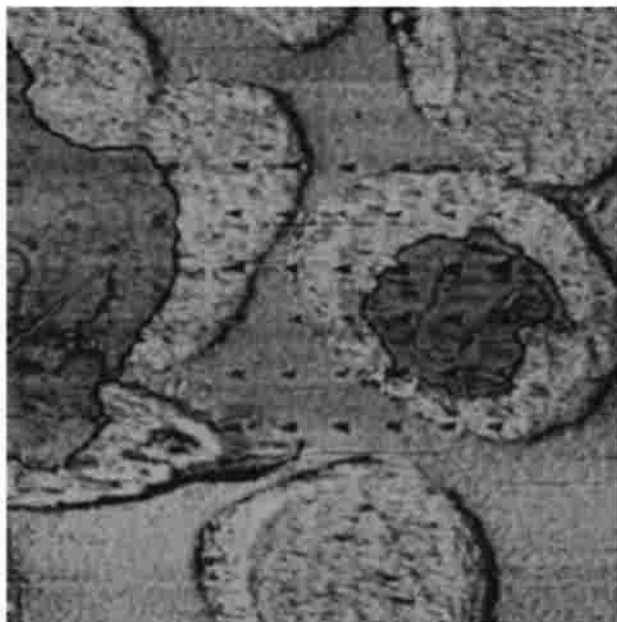
تتضمن المعالجة الكيميائية غمر ألياف النانو في مادة كيميائية مما يؤدي إلى تغيير في بنية ألياف النانو. يعتبر غمر الحرير المغزول كهربائياً (electrospun silk) في الميثانول (methanol) معالجة كيميائية شائعة (Wang et al. 2004; Chen et al. 2006). غالباً ما تكون ألياف الحرير المغزولة كما هي (as - spun silk fibers) (التي لم تخضع إلى أي معالجة إضافية) لابلورية (amorphous) (عدمية الشكل)، حيث لا يوجد هناك ما يكفي من الوقت للترتيب الجزيئي والتبلور (crystallization). ومن أجل تعزيز صلابة ومثانة ألياف الحرير النانوية، يتم غمر الألياف المغزولة كما هي، والتي لم تخضع لأي معالجة إضافية في الميثانول للحث على التحول الجزيئي (molecular transformation) من لفائف عشوائية (random coil) إلى بلورات بيتا الصفيفية (β-sheet crystals). وقد أظهرت اختبارات الشد لطبقات مستوية من ألياف الحرير النانوية المعالجة بالميثانول أن هذه المعالجة أدت إلى زيادة المثانة وقابلية السحب (الليونة). ولم يكن الانخفاض الملحوظ في معامل Young حاسماً كما كان سلوك الشد معتمداً على تجمعات الألياف أكثر من الخاصية البنيوية (structural character) لجزيئات الألياف (Chen et al. 2006). وقد أظهرت دراسة التلقيم النانوي (nanoindentation) لليف نانوي مفرد بأن هذه المعالجة قد زادت بالفعل من معامل Young (Wang et al. 2004) كما هو موضح في الشكل رقم (٨،٥) من خلال ميل الانحدار (steeper slope) لمنحني إزالة التحميل (unloading curve) للليف معالج بالميثانول (methanol - treated fiber). ومن المثير للاهتمام أن نلاحظ بأن المعالجة بالميثانول قد أحدثت تحولاً طورياً من سطح الليف النانوي حتى اللب. ويظهر الشكل رقم (٨،٦) صورة طورية باستخدام مجهر القوة الذرية (AFM phase image) للمقطع العرضي لليف نانوي من الحرير تم معالجته بالميثانول مع مجموعة من الثلمات أو الفجوات (indentations). في التصوير الطوري باستخدام مجهر القوة الذرية (AFM)، تبدو المناطق الأكثر ليونة أغمق وتبدو المناطق الأكثر صلابة أكثر سطوعاً. ويظهر اللب أغمق من القشرة. وبالتالي؛ فإن هذا يدل على أن اللب والذي هو أكثر ليونة مركب من جزيئات غير متبلورة في حين تتكون القشرة والتي هي أكثر قساوة من بلورات بيتا الصفيفية.



الشكل رقم (٨،٥). منحنيات تمثيلية للتحميل وإزالة التحميل للألياف (loading and unloading curves): (a) ليف مغزول كما هو لم يخضع

لمعالجة إضافية (as-spun fiber)، و (b) ليف تمت معالجته بالميثانول (methanol-treated fiber). (نقلًا عن Wang, M.,

(Jin, H.-J., Kaplan, D.L., and Rutledge, G.C., *Macromolecules*, 37, 6856, 2004).



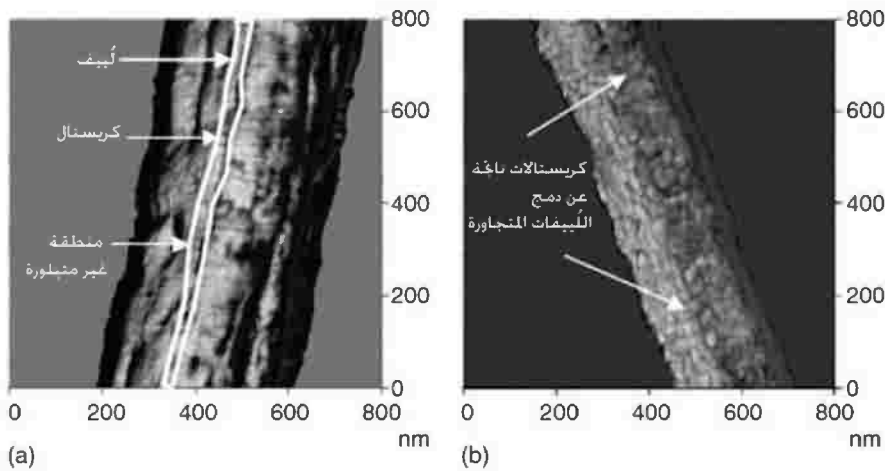
الشكل رقم (٨،٦). صورة طورية (phase image) ($2 \times 2 \mu\text{m}$) باستخدام مجهر القوة الذرية (AFM) للمقطع العرضي للليف تم معالجته

بالميثانول (cross section of methanol-treated fiber). (من Wang, M., Jin, H.-J., Kaplan, D.L., and Rutledge, G.C.,

(*Macromolecules*, 37, 6856, 2004).

Temperature (٨,٣,٢,٣) درجة الحرارة

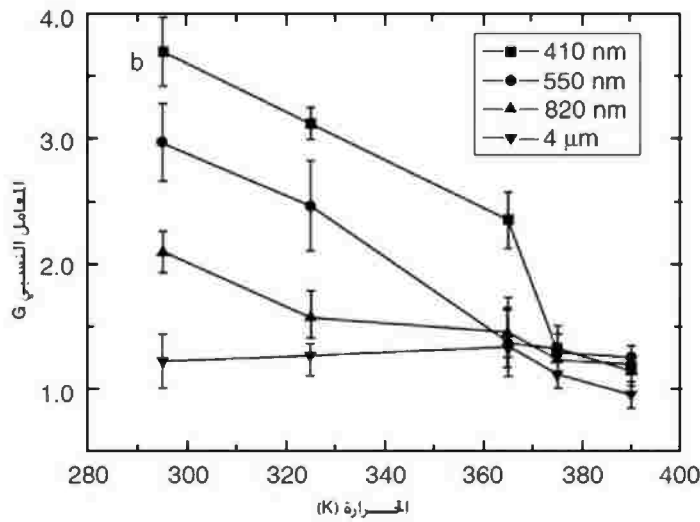
لقد تم تطبيق المعالجة الحرارية (heat treatment) للبوليمرات عن طريق التصليب لزيادة تبلور البوليمرات غير المتبلورة (لابلورية) أو البوليمرات شبه المتبلورة (semicrystalline polymers). تعمل هذه العملية على زيادة صلابة وقوة البوليمر. وفي دراسة قام بها Tan و Lim (2006a)، وُجد بأن تصليب ألياف النانو المغزولة كهربائياً فوق درجة حرارة التحول الزجاجي يُنقص قطر الألياف بنسبة ١٠٪ ويزيد معامل Young بنسبة ١٥٠٪. وقد حدث هذا التغير في المعامل عن طريق التغير في شكل ألياف النانو كما هو موضح في الشكل رقم (٨,٧). فيحفز التصليب نمو البلورات واندماج البلورات من الليفيات المتجاورة، والتي تعمل على تقوية الروابط بين الليفيات داخل ليف النانو. وقد أدى هذا إلى المزيد من المقاومة للتشوه (تغيير الشكل)، كما ظهر من خلال المعامل الأعلى.



الشكل رقم (٨,٧). صورة طورية لألياف الـ (PLLA) النانوية المغزولة كهربائياً. (a) ليف نانو مغزول، كما هو لم يخضع لمعالجة إضافية (as spun nanofiber) و (b) ليف نانو مُتصلَّب (annealed nanofiber). (تمت إعادة إنتاجها من Tan, E.P.S. and Lim, (C.T., *Nanotechnology*, 17, 2649, 2006a).

على الرغم من أن تأثير تغير درجة الحرارة ليس معالجة ما بعد الغزل الكهربائي، إلا أنه موضح هنا أنه عندما يتم استخدام بعض المنتجات النهائية المغزولة كهربائياً في تطبيقات عند درجات حرارة مرتفعة فإنه من المفيد معرفة تأثيرات زيادة درجة الحرارة على البنية والخصائص الميكانيكية. لقد تم استخدام الفحص المجهرى لقوة القص المعدلة (shear modulation force microscopy - SMFM) لدراسة آثار زيادة درجة الحرارة على البوليمرات المغزولة كهربائياً (electrospun polystyrene - PS) (Ji et al. 2006). ويظهر الشكل رقم (٨,٨) التغير في معامل السطح النسبي (surface relative modulus) كتابع (كدالة) لدرجة الحرارة عند أقطار ألياف مختلفة. فعندما ازدادت درجة الحرارة انخفض المعامل النسبي. وعلى ما يبدو فإن معدل الانخفاض هو أعلى بالنسبة للألياف الأصغر. فعندما تقترب درجة الحرارة من ٣٣٧ كالفن (337 K)، والتي هي درجة حرارة

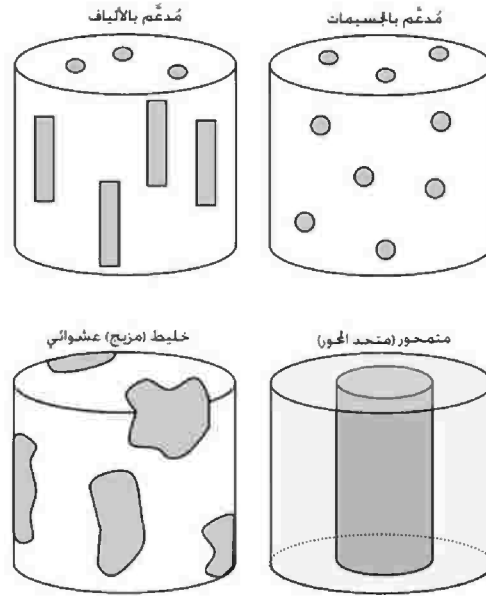
التحول الزجاجي، يقترب معامل كل الألياف من 1، والذي يتطابق مع القيمة الكتلية لفيلم رقيق (bulk thin - film value). من هذه الملاحظات، يمكن استنتاج أنه عندما تزداد درجة الحرارة فوق درجة حرارة التحول الزجاجي فإن السلاسل الجزيئية الموجهة ستسترخي إلى حالتها التوازنية (equilibrium state)، بغض النظر عن قطر الليف. وعندما تمتلك الألياف الأصغر درجة أعلى من التوجيه الجزيئي (الفقرة ٨.٣.١)، فإن تأثير استرخاء السلسلة الجزيئية (molecular chain relaxation) عند ارتفاع درجة الحرارة سوف يكون أكثر وضوحاً، كما هو واضح من الشكل رقم (٨.٨). ولهذه الدراسة تأثيرات على الألياف المغزولة كهربائياً حيث تكون درجة الحرارة التي عندها يتم إنجاز العمل قريبة من درجة حرارة التحول الزجاجي.



الشكل رقم (٨.٨). المعامل النسبي (relative modulus) لألياف البوليسترين المغزولة كهربائياً (electrospun polystyrene fibers) كوظيفة لدرجة الحرارة عند أقطار مختلفة للألياف. (نقلاً عن Ji, Y., Li, B., Ge, S., Sokolov, J.C., and Rafailovich, M.S., (Langmuir, 22, 1321, 2006).

(٨.٣.٣) ألياف النانو المركبة Composite Nanofibers

ألياف النانو المركبة (composite nanofibers) هي ألياف تتكون من اثنين أو أكثر من المكونات المختلفة داخل كل ليف. تشمل أنواع المركبات المغزولة كهربائياً الألياف المعززة بالألياف أو بالجسيمات (fiber- or particulate - reinforced fibers) وخليط البوليمرات (polymer mixtures) في شكل خلائط عشوائية (random blends) أو ألياف نانوية متمحورة (coaxial nanofibers) كما هو موضح في الشكل رقم (٨.٩).



الشكل رقم (٩، ٨). أنواع ألياف النانو المركبة المغزولة كهربائياً (electrospun composite nanofibers).

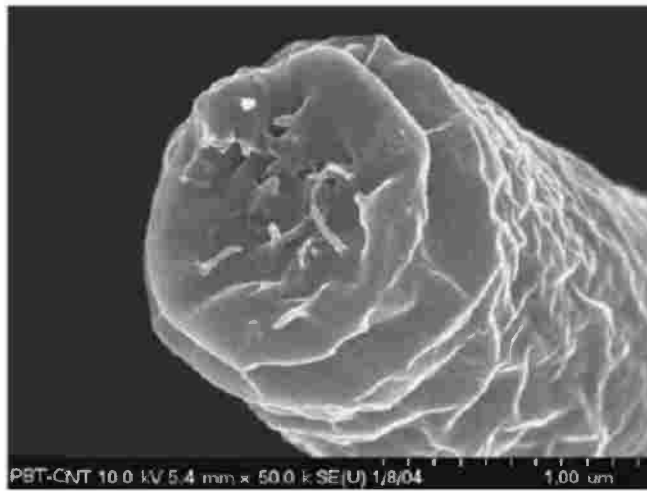
(٨، ٣، ٣، ١) المركبات المعززة بالحشوات Filler-Reinforced Composites

يتم إضافة مواد الحشوات مثل الجسيمات النانوية (nanoparticles) أو الصفائح النانوية (nanoplatelets) أو أنابيب الكربون النانوية (carbon nanotubes - CNTs) أو ألياف النانو (nanofibers) إلى محلول البوليمر لتحسين الخصائص الميكانيكية لألياف النانو بطريقة مماثلة للمركبات الكتلية (bulk composites).

(٨، ٣، ٣، ١، ١) ألياف النانو المعززة بالألياف Fiber-Reinforced Nanofibers

تعزيزات الألياف (fiber reinforcements) هي مواد تعزيز (reinforcement materials) أحادية البعد وتظهر عادةً في شكل ألياف قصيرة. أنابيب الكربون النانوية (CNTs) هي الشكل الأكثر شيوعاً لتعزيز الألياف من أجل ألياف النانو البوليميرية المغزولة كهربائياً. ولا تقتصر ميزات إضافة أنابيب الكربون النانوية (CNTs) إلى مصفوفة البوليمر على التحسينات الميكانيكية فقط بل تشمل أيضاً إمكانية إنشاء منتجات موصلة كهربائياً في مستوى النانو (Chronakis 2005). وبشكل عام، تؤدي إضافة ١ % من أنابيب الكربون النانوية (CNTs) إلى ألياف النانو إلى زيادة من ٣ إلى ٤ مرات في معامل Young (Ayutsede et al. 2006; Jose et al. 2007; McCullen et al. 2007). وقد ظهر أيضاً بأن نسباً مئوية أعلى من أنابيب الكربون النانوية (CNTs) تصل إلى حد ٥ % وزناً تزيد من المعامل (modulus) لألياف النانو الناتجة (Mathew et al. 2005). ويرجع تعزيز الصلابة هذا إلى المحاذاة التفضيلية (preferential alignment) لأنابيب الكربون النانوية (CNTs) على طول محور الألياف. كما وُجد أيضاً أن أنابيب الكربون النانوية (CNTs) تزيد من تبلور (crystallinity) مصفوفة البوليمر عن طريق

التصرف كعوامل تنويع (nucleating agents) لجزيئات البوليمر (Ayutsede et al. 2006)، والتي تساهم في تصليب ألياف النانو. يُظهر الشكل رقم (٨,١٠) المقطع العرضي (cross section) لأنابيب الكربون النانوية (CNTs) منظمرة داخل ليف نانوي. وعلى أي حال، عادةً ما تتأثر المتانة والاستطالة عند القطع بشكل عكسي عن طريق إضافة أنابيب الكربون النانوية (CNTs). ويكون هذا صحيحاً خصوصاً عندما لا تكون أنابيب الكربون النانوية (CNTs) مبعثرة بشكل متجانس داخل مصفوفة البوليمر، فتكون غير متراففة بشكل تام على طول محور الليف وتشكل تكتلات (agglomerates). ويمكن أن يؤدي الربط البيني (interfacial bonding) الضعيف بين أنابيب الكربون النانوية (CNTs) ومصفوفة البوليمر أيضاً إلى نقل حمل (load transfer) غير فعال وبالتالي متانة أقل. ويمكن أن تكون تكتلات الأنابيب النانوية بمثابة عيوب حرجية (critical flaws) تُنقص من الانفعال والمتانة النهائية للألياف (Ayutsede et al. 2006).

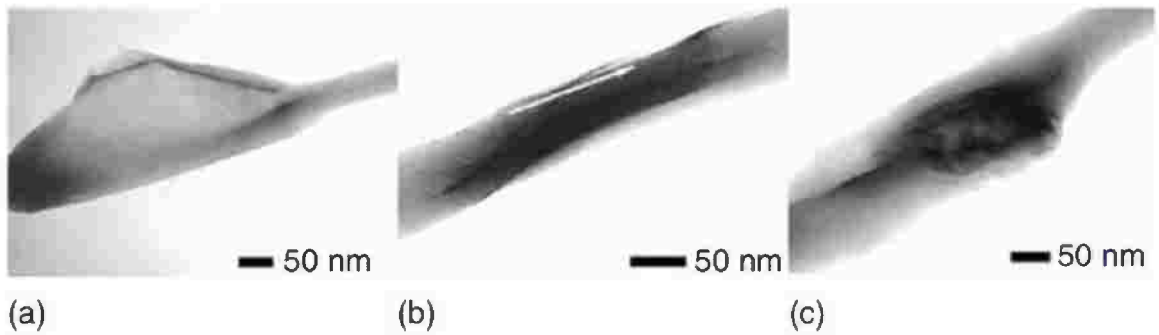


الشكل رقم (٨,١٠). صورة مقطعية - عرضية بالجهر الإلكتروني الماسح (SEM cross - sectional image) لليف نانوي تُظهر أنابيب كربون نانوية مُنظمرة (embedded CNTs). (تمت إعادة طباعتها من Mathew, G., Hong, J.P., Rhee, J.M., Lee, H.S., and (Nah, C., *Polymer Testing*, 24, 712, 2005).

إن شعيرات ألفا-كيتين (α -chitin) هي تعزيزات ليفية من مصادر بيولوجية، وقد تم استخدامها لتعزيز ألياف الـ (PVA) النانوية (Junkasem et al. 2006). وخلافاً لألياف النانو المركبة المعززة بأنابيب الكربون النانوية (CNTs)، فقد ازدادت متانة الشد لألياف الـ (PVA) النانوية المعززة بالألفا-كيتين باستخدام نسبة مئوية صغيرة من مادة التعزيز. ويعود هذا إلى التفاعل بين الـ (PVA) وشعيرات الكيتين عبر الربط الهيدروجيني (hydrogen bonding). وعلى أي حال فقد أدى مثل هذا التفاعل إلى أن تصبح مركبات النانو أكثر صلابة مع ازدياد محتوى الشعيرات؛ مما أدى إلى انخفاض ملحوظ في الاستطالة عند القطع. وبمجرد أن يحدث تكدس (aggregation) للكيتين، تنخفض متانة مركب ألياف النانو. وقد وُجد بأن معامل Young يزداد (من ٤ إلى ٨ مرات) مع إضافة الكيتين حتى يبدأ تشكل التكدسات.

Particulate-Reinforced Nanofibers المعززة بالجزئيات (٨,٣,٣,١,٢)

سنصنف في هذا الفصل الصفائح النانوية / الرقائق النانوية (nanoflakes) والجزئيات النانوية كتعزيزات جسيماتية (particulate reinforcements) بكونها ثنائية أو ثلاثية الأبعاد، على التوالي. إن النوع الأكثر شيوعاً لألياف النانو المغزولة كهربائياً والمعززة بالجسيمات هو ألياف النانو المعززة بالغضار (clay) أو المونتموريلونيت (montmorillonite - MMT) (Ji et al. 2006; Li et al. 2006; Ramakrishna et al. 2006). تعتمد فعالية التعزيز بال (MMT) على مدى تقشر طبقات ال (MMT) بشكل جيد داخل الألياف النانوية المركبة (nanocomposite fibers). وقد أشار Li وآخرون (٢٠٠٦) بأن إضافة ال (MMT) قد زاد من المعامل لألياف النانو، في حين أشار Ramakrishna وآخرون إلى انخفاض في المعامل (Ramakrishna et al. 2006). وأشار Ji وآخرون (٢٠٠٦) إلى أعلى معامل عند جزء وزني معين من ال (MMT). لقد اعتمد المعامل على ما إذا كانت صفائح ال (MMT) مُوجَّهة على طول محور الألياف أو على شكل التكتلات أو على توزيعها بالتساوي (التقشر الجيد (well exfoliated)) ضمن الليف النانوي. يوضح الشكل رقم (٨,١١) توزيعات مختلفة لل (MMT) ضمن الليف النانوي عند تراكيز مختلفة لل (MMT). عند تركيز ٤ ٪ وزناً من ال (MMT) وكما هو موضح في الشكل رقم (٨,١١) b، تمثل الخطوط الداكنة بسماكة حوالي ١ نانومتر طبقات ال (MMT)، والتي كانت متراصة على طول محور الليف كما هو موضح بواسطة السهم. وقد أدت نسب مئوية أخرى من وزن ال (MMT) إلى توزيع غير متجانس (inhomogeneous distribution) لل (MMT). تؤدي صفائح ال (MMT) ذات التقشر الجيد والموجهة على طول اتجاه الليف إلى زيادة في تبلور مصفوفة البوليمر (matrix polymer) (النايلون-٦) وكذلك إلى زيادة في حجم البلورة (crystallite) (Li et al. 2006). ويرجع هذا إلى أن صفائح ال (MMT) ذات التقشر الجيد تعمل بمثابة عوامل تَنْوِيَة لتسهيل تبلور النايلون-٦. وقد تمت في هذه الدراسة أيضاً مراقبة تأثيرات تركيز وحجم البوليمر.



الشكل رقم (٨,١١). صور بالمجهر الإلكتروني الانتقالي (transmission electron microscope - TEM) لتوزيع الغضار (clay distribution) داخل ألياف البوليسترين المغزولة كهربائياً (electrospun polystyrene fibers) عند نسب مئوية مختلفة لوزن الغضار: (a) ١ ٪ وزناً، (b) ٤ ٪ وزناً، و (c) ٨ ٪ وزناً. (نقلًا عن Ji, Y., Li, B., Ge, S., Sokolov, J.C., and Rafailovich, (M.S., *Langmuir*, 22, 1321, 2006).

تشمل التعزيزات الأخرى المشابهة للصفائح الغرافيت النانوية (graphite nanoplatelets) (Mack et al. 2005). وقد وُجد بأن معامل Young يزداد مع محتوى الغرافيت. ويمكن أن توفر النسبة الجانبية (aspect ratio) العالية (نسبة العرض إلى الارتفاع) للصفائح النانوية وسائل فعالة لنقل وتعزيز الإجهاد في مركبات ألياف النانو.

وقد تم استخدام جسيمات نانوية مستديرة في شكل كربون أسود (Hwang et al. 2007) وفيريتين (ferritin) (Shin et al. 2006a) كمادة تعزيز في ألياف النانو البوليمرية (polymeric nanofibers). وقد تبين أن إضافة الجسيمات النانوية يزيد المعامل والمتانة ولكن يقلل الليونة (Hwang et al. 2007). يمكن لآلية التصليب (stiffening mechanism) بإضافة جسيمات نانوية أن تكون عائدة إلى الروابط المشكلة بين الجسيمات والمصفوفة. فعلى سبيل المثال، في دراسة أجراها Shin وآخرون (2006a)، احتوى جسيم الفيريتين النانوي قشرة من البروتين (protein shell) تتكون من سلسلة ذات ٢٤ بيتيداً مع مجموعتين وظيفيتين قطبيتين. هاتان المجموعتان قادرتان على تشكيل ارتباطات هيدروجينية بين الفيريتين ومصفوفة الـ (PVA). ويسمح هذا بنقل فعال للإجهاد من المصفوفة إلى مادة التعزيز الأصلب، والذي يُحسن بدوره من الخصائص الميكانيكية الإجمالية. بخلاف التعزيزات بالصفائح النانوية، لم تكن هناك أي إشارة لأي تغييرات في بنية مادة المصفوفة ناجمة عن التعزيزات بالجسيمات النانوية.

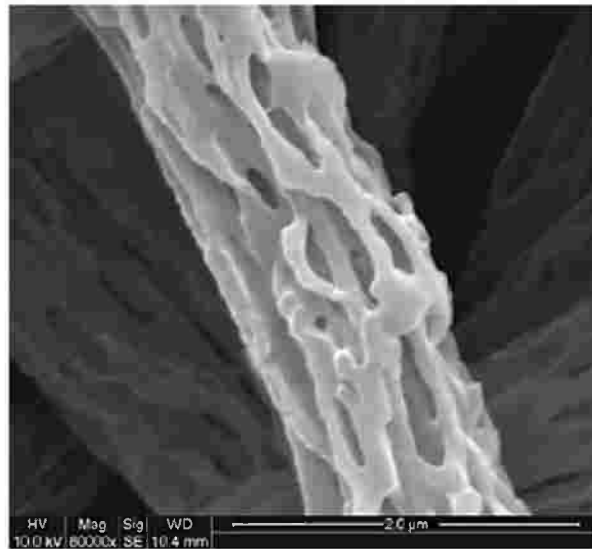
وبالتالي؛ فإنه من أجل التعزيز لتحسين الخصائص الميكانيكية للليف النانوي بشكل فعال، يجب على الأقل تحقيق اثنين من المتطلبات البنيوية الأساسية وهي: التبعثر المتجانس (uniform dispersion) لمادة التعزيز لتجنب تموضع تركيز الإجهاد؛ والربط البيني الجيد بينها وبين مصفوفة البوليمر لتحقيق نقل حمل فعال عبر السطح الفاصل بين المصفوفة ومادة التعزيز (reinforcement - matrix interface) (Kim et al. 2006). وستتم مناقشة آليات التقوية (strengthening mechanisms) لمادة التعزيز ضمن مصفوفة البوليمر أثناء تشوه أو تغيير شكل الليف بالتفصيل في الفقرة (٨،٤).

(٨،٣،٣،٢) مركبات خلائط البوليمرات Polymer Mixture Composites

هناك بضعة أسباب لإضافة بوليمر آخر إلى مصفوفة البوليمر. ففي تطبيقات هندسة الأنسجة، يمكن لأنواع مختلفة من الكولاجين أن تُغزل من اثنين من محاليل البوليمرات لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة تحاكي على نحو أفضل النسب في الجسم الحي (Matthews et al. 2003). ويمكن إضافة بوليمر آخر للتحكم في معدل التحلل (degradation rate) الذي يوفر ما يكفي من الدعم البنيوي بينما يتيح في الوقت نفسه مساحة كافية لنشوب أو نمو الأنسجة (tissue ingrowth) (Kidoaki et al. 2005). ففي حالة توصيل الدواء الخاضع للتحكم، قد تكون هناك حاجة ل يتم إطلاق أو تحرير بعض العوامل الطبية الحيوية (biomedical agents) في مرحلة لاحقة والألياف النانوية ذات البنية اللبية - القشرية (core - shell structure) ستكون مثالية لهذا التطبيق، وذلك باستخدام العامل كُلب والبوليمر القابل للتحلل الحيوي كقشرة (Huang et al. 2005).

(٨,٣,٣,٢,١) ألياف النانو المخلوطة بشكل عشوائي Randomly Blended Nanofibers

يمكن للطورين غير القابلين للمزج (immiscible phases) ضمن الألياف المركبة أن يظهرها عندما يتم تصفية أو ترشيح (leaching out) طور واحد من خلال استخدام مذيب يقوم بحل واحد فقط من المكونين. فعلى سبيل المثال، في خليط من الجيلاتين / البولي كابرولاكتون (PCL)، يتداخل الطوران مع بعضهما بعضاً، ويتواجدان مع بعضهما بشكل مشترك في نفس المكان مُشكّلاً طوراً حيوياً متواصلاً (bicontinuous phase). وتمكن رؤية ذلك في الشكل رقم (٨,١٢) بعد تصفية الجيلاتين القابل للذوبان في الماء بواسطة محلول ملحي مَدْرُوء بالفوسفات (phosphate buffered saline solution) (Zhang 2006). تعتمد الخصائص الميكانيكية الناتجة للألياف المخلوطة (blended fibers) بالمقارنة مع الألياف أحادية الطور (single - phase fibers) على كيفية تأثير الطور الإضافي على شكل الطور الأساسي ونوعية السطح البيني بين الطورين.



الشكل رقم (٨,١٢). صورة عالية الدقة بالجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لألياف النانو المخلوطة بشكل عشوائي من الجيلاتين / البولي كابرولاكتون (PCL) بعد تصفية مركب الجيلاتين (leaching of gelatin component). (من Zhang, Y.Z., Electrospinning of composite nanofibers for tissue scaffolding applications. Department of Mechanical Engineering, Singapore, National University of Singapore: 150).

على سبيل المثال، لألياف النانو من الجيلاتين / البولي كابرولاكتون (PCL) بنسبة ١:١ متانة أقل من أي من العناصر الرئيسية ومعامل Young بين معامل الجيلاتين ومعامل البولي كابرولاكتون (PCL) واستطالة عند القطع أعلى من أي من العناصر الرئيسية. لم يقدم مزج البولي كابرولاكتون (PCL) مع الجيلاتين أي تعزيز للمتانة. هذه الظاهرة هي على الأرجح بسبب عدم قابلية المزج (immiscibility) والفصل الطوري المايكروي (microphase separation)، والذي سيؤدي إلى انزلاق (slippage) أسهل للسلاسل تحت التحميل بسبب التشابكات (entanglements) الأقل والتفاعلات الفيزيائية الضعيفة فيما بين سلاسل البوليمرات المختلطة أو الممزوجة (mixed polymers) (Zhang 2006).

وفي دراسة قام بها Chew وآخرون ، أدت إضافة أنواع مختلفة من الأدوية أو البروتينات إلى البولي كابريولاكتون (PCL) - كو - فوسفات إيثيلين الإيثيل (PCLEEP) (ethyl ethylene phosphate) إلى تغيرات مختلفة في الخصائص الميكانيكية (Chew et al. 2006). فقد أدت إضافة حمض الريتينويك (retinoic acid - RA) إلى إنتاج ألياف نانوية ذات قطر أصغر وبلورات نانوية من حمض الريتينويك (RA) عملت كعوامل تقوية (reinforcing agents) من خلال تقييد حركة سلاسل البوليمر عندما يستطيل الليف تحت تأثير قوة الشد. ونتيجة لذلك فقد تم تعزيز معامل Young والمتانة مع إضافة حمض الريتينويك (RA). وفي المقابل أدت إضافة ألبومين المصل البقري (bovine serum albumin - BSA) إلى إنتاج ألياف ذات قطر أكبر وفصل طوري بين ألبومي المصل البقري (BSA) والبولي كابريولاكتون (PCL) - كو - فوسفات إيثيلين الإيثيل (PCLEEP)؛ مما أدى إلى تقييد في حركة سلسلة البوليمر والاستطالة عند السطح البيني لهذين الطورين أثناء التشوه أو تغيير الشكل الناتج عن الشد. ونتيجة لذلك فقد تم تخفيض كل من معامل Young والمتانة مع إضافة ألبومين المصل البقري (BSA).

تؤثر نسبة البوليمرات أيضاً على الخصائص الميكانيكية الناتجة. ويُظهر الجدول رقم (٨،٢) تأثير تغيير نسبة أجنات الصوديوم / (PEO) على الشكل والخصائص الميكانيكية (Lu et al. 2006). ويمكن ملاحظة أنه يمكن الحصول على متانة الشد الأعلى عندما تكون النسبة ١:١، وهو ما يتزامن مع إنتاج ألياف ملساء بأصغر قطر. وقد يكون اتجاه الاختلاف الملاحظ للاستطالة عند القطع راجعاً إلى طبيعة الـ (PEO) الأكثر هيمنة عند زيادة نسبته.

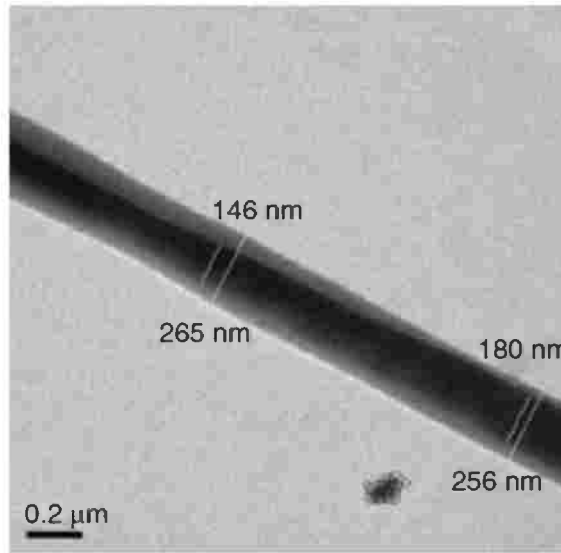
الجدول رقم (٨،٢). الخصائص الميكانيكية وشكل الطبقات المستوية من أجنات الصوديوم / (PEO) المغزولة كهربائياً مع نسب مختلفة من أجنات الصوديوم / (PEO).

الإدخال	نسبة أجنات الصوديوم / PEO	متانة الشد (MPa)	الاستطالة إلى القطع (%)	الشكل
١	١:٣	٠,٩	٨,٥	١١٤ نانومتر، خرزات تشبه المغزل
٢	١:٢	١,٩	٦,٢	١٧١ نانومتر، خرزات تشبه المغزل
٣	١:١	٤,٥	٣,٤	٢٢٨ نانومتر، ألياف ملساء
٤	٢:١	٤,٠	٣,٣	٢٦٦ نانومتر، ألياف ملساء
٥	١:٠	١,٢	٢,٩	٣٠٨ نانومتر، ألياف ملساء

المصدر: من Lu, J.-W., Zhu, Y.-L., Guo, Z.-X., Hu, P., and Yu, J., *Polymer*, 47, 8026, 2006.

(٨،٣،٣،٢،٢) ألياف النانو المتمحورة Coaxial Nanofibers

يتم إنتاج ألياف النانو المتمحورة باستخدام جهاز غزل كهربائي تقليدي ، ولكن بالاستبدال بالأنبوب الشعري (capillary) الواحد أنبوبين شعريين بشكلٍ متحد المركز ومتصلين بخزانين منفصلين لمحلولي بوليمر (Sun et al. 2006). يُظهر الشكل رقم (٨،١٣) صورة بالمجهر الإلكتروني الانتقالي (TEM) لليف نانو متمحور مغزول كهربائياً باستخدام البولي كابريولاكتون (PCL) باعتباره القشرة والجيلاتين باعتباره اللب (Huang et al. 2005).



الشكل رقم (٨، ١٣). صورة بالمجهر الإلكتروني الانتقالي (TEM) لليف نانو متمحور (coaxial nanofiber) باستخدام البولي كابريلاكتون (PCL) كقشرة (shell) والجيلاتين كلب (core). (نقلًا عن Huang, Z.-M., Zhang, Y.Z., and Ramakrishna, S., J. Polym. Sci. B: Polym. Phys., 43, 2852, 2005).

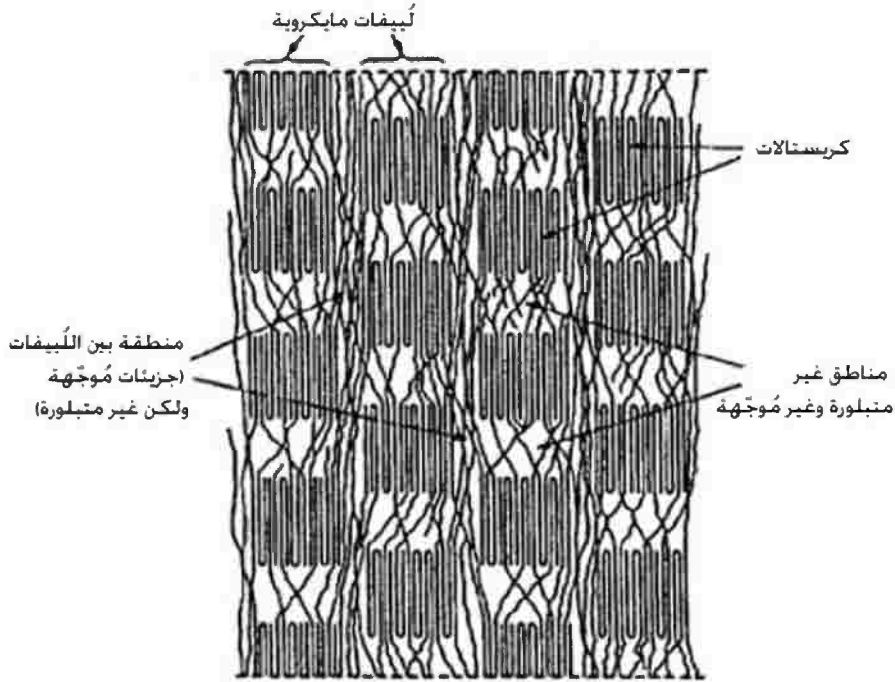
إن تأثيرات إضافة بوليمر ثانٍ في شكل ألياف متمحورة على الخصائص الميكانيكية للألياف المتمحورة هي مشابهة للألياف المخلوطة (blended fibers) بشكل عشوائي. ففي حين أظهرت بعض دراسات الألياف المتمحورة خصائص ميكانيكية رديئة (Sun et al. 2006; Han et al. 2007)، فقد لاحظت دراسات أخرى تحسُّناً في الخصائص الميكانيكية (Huang et al. 2005). ويمكن أن يُعزى انخفاض معامل الشد والمتانة الملاحظ في بعض الدراسات إلى التفاعلات الفيزيائية الضعيفة فيما بين سلاسل البوليمرات المختلطة والشكل الناقص غير التام (imperfect morphology) (Sun et al. 2006). وقد لوحظ ارتفاع معامل الشد والمتانة عندما تكون الألياف الناتجة أرفع وبدون خرزات (Huang et al. 2005).

(٨، ٤) آليات تشوه وفشل الألياف FIBER DEFORMATION AND FAILURE MECHANISMS

إن انعراج الأشعة السينية (X-ray diffraction) هو الجهاز الأكثر شيوعاً المستخدم لدراسة بنية ألياف النانو البوليمرية في المستوى البلوري (crystallite level). وقد تم استخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لمراقبة شكل السطح في حين تم استخدام المجهر الإلكتروني الانتقالي (TEM) لمراقبة البنية الداخلية (internal structure) للجزيئات الأكبر داخل ليف النانو، كما في حالة المواد المركبة. ومع ذلك، فلا يوجد سوى عدد قليل من الدراسات التي تذكر آليات تشوه وفشل ألياف النانو المغزولة كهربائياً نظراً للصعوبة في تصوير التغيرات في الشكل أثناء التشوه. وسيتم في هذه الفقرة عرض النظريات عن كيفية تشوه ألياف النانو أحادية الطور (single - phase nanofibers) وألياف النانو المركبة (composite nanofibers).

(٨,٤,١) ألياف النانو أحادية الطور Single-Phase Nanofibers

هناك حاجة لفهم شكل ألياف النانو المفردة من أجل فهم عملية تشوه وفشل الألياف النانوية المفردة. ويُظهر الشكل رقم (٨,٧) شكل الليف النانوي المصنوع من (PLLA) المغزول كما هو (as - spun) (لم يخضع لمعالجة إضافية)، ويُظهر الشكل رقم (٨,١٤) الرسم التخطيطي (schematic diagram) المقابل للشكل الليفي (fibrillar morphology) (Cicero and Dorgan 2001). على الرغم من أن المقصود من الرسم التخطيطي كان من أجل إذابة ألياف الـ (PLLA) المغزولة، إلا أنه لا يزال ينطبق على بعض ألياف النانو المغزولة كهربائياً؛ لأن كلتا العمليتين تتضمن بعضاً من شكل الرسم المطبق على ألياف النانو البوليمرية. ويتطابق الرسم التخطيطي أيضاً وبشكل وثيق مع الشكل الملاحظ من الصورة الطورية لمجهر القوة الذرية (AFM phase image). وقد تمت ملاحظة الشكل الليفي لألياف النانو المغزولة كهربائياً من قبل Zussman وآخرين في دراستهم لأنماط فشل ألياف النانو (Zussman et al. 2003). ومع ذلك، ونظراً لسرعة عملية الغزل الكهربائي، فيمكن لبعض البوليمرات أن لا تملك ما يكفي من الوقت للتبلور؛ وبالتالي يكون لها شكل مختلف عن ذلك المقترح في الشكل رقم (٨,١٤). وقد وُجد بأن لألياف الـ (PAN) النانوية المنتجة من قبل Ye وزملائه في العمل شكلاً غير متبلور (amorphous morphology) (Ye et al. 2004).



الشكل رقم (٨,١٤). رسم تخطيطي للشكل الليفي مع الخط العمودي الذي يمثل محور الليف. (من Cicero J.A. and Dorgan, J.R., *J. Polym. Environ.*, 9, 1, 2001).

بناءً على الشكل الليفي، فإن المناطق ذات المقاومة الأقل للتشوه هي عند المناطق بين الليفيات (interfibrillar areas). فأتثناء التشوه الخطي المرن (linear elastic deformation)، سيتم تقويم أي جزيئات رخوة (slack molecules). وأثناء التشوه اللدن (plastic deformation)، سيتشوه ليف النانو أو يتغير شكله عن طريق القص (shearing) بين الليفيات، حيث تمتلك المناطق بين الليفيات المقاومة الأقل للتشوه (Tan and Lim 2006a). تُظهر صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لألياف الـ (PEO) النانوية القريبة من الفشل عدة ليفيات تربط الطرفين المخطمين (Zussman et al. 2003)؛ مما يدل على أن الفشل بين الليفيات قد حدث أثناء التشوهات الكبيرة. وهذا ما يبدو مشابهاً للتشقق (crazing) الملاحظ في كثير من الأحيان في تكسير البوليمرات (cracking of polymers). وقد تم أيضاً ملاحظة التشقق في ألياف الـ (PAN) النانوية (Ye et al. 2004). ويرتبط تشكيل التشقق بتشابكات سلسلة البوليمر (polymer chain entanglements). فإذا كانت كثافة التشابكات عالية فيظهر البوليمر هشاً. وعند كثافة تشابك منخفضة يمكن لسلاسل البوليمر أن تتمدد فيما بين التشابكات بسهولة تحت تأثير قوى الشد (tensile forces)؛ مما يؤدي إلى تشكيل ليفيات داخلية المنشأ (intrinsic fibrils)؛ وبالتالي إلى حدوث التشقق. وتشير ظاهرة التشقق الملاحظة في الدراسة التي أجراها Ye وآخرون (٢٠٠٤) إلى أن ألياف البوليمر الناتجة عن طريق الغزل الكهربائي تحتوي على تشابكات ذات كثافة توزيع (distribution density) منخفضة.

إلى جانب التشوه بين الليفيات (interfibrillar deformation)، فقد لوحظ حدوث اختناق (necking) (Inai et al. 2005; Zussman et al. 2006) أو اختناقات متعددة (multiple necking) (Zussman et al. 2003). في مكان فشل الليف؛ مما يشير إلى شكل من أشكال الكسر اللين (ductile fracture). وينطبق هذا بشكل خاص على الألياف ذات البنى الأقل توجيهاً على طول محور الليف. وقد أشار Inai وآخرون إلى ظهور الكسر المشابه للاختناق (neck-like fracture) عند نقطة القطع للألياف المغزولة كهربائياً التي تم جمعها عند سرعة أقل على عجلة دوارة، والذي كان غائباً من ألياف النانو التي تم جمعها عند سرعة تجميع أعلى (Inai et al. 2005). إن ظواهر الاختناقات المتعددة التي تمت ملاحظتها في ألياف النانو هي فريدة لألياف النانو البوليمرية (polymeric nanofibers)، حيث لم تتم ملاحظتها في عينات البوليمر العيانية أو الكبيرة (macroscopic polymer specimens). وقد يكون ذلك عائداً إلى حقيقة أن ألياف النانو تمتلك نسباً جانبية (نسبة الطول إلى القطر length to diameter ratio) أعلى بكثير من تلك الخاصة بعينات البوليمر العيانية؛ والتي يمكنها استيعاب العديد من أطوال موجات الاضطراب (perturbation wavelengths)، الأمر الذي يؤدي إلى حدوث اختناقات متعددة (Zussman et al. 2003).

(٨، ٤، ٢) ألياف النانو المركبة Composite Nanofibers

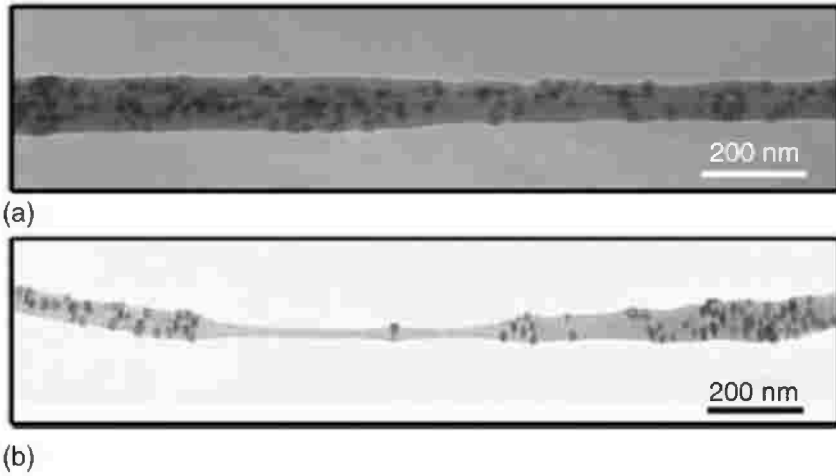
حتى الآن، تقتصر جميع دراسات التشوه المتاحة على ألياف النانو المركبة المعززة بالحشوات (filler-reinforced composite nanofibers). وقد اقترح Ye وآخرون (2004) و Kim وآخرون (2005a, 2005b, 2006) نماذج لآليات التشوه من أجل أنواع مختلفة من أنظمة التعزيز (reinforcement systems). وقد اقترح Lee وآخرون (2003b) عملية تشوه ميكانيكية (mechanical deformation process) عامة من ثلاث مراحل. وتتضمن العملية:

المرحلة الأولى: تركيز الإجهاد (stress concentration) بسبب وجود الحشوات أو المسام النانوية التي لها خصائص مرنة مختلفة عن المصفوفة.

المرحلة الثانية: إنتاج القص المحرض (induced shear) للمصفوفة (بدلاً من التشقق) بسبب الحجز المكاني (spatial confinement) للمصفوفة عن طريق الحشوات أو المسام.

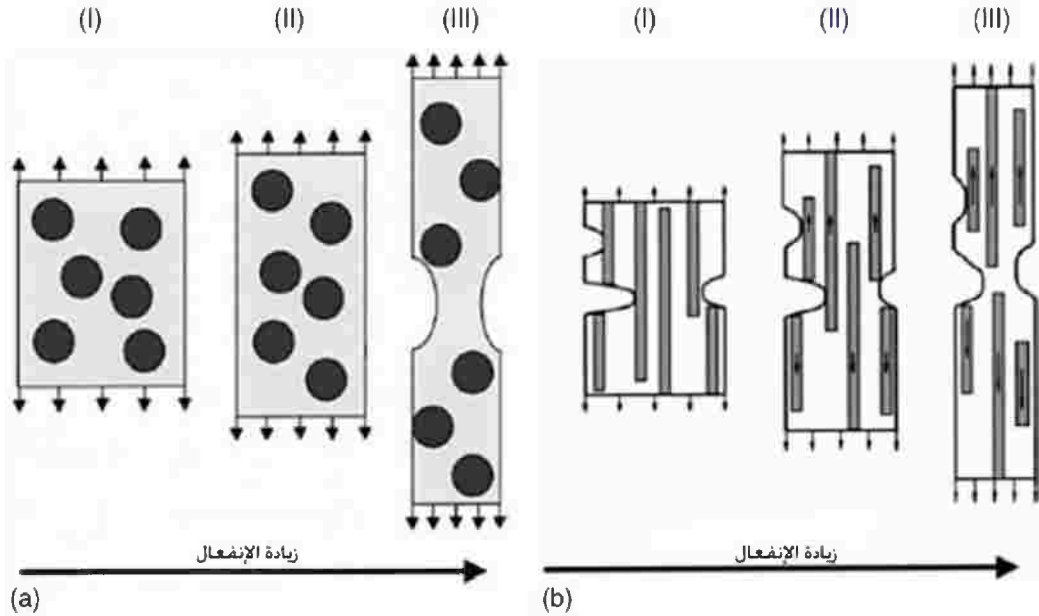
المرحلة الثالثة: حدوث الاختناق عندما يصل الانفعال إلى قيمة معينة حرجة بسبب تداخل حقول الإجهاد (stress fields) المحرض عن طريق متركزات الإجهاد (stress concentrators). وينتشر الاختناق على طول الليف إلى أن يحدث الفشل.

ويُظهر الشكل رقم (٨،١٥) تشوه ليف نانو مركب من بولي (ميتاكريلات الميثيل) (PMMA) / ثاني أكسيد السيليكون (SiO₂). ويُظهر الشكل رقم (٨،١٦) الرسوم التخطيطية للمراحل الثلاثة لتشوه مركب الـ (PMMA / SiO₂) والبولي كربونات (polycarbonate) مع أنابيب الكربون النانوية (CNTs) والمسافات النانوية (nanopores) على السطح. ومن ناحية أخرى، اقترح Ye وآخرون (٢٠٠٤) اعتبار أن التشقق هو النمط الرئيسي للتشوه، وأن استخدام مادة التعزيز الـ (CNTs) يعيق امتداد التشقق ويقلل من تركيز الإجهاد ويبدد الطاقة عن طريق سحب أنابيب الكربون النانوية (CNTs). ولم يُعثر على أي بوليمر يرتبط بأنابيب الكربون النانوية (CNTs) أحادية الجدار (SWNT)؛ مما يشير إلى أن الربط البيئي بين أنابيب الكربون النانوية (CNTs) والمصفوفة لم يكن قوياً بما فيه الكفاية للحفاظ على البوليمر مرتبطاً عندما يتم سحب أنابيب الكربون النانوية أحادية الجدار (SWNTs).



الشكل رقم (٨،١٥). صور المجهر الإلكتروني الانتقالي (TEM) لسلسلة من عمليات التشوه الميكانيكي (mechanical deformation processes): (a) قبل تشوه المركب النانوي (PMMA / SiO₂) المغزول كهربائياً، و (b) حالة مشوهة (deformed state) لما فوق الانفعال الحرج (critical strain) تحت حمل شد أحادي المحاور (uniaxial tensile load). (نقلاً عن Kim,

G.M., Lach, R., Michler, G.H., Pötschke, P., and Albrecht, K., *Nanotechnology*, 17, 963, 2006).



الشكل رقم (٨، ١٦). عرض تخطيطي لعمليات التشوه الميكانيكي (mechanical deformation processes) لألياف النانو المركبة المغرولة كهربائياً (electrospun composite nanofibers) تحت حمل شد أحادي المحور (uniaxial tensile load): (a) (PMMA) مع ١٠ ٪ وزناً من (SiO₂)، و (b) بولي كابريولاكتون (PCL) مع ٤ ٪ وزناً من أنابيب الكربون النانوية متعددة الجدران (multiwalled CNTs). (أعيد إنتاجها من Kim, G.M., Lach, R., Michler, G.H., Pötschke, P., and Albrecht, K., *Nanotechnology*, 17, 963, 2006).

ويمكن أن يكون الاختلاف في آلية التشوه المقترحة راجعاً إلى الاختلاف في الجزء الحجمي (volume fraction) لمواد الحشوات المستخدمة. وقد استخدم Ye وآخرون ١ ٪ وزن من أنابيب الكربون النانوية (CNTs) بينما استخدم Kim وآخرون ٤ ٪ وزناً من أنابيب الكربون النانوية (CNTs). فعندما يتم زيادة الجزء الحجمي لمادة الحشو، يتم تقليل المسافة بين الحشوات (على افتراض أن التبعر متجانس)؛ وبالتالي يتم تقليل المساحة المتاحة التي يمكن أن تشكل تشققات الأربطة (ligaments). وقد وُجد أنه من خلال تقليل سماكة الرباط (ligament thickness) لأقل من قيمة حرجة، فإنه يمكن إزالة الإجهادات الهيدروستاتيكية الحرجة المفرطة (excessive critical hydrostatic stresses) على نحو فعال، والذي يتطابق مع الانتقال الموضعي للانفعال السطحي إلى الإجهاد السطحي (plane - strain - to - plane-stress) في المصفوفة (Margolina and Wu 1988).

وعندما يحدث هذا، يتم كبح تشكيل التشقق بشكل كامل؛ لأن كثافة الطاقة السطحية (surface energy density) لتشكيل فراغ تتجاوز كثافة طاقة الانفعال الحجمية (volume strain energy density) في المادة أثناء تشوه العينة. وهكذا فقد لوحظ في دراسات Kim وآخرين إنتاج للقص فقط. ويمكن أن يكون هناك سبب آخر للاختلاف الملاحظ عائد إلى الطرق المختلفة المستخدمة للبحث على إحداث التشوهات التي يمكن ملاحظتها في ألياف النانو. وقد قام Kim وآخرون بالبحث لإحداث تشوه موضعي (in situ deformation) في ألياف النانو المفردة في المجهر الإلكتروني الانتقالي (TEM) عن طريق

الإجهادات الحرارية الناجمة عن الحزم الإلكترونية (electron beam - induced thermal stresses) بينما لقط Ye وآخرون ببساطة كمية صغيرة من ألياف الخيوط المغزولة كهربائياً باستخدام ملاقط صغيرة (tweezers) ووضعوها على شبكات من النحاس (copper grids) من أجل مراقبتها بالمجهر الإلكتروني الانتقالي (TEM). وقد أدت الطريقة السابقة على الأرجح إلى إنتاج معدل انفعال أبطأ وبالإضافة إلى ذلك فقد ازدادت درجة حرارة العينة أثناء التشوه. ومن شأن هذين العاملين أن يزيدا من تحرك سلاسل البوليمر؛ وبالتالي التشجيع على إنتاج القص أثناء التشوه.

عندما لا يشكل الحشو تكتلات كما في الحالات المعروضة هنا؛ يمكن أن يتم في الواقع تحسين متانة ألياف النانو حيث يتطلب الأمر المزيد من الطاقة لتشكيل الفراغ (void formation)، إما عن طريق تداخل أنابيب الكربون النانوية (CNTs) مع التشقق وإما عن طريق كبح تشكيل التشقق.

(٨،٥) الخلاصة والآفاق المستقبلية SUMMARY AND FUTURE OUTLOOK

بسبب التقدم التكنولوجي السريع في أجهزة وأنظمة التصوير واستشعار الحمل النيوتوني النانوي (nano - Newton load sensing) في العقد الماضي، فقد تم استكشاف البنية والخصائص الميكانيكية وآليات التشوه لألياف النانو المغزولة كهربائياً المفردة بمزيد من التفصيل. وقد وُجد بأن استخدام بارامترات الغزل الكهربائي التي تولّد ألياف نانو متجانسة ذات أقطار صغيرة تؤدي إلى منتج ذي صلابة ومتانة عالية، ولكن ذي ليونة منخفضة، في حين أن أي عملية تؤدي إلى تشكيل الخرزات في ألياف النانو المغزولة كهربائياً ستؤثر بشكل سلبي على الخصائص الميكانيكية. إن المعالجات ما بعد الغزل الكهربائي، والتي تؤدي إلى تقييد الحركة بين سلاسل البوليمر مثل الربط المتشابك والتصليب وتغيير الطور البلوري ستؤدي إلى إنتاج ألياف نانو أصلب. وقد تم إنتاج ألياف نانو مركبة في شكل ألياف نانو معززة بالحشوات ومركبات خلائط البوليمر. تعتمد فعالية التعزيز على نوعية الربط البيني بين مادة التعزيز والمصفوفة وعلى تجانس تبثر مادة الحشو وعلى درجة المحاذاة فيما يتعلق بمحور الليف (قابل للتطبيق من أجل مواد الحشو أحادية وثنائية الأبعاد). تؤدي مركبات خلائط البوليمر فقط إلى تعزيزات الصلابة والمتانة عندما تكون الألياف الناتجة ملساء ولها أقطار صغيرة. وبشكل عام، فإن هناك فصلاً طورياً في مثل هذه المركبات ويكون الترابط بين البوليمرين ضعيفاً؛ وبالتالي فإن الصلابة تتأثر بشكل سلبي. وغالباً ما تفشل ألياف النانو أحادية الطور من خلال الفشل بين اللييفات أو التشقق، مع اختناقات غالباً ما تظهر على طول الليف وفي موقع الفشل. فمن خلال إضافة مواد التعزيز إلى ألياف البوليمر النانوية يمكن زيادة الصلابة والمتانة حيث تتداخل الحشوات مع تشكيل الفراغ وتزداد الطاقة اللازمة لضغ الفراغات. وتغير التعزيزات أيضاً نمط الفشل من التشقق إلى إنتاج القص.

وعلى الرغم من أنه قد تم اكتساب المزيد من التبصر في السنوات الأخيرة عن كيفية ارتباط البنية بالخصائص الميكانيكية لألياف النانو المفردة، إلا أنه ينبغي القيام بالمزيد من البحث في مجال التصوير الموضعي (in situ imaging) لتشوه ليف نانوي مفرد وارتباط التشوه الملاحظ بخصائص الإجهاد - الانفعال (stress - strain characteristics) لألياف النانو. وبالتالي ومن أجل جعل ذلك ممكناً؛ فيجب أن يتم تطوير طريقة لتصوير وقياس سلوك التشوه المرتبط بالحمل (load - deformation behavior) لألياف النانو المفردة في نفس الوقت.

المراجع REFERENCES

- Ayutsede, J., M. Gandhi, S. Sukigara, et al. 2006. Carbon nanotube reinforced Bombyx mori silk nanofibers by the electrospinning process. *Biomacromolecules* 7: 208–214.
- Bellan, L.M., J. Kameoka, and H.G. Craighead. 2005. Measurement of the Young's moduli of individual polyethylene oxide and glass nanofibres. *Nanotechnology* 16: 1095–1099.
- Bhattacharai, N., Z. Li, D. Edmondson, and M. Zhang. 2006. Alginate-based nanofibrous scaffolds: Structural, mechanical, and biological properties. *Advanced Materials* 18: 1463–1467.
- Bolgen, N., Y.Z. Menceloglu, K. Acatay, I. Vargel, and E. Piskin. 2005. In vitro and in vivo degradation of non-woven materials made of poly(ϵ -caprolactone) nanofibers prepared by electrospinning under different conditions. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition* 16: 1537–1555.
- Chen, C., C. Cao, X. Ma, Y. Tang, and H. Zhu. 2006. Preparation of non-woven mats from all-aqueous silk fibroin solution with electrospinning method. *Polymer* 47: 6322–6327.
- Chew, S.Y., T.C. Hufnagel, C.T. Lim, and K.W. Leong. 2006. Mechanical properties of single electrospun drug-encapsulated nanofibres. *Nanotechnology* 17: 3880–3891.
- Choi, S.-S., J.-P. Hong, Y.S. Seo, S.M. Chung, and C. Nah. 2006. Fabrication and characterization of electrospun polybutadiene fibers crosslinked by UV irradiation. *Journal of Applied Polymer Science* 101: 2333–2337.
- Chronakis, I.S. 2005. Novel nanocomposites and nanoceramics based on polymer nanofibers using electrospinning process—A review. *Journal of Materials Processing Technology* 167: 283–293.
- Chuangchote, S., A. Sirivat, and P. Supaphol. 2007. Mechanical and electro-rheological properties of electrospun poly(vinyl alcohol) nanofibre mats filled with carbon black nanoparticles. *Nanotechnology* 18: 145705.
- Cicero, J.A. and J.R. Dorgan. 2001. Physical properties and fiber morphology of poly(lactic acid) obtained from continuous two-step melt spinning. *Journal of Polymers and the Environment* 9: 1–10.
- Deitzel, J.M., J. Kleinmeyer, D. Harris, and N.C.B. Tan. 2001. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer* 42: 261–272.
- Doshi, J. and D.H. Reneker. 1995. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics* 35: 151–160.
- Formhals, A. 1934. Process and apparatus for preparing artificial threads. [1,975,504]. US Patent.
- Gu, S.-Y., Q.-L. Wu, J. Ren, and G.J. Vansco. 2005. Mechanical properties of a single electrospun fiber and its structures. *Macromolecular Rapid Communications* 26: 716–720.
- Han, X., Z.M. Huang, C. He, and L. Liu. 2007. Preparation and characterization of core-shell structured nanofibers by coaxial electrospinning. *High Performance Polymers* 19: 147–159.
- Huang, L., K. Nagapudi, R.P. Apkarian, and E.L. Chaikof. 2001. Engineered collagen-PEO nanofibers and fabrics. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition* 12: 979–993.
- Huang, Z.-M., Y.Z. Zhang, M. Kotaki, and S. Ramakrishna. 2003. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology* 63: 2223–2253.
- Huang, Z.-M., Y.Z. Zhang, and S. Ramakrishna. 2005. Double-layered composite nanofibers and their mechanical performance. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* 43: 2852–2861.
- Huang, Z.-M., Y.Z. Zhang, S. Ramakrishna, and C.T. Lim. 2004. Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. *Polymer* 45: 5361–5368.
- Hwang, J., J. Muth, and T. Ghosh. 2007. Electrical and mechanical properties of carbon-black-filled, electrospun nanocomposite fiber webs. *Journal of Applied Polymer Science* 104: 2410–2417.
- Inai, R., M. Kotaki, and S. Ramakrishna. 2005. Structure and properties of electrospun PLLA single nanofibres. *Nanotechnology* 16: 208–213.

- Jaeger, R., H. Schonherr, and G.J. Vancso. 1996. Chain packing in electro-spun poly(ethylene oxide) visualized by atomic force microscopy. *Macromolecules* 29: 7634–7636.
- Ji, Y., B. Li, S. Ge, J.C. Sokolov, and M.H. Rafailovich. 2006. Structure and nanomechanical characterization of electrospun PS/Clay nanocomposite fibers. *Langmuir* 22: 1321–1328.
- Jose, M.V., B.W. Steinert, V. Thomas, et al. 2007. Morphology and mechanical properties of Nylon 6/MWNT nanofibers. *Polymer* 48: 1096–1104.
- Junkasem, J., R. Rujiravanit, and P. Supaphol. 2006. Fabrication of a-chitin whisker-reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite nanofibres by electrospinning. *Nanotechnology* 17: 4519–4528.
- Kidoaki, S., I.K. Kwon, and T. Matsuda. 2005. Mesoscopic spatial designs of nano- and microfiber meshes for tissue-engineering matrix and scaffold based on newly devised multilayering and mixing electrospinning techniques. *Biomaterials* 26: 37–46.
- Kim, G.-M., R. Lach, G.H. Michler, and Y.-W. Chang. 2005a. The mechanical deformation process of electrospun polymer nanocomposite fibers. *Macromolecular Rapid Communications* 26: 728–733.
- Kim, G.-M., G.H. Michler, and P. Pötschke. 2005b. Deformation processes of ultrahigh porous multiwalled carbon nanotubes/polycarbonate composite fibers prepared by electrospinning. *Polymer* 46: 7346–7351.
- Kim, G.M., R. Lach, G.H. Michler, P. Pötschke, and K. Albrecht. 2006. Relationships between phase morphology and deformation mechanisms in polymer nanocomposite nanofibres prepared by an electrospinning process. *Nanotechnology* 17: 963–972.
- Lee, K.H., H.Y. Kim, M.S. Khil, Y.M. Ra, and D.R. Lee. 2003a. Characterization of nano-structured poly(ϵ -caprolactone) nonwoven mats via electrospinning. *Polymer* 44: 1287–1294.
- Lee, K.H., H.Y. Kim, Y.J. Ryu, K.W. Kim, and S.W. Choi. 2003b. Mechanical behavior of electrospun fiber mats of poly(vinyl chloride)/polyurethane polyblends. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* 41: 1256–1262.
- Li, L., L.M. Bellan, H.G. Craighead, and M.W. Frey. 2006. Formation and properties of nylon-6 and nylon-6/montmorillonite composite nanofibers. *Polymer* 47: 6208–6217.
- Lu, J.-W., Y.-L. Zhu, Z.-X. Guo, P. Hu, and J. Yu. 2006. Electrospinning of sodium alginate with poly(ethylene oxide). *Polymer* 47: 8026–8031.
- Mack, J.J., L.M. Viculis, A. Ali, et al. 2005. Graphite nanoplatelet reinforcement of electrospun polyacrylonitrile nanofibers. *Advanced Materials* 17: 77–80.
- Margolina, A. and S. Wu. 1988. Percolation model for brittle-tough transition in nylon/rubber blends. *Polymer* 29: 2170–2173.
- Mathew, G., J.P. Hong, J.M. Rhee, H.S. Lee, and C. Nah. 2005. Preparation and characterization of properties of electrospun poly(butylene terephthalate) nanofibers filled with carbon nanotubes. *Polymer Testing* 24: 712–717.
- Matthews, J.A., G.E. Wnek, D.G. Simpson, and G.L. Bowlin. 2003. Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules* 3: 232–238.
- McCullen, S.D., D.R. Stevens, W.A. Roberts, S.S. Ojha, L.I. Clarke, and R.E. Gorga. 2007. Morphological, electrical, and mechanical characterization of electrospun nanofiber mats containing multiwalled carbon nanotubes. *Macromolecules* 40: 997–1003.
- Pedicini, A. and R.J. Farris. 2003. Mechanical behavior of electrospun polyurethane. *Polymer* 44: 6857–6862.
- Pham, Q.P., U. Sharma, and A.G. Mikos. 2006. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: A review. *Tissue Engineering* 12: 1197–1211.
- Ramakrishna, S., T.C. Lim, R. Inai, and K. Fujihara. 2006. Modified Halpin–Tsai equation for clay-reinforced polymer nanofiber. *Mechanics of Advanced Materials and Structures* 13: 77–81.
- Reneker, D.H. and I. Chun. 1996. Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. *Nanotechnology* 7: 216–223.

- Samuel, B.A., M.A. Haque, B. Yi, R. Rajagopalan, and H.C. Foley. 2007. Mechanical testing of pyrolysed poly-furfuryl alcohol nanofibres. *Nanotechnology* 18: 115704.
- Shin, M.K., S.I. Kim, S.J. Kim, S.-K. Kim, and H. Lee. 2006a. Reinforcement of polymeric nanofibers by ferritin nanoparticles. *Applied Physics Letters* 88: 193901.
- Shin, M.K., S.I. Kim, S.J. Kim, S.-K. Kim, H. Lee, and G.M. Spinks. 2006b. Size-dependent elastic modulus of single electroactive polymer nanofibers. *Applied Physics Letters* 89: 231929.
- Sombatmankhong, K., O. Suwanton, S. Waleetorncheepsawat, and P. Supaphol. 2006. Electrospun fiber mats of poly(3-hydroxybutyrate), poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), and their blends. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* 44: 2923–2933.
- Subbiah, T., G.S. Bhat, R.W. Tock, S. Parameswaran, and S.S. Ramkumar. 2005. Electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science* 96: 557–569.
- Sun, B., B. Duan, and X. Yuan. 2006. Preparation of core/shell PVP/PLA ultrafine fibers by coaxial electrospinning. *Journal of Applied Polymer Science* 102: 39–45.
- Tan, E.P.S., C.N. Goh, C.H. Sow, and C.T. Lim. 2005a. Tensile test of a single nanofiber using an atomic force microscope tip. *Applied Physics Letters* 86: 073115.
- Tan, E.P.S., S.Y. Ng, and C.T. Lim. 2005b. Tensile testing of a single ultrafine polymeric fiber. *Biomaterials* 26: 1453–1456.
- Tan, E.P.S. and C.T. Lim. 2006a. Effects of annealing on the structural and mechanical properties of electrospun polymeric nanofibres. *Nanotechnology* 17: 2649–2654.
- Tan, E.P.S. and C.T. Lim. 2006b. Mechanical characterization of nanofibers—A review. *Composites Science & Technology* 66: 1099–1108.
- Thomas, V., M.V. Jose, S. Chowdhury, J.F. Sullivan, D.R. Dean, and Y.K. Vohra. 2006. Mechano-morphological studies of aligned nanofibrous scaffolds of polycaprolactone fabricated by electrospinning. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition* 17: 969–984.
- Wang, M., H.-J. Jin, D.L. Kaplan, and G.C. Rutledge. 2004. Mechanical properties of electrospun silk fibers. *Macromolecules* 37: 6856–6864.
- Warner, S.B., A. Buer, S.C. Ugbohue, G.C. Rutledge, and M.Y. Shin. 1999. A fundamental investigation of the formation and properties of electrospun fibers. *Annual Report (M98-D01)*. USA, National Textile Center: 1–10.
- Xu, S., Y. Shi, and S.-G. Kim. 2006. Fabrication and mechanical property of nano piezoelectric fibres. *Nanotechnology* 17: 4497–4501.
- Ye, H., H. Lam, N. Titchenal, Y. Gogotsi, and F. Ko. 2004. Reinforcement and rupture behavior of carbon nanotubes-polymer nanofibers. *Applied Physics Letters* 85: 1775–1777.
- Yuya, P.A., Y. Wen, J.A. Turner, Y.A. Dzenis, and Z. Li. 2007. Determination of Young's modulus of individual electrospun nanofibers by microcantilever vibration method. *Applied Physics Letters* 90: 111909.
- Zhang, Y.Z. 2006. Electrospinning of composite nanofibers for tissue scaffolding applications. Department of Mechanical Engineering. Singapore, National University of Singapore: 150.
- Zhang, Y.Z., C.T. Lim, S. Ramakrishna, and Z.M. Huang. 2005. Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* 16: 933–946.
- Zhang, Y.Z., J. Venugopal, Z.M. Huang, C.T. Lim, and S. Ramakrishna. 2006. Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers. *Polymer* 47: 2911–2917.
- Zussman, E., M. Burman, A.L. Yarin, R. Khalfin, and Y. Cohen. 2006. Tensile deformation of electrospun nylon-6,6 nanofibers. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* 44: 1482–1489.
- Zussman, E., X. Chen, W. Ding, et al. 2005. Mechanical and structural characterization of electrospun PAN-derived carbon nanofibers. *Carbon* 43: 2175–2185.
- Zussman, E., D. Rittel, and A.L. Yarin. 2003. Failure modes of electrospun nanofibers. *Applied Physics Letters* 82: 3958–3960.

**تقنيات الغزل الكهربائي للتحكم بالترسيب
والتراصف البنيوي لحاملات الخلايا والأنسجة
ذات الألياف النانوية من أجل التوجيه الخلوي
 وإعادة التنظيم الهيكلي الخلوي
Electrospinning Techniques to Control
Deposition and Structural Alignment of
Nanofibrous Scaffolds for Cellular Orientation
and Cytoskeletal Reorganization**

Joel K. Wise, Michael Cho, Eyal Zussman, Constantine M. Megaridis, and Alexander L. Yarin

المحتويات CONTENTS

٣٧٠	INTRODUCTION مقدمة (٩,١)
	(٩,٢) تصنيع حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو المترصفة المغزولة كهربائياً FABRICATION OF ALIGNED
٣٧٣	ELECTROSPUN NANOFIBER SCAFFOLDS
٣٨٠	MATERIALS AND METHODS المواد والطرق (٩,٣)
	(٩,٣,١) الغزل الكهربائي لحاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابرولاكتون النانوية Electrospinning
٣٨٠	of PCL Nanofibrous Scaffolds
	(٩,٣,٢) زرع وبذر الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابرولاكتون
٣٨١	Human Mesenchymal Stem Cell Culture and Seeding on PCL Nanofibrous Scaffolds النانوية
	(٩,٣,٣) الفحص المجهرى المبائر الماسح بواسطة الليزر وتحليل التوجيه Laser Scanning Confocal Microscopy
٣٨١	and Orientation Analysis

٣٨٢	 and Fluorescence Visualization	(٩,٣,٤) قدرة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية على البقاء على قيد الحياة والإظهار التألقي hMSC Viability
٣٨٣	 Statistics	(٩,٣,٥) إحصائيات
٣٨٣	 RESULTS AND DISCUSSION	(٩,٤) النتائج والمناقشة
٣٨٣	 Characterization of Electrospun PCL Nanofibrous Scaffolds	(٩,٤,١) تحديد خصائص حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون المغزولة كهربائياً
٣٨٤	 and Nanofibers for Random and Oriented Scaffolds	(٩,٤,٢) توجيه الخلايا وألياف النانو من أجل حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية والموجهة Orientation of Cells
٣٨٨	 Consistent Long-Term Hmhc Alignment on Oriented Nanofibrous Scaffolds	(٩,٤,٣) محاذاة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية المتسقة طويلة الأمد على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة
٣٨٩	 hMSC Viability on PCL Nanofibrous Scaffolds	(٩,٤,٤) قدرة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية على البقاء على قيد الحياة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون النانوية
٣٩٠	 Reorganization and hMSC–Nanofiber Adhesions	(٩,٤,٥) إعادة التنظيم الهيكلي الخلوي والتصاقات الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية–ألياف النانو Cytoskeletal
٣٩٣	 CONCLUSIONS	(٩,٥) الاستنتاجات
٣٩٣	 ACKNOWLEDGMENTS	شكر وتقدير
٣٩٤	 REFERENCES	المراجع

(٩,١) مقدمة INTRODUCTION

إن الخلايا ولييفات المصفوفة خارج الخلية (ECM fibrils) في معظم الأنسجة الطبيعية ليست عشوائية، ولكنها تُظهر أنماطاً محددة بشكل جيد وتوجيهاً مكانياً محدداً. وقد أظهرت النتائج الأخيرة بأن حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة والمبنية من البوليمرات الحيوية لديها القدرة على هندسة الأوعية الدموية (blood vessels) [1] والأنسجة العصبية (neural tissue) [2] وأنسجة الأربطة (ligament tissue) [3]. بالإضافة إلى ذلك، فقد تبين أنه يتم تحسين التصاق الخلايا وتكاثرها بشكل كبير على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة (oriented nanofibrous scaffolds) [1]. وتقتصر نظرية توجيه الاتصال (contact guidance theory) بأن الخلايا لديها الاحتمال الأكبر للهجرة أو التنقل في اتجاهات مفضلة (preferred orientations) ترتبط بالخصائص الكيميائية والبنوية و / أو الميكانيكية للركيزة [4-6]. وبناءً على ذلك، فقد يكون من المفترض أن حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة ستوجه محاذاة الخلايا (cell alignment) على

طول ألياف النانو. ويمكن أن يكون تنظيم أو ترتيب الخلايا (cell arrangement) على حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة راجعاً إلى توجيه الاتصال و / أو إلى إعادة التنظيم الهيكلي الخلوي (cytoskeletal reorganization). ويمكن بالتالي للخلايا المتراصة أن تُستخدم لإعادة تشكيل (remodel) أو تعديل (modulate) المصفوفة خارج الخلية (ECM) والبيئة المايكروية (microenvironment) المشكلة من جديد [7].

إن الدافع الخاص لهذا العمل هو هندسة بنية شبيهة بالأنسجة (tissue-like construct)، والتي سوف تحاكي المنطقة السطحية للغضروف المفصلي (superficial zone of articular cartilage). فمن المعروف أن الغضروف المفصلي يتألف بشكل أساسي مما لا يقل عن أربع مناطق مختلفة، وكل منطقة ذات تنظيم أو توجيه معين للخلايا والمصفوفة خارج الخلية (ECM) [10-80]. وهذه المناطق معروفة على أنها منطقة سطحية أو تماسية (superficial or tangential zone) ومنطقة متوسطة أو انتقالية (intermediate or transitional zone) ومنطقة عميقة أو شعاعية (deep or radial zone) ومنطقة متكلسة (calcified zone). ويمكن أن يُعزى التنظيم المحدد للخلايا والمصفوفة خارج الخلية (ECM) داخل كل منطقة غضروفية إلى التاريخ التطوري (developmental history) والقوى الميكانيكية التي يتعرض لها كل من هذه المناطق الغضروفية؛ مما يدعم الوظيفة الكلية للنسيج الغضروفي المفصلي (articular cartilage tissue) [12,13]. لقد ركّز العديد من التقارير المنشورة على التنظيم المناطقي للخلايا الغضروفية (zonal organization of chondrocytes) ضمن البوليمرات المتوافقة حيويًا من أجل البنى الغضروفية المفصلية المهندسة نسيجياً [14-18]. بالإضافة إلى ذلك، فقد استخدمت الأوراق التي نُشرت مؤخراً خلايا غضروفية وخلايا جذعية متوسطة بشرية (human mesenchymal stem cells - hMSCs) وحاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد ذات ألياف نانو بوليميرية عشوائية من أجل هندسة الأنسجة الغضروفية (cartilage tissue engineering) [19-23]. ومع ذلك، فإن محاولات هندسة المنطقة السطحية على وجه التحديد للغضروف المفصلي باستخدام خلايا جذعية متوسطة بشرية (hMSCs) وحاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانو موجهة لم يتم ذكرها في التقارير. تُظهر المنطقة السطحية للنسيج الغضروفي المفصلي الطبيعي خلايا غضروفية مسطحة شبه إهليلجية أو بيضاوية (flattened, ellipsoidal-like chondrocytes) ولييفات من الكولاجين في مستوى النانو (nanoscale collagen fibrils)، والتي تكون موجهة على التوازي مع مستوى السطح المفصلي (articular surface)، مع درجة كبيرة من التوجيه في ذلك السطح [8-11]. وعلى الرغم من أنها عبارة عن عدد قليل من الطبقات الرقيقة فقط، إلا أنه قد تم تأكيد أهمية هذه المنطقة السطحية؛ لأنها توفر خصائص الشد العالي (high tensile properties) التي يتم الحفاظ عليها عن طريق توجيه الخلايا ولييفات الكولاجين [12,13]؛ وبالتالي فهي حاسمة من أجل وظيفة طبيعية عند السطح الغضروفي المفصلي. إن الخطوة الضرورية الأولى نحو هندسة الأنسجة الوظيفية (functional tissue engineering) للمنطقة السطحية الغضروفية تتطلب تقييماً كمياً لالتصاق وتوجيه الخلايا.

من أجل العمل بشكل صحيح، يجب على الخلايا المبذورة في حاملة الخلايا والأنسجة أن تكون قادرة على الاتصال مع بيئتها عن طريق إشارات كيميائية حيوية (biochemical signals) وإشارات كهربائية حيوية (bioelectrical signals) وإشارات طوبولوجية (topological signals) مناسبة. وتؤثر طوبوغرافيا وتركيب البيئة المايكروية (أي المصفوفة خارج الخلية

الأصلية (native ECM)) على الوظائف الخلوية (cellular functions) مثل الالتصاق (adhesion) والنمو (growth) والتحرك (motility) والإفراز (secretion) والتعبير الجيني (gene expression) والموت المبرمج للخلايا (apoptosis). ومن المعروف جيداً أن لدى البنية المادية للمصفوفة خارج الخلية الأصلية أبعاداً في مستوى النانو. إن ارتفاع نسبة المساحة السطحية إلى الحجم (surface area - to - volume ratio) لحاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو وقطر الألياف في مستوى النانو من المحتمل أن يوفر الظروف الملائمة من أجل التصاق ونمو الخلايا. فعلى سبيل المثال، ولأن الكولاجين هو العنصر الأكثر وفرة في المصفوفة خارج الخلية (ECM)، لا تكون حاملات الخلايا والأنسجة المبنية من الكولاجين والمولفة من ليفيات في مجال أقطار يتراوح من ١٠ إلى ٣٠٠ نانومتر متوافقة حيويًا فحسب بل يمكنها أن توفر أيضاً واحدة من البنى الليفية النانوية (nanofibrous structures) الأكثر مثالية من أجل هندسة الأنسجة [24]. وفي الواقع، فقد تبين أن الخلايا تلتصق وتتنظم حول الألياف ذات الأقطار الأصغر من أقطار الخلايا [24,25].

إن لدى الخلايا الجذعية (stem cells) خاصية فريدة للتجديد الذاتي (self-renewal) من دون أن تتمايز حتى، وما لم يتم تزويدها بالإشارات البيولوجية والفيزيائية (biological and physical signals) المناسبة. وفي سياق هندسة الأنسجة، فإن استخدام الخلايا الجذعية له مزايا عديدة. على عكس بنى الأنسجة المهندسة باستخدام الخلايا المتمايزة، فإن الخلايا الجذعية (١) لديها قدرة تكاثرية (proliferative capacity) عالية، و (٢) توفر قدرة تجديدية (regenerative capability) ممتازة والتي ستؤدي على الأرجح إلى الكمال والوظيفة المرغوبة للنسيج المهندس، و (٣) تجعل من الممكن التفكير ملياً في بنى نسيجية متعددة الوظائف (multifunctional tissue constructs) (على سبيل المثال، نسيج عظمي غضروفي (osteochondral tissue))، و (٤) تخفض أو تتخلص من رفض وفشل الأنسجة (tissue rejection and failure). ومن المثير للجدل الآن بأن الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) يمكن زراعتها وتنميتها في المختبر (in vitro)، ويمكن تحريضها لتكاثر وتتمايز إلى أنماط خلايا ظاهرية محددة للأنسجة (tissue-specific cell phenotypes) مثل الخلايا المولدة للغضروف (chondrogenic cells) والخلايا المولدة للعظم (osteogenic cells) والخلايا المكونة للشحم (adipogenic cells) والخلايا المولدة للعضل (myogenic cells) وذلك باستخدام المحفزات البيولوجية والفيزيائية (biological and physical stimuli) [26-29]؛ وبالتالي فإنها توفر القدرة على إصلاح وتجديد الأنسجة العضلية الهيكلية (musculoskeletal tissue). ففي حين تم التعرف على القدرة العلاجية الهائلة للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) من أجل علاج الأنسجة التالفة أو المريضة، فإن تعقيد الأحداث المرتبطة بتحول خلايا الطليعة أو خلايا السلف (precursor cells) تلك يترك الكثير من الأسئلة لم يتم الرد عليها حول التغيرات الشكلية والبنوية والبروتينية والوظيفية في الخلايا الجذعية. وستسمح المعرفة الأكثر تفصيلاً حول سلوك الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) باستخدام طرق أفضل وأكثر فعالية لتوسيع نمو هذه الخلايا في المختبر، وتنظيم التزامها بنمط ظاهري محدد. فعلى سبيل المثال، لقد تبين أن التحكم بتوجيه وتكاثر وتمايز الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) يُعدّل الجوانب الوظيفية (functional aspects) للبنى النسيجية المهندسة (engineered tissue constructs) [30,31]. ولذلك؛ فإن هندسة بيئة تفضي إلى توجيه والتصاق وتكاثر وتمايز الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) هو بالأهمية القصوى في هندسة الأنسجة.

الغزل الكهربائي (electrospinning) [32-37] هو تقنية واعدة لإنشاء بنى هندسية غطية من الألياف من أجل تنظيم التفاعلات الخلوية والجزيئية لالتصاق وتكاثر وتمايز وتوجيه الخلايا الجذعية. وقد تم استخدام مجموعة متنوعة من البوليمرات الطبيعية أو التركيبية في إطار الغزل الكهربائي لتصنيع وتصميم حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية متوافقة حيويًا من

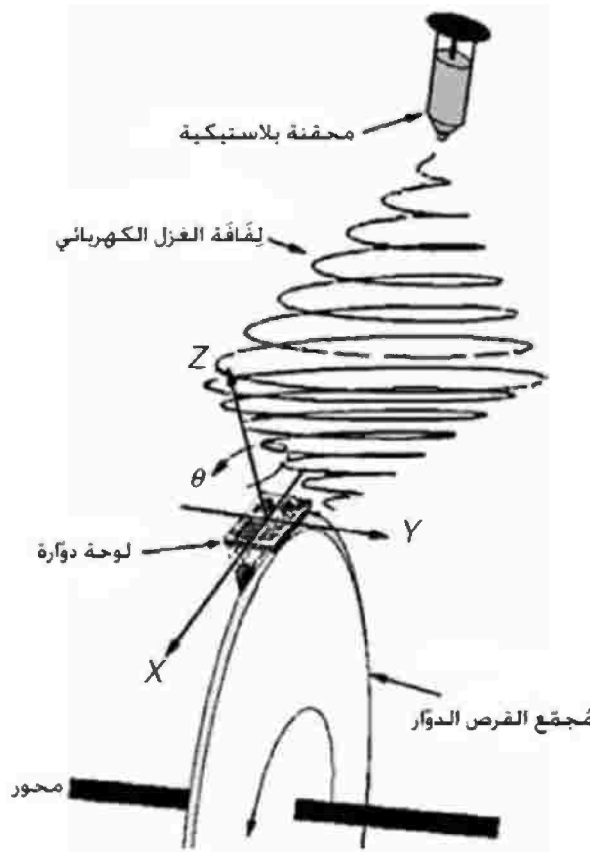
أجل تطبيقات هندسة الأنسجة. فعلى سبيل المثال، البولي كابريولاكتون (PCL) هو مادة قابلة للتحلل الحيوي ويُظهر عملياً عدم سُمِّية وتحللاً قابلاً للتحكم به (controllable degradation) وهو غير مكلف [38]. البولي كابريولاكتون (PCL) هو بوليمر شبه بلوري (semicrystalline polymer) وهو ينتمي إلى عائلة البوليستر ألفا - هيدروكسي (α -hydroxy polyesters) (على سبيل المثال PLA، PGA) ويمكن أن يعزز وبشكل كبير من الخصائص الميكانيكية لحاملة الخلايا والأنسجة بسبب معامل الشد (tensile modulus) العالي الخاص به (٤٠٠ ميغا باسكال (MPa)؛ [39,40]). وتتجاوز هذه الخصائص الميكانيكية معامل المرونة (elastic modulus) للنسيج الغضروفي (تقريباً ١٠ ميغا باسكال) وتقع في مجال معامل المرونة لألياف الكولاجين (collagen fibers) (تقريباً ٥٠٠ ميغا باسكال)؛ مما يوحي بأن حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المصنوعة من البولي كابريولاكتون (PCL) تُظهر بشير نجاح ممتاز من أجل هندسة الأنسجة الغضروفية. وبالإضافة إلى ذلك، فقد تم مؤخراً استخدام البولي كابريولاكتون (PCL) لإثبات توافقه مع بذر واستيعاب الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) ودعم التمايز متعدد السلالات (multilineage differentiation) [20,21,38].

في العمل الحالي، سنستعرض أولاً التقنيات المختلفة المستخدمة لمحاذاة ألياف النانو (align nanofibers) أثناء الغزل الكهربائي. وفي الفقرات اللاحقة، سنسعى إلى تنظيم وتحديد توجيه الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) كميّاً على اثنتين على الأقل من حاملات الخلايا والأنسجة المختلفة ذات الألياف النانوية من البولي كابريولاكتون (PCL) والمصنعة باستخدام الغزل الكهربائي. وباستخدام تحليل الصور المتطور، فقد تم تحديد توجيه الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) على حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية العشوائية والموجهة كميّاً أثناء فترة زراعة من ١٨ يوماً. بالإضافة إلى ذلك، فقد تم استكشاف وربط قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة على المدى الطويل (long - term cell viability) وإعادة التنظيم الهيكلي الخلوي (cytoskeletal reorganization) والتصاقات الخلايا - ألياف النانو (cell - nanofiber adhesions) مع توجيه الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية المحرّض بالاتصال (contact - induced hMSC orientation) على ألياف النانو. يمكن للتطبيقات العلاجية وهندسة الأنسجة المبنية على أساس الخلايا الجذعية أن تكون مُعززة ومُبسطة بواسطة الطرق الفيزيائية، كذلك الطريقة المعروضة هنا، وذلك للتحكم بالبيئة المايكروية من أجل نمو وتمايز الخلايا الموجه.

(٩،٢) تصنيع حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو المترصفة المغزولة كهربائياً FABRICATION OF ALIGNED ELECTROSPUN NANOFIBER SCAFFOLDS

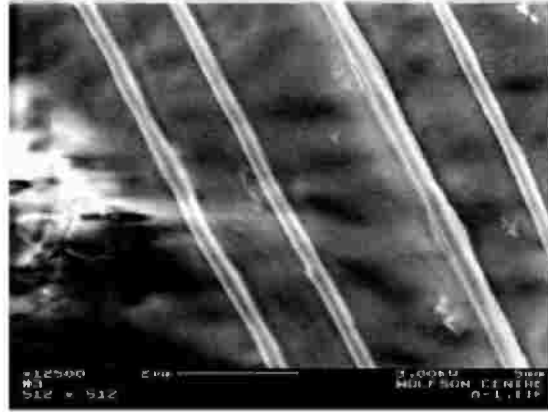
يعود تاريخ تقنيات المحاذاة الموضعية (in situ alignment) لألياف النانو المغزولة كما هي، والتي لم تخضع لمعالجة إضافية (as - spun nanofibers) باستخدام قوى التنافر الكهرستاتيكي (electrostatic repulsion forces) إلى الأعمال [41,42]، حيث تم تقديم أول عدسة كهرستاتيكية (electrostatic lens) من أجل الغزل الكهربائي. وقد اكتسبت فكرة العدسة الكهرستاتيكية في الغزل الكهربائي الزخم في دراسات أخرى [43-46]، حيث تم استخدام بعض التعديلات الإضافية باستخدام هذا المبدأ. ويظهر في الشكل رقم (٩،١) رسم تخطيطي للجهاز التجريبي المستخدم في المراجع [41,42]. فقد تدفق النفثات نزولاً من سطح القطرة المتدلية (pendant drop) من محلول البوليمر المعلق في نهاية إبرة نحو مجمع على شكل عجلة دوّارة

(rotating wheel collector) موضوع على مسافة ١٢٠ ميليمتر تحت القطيرة (droplet). وكان لعجلة الألمنيوم (التي يبلغ قطرها ٢٠٠ ميليمتر) حافة مدببة (tapered edge) مع نصف زاوية بقيمة ٢٦.٦ درجة من أجل إنشاء حقل كهروستاتيكي تقاربي (converging electrostatic field) بشكل قوي. وقد طُبّق في البداية فرق جهد كهربائي من حوالي ٨ كيلو فولت بين سطح القطرة السائلة والعجلة الدوّارة. فعندما تمت زيادة فرق الجهد بين القطيرة المتدلية والعجلة المؤرّضة (grounded wheel)، اكتسبت القطيرة شكلاً شبيهاً بالمخروط (cone - like shape) (مخروط تايلور Taylor cone). وعند فرق جهد عالٍ بما فيه الكفاية، ظهر نفث ثابت من المخروط وانتقل نحو الأسفل باتجاه العجلة. وتدفق النفث بعيداً عن القطيرة في خط مستقيم تقريباً ومن ثم انحنى في مسار معقد حيث تم احتواءه ضمن منطقة مخروطية الشكل تقريباً (conical region) (مخروط مغلف envelope cone)، [32]، ذروته إلى الأعلى. ومن ثم وعند نقطة معينة فوق العجلة بدأ المخروط المغلف بالتقلص، مؤدياً إلى إنتاج مخروط مغلف مقلوب وذروته عند حافة العجلة.



الشكل رقم (٩, ١). رسم تخطيطي لعملية الغزل الكهربائي (electrospinning process) يُظهر مغلف ثنائي المخروط من النفثات (double - cone envelope of the jet). ويمكن أن تُزوّد عجلة الجمع (collector wheel) بلوحة (table) بحيث تساعد على جمع ألياف النانو. ويمكن أن تدور اللوحة حول محور Z عند توقف دوران العجلة بشكل مؤقت للسماح بجمع طبقة تلو الطبقة عند زاوية مرغوبة بين طبقات مصفوفة ألياف النانو. (من Zussman, E., Theron, A., and Yarin, A.L., *Appl. Phys. Lett.*, 82, 973, 2003).

أثناء عملية الغزل الكهربائي، تدور العجلة بسرعة ثابتة لجمع ألياف النانو النامية على حافتها الحادة. وعندما يصل ليف النانو المغزول كما هو والذي لم يخضع لأي معالجة إضافية إلى حافة العجلة، فإنه يلتف حول العجلة. ويمكن أيضاً للوحة صغيرة (بقياس 5×4 ميليمترات) مصنوعة من الألمنيوم أن تُربط إلى حافة العجلة لتسهيل الجمع المتتالي للألياف النانو. ويمكن أن تدور اللوحة حول محورها (Z) (انظر الشكل رقم ٩.١) عند توقف دوران العجلة بشكل مؤقت؛ وبالتالي يمكن التحكم في اتجاه ألياف النانو التي يتم جمعها. وعادةً ما يتم جمع ألياف النانو لفترة أكثر من ١٠ ثوانٍ. ويظهر في الشكل رقم (٩.٢) مصفوفات ألياف نانو (nanofiber arrays) نموذجية ثنائية الأبعاد مصنوعة من بولي (أكسيد الإيثيلين) (poly(ethylene oxide) - PEO) باستخدام هذه الطريقة. وقد كانت السرعة الخطية (linear speed) عند طرف المجمع القرصي ١١ مترًا / ثانية في هذه الحالة. ولم يكن قطر ألياف النانو في الشكل رقم (٩.٢) متجانسًا، فهو يتغير من ٢٥٠ إلى ٤٠٠ نانومتر، ومن ٢٠٠ إلى ٥٠٠ نانومتر في الشكل رقم (٩.٢) b. ويتغير الفصل بين ألياف النانو المتوازية من ١ إلى ٢ مايكرومتر في كلتا الصورتين.



(a)

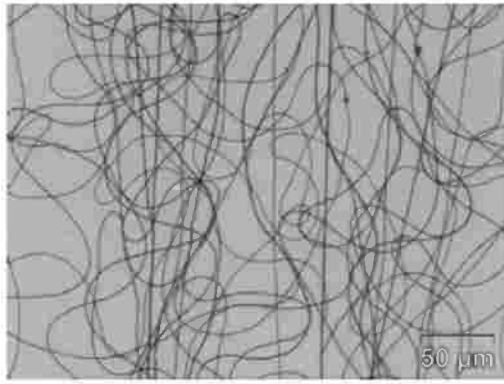


(b)

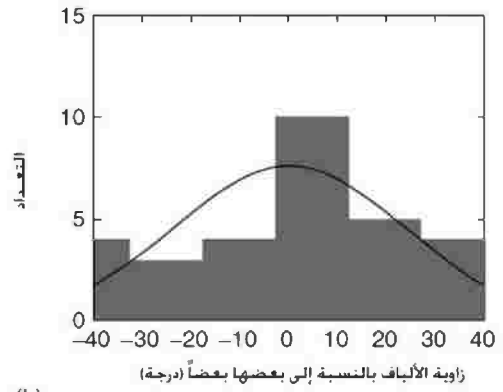
الشكل رقم (٩.٢). صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لألياف بولي (أكسيد الإيثيلين) النانوية المتراصة (aligned PEO nanofibers) التي تم جمعها على شريط من الكربون (carbon tape) ملتصق بحافة عجلة المجمع. في (a)، يتغير قطر الألياف من ٢٥٠ إلى ٤٠٠ نانومتر. في (b)، يتغير قطر الألياف من ٢٠٠ إلى ٥٠٠ نانومتر. ويتغير الانحدار (pitch) (من المركز إلى مركز) من ١ إلى ٢ مايكرومتر في كلتا الصورتين. (من (Theron, A., Zussman, E., and Yarin, A.L., *Nanotechnology*, 12, 384, 2001).

يبقى جزء من ليف نانوي طويل مترسب على اللوحة مشحوناً لفترة وجيزة. لذلك ؛ فعندما تسقط حلقة جديدة من الليف النانوي (nanofiber loop) على اللوحة ، فإنها تنفر من خلال الأجزاء الساقطة سابقاً التي لا تزال مشحونة. تسمح هذه الآلية بتشكيل مصفوفات ثنائية الأبعاد (2D arrays) على اللوحة مشابهة لتلك التي تظهر في الشكل رقم (٩.٢). إن سرعة الدوران الخطية (linear rotation speed) للعجلة تلعب دوراً حاسماً في تمدد (stretching) وتراصف أو محاذاة (aligning) أجزاء ألياف النانو على طول اللوحة بعد هبوطها (انظر الشكل رقم ٩.٣). ويمكن عند سرعات دوران خطية للعجلة من ٥ إلى ١٠ مترات / ثانية تحقيق محاذاة كافية لألياف النانو (الشكل رقم ٩.٣ c و e). تُظهر توزيعات الزوايا (angle distributions) (المتعلقة باتجاه دوران العجلة) والمبينة في الشكل رقم (٩.٣ b و d و f) بأنه عند سرعات دوران منخفضة لم يتحقق التوجيه المرغوب للألياف (الشكل رقم ٩.٣ b) ؛ وعند سرعات دوران أعلى ، تُظهر التوزيعات الزاوية (angular distributions) التوجيه المرغوب للألياف وتصبح أضيق مع زيادة سرعة الدوران الخطية (الشكل رقم ٩.٣ d و f). تعمل نفس الآلية بشكل رئيسي عندما يتم غزل ألياف النانو كهربائياً على شياقات (أعمدة دوران اسطوانية) دوارة (rotating mandrels) [46-48]. ومع ذلك ، فعندما لا يكون هناك أي تقييدات جانبية مفروضة بواسطة الحافة الحادة للعجلة (العدسة الكهرستاتيكية) ، فإن الانحرافات الجانبية (sideways excursions) للألياف تكون كبيرة جداً ويمكن تحقيق درجة أقل من المحاذاة. يقابل متغير وسيط (intermediate variant) شريطاً معدنياً (metal ribbon) (وهو ما يعادل لوحة ممدودة ضيقة (elongated narrow table)) موضوعاً على أعلى الحافة الحادة للعجلة. وقد كان من الممكن لشرائط ألياف النانو (nanofiber strips) المتراكمة على مثل هذا الشريط أن تتراصف بشكل جيد أيضاً. وهذا هو السبب أن الطبقات المستوية من ألياف النانو الموجهة (oriented nanofiber mats) والمستخدم في الفقرات التالية من هذا العمل كانت مغزولة كهربائياً على شريط موضوع في أعلى العجلة الدوارة الحادة.

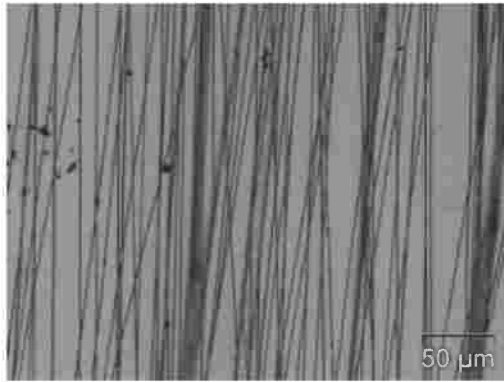
وقد تم التأكيد على أن تمدد أجزاء ألياف النانو بعد الهبوط الأول على المجمع الدوار يعزز وبشكل إضافي من متانة شدها (tensile strength) ، والذي هو مرغوب فيه من أجل عدد من التطبيقات الطبية الحيوية [46-48].



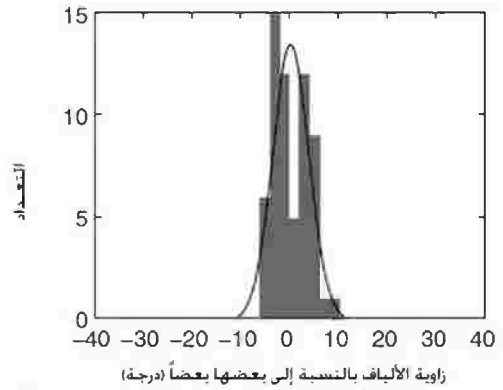
(a)



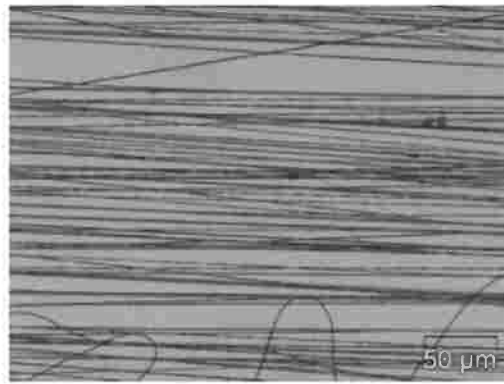
(b)



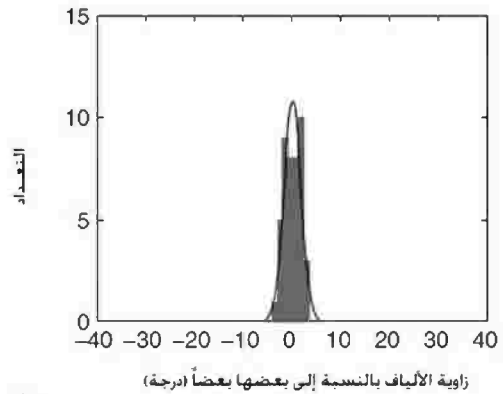
(c)



(d)



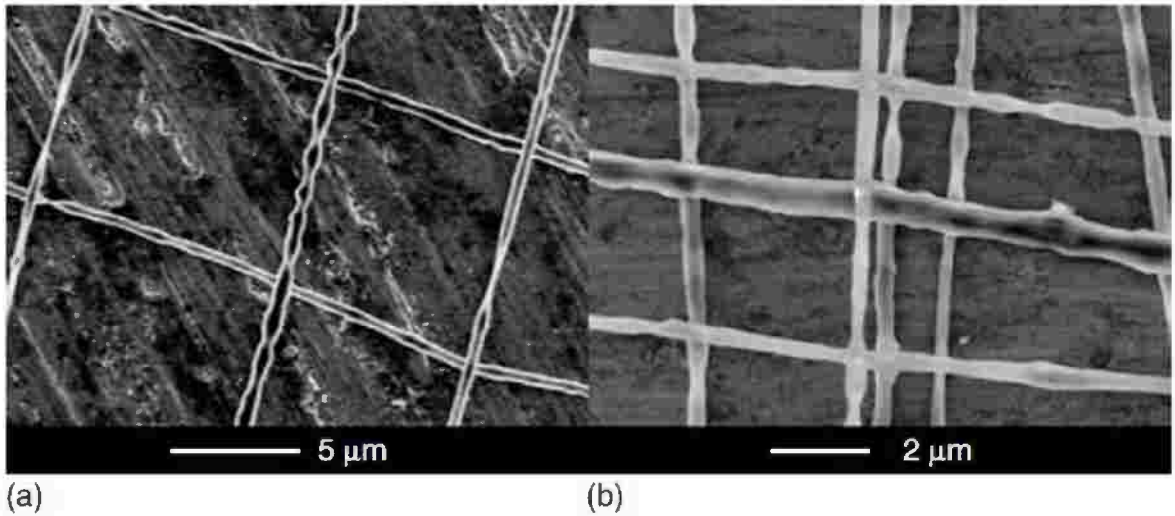
(e)



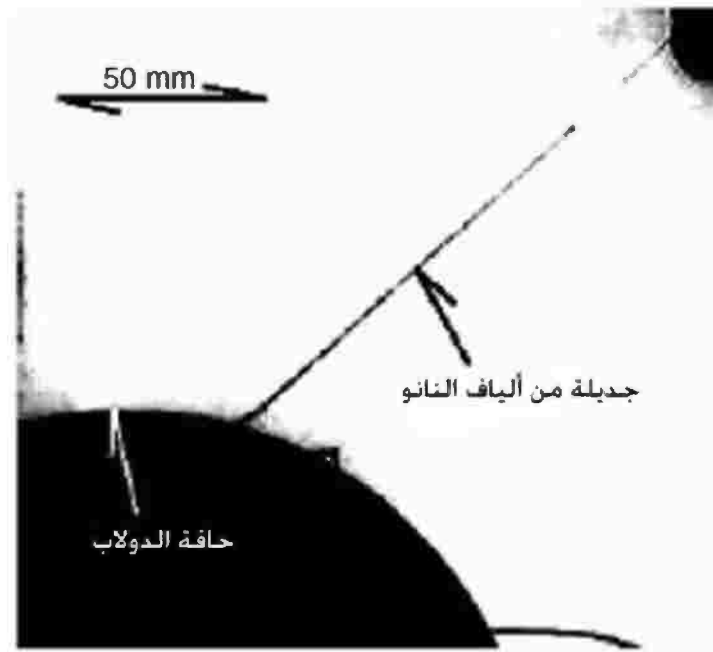
(f)

الشكل رقم (٩,٣). توجيه ألياف النانو عند سرعات دوران خطية مختلفة للعجلة: (a) ٢,٩ مترًا / ثانية؛ (b) التوزيع المقابل للتوجيه الزاوي للألياف والمعبّر عنه من حيث الزاوية بالنسبة لاتجاه دوران العجلة (الانحراف المعياري SD = ٢٣,٤٤ درجة)؛ (c) ٥,٣ مترًا / ثانية؛ (d) التوزيع المقابل للتوجيه الزاوي للألياف (SD = ٣,٧ درجة)؛ (e) ٧,٧ مترًا / ثانية؛ (f) التوزيع المقابل للتوجيه الزاوي للألياف (SD = ١,٨ درجة). ويُعزى القسم المتموج من الليف في (e) إلى الجزء الأخير من الخيط المجمّع عندما تم بالفعل إيقاف الحقل الكهربائي. وكانت ألياف النانو مغزولة كهربائيًا من ٤٪ وزنًا من بولي (أكسيد الإيثيلين) (PEO) (الوزن الجزيئي = ١٠٠٠ كيلو دالتون) في محلول الإيثانول / الماء.

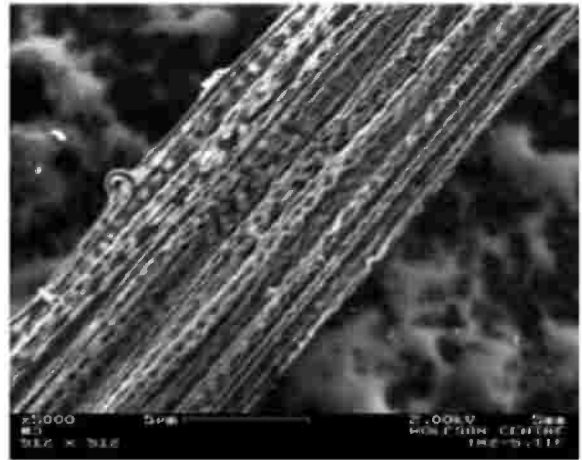
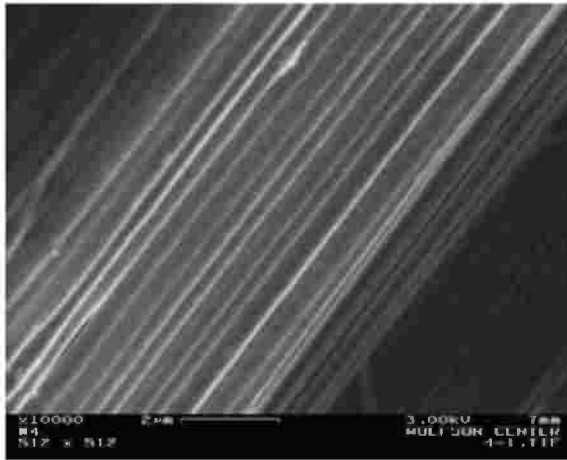
وقد تم وصف مصفوفات نموذجية ثلاثية الأبعاد من ألياف النانو (ذات خطوط مستعرضة crossbars) في الشكل رقم (٩،٤). وتُظهر ألياف البولي (أكسيد الإيثيلين) (PEO) النانوية التي تم جمعها درجة عالية من المحاذاة. إن قطر ألياف النانو في هذه الحالة هو أيضاً غير متجانس (nonuniform) ويتغير في المجال من ١٠٠ إلى ٨٠٠ نانومتر. وعندما تمت عملية الغزل الكهربائي لألياف النانو على الحافة الحادة للعجلة بدون اللوحة، تم الحصول على حزم (bundles) (حبال ropes) من ألياف النانو. وتظهر في الشكل رقم (٩،٥) صورة نموذجية لحبل من ألياف النانو تم سحبه من حافة العجلة. وقد كانت مدة عملية الجمع في هذه الحالة ٦٠ ثانية. وتم فصل الحبل يدوياً من حافة العجلة [41]. ويظهر في الشكل رقم (٩،٦) تفاصيل صورتين من صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لحبال من ألياف البوليمر المنتجة بهذه الطريقة. تكون ألياف النانو متلامسة، وتبقى متوازية تقريباً لمسافات طويلة.



الشكل رقم (٩،٤). صور نموذجية بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لمصفوفات متشابكة (crossed arrays) من ألياف النانو المبنية من بولي (أكسيد الإيثيلين) (PEO)، والتي تم جمعها على لوحة من الألمنيوم. وقد تم الحصول على بنى الخطوط المستعرضة (crossbar structures) في عملية التجميع المتتالي مع اتجاهات متعامدة مع موضع اللوحة. (a) تجميع ثنائي الطبقات (two - layer assembly) و (b) تجميع رباعي الطبقات (four - layer assembly). (من Zussman, E., Theron, A., and Yarin, A.L., *Appl. Phys. Lett.*, 82, 973, 2003).



الشكل رقم (٩,٥). حزمة (حبل) من ألياف النانو المتراصة (aligned nanofibers) مسحوة يدوياً من المجموع. وقد تم جمع كل ألياف النانو تقريباً على الحافة الحادة لعجلة المجموع (edge of the sharpened wheel collector). (من Theron, A., Zussman, E., and Yarin, A.L., *Nanotechnology*, 12, 384, 2001).



الشكل رقم (٩,٦). صور نموذجية بالجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لحزمتين (حبلين) من ألياف بولي (أكسيد الإيثيلين) (PEO) النانوية المتراصة. الكثافة هي حوالي ١٠٠ ليف نانو في المايكرومتر المربع. (من Theron, A., Zussman, E., and Yarin, A.L., *Nanotechnology*, 12, 384, 2001).

(٩,٣) المواد والطرق MATERIALS AND METHODS**(٩,٣,١) الغزل الكهربائي لحاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون النانوية Lectrospinning of PCL Nanofibrous Scaffolds**

تم إنتاج ألياف النانو بأقطار من عدة مئات من النانومتر باستخدام طريقة الغزل الكهربائي كما هو موصوف سابقاً [32,33,41,42] (راجع الفقرة ٩,٢). وقد كانت كل حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو البوليمرية المغزولة كهربائياً مصنوعة من البولي كابريولاكتون (PCL) مع وزن جزيئي (molecular weight) ٨٠ كيلو دالتوناً (Sigma - Aldrich) والمغزول كهربائياً من محلول ١٠٪ وزن في كلوريد الميثيلين/ثنائي ميثيل الفورم أميد (methylene chloride / dimethylformamide) بنسبة ٢٥/٧٥ (حجم). وقد تم الحصول على نوعين مختلفين من حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية المغزولة كهربائياً وتم تصنيفها على أنها عشوائية أو موجهة. وقد تم إنتاج حاملة الخلايا والأنسجة العشوائية (random scaffold) عن طريق الغزل الكهربائي لألياف النانو البوليمرية على ركيزة مسطحة من الألمنيوم (flat aluminum substrate)؛ مما أدى إلى إنتاج حاملة خلايا وأنسجة غير محبوكة (nonwoven scaffold) ذات توجيه غير محدد لألياف النانو. وقد تم إنتاج حاملة خلايا وأنسجة موجهة (oriented scaffold) عن طريق جمع ألياف النانو على شريط معدني ضيق عند حافة عجلة دوارة [41,42] (راجع الفقرة ٩,٢)؛ مما أدى إلى إنتاج حاملة خلايا وأنسجة ذات ألياف نانو مع توجيه محدد بشكل واضح. وقد تمت عملية الغزل الكهربائي لمحلول البوليمر من محقنة ذات حجم ٥ ميلي لترات مرتبطة بإبرة معدة للاستعمال تحت الجلد (hypodermic needle) (قطرها الداخلي ٠,١ ميليمترًا) وباستخدام معدل تدفق بقيمة ١ ميلي لتر/ساعة. وقد تم وضع قطب كهربائي من النحاس (copper electrode) في محلول البوليمر وتم الغزل الكهربائي للآخر باتجاه الحافة الحادة للمجمع المؤرض كهربائياً (electrically grounded collector) (الشكل رقم ٩,١). وقد كانت شدة الحقل الكهربائي (strength of the electric field) ١,١ كيلو فولتاً / سنتيمتر. وكانت السرعة الخطية لحافة عجلة المجمع ١٠ مترات / ثانية. لقد أجريت جميع التجارب في درجة الحرارة المحيطة (ambient temperature) (تقريباً ٢٥ درجة مئوية) في الهواء مع رطوبة نسبية (relative humidity) ٤٠٪. وقد تم استخدام التصوير بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) للحصول على صور لكل نوع من حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية. وقد تم إجراء مشاهدات التصوير بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لحاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من البولي كابريولاكتون (PCL) باستخدام المجهر الإلكتروني متغير الضغط (variable pressure electron microscope) من نوع (Hitachi S-3000N). إن لهذا الجهاز مصدر إلكترونات من التنغستن (tungsten electron source) وهو قادر على تصوير عينات في ضغوط متغيرة تتراوح من ١ إلى ٢٧٠ باسكال (Pa). تحت الضغط المتغير، يمكن تصوير العينات غير الموصلة (nonconducting specimens) من دون طلاء طبقة فيلم موصلة (conductive film). ويمكن أن يتغير الجهد المسارع (الجهد المسرع) (accelerating voltage) ضمن المجال من ٠,٣ إلى ٣٠ كيلو فولتاً مع دقة تباين أو ميز بقيمة ٥ نانومتترات عند جهد كهربائي بقيمة ٢٥ كيلو فولتاً. وقد تم تقدير أقطار ألياف النانو باستخدام معالج صور (image processor) وهو (MetaMorph, Molecular Device Corp., Downingtown, Pennsylvania).

(٩,٣,٢) زرع وبذر الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابرولاكتون

Human Mesenchymal Stem Cell Culture and Seeding on PCL Nanofibrous Scaffolds النانوية

تم الحصول على الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) من مصدر الخلايا الجذعية المتوسطة البالغة (Adult Mesenchymal Stem Cell Resource) (جامعة تولين Tulane في نيو أورليانز، لويزيانا). وقد تمت زراعة الخلايا في أوساط نمو كاملة (complete growth media) تتكون من وسط eagle المعدل بالـ Dulbecco's modified eagle's (DMEM - medium) والمزود بـ ١٥ ٪ من المصل البقري الجنيني (fetal bovine serum - FBS) و ٢ ميلي مول من إل - جلوتامين (L-glutamine) و ١ ٪ من المضادات الحيوية (antibiotics) والمضادات الفطرية (antimycotics) (التركيز النهائي: البنسلين (penicillin) ١٠٠ وحدة / ميلي لتر، والستربتوميسين (streptomycin) ١٠٠ مايكرو غرام / ميلي لتر، والأمفوتريسين بي (amphotericin B) ٠,٢٥ مايكرو غراماً / ميلي لتر). في هذه التجارب تم استخدام الخلايا في مرحلة الإمرار أو الانتقال ٦ (passage 6). ومن المادة الكتلية (bulk material) للطبقات المستوية والشرائط ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً، تم تقطيع أقراص صغيرة من حاملات الخلايا والأنسجة (scaffold disks) مع مساحة من حوالي ٠,٣ سنتيمتراً مربعاً من أجل تجارب زرع وبذر الخلايا. وقد تم نقع حاملات الخلايا والأنسجة في البداية في الإيثانول (ethanol) ٧٠ ٪ لمدة ساعة واحدة وتم تجفيفها وتعقيمها تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية (UV light) لمدة ٦ ساعات على كل جانب، وقد تم تبلييلها مسبقاً عن طريق النقع في أوساط زراعة خلايا كاملة (complete cell culture media) مع المصل لمدة ٤٨ ساعة وذلك لتعزيز امتصاص البروتين (protein adsorption). ولبذر الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو من البولي كابرولاكتون (PCL)، تم توزيع الخلايا بالمص بشكل مباشر على حاملات الخلايا والأنسجة عند كثافة $10 \times 7,5$ خلية / سنتيمتر مربع. وقد تمت إضافة أوساط الزراعة، ومن أجل الزراعة طويلة الأمد، تم استبدال هذه الأوساط كل ٢ إلى ٣ أيام.

(٩,٣,٣) الفحص الجهري المباثر الماسح بواسطة الليزر وتحليل التوجيه Laser Scanning Confocal Microscopy and Orientation Analysis

تم تصوير العينات في اليوم الأول (٢٤ ساعة بعد البذر الأولي للخلايا الجذعية على حاملات الخلايا والأنسجة)، ومن ثم في الأيام ٤ و ٨ و ١٢ و ١٥ و ١٨. ومن أجل تحليل اتجاه الخلايا (cell orientation analysis)، تم تلوين مجموعة واحدة من العينات باستخدام الـ (CellTracker CMFDA) (١٥ مايكرو مولاً من ثنائي أسيتات ٥-كلوروميثيل فلوريسئين (5-chloromethylfluorescein diacetate) $15 \mu\text{m}$) (وهو مُلوّن متألق باللون الأخضر)، من مسابير الإنفيتروجين الجزيئية Molecular Probes Invitrogen، كارلسباد Carlsbad، كاليفورنيا) من أجل التصوير المتألق (fluorescence imaging) وتم تثبيتها في ٣,٧ ٪ من محلول ملحي مدروء بفوسفات الفورمالدهايد (formaldehyde phosphate buffered saline - PBS) لضمان أن توجيهات وأشكال الخلايا كانت في حالات غير متغيرة أثناء التصوير. سمحت النسب القوية للإشارة إلى الضجيج (signal - to - noise ratios) بتحليل كمي موثوق لصور توجيه الخلايا. وقد تم استخدام مجهر مُباثر ماسح بواسطة الليزر/

الفوتونات المتعددة (multiphoton / laser scanning confocal microscope) (Radiance 2000, Bio-Rad, Hercules, California) ومجهر عاكس (inverted microscope) من نوع (Nikon TE2000-S) مع عدسة مجهر بتكبير ٢٠ مرة من (Plan Apo) ($NA = 0.75$) لإنتاج الصور. ففي حين تم اكتشاف الخلايا الملونة بواسطة (CMFDA) بشكل متألق، تم تصوير ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية نفسها في النمط المنعكس [49]. وبالتناوب بين النمطين المتألق والمنعكس، أمكن تصوير الخلايا وألياف النانو من موقع المنطقة نفسه على العينة. وقد تم أخذ صور من خمس مشاهدات مختلفة على الأقل تم اختيارها عشوائياً على كل عينة في نقاط زمنية مختلفة لزراعة الخلايا من اليوم ١ إلى اليوم ١٨. وباستخدام تحليل الصور، تم تحديد توجيه الخلايا والألياف كمياً بالنسبة إلى مرجع (على سبيل المثال، محور أفقي horizontal axis) لكل مشهد مُصوّر. وقد تم تسهيل قياس توجيه الخلايا عن طريق الشكل الممدود (elongated shape) للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs)، والذي أظهر محوراً رئيسياً محدداً بشكل واضح.

(٩,٣,٤) قدرة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية على البقاء على قيد الحياة والإظهار التألقي hMSC Viability and Fluorescence Visualization

تم تلوين العينات باستخدام مُقايَسة (فحص) قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة (cell viability assay) (من المسابير الجزيئية Molecular Probes). وباختصار، ينتشر الـ (calcein AM) (٢ مايكرو مول) عبر غشاء الخلايا الحية، ويتفاعل مع إنزيم الإستراز داخل الخلوي (intracellular esterase) ليعت تالقاً أخضر (green fluorescence)، في حين يمكن للإيثيديوم المشوي التماثل ١- (ethidium homodimer-1) (٤ مايكرو مولات) أن يدخل فقط الخلايا الميتة ذات غشاء الخلية التالف ليعت تالقاً أحمر (red fluorescence) عند الارتباط بالأحماض النووية (nucleic acids). ومن أجل كل عينة تم تحديد العدد الكلي من الخلايا والنسبة المئوية للخلايا الحية والميتة من ثلاث مناطق مشاهدة على الأقل تم اختيارها بشكل عشوائي.

وقد تم تلوين الخيوط المايكروية (microfilaments) باستخدام رودامين - فالويدين (rhodamine - phalloidin) (١٧٠ نانو مول، من المسابير الجزيئية Molecular Probes). وقد تم اختيار عينات من الأيام ٤ و ١٨ من أجل تلوين الخيوط المايكروية وتم تثبيتها في ٣.٧٪ لمحلول ملحي مدّروء بفوسفات الفورمالدهايد (formaldehyde PBS). وللسماح بالنفوذ (permeabilize) عبر غشاء الخلية، تم وضع العينات في ٠.٥٪ من الـ (Triton X-100) في محلول ملحي مدّروء بالفوسفات (PBS) لمدة ٥ دقائق عند درجة حرارة ٤ مئوية، وتم غسلها ثلاث مرات باستخدام محلول ملحي مدّروء بالفوسفات (PBS). ولتقييد مواقع الربط غير المحددة (nonspecific binding sites)، تم وضع العينات في الحاضنة بشكل مسبق مع ١٪ من (BSA) لمدة ٣٠ دقيقة، وتم غسلها ثلاث مرات باستخدام محلول ملحي مدّروء بالفوسفات (PBS). وتم تلوين خيوط الأكتين (actin filaments) حتى صباح اليوم التالي باستخدام رودامين - فالويدين في ١٪ من الـ (BSA). وقد تم العثور على بنى فريدة شبه ملتصقة من الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية - ألياف النانو (hMSC - nanofiber adhesion - like structures) وتم فحصها أيضاً باستخدام عدسات مجهر عالية التكبير.

(٩,٣,٥) إحصائيات STATISTICS

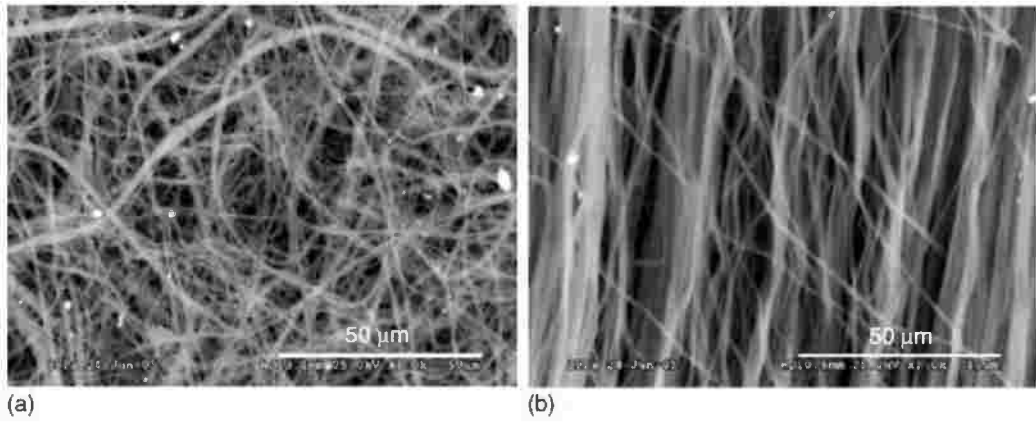
لكل مشهد مُصوّر من عينات حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة المبذورة بالخلايا (cell - seeded oriented nanofibrous scaffolds) والمقابلة للأيام ١ و ٤ و ٨ و ١٢ و ١٥ و ١٨، تم حساب متوسط زاوية اتجاه الخلايا (cell orientation angle) ومتوسط زاوية اتجاه الألياف (fiber orientation angle) بالنسبة إلى اتجاه مرجعي. وقد حدد الفرق بين هاتين الكميتين متوسط الزاوية النسبية للخلايا - ألياف النانو. وبالإضافة إلى ذلك، فقد تم الحصول على توزيعات زوايا الخلايا (cell angle distributions) النسبية بالنسبة إلى متوسط زوايا توجيه الألياف المقابلة من أجل ثلاثة مشاهد على كل عينة من حاملات الخلايا والأنسجة. وتم تحليل هذه التوزيعات الثلاث بشكل إحصائي باستخدام اختبار تي ستودنت ثنائي الطرف (Student's two-tailed t test) وتم تحديد التفاوتات بحيث لا تكون مُعتدًا بها إحصائيًا ($P < 0.05$). وبالتالي، ومن خلال الجمع بين البيانات من المشاهد الثلاث المنفصلة، تم تشكيل توزيع إجمالي لكل يوم. وهكذا تم الحصول على متوسط الزاوية النسبية للخلايا - الألياف جنبًا إلى جنب مع الانحراف المعياري (standard deviation) المقابل لكل يوم. وتشير الزوايا النسبية المتوسطة للخلايا - الألياف بقيمة ١٠ درجات أو أقل إلى محاذاة خلايا موازية لألياف النانو الموجهة أساسًا. وفيما يتعلق بحاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو العشوائية، فإن جميع القيم ضمن توزيعات زوايا الخلايا - ألياف النانو لديها احتمالات متساوية؛ وبالتالي لا يمكن تحديد أي قيم متوسطة للزوايا. ومع ذلك، فيمكن مقارنة توزيعات زوايا الخلايا - ألياف النانو في حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو العشوائية بشكل نوعي مع تلك الموجودة في حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة.

(٩,٤) النتائج والمناقشة RESULTS AND DISCUSSION

(٩,٤,١) تحديد خصائص حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابرولاكتون المغزولة كهربائيًا

Characterization of Electrospun PCL Nanofibrous Scaffolds

تم إنجاز التصوير باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لمراقبة الشكل البنيوي (structural morphology) لألياف النانو في كل نوعي حاملات الخلايا والأنسجة (العشوائية أو الموجهة). وتُظهر حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية (الشكل رقم ٩.٧ a) بأنها تتكون من ألياف نانو ليس لها توجيه محدد. وفي المقابل، أظهرت حاملات الخلايا والأنسجة الموجهة (الشكل رقم ٩.٧ b) ألياف نانو ذات توجيه محدد (شمال - جنوب في هذه الحالة). وقد كانت غالبية ألياف النانو في حاملات الخلايا والأنسجة الموجهة متراففة بالنسبة إلى بعضها بعضًا. وقد تم تقدير متوسط قطر ليف النانو على أنه 820 ± 340 نانومتر. وبناءً على صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM)، فإن هذه الحاملات تتميز بمسامية (porosity) مناسبة للتصاق وتكاثر وقدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة.

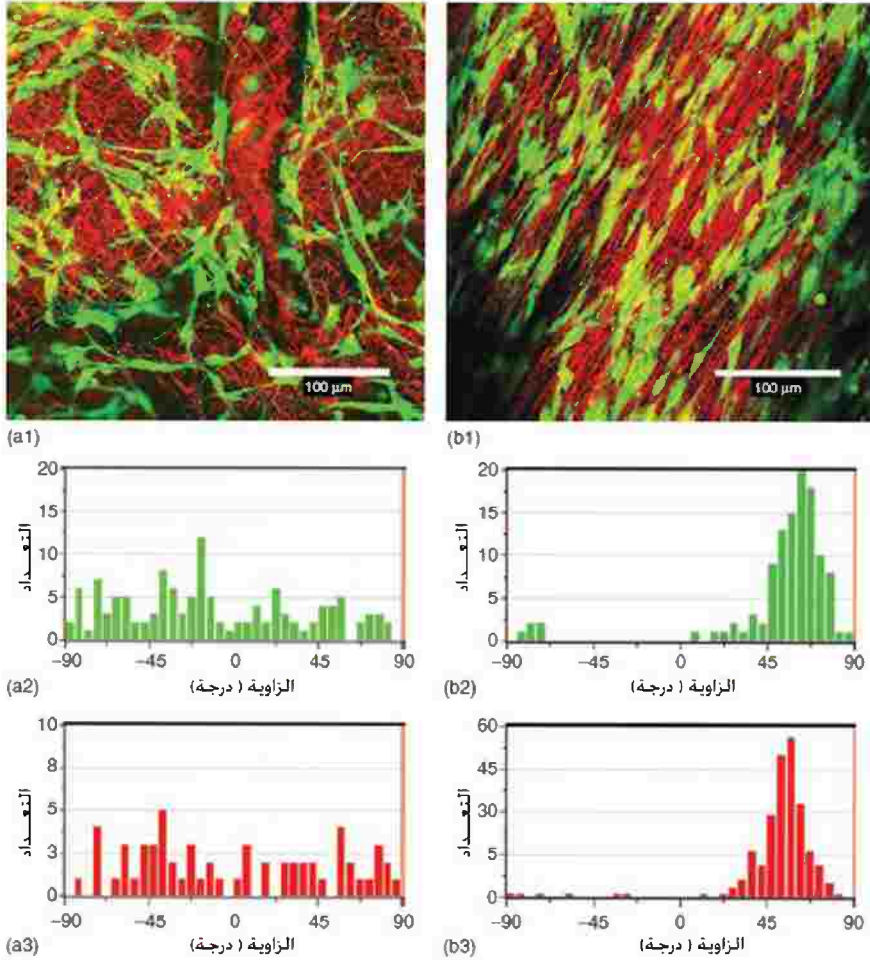


الشكل رقم (٩،٧). صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية في حاملات الخلايا والأنسجة من البولي كابرولاكتون (PCL) العشوائية، و (b) الموجهة. البقع البيضاء الظاهرة في كلتا الصورتين هي فتات (أجزاء صغيرة) من البولي كابرولاكتون (PCL fragments) تتولد من إنشاء قشرة البوليمر عند مخرج فوهة جهاز الغزل الكهربائي.

(٩،٤،٢) توجيه الخلايا وألياف النانو من أجل حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية والموجهة Orientation of Cells and Nanofibers for Random and Oriented Scaffolds

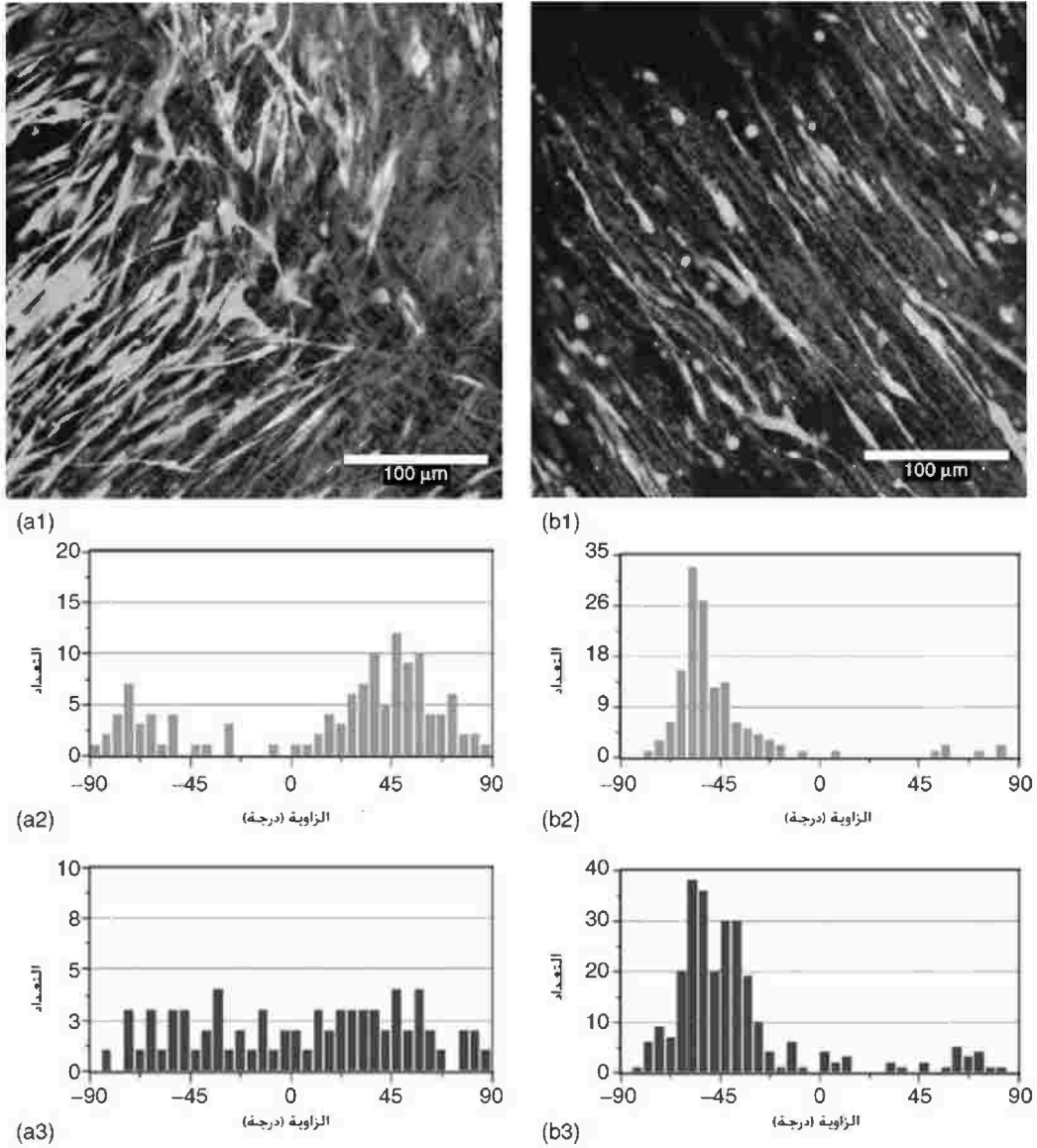
تم تصوير الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) وألياف النانو في وقت واحد عن طريق الفحص المجهر الإلكتروني الماسح بواسطة الليزر (laser scanning confocal microscopy - LSCM) لتحديد تأثير توجيه ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية المغزولة كهربائياً على محاذاة الخلايا. يُظهر الشكل رقم (٩،٨) صوراً متراكبة بألوانٍ مستعارة للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) (باللون الأخضر)، وألياف النانو (باللون الأحمر) على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية (a1) العشوائية و (b2) الموجهة بعد يوم واحد من زراعة الخلايا. فعندما تمت مراقبة الصور أصبح من الملاحظ وبشكل واضح أنه، وبعد فقط ٢٤ ساعة من الحضنة، كانت هناك اختلافات كبيرة في توجيه الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية بالمقارنة مع تلك المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة الموجهة. وقد تم تحديد زوايا اتجاه الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) بالنسبة إلى المحور الأفقي من أجل عينات حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية والموجهة. وتُظهر الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي (histograms) توزيعات زوايا توجيه الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) بعد يوم واحد من زراعة الخلايا في الرسوم البيانية ذات الشريط الأخضر في الشكل رقم (٩،٨). وكما هو مؤكد من خلال التوزيع الضيق لزوايا الخلايا المبين في الرسم البياني للتوزيع الإحصائي في الشكل رقم (٩،٨ b2) (الانحراف المعياري ١٦ درجة)، فقد تم تحفيز الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) لتتراصف على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة. بالإضافة إلى ذلك، فقد تطابقت محاذاة الخلايا على حاملات الخلايا والأنسجة الموجهة إلى حد بعيد مع التوجيه الأساسي لألياف النانو في حاملات الخلايا والأنسجة (الشكل رقم ٩،٨ b3)، حيث بلغ الانحراف المعياري لتوزيع زوايا ألياف النانو ١٥ درجة. ومن ناحية أخرى، فقد أظهرت الخلايا المبذورة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو العشوائية

لمدة ٢٤ ساعة عدم وجود اتجاه محدد للخلايا (الشكل رقم ٩.٨ a1)، والتي تم تأكيدها من خلال التوزيع الزاوي العريض في الرسم البياني للتوزيع الإحصائي من الشكل رقم (٩.٨ a2). وبشكل مماثل، فقد أظهرت ألياف النانو في حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية أيضاً توزيعاً زاوياً عريضاً (الشكل رقم ٩.٨ a3).



الشكل رقم (٩,٨). صور متراكبة وبألوانٍ مستعارة للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) (باللون الأخضر)، وألياف النانو (باللون الأحمر) في حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية (a1) العشوائية و (b1) الموجهة بعد ٢٤ ساعة من زراعة الخلايا. تُظهر الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي توزيعات زوايا اتجاه الخلايا بالنسبة إلى المحور الأفقي من أجل الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) على حاملات الخلايا والأنسجة (a2) العشوائية و (b2) الموجهة. وتُظهر الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي توزيعات زوايا اتجاه ألياف النانو بالنسبة إلى المحور الأفقي من أجل حاملات الخلايا والأنسجة (a3) العشوائية و (b3) الموجهة. وقد تم بناء الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي في (a2) و (a3) اعتماداً على القياسات لـ ١٢٧ خلية و ٢٣٤ ليف نانوي، على التوالي، بينما تم استخدام ١٢٤ خلية و ٢٤٩ ليف نانوي لبناء الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي في (b2) و (b3)، على التوالي.

وكانت اتجاهات الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) وألياف النانو في كل نوع من حاملات الخلايا والأنسجة بعد فترة زراعة أطول ولمدة ١٨ يوماً مشابهة وبشكل ملحوظ لتلك التي وجدت بعد زراعة الخلايا لمدة يوم واحد. ويُظهر الشكل رقم (٩.٩) نتائج اليوم ١٨. لقد بقيت الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة (الشكل رقم ٩.٩ b1) لمدة ١٨ يوماً محافظةً على درجة ممتازة من المحاذاة التامة للخلايا. وقد تم تأكيد ذلك مرة أخرى من خلال الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي لمحاذاة الخلايا المكاني على حاملات الخلايا والأنسجة الموجهة (الشكل رقم ٩.٩ b2) واتجاه ألياف النانو (الشكل رقم ٩.٩ b3)؛ حيث يُظهر كلاهما توزيعات ضيقة للزوايا (الانحرافات المعيارية من ٢٠ درجة و ٣٢ درجة، على التوالي) وتطابقاً ملحوظاً مع بعضها بعضاً. وقد أظهرت الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة الموجهة وبشكلٍ نوعي شكلاً أرقاً وأكثر امتداداً من الخلايا المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية؛ مما يشير إلى أن شكل الخلية قد يكون متأثر من خلال البنية المنظمة لألياف النانو. وبشكلٍ مشابه للنتائج التي تم الحصول عليها بعد يوم واحد من الحضنة، لم تُظهر الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية بعد ١٨ يوماً (الشكل رقم ٩.٩ a1) أي توجيه للخلايا ذا أهمية، وقد حافظت على توزيع أعرض بشكلٍ بارز لزاويا توجيه الخلايا يمتد على أكثر من ١٨٠ درجة (الشكل رقم ٩.٩ a2)، والذي يرتبط مع التوزيع العشوائي لزاويا اتجاه ألياف النانو (الشكل رقم ٩.٩ a3). ومع ذلك، فلا بد من الإشارة إلى أنه وبعد ١٨ يوماً من زراعة الخلايا قد بدت الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) بأنها تُظهر بضع مناطق من المحاذاة الذاتية "الموضعية" (self-alignment "localized") في حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية. وكما هو مشاهد في الجزء السفلي الأيسر من الشكل رقم (٩.٩ a1)، تبدو بعض الخلايا بأنها تُظهر توجيهاً تفضيلاً أو محدداً (preferred orientation)، على النحو الذي تم تأكيده من خلال الجزء جرسى الشكل (bell-shaped portion) لتوزيع زوايا الخلايا المقابل في الشكل رقم (٩.٩ a2). وتُعزى هذه النتيجة إلى زراعة خلايا تكاثرية ومتكدسة (مجمعة) (proliferative and confluent cell culture) أكثر من محاذاة الخلايا الموجهة بواسطة ألياف النانو الضمنية أو الكامنة (underlying nanofibers). إن هذا التجميع الذاتي الموضعي (localized self-assembly) للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs)، والذي يظهر على الرغم من عشوائية الألياف الضمنية، يفتقر إلى ميزات التنظيم الشامل (global organization) التي يتم مشاهدتها على حاملات الخلايا والأنسجة الموجهة (الشكل رقم ٩.٩ a1). غير أن نقص التحكم بتوجيه الخلايا - وإن كان على المستوى الموضعي (localized scale) - يجعل لهذا التأثير المحلي القليل من الأهمية على الهدف الكلي لهذا العمل، وبالتحديد على محاذاة الخلايا بطريقة شاملة وقابلة للتحكم بها.

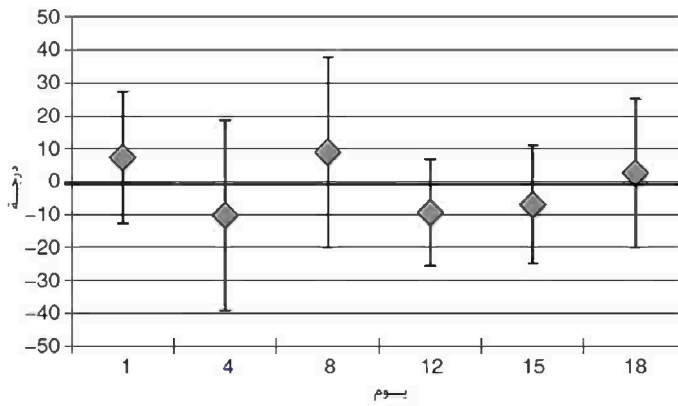


الشكل رقم (٩, ٩). صور متراكبة وبألوان مستعارة للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) (ساطعة) وألياف النانو (داكنة) في حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية (a1) العشوائية و (b1) الموجهة بعد ١٨ ساعة من زراعة الخلايا. تُظهر الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي توزيعات زوايا اتجاه الخلايا بالنسبة إلى المحور الأفقي من أجل الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) على حاملات الخلايا والأنسجة (a2) العشوائية و (b2) الموجهة. وتُظهر الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي توزيعات زوايا اتجاه ألياف النانو بالنسبة إلى المحور الأفقي من أجل حاملات الخلايا والأنسجة (a3) العشوائية و (b3) الموجهة. وقد تم بناء الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي في (a2) و (a3) اعتمادًا على القياسات لـ ١٣٢ خلية و ١٩٤ ليف نانوي، على التوالي، بينما تم استخدام ١٣٨ خلية و ٢٥٨ ليف نانوي لبناء الرسوم البيانية للتوزيع الإحصائي في (b2) و (b3)، على التوالي.

(٩,٤,٣) محاذاة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية المتسقة طويلة الأمد على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو

الموجهة Consistent Long-Term hMSC Alignment on Oriented Nanofibrous Scaffolds

تم إجراء التحليل الكمي لفعالية حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) النانوية الموجهة في تعزيز محاذاة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المبذورة في نقاط زمنية مختلفة. وقد تم تحديد التوزيعات الزاوية النسبية للخلايا من أجل حاملات الخلايا والأنسجة الموجهة عن طريق طرح متوسط زاوية الألياف النانوية من توزيعات زوايا الخلايا، وتحديد متوسط الزاوية النسبية للخلايا - الألياف في كل نقطة زمنية. وقد تم استخدام النتائج للعينات المزروعة من اليوم ١ حتى اليوم ١٨ كمقياس لتقييم الفعالية ولتقييم أي تغييرات تعتمد على الزمن في محاذاة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC). وكما هو مبين في الشكل (٩,١٠)، فقد كانت الزوايا النسبية للخلايا، ومن أجل جميع عينات حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة من اليوم ١ إلى اليوم ١٨، ضمن ± 10 درجة. وبالتالي، فقد تم تأكيد المحاذاة الدقيقة والمتسقة للخلايا على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة من أجل الزراعة الأولية والزراعة طويلة الأمد. فمن اليوم ١ إلى اليوم ١٨، بقيت الانحرافات المعيارية للتوزيعات الزاوية النسبية للخلايا - الألياف من أجل حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة في المجال من ١٥ درجة إلى ٣٠ درجة، مع كل القيم اليومية المتوسطة ضمن انحراف معياري واحد للزاوية المرجعية المشتركة صفر درجة (المحاذاة الكاملة). وهذا يشير إلى أنه قد تم الحفاظ على الالتصاق الأولي للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) بحاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو لكامل فترة الحضانة الممتدة ١٨ يوماً.



الشكل رقم (٩,١٠). محاذاة الزمنية للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة. لقد أظهر تحليل اختبار - تي (T-test) (ثنائي الطرف two-tailed، مفرد unpaired) أن ثلاثة مشاهد على الأقل لكل حاملة خلايا وأنسجة ذات ألياف نانو في كل يوم لم تكن مُعتدّة إحصائياً ($P < 0.05$)، وتم تحديد الزاوية النسبية المتوسطة لاتجاه الخلايا (average relative cell orientation angle) والانحراف المعياري (standard deviation) المقابل من أجل عينات حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة في الأيام ١ و ٤ و ٨ و ١٢ و ١٥ و ١٨. وقد كانت الزوايا النسبية المتوسطة للخلايا - الألياف على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة في كل الأيام في نطاق ± 10 درجات؛ مما يشير إلى محاذاة جيدة جداً مع ألياف النانو التي تقوم عليها. وتشير خطوط الخطأ إلى انحرافين معياريين ($\pm \sigma$).

(٩،٤،٤) قدرة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية على البقاء على قيد الحياة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف

البولي كابريولاكتون النانوية hMSC Viability On PCL Nanofibrous Scaffolds

تم اختبار قدرة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة العشوائية والموجهة على البقاء على قيد الحياة على المدين القصير والطويل الأجل من خلال استخدام مُقايَسَة (فحص) التآلق الحي / الميت (live / dead fluorescence assay). وتم إحصاء العدد الكلي للخلايا الحية والميتة من أجل كل نوع من حاملات الخلايا والأنسجة فيما لا يقل عن ثلاث مناطق مشاهدة مختلفة بعد ٤ و ١٨ يوماً من زراعة الخلايا. وقد تم احتساب النسبة المئوية للخلايا الحية من إجمالي عدد الخلايا وتظهر النتائج في الجدول رقم (٩،١). بالإضافة إلى ذلك، ومن إجمالي عدد الخلايا الملاحظ، فقد تم احتساب متوسط كثافة الخلايا عن طريق قياس مجال منطقة المشاهدة واستقراء البيانات في وحدات من الخلايا لكل سنتيمتر مربع. وقد كانت معظم الخلايا المبذورة على كلا النوعين من حاملات الخلايا والأنسجة حية (أكبر من ٧٠ ٪)، ولكن قدرة هذه الخلايا على البقاء على قيد الحياة كانت أقل من تلك التي لوحظت من أجل الخلايا المزروعة في تجربة عينة المراقبة (control experiment) (على سبيل المثال، على أطباق بترّي (petri dishes)). ويمكن أن تُعزى النسب المئوية الأقل الظاهرة لقدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة إلى حقيقة أننا استخدمنا خلايا جذعية متوسطة بشرية (hMSCs) غير متميزة، ولكنها تكاثرية بشكلٍ عالٍ. فعلى سبيل المثال، وعلى الرغم من أن الكثافة الأولية لبذر الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (initial hMSCs seeding density) كانت متواضعة (٧.٥ × ١٠^٤ خلية / سنتيمتر مربع)، إلا أن الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) قد تكاثرت بشكلٍ سريع وأصبحت متكدسة أو مجمعة مع بعضها. وكما هو مبين في الجدول رقم (٩،١)، فقد ازدادت كثافات الخلايا على كل من حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو العشوائية والموجهة بشكلٍ ملحوظ من اليوم ٤ إلى اليوم ١٨، في حين أن النسبة المئوية للخلايا الحية قد بقيت ثابتة نسبياً. ولأن البولي كابريولاكتون (PCL) هو مادة متوافقة حيوياً معروفة جيداً، فمن غير المرجح أن تكون مسؤولة عن القدرة الأقل الظاهرة للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) للبقاء على قيد الحياة. وبدلاً من ذلك، فقد تم اقتراح أن كثافة بذر الخلايا المثالية يمكن أن تكون قد حسّنت من قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة. على سبيل المثال، لقد ظهر بأن الكثافة الأولية لبذر الخلايا على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية عامل مهم من أجل قدرة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) على البقاء على قيد الحياة ومن أجل تكاثرها وتميزها وذلك على المدى القصير والطويل الأجل [20,21,38,50]. ومع ذلك، فإنه من المتوقع عندما يتم تحريض الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) لتمييز إلى نوعٍ محدد من الخلايا (specific cell lineage)، فسيؤدي الانخفاض في تكاثر الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC proliferation) إلى قدرة أفضل لبقاء الخلايا على قيد الحياة. بالإضافة إلى ذلك، وعلى الرغم من أن حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً (electrospun nanofibrous scaffolds) والمستخدم في هذا العمل كان قد تم تجفيفها بواسطة الهواء قبل التعقيم (prior to sterilization) ولاحقاً قبل النقع (presoaking) في أوساط زراعة الخلايا، فلم يتم وضع أيّا من حاملات الخلايا والأنسجة في غرفة تخليّة (شفط) (vacuum chamber) قبل التعقيم. وينبغي لإنجاز هذه الخطوة في الدراسات المستقبلية إزالة أي مذيب عضوي متبقٍ (residual organic solvent) من عملية الغزل الكهربائي، والذي يمكن أن يؤثر بشكلٍ سلبي على قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة.

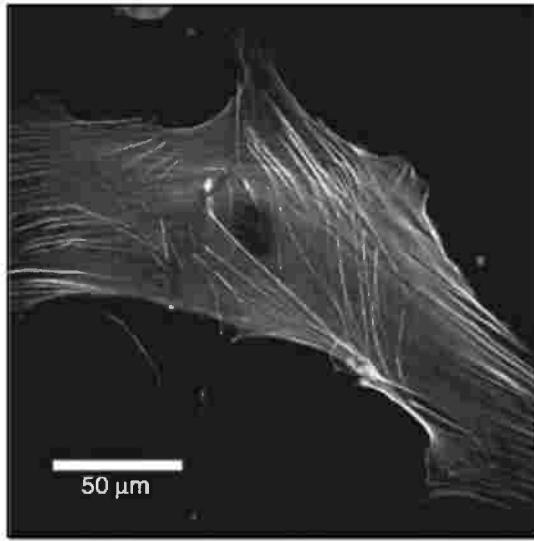
الجدول رقم (٩،١). قدرة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) على البقاء على قيد الحياة مُعبر عنها بالنسبة المئوية للخلايا الحية والعدد الكلي للخلايا المفحوصة

اليوم	العينة	نسبة الخلايا الحية %	خلية تم مشاهدتها / سنتيمتر مربع
٤	عشوائية	٧٦	$10 \times 7,0$
	موجّهة	٨٠	$10 \times 11,6$
١٨	عشوائية	٧٣	$10 \times 32,9$
	موجّهة	٧٦	$10 \times 20,2$

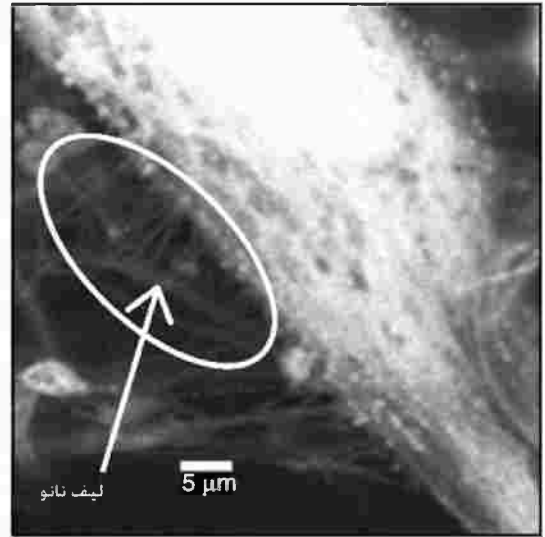
(٩،٤،٥) إعادة التنظيم الهيكلي الخلوي والتصاقات الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية – ألياف النانو Cytoskeletal Reorganization and hMSC-Nanofiber Adhesions

من المتوقع أن استطالة الخلايا (cell elongation) الناجمة عن ألياف البولي كابريولاكتون النانوية المتراصة (aligned PCL nanofibers) تعيد تنظيم البنى الهيكلية الخلوية (cytoskeletal structures) التي تُنظم شكل والتصاق وتنقل (locomotion) الخلايا. وقد تم تلوين الخيوط المايكروية للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المزروعة لمدة ٤ أيام على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية العشوائية والموجهة وعلى الزجاج بمتألق ساطع (brightly fluorescent) باستخدام رودامين - فالويدين، وتم تصويرها باستخدام الفحص المجهرى الماسح بواسطة الليزر (LSCM). وقد أظهرت الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المزروعة على ركيزة زجاجية الشكل النموذجي والمتوقع لانتشار الخلايا (الشكل رقم ٩،١١ a). وقد كانت ألياف إجهاد الأكتين (actin stress fibers) الكبيرة مرئية ومن الممكن أن تكون مسؤولة عن الالتصاق الأقوى للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) على هذه الركيزة المسطحة (ثنائية الأبعاد) [51]. وقد بدا أن ألياف الإجهاد الكثيرة تعمل معاً وتنتهي عند نقطة مشتركة على غشاء الخلية (cell membrane)، مُشكّلةً على الأرجح موقع اتصال بؤري (focal contact site). وبالمقارنة مع الخيوط المايكروية الموجودة في الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المزروعة على ركائز مسطحة (flat substrates)، فقد لوحظ اختلاف كبير في التنظيم الهيكلي الخلوي الأكتيني (actin cytoskeletal organization) للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية العشوائية والموجهة. على سبيل المثال، لقد أظهرت الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المبذورة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو العشوائية والمزروعة لمدة ٤ أيام (الشكل رقم ٩،١١ b) شكل ممدود للخلايا (elongated cell morphology) وأكتينات مُركزة على نحو كثيف (densely concentrated actins). ومن المثير للاهتمام، أن البنى الأكتينية الليفية (fibrous actin structures) الرقيقة بين الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) وألياف النانو المحيطة كانت واضحة، وقد تم ملاحظتها بشكل خاص في المنطقة الموضوعة ضمن دائرة في الشكل مع سهم يشير إلى ليف بولي كابريولاكتون (PCL) نانوي مجاور. وعندما تم بذر الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) على حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية

الموجهة، كانت الخلايا حتى أكثر استطالة ومحاذاة بجانب حزمة ألياف النانو، والذي هو ظاهر مرة أخرى من خلال الأسهم في الشكل رقم (٩،١١ c). وقد كانت الأكتينات في هذه الخلايا المتراففة مركزة أيضاً بشكل كثيف، وكانت بعض حزم الخيوط الأكتينية (actin filament bundles) في الغالب متراففة في نفس اتجاه ألياف النانو المجاورة. ومع ذلك، فقد لوحظ أيضاً بنى أكتينية ليفية شبيهة بالجل (fibrous tether-like actin structures) رقيقة تربط الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) مع حزمة ألياف النانو المتراففة المجاورة، وهو ما يُلاحظ بشكل خاص في المناطق الموضوعية ضمن دوائر في الشكل رقم (٩،١١ c). ويمكن أن تؤدي هذه النتائج إلى مفهوم الخصائص الفريدة لربط الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) بألياف النانو. وتتفق نتائجنا مع تقرير سابق بأن الخلايا العضلية الوعائية الملساء (vascular smooth muscle cells) المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو البوليمرية المتراففة تُطور أيضاً اتصالات ليفية (fibrous connections) مماثلة [1]. ومع ذلك، فتجدر الإشارة إلى أن الصور التي ذُكرت فيه تقدم دليلاً على التصاقات ممكنة للخلايا - ألياف النانو وقد تم الحصول عليها باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM). وفي المقابل، تُظهر النتائج التي توصّلنا إليها بأنه لا يوجد فقط اتصالات ليفية مماثلة في تفاعلات الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) - ألياف النانو، ولكن من المحتمل أيضاً أن تشارك خيوط الأكتين في تطوير تلك البنى الفريدة المشابهة للتصاق (adhesion-like structures). ومن المثير للاهتمام أيضاً أن نلاحظ أن شبكات الأكتين الكثيفة (dense actin networks) المشاهدة في الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) الممتدة والمزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو العشوائية والموجهة تبدي تشابهاً مع هيكل الخلية (cytoskeleton) الملاحظ في الخلايا الغضروفية المفصليّة الناضجة (mature articular chondrocytes)، وبشكل خاص على السطح المفصلي (articular surface) [52]؛ مما يشير إلى أن استخدام حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو البوليمرية الموجهة يمكن أن يكون مفيداً لمحاكاة أفضل للنسيج الغضروفي المفصلي [19-21]. ولأن نجاح هندسة الأنسجة سيتطلب أن تحاكي بنية الأنسجة المهندسة (engineered tissue construct) البنى المايكروية والنانوية (micro- and nanostructures) والمحاذاة المكانية (spatial alignment) ووظيفة الأنسجة الطبيعية، فإن الاستخدام الأمثل لحاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المتراففة (aligned nanofibrous scaffolds) جنباً إلى جنب مع المعالجة البارعة (manipulation) للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) يمكن أن يُنتج واحدة من حاملات الخلايا والأنسجة المحاكية حيويًا (biomimetic scaffolds) الأكثر توافقاً.



(a)



(b)



(c)

الشكل رقم (٩, ١١). صور متألقة لخيوط مايكروية (microfilaments) في الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) بعد ٤ أيام من زراعة الخلايا على (a) سطح زجاجي مسطح (flat glass surface)، و (b) في حاملات الخلايا والأنسجة من البولي كابرولاكتون (PCL scaffolds) العشوائية أو (c) الموجهة. ولم يُلاحظ أي التصاقات ليفية مشابهة للحبل (fibrous) (tether-like adhesions) عندما كانت الخلايا مطبقة على ركيزة نموذجية، ولكن على ما يبدو تشكلت الحبال الحاوية على الأكتين (actin-containing tethers) من خلال التصاق الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) بألياف النانو. وسوف يتم دراسة هذه البنى الفريدة بشكل إضافي لاختبار وجود بروتينات الالتصاق (adhesion proteins) المعروفة مثل الإنتغرينات (integrins) وغيرها من البروتينات داخل الخلية (intracellular proteins).

CONCLUSIONS (٩,٥) الاستنتاجات

في الدراسة الحالية، تم استعراض واستخدام تقنيات لمحاذاة ألياف النانو (nanofiber alignment) في الغزل الكهربائي في زراعة الخلايا الجذعية (stem cell culturing). وقد تمت زراعة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) بنجاح على نوعين مختلفين من حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية المغزولة كهربائياً. وقد تم إجراء تحديد كمي لاتجاه الخلايا بالنسبة إلى شبكة ألياف النانو الداعمة. وقد تم اختبار فعالية الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) لتتصاف في اتجاه ألياف النانو الموجهة. وقد أظهرت الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) المزروعة على حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية الموجهة المحاذية الأكثر دقة واتساقاً للخلايا. وقد تم اختبار قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة للتأكد من أن الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) كانت قادرة على البقاء على قيد الحياة وتكاثر على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية أثناء فترة زراعة الخلايا الممتدة لـ ١٨ يوماً. بالإضافة إلى ذلك، فقد لوحظ إعادة تنظيم هيكلي خلوي أكتيني للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSC) على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو، وقد تم الكشف عن وجود خيوط مايكروية في الالتصاقات الليفية المشابهة للحوال والتي ربطت الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) بألياف النانو المجاورة. إن المزيد من الدراسات جارية لاختبار التمايز المولد للغضروف (chondrogenic differentiation) للخلايا الجذعية المتوسطة البشرية (hMSCs) على حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) النانوية الموجهة، وتأثيرات تغيير قطر ألياف النانو ومسامية حاملة الخلايا والأنسجة. ومعاً مجتمعة، تشير النتائج التي توصلنا إليها إلى أنه يمكن تحسين هندسة بيئة المصفوفة خارج الخلية الموجهة (oriented ECM environment) لتنظيم محاذاة الأنسجة (tissue alignment) عن طريق ألياف النانو المغزولة كهربائياً والموجهة، وأن تطبيقات هندسة الأنسجة المحددة مثل إنشاء المنطقة السطحية للغضروف المفصلي يمكن أن يتحسن بشكل ملحوظ عن طريق الجمع بين الخلايا الجذعية والمواد النانوية (nanomaterials).

ACKNOWLEDGMENTS شكر وتقدير

يشكر المؤلفون مساهمات طلابهم Andre Theron و Nicole Pearson. ويُعبر المؤلفون عن امتنانهم للدكتور Igor Titushkin لخبرته ومساعدته التي لا تقدر بثمن في استخدام الفحص المجهرى الماسح بواسطة الليزر وتحليل الصور. ونشكر أيضاً Kristina Jarosius من مركز موارد البحوث (UIC Research Resources Center) لإنجاز المشاهدات باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM). وقد كان هذا العمل مدعوماً، بشكل جزئي، من خلال منح المعهد الوطني للصحة (NIH) (GM60741, EB06067, MC)، ومنحة مكتب البحوث البحرية (Office of Naval Research) (N00014-06-1-0100, MC)، والمؤسسة الوطنية للعلوم (National Science Foundation) في إطار المنحة (NSF-NER-CBET 0708711)، ومنحة مؤسسة فولكس فاكن (Volkswagen Foundation) (AY, EZ). وقد تم تقديم بعض المواد المستخدمة في هذا العمل من قبل مركز تولن للعلاج الجيني (Tulane Center for Gene Therapy) من خلال المنحة المقدمة من الـ (NCRR) للمعهد الوطني للصحة (NIH)، منحة رقم (P40RR017447).

المراجع REFERENCES

- [1] Xu C.Y., Inai R., Kotaki M. et al. 2004. Aligned biodegradable nanofibrous structure: A potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials* 25:877–886.
- [2] Yang F., Murugan R., Wang S. et al. 2005. Electrospinning of nano=micro scale poly(L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. *Biomaterials* 26:2603–2610.
- [3] Lee C.H., Shin H.J., Cho I.H. et al. 2005. Nanofiber alignment and direction of mechanical strain affect the ECM production of human ACL fibroblast. *Biomaterials* 26:1261–1270.
- [4] Dunn G.A. 1982. Contact guidance of cultured tissue cells: A survey of potentially relevant properties of the substratum. In *Cell Behaviour*, ed. R. Bellairs, A. Curtis, G. Dunn, 247–280. Cambridge: Cambridge University Press.
- [5] Rajnicek A.M., Britland S., and McCaig C.D. 1997. Contact guidance of CNS neuritis on grooved quartz: Influence of groove dimensions, neuronal age and cell type. *J Cell Sci* 110:2905–2913.
- [6] Karlson W.J., Hsu P.-P., Li S. et al. 1999. Measurement of orientation and distribution of cellular alignment and cytoskeletal organization. *Ann Biomed Eng* 27:712–720.
- [7] Wang J.H.-C., Jia F., Gilbert T.W. et al. 2003. Cell orientation determines the alignment of cell-produced collagenous matrix. *J Biomech* 36:97–102.
- [8] Hunziker E.B. 1992. Articular cartilage structure in humans and experimental animals. In *Articular Cartilage and Osteoarthritis*, ed. K.F. Kuettner, R. Schleyerbach, J.G. Peyron, V.C. Hascall, 183–199. New York: Raven Press, Ltd.
- [9] Jackson D.W., Scheer M.J., and Simon T.M. 2001. Cartilage substitutes: Overview of basic science and treatment options. *J Am Acad Orthop Surg* 9:37–52.
- [10] Hunziker E.B., Quinn T.M., and Haeuselmann H.-J. 2002. Quantitative structural organization of normal adult human articular cartilage. *Osteoarth Cartilage* 10:564–572.
- [11] Eyre D. 2002. Collagen of articular cartilage. *Arthritis Res* 4:30–35.
- [12] Setton L.A., Elliott D.M., and Mow V.C. 1999. Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: Human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarth Cartilage* 7:2–14.
- [13] Wong M. and Carter D.R. 2003. Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: A research perspective. *Bone* 33:1–13.
- [14] Klein T.J., Schumacher B.L., Schmidt T.A. et al. 2003. Tissue engineering of stratified articular cartilage from chondrocyte subpopulations. *Osteoarth Cartilage* 11:595–602.
- [15] Kim T.-K., Sharma B., Williams C.G. et al. 2003. Experimental model for cartilage tissue engineering to regenerate the zonal organization of articular cartilage. *Osteoarth Cartilage* 11:653–664.
- [16] Sharma B. and Elisseeff J.H. 2004. Engineering structurally organized cartilage and bone tissues. *Ann Biomed Eng* 32:148–159.
- [17] Woodfield T.B.F., Van Blitterswijk C.A., De Wijn J. et al. 2005. Polymer scaffolds fabricated with poresizes gradients as a model for studying the zonal organization within tissue-engineering cartilage constructs. *Tissue Eng* 11:1297–1311.
- [18] Sharma B., Williams C.G., Kim T.K. et al. 2007. Designing zonal organization into tissue-engineered cartilage. *Tissue Eng* 13:405–414.
- [19] Li W.-J., Danielson K.G., Alexander P.G. et al. 2003. Biological response of chondrocytes cultured in three-dimensional nanofibrous poly(epsilon-caprolactone) scaffolds. *J Biomed Mater Res A* 67:1105–1114.
- [20] Li W.-J., Tuli R., Okafor C. et al. 2005. A three-dimensional nanofibrous scaffold for cartilage tissue engineering using human mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 26:599–609.

- [21] Li W.-J., Tuli R., Huang X. et al. 2005. Multilineage differentiation of human mesenchymal stem cells in a three-dimensional nanofibrous scaffold. *Biomaterials* 26:5158–5166.
- [22] Kuo C.K., Li W.-J., Mauck R.L. et al. 2003. Cartilage tissue engineering: Its potential and uses. *Curr Opin Rheumatol* 18:64–73.
- [23] Xin X., Hussain M., and Mao J.J. 2007. Continuing differentiation of human mesenchymal stem cells and induced chondrogenic and osteogenic lineages in electrospon PLGA nanofiber scaffold. *Biomaterials* 28:316–325.
- [24] Ma Z., Kotaki M., Inai R. et al. 2005. Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Eng* 11:101–109.
- [25] Laurencin C.T., Ambrosio A.M., Borden M.D. et al. 1999. Tissue engineering: Orthopedic applications. *Ann Rev Biomed Eng* 1:19–46.
- [26] Caplan A.I. and Bruder S.P. 2001. Mesenchymal stem cells: Building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Molec Med* 7:259–264.
- [27] Tuan R.S., Boland G., and Tuli R. 2002. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. *Arthritis Res Ther* 5:32–45.
- [28] Baksh D., Song L., and Tuan R.S. 2004. Adult mesenchymal stem cells: Characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Molec Med* 8:301–316.
- [29] Alhadlaq A. and Mao J.J. 2004. Mesenchymal stem cells: Isolation and therapeutics. *Stem Cells Dev* 13:436–448.
- [30] Yang S., Leong K.F., Du Z. et al. 2001. The design of scaffold for use in tissue engineering. Part 1. Traditional factors. *Tissue Eng* 7:679–689.
- [31] Karande T.S., Ong J.L., and Agrawal C.M. 2004. Diffusion in musculoskeletal tissue engineering scaffolds: Design issues related to porosity, permeability, architecture, and nutrient mixing. *Ann Biomed Eng* 32:1728–1743.
- [32] Reneker D.H., Yarin A.L., Fong H. et al. 2000. Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning. *J Appl Phys* 87:4531–4547.
- [33] Reneker D.H., Yarin A.L., Zussman E. et al. 2007. Electrospinning of nanofibers from polymer solutions and melts. In *Advances in Applied Mechanics*, Vol. 41, ed. H. Aref, E. van der Giessen, 43–195. Oxford: Elsevier.
- [34] Frenot A. and Chronakis I.S. 2003. Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 8:64–75.
- [35] Huang Z.M., Zhang Y.Z., Kotaki M. et al. 2003. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Sci Technol* 63:2223–2253.
- [36] Dzenis Y. 2004. Spinning continuous fibers for nanotechnology. *Science* 304:1917–1919.
- [37] Ramakrishna S., Fujihara K., Teo W.E. et al. 2005. *An Introduction to Electrospinning of Nanofibers*. Singapore: World Scientific.
- [38] Shin M., Yoshimoto H., and Vacanti J.P. 2004. In vivo bone tissue engineering using mesenchymal stem cells on a novel electrospun nanofibrous scaffold. *Tissue Eng* 10:33–41.
- [39] Engelberg I. and Kohn J. 1991. Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: A comparative study. *Biomaterials* 12:292–304.
- [40] Thomas V., Jose M.V., Chowdhury S. et al. 2006. Mechano-morphological studies of aligned nanofibrous scaffolds of polycaprolactone fabricated by electrospinning. *J Biomater Sci Polym Ed* 17:969–984.
- [41] Theron A., Zussman E., and Yarin A.L. 2001. Electrostatic field-assisted alignment of electrospun nanofibres. *Nanotechnology* 12:384–390.

- [42] Zussman E., Theron A., and Yarin A.L. 2003. Formation of nanofiber crossbars in electrospinning. *Appl Phys Lett* 82:973–975.
- [43] Deitzel J.M., Kleinmeyer J.D., Hirvonen J.K. et al. 2001. Controlled deposition of electrospun poly(ethylene oxide) fibers. *Polymer* 42:8163–8170.
- [44] Sundaray B., Subramanian V., Natarajan T.S. et al. 2004. Electrospinning of continuous aligned polymer fibers. *Appl Phys Lett* 84:1222–1224.
- [45] Li D., Wang Y., and Xia Y. 2004. Electrospinning nanofibers as uniaxially aligned arrays and layer-by-layer stacked films. *Adv Mat* 16:361–366.
- [46] Courtney T., Sacks M.S., Stankus J. et al. 2006. Design and analysis of tissue engineering scaffolds that mimic soft tissue mechanical anisotropy. *Biomaterials* 27:3631–3638.
- [47] Baker B.M. and Mauck R.L. 2007. The effect of nanofiber alignment on the maturation of engineered meniscus constructs. *Biomaterials* 28:1967–1977.
- [48] Li W.J., Mauck R.L., Cooper J.A. et al. 2007. Engineering controllable anisotropy in electrospun biodegradable nanofibrous scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. *J Biomech* 40:1686–1693.
- [49] Hoheisel W., Jacobsen W., Luetge B. et al. 2001. Confocal microscopy: Applications in materials science. *Macromol Mater Eng* 286:663–668.
- [50] Yoshimoto H., Shin Y.M., Terai H. et al. 2003. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials* 24:2077–2082.
- [51] Curran J.M., Chen R., and Hunt J.A. 2005. Controlling the phenotype and function of mesenchymal stem cells in vitro by adhesion to silane-modified clean glass surfaces. *Biomaterials* 26:7057–7067.
- [52] Langelier E., Suetterlin R., Hoemann C.D. et al. 2000. The chondrocyte cytoskeleton in mature articular cartilage: Structure and distribution of actin, tubulin, and vimentin filaments. *J Histochem Cytochem* 48:1307–1320.

تقنيات الحفر النانوي في هندسة الأنسجة

Nanolithographic Techniques in Tissue Engineering

Ber.jamin Moody and Gregory S. McCarty

المحتويات CONTENTS

٣٩٨.....	INTRODUCTION مقدمة (١٠,١)
٣٩٩.....	BOTTOM-UP LITHOGRAPHY الحفر من الأسفل إلى الأعلى (١٠,٢)
٣٩٩.....	Block Copolymer Lithography حفر بوليمر مشترك كتلي (١٠,٢,١)
٤٠١.....	Self-Assembling Polymerization البلمرة بالتجميع الذاتي (١٠,٢,٢)
٤٠٢.....	Contact Printing الطباعة بالاتصال (١٠,٢,٣)
٤٠٣.....	TOP-DOWN LITHOGRAPHY الحفر من الأعلى إلى الأسفل (١٠,٣)
٤٠٤.....	Wafer-Scale Techniques تقنيات مستوى الرقاقة (١٠,٣,١)
٤٠٤.....	Optical الضوئية (١٠,٣,١,١)
٤٠٧.....	Nanoimprint الطباعة النانوية (١٠,٣,١,٢)
٤١٣.....	Direct-Write Techniques تقنيات الكتابة المباشر (١٠,٣,٢)
٤١٣.....	Accelerated Particle Beam حزمة الجسيمات المسرعة (١٠,٣,٢,١)
٤١٣.....	Electron Beam الحزمة الإلكترونية (١٠,٣,٢,١,١)
٤١٤.....	Proton Beam الحزمة البروتونية (١٠,٣,٢,١,٢)

٤١٥	Focused Ion Beam الحزمة الأيونية المركزة (١٠,٣,٢,١,٣)
٤١٦	Scanning Probe مسبار المسح (١٠,٣,٢,٢)
٤١٦	Atomic Force Microscopy مجهر القوة الذرية (١٠,٣,٢,٢,١)
٤١٨	Dip-Pen الرأس المنغمس (١٠,٣,٢,٢,٢)
٤٢١	Near-Field Scanning Probe مسبار المسح في الحقل القريب (١٠,٣,٢,٢,٣)
٤٢٢	MISCELLANEOUS طرق متنوعة (١٠,٤)
٤٢٢	Etching الحفر أو النقش (١٠,٤,١)
٤٢٥	Shadow Deposition ترسيب الظل (١٠,٤,٢)
٤٢٦	CONCLUSIONS الاستنتاجات (١٠,٥)
٤٢٧	REFERENCES المراجع

(١٠,١) مقدمة INTRODUCTION

ربما تكون أصول الحفر (lithography) مدهشة وربما تكون للبعض مثيرة للاهتمام بشكلٍ مدهش. وتشمل معالم الأحداث المهمة في تطوره سلالة صينية حاكمة قوية سلالة تانغ الحاكمة (Tang Dynasty) [1] وكاتب مسرحي نمساوي ناجح (Alois Senefelder) [2] وفنان ألماني كثير الإنتاج (Godefroy Engelmann) [3] ومصور فرنسي تجريبي (Nicephore Niepce) [4] وفي الآونة الأخيرة، صناعة الكمبيوتر (computer industry) التي تبلغ مليارات الدولارات. ومثل العديد من التقنيات، كانت تقنية الحفر في بداياتها بعيدة عن الرغبات السياسية، وقد تم تبنيها من خلال إبداع الفنانين، وأصبحت منذ ذلك الحين عملية ذات قدرة لم يسبق لها مثيل للنهوض بالصناعات التجارية وفروع العلوم المتعددة على حدٍ سواء.

وفي الواقع كانت صناعة الكمبيوتر وظهور الرقاقة المايكروية (microchip) هو الذي بشر بتقنية الحفر في العصر الحديث ولكن من المرجح أكثر أن يكون الطب والبيولوجيا هي من سينشرها في المستقبل. وقد تزايدت التطبيقات الطبية الحيوية (biomedical applications) للحفر وتحديداً للحفر النانوي (nanolithography) باطراد، وبشكلٍ أساسي كتركيز على إنشاء حاملات الخلايا والأنسجة التي تم تصميمها بشكلٍ معقد لتقليد أو محاكاة الميزات والوظائف الكامنة بشكلٍ طبيعي فقط في سيناريوهات الجسم الحي. ويُطبق مصطلح الحفر النانوي عموماً على مجموعة متنوعة من العمليات التي تكون قادرة على "طباعة" ("printing") ملامح أو ميزات (features) ذات أبعاد أقل من ١٠٠ نانومتر. وبشكلٍ مثالي، تكون تقنية الحفر النانوي المفردة (single nanolithography technique) قادرة على (١) الكتابة بدقة تباين نانومتري (nanometer resolution) عند سرعات بالسنتيمتر في الثانية على مناطق مستوى الرقاقة (wafer - scale areas)، و (٢) نقل

التحديدات الوظيفية الكيميائية / البيولوجية (chemical / biological functionalities) المختلفة على مجموعة متنوعة من المواد، تحت مجموعة متنوعة من الظروف، و (٣) أن تكون قادرة على الموازنة الكبيرة (massive parallelization) لكل من الكتابة (writing) و المقاييس (علم القياس) (metrology) [5]. حتى الآن لا توجد ولا طريقة واحدة تناسب جميع المعايير المذكورة أعلاه. وعلى أي حال، فإن هناك مجموعة من الطرق الفردية الفريدة بحيث تكون كل واحدة منها مناسبة على الأقل لوظيفة واحدة. وتختلف تفاصيل كل تقنية من الناحية التكتيكية، ولكن مبدأ التوجيه (guiding principle) يبقى هو نفسه: فعلى أقل تقدير، تقوم عملية الحفر النانوي ببناء أو نقل النمط المرغوب (desired pattern) بدقة تباين في مستوى ما دون المايكرون (submicron scale resolution) على سطح مناسب. بشكل عام، توجد هناك طرائق لتحقيق ذلك: الطرائق المعروفة اختصاراً باسم "من الأسفل إلى الأعلى" ("bottom - up") مثل تقنيات حفر بوليمر مشترك كتلي (block copolymer lithographies) والحفر بالتجميع الذاتي (self - assembly lithographies)، أو تلك الطرائق المسماة "من الأعلى إلى الأسفل" ("up - bottom") مثل تقنيات الحفر الضوئي (optical lithographies) والحفر باستخدام الطبعة أو الختم (imprint lithographies) والحفر باستخدام مسبار المسح (scanning probe lithographies). ففي حين أن العديد من هذه الطرائق لا تزال في مراحل الطفولة في أبحاث حمل الخلايا والأنسجة (scaffolding research) في هندسة الأنسجة، فإن لجميعها القدرة الحقيقية جداً على لعب أدوار مهمة في الطب الحيوي (biomedicine) وهندسة الأنسجة.

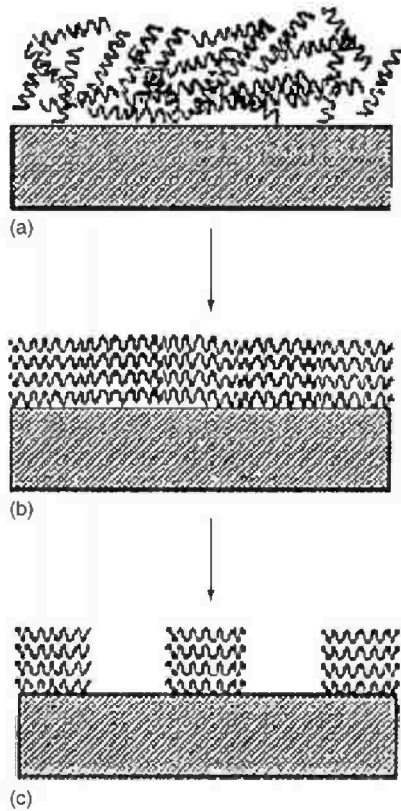
(١٠,٢) الحفر من الأسفل إلى الأعلى BOTTOM-UP LITHOGRAPHY

تشير من الأسفل إلى الأعلى إلى عملية بناء البنى باستخدام الجزيئات والأنماط الجزيئية (molecular patterns) كلبّات بناء (building blocks) مباشرة لبنية ما، وبعبارة أخرى، تبدأ من الجزيئات وتزداد لتصل إلى نمط مفيد. ويشمل هذا غالباً سلاسل البوليمرات القصيرة (الطبيعية أو الاصطناعية) التي ترسب على السطوح الملساء (smooth surfaces) أو السطوح المنقوشة (المزخرفة) (patterned surfaces)؛ مما يؤدي إلى إنتاج طبقات أفلام رقيقة ولكن مفيدة. وتستخدم هذه العملية في واحدة من الطريقتين، إما كوسيلة لتشكيل أو نقش (patterning) سطح بشكل هندسي معين (certain geometry) وإما كطريقة لإنشاء سطح ذي وظيفة محددة (specific functionality). تقع طريقة "حفر بوليمر مشترك كتلي" و"البلمرة بالتجميع الذاتي" ("self - assembling polymerization") في النظام الأول؛ بينما تقع طريقة "الطباعة بالاتصال" ("contact printing") عادةً في النظام الأخير.

(١٠,٢,١) حفر بوليمر مشترك كتلي Block Copolymer Lithography

يتم الحصول على بوليمر مشترك كتلي (block copolymer) عند خلط اثنين أو ثلاثة من البوليمرات؛ مما يؤدي إلى إنتاج سلسلة بوليمر (polymer chain) تتكون من وحدات متكررة من المونومرات (مواحد) (monomers) من البوليمرات الأصلية. على سبيل المثال، إذا كان البوليمر A يتكون من مونومرات A (A - A - A - A...) مرتبطة بشكل تساهمي (covalently

(bonded) والبوليمر B يتكون من مونومرات B ($B - B - B - B \dots$) مرتبطة بشكلٍ تساهمي؛ وبالتالي يمكن لسلسلة بوليمر مشترك ثنائية الكتلة (diblock copolymer chain) من البوليمر A والبوليمر B أن تبدو مثل ($A - A - A - A - B - B - B - B \dots$) أو ($A - A - A - B - B - B - A - A - A - B - B - B \dots$)، إلخ. تفصل التراكيب الكيميائية السطحية (surface chemistries) المختلفة أو طور الخصائص السطحية (surface properties phase) الأخرى وحدات المونومرات إلى أشكالٍ يمكن التنبؤ بها. وبعبارةٍ أخرى، تُوجه سلسلة البوليمر المشترك نفسها مكانياً في نمطٍ وشكلٍ هندسي معين اعتماداً على نسب البوليمرات (وهذا ما يعطي بدوره الفيزياء السطحية surface physics) التي يتألف منها البوليمر المشترك. بعد الترسيب على السطح، يمكن أن ينحل واحد من البوليمرات عن طريق مذيب مناسب تاركاً فقط البوليمر الآخر مع الشكل الهندسي الذي تم تحديده بشكلٍ مسبق من خلال تصنيع البوليمر المشترك (الشكل رقم ١٠،١). إلا أن العيب هو أن هناك مجموعة محدودة من الأنماط الممكنة التي يمكن تشكيلها باستخدام هذه التقنية وتكون المصفوفات (arrays) بسيطة وكثيفة بشكلٍ عام [1].



الشكل رقم (١٠،١). رسم تخطيطي لحفر بوليمر مشترك كتلي (block copolymer lithography). (تمت إعادة طباعته من Trawick, M., Angelescu, D., Chaikin, P., and Register, R., *Nanolithography and Patterning Techniques in Microelectronics*, (Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 2005).

بالنسبة للتطبيقات السطحية التي تتطلب شبكات بسيطة وكثيفة، يُثبت التركيب الكيميائي لكتلة البوليمر المشترك أنه مفيد. وبالجمع بين التنظيم الذاتي لبوليمر مشترك كتلي (block copolymer self-organization) مع تقنية الإطلاق (lift-off technique) والحفر الأيوني التفاعلي (reactive ion etching) (ستتم مناقشتها في الفقرات (١٠,٣,٢,١,١) و (١٠,٤,١)، على التوالي)، عرض Park وآخرون تقنية تستخدم مزيجاً بوليمرياً من البوليسترين - بي - بولي أيزوبرين (polystyrene-*b*-polyisoprene) كقناع حفر تقريبي (sacrificial etch mask) ويكون قادراً على ترسيب نقاط من الذهب (gold dots) بحجم ٢٠ نانومتراً مع فترات تعاقب من ٤٠ نانومتراً على ركائز من السيليكون [6]. ويمكن لهذه المصفوفات الذهبية الكثيفة (dense gold arrays) أن تُستخدم بشكلٍ تصوري في عمل هندسة الأنسجة في ما يتعلق بالتصاق الخلايا [7] أو تطبيقات الحمض النووي الرببي منقوص الأكسجين (deoxyribonucleic acid - DNA) والطبقة الأحادية ذاتية التجميع (self-assembling monolayer - SAM) [8].

(١٠,٢,٢) البلمرة بالتجميع الذاتي Self-Assembling Polymerization

إن البلمرة بالتجميع الذاتي هي تقنية مشابهة لحفر بوليمر مشترك كتلي من حيث إنها لا تزال تستخدم بوليمرات مشتركة لبناء بُنى ثلاثية الأبعاد (3D structures) إلا أن البناء الفعلي يكون أقل ارتباطاً بتقنيات الحفر التقليدية (conventional lithographies) وأكثر ارتباطاً بالتركيب العضوي (organic synthesis). وبالرغم من ذلك، فقد بدأت الأبحاث باستخدام التجميع الذاتي للبوليمرات لتصنيع بيئات مايكروية دقيقة ذات بُنى في المستوى النانومتري. وقد أظهرت الببتيدات المتعددة، عندما يتم ترتيبها كبوليمرات ثنائية الكتلة ويتم معالجتها باستخدام مُحَرِّض (initiator) مناسب، أنها تتجمع ذاتياً في أفلام بوليمرية (polymer films) وهلامات مائية [9]. وتصف مقالة تم نشرها عام ٢٠٠٢ في مجلة *Nature* استخدام تركيبات من الأحماض الأمينية كالليزين (lysine) واللوسين (leucine) والفالين (valine) وحمض الغلوتاميك (glutamic acid) لتشكيل هلامات مائية صلبة ذات بُنى مسامية (porous structures) تسمح بانتشار جزيئية (molecular diffusions) كبيرة، حيث يمكن أن تكون ضرورية من أجل حاملات الخلايا والأنسجة لغرض تغذية أو نمو الخلايا. بالإضافة إلى ذلك، وإلى جانب المزايا الفيزيائية، توفر الهلامات المائية المبنية من مكونات بروتينية طبيعية إمكانية التحديد الوظيفي الحيوي (biofunctionality) والتحلل الحيوي (biodegradation) [9].

وتحت الشروط المناسبة، فقد تم عرض الببتيدات على أنها تتجمع ذاتياً في ألياف نانوية بحيث تتوجه ويمكن أن تُمَعَدَّن (mineralized) مع الهيدروكسي أباتيت (hydroxyapatite) على نحوٍ مماثل كما يفعل الكولاجين في العظام [10]. وقد استخدم باحثون آخرون التجميع الذاتي لألياف النانو كحاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد لتشجيع الخلايا الغضروفية على إنتاج مصفوفة خارج الخلية غنية بالكولاجين (collagen-rich ECM) [11] وللسماح بتمايز أكثر اكتمالاً لخلايا السَلَف الكبدية (hepatocyte progenitor cells) [12]. وقد استخدم Holmes وآخرون التجميع الذاتي لمزرعة من حاملة خلايا وأنسجة ببتيدية (peptide scaffold culture) لعصبونات جُرَدِيَّة (rat neurons). لم تعزز حاملة الخلايا والأنسجة الالتصاق العصبوني (neuronal attachment) واثبات (نمو) المحوار (neurite outgrowth) فقط ولكن وبعد عدة أيام بدأت بعض المحاور (neuritis) الاتصال بالعصبونات المجاورة (adjacent neurons) والمحاور الأخرى، مُشكِّلةً أنظمة وظيفية بشكلٍ مَشَبِكِيٍّ (synaptically functional systems) [13].

(١٠,٢,٣) الطباعة بالاتصال Contact Printing

هناك طريقة أخرى ينبغي أن يتم إدراجها على اعتبار أنها حفر من الأسفل إلى الأعلى (bottom - up lithography) وهي "الطباعة بالاتصال المايكروبي" (μCP - "micro - contact printing"). وكما يوحي اسمها، فإن الكثير من الأبحاث في مجال الطباعة بالاتصال قد تم إنجازها على سمات ذات حجم مايكروبي (μm - sized features) وقد بدأت مؤخراً فقط في التقدم في المجال النانومتري [14]. وعلى الرغم من ذلك، فإن الاستخدامات الحالية للطباعة بالاتصال جنباً إلى جنب مع الإمكانيات المستقبلية لدقات ميز أو تباين مُحسَّنة في المجال النانومتري (nanometer resolutions) سيتم مناقشتها هنا. في الأساس، فإن للطباعة بالاتصال المايكروبي (μCP) ثلاث خطوات هي: (١) إنشاء وقولية (تصميم قالب) ختم "لين" من اللدائن المرنة ("soft" elastomeric stamp)، و (٢) "تجبير" (وضع حبر) ("ink") أو امتزاز (امتصاص) (adsorb) كيان كيميائي أو بيولوجي (chemical or biological entity) مرغوب على الختم، و (٣) استخدام الختم لطباعة سمات على السطوح المستهدفة (target surfaces). وتكون الأختام عادةً مصنوعة من البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS - poly (dimethylsiloxane))، وهو مطاط صناعي ثنائي الأجزاء (two - part elastomer) يتم استخدامه من أجل تطبيقات النماذج الأولية السريعة (rapid prototyping applications). إن إنتاج ختم من هذه المادة يُمكن الختم نفسه من أن يُستخدم لطباعة السمات على سطوح متعددة لأكثر من ١٠٠ مرة من دون أن يفقد أدائه. وقد أدت القدرة على تجبير مجموعة واسعة من البروتينات إلى اهتمام كبير في الطباعة بالاتصال المايكروبي (μCP) من قبل الباحثين المشاركين في مجال المواد الحيوية وهندسة الأنسجة واكتشاف الدواء (drug discovery) [15] من بين أمورٍ أخرى. كما أنه تُنتج مرونة (flexibility) إضافية من القدرة على الطباعة على مجموعة متنوعة من السطوح بما في ذلك السيليكون والزجاج والبلاستيك [16]. وتُستخدم الطباعة بالاتصال المايكروبي (μCP) على نطاقٍ واسعٍ لطباعة البروتينات على السطوح لغرض استخدام تلك البروتينات كمثبتات (anchors) ومُعَالَجَات (manipulators) لدراسة وظائف الخلايا في العمق (in - depth cell functions) مثل دورات الحياة والموت (life and death cycles) [17] والتميز (differentiation) [18] والانجذاب الكيميائي (chemotaxis) [19] على سبيل المثال لا الحصر.

على أي حال، ولأن الختم بشكلٍ عام يتم تشكيله أو نقشه باستخدام الحفر الضوئي في مستوى المايكرون (μm - scale photolithography) (ستتم مناقشة ذلك في الفقرة ١٠.٣.١.١)، فإن القليل من التطبيقات متوفرة في مستوى النانو. استثناء من القاعدة هو العمل التمهيدي الذي تم القيام به من قبل Stellacci وآخرين في معهد ماساتشوستس للتكنولوجيا (MIT - Massachusetts Institute of Technology). فبناءً على المفهوم البيولوجي لكيفية نسخ الحمض النووي (DNA) على جدران (strands) الحمض النووي الريبسي (ribonucleic acid - RNA)، تقوم المجموعة البحثية من معهد ماساتشوستس للتكنولوجيا باستخدام أختام من حمض نووي ذي جديلة واحدة (single stranded DNA) لربط الحمض النووي المتَّمَّم (complimentary DNA) على سطح مُستهدف، وعادةً ما يكون من الذهب. يمكن لهذه التقنية طباعة رُقَع من الحمض النووي (DNA patches) والتي تُظهر دقات ميز أو تباين تصل إلى ٤٠ نانومتراً [20]، فتكسر بذلك حاجز الـ ٥٠ نانومتراً

الشائعة لتقنيات الطباعة بالاتصال المايكروبي (μCP) الأخرى (Xia et al. 1995, 9576–9577). وعلى الرغم من أن Stellacci وآخرين يذكرون فقط الطباعة على السطوح الذهبية، إلا أن هناك بالفعل خطأً لبدء "الطباعة على ركائز عازلة (insulating substrates) مثل الزجاج أو ثاني أكسيد السيليكون (silicon dioxide) وكذلك على البوليمرات" [20]، على اعتبار أنها ممكنة باستخدام تقنيات الطباعة بالاتصال المايكروبي (μCP).

فبينما تُظهر منهجيات (methodologies) حفر البوليمر المشترك الكتلي والتجميع الذاتي دقات تباين أعلى وقد يكون من الممكن في يوم ما الجمع بينها لإعطاء الزخرفة أو التصميم المحدد (specific patterning) القدرة على التحكم بتشكيلات المصفوفات ثلاثية الأبعاد (3D matrix formations)، فإنه وحتى الآن لم يتم متابعة هذا الأمر على نطاق واسع. وعلى العكس، فإن الطباعة بالاتصال تُستخدم بالفعل على نطاق واسع في هندسة الأنسجة، لكنها لم تُرسخ بعد قدرتها كتقنية حفر في المستوى النانومتري (nanometer scale lithography).

(١٠،٣) الحفر من الأعلى إلى الأسفل TOP-DOWN LITHOGRAPHY

على الرغم من أن استخدامات طرق الحفر من الأسفل إلى الأعلى تُظهر بشير نجاح، إلا أن طرق الحفر من الأعلى إلى الأسفل (top - down lithographies) كانت ولفترة طويلة تُشكل الدعائم الأساسية الحقيقية لمهندسي السطوح. وتباين طريقة الحفر من الأعلى إلى الأسفل عن طريقة الحفر من الأسفل إلى الأعلى في أن طريقة الحفر من الأعلى إلى الأسفل تُضيف أنماطاً (نقوشاً) عن طريق تقشير (stripping away) مادة كتلية بدلاً من ترسيب المادة المنطبعة (المنقوشة) (patterned material) فقط. وبالتالي؛ فإن طرق الحفر من الأعلى إلى الأسفل تبدأ عادةً عن طريق ترسيب مادة كتلية، ونحت أو نقش (carving out) نمط معين من خلال وسائل كيميائية أو فيزيائية، ومن ثم بناء أو نقل أنماط (نقوش) على أعلى القاعدة من أجل استكمال البنية. أحياناً تكون الركيزة نفسها هي التي يتم نقشها من أجل تشكيل سطح تعيش عليه الخلايا (cell - inhabitable surface) أو سطح وظيفي (functional surface) [21]. وأحياناً أخرى يتم بناء نمط أو نقش عن طريق تقشير طبقة مقاومة كتلية (bulk resist) من خلال إضافة جزيئات وظيفية (functional molecules) على السطح [22]، [23]. ويمكن تقسيم طرق الحفر من الأعلى إلى الأسفل إلى فئتين منفصلتين: الفئة الأولى هي تلك التي يمكن أن تُطور وعلى نحو فعال أنماطاً أو نقوشاً بمساحات كبيرة على مستوى رقاقة سيليكون (silicon wafer) معيارية، أي مستوى الرقاقة (wafer scale) المعتبرة، والفئة الثانية هي تلك التي تُعرف باسم الكتابة المباشرة (direct write)، والتي يتم من خلالها كتابة نقش ما بسطر واحد في وقت واحد. وهكذا، ففي حين أن طرق مستوى الرقاقة هي بصورة عامة فعالة جداً زمنياً (temporally efficient)، فإن طرق الكتابة المباشرة مُكلفة زمنياً (temporally expensive).

(١٠,٣,١) تقنيات مستوى الرقاقة Wafer-Scale Techniques

تشمل تقنيات مستوى الرقاقة (wafer - scale techniques) عمليات الحفر الضوئي والحفر باستخدام الطبقات. إن الميزة الكبيرة لهذه الطرق هي قدرتها على زخرفة أو نقش مناطق كبيرة في وقت قصير نسبياً. ومن خلال المشاركة والتطوير المشترك مع صناعات الكمبيوتر وصناعات أشباه الموصلات (semiconductor industries)، فإن العديد من الطرق تكون متوافقة بشكل مباشر مع التقنيات القائمة بالفعل مما يجعلها مريحة وفعالة من حيث التكلفة للاستخدام.

(١٠,٣,١,١) الضوئية Optical

لقد كانت عمليات الحفر الضوئية هي الأكثر استخداماً وبشكل واسع على مر السنين على اعتبار أنها تتطلب من الناحية الفنية فقط مصدراً ضوئياً (light source) وقناعاً ضوئياً مزخرفاً أو منقوشاً (patterned photomask) وطبقة المقاومة (resist) التي سوف تتأثر بالضوء. ففي جوهر هذه العمليات، يتم إنشاء قناع ضوئي مع نمط أو زخرفة شفافة عليه (transparent pattern). ويمر الضوء من خلال هذا الجزء الشفاف من القناع على المقاومة الضوئية (photoresist)؛ وبالتالي تضيء (illuminating) المقاومة بنمط زخرفة مماثل لذلك الموجود على القناع. إن المقاومات الضوئية هي محاليل من البوليمرات (polymer solutions) مصممة بشكل خاص، والتي لديها ذوبانية (قابلية ذوبان) متغيرة من خلال التعرض للضوء (light exposure)؛ مما يجعلها أكثر أو أقل عرضة للإزالة من قبل مذيب ما (solvent). فالمقاومات "السلبية" ("negative" resists) تصبح أقل قابلية للذوبان عند التعرض للضوء بينما تصبح المقاومات "الإيجابية" ("positive" resists) أكثر قابلية للذوبان. لذلك، وبعد التعرض والتحميض (exposure and development)، تنحلّ المقاومات الضوئية السلبية بعيداً تاركةً فقط النقش الذي تم تعريضه للضوء. أما بالنسبة للمقاومات الضوئية الإيجابية، فإن النقش هو فقط الذي ينحلّ بعيداً.

على أي حال، ولأغراض الحفر النانوي، فإن الحفر الضوئي يصبح أكثر صعوبة. ولأن الضوء ينعرج (diffract) عندما يمر من خلال فتحة (aperture)، وهو ما يسمّى عادة بانعراج فراونهوفر (Fraunhofer diffraction) [24]، فإن هناك حداً أساسياً لدقة تباين عمليات الحفر الضوئية، والتي تتناسب مع طول موجة الضوء (wavelength of light) المستخدمة. وتصف المعادلة التالية العلاقة بين حجم السمة الأصغر الممكنة (d)، وطول موجة الضوء (λ)، والفتحة العددية (numerical aperture) لمصدر الضوء (NA)، وثابت (k) [25].

$$d = k (\lambda / NA)$$

لتخفيض مستوى حد الانعراج (diffraction limit) أو على الأقل للحد من تأثيره، فقد تم في الآونة الأخيرة تطوير عدة تقنيات غير تقليدية. ففي بداية الأمر بدأ الباحثون بتخفيض طول موجة الضوء إلى مناطق الأشعة فوق البنفسجية الشديدة (extreme ultraviolet regions) ومناطق الأشعة السينية (x-ray regions). بالإضافة إلى ذلك، فقد بدأ القليل من الباحثين اختبار تأثيرات المقاومات الضوئية والأقنعة المشربة بالمعادن (metal - impregnated photoresists and masks) من أجل الاستفادة من البلازمونات السطحية (مواد جينية خارج النواة) المثارة بالضوء (light excited surface plasmons). وسيتم في الفقرة (١٠,٣,٢,٣) تغطية محاولة أخرى لتجنب حد الانعراج وهي الحفر الضوئي في الحقل القريب (near - field optical lithography).

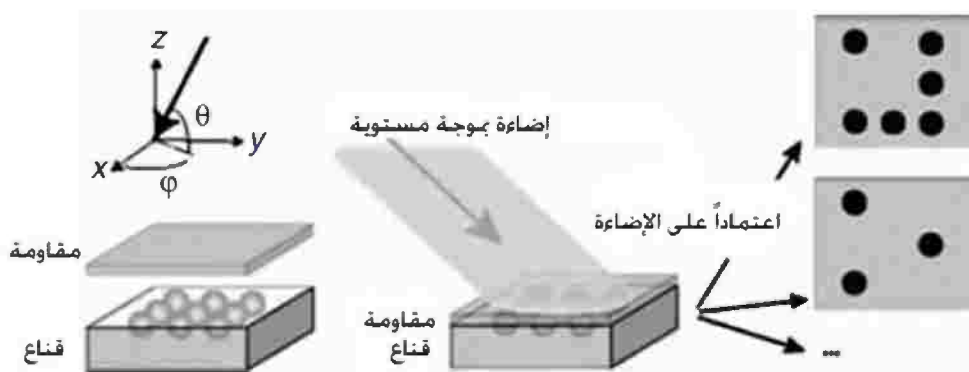
إن المتغير الأكثر وضوحاً، والذي يمكن أن يتغير في معادلة الانعراج / دقة التباين (diffraction / resolution equation) هو طول الموجة. نظرياً، فإن تقليل طول موجة الضوء الساقط سوف يقلل حجم السمة إلى السمة الأصغر. وقد بدأ العديد من الباحثين وفقاً لذلك باختبار عمليات الحفر بالأشعة السينية والأشعة فوق البنفسجية الشديدة (EUV) باستخدام نفس المصدر والقناع ومخطط المقاومة (resist blueprint)، ولكن مع ضوء أشعة سينية أو ضوء أشعة فوق بنفسجية شديدة (EUV) يجري استخدامها بدلاً من الضوء التقليدي. فعلى سبيل المقارنة، تتراوح أطوال موجات الضوء المرئي (visible light wavelengths) بين تقريباً ٤٠٠ إلى ٧٠٠ نانومتر في حين أن أطوال موجات الأشعة السينية المستخدمة في الحفر هي عادةً ما تكون في أي مكان من ٠.٥ إلى ٤.٥ نانومتراً وذلك اعتماداً على الاستخدام [26]. وقد ذكر Seunarine وآخرون مؤخراً استخدام مجموعتهم "للحفر بالأشعة السينية" ("x-ray lithography") لتشكيل ركائز عامودية (أعمدة) صغيرة (pillars) من بولي (ميثاكريلات الميثيل) (polymethyl methacrylate - PMMA) على ركيزة نصف أنبوبية من الكوارتز (half - pipe quartz substrate) [27]. وعلى الرغم من أن النتائج السابقة توضح بأن مصفوفات الحفر النانوية المنتظمة (regular nanopit arrays) تُؤخّر التصاق الخلايا [28]، إلا أن مجموعة Seunarine قد حاولت إنشاء مصفوفات من الركائز العامودية (الأعمدة) النانوية (nanopillar arrays) على بنية أنبوبية (tubular structure) لإنشاء بيئة لالتصاق الضعيف للخلايا تشبه الجملة الوعائية البشرية (human vasculature). وقد قامت هذه المجموعة بإنشاء ركائز عامودية (أعمدة) بأقطار تتراوح من ١٧٨ حتى ٢١٣ نانومتر، وذلك عن طريق تغطية أو طلاء (coating) الكوارتز بطبقة من فيلم مقاومة (resist film) من مادة البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) ذات سماكة بقيمة ٥٠٠ نانومتر؛ ومن ثم تعريض هذه المقاومة للأشعة السينية على مقربة من ١٠ ميكرومترات تقريباً ($10 \mu m$) مع $2keV$ ($0.8 nm$). ومع ذلك، وحتى عند طول موجة أشعة سينية قصير، فإن القرب بين الفتحة والعينة ضمن المجال للحصول على التشعيع يكون متأثراً بنوع آخر من الانعراج يُسمى انعراج فريسnel [24] (Fresnel diffraction). لذلك وفي حين أن أحجام السمات الصغيرة تكون ممكنة؛ تحدث التشوهات (distortions) التي تعطي الركائز العامودية شكلاً سداسي الأضلاع جزئياً (slightly hexagonal shape) (بدلاً من الشكل المستدير) مع ثقب صغيرة في وسط الركيزة العامودية [27]. وقد توقفت هذه المجموعة فجأة عن ذكر أي من دراسات التصاق الخلايا على الركيزة نصف الأنبوبية المطلوبة بطبقة غلاف خارجي (coated half - pipe) التي قامت بإنشائها.

إن الحفر بالأشعة فوق البنفسجية الشديدة (EUV lithography) هو تقنية أخرى تقوم على نفس المبدأ من استخدام أطوال موجات قصيرة لتقليل حد الانعراج. وهو يُظهر القدرة على إنتاج سمات ذات دقة تباين بمقدار ٢٠ نانومتراً مع جودة عالية وعلى مساحات واسعة نسبياً [25]. ورغم ذلك وفي حين أن الأشعة فوق البنفسجية الشديدة (EUV) تكسب اهتماماً في صناعة الإلكترونيات الدقيقة (microelectronics industry)، فهي بعيدة عن الاندماج في الطب الحيوي، وذلك على الأغلب بسبب مصادر الانبعاث (emission sources) والبصريات (optics) الخاصة التي تحتاجها. وعلى أي حال، فإن التطورات الحديثة في مصادر السنكروترونات (synchrotrons sources) (أجهزة توليد الإلكترونات السريعة) ومصادر البلازما (plasma sources) وبصريات الانعراج (diffraction optics) وبصريات الأشعة فوق البنفسجية الشديدة العاكسة متعددة الطبقات (multilayer reflective EUV optics) قد جعلت مؤخراً هذه القيود أقل إعاقة [25]. وفي الواقع، فإن تقرير

الإستراتيجية الدولية والبصيرة في علم النانو وتقنية النانو لعام ٢٠٠٤ (International Strategy and Foresight 2004) يدعم "وبقوة" الأشعة فوق البنفسجية الشديدة (EUV) على اعتبار أنها تقنية نانو مستقبلية، مشيراً إلى أنه "لا بد من المزيد الجهود البحثية المكثفة على المستوى الأكاديمي والمؤسسي لرفع مستوى الحالة العامة لجميع عناصر العملية" [29].

وهناك ابتكار آخر في الحفر الضوئي وهو استخدام "الحفر بالبلازمون" ("plasmon lithography"). فقد استفاد الباحثون مؤخراً في جامعة تكساس من فكرة حفر سطح بالبلازمون عن طريق استخدام قناع من الكوارتز (quartz mask) مطلي بطبقة غلاف خارجية من معدن مُثَقَّب (perforated metal) (الذهب أو التيتانيوم) على مقربة من مقاومة ضوئية تقليدية تم غزلها على ركيزة من السيليكون، والتي تم طلاؤها أيضاً بطبقة غلاف خارجي من المعدن (التيتانيوم). بعد ذلك تم استخدام ضوء مُسْتَقْطَب (polarized light) بطول موجة ٣٥٥ نانومتر لإنشاء أنماط أو نقوش خطية (line patterns) في المقاومات مع عرض يصل إلى ١٣٠ نانومتر [30]. ومن خلال التوضيح، يشير الباحثون إلى أنه يتم تعزيز الضوء بواسطة بلازمونات سطحية مثارة عندما يمر من خلال الفتحة التي هي أقل من طول الموجة؛ ومن ثم يتم حجزه عن طريق الاقتران (coupling) بالبلازمونات السطحية المثارة على الركيزة [30].

بالإضافة إلى ذلك، ففي عام ٢٠٠٧، وبالعامل على البحوث التجريبية السابقة من قبل Hubert وآخرين [31]، اعتقد Koenderink وآخرون أنه من خلال توزيع (زرع) (implanting) القناع الضوئي (optical mask) فقط بجسيمات نانوية من الفضة (silver nanoparticles) يصبح من الممكن إنشاء أنماط أو نقوش مختلفة على المقاومة وذلك بمجرد تغيير طول موجة أو زاوية أو استقطاب الضوء الساقط. ومن ثم أعلنوا أيضاً أن مستوى عالياً من حرية التصميم يمكن أن يتم إنجازه على مساحة كبيرة وذلك عن طريق تحريك القناع وإثارة وحدات جزئية صغيرة (small subunits) من العينة بشكل متعاقب [32] (الشكل رقم ١٠،٢).



الشكل رقم (١٠،٢). الحفر باستخدام البلازمون (plasmon lithography) مع جسيمات الفضة النانوية (silver nanoparticles). (تمت إعادة طباعتها من Koenderink, A.F., Hernandez, J.V., Robicheaux, F. et al., Nano Lett., 7, 745, 2007).

وكما هو الحال مع الحفر النانوي لبوليمر كتلي، وفي حين أنه واعد بالخير، فإن الحفر النانوي الضوئي (optical nanolithography) لا يزال أيضاً في المراحل المبكرة جداً من التطوير وما زال يعاني من بعض العيوب المهمة جداً. وبشكلٍ مماثل لما علق به الكيميائي الشهير من جامعة هارفارد الدكتور George Whitesides على الحفر الضوئي في عام ١٩٩٨ :

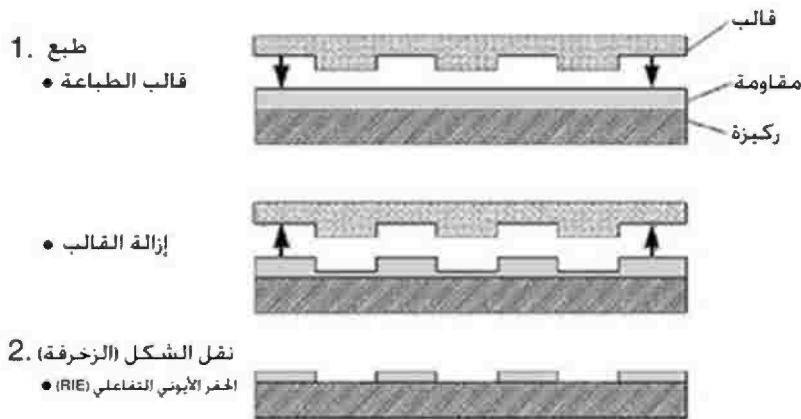
"إنه باهظ الثمن ؛ ... لا يمكن اعتماده بسهولة لتشكيل أو زخرفة سطوح غير مستوية (nonplanar surfaces) ؛ ... غير مناسب لإدخال تحديدات وظيفية كيميائية معينة (specific chemical functionalities) ؛ قابل للتطبيق بشكلٍ مباشر فقط على مجموعة محدودة من المواد التي يتم استخدامها كمقاومات ضوئية" [33].

وكتيجة لذلك ؛ فإن معظم التقنيات الضوئية لا تزال تُركّز على استكشاف السمات السطحية المختلفة التي من الممكن إنشاؤها في حين لا يزال عدد أقل بكثير عند نقطة استكشاف آثار أو نتائج تطبيق السطوح التي تم تشكيلها بأنماط أو زخرفة نانوية بشكلٍ ضوئي على الحالات البيولوجية. وعلى أي حال ، فقد بدأت التجارب البيولوجية والطبية الحيوية على "الحفر باستخدام الطبعة النانوية" ("nanoimprint lithography") ، وهي تقنية مستوى الرقاقة غير الضوئية (nonoptical wafer - scale technique).

(١٠,٣,١,٢) الطبعة النانوية Nanoimprint

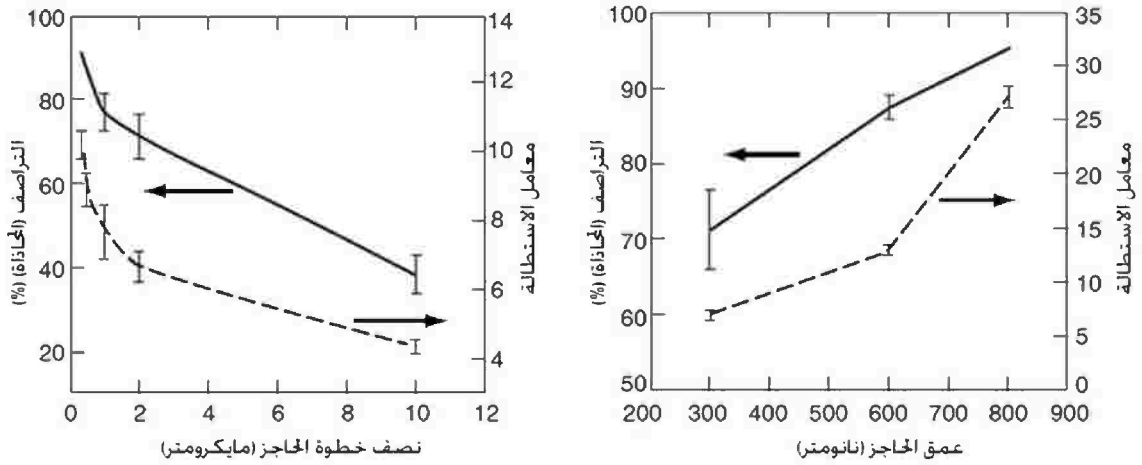
تم اقتراح هذه التقنية في البداية في عام ١٩٩٥ ، وتستخدم تقنية الحفر بالطبعة النانوية (NIL) قالباً ذا بنية نانوية (nanostructured mold) لضغط أو طبع (press) نمط أو نقش في فيلم مقاومة على ركيزة. وعلى عكس الحفر الضوئي ، فإن الحفر باستخدام الطبعة النانوية (NIL) لا يعتمد على التشعيع (radiation) ؛ وبالتالي فإن دقة تباينه لا تتأثر بتلك المشاكل الشائعة للحفر مثل الانعراج وتشتت المقاومة (resist scattering) والتشتت المرتد من الركيزة (substrate backscattering) ، ... إلخ. [34]. وكما هو موضح في الشكل رقم (١٠,٣) فإن فيلم المقاومة المستخدم في الحفر باستخدام الطبعة النانوية (NIL) هو إما (١) بوليمر يتم تسخينه إلى ما بعد درجة حرارة التحول الزجاجي (glass transition temperature) ويتم ضغطه ثم يُترك ليبرد قبل إزالة القالب ، وإما (٢) أن المقاومة هي بوليمر قابل للمعالجة (curable polymer) يتم ضغطه ؛ ومن ثم تتم معالجته (عن طريق الأشعة فوق البنفسجية UV أو معامل معالجة curing agent) قبل أن تتم إعادة نقشه من القالب. وبغض النظر ، فإن هناك خطوة أخيرة ، وهي نقل النمط أو النقش (pattern transfer) ، والذي يستخدم شكل من أشكال الحفر (وهو غالباً الحفر الأيوني التفاعلي) لإزالة المقاومة التي تبقى في المناطق المضغوطة (الشكل رقم ١٠,٣). وعادةً ما تكون القوالب من مادة السيليكون (Si) أو ثاني أكسيد السيليكون (SiO₂) ويتم تشكيل بنيتها النانوية في البداية من خلال تقنيات الكتابة المباشرة (direct writing techniques) مثل الحفر باستخدام الحزمة الإلكترونية (electron beam lithography) [35] ، والتي سيتم مناقشتها بشكلٍ أوسع في الفقرة ١٠,٣,٢,١,١. وباستخدام الحفر بالطبعة النانوية (NIL) جنباً إلى جنب مع تقنيات الإطلاق

التقليدية (conventional lift-off techniques)، فقد تم استخدام بوليمرات المقاومات مثل البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) لإنجاز مصفوفات منقوشة أو مزخرفة (patterned arrays) بالثقوب (holes) [35] أو بالأعمدة الصغيرة (pillars) [34] مع أقطار تصل إلى ٦ نانومتر. وبالمقارنة مع عمليات الحفر بالحزمة الإلكترونية والحفر الضوئي، فإن الحفر باستخدام الطبعة النانوية (NIL) يمكن أن يكون رخيصاً مع سرعة أعلى في تشكيل الزخرفة أو النقش ودقة تباين أعلى وقدرة أعلى على إعادة الإنتاج (reproducibility) [21]. إلا أن السليبات هي تكلفة تصميم القالب الأولي (initial mold design) وضغوط الكبس العالية (high compression pressures) التي قد تكون هناك حاجة لها [36].



الشكل رقم (٣، ١٠). نظرة عامة على عملية الحفر باستخدام الطبعة النانوية (NIL). من Chou, S.Y., Krauss, P.R., Zhang, W. et al., *J. Vac. Sci. Technol. B*, 15, 2897, 1997.

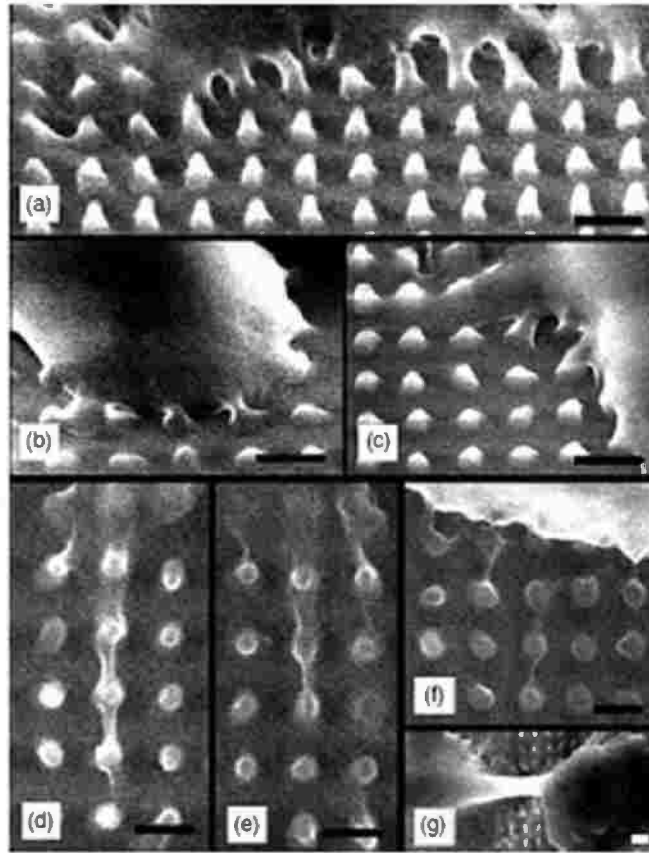
وإلى جانب دقة التباين، فثمة ميزة رئيسية أخرى للحفر باستخدام الطبعة النانوية (NIL) زيادةً على الحفر الضوئي، وهي أنه ليس من الضروري أن تقتصر التجارب على زخرفة أو نقش سمات غير فعالة (inactive features) على سطح ما؛ ومن ثم مراقبة الاستجابة الخلوية (cellular response) للشكل الهندسي. في كثيرٍ من الأحيان وبالاتصال مع الطباعة بالاتصال، يمكن للمرء أن يحاكي البروتينات النمطية (pattern proteins) والجزيئات الوظيفية الحيوية (biofunctional molecules) الأخرى التي تم تصميمها خصيصاً من أجل تطبيقات تتراوح من تجارب التصاق الخلايا (cell anchoring experiments) البسيطة [23] إلى دراسات التعبير عن النمط الظاهري (phenotype expression studies) ودراسات التمايز [37] (الشكل رقم ١٠، ٤). وقد أظهر Gaubert وآخرون بأن أنماط أو زخارف نانوية من الذهب (gold nanopatterns) مع حجم تقريبي من حوالي ٦٠ نانومتراً يمكن أن يتم ترسيبها على خلفية من ثاني أكسيد السيليكون (SiO_2 background) ويمكن بعد ذلك أن يتم تحديدها وظيفياً باستخدام إما الفيرونكتين (fibronectin) وإما بولي غليكول الإيثيلين (polyethylene glycol - PEG) لتعزيز أو لتأخير نمو الخلايا البطانية الوريدية السريعة البشرية (human umbilical vein endothelial cell growth) في المناطق ذات الصلة [23].



الشكل رقم (١٠,٥). تأثيرات الطبوغرافيا النانوية (السمات السطحية النانوية) (nanotopography) على سلوك الخلايا (cell behavior). (Hu, W., Yim, E.K.F., Reano, R.M. et al., *J. Vac. Sci. Technol. B*, 23, 2984, 2005 من)

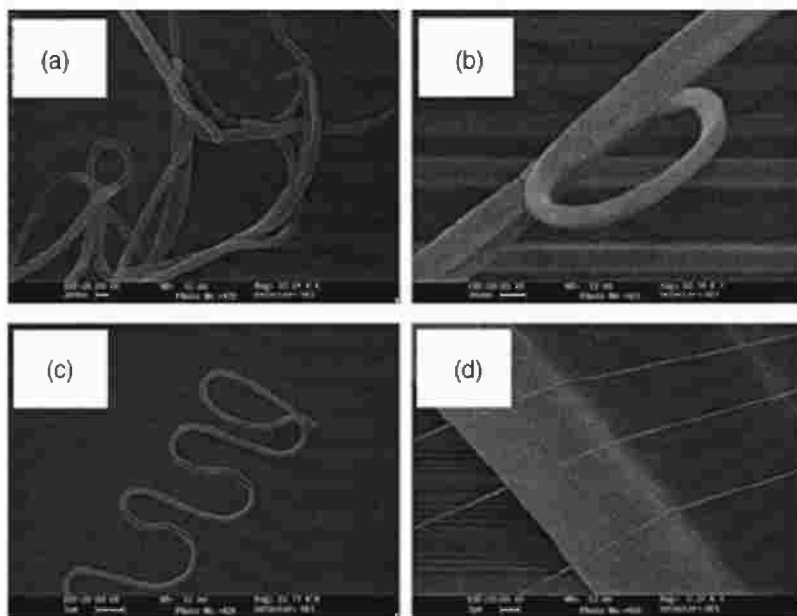
وتُذكر تقنية الحفر باستخدام الطبعة النانوية (NIL) بتقنية تُدعى القَوْلبة بالمساعدة الشعريّة (capillary - assisted molding)، أو ببساطة "الحفر الشعري" ("capillary lithography"). إن هاتين التقنيتين متشابهتان من حيث إن كليهما غالباً ما يستخدم قوالب رئيسية يتم تصنيعها عن طريق الحزم الإلكترونية (electron beamed master templates) لنقش أو زخرفة مساحة واسعة من البوليمر الذي يكون سريع التأثر إما بالحرارة وإما بالضوء وإما بالانذّياب (solvation) وإما بالضغط. ويستخدم الحفر الشعري المحدّث حراريّاً (thermally induced capillary lithography) قالباً من بولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS mold) ذا أنماط أو نقوش مجوفة (recessed patterns) لتؤثر على فيلم رقيق من البوليمر. يُوضع القالب على تماس مع الفيلم، ويتم تسخين الفيلم فوق درجة حرارة تحوله، ويقوم الفعل الشعري (capillary action) بسحب البوليمر إلى داخل تجاويف البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS recesses). ويترك الفيلم ليبرد ويتصلّب مرة أخرى، وتتم بعد ذلك إزالة قالب البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) تاركاً نمطاً أو نقشاً إيجابياً للبوليمر. ويحدّد الاستقرار الكامن (inherent stability) في قالب البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) كثافة ودقة التباين من حوالي ١٠٠ نانومتر [38]. ويعمل "الحفر الشعري" الناتج عن المذيبات ("solvent - induced capillary lithography") بشكلٍ مشابه باستثناء أن قالب البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) ذا النقش المجوف يكون موضوعاً على فيلم البوليمر الذي يتم حله في كمية قليلة من المذيب. ويقوم الفعل الشعري بسحب المذيب إلى داخل التجاويف ساحباً معه البوليمر. وعلى أي حال، يتم امتصاص المذيب إلى داخل قالب البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) الذي يسمح بالانتشار بشكلٍ نسبي تاركاً فقط البوليمر وراءه. وفي النهاية سيُنتشر المذيب من خلال القالب ويتبخر (evaporate) في الجو (atmosphere). ولا تزال الكثافة ودقة التباين محدودة بواسطة استخدام قالب البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) [38].

وقد عرض باحثون في مؤتمر عُقد عام ٢٠٠٧ في الصين استخدامهم لحفرٍ شعريٍّ مبني على المذيب وعلى الأشعة فوق البنفسجية لتعزيز نمو الخلايا العضلية القلبية (cardiac myocytes) على ركيزة من الزجاج [39]. وقد استخدموا قالباً من مادة البولي يوريثين المعدلة (modified polyurethane mold) وذلك للنقل الشعريِّ لكميات ضئيلة من محلول بولي (جليكول الإيثيلين) - ثنائي الميثاكريلات (PEG - DMA) الذي تم توزيعه بالتنقيط على الركيزة. ومن ثم تمت معالجة بولي (جليكول الإيثيلين) (PEG) باستخدام ضوء من الأشعة فوق البنفسجية قبل إزالة قالب البولي يوريثين تاركاً وراءه أعمدة نانوية على شكل مخروط (cone shaped nanopillars) مع طول من حوالي ٤٠٠ نانومتر وعرض من حوالي ١٥٠ نانومتر عند القاعدة. وقد أظهر بذر الخلايا العضلية القلبية الأساسية الجرّدية (rat primary cardiomyocytes) بعد ذلك أن الخلايا العضلية (myocytes) قد نشرت أو مدت أرجلاً خيطية كاذبة (filopodia) وأقداماً صفاحية (lamellipodia) بشكلٍ أساسي على طول الأعمدة النانوية (nanopillars)، كما هو واضح في الشكل رقم (١٠،٦). ورغم أن الالتصاق كان أقل بكثير منه من أجل عينات المراقبة الزجاجية، إلا أن التصاق الخلايا قد ازداد مع وجود الأعمدة النانوية بالمقارنة مع ركيزة من بولي (جليكول الإيثيلين) (PEG) خالية من الأعمدة [39].



الشكل رقم (١٠،٦). استجابة الخلايا العضلية القلبية الجرّدية (rat cardiomyocyte cell) لركائز عمودية (أعمدة) نانوية من بولي غليكول الإيثيلين (PEG nanopillars). (من Kim, D., Kim, P., Suh, K. et al., *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, 4, 4091, 2005).

وعلى النقيض من تشكيل حاملة خلايا وأنسجة ثنائية الأبعاد عن طريق الطلاء بطبقات غلاف خارجية من البوليمرات (coating polymers) على ركيزة، فقد استخدم Pisignano وآخرون الحفر الشعريّ لتشكيل ألياف صغيرة من البولي يوريثين (polyurethane fibers) ذات أقطار من حوالي ٣٠٠ نانومتر. وتعطي هذه العملية نتائج مماثلة لتلك التي تعطيها عملية الغزل الكهربائي، لكن لديها القدرة الإضافية على إنتاج حزم من الألياف (fiber bundles) المتراففة والموجّهة بشكلٍ عالٍ [40] (الشكل رقم ١٠,٧). لم يتم إجراء أي دراسات بيولوجية مباشرة على الألياف على الرغم أنه قد تم إنجاز بحوث سابقة على استخدام ألياف النانو المغزولة كهربائياً في هندسة الأنسجة [41].



الشكل رقم (١٠,٧). ألياف نانوية ناشئة عن طريق الحفر اللين (soft lithography). (تمت إعادة طباعته من Pisignano, D., Maruccio, G., (Mele, E. et al., *Appl. Phys. Lett.*, 87, 123109, 2005).

ومن الأشكال المختلفة الأخرى للحفر الشعريّ والتي لم تجد بعد الكثير من الاستخدام في الهندسة الطبية الحيوية (biomedical engineering) هو "الحفر الشعريّ بمساعدة الضغط" ("pressure assisted capillary lithography"). وكما يوحي الاسم، فإن هذا الحفر يستخدم قالباً مصنوعاً من مسحوق بوليمير تآلّقي غير متبلور (amorphous fluoropolymer powder mold) مُشكّل بالضغط بدلاً من البولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل) (PDMS) ويضغط على البوليمر باستخدام ضغط بقيمة من ٢ إلى تقريباً ٣ بار (bar) عند درجة حرارة ١٦٠ مئوية (°C 160). ولا تزال أحجام السمات أكبر من ١٠٠ نانومتر ولكن لديها كثافات محسّنة على السطح [38].

(١٠,٣,٢) تقنيات الكتابة المباشر Direct-Write Techniques

تتفوق تقنيات مستوى الرقاقة في السرعة والحجم إلا أنها تفتقر في كثير من الأحيان إلى حرية التصميم لأنها تستخدم قالباً واحداً كبيراً ليؤثر على العديد من المناطق بشكلٍ متطابق. النظير لهذه الطرق هي تقنيات الكتابة المباشرة (direct - write techniques). إن تقنيات الكتابة المباشرة قادرة على إنتاج نقوش أو زخرفة مفصلة بشكلٍ دقيق جداً (very finely detailed patterning) مع قدر كبير من الحرية فيما يتعلق بالتصميم إلا أنها تستهلك بشكلٍ عام وقتاً طويلاً جداً وتكون عملية فقط عندما يتم استخدامها على مناطق صغيرة. إن النظام العام لهذه التقنيات هو إما استخدام حزمة جسيمات مُركزة بإحكام (tightly focused particle beam) وإما استخدام مسبار (probe) صغير للمسح عبر سطح، للتأثير بدقة على نقش أو زخرفة تصميم محدد سلفاً.

(١٠,٣,٢,١) حزمة الجسيمات المُسرَّعة Accelerated Particle Beam

إن تقنيات حزمة الجسيمات المُسرَّعة (accelerated particle beam techniques) هي عائلة من التقنيات التي يتم فيها تسريع الجسيمات المشحونة (charged particles) بواسطة حقول كهربائية (electric fields) ويتم تركيزها في حزمة بواسطة مغناط (magnets). ويمكن توجيه حزم الجسيمات لضرب المواقع المستهدفة بدقة عالية وبدقات تباين نانومترية.

(١٠,٣,٢,١,١) الحزمة الإلكترونية Electron Beam

إن تقنية الكتابة المباشرة الأكثر شيوعاً هي "الحفر بالحزمة الإلكترونية" ("electron beam (e-beam) lithography") أو (EBL). إن الحفر بالحزمة الإلكترونية (EBL) هي تكنولوجيا كانت موجودة منذ الستينيات وتطورت بشكلٍ طبيعي من تطور المجهر الإلكتروني الماسح (scanning electron microscope) [26]. وكما يوحي الاسم، يبعث مصدر إلكترونات (electron source) حزمة إلكترونية مُركزة بإحكام والتي يتم استخدامها لزخرفة أو نقش مقاومة بشكلٍ مباشر تماماً بنفس طريقة الحفر الضوئي التي تستخدم الضوء، ولكن مع دقات تباين أصغر بكثير، تصل تقليدياً إلى ١٠ نانومترات. وعلى سبيل المقارنة، فإنه من المفيد أن نشير إلى أن طول موجة الضوء الأزرق (blue light) هو في حدود ٤٨٠ نانومتر، في حين أن طول موجة الإلكترون هي فقط جزء من النانومتر. إن مخطط الإنتاج (production scheme) هو إجراء إطلاق (lift - off procedure) عام - حيث يتم طلاء الركيزة بطبقة غلاف خارجية من مقاومة ليتم تعريضها لحزمة إلكترونية (e-beam resist)، تقوم الحزمة الإلكترونية بحفر نمط أو نقش في المقاومة ومن ثم يتم ترسيب معدن على السطح وأخيراً تتم إزالة المقاومة تاركةً فقط النمط أو النقش المعدني الملتصق بالركيزة في المكان الذي تم تعريضه للحزمة الإلكترونية. وقد كان البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) مُستخدمًا ولفترة طويلة كمقاومة تقليدية [42] على الرغم من أن الباحثين ومنذ ذلك الحين كانوا قادرين وبشكلٍ مباشر على حفر مقاومات من ثاني أكسيد السيليكون (SiO₂ resists) [43] ومقاومات من فلوريد الليثيوم المستخلص من فلوريد الألومنيوم (AlF₃ - doped lithium fluoride resists) [44] لدقات تباين أدق قليلاً وذلك باستخدام تعرضات إلكترونية (electron exposures) أعلى بكثير. وعلى أي حال، إذا كانت مزايا استخدام الحفر بالحزمة الإلكترونية هي دقة التباين المحسنة وقدرات الكتابة المباشرة، إلا إن السليبيات هي الحاجة لمعدات باهظة الثمن وأوقات معالجة (processing times) طويلة [23].

وقد استخدمت دراسات طبية حيوية في وقت سابق الحفر بالحزمة الإلكترونية (e-beam lithography) لإنشاء قوالب ذات ركائز عامودية (أعمدة) نانوية (nano - pillared molds) والتي يتم استخدامها بعد ذلك لزخرفة سطوح البولي كابرولاكتون (polycaprolactone - PCL) الساخنة بأعمدة نانوية. وقد بينت مثل هذه الدراسات أن خلايا الأرومة الليفية البشرية (human fibroblast cells) تُظهر، على سبيل المثال، أرجل استشعار خيطية كاذبة (sensing filipodia) أكثر على السطوح ذات الحفر النانوية (nanopits) بقطر من ٣٥ إلى ١٢٠ نانومتر بالمقارنة مع السطوح المستوية [45] (planar surfaces)، وتُظهر التصاقاً ضعيفاً [28]. ويبدو أنه يتم التحسس أو الاستشعار بالحفر من قبل الأرجل الخيطية الكاذبة التي تقوم بعد ذلك بتوجيه الخلايا لتكون متحركة أكثر بدلاً من أن تكون ملتصقة [45]. وقد تم أيضاً دمج التشكيل أو الزخرفة بالحزمة الإلكترونية (e-beam patterning) جنباً إلى جنب مع التجميع الذاتي للطبقات الأحادية [46] (self - assembling monolayers) والبوليمرات ذات الاستجابة الحرارية (thermally responsive polymers) [47] لإنشاء سطوح تتحكم بالتصاق وتشكيل أو زخرفة الخلايا أثناء البذر. وحتى على نطاق أكثر اتساعاً، يتم استخدام الحفر بالحزمة الإلكترونية بالتعاون مع عمليات الحفر الأخرى مثل الطبعة النانوية والحفر الشعري لتحسين دقات تباينها الطبيعية بشكل جذري. وفي الواقع، فإن عدداً قليلاً جداً من تقنيات الحفر النانوي لا تستخدم الحفر بالحزمة الإلكترونية (EBL) في شكل ما، عادةً لإنشاء أقنعة لنقل النقش أو الزخرفة (pattern transfer masks).

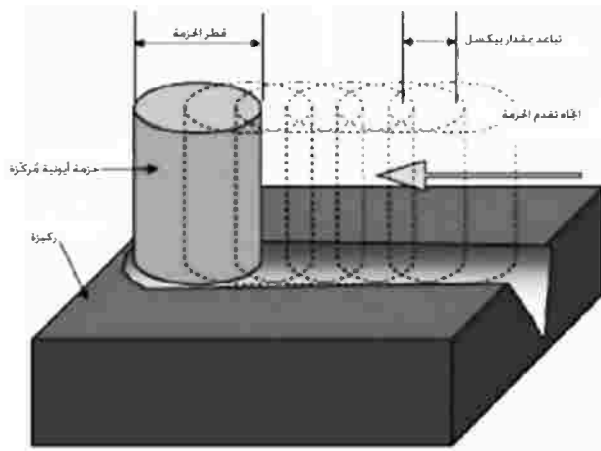
(١٠, ٣, ٢, ١, ٢) الحزمة البروتونية Proton Beam

إن الكتابة بالحزمة البروتونية (proton beam writing - PBW) هي حفر مباشر بحزمة أيونية (ion beam direct lithography) ذات طاقة عالية حيث يتم فيها إنشاء أيون صغير (غالباً ما يكون الهيدروجين (hydrogen) أو الهيليوم (helium)) مع طاقة عالية ويتم فصله عن سحابة الإلكترونات (electron cloud) باستخدام حقول كهربائية اتجاهية (directional electric fields) قوية. فعندما يتم تركيزها وتوجيهها على الركيزة المستهدفة، تقصف هذه الحزمة الذرة المستهدفة (target atom) وتؤثر في الغالب على السحابة الإلكترونية للذرة؛ وبالتالي تؤثر إما على ذوبانيتها (قابلية ذوبانها) وإما في بعض الأحيان تؤثر على مؤشر انكسارها (refractive index) أو تبلورها (crystallinity). وكما هو الحال مع تقنيات المقاومة السابقة، تتأثر المقاومات البوليمرية (polymer resists) في مثل هذه الطريقة لتعزيز الربط البوليمري المتشابك (polymer cross - linking) (المقاومة السلبية negative resist) وجعلها منيعة على الذوبان (dissolution) أو لكسر الروابط التساهمية للبوليمر (polymer's covalent bonds) من خلال انفصال السلسلة (chain scission) (المقاومة الإيجابية positive resist)، مما يجعلها بالتالي عُرضة للمذيبات [48]. وقد تبين أن هذه العملية تنتج سمات تصل إلى ٥٠ نانومتراً في المقاومة الضوئية (SU-8) و ٣٠ نانومتراً في البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) [49] و ٢٢ نانومتراً في سيلسيس كيوأوكسين الهيدروجين (hydrogen silsesquioxane - HSQ) [50]. وبالمقارنة مع الحفر بالحزمة الإلكترونية (EBL)، فإن الكتابة بالحزمة البروتونية (PBW) لها مدى أطول مع انتشار جانبي (lateral spreading) أقل و "يمكن أن تُنشئ بُنى ذات أعماق من عشرات المايكرومترات وذات زاوية جدارية جانبية قريبة جداً من ٩٠ درجة وخشونة منخفضة جداً" [48]؛ ولذلك فهي مناسبة جداً لتعرض مواد المقاومات السميكة مثل البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) [51].

وعلى الرغم من أنها ليست شائعة مثل الحفر بالحزمة الإلكترونية، إلا أن الكتابة بالحزمة البروتونية (PBW) تشق طريقها في مجال بحوث هندسة الأنسجة. وتستشهد مقالة منشورة في عام ٢٠٠٧ في (*Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*) على استخدام الكتابة بالحزمة البروتونية (PBW) لنقش أو زخرفة المقاومة الضوئية (SU-8) من أجل دراسة استجابة الخلايا البانية للعظم (osteoblasts response) للبنى النانوية (nanostructures) [52] و تُظهر أوراق أخرى عديدة بشير نجاح باستخدام الكتابة بالحزمة البروتونية (PBW) لنقش أو زخرفة السطوح ذات الصلة بالطب الحيوي مثل البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) والزجاج الحساس للضوء (photosensitive glass) وأرسنيد الغاليوم (GaAs) [51].

(١٠,٣,٢,١,٣) الحزمة الأيونية المركزة Focused Ion Beam

يستخدم الحفر بالحزمة الأيونية المركزة (focused ion beam lithography - FIBL) فيزياء القصف الأيوني (ion bombardment physics) المشابه لذلك المستخدم في الكتابة بالحزمة البروتونية (PBW) ولكن من خلال استخدامه لذرة أو جزيء أكبر. وتعتبر المجموعات العنقودية الصغيرة من الذهب (small gold clusters) وجزيئات الكوبالت ستن (C₆₀ molecules) من الأمثلة الشائعة لجسيمات الحزمة الأيونية المركزة. يمكن لحزمة الجسيمات المركزة إزالة المادة مثل "الحفر بالرش" ("sputter etching") (ستتم مناقشته في الفقرة ١٠.٤.١)، ولكن يعتبر هذا الحفر أيضاً وبشكل عام تقنية كتابة مباشرة مثل الحفر بالحزمة الإلكترونية (EBL). ويستخدم الحفر بالحزمة الأيونية المركزة (FIBL) حقولاً كهربائية ساكنة (electrostatic fields) (كهروستاتيكية) وحقولاً مغناطيسية (magnetic fields) لتركيز حزمة أيونية ذات طاقة منخفضة (low energy ion beam) [48] عادةً تصل إلى أقطار من ٥٠ نانومتراً [53] (الشكل رقم ١٠.٨). ويمكن أن تمرر الحزمة من خلال مرسام (stencil) على سطح ما مثل الحفر الضوئي التقليدي، ولكن يتم استخدامه في كثير من الأحيان في عمليات ترقيق (تحويل إلى رقائق) الشكل الحر (free - form milling processes) نظراً لتعقيدات بصريات الحزمة الأيونية (ion beam optics) [53]. وبسبب سرعاتها البطيئة في الكتابة، يتم اختيار الحزمة الأيونية المركزة (FIB) في كثير من الأحيان من أجل مهام الترقيق صغير المستوى [54,55] أكثر منها من أجل التطبيقات الطبية الحيوية. ومع ذلك، فإن بشير النجاح الحقيقي للحفر بالحزمة الأيونية المركزة (FIBL) في مستقبل هندسة الأنسجة وهندسة حاملة الخلايا يبقى في قدرته على الكتابة المباشرة على مجموعة متنوعة من السطوح الصلبة المتوافقة حيوياً (أي الزجاج والسيليكون وبعض المعادن) من دون استخدام المقاومات البوليمرية التي تكون عادةً ضرورية من أجل عملية الزخرفة أو النقش [55]. ولا يمكن حتى الآن لعمليات الحفر الضوئي والحفر باستخدام الحزمة الإلكترونية الادعاء بالقيام بذلك بكفاءة. بالإضافة إلى ذلك، يمكن لهذه التقنية أن تُوجّه بدقة وأن تكون مناسبة تماماً لإصلاح الأتعة التي تحتوي على أخطاء [48].



الشكل رقم (٨، ١٠). رسم تخطيطي لعملية الترقيق باستخدام الحزمة الأيونية المركزة (FIB milling). (تمت إعادة إنتاجها من Tseng, A.A., J. Micromech. Microeng. 14, R15, 2004).

وغالبًا ما يكون العيب المترتب على ذلك هو إعادة الترسيب (redeposition)، أي أن الذرات السطحية (surface atoms) التي تتم إزالتها يتم ترسيبها في أماكن أخرى على العينة. ويمكن التقليل من إعادة الترسيب باستخدام غاز تفكك كيميائي (chemical decomposition gas). وأثناء عملية الترقيق، فإن المادة السطحية المنزاحة (displaced surface material) إما أن تتحلل إلى غاز وإما أن تتفاعل مع غاز محيطي (ambient gas)، في كثير من الأحيان يكون الأكسجين، وذلك لتشكيل غاز مستقر (stable gas)، وبالتالي إزالة مشكلة انحراف الرش (sputter drift) وجعل النمط أو النقش أكثر نظافة [48].

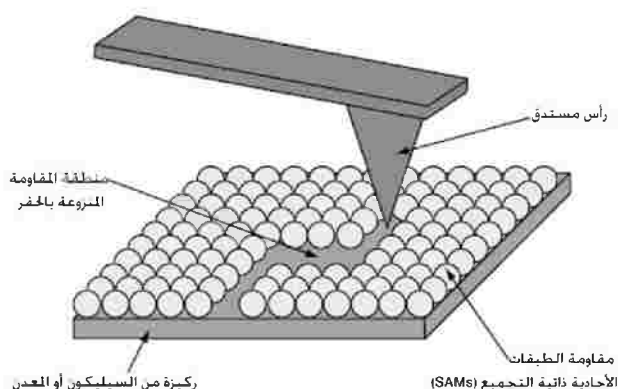
إن امتداد تقنية الحفر بالحزمة الأيونية المركزة (FIBL)، والذي لم ينتشر حتى الآن كأداة لهندسة الأنسجة هو "الترسيب باستخدام الحزمة الأيونية" ("ion beam deposition"). يتم هنا إنشاء غاز طليعة مؤقت (precursor gas) عن طريق تعريض مادة ما لحزمة أيونية ذات طاقة منخفضة بحيث تفكك المادة إلى مادة صلبة ومادة غازية (حيث تكون المادة الصلبة مُعلّقة في المادة الغازية). ويتم تقديم هذا الغاز عبر سطح قطعة العمل (workpiece surface) وتصطدم حزمة أيونية مركزة ذات طاقة منخفضة بغاز الطليعة عند السطح، مؤديةً إلى تفككه إلى شكله الصلب وترسيبه على السطح [48].

(١٠، ٣، ٢، ٢) مسبار المسح Scanning Probe

(١٠، ٣، ٢، ٢، ١) مجهر القوة الذرية Atomic Force Microscopy

إذا كان من الممكن اعتبار الحفر الكيميائي (chemical etching) الشائع تقنية ذات قوة عمياء لنقش أو حفر سطح، فإن "الحفر النانوي باستخدام مسبار المسح" ("SPNL - scanning probe nanolithography") هو البديل الدقيق. فباستخدام تقنية مجهر القوة الذرية (atomic force microscopy - AFM)، يتم تغيير السطح، عادةً يتم حفره أو كتابته باستخدام رأس أو طرف صغير حاد (small sharp tip)، وفي القرب منه تتفاعل مواد كيميائية مع الجزء المحفور أو المكتوب (scribed)

(الشكل رقم ١٠.٩). وقد تم في البداية استخدام رؤوس من الماس (diamond tips) على اعتبار أنها الكاتب أو الناسخ (scribe) ولكن أصبحت الآن رؤوس مجهر القوة الذرية (AFM) (المغلقة بطبقة من نثريد السيليكون (SiN) مع أنصاف أقطار من حوالي ٢٠ نانومتراً) شائعة ويمكن أن تكتب سمات مع عرض يصل إلى أقل من ٢٠ نانومتراً [56]. وفي أغلب الأحيان يتم غمر السطح في كاشف كيميائي (chemical reagent)؛ وبالتالي يحدث التفاعل بمجرد ما يُعري الكاتب أو الناسخ السطح الجديد. ومثل طرق الكتابة المباشرة الأخرى كالحفر باستخدام الحزمة الإلكترونية، فإن الفوائد التجريبية الرئيسية هي دقات التباين المحسنة والحرية في كتابة أو نسخ معظم الأنماط أو النقوش ثنائية الأبعاد التي يمكن تخيلها. وبطريقة مماثلة، فإن العيوب هي الكفاءات المنخفضة وأوقات المعالجة الطويلة على الرغم من أنه في السنوات الأخيرة يحاول العديد من الابتكارات الجديدة التغلب على هذه المشكلة.



الشكل رقم (١٠,٩). رسم تخطيطي للحفر بمسبار المسح (scanning probe lithography) باستخدام مقاومة ذات طبقات أحادية ذاتية التجميع (self-assembling monolayers - SAM). (من Norman, J.J. and Desai, T.A., *Ann. Biomed. Eng.*, 34, 89, 2006).

على سبيل المثال، إن الفكرة التي انطوت على تشكيل أو زخرفة الكولاجين (collagen patterning) هي استخدام طرق كيميائية حيوية طبيعية (normal biochemical methods) من أجل ترسيب الكولاجين بالتجميع الذاتي (deposition of self - assembling collagen solubilized bovine dermal) ، ولكن بعد ذلك باستخدام تقنية مبنية على مجهر القوة الذرية (AFM) لتشكيل أو زخرفة البروتين. ففي عام ٢٠٠٤ أظهر Jian وآخرون أن الكولاجين الجلدي البقري المذاب (cleaved mica surface) حديثاً. وبعد ٤ إلى ٥ ساعات استقرت مصفوفة الكولاجين (collagen array) في بُنى صلبة ولكن في غضون ذلك الوقت أمكن معالجة هذا البروتين عن طريق إنفاذ رأس مجهر القوة الذرية (AFM tip) عبر السطح. وعند استخدام المسح الإبري (stylus scanning) بواسطة قلم مستدق الرأس عند قوى بقيمة ٣٠٠ بيكو نيوتن (300pN)، يمكن إعادة ترتيب أو محاذاة ليفات الكولاجين المايكروية الأصلية (native collagen microfibrils) أو حتى تجميعها في ألياف طويلة ذات طول من حوالي ١٠٠ مايكرومتر بينما يتم الحفاظ على ارتفاع طبيعي من حوالي ٣ نانومتراً. بالإضافة إلى ذلك، حتى وعلى الرغم

من كون الليفيات المايكروية مُجبرة على الترتيب أو المحاذاة بشكل ميكانيكي، فقد وُضِّح المؤلفون بأن "هذه المادة تبقى متواصلة جزيئياً" مضيفين بأنه، "إذا كانت إعادة توجيه الليفيات المايكروية بواسطة إبرة بمجهر القوة الذرية (AFM stylus) تقطع الروابط بين جزيئات الكولاجين، فإن هذه الروابط ستعيد بعد ذلك وبوضوح إصلاح نفسها من جديد" [57].

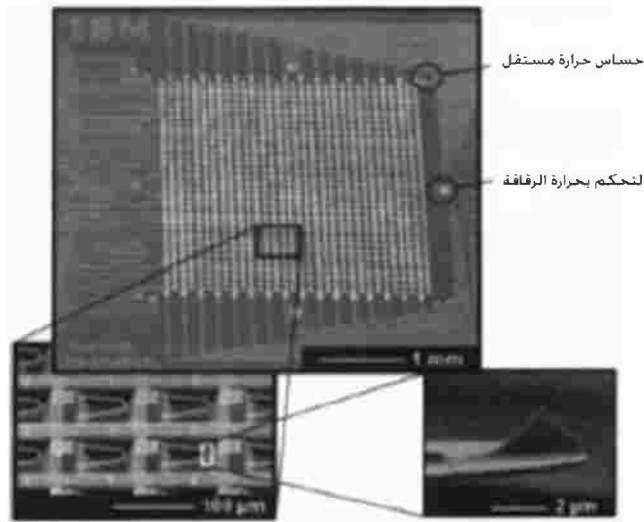
وهناك طريقة أقل قوة وهي تسخين رأس مجهر القوة الذرية (AFM) باستخدام المقاومة الكهربائية (resistively heat) بدلاً من تطبيق المزيد من الضغط. ويمكن لرأس مجهر القوة الذرية (AFM) الساخن أن يقوم بتعديل سطح ما إما كيميائياً عن طريق التأثير على منطقة حساسة بشكل كيميائي حراري (thermochemically susceptible region) (من خلال الأكسدة (oxidation) أو التحلل (degradation) أو الربط المتشابك، ... إلخ) وإما بشكل فيزيائي، عموماً من خلال تغيير الشكل (التشويه) (deformation). ففي عام ٢٠٠٧ تبين بأن هذه الطريقة تكتب خطوطاً عريضة تصل إلى أقل من ١٢ نانومتراً في بوليمر مشترك خاص ويمكن أن تُنشئ كثافة خطوط تصل إلى 2×10^6 خطوط في المتر الواحد [5].

(١٠,٣,٢,٢,٢) الرأس المنغمس Dip-Pen

واحدة من الأفكار المنتشرة بشكل متزايد والتي أتت من الحفر النانوي باستخدام مسبار المسح (SPNL) هي "الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس" ("DPN - dip pen nanolithography"). حيث يتم هنا "تعبير" ("inked") أو غمس (dipped) رأس مجهر القوة الذرية (AFM tip) في محلول من بروتين أو ببتيد أو مادة كيميائية أخرى ذات الاهتمام؛ ومن ثم يتم مسحه (scanned) على طول السطح، حيث يقوم بترسيب الجزيئات المحببة (inked molecules) من خلال الانتشار الكتلي (mass diffusion) [58]. وبطبيعة الحال، فإن الكولاجين هو واحد من بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) الأكثر شهرة، فهو يجذب قدرًا لا بأس به من البحوث من خلال الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس (DPN). وقد ذكر Wilson وآخرون في عام ٢٠٠٧ الطباعة الإيجابية (positive printing) لخطوط من الكولاجين من ٣٠ إلى ٥٠ نانومتراً على رقائق من الميكا الخضراء الخزفية المطلية بطبقة من الذهب (gold-coated muscovite green mica wafers). إن الميزة الحقيقية لهذه الطريقة هي أنها "حافظت على البنية الحلزونية الثلاثية (triple-helical structure) والفعالية البيولوجية (biological activity) للكولاجين وحتى أنها عززت تشكيل مستويات تنظيم بنيوي أعلى وبخصائص مميزة" [58]. بالإضافة إلى ذلك، كان تشكيل مثل هذه الزخرفة ناجحاً من أجل ارتفاعات تصل إلى ٣٠٠ نانومتر وأطوال تصل إلى ١٠٠ مايكرومتر.

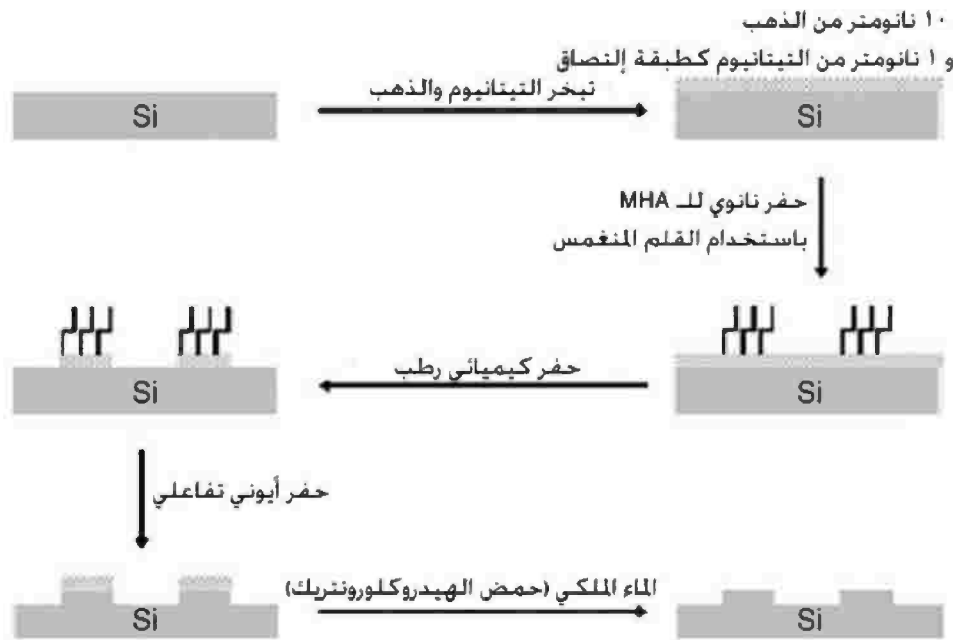
بالإضافة إلى ذلك، يمكن للإنزيمات (enzymes) أن تلتصق برأس مجهر القوة الذرية المغلف بطبقة من نثرير السيليكون (SiN AFM tip) وذلك من أجل التحريض وبقوة على مزيد من التفاعلات الكيميائية الموضعية (localized chemical reactions). فعلى سبيل المثال، لقد تبين أنه يمكن استخدام إنزيم الفوسفاتاز - سترتافيدين القلوي (alkaline phosphatase - streptavidin) المثبت على رأس مجهر القوة الذرية (AFM) لنزع فسفات (dephosphorylate) الـ (BCIP) في وجود العامل المشارك (NBT) (cofactor) وبذلك يترسب الـ (BCIP). وبالتالي؛ فإن مسح مثل رأس مجهر القوة الذرية (AFM) هذا عبر سطح الميكا المغطى بالـ (BCIP / NBT) يترك أثراً خطية (linear traces) خفيفة من رواسب (precipitate) ذات عرض من ١٥٠ إلى ١٧٠ نانومتر وارتفاع من ١٠ نانومتراً [59].

ولأن سرعة الكتابة للحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس (DPN) هي بشكل عام محدودة من خلال معدلات الانتشار الكتلي (mass diffusion rates) للجزيئات الملتصقة برأس المجهر (عندما يتم نقلها إلى الركيزة) أو في الحالات الكيميائية الحرارية (thermochemical cases) من خلال الانتشار الحراري (heat diffusion) [5]، فإن زمن المعالجة وقابلية التوسع (scalability) قد تمت الإشارة إليها في أغلب الأحيان على أنها العوائق الرئيسية للحفر باستخدام مسبار المسح [22,23]. مع أخذ ذلك في الاعتبار، فقد بدأ الباحثون باستكشاف طرق موازية لعمليات الحفر باستخدام مسبار المسح وبدرجات متفاوتة من القبول. ففي حين يؤكد المؤيدون بأن كفاءة الحفر النانوي باستخدام الرأس أو القلم المنغمس (DPN) يمكن تحسينها بشكل كبير وببساطة عن طريق استخدام رؤوس متعددة لمجهر القوة الذرية (multiple AFM tips) موضوعه على التوازي [5,60]، يقي المتقنون متففين على أن التقنيات الأخرى مثل الحفر باستخدام الطبعة النانوية (NIL) ستبقى على الأرجح "أكثر مرونة وأكثر سرعة" [23]. ومع ذلك، فإن لشركة آي بي إم (IBM) تجارب جارية حالياً لدراسة فعالية مصفوفات الرقاقات ثنائية الأبعاد عالية الكثافة (high - density 2D chip arrays) مع رؤوس ناتئة (ذات عتلات) مشابهة لرؤوس مجهر القوة الذرية (AFM - like cantilever tips) [61] في مشروع أطلق عليه اسم "الدودة الألفية" ("Millipede") [61,62] (الشكل رقم ١٠.١٠). فعلى الرغم من أنه قد تم تصورها لتستخدم من أجل أغراض تخزين البيانات [63]، إلا أن استخدامها للتقنيات الكيميائية الحرارية المعيارية (standard thermochemical techniques) للحفر أو الكتابة على البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) سيجد بلا شك تطبيقات طبية حيوية في المستقبل.



الشكل رقم (١٠.١٠). مصفوفات رقاقات ثنائية الأبعاد (2D chip arrays) مع رؤوس ناتئة (ذات عتلات) مشابهة لرؤوس مجهر القوة الذرية (AFM-like cantilever tips). (من Vettiger, P., Brugger, J., Despont, M. et al. 1999. *Microelectron. Eng.*, 46, 11, 1999).

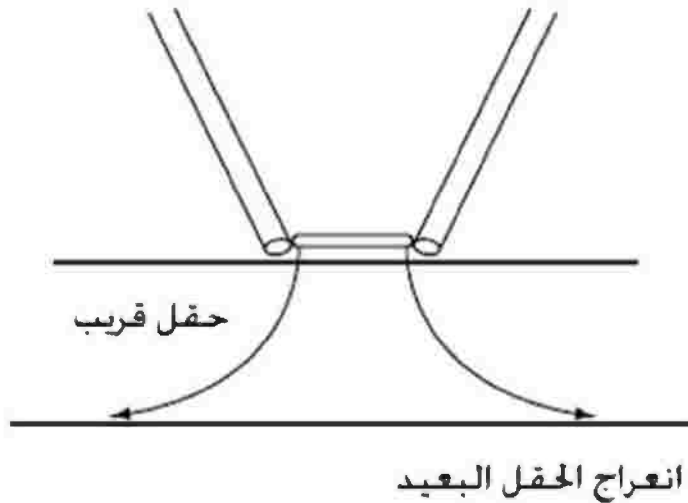
ويمكن للحفر بواسطة مسبار المسح أن يتم استخدامه أيضاً بالتعاون مع تقنيات الزخرفة أو النقش (patterning techniques) الأخرى. فكما ذكر سابقاً، يتم إنجاز الحفر الأيوني التفاعلي بشكل عام من خلال قناع مقاوم (resistive mask) تم تشكيله أو نقشه من خلال الحفر بالحزمة الإلكترونية. ومع ذلك، تذكر نشرة دورية تم إصدارها مؤخراً من قبل Zhang وآخرين استخدام الحفر النانوي بالرأس أو القلم المنغمس (DPN) لكتابة حمض ١٦ - ميركابتو هيكسا ديكانويك (MHA - 16-mercaptohexadecanoic acid)؛ مما يؤدي إلى حفر قناع (etching mask) مع أبعاد في المجال النانومتري على ركيزة من السيليكون مُغلّفة بطبقة من الذهب / التيتانيوم (Au / Ti - coated Si substrate) [60]. ومن ثم يقوم حفر كيميائي رطب (wet chemical etch) بحفر كامل السطح، كاشفاً الزخارف أو النقوش الذهبية المكتوبة (written gold patterns). ويقوم حفر أيوني تفاعلي لاحق بإزالة الذهب تاركاً البنى النانوية السيليكونية (Si nanostructures) في النقش الذي تمت كتابته في البداية بواسطة مجهر القوة الذرية (AFM). في هذه الطريقة تم نقش الركيزة السيليكونية (Si substrate) مع خطوط سيليكونية إيجابية (positive Si lines) (بعرض ٣١٢ نانومتر وبارتفاع ١٦ نانومتراً) ومع نقاط (بقطر ٣٨٥ نانومتر وبارتفاع ٧٥ نانومتراً) [60] (الشكل رقم ١٠، ١١).



الشكل رقم (١٠، ١١). استخدام الحفر النانوي بالرأس أو القلم المنغمس (DPN) لإنشاء خطوط سيليكونية (nanopatterned Si lines) نانوية منقوشة أو مزخرفة (nanopatterned Si lines) على ركيزة من السيليكون (Si). (تمت إعادة إنتاجها من Zhang, H.,

(١٠,٣,٢,٢,٣) مسبار المسح في الحقل القريب Near-Field Scanning Probe

ثمة طريقة أخرى وراء التلاعب بطول الموجة (wavelength manipulation) وذلك لتجنب حد الانعراج الخاص بالحفر الضوئي الذي تم مناقشته سابقاً وهي استخدام طريقة الحقل القريب (near - field approach). إن وضع القناع على تماس مع المقاومة يحد من مقدار الفراغ أو المساحة التي يتوجب على الضوء أن ينعرج فيها؛ وبالتالي يؤدي إلى زيادة دقة التباين. وثمة خيار لا يُستخدم فيه القناع يُسمّى "الحفر الضوئي بواسطة المسح في الحقل القريب" ("near - field scanning optical lithography") حيث يتم إطلاق ضوء من خلال مسبار من الألياف الضوئية مُغلف بالألومنيوم (aluminum - wrapped fiber - optic probe) وضيق جداً، حيث يقوم بالمسح عبر السطح. واعتماداً على حجم المسبار، يمكن الحصول على دقات تباين من حوالي ٥٠ نانومتراً (الشكل رقم ١٠,١٢). ولأن هذه الطريقة تتطلب تحكماً دقيقاً بالمسافة بين مصدر الضوء والمقاومة، فإنه يجري حالياً دراسة الطبقات الأحادية ذاتية التجميع (self - assembling monolayers - SAMs) بحماسة إضافية. ومن الممكن تعديل سماكة الطبقات الأحادية ذاتية التجميع (SAMs) في المستوى النانومتري عن طريق إضافة سلاسل بطول من ١ إلى ٢ نانومتر بشكل متعاقب. ومن المثير للاهتمام، أن الحفر الضوئي في الحقل القريب باستخدام الطبقات الأحادية ذاتية التجميع (SAMs) يمكن أن يُنجز سمات بين ٢٠ و ٤٠ نانومتراً حتى وعلى الرغم من أن حجم المسبار هو على وجه التقريب ٥٠ نانومتراً [64]. إن أحد التفسيرات لذلك هو أن الضوء يحث البلازمون (plasmon) المحتوى بشكل عالٍ على السطح الذهبي، والذي يؤثر بالتالي على التركيب الكيميائي للطبقة الأحادية ذاتية التجميع (SAM) في المواضع القريبة جداً تاركاً أجزاءً عُرضة للإزالة من قبل المذيب [64].



الشكل رقم (١٠,١٢). يُلغى الحفر الضوئي باستخدام المسح في الحقل القريب (near - field scanning optical lithography) حد الانعراج

(diffraction limit). (تمت إعادة طباعته من Legget, G.J., *Nanolithography and Patterning Techniques in*

.(Woodhead Publishing Limited, Cambridge England, 2005 *Microelectronics*,

(١٠,٤) طرق متنوعة MISCELLANEOUS

وتوجد أيضاً تقنيات حفر نانوي متنوعة تعتمد على عمليات الحفر الأخرى، وفي بعض الأحيان تعتمد على كلٍ من الحفر من الأعلى إلى الأسفل والحفر من الأسفل إلى الأعلى على حدٍ سواء. فعلى سبيل المثال، ينطوي الحفر أو النقش النانوي دائماً تقريباً على شكل من أشكال الحفر باستخدام الحزمة الإلكترونية (e-beam) أو الحزمة الأيونية المركزة (FIB) وذلك لإنشاء قناع. وبطريقة مماثلة، فإن دقة تباين ترسيب الظل (shadow deposition) تعتمد على أي عدد من مجموعات أو مزاولات حزمة الجسيمات المسرّعة (accelerated particle beam) ومسبار المسح (scanning probe) والحفر الكيميائي (chemical etching). وقد تحدت النتائج والقبول العام لهذه الطرق في الحفر النانوي والطب الحيوي عن طريق الجمع والتوازن بين المزايا والمساوئ لسابقتها أو أسلافها التأسيسية.

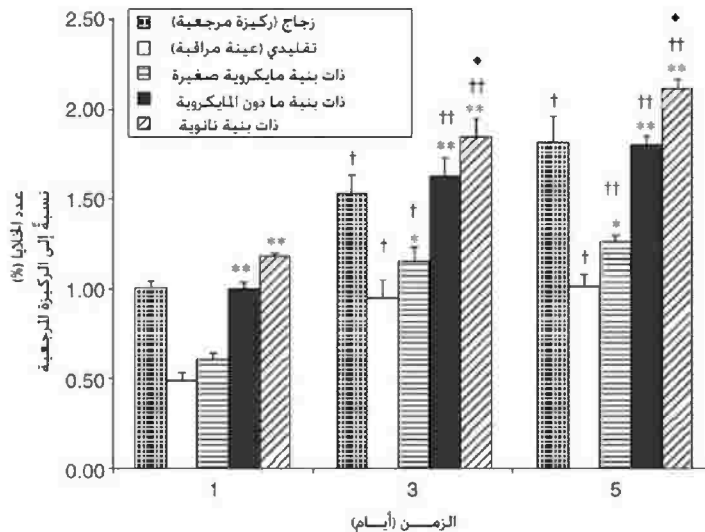
(١٠,٤,١) الحفر أو النقش Etching

لقد جدد في الآونة الأخيرة أيضاً حب الاستطلاع حول العلاقة بين السلوك الخلوي (cellular behavior) ومناطقه المحيطة ذات البنية النانومترية تلك التقنيات الكيميائية الكلاسيكية كالحفر أو النقش الكيميائي والحفر أو النقش بالرش (sputter etching). ويستخدم الحفر بالرش حالة من أنواع أيونية ذات طاقة منخفضة (low energy ion species) مع أيونات أثقل (أكسجين (O) أو أرغون (Ar) أو غالسيوم (Ga) أو زينون (Xe)) في شكل بلازما (plasma form) ليزيل بالحفر الذرات السطحية بعيداً عن "قطعة العمل" ("workpiece"). ويتم إنجاز زخرفة أو نقش السطح عن طريق استخدام أقنعة مقاومات نموذجية مرسومة بواسطة مرسام (typical stenciled resist masks) وذلك لتغطية قطعة العمل. ويتم تشكيل سحابة البلازما (plasma cloud) عن طريق تطبيق حقل كهربائي مستمر أو ذي تردد راديوي (DC or radio - frequency electric field) على غاز من ذرات منخفض الضغط وهكذا فإن الأيونات والإلكترونات المتأينة (ionized electrons) ستواجه بالتالي بشكلٍ مشتركٍ في نفس حجم الأنواع التي تتأين وتعيد تركيبها باستمرار. ويتم بعد ذلك "قصف قطعة العمل المغمورة بشكلٍ عشوائي" ("randomly bombarded") بواسطة الأيونات الموجبة التي تؤثر على قطعة العمل المعرضة وأي طبقة مقاومة في نفس الوقت. ومن المناسب اعتبار هذه الاصطدامات الأيونية ذات الطاقة المنخفضة (low energy ion collisions) وكأنها في الأساس كرات لعبة بلياردو ذرية؛ حيث تنطلق الأيونات الموجبة الأكبر بسرعة فائقة من خلال السحابة الإلكترونية للذرة المستهدفة، بحيث تصطدم مع النواة ويمكن أن تطرد أو تُطلق الذرات السطحية المستهدفة إذا كانت طاقة مثل ذلك التصادم أكبر من طاقة الربط الشعريّ أو الشبكيّ (lattice binding energy) للذرة المستهدفة. ويكون عمق الاختراق (penetration depth) عادةً من ١ إلى ١٠٠ نانومتر، ومرة أخرى يمكن أن يُشكّل إعادة الترسيب مشكلة [48].

والبدل للحفر بالرش هو "الحفر الأيوني التفاعلي" ("RIE - reactive ion etching")، ويُسمّى أيضاً "الحفر الجاف" ("dry etching"). وهو في الأساس مثل الحفر أو النقش بالرش ما عدا أن غاز البلازما (plasma gas) يكون تفاعلياً مع المادة التي سيتم حفرها بالنسبة للمقاومة. إن نفس التقنية يمكن أن تُستخدم أيضاً للتفاعل مع الجسيمات التي تتم إزالتها من أجل الحد من إعادة الترسيب. وليس من الضروري أن تُغمر قطعة العمل في البلازما إذا ما تم وضع انحياز (bias) عبر النظام لسحب الأيونات الموجبة ويمكن ضبط أو تعديل كثافة البلازما (plasma density) والطاقة عن طريق تغيير تيار الإثارة

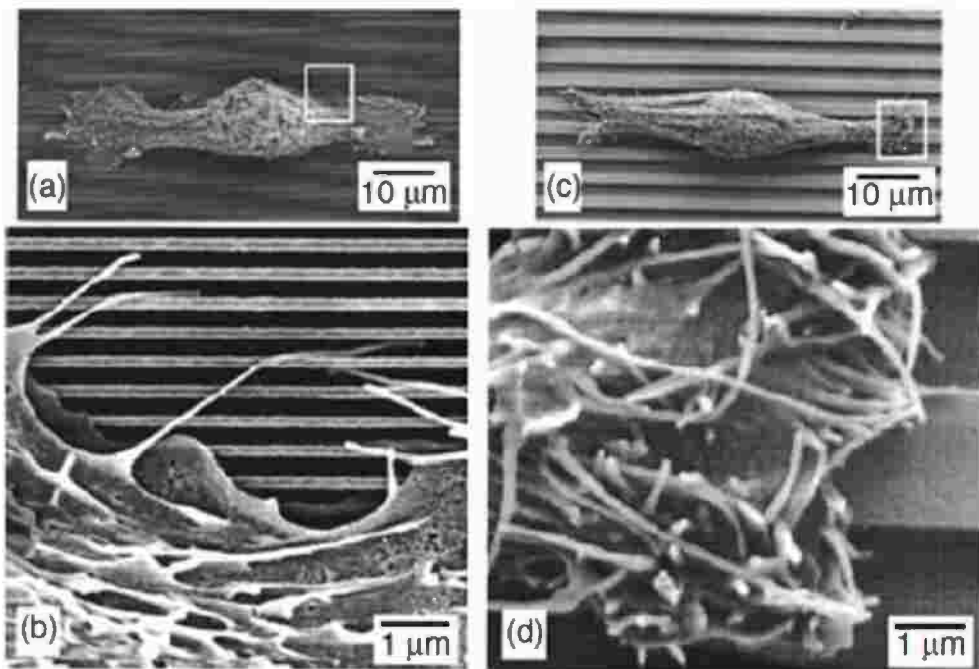
(excitation current) أو ضغط الغاز (gas pressure). وهناك شكل آخر مختلف يدعى الحفر أو النقش بمساعدة الغاز (gas assisted etching) حيث يستخدم حزمة أيونية بدلاً من البلازما لفصل أو تحديد السمات. إن هذا التركيب مشابه لمخطط الترسيب باستخدام الحزمة الأيونية (ion beam deposition scheme) الذي سبق وأن تمت الإشارة إليه ما عدا أنه يتم استبدال غاز الحفر الكيميائي بغاز الطليعة [48].

وقد استخدم فريق بحثي في إنديانا بالولايات المتحدة بقيادة Karen Haberstroh الحفر أو النقش في عام ٢٠٠٣ للتلاعب بالتصاق الخلايا العضلية الملساء لمثانة الغنم (ovine bladder smooth muscle cells - SMCs) على أفلام من بولي (حمض إل - لاكتيك - كو - غليكوليك) (PLGA) ومن البولي يوريثان (PU). ويرى الفريق بأنه ومن خلال الزخرفة أو النقش النانوي (nanopatterning) سوف يعزز التفاعل المتزايد بين الخلايا والركيزة (cell - substrate interaction) آمالاً جديدة في المستقبل من أجل بُنى اصطناعية بديلة للمثانة (artificial bladder replacement constructs). ففي حين أن هذه الدراسة لا تشرح الحفر أو النقش بالرش أو الحفر الأيوني التفاعلي، ولكن تشرح إلى حد ما استخدامات الحفر الكيميائي بواسطة هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) وحمض النتريك (HNO_3)، فإنه وعلى الرغم من ذلك فقد تم تشكيل حفر نانوي عشوائي لسمات ما بين ٥٠ و ١٠٠ نانومتر. وتُظهر النتائج في الشكل رقم (١٠،١٣) أن الخلايا العضلية الملساء (SMCs) للمثانة تزيد في الواقع من وظيفة الخلايا على بولي (حمض إل - لاكتيك - كو - غليكوليك) ذي البنية النانومترية (nanostructured PGLA) بالمقارنة مع ركيزة عينة المراقبة الزجاجية (glass control substrate) وبولي (حمض إل - لاكتيك - كو - غليكوليك) (PGLA) غير المعالج [65] (الشكل رقم ١٠،١٣).



الشكل رقم (١٠،١٣). تأثيرات الطوبوغرافيا النانوية (السمات السطحية النانوية) (nanotopography) على وظيفة الخلايا العضلية الملساء للمثانة (bladder SMC). (من (Thapa, A., Miller, D.C., Webster, T.J. et al., *Biomaterials*, 24, 2915, 2003).

وفي العام نفسه ، استخدم Teixeira وآخرون في ولأبي ويسكونسن بالولايات المتحدة تقنية الحفر أو النقش الأيوني التفاعلي الأكثر تحديداً وذلك لحفر رقائيق السليكون إلى أخاديد (grooves) بعرض ٧٠ نانومتراً، والتي زرعوا عليها خلايا ظهارية قرنية بشرية (human corneal epithelial cells). وقد فعلوا ذلك من خلال قناع من البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA mask) الذي تم نقشه أو زخرفته بواسطة الحفر بالحزمة الإلكترونية وقد تم استخدام (CF_4) و (SiF_4) على اعتبار أنه الغاز التفاعلي (reactive gas). ونتيجة لذلك ؛ فقد رصفت الخلايا نفسها على طول الأخاديد، متخليةً عن الشكل المستدير (round shape) الذي هو شائع عادةً عندما تُزرع الخلايا على السطوح الملساء (smooth surfaces) [66] (الشكل رقم ١٠، ١٤). وبطريقة مماثلة ، وفي العام نفسه قامت مجموعة بحثية في اليابان بتعديل سطح رقاقة من السيليكون باستخدام غاز سداسي فلوريد الكبريت (SiF_4) وغاز الأكسجين (O_2) من خلال قناع من الكوبالت (cobalt mask). وقد كان هدفهم النهائي من وراء الحفر بالغاز (gas etch)، على أي حال، هو ترسيب طبقة أحادية ذاتية التجميع (SAM) في النقش أو الزخرفة [67]، والتي يمكن بعد ذلك وبشكلٍ مفترض أن تُحدّد وظيفياً (functionalized) من أجل الأغراض الطبية الحيوية مثل امتزاز أو امتصاص البروتين (protein adsorption) [68].

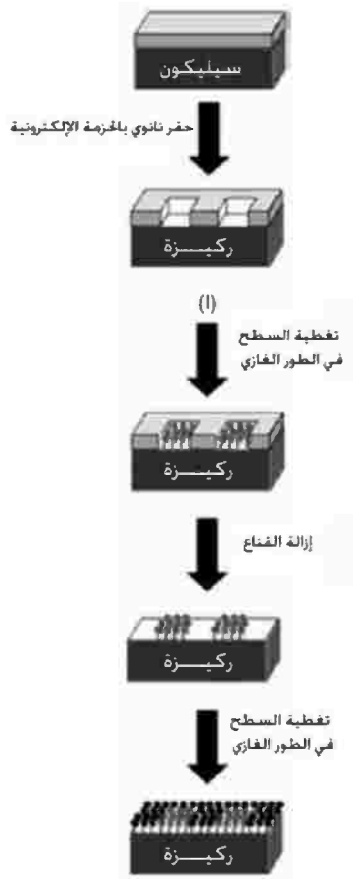


الشكل رقم (١٠، ١٤). محاذاة الخلايا (cell alignment) لسطح ذي نقوش أو زخرفة نانوية (nanopatterned surface). (من Teixeira, A.I.,

(Abrams, G.A., Murphy, C.J. et al., *J. Vac. Sci. Technol. B*, 21, 683, 2003).

(١٠,٤,٢) ترسيب الظل Shadow Deposition

هناك تقنية أخرى تعتمد على دقات تباين الحزمة الإلكترونية (e-beam resolution) وهي "ترسيب الظل" ("shadow deposition") وذلك من خلال استخدام مرسوم (استنسل) نانوي (nanostencil). إن المادة التي سيتم ترسيبها هنا يتم تبخيرها إما فيزيائياً وإما كيميائياً، غالباً في بيئة خَلَايَية (vacuum environment). يغادر البخار بشكل عمودي من السطح بحيث يمكن تمريره من خلال مرسوم ذو نمط زخرفة أو نقش محدد وترسب على سطح آخر وراء المرسوم. ويمكن نحت أو نقش المرسوم (الاستنسل) عند مستويات ما دون المايكرون (submicron levels) وذلك باستخدام طرق الحزمة الإلكترونية أو الحزمة الأيونية المركزة (FIB) أو مسبار المسح. إن أحد الجوانب السلبية يتمثل في احتمال أن يصبح المرسوم عرضة للانسداد (clogging) والانحناء (bending) والمشاكل المرتبطة باختلال أو سوء المحاذاة (misalignment) [69] (الشكل رقم ١٠,١٥).



الشكل رقم (١٠,١٥). تفاعل السيلنة في الطور الغازي (gas - phase silanization reaction) لتغطية السطح بالتجميع الذاتي لجزيئات آلوكوسي سيلين العضوية الوظيفية من خلال مرسوم أو استنسل من البولي (ميثاكريلات الميثيل) محفور بواسطة حزمة إلكترونية (e-beamed PMMA stencil). (تمت إعادة طباعتها من Pallandre, A., Glinel, K., Jonas, A.M. et

في عام ٢٠٠٤، ذكر Pallandre وآخرون استخدام تفاعل سَيْلَنَة في الطور الغازي (gas - phase silanization reaction) وذلك لترسيب طبقة أحادية من السيلين (silane monolayer) (وهو مركب سيليكون هيدروجيني) على رقاقة من السيليكون من خلال مرسام أو استنسل من البولي (ميثاكريلات الميثيل) (PMMA) محفور بواسطة حزمة إلكترونية (e-beam - etched PMMA stencil). وقد كان النمط أو النقش النانومتري (nanopattern) الناتج ليس فقط بدقة تباين عالية (من ٢٠ إلى ٢٥ نانومتراً) ولكن كان علاوة على ذلك سريع التأثير أيضاً بالتصاق مجموعة واسعة من المحددات الوظيفية الكيميائية (chemical functionalities) [70] والتي يمكن أن تُستخدم بعد ذلك وبشكلٍ تصوري من أجل الالتصاقات البيولوجية (biological attachments) والمعالجات أو التلاعبات البيولوجية (biological manipulations). وكإثبات للمفهوم، فقد أتبع Pallandre وآخرون تجربة السيلنة الغازية (gas - silanization) (تغطية السطح بالتجميع الذاتي لجزيئات آلوكوسي سيلين العضوية الوظيفية، أي جزيئات آلكيل أكسجين سيليكون - هيدروجين، بواسطة الغاز) في وقت لاحق من العام نفسه بتقرير حول امتزاز أو امتصاص (adsorption) بروتين كروي نموذجي (typical globular protein) (وهو بروتين P.69 pertactin) على شرائط أو خطوط نانوية (nanostripes) متوازية من آلكيل سيلين (alkylsilane). وقد وجدوا أنهم لم يستطيعوا فقط أن يحددوا موضع امتزاز أو امتصاص البروتين ولكن من خلال تغيير عرض الشرائط أو الخطوط النانوية استطاعوا أيضاً تغيير اتجاه البروتين. فشرائط أو خطوط نانوية بعرض أقل من ٥٠ نانومتراً من شأنها أن تشجع البروتين على الالتصاق عند محوره الأطول المتعامد مع الشريط أو الخط في حين شجعت الشرائط أو الخطوط النانوية الأعرض على الامتزاز الموازي أو "المسطح" (parallel or "flat" adsorption) [71].

(١٠,٥) الاستنتاجات CONCLUSIONS

عند مناقشة استخدامات الحفر النانوي في حمل الخلايا والأنسجة (scaffolding) وهندسة الأنسجة، فإنه وفي الوقت نفسه يصبح من المثير أن تتخيل الكثير من الإمكانيات التي تنتظرنا ومن العائق أن نفكر في الكمية الكبيرة من البحوث التي لا يزال يتعين القيام بها. فعلى الرغم من أن الحفر كان موجوداً منذ قرون وحتى أن الكثير من التقنيات المتقدمة كانت موجودة منذ عقود عدة، إلا أن تطبيقات الحفر النانوي من تلك التقنيات تعتبر تطورات حديثة إلى حد ما. إن جميع عمليات الحفر بواسطة الأشعة السينية (X-ray) والحزمة الإلكترونية (e-beam) والطبعة (imprint) والنقش (etching) ومسبار المسح (scanning probe) قد تم استخدامها في الطرق الخاصة بها وذلك من أجل زخرفة أو نقش السطوح بهدف أن تكون حاملات خلايا وأنسجة يتم استخدامها في هندسة الأنسجة. إن كل طريقة من هذه الطرق لها مزاياها وعيوبها الخاصة بها، ولا تزال بعد كل طريقة تنمو وتتوسع يوماً بعد يوم مع كل التطورات الجديدة التي تحدث في المواد والتقنية. وربما قد تم الآن نقل الحفر النانوي من أصوله العلمية الأدنى، إلا أنه ومن المفارقات أنه يقود ويُقاد على حد سواء من خلال الهدف الحالي وأكثر من أي وقت مضى بحيث سيؤدي في يوم من الأيام إلى إنشاء سطوح قادرة على دعم أنسجة كاملة الوظيفة بشكلٍ اصطناعي.

المراجع REFERENCES

- [1] Trawick M, Angelescu D, Chaikin P, et al. 2005. Block copolymer nanolithography. In *Nanolithography and Patterning Techniques in Microelectronics*. 1st ed. Bucknall DG (Ed.), 1–38. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- [2] Senefelder A. 1968. *A Complete Course of Lithography*. 2nd ed. New York: Da Capo Press.
- [3] Wenniger MA. 1983. *Lithography: A Complete Guide*. 1st ed. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice-Hall.
- [4] Fouque V. 1973. *The Truth Concerning the Invention of Photography: Nicephore Niepce, His Life, Letters, and Works*. 2nd ed. New York: Arno Press.
- [5] Szoszkiewicz R, Okada T, Jones SC, et al. 2007. High-speed, sub-15 nm feature size thermochemical nanolithography. *Nano letters* 7(4):1064–1069.
- [6] Park M, Chaikin PM, Register RA, et al. 2001. Large area dense nanoscale patterning of arbitrary surfaces. *Applied Physics Letters* 79(2):257–259.
- [7] Wei, XL, Mo, ZH, Li, B, and Wei, JM. 2007. Disruption of HepG2 cell adhesion by gold nanoparticle and paclitaxel disclosed by in situ QCM measurement. *Colloids & Surfaces B: Biointerfaces* 59(1):100–104.
- [8] Zhang, H, Amro, NA, Disawal, S, et al. 2007. High-throughput dip-pen-nanolithography-based fabrication of Si nanostructures. *Small* 3(1): 81.
- [9] Nowak AP, Breedveld V, Pakstis L, et al. 2002. Rapidly recovering hydrogel scaffolds from selfassembling diblock copolypeptide amphiphiles. *Nature* 417(6887):424.
- [10] Hartgerink JD, Beniash E, and Stupp SI. 2001. Self-assembly and mineralization of peptide-amphiphile nanofibers. *Science* 294(5547):1684.
- [11] Kisiday J, Jin M, Kurz, B, et al. 2002. Self-assembling peptide hydrogel fosters chondrocyte extracellular matrix production and cell division: Implications for cartilage tissue repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99(15):9996.
- [12] Semino CE, Merok JR, Crane GG, et al. 2003. Functional differentiation of hepatocyte-like spheroid structures from putative liver progenitor cells in three-dimensional peptide scaffolds. *Differentiation* 71(4–5):262.
- [13] Holmes T, de Lacalle S, Su X, et al. 2000. Extensive neurite outgrowth and active synapse formation on self-assembling peptide scaffolds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97(12):6728.
- [14] Colin JR. 2005. MIT soft-lithography method harnesses DNA. *Electronic Engineering Times* (1376): 46–46.
- [15] Patel, N, Bhandari, R, Shakesheff, KM, et al. 2000. Printing patterns of biospecifically-adsorbed protein. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition* 11(3):319–331.
- [16] Kane RS, Takayama S, Ostuni E, et al. 1999. Patterning proteins and cells using soft lithography. *Biomaterials* 20:2363–2376.
- [17] Chen CS, Mrksich M, Huang S, et al. 1997. Geometric control of cell life and death. *Science* 276(5317):1425–1428.
- [18] Dike LE, Chen CS, Mrksich M, et al. 1999. Geometric control of switching between growth, apoptosis, and differentiation during angiogenesis using micropatterned substrates. In *Vitro Cellular and Developmental Biology*. *Animal* 35(8):441–448.
- [19] Bailly M, Yan L, Whitesides GM, et al. 1998. Regulation of protrusion shape and adhesion to the substratum during chemotactic responses of mammalian carcinoma cells. *Experimental Cell Research* 241(2):285–299.

- [20] Colin JR. 2005. MIT soft-lithography method harnesses DNA. *Electronic Engineering Times* (1376):46–46.
- [21] Hu W, Yim EKF, Reano RM, et al. 2005. Effects of nanoimprinted patterns in tissue-culture polystyrene on cell behavior. *Journal of Vacuum Science Technology. B, Microelectronics Processing and Phenomena* 23(6):2984.
- [22] Hoff DJ, Cheng L, Meyhofer E, et al. 2004. Nanoscale protein patterning by imprint lithography. *Nano Letters* 4(5):853–857.
- [23] Gaubert HE and Frey W. 2007. Highly parallel fabrication of nanopatterned surfaces with nanoscale orthogonal biofunctionalization imprint lithography. *Nanotechnology* 18(13):135101.
- [24] Fowles, GR. 1968. *Introduction to Modern Optics*. 1st ed. 105–144. New York: Holt, Rinehart and Winston, Inc.
- [25] Solak HH. 2006. Topical review: Nanolithography with coherent extreme ultraviolet light. *Journal of Physics. D, Applied Physics* 39(10):R171–R188.
- [26] Hohn FJ. 1994. Nanolithography, the integrated system. In *Nanolithography: A Borderland between STM, EB, IB, and X-Ray Lithographies*. 1st ed. Gentili M, Giovannella C, and Selci S (Eds.), pp. 1–11. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- [27] Seunarine K, Tormen M, Gadegaard N, et al. 2006. Progress towards tubes with regular nanopatterned inner surfaces. *Journal of Vacuum Science Technology. B, Microelectronics Processing and Phenomena* 24(6):3258.
- [28] Gallagher JO, McGhee KF, Wilkinson CDW, et al. 2002. Interaction of animal cells with ordered nanotopography. *IEEE Transactions on Nanobioscience* 1(1):24.
- [29] Luther W. 2004. International strategy and foresight report on nanoscience and nanotechnology. 1–47.
- [30] Shao DB and Chen SC. 2005. Surface-plasmon-assisted nanoscale photolithography by polarized light. *Applied Physics Letters* 86(25):253107.
- [31] Hubert C, Rumyantseva A, Lerondel G, et al. 2005. Near-field photochemical imaging of noble metal nanostructures. *Nano Letters* 5(4):615.
- [32] Koenderink AF, Hernandez JV, Robicheaux F, et al. 2007. Programmable nanolithography with Plasmon nanoparticle arrays. *Nano Letters* 7(3):745.
- [33] Xia Y and Whitesides GM. 1998. Soft lithography. *Annual Review of Materials Science* 28:153.
- [34] Chou SY, Krauss PR, Zhang W, et al. 1997. Sub-10 nm imprint lithography and applications. *The Journal of Vacuum Science and Technology B* 15(6):2897.
- [35] Chou SY. 2003. Nanoimprint lithography. In *Alternative Lithography: Unleashing the Potentials of Nanotechnology*. 1st ed. Sotomayor Torres, Clivia M (Eds.), pp. 15–23. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- [36] Choi S, Yoo PJ, Baek SJ, et al. 2004. An ultraviolet-curable mold for sub-100-nm lithography. *Journal of the American Chemical Society* 126:7744–7745.
- [37] Chen CS, Jiang X, and Whitesides GM. 2005. Microengineering the environment of mammalian cells in culture. *MRS Bulletin* 30(March):194–201.
- [38] Yoo PJ, Suh KY, Kim YS, et al. 2005. Patterning of polymer thin films. In *Nanolithography and Patterning Techniques in Microelectronics*. 1st ed. Bucknall DG (Ed.), 155–183. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited.
- [39] Kim D, Kim P, Suh K, et al. 2005. Modulation of adhesion and growth of cardiac myocytes by surface nanotopography. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 4:4091.
- [40] Pisignano D, Maruccio G, Mele E, et al. 2005. Polymer nanofibers by soft lithography. *Applied physics letters* 87(12):123109.

- [41] Yoshimoto H, Shin YM, Terai H, et al. 2003. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials* 24(12):2077–2082.
- [42] Hatzakis M. 1994. Electron beam resists and pattern transfer methods. In *Nanolithography: A Borderland between STM, EB, IB, and X-Ray Lithographies*. 1st ed. Gentili M, Giovannella C, and Selci S (Eds.), 13–23. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- [43] Pan X and Broers AN. 1994. Direct writing of nanoscale patterns in SiO₂. In *Nanolithography: A Borderland between STM, EB, IB, and X-Ray Lithographies*. 1st ed. Gentili M, Giovannella C, Selci S (Eds.), 45–51. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- [44] Langheinrich W and Beneking H. 1994. Sub-10nm Electron beam lithography: -AlF₃-doped lithium fluoride as a resist. In *Nanolithography: A Borderland between STM, EB, IB, and X-Ray Lithographies*. 1st ed. Gentili M, Giovannella C, Selci S (Eds.), 53–56. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- [45] Dalby MJ, Gadegaard N, Riehle MO, et al. 2004. Investigating filopodia sensing using arrays of defined nano-pits down to 35 nm diameter in size. *The International Journal of Biochemistry Cell Biology* 36(10):2005.
- [46] Geyer W, Stadler V, Eck W, et al. 2001. Electron induced chemical nanolithography with self-assembled monolayers. *Journal of Vacuum Science Technology. B, Microelectronics Processing and Phenomena* 19(6):2732.
- [47] Yamato M, Konno C, Utsumi M, et al. 2002. Thermally responsive polymer-grafted surfaces facilitate patterned cell seeding and co-culture. *Biomaterials* 23(2):561.
- [48] Grime GW. 2005. Ion beam patterning. In *Nanolithography and Patterning Techniques in Microelectronics*. 1st ed. DG Bucknall (Ed.), 184–217. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited.
- [49] van Kan JA, Bettiol AA, and Watt F. 2003. Three-dimensional nanolithography using proton beam writing. *Applied Physics Letters* 83(8):1629.
- [50] van Kan, Jeroen A., Bettiol AA, et al. 2006. Proton beam writing of three-dimensional nanostructures in hydrogen silsesquioxane. *Nano Letters* 6(3):579.
- [51] Mistry P, Gomez-Morilla I, Grime GW, et al. 2006. Proton beam lithography at the University of Surrey's Ion Beam Centre. *Nuclear Instruments Methods in Physics Research. Section B, Beam Interactions with Materials and Atoms* 242(1–2):387–389.
- [52] Gorelick S, Rahkila P, Sajavaara T, et al. 2007. Growth of osteoblasts on lithographically modified surfaces. *Nuclear Instruments Methods in Physics Research. Section B, Beam Interactions with Materials and Atoms* 260(1):130.
- [53] Tseng AA. 2004. Recent developments in micromilling using focused ion beam technology. *Journal of Micromechanics and Microengineering* 14:R15.
- [54] Arshak K, Mihov M, Arshak A, et al. 2004. Novel dry-developed focused ion beam lithography scheme for nanostructure applications. *Microelectronic Engineering* 73=74:144–151.
- [55] Youn SW, Takahashi M, Goto H, et al. 2006. Microstructuring of glassy carbon mold for glass embossing-Comparison of focused ion beam, nano/femtosecond-pulsed laser and mechanical machining. *Microelectronic Engineering* 83(11–12):2482.
- [56] Linford M, Davis R, Magleby S, et al. 2005. Chemomechanical surface modification of materials for patterning. In *Nanolithography and Patterning Techniques in Microelectronics*. 1st ed. Bucknall DG (Ed.), 120–154. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited.
- [57] Jiang F, Khairy K, Poole K, et al. 2004. Creating nanoscopic collagen matrices using atomic force microscopy. *Microscopy Research and Technique* 64(5–6):435.
- [58] Wilson DL, Martin R, Hong S, et al. 2001. Surface organization and nanopatterning of collagen by dip-pen nanolithography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(24):13660.

- [59] Riemenschneider L, Blank S, and Radmacher M. 2005. Enzyme-assisted nanolithography. *Nano letters* 5(9):1643.
- [60] Zhang H, Amro NA, Disawal S, et al. 2007. High-throughput dip-pen-nanolithography-based fabrication of Si nanostructures. *Small* 3(1):81.
- [61] Vettiger P, Brugger J, Despont M, et al. 1999. Ultrahigh density, high-data-rate NEMS-based AFM data storage system. *Microelectronic Engineering* 46(1–4):11.
- [62] Vettiger P, Despont M, Drechsler U, et al. 2000. Millipede' more than one thousand tips for future AFM data storage. *IBM Journal of Research and Development* 44(3):323.
- [63] Torres, Clivia M. Sotomayor. 2003. Alternative lithography: An introduction. In *Alternative Lithography: Unleashing the Potentials of Nanotechnology*. 1st ed. Sotomayor T, Clivia M (Eds.), 1–14. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- [64] Legget GJ. 2005. Photolithography beyond the diffraction limit. In *Nanolithography and Patterning Techniques in Microelectronics*. 1st ed. Bucknall DG (Ed.), 238–266. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited.
- [65] Thapa A, Miller DC, Webster TJ, et al. 2003. Nano-structured polymers enhance bladder smooth muscle cell function. *Biomaterials* 24(17):2915.
- [66] Teixeira AI, Abrams GA, Murphy CJ, et al. 2003. Cell behavior on lithographically defined nanostructured substrates. *Journal of Vacuum Science Technology. B, Microelectronics Processing and Phenomena* 21(2):683.
- [67] Wang C, More SD, Wang Z, et al. 2003. Patterning SiO thin films using synchrotron radiation stimulated etching with a Co contact mask. *Journal of Vacuum Science Technology. B, Microelectronics Processing and Phenomena* 21(2):818.
- [68] Sheller NB, Petrash S, and Foster MD. 1998. Atomic force microscopy and X-ray reflectivity studies of albumin adsorbed onto self-assembled monolayers of hexadecyltrichlorosilane. *Langmuir* 14 (16):4535.
- [69] Brugger J and Kim G. 2005. Nanofabrication by shadow deposition through nanostencils. In *Nanolithography and Patterning Techniques in Microelectronics*. 1st ed. Bucknall DG (Ed.), 218–237. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited.
- [70] Pallandre A, Glinel K, Jonas AM, et al. 2004. Binary nanopatterned surfaces prepared from silane monolayers. *Nano Letters* 4(2):365–371.
- [71] Pallandre A, De Meersman B, Blondeau F, et al. 2005. Tuning the orientation of an antigen by adsorption onto nanostrided templates. *Journal of the American Chemical Society* 127:4320–4325.
- [72] Norman JJ and Desai TA. 2006. Methods for fabrication of nanoscale topography for tissue engineering scaffolds. *Annals of Biomedical Engineering* 34(1):89.

حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية

التجميع من أجل هندسة الأنسجة والطب التجديدي

Designer Self-Assembling Peptide Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine

Akihiro Horii, Xiumei Wang, and Shuguang Zhang

المحتويات CONTENTS

٤٣٢	INTRODUCTION مقدمة (١١,١)
٤٣٢	SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING حاملات الخلايا والأنسجة من أجل هندسة الأنسجة (١١,٢)
٤٣٤	IDEAL BIOLOGICAL SCAFFOLD حاملات الخلايا والأنسجة البيولوجية المثالية (١١,٣)
٤٣٤	SELF-ASSEMBLING PEPTIDE SCAFFOLDS حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع (١١,٤)
٤٣٥	IN VITRO TISSUE CULTURES مزارع الأنسجة في المختبر (١١,٥)
	SELF-ASSEMBLING حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع من أجل الطب التجديدي (١١,٦)
٤٣٦	PEPTIDE SCAFFOLDS FOR REGENERATIVE MEDICINE
	DESIGNER SELF-ASSEMBLING حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية التجميع (١١,٧)
٤٣٨	PEPTIDE SCAFFOLDS
	Designer Peptide حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة من أجل تمايز وهجرة الخلايا (١١,٧,١)
٤٤٣	Scaffolds for Cell Differentiation and Migration
	WHY DESIGNER لماذا حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية التجميع؟ (١١,٨)
٤٤٥	SELF-ASSEMBLING PEPTIDE SCAFFOLDS?
٤٤٦	REFERENCES المراجع

(١١،١) مقدمة INTRODUCTION

يتطلب تقدم علم الأحياء في الغالب تطوير مواد وطرق وأدوات جديدة بإمكانها تسريع الاكتشافات العلمية إلى حد كبير. وقد أدى إدخال طبق البتري (petri dish) قبل أكثر من مائة عام إلى توفير أداة لا غنى عنها لزراعة الخلايا في المختبر (culturing cells in vitro)؛ مما يسمح بإجراء تحليل أو تشريح مُفصّل لأنظمة بيولوجية وفيزيولوجية على ما يبدو أنها مستعصية إلى وحدات تحكم طيّعة ودراسات واضحة المعالم. وقد كان لهذا الطبق البسيط أثرٌ عميقٌ على فهمنا لعلم الأحياء المعقد، وبصفة خاصة بيولوجيا الخلايا (cell biology) وبيولوجيا الأعصاب (neurobiology).

وبهذه الطريقة، يتطلب الطب التجديدي (regenerative medicine) وهندسة الأنسجة مكونين رئيسين مكملين لبعضهما بعضاً. أحدهما، هو حاملات الخلايا والأنسجة المتوافقة بيولوجياً (biologically compatible scaffold)، والتي يمكن أن يتقبلها الجسم بسهولة من دون أي أضرار، والعنصر الآخر هو الخلايا الملائمة بما في ذلك مختلف الخلايا الجذعية أو الخلايا الأولية (primary cells) التي تحل بصورة فعالة محل الأنسجة المتضررة (damaged tissues) من دون أي آثار سلبية (adverse consequences). وعلى أي حال، فإنه من المفيد لو أمكن استخدام حاملات خلايا وأنسجة بيولوجية مناسبة وفعالة لتحفيز (stimulate) وتعزيز (promote) تمايز الخلايا، بالإضافة إلى تجديد الأنسجة من دون إدخال خلايا أجنبية غريبة (foreign cells).

يشهد مجال الطب التجديدي نمواً سريعاً ومن غير الممكن تغطيته بصورة شاملة في بضعة صفحات؛ وبالتالي فإننا سنركّز في هذه الاستعراض فقط على العمل الذي يختص بحاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية التركيبية المصممة ذاتية التجميع (synthetic designer self - assembling peptide scaffolds) التي تم تطويرها في مختبرنا ومن قبل زملائنا منذ عام ١٩٩٢. ويمكن للقراء المهتمين بالتطورات التي حدثت في المواد الحيوية الاطلاع على الفصول الأخرى في هذا الكتاب وبصورة واسعة على مجموع المقالات التي كُتبت حول هذا الموضوع.

(١١،٢) حاملات الخلايا والأنسجة من أجل هندسة الأنسجة SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING

ما هي المواد الحيوية؟ يختلف التعريف. من وجهة نظرنا، هناك اختلاف بين المواد الحيوية (biomaterials) والمواد البيولوجية (biological materials). فالمواد الحيوية تشير إلى المواد المستخدمة في التطبيقات الطبية (medical applications) في العقود القليلة الأخيرة بما في ذلك العديد من البوليمرات الاصطناعية أو التركيبية (synthetic polymers)، مثل البولي (دي، إل - لاكتيد) (poly-(D,L-lactide) - PLLA) والبولي (حمض اللاكتيك - كو - غليكوليك) (poly-(lactic-co-glycolic acid) - PLGA). ومن ناحية أخرى، تشير المواد البيولوجية في الواقع إلى المواد ذات الأصل البيولوجي، بما في ذلك الألبينات (alginate) والسيليلوز (cellulose) والمواد الشحمية (lipid materials) والكتين (chitin) والببتيد (peptide)، والمواد ذات الأساس البروتيني (protein - based materials) على سبيل المثال، الكولاجين (collagen) والحريز (silk) وحريز العنكبوت (spider silk) والمواد اللاصقة الحيوية (bioadhesives).

لقد طورت أنظمة الزراعة المصنوعة من المواد الحيوية البوليمرية (polymer biomaterial culture systems) فهما لتفاعلات الخلايا - المادة بشكل كبير وعززت مجالاً جديداً لهندسة الأنسجة [1]. ومع ذلك، فإن حاملات الخلايا والأنسجة ذات المسامية العالية (high - porosity scaffolds) والتي تضم هذه المواد الحيوية غالباً ما يتم صنعها من ألياف مايكروية دقيقة (microfibers) ذات قطر من حوالي ٥ إلى ٥٠ مايكرومتراً أو مسامات مايكروية دقيقة (micropores) يبلغ حجمها من ١٠ إلى ٥٠ مايكرومتراً. وحيث أن حجم معظم الخلايا (حوالي من ٥ إلى ٢٠ مايكرومتراً) يماثل أو أصغر من حجم هذه البنى المايكروية (microstructures) (حوالي من ١٠ إلى ١٠٠ مايكرومتراً)، فإن الخلايا عند التصاقها أو ارتكازها ستبقى تُظهر سطحاً طوبوغرافياً ذا بعد ثنائي (-2-D topography) مع انحناء (curvature) يتوقف على أقطار الألياف المايكروية الدقيقة أو على حجم المسام على التوالي. ولزراعة الخلايا فعلاً في بيئة مايكروية ثلاثية الأبعاد (3-D microenvironment)، فإن هذه الأبعاد يجب أن تكون أصغر بكثير من حجم الخلايا بحيث ينبغي على الخلايا أن تكون محاطة تماماً بحاملات الخلايا والأنسجة، بشكل يشابه وإلى حد كبير البيئة خارج الخلوية (extracellular environment).

وغالباً ما يتم تحديد أو تخصيص المواد الحيوية البوليمرية (polymer biomaterials) وظيفياً باستخدام عنصر بيتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD peptide motif) أو عناصر أخرى؛ وذلك من أجل تعزيز الفعاليات البيولوجية (biological activities) المرغوب فيها من خلال التفاعلات الكيميائية (chemical reactions) أو الطلاء (التغليف) (coating). ونظراً لأن أحجامها في المستوى المايكروي، فإن متانتها الميكانيكية (mechanical strength) عادةً ما تمنع المزيد من عمليات التكيف البنوية للمادة (material structural adaptations) من القوى التي يتم بذلها بواسطة الهيكل الخلوي (cytoskeleton) للخلايا أثناء عمليات التصاقها وهجرتها ونضوجها أو اكتمال نموها. وهكذا، وعلى الرغم من أن هذه الألياف المايكروية الدقيقة توفر بيئة خارج خلوية اصطناعية، إلا أنها لا تزال بعيدة عن المصفوفة خارج الخلية الطبيعية في المستوى النانوي (natural nanoscale extracellular matrix - ECM). وقد تم في السنوات الأخيرة اعتماد تقنية راسخة، وهي تقنية الغزل الكهربائي (electrospinning)، وذلك لغزل الألياف المايكروية الدقيقة لنفس هذه المواد [2]؛ وعلى أي حال، فإن قسوة أو شدة العملية بصورة عامة ووجود المذيب الكيميائي الضار (harmful chemical solvent) يحولان دون أي إمكانية لإضافة الخلايا أثناء تشكيل حاملات الخلايا والأنسجة. وقد أُجريت محاولات لبذر حاملة الخلايا والأنسجة في ظروف ديناميكية (dynamic conditions) أو فقط على سطوحها، إلا أنه حتى لو حدث انتقال أو هجرة كبيرة للخلايا (cell migration)، فإن عملية البذر المنتظمة والصحيحة للخلايا في مصفوفة حقيقية ثلاثية الأبعاد (3-D matrix) لا تزال تمثل عقبة يجب التغلب عليها.

لتغليف (encapsulation) المواد غير المستقرة والنشطة حيوياً (labile bioactive substances) والخلايا الحية (living cells)، فإن حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية المتشابكة فيزيائياً بشكل مستعرض (cross - linked nanofiber scaffolds) تكون ذات أهمية كبرى، وبشكل خاص إذا حدث تشكيل لحاملة الخلايا والأنسجة في ظروف فيزيولوجية معتدلة (mild physiological conditions) من دون أي معالجات بالمذيبات العضوية (organic solvents). إن هناك حاجة إلى معالجة حاملات الخلايا والأنسجة في بيئة مائية (aqueous environment) ذات مجال مرغوب فيه من درجة الحموضة (pH) أو درجة الحرارة أو المحفزات المحددة (specific catalysts) التي يمكن أن تتحكم بخصائصها البنوية المايكروية (microstructure properties).

(١١,٣) حاملات الخلايا والأنسجة البيولوجية المثالية IDEAL BIOLOGICAL SCAFFOLD

هناك عدد من الإستراتيجيات لتصنيع المواد البيولوجية. وعلى أي حال، فإن حاملات الخلايا والأنسجة البيولوجية المثالية يجب أن تفي بالعديد من المتطلبات. (١) يجب أن تكون كتل البناء (building blocks) مُستَمَدّة من مصادر بيولوجية (biological sources)، و (٢) يجب أن تكون الوحدات الأساسية (basic units) قابلة للتصميم وللتعديل وذلك من أجل تحقيق احتياجات محددة، و (٣) أن تُبدى معدلاً مُتحكماً به من التحلل الحيوي للمادة (material biodegradation)، و (٤) ألا تُظهر سمية خلوية (cytotoxicity)، و (٥) أن تُعزز تفاعلات الخلايا - الركيزة (cell - substrate interactions)، و (٦) ألا تُثير استجابات مناعية (immune responses) أو تُثير القليل منها، ولا تؤدي إلى حدوث التهاب (inflammation)، و (٧) أن يكون هناك قدرة على إنتاج وتنقية (purification) ومعالجة المادة مع إمكانية تغيير حجمها (scaleable) وبطريقة قابلة لإعادة الإنتاج (reproducible) ويمكن تحملها اقتصادياً، و (٨) أن تكون قابلة للنقل (transportable) بسهولة، و (٩) أن تكون متوافقة كيميائياً (chemically compatible) مع المحاليل المائية (aqueous solutions) والظروف الفيزيولوجية، و (١٠) أن تندمج في الجسم من دون أي ضرر.

(١١,٤) حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع SELF-ASSEMBLING PEPTIDE SCAFFOLDS

تتتمي حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع (self - assembling peptide scaffold) إلى فئة المواد المحفزة بيولوجياً (biologically inspired materials). وقد تم اكتشاف العضو الأول في العائلة، وهو الـ (EAK16-II AEAEAKAKAEAEAKAK)، من جزء من بروتين الخميرة (yeast protein) وهو الزوتين (Zuotin) [3]. وتتألف حاملات الخلايا والأنسجة من أحماض أمينية متناوبة (alternating amino acids) والتي تحتوي على بقايا مشحونة (charged residues) بنسبة ٥٠٪ [3,4]. وتمتاز هذه الببتيدات بعدد مرات تكرارها الدوري (periodic repeats) من تناوب للأحماض الأمينية الأيونية المحبة للماء (hydrophilic) والأحماض الأمينية الأيونية الكارهة للماء (hydrophobic) والتي تشكل عفوياً بُنى بيتا الصفيحية (β -sheet structures). إن لصفائح بيتا سطوحاً قطبية وغير قطبية (polar and nonpolar surfaces) متميزة. فهي قابلة للطفو بشكلٍ متماثل (isobuooyant) في المحاليل المائية ويمكن نقلها بسهولة إلى بيئات مختلفة. وعند التعرض لمحاليل مائية ذات درجة حموضة (pH) محايدة، تحجز الأيونات البقايا الببتيدية المشحونة (charged peptide residues) وتتجمع آلانينات (alanines) (التي تُشكل السطوح غير القطبية للصفائح بيتا) صفائح بيتا المختلفة معاً، وذلك بفعل تفاعلاتها الكارهة للماء (hydrophobic interactions) في الماء؛ مما يعطي أليافاً نانوية ثنائية الطبقات من صفائح بيتا (double - layered β -sheets) nanofibers)، وهي بنية موجودة في فيبروين الحرير (silk fibroin) من دودة القز ومن العناكب. وبالتالي؛ فإن الخطوة النهائية للتجميع الذاتي التي تُكوّن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية تتم تحت ظروف فيزيولوجية، ويبلغ قطر الألياف الفردية حوالي ١٠ نانومترات. في المواقع المشحونة، يتم تراكم كلٍّ من الشحنات الموجبة والشحنات السالبة معاً من خلال التفاعلات الأيونية بين الجزيئات (intermolecular ionic interactions) بطريقة مشابهة لرقعة الشطرنج أو الداما (checkerboard - like manner). وبصورة عامة، تشكل الببتيدات ذاتية التجميع تلك (self - assembling peptides) بُنى

مستقرة من صفائح بيتا في الماء، والتي تكون مستقرة عبر مجال واسع من درجة الحرارة ومجالات واسعة من درجة الحموضة (pH) في تركيز عالٍ لعامل اليوريا المحول للصفات الطبيعية (denaturing agent urea) وهيدروكلوريد الغوانيديوم (guanidium hydrochloride). وترتبط كثافة ألياف النانو بتركيز المحلول الببتيدي وتحتفظ الألياف النانوية بدرجة هيدراتية أو إمالة (إضافة الماء) (hydration) عالية جدًا، أكبر من ٩٩٪ في الماء (من ٥ إلى ١٠ ميلليغرامات / ميليلتر، وزن / حجم). وقد تم تصميم وتمييز عدد من الببتيدات الإضافية ذاتية التجميع بما في ذلك: RADA16-I (AcN-RADARADARADARADA-CNH2) و RADA16-II (AcN-RARADADARARADADA-CNH2)، والتي تحل فيها بقايا الأرجينين (arginine) والأسبارتات (aspartate) محل الليسين (lysine) والغلوتامات (glutamate) وذلك لتكوين حاملة خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية بمساعدة الملح (salt - facilitated nanofiber scaffold).

لقد تم ذكر العديد من الببتيدات ذاتية التجميع التي تشكل حاملات الخلايا والأنسجة ولا تزال الأعداد تتزايد [5,6]. تؤثر العديد من العوامل على تشكيل حاملة الخلايا والأنسجة وخصائصها الميكانيكية (mechanical properties)، اثنان منها هما مستوى الكره للماء (hydrophobicity) [7-12] وطول التسلسل الببتيدي (peptide sequence). وهكذا، بالإضافة إلى التفاعلات الأيونية التكميلية (ionic complementary interactions)، يمكن أن يؤثر امتداد البقايا الكارهة للماء (hydrophobic residues، Ala, Val, Ile, Leu, Tyr, Phe, Trp) (أو الرموز ذات الأحرف المفردة A, V, I, L, Y, P, W) وبناءً على ذلك يمكن أن يؤثر عدد مرات تكرار العنصر ذاتي التجميع وبشكل ملحوظ على الخصائص الميكانيكية لحاملات الخلايا والأنسجة وسرعة تجميعها الذاتي. وكلما زاد المحتوى الكاره للماء وزاد طول التسلسل الببتيدي؛ كان تشكيل حاملة الخلايا والأنسجة أسهل وكانت خصائصها الميكانيكية أفضل [7,8,11,13].

(١١،٥) مزارع الأنسجة في المختبر IN VITRO TISSUE CULTURES

لقد أصبحت حاملات الخلايا والأنسجة البيولوجية الببتيدية ذاتية التجميع الجديدة هذه مهمة بشكل متزايد ليس فقط في دراسة السلوكيات المكانية للخلايا (spatial behaviors of cells)، بل أيضًا في تطوير الطرق من أجل مجموعة واسعة من التكنولوجيات الطبية المبتكرة بما في ذلك الطب التجديدي. إن أحد الأمثلة على ذلك هو استخدام حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية لدعم نمو ونضوج المحوار أو محور العصب (neurite growth and maturation) [14] وتمييز الخلايا الجذعية العصبية (neural stem cell differentiation) والخلايا العضلية القلبية (cardiac myocytes) وخلايا العظم ومزارع الخلايا الغضروفية (cartilage cell cultures). تشكل حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصنوعة من الـ RADA16-I والـ RADA16-II حاملة خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية في المحاليل الفيزيولوجية، حيث حفزت النمو الممتد لمحور العصب الجُرُز (extensive rat neurite outgrowth) وقد تم وبنجاح إنجاز تشكيل نقاط الاشتباك العصبي أو المشابك (active synapses formation) على سطح الببتيد (peptide surface) [14].

وقد أظهر Navarro - Alvarez وآخرون [15] بأن حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية التي تتألف من RADA16-I يمكن أن تدعم زراعة خلايا كبد الخنزير المعزولة (isolated porcine hepatocytes culture) والتشكيل الكروي ثلاثي الأبعاد (3D spheroidal formation) لمدة أسبوعين. وهذا يدل على أن خلايا الكبد حافظت على حالة تمايز الخلايا. ومن ناحية أخرى، أظهرت خلايا الكبد في الكولاجين من النمط الأول (collagen type I) شكلاً منتشرًا أو ممتدًا (spread shape) مما يدل على التمايز. وقد تم الحفاظ على سعات استقلاب الأمونيا والدواء (ammonia and drug - metabolizing capacities) وعلى قدرات إنتاج الألبومين أو الزلال (albumin - producing abilities) لمدة أسبوعين في خلايا الكبد المزروعة في حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من الـ RADA16-I، في حين أنه كان هناك فقدان كبير لهذه القدرات في خلايا الكبد المزروعة في الكولاجين (hepatocytes cultured in collagen). وهذا يدل على أن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع يمكن أن تساعد في الحفاظ على وظيفة الخلايا من أجل الزراعة طويلة الأمد وحتى أفضل من المصفوفة الطبيعية المستمدة في بعض أنواع الخلايا.

وقد تم تطوير طريقة لتمحفظ أو تغليف الخلايا الغضروفية (encapsulate chondrocytes) ضمن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية باستخدام ببتيد آخر ذاتي التجميع وهو KLD12 (AcN - KLDLKLDLKLDL - CNH2) وذلك لأغراض إصلاح الغضروف [10]. فأتناء الأسابيع الأربعة من الزراعة في المختبر، طورت الخلايا الغضروفية المزروعة داخل حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية مصفوفة أو نسيجًا غشائيًا خارج الخلية مشابهًا للغضروف (cartilage - like ECM) وغنيًا بالبروتيوغليكانات (proteoglycans) وبالكولاجين من النمط الثاني (type II collagen) مما يدل على نمط ظاهري مستقر للخلايا الغضروفية (stable chondrocyte phenotype). وقد تمت موازنة التراكم الذي يعتمد على الزمن (time dependent accumulation) لهذه المصفوفة خارج الخلية (ECM) عن طريق الزيادات في صلابة المادة (material stiffness)؛ مما يدل على ترسيب النسيج الوظيفي (functional tissue) بشكل ميكانيكي. وقد زاد محتوى الخلايا الغضروفية المتميزة والقابلة للبقاء على قيد الحياة ضمن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية بمعدل ازداد أربع مرات عن محتوى الخلايا الغضروفية في مزرعة الخلايا الموازية المصنوعة من مادة الآغاروز (agarose) والمبدورة بالخلايا الغضروفية، وهي نظام مرجعي معروف تمامًا لزراعة الخلايا الغضروفية. وتُظهر هذه النتائج إمكانية استخدام حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع كحاملات خلايا وأنسجة من أجل تركيب وتجميع مصفوفة خارج الخلية (ECM) تشبه الغضروف الحقيقي في مزرعة خلايا ثلاثية الأبعاد من أجل إصلاح النسيج الغضروفي. وقد أوضحت هذه النتائج أن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ملائمة من أجل الاستكشافات الإضافية مع أنواع أخرى من الأنسجة.

(١١،٦) حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع من أجل الطب التجديدي SELF-ASSEMBLING PEPTIDE SCAFFOLDS FOR REGENERATIVE MEDICINE

لقد أوضح Misawa وآخرون [16] أن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع المطوّرة من الـ RADA-I قد عززت تجديد العظم (bone regeneration). وقد تم حقن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع في عيوب عظمية

(bone defects) لجمجمة الفئران (mice calvaria). وقد تم حقن محلول ملحي (Saline) ومادة الماتري جل (Matrigel) كعينات مراقبة. بعد أربعة أسابيع أوضحت نتائج صور الأشعة السينية (x-ray radiograph) والنتائج النسيجية (histological findings) بأنه كانت هناك تجديدات عظمية أقوى في حاملة الخلايا والأنسجة الببتيدية بالمقارنة مع عينات المراقبة. وبشكل خاص، فقد كانت متانة العظم المجدد (strength of the regenerated bone) أكبر من ١,٧ ضعفاً من أجل حاملة الخلايا والأنسجة الببتيدية المصنوعة من الـ (RADA-I) منها من أجل مادة الماتري جل (Matrigel).

وقد أظهر Ellis - Behnke وزملاؤه بأن المادة الببتيدية ذاتية التجميع هي حاملة خلايا وأنسجة واعدة من أجل الطب التجديدي العصبي (neural regeneration medicine) [17]. وقد تم إجراء تطبيق في الجسم الحي (in vivo application) لجروح في الدماغ (brain wounds) باستخدام جراء هامستر سورية (Syrian hamster pups) عمرها يومان. فقد تم قطع المسالك البصرية (optic tract) بشكل كامل ضمن الأكمة العلوية (superior colliculus - SC) بواسطة جرح عميق بالسكين، يمتد إلى عمق ١ ميليمتر على الأقل تحت السطح. في العملية الجراحية، تم معالجة ١٠ حيوانات عن طريق الحقن في الجرح بـ ١٠ إلى ٣٠ مايكرو لترًا من الـ (RADA16) بنسبة ١ ٪ وماء بنسبة ٩٩ ٪ وزن / حجم. وقد شملت حيوانات المراقبة (control animals) الحيوانات المصابة بنفس الآفة الدماغية (brain lesion) بما في ذلك ٣ حيوانات تم حقنها بمحلول ملحي متساوي التوتر (10 isotonic saline) مايكرو لترًا والعديد من الحالات الإضافية، بما في ذلك ١٠ حالات تم فيها إضافة صبغة الكونغو الحمراء (dye Congo red) إلى حاملة الخلايا والأنسجة الببتيدية و ٢٧ حيواناً سابقاً تم جرحهم بالسكين ومن دون حقن بقوا على قيد الحياة لمدة من ٦ إلى ٩ أيام. وقد تم التضحية بالحيوانات في اليوم ١ و ٣ و ٦ و ٣٠ و ٦٠ من أجل اختبارات الدماغ (brain examinations). لقد كشفت الاختبارات النسيجية للعينات التي أُجريت فقط على الحيوانات التي تم حقنها بحاملة الخلايا والأنسجة الببتيدية، وليس في الحيوانات التي لم يتم معالجتها، بأنه يبدو أن أنسجة الدماغ قد أعادت ربط نفسها مع بعضها بعضاً في كل الأوقات التي بقيت فيها على قيد الحياة. بالإضافة إلى ذلك، فقد وُجد بأن المحاور العصبية (axons) المميزة من منشأها الشبكي (retinal origin) بواسطة جزيء تتبع (tracer molecule) قد نمت إلى ما بعد الجسر النسيجي (tissue bridge). مما يعيد تعصيب (reinnervation) الأكمة العلوية الذيلية (SC caudal) إلى الآفة. والأهم من ذلك، فقد أثبتت الاختبارات الوظيفية (functional tests) استعادة كبيرة للوظيفة البصرية (visual function) في جميع الحيوانات التي تم معالجتها بحاملة الخلايا والأنسجة الببتيدية.

وفي عمل آخر تم نشره من قبل مجموعة Richard Lee، تم تعليق خلايا جذعية جنينية (embryonic stem cell) في محاليل حاملات خلايا وأنسجة ببتيدية مصنوعة من الـ (RADA16-II)، وتم حقنها في عضلة قلب (myocardium) فأر عمره ١٠ أسابيع [18]. وقد اتضح في تلك الدراسة بأنه يمكن حقن الببتيدات ذاتية التجميع في عضلة القلب لإنشاء بيئة مايكروية ثلاثية الأبعاد. وبعد ٧ و ١٤ و ٢٨ يوماً تُطَوِّع هذه البيئات المايكروية كلاً من الخلايا البطانية داخلية المنشأ (باطنية النمو) (endogenous endothelial cells) والخلايا العضلية الملساء داخلية المنشأ (endogenous smooth muscle cells)، وتبقى الخلايا المحقونة بشكل خارجي (خارجية المنشأ) (exogenously injected cells) على قيد الحياة في البيئات المايكروية: وبالتالي؛ يمكن للببتيدات ذاتية التجميع أن تُنشئ بيئات مايكروية قابلة للحقن تعزز التوعي (vascularization) (تكوّن الأوعية الدموية).

بالإضافة إلى ذلك، فقد طورت مجموعة Lee أيضًا إستراتيجية جذابة لتوصيل الدواء (drug delivery) وذلك بواسطة استخدام نسخة الـ (RADA-II) المرتبطة بالبيوتين (biotinylated version) لإظهار الإطلاق أو التحرير البطيء (slow release) لعامل النمو المشابه للإنسولين-١ (IGF-1) في عضلة قلب جُرَذٍ محتشية (infarctuated rat myocardia) [19]. لقد سمحت إستراتيجية شطيرة البيوتين (biotin sandwich strategy) بربط عامل النمو المشابه للإنسولين-١ (IGF-1) ولم تمنع التجميع الذاتي للبيتيدات في ألياف النانو ضمن عضلة القلب. وبالإشتراك مع زرع الخلايا العضلية القلبية (cardiomyocyte transplantation)، أوضحت هذه الإستراتيجية أن العلاج باستخدام الخلايا (cell therapy) مع توصيل عامل النمو المشابه للإنسولين-١ (IGF-1) عن طريق ألياف النانو المرتبطة بالبيوتين قد حسّن الوظيفة الانقباضية (systolic function) بشكل ملحوظ بعد الاحتشاء التجريبي لعضلة القلب (experimental myocardial infarction).

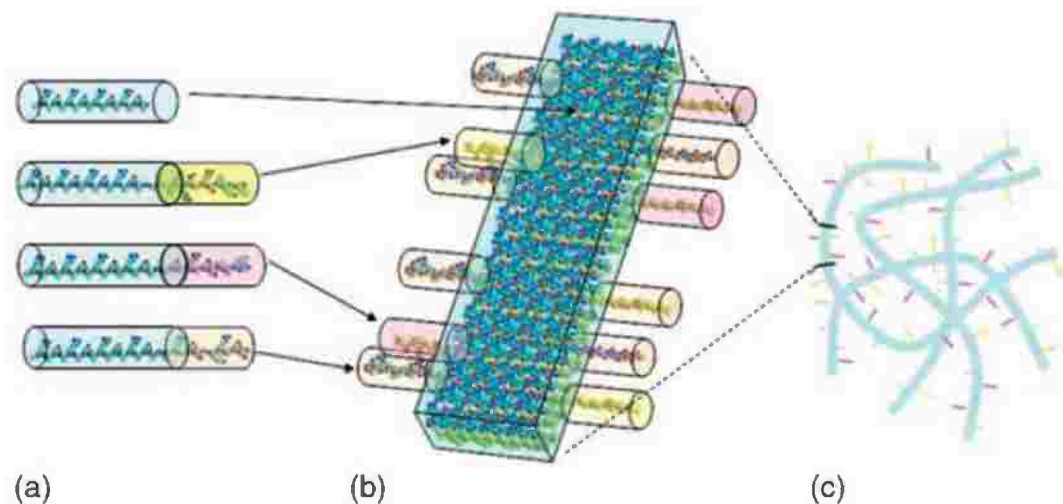
ومن اللافت للنظر، وحيث إن كتل البناء لهذه الفئة من حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة يتم صناعتها من الأحماض الأمينية-إل الطبيعية النقية (pure natural L-amino acids)، فإن الـ (RADA16)، وبخلاف معظم الألياف المايكروية الاصطناعية الأخرى، قد ظهر بأنه لا يُبدي استجابة مناعية ملحوظة ولا يبدي تفاعلات التهابية في الحيوانات [16-19] وأن منتجات الأحماض الأمينية الطبيعية المتحللة يمكن إعادة استخدامها من جديد من قبل الجسم. وبالتالي، فإن هذه الفئة من حاملة الخلايا والأنسجة يمكن أن تكون مفيدة كحاملة للخلايا والأنسجة قابلة لإعادة الامتصاص بشكل حيوي (bio - reabsorbable scaffold) من أجل إصلاح الأنسجة (tissue repair) والهندسة العصبية (neuroengineering) وذلك لتخفيف ومعالجة عدد من الصدمات أو الرضوض (trauma) وأمراض الانحلال أو التكتس العصبي (neuro - degeneration diseases) وكذلك إصابات (injures) وأضرار (damage) وشيخوخة (aging) بعض الأنسجة.

ويتم حاليًا تقييم إستراتيجيات بديلة لمعالجة اتجاهية (directionality) ومحاذاة أو ترصف (alignment) حاملات الخلايا والأنسجة تلك، وذلك عن طريق استخدام طرق الجريان المايكرو (microfluidic approaches) أو الطرق المغناطيسية (magnetic approaches) للدفع بعملية التجميع الذاتي، حيث إنه ليس لدى حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية مسامية أو اتجاه مسام (pore orientation) محددة مسبقًا أو بنية هندسية ثلاثية الأبعاد موجهة (3-D oriented architecture) ومحددة مسبقًا.

(١١,٧) حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية التجميع DESIGNER SELF-ASSEMBLING PEPTIDE SCAFFOLDS

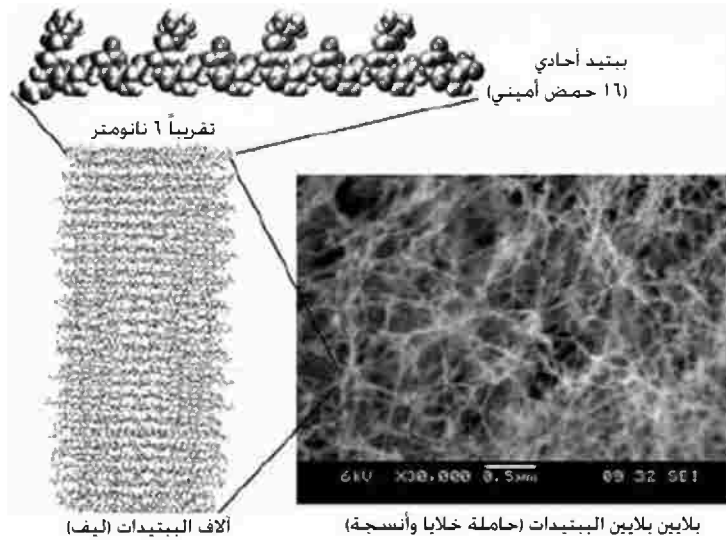
على الرغم من أن البيتيدات ذاتية التجميع هي حاملات خلايا وأنسجة واعدة، إلا أنها لا تُظهر تفاعلًا محددًا للخلايا (specific cell interaction) وذلك لأن تسلسلاتها غير موجودة بشكل طبيعي في الأنظمة الحية (living systems). إن الخطوة المنطقية الثانية هي البحث عن العناصر الببتيدية النشطة والوظيفية (active and functional peptide motifs) من مجمل ما كُتب عن بيولوجيا الخلايا، وبالتالي فإن الجيل الثاني من حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة سيعزز وبشكل كبير تفاعلاتها مع الخلايا والأنسجة [20-22].

إن أسهل طريقة لدمج أو إدخال العناصر الوظيفية (functional motifs) هي بتركيبها المباشر من خلال تمديد العناصر على الببتيدات ذاتية التجميع نفسها (الشكل رقم ١١.١) [22,23]. تتواجد العناصر الوظيفية على النهايات أو الأطراف (C-termini) (C) حيث يبدأ تركيب الببتيدات من هذه النهايات أو الأطراف (C) وذلك لتفادي إلغاء العناصر الوظيفية أثناء التركيب. وغالباً ما يتم إضافة فاصل (spacer) يضم اثنين من بقايا الغليسينات (glycines residues) لضمان تعرض العناصر بشكلٍ مرن وصحيح للمستقبلات السطحية للخلايا (cell surface receptors). ويمكن دمج أو إدخال عناصر وظيفية مختلفة بنسب متنوعة في نفس حاملة الخلايا والأنسجة. فعند التعرض إلى محلول ذي درجة حموضة (pH) محايدة تتجمع التسلسلات المحددة وظيفياً (functionalized sequences) بشكلٍ ذاتي تاركة العناصر المضافة متدلّية (flagging) على جانبي كل ليف من الألياف النانوية. تشارك الألياف النانوية في حاملة الخلايا والأنسجة بأكملها؛ وبالتالي فإنها تمنح البيئات المايكروية المحددة أو المخصصة وظيفياً محفزات بيولوجية محددة (specific biological stimuli) (الشكل رقم ١١.١).



الشكل رقم (١١,١). توضيح تخطيطي لحاملة خلايا وأنسجة ببتيدية مصممة ذاتية التجميع (designer self-assembling peptide scaffold). (a) امتداد مباشر لتسلسل ببتيد ذاتي التجميع (self - assembling peptide sequence) عن طريق إضافة عناصر وظيفية مختلفة. تمثل الأسطوانات الأطول على الجانب الأيسر الجزء الأساسي ذاتي التجميع وتمثل الأسطوانات الأقصر على الجانب الأيمن عناصر ببتيدية وظيفية (functional peptide motifs) مختلفة. (b) نموذج جزئي لليف ببتيدي نانوي ذاتي التجميع (self-assembling peptide nanofiber) مع عناصر وظيفية متدلّية من كلا جانبي ألياف صفائح بيتا النانوية المزدوجة (double β -sheet). يمكن مزج العناصر الببتيدية الوظيفية إما الأحادية وإما المتعددة (أو الموسومة (labeled) في نفس الوقت. ويمكن تعديل كثافة هذه العناصر بسهولة عن طريق مزجها فقط في نسب مختلفة، ١:١-١٠,٠٠٠,٠٠٠ أو أكثر قبل خطوة التجميع. (c) ومن ثم سوف تكون جزءاً من حاملة الخلايا والأنسجة المجمعة ذاتياً.

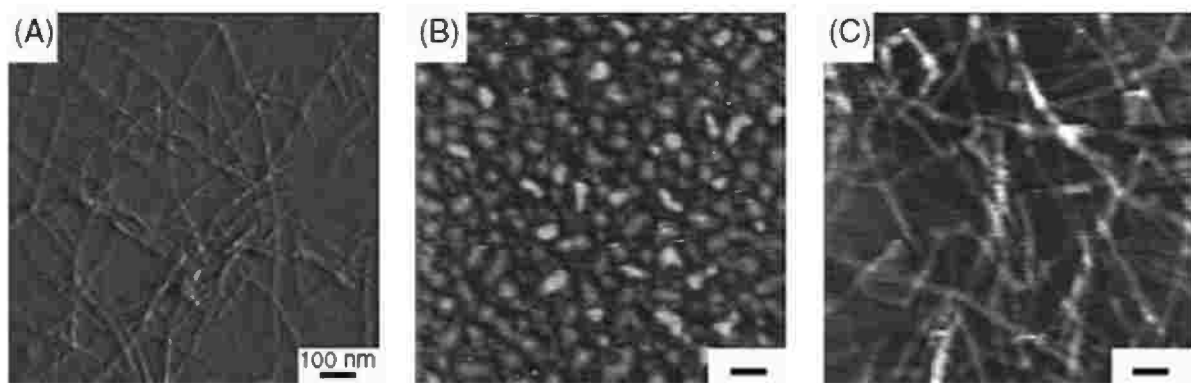
لقد تم إظهار عملية دمج أو إدخال الببتيد المحدد وظيفياً (functionalized peptide) (لأداء وظائف محددة) في الليف النانوي بواسطة مجهر القوة الذرية (AFM) [23]. فقد تم اختبار محلول ببتيدي (peptide solution) من الـ (RADA16-I) بنسبة ١٪ (وزن / حجم)، وهو عبارة عن ببتيد الـ (RADA16-I) المحدد وظيفياً مع ببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) ثنائي الوحدة والذي يرتبط بتسلسل الببتيد (PRGDSGYRGDS) (PRG). كما تم أيضاً فحص مزيج المحلول الببتيدي (mixed peptide solution) من الـ (RADA16-I) وببتيد الـ (PRG) المحدد وظيفياً في نسبة ١:١ باستخدام نمط النقر بواسطة مجهر القوة الذرية (AFM tapping mode). يُظهر الشكل رقم (١١,٢) صور مجهر القوة الذرية (AFM) للمحاليل الببتيدية. وقد لوحظت ألياف النانو في المحاليل المائية للـ (RADA 16-I) وكل محاليل الـ (RADA 16-I) الممزوجة، على الرغم من أنه لم يُلاحظ أي تشكيل للألياف فقط في محلول ببتيد الـ (PRG) المحدد وظيفياً. وقد تم تأكيد هذه النتائج عن طريق الفحص البصري للزوجة المتزايدة لمحاليل حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية. لقد لاحظنا زيادة في سماكة الليف (fiber thickness) في المحلول الممزوج (3.1 ± 29.5 نانومتراً) مقارنة مع محلول الـ (RADA16-I) (1.4 ± 16.1 نانومتراً). وقد كان هناك ارتباط بين عرض سماكة ليف الببتيد مع النموذج المُوضَّح في الشكل رقم (١١,١). تدل هذه النتائج على أن ببتيادات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) المحددة وظيفياً كانت مُدمجة في ليف النانو عندما تم مزجه.



الشكل رقم (١١,٢). حاملة خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية ببتيدية مصممة ذاتية التجميع (designer self-assembling peptide nanofiber scaffold). ويظهر ببتيد مفرد، حوالي ٦ نانومتراً. تتجمع الآلاف من الببتيديات بشكل ذاتي لتشكيل ليف نانوي واحد، وتربليونات من الببتيديات أو مليارات من الألياف النانوية لتشكيل حاملة الخلايا والأنسجة، والتي تحتوي على حوالي ٩٩,٥٪ من الماء و ٠,٥٪ من المواد الببتيدية.

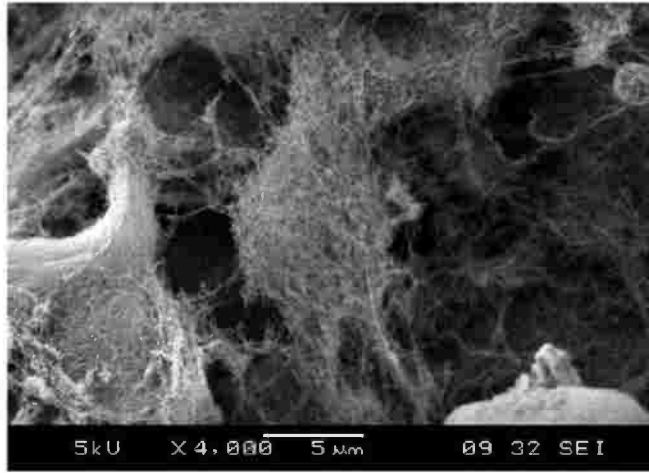
يمكن إنتاج حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية ذاتية التجميع مع عناصر وظيفية بشكل تجاري وبتكلفة معقولة. وبالتالي؛ فإن هذه الطريقة يمكن اعتمادها بسهولة من أجل الاستخدامات الواسعة الانتشار بما في ذلك دراسة تفاعل الخلايا مع بيئاتها الموضعية والبيئات المايكروية (local - and micro - environments)؛ وانتقالات أو هجرات الخلايا في الأبعاد الثلاثة (cell migrations in 3D) والأورام (tumor) وتفاعل الخلايا السرطانية (cancer cells interaction) مع الخلايا الطبيعية؛ وعمليات الخلايا (cell process) وامتدادات المحاور أو المحاور العصبية (neurite extensions)؛ وتجارب فحص الدواء المبنية على الخلايا (cell - based drug test assays)؛ والتطبيقات المتنوعة الأخرى.

لقد أنتجنا ببتيدات مصممة مختلفة من مجموعة متنوعة من العناصر الوظيفية بأطوال مختلفة [22,23]. ولقد أوضحنا أن إضافة العناصر (ما يصل إلى حد ١٢ من البقايا الإضافية (additional residues)) إلى الببتيد ذاتي التجميع (RADA16-I) لم تكبح خصائص التجميع الذاتي (self - assembling properties) وتشكيلات الألياف النانوية (nanofiber formations). وعلى الرغم من أنه يبدو أن بُنى الألياف النانوية (nanofiber structures) لا يمكن تمييزها من حاملة الخلايا والأنسجة المصنوعة من الـ (RADA16-I) (الشكل رقم ١١.٣)، إلا أن العناصر الوظيفية المضافة قد أثرت على سلوك الخلايا بشكل ملحوظ [22-26].



الشكل رقم (١١،٣). صور مجهر القوة الذرية (AFM) باستخدام غط النقر (tapping mode) لخلول من الببتيدات بنسبة ١٪ وزن / حجم لـ (A) (RADA16-I)، (B) ببتيد (PRG) اُخدد أو المخصص وظيفياً، (C) ببتيد (PRG) اُخدد أو المخصص وظيفياً + (RADA16-I) (١:١). يمثل شريط المقياس ١٠٠ نانومتر. ويظهر تشكيل ليف النانو في (A) (RADA16-I) و (C) (RADA16-I) + (PRG) (١:١). وقد لوحظ زيادة في سماكة الليف في (C) (RADA16-I) + (PRG) (١:١) (٢٩،٥ ± ٣،١ نانومتراً) عن (A) (RADA16-I) (١٦،٣ ± ١،٤ نانومتراً)، والتي ارتبطت بعرض الليف الببتيدي على غرار الشكل رقم (١١،١).

باستخدام نظام الألياف النانوية الببتيدية المصممة ذاتية التجميع ، فإنه من الممكن تحديد أي مُكوّن من حاملة الخلايا والأنسجة جنباً إلى جنب مع التحديدات الوظيفية المختلفة بما في ذلك العوامل القابلة للذوبان (soluble factors). وهذا يمثل تبايناً حاداً (sharp contrast) بالمقارنة مع طبق البتري ثنائي الأبعاد (2-D petri dish) حيث تلتصق فيه الخلايا وتنتشر فقط على السطح ؛ تبقى الخلايا في بيئة ثلاثية الأبعاد ، حيث يمكن لمستقبلات المصفوفة خارج الخلية (extracellular matrix receptors) على أغشية الخلايا (cell membranes) أن ترتبط بالليجائن الوظيفية (functional ligands) المضافة إلى حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية (الشكل رقم ١١.٤). فمن الممكن إنشاء بُنى هندسية نسيجية أعلى تحتوي على أنواع متعددة من الخلايا ، بشكل أفضل من الطبقات الأحادية ، وذلك باستخدام حاملات الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد تلك ذات الألياف النانوية الببتيدية المصممة ذاتية التجميع.



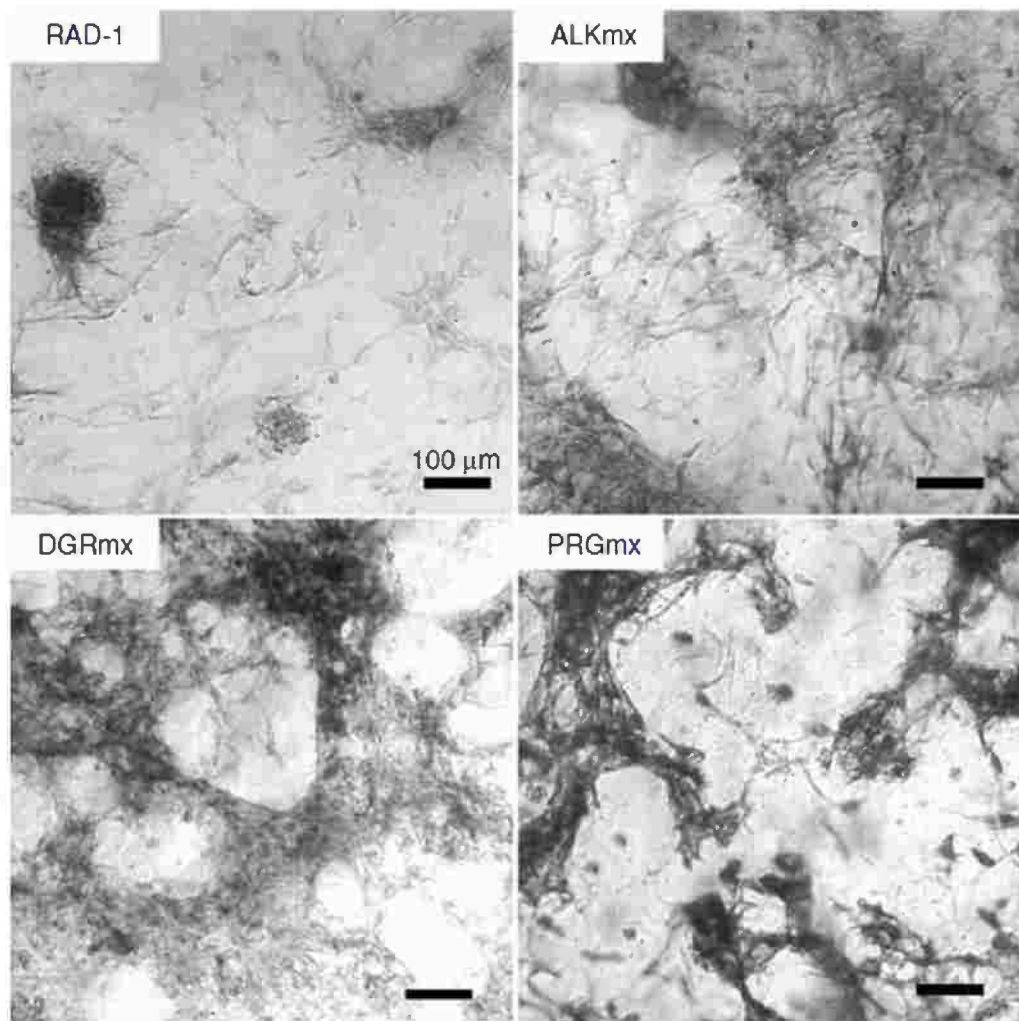
الشكل رقم (١١, ٤). صورة بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) خلية مُتَمَصِّمَة في حاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد ذات ألياف نانوية ببتيدية مصممة ذاتية التجميع (3-D designer self-assembling peptide nanofiber scaffold). حاملة الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية المفردة تلف بشكل كامل جسم وغشاء الخلية، وبالتالي فإنها تجلب العناصر الوظيفية المختارة إلى جميع أنحاء غشاء الخلية.

حتى لو توفر فقط جزء من العناصر الوظيفية على حاملة الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد (3-D scaffold) لربط مستقبلات الخلايا (cell receptors)، فإنه من المحتمل أن تستقبل الخلايا محفزات خارجية (external stimuli) أكثر مما تستقبلها عندما تكون على اتصال مع أطباق بتري المطلية ثنائية الأبعاد (coated 2-D petri dishes) أو ألياف بوليميرية مطلية بواسطة ببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) أو مطلية بعناصر أخرى في مستوى المايكرون ، والتي هي فعلياً أكبر من المستقبلات السطحية للخلايا ، وفي معظم الحالات تكون أكبر من الخلايا نفسها. إن هناك خلايا هي في الحقيقة ليست في بيئة ثلاثية الأبعاد ، بل هي بالأحرى في بيئة ثنائية الأبعاد تلتف حول البوليمرات مع انحناء يعتمد على قطر البوليمرات. ففي بيئة ثنائية الأبعاد ، حيث يكون جانب واحد فقط من جسم الخلية على تلامس مباشر مع السطح ، حيث يمكن تحفيز المستقبلات التي تتجمع في موقع الالتصاق (attachment site) ؛ ومن ناحية أخرى ، تكون المستقبلات الخاصة

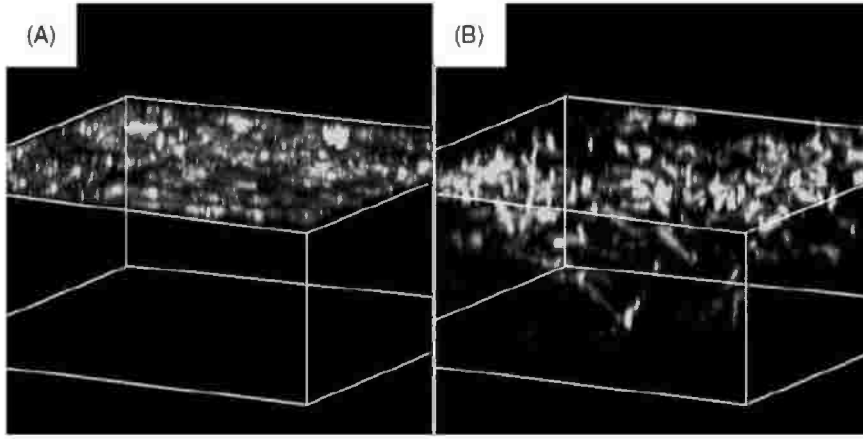
بمكونات النمو (growth factors) والسيتوكينات (cytokines) والمواد المغذية (nutrients) والإشارات (signals) موجودة على المواقع الأخرى التي تتعرض بشكل مباشر إلى أوساط الزراعة (culture media) ؛ وبالتالي يمكن أن تصبح الخلايا مُستقطبة جزئياً (partially polarized). وفي البيئة ثلاثية الأبعاد، تحيط العناصر الوظيفية الموجودة على حاملة الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية بكامل جسم الخلية في جميع الأبعاد ويمكن أن تشكل العوامل (factors) تدرجاً في البيئة المايكروية ثلاثية الأبعاد ذات المسامية النانوية (3-D nanoporous microenvironment).

(١١,٧,١) حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة من أجل تمايز وهجرة الخلايا Designer Peptide Scaffolds for Cell Differentiation and Migration

لقد تبين أن حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية الببتيدية المصممة ذاتية التجميع تُشكل مادة بيولوجية ممتازة من أجل عمليات زراعة الخلايا ثلاثية الأبعاد (3-D cell cultures) وقادرة على تحفيز انتقال أو هجرة الخلايا في حاملة الخلايا والأنسجة وقادرة أيضاً على إصلاح عيوب الأنسجة في الحيوانات وذلك عن طريق إضافة تسلسلات محددة رابطة للخلايا (specific cell binding sequences) أو تسلسلات محددة جاذبة كيميائياً (specific chemotactic sequences). لقد قمنا بتطوير عدة حاملات خلايا وأنسجة ببتيدية ذات ألياف نانوية مصممة خصيصاً للخلايا البانية للعظم (osteoblasts) [23]. وقمنا بتصميم واحدة من حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية النقية ذاتية التجميع من الـ (RADA16-I) من خلال الاقتران أو الربط المباشر (direct coupling) بعناصر قصيرة ونشطة بيولوجياً (short biologically active motifs). وقد شملت العناصر ببتيد النمو (ALK) المكوّن للعظم (osteogenic growth peptide) (ALKRQGRTLYGF) وهو ببتيد إشارة يتم إفرازه من قبل الخلايا العظمية (bone cell - secreted signal peptide) وعنصر الـ (DGR) لالتصاق خلايا الأوستيوبونتين (osteopontin cell adhesion motif) (DGRGDSVAYG) وتسلسل الـ (PRG) الرابط لببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك ذي الوحدات (two - unit RGD binding sequence PRG) (PRGDSGYRGDS). وقد قمنا بتصنيع حاملات خلايا وأنسجة ببتيدية جديدة عن طريق مزج الـ (RAD16) النقي ومحاليل ببتيدية مصممة (designer peptide solutions). وبالمقارنة مع حاملة الخلايا والأنسجة المصنوعة من الـ (RAD16) النقي، وجدنا بأن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة تلك قد عززت وبشكل كبير من تكاثر خلايا الـ (MC3T3-E1) الأولية البانية للعظم لدى الفئران (mouse preosteoblast MC3T3-E1 cell). وعلاوة على ذلك، فقد ازداد أيضاً وبشكل ملحوظ نشاط إنزيم الفوسفاتاز القلوي (alkaline phosphatase - ALP) وإفراز الأوستيوكالسين (osteocalcin secretion)، والتي تعتبر دلالات أو علامات (markers) مبكرة ومتأخرة على تمايز خلايا راب العظم أو الخلايا المكوّنة للعظم (osteoblastic differentiation). وقد تم تأكيد هذه النتائج عن طريق تلوين إنزيم الفوسفاتاز القلوي (ALP) (الشكل رقم ١١,٥). لقد أوضحنا أن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية التجميع قد عززت من تكاثر وتمايز خلايا الـ (MC3T3-E1) المكوّنة للعظم (osteogenic) لدى الفئران. وفي الظروف المماثلة لوسط الزراعة أوضحت الصور المباشرة (متحدة البؤرة) (confocal images) وبشكل قاطع بأن حاملة الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة من الـ (PRG) قد حفّزت انتقال أو هجرة الخلايا في حاملة الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد. (الشكل رقم ١١,٦) [23]. وتشير النتائج التي توصلنا إليها إلى أن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة يمكن أن تكون مفيدة جداً لتعزيز تجديد الأنسجة العظمية (bone tissue regeneration).



الشكل رقم (١١,٥). صور تلوين إنزيم الفوسفاتاز القلوي (ALP) بعد عملية الزراعة على الهلامات المائية (hydrogels) المختلفة لمدة أسبوعين. يمثل شريط القياس ١٠٠ مايكرومتر. (RAD-I)، (RADA16-I) ١٪ (وزن / حجم)؛ (ALKmx)، بيتيد الـ (ALK) الخدد أو المخصص وظيفيًا ١٪ (وزنًا / حجم)؛ (RADA16-I)؛ (DGRmx)، بيتيد الـ (DGR) الخدد أو المخصص وظيفيًا ١٪ (وزنًا / حجم)؛ (RAD)؛ (PRGmx)، بيتيد الـ (PRG) الخدد أو المخصص وظيفيًا ١٪ (وزنًا / حجم)؛ (RADA16-I) (كل نسب المزج ١:١). يرتبط اللون الداكن بالنشاط العالي لإنزيم الفوسفاتاز القلوي (ALP). يُظهر الـ (RADA16-I) التصاقًا منخفضًا للخلايا بالهلامة المائية وتتجمع الخلايا. وقد تم اعتبار الزيادة في التصاق الخلايا لـ (DGR) و (PRG) هي بسبب تسلسل الـ (RGD) لالتصاق الخلايا. وقد أظهرت الـ (ALK) و (DGR) و (PRG) فعاليات أعلى لإنزيم الفوسفاتاز القلوي (ALP) بالمقارنة مع الـ (RADA16-I)، وبشكل خاص كثافة تلوين الـ (PRG).



الشكل رقم (١١,٦). صورة أعيد تشكيلها من صورة ثلاثية الأبعاد بواسطة المجهر المباتر (3-D confocal microscope image) لعملية الزراعة على حاملات الخلايا والأنسجة المختلفة التي تتكون من نسب مختلفة لمزيج من الـ (RADA16) ١٪ (وزناً/حجم) والـ (PRG) ١٪ (وزن / حجم) باستخدام التلوين بالـ (calcein-AM). يمثل شريط القياس ١٠٠ مايكرومتر. (A) (PRG) ١٠٪ و (B) (PRG) ٧٠٪. وفي حالة حاملية الخلايا والأنسجة المصنوعة من الـ (PRG) ١٠٪، كانت الخلايا ملتصقة على سطح الحاملة في حين تم تحريك أو نقل الخلايا في الحاملة في حالة حاملية الخلايا والأنسجة مع ٧٠٪ من الـ (PRG). ويوجد هناك انتقال أو هجرة كبيرة للخلايا في حاملية الخلايا والأنسجة ذات التركيز الأعلى لعنصر الـ (PRG).

بالإضافة إلى الببتيدات ذاتية التجميع المشتقة من اللامينين (laminin - derived self - assembling peptides) والتي تمت دراستها سابقاً عن طريق إضافة سلسلة قلووية طويلة (long alky chain) والتي تُعزز التجميع الذاتي [24]، فإن هناك دراسة أخرى تُقيم الفبرونيكتين (fibronectin) وكذلك التسلسلات المشتقة من الكولاجينات (collagens derived sequences) [25].

(١١,٨) لماذا حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية التجميع؟ WHY DESIGNER SELF-ASSEMBLING PEPTIDE SCAFFOLDS?

لماذا يجب على المرء اختبار حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية التجميع في حين أن هناك عدداً كبيراً من المواد الحيوية في السوق وقد تمت الموافقة على بعض منها من قبل إدارة الغذاء والدواء (FDA)؟ إن مزايا استخدام حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الببتيدية المصممة ذاتية التجميع متعددة جداً. (١) يمكن للمرء تعديل الببتيدات المصممة بسهولة عند مستوى الحمض الأميني المفرد (single amino acid level) عند الرغبة بصورة غير مكلفة وبشكل سريع. إن هذا المستوى من التعديل يكون مستحيلاً باستخدام حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من الماتري جل (Matrigel) ومن البوليمرات الأخرى. (٢) بعكس الماتري جل (Matrigel)، الذي يحتوي على مكونات غير معروفة ونوعية تختلف من دفعة إلى دفعة، فإن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية التجميع تنتمي إلى فئة حاملات الخلايا والأنسجة البيولوجية التركيبية أو الاصطناعية

(synthetic biological scaffolds) التي تحتوي على مركبات نقية وأن كل مُكون من هذه المكونات محدد بشكلٍ كامل. (٣) وحيث إن حاملات الخلايا والأنسجة الببتيدية المصممة ذاتية التجميع هذه نقية وذات عناصر معروفة، فإنه من الممكن استخدامها لدراسة التعبير الجيني المتحكم به (controlled gene expression) أو عملية نقل إشارات الخلايا (cell signaling process). وبالتالي؛ فقد أثبتت حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المصممة الجديدة تلك أنها أدوات واعدة لدراسة مسارات إشارات الخلايا (cell signal pathways) بطريقة انتقائية تكون غير ممكنة باستخدام أي ركائز بما في ذلك الماتري جل (Matrigel) وهلامات الكولاجين المائية (collagen gels) التي تؤدي إلى إرباك نشاط نقل إشارات الخلايا (cell signaling activation). (٤) إن بداية عملية التجميع الذاتي تكون من خلال تغيير القوة الأيونية (ionic strength) في الظروف الفيزيولوجية بدون تأثير درجة الحرارة. وهذا مرة أخرى بخلاف هلامات الكولاجين المائية، التي يتم تحويلها إلى هلامات مائية دقيقة أو جامدة (gelation) عن طريق تغيير درجة الحرارة التي يمكن أن تُحدث أحياناً عملية بيولوجية غير معروفة بما في ذلك الصدمات الباردة أو الحارة (cold or heat shocks). (٥) تتيح حاملات الخلايا والأنسجة هذه الفرصة لدمج أو إدخال عدد من العناصر الوظيفية المختلفة وتركيباتها لدراسة سلوك الخلايا في بيئة مايكروية واضحة المعالم ماثلة للمصفوفة خارج الخلية (ECM)، ليس فقط من دون أي ردود فعل كيميائية تشعبية (chemical cross - link reactions) بل أيضاً كحاملات خلايا وأنسجة قابلة لإعادة الامتصاص الحيوي (bio - reabsorbable scaffolds) بشكلٍ كامل.

يُعتبر تطوير مواد بيولوجية جديدة، وعلى وجه التحديد حاملات الخلايا والأنسجة ذات المستوى النانوي تلك المستوحاة بشكلٍ بيولوجي والتي تحاكي البيئة في الجسم الحي وتعمل كركائز اختبارية من أجل نمو وتكاثر الخلايا ووظيفتها البيولوجية هي مجال العمل أو المتابعة الأكثر نشاطاً والذي بدوره يمكن أن يُطور الطب التجديدي إلى حدٍ كبير. إن هذه المواد سوف تكون مفيدة ليس فقط من أجل زيادة فهمنا لبيولوجيا الخلايا في البيئة ثلاثية الأبعاد بل أيضاً من أجل تطوير التقنية الطبية (medical technology) وهندسة الأنسجة والبيولوجيا التجديدية (regenerative biology) والطب.

المراجع REFERENCES

- [1] Lanza, R., Langer, R., and Vacanti, J. 2000. Principles of Tissue Engineering. Academic Press, San Diego.
- [2] Ashammakhi, N., Ndreu, A., Piras, A. et al. 2006. Biodegradable nanomats produced by electrospinning: Expanding multifunctionality and potential for tissue engineering. J. Nanosci. Nanotechnol. 6:2693–2711.
- [3] Zhang, S., Holmes, T., Lockshin, C., and Rich, A. 1993. Spontaneous assembly of a self-complementary oligopeptide to form a stable macroscopic membrane. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:3334–3338.
- [4] Zhang, S., Holmes, T., DiPersio, M. et al. 1995. Self-complementary oligopeptide matrices support mammalian-cell attachment. Biomaterials 16:1385–1393.
- [5] Zhang, S. 2002. Emerging biological materials through molecular self-assembly. Biotechnol. Adv. 20:321–339.
- [6] Zhang, S. 2003. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. Nat. Biotechnol. 21:1171–1178.
- [7] Caplan, M., Moore, P., Zhang, S., Kamm, R., and Lauffenburger, D. 2000. Self-assembly of a beta-sheet protein governed by relief of electrostatic repulsion relative to van der Waals attraction. Biomacromolecules 1:627–631.

- [8] Caplan, M., Schwartzfarb, E., Zhang, S., Kamm, R., and Lauffenburger, D. 2002. Control of selfassembling oligopeptide matrix formation through systematic variation of amino acid sequence. *Biomaterials* 23:219–227.
- [9] Marini, D., Hwang, W., Lauffenburger, D. et al. 2002. Left-handed helical ribbon intermediates in the selfassembly of a beta-sheet peptide. *Nano Lett.* 2:295–299.
- [10] Kisiday, J., Jin, M., Kurz, B. et al. 2002. Self-assembling peptide hydrogel fosters chondrocyte extracellular matrix production and cell division: Implications for cartilage tissue repair. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:9996–10001.
- [11] Hwang, W., Marini, D., Kamm, R., and Zhang, S. 2003. Supramolecular structure of helical ribbons selfassembled from a beta-sheet peptide. *J. Chem. Physics* 118:389–397.
- [12] Yokoi, H., Kinoshita, T., and Zhang, S. 2005. Dynamic reassembly of peptide RADA16 nanofiber scaffold. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:8414–8419.
- [13] Leon, E.J., Verma, N., Zhang, S., Lauffenburger, D., and Kamm, R. 1998. Mechanical properties of a selfassembling oligopeptide matrix. *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* 9:297–312.
- [14] Holmes, T.C., De Lacalle, S., Su, X. et al. 2000. Extensive neurite outgrowth and active synapse formation on self-assembling peptide scaffolds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:6728–6733.
- [15] Navarro-Alvarez, N., Soto-Gutierrez, A., Rivas-Carrio, J.D. et al. 2006. Self-assembling peptide nanofiber as a novel culture system for isolated porcine hepatocytes. *Cell Transplant.* 15:921–927.
- [16] Misawa, H. Kobayashi, N. Soto-Gutierrez, A. et al. 2006. Puramatrix facilitates bone regeneration in bone defects of calvaria in mice. *Cell Transplant.* 15:903–910.
- [17] Ellis-Behnke, R.G., Liang, Y.X., You, S.W. et al. 2006. Nano neuro knitting: Peptide nanofiber scaffold for brain repair and axon regeneration with functional return of vision. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:5054–5059.
- [18] Davis, M.E., Motion, J.P., Narmoneva, D.A. et al. 2005. Injectable self-assembling peptide nanofibers create intramyocardial microenvironments for endothelial cells. *Circulation* 111:442–450.
- [19] Davis, M.E., Hsieh, P.C., Takahashi, T. et al. 2006. Local myocardial insulin-like growth factor 1 (IGF-1) delivery with biotinylated peptide nanofibers improves cell therapy for myocardial infarction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:8155–8160.
- [20] Ayad, S., Boot-Handford, R.P., Humphreise, M.J., Kadler, K.E., and Shuttleworth, C.A. 1998. *The Extracellular Matrix: Facts Book*. Academic Press, San Diego.
- [21] Kreis, T. and Vale, R. 1999. *Guide Book to the Extracellular Matrix, Anchor, and Adhesion Proteins*. Oxford: Oxford University Press.
- [22] Ricard-Blum, S., Dublet, B., and Van Der Rest, M. 2000. *Unconventional Collagens: Types VI, VII, VIII, IX, X, XIV, XVI & XIX*. Oxford: Oxford University Press.
- [23] Gelain, F., Bottai, D., Vescovi, A., and Zhang, S. 2006. Designer self-assembling peptide nanofiber scaffolds for adult mouse neural stem cell 3-dimensional cultures. *PLoS ONE* 1:e119.
- [24] Horii, A., Wang, X., Gelain, F., and Zhang, S. 2007. Biological designer self-assembling peptide nanofiber scaffolds significantly enhance osteoblast proliferation, differentiation and 3-D migration. *PLoS ONE* 2:e190.
- [25] Silva, G.A., Czeisler, C., Niece, K.L. et al. 2004. Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers. *Science* 303:1352–1355.
- [26] Nowakowski, G.S., Dooner, M.S., Valinski, H.M. et al. 2004. A specific heptapeptide from a phage display peptide library homes to bone marrow and binds to primitive hematopoietic stem cells. *Stem Cells* 22:1030–1038.

الباب الرابع

**تطبيقات حاملات الخلايا والأنسجة ذات البنية النانوية
في علم الأحياء والطب**

تقنيات النانو في هندسة الأنسجة العصبية

Nanotechnologies in Neural Tissue Engineering

Vivek Mukhatyar, Julie Yeh, and Ravi Bellamkonda

المحتويات CONTENTS

٤٥٣	INTRODUCTION مقدمة (١٢,١)
	(١٢,٢) تقنيات النانو المستخدمة لفهم الأنسجة العصبية بصورة أفضل لصياغة إصلاحها بعقلانية
	ANOTECHNOLOGIES USED TO BETTER UNDERSTAND NEURAL
٤٥٥	TISSUE TO RATIONALLY FASHION ITS REPAIR
	(١٢,٢,١) التشكيل المايكروي / النانوي في المختبر لفهم عملية توجيه المحور العصبي بصورة أفضل / Micro
٤٥٥	Guidance Nanopatterning in Vitro to Better Understand Axon
	(١٢,٢,١,١) التصنيع المايكروي لإنشاء أنماط لمراقبة آثار الإشارات الطبوغرافية Microfabrication to Create
٤٥٥	Patterns to Observe the Effects of Topographical Cues
	(١٢,٢,١,٢) مراقبة تفاعل المحور العصبي مع بروتينات المصفوفة خارج الخلية باستخدام الحفر النانوي بواسطة القلم المنغمس
٤٥٦	Observing Axonal Interaction with ECM Proteins Using Dip-Pen Nanolithography المنغمس
٤٥٧	Quantum Dots النقاط الكمّية (١٢,٢,٢)
	(١٢,٢,٢,١) إظهار تفاعل اللّجين-المستقبل باستخدام النقاط الكمّية المقترنة بالببتيد Visualizing
٤٥٧	Ligand-Receptor Interaction Using Peptide Conjugated Quantum Dots
	(١٢,٣) الطبوغرافيات المايكروية-النانوية التي توجه المحاور العصبية في المختبر وفي الجسم الحي
٤٥٩	MICRO-NANO TOPOGRAPHIES THAT GUIDE AXONS IN VITRO AND IN VIVO
	(١٢,٣,١) الإشارات الطبوغرافية لتجديد الأعصاب: الألياف الطبيعية Topographical Cues for
٤٥٩	Regenerating Nerves: Natural Fibers

- ٤٦٠..... Self-Assembling Peptide Nanofibers الألياف الببتيدية النانوية ذاتية التجميع (١٢,٣,١,١)
- ٤٦١..... Silk Fibers to Enhance Nerve Regeneration ألياف الحرير لتعزيز تجديد الأعصاب (١٢,٣,١,٢)
- Magnetically Aligned Nanofibers for Cell Alignment ألياف النانو المتراففة مغناطيسياً لترافف الخلايا (١٢,٣,١,٣)
- ٤٦١..... Cell Alignment
- ٤٦١..... Biosynthetic and Synthetic Fibers الألياف التركيبية الحيوية والألياف التركيبية (١٢,٣,٢,٢)
- ٤٦٢..... Fabrication through Electrospinning التصنيع من خلال الغزل الكهربائي (١٢,٣,٢,١)
- Synthetic Electrospun Fibers ألياف التركيبية المغزولة كهربائياً من أجل هندسة الأنسجة العصبية (١٢,٣,٢,٢)
- for Neural Tissue Engineering
- ٤٦٣..... Biosynthetic Fibers with Conductive Properties الألياف التركيبية الحيوية ذات الخصائص الموصلة (١٢,٣,٢,٣)
- Biosynthetic Fibers to Aid in Schwann Cell Migration الألياف التركيبية الحيوية للمساعدة في هجرة خلايا شوان (١٢,٣,٢,٤)
- Topography for Controlled Migration الطوبوغرافية من أجل هجرة مُتحكم بها لخلايا شوان (١٢,٣,٢,٥)
- of Schwann Cells
- مصفوفات الإلكتروودات النانوية وطلاؤها لفهم الوظيفة الكهربائية والكيميائية الحيوية وتحسين دمج الأنسجة (١٢,٤)
- NANO-ELECTRODE ARRAYS AND THEIR COATINGS TO UNDERSTAND ELECTRICAL AND BIOCHEMICAL FUNCTION AND IMPROVE TISSUE INTEGRATION
- ٤٦٥..... Neas to Evaluate مصفوفات الإلكتروودات في المستوى النانوي لتقييم الشبكات العصبية (١٢,٤,١)
- Neural Networks
- NEAs مصفوفات الإلكتروودات في المستوى النانوي تقدم معلومات عن تنظيم الجهاز العصبي (١٢,٤,١,١)
- Provide Information on the Organization of the Nervous System
- Carbon Nanotube-Based Arrays المصفوفات المبنية على أساس أنابيب الكربون النانوية (١٢,٤,١,٢)
- Nanoscale Electrode Coatings طبقات طلاء الإلكتروودات ذات المستوى النانوي (١٢,٤,٢)
- Electrostatic طبقات الطلاء الكهرستاتيكية المبنية على أساس طبقة تلو الطبقة (١٢,٤,٢,١)
- Layer-by-Layer-Based Coatings
- iCVD Coatings طبقات الطلاء بواسطة الترسيب المبدوء للأبخرة الكيميائية (١٢,٤,٢,٢)
- Using Nanoscale استخدام النانوسيلولوز ذي المستوى النانوي لدمج الأدوية المضادة للالتهاب (١٢,٤,٢,٣)
- Nitrocellulose to Incorporate Anti-Inflammatory Drugs
- NANOPARTICLES الجسيمات النانوية من أجل الإطلاق المتحكم به للعوامل الغذائية في الجهاز العصبي (١٢,٥)
- FOR THE CONTROLLED RELEASE OF TROPHIC FACTORS IN THE NERVOUS SYSTEM
- Nanoparticles for the Release of الجسيمات النانوية من أجل إطلاق الأدوية المضادة للالتهاب (١٢,٥,١)
- Anti-Inflammatory Drugs

٤٧١	 of Antiscarring Drugs	(١٢,٥,٢) الجسيمات النانوية من أجل إطلاق الأدوية المضادة للتندب Nanoparticles for Release
٤٧١	 Nanoparticles for Neuroprotection	(١٢,٥,٣) الجسيمات النانوية من أجل الحماية العصبية Nanoparticles for Neuroprotection
٤٧٢	 FUTURE OUTLOOK	(١٢,٦) الآفاق المستقبلية FUTURE OUTLOOK
٤٧٣	 ACKNOWLEDGMENTS	شكر وتقدير ACKNOWLEDGMENTS
٤٧٣	 REFERENCES	المراجع REFERENCES

INTRODUCTION مقدمة (١٢,١)

يتم إنشاء الأنظمة البيولوجية (biological systems) من بُنى هرمية (hierarchical structures) مُركبة من كتل بناء في مستوى النانو. ويتم تجميع هذه المركبات ذات المستوى النانوي لتكوين بُنى في المستوى الماكروي (macroscale structures) ذات شكل ووظيفة محددين. وتوفر تقنية النانو أداة جديدة لتصنيع وقياس وفحص هذه الأنظمة البيولوجية والتفاعل معها في المستويات الذرية والجزيئية (atomic and molecular levels) التي تتراوح عادةً ما بين ١ إلى ١٠٠ نانومتر. تتيح هذه القدرة التحكم الدقيق بعدد من الخصائص الفيزيائية والوظيفية، والتي تعتبر فريدة من نوعها لتطبيقات محددة [1]، بما في ذلك الخصائص الميكانيكية والفيزيائية والكيميائية والكهربائية للمواد. ومن المحتمل أن تكون للمواد المنتجة باستخدام تقنية النانو مستويات قياس وخصائص مهندسة لتتفاعل بطرق يمكن التحكم بها مع المواد البيولوجية المناظرة لها؛ مما يؤدي في النهاية إلى تعزيز التوافقية الحيوية (biocompatibility) والتخصيص أو التحديد الوظيفي (functionality) [2].

في هذا الفصل، سنستعرض الجهود المستمرة في تقنية النانو وتأثيرها على مجال هندسة الأنسجة العصبية (neural tissue engineering). ويأتي هذا الدافع لتطبيق تقنية النانو على هندسة الأنسجة العصبية من الكثير من المشاكل التي لم يتم حلها في مجال العلوم العصبية (neuroscience) وفي مجال علم الأمراض العصبية (neuropathology). واحدة من الآثار الواضحة للمستويات الصغيرة تنبع من حقيقة أن النسيج العصبي غالباً ما يكون مُتوضّعاً في أماكن ضيقة أو محصورة (نشاط العمود الفقري والجمجمة (vertebral column and cranial activity))، حيث إن المكان استثنائي وأن أي طُعم أو مادة مزروعة (implant) يمكن أن تسبب مضاعفات (complications) من خلال تطبيق الضغط. إن التحديدية (النوعية) الجزيئية (molecular specificity) مهمة جداً أيضاً في تفاعل وتعديل الجهاز العصبي (interacting and modulating the nervous system)، حيث يكون العديد من أنواع الخلايا ذات الوظائف المختلفة والمحددة مكتظة بكثافة مع بعضها. ونظراً للطبيعة المعقدة للنسيج العصبي الذي يشمل كلاً من التوصيل أو الموصليّة الكهربائية والكيميائية الحيوية (electrical and biochemical connectivity) التي تقوم عليها وظيفته "الصحية" (healthy function)، فإن تقنية النانو التي تساعدنا في فهم الوظيفة العصبية بشكل أفضل سوف تلعب دوراً مهماً في توفير معايير التصميم من أجل هندسة الأنسجة العصبية.

يناقش هذا الفصل عدة تقنيات نانوية والتي تؤثر مجتمعةً على هندسة الأنسجة العصبية. يتضمن الجدول رقم (١٢,١) ملخصاً عن هذه التقنيات. وعلى الرغم من أن بعض هذه التقنيات لا تزال في مراحلها الأولى، إلا أن قدرتها على التأثير السريري (clinical impact) واضحة، وستتم مناقشتها في هذا الفصل.

الجدول رقم (١٢,١). تأثير تقنية النانو على هندسة الأنسجة العصبية.

تقنيات النانو (Nanotechnologies)	التطبيق (Application)
أدوات في مستوى النانو لفحص الجهاز العصبي (Nanoscale Tools to Probe the Nervous System)	
تصنيع الطوبوغرافيات أو السمات السطحية في مستوى النانو (nanoscale topographies) والأنماط أو الزخارف الجزيئية في المستوى المايكرو / النانوي (micro / nanoscale molecular patterns)	تقييم استجابة المحور العصبي (axonal response) للإشارات أو المنبهات المكانية والزمانية (spacial and temporal cues)
الحفر النانوي (nanolithography) لتصنيع بُنى المصفوفة خارج الخلية (ECM structures) من مواد طبيعية ومواد تركيبية	دراسة استجابة الخلايا العصبية (neuronal cell response) للبنى المشابهة للمصفوفة خارج الخلية (ECM-like structures)
النقاط الكمية (Quantum dots)	إظهار مسارات نقل الإشارات (image signaling pathways) والوظيفة الخلوية المستهدفة (target cellular function)؛ الاقتران الببتيدي (peptide conjugation) لتوصيل الببتيدات إلى الأهداف الجزيئية (molecular targets)
أدوات في مستوى النانو لتوجيه المحاور العصبية (Nanoscale Tools to Guide Axons)	
ألياف نانو ذاتية التجميع (self-assembling nanofibers)	دمج الحواتم أو المحددات المستضدية (epitopes) لتشجيع نمو المحاور العصبية (neurite growth)
الغزل الكهربائي (electrospinning) لألياف النانو من مواد طبيعية ومواد تركيبية ومواد تركيبية حيوية	توفير إشارات أو منبهات طوبوغرافية (topographical cues) لخلايا شيفان (Schwann cells) المغلفة للألياف العصبية والمحاور العصبية (axons) لتوجيه عملية تجديد العصب (nerve regeneration)
تقنية النانو والربط البيني العصبي (Nanotechnology and Neural Interfacing)	
مصفوفات إلكترونية نانوية (nanoelectrode arrays) (أنابيب الكربون النانوية carbon nanotubes)	التحفيز (stimulate) والتسجيل من المحاور العصبية الفردية (individual axons) والتشعبات أو التغصنات (dendrites)؛ تحسين نسبة الإشارة إلى الضجيج (signal-to-noise ratio)
طلاء أو تغليف اللامينين طبقة تلو طبقة (layer-by-layer coating of laminin)	تحسين التصاق وتمييز الخلايا على الإلكترودات العصبية (neural electrodes)
الطلاء أو التغليف النيتروسليلوزي (Nitrocellulose coating) لدمج الأدوية	الحد من الاستجابة الالتهابية (inflammatory response)؛ توفير التوصيل المستمر للأدوية (sustained delivery of drugs) إلى موقع الزراعة (implantation site)
تقنية النانو والتوصيل المتحكم به للأدوية إلى الجهاز العصبي (Nanotechnology and Controlled Delivery of Drugs to the Nervous System)	
أكسيد السيريوم (Cerium oxide) وجسيمات الـ ChABC النانوية (ChABC nanoparticles)	تقليل التندب (scarring) وتوفير حمأي عصبية في الحبل الشوكي (neuroprotection in the spinal cord)
جسيمات نانوية (nanoparticles)	القدرة على عبور أو تخطي حاجز الدم - الدماغ (cross blood - brain barrier)؛ إنتاج إطلاق متواصل للأدوية (sustained release of drugs) (BBB-)

(١٢,٢) تقنيات النانو المستخدمة لفهم الأنسجة العصبية بصورة أفضل لصياغة إصلاحها بعقلانية

NANOTECHNOLOGIES USED TO BETTER UNDERSTAND NEURAL TISSUE TO RATIONALLY FASHION ITS REPAIR

(١٢,٢,١) التشكيل المايكروني / النانوي في المختبر لفهم عملية توجيه المحور العصبي بصورة أفضل / Micro Nanopatterning In Vitro To Better Understand Axon Guidance

يتطلب الأمر أعداداً كبيرة من الإشارات الفيزيائية والكيميائية الحيوية (physical and biochemical signals) من أجل التجديد المثالي للجهاز العصبي المركزي (central nervous system - CNS) والجهاز العصبي المحيطي (peripheral nervous system - PNS). إن فهم القواعد التي تحكم عملية التوجيه المحوري (axonal guidance) (توجيه المحور العصبي) يمكن أن تخبر عن إستراتيجيات لتصميم علاجات تجديدية (regenerative therapies) بحيث يمكن تقديم إشارات أو منبهات طوبوغرافية سطحية وكيميائية حيوية (topographical and biochemical cues) مثالية لتجديد المحاور العصبية (regenerating axons). إن التشكيل المايكروني / النانوي (micro / nanopatterning) على الركائز ثلاثية الأبعاد يزودنا بدرجة من التحكم المكاني (spatial control) اللازم لفحص استجابة المحور العصبي (axonal response) للإشارات أو المنبهات الطوبوغرافية السطحية والكيميائية الحيوية التي يتم التحكم بها بصورة جيدة [3,4]. إن بعض الجهود المبنية على تقنية النانو والموضحة في هذا القسم لا تُقدّر بثمن في إعلام الجيل القادم عن إستراتيجيات هندسة الأنسجة التي تهدف إلى إصلاح أو تجديد الجهاز العصبي (repairing or regenerating the nervous system).

(١٢,٢,١,١) التصنيع المايكروني لإنشاء أنماط لمراقبة آثار الإشارات الطوبوغرافية Microfabrication to Create Patterns to Observe the Effects of Topographical Cues

يتم في الغالب تصميم حاملات هندسة الأنسجة العصبية مع إشارات أو منبهات توجيه طوبوغرافية سطحية (topographical guidance cues) محددة، والتي تساعد في التصاق وهجرة الخلايا العصبية (neuronal cells). وقد تم تكييف تقنيات التصنيع المايكرونية المطوّرة من أجل الاستخدام في صناعة الأجهزة الإلكترونية المايكرونية الدقيقة (microelectronics industry) لتحقيق تشكيل أو زخرفة في المستوى المايكروني والنانوي (micro - and nanoscale patterning) على ركائز تجريبية. فعلى سبيل المثال، وباستخدام الحفر الضوئي (photolithography)، يمكن حفر خطوط أو ممرات (lanes) مع أعماق تتراوح من ٥٠ نانومتراً إلى ٦ مايكرومترات، وتراكيب كيميائية (chemistries) مختلفة موضوعة على ركيزة من شريحة السيليكا المنصهرة (fused - silica slide substrate)، وذلك لفهم تأثيرات التفاعلات الهرمية (hierarchical interactions) على السلوك الخلوي [5]. على سبيل المثال، يمكن تطبيق الممرات المشكّلة أو المزخرفة بواسطة تناوب سيلان الميثيل (methylsilane) واللامينين (laminin) الكارهة للماء وذلك لتقييم توجيه المحاور أو المحور العصبي (neurite orientation) في الاستجابة للتشكيل أو الزخرفة والتركيب الكيميائي السطحي في وقت واحد. وتشير هذه الدراسات إلى استنتاج أن المحاور العصبية تلتصق بشكل تفضيلي بركائز اللامينين اللاصقة (adhesive laminin substrates) وتستجيب أيضاً للحواجز الشبكية الطوبوغرافية السطحية (topographical gratings) مختلفة الأعماق. وتصبح هذه المحاور العصبية متراصة بشكل عالٍ عندما تتجاوز

أعماق الأخاديد ١ مايكرومتر. إن تقنيات التصنيع الأخرى مثل الحفر بالحزمة الإلكترونية (electron beam lithography) تسمح لنا أيضاً بتصنيع ركائز ذات خصائص أو سمات تصل إلى بضعة نانومترات [6,7]؛ مما يُمكن على الأرجح من أخذ عينات للعديد من الإشارات أو المنبهات باستخدام نفس المحور العصبي أو مخاريط النمو (growth cones). إن هذا المستوى من التحكم يسمح بمزيد من الدراسة المستفيضة حول الكيفية التي يمكن أن تتم بها معالجة المعلومات أو دمجها بواسطة المحاور العصبية المفردة أو مخاريط النمو المفردة. وبالتالي، توفر تقنيات التشكيل أو الزخرفة في المستوى النانوي أداة مهمة في تعزيز فهمنا لوظيفة مخروط النمو فيما يتعلق بمقدرته على كشف ومعالجة الإشارات أو المنبهات الطبوغرافية السطحية والكيميائية الحيوية.

(١٢،٢،١،٢) مراقبة تفاعل المحور العصبي مع بروتينات المصفوفة خارج الخلية باستخدام الحفر النانوي بواسطة القلم

المنغمس Observing Axonal Interaction with ECM Proteins Using Dip-Pen Nanolithography

إن الحفر النانوي بواسطة القلم المنغمس أو المغطس (dip - pen nanolithography - DPN) هي تقنية أخرى تم تطبيقها لدراسة الكيفية التي تتفاعل بها المحاور العصبية مع بيئتها خارج الخلية (extracellular environment). وقد تم استخدام الحفر النانوي بواسطة القلم المنغمس أو المغطس (DPN) لطباعة بُنى الكولاجين وُبنى شبيهة بالكولاجين مع خطوط يتراوح عرضها بين ٣٠ و ٥٠ نانومتراً [8]. توفر هذه التقنية وسيلة قوية لتنظيم الكولاجين في بنيته الهرمية، بينما تتم المحافظة على نشاطه البيولوجي. وبصورة مختصرة، يمكن إضافة الثيول (thiol) (الجذر SH) إلى كولاجين ذيل الجُرْدُ المجفّف (المجفّف بالتجميد) (lyophilized rat tail collagen) في بيئة حمضية وذلك للمحافظة على نشاطه الحيوي. ومن ثم يمكن استخدام مجهر القوة الذرية (atomic force microscopy - AFM) لتنفيذ الحفر النانوي بواسطة القلم المنغمس أو المغطس (DPN)، عن طريق غمس الطرف أو الرأس المستدق لمجهر القوة الذرية (AFM tip) في محلول بيتيدي مائي (aqueous peptide solution) ويمكن القيام بعملية التشكيل أو الزخرفة عن طريق النقر (نمط النقر tapping mode)، في حين يتم تغيير الزاوية وذلك لإنجاز بُنى مشابهة بالكولاجين. إن لهذه التقنية إمكانية واسعة في التشكيل أو الزخرفة النانوية؛ لأنه من الممكن استخدامها لتصنيع مجموعة واسعة من البوليمرات عند مستويات قياس مماثلة لحالاتها الطبيعية. ومن حيث هندسة الأنسجة العصبية، يمكن لهذه التقنية أن تكون مفيدة جداً في فهم الاستجابات العصبية (neuronal responses) لمختلف الإشارات أو المنبهات الطبوغرافية السطحية والحواتم أو مولدات المضادات الببتيدية (peptide epitopes)، وكذلك في تصميم حاملات الخلايا والأنسجة ذات الخصائص أو السمات في المستوى النانوي من أجل تعزيز السلوك الخلوي.

يمكن تشكيل أو زخرفة البروتينات والأحماض الأمينية التركيبية والببتيدات الصغيرة على ركائز مختلفة مع تحكم مكاني رائع وذلك لتعديل نمو المحور العصبي (modulate axonal growth). وبالتالي يمكن للتشكيل أو الزخرفة النانوية أن تُزود بدقة تباين أعلى لتوفر وبشكل متباين جاذبات كيميائية (chemoattractants) ومُنفّرات (repellants) في مواقع محددة ضمن المنطقة المجاورة لمخروط النمو المفرد لغرض فحص سلوك الخلية الأساسي [4] وتحسين تصميم البنى المستخدمة في هندسة الأنسجة العصبية.

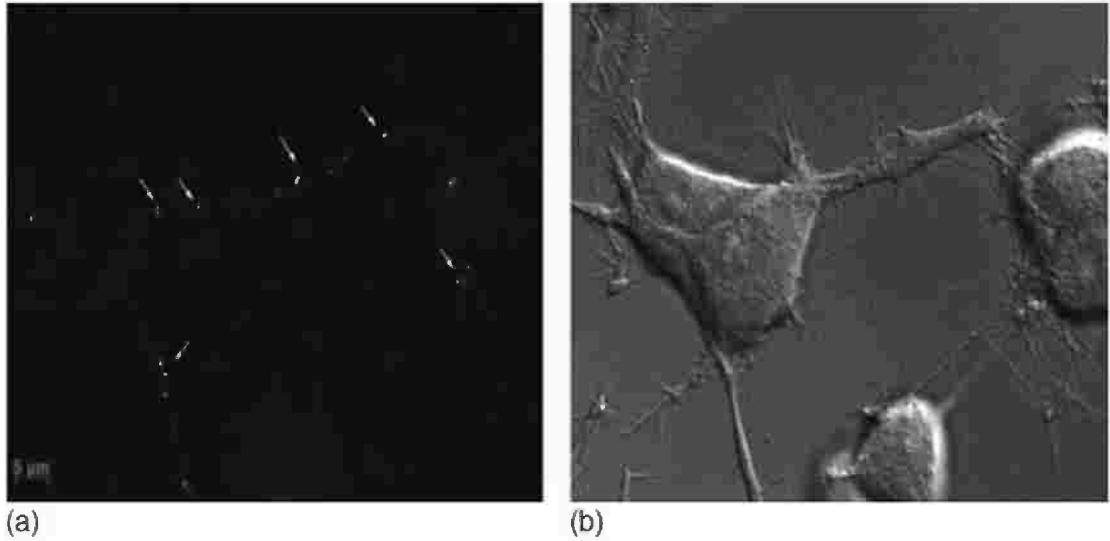
(١٢,٢,٢) النقاط الكمّية Quantum Dots

إن استخدام تقنية النانو في تمييز (وسم) (labeling) أو مراقبة الحالات والمعالجات البيولوجية واعد؛ لأن المواد النانوية (nanomaterials) غالباً ما تتمتع بميزات تالقيّة (fluorescence characteristics) فريدة. فتمتلك البلورات النانوية (nanocrystals) للنقاط الكمّية (quantum dot - QD) في أشباه الموصلات (semiconductor) ذات الأحجام التي تتراوح من ٢ إلى ٨ نانومترات خصائص تالقيّة مستقرة (stable fluorescent properties) بدرجة عالية.

توفر البنية الفيزيائية (physical structure) للنقاط الكمّية (QDs) أيضاً عدة مزايا لاستخدامها في الأنظمة البيولوجية. وغالباً ما يكون للنقاط الكمّية (QDs) لب أو قلب معدني ثقيل (heavy metal core) من الكاديوم - السيلينيوم (cadmium - selenium) مع غلاف خامل من سلفيد الزنك (inert zinc sulfide shell) وطبقة طلاء خارجية متغيرة (variable outer coating) يمكن أن تُصنع باستخدام جزيئات حيوية مختلفة مع تطبيق محدد [9]. وبإمكان هذه الجسيمات النانوية امتصاص الضوء على طول طيف واسع مع أطيايف انبعاث ضيقة (narrow emission spectra). توفر خاصية النقاط الكمّية (QDs) هذه ميزتين لاستخدامها في تصوير الأنظمة العصبية البيولوجية (neurobiological systems). الميزة الأولى هي أن طيف الانبعاث الضيق يقلل من التداخل أو التراكب الطيفي (spectral overlap) الذي يساعد في تمييز الفلوروفورات (fluorophores) المتعددة. الميزة الثانية هي أن طيف الإثارة الواسع (broad excitation spectrum) يسمح باستخدام طول موجة الإثارة المفرد (single excitation wavelength) لإثارة النقاط الكمّية (QDs) مختلفة الألوان [2,9,10]. ويمكن تعديل تالقي النقاط الكمّية (QDs) بسهولة عن طريق تغيير حجمها أو تركيبها الكيميائي. وبالمقارنة مع الواسمات التالقية (fluorescence markers) المستخدمة في الكيمياء الهستولوجية المناعية (immunohistochemistry)، تواجه النقاط الكمّية (QDs) الحد الأدنى من التبييض الضوئي (photobleaching) وتؤدي إلى ارتفاع نسبة الإشارة إلى الضجيج (signal - to - noise ratio) [9-12]. إن هذه الميزات تجعلها مفيدة من أجل إظهار التعامل أو التبادل ما دون الخلوي (subcellular trafficking) في المختبر ومن أجل تتبع (tracking) وتمييز (characterizing) الخلايا في الجسم الحي.

(١٢,٢,٢,١) إظهار تفاعل اللّجين-المستقبل باستخدام النقاط الكمّية المقترنة بالبيتيد Visualizing Ligand-Receptor Interaction Using Peptide Conjugated Quantum Dots

تعتبر النقاط الكمّية (QDs) مفيدة من أجل إظهار مسارات محددة لنقل الإشارات المفعلة (specific activated signaling pathways). فيمكن أن تكون النقاط الكمّية (QDs) مقترنة بالبيتيدات التي ترتبط بمستقبلات محددة (specific receptors) لمراقبة عملية تفعيل المسار. فعلى سبيل المثال، يمكن استخدام النقاط الكمّية المقترنة بالبيتيد (peptide conjugated QDs) لتفعيل مسارات نقل الإشارات في خلايا الـ (PC12) في المختبر. لقد تم قرن أو دمج بيتيد عامل نمو العصب - بيتا (β-nerve growth factor - NGF) بالنقاط الكمّية (QDs) باستخدام مُتقارنات الستربتافيدين - بيوتين (streptavidin - biotin conjugates)، في تفاعل ربط عالي الألفة (الانجذاب) (high affinity binding interaction)، مما ترك النشاط الحيوي للبيتيد سليماً. يبين الشكل رقم (١٢.١) قدرة عامل نمو العصب - النقاط الكمّية (NGF - QDs) على التداخل (internalized) والنقل وذلك من أجل سير عمليات الخلايا (PC12). وقد أظهرت الدراسة بأن النقاط الكمّية الوظيفية (functional QDs) كانت ناجحة في تفعيل المستقبلات (TrkA receptors) والبدء بعملية تمايز الخلايا (PC12) [13].



الشكل رقم (١٢، ١). النقاط الكمّية مقترنة بعامل نمو العصب (NGF - QDs) يتم نقلها إلى سير عمليات الخلايا (PC12) (b)، مُشار إليها بواسطة الأسهم في (a). (تم نشر الصورة بإذن من (Dr. Tania Vu, Oregon Health and Science University).

وفي دراسةٍ أخرى، مكّنت النقاط الكمّية (QDs) المقترنة بالجسم المضاد لمستقبل الـ (TrkA) المضاد (anti - TrkA) من إظهار عملية تدخيل أو إدخال (internalization) المركب المؤلف من اللّجين - المستقبل (receptor antibody) والنقل الحويصليّ (vesicular transportation) ضمن الخلية [14]. وقد كانت النقاط الكمّية المقترنة بالـ (TrkA) المضاد (anti-TrkA QDs) قادرة على أن تتألق على وجه التحديد في وجود مستقبل الـ (TrkA). كما أظهرت الدراسة أيضاً بأن النقاط الكمّية تلك (QDs) كانت قادرة على التفاعل مع المحركات الخلوية (cellular motors) لعدة أيام بعد الالتقام الأولي (initial endocytosis). وبالتناوب، يمكن أن يقترن عامل نمو العصب (NGF) بالنقاط الكمّية (QDs) ليتتبع النقل العكسي (retrograde transport) لعامل نمو العصب (NGF) في مزارع عقدة الجذر الظهراني (dorsal root ganglion - DRG). وهذا ما يُمكن من القياس أو التحديد الكمّي للطاقات الحركية (kinetics) للنقل الدُخُلولي (نقل الجُسيمات الداخلية) (endosomal transport) ضمن المحور العصبي بعد تدخيل مركب النقاط الكمّية - عامل نمو العصب (QD - NGF complex) [15]. ففي حين يتم استخدام النظائر المشعة الموسومة (radiolabeled isotopes) لدراسة النقل الحويصلي، توفر النقاط الكمّية (QDs) المقترنة بطريقة أكثر أماناً لتتبع وقياس مثل هذه الطاقات الحركية. وهكذا، فإن النقاط الكمّية (QDs) تعتبر أداة قوية لدراسة آلية الامتصاص (mechanism of uptake) وآلية التبادل داخل الخلوي (mechanism of intracellular trafficking) لعوامل نمو محددة أو بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM)، وهذا بدوره يمكن أن يكون أداة تمكين قوية لهندسة الأنسجة العصبية.

(١٢,٣) الطوبوغرافيات المايكروية - النانوية التي توجه المحاور العصبية في المختبر وفي الجسم الحي MICRO-NANO TOPOGRAPHIES THAT GUIDE AXONS IN VITRO AND IN VIVO

المجال البحثي الآخر الذي كان لتقنية النانو تأثيرٌ عليه في هندسة الأنسجة العصبية هو تطوير حاملات خلايا وأنسجة تساعد في تجديد الأعصاب التالفة (regeneration of damaged nerves). ونظراً للفيزيولوجيا المعقدة لتجديد الأعصاب، فإن حاملات الخلايا والأنسجة المستخدمة من أجل التجديد تتطلب سمات أو خصائص تساعد في تكاثر و تمايز وهجرة الخلايا العصبية (neuronal cells) والخلايا الدبقية (glial cells). وبالتالي؛ فإن حاملات الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد التي تحاكي الخصائص الفيزيولوجية المعقدة (complex physiological properties) والإشارات الكيميائية (chemical cues) للمصفوفة خارج الخلية (ECM)، والتي تُمكن من الهجرة أو الانتقال الموجّه للخلية والمحور العصبي (guided cell and axonal migration) في المختبر وفي الجسم الحي تكون ضرورية. ويجب على حاملات الخلايا والأنسجة تلك أن توفر أيضاً بيئة عيوشة قابلة لإبقاء الخلايا على قيد الحياة (viable environment) من أجل نمو الخلايا ولا تُظهر أي استجابات مناعية (immune responses)، وأن تكون لها مساحة سطحية كبيرة وتسمح بحركة المواد الغذائية (nutrients) وتوفر الدعم القوي في الوقت الذي تكون فيه قادرة على التحلل بمعدلٍ مساوٍ لمعدل التجديد أو أصغر منه [16]. إن التحكم بالتجميع الجزيئي (molecular assembly) وبالطوبوغرافية السطحية (topography) في المستوى النانوي يوفر القدرة على إضافة أو إدخال بعض من السمات المذكورة أعلاه مع تحكم مكاني وزماني (spatial and temporal control)، والذي من المحتمل أن يؤثر على إستراتيجيات توجيه الأعصاب (nerve guidance strategies) بشكلٍ ملحوظ.

إن الخصائص الثلاثة المهمة الخاصة بحاملات الخلايا والأنسجة والتي تعزز تجديد الأعصاب تشمل التوافقية الحيوية (biocompatibility) وقابلية التحلل (degradability) والمسامية (porosity). بالإضافة إلى ذلك، وبحسب ما تمت مناقشته في وقتٍ سابق، يمكن أن تؤثر الطريقة التي يتم من خلالها التحكم مكانياً وزمانياً بالإشارات أو المنبهات الطوبوغرافية والكيميائية الحيوية والمفعلة عن طريق تقنيات التشكيل أو الزخرفة في المستوى النانوي (nanoscale patterning techniques) وبشكلٍ ملحوظ على عملية التجديد، كما هو موضح أدناه.

(١٢,٣,١) الإشارات الطوبوغرافية لتجديد الأعصاب: الألياف الطبيعية Topographical Cues For Regenerating Nerves: Natural Fibers

يمكن أن تكون الألياف الطبيعية مُشكّلة من مواد مثل الجزيئات مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزمر (amphiphilic molecules) (وهي جزيئات تمتلك كلاً من الأجزاء المحبة للماء والكارهة للماء) والحرير والكولاجين. إن الخصائص الطبيعية الكامنة (inherent properties) للمواد ذات الأساس الليبي تجعلها متوافقة حيوياً بشكلٍ عالٍ، وذلك نظراً لنفاذيتها (permeability) وطبيعتها المطاوعة أو المتوافقة (compliant nature). وعلى وجه التحديد، تسمح النفاذية بانتشار المواد الغذائية الضرورية التي تعزز التصاق وهجرة الخلايا. وعلى أي حال، فإن نفس هذه الخصائص تجعل إنتاج مثل هذه الألياف معقداً، ويكون من الصعب التحكم في توجيه الألياف (fiber orientation) وذلك لتوجيه عملية انتقال أو هجرة الخلايا (cell migration) [16].

(١٢,٣,١,١) الألياف الببتيدية النانوية ذاتية التجميع Self-Assembling Peptide Nanofibers

يمكن تشكيل الألياف الطبيعية من خلال تصنيع الجزيئات مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر. توجد هذه الجزيئات في شكل محلول ومن ثم تتجمع ذاتياً عندما يتم وضعها في مُستعلقات الخلايا (suspensions of cells) مثل خلايا السلف العصبية (neural progenitor cells) [17]. وتقود أو تؤدي قوى الربط الأيوني (ionic bonding) والربط الهيدروجيني (hydrogen bonding) وتفاعلات فان دير فالس (van der Waals interactions) والاستجابات الكارهة للماء (hydrophobic responses) إلى تشكيل عملية التجميع الذاتي للببتيد وتوليد مادة صلبة مشابهة للمادة الهلامية (gel - like solid) [17]. ويمكن تصميم الرؤوس المحبة للماء (hydrophilic heads) للجزيئات مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر لتشمل حواتم أو محددات مستضدية (epitopes) معينة. فعلى سبيل المثال، يمكن أن يساعد إدخال أو دمج التسلسل آيسولوسين - ليسين - فالين - آلانين - فالين (isoleucine - lysine - valine - alanine - valine - IKVAV) في تعزيز نمو المحوار (neurite) (المحور العصبي) [18]. ويتراوح قطر ألياف النانو ذات التسلسل آيسولوسين - ليسين - فالين - آلانين - فالين (IKVAV) المدمج من ٥ إلى ٨ نانومترات، ويتراوح طولها من مئات النانومترات إلى بضعة مايكرومترات [17]. وعند المقارنة مع ركائز مصنوعة من اللامينين (laminin) ومن البولي (دي-اليسين) (poly(D-lysine))، فإن الخلايا المزروعة على الألياف النانوية ذات التسلسل آيسولوسين - ليسين - فالين - آلانين - فالين (IKVAV) كانت قد تمايزت بسرعة أكبر. بالإضافة إلى ذلك، فقد كان أداء هذه الألياف النانوية أفضل من طبقات الطلاء أو التغليف (coatings) بالببتيدات القابلة للذوبان ذات التسلسل آيسولوسين - ليسين - فالين - آلانين - فالين (IKVAV soluble peptides) وذلك نظراً لأن الألياف النانوية توفر كثافة أكبر للحواتم أو المحددات المستضدية [17]. وهكذا، فإن هذه الألياف ومع دمج حواتم أو محددات مستضدية معينة في الألياف النانوية تُظهر أنها تساعد في عملية التمايز العصبي (neuronal differentiation).

كما يمكن إنتاج الألياف النانوية الببتيدية مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر أيضاً من خلال الحفر اللين (soft lithography). ففي هذه العملية، يتم إنشاء ختم (stamp) لتوجيه الألياف ومن ثم يتم ضغطه على محلول من الجزيئات الببتيدية مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر (peptide - amphiphilic molecules) [19]. وبعد ذلك تتم عملية تبخير هذا التشكيل وصوتنته (sonicated) (تعريضه للأمواج الصوتية) وتجهيفه وذلك لإنتاج ألياف نانوية مترافقة (aligned nanofibers). وتعتمد أبعاد الألياف على النسبة المثوية لوزن الجزيئات الببتيدية مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر. فمن أجل محلول ببتيدي ذي نسبة ٥ ٪ وزن، فقد تراوح عرض الألياف التي تم إنتاجها من ٢٠٠ إلى ٣٠٠ نانومتر مع ارتفاع من حوالي ٥٥.١ نانومتراً، في حين أن محلولاً ذا نسبة ١ ٪ وزناً قد أنتج عرضاً بقيمة ١٥٠ نانومتر، وارتفاعاً بقيمة ٢٣.١ نانومتراً [19]. وعلى أي حال، فقد ظهر بأن هذه الألياف الببتيدية النانوية متوافقة فقط مع أوساط الزراعة (media) وإنه من الضروري إجراء المزيد من الدراسات باستخدام مزارع الخلايا (cell cultures) وذلك لتحديد تأثيراتها بصورة أفضل.

(١٢,٣,١,٢) ألياف الحرير لتعزيز تجديد الأعصاب Silk Fibers to Enhance Nerve Regeneration

تمثل ألياف فيبروين الحرير (silk fibroin fibers) فئة أخرى من الألياف الطبيعية التي تم استخدامها لتعزيز عملية تجديد الأعصاب (nerve regeneration). فبعد إزالة السيريسين (sericin) (بروتين في الحرير)، والذي يحدث استجابات أو ردود فعل مناعية عكسية (adverse immunological responses)، تم استخلاص فيبروين الحرير لإنتاج ألياف بلغ قطرها ١٥ مايكرومتراً. إن تأثيراتها على عقد الجذور الظهرانية (DRGs) وخلايا شوان (Schwann cells) (الخلايا المغلفة للألياف العصبية) قد أظهرت توافقيتها الحيوية وقدرتها على تعزيز نمو الخلايا [20,21]. وقد تم أيضاً استخدام ألياف الحرير من العناكب وذلك لإنتاج قنوات (conduits). إن هذه الألياف المستخرجة من غدد العناكب يبلغ قطرها ١٠ مايكرومترات، وتسمح بالتصاق أفضل من خيوط البولي ديوكسانون الأحادية (polydioxanone monofilaments). بالإضافة إلى الالتصاق، فهي قادرة على دعم انتقال أو هجرة الخلايا وهي متوافقة حيوياً وقابلة للتحلل الحيوي؛ وعلى أي حال، فإن طريقة استخراجها (extraction method) الشاقة هي القيد الرئيسي [22].

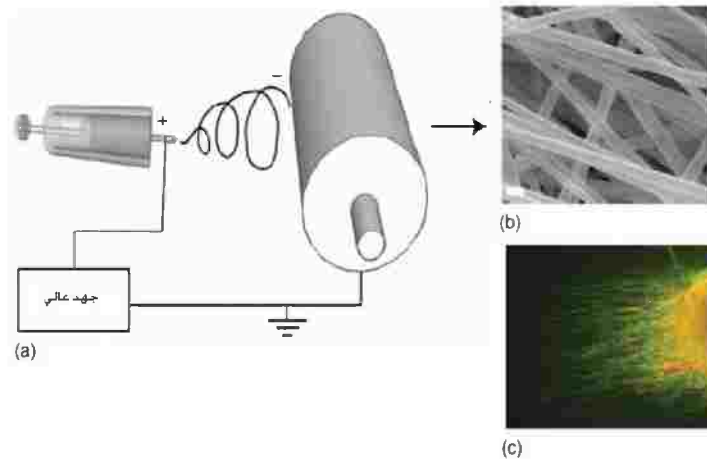
(١٢,٣,١,٣) ألياف النانو المترافعة مغناطيسياً لتراصف الخلايا Magnetically Aligned Nanofibers for Cell Alignment

عادةً ما يُستخدم الكولاجين على اعتبار أنه عنصر طبيعي من المصفوفة خارج الخلية (ECM)، وهو يوفر متانة بنيوية (structural strength) من خلال الشبكات الليفية (fibrous networks). يمكن معالجة الكولاجين مغناطيسياً لإنتاج قضيب هلامي (gel rod) من ليفات الكولاجين المترافعة (aligned collagen fibrils). وفي الحقول المغناطيسية القوية (strong magnetic fields) يتم إنتاج درجة كبيرة من ترافص الكولاجين. وقد تم توضيح ذلك من خلال مقارنة مادة الكولاجين الهلامية المنتجة في حقل مغناطيسي قدره ٤.٧ تسلا (4.7 T) و ٩.٤ تسلا (9.4 T) [23]. وكنتيجه لذلك عندما تم بذرها مع عقد الجذور الظهرانية (DRGs)؛ سهّل هذا الترافص الامتداد الموجه للمحور العصبي (oriented neurite extension). وعندما تم دمجها مع خلايا شوان (Schwann) المغلفة للألياف العصبية، حدثت هجرة مُوجّهة (directed migration)، وتم تعزيزها أيضاً في وجود المصل البقري الجنيني (fetal bovine serum) بنسبة ١٠ ٪ [23]. تشير هذه البيانات إلى أن ألياف الكولاجين المترافعة هي من المواد الواعدة كركائز تُستخدم من أجل التجديد الموجه للأعصاب (guided nerve regeneration).

(١٢,٣,٢) الألياف التركيبية الحيوية والألياف التركيبية Biosynthetic and Synthetic Fibers

يمكن إنشاء الألياف التركيبية الحيوية (biosynthetic fibers) والألياف التركيبية (synthetic fibers) من خلال مجموعة واسعة من العمليات التي تشمل الانبثاق أو القذف (extrusion) والغزل الكهربائي (electrospinning). ففي حين أن البوليمرات المستمدة طبيعياً (naturally derived polymers) بما في ذلك الكولاجين والإيلاستين والجيلاتين ستكون مواد بدائي مفيدة لتصنيع ركائز موجهة (oriented substrates) من أجل تجديد الأعصاب، إلا أنها تمثل تحديات تقنية من وجهة نظر التصنيع. ويتمثل أحد الحلول في إمكانية مزج المواد الطبيعية مع محاليل البوليمرات الاصطناعية أو التركيبية.

فمن أجل إنجاز "الغزل الكهربائي" ("electrospinning") للليف يتم استخدام فرق في الجهد الكهربائي (voltage) لدفع الألياف البوليمرية (polymer fibers) إلى هدف (الشكل رقم ١٢,٢). ويمكن تصنيع الألياف الموجهة (oriented fibers) عن طريق الحصول على غزل الهدف عند سرعات عالية. ويمكن أن يكون للألياف المغزولة كهربائياً (electrospun fibers) مجموعات وظيفية (functional groups) يمكن استغلالها للمساعدة في التصاق الخلايا [16]. علاوة على ذلك، تقوم هذه الألياف المتراصة أو المتحاذية بتوجيه عملية التراصف الدبق (glial alignment) وتعزيز النمو الموجه (directed growth) (الشكل رقم ١٢,٢ c). ومثل الألياف الطبيعية، فإن معظم المواد التركيبية الحيوية يصعب تصنيعها نظراً لخصائصها الطبيعية الكامنة، في حين أن الألياف التركيبية هي الأقل إشكالية في إنتاجها.



الشكل رقم (١٢,٢). (a) رسم تخطيطي لجهاز الغزل الكهربائي (electrospinning apparatus) مع تشكيلة الأسطوانة الدوارة (rotating drum configuration) لإنتاج ألياف تركيبية حيوية متراصة وألياف تركيبية متراصة. (b) صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لألياف الـ (PAN-MA) المغزولة كهربائياً. شريط المقياس = ٥٠٠ نانومتر. (c) عقد الجذور الظهرية (dorsal root ganglia) من الجراء (P3 pups) والمزروعة على الألياف المتراصة المغزولة كهربائياً.

(١٢,٣,٢,١) التصنيع من خلال الغزل الكهربائي Fabrication through Electrospinning

بالنسبة لتقنية القذف وغيرها من التقنيات، تعتبر تقنية الغزل الكهربائي طريقة سهلة لإنتاج ألياف النانو. تبدأ عملية التصنيع باستخدام محلول البوليمر (polymer solution) أو مصهور البوليمر (polymer melt) الذي يتم ضخه من مِحقنة (syringe). ينتقل جريان أو دفق البوليمر (polymer stream) من مِحقنة مشحونة إلى مُجمّع مشحون (charged collector) بشكلٍ معاكس. وقبل الرسو على المِجمّع، يؤدي التنافر أو التدافع الكهرستاتيكي (الكهربائي الساكن) (electrostatic repulsion) بين الخيوط إلى "التفطّح أو التوسع" ("splaying") الأمر الذي يؤدي إلى إنتاج ألياف بالغة النعومة [16]. ولتعزيز تراصف أو محاذاة الألياف، يمكن استخدام مُجمّعات مثل الأسطوانات الدوارة (rotating drums) أو الأقراص الدوارة (rotating disks). ويمكن

تكييف عملية الغزل الكهربائي لتناسب مع حجم الألياف العصبية في الجسم الحي أو لتطابق الخواص الميكانيكية للأعصاب. ويمكن تعديل هذه الخصائص من خلال التلاعب (manipulation) بالعديد من العوامل، بما في ذلك معدل التدفق (flow rate) والجهد الكهربائي وبعد المسافة بين المحقنة والمجمع وتصميم المجمع ولزوجة (viscosity) محلول أو مصهور البوليمر. كما يمكن أيضاً تعديل السرعة الدورانية (rotational speed) للمجمع وذلك لتغيير توجيه الألياف. ومع ذلك، فإن زيادة سرعة الدوران تكون ممكنة فقط طالما أن نفث أو دفع البوليمر الذي يتم جمعه (collected polymer jet) لا يزال مستمراً. وسترد فيما يلي أدناه أمثلة عن الألياف المغزولة كهربائياً من أجل الاستخدام في هندسة الأنسجة العصبية.

(١٢،٣،٢،٢) الألياف التركيبية المغزولة كهربائياً من أجل هندسة الأنسجة العصبية Synthetic Electrospun Fibers for Neural Tissue Engineering

إن أكثر البوليمرات التركيبية انتشاراً في هندسة الأنسجة العصبية هي البولي (ألفا - هيدروكسي إسترات) (poly(α -hydroxy esters)) والتي تشمل بولي (حمض الغليكوليك) (poly(glycolic acid) - PGA) وبولي (حمض اللاكتيك) (poly(lactic acid) - PLA) والبوليمر المشترك من الاثنين وهو بولي (حمض اللاكتيك - كو - غليكوليك) (poly(lactic-co-glycolic acid) - PLGA). ويتم استخدام هذه البوليمرات التركيبية بشكل مستمر نظراً لخصائصها الملائمة القابلة للتحلل الحيوي ولسهولة غزلها كهربائياً [24,25]. ويتم أيضاً استخدام بوليمر آخر وهو البولي كابريولاكتون (polycaprolactone - PCL) وذلك عندما يتطلب الأمر معدلاً أبطأ للتحلل في بعض تطبيقات توصيل الدواء (drug delivery applications).

(١٢،٣،٢،٣) الألياف التركيبية الحيوية ذات الخصائص الموصلّة Biosynthetic Fibers with Conductive Properties

بما أنه من الصعب غزل المواد الطبيعية، فإنه من الممكن غزلها بشكل مشترك مع البوليمرات التركيبية. فعلى سبيل المثال، يمكن دمج البوليمر الموصل (conductive polymer) بولي أنيلين (polyaniline - PANi) مع الجيلاتين؛ ومن ثم تُغزل كهربائياً [26]. وقد تم إنتاج العديد من المحاليل البوليمرية مع كميات متفاوتة من البولي أنيلين (PANi) وقد تراوح حجم أليافها من ٩٢٤ إلى ٤٨ نانومتراً [26]. وقد أنتجت المحاليل ذات التراكيز الأعلى للبولي أنيلين (PANi) أليافاً أرقاً. بالإضافة إلى ذلك، يجب ألا تقل نسبة الجيلاتين في المحلول عن ٥ ٪ نظراً لإمكانية تشكّل الحُرَزَات أو الحبيبات (beads) على الألياف. ومن ثم تم بذر هذه الألياف بخلايا الأرومة العضلية القلبية لجُرَد (H9c2 rat cardiac myoblasts)، وقد تم إظهار تكاثر هذه الخلايا على تلك الألياف [26]. ومن المثير للاهتمام، أنه عندما كان عرض الليف أكبر من ٥٠٠ نانومتر، تم تحفيز تراصف الخلايا (cell alignment). إن خصائص التوافقية الحيوية والموصلية هذه تُظهر بشير نجاح واعد من أجل التطبيق المستقبلي في حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو (nanofiber scaffolds).

(١٢،٣،٢،٤) الألياف التركيبية الحيوية للمساعدة في هجرة خلايا شوان Migration Biosynthetic Fibers to Aid in Schwann Cell

لتحسين عملية التجديد المحواري (axonal regeneration) (تجديد المحاور العصبية)، قارنت إحدى الدراسات البولي كابريولاكتون (PCL) المتراصف ومزيج مركب من البولي كابريولاكتون (PCL) وألياف الكولاجين. وقد كان القيد المفروض على هذا المحلول الممزوج المؤلف من ٢٥ ٪ كولاجين و ٧٥ ٪ بولي كابريولاكتون (PCL) هو حقيقة أن الزيادة في نسبة

الكولاجين تزيد أيضاً من صعوبة غزل الألياف المتراففة [27]. في هذه الدراسة، تراوح قطر ألياف البولي كابريولاكتون (PCL) من ٨٨٩ إلى ٢٥٩ نانومتر بينما تراوح قطر ألياف الكولاجين والبولي كابريولاكتون (PCL) من ٧٠٥ إلى ٣٧٧ نانومتر [27]. وبعد أن تم بذر عقد الجذور الظهرانية (DRGs) على هذه الألياف، لوحظ بأن ألياف الكولاجين والبولي كابريولاكتون (PCL) قد حققت نمواً موجهاً أكثر للمحاور (للمحور العصبي). ومع بذر خلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية تبين أن الألياف المزوجة تمتاز بالتصاق أفضل وهجرة أو انتقال أسرع [27]. ومن المحتمل أن تكون هذه التأثيرات ناجمة عن وجود الكولاجين الذي يتواجد بشكل طبيعي في المصفوفة خارج الخلية (ECM). لذا؛ فإن دمج الكولاجين في ألياف النانو يمكن أن يساعد في انتقال أو هجرة خلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية وفي تجديد المحاور العصبية.

(١٢,٣,٢,٥) الطبوغرافية من أجل هجرة مُتحكم بها لخلايا شفان Schwann Cells

يتم توليد الطبوغرافيات (topographies) لمحاكاة البنى الفيزيولوجية (physiological structures) الموجودة في المصفوفة خارج الخلية (ECM) على أمل أن الإشارات أو المنبهات المماثلة ستعزز النمو والالتصاق والتميز الخلوي. تلعب خلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية دوراً كبيراً في امتداد وهجرة المحور العصبي (المحاور) لأنها تزود المحاور العصبية بغلاف الميالين (myelinate axons). وهي تفرز أيضاً جزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM molecules) مثل اللامينين وتنتج العديد من العوامل التغذوية العصبية (neurotrophic factors) مثل عامل نمو العصب (NGF) وعامل التغذية العصبية المستمد من الدماغ (BDNF) وبروتين التغذية العصبية (NT-3)، والتي تساعد في عملية تجديد الأعصاب. إن استخدام الخيوط المشكّلة أو المزخرفة مايكروياً (micropatterned filaments) يسمح لخلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية بأن تتراصف بصورة صحيحة لتُكوّن أشرطة بونغنر (bands of Bungner)، وهي مرحلة حاسمة في عملية تجديد المحاور العصبية. إن هذا الترافف هو الذي يُوجّه النمو الخارجي للمحور العصبي (neurite outgrowth). ومن ثم يمكن إدخال هذه الخيوط ذات البنية المايكروية في قناة لتعزز عملية التجديد في الفجوات الموجودة في عصب جرد (rat nerve gaps). وقد كانت القنوات المدججة مع حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة (oriented nanofiber scaffolds) قادرة أيضاً على إعادة إنشاء أشرطة بونغنر. تعزز حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو تلك هجرة خلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية بعد إصابات الأعصاب المحيطية (peripheral nerve injuries) وقد أظهرت نتائج وظيفية يمكن مقارنتها مع الطعوم الذاتية (autografts).

وبشكل عام، فإنه توجد خيارات متعددة للألياف. ومع ذلك، فإن السمة أو الميزة الأكثر أهمية في إنتاج هذه الألياف هي القدرة على التحكم في طبوغرافيتها السطحية. وبناءً على ذلك، فإن هذا هو الجانب الأكثر تحدياً، حيث كان لتقنية النانو تأثير فيه. وما إن يتم تحقيق تحكم دقيق (precise control) بالبنية الفيزيائية، حتى يمكن لهذه المواد أن توفر الإشارات أو المنبهات الفيزيائية التي يمكنها أن تقترن مع الإشارات أو المنبهات الكيميائية الحيوية لتعزيز عملية التجديد.

(١٢،٤) مصفوفات الإلكتروودات النانوية وطلاؤها لفهم الوظيفة الكهربائية والكيميائية الحيوية وتحسين دمج الأنسجة NANO-ELECTRODE ARRAYS AND THEIR COATINGS TO UNDERSTAND ELECTRICAL AND BIOCHEMICAL FUNCTION AND IMPROVE TISSUE INTEGRATION

لقد أظهرت تقنية النانو وجودها من أجل الدراسات الأساسية في علم الأعصاب بما في ذلك اللبونة أو اللدونة (plasticity) ومن أجل علاج الصدمات (trauma) والأمراض والانحلال المرتبط بالعمر (age - related degeneration) للجهاز العصبي المركزي (CNS). إن للإلكتروودات متعددة القنوات (multichannel electrodes) آثاراً مهمة على فهمنا للفيزيولوجيا الطبيعية (normal physiology) أو للباثولوجي (علم الأمراض) (pathology) أو علاج العديد من اضطرابات الجهاز العصبي المركزي (CNS). ويمكن لمجال هندسة الأنسجة العصبية أن يستفيد كثيراً من مصفوفات الإلكتروودات في المستوى النانوي (nanoscale electrode arrays - NEAs) لأنها تقدم أداة تحليل ممتازة لتقييم الشبكات العصبية الوظيفية (functional neural networks)؛ لذا يمكننا تصميم ربط بيني (interfacing) أفضل بين الأنظمة البيولوجية والأنظمة الكهربائية. وعلى أي حال، فإنه عندما يتم زراعة الإلكتروودات في الأنسجة الدماغية من أجل التسجيل طويل الأمد (long - term recording)، فإن قدرتها على التسجيل تكون غير موثوق بها إلى حد ما [28].

على سبيل المثال، فإن تشكّل الندبة الدبقية (glial scar) حول مصفوفات الإلكتروودات يُخفّض من عملية الدمج بين الإلكتروود والجهاز العصبي [28,30]. إن الاستجابة التفاعلية (reactive response) للنظام المضيف للإلكتروود (host system to the electrode) تنجم من خلال العديد من العوامل. وتحدث المواد شبه الموصلة (semiconductor materials) التي يتم عادةً استخدامها من أجل تصنيع الإلكتروود بالاشتراك مع إصابة الزراعة (implantation injury) استجابة مناعية، وهي ما تؤدي إلى تكوين كبسولة أو غشاء ليفي (fibrous capsule) وتسبب زيادة في الممانعة (impedance). ويساهم الضرر في الجملة الوعائية الدموية المايكروية (المجهريّة الدقيقة) (microvasculature) الذي يحدث أثناء عمليات الزراعة أيضاً في إحداث استجابة التهابية (inflammatory response). إن هذه المشاكل تمنع من أداء وظيفة مصفوفات الإلكتروودات وتمثل التحدي الرئيسي في مجال الربط بيني للأنسجة العصبية (neural tissue interfacing).

(١٢،٤،١) مصفوفات الإلكتروودات في المستوى النانوي لتقييم الشبكات العصبية NEAs TO EVALUATE NEURAL NETWORKS

سوف تكون للقدرة على الربط بيني للدماغ (interface the brain) بالإلكترونيات الخارجية (external electronics) بشكل ناجح آثاراً هائلة على مجتمعنا وسوف تيسر التغيير الثوري في نوعية حياة الأشخاص الذين يعانون من العيوب الحسية والحركية (sensory and motor defects). وقد سمحت التطورات التي حدثت في نصف القرن الماضي في مجال الإلكترونيات المايكروية الدقيقة (microelectronics) وفي تقنية الأنظمة الإلكترونية الميكانيكية المايكروية الحيوية / الأنظمة الإلكترونية الميكانيكية النانوية الحيوية (bio - MEMS / NEMS technology) بدراسة الجهاز العصبي في المستوى الخلوي (cellular level) [31]. إن واحدة من نتائج هذه التقنيات هي تطوير مصفوفات الإلكتروودات في المستوى النانوي (NEAs) والمصممة لفهم الوظيفة الكهربائية والكيميائية الحيوية بشكل أفضل. وقد كانت مصفوفات الإلكتروودات النانوية (nanoelectrode arrays) مفيدة جداً لفحص الجهاز العصبي، وبصورة خاصة لفهم تأثيرات المحفزات (stimuli) المختلفة على السلوك المورفولوجي (morphological behavior) والسلوك الوظيفي (functional behavior) للخلايا الفردية [32,33].

(١٢,٤,١,١) مصفوفات الإلكتروودات في المستوى النانوي تقدم معلومات عن تنظيم الجهاز العصبي NEAs Provide Information on the Organization of the Nervous System

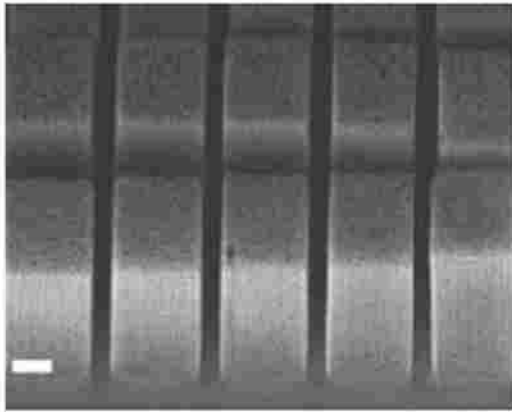
إن للإلكتروودات العصبية المقدرة على تعويض فقدان الوظيفة وذلك عن طريق تحفيز المسارات العصبية (stimulating neural pathways)، وكذلك لها المقدرة على تحسين فهمنا للجهاز العصبي. وقد تم استخدام مصفوفات الإلكتروودات المايكروية / النانوية على نحو واسع للتسجيل من الجهاز العصبي المركزي (CNS) والجهاز العصبي المحيطي (PNS) [28,34]. حيث يتم إدخال مصفوفات من إبر مايكروية / نانوية (arrays of nano / microneedles) في الأنسجة العصبية من أجل تسجيل الإشارات الكهربائية من الخلايا العصبية أو العصبونات (neurons) المحيطة بها. فمن خلال تصميم هذه المصفوفات من أجل التسجيل من الخلايا العصبية أو العصبونات المختلفة، وفي مواقع معينة من الجهاز العصبي المركزي (CNS) والجهاز العصبي المحيطي (PNS)، فإنه من الممكن استخلاص الإشارات ومعلومات التحكم المحفوظة مكانياً وزمانياً (spatiotemporally preserved signal and control information) من الجهاز العصبي [35]. تُوفر الإلكتروودات النانوية نقلاً كيميائياً (mass transport) أسرع والذي يؤدي إلى ردود فعل أو استجابات كهروكيميائية (electrochemical reactions) وردود فعل كيميائية (chemical reactions) أسرع وتُحسن في معدل الإشارة إلى الضجيج أثناء التسجيل من مزارع الخلايا البيولوجية (biological cultures) [36]. وحيث إن المواد التي يتم استخدامها عادةً من أجل تصنيع هذه الإلكتروودات غير مُفضلة من الناحية البيولوجية، إلا أنه قد كان هناك العديد من التقنيات التي تم تطويرها لتعزيز ربطها البيئي. بعض من هذه التقنيات موضحة أدناه، وقد تم استخدامها بصورة ناجحة لتعزيز الربط البيئي العصبي (neural interfacing) مع الإلكتروودات المختلفة.

(١٢,٤,١,٢) المصفوفات المبنية على أساس أنابيب الكربون النانوية Carbon Nanotube-Based Arrays

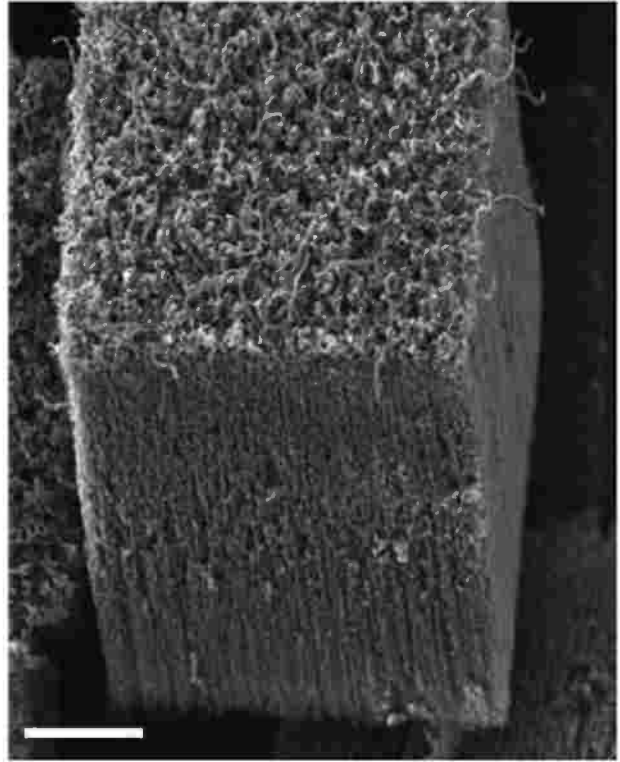
يمكن لتقنيات النانو المستخدمة في تصنيع المواد الجديدة والطلاءات (coatings) (طبقات التغليف الخارجي) أن تتغلب على التحديات الموضحة أعلاه. ويمكن لمصفوفات الإلكتروودات ذات المستوى النانوي (NEAs) وبحكم صغر حجمها أن تقلل من تكون التندب (scarring) إلى الحد الأدنى وذلك عن طريق تقليل مدى أضرار الأوعية الدموية المايكروية الدقيقة (microvascular damage) إلى أقل حد ممكن. ويتم استخدام أنابيب الكربون النانوية (carbon nanotubes - CNTs) نظراً لميزاتها الفريدة من نوعها، والتي يمكن أن تساعد في تعزيز دمج الإلكتروود (electrode integration) بصورة أفضل [36-38]. إن خصائص مثل المتانة الميكانيكية (mechanical strength) الكبيرة والموصليّة الكهربائية (electrical conductivity) وإمكانية التحديد أو التخصيص الوظيفي بشكل كيميائي تجعلها اختياراً جذاباً جداً كمادة من أجل تصنيع الإلكتروودات النانوية (nanoelectrode fabrication). وتوفر أنابيب الكربون النانوية (CNTs) نسبةً عالية للسطح إلى الحجم (surface - to - volume ratio)، الأمر الذي يؤدي إلى ممانعة أقل؛ وبالتالي تؤدي إلى تحسّن في نسبة الإشارة إلى الضجيج.

ويتم استخدام عملية ترسيب الأبخرة الكيميائية المعززة بالبلازما (plasma enhanced chemical vapor deposition) على رقاقة أو شريحة من السيليكون (silicon wafer) في وجود المحفزات (catalysts) وذلك من أجل تصنيع بُنى الجرافين متعددة الجدران (multiwalled graphene structures). تنمو هذه البُنى على رقائق السيليكون مع مورفولوجيا أو شكل مشابه

للخيزران (bamboo - like morphology) [37] ويمكن تشكيلها أو زخرفتها لتكوين الأشكال المطلوبة (الشكل رقم ١٢,٣). ويبلغ متوسط قطر أنابيب الكربون النانوية متعددة الجدران (multiwalled CNTs) حوالي ١٠٠ نانومتر، الأمر الذي يؤدي إلى أضرار وعائية أقل حول موقع زراعة الإلكتروودات. فبالإضافة إلى خصائصها الميكانيكية والكيميائية المفضلة، فإنه من الممكن أيضاً تخصيص أو تحديد أنابيب الكربون النانوية وظيفياً باستخدام البروتينات والحمض النووي (DNA) وذلك لجعلها متوافقة حيوياً بشكل أكبر. وتبحث واحدة من هذه الدراسات في استخدام تفاعل الستربتافيدين / البيوتين (streptavidin / biotin interaction) من أجل امتزاز أو امتصاص البروتينات على أنابيب الكربون النانوية (CNTs) [39]. وفي دراسة أخرى، تم تخفيض مجموعات النيتروجين (nitro groups) المضافة بطريقة كهركيميائية إلى مجموعات أمينية (amino groups) وذلك لربط الحمض النووي (DNA) بشكلٍ تساهمي مع أنابيب الكربون النانوية (CNTs) [40].



(a)



(b)

الشكل رقم (١٢,٣). (a) مصفوفات أنابيب الكربون النانوية (CNT arrays) نامية على ركيزة من السيليكون لاستخدامها المحتمل كإلكتروودات (أقطاب كهربائية) عصبية في المستوى النانوي (nanoscale neural electrodes). شريط المقياس = ١٠ ميكرومترات. (b) الطوبوغرافية السطحية (surface topography) لأنابيب الكربون النانوية (CNTs). شريط مقياس = ١٠ ميكرومترات. (تم نشر الصورة بإذن من (Dr. Jud Ready, Georgia Institute of Technology).

وقد تم أيضاً استكشاف تطبيقات محددة للربط البيني للشبكات العصبية بأنابيب الكربون النانوية (CNTs). إن خلايا الـ (PC12) النامية على أنابيب الكربون النانوية (CNTs) قد نمت في طبقة أحادية (monolayer) وذلك بالمقارنة مع التعتُّد (clustering) الذي تم ملاحظته على مزارع الأنسجة البلاستيكية (tissue culture plastic). كذلك وبالمقارنة مع الإلكترودات المعدنية (metal electrodes)، فقد لوحظ أن الممانعة تكون أقل على مصفوفات أنابيب الكربون النانوية (CNTs) [37]. لقد لاحظ الآخرون بأن أنابيب الكربون النانوية (CNTs) ذات الأقطار التي تقل عن ١٠٠ نانومتر يمكن أن تقلل من تكوُّن أنسجة الندب العصبية (neural scar tissue) لأن حالة الطاقة المنخفضة للقطر الصغير لأنابيب الكربون النانوية (CNTs) لم تدعم تكاثر الخلايا النجمية (astrocyte)، وهي اللاعب الرئيسي في عملية الالتهاب (inflammation process) [41]. وتوفر عملية التحديد أو التخصيص الوظيفي الكيميائي (chemical functionalization) لتأمين شحنة أيونية (ionic charge) على سطح أنابيب الكربون النانوية (CNTs) ركيزة ملائمة لامتداد المحور العصبي [42]. حتى لو لم يتم إدراك السُمِّية الخلوية (cytotoxicity) بشكل كامل، فإن الخصائص الفيزيائية والكهربائية والكيميائية العديدة لأنابيب الكربون النانوية (CNTs) قد جعلتها تقنية مغرية جداً للاستخدام في مجال الربط البيني العصبي.

(١٢،٤،٢) طبقات طلاء الإلكترودات ذات المستوى النانوي Nanoscale Electrode Coatings

لقد كان طلاء أو تغليف الإلكترودات بطبقات ذات سماكة في المستوى النانوي من أجل تحسين رد الفعل الموضعي (local reaction) للبدائل الاصطناعية العصبية (neural prosthetics) مجالاً واسعاً للبحث في مجال تقنية النانو وفي مجال هندسة الأنسجة العصبية. وقد تم تطوير طبقات الطلاء أو التغليف من أجل الكساء (passivation) والإطلاق أو التحرير المتواصل (sustained release) للعوامل التي تُعزز نمو المحور العصبي ومن أجل تقليل الاستجابة المناعية حول الإلكترود إلى الحد الأدنى وذلك لتحسين التصاق الخلايا والوظيفة الكهربائية وتعزيز عملية التجديد. ويسمح العديد من الأساليب في تقنية النانو بتعديل دقيق للسماكة ولإطلاق أو تحرير الأدوية وذلك لتقليل الاستجابة الالتهابية إلى الحد الأدنى.

(١٢،٤،٢،١) طبقات الطلاء الكهرستاتيكية المبنية على أساس طبقة تلو الطبقة Electrostatic Layer-by-Layer-Based Coatings

إن التجميع الكهرستاتيكي لطبقة تلو الطبقة (electrostatic layer - by - layer (LbL) assembly) هو تقنية يتم استخدامها على نطاق واسع لترسيب أفلام (طبقات رقيقة) ذات سماكة في المستوى النانوي (nanoscale thickness films) والتي يمكن تعديلها لإطلاق أدوية محددة أو لتعمل كطبقات طلاء خاملة (inert coatings) لتفادي النظام المناعي. تستخدم عملية التجميع طبقة تلو الطبقة (LbL) تفاعلات كهرستاتيكية (electrostatic interactions) بين الركائز المشحونة وبولي إلكتروليت أو متعدد الكهارل (polyelectrolyte) مشحون بصورة عكسية وذلك لتصنيع أفلام ذات سماكة تتراوح من انغسترومات (angstroms) إلى بضعة نانومترات (nanometers). ويمكن تكرار هذه العملية عدة مرات لوضع أفلام متعددة الطبقات بالسماكة المطلوبة. وقد تم استخدام تقنية التجميع الكهرستاتيكي لطبقة تلو الطبقة (LbL) لتوصيل الجزيئات الحيوية مع غرض محدد وهو تحسين التصاق وتمايز الخلايا. وقد أظهرت الدراسات في الجسم الحي أن استخدام طبقات طلاء من

اللامينين-١ (laminin-1 coatings) على إلكترود مايكروني من السيليكون (silicon microelectrode) وباستخدام تقنية التجميع الكهرستاتيكي لطبقة تلو الطبقة (LbL) يُعدّل عملية تكوين الندبة الدبقية (glial scar formation) حول الإلكترودات المزروعة في الجهاز العصبي المركزي (CNS) [43].

(١٢,٤,٢,٢) طبقات الطلاء بواسطة الترسيب المبدوء للأبخرة الكيميائية iCVD Coatings

إن الترسيب المبدوء للأبخرة الكيميائية (iCVD: initiated chemical vapor deposition) هو تقنية أخرى يتم استخدامها لترسيب طبقات طلاء ذات سماكة نانوية على أجهزة البدائل الاصطناعية العصبية (neural prosthetic devices). تستلزم هذه المعالجة تقديم بخار مونومر (مَوْحُوْد) (monomer vapor) على الركيزة المطلوبة ودفع أنواع بادئات أو مُحفِزات الجذور الحرة (free radical initiator species) لإحداث ترسيب طوري لبخار المونومرات أو المواحيد (vapor phase deposition of monomers). وحيث أن هذه التقنية تستخدم عملية ترسيب البخار؛ فإن طبقات الطلاء الناتجة تكون مطابقة لشكل الركيزة. وهذا مفيد جداً في الحالات التي تكون فيها خصائص المادة مثل المسامية مهمة في وظيفة الجهاز الاصطناعي العصبي البديل. ونظراً إلى أن العملية تتم في بيئة خالية من المذيبات (solvent - free environment)، فيمكن لهذه التقنية أن تكون مفيدة أيضاً في طلاء حاملات الخلايا والأنسجة البوليمرية التي تكون عرضة لأضرار المذيبات.

(١٢,٤,٢,٣) استخدام النيتروسلولوز ذي المستوى النانوي لدمج الأدوية المضادة للالتهاب Using Nanoscale Nitrocellulose to Incorporate Anti-Inflammatory Drugs

يُحدث رد الفعل أو الاستجابة الالتهابية (inflammatory reaction) حاجزاً (barrier) بين الإلكترود والخلايا العصبية (العَصَبُونات) المحيطة به. إن الطرق المذكورة أعلاه تعتبر مفيدة لإنتاج طبقات طلاء ثابتة، والتي تجعل الإلكترود خاملاً (passivate) ولكنها تفشل في التقليل من ردود الفعل أو الاستجابات الالتهابية. ولتحسين عملية التسجيل طويل الأمد في الجسم الحي، فقد تم استخدام طبقات الطلاء المبنية على أساس النيتروسلولوز (nitrocellulose - based coatings) وذلك للقيام بدمج الأدوية المضادة للالتهاب (anti - inflammatory drugs) مثل الهرمون ألفا المنبه للخلايا الميلانية (α-melanocyte stimulating hormone - α-MSH) من أجل الإطلاق المتواصل على مدى يمتد لأسابيع. وباستخدام تقنيات الطلاء بالغزل (spin coating techniques)، تم تصنيع طبقات طلاء ذات سماكة مايكروية من أجل دمج الهرمون ألفا المنبه للخلايا الميلانية (α-MSH) النشطة حيويًا على الركائز المصنوعة من السيليكون. وقد كانت طبقات الطلاء تلك قادرة وبشكلٍ ناجح على التقليل من تكوين أكسيد النيتريك (nitric oxide)؛ وذلك نظراً إلى وجود الدِّيَقِيَّات أو الخلايا الدبقية المنشَّطة (activated microglia).

الطريقة الأخرى، هي طلاء الإلكترودات بدواء ديكساميثازون (dexamethasone) المحتبس في أفلام من النيتروسلولوز (nitrocellulose films)، والتي تُمكن من إطلاق الأدوية بطريقة موضعية ومتواصلة [44]. وقد تم استخدام طبقات الطلاء المبنية على الأساس النيتروسلولوزي لدواء الديكساميثازون وذلك لتغطية المحسّات (probes)، وقد أظهرت اختبارات التصاق طبقة الطلاء بأن طبقة الطلاء بقيت (نجت) بعد انتهاء إجراءات الزراعة. لقد قلل الديكساميثازون المحرّر من الإلكترودات المزروعة من ممانعة الإلكترود (electrode impedance) وبالتالي فقد حسن من نقل الإشارات العصبية (neural

(signaling). كما قلل أيضاً من تعبير بروتيوغليكانات سلفات الكوندرويتين (chondroitin sulfate proteoglycans - CSPGs) (الكوندرويتين هي مادة من مكونات الغضروف) ومنع الفقد العصبي (neuronal loss) عند كل من الأسبوعين الأول والرابع بعد الزراعة. وعلى الرغم من أن الجرعات اللازمة من الديكساميثازون على المدى الطويل هي غير معروفة، إلا أن الإطلاق الأولي للدواء قد يكون قادراً على درء تأثيرات الالتهاب الحاد (acute inflammation) ويمكن أن يؤدي إلى ارتباطات بينية أفضل بين الإلكتروود والجهاز العصبي المركزي (CNS).

وبالتالي؛ يمكن لطبقات الطلاء في المستوى النانوي (nanoscale coatings) أن تغير وبشكل كبير من مصير الإلكتروودات أو الأقطاب الكهربائية المزروعة ويمكن أن تحسن من استقرار تسجيل الإلكتروودات المزروعة. إن لاستقرار التسجيلات من الجهاز العصبي في الجسم الحي آثاراً مهمة ليس فقط من أجل أجهزة البدائل الاصطناعية العصبية (neuroprosthetic devices) ولكن أيضاً من أجل تعزيز المزيد من الفهم الأساسي لعمل الجهاز العصبي.

(١٢,٥) الجسيمات النانوية من أجل الإطلاق المتحكم به للعوامل الغذائية في الجهاز العصبي NANOPARTICLES FOR THE CONTROLLED RELEASE OF TROPHIC FACTORS IN THE NERVOUS SYSTEM

إن الجسيمات النانوية هي وسيلة للتوصيل المستهدف والمتواصل للدواء في الجهاز العصبي. وتسمح لها قدرتها على توفير تحكم دقيق بأن تُستخدم للتوسط (mediate) في الاستجابات الالتهابية أو لتوصيل عوامل مفيدة لنمو المحور العصبي. ويمكن تصنيعها من مواد مختلفة بما في ذلك السيليكا (silica) والبوليمرات والدهون (lipids) والمواد المعدنية والمواد المغناطيسية. لإنتاج هذه الجسيمات النانوية، يُذاب المحلول البوليمري في مذيب يكون غير قابل للمزج في الماء (immiscible in water). ومن ثم يتم استحلاب (emulsifying) هذا المزيج ويُسمح للمذيب بأن يتبخر، تاركاً وراءه الجسيمات النانوية. وهناك طريقة أخرى تنطوي على إذابة أو حل (dissolving) البوليمر في مذيب قابل للمزج (miscible solvent) والسماح للمحلول بالانتشار (diffuse) من خلال الطور المائي (aqueous phase) الذي يتسبب في ترسيب الجسيمات النانوية.

(١٢,٥,١) الجسيمات النانوية من أجل إطلاق الأدوية المضادة للالتهاب Nanoparticles for the Release of Anti-Inflammatory Drugs

بحسب ما تمت مناقشته في وقت سابق، فإن التندّب الدبقي نجمي الخلايا (astroglial scarring) حول الإلكتروودات المزروعة يمكن أن يتداخل مع قدرتها على توفير تسجيلات مستقرة طويلة الأمد. وقد كان البديل لإستراتيجية الطلاء في المستوى النانوي (nanoscale coating strategy) المذكورة أعلاه هو الزراعة المشتركة (co-implant) للجسيمات النانوية التي تطلق العامل المضاد للالتهاب (anti-inflammatory agent) في المنطقة المجاورة مباشرة للإلكتروودات المزروعة. يمكن غمر الجسيمات النانوية للديكساميثازون - بولي (حمض إل - لاكتيك - كو - غليكوليك) (dexamethasone - PGLA nanoparticles)، ذات حجم حوالي ٤٠٠ إلى ٦٠٠ نانومتر، في هلامات الألبينات المائية (alginate hydrogel) ومن ثم زراعتها بشكل مشترك مع الإلكتروودات وذلك للتقليل وبصورة فعالة من التندّب الدبقي نجمي الخلايا. وقد كانت هذه الجسيمات قادرة على الحفاظ على الإطلاق المستمر للدواء لمدة تصل إلى ثلاثة أسابيع [45].

(١٢,٥,٢) الجسيمات النانوية من أجل إطلاق الأدوية المضادة للتندب Nanoparticles for Release of Antiscarring Drugs

إن أحد العوائق الرئيسية لعملية التجديد في الجهاز العصبي المركزي (CNS) هي تكوين النسيج التندبي الدبقي نجمي الخلايا (astroglial scar tissue) حول موقع الآفة (lesion site) [46]. وتعتبر بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُويتين (CSPGs) عنصر مُثَبِّط (inhibitory constituent) رئيسي للنسيج التندبي الدبقي نجمي الخلايا، وقد تبين أن هضمها (digestion) يخفف من تثبيت الندبة ويعزز عملية التجديد بعد إصابة الجهاز العصبي المركزي (CNS) [47]. وقد شملت إحدى الإستراتيجيات الواعدة لتعزيز تجديد الجهاز العصبي المركزي (CNS) هضم النسيج التندبي من خلال استخدام إنزيم الكُنْدُرُويتيناز البكتيري (bacterial enzyme chondroitinase ABC - ChABC) [46]. على الرغم من أنه قد تم استخدام المضخات التناضحية (osmotic pumps) في الدراسات الأولية، إلا أن استخدامها في الحبل الشوكي المصاب (injured cord) غير مثالي لأن القنينة (canula) يمكن أن تسبب الالتهاب ويتضرر بسبب وجودها. للالتفاف على هذه المشكلة، فإن الجسيمات المايكروية والجسيمات النانوية التي تطلق إنزيم الكُنْدُرُويتيناز البكتيري (ChABC) توفر بديلاً جذاباً. فعندما تم استخدام الأجسام الكروية النانوية لإنزيم الكُنْدُرُويتيناز البكتيري (ChABC nanospheres) لتوصيل إنزيم الكُنْدُرُويتيناز البكتيري (ChABC) بعد إصابة الحبل الشوكي (spinal cord injury - SCI)، كشف تلوين الـ (CS-56) انخفاضاً في بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُويتين (CSPGs) وزيادة مصاحبة في تلوين الـ (GAP-43) في مكان الإصابة [48]. تكتسب تقنية الجسيمات المايكروية والجسيمات النانوية (micro - and nanoparticle technology) من أجل هضم بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُويتين (CSPGs) أهمية لأن هناك حاجة للتحكم في التوزيع المكاني (spatial distribution) لهضم بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُويتين (CSPGs)؛ نظراً لدورها المهم في تحقيق الاستقرار في نقاط التشابك العصبي (synapses) في الحبل الشوكي عن طريق الشبكات حول العصب (perineural nets) [48].

(١٢,٥,٣) الجسيمات النانوية من أجل الحماية العصبية Nanoparticles for Neuroprotection

على غرار إصابات الحبل الشوكي، فقد تمت دراسة إدارة الجسيمات النانوية المضادة للأكسدة ذاتية التحفيز (autocatalytic nanocereria particles). يمكن لأكسيد السيريوم (cerium oxide) أن يتواجد في حالات تكافؤ (valence states) مختلفة (Ce^{3+} و Ce^{4+}). تؤدي هذه الخاصية إلى تأثيرات مضادة للأكسدة (antioxidant effects) تُعزز من الحماية العصبية (neuroprotection). وقد تم اختبار هذا التأثير باستخدام إصابة تأكسدية ناجمة عن بيروكسيد الهيدروجين (hydrogen peroxide - induced oxidative injury)، والتي كانت فيها الجسيمات النانوية المضادة للأكسدة قادرة على توفير وسيلة لإزالة السُمِّية (detoxification) [49]. تتوفر مضادات الأكسدة (antioxidants) الأخرى من خلال الإضافة أو الملحق B27 (B27 supplement) الذي يشمل فيتامين (E) وإنزيم الكاتالاز (catalase) وثلاثي الببتيد الغلوتاثيون (glutathione)، إلا أنها لا تدوم طويلاً ويتعين استبدالها باستمرار. وفي مقارنة بين مزارع الخلايا المعالجة بالجسيمات النانوية المضادة للأكسدة (nanocereria treated cultures) ومزارع الخلايا مع الملحق (B27) فقط، تبين أن مدة بقاء الخلايا العصبية على قيد الحياة

لمزارع الخلايا المعالجة بالجسيمات النانوية المضادة للأكسدة قد تجاوزت مدة بقاء الخلايا في مزارع عينات المراقبة [49]. وهكذا، فإن الجسيمات النانوية التي تعتبر مضادة للالتهاب، وهي كاسحات للجذور الحرة (scavengers of free radicals) أيضاً تمثل الذراع المهمة في التخفيض من الإصابة الثانوية (secondary injury) بعد إصابة الحبل الشوكي (SCI).

لقد تم تطبيق العديد من الجسيمات النانوية وذلك لتوصيل الدواء في الجهاز العصبي. وقد كان البولي بوتيل سيانو أكريليت (polybutylcyanoacrylate - PBCA) قادراً على الانتقال من خلال حاجز الدم - الدماغ (blood - brain barrier - BBB) عندما تم طلاؤه بطبقة من البولي سورييت ٨٠ (poly(80 sorbate)) [50]. وعلى أي حال، فإن سُميته وعدم قدرته على إنتاج تأثيرات طويلة المدى تجعله ناقلاً غير واعد للأدوية. وتعتبر الجسيمات النانوية المصنوعة من ميثوكسي بولي (جليكول الإيثيلين) - بولي لاكتيد (methoxypoly(ethylene glycol) - polylactide) أو الجسيمات النانوية المصنوعة من بولي (لاكتيد - كو - غليكولايد) (poly(lactide-co-glycolide)) (mPEG - PLA / PLGA) مرشحات جذابة من أجل توصيل الدواء. فهي تتحلل حيويًا (biodegradable) ومتوافقة حيويًا (biocompatible) وقادرة على توفير إطلاق متواصل للدواء (sustained drug release) - وهي الخصائص التي يتم استخدامها في تطبيقات أخرى مثل الطعوم أو المواد المزروعة (implants). ومع ذلك، فلا تزال الجسيمات النانوية المصنوعة من البولي (جليكول الإيثيلين) - البولي لاكتيد (PEG - PLA) تحتاج إلى المزيد من التحسينات والدراسة قبل التوصل إلى إمكانية التطبيق السريري [50].

إن الجسيمات النانوية واعدة نظراً لقدرتها الظاهرة على تخطي حاجز الدم - الدماغ (BBB) وهي توفر وسيلة لتوصيل الأدوية اللازمة. بالإضافة إلى ذلك، يمكن استخدام خصائصها التحليلية (degradation properties) لإطلاق علاجات على مدى فترة من الزمن. كما يمكن أيضاً تعديل تركيبها الكيميائي من أجل التوصيل المستهدف (targeted delivery) إلى أجزاء مختلفة من الجهاز العصبي ويمكن لمستويات أحجامها أن تكون مفيدة لتفادي الجهاز المناعي (immune system).

(١٢،٦) الآفاق المستقبلية FUTURE OUTLOOK

لقد أظهر استخدام تقنية النانو في هندسة الأنسجة العصبية إمكانية كبيرة. وطوّرت استخدام تقنية النانو لتقييم وتعديل السلوك الخلوي فهمنا للجهاز العصبي بشكل كبير، وقد تم استخدام المواد ذات المستوى النانوي مع مجموعات واسعة من الخصائص الفريدة للتصوير والتسجيل البيولوجي من الجهاز العصبي. وقد أتاحت لنا تقنية النانو تحكماً دقيقاً بالتفاعل مع الأنظمة البيولوجية عند المستوى الخلوي، وتم إدراك فوائدها في هذا الفصل.

وفي الوقت الذي يُعتبر فيه التحكم في المستوى النانوي واعداً بصورة غير عادية، فإنه من المهم أن ندرك بأنه ليس سوى ذراعاً واحدة في طيف واسع من التدخلات (interventions) المحتملة التي سوف تؤثر على الأرجح على هندسة الأنسجة العصبية. وبالتالي؛ فإن التحكم الدقيق بالسمات أو الخصائص الجزيئية (molecular features)، والذي يسمح بالتجميع المتحكم به للبنية النانوية، سوف يكون ثورياً في التأثير على الربط البيئي بين المواد والجهاز العصبي. ونظراً لطبيعته المعقدة؛ فإن النظام العصبي يعرض مجال التحدي الذي سوف يُجسّد تطور التقنيات النانوية عندما يتم تطبيقها على الأنظمة البيولوجية.

ACKNOWLEDGMENTS شكر وتقدير

يود المؤلفون أن يُعبروا عن شكرهم وامتنانهم للدكتورة Tania Vu من جامعة أوريغون للصحة والعلوم (Oregon Health and Science University)، على استخدام صورة النقاط الكمية (QD image) وللدكتور Jud Ready من معهد جورجيا للتقنية (Georgia Institute of Technology)، على استخدام صورة مصفوفة ألياف الكربون النانوية (CNT array image). كما يود المؤلفون أن يشكروا الدكتورة Anjana Jain والدكتور Isaac Clements على خبراتهما ومساهماتهما تجاه هذا العمل. كما أن التمويل المقدم لمختبر بيلامكوندا (Bellamkonda Laboratory) من المعهد الوطني للصحة (NS44409, NS43486, NS45072, DC006849) والمؤسسة الوطنية للعلوم (CBET 065176) هو محل شكر وتقدير.

REFERENCES المراجع

- [1] Xuejun, W., S. Donglu, and N. Zhang, Applications of nanotechnology in tissue engineering, in Handbook of Nanostructured Biomaterials and Their Applications in Nanobiotechnology, H.S. Nalwa, Editor. 2005, American Scientific Publishers. pp. 1–23.
- [2] West, J.L. and N.J. Halas, Applications of nanotechnology to biotechnology commentary. Curr Opin Biotechnol, 2000, 11(2): 215–217.
- [3] Li, N. and A. Folch, Integration of topographical and biochemical cues by axons during growth on microfabricated 3-D substrates. Exp Cell Res, 2005, 311(2): 307–316.
- [4] Johansson, F., et al., Axonal outgrowth on nano-imprinted patterns. Biomaterials, 2006, 27(8): 1251–1258.
- [5] Britland, S., C. Perridge, M. Denyer, et al., Morphogenetic guidance cues can interact synergistically and hierarchically in steering nerve cell growth. Exp Biol, 1996, 1(2): 1–15.
- [6] Ressler, L., et al., Fabrication of planar cobalt electrodes separated by a sub-10 nm gap using high resolution electron beam lithography with negative PMMA. Ultramicroscopy, 2007, 107(10–11): 985–988.
- [7] Wilkinson, C.D., Making structures for cell engineering. Eur Cell Mater, 2004, 8: 21–25; discussion 25–26.
- [8] Wilson, D.L., et al., Surface organization and nanopatterning of collagen by dip-pen nanolithography. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(24): 13660–13664.
- [9] Han, M., et al., Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. Nat Biotechnol, 2001, 19(7): 631–635.
- [10] Jaiswal, J.K. and S.M. Simon, Potentials and pitfalls of fluorescent quantum dots for biological imaging. Trends Cell Biol, 2004, 14(9): 497–504.
- [11] Alivisatos, A.P., W. Gu, and C. Larabell, Quantum dots as cellular probes. Annu Rev Biomed Eng, 2005, 7: 55–76.
- [12] Silva, G.A., Neuroscience nanotechnology: Progress, opportunities and challenges. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(1): 65–74.
- [13] Vu, T.Q., et al., Peptide-conjugated quantum dots activate neuronal receptors and initiate downstream signaling of neurite growth. Nano Lett, 2005, 5(4): 603–607.
- [14] Sundara Rajan, S. and T.Q. Vu, Quantum dots monitor TrkA receptor dynamics in the interior of neural PC12 cells. Nano Lett, 2006, 6(9): 2049–2059.
- [15] Cui, B., et al., One at a time, live tracking of NGF axonal transport using quantum dots. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(34): 13666–13671.

- [16] Murugan, R. and S. Ramakrishna, Design strategies of tissue engineering scaffolds with controlled fiber orientation. *Tissue Eng*, 2007, 13(8): 1845–1866.
- [17] Silva, G.A., et al., Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers. *Science*, 2004, 303(5662): 1352–1355.
- [18] Silva, G.A., Nanotechnology approaches for the regeneration and neuroprotection of the central nervous system. *Surg Neurol*, 2005, 63(4): 301–306.
- [19] Hung, A.M. and S.I. Stupp, Simultaneous self-assembly, orientation, and patterning of peptide-amphiphile nanofibers by soft lithography. *Nano Lett*, 2007, 7(5): 1165–1171.
- [20] Yang, Y., et al., Biocompatibility evaluation of silk fibroin with peripheral nerve tissues and cells in vitro. *Biomaterials*, 2007, 28(9): 1643–1652.
- [21] Yang, Y., et al., Development and evaluation of silk fibroin-based nerve grafts used for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials*, 2007, 28(36): 5526–5535.
- [22] Allmeling, C., et al., Use of spider silk fibres as an innovative material in a biocompatible artificial nerve conduit. *J Cell Mol Med*, 2006, 10(3): 770–777.
- [23] Dubey, N., P.C. Letourneau, and R.T. Tranquillo, Guided neurite elongation and Schwann cell invasion into magnetically aligned collagen in simulated peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol*, 1999, 158(2): 338–350.
- [24] Li, W.J., et al., Fabrication and characterization of six electrospun poly(alpha-hydroxy ester)-based fibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Acta Biomater*, 2006, 2(4): 377–385.
- [25] Li, W.J., et al., Electrospun nanofibrous structure: A novel scaffold for tissue engineering. *J Biomed Mater Res*, 2002, 60(4): 613–621.
- [26] Li, M., et al., Electrospinning polyaniline-contained gelatin nanofibers for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 2006, 27(13): 2705–2715.
- [27] Schnell, E., et al., Guidance of glial cell migration and axonal growth on electrospun nanofibers of poly-epsilon-caprolactone and a collagen=poly-epsilon-caprolactone blend. *Biomaterials*, 2007, 28(19): 3012–3025.
- [28] Polikov, V.S., P.A. Tresco, and W.M. Reichert, Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes. *J Neurosci Methods*, 2005, 148(1): 1–18.
- [29] Biran, R., D.C. Martin, and P.A. Tresco, Neuronal cell loss accompanies the brain tissue response to chronically implanted silicon microelectrode arrays. *Exp Neurol*, 2005, 195(1): 115–126.
- [30] Edell, D.J., et al., Factors influencing the biocompatibility of insertable silicon microshafts in cerebral cortex. *IEEE Trans Biomed Eng*, 1992, 39(6): 635–643.
- [31] Wise, K.D., D.J. Anderson, J.F. Hetke, et al., Wireless implantable microsystems: High-density electronic interfaces to the nervous system. *Proc IEEE*, 2004, 92(1): 76–97.
- [32] Irina Kleps, M.M., F. Craciunoiu, and M. Simion, Delevelopment of the micro- and nanoelectrodes for cells investigation. *Microelectron Eng*, 2007, 84: 1744–1748.
- [33] Franks, W., et al., Impedance characterization and modeling of electrodes for biomedical applications. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2005, 52(7): 1295–1302.
- [34] Kipke, D.R., et al., Silicon-substrate intracortical microelectrode arrays for long-term recording of neuronal spike activity in cerebral cortex. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*, 2003, 11(2): 151–155.
- [35] Normann, R.A., Technology insight: Future neuroprosthetic therapies for disorders of the nervous system. *Nat Clin Pract Neurol*, 2007, 3(8): 444–452.
- [36] Arrigan, D.W., Nanoelectrodes, nanoelectrode arrays and their applications. *Analyst*, 2004, 129(12): 1157–1165.

- [37] Nguyen-Vu, T.D., et al., Vertically aligned carbon nanofiber arrays: An advance toward electrical–neural interfaces. *Small*, 2006, 2(1): 89–94.
- [38] Nguyen-Vu, T.D., et al., Vertically aligned carbon nanofiber architecture as a multifunctional 3-D neural electrical interface. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2007, 54(6) (Pt 1): 1121–1128.
- [39] Shim, M., et al., Functionalization of carbon nanotubes for biocompatibility and biomolecular recognition. *Nano Lett*, 2002, 2(4): 285–288.
- [40] Lee, C., et al., Electrically addressable biomolecular functionalization of carbon nanotubes and carbon nanofiber electrodes. *Nano Lett*, 2004, 4(9): 1713–1716.
- [41] McKenzie, J.L., et al., Decreased functions of astrocytes on carbon nanofiber materials. *Biomaterials*, 2004, 25(7–8): 1309–1317.
- [42] Ni, Y., et al., Chemically functionalized water soluble single-walled carbon nanotubes modulate neurite outgrowth. *J Nanosci Nanotechnol*, 2005, 5(10): 1707–1712.
- [43] He, W. and R.V. Bellamkonda, Nanoscale neuro-integrative coatings for neural implants. *Biomaterials*, 2005, 26(16): 2983–2990.
- [44] Zhong, Y. and R.V. Bellamkonda, Dexamethasone-coated neural probes elicit attenuated inflammatory response and neuronal loss compared to uncoated neural probes. *Brain Res*, 2007, 1148: 15–27.
- [45] Kim, D.H. and D.C. Martin, Sustained release of dexamethasone from hydrophilic matrices using PLGA nanoparticles for neural drug delivery. *Biomaterials*, 2006, 27(15): 3031–3037.
- [46] Li, H.P., et al., Regeneration of nigrostriatal dopaminergic axons by degradation of chondroitin sulfate is accompanied by elimination of the fibrotic scar and glia limitans in the lesion site. *J Neurosci Res*, 2007, 85(3): 536–547.
- [47] Bradbury, E.J., et al., Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury. *Nature*, 2002, 416(6881): 636–640.
- [48] Osterhour, D.J., et al., Chondroitinase release from nanospheres induces axonal sprouting after spinal cord injury, in *Society of Neuroscience*. 2006: Atlanta.
- [49] Das, M., et al., Auto-catalytic ceria nanoparticles offer neuroprotection to adult rat spinal cord neurons. *Biomaterials*, 2007, 28(10): 1918–1925.
- [50] Olivier, J.C., Drug transport to brain with targeted nanoparticles. *NeuroRx*, 2005, 2(1): 108–119.

تقنيات النانو من أجل هندسة الأنسجة القلبية الوعائية

Nanotechnologies for Cardiovascular Tissue Engineering

Kristen A. Wieghaus and Edward A. Botchwey

المحتويات CONTENTS

٤٧٨.....	INTRODUCTION مقدمة (١٣,١)
٤٨٠.....	VASCULAR TISSUE ENGINEERING PARADIGMS نماذج من هندسة الأنسجة الوعائية (١٣,٢)
٤٨٠.....	Tissue-Engineered Cardiac Wall Tissue نسيج جدار قلبي مُهندَس نسيجياً (١٣,٢,١)
٤٨١.....	Tissue-Engineered Cardiac Valves صمامات قلبية مهندسة نسيجياً (١٣,٢,٢)
٤٨٢.....	Cardiac Stents دعائم قلبية (١٣,٢,٣)
٤٨٢.....	Tissue-Engineered Vessels and Vascular Grafts طُعوم أوعية دموية ووعائية مهندسة نسيجياً (١٣,٢,٤)
	Tissue-Engineered Scaffolds حاملات خلايا وأنسجة مهندسة نسيجياً يجب أن تدعم التوعي الجديد (١٣,٢,٥)
٤٨٣.....	That Must Support Neovascularization
	NANOSCALE FEATURES OF NATIVE السّمات النانوية للأنسجة القلبية الوعائية الأصلية (١٣,٣)
٤٨٤.....	CARDIOVASCULAR TISSUES
	NANOTECHNOLOGICAL الإستراتيجيات التقنية النانوية من أجل هندسة أنسجة قلبية وعائية مُحسّنة (١٣,٤)
٤٨٦.....	STRATEGIES FOR IMPROVED CARDIOVASCULAR TISSUE ENGINEERING
	Engineering of Nanotopographical Features on هندسة سمات طوبوغرافية نانوية على المواد الحيوية (١٣,٤,١)
٤٨٦.....	Biomaterials

- (١٣، ٤، ٢) التحديد الوظيفي لسطوح المواد الحيوية باستخدام عناصر ذات حجم نانوي Functionalization of Biomaterial Surfaces With Nanosized Motifs ٤٨٩
- (١٣، ٤، ٣) حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً Electrospun Nanofibrous Scaffolds ٤٩١
- (١٣، ٥) الاستنتاجات CONCLUSIONS ٤٩٨
- المراجع REFERENCES ٤٩٩

(١٣، ١) مقدمة INTRODUCTION

إن الدور الرئيسي للجهاز الدوراني (circulatory system) هو توزيع الغازات المنحلة والجزيئات الأخرى اللازمة للتغذية والنمو وإصلاح أنسجة وأعضاء الجسم. وتشمل الوظائف الأخرى للجهاز الدوراني نقل الإشارات الكيميائية (chemical signaling) بسرعة إلى الخلايا عن طريق دوران الهرمونات (hormones) أو الناقلات العصبية (neurotransmitters) وتبديد الحرارة (heat dissipation) من مركز الجسم إلى السطح وتوسط الاستجابات الالتهابية (mediation of inflammation responses) وتوسط الاستجابات الدفاعية للمضيف (host defense responses).

يتكون القلب من أربع حجيرات (chambers): الأذين (atria) الأيمن والأذين الأيسر والبطين (ventricles) الأيمن والبطين الأيسر. ويتألف عضل القلب (myocardium) من ألياف عضلية قلبية (cardiac muscle fibers) تتقلص بشكل تلقائي أو عفوي بحيث تسمح للقلب بالتقلص وضخ الدم، وهي مغطاة بنسيج نخاعي ونسيج شغافي (epi- and endocardial tissue) من أجل الحماية. وتعمل صمامات القلب (heart valves) على الحفاظ على اتجاه أحادي لتدفق الدم (unidirectional blood flow) بين حجيرات القلب وبين الحجيرات والأوعية الدموية (blood vessels) الموصلة. إن الصمامات الأبهريّة والرئوية البهليّة (aortic and pulmonary semilunar valves) هي صمامات ثلاثية الوريقات (trileaflets)، في حين أن الصمامات الأذينية البطينية (atrioventricular valves) (التاجيّة (mitral) وثلاثية الشرف (tricuspid)) هي صمامات ثنائية الوريقات (bileaflet). وخلافاً لمعظم الأنسجة، فإن صمامات القلب لا تحوي أوعية دموية بشكل جيد، لأن الأنسجة رقيقة بما فيه الكفاية للحفاظ على التغذية (nourishment) من خلال الانتشار المباشر (direct diffusion) من دم القلب. ومن بين الصمامات القلبية، فإن الصمام الأبهري (aortic valve) هو الأكثر اعتياداً ويتطلب معظم الزرع (transplantation) المتكرر [1]. ويتشكل الصمام الأبهري من نوعين من الخلايا: الخلايا البطانية (endothelial cells - ECs) التي تغطي سطحه والخلايا الخلالية (interstitial cells) التي لها خصائص متغيرة من أنواع خلايا الأرومة الليفية (fibroblast cells) والخلايا العضلية الملساء (smooth muscle cells) وخلايا الأرومة الليفية العضلية (myofibroblast cells) [2]. وتوضع هذه الخلايا على سرير من المصفوفة خارج الخلية (ECM)، والتي تتألف بشكل أساسي من الكولاجين الذي يوفر المتانة (strength) والصلابة (stiffness) للأنسجة والإيلاستين الذي يسمح بتمدد الأنسجة أثناء الانبساط (diastole) وتقلص الأنسجة في الانقباض (systole)، والغليكوز أمينوغليكانات (glycosaminoglycans) التي تُكَيّف القص (shear) لطبقات الشرفات (cuspal layers) وتساعد على تخفيف الصدمة (cushion shock) للأنسجة الصمام [1].

إن النظام الوعائي (vascular system) هو نظام الأعضاء الأول الذي يتطور أثناء مرحلة التكوّن الجنيني الفقاريّ (vertebrate embryogenesis)، لتزويد الدم إلى خلايا وأنسجة الجسم. وهو يتألف من شبكة معقدة من الشرايين (arteries) والأوردة (veins) والأوعية الدموية المايكروية الأصغر (smaller microvessels) والشعيرات الدموية (capillaries) التي تُسهّل تبادل الأكسجين والغذاء والفضلات بالإضافة إلى هجرة وانتقال الخلايا من جهاز الدوران إلى الأنسجة المختلفة. إن تركيب الأوعية الدموية معقد إلى حد بعيد [3]. وعلى وجه الخصوص، تتألف الشرايين من ثلاث طبقات متميزة تحيط بلمعة مجوفة (hollow lumen) يتدفق من خلالها الدم. تتألف الطبقة الأعمق، وهي الطبقة الباطنة الوعائية (tunica intima)، من طبقة واحدة من الخلايا البطانية مُدعّمة بواسطة غشاء قاعدي (basement membrane). وتتضمن الطبقة الوسطى الوعائية (tunica media)، وهي أسمك الطبقات الثلاث، عدة طبقات من الخلايا العضلية الوعائية الملساء (vascular smooth muscle cells - vSMC) ومصفوفة خارج الخلية (ECM) محيطة ومرتبطة في طبقات متراكزة (concentric layers) (متحدة المركز) لتشكيل بنية مركبة [4]. وتشكل الطبقة الخارجية، المسماة الطبقة البرانيّة (adventitia)، من أرومات ليفية (fibroblasts) (خلايا ليفية) ومصفوفة كولاجين من النمط الأول وهي تضيء متانة على جدار الوعاء الدموي [3].

ولما كان العديد من الأمراض المرتبطة بالعمر (age - associated diseases) مثل النوبة القلبية (heart attack) ونقص تروية الأطراف المحيطية (peripheral limb ischemia) والجروح المزمنة (chronic wounds) تنشأ من وظيفة مختلة أو وظيفة غير طبيعية للجملة الوعائية (vasculature)، فإن الحاجة إلى علاجات فعّالة لمعالجة أوجه القصور القلبية الوعائية (cardiovascular deficiencies) هي مشكلة سريرية كبيرة على نحو متزايد. وقد تسببت الأمراض القلبية الوعائية بـ ٢.٤ مليون حالة وفاة في الولايات المتحدة في العام ٢٠٠٠ وحده [5]. إن أكبر سبب للوفيات في العالم الغربي هو مرض التصلّب العصيدي الوعائي (atherosclerotic vascular disease) [6]، والذي يتجلى كمرض شريان تاجي (coronary artery disease) أو مرض وعائي محيطي (peripheral vascular disease). ويتميز تصلب الشرايين (arteriosclerosis) من خلال سماكة الجدار الشرياني (مع انخفاض مقابل في قطر اللُمعة)؛ مما يؤدي في نهاية المطاف إلى انخفاض أو فقدان الدوران وراء منطقة الوعاء الدموي التي تعاني من التصلب الشرياني. بالإضافة إلى ذلك، يؤثر المرض الوعائي المحيطي على أكثر من ١٢ مليون أمريكي مع عدد قليل من الخيارات العلاجية المهمّة [3]. إن فشل القلب (heart failure) هو سبب رئيسي آخر لانتشار المرض والوفيات، وبسبب قدرة القلب المحدودة على إصلاح نفسه، فإن التدخل الجراحي (surgical intervention) يكون مطلوباً من أجل علاج المشاكل القلبية الحادة (severe cardiac problems). وعلى الرغم من التطورات في العلاج الجراحي تبقى زراعات الأعضاء الكاملة الخيار الوحيد ما إن تفشل العلاجات الأكثر تحفظاً. إن محدودية التزويد بالعضو المتبرّع والإمكانية الكبيرة لرفض العضو (organ rejection) والمضاعفات الأخرى تحد وبشدة من نجاح هذه الإجراءات.

وعلى الرغم من وجود عدد كبير من المرضى الذين يعانون من هذه الأمراض والنفقات الهائلة للبحوث الداعمة للعلوم التي تُشكّل الأساس وراء باثولوجيا هذه الأمراض (disease pathologies)، فإن للعلاجات المتوافرة لمعالجة عدم الكفاية الوعائية فعالية محدودة نسبياً. فمن بين العديد من الاعتبارات، يتجلى ذلك بشكل واضح من خلال كون ما يصل إلى ٢٥ ٪ من المرضى الذين يخضعون لجراحات تحويل الشريان التاجي (coronary bypass surgeries) يعانون من النوبات القلبية المتكررة.

في السنوات الأخيرة، تم توجيه تركيز متزايد نحو دراسة التفاعل المعقد للعديد من العوامل القابلة للذوبان (soluble factors) وجزيئات الالتصاق غير القابلة للذوبان (insoluble adhesion molecules) ضمن المصفوفة خارج الخلية (ECM) والعوامل الديناميكية الدموية (hemodynamic factors) التي تنظم النمو الوعائي وإعادة التشكيل في الجسم الحي. في هذا الفصل، سيتم استكشاف الإستراتيجيات الحالية لهندسة الأنسجة القلبية والأنسجة الوعائية (cardiac and vascular tissue engineering)، مع التركيز على التلاعب العلاجي (therapeutic manipulation) لنقل الإشارات الخاصة بالخلايا القلبية والخلايا الوعائية (cardiac and vascular cell - specific signaling) في مستوى النانو. في الفقرة (١٣،٢)، سنسلط الضوء على النماذج الرئيسية لهندسة الأنسجة القلبية الوعائية (cardiovascular tissue engineering): تصنيع أنسجة قلبية (cardiac tissue) وصمامات قلبية (cardiac valves) ودعامات وعائية (vascular stents) وطعوم تحويل مهندسة نسيجياً صغيرة القطر (small - diameter tissue - engineered bypass grafts) وإنتاج بُنى وعائية جديدة (neovascular structures) في الحاملات المهندسة نسيجياً وفي الأنسجة المزروعة. بعد ذلك، سيتم عرض تفاصيل النظام القلبي الوعائي الطبيعي في المستوى النانوي وأهمية البنية النانوية في سلوك الخلايا القلبية والوعائية في الفقرة (١٣،٣). وفي الفقرة (١٣،٤)، سيتم عرض الإستراتيجيات التقنية النانوية الحالية من أجل تحسين البنى القلبية الوعائية المهندسة نسيجياً (cardiovascular tissue - engineered constructs) بالتفصيل. ويمكن تنظيم مجالات البحوث تلك في ثلاثة أنواع من الطرق: تعديل سطوح المواد الحيوية (modification of biomaterial surfaces) مع سمات أو ميزات طوبوغرافية سطحية نانوية (nanotopographical features) والتخصيص أو التحديد الوظيفي المباشر للسطوح (direct functionalization of surfaces) (إضافة مجموعات وظيفية كيميائية للسطح) باستخدام أنماط أو عناصر في مستوى النانو (nanoscale motifs)، وتصنيع شبكات وحاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانو محاكية حيويًا (biomimetic nanofibrous meshes and scaffolds). وأخيراً، سنختتم مع التحديات المتبقية في مجال تقنية النانو من حيث علاقتها بهندسة الأنسجة القلبية الوعائية.

(١٣،٢) نماذج من هندسة الأنسجة الوعائية VASCULAR TISSUE ENGINEERING PARADIGMS

(١٣،٢،١) نسيج جدار قلبي مُهندَس نسيجياً Tissue-Engineered Cardiac Wall Tissue

إن قدرة عَضَل القلب على تجديد نفسه بعد احتشاء واسع (extensive infarction) محدودة جداً؛ ونتيجة لذلك؛ يجب أن يتم البحث عن وسائل علاجية جديدة من أجل تجديد الأنسجة العضلية القلبية الوظيفية (functional myocardial tissue). وسيطلب تصنيع قلب كامل مُهندَس نسيجياً تجميع العَضَل القلبي الأذيني (atrial myocardium) والعَضَل القلبي البطيني (ventricular myocardium) القابل للاستشارة والتقلص والنَّخَاب (epicardium) والشَّعَاف (endocardium) والصمامات والجملة الوعائية [7]. بالإضافة إلى ذلك، فإن متطلبات التصميم لأنسجة القلب هي أكثر قسوة بكثير من تلك الخاصة بالأنواع الأخرى الكثيرة من الأنسجة والأعضاء، حيث أن لدى العضلة القلبية (cardiac muscle) وأنسجتها الداعمة خصائص معقدة ومتخصصة، والتي هي جزء لا يتجزأ من الوظيفة القلبية المضبوطة. وتشمل هذه الخصائص تشكيل مَحَلَّى كهربائي

(electrical syncytium) (كتلة من الجلبة العديدة النوى) وتطوير قوة انقباضية (systolic force) وتحمل التحميل الانبساطي (diastolic loading) والتكيف مع كلا المنبهات الفيزيولوجية (physiological stimuli)، والمتضمنة على سبيل المثال، استجابة المحاربة أو الفرار (fight or flight response) وزيادة الطلب الدوراني (circulatory demand) [7].

(١٣,٢,٢) صمامات قلبية مهندسة نسيجياً Tissue-Engineered Cardiac Valves

بالإضافة إلى العضلة القلبية، تعتبر صمامات القلب أنسجة متخصصة يجب استبدالها نتيجة للمرض. وتتم حالياً إزالة الصمامات المريضة جراحياً واستبدالها باستخدام إما صمامات اصطناعية (prosthetic valves) تعمل بشكل ميكانيكي وإما صمامات من طعم أجنبي (طعم غيروبي) (xenograft valves) وإما صمامات من طعم خيفي جثي (cadaveric allograft valves) أو صمامات من طعم ذاتي رئوي - إلى - أبهري (pulmonary - to - aortic autograft valves) (والمعروفة أيضاً بإجراء Ross) [1]. ومع ذلك، يرتبط كل نوع من طعم الصمام (valve implant) بقيود كبيرة، بما في ذلك إمكانية حدوث انصمام خثاري (جلطات دموية) (thromboembolism) وتكلس (calcification) وتدهور بنيوي (structural deterioration) [8-10].

يمكن لصمامات القلب الناشئة من خلال تقنيات هندسة الأنسجة أن تكون أكثر فائدة من تلك الموجودة حالياً في الاستخدام السريري، لأنها ستكون على الأرجح غير مُخَثَّرة (nonthrombogenic) ومُقاومة للعدوى (infection resistant) وتحث على بقاء الخلايا على قيد الحياة أكثر من الأنواع الأخرى من الطعوم [1]. ومع ذلك، تُظهر هندسة أنسجة صمامات القلب الوظيفية عدداً من التحديات الكبيرة. إن صمامات القلب أنسجة ديناميكية (dynamic tissues) تتألف من خلايا متخصصة ومصفوفة خارج الخلية (ECM) يجب أن يتم محاكاتها بشكل دقيق من أجل تحقيق النجاح السريري للطعوم المهندسة نسيجياً، كما يجب أن تقوم هذه الأنسجة بالاستجابة وإعادة التشكيل وفقاً للتغيرات المعقدة في القوى الميكانيكية الموضعية (local mechanical forces) [11,12]. لأكثر من ٤٠ مليون مرة في السنة، تقوم وريقة الصمام (valve leaflet) بالفتح والإغلاق مؤديةً إلى تغيرات متكررة في الإجهاد (stress) والشكل (shape) على نسيج الصمام والبنى الداعمة [13]؛ وبالتالي يجب أن تكون متانة ومرونة (flexibility) وثبات أو تحمل (durability) هذه الأنسجة متطابقة بشكل دقيق في الصمامات المهندسة نسيجياً.

واحدة من الميزات الفريدة لصمامات القلب المهندسة نسيجياً (tissue - engineered heart valves) هي إمكانية الاستخدام السريري الناجح وعلى المدى الطويل في المرضى الأطفال (pediatric patients). إن الحاجة الأكثر إلحاحاً لتقنية صمام القلب هي من أجل الأطفال والبالغين الشباب، والتي لا تكون فيها نتائج إجراءات استبدال الصمام مُرضية كما هو الحال في المرضى البالغين [14,15]. بالإضافة إلى ذلك، قد تُلغى إمكانية نمو وإعادة تشكيل طعوم الصمامات المهندسة نسيجياً الحاجة إلى العمليات الجراحية المتكررة اللازمة عادةً للمرضى صغار السن، حيث لا يمكن للصمامات الاصطناعية التقليدية أن تكبر عندما ينمو المريض [1].

Cardiac Stents دعامات قلبية (١٣,٢,٣)

إن خيار العلاج الأكثر استخداماً للتصلب العصيدي الحاد (severe atherosclerosis) هو غالباً التدعيم الوعائي (vascular stenting)، حيث يتم زرع الدعامات (stents) في الشرايين المسدودة باللويحات والمتضيقة بشدة (severely plaqued and stenosed arteries) كآلية لاستعادة تدفق الدم الطبيعي إلى الأعضاء الإقفارية (ischemic organs) (التي تعاني من نقص التروية). ويتم صنع هذه الدعامات غالباً من معدن التيتانيوم (titanium - Ti)، وذلك بسبب خصائصه الميكانيكية. وعلى أي حال، فإن التيتانيوم والمعادن التقليدية الأخرى غير متوافقة حيوياً؛ مما يؤدي إلى مضاعفات حادة ومزمنة مثل التخثر أو تجلط الدم (thrombosis) وعودة التضيق (restenosis) [16] وذلك بسبب الخلل الوظيفي (dysfunction) في الخلايا العضلية الوعائية الملساء في اللمعة [17]. وعلى هذا النحو، فقد جرت محاولات عديدة لتعديل التيتانيوم والمعادن الأخرى المستخدمة كدعامات وعائية [18-21]، ولكن تم بذل محاولات قليلة لتغيير السطح المعدني نفسه من أجل تحسين التفاعلات مع الأنسجة المحيطة.

١٣,٢,٤) طُعُومٌ أوعية دموية وعائية مهندسة نسيجياً Tissue-Engineered Vessels and Vascular Grafts

حالماً يُسَدّ تدفق الدم بسبب أمراض الشرايين التاجية أو المحيطية (coronary or peripheral artery diseases)، يكون التحويل الوعائي (vascular bypass) غالباً الخيار العلاجي الوحيد لاستعادة تدفق الدم إلى الأنسجة البعيدة. وقد تم في عام ٢٠٠٠ إجراء ما يُقدَّر بـ ٥١٩٠٠٠ إجراء تحويل [6]. تشمل الطعوم ذاتية المنشأ (autologous grafts) النمذجية أجزاء من الوريد الصافن (saphenous vein) والشريان الثديي الداخلي (internal mammary artery) وطعوم مثليّة (خفيّة) وريدية (venous homografts) [3]. ومع ذلك، فإن حوالي ٣٠٪ من مرضى التصلب العصيدي يفتقرون إلى مادة تحويل ذاتية المنشأ (autologous bypass material) كافية من أجل التطعيم الذاتي (autografting) وذلك بسبب المرض أو الاستخدام السابق [22,23]؛ وبالتالي لا بد من زرع طعوم وعائية (vascular grafts) مصنوعة من مواد بديلة متوافقة حيوياً. وقد تم تطبيق البديل الوعائي الاصطناعي (synthetic vascular prosthesis) الأول سريراً في عام ١٩٥٤؛ مما يدل على أن الأنابيب الاصطناعية التعويضية (prosthetic tubes) يمكن أن تعمل كبداية شريانية (arterial replacements) [24,25]. ومع ذلك، فإن هذه الأنابيب لم تدمج أي نوع من أنواع الخلايا المشاركة بالوظيفة الوعائية (vascular function).

وكما تمت مناقشته سابقاً، تسمح هندسة الأنسجة بإنشاء بُنى بديلة باستخدام خلايا وحاملات خلايا وأنسجة مصنوعة من مواد حيوية (biomaterial scaffolds) من دون الحصول على طعوم ذاتية المنشأ من المريض. وقد أضاف الجيل الأول من البدائل الاصطناعية الوعائية صغيرة القطر المهندسة نسيجياً (tissue - engineered small - diameter vascular prosthetics) خلايا بطانيّة ذاتية المنشأ (autologous EC) على السطح المُعَيّن (luminal surface) للطعم في محاولة لإنشاء بطانة وظيفية (function endothelium) [26-29]؛ إلا أن نقص التكسّر أو التجمع البطاني (endothelial confluence) على لُمعة أنابيب البوليمر قد حدّ من نجاح هذه التجارب. وقد شملت مواد الطعوم من الجيل الثاني إضافة المزيد من العناصر الأصلية للأوعية الدموية، بما في ذلك الخلايا البطانيّة (EC) والخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMC) والمصفوفة خارج الخلية (ECM) وذلك لدعم المواد التركيبية [30-33]. على سبيل المثال، كانت الإصدارات البسيطة من هذه الطعوم تتألف من طبقة برآنية تركيبية

(synthetic adventitial layer) ومُركب وسطي من الكولاجين مبذور بخلايا عضلية وعائية ملساء (vSMC) وباطنة شريان جديدة مُبطَّنة للخلايا البطانية (neointimal lining of EC) [30]. وتتكون البدائل الاصطناعية الوعائية الأحدث من مواد طبيعية بشكلٍ كامل [34,35]، على الرغم من أن البوليمرات الاصطناعية لا تزال تُستخدم عادةً في هذه التطبيقات.

قد توفر الطعوم المهندسة نسيجياً بديلاً بالغ الأهمية للطعوم الوريدية ذاتية المنشأ (autologous vein grafts). لقد تم وبنجاح تصنيع مواد تتضمن بولي (إيثيلين تيريفثاليت) (poly(ethylene terephthalate))، وهو الـ (Dacron) وبولي تترافلورو إيثيلين (polytetrafluoroethylene - PTFE) في طعوم وعائية لاستبدال الشرايين الكبيرة (large arteries) بينما شهدت الشرايين ذات القطر الأصغر (التي قطرها أقل من ٦ ميليمترات) نجاحاً محدوداً للغاية [36]. حيث تؤدي المضاعفات مثل التخثر أو تجلط الدم الحاد (acute thrombosis) الناجم عن عدم وجود بطانة (endothelium) (ظاهرة مُبطَّنة للأوعية) وفرط تنسُّج (تضخم) باطنة الشريان (intimal hyperplasia) وعودة التضيق الناجم عن عدم تطابق المطاوعة (compliance mismatch) والاستجابة للالتهابات (inflammatory response) والقابلية للعدوى (susceptibility to infection) [36-42] إلى انخفاض سالكية (patency) زرع الطعوم صغيرة القطر إلى ٣٠٪ بعد خمس سنوات [36]. ولإبطال هذه المضاعفات، فقد تم اختبار أنواع جديدة من المواد الحيوية لاستخدامها كماد طعوم وعائية صغيرة القطر. وقد تم تصنيع بولي (إسترات طبيعية) (poly(orthoesters)) تتضمن بولي (حمض اللاكتيك) (poly(lactic acid)) وبولي (حمض الغليكوليك) (poly(glycolic acid)) وبوليمراتهما المشتركة في حاملات خلايا وأنسجة أنبوية (tubular scaffolds) تدعم نمو الخلايا البطانية والخلايا العضلية الوعائية الملساء في المختبر [43,44]. ويتم حالياً اختبار مواد بوليميرية جديدة جنباً إلى جنب مع التقنيات الناشئة لتحسين نمو وبقاء الخلايا وذلك لتزويد المرضى بأوعية دموية اصطناعية صغيرة القطر (synthetic small diameter vessels) من أجل إجراءات التطعيم.

(١٣،٢،٥) حاملات خلايا وأنسجة مهندسة نسيجياً يجب أن تدعم التوعي الجديد Tissue-Engineered Scaffolds That Must Support Neovascularization

بالإضافة إلى تصنيع طعوم وعائية صغيرة القطر، فإن هندسة الأنسجة الوعائية تشمل أيضاً تعزيز التوعي الجديد (neovascularization) (نمو شعيرات دموية وشُرينات (arterioles) ووريدات (venules) جديدة) إلى منطقة الأنسجة أثناء إصلاح الجروح (wound repair) أو بعد زرع حامل خلايا وأنسجة مهندسة نسيجياً. وتعتبر البنية السليمة للأوعية الدموية المايكروية الدقيقة عنصراً أساسياً لوظيفة أنسجة طبيعية [45]؛ ومع ذلك، فبعد مرض الشرايين المحيطية ونقص تروية عضلة القلب (myocardial ischemia) وزرع الخلايا الجَزرِيَّة (islet cell transplantation) والجراحة التجميلية (plastic surgery) [46] والأذيَات النسيجية (tissue insults) الأخرى، فإن الجملة الوعائية الدموية الدقيقة الأصلية تتعرض في كثير من الأحيان إلى الخطر. إن تشكيل أوعية دموية جديدة من خلال تولُّد أو تكوُّن الأوعية الدموية (angiogenesis) هو أمرٌ حاسم بالنسبة للكثير من التطبيقات السريرية [47-52]، ولا سيما تلك النماذج الخاصة بإصلاح الجروح ونمو الأنسجة التي تنشأ فيها احتياجات غذائية واستقلابية (nutritive and metabolic demands) كبيرة. ولذلك فإن أحد التحديات المهمة بشكلٍ خاص بالنسبة لتقدم تطبيقات هندسة الأنسجة هو تطوير علاجات فعالة لتعزيز التوعي الجديد للأنسجة المهندسة [46,53-56]،

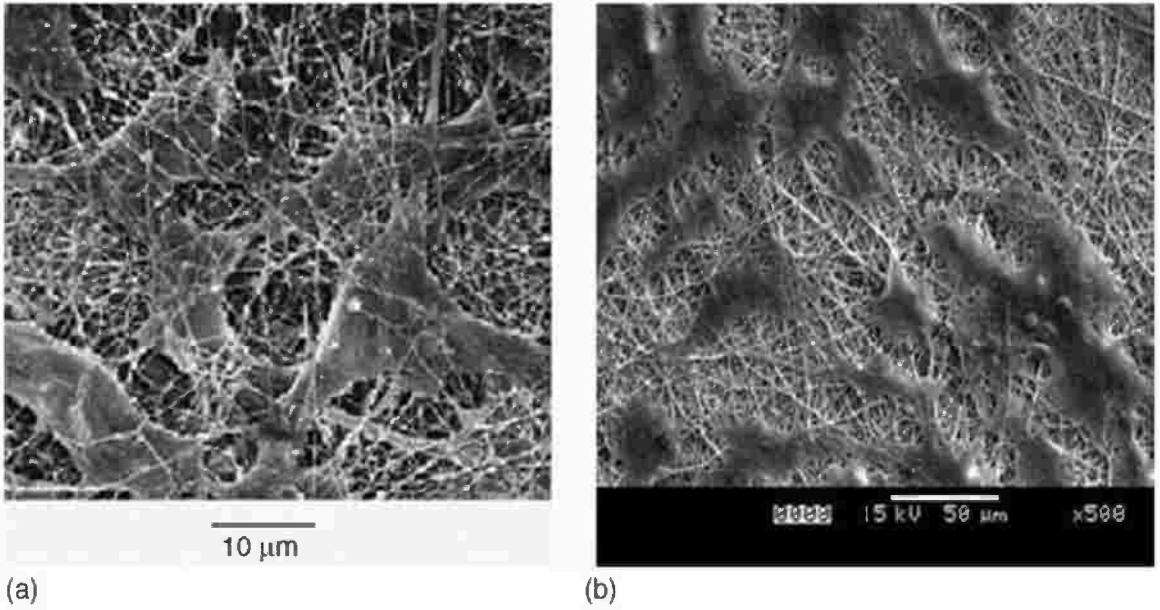
وذلك عندما تكون هجرة الخلايا ونُشوب (نمو) الأنسجة (tissue ingrowth) في هذه البنى محدودة [57]. ولأن فقدان أو فشل الأنسجة والأعضاء هي مشكلة متكررة ومُكلِّفة في مجال الرعاية الصحية البشرية، فمن المفترض أن تطوير طرق لتجديد الأنسجة البشرية سيكون له تأثير كبير على التخصصات الطبية في المستقبل [58].

(١٣،٣) السّمات النانوية للأنسجة القلبية الوعائية الأصلية NANOSCALE FEATURES OF NATIVE CARDIOVASCULAR TISSUES

تمتلك الأنسجة الحية درجة عالية من الخشونة السطحية النانوية (nanosurface roughness)؛ وفي الواقع، فإن البروتينات والجزيئات الحيوية الأخرى التي تكون الخلايا معتادة على التفاعل معها هي بُنى ذات أحجام نانوية (nanosized structures) [59,60]. وفي الحقيقة، فإن جميع جوانب المصفوفة خارج الخلية (ECM)، بما في ذلك الألياف والمسام (pores) والتواءات (ridges) والأخاديد (grooves)، تكون كلها مُنظمة في ترتيب من بضعة نانومترات إلى أكثر من ١٠٠ نانومتر [61]. وتوجد أنواع مختلفة من المصفوفة خارج الخلية (ECM) في جميع الأنسجة القلبية الوعائية (cardiovascular tissues)، بما في ذلك عَضَلُ القلب وصمامات القلب والنظام الوعائي الشرياني (arterial vascular system) والنظام الوعائي الوريدي (venular vascular system). وعلى الرغم من الاختلاف في بُنى المصفوفة خارج الخلية (ECM) في جسم الإنسان والناشئ عن الجزيئات الضخمة (macromolecules) المختلفة وتنظيمها، فإنه يتم الحفاظ على الأبعاد في المستوى النانوي في كل مكان [62]. تقوم المصفوفة خارج الخلية (ECM) بأكثر من مجرد توفير الدعم البنيوي للخلايا؛ فتعتبر المصفوفة خارج الخلية (ECM) هامة جداً لتعديل تحرك (motility) وتكاثر (proliferation) وشكل (مورفولوجيا) (morphology) واستقلاب (metabolism) وتمايز (differentiation) وترسيب مصفوفة (matrix deposition) الخلايا [63]. فعلى سبيل المثال، لقد تم اقتراح أن الخلايا البطانية (ECs) تكون مُحَثَّة (thrombogenic) أكثر على المواد التي هي "ملساء" ("smooth") في المستوى النانوي؛ ولهذا فإن أي من السمات السطحية للمادة هي أكبر بكثير مما هو مُقاس في حجم النانو. إن هذا النقص في مقاومة التخرثر (thromboresistance) يعني بأن الخلايا لن تكون متميزة بشكل كامل، لأنها تعاني من نقص في الوظيفة المضادة للتخرثر (anticoagulant function) [64,65]. وقد افترضَ بأن نقص القوى الميكانيكية للركيزة (substrate - mechanical forces) مع خلايا على مستوى نانوي يؤدي إلى فقد التمايز (dedifferentiation). وفي الواقع، فإن القوى المناسبة تكون مُولَّدة أكثر على الأرجح في الجسم الحي عن طريق سمات طوبوغرافية (topographic features) في نطاق قياس من ١٠٠ إلى ١٠٠٠ نانومتر، حيث تجري تفاعلات الخلايا - المصفوفة خارج الخلية (cell - ECM interactions) [66].

إن الغشاء القاعدي هو نوع واحد معين من المصفوفة خارج الخلية (ECM) والذي تركز عليه كافة صفيحات الخلايا الظهارية والبطانية (epithelial and endothelial cell sheets) [61]، بما في ذلك البطانة الوعائية (vascular endothelium). وتفصل هذه الطبقة (الغشاء) ذات السماكة من ٤٠ إلى ١٢٠ نانومتر تلك الأنسجة عن الأنسجة الضامة (connective tissues) الكامنة تحتها، وتتألف بشكل رئيسي من الكولاجين من النمط الرابع (type IV collagen) وألياف اللامينين النانوية (laminin nanofibers) المنطّمة أو المتضمنة في هلامات مائية من بروتيوغليكان سلفات الهيبارين (heparin sulfate).

(proteoglycan hydrogels) [62]. وتعتبر هذه الخصائص حاسمة في إعادة إنشاء تصاميم حاملات الخلايا والأنسجة من أجل هندسة الأنسجة الوعائية لأن الطبقات البطانية الأحادية (endothelial monolayers) تنمو بشكل مباشر على الغشاء القاعدي في الأوعية الدموية الأصلية [62]. وبشكل مماثل، فإن المصفوفة التي تقع تحت الخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMC) تتألف من منبهات بيولوجية (biological cues) ذات حجم نانوي وعناصر بنيوية (structural elements) ذات حجم نانوي. وتتضمن المصفوفة خارج الخلية (ECM) أليافاً من الكولاجين من النمط الأول (ما يقرب من ٤٤٪) والكولاجين من النمط الثالث (٤٤٪) والإيلاستين (١٢٪) [4,67,68] مبعثرة فيما بين البروتيوجليكانات (proteoglycans) المختلفة. انظر الشكل رقم (١٣، ١) لصورة تمثيلية للمصفوفة خارج الخلية (ECM) الأصلية مقارنة مع بعض التقنيات الناشئة من أجل المواد الحيوية ذات السمات النانوية (nanofeatured biomaterials).



الشكل رقم (١٣، ١). التشابه بين البنية البروتينية للمصفوفة خارج الخلية الأصلية (native ECM protein structure) ومصفوفة ألياف النانو البوليمرية المغزولة كهربائياً (electrospun polymeric nanofiber matrix). (a) خلايا الأرومة الليفية (fibroblasts) مزروعة على ليفات الكولاجين (collagen fibrils) لقرنية جُرَد (rat cornea). (من Nishida, et al., *Invest. Ophthalmol.*، 1988، 29، *Vis. Sci.*). (b) مزارع خلايا بطانية (endothelial cells) على مصفوفة من ألياف البولي كابرولاكتون النانوية المغزولة كهربائياً (electrospun PCL nanofiber matrix). (من Ma, Z., et al., *Tissue Eng.*, 11, 101, 2005).

ويمكن لنشر الدعامات الوعائية أن يُقابل أيضاً مع نجاح سريري مُحسّن فيما إذا تم تصنيعها باستخدام تصميم هندسي في مستوى النانو (nanoscale architecture). وعلى الرغم من أنها ليست طبيعية في الأصل، إلا أنها يجب أن تكون مصممة لتحاكي بنية الأنسجة الوعائية الطبيعية التي تمتلك درجة عالية من البنية النانوية. وعلى الرغم من هذه الحقيقة، فإن معظم الدعامات الوعائية التي تُستخدم حالياً هي ملساء في مستوى النانو، وتحد من نمو الخلايا البطانية على هذه البنى [17].

(١٣،٤) الإستراتيجيات التقنية النانوية من أجل هندسة أنسجة قلبية وعائية مُحسّنة NANOTECHNOLOGICAL STRATEGIES FOR IMPROVED CARDIOVASCULAR TISSUE ENGINEERING

تُشكل الخصائص والمميزات المعقدة والمتخصصة لأنسجة عضل القلب والأنسجة الصمامية (valvular tissues)، بما في ذلك الخصائص الميكانيكية التي تسمح بتقلص الأنسجة القلبية وتغيير شكل الصمامات، عقبات كبيرة لإنشاء طُعم وظيفية مهندسة نسيجياً من أجل المداخلات القلبية (cardiac interventions). وبشكلٍ مماثل، فإن تركيب وبنية الجدار الوعائي (vascular wall) تضيفي تحديات فريدة من نوعها من أجل تطوير بدائل حية لأوعية دموية صغيرة القطر مهندسة نسيجياً، والتي يمكن أن تقاوم الضغوط العالية والبيئات النبضية (pulsatile environments) [3]. تُنشئ الطبيعة المعقدة للأوعية الدموية تحدياً هندسياً هائلاً لإعادة التزويد بأنسجة مزروعة ونامية ذات جملة وعائية مايكروية وظيفية (functional microvasculature) بعد المرض أو الإصابة أو الجراحة. وقد تم الافتراض بأن تعديل سطح المادة الحيوية في مستوى النانو يمكن أن يؤدي إلى تحسين استجابة الخلايا والأنسجة للمواد الحيوية المزروعة [69-71]. ويمكن للمنبهات الطبوغرافية النانوية (nanotopographical cues) أن تغير الوظائف الخلوية الأساسية بما في ذلك الالتصاق والإجْلاب (recruitment) (الزيادة التدريجية في شدة المنعكس عند استمرار التنبيه) والحركة (movement) والشكل أو المورفولوجيا والموت المبرمج للخلايا (apoptosis) والتعبير الجيني وإنتاج البروتين؛ ولهذه الأسباب [69,72,73]، فقد أصبح البناء النانوي (nanostructuring) للمواد المهندسة نسيجياً مجالاً مهماً جداً في بحوث المواد الحيوية. ومن أجل إستراتيجيات هندسة الأنسجة القلبية الوعائية والتي تتضمن الأنسجة العضلية القلبية وطعوم الصمامات القلبية وتطوير طعوم الأوعية الدموية صغيرة القطر (small caliber vessel grafts) والبنى التي تحمل الخلايا والأنسجة المهندسة نسيجياً والتي تشجع على التوعي الجديد (تكوّن الأوعية الجديدة) في الأنسجة المحيطة، فإنه من الواضح أن إنشاء سمات ذات حجم نانوي على المواد الحيوية يمكن أن يحاكي بشكل أكثر دقة السمات الطبيعية للمصفوفة خارج الخلية (ECM) لأنواع الخلايا القلبية الوعائية (cardiovascular cell types) من أجل تحسين التصاق ونمو الخلايا.

(١٣،٤،١) هندسة سمات طبوغرافية نانوية على المواد الحيوية Engineering of Nanotopographical Features on Biomaterials

كما نُوقش سابقاً، فإن الإجراءات التي تشمل مواد الدعامات الوعائية ستستفيد من البنية النانوية على الطُعم المعدني. لقد قام Choudhary وآخرون [17] بتصنيع بُنى من التيتانيوم (Ti) ذات بنية نانوية وذات نعومة نانوية (nanosmooth) لدراسة القدرة على البقاء على قيد الحياة ودراسة وظيفة الخلايا الوعائية على مثل هذه البنى. وقد تم استخدام التصوير بواسطة مجهر

القوة الذرية (atomic force microscopy - AFM) لتأكيد وجود البنى النانوية الهندسية على مركبات التيتانيوم المدججة ذات البنية النانوية، مُظهرًا زيادة في خشونة السطح تقرب من حوالي ٢.٥ ضعفًا، بالمقارنة مع مركبات التيتانيوم المدججة التقليدية. وقد كان التصاق كلٍّ من الخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMCs) والخلايا البطانية (ECs) أكبر بكثير على سطوح التيتانيوم ذات البنية النانوية مقارنة مع سطوح التيتانيوم ذات النعومة النانوية. وقد أظهرت التجارب طويلة الأمد لدراسة قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة ودراسة كثافة الخلايا أن سطوح التيتانيوم ذات البنية النانوية قد سهلت نمو طبقة أحادية متكدسة (confluent monolayer) لكلٍّ من الخلايا البطانية (ECs) والخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMCs) في أيام تسبق تلك على سطوح التيتانيوم التقليدية. والأهم من ذلك، أن كلاً من الخلايا البطانية (ECs) والخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMCs) قد أظهرت زيادة لأكثر من ضعفين في إنتاج الكولاجين والإيلاستين على سطوح التيتانيوم النانوية الخشنة (nanorough Ti)؛ مما يُظهر أن البنية النانوية الهندسية (nanoarchitecture) قد أدت إلى زيادة في تركيب المصفوفة خارج الخلية (ECM) وفي وظيفة الخلية.

ينطوي تصميم معظم إستراتيجيات هندسة الأنسجة الوعائية على بذر وزراعة الخلايا البطانية (ECs) والخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMCs) لإنشاء أوعية دموية أكثر وظيفية قبل عملية الزرع. وعلى أي حال، تتألف هذه المواد من ألياف ذات حجم مايكروبي وسمات سطحية لا تحاكي على نحو كافٍ الطوبوغرافيا الطبيعية ذات الأبعاد النانوية (natural nanodimensional topography) للأنسجة الوعائية التي سيتم استبدالها [61,74]. وقد تكون هندسة السمات النانوية (nanofeatures) على سطوح المواد الحيوية ضرورية لتوضيح المصفوفة خارج الخلية (ECM) الطبيعية للخلايا البطانية والخلايا العضلية الوعائية الملساء بشكل أكثر دقة.

لقد زرع Miller وآخرون [75] خلايا بطانية وخلايا عضلية ملساء أبهرية جُرذِيَّة على أفلام من بولي (حمض كو - غليكوليك - لاكتيك) (poly(lactic-co-glycolic acid) - PLGA) تم معالجتها مع هيدروكسيد الصوديوم (10 N NaOH) لمدة ساعة واحدة وذلك لإنشاء سمات نانوية على سطح الفيلم. لقد أدت هذه المعالجة إلى حفر خشونة سطحية (surface roughness) أكبر بمقدار من ٤٧٦٪ إلى ٥٠٢٪ على هذه الأفلام مقارنة مع العينات غير المعالجة (untreated samples)، وذلك اعتمادًا على طريقة تصنيع الفيلم. وقد تم بعد ذلك مقارنة هذه الأفلام المعالجة مع الأفلام غير المعالجة ذات البنية المايكروية (المعالجة باستخدام هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) المخفف أكثر ولفترة زمنية أقصر)؛ وذلك لتحديد تأثيرات الطوبوغرافيا النانوية على التصاق ونمو الخلايا البطانية (ECs) والخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMCs). ومن المثير للاهتمام، أن التصاق الخلايا البطانية (ECs) قد انخفض بشكل كبير على الأفلام ذات السمات النانوية (nanofeatured films)، على الرغم من أنها زادت وبشكل ملحوظ من التصاق الخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMC) على البوليمر. وبطريقة مماثلة، فقد بيّنت تجارب كثافة الخلايا مع مرور الوقت أن بولي (حمض كو - غليكوليك - لاكتيك) (PLGA) ذا السمات النانوية قد دعم وبشكل ملحوظ زيادة كثافة الخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMC) على مدى خمسة أيام في المزرعة، في حين يمنع وبشكل كبير نمو الخلايا البطانية (ECs) على السطح نفسه. ومع ذلك، فقد تم إنشاء تحفيز كبير لنمو الخلايا البطانية (ECs)

على البولي (حمض كو - غليكوليك - لكتيك) (PLGA) ذي السمات النانوية، والذي تمت صناعته من خلال صب (قابلة) مطاط صناعي من السيليكون (silicone elastomer casting method) بدلاً من طريقة صب المذيب (solvent - casting approach) الأكثر تقليدية [75]. وقد أظهرت هذه الدراسات أنه عن طريق المحاكاة الأفضل للميزات السطحية (surface characteristics) للمصفوفة خارج الخلية (ECM) الطبيعية، تم تحسين التصاق ونمو الخلايا البطانية (ECs) والخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMC) على المواد الحيوية. وقد اختبرت تجارب أخرى الآلية التي من خلالها تحفز زيادة الطوبوغرافيا النانوية السطحية (surface nanotopography) التصاق ونمو الخلايا الوعائية، حيث أظهرت أن عينات البوليمر ذات البنية النانوية قد امتزت (امتصت) فبرونيكتين (fibronectin) وفيترونكتين (vitronectin) أكثر بشكل ملحوظ من السطوح ذات الخشونة النانوية (nonroughened surfaces) [76]. ولأن هذين النوعين من البروتينات حاسمان من أجل التوسط للالتصاق الخلوي (cellular adhesion)، فإنه من الواضح أن زيادة تجاذب بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) على المواد ذات السمات النانوية قد يوفر الأساس لتحسين أداء الخلايا الوعائية.

كما يمكن أيضاً تطبيق الطوبوغرافيا النانوية على سطوح المواد الحيوية بطرق أكثر دقة ومُفَصَّلة أكثر مما هو ممكن باستخدام الحفر القاعدي (base - etching) للبوليمرات من خلال الحفر العَرَوَانِيّ (colloidal lithography) ونقش الطبقة الرئيسية (embossing master). فباستخدام تقنيات الحفر العَرَوَانِيّ، تتم المبادعة بين غرويات نانوية (nanocolloids) (مواد غروانية نانوية) ويتم تجميعها بشكل كهروستاتيكي على سطح البوليمر وتستخدم كقناع لتغيير سطح الركيزة. ومن ثم تتم إزالة هذه الغرويات عن طريق الحفر؛ مما يؤدي إلى إنتاج سطح ذي أعمدة نانوية أسطوانية (cylindrical nanocolumns) [70,71]. وتستخدم تقنيات نقش الطبقة الرئيسية ركائز معدنية أو ركائز إيبوكسية (epoxy substrates) ذات شكل أو نمط مرغوب، والتي يتم إنتاجها عن طريق تقنية الكتابة باستخدام الحزم الإلكترونية (electron beam writing technology). ومن ثم يتم ضغط الطبقة الرئيسية (master) حرارياً في مادة لنقل الشكل أو النمط المعكوس (reverse pattern) على السطح [72]. وقد استخدم Giavaresi وآخرون [73] هذه التقنيات لإنشاء حُفَر نانوية (nanopits) بعمق ١٠٠ نانومتر وقطر ١٢٠ نانومتر على سطح من بوليستر ٣-هيدروكسي بوترات-كو-٣-هيدروكسي فاليرات (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (3HB - 3HV) الذي يحتوي على ٨ ٪ من (3HV)، وأسطوانات نانوية (nanocylinders) من البولي كابرولاكتون (PCL) ذات ارتفاع ١٦٠ نانومتر وقطر ١٠٠ نانومتر على كتلة البولي كابرولاكتون (PCL). وقد اختبر المؤلفون استجابة الأنسجة الموضعية في الجسم الحي لعملية زرع مواد ذات سمات نانوية تحت الجلد (subcutaneous)، بالمقارنة مع عينات مراقبة من البوليمر غير المعالج (untreated polymer controls). ومن الجدير بالذكر أن السطوح ذات البنية النانوية قد أظهرت كبسولات التهابية (inflammatory capsules) محيطة بالطعوم أسمى من تلك المحيطة بسطوح البوليمر غير المعدلة. وقد حُتَّت طعوم البولي كابرولاكتون (PCL) وبشكل ملحوظ على توليد كثافة وعائية بعد ١٢ أسبوعاً من عملية الزرع أكبر من تلك الخاصة بطعوم الـ (3HB - 3HV)، كما حُتَّت طعوم البولي كابرولاكتون (PCL) ذات البنية النانوية على توليد كثافة وعائية أكبر من تلك الخاصة بعينات المراقبة من البولي كابرولاكتون (PCL). إن هذه المجموعة من التجارب تمثل التقييم الأول

لاستجابة الأنسجة الموضعية للسّمات الطبوغرافية النانوية؛ مما يدل على أن السطوح ذات الطبوغرافيا النانوية قد تشجع على زيادة التوعيّ الجديد في الجسم الحي. ولذلك؛ فإن إنشاء سطوح مواد حيوية ذات سمات نانوية (وعلى وجه الخصوص إنشاء أعمدة نانوية (nanocolumns)) يمكن أن يكون وسيلة جذابة لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة مهندسة نسيجياً تهدف إلى زيادة نمو أوعية دموية جديدة في الأنسجة المتجددة.

وكإستراتيجية بديلة لتشكيل سمات نانوية على شكل خشونة سطحية أو أسطوانات نانوية على سطح كتلة من البوليمر، قام Goodman وآخرون [65] بقولبة (cast) (وضع قالب صب) المصفوفة خارج الخلية (ECM) الفعلية الأصلية على سطح البوليمر. وقد تم إعداد نسخة معكوسة مطابقة للأصل (inverse replica) من سطح المصفوفة خارج الخلية (ECM) تحت البطانة (subendothelial ECM surface) لوعاء دموي مُعرّى ومتنفخ (denuded and distended vessel) عن طريق قولبة أو صب الحيز اللمعي (luminal space) براتن (راتنج) بوليمري (polymeric resin). بعد ذلك تم نسخ سطح المصفوفة خارج الخلية المنسوجة (textured ECM surface) في البولي يوريثين (polyurethane)، وقد تم أيضاً ملاحظة طبوغرافيا معقدة في مستوى ما دون المايكرومتر مع العديد من السمات التي يمكن قياسها في ترتيب من ١٠٠ نانومتر. وبعد ذلك أظهر Goodman وآخرون بأن الخلايا البطانية قد أظهرت التصاقاً وشكلاً أفضل على أفلام البوليمر التي تم قولبة أو صب المصفوفة خارج الخلية عليها (ECM - cast polymer films) من تلك على عينات المراقبة غير المنسوجة (nontextured control). ففي حين أن هذه التقنية قد التقطت وبشكلٍ مؤكد السمات النانوية للمصفوفة خارج الخلية (ECM) الأصلية، إلا أنه قد تم تدمير قالب الصب من أجل استعادة النسخة المطابقة للأصل من مادة البولي يوريثين وذلك من أجل إجراء المزيد من الدراسة. ولذلك؛ فإن كل طُعْم / حاملة خلايا وأنسجة (graft / scaffold) سيتطلب قالب المصفوفة خارج الخلية (ECM - cast) الخاص به، الأمر الذي يعتبر غير ناجع من حيث الوقت والتكلفة [75].

(١٣،٤،٢) التحديد الوظيفي لسطوح المواد الحيوية باستخدام عناصر ذات حجم نانوي Functionalization of Biomaterial Surfaces With Nanosized Motifs

كبدل لهندسة الخشونة السطحية أو السمات السطحية في الأبعاد ذات المستوى النانوي على سطوح المواد الحيوية، فقد تم اقتراح التحديد الوظيفي المباشر للسطح (direct surface functionalization) (إضافة مجموعات وظيفية كيميائية للسطح) باستخدام أنماط أو عناصر ببتيدية وبروتينية نشطة حيوياً (bioactive peptide and protein motifs) وذلك لتحسين التصاق ونمو ووظيفة الخلايا الوعائية. يجب على المواد المناسبة لتطبيقات هندسة الأنسجة، بما في ذلك الأنظمة الوعائية، أن تكون لها خصائص ميكانيكية وبنوية وتحليلية (degradation) ضمن المجالات الصلبة (rigid ranges)، ويجب أن تدعم أيضاً نقل الإشارات (signal transmission) مع الأنسجة المحيطة بها [77]. واحدة من الطرق لدمج جميع هذه القيود التصميمية هي استخدام طريقة التغليف بطبقة خارجية، أو التحديد الوظيفي لسطح مادة كتلية (bulk material).

إن الأوستيوبونتين (Osteopontin - OPN) هو واحد من تلك البروتينات المقترحة لمثل هذه الإستراتيجيات. يربط الأوستيوبونتين (OPN) وهو بروتين متعدد الوظائف (multifunctional protein) العديد من أنواع الخلايا من خلال

التفاعلات التي تتم بواسطة قليل الببتيد الأرجينين - غليسين - أسبارتات (RGD - mediated interactions) مع إنتغرينات (integrins) متنوعة [78]، ويمكن أن يربط نفسه مع مكونات المصفوفة خارج الخلية (ECM) بما في ذلك الكولاجين [79] والفيبرونيكتين [80]، وقد ثبت بأنه يعزز التئام الجروح (wound healing) [81] وبقاء الخلايا البطانية [82] وتولد الأوعية الدموية [83]. عندما يرتبط عنصر (motif) بسطح المواد الحيوية في تشكيل وتوجيه وثيق الصلة بالناحية الفيزيولوجية، يمكن للأوستيوبونتين (OPN) تسهيل البقاء والنمو البطاني والتئام الجروح وانخفاض رد الفعل الالتهابي (inflammatory reaction) لحاملات الخلايا والأنسجة المزروعة والمصنوعة من مواد حيوية [84]. وقد استغل Liu وآخرون [84] التحكم بطبقة الغلاف الخارجية للسطح والناجمة من خلال طبقات أحادية مُجمعة ذاتياً (self-assembled monolayers - SAMs) مبنية على أساس الهيدروكربون (hydrocarbon) وذات تحديد وظيفي أنتهائي وذلك لربط الأوستيوبونتين (OPN) على سطوح المواد الحيوية. وقد انتهى المؤلفون إلى أن الطبقة الأحادية المجمعة ذاتياً والمنتهية بـ (NH_2) مع استخدام بروتين الأوستيوبونتين (OPN) الممتز قد زادت من طبقة الغلاف الخارجية إلى الحد الأعلى، وقد تم إظهار تكّس (تجميع) بروتيني (protein aggregation) وتغطية غير كاملة ببروتين الأوستيوبونتين (OPN) على عينات كارهة للماء (hydrophobic) منتهية بـ (CH_3). وقد كان هناك تشابه بين التغطية بخلايا بطانية أبهرية بقرية (bovine aortic endothelial cells) على سطح المادة وصور مجهر القوة الذرية (AFM)؛ مما يشير إلى أن الربط البروتيني بجزء الـ (NH_2) قد يُحسن تشكيل / توجيه بروتين الأوستيوبونتين (OPN) الذي تلتصق به الخلايا البطانية. وبما أنه قد وُجد بأن امتداد انتشار الخلايا يعزز من نمو ووظيفة الخلايا [85,86]، فيمكن إذاً لحاملات الخلايا والأنسجة المعالجة ببروتين الأوستيوبونتين (OPN) أن تزيد من البقاء البطاني ومن القدرة وعائية المنشأ (angiogenic potential) [84]. ويمكن لهذه الحاملات بسبب فائدتها أن تُستخدم في المستقبل لزيادة الوعي الجديد في حاملات الخلايا والأنسجة المهندسة نسيجياً وأن توفر طبقة غلاف خارجية لسطوح المواد الحيوية المصممة من أجل الطعوم الوعائية صغيرة القطر (small - diameter vascular grafts).

ويمكن أيضاً للأفلام النانوية متعددة الطبقات (multilayer nanofilms) والمصنوعة من خلال طريقة طبقة تلو الطبقة (layer - by - layer - LbL) أن تُستخدم لإنشاء أفلام رقيقة نشطة حيوياً (bioactive thin films) على المواد بطريقة بسيطة ويمكن التحكم بها. وينطوي هذا النوع من التجميع على الامتصاص المتبادل (alternate adsorption) لمتعددات الكهارل المشحونة إيجابياً وسلبياً (positively and negatively charged polyelectrolytes) [87-93]، ويمكن للفيلم التالي أن يُزخرف في وقت لاحق باستخدام جزيئات نشطة حيوياً (bioactive molecules) قادرة على نقل الإشارات إلى الخلايا. وقد قام Wittmer وآخرون [77] بإنشاء فيلم نانوي ذي طبقات من البولي (إل - ليزين) (poly(L-lysine) - PLL) وثنائي سلفات الديكستران (dextran disulfate - DS)، وإنهاء الفيلم باستخدام أجزاء الفيبرونيكتين (fibronectin moieties) لتعزيز التصاق وانتشار الخلايا البطانية على سطح المادة [94]. وقد سمحت هذه الطريقة بإنشاء أفلام ذات سماكات نانوية: فقد كانت سماكة طبقة البولي (إل - ليزين) - ثنائي سلفات الديكستران (DS - PLL) حوالي ١٠ نانومترات، مع طبقة غلاف خارجية من الفيبرونيكتين بسماكة ٢٢ نانومتراً موضوعة فوقها. بعد ذلك اختبر Wittmer وآخرون حركيات (kinetics)

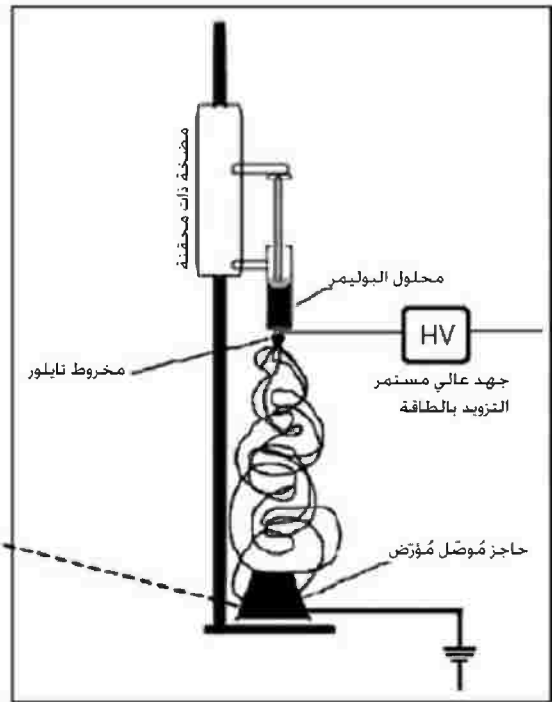
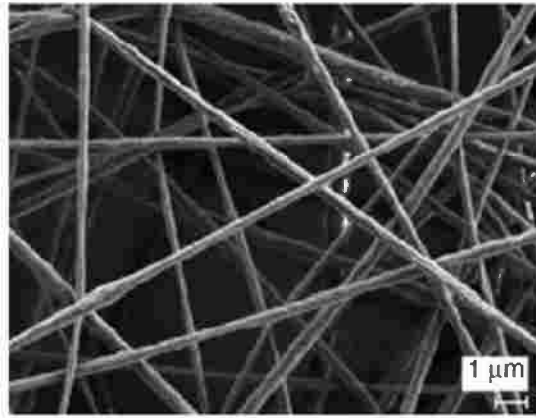
الخلايا البطانية الوريدية السريّة البشرية (human umbilical vein EC) على سطوحها، مشيراً إلى أن الخلايا على السطح المغطى بالفبرونيكتين قد انتشرت بنسبة ١٤٠٪ بالمقارنة مع تلك من أجل سطوح التيتانيوم غير المعالجة. وبالتالي؛ قد يكون هذا النموذج بمثابة إستراتيجية واحدة لعرض طبقات ذات أحجام نانوية (nanosized layers) من المنبهات أو الإشارات البيولوجية، مثل الفبرونيكتين، على المواد الحيوية المستخدمة من أجل هندسة الأنسجة الوعائية لتعديل تفاعلات الخلايا؛ وبالتالي زيادة وظيفة الخلايا.

بالإضافة إلى البروتينات، فقد تم اقتراح مواد غير عضوية (inorganics) / مواد سيراميكية (ceramics) وثيقة الصلة من الناحية الفيزيولوجية كطبقات غلاف خارجية من أجل المواد المستخدمة في هندسة الأنسجة الوعائية. وقد قام Furozono وآخرون [95] بإنشاء طبقة غلاف خارجية من بلورات الهيدروكسي أباتيت البلورية النانوية (nanocrystalline hydroxyapatite (HA) crystals) على نسيج من الداكرون (Dacron fabric) من خلال الارتباطات التساهمية (covalent linkages)، واقترحوا استخدامه كمادة لطعم صغير القطر. وكما نُوقش في الفقرة (١٣،٢)، فإن الداكرون هو مادة تُستخدم بنجاح كمادة طعم تحويلي من أجل الأوعية الدموية ذات القطر الأكبر من ٦ ميليمترات؛ فعندما يتم إدراج الداكرون (أو أي مادة تقليدية أخرى) في أوعية صغيرة القطر (smaller caliber vessels)، يفشل التحويل بسبب التخرش أو عودة التضيق. وقد اقترح Furozono وآخرون أن استخدام طبقة غلاف خارجية من الهيدروكسي أباتيت ذات حجم نانوي (nanosized HA coating) يمكن أن تزود بتفاعلات مُمرضة (pathogenic interactions) مع الخلايا البطانية أقل من نسيج الداكرون وحده. يُظهر المؤلفون وبوضوح أن نسيج الداكرون خاصتهم المغلف بالهيدروكسي أباتيت (HA) يسمح بالتصاق الخلايا البطانية الوريدية السريّة البشرية بشكل أفضل بكثير من نسيج الداكرون وحده، موضحين أن طبقة الغلاف الخارجية يمكن أن تشجع على تحسين الوظيفة البطانية مقارنة مع ما هو متاح سريريّاً في الوقت الحالي.

(١٣،٤،٣) حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو المغزولة كهربائياً Electrospun Nanofibrous Scaffolds

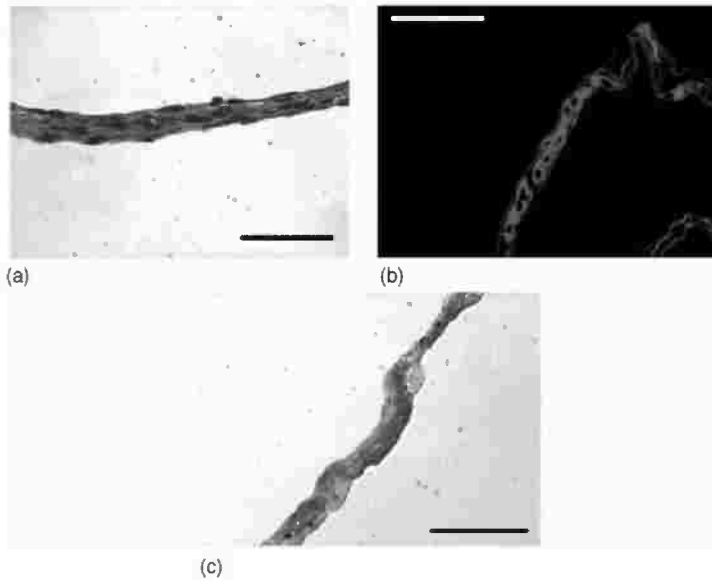
لقد أصبح الغزل الكهربائي طريقة تصنيع شائعة من أجل المواد الحيوية، ولا سيما في مجتمع هندسة الأنسجة؛ وذلك بسبب الاهتمام المتزايد في إنشاء حاملات خلايا وأنسجة مصممة (tailored scaffolds) مع خصائص في مستوى النانو [96]. إن هذه الطريقة تتطلب فقط جهازاً بسيطاً وغير مكلف يتضمن مضخة حقن (syringe pump) ومصدر جهد عالٍ (high voltage source) ومُجمّعاً (collector). ويظهر في الشكل رقم (١٣،٢) مثال على جهاز غزل كهربائي نموذجي (typical electrospinning setup). لإنشاء شبكة من ألياف النانو (nanofibrous mesh)، فإنه يتم تحميل محلول بوليمر (polymer solution) في محفنة وإطلاقه منها ببطء، بحيث تبقى كمية صغيرة من المادة مُعلّقة في طرف الإبرة بواسطة التوتر السطحي. ويقوم جهد عالٍ مُزوّد عن طريق حقل كهربائي (electric field) بشحن المحلول، مؤدياً إلى إنشاء قوة كهروستاتيكية (electrostatic force) في شكل تنافر شحنة (charge repulsion) ضمن المحلول. فعندما يتم التغلب على التوتر السطحي، يتم البدء بنفاث (jet) محلول البوليمر. وعندما يغادر النفاث باتجاه المجمع يتبخّر المذيب ويتم التقاط الألياف [96].

إن هذه الطريقة في تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة قد تم استخدامها لغزل عدد من المواد البوليمرية الاصطناعية والطبيعية كهربائياً [96] إلى ألياف يتراوح قطرها من ٣ نانومترات إلى أكثر من ٥ مايكرومترات [97]. لقد بقيت إمكانية الحصول على سمات في المستوى النانوي على الشبكات المغزولة كهربائياً (electrospun meshes) لا مثيل لها بواسطة أي من التقنيات الأخرى لمعالجة المواد الحيوية. حيث يمكن إنجاز نسبة سطح إلى حجم (surface - to - volume ratio) عالية ومسامية عالية في الشبكات المغزولة كهربائياً وذلك من أجل دمج (incorporation) وإرواء (تدفق أو حقن متواصل) (perfusion) أفضل للخلايا. بالإضافة إلى ذلك، يسمح التحكم بالبنية النانوية بمرونة في تصميم الأنسجة [98]. وقد تم توثيق أن قطر ألياف حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو يمكن أن يمارس تأثيراً ملموساً على سلوك الخلايا [99]؛ وبالتالي يمكن تحديد المجالات المناسبة للألياف من أجل أنواع محددة من الخلايا والبنى النسيجية. ويمكن لحاملات الخلايا والأنسجة المشكّلة من الشبكات المغزولة كهربائياً الاستفادة من الطبيعة الكامنة (inherent nature) للمصفوفة خارج الخلية الأصلية (native ECM) في المستوى النانوي ويمكن بذلك أن تدعم نمو الخلايا والأنسجة التي لا يتم دعمها من خلال التصميم ذات السمات الماكروية (الكبيرة أو الضخمة) أو المايكروية (الصغيرة أو الدقيقة) (macro - or microfeatured designs).



الشكل رقم (١٣،٢). جهاز غزل كهربائي نموذجي (typical electrospinning setup) ومنتجه: طبقة مستوية من الألياف غير الخبوة (nonwoven fiber mat). (من (Yordem, O.S., *Mater. Des.*, 29, 34, 2008).

بسبب العديد من مزايا حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً (electrospun scaffolds)، فقد تم استغلال هذه الطريقة من قبل مهندسي الأنسجة القلبية الوعائية في محاولة لإنشاء أنسجة قلبية. وقد أنتج Shin وآخرون [100]، شبكات غير محبوكة من ألياف البولي كابريولاكتون النانوية (PCL nanofibrous nonwoven meshes) مع متوسط قطر ألياف من ٢٥٠ نانومتر، وقاموا بتغليفها بواسطة الكولاجين لتعزيز التصاق الخلايا. وقد تم تمديد الشبكة عبر حلقة سلكية (wire ring)، مضافة كجهاز تمديد سلبي أو حامل (passive stretching device) لتكييف وإنضاج الخلايا المبذورة على الطعوم وللسماح بالتقلصات (contractions) عند التردد الطبيعي للخلايا. وبعد ٣ أيام في المزرعة، بدأت الخلايا العضلية القلبية الجرذية (rat cardiomyocytes) بالتقلص على حاملة الخلايا والأنسجة، وأظهرت قَلْوصِيَّة أو انقباضاً متواصلًا (continuous contractility) على مدار ١٤ يوماً من الاختبار. ومن المشاهد المقطعية العرضية (cross - sectional views) للشبكات، فقد قامت الخلايا العضلية القلبية بتشكيل ترتيب مُحكم والعديد من الاتصالات ما بين الخلايا (intercellular contacts) في كل مكان من كامل الشبكة (انظر الشكل رقم ١٣,٣ a). وبالإضافة إلى ذلك، فإن تلوين خيوط الأكتين (actin filaments) (الشكل رقم ١٣,٣ b) يُظهر الأكتين في كل مكان من كامل سماكة الشبكة. ويتلون أيضاً وبشكلٍ إيجابي بروتين التروبونين - I القلبي (cardiac troponin - I) (وهو بروتين عضلي) في داخل بُنى حاملة الخلايا والأنسجة - الخلايا (cell - scaffold structures) (الشكل رقم ١٣,٣ c). يُزود هذا العمل بطريقة من أجل تصنيع عضل قلب مُهندس (engineered myocardium) باستخدام بوليمر اصطناعي ذي سمات نانوية (nanoscale features).

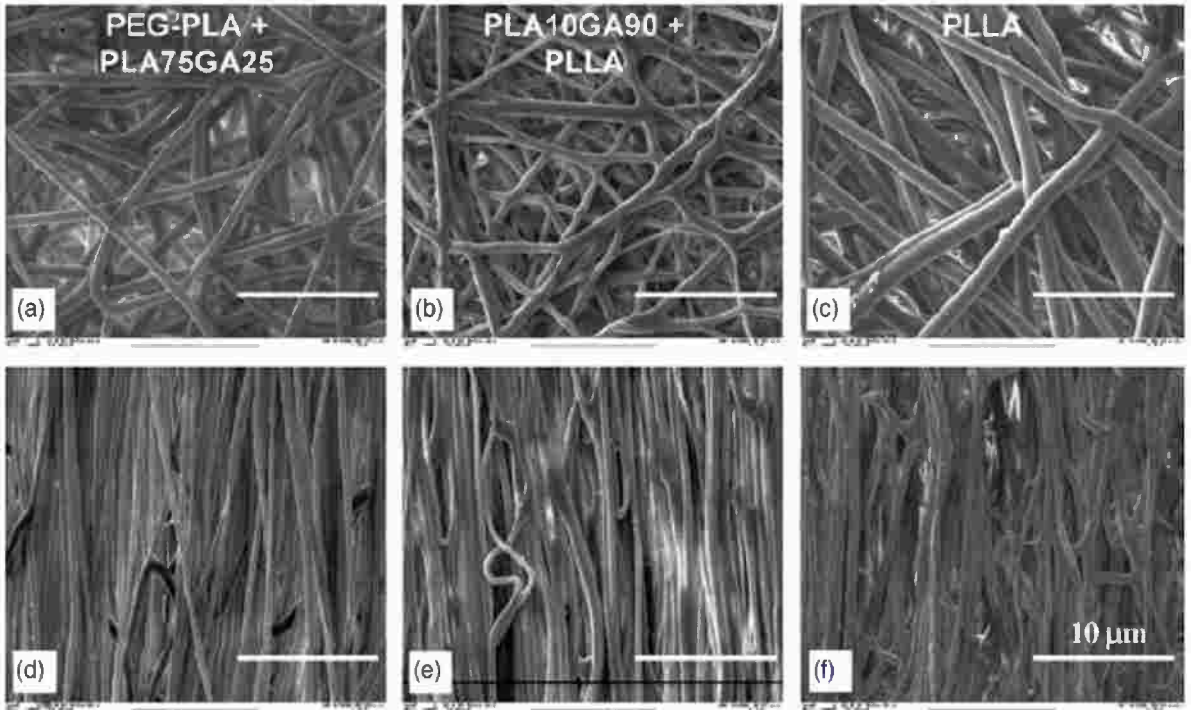


الشكل رقم (١٣,٣). تلوين الخلايا العضلية القلبية الجرذية (rat cardiomyocytes) على شبكة مغزولة كهربائياً من ألياف البولي كابريولاكتون النانوية (nanofibrous PCL electrospun mesh) والتمتدة على حلقة سلكية (wire ring) لتسهيل تقلص الأنسجة (tissue contraction). (a) يبين تلوين الهيماتوكسيلين (hematoxylin) واليوزين (eosin) أن الخلايا التصقت خلال كامل الشبكة. (b) تلوين كيميائي هيستولوجي مناعي (immunohistochemical staining) للإلف - أكتين (F - actin)؛ تجتاز ألياف الأكتين (actin fibers) كامل سماكة حاملة الخلايا والأنسجة البوليمرية. (c) تلوين بروتين التروبونين - I القلبي (cardiac troponin - I)، حيث وُجد في داخل بنية حاملة الخلايا والأنسجة - الخلايا. جميع الصور: بتكبير ٤٠٠ مرة، شريط المقياس - ٥٠ مايكرومتراً. (من (Shin, M., et al., *Biomaterials*, 25, 3717, 2004).

يمكن استخدام الغزل الكهربائي لمعالجة مشاكل النمو الاتجاهي (directional growth) أو تباين الخواص المتأثر بالاتجاه (anisotropy) في تنظيم الخلايا / الأنسجة بسهولة. إن تباين الخواص المتأثر بالاتجاه أمر بالغ الأهمية من الناحية الوظيفية من أجل هندسة الأنسجة القلبية [101-103]، وبالتالي، فقد أصبح الغزل الكهربائي وسيلة شائعة لتصنيع حاملات الخلايا والأنسجة من أجل نماذج هندسة الأنسجة القلبية. على سبيل المثال، لقد قام Zong وآخرون بتصنيع أغشية من بولي (حمض كو - غليكوليك - لاكتيك) ذات بنية نانوية ما دون المايكرون (submicron nanostructured PLGA membranes) باستخدام نسب متفاوتة من البوليمرات والتراكيب، بما في ذلك الاختلافات في معدل الكراهية للماء (hydrophobicity rate) ومعدل التحلل (حيث تم استخدام حمض البولي لاكتيك (polylactic acid)، و ٢٥:٧٥ من بولي (حمض كو - غليكوليك - لاكتيك) (PLGA)، وبوليمر مشترك من ٢٥:٧٥ من بولي (حمض كو - غليكوليك - لاكتيك) (PLGA) وبولي إيثيلين غليكول - بولي (حمض كو - غليكوليك - لاكتيك) (IPEG - PLGA). ولإنتاج بنية هندسية ذات ألياف موجهة ومتباينة في الخواص (oriented, anisotropic fiber architecture) من حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً والموجهة بشكل عشوائي (randomly - oriented electrospun scaffolds)، فقد تم تمديد الشبكات بشكل أحادي المحور بنسبة تمديد تصل إلى ٢٠٠٪ وبمعدل ثابت من ٤ ميليمترات / دقيقة عند درجة حرارة ٦٠ مئوية، ومن ثم تبريدها إلى درجة حرارة الغرفة تحت التوتر (الشدة) (tension). ويظهر الشكل رقم (١٣.٤) نتائج إجراء التمدد أحادي المحور (uniaxial stretching)، والذي أنتج حاملات خلايا وأنسجة بوليميرية موجهة ومتباينة في الخواص بشكل متجانس. وقد أظهرت دراسات لاحقة باستخدام الخلايا العضلية القلبية الجُرذِيَّة أن الخلايا تراصفت مع اتجاه ألياف المادة الحيوية (biomaterial fiber direction) مع نوى متطاولة (elongated nuclei)، وأن محاذاة الألياف (fiber alignment) في مرحلة ما بعد المعالجة (post - processing) قد وفّرت توجيهاً للخلايا لتنمو على طول اتجاه التمدد. وبالتالي؛ يمكن لتقنيات الغزل الكهربائي مع إجراءات معالجة لاحقة لإنشاء شبكات متباينة في الخواص أن تُطور هندسة أنسجة قلبية، من حيث إنشاء حاملات خلايا وأنسجة ذات خصائص هامة من أجل النمو الاتجاهي للأنسجة القلبية (directional growth of cardiac tissue).

وقد تم اقتراح الغزل الكهربائي كوسيلة من أجل تصنيع طُعم الصمام الأبهر (aortic valve implant)، حيث إن للصمامات القلبية أشكالاً هندسية (geometries) ومتطلبات ميكانيكية (mechanical requirements) معقدة للغاية. وبشكل نظري، يمكن للشبكات أن تكون مغزولة كهربائياً على مُجمّع بأي شكل هندسي يمكن تصوره، وكما هو موصوف أعلاه، فقد تم تطوير طرق من أجل التلاعب بالخصائص الميكانيكية للشبكات المغزولة. وقد قارن Van Lieshout وآخرون [104] جدوى الغزل الكهربائي للبولى كابرولاكتون (PCL) من أجل الطُعم الصمامي (valve implants)، بالمقارنة مع نسج أو حياكة (knitting) نفس البوليمر. تشير الحياكة إلى التقنية المستخدمة لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة وبدائل اصطناعية معينة، بما في ذلك الدعامات الوعائية، والتي يمكن أن تُنتج أيضاً أشكالاً هندسية معقدة. وقد تم تصنيع البولى كابرولاكتون (PCL) في الشكل الهندسي للصمام الأبهر باستخدام كلتا تقنيتي تنظيم الألياف، وتم تعريض الطُعم الصمامي الناتجة إلى اختبار ناسخ (مُقلد) النبض (pulse duplicator testing) لفحص وظيفتها في نظام نسخ (تقليد) التدفق (system replicating the flow).

لقلب الإنسان. وقد كانت طريقة أداء الطُعوم الصِّماميّة المنسوجة (Knitted valve implants) أفضل من الطُعوم المغزولة (spun implants) وذلك لفترة أكثر من ٦ ساعات أثناء اختبار تقليد النبض. حيث إن الصمام المغزول كهربائياً لا يفتح بشكلٍ متناظر، وقد شوهد انفصال لوحدة وريقية - جيبيّة (leaflet - sinus unit) واحدة من جدار الشريان الأبهري (aortic wall)، وفي نهاية المطاف، تتمزق واحدة من الوريقات (leaflets) بشكلٍ كامل. ومع ذلك، فإن كلاً من حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً والمنسوجة وذات الطبقات والتي تحتوي على كلٍ من التقنيتين قد تم اختبارها على حدٍ سواء من أجل استخدامها كطُعوم صِّماميّة أبهرية.



الشكل رقم (١٣،٤). (من a إلى c) صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM photographs) لأغشية مغزولة كهربائياً (electrospun membranes) مُعدّة كما هي بدون معالجة إضافية (a) PEG - PLA + PLA75GA25 و (b) PLA10GA90 + PLLA و (c) PLLA. (من d إلى f) صور المجهر الإلكتروني الماسح المقابلة لأغشية مغزولة كهربائياً بعد تمديد أحادي المحور (uniaxialstretching) لتصنيع شبكات بوليمرية مُوجّهة متباينة في الخواص من أجل هندسة الأنسجة القلبية. (من

(Zong, X., et al., *Biomaterials* 26, 5330, 2005).

ومن أجل تطبيقات هندسة الأنسجة الوعائية، درس الباحثون استجابة الخلايا البطانية لمجالات مختلفة من حجم الألياف لتحسين التصاقها ونموها على سطوح بمستوى النانو (nanoscaled surfaces). على سبيل المثال، قام Kwon وآخرون [105] ببذر خلايا بطانية وريدية سرية بشرية على مصفوفات (matrices) من البولي (لاكتيد - كابرولاكتون) (PLCL - poly (lactide-co-caprolactone)) المغزول كهربائياً وبمتوسط أقطار ألياف مختلف، وقد حددوا أن نمو الخلايا كان أفضل على الألياف عند النهاية الأعلى لمستوى النانو (ما يقرب من ١ مايكرومتر). إن النمو الأمثل للخلايا البطانية سوف يكون في حاجة إلى تحسين وذلك من أجل كل مادة حيوية يتم اختبارها ومن أجل كل نوع من الخلايا البطانية يتم استخدامها في الدراسات.

لقد تم اختيار عدد لا يحصى من المواد الحيوية لإجراءات الغزل الكهربائي من أجل هندسة الأنسجة الوعائية. وقد تم اقتراح بولي (الفوسفازينات العضوية) (poly(organophosphazenes)) كمادة حيوية مناسبة لتطبيقات الغزل الكهربائي من أجل هندسة الأنسجة الوعائية. إن لدى هذه البوليمرات جزءاً أساسياً ذا وزن جزيئي مرتفع (high molecular weight backbone) من تناوب لذرات الفوسفور (phosphorus atoms) وذرات النيتروجين (nitrogen atoms) ومجموعتين عضويتين جانبيتين. وتشير الخصائص التي تتضمن التحلل الحامضي (التحلل بالماء) (hydrolytic degradation) إلى منتجات غير سامة [106] والقدرة على دعم الالتصاق لأنواع مختلفة من الخلايا، بما في ذلك الخلايا البطانية [107]، إلى أن بولي (الفوسفازينات العضوية) قد تكون مناسبة من أجل بُنى الخلايا - البوليمرات الوعائية (vascular cell - polymer constructs). وقد قام Carampin وآخرون [108] بتركيب بوليمر مشترك جديد، وهو بولي لفوسفازين (إيثيل فينيل آلاناتو)_{١.٤} (إيثيل غليسيناتو)_{٠.٦} (poly[(ethyl phenylalanato)_{1.4} (ethyl glycinato)_{0.6} phosphazene] - Pphe - GlyP)، وإجراء الغزل الكهربائي لأنابيب باستخدام ألياف ذات مجالات قياس مختلفة. وباختيار البارامترات التي أعطت متوسط حجم ألياف بمقدار 850 ± 150 نانومتر، أظهر الباحثون بأن تكاثر الخلايا البطانية العصبية الوعائية المايكروية (rat neuromicrovascular EC) ازداد بشكل ملحوظ، وذلك بالمقارنة مع عينات مراقبة مزارع الأنسجة (tissue - culture controls). ولفترة زراعة امتدت لـ ١٦ يوماً، انتشرت طبقة أحادية متكلسة من الخلايا البطانية من خلال القطر الداخلي لأنبوب الـ (PPhe - GlyP) من دون الدخول في الطبقات الداخلية؛ وبالإضافة إلى ذلك، لم ينهار الأنبوب أثناء هذا الإطار الزمني. وبالتالي، يمكن لهذه المواد الأنبوبية ذات الألياف النانوية (nanofibrous tubular materials) أن تكون واعدة كبداية وعائية صغيرة القطر (small - diameter vessel substitutes).

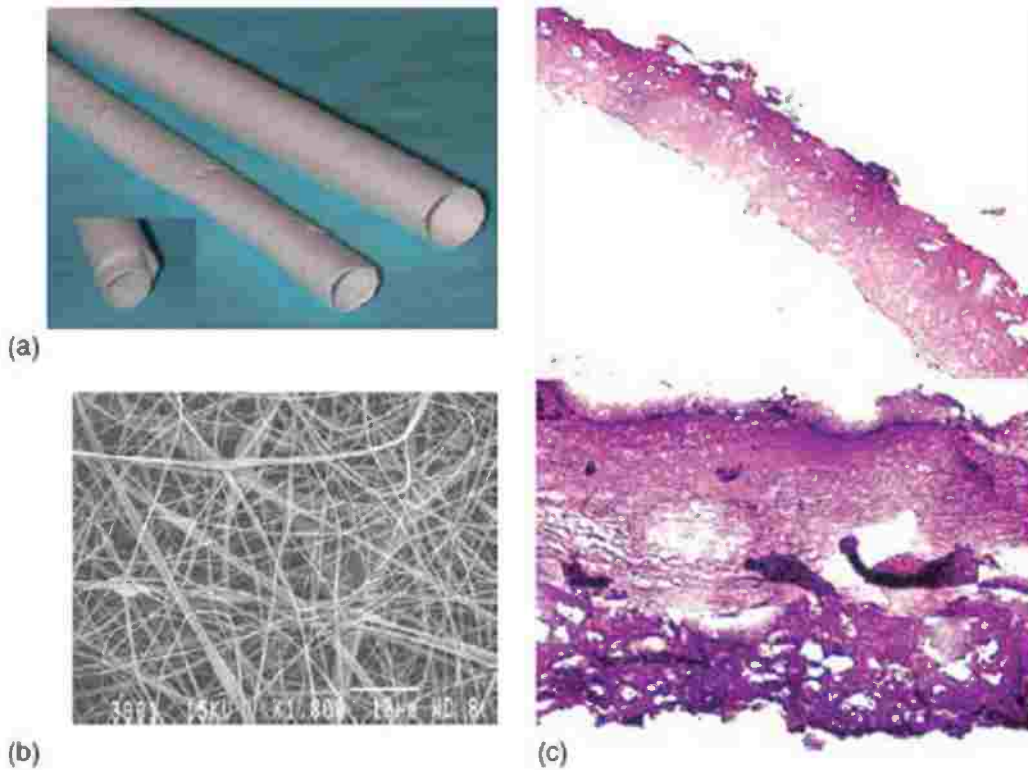
بالإضافة إلى البوليمرات القابلة للتحلل (biodegradable polymers)، فقد تم اقتراح المواد الطبيعية أيضاً كحاملات خلايا وأنسجة من أجل البنى الوعائية. وقد تمت مناقشة الكولاجين [109] والإيلاستين [110] سابقاً على اعتبار أنهما من العناصر الأساسية للمصفوفة خارج الخلية الوعائية (vascular ECM)، وقد تم غزلهما كهربائياً لإنتاج ألياف ذات أقطار نانوية تحاكي الخصائص الجزيئية والنيوية للغشاء الأصلي (native membrane) بطريقة لا مثيل لها بواسطة المواد التركيبية أو الاصطناعية. لقد خلط He وآخرون [111] البولي (لاكتيد - كابرولاكتون) (PLCL) مع الكولاجين لتشكيل ألياف

نانوية مع متوسط أقطار ما بين ١٠٠ و ٢٠٠ نانومتر. وقد كانت الطبقات المستوية (mats) من هذه الألياف النانوية أقل صلابة بكثير من مادة الداكرون التقليدية، والتي تعتبر مفيدة من أجل هندسة أنسجة الأوعية الدموية التي سوف تواجه تدفقاً نبضياً (pulsatile flow). وقد أظهر المؤلفون أيضاً زيادة في انتشار الخلايا البطانية على أليافهم النانوية المصنوعة من البوليمرات المخلوطة (blended polymer nanofibers) مما هو عليه على الألياف النانوية الاصطناعية. وقد جمع Stitzel وآخرون [112] بين البوليمرات الطبيعية والبوليمرات الاصطناعية من خلال الغزل الكهربائي لمزيج من الكولاجين (٤٥ ٪) والإيلاستين (١٥ ٪) والبولي (حمض كو - غليكوليك - لاكتيك) (PLGA) (٤٠ ٪)، قد تم تضمينها من أجل منتج غزل كهربائي أفضل بكثير مما كان ممكناً باستخدام المواد الطبيعية لوحدها). وقد عرضت الأنابيب ذات ألياف النانو مطاوعة (compliance) مماثلة لتلك الخاصة بالجملة الوعائية الطبيعية (natural vasculature) (تغير القطر من ١٢ ٪ إلى ١٤ ٪ مقابل ٩ ٪ من أجل الأوعية الدموية الأصلية)، كما استطاعت أن تقاوم ضغوطاً انفجارية (burst pressures) إلى ما يقرب من ١٠ مرات من تلك العائدة لضغط الدم الانقباضي (systolic blood pressure) الطبيعي. وقد كان المؤلفون قادرين على زراعة طبقات متكلسة من الخلايا البطانية (EC) والخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMC) على السطوح الداخلية والخارجية لحاملة الخلايا والأنسجة الأنبوبية، على التوالي، مع الحد الأدنى من الاستجابة الالتهابية. وقد بدأت حاملات خلايا وأنسجة بوليمرية / بروتينية مركبة (polymer / protein composite scaffolds) حديثة بإظهار كل من الخصائص الميكانيكية وتوافق الأنسجة والتي سوف تكون مطلوبة من أجل مواد تطعيم تحويلية صغيرة القطر (small - diameter bypass grafting materials) وناجحة.

في حاملة الخلايا والأنسجة الوعائية المغزولة كهربائياً والتي هي ربما الأكثر تطوراً حتى الآن، طور Boland وآخرون [3] بنية وعائية ثلاثية الطبقات بقطر ٤ ميليمترات. وشملت هذه الطبقات طبقات وسطانية (medial layers) وطبقات برآنية (adventitial layers) منفصلة من الكولاجين والإيلاستين المغزولين كهربائياً (متوسط القطر 490 ± 220 نانومتر) مبدورة بخلايا عضلية وعائية ملساء (vSMC) وأرومات ليفية (خلايا ليفية)، بالإضافة إلى بطانة من الخلايا البطانية المبدورة (endothelium of seeded EC) (انظر الشكل رقم ١٣.٥). وقد أشار المؤلفون في تقريرهم إلى طبقة ناضجة مورفولوجياً (من الناحية الشكلية) (morphologically mature layer) من الخلايا البطانية مع غشاء قاعدي واضح المعالم، ومع طبقة كثيفة من الخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMC)، والتي تتحاذى بطريقة كفاية (محيطية) (circumferential fashion) في الأسفل. وقد كانت الخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMC) وخلايا الأرومة الليفية في الطبقة البرآنية تتخلل في كل أنحاء الطبقات الخارجية لألياف الكولاجين / الإيلاستين النانوية. إن هذه البنية الهندسية متعددة الأبعاد لحاملة الخلايا والأنسجة تسمح بتفاعلات خلايا - خلايا وتفاعلات خلايا - مصفوفة أكثر تعقيداً مما هي ممكنة مع طبقة واحدة فقط من حاملة الخلايا والأنسجة [3]. ويمكن لإنشاء حاملات خلايا وأنسجة من طبقات متناوبة أن يحث على تطوير وثيق الصلة أكثر من الناحية الفيزيولوجية للتنظيم الخلوي وتنظيم المصفوفة خارج الخلية (ECM).

(١٣,٥) الاستنتاجات CONCLUSIONS

من الواضح أن البنى القلبية والأوعية الدموية المهندسة نسيجياً والقابلة للحياة ستتطلب محاكاة كاملة (full mimicry) للبنية الوعائية الأصلية (native vascular structure) [3]. وتتطور التصاميم الهندسية للبنى القلبية الوعائية وتزداد تعقيداً باستمرار، حيث يحاول الباحثون تضمين أعدادٍ متزايدة من تفاعلات الخلايا - الخلايا وتفاعلات الخلايا - المصفوفة ذات الصلة في تصاميمهم. ومع ذلك، تظل هناك تحديات كبيرة من أجل التحسين والترجمة السريرية في المستقبل لتقنيات النانو المستخدمة في تطبيقات هندسة الأنسجة الوعائية.



الشكل رقم (١٣,٥). (a) حاملات خلايا وأنسجة مغزولة كهربائياً من الكولاجين مصنوعة في بُنى أنبوبية (tubular structures) بقطر ٢ و ٤ ميليمترات من أجل هندسة طُعم وعائي صغير القطر (small - diameter vascular graft). (b) مزيج مغزول كهربائياً من الكولاجين من النمط الأول ومن النمط الثالث والإيلاستين (في نسبة ٤٠:٤٠:٢٠) يُظهر ألياف مع متوسط قطر من 490 ± 220 نانومتر، وتوجيه ألياف عشوائي. (c) في الأعلى: مقطع هيستولوجي (histological section) يُظهر ثلاث طبقات محددة من البنية الهندسية لجدار وعائي (vessel wall architecture): باطنة (intimal) (لون أرجواني داكن، على اليسار)، مُتوسطة (medial) (لون أرجواني خفيف، في الوسط) وِبَرَانِيَّة (adventitial) (لون أرجواني داكن، على اليمين). في الأسفل: حاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الطبقات اصطناعية مغزولة كهربائياً (three - layered prosthetic electrospun scaffold) بعد البذر باستخدام الخلايا البطانِيَّة والخلايا العضلية الوعائية الملساء والخلايا الليفية، تُظهر تحديد مائل لتوضع الطبقات كما هو في الأنسجة الأصلية. (من (Boland, E.D., et al., *Front Biosci.*, 9, 1422, 2004)).

وقد تم إحراز الكثير من التقدم في هندسة الأنسجة القلبية، بما في ذلك البنى المغزولة كهربائياً التي تسمح بتقلصات طبيعية (natural contractions) للخلايا العضلية القلبية المبذورة والتقنيات التي تبدأ في توفير تباين في الخواص البنيوية الهندسية النانوية (nanoarchitected anisotropy) إلى الخلايا والأنسجة المزروعة. وعلى أي حال، فإن الطُعوم القلبية (cardiac grafts) الناجحة فعلاً مع خصائص ميكانيكية وكهربائية مماثلة للأنسجة الطبيعية لم يتم تطويرها حتى الآن. وعلى اعتبار أن الخيار الوحيد للفشل القلبي (cardiac failure) هو حالياً زراعة كامل العضو، فلا يزال هذا المجال البحثي يشكل أولوية بالنسبة لمجتمع البحوث القلبية الوعائية. بالإضافة إلى ذلك، فإن أفضل التقنيات المستخدمة من أجل هندسة أنسجة الصمامات القلبية ستطور بالتأكيد مجال زراعة الصمامات (valve implantation). إن هذا المجال البحثي لم يتحول بعد بشكل كامل إلى النماذج ذات السمات النانوية (nanofeatured paradigms) من أجل تصميم الصمامات.

إن أحد التحديات الحاسمة لهندسة الأنسجة الوعائية الباقية هو تحديد أي حجم وأي نوع من السمات النانوية سوف يزيد إلى الحد الأعلى من نمو الخلايا البطانية (EC) والخلايا العضلية الوعائية الملساء (vSMC) على البنى الوعائية (vascular constructs). بالإضافة إلى ذلك، لم يحدد مجتمع هندسة الأنسجة الوعائية حتى الآن المادة الحيوية الأنسب والتغليف أو طبقة الغلاف الخارجية المحتملة. والأهم من ذلك، يجب على الطُعوم الوعائية أن تماثل الأوعية الدموية الأصلية في الخصائص الميكانيكية الحرجة (critical mechanical properties)، بما في ذلك المطاوعة وضغط الانفجار، أو أن الطُعوم سوف تفشل في نهاية الأمر في الطب السريري.

بالإضافة إلى ذلك، فإن العديد من الإستراتيجيات المقترحة أعلاه لديها القدرة أن تُترجم من تقنيات مخصصة من أجل الطُعوم الوعائية صغيرة القطر إلى تصاميم لبنى مهندسة نسيجياً والتي تشجع على التوعي المايكروبي الدقيق للطعم (implant microvascularization). ويمكن استغلال العديد من السمات الطبوغرافية النانوية (nanotopographical features) المقترحة لتعزيز النمو البطاني على الطُعوم التحويلية صغيرة القطر من قبل مهندسي الأنسجة وهؤلاء المهتمين في الطب التجديدي وذلك لزيادة الكثافة الوعائية (vascular density) في الأنسجة الجديدة النامية. ومن الواضح أن النجاح السريري لإستراتيجيات هندسة الأنسجة سوف يكون مرهوناً بإعادة التوعي (revascularization) في الوقت المناسب لتجديد الأنسجة. ويمكن للتطورات في التقنيات التي تنقل بنية هندسية نانوية لتشجيع تَبَطُّن (اندمال البطانة) (endothelialization) طُعوم المواد الحيوية المهندسة نسيجياً (tissue - engineered biomaterial implants) أن تثبت بأنها علاجات فعّالة من أجل تحسين التوعي الجديد.

المراجع REFERENCES

- [1] Mendelson, K. and F.J. Schoen. 2006. Heart valve tissue engineering: Concepts, approaches, progress, and challenges. *Ann Biomed Eng* 34:1799–1819.
- [2] Aikawa, E., P. Whittaker, M. Farber, et al. 2006. Human semilunar cardiac valve remodeling by activated cells from fetus to adult: Implications for postnatal adaptation, valve pathology, and tissue engineering. *Circulation* 113:1344–1352.

- [3] Boland, E.D., J.A. Matthews, K.J. Pawlowski, et al. 2004. Electrospinning collagen and elastin preliminary vascular tissue engineering. *Front Biosci* 9:1422–1432.
- [4] Rhodin, J. 1980. Architecture of the vessel wall. In *Handbook of Physiology: The Cardiovascular System*, D. Borh, A. Somlyo, and H. Sparks (Eds.), pp. 1–31. Massachusetts: American Physiological Society.
- [5] American Heart Association, 2003. Heart disease and stroke statistics–2003 update. <http://www.americanheart.org/downloadable/heart/10590179711482003HDSStatsBookREV7-03.pdf>
- [6] National Heart, Lung, and Blood Institute, 1981. Report of the Working Group on Arteriosclerosis, MD. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health; DHEW, NIH Publ. No. 82-2035:114–122.
- [7] Zimmermann, W.-H., M. Didie, S. Doker, et al. 2006. Heart muscle engineering: An update on cardiac muscle replacement therapy. *Cardiovasc Res* 71:419–429.
- [8] Hammermeister, K., G.K. Sethi, W.G. Henderson, et al. 2000. Outcomes 15 years after valve replacement with a mechanical versus a bioprosthetic valve: Final report of the Veterans Affairs randomized trial. *J Am Coll Cardiol* 36:1152–1158.
- [9] Jamieson, W.R., O. von Lipinski, R.T. Miyagishima, et al. 2005. Performance of bioprostheses and mechanical prostheses assessed by composites of valve-related complications to 15 years after mitral valve replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg* 129:1301–1308.
- [10] Schoen, F.J. 2001. Pathology of heart valve substitution with mechanical and tissue prostheses. In *Cardiovascular Pathology*, M.D. Silver, A.I. Gotlieb, and F.J. Schoen (Eds.), pp. 402–405. New York: Churchill Livingstone.
- [11] Rabkin-Aikawa, E., M. Farber, M. Aikawa, et al. 2004. Dynamic and reversible changes of interstitial cell phenotype during remodeling of cardiac valves. *J Heart Valve Dis* 13:841–847.
- [12] Schoen, F.J. 1997. Aortic valve structure–function correlations: Role of elastic fibers no longer a stretch of the imagination. *J Heart Valve Dis* 6:1–6.
- [13] Schoen, F.J. and W.D. Edwards. 2001. Valvular heart disease: General principles and stenosis. In: *Cardiovascular Pathology*, M.D. Silver, A.I. Gotlieb, and F.J. Schoen (Eds.), pp. 402–405. New York: Churchill Livingstone.
- [14] Erez, E.K., K.R. Kanter, E. Isom, et al. 2003. Mitral valve replacement in children. *J Heart Valve Dis* 12:25029.
- [15] Kanter, K.R., J.M. Bude, W.J. Parks, et al. 2002. One hundred pulmonary valve replacements in children after relief of right ventricular outflow tract obstruction. *Ann Thorac Surg* 73:1801–1806.
- [16] Robertson, S.W., V. Imbeni, H.R. Wenk, et al. 2005. Crystallographic texture for tube and plate of the superelastic/shape-memory alloy Nitinol used for endovascular stents. *J Biomed Mater Res* 72A: 190–199.
- [17] Choudhary, S., K.M. Haberstroh, and T.J. Webster TJ. 2007. Enhanced functions of vascular cells on nanostructured Ti for improved stent applications. *Tissue Eng* 13:1421–1430.
- [18] Schuler, P., D. Assefa, J. Ylanne, et al. 2003. Adhesion of monocytes to medical steel as used for vascular stents is mediated by the integrin receptor Mac-1. *Cell Commun Adhes* 10:17–26.
- [19] Cejna, M., R. Virmani, and R. Jones, 2002. Biocompatibility and performance of the Wallstent and the Wallgraft, Jostent, and Hemobahn stent-grafts in a sheep model. *J Vasc Interv Radiol* 12:823–830.
- [20] Chen, Y.J., T.X. Leng, X.B. Tian, et al. 2002. Antithrombogenic investigation of surface energy and optical bandgap and hemocompatibility mechanism of Ti (Ta(5)O₂) thin films. *Biomaterials* 23: 2545–2552.
- [21] Mason, M., K.P. Vercruysse, K.R. Kirker, et al. 2000. Attachment of hyaluronic acid to polypropylene, polystyrene, and polytetrafluoroethylene. *Biomaterials* 21:31–36.
- [22] Darling, R.C. and R.R. Linton. 1972. Durability of femoropopliteal reconstructions: Endarterectomy versus vein bypass grafts. *Am J Surg* 123:472–479.
- [23] Clayson, K.R., W.H. Edwards, T.R. Allen, et al. 1976. Arm veins for peripheral arterial reconstruction. *Arch Surg* 111:1276–1280.
- [24] Voorhees, A.B., A. Jaretski, and A.H. Blakemore. 1952. Use of tubes constructed from vinyon ‘n’ cloth in bridging arterial deficits. *Ann Surg* 135:332–338.

- [25] Blakemore, A. and A.B. Voorhees. 1954. The use of tube constructed of vinyon 'n' cloth in bridging arterial deficits: Experimental and clinical. *Ann Surg* 140:324–330.
- [26] Herring, M., A. Gardner, and J. Glover. 1978. A single-staged technique for seeding vascular grafts with autogenous endothelium. *Surgery* 84:498–504.
- [27] Anderson, J.S., T.M. Price, S.R. Hanson, et al. 1987. In vitro endothelialization of small-caliber vascular grafts. *Surgery* 101:577–586.
- [28] Foxall, T.L., K.R. Auger, A.D. Callow, et al. 1986. Adult human endothelial cell coverage of smallcaliber Dacron and polytetrafluoroethylene vascular prostheses in vitro. *J Surg Res* 41:158–172.
- [29] Kempczinski, R.F., J.E. Rosenman, W.H. Pearce, et al. 1985. Endothelial cell seeding of a new PTFE vascular prosthesis. *J Vasc Surg* 2:424–429.
- [30] Weinberg, C. and E. Bell. 1986. A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells. *Science* 231:397–400.
- [31] Miwa, H. and T. Matsuda. 1994. An integrated approach to the design and engineering of hybrid arterial prostheses. *J Vasc Surg* 19:658–667.
- [32] Hirai, J. and T. Matsuda. 1996. Venous reconstruction using hybrid vascular tissue composed of vascular cells and collagen: Tissue regeneration process. *Cell Transplant* 5:93–105.
- [33] Ishibashi, K. and T. Matsuda. 1994. Reconstruction of a hybrid vascular graft hierarchically layered with three cell types. *ASAIO J* 40:M284–290.
- [34] L'Heureux, N., L. Germain, R. Labbe, et al. 1993. In vitro construction of a human blood vessel from cultured vascular cells: A morphologic study. *J Vasc Surg* 17:499–509.
- [35] L'Heureux, N., S. Paquet, R. Labbe, et al. 1998. A completely biological tissue-engineered human blood vessel. *FASEB J* 12:47–56.
- [36] Abbott, W.M., A. Callow, W. Moore, et al. 1993. Evaluation and performance standards for arterial prosthesis. *J Vasc Surg* 17:746–756.
- [37] Veith, F.J., S.K. Gupta, E. Ascer, et al. 1986. Six year prospective multicenter randomized comparison of autologous saphenous vein and expanded polytetrafluoroethylene grafts in infrainguinal arterial reconstructions. *J Vasc Surg* 3:104–114.
- [38] Quiñones-Baldrich, W.J., A. Prego, R. Ucelay-Gomez, et al. 1991. Failure of PTFE infrainguinal revascularization: Patterns, management alternatives, and outcome. *Ann Vasc Surg* 5:163–169.
- [39] Seeger, J.M. 2000. Management of patients with prosthetic vascular graft infection. *Am Surg* 66: 166–177.
- [40] Sarkar, S., H.J. Salacinski, G. Hamilton, et al. 2006. The mechanical properties of infrainguinal vascular bypass grafts: Their role in influencing patency. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 31:627–636.
- [41] Murray-Wijelath, J., D.J. Lyman, and E.S. Wijelath. 2004. Vascular graft healing—III: FTIR analysis of ePTFE graft samples from implanted biografts. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 70:223–232.
- [42] Hagerty, R.D., D.L. Salzmann, L.B. Kleinert, et al. 2000. Cellular proliferation and macrophage populations associated with implanted expanded polytetrafluoroethylene and polyethyleneterephthalate. *J Biomed Mater Res* 49:489–497.
- [43] Gao, K., L. Niklason, and R. Langer. 1998. Surface hydrolysis of poly(glycolic acid) meshes increases the seeding density of vascular smooth muscle cells. *J Biomed Mater Res* 3:417–423.
- [44] Solan, A., V. Prabhakar, and L. Niklason. 2001. Engineered vessels: Importance of the extracellular matrix. *Trans Proc* 33:66–68.
- [45] Jain, R.K. 2003. Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med* 6:685–693.
- [46] Brey, E.M., S. Uriel, H.P. Greisler, et al. 2005. Therapeutic neovascularization: Contributions from bioengineering. *Tissue Eng* 11:567–584.
- [47] Hockel, M., K. Schlenger, S. Doctrow, et al. 1993. Therapeutic angiogenesis. *Arch Surgery* 128:423–429.
- [48] Berglund, J.D. and Z.S. Galis. 2003. Designer blood vessels and therapeutic revascularization. *Br J Pharmacol* 140:627–636.
- [49] Bernas, G.C. 2003. Angiotherapeutics from natural products: From bench to clinics? *Clin Hemorheol Microcirc* 29:199–203.

- [50] Freedman, S.B. and J.M. Isner. 2002. Therapeutic angiogenesis for coronary artery disease. *Ann Intern Med* 136:54–71.
- [51] Hughes, G.C., S.S. Biswas, B. Tin, et al. 2004. Therapeutic angiogenesis in chronically ischemic porcine myocardium: Comparative effects of bFGF and VEGF. *Ann Thorac Surg* 77:812–818.
- [52] Lei, Y., H.K. Haider, J. Shujia, et al. 2004. Therapeutic angiogenesis: Devising new strategies based on past experiences. *Basic Res Cardiol* 99:121–132.
- [53] Madeddu, P. 2005. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration. *Exp Physiol* 90:315–326.
- [54] Levenberg, S., J. Rouwkema, M. Macdonald, et al. 2005. Engineering vascularized skeletal muscle tissue. *Nat Biotechnol* 23:879–884.
- [55] Li, W.W., K.E. Talcott, A.W. Zhai, et al. 2005. The role of therapeutic angiogenesis in tissue repair and regeneration. *Adv Skin Wound Care* 18:491–500.
- [56] Cassell, O.C.S., S.O.P. Hofer, W.A. Morrison, et al. 2002. Vascularization of tissue-engineered grafts: The regulation of angiogenesis in reconstructive surgery and in disease states. *Br J Plast Surg* 55:603–610.
- [57] Botchwey, E.A., M.A. Dupree, S.R. Pollack, et al. 2003. Tissue-engineered bone: Measurement of nutrient transport in three-dimensional matrices. *J Biomed Mater Res* 67A:357–367.
- [58] Laschke, M.W., Y. Harder, M. Amon, et al. 2006. Angiogenesis in tissue engineering: Breathing life into constructed tissue substrates. *Tissue Eng* 12:2093–2103.
- [59] Webster, T.J., E.L. Hellenmeyer, and R.L. Price. 2005. Increased osteoblast functions on the δ -alumina nanofiber alumina. *Biomaterials* 26:953.
- [60] Savaiano, J.K. and T.J. Webster. 2004. Altered responses of chondrocytes to nanophase PLGA/nanophase Titania composites. *Biomaterials* 25:1205.
- [61] Flemming, R.G., C.J. Murphy, G.A. Abrams, et al. 1999. Effects of synthetic micro- and nano-structured surfaces on cell behavior. *Biomaterials* 6:573–588.
- [62] Ma, Z., M. Kotaki, R. Inai, et al. 2005. Potential of a nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Eng* 11:101–109.
- [63] Martins-Green, M. 1997. The dynamics of cell-ECM interactions with implications for tissue engineering. In *Principles of Tissue Engineering*, Lanza, R., R. Langer, and W. Chick (Eds.), pp. 23–46. Texas: Academic Press.
- [64] Williams, S.K. and B.E. Jarrell. 1987. Thrombosis on endothelializable prostheses. *Ann NY Acad Sci* 516:154–157.
- [65] Goodman, S.L., P.A. Sims, and R.M. Albrecht. 1996. Three-dimensional extracellular matrix textured biomaterials. *Biomaterials* 17:2087–2095.
- [66] Ingber, D.E. and J. Folkman. 1989. Mechanochemical switching between growth and differentiation during fibroblast growth factor-stimulated angiogenesis in vitro: Role of extracellular matrix. *J Cell Biol* 109:317–330.
- [67] Madri, J.A., B. Dreyer, F.A. Pitlick, et al. 1980. The collagenous components of the subendothelium. Correlation of structure and function. *Lab Invest* 43:303–315.
- [68] McCullagh, K.A. and G. Balian. 1975. Collagen characterisation and cell transformation in human atherosclerosis. *Nature* 258:73–75.
- [69] Lenhart, S., M.B. Meier, U. Meyer, et al. 2005. Osteoblast alignment, elongation and migration on grooved polystyrene surfaces patterned by Langmuir-Blodgett lithography. *Biomaterials* 26:563–570.
- [70] Dalby, M.J., M.O. Riehle, D.S. Sutherland, et al. 2004. Fibroblast response to a controlled nanoenvironment produced by colloidal lithography. *J Biomed Mater Res* 69A:314–322.
- [71] Dalby, M.J., M.O. Riehle, D.S. Sutherland, et al. 2004. Changes in fibroblast morphology in response to nano-columns produced by colloidal lithography. *Biomaterials* 25:5415–5422.
- [72] Rice, J.M., J.A. Hunt, J.A. Gallagher, et al. 2003. Quantitative assessment of the response of primary derived human osteoblasts and macrophages to a range of nanotopography surfaces in a single culture model in vitro. *Biomaterials* 24:4799–4818.

- [73] Giavaresi, G., M. Tschon, J.H. Daly, et al. 2006. In vitro and in vivo response to nanopotographically modified surfaces of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and polycaprolactone. *J Biomater Sci Polymer Edn* 17:1405–1423.
- [74] Chu, C.F.L., A. Lu, M. Liszkowski et al. 1999. Enhanced growth of animals and human endothelial cells on biodegradable polymers. *Biochim Biophys Acta* 3:479–485.
- [75] Miller, D.C., A. Thapa, K.M. Haberstroh, et al. 2004. Endothelial and vascular smooth muscle cell function on poly(lactic-co-glycolic acid) with nano-structured features. *Biomaterials* 25:53–61.
- [76] Miller, D.C., K.M. Haberstroh, and T.J. Webster. 2004. Mechanisms controlling increased vascular cell adhesion to nano-structured polymer films. *Bioengineering Conference 2004: Proceedings of the IEEE 30th Annual Northeast*. 120–121.
- [77] Wittmer, C.R., J.A. Phelps, W.M. Saltzman, et al. 2007. Fibronectin terminated multilayer films: Protein adsorption can cell attachment studies. *Biomaterials* 28:851–860.
- [78] Giachelli, C. and S. Steitz. 2000. Osteopontin: A versatile regulator of inflammation and biomineralization. *Matrix Biol* 19:615–622.
- [79] Chen, Y., B.S. Bal, and J.P. Gorsik. 1992. Calcium and collagen binding properties of osteopontin, bone sialoprotein, and bone acidic glycoprotein-75 from bone. *J Biol Chem* 267:24871–24878.
- [80] Mukherjee, B.B., M. Nemir, S. Beninato, et al. 1995. Interaction of osteopontin with fibronectin and other extracellular matrix molecules. *Ann NY Acad Sci* 760:201–212.
- [81] Liaw, L., D.E. Birk, C.B. Ballas, et al. 1998. Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene (spp1). *J Clin Invest* 101:1468–1478.
- [82] Khan, S.A., C.A. Lopez-Chua, J. Zhang, et al. 2002. Soluble osteopontin inhibits apoptosis of adherent endothelial cells deprived of growth factors. *J Biol Chem* 277:728–736.
- [83] Asou, Y., S.R. Rittling, H. Yoshitake, et al. 2001. Osteopontin facilitates angiogenesis, accumulation of osteoblasts, and resorption in ectopic bone. *Endocrinology* 142:1325–1332.
- [84] Liu, L., S. Chen, C.M. Giachelli, et al. 2005. Controlling osteopontin orientation on surfaces to modulate endothelial cell adhesion. *J Biomed Mater Res* 74A:23–31.
- [85] Chen, C.S., M. Mrksich, S. Huang, et al. 1997. Geometric control of cell life and death. *Science* 276:1425–1428.
- [86] Singhvi, R., A. Kumar, G.P. Lopez, et al. 1994. Engineering cell shape and function. *Science* 264:696–698.
- [87] Decher, G., J.D. Hong, and J. Schmitt. 1992. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process. 3. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. *Thin Solid Films* 210:831–835.
- [88] Decher, G. 1997. Fuzzy nanoassemblies: Toward layered polymeric multicomposites. *Science* 277: 1232–1237.
- [89] Decher, G., M. Eckle, J. Schmitt, et al. 1998. Layer-by-layer assembled multicomposite films. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 3:32–39.
- [90] Hammond, P.T. 1999. Recent explorations in electrostatic multilayer thin film assembly. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 4:430–442.
- [91] Bertrand, P., A. Jonas, A. Laschewsky, et al. 2000. Ultrathin polymer coatings by complexation of polyelectrolytes at interfaces: Suitable materials, structure and properties. *Macromol Rapid Commun* 21:319–348.
- [92] Decher, G. and J.B. Schlenoff. 2003. *Multilayer Thin Films*. Weinheim: Wiley-VCH.
- [93] Hammond, P.T. 2004. Form and function in multilayer assembly: New applications at the nanoscale. *Adv Mater* 16:1271–1293.
- [94] Potts, J.R. and I.D. Campbell. 1996. Structure and function of fibronectin modules. *Matrix Biol* 15:313–320.
- [95] Furuzono, T., M. Masuda, M. Okada, et al. 2006. Increase in cell adhesiveness on a poly(ethylene terephthalate) fabric sintered hydroxyapatite nanocrystal coating in the development of an artificial blood vessel. *ASAIO J* 52:315–319.
- [96] Pham, Q.P., U. Sharma, and A.G. Mikos. 2006. Electrospinning of polymeric nanofibres for tissue engineering applications: A review. *Tissue Eng* 5:1–15.
- [97] Subbiah, T., G.S. Bhat, R.W. Tock, et al. 2005. Electrospinning of nanofibers. *J Appl Polym Sci* 96:557.

- [98] Zong, X., H. Bien, C.-Y. Chung, et al. 2005. Electrospun fine-textured scaffolds for heart tissue constructs. *Biomaterials* 26:5330–5338.
- [99] Laurencin, C.T., A.M.A. Ambrosio, M.D. Borden, et al. 1999. Tissue engineering: Orthopedic applications. *Annu Rev Biomed Eng* 1:19–46.
- [100] Shin, M., O. Ishii, T. Sueda, et al. 2004. Contractile cardiac grafts using a novel nanofibrous mesh. *Biomaterials* 25:3717–3723.
- [101] Fast, V. and A. Kleber. 1994. Anisotropic conduction of monolayers of neonatal rat hearts cultured on collagen substrate. *Circ Res* 75:591–595.
- [102] Simpson, D.G., L. Terracio, M. Terracio, et al. 1994. Modulation of cardiac monocyte phenotype in vitro by the composition and orientation of the extracellular matrix. *J Cell Physiol* 161:89–105.
- [103] Bursac, N., N.N. Parker, S. Irvanian, et al. 2002. Cardiomyocyte cultures with controlled macroscopic anisotropy: A model for functional electrophysiological studies of cardiac muscle. *Circ Res* 91:45–54.
- [104] Van Lieshout, M.I., C.M. Vaz, M.C. Rutten, et al. 2006. Electrospinning versus knitting: Two scaffolds for tissue engineering of the aortic valve. *J Biomater Sci Polymer Edn.* 17:77–89.
- [105] Kwon, I.K., S. Kidoaki, and T. Matsuda. 2005. Electrospun nano- to micro-fiber fabrics made of biodegradable copolyesters: Structural characteristics, mechanical properties and cell adhesion potential. *Biomaterials* 26:3929–3939.
- [106] Allcock, H.R., T.J. Fuller, D.P. Mack, et al. 1977. Synthesis of poly[(amino acid alkyl ester) polyphosphazenes. *Macromolecules* 10:824–830.
- [107] Nair, L.S., S. Bhattacharyya, J.D. Bender, et al. 2004. Fabrication and optimization of methylphenoxy substituted polyphosphazenes nanofibers for biomedical applications. *Biomacromolecules* 5:2212–2220.
- [108] Carampin, P., M.T. Conconi, S. Lora, et al. 2007. Electrospun polyphosphazene nanofibers for in vitro rat endothelial cells proliferation. *J Biomed Mater Res* 80A:661–668.
- [109] Matthews, J., G. Spinson, G. Wnek, et al. 2002. Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules* 3:232–238.
- [110] Bowlin, G., K. Pawlowski, J. Stitzel, et al. 2002. Electrospinning of polymer scaffolds for tissue engineering. In *Tissue Engineering and Biodegradable Equivalents: Scientific and Clinical Applications*, K. Lewandowski, D. Wise, D. Trantolo, et al. (Eds.), pp. 165–178. New York: Marcel Dekker, Inc.
- [111] He, W., T. Yong, W.E. Two, et al. 2005. Fabrication and endothelialization of collagen-blended biodegradable polymer nanofibers: Potential vascular graft of blood tissue engineering. *Tissue Eng* 11:1574–1588.
- [112] Stitzel, J., J. Liu, S.J. Lee, et al. 2006. Controlled fabrication of a biological vascular substitute. *Biomaterials* 27:1088–1094.

البنى النانوية من أجل هندسة الأنسجة العظمية الهيكلية

Nanostructures for Musculoskeletal Tissue Engineering

Susan Liao, Casey K. Chan, and Seeram Ramakrishna

المحتويات CONTENTS

٥٠٦.....	INTRODUCTION مقدمة (١٤,١)
	NANOSTRUCTURES IN NATURAL البنى النانوية في الأنسجة العظمية الهيكلية الطبيعية (١٤,٢)
٥٠٧.....	MUSCULOSKELETAL TISSUES
	PROBLEM (DISEASE-DISORDER) OF مشكلة (مرض-اضطراب) الأنسجة العظمية الهيكلية (١٤,٣)
٥١٠.....	MUSCULOSKELETAL TISSUES
٥١١.....	Current Treatment Methods طرق العلاج الحالية (١٤,٣,١)
	Tissue Engineering for the Treatment of هندسة الأنسجة لعلاج المشاكل العظمية الهيكلية (١٤,٣,٢)
٥١١.....	Musculoskeletal Problems
	STRATEGIES OF MUSCULOSKELETAL TISSUE إستراتيجيات هندسة الأنسجة العظمية الهيكلية (١٤,٤)
٥١٢.....	ENGINEERING
٥١٢.....	General Principles for Tissue Engineering المبادئ الأساسية العامة لهندسة الأنسجة (١٤,٤,١)
٥١٢.....	Biomimetic Scaffolds حاملات الخلايا والأنسجة المحاكية حيويًا (١٤,٤,٢)
٥١٣.....	Stem Cells الخلايا الجذعية (١٤,٤,٣)
٥١٦.....	Growth Factors عوامل النمو (١٤,٤,٤)

١٤,٥)	تفاعلات حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو-الخلايا NANOFIBROUS SCAFFOLD-CELL
٥١٧	INTERACTIONS
١٤,٦)	تطبيقات حاملات الخلايا والأنسجة اللبغية النانوية من أجل هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية APPLICATIONS
٥٢٢	OF NANOFIBROUS SCAFFOLDS FOR MUSCULOSKELETAL TISSUE ENGINEERING
١٤,٦,١)	العظم Bone
٥٢٣	
١٤,٦,٢)	الغضروف Cartilage
٥٢٥	
١٤,٦,٣)	العضل Muscle
٥٢٧	
١٤,٦,٤)	الرباط Ligament
٥٢٩	
١٤,٧)	التحديات CHALLENGES
٥٣٤	
١٤,٧,١)	حاملات الخلايا والأنسجة النانوية ذات الأشكال المحددة للأنسجة- Nanoscaffolds With Tissue
٥٣٤	Specific Patterns
١٤,٧,٢)	الخصائص الميكانيكية Mechanical Property
٥٣٥	
١٤,٧,٣)	استكشاف تقنيات الألياف النانوية المتقدمة Exploring Advanced Nanofiber Technologies
٥٣٦	
١٤,٨)	الاستنتاجات CONCLUSIONS
٥٣٦	
٥٣٧	شكر وتقدير ACKNOWLEDGMENTS
٥٣٧	المراجع REFERENCES

١٤,١) مقدمة INTRODUCTION

يمكن أن تسبب أمراض وإصابات الجهاز العضلي الهيكلي (musculoskeletal system) الألم والتشوه (deformity) وفقد الوظيفة. فهي تحد من نشاطات الحياة اليومية وتسبب العجز للكثير من الناس أكثر من اضطرابات (disorders) أي جهاز عضوي آخر. تقدم هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية (musculoskeletal tissue engineering) أسلوباً واعدًا لعلاج هذه الأمراض والإصابات. في هندسة الأنسجة، فإن حاملات الخلايا والأنسجة المستخدمة كدعامة مؤقتة لنُشوب أو نمو الخلايا (cells ingrowth) وكناقلة أو حاملة لعوامل النمو، يتم الاعتراف بها تدريجياً على أنها الوظائف الأساسية لإصلاح الأنسجة بنجاح. وفي الآونة الأخيرة، أصبحت القدرة على هندسة البنى النانوية لمواد حاملات الخلايا والأنسجة (scaffold materials) وذلك للتحكم الدقيق بسلوك الخلايا من أجل تجديد الأنسجة (tissue regeneration) حقيقة ماثلة. في هذا الفصل سنسلط الضوء على آخر التطورات الحالية للبنى النانوية في حاملات الخلايا والأنسجة وذلك لاستكشاف التقدمات

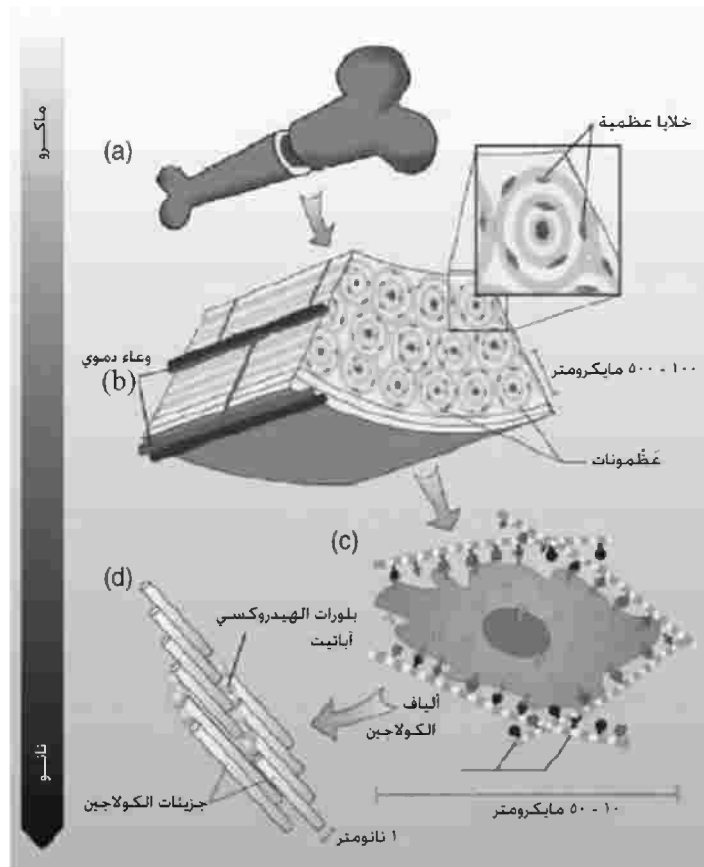
المحتملة في مجال هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية. في البداية، سيتم مناقشة البُنى النانوية في الأنسجة العضلية الهيكلية الطبيعية في الفقرة (١٤.٢). وستكون أمراض وإصابات الجهاز العضلي الهيكلي والعلاجات الحالية وهندسة الأنسجة العضلية الهيكلية مُوضَّحة في الفقرة (١٤.٣). وسيتم مناقشة إستراتيجيات هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية وتأثير البُنى النانوية على سلوك الخلايا في الفقرتين (١٤.٤ و ١٤.٥)، على التوالي. واستناداً إلى المبادئ الأساسية آفة الذكر المبينة في الفقرتين (١٤.٤ و ١٤.٥)، فإننا سوف نوضح التطبيقات المحددة للبُنى النانوية من أجل هندسة الأنسجة الهيكلية العضلية في الفقرة (١٤.٦). وأخيراً، ستم مناقشة التحديات الحالية في تطبيقات البُنى النانوية لهندسة الأنسجة العضلية الهيكلية في الفقرة (١٤.٧). ولتحقيق الاستفادة القصوى من البُنى النانوية من أجل هندسة الأنسجة، فإنه يجب دمج تصنيع البُنى النانوية بسلسلة مع البُنى المايكروية (microstructures) وكذلك مع البُنى الماكروية (macrostructures) وذلك لتحقيق الفوائد الأمثل من البُنى النانوية ولإنجاز الغرض المقصود من إصلاح الأنسجة.

(١٤.٢) البُنى النانوية في الأنسجة العضلية الهيكلية الطبيعية NANOSTRUCTURES IN NATURAL MUSCULOSKELETAL TISSUES

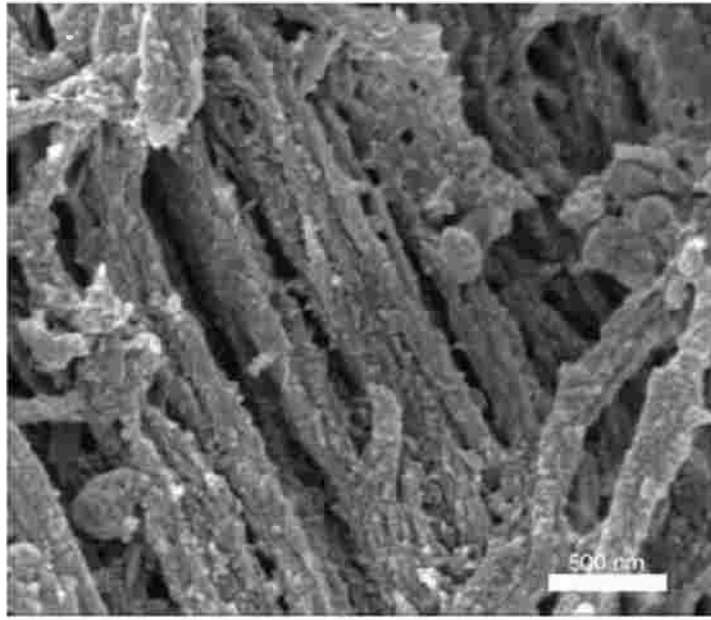
يتوقف استقرار وحركة الجسم على الأنسجة التي تتشكل من الجهاز العضلي الهيكلي - العظم (musculoskeletal system bone -) والغضروف والأنسجة الليفية الكثيفة (dense fibrous tissue) (الرباط والوتر) والعضل. وتختلف هذه الأنسجة في الوعائية (vascularity) والتعصيب (innervation) والخصائص الميكانيكية والخصائص البيولوجية والتركيب، إلا أنها تنشأ من نفس خلايا السلف أو الطليعة (precursor cells)، والتي هي الخلايا الجذعية المتوسّطة (mesenchymal stem cells - MSCs) [1]. ولإنتاج الأنسجة العضلية الهيكلية (musculoskeletal tissues) عن طريق هندسة الأنسجة، فإننا بحاجة إلى معرفة البنية الطبيعية لهذه الأنسجة وبصفة خاصة على مستوى المقياس النانوي والكيفية التي تتطور بها في الجسم.

تتألف مصفوفات الأنسجة العضلية الهيكلية من بنية دقيقة على درجة عالية من التنظيم لألياف نانوية ذات جزيئات عضوية ماكروية ضخمة (organic macromolecule nanofibers) مُنظّمة في مادة أساسية أو قاعدية لا بلورية (غير متبلورة) (amorphous ground substance). وتتألف الألياف من أنواع متعددة من الكولاجين والإيلاستين، بينما تتألف المادة القاعدية بشكل أساسي من ماء وبروتيوغليكانات وبروتينات غير كولاجينية (noncollagenous proteins). وبالإضافة إلى النسيج الغشائي أو المصفوفة العضوية (organic matrix)، فإن للعظم نسيجاً غشائياً أو مصفوفة غير عضوية (inorganic matrix)، وهي من الهيدروكسي أباتيت ذي الطور النانوي (nanophase hydroxyapatite - HA)، وذلك من أجل زيادة الصلابة والمتانة الضغطية (compressive strength) لأنسجة العظم. لقد تم اكتشاف هذا المركب الرائع لألياف الكولاجين النانوية والهيدروكسي أباتيت (HA) ذي الطور النانوي بشكل أساسي من قبل Landis و Weiner وذلك باستخدام الفحص المجهرى باستخدام المجهر الإلكتروني الناقل (transmission electron microscopy - TEM) [2-5]. تشمل بنية العظم خمسة مستويات هرمية من المستوى النانوي (nanolevel) في شكل مركب كولاجيني جزيئي إلى المستوى المايكرو (microlevel) كعظم مَحْبُوك (woven bone) أو كعظم صُفّاحي (lamellar bone) وأخيراً إلى المستوى الماكرو (macrolevel) كعظم بنيوي

(structural bone) [6] (الشكل رقم ١٤.١). وفي الآونة الأخيرة، أظهر العظم المكسور عند مراقبته مباشرةً تحت المجهر الإلكتروني الماسح ذي الإصدار الحَقلي (field emission scanning electron microscopy - FESEM) بنية نانوية ليفية مُعدنة (mineralized fibrous nanostructure) [7] (الشكل رقم ١٤.٢). وبسبب عدم وجود توجيه يُفي للكلولين (collagen fibril orientation) والمحتوى العالي للخلايا والماء والتمعدن غير المنتظم (irregular mineralization) فإن الخصائص الميكانيكية للعظم المحبوك هي أضعف من تلك للعظم الصَّفاحي. وقد تم أيضاً تحديد الألياف العصبية (nerve fibers) المترابطة مع الأوعية الدموية داخل القنوات النخاعية (medullary canals) للعظم. ومن المحتمل إن هذه الألياف العصبية تتحكم في تدفق دم العظم. ومن أجل أن تبقى الخلايا على قيد الحياة يجب عليها أن تكون موجودة ضمن مسافة ٣٠٠ مايكرومتر من أي وعاء دموي.

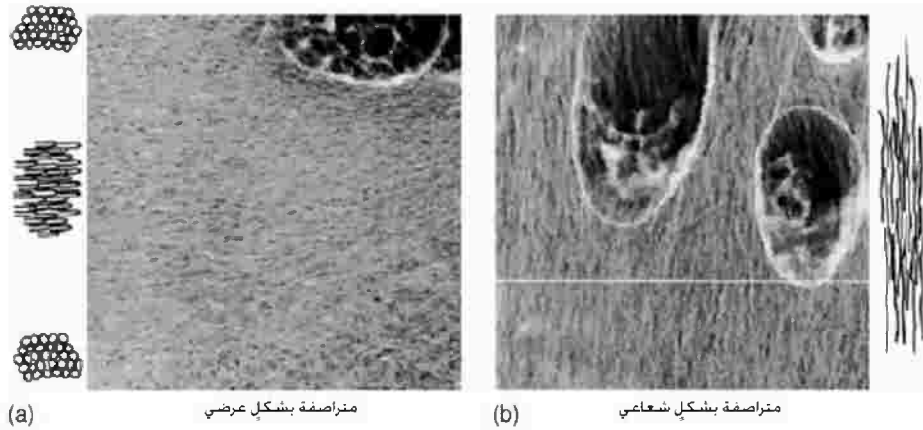


الشكل رقم (١٤،١). تنظيم هرمي تخطيطي للعظم على مستويات طولية مختلفة. (a) يملك العظم طبقة خارجية مكنزة مُتكّسة قوية، (b) والتي تضم العديد من الأنظمة الهافيرسيّة الأسطوانية (cylindrical Haversian systems)، أو العَظْمونات (osteons) (الوحدة الأساسية في بناء العظم). (c) تكون الخلايا الداخلية المقيمة مُغلّفة في غابة من مستقبلات غشاء الخلية (cell membrane receptors) التي تستجيب إلى مواقع ربط محددة و (d) بنية هندسية نانوية (nanoarchitecture) محددة بشكل جيد للنسيج الغشائي أو المصفوفة خارج الخلية (extracellular matrix) الخيطة. (من Stevens, M.M. and George, J.H., Science, 310, 1135, 2005).



الشكل رقم (١٤،٢). المراقبة باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لسطح عظم بشري مكسور ذي ألياف من الكولاجين المعدن (mineralized collagen fibers) في شكل حزمة متراففة. (من Fantner, G.E., Hassenkam, T., Kindt, J.H. et al., (Nat. Mater., 4, 612, 2005).

باستثناء العظم، فإن الأنسجة الأربعة الأخرى الرئيسية في الجهاز العضلي الهيكلي هي الأربطة (ligaments) والغضروف (cartilage) والعضلات الهيكلية (skeletal muscles) والأوتار (tendons). تكون هذه الأنسجة ملتصقة أو مرتبطة بالعظام المفردة وذلك لتأمين الوظائف الأساسية لاستقرار وحركة الجهاز العضلي الهيكلي. وتتألف هذه الأنسجة من لُيفات كولاجينية (collagen fibrils) ذات أنماط أو أشكال مختلفة. فعلى سبيل المثال، يبين الشكل رقم (١٤،٣) تراصاً مختلفاً لشبكة الألياف النانوية الكولاجينية (collagen nanofiber network) في الغضروف [8]. إن العضلات الهيكلية هي أكثر الأنسجة وفرةً في جسم الإنسان. إن لهذه العضلات أيضاً بنية هرمية (hierarchical structure) مشابهة كما هي البنية في العظم. فعند المستوى الهرمي الأدنى، تكون الليفة العضلية (myofibril) عبارة تقريباً عن ليف نانوي أسطواني (cylindrical nanofiber) يحتوي على العديد من النوى (nuclei)، وفيه تناوب من خطوط فاتحة اللون وخطوط داكنة اللون تسمى التخطّطات (striations). وتشكل حزمة من الليفات العضلية ليفاً عضلياً (muscle fiber) وتُكوّن حزمة من الألياف العضلية بدورها حزمة صغيرة (fascicle)، والتي عادةً ما ترى بالعين المجردة. وأخيراً، يتم تنظيم الحزم الصغيرة تشريحياً (بشكل هيسطولوجي) بواسطة الأنسجة الضامة (connective tissue) المحيطة لتتشكل في عضلة كتلية (bulk muscle) تمثل وحدة وظيفية قابلة للتقلص. ومن أجل تحقيق وظيفة مستدامة، تتواجد العضلات الهيكلية كبنى مُركّبة تتألف من العديد من الألياف العضلية والأعصاب والأوعية الدموية والأنسجة الضامة.



الشكل رقم (١٤،٣). مراقبة شبكة من الكولاجين في العضروف بواسطة المجهر الأيوني الانتقالي المساح (scanning transmission ion microscopy - STIM): (a) بُنى متراصة بشكل عرضي (tangentially aligned structures)، و (b) بُنى متراصة بشكل شعاعي (radially aligned structures). ويمكن تفسير البنى في الفقرة (a) كعناقيد من النيبات الكولاجينية (bunches of collagen tubuli) في محاذاة عرضية مختلفة (المستوى الأفقي). في (b) ألياف الكولاجين المتراصة أو المتحاذاة شعاعياً (المستوى العمودي) تكون مرئية بسهولة. (من Reinert, T., Reibetanz, U., Schwertner, M. et al., (Nucl. Instr. Methods Phys. Res. B., 188, 1, 2002).

(١٤،٣) مشكلة (مرض-اضطراب) الأنسجة العضلية الهيكلية PROBLEM (DISEASE-DISORDER) OF MUSCULOSKELETAL TISSUES

أدت التطورات في التقنية والتحسينات في مجال الرعاية الصحية إلى توقع فترات حياة أطول. وقد يسبب السكان المتقدمون في السن في المجتمع الثري الذي يكون فيه توقع نوعية حياة رفيعة المستوى الإجهاد لنظام الرعاية الصحية. وتحتل المشاكل العضلية الهيكلية (musculoskeletal problems) المرتبة الثانية في السبب الذي من أجله يسعى المرضى إلى الرعاية الطبية، وأن حوالي ١٠ ٪ من سكان الولايات المتحدة الأمريكية يعانون من مثل هذه المشاكل العضلية الهيكلية الحادة للدرجة التي تجعل نشاطهم مقيداً إلى حد كبير [1].

وكلما تقدم السكان في العمر، زاد توقع عدد الإصابات المرتبطة بالرياضة والترفيه. وسبب ذلك هو تقدم السكان في العمر بشكل سريع، وهو ما يؤدي إلى الانتقال وعلى نحو متزايد نحو أنماط الحياة النشطة التي غالباً ما تؤدي إلى الإصابات العظمية (orthopedic injuries). في السكان المسنين، سيكون هناك عدد متزايد من الكسور المرتبطة بالعمر (age - related fractures) مثل كسور الورك (hip fractures) أو الكسور المرضية (pathological fractures) الناتجة عن كثافة أو ارتباط العظم بالسرطان (cancer involvement of bone). إن معظم الالتهابات التنكسية (degenerative arthritis) لمفاصل الركب أو مفاصل الأوراك، والحالة التنكسية (degenerative condition) للعمود الفقري سوف تتطلب تدخلاً جراحياً ترميمياً (reconstructive surgical intervention) لاستعادة الحركة والوظيفة.

(١٤,٣,١) طرق العلاج الحالية Current Treatment Methods

تشمل العلاجات الحالية للمشاكل العضلية الهيكلية استخدام الأدوية (medications) والمعالجة الفيزيائية (physical therapy) وتقويم العظام (orthotics) والبدائل أو الأطراف الاصطناعية (prosthetics) والجراحة. وبصورة عامة، فإن المعالجات غير الجراحية هي أول أسلوب للعلاج قبل التفكير في التدخل الجراحي. وتُشكل التمارين التي تُحسن نطاق الحركة العضلية الهيكلية والقوة العضلية (muscle strength) جزءاً من المعالجة الفيزيائية للعديد من الحالات العضلية الهيكلية. ويُستخدم تقويم العظام في علاج الجَنَف (scoliosis) وألم الجزء السفلي من الظهر وألم القدم وبعض تشوهات القدم. وتشمل العلاجات المتعلقة بالعمليات الجراحية المعالجة اليدوية البارة (manipulation) والجراحة بمنظار المفصل (arthroscopic surgery) وإعادة البناء أو الترميمات الجراحية المفتوحة (open surgical reconstructions). وقد أدى تطور المواد الاصطناعية أو التركيبية والفهم الأفضل للجهاز العضلي الهيكلي إلى عمليات جراحية ناجحة بشكل كبير من أجل استبدال مفاصل اصطناعية بالمفاصل التالفة. إن عمليات استبدال المفاصل الكاملة في الالتهابات التَنَكُّسِيَّة لمفاصل الأوراك والركب هي واحدة من أكثر عمليات جراحة العظام نجاحاً مع نتيجة إيجابية يمكن التنبؤ بها في غالبية المرضى. إلا أنه لا يزال هناك الكثير من المشاكل العضلية الهيكلية التي لم يتم حلها بعد مثل التَّام أو شفاء العيوب العظمية الكبيرة (bony defects) والضرر المفصلي (articular damage) في المرضى صغار السن واندماج أو انحلال العمود الفقري (دمج الفقرات) (spinal fusion). يُقدم تطبيق البُنى النانوية ميزة على حاملة الخلايا والأنسجة التقليدية ذات الأساس المايكرو (traditional microbased scaffold) لمعالجة بعض من هذه المشاكل الصعبة للغاية.

(١٤,٣,٢) هندسة الأنسجة لعلاج المشاكل العضلية الهيكلية Tissue Engineering for the Treatment of Musculoskeletal Problems

إن هندسة الأنسجة مجال طبي حيوي متعدد التخصصات (interdisciplinary) يجمع بين المعرفة المتراكمة خلال ١٤ سنة الماضية لعلم المواد ومبادئ الهندسة والخلايا والبيولوجيا الجزيئية والتطويرية. إن الهدف النهائي لهندسة الأنسجة هو تطوير البدائل البيولوجية (biological substitutes) التي سوف تستعيد أو تحافظ على أو تُحسن من وظائف الأنسجة المتضررة [9]. وعلى الرغم من أن بناء الأنسجة الوظيفية (functional tissue) مهمة شاقة، فإن هذا المجال يقدم طريقة واعدة للتغلب على المشاكل الحالية مثل النقص في الأنسجة المناسبة المتبرع بها [10]. إن الأنسجة العضلية الهيكلية مثل العظم والغضروف هي أقل تعقيداً عندما يتم مقارنتها مع الأعضاء الصلبة مثل الكلى والرئتين. وبالمقارنة مع الأنسجة الأخرى، فقد تم تحقيق عدد من التطبيقات العملية لهندسة الأنسجة في إصلاح العظم [11].

في عام ٢٠٠٣، بلغ إجمالي مبيعات المنتجات العضلية الهيكلية المهندسة نسيجياً (tissue-engineered musculoskeletal products) حوالي ٢٣.٨ بليون دولار أمريكي. وبحلول العام ٢٠١٣، فإنه من المتوقع أن يزداد هذا الرقم ليصل إلى ٣٩ بليون دولار أمريكي. يمثل إصلاح واستبدال الغضروف والمفاصل أكبر التوقعات المحتملة في سوق المنتجات العضلية الهيكلية بنسبة ٦٧.٤٪ من حصة السوق المحتملة، يليه حقن مكملات اللزوجة (viscosupplementation) (وهو الإجراء الذي ينطوي على حقن مواد شبيهة بالهلام مثل الهياالورونات في مفصل؛ وذلك من أجل استكمال خصائص اللزوجة للسائل الزلّيلي) بنسبة ١٣.٧٪، وتثبيت الكسور وإصلاح العظام / العمود الفقري بنسبة ٩.٤٪ من حصة السوق [12].

STRATEGIES OF MUSCULOSKELETAL TISSUE (١٤,٤) إستراتيجيات هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية ENGINEERING

General Principles for Tissue Engineering (١٤,٤,١) المبادئ الأساسية العامة لهندسة الأنسجة

تشمل المبادئ الأساسية لهندسة الأنسجة ثلاثة مكونات رئيسية هي: حاملات الخلايا والأنسجة، والخلايا، والجزيئات الحيوية التي تنقل الإشارات (signaling biomolecules) (أو عوامل النمو)، وهو ما يسمى بالثالث أو الثلاثي (triad) في هندسة الأنسجة. إن المكونات الأساسية للمصفوفة خارج الخلية (ECM) هي بوليمرات حيوية كولاجينية (collagen biopolymers)، وبشكل أساسي في شكل ألياف وليفيات. يجب على حاملات الخلايا والأنسجة المسامية (porous scaffold)، والتي يُفضل أن تكون مصنوعة من البوليمرات القابلة للامتصاص (absorbable polymer)، أن تحاكي (mimic) المصفوفة خارج الخلية (ECM) وذلك من أجل دعم تكاثر وتنظيم الخلايا. وقد تم أيضًا استخدام أشكال أخرى من التنظيم البوليمري مثل المواد الهلامية (gels) والمواد الرغوية (foams) والأغشية (membranes) كحاملات من أجل هندسة الأنسجة. ويمكن الجمع بين الأشكال المختلفة في المختبر وذلك لإنشاء محاكاة للتنظيم البوليمري الحيوي (biopolymer organization) في أنسجة محددة [13]. ويمكن أن تكون حاملات الخلايا والأنسجة غنية بالجزيئات الحيوية التي تنقل الإشارات. سوف تشكل الخلايا المدججة في حاملات الخلايا والأنسجة مصفوفة خارج الخلية (ECM) وسوف توفر كذلك الإشارات اللازمة لبناء الأنسجة. وقد تم استخدام المصفوفات الكولاجينية اللاخلوية (acellular collagen matrices)، في شكل إسفنجات (sponges) مزودة أو غير مزودة بمعادن طليعة العظم (bone precursor minerals) (فوسفات الكالسيوم calcium phosphate)، كسواغات أو وسائط نقل (vehicles) من أجل توصيل مجموعة متنوعة من البروتينات المكونة للعظم (bone morphogenetic proteins - BMPs). وكمثال على تطبيق الثالث أو الثلاثي في هندسة الأنسجة من أجل هندسة الأنسجة العظمية، تنطوي إحدى الإستراتيجيات على إضافة فوسفات الكالسيوم إلى حاملات الخلايا والأنسجة وبذر حاملات الخلايا والأنسجة بخلايا نقي العظم السدوية (bone marrow stromal cells - BMSCs) وتزويد حاملات الخلايا والأنسجة بعوامل النمو (البروتين المكون للعظم - اثنان BMP-2) والبروتين المكون للعظم - سبعة (BMP-7) وعامل تحويل النمو - بيتا ($TGF-\beta$)، إلخ. وللمزيد من محاكاة المصفوفة خارج الخلية (ECM) للعظم الطبيعي، يمكن تصنيع حاملات الخلايا والأنسجة مع بنية نسيجية نانوية (nanotexture) وربطها بفوسفات الكالسيوم النانوي (nanocalcium phosphate).

Biomimetic Scaffolds (١٤,٤,٢) حاملات الخلايا والأنسجة المحاكية حيويًا

تدعم المصفوفة خارج الخلية (ECM) في النسيج الطبيعي التصاق وتكاثر وتمايز الخلايا. وبطريقة مثالية يجب على حاملات الخلايا والأنسجة أن تحاكي المصفوفة خارج الخلية (ECM) الطبيعية إلى أقصى حد ممكن. وقد تم دراسة حاملات الخلايا والأنسجة ذات المستوى المايكروى بتفصيل كبير في العشرين سنة الأخيرة. ولوحظ أن المسامية العالية وحجم مسام يتراوح بين ٥٠ و ٤٠٠ مايكرومتر ضروريان في حاملات الخلايا والأنسجة من أجل نُشُوب أو نمو الخلايا (cell ingrowth). ولتعزيز التصاق وتكاثر وتمايز الخلايا، فإنه من الضروري محاكاة بعض البنى النانوية للمصفوفة خارج الخلية (ECM). إن البنية ذات

المستوى النانوي للمصفوفة خارج الخلية (ECM) هي شبكة طبيعية من الألياف النانوية المعقدة، والتي توفر خلفية مفيدة تقوم على توجيه سلوك الخلايا [6,10,14,15]. ويمكن أن تكون الإشارات أو المنبهات الوظيفية (functional cues) التي يتم تقديمها من قبل المصفوفة خارج الخلية (ECM) كيميائية في طبيعتها مثل وجود البروتينات اللاصقة (adhesive proteins)، أو فيزيائية بحثة مثل الطوبوغرافيا السطحية من مستوى المقياس النانومتري إلى مستوى المقياس المايكرومتري للمصفوفة خارج الخلية (ECM). وسوف تتم مناقشة التفاعلات التفصيلية بين الخلايا وحاملات الخلايا والأنسجة النانوية فيما بعد في الفقرة (١٤,٥). وسوف تتم مناقشة تعزيز السلوك الخلوي عن طريق تراكب (superposition) البنية النسيجية النانوية على حاملة الخلايا والأنسجة ذات المستوى المايكرومي.

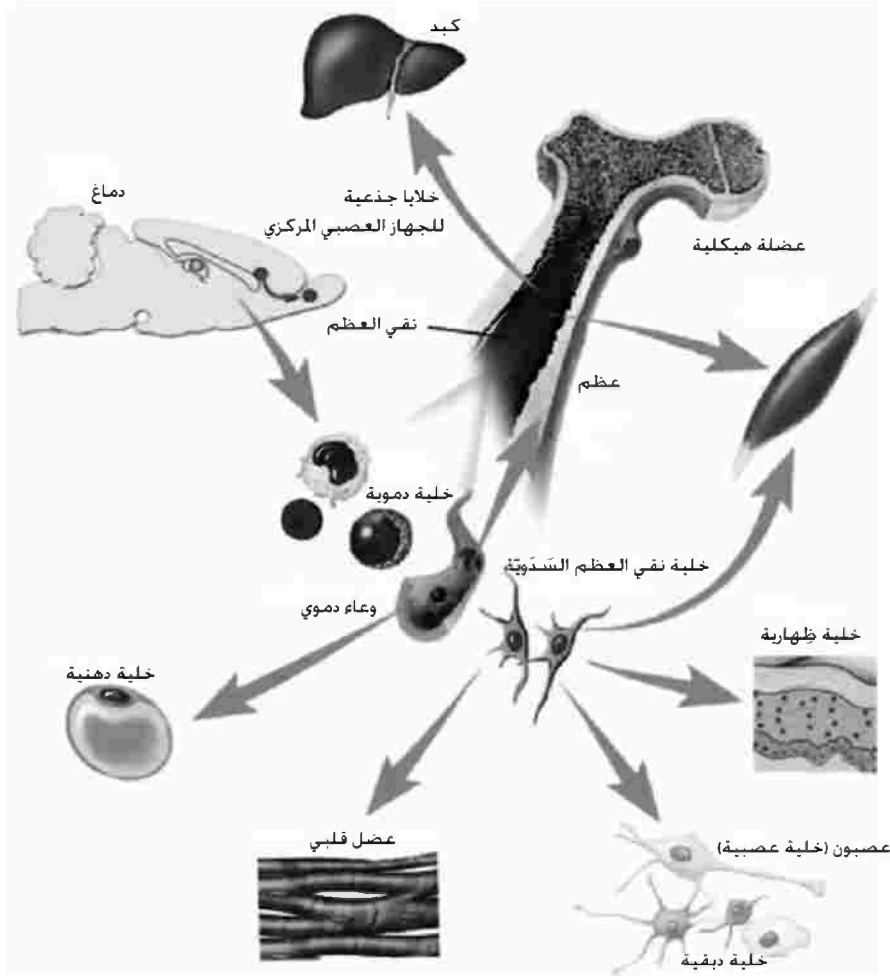
فعلى المستوى المايكرومتري (micrometer level)، يمكن تصنيف العظم كعظم إسفنجي مع العديد من المسامات ومع مسامية عالية أو كعظم صُفاحيٍّ مع عَظْمونات أسطوانية مكتنزة (compact cylindrical osteons) (العَظْمونات هي الوحدات الأساسية في بناء العظم). وعلى المستوى النانومتري (nanometer level)، تتجمع اللييفات الكولاجينية والهيدروكسي آباتيت ذو الطور النانوي (nanophase HA) ذاتياً في شكلٍ مُنَظَّم ومتراصف. وترتبط الأنسجة المختلفة في الجهاز العضلي الهيكلي مع بعضها البعض بسلاسة، إما في شكل نسيج صلب مع نسيج صلب (hard to hard tissue) وإما في شكل نسيج لين مع نسيج صلب (soft to hard tissue) وإما في شكل نسيج لين مع نسيج لين (soft to soft tissue). وتبدأ عملية الارتباط من المستوى الجزيئي (molecular level) وتتطابق بشكلٍ هرمي. ويُعتقد أن قوة الالتصاق الفائقة (superadhesive strength) تنشأ عن التفاعل الكهرستاتيكي (الكهربائي الساكن) (electrostatic interaction). وبالتالي؛ فإن البنية النانوية لحاملة الخلايا والأنسجة هي مسألة حاسمة عند تطوير حاملة من أجل الأنسجة المركبة مثل حاملة الخلايا والأنسجة المستخدمة من أجل التطعيم بطعم عظمي غضروفي (osteocondral graft).

(١٤,٤,٣) الخلايا الجذعية Stem Cells

في الوقت الحالي، توجد أنواع عديدة من الخلايا المتوفرة من أجل تجديد نوع محدد من الأنسجة. إن لاستخدام الخلايا الناضجة (mature cells) من أجل تجديد الأنسجة مثل استخدام الخلايا الغضروفية (chondrocytes) من أجل تجديد الغضروف (cartilage regeneration) تاريخاً ناجحاً. إن مثل هذا الاستخدام يبقى تقنية هامة في هندسة الأنسجة. وعلى أي حال، فإن التطورات السريعة في بيولوجيا الخلايا وفي تحديد أو الكشف عن هوية أنواع جديدة من الخلايا قد حسنت من القدرة على استخدام خيارات واسعة من أنواع الخلايا لتحوُّل ونمو الخلايا إلى أنسجة مناسبة. وقد تم الاعتراف بالخلايا الجذعية على أنها بديلٌ واعد عن الخلايا الناضجة نظراً لمقدرتها على تجديد نفسها من خلال انقسام الخلايا وعلى التمايز إلى مجموعة واسعة من أنواع الخلايا المتخصصة (specialized cell). في البداية، كانت الأبحاث العلمية على الخلايا الجذعية تدور حول كيفية تطور الكائن الحي من خلية مفردة وكيف تحل الخلايا السليمة محل الخلايا المتضررة في الكائنات الحية البالغة. وقد قاد التقدم في فهم التجديد الذاتي (self - renewal) والتمايز الموجه (directed differentiation) العلماء إلى اقتراح إمكانية استخدام العلاجات المبنية على أساس الخلايا (cell - based therapies) لعلاج الأمراض، بما في ذلك استخدام الخلايا الجذعية في هندسة الأنسجة.

يوجد ثلاثة أنواع من الخلايا الجذعية: الخلايا الجذعية الجنينية (embryonic stem cells) وخلايا دم الحبل السري الجذعية (cord blood stem cells) والخلايا الجذعية البالغة (adult stem cells). تعتبر الخلايا الجذعية البالغة مناسبة بشكل خاص للتطبيقات في هندسة الأنسجة من أجل الجهاز العضلي الهيكلي وذلك بسبب توافرها وعدم وجود جدال أو خلاف حولها. إن المصدر المريح أو المناسب للخلايا الجذعية البالغة هو من نقي العظم (bone marrow). فبالإضافة إلى خلايا الدم الحمراء (red blood cells) وخلايا الدم البيضاء (white blood cells) والصفائح الدموية (platelets) يحتوي نقي العظم على نوعين بارزين من الخلايا الجذعية هي: الخلايا الجذعية المكوّنة للدم (hematopoietic stem cells - HSCs) والتي تكون مسؤولة عن تكوين خلايا الدم، والخلايا الجذعية المتوسّطة (MSCs)، والتي لديها القدرة على التمايز إلى الخلايا البانية للعظم (osteoblasts) والخلايا الغضروفية والخلايا العضلية (myocytes) وأنواع أخرى من الخلايا. وبالتالي، فإن الميزة المحتملة لاستخدام الخلايا الجذعية البالغة هي أن خلايا المريض نفسه يمكن قطفها أو حصدها وعزلها وتوسيع نموها بسهولة في مزرعة الخلايا، ومن ثم يتم زرعها أو غرسها في جسم المريض في المكان الذي يكون فيه تجديد الأنسجة مطلوباً [16]. تُجنب هذه الطريقة ذاتية المنشأ الرفض المناعي (immune rejection) الذي يحدث مشاكل عندما يتم استخدام طُعوم خَفِيفَة (allografts) (طُعوم من فرد ينتمي لنفس النوع) أو طُعوم أجنبيّة (xenografts) (طُعوم غَيْرَوِيّة). وثمة إستراتيجية أخرى هي بذر الخلايا الجذعية ذاتية المنشأ (autologous stem cells) على حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيويًا (biomimetic scaffolds) وذلك من أجل محاكاة الأنسجة الطبيعية للمريض وبالتالي فإن الأنسجة المهندسة سوف تحتفظ ببعض من مزايا الطُعوم ذاتية المنشأ. إن مثل هذه الطرق في هندسة الأنسجة تغلب على انتشار المرض المرتبط بالجراحة الترميمية (reconstructive surgery) التقليدية التي يتم فيها قطف أو حصاد الأنسجة الطبيعية من جسم المريض نفسه.

تعتبر أنواع معينة من الخلايا الجذعية البالغة متعددة القدرات (pluripotent)؛ أي أنها يمكن أن تتمايز إلى خلايا مستمدة من الطبقات الثلاثة المُنْتَشَة (في الجنين) (three germ layers) [17-19]. إن هذه القدرة على التمايز إلى أنواع متعددة من الخلايا تُدعى بالتَكَيُفِيّة (plasticity) أو التمايز العابر (transdifferentiation). تُقدم القائمة التالية أمثلة على تَكَيُفِيّة الخلايا الجذعية البالغة التي تم ذكرها أثناء السنوات القليلة الماضية كما هو مُوضَّح في الشكل رقم (١٤.٤). وبالإضافة إلى ذلك، يمكن أن تتمايز الخلايا الجذعية المكوّنة للدم (HSCs) إلى ثلاثة أنواع رئيسية من الخلايا الدماغية (brain cells) (العَصَبُونات (neurons) والخلايا الدَبَقِيّة قليلة التَغَصُّن (oligodendrocytes) والخلايا النَجْمِيّة (astrocytes))؛ والخلايا العضلية الهيكلية (skeletal muscle cells)؛ والخلايا العضلية القلبية (cardiac muscle cells)؛ والخلايا الكبدية (liver cells). وبالإضافة إلى تمايز خلايا نقي العظم السَدَوِيّة (BMSCs) إلى الخلايا العضلية الهيكلية فإنها من الممكن أن تتمايز أيضاً إلى الخلايا العضلية القلبية [20]. وتوفر التَكَيُفِيّة الإمكانية الأساسية لهندسة الأنسجة المتعددة باستخدام أنواع محددة من الخلايا الجذعية.



الشكل رقم (١٤،٤). تكيّفية (plasticity) الخلايا الجذعية البالغة. (من تقرير المعهد الوطني للصحة عن الخلايا الجذعية بعنوان: الخلايا الجذعية: التقدم العلمي واتجاهات البحث المستقبلية NIH Stem Cell Report entitled: *Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions*, Kirschstein, R. and Skirboll, L.R., Department of Health and Human Services, June 2001. <http://stemcells.nih.gov/info/basics/basics4> [accessed Feb 06, 2007]).

على الرغم من أن تقنيات زراعة الخلايا القياسية كانت ناجحة من أجل توسيع نمو الخلايا الناضجة أو تامة النمو، إلا أن تقنيات زراعة الخلايا الجذعية المتوسطة (MSCs) من أجل هندسة الأنسجة المبنية على أساس الخلايا الجذعية المتوسطة (MSCs) والمستخدمه بشكل خاص من أجل التوسع ثلاثي الأبعاد (3D expansion) تتطلب مزيداً من التطورات. وللمحافظة على النمط الظاهري (phenotype) والوظائف المتمايزة (differentiated functions) للخلايا الجذعية المتوسطة (MSCs)، فيجب على البيئة الطبيعية المحاكاة (simulated natural environment) لدعم المصفوفة خارج الخلية المحاكاة حيويًا (biomimetic ECM) أن توفر الإشارات المناسبة للخلايا الملتصقة. ويمكن أن توفر حاملات الخلايا والأنسجة ذات

البنية النسيجية النانوية الإشارات أو المنبهات الفيزيائية وكذلك المكانية والتي تعتبر أساسية لمحاكاة نمو الأنسجة الطبيعية. وبالإضافة إلى الإشارات أو المنبهات الفيزيائية والمكانية، يمكن أن تكون حاملات الخلايا والأنسجة نفسها ناقلة أو حاملة للجزيئات الحيوية التي تنقل الإشارات.

(١٤,٤,٤) عوامل النمو Growth Factors

لقد تم استخدام عوامل النمو بشكلٍ سريري لعدد من السنوات وتم عرض كفاءتها لتعزيز إصلاح الأنسجة وعلى وجه التحديد من أجل إصلاح العظم إلى درجة معينة. في الماضي، كان يتم حقن عوامل النمو أو تطبيقها بشكل مباشر على الأنسجة. قد يتطلب توصيل عوامل النمو بهذه الطريقة جرعة أكبر كما هو في حالة عوامل النمو: البروتين المكوّن للعظم - اثنان (BMP-2) والبروتين المكوّن للعظم - سبعة (BMP-7) (كونهما من الجزيئات الصغيرة نسبياً التي سوف تنتشر بسرعة بعيداً أو أنها ستصبح مُعطّلة inactivated). وبالتالي؛ فإن بعض أشكال أنظمة النقل والتوصيل (carrier and delivery systems) سوف تكون مطلوبة في عملية الإطلاق المتواصل أو المستدام (sustained release) للبروتينات المكوّنة للعظم (BMPs) وذلك من أجل أن تكون عوامل النمو فعّالة عند سرير المضيف أثناء فترة الشفاء. إن أحد متطلبات ناقلات البروتينات المكوّنة للعظم (BMP carriers) هو أن تكون المادة الكتلية بعد عملية الزراعة قادرة على مقاومة البروتينات المكوّنة للعظم المُشترَبة أو الممتصة (imbibed BMPs) من أن تُضغَط أو تُعصر إلى خارج الأنسجة المحيطة وبالتالي يتم إعادة امتصاصها بسرعة [21-23]. تشير التجارب السريرية الباكورة وإلى الآن إلى أن استخدام بدائل الطعوم العظمية (bone graft substitutes) الحالية بالاشتراك مع عوامل النمو المحرّضة للعظم (osteoinductive growth factors) يمكن أن يحل محل استخدام الطعم العظمي ذاتي المنشأ (autogenous bone graft) في تطبيقات سريرية معينة مثل اندماج أو انخلال العمود الفقري (دمج الفقرات) [24]. وقد تم التكهّن أيضاً بأنه يمكن تخفيض الجرعة الحالية الموصى بها باستخدام أنظمة نقل وتوصيل أفضل. ويبقى التحدي هو تحسين جرعة البروتينات المكوّنة للعظم (BMPs) المطلوبة وتحديد الناقل أو الحامل المناسب من أجل البروتينات المكوّنة للعظم (BMPs) [25].

يُنظر إلى المواد النانوية (nanomaterials) كناقلات أو حاملات مناسبة وذلك بسبب امتلاكها نسبة عالية من المساحة السطحية إلى الحجم. وبالتالي؛ فإنه من الممكن التحكم بالإشارات الممتصة فيزيائياً (physically absorbed signals) أو الإشارات المرتبطة كيميائياً (chemically bonded signals) على السطح بصورة أكثر فعالية من خلال مواد الناقلات. وبالتالي فإن الجزيئات الحيوية، سواءً أكانت تلك التي تُمتص فيزيائياً أو تلك التي ترتبط كيميائياً على سطح المادة الناقلة، يمكن تعديلها أو التلاعب بها بصورة أكثر فعالية عبر مجال أكبر من الطاقات الحركية لإطلاق أو تحرير الدواء (release kinetics). وقد تم تطوير المواد ذات الطور النانوي (nanophase materials) كمواقد ناقلة متقدمة ويمكن أن تكون هذه المواد في شكل جسيمات نانوية [26-28] أو ألياف نانوية [29] مصنوعة من السيراميك الحيوي (bioceramics) و/ أو البوليمرات الحيوية (biopolymers). على سبيل المثال، فإن لهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الطور النانوي خصائص سطحية فريدة من

نوعها مثل العدد المتزايد من الذرات وحدود الحبيبات (boundaries of the grains) للمادة والعيوب في المنطقة السطحية والبنية الإلكترونية المتغيرة، وذلك بالمقارنة مع الهيدروكسي آباتيت التقليدي ذي الحجم المايكروني (conventional micron size HA). فعلى سبيل المثال، يملك الهيدروكسي آباتيت (HA) ذو الطور النانوي (ذو حجم بمقدار ٦٧ نانومتراً) خشونة سطحية (surface roughness) أعلى قدرها ١٧ نانومتراً مقابل خشونة قدرها ١٠ نانومتراً من أجل الهيدروكسي آباتيت (HA) التقليدي ذي الحجم ما دون المايكروني (بمقدار ١٧٩ نانومتر) في حين أن زوايا التماس أو الاتصال (contact angles) (وهي قياس كمي لابتلال أو ترطيب (wetting) مادة صلبة بمادة سائلة) تكون أقل بكثير من أجل الهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الطور النانوي مع زاوية تماس قدرها ٦,١ درجة مقارنة مع زاوية تماس قدرها ١١,٥١ درجة من أجل الهيدروكسي آباتيت (HA) التقليدي. وبالإضافة إلى ذلك، فإن قطر المسامات المفردة في رصة الهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الطور النانوي (nanophase HA compact) (مع قطر مسام ٦,٦ أنغستروماً (10^{-10} م)) هو أصغر بخمس مرات من قطر المسامات المفردة في رصات الهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الحجم الحبيبي التقليدي (يتراوح قطر المسام بين ١٩,٨ و ٣١ أنغستروماً). وبالتالي؛ فقد كان للهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الطور النانوي بروتينات أكثر بنسبة ١١٪ في المصل البقري الجنيني (fetal bovine serum) ممزوجة أو مُمتصة في السنتيمتر مربع مقارنة مع الهيدروكسي آباتيت (HA) التقليدي. إن امتزاز أو امتصاص بروتينات محددة مثل الفبرونيكتين (fibronectin) والفيترونيكتين (vitronectin) والكولاجين المتمسّخ (denatured collagen) من الدم ونقي العظم والأنسجة الأخرى على سطح الطعم أو المادة المزروعة يتوسط في عمليات الالتصاق والتمايز والنمو اللاحقة الخاصة بالخلايا البانية للعظم أو الخلايا الأخرى المرغوبة.

وقد اتضح في الآونة الأخيرة بأنه يمكن دمج الجزيئات الحيوية في جزء اللب من بنية ذات لب - قشر (core - shell structure) لجسيمات نانوية أو ألياف نانوية وذلك من أجل توصيل أكثر استمرارية [30-35]. وعلى أي حال، فإنه من الصعب دمج الجسيمات النانوية في حاملة خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد. وهكذا، يبدو أن حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو جذابة. وبالطبع، يمكن استخدام الجسيمات النانوية كمُضافات (additives) للمركبات الليفية النانوية [36]. في الأقسام التالية، سوف نُركّز على استخدام حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية (nanofibrous scaffolds) في هندسة الأنسجة، إما كركائز (substrates) من أجل نمو الخلايا وإما كناقلات (carriers) لتوصيل الدواء (drug delivery).

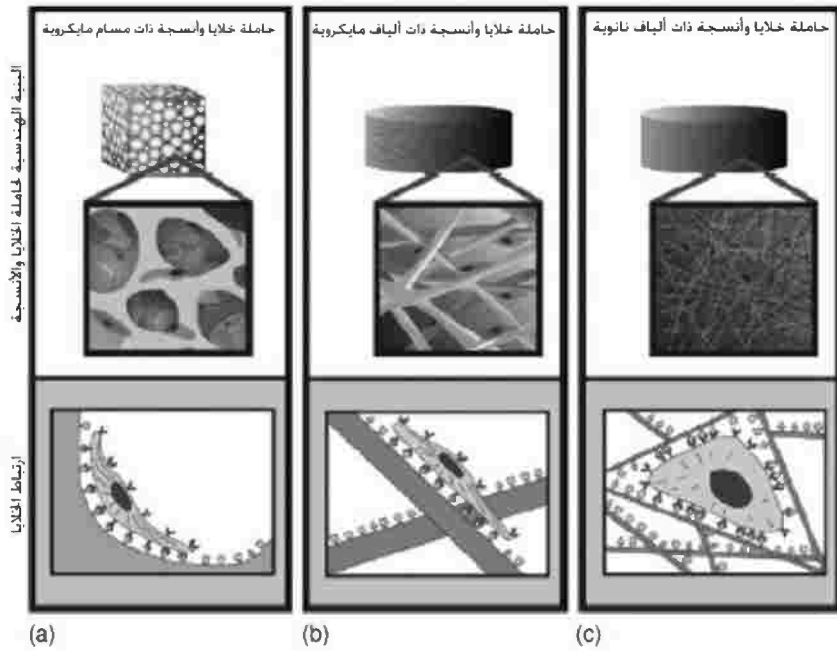
(١٤,٥) تفاعلات حاملة الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو - الخلايا NANOFIBROUS SCAFFOLD-CELL

INTERACTIONS

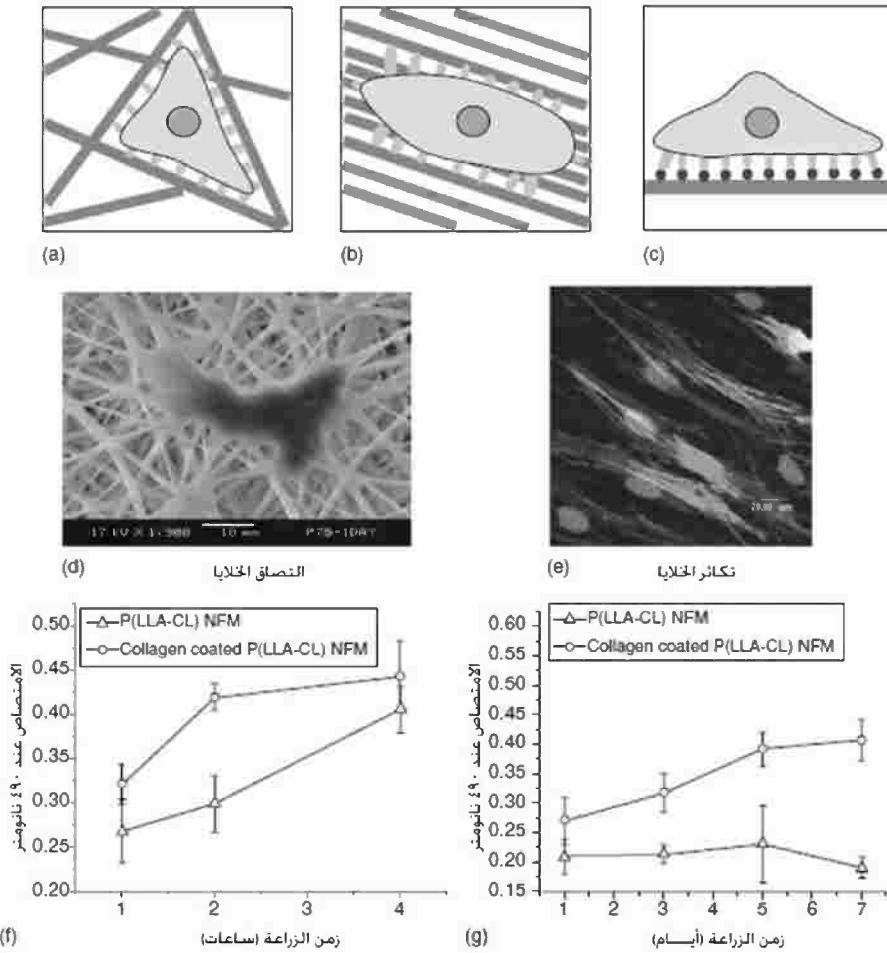
بدراسة الكيفية التي تؤثر بها الإشارات أو المنبهات الوظيفية على توضع وترصف الخلايا أثناء العملية التطويرية (developmental process)، يمكن لمهندسي الأنسجة أن يُحسّنوا من تصميم حاملة الخلايا والأنسجة الخاصة بهم وذلك من أجل تحقيق تجديد فعّال للأنسجة. إن التعديلات في المستوى النانوي في الطوبوغرافيا السطحية تثير سلوكاً مختلفاً للخلايا، يتراوح من تغيرات في التصاق الخلايا وتوجيه الخلايا وحركة الخلايا وإظهار المستضد السطحي (surface antigen) والتكاثف

الهيكل الخلوي (cytoskeletal condensation) وتفعيل إنزيمات كيناز التيروسين (حمض أميني) (tyrosine kinases) وتعديل مسارات نقل الإشارات داخل الخلايا (intracellular signaling pathways) التي تنظم النشاط النسخي (activity transcriptional) والتعبير الجيني (gene expression) [37]. فعلى سبيل المثال، لقد وُجد بأن الخلايا البانية للعظم تلتصق بشكل تفضيلي بألياف الكربون النانوية (carbon nanofibers) مقارنةً مع الخلايا الغضروفية وخلايا الأرومة الليفية والخلايا العضلية الملساء (SMCs) [38,39]. ولتجديد الأنسجة، تكون حاملات الخلايا والأنسجة المهندسة بمثابة مضيفات للخلايا المقطوفة أو المحصودة من الأنسجة الطبيعية. إن الخلايا التي ترتبط بحاملات الخلايا والأنسجة ذات البنى الهندسية في المستوى المايكرو (microscale architectures) تتسطح (flatten) وتنتشر كما لو أنها مزروعة على سطوح مستوية، إلا أن حاملات الخلايا والأنسجة ذات البنى الهندسية في المستوى النانوي لها مساحات سطحية أكبر لامتزاز أو امتصاص البروتينات؛ مما يوفر مواقع ارتباط أكثر بكثير لمستقبلات أغشية الخلايا (الشكل رقم ١٤.٥). ويمكن للبروتينات الممزوجة أو الممتصة أن تُغيّر أيضاً التشكل، مما يؤدي إلى تعريض أو كشف مواقع ارتباط إضافية مخفية (cryptic binding sites). وقد قامت مجموعتنا بإجراء بحثٍ رائدٍ على تفاعلات الخلايا - الألياف النانوية البوليمرية [40-48]. تشير هذه الملاحظات إلى أن حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية المغزولة كهربائياً (electrospun nanofibrous scaffolds) يمكن أن تعزز التفاعلات الإيجابية للخلايا - النسيج الغشائي أو المصفوفة؛ مما يشجع الخلايا على الارتكاز أو التثبيت بالألياف النانوية المبنية في الشكل رقم (١٤.٦ a إلى c). باختصار (١) تُشجع الألياف النانوية وبشكل ملحوظ على التصاق وتكاثر الخلايا؛ (٢) يُوجّه اتجاه ألياف النانو المتراصة (aligned nanofibers) اتجاه البروتينات الهيكلية الخلوية (cytoskeletal proteins) (الخاصة بهيكل الخلية)؛ (٣) يمكن لألياف النانو المحددة أو المخصصة وظيفياً (functionalized nanofibers) أن تعزز تأثيرات ألياف النانو المذكورة أعلاه على تصرفات أو سلوكيات الخلايا. وكمثال على تأثير التحديد أو التخصيص الوظيفي السطحي (surface functionalization) لبولي (إل-لاكتيد-كو-ε-كابرولاكتون) (Poly(l-lactide-co-ε-caprolactone) - P(LLA-CL))، من أجل ألياف النانو المطلية أو المغلفة بالكولاجين، فقد تحسّن التصاق وتكاثر الخلايا (انظر الشكل رقم ١٤.٦ f و g). لقد التصقت الخلايا البانية للعظم المزروعة ليوم واحد على الألياف النانوية المؤلفة من البولي (ε-كابرولاكتون) / كربونات الكالسيوم (PCL / CaCO₃) بصورة جيدة مع أشكال أو مورفولوجيا مضلعة (polygonal morphology) [40]. وقد توجهت الخلايا العضلية الملساء (SMCs) المزروعة على الألياف النانوية المتراصة المؤلفة من البولي (إل-لاكتيد-كو-ε-كابرولاكتون) (PLLA-CL) على طول الألياف النانوية [41]. وقد التصقت الخلايا العضلية الملساء (SMCs) وانتقلت على طول محور الألياف النانوية المتراصة وأظهرت نمطاً ظاهرياً أشبه بالمغزل قابل للتقلص (spindle-like contractile phenotype). وقد كان توزيع وتنظيم بروتينات هيكل الخلايا العضلية الملساء (smooth muscle cytoskeleton proteins) داخل الخلايا العضلية الملساء (SMCs) موازياً لاتجاه الألياف النانوية. وقد تحسّن معدل التصاق وتكاثر الخلايا العضلية الملساء (SMCs) بشكل ملحوظ على حاملة الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية المتراصة أكثر مما كان عليه على الأفلام البوليمرية المستوية (plane polymer films). وبعد طلاء الكولاجين على الألياف النانوية المؤلفة من البولي (إل-لاكتيد-كو-ε-كابرولاكتون) (PLLA-CL)، ازداد كلٌّ من التصاق الخلايا وقدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة بشكل كبير [42]. كما ازداد أيضاً التمدن الحيوي (التشبع بالمواد المعدنية) بشكل ملحوظ (٥٥ %) في حاملات الخلايا والأنسجة

الليفية النانوية المؤلفة من المركب الحيوي (biocomposite) البولي كابريولاكتون / الهيدروكسي آباتيت ذي الطور النانوي / الكولاجين (PCL / nHA / Col) بعد عشرة أيام من الزراعة وظهرت كمعادن تم تركيبها عن طريق الخلايا الجنينية البشرية البانية للعظم (hFOB - human fetal osteoblasts). لقد كان لنظام المركب الحيوي الفريد في المستوى النانوي مع مورفولوجيا ليفية نانوية تحديد أو تخصيص وظيفي سطحي طبيعي مُتأصل (كامن) من أجل التصاق وهجرة وتكاثر وتمعدن الخلايا الجنينية البشرية البانية للعظم (hFOB) [48]. وستتم مناقشة تفاصيل تفاعل الخلايا الجذعية على الألياف النانوية من أجل تجديد أنسجة محددة في الفقرة (١٤,٦). إن تأثير الألياف النانوية على تمايز الخلايا الجذعية هو مسألة أساسية من أجل المزيد من تطبيقات الألياف النانوية في هندسة الأنسجة. فيمكن تحفيز الخلايا الجذعية على التمايز إلى أنواع مختلفة من الخلايا عن طريق عوامل النمو أو عوامل أخرى في أوساط التغذية، ويمكننا دمج مثل هذه الجزيئات الحيوية في الألياف النانوية وذلك لتوجيه التمايز (direct differentiation) إلى النوع المطلوب من الخلايا. كما يمكن لمورفولوجيا الألياف النانوية المحاكية حيويًا مع أنماط أو أشكال مختلفة أن تساعد أيضًا في توجيه تمايز الخلايا الجذعية. وهذا لا يزال موضع شك ومُختلفًا عليه حيث إن الأبحاث على المسلمات أو الفرضيات المذكورة أعلاه ما زالت جارية حاليًا.



الشكل رقم (١٤,٥). تؤثر بنية حاملة الخلايا والأنسجة على ربط وانتشار الخلايا. (a, b) ربط الخلايا بحاملات الخلايا والأنسجة مع بُنى هندسية في المستوى المايكروي بحيث تتسطح وتنتشر كما لو أنها مزرعة على سطوح مستوية. (c) حاملات خلايا وأنسجة مع بُنى هندسية نانوية تملك مساحات سطحية أكبر لامتراز أو امتصاص البروتينات، مما يوفر مواقع ربط عديدة جدًا لمستقبلات غشاء الخلية (cell membrane receptors). ويمكن للبروتينات الممزوجة أو الممتصة أن تغير أيضًا من التشكل، مما يؤدي إلى عرض أو كشف مواقع ربط إضافية خفية. (من Stevens, M.M. and George, J.H., Science, 310, 1135, 2005).



الشكل رقم (١٤، ٦). رسم تخطيطي لردود فعل أو استجابات الخلايا - الألياف النانوية على (a) ألياف نانو عشوائية، (b) ألياف نانو متراصة، و (c) ألياف نانو محددة أو مخصصة وظيفيًا. (d إلى g) هي نتائج من مجموعة: (d) خلايا بانية للعظم مزروعة ليوم واحد على ألياف النانو المصنوعة من البولي كابرولاكتون / كربونات الكالسيوم (PCL / CaCO₃). (تمت إعادة طباعتها من Fujihara, K., Kotaki, M., and Ramakrishna, S., *Biomaterials*, 26, 4139, 2005). (e) خلايا العضلات الملساء مزروعة على ألياف النانو المتراصة المصنوعة من البولي (إل-لاكتيد-كو-ε-كابرولاكتون) (PLLA - CL). (من Xu, C.Y., Inai, R., Kotaki, M. et al., *Biomaterials*, 25, 877, 2004). (f) التصاق الخلايا و (g) بقاء الخلايا على قيد الحياة على ألياف النانو المصنوعة من الكولاجين المطلي بالبولي (إل-لاكتيد-كو-ε-كابرولاكتون) (PLLA - CL). (من He, W., Ma, Z., Yong, T. et al., *Biomaterials*, 26, 7606, 2005).

بالإضافة إلى الألياف النانوية المغزولة كهربائيًا، تعطي الألياف النانوية التي يتم تصنيعها بواسطة طرق أخرى، مثل التجميع الذاتي (self - assembly) والفصل الطوري (phase separation)، نتائج مماثلة على ردود فعل أو استجابات الخلايا [49-53]. وبصورة أساسية، يتم نسج أو حيك هذه الألياف النانوية بشكل عشوائي (randomly interweaved) بدون شكل دوري طويل الأمد (long - term periodic pattern). لقد طور Elia Beniash وآخرون [49] فئة من جزيئات بيتيدية

مزوجة الألفة (peptide amphiphile molecules - PA) تمتلك كلاً من الخصائص المحبة للماء (hydrophilic properties) والخصائص الكارهة للماء (hydrophobic properties) بحيث إنها ستجتمع ذاتياً في شبكات من ألياف نانوية ثلاثية الأبعاد تحت ظروف فيزيولوجية وفي وجود الأيونات المعدنية متعددة التكافؤ (polyvalent metal ions). يُحاصر التجميع الذاتي الببتيدي مزوج الألفة (PA) خلايا الـ MC3T3-E1 في المصفوفة الليفية النانوية (nanofibrillar matrix)، وتبقى الخلايا على قيد الحياة في مزرعة الخلايا لمدة ٣ أسابيع على الأقل. لقد كان الانحباس (entrapment) قادراً على دعم تكاثر وتحرك الخلايا. وقد أشار التحليل الكيميائي الحيوي (biochemical analysis) إلى أن الخلايا المحصورة قد استوطنت الألياف النانوية وربما استخدمت الجزيئات الببتيدية مزوجة الألفة (PA) في مساراتها الاستقلابية أو الأيضية (metabolic pathways).

لقد تم تطوير حاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية مصنوعة من بولي (حمض إل - لاكتيك) (poly(L-lactic acid) - PLLA) مع مسامات مترابطة بينياً (interconnected pores) عن طريق الفصل الطوري [54,55]. تملك حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجدران مع مسامات مترابطة بينياً بنية نسيجية ليفية نانوية (nanofibrous texture) امتصت بروتينات المصل أكثر بأربعة أضعاف من حاملات الخلايا والأنسجة مع مسامات مترابطة بينياً ولها جدران صلبة. إن البنية الهندسية للألياف النانوية قد عززت وبشكل انتقائي من امتزاز أو امتصاص البروتينات بما في ذلك الفبرونيكتين والفيترونيكتين، على الرغم من أن كلاً من حاملتي الخلايا والأنسجة قد تم تصنيعهما من نفس مادة البولي (حمض إل - لاكتيك) (PLLA). علاوة على ذلك، فقد سمحت أيضاً حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية بالتصاق الخلايا البانية للعظم بمعدل أكبر بمقدار ١.٧ ضعفاً من حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجدران بمسامات صلبة (solid pore walls). كما عرضت الخلايا البانية للعظم المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية أيضاً نشاطاً أكبر لإنزيم الفوسفاتاز القلوي (alkaline phosphatase)، وتعبيراً أبكر ومُعزّزاً للنمط الظاهري للخلايا البانية للعظم مقابل حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجدران الصلبة (solid - walled scaffolds) (حاملات الخلايا والأنسجة المايكروية microscaffolds) المصنوعة عن طريق الفصل الطوري. إن أكثر ما لوحظ هو الزيادة في بروتين الـ runx2 وفي الـ RNA (المُرْسَل للبروتين اللعابي العظمي bone sialoprotein mRNA) في الخلايا المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات الألياف النانوية بالمقارنة مع تلك المزروعة على حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجدران الصلبة. ففي اليوم الأول من الزراعة، تم التعبير عن الإنتغرينات α_2 و β_1 بالإضافة إلى الإنتغرينات α_v و β_3 بشكل كبير على سطح الخلايا المبدورة على حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية، وبالارتباط مع ذلك فقد كانت هناك مستويات أعلى من الفوسفو - باكسيلين (phosphor - Paxillin) والالتصاق الفوسفاتي - البؤري لإنزيم الكيناز (phospho - focal adhesion kinase - FAK) في حُلَالَات الخلايا (cell lysates). بالإضافة إلى ذلك، فقد تم تعزيز التمدن الحيوي (biomineralization) بصورة ملحوظة على حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية بالمقارنة مع حاملات الخلايا والأنسجة ذات الجدران الصلبة. وهكذا، فإن البنية الهندسية للألياف النانوية تعزز من التمايز ومن التمدن الحيوي للخلايا البانية للعظم.

(١٤,٦) تطبيقات حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية من أجل هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية APPLICATIONS OF NANOFIBROUS SCAFFOLDS FOR MUSCULOSKELETAL TISSUE ENGINEERING

لقد تم إنتاج حاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية بصورة ناجحة من العديد من البوليمرات الاصطناعية والطبيعية باستخدام تقنية الغزل الكهربائي البسيطة نسبياً. تمتلك الألياف التي يتم إنتاجها عن طريق الغزل الكهربائي أقطاراً تتراوح من بضعة نانومترات إلى مايكرومترات [29,56,57]. ومن المحتمل أن تسمح الألياف النانوية المتواصلة (continuous nanofibers) بتصنيع مدمج لمصفوفات ثلاثية الأبعاد ذات ألياف نانوية (3D nanofiber matrices) مع مسامية عالية وتربط بيني مكاني (spatial interconnectivity) عالٍ وتراصف مُحكم به (controlled alignment) للألياف لتوجيه اتجاه وهجرة الخلايا [58,59]. إن المواد والخلايا وعوامل النمو الخاصة بهندسة الأنسجة العضلية الهيكلية المستخدمة حالياً مُدرّجة في الجدول رقم (١٤,١). وبشكلٍ أساسي، يمكن استخدام معظم البوليمرات الحيوية المستخدمة حالياً لتصنيع الألياف النانوية عن طريق الغزل الكهربائي. تدعم عملية الغزل الكهربائي تراكيب مختلفة من الألياف النانوية ويمكن أيضاً الجمع بين هذه التقنية وطرق التصنيع النانوي (nanofabrication methods) الأخرى. إن هذه المرونة في التصنيع بالإضافة إلى سمات أخرى مفيدة تجعل المركب ذا الألياف النانوية محتوى رائداً من أجل تطبيقات هندسة الأنسجة.

الجدول رقم (١٤,١). المواد والخلايا وعوامل النمو الخاصة بهندسة الأنسجة العضلية الهيكلية

عوامل النمو	الخلايا	المواد الخاصة بحاملات الخلايا والأنسجة			النسيج
		مركب	بوليمر اصطناعي	بوليمر طبيعي	العضلي الهيكلي
BMP-2, BMP-7, TGF-β	الخلايا البانية للعظم (Osteoblast)، الخلايا الجذعية المتوسّطية (MSCs)	PLA/HA/collagen, PCL/HA/ collagen, PCL/CaCO3,PCL/HA, PCL/Gelatin/HA, Silk/HA [64]	PLA, PGA, PLGA, PCL, PLA-CL, PU	كولاجين [56]، جيلاتين، حرير [57]، [60- HYA ChS، 63]، شيتوزان	عظم
TGF-β	الخلايا الغضروفية (Chondrocyte)، الخلايا الجذعية المتوسّطية (MSCs)	PLGA-gelatin/chodroitin/HYA [65]			غضروف
TGF-β, IGF-I, VEGF [70,71]	خلايا الأرومة العضلية الهيكلية (Skeletal myoblasts)، الخلايا الجذعية العضلية الهيكلية (Skeletal muscle stem cells) [68,69]، الخلايا الجذعية المتوسّطية (MSCs)				عضل
TGF-β, BMP-12, EGF, PDGF, b-FGF, VEGF, IGF-II [72]	خلايا الأرومة الليفية (Fibroblasts)، الخلايا الجذعية المتوسّطية (MSCs)	PLLA/PLGA [66,67]			رِباط

ملاحظة: b-FGF، عوامل نمو الأرومة الليفية الأساسية (basic-fibroblast growth factors) BMP، بروتين مُكوّن للعظم (bone morphologic protein) ChS، سلفات الكُنْدُرُوَيْتين (مادة من مكونات الغضروف) (chondroitin sulfate) EFG، عامل النمو البشري (epidermal growth factor) HA، هيدروكسي آباتيت (hydroxyapatite) HYA، حمض الهيالورونيك (hyaluronic acid) IGF، عامل النمو الذي يشبه الأنسولين (insulin-like growth factor) PCL، بولي (ε-كابرولاكتون) (poly(ε-caprolactone)) PDGF، عامل النمو المستمد من الصفائح الدموية (platelet-derived growth factor) PGA، بولي (حمض الغليكوليك) (poly(glycolic acid)) PLA، بولي (حمض إل - لكتيك) (poly(L-lactic acid)) PLGA، بولي (إل-لاكتيد/جليكولايد) (poly(L-lactide/glycolide)) PLLA، بولي (إل-لاكتيد-كو-ε-كابرولاكتون) (poly(L-lactide-co-ε-caprolactone)) PU، بولي يوريثان (polyurethane) TGF، عامل تحويل النمو (transforming growth factor) VEGF، عامل النمو البطاني الوعائي (vascular endothelial growth factor).

(١٤,٦,١) العظم Bone

من أجل تجديد الأنسجة العظمية (bone tissue regeneration)، عادةً ما يتم دمج البوليمرات القابلة للتحلل الحيوي (biodegradable polymers) مع السيراميك الحيوي سواءً قبل أو بعد عملية الغزل الكهربائي وذلك لمحاكاة مُكوّن النسيج العظمي الطبيعي. لقد قام Fujihara وآخرون [40] بالغزل الكهربائي لألياف النانو كمركب من البولي (E-كابريولاكتون) / كربونات الكالسيوم (PCL / CaCO₃). وقد شجع هذا المركب ذو الجسيمات النانوية المؤلفة من كربونات الكالسيوم (CaCO₃) التصاق الخلايا البانية للعظم في التجارب التي تمت في المختبر. وفي تجربة أخرى، تم استخدام تقنية الغزل الكهربائي لتصنيع حاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية مؤلفة من مركب حيوي من البولي كابريولاكتون / الهيدروكسي آباتيت ذي الطور النانوي / الكولاجين (PCL / nanophase HA / Col) وذلك لتوفير الدعم الميكانيكي ولتوجيه نمو الخلايا الجنينية البشرية البانية للعظم (hFOB) من أجل هندسة أنسجة العظام. إن حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية المركبة حيويًا تلك والمبنية من البولي كابريولاكتون (PCL) والهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الطور النانوي والكولاجين من النمط الأول هي ذات بنية مسامية بشكلٍ عالٍ (أكبر من ٨٠٪) وتوفر بنية ذات مسامات مفتوحة (open pore structure) بما في الكفاية من أجل استيطان الخلايا (cell occupancy) في الوقت الذي تسمح فيه بنقل المواد المغذية ومنتجات الفضلات الاستقلابية أو الأيضية (metabolic waste products) والنشوب أو النمو الوعائي (vascular ingrowth) بدون قيود. وقد ازداد التمدن بشكلٍ ملحوظ (٥٥٪) في حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية المؤلفة من المركب الحيوي للبولى كابريولاكتون / الهيدروكسي آباتيت ذي الطور النانوي / الكولاجين (PCL / nano-HA / Col) بعد ١٠ أيام من الزراعة وظهرت كموا معدنية مركبة بواسطة الخلايا البانية للعظم [48].

بدلاً من ذلك، يمكن دمج الهيدروكسي آباتيت (HA) مع فيلم ليفي نانوي مغزول كهربائياً (electrospun nanofibrous film) عن طريق النقع (soaking) في سائل محاكي للجسم (simulated body fluid - SBF)، كما هو الحال في الدراسة التي قام بها Ito وآخرون [73]. فلقد غيّر الهيدروكسي آباتيت المشكّل فيلم البولي (٣-هيدروكسي بوتيرات-كو-٣-هيدروكسي فاليرات) (PHBV) - poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) الذي يعتبر كارهاً للماء إلى حالة أكثر حباً للماء، وكنتيجة لذلك فقد ازداد معدل التحلل (degradation rate). وعلى أي حال، لم يؤثر تركيب الهيدروكسي آباتيت (HA) بشكلٍ ملحوظ على التصاق الخلايا. فعند استبدال البولي (٣-هيدروكسي بوتيرات-كو-٣-هيدروكسي فاليرات) (PHBV) الحرير / أكسيد البولي إيثيلين (PEO) الذي يحتوي على البولي (إل - أسبارتات) (poly(L-aspartate) - poly-Asp)، وتغيير السائل المحاكى للجسم (SBF) إلى محلول كلوريد الكالسيوم (CaCl₂) ومحلول فوسفات الصوديوم ثنائي القاعدة (Na₂HPO₄)، ظهر نمو الآباتيت (وهو أحد المكونات المعدنية للعظم) بصورة تفضيلية على طول الاتجاه الطولي للألياف [74].

لقد تم استخدام الخلايا الجذعية المتوسّطية (MSCs) المستمدة من نقيّ العظم لجردان وليدة وذلك بذرهما على حاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية مصنوعة من البولي كابرولاكتون (PCL) من قبل Yoshimoto وآخرين [75]. وتمت زراعة بُنى الخلايا - البوليمر بمكملات الخلايا البانية للعظم (osteogenic supplements) ضمن نظام مفاعل حيوي دوراني نفوذ للأكسجين (يسمح بنفاذ الأكسجين) (rotational oxygen - permeable bioreactor system). في الأسابيع الأربعة، تمت تغطية سطوح بُنى الخلايا - البوليمر بطبقات متعددة من الخلايا (cell multilayers). بالإضافة إلى ذلك، فقد تم اكتشاف كلٍّ من إفراز الكولاجين من النمط الأول وتمعدن الخلايا في نفس الوقت.

وقد تم تصنيع الألياف النانوية المغزولة كهربائياً من المركب المؤلف من الجيلاتين والبولي كابرولاكتون (Gelatin / PCL) عن طريق مزج محلول الجيلاتين بنسبة ٥٠ ٪ مع محلول البولي كابرولاكتون (PCL) بنسبة ٥٠ ٪؛ حيث تراوح تركيز الجيلاتين من ٢,٥ ٪ وزن / حجم إلى ١٢,٥ ٪ وزن / حجم [76]. وقد أشار كلٌّ من القياس الخاص بزاوية التماس (contact angle measurement) واختبارات الشد (tensile tests) إلى أن الغشاء الليفي المركب من الجيلاتين / البولي كابرولاكتون (PCL) قد أظهر ازدياداً في قابلية التبلل (wettability) بالإضافة إلى تحسّن في الاستطالة أو التمدد (elongation) مما تم الحصول عليه سواءً من الجيلاتين لوحده أو من البولي كابرولاكتون (PCL) لوحده. إن خلايا نقيّ العظم السدويّة (BMSCs) لا تلتصق بصورة مفضلة ولا تنمو بشكل جيد على سطح حاملات الخلايا والأنسجة هذه فحسب، بل لقد كانت قادرة أيضاً على الهجرة أو التحرك داخل حاملة الخلايا والأنسجة إلى مسافة تصل حتى ١١٤ مايكرومتر خلال الأسبوع الأول من عملية الزراعة. إن هذه التصرفات أو السلوكيات الخلوية (cellular behaviors) تُظهر توافقية حيوية أفضل مع الألياف النانوية للمركب المؤلف من الجيلاتين / البولي كابرولاكتون (PCL) مما هو عليه مع المادة الليفية النانوية المصنوعة من البولي كابرولاكتون (PCL) الصرف. وتحافظ الخلايا الجذعية المتوسّطية (MSCs) المزروعة على مصفوفة مصنوعة من البولي كابرولاكتون (PCL) أو الحرير على القدرة على التمايز إلى أنواع أو سلالات مختلفة مثل السلالات المكوّنة للشحم (adipogenic lineages) والسلالات المكوّنة للغضروف (chondrogenic lineages) والسلالات المكوّنة للعظم (osteogenic lineages) [77,78].

لقد أصبحت عوامل النمو العظمي (bone growth factors) مثل البروتين المكوّن للعظم - اثنان (BMP-2) والبروتين المكوّن للعظم - سبعة (BMP-7)، ... إلخ، وبشكلٍ تدريجي أدوية سريرية (clinical drugs) جذابة من أجل إصلاح العيوب العظمية. وقد أظهرت نتيجة استخدام حاملة الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد المصنوعة من مركب الكولاجين / بولي (حمض اللاكتيك) (PLA) المتمعدن والمشار إليها سابقاً مع البروتين المكوّن للعظم - اثنان (BMP-2) بعضاً من آثار الشفاء الإيجابية في الجسم الحي [79]. ومن حيث المبدأ، فإن المواد الليفية النانوية (nanofibrous materials) تتمتع عوامل النمو بصورة أفضل وذلك نظراً إلى مساحتها السطحية الكبيرة وبنيتها النسيجية النانوية.

وقد تم اختيار حاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية مصنوعة من فبروين الحرير (Silk fibroin) وتحتوي على البروتين المكوّن للعظم - اثنان (BMP-2) و/ أو الجسيمات النانوية للهيدروكسي آباتيت (HA)، ومُحضّرة عن طريق الغزل الكهربائي كنسيج غشائي أو كمصفوفة من أجل تشكيل العظم في المختبر من الخلايا الجذعية المتوسّطة البشرية (hMSCs) المستمدة من نقيّ العظم [80]. لقد دعمت حاملات الخلايا والأنسجة تلك والمحتوية على البروتين المكوّن للعظم - اثنان (BMP-2) ترسيباً (deposition) أعلى للكالسيوم وتبلوراً (crystallinity) أعلى للآباتيت ومستويات أنساخ (transcript levels) مُعزّزة للواسمات المحددة للعظم (bone - specific markers) مما هو عليه في عينات المراقبة التي لا تحتوي على البروتين المكوّن للعظم - اثنان (BMP-2)؛ مما يشير إلى أن حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية المصنوعة من الحرير المغزول كهربائياً يمكن أن تمثل نظاماً فعالاً لتوصيل البروتين المكوّن للعظم - اثنان (BMP-2). والأهم من ذلك، فإن التواجد المشترك للبروتين المكوّن للعظم - اثنان (BMP-2) والهيدروكسي آباتيت (HA) ذي الطور النانوي في ألياف فبروين الحرير المغزولة كهربائياً قد أدى إلى أعلى ترسيب للكالسيوم وأعلى تنظيم لمستويات أنساخ البروتين المكوّن للعظم - اثنان (BMP-2). ولحسن الحظ، فإن المعالجة المائية المعتدلة (mild aqueous process) المطلوبة لغزل الألياف كهربائياً تقدم خياراً مهماً من أجل توصيل السيوكينات اللامستقرة (labile cytokines) والجزيئات الحيوية الأخرى.

(١٤,٦,٢) الغضروف Cartilage

الغضروف هو نسيج ضام كثيف والذي يكون إلى حدٍّ ما مطّواعةً (pliable) ومرناً (resilient). إن هذه الخصائص ناجمة عن طبيعة نسيجه الغشائي الغني بالبروتيوغليكانات التي تتكون من بروتين لُبّي أساسي (core protein) ملتصق بوحدات متكررة من ثنائيات السكاريد (disaccharides)، والتي تُسمى غليكوز أمينو غليكانات (glycosaminoglycans - GAGs) وهي تتألف بشكلٍ أساسي من حمض الهالورونيك (hyaluronic acid - HYA) وسلفات أو كبريتات الكُنْدرويتين (chondroitin sulfate) (وهي مادة من مكونات الغضروف) والكولاجين من النمط الثاني وسلفات أو كبريتات الكيراتين (keratin sulfate) (وهو بروتين في الأنسجة المتقرّنة). إن الغضاريف المفصليّة (articular cartilages) ضرورية في سند أو تحمل الأحمال (load - bearing) والتقليل من احتكاك السطوح المفصليّة (articular surfaces). ونظراً إلى القدرة المحدودة للغضروف المفصلي على إصلاح نفسه، فإن عيوب الغضروف الناتجة عن التقدم في العمر وإصابات المفاصل والاضطرابات التطورية (developmental disorders) يمكن أن تسبب آلام المفاصل وفقدان الحركة [81]. وكمواد مُرشّحة واعدة، فقد تم وبصورةٍ ناجحة تصنيع ألياف نانوية مغزولة كهربائياً من حمض الهالورونيك (HYA) أو ألياف نانوية مركبة مغزولة كهربائياً ومبنية على أساس حمض الهالورونيك (HYA). وعلى الرغم من أن هذه المواد مُرشّحة كحاملات خلايا وأنسجة واعدة من أجل تجديد الغضروف، إلا أن فعالية هذه الحاملات من أجل إصلاح الغضروف واستجابة الخلايا الغضروفية لهذه الألياف لا تزال غير معروفة [60-63].

لقد تمت دراسة الألياف النانوية المغزولة كهربائياً من الكولاجين من النمط الثاني [82] والمبدورة بخلايا غضروفية وذلك للتحقق من إمكانية استخدامها في هندسة الأنسجة الغضروفية (cartilage tissue engineering). وقد تم تقييم أنواع حاملات الخلايا والأنسجة الفردية كحاملات مترابطة بشكلٍ غير متشابك (غير متقاطع) (uncross - linked) أو مترابطة

بشكل متشابك (cross - linked) أو مترابطة بشكل متشابك / ومبدورة في دراسة قام بها Shields وآخرون [83]. وقد أظهر الفحص المجهرى باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لحاملات الخلايا والأنسجة المترابطة بشكل متشابك والمزروعة بالخلايا الغضروفية قدرة هذه الخلايا على ارتشاح (infiltrate) السطح والدخول ضمن حاملة الخلايا والأنسجة. وقد خلصت الدراسة إلى أن حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من الكولاجين من النمط الثاني المغزول كهربائياً قد أنتجت بيئة مناسبة من أجل نمو الخلايا الغضروفية، وهذا يمكن أن يكون أساساً لتطوير عملية إصلاح الغضروف المفصلي.

وقد تمت أيضاً دراسة ألياف الشيتوزان المتراففة (aligned chitosan fibers) وذلك للتحقق من توافقيتها الحيوية مع الخلايا الغضروفية من قبل Subramanian وآخرين [84]. وكما هو متوقع، فإن ألياف الشيتوزان المغزولة كهربائياً والمتراففة توفر قدرة أفضل للخلايا للبقاء على قيد الحياة (cell viability) مما يوفره فيلم الشيتوزان المشكّل بقوالب الصب (cast chitosan film). إن لهذا الغشاء المغزول كهربائياً معامل مرونة (elastic modulus) أعلى بشكل ملحوظ (٢.٢٥ ميغا باسكال) مما هو عليه لفيلم الشيتوزان المشكّل بقوالب الصب (١.١٩ ميغا باسكال). وكما هو الحال مع جميع الأغشية المغزولة كهربائياً (electrospun membrane)، فإن الأغشية ذات الألياف النانوية المغزولة كهربائياً من الشيتوزان لا تزال بحاجة إلى معالجة إضافية في حاملات الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد من أجل استخدامها في إصلاح الأنسجة الغضروفية.

لقد تمت أيضاً دراسة البوليمرات التركيبية القابلة للتحلل الحيوي وذلك للتحقق من ملاءمتها كحاملة خلايا وأنسجة للخلايا الغضروفية. فقد درس Shin وزملاؤه [85] إمكانية استخدام أربعة أنواع مختلفة من حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) والمبنية على أساس الألياف النانوية (نسبة محتوى حمض اللاكتيك / حمض الغليكوليك - ٧٥ / ٢٥ أو ٥٠ / ٥٠ أو مزيج من ٧٥ / ٢٥ و ٥٠ / ٥٠) من أجل إعادة بناء الغضروف (cartilage reconstruction). لقد كانت الخصائص الميكانيكية لحاملة الخلايا والأنسجة الليفية النانوية أقل فقط بقليل من تلك الخصائص الميكانيكية الخاصة بالغضروف البشري مما يشير إلى أن حاملة الخلايا والأنسجة الليفية النانوية كانت مستقرة ميكانيكياً بصورة كافية لتحمل عملية الزراعة ولدعم عملية تجديد الغضروف. وقد لوحظ أن تكاثر الخلايا الغضروفية للخنازير (porcine chondrocytes) وتشكيل المصفوفة خارج الخلية (ECM) في حاملات الخلايا والأنسجة الليفية النانوية كان أفضل مما هو عليه في الغشاء التقليدي المشكّل بقوالب الصب.

لقد تم تقييم البولي كابريولاكتون اليفي النانوي (nanofibrous PCL) وذلك للتحقق من قدرته على المحافظة على الخلايا الغضروفية في حالتها الوظيفية باستخدام الخلايا الغضروفية الجنينية للأبقار (fetal bovine chondrocytes - FBCs) [86]. وقد أظهر تحليل التعبير الجيني عن طريق الاثناساخ العكسي - رد فعل أو استجابة سلسلة إنزيم البوليميراز (reverse transcription - polymerase chain reaction - RT - PCR) بأن الخلايا الغضروفية المبدورة على حاملة الخلايا والأنسجة الليفية النانوية المصنوعة من البولي كابريولاكتون (PCL) قد حافظت وبشكل مستمر على نمطها الظاهري الغضروفي من خلال التعبير عن جينات المصفوفة خارج الخلية المحددة للغضروف (cartilage - specific ECM genes)، بما في ذلك الكولاجين من النمط الثاني والكولاجين من النمط التاسع والأغريكان (aggrecan) (وهو بروتين بروتيوغليكاني أساسي مُحدد للغضروف) وبروتين النسيج الغشائي للغضروف ذي البلازميدة قليلة القسيمات (cartilage oligomeric matrix protein). لقد

كان التعبير عن الأنتساخ المتغير لصفيرة (splice variant transcript) من الكولاجين من النمط الثاني، والذي يشير إلى النمط الظاهري للخلايا الغضروفية الناضجة أو مكتملة النمو، مُنظماً بشكل ملحوظ. وبالإضافة إلى تعزيز تمايز النمط الظاهري، فقد دعمت حاملة الخلايا والأنسجة اللبغية النانوية أيضاً التكاثر الخلوي كما يتضح من الزيادة في نمو الخلايا والتي هي بمقدار ٢١ ضعفاً لمدة أكثر من ٢١ يوماً عندما تم الحفاظ على مزارع الخلايا في وسط زراعة يحتوي على مصل الدم (serum - containing medium). وبالتالي؛ قد تكون ألياف النانو المصنوعة من البولي كابرولاكتون (PCL) مُرشحاً مناسباً كحاملة خلايا وأنسجة من أجل هندسة الأنسجة الغضروفية. وعلاوة على ذلك، يمكن للمركب اللبغى النانوي الذي يتكون من البولييمرات الطبيعية والاصطناعية أن يجمع بين مزايا كلٍّ من المادتين واللازمة من أجل ألفة الخلايا الغضروفية (chondrocytes' affinity).

(١٤,٦,٣) العضل Muscle

لتفادي انتشار المرض المصاحب للتضحية بالوظيفة العادية من جانب الشخص المتبرع، توفر هندسة الأنسجة الهيكلية العضلية (skeletal muscle tissue engineering) مزايا مقنعة. لقد ركزت الأبحاث في الماضي وبشكل أساسي على استخدام حاملات الخلايا والأنسجة اللبغية المايكروية (microfibrous scaffolds) في هندسة الأنسجة العضلية (muscle tissue engineering). وفيما يتعلق بهندسة الأنسجة العضلية الملساء (smooth muscle tissue engineering)، فقد نظرت كمية كبيرة من الأبحاث في إمكانية استخدام الألياف النانوية كحاملات محتملة للأنسجة. ولفهم إمكانية استخدام حاملات الخلايا والأنسجة من أجل تجديد العضلات الهيكلية (skeletal muscle regeneration)، قمنا باستعراض بعض الأعمال البحثية عن حاملات الخلايا والأنسجة اللبغية المايكروية وتفاعلات الخلايا العضلية الملساء - الألياف النانوية. ومن أجل العديد من التطبيقات المرتبطة بهندسة الأنسجة العضلية، فإن القدرة على التحكم بالشكل الهندسي لحاملة الخلايا والأنسجة (scaffold geometry) عند المستويات المايكروية والمستويات النانوية تعتبر مهمة. وبصفة خاصة، فإن القدرة على التحكم بتراسف الألياف سوف تؤثر في مورفولوجيا أو شكل الخلايا لإنشاء بنية عضلية فعالة وقابلة للتقلص.

إن الديغرابولز (DegraPols) هو بولي إستر يوريثان (polyesterurethane) كتلي قابل للتحلل، ويتألف من كتل قابلة للتبلور من البولي ((آر)-٣-حمض الهيدروكسي بوتيريك)-ديول ([R)-3-hydroxybutyric acid]-diol) وكتل من البولي (E-كابرولاكتون-كو-غليكولايد)-ديول (poly(ε-caprolactone-co-glycolide)-diol) المرتبطة بشائبي إيزوسيانات (diisocyanate). وقد تمت دراسة الأغشية اللبغية المايكروية المصنوعة من الديغرابولز (DegraPols) المغزول كهربائياً كحاملة خلايا وأنسجة محتملة يمكن استخدامها في هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية [87]. يبلغ قطر الألياف حوالي ١٠ مايكرومترات، وتبلغ المسافة بين الليف والآخر (fiber - to - fiber distance) ١٠ مايكرومترات تقريباً. وبسبب الاتجاه الدوراني للمُجمّع (collector) (أداة تجميع الألياف) أثناء عملية الغزل الكهربائي، فإن هناك توجيهاً تفضيلاً طفيفاً للألياف. لم تُظهر هذه الأغشية أي بقايا سامة (toxic residuals) وهي تمتاز بخصائص ميكانيكية مُرضية (سلوك مرونة خطي linear elastic behavior) يصل إلى ١٠٪ من معدل التشويه (deformation) ومعامل يونغ (Young's modulus) من رتبة الميغا باسكال). وقد تمت دراسة قدرة الخلايا على البقاء على قيد الحياة والتصاقها وتمايزها على أغشية الديغرابولز (DegraPols) المغلفة أو المطلية بالبروتين (الماتري جل (Matrigels) والفبرونيكتين والكولاجين) وغير المغلفة وذلك باستخدام أنواع خلايا الـ (C2C12) والـ (L6) والخلايا الساتلة الأولية البشرية (primary human satellite cells - SCs). وقد أظهر جميع أنواع الخلايا التصاقاً

واندماجاً وتكاثراً على الأغشية المغلفة المغزولة كهربائياً. وقد لوحظ تلوين إيجابي لسلسلة الميوزين الثقيلة (myosin heavy chain) في نوع خلايا الـ (C2C12)؛ مما يشير إلى أنه حدث تمايز لخلايا الـ (C2C12) متعددة النوى (multinucleated cells).

لقد حاول Neumann وآخرون [88] إنشاء صفائح عضلية هيكلية (skeletal muscle sheets) باستخدام خلايا الأرومة العضلية الهيكلية (C2C12 skeletal myoblasts). وقد تم بذر هذه الخلايا على مصفوفات من ألياف البولي بروبيلين المايكروية الموجهة بشكل متوازي (parallel oriented polypropylene microfibers). وتم طلاء أو تغليف الألياف المايكروية باللامينين (laminin) وتراوحت أقطار الألياف من ١٠ إلى ١٥ مايكرومتراً. ولم يكن هناك التصاق للخلايا في مجموعات عينات المراقبة التي لم يتم استخدام اللامينين فيها؛ مما يدل على أهمية تعديل السطح بمثل بروتينات الالتصاق (attachment proteins) تلك. وقد لوحظ أن مسافة الفصل الحرجة أو الحاسمة بين الألياف المتوازية هي ٥٥ مايكرومتراً أو أقل. إن مسافة الفصل بين الألياف الأكبر من ٥٥ مايكرومتراً سوف تؤدي إما إلى عدم وجود صفائح خلايا وإما إلى عدم اكتمال الصفائح. وقد نجحوا في الحصول على طبقات من الأنسجة المزروعة التي يصل سمكها إلى ٥٠ مايكرومتراً مُشكّلة بواسطة الخلايا المتراففة بشكل طولي (longitudinally aligned cells). والأهم من ذلك، أنهم كانوا قادرين على الحفاظ على صفيحة خلايا قابلة للتقلص (contractile cell sheet) في المختبر في مصفوفة ذات أبعاد ١ في ٢ سنتيمتر مربع لمدة وصلت إلى ٧٠ يوماً.

وقد قيل جديلاً أن الألياف غير القابلة للتحلل الحيوي (non - biodegradable fibers) سوف تؤثر سلباً على قلوصلية أو انقباض (contractility) البناء العضلي. ومن المفضل استخدام الألياف المصنوعة من المواد القابلة للتحلل الحيوي، مثل البولي (حمض إل - لاكتيك) (PLLA) أو البولي (حمض إل - لاكتيك - كو - غليكوليك) (PLGA) أو البولي (حمض الغليكوليك) (PGA)، والتي هي بالفعل في الاستخدام السريري. وعلى أي حال، تلتصق الخلايا بصورة سيئة بمثل هذه البوليمرات الاصطناعية ما لم تخضع لتعديلات سطحية (surface modifications) عن طريق المعالجة بالبلازما الهوائية (air plasma) أو من خلال التطعيم بالليجائن (grafting of ligands) أو عن طريق الطلاء ببروتينات الالتصاق التي يُستخدم منها في الغالب اللامينين والفبرونيكتين. وقد اتضح أيضاً بأن الطلاء أو التغطية بهلام المصفوفة خارج الخلية (ECM) على الألياف المايكروية المصنوعة من البولي (حمض إل - لاكتيك) (PLLA) (بقطر ٦٠ مايكرومتراً) قد عزز من التصاق وتمايز خلايا الأرومة العضلية (myoblast) المبذورة في الألياف العضلية متعددة النوى (multinucleated myofibers) والتي تم التأكد من وجودها من خلال التعبير عن الواسمات العضلية (muscle markers) مثل الميوزين (myosin) والألفا أكتين (α -actin) [89]. وعلى عكس الألياف غير المطلية أو المغلفة، يبدو سطح الألياف المايكروية المطلية بهلام المصفوفة خارج الخلية (ECM gel - coated microfibers) ليفياً في طبيعته وعلى الأرجح، فإن هذه البنى النسيجية ذات الأبعاد ما دون المايكرون قد زودت الخلايا بالعديد من نقاط الالتصاق.

لقد قام مختبرنا بدراسة التصاق وتمايز الخلايا العضلية الملساء (SMCs) على حاملات الخلايا والأنسجة اللبيفية النانوية المصنوعة من البولي (إل - لاكتيد - كو - E - كابرولاكتون) (PLLA - CL). وقد تم إنتاج حاملة خلايا وأنسجة ليفية نانوية متراففة من البوليمر المشترك بولي (إل - لاكتيد - كو - E - كابرولاكتون) (PLLA - CL) (٧٥ : ٢٥) عن طريق استخدام نظام غزل كهربائي خاص [41]. وتمت عملية الغزل الكهربائي لبولي (إل - لاكتيد - كو - E - كابرولاكتون) (PLLA - CL) إلى ألياف نانوية وذلك بمعدل ٧٥ % من إل - لاكتيد إلى ٢٥ % من E - كابرولاكتون. وتشير نتائج مقياس الانعراج بالأشعة السينية (x-ray diffractometer) ومقياس الألوان التفاضلي الماسح (differential scanning colorimeter)

إلى أن الألياف النانوية التي تم غزلها كهربائياً قد طوّرت بنية مُوجّهة بشكلٍ عالٍ في تسلسلات من وحدات الكابرولاكتون (CL) أثناء عملية الغزل الكهربائي [90]. وقد بلغ قطر الألياف النانوية التي تم إنتاجها حوالي ٥٠٠ نانومتر مع طوبوغرافيا سطحية متراصفة. وقد تم إظهار تفاعلات إيجابية بين حاملات الخلايا والأنسجة تلك مع الخلايا العضلية الملساء للشريان التاجي البشري (human coronary artery SMCs) من خلال الاختبار (MTS assay) (وهو فحص كيميائي حيوي للخلايا) والفحص المجهرى الضوئي متباين الطور (phase contrast light microscopy) والفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) واختبار الهيستولوجيا المناعية (immunohistology assay) والفحص المجهرى المباثر (البؤري) بالمسح الليزري (laser scanning confocal microscopy). وقد ظهر بأن الخلايا العضلية الملساء قد التصقت وهاجرت أو انتقلت على طول محاور الألياف النانوية المترصفة وأظهرت أو عبّرت عن نمط ظاهري مشابه للمغزل وقابل للتقلص؛ وقد كان توزيع وتنظيم بروتينات هيكل الخلايا العضلية الملساء داخل الخلايا العضلية الملساء (SMCs) موازياً لاتجاه الألياف النانوية. يمكن لهذه المصفوفة الاصطناعية المترصفة وبلاستفادة من مزايا البوليمرات التركيبية القابلة للتحلل الحيوي، ومن محاكاة المصفوفة خارج الخلية (ECM) الطبيعية ذات الأبعاد في المستوى النانومتري، ومن نسخ بنية النسيج الطبيعي في بنية هندسية محددة، أن تكون مفيدة في تطبيق محدد من تطبيقات هندسة الأنسجة والتي تلعب فيها الخلايا العضلية الملساء (SMCs) دوراً مهماً، وذلك مثل دورها الهام في هندسة الأوعية الدموية (blood vessel engineering).

(١٤,٦,٤) الرباط Ligament

لقد تم استخدام مجموعة متنوعة من المواد الاصطناعية من أجل استبدال الرباط (مثل غرسة فيرسي (Versigraft) والداكرون (Dacron) والغور - تكس (Gore - Tex) وبوليستر اليلدز - كايو (Leeds - Keio polyester) وجهاز كينيدي لتكبير الرباط المبني على أساس البولي برويلين (polypropylene - based Kennedy ligament - augmentation device))، ولكن مع نجاح محدود جداً وقصير الأمد. فمن بين ٨٥٥ رباط اصطناعي تمت متابعتها لمدة ١٥ عاماً، فشلت نسبة ٤٠٪ إلى ٧٠٪ منها بسبب الحطام الناتج عن الاهتراء (wear debris) وردود فعل الأنسجة (tissue reactions) والقيود الميكانيكية (mechanical limitations). وقد كانت التجربة مع استبدال هذه الطعوم من الأربطة الاصطناعية مخيبة للآمال ويعتبر السرد التاريخي للفشل مفيداً بشكلٍ خاص من وجهة نظر هندسة الأنسجة [91].

هناك حاجة لم يتم تلبيتها لأنسجة الأربطة المهندسة نسيجياً (tissue - engineered ligament tissues) من أجل إصلاح الأربطة والأوتار الممزقة والمصابة بالفتق. إن الحاجة الوظيفية لبدائل الأربطة (ligament replacements) ملحة وذلك بسبب الأحمال الفيزيولوجية (physiological loads) العالية التي يمكن أن تخضع لها الأربطة البديلة. ويجب أن يكون الرباط المهندس نسيجياً قوياً بما فيه الكفاية مباشرة بعد عملية الزراعة وذلك لتحمل (withstand) الأحمال الفيزيولوجية. ولبقاء الرباط المستبدل على قيد الحياة لمدة طويلة يجب أن يكون لحاملات الخلايا والأنسجة بنية هندسية تكون قادرة على تشجيع التصاق وتكاثر وتمايز الخلايا. ومن أجل تمكين الرباط المجدد من تولي الحمل عن مادة حاملة الخلايا والأنسجة الأصلية، يجب أن تدعم حاملة الخلايا والأنسجة توجيه الخلايا وترسيب المصفوفة خارج الخلية (ECM) استجابةً للأحمال الفيزيولوجية. وعلى الرغم من أن البوليمرات الطبيعية مثل الكولاجين والحرير تعتبر مرشحات محتملة كمادة حاملة للخلايا والأنسجة، إلا أنها بحد ذاتها قد لا تمتاز بالقوة الكافية لدعم الأحمال الفيزيولوجية [92,93].

لقد لوحظ أن النسيج الغشائي للحريز (silk matrix) يدعم التصاق وتوسع نمو وتمييز خلايا سلف نقي العظم السدويّة البشرية البالغة (progenitor bone marrow stromal cells)، وذلك بناءً على الفحص المجهرى باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) والتحديد الكميّ للحمض النووي (DNA quantitation) والتعبير عن الواسمات (markers) الخاصة بالكولاجين من النمط الأول والكولاجين من النمط الثالث والتيناسين - سي (tenascin - C). تدعم النتائج الاستنتاج بأن الأنسجة الغشائية أو المصفوفات المصنوعة من ألياف حريز دودة القز (silkworm fiber matrices) والمحضرة بشكل صحيح، وبصرف النظر عن توفير المزايا الفريدة من حيث الخصائص الميكانيكية بالإضافة إلى التوافقية الحيوية (biocompatibility) والتحلل الحيوي (biodegradability) البطيء، هي أنسجة غشائية أو مصفوفات مواد حيوية (biomaterial matrices) مناسبة لدعم تمايز الخلايا الجذعية البالغة باتجاه سلالات الأربطة (ligament lineages). يتضمن الجدول رقم (١٤.٢) قائمة بالخصائص الميكانيكية للأنسجة العضلية الهيكلية والبوليمرات الطبيعية أو الاصطناعية [16,42,66,67,83,94,105]. تعتبر البوليمرات الاصطناعية أو التركيبية مواداً من الممكن استخدامها كحاملات خلايا وأنسجة وذلك نظراً لتشابه متانة شدتها (tensile strength) مع الأنسجة الرخوة (soft tissues). وقد افترض Bashur وآخرون [106] بأن شبكات الألياف البوليمرية التركيبية في المستوى المايكرو (micro - scale synthetic polymer fiber meshes) الموجهة والمشكلة بواسطة طريقة الغزل الكهربائي يمكن أن تُنظم مورفولوجيا أو شكل الخلايا، ويمكن للسمات أو المزايا الطبوغرافية السطحية في المستوى المايكرو (microscale topographic features) أن تُحفّز توجيه الخلايا من خلال ظاهرة التوجيه بالاتصال أو التلامس (contact guidance phenomenon). ولاختبار هذه الظاهرة، فقد تم غزل شبكات ألياف مُدمجة (fused fiber meshes) من البولي (حمض دي، إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) - PLGA) على دعامات صلبة (rigid supports) في ظروف أنتجت أليافاً ذات متوسط أقطار يتراوح من ٠.١٤ إلى ٣.٦ مايكرومتراً، وانحرافات معيارية زاوية (angular standard deviations) تتراوح بين ٣١ درجة و ٦٠ درجة. وقد أشار التحليل المورفولوجي لخلايا الأرومة الليفية الملتصقة (NIH 3T3 fibroblasts) أن المنطقة المعرضة للخلايا والنسبة الجانبية، أي نسبة العرض إلى الارتفاع (aspect ratio)، قد زادت بشكلٍ منهجي مع الزيادة في كلٍ من قطر الليف ودرجة توجيه الليف. والأهم من ذلك، فقد كان مورفولوجيا أو شكل الخلايا على الألياف ذات القطر ٣.٦ مايكرومتراً مماثلاً لمورفولوجيا الخلايا على أفلام من البولي (حمض دي، إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) المطلية أو المغلفة بواسطة الغزل (spin - coated PLGA films). وعلى أي حال، لم تكن كثافات الخلايا على الشبكات المغزولة كهربائياً (electrospun meshes) مختلفة بشكلٍ كبير عن تلك على البولي (حمض دي، إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) المطلي أو المغلف بواسطة الغزل، مما يدل على أن تكاثر خلايا الأرومة الليفية ليس حساساً لقطر أو اتجاه الألياف. وثمة دراسة أخرى قارنت ألياف البولي (حمض إل - لاكتيك) (PLLA) مع ألياف البولي (كربونات دي تي إي) (poly(DTE carbonate)) [103]. وقد تم إنجاز الدراسة على ثلاث مراحل. في المرحلة الأولى، وُجد بأن الألياف من الجيل الأول تعزز نشوب أو نمو النسيج (tissue ingrowth) في نموذج تحت الجلد (subcutaneous model). وفي المرحلة الثانية، تم تصنيع ألياف من الجيل الثاني من البولي (كربونات دي تي إي) والبولي (حمض إل - لاكتيك) مع أقطار قدرها ٧٩ و ٧٢ مايكرومتراً، ومتانات شد قصوى قدرها ٢٣٠ و ٢٩٩ ميغا باسكال (MPa) ومعاملات مرونة أو رُجوعية (moduli) قدرها ٣.١ و ٤.٩ غيغا باسكال (GPa)، وأوزان جزيئية قدرها ٦٥٠٠٠ و ١٧٠٠٠٠ دالتون (Da)،

على التوالي. وقد تم تقييم هذه الألياف على أساس القدرة على الاحتفاظ بالوزن الجزيئي (molecular weight) والقدرة على الاحتفاظ بالمتانة والتوافقية الخلوية (cytocompatibility). وبعد ٣٠ أسبوعاً من الحضانة في محلول ملحي مدرء بالفوسفات (phosphate - buffered saline)، بلغ معدل القدرة على الاحتفاظ بالمتانة لألياف البولي (كربونات دي تي إي) وألياف البولي (حمض إل - لاكتيك) ٨٧ ٪ و ٧ ٪، على التوالي. وقد التصقت خلايا الأرومة الليفية وتكاثرت بشكل جيد وبالتساوي على كل من نوعي حاملات الخلايا والأنسجة في المختبر. وأخيراً، في المرحلة الثالثة تم تصنيع نموذج أولي (prototype) لجهاز إعادة بناء الرباط الأمامي المتصلب (anterior cruciate ligament - ACL) من ألياف البولي (كربونات دي تي إي) مع قيم متانة قابلة للمقارنة مع تلك القيم الخاصة بالرباط الأمامي المتصلب (ACL) الطبيعي (٥٧ ميغا باسكال). وبشكل جماعي، أشارت هذه البيانات إلى أنه من الممكن أن تكون ألياف البولي (كربونات دي تي إي) مفيدة من أجل تطوير حاملات خلايا وأنسجة قابلة للارتشاف (resorbable scaffolds) من أجل إعادة بناء الرباط الأمامي المتصلب (ACL) ويمكن مقارنتها مع البولي (حمض دي، إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) الذي تم إنشاؤه على نحو جيد. لقد تم استخدام حاملة الخلايا والأنسجة الليفية النانوية المصنوعة من البولي يوريثان (polyurethane nanofibrous scaffold) وذلك لتقييم تأثير الألياف النانوية المتراصة على الاستجابة الخلوية (cellular response) لخلايا الأرومة الليفية للرباط البشري (human ligament fibroblasts - HLFs) ولتقييم تأثير تراصف واتجاه انفعال (strain direction) خلايا الأرومة الليفية للرباط البشري (HLFs) على ميكانيكا التبادل (mechanotransduction) (وهي تمثل العديد من الآليات التي عن طريقها تحول الخلايا التحفيز الميكانيكي إلى نشاط كيميائي) [107]. وقد تم تقييم تأثيرات تراصف الألياف واتجاه المحفزات الميكانيكية (mechanical stimuli) على توليد المصفوفة خارج الخلية (ECM) لخلايا الأرومة الليفية للرباط البشري (HLFs). ومن أجل تحقيق تراصف الألياف النانوية، تم استخدام هدف دوّار (rotating target). لقد كانت خلايا الأرومة الليفية للرباط البشري (HLFs) على الألياف النانوية المتراصة ذات شكل مغزلي (spindle - shaped) وموجّهة في اتجاه الألياف النانوية. وقد تم تقييم درجة إنتاج المصفوفة خارج الخلية (ECM) عن طريق مقارنة كمية الكولاجين على البنى المتراصة والموجّهة بشكل عشوائي. وبشكل ملحوظ، فقد تم تركيب كولاجين أكثر على الصفائح ذات الألياف النانوية المتراصة (aligned nanofiber sheets)، على الرغم من أن التكاثر لم يختلف بشكل كبير. وهذا يُوحى بأن الشكل المغزلي الذي يمكن ملاحظته في الأربطة السليمة يُعتبر مفضلاً من أجل إنتاج المصفوفة خارج الخلية (ECM). ولتقييم تأثير اتجاه الانفعال على إنتاج المصفوفة خارج الخلية (ECM)، تم بذر خلايا الأرومة الليفية للرباط البشري (HLFs) على صفائح مصنوعة من الألياف النانوية المتراصة بشكل متوازٍ، والمتراصة بشكل عمودي على اتجاه الانفعال، والموجّهة بشكل عشوائي وتكون هذه الصفائح ملتصقة بأطباق أو رقائق خلايا مرنة (flexcell plates). وبعد مرور ٤٨ ساعة على عملية الزراعة، تم تطبيق انفعال أحادي المحور (uniaxial strain) بنسبة ٥ ٪ ولمدة ٢٤ ساعة عند تردد قدره ١٢ دورة في الدقيقة. وقد تم قياس كمية الكولاجين المنتجة بعد يومين من إيقاف تطبيق الانفعال. لقد كانت خلايا الأرومة الليفية للرباط البشري (HLFs) أكثر حساسية للانفعال في الاتجاه الطولي. وفي الختام، تشكل حاملة الخلايا والأنسجة الليفية النانوية المتراصة المستخدمة في هذه الدراسة مادة أساسية وأعدة من أجل الرباط المهندس نسيجاً لأنها في هذا توفر بنية محاكية حيويًا (biomimetic structure) مفضلة بشكل أكثر، جنباً إلى جنب مع بيئة ميكانيكية مناسبة.

الجدول رقم (١٤، ٢). الخصائص الميكانيكية للأنسجة في الجهاز العضلي الهيكلي والبوليمرات الحيوية المستخدمة كحاملات للخلايا والأنسجة

المواد Materials	معامل يونغ (غيغا باسكال) Young's Modulus (GPa)	متانة الشد (ميغا باسكال) Tensile Strength (MPa)	الحمل الأقصى للشد (نيوتن) Ultimate Tensile Load (N)
الأنسجة الصلبة (Hard Tissue) [16,94]			
عظم قشري (Cortical bone)	٣٠ - ٧	١٥٠ - ٥٠	
عظم إسفنجي (Cancellous bone)	١٤ - ١	٧، ٤	
عاج الأسنان (Dentin)	١٧ - ١١	٥٣ - ٢١	
ميناء الأسنان (Enamel)	١٣١ - ٨٤	١٠	
الأنسجة الرخوة (Soft Tissue) [94]			
غُضروف مفصلي (Articular cartilage)	$10^{-3} \times 10,5 - ٤,٥$ [95] ٠,١١٠	٢٧,٥	[96] ٢١٦٠ - ١٧٢٥
غُضروف مُلَيَّف (Fibrocartilage)	$10^{-3} \times ١٥٩,١$	١٠, ٤	
رِباط (Ligament)	$10^{-3} \times ٣٠٣,٠$	٢٩,٥	[97] ٢٩٨، ٢٩٥
وتر (Tendon)	$10^{-3} \times ٤٠١,٥$ [97] ١,٨ - ١,٢	٤٦,٥ [98] ١٥٠ - ٥٠	[98] ٧٠٠
العضل (Muscle)		[99] ٠,٢	
البوليمرات الطبيعية (Natural Polymers)			
مصنوفة أو نسيج غشائي من الحرير المجدول / المتوازي (Twist / parallel silk matrix) [93]			٢٢١٤ / ٢٧ ± ٢٣٣٧
ألياف الكولاجين النانوية من النمط الأول (Type I collagen nanofibers) [55]	$10^{-3} \times (٥,٢ \pm ٥٢,٣)$	٠,٢ ± ١,٥	٠,٣٤ ± ١,١٧
ألياف الكولاجين النانوية من النمط الأول (Type I collagen nanofibers) [100]	$10^{-3} \times (١٨ \pm ٢٦٢)$	١,١٧ ± ٧,٤ ١,٢ ± ١١,٤٤ (متراصة أو متشابكة عرضياً) [101]	
ألياف الكولاجين النانوية من النمط الثاني (Type II collagen nanofibers) [101]	$10^{-3} \times (٣٦,١ \pm ١٧٢,٥)$	٠,٣ ± ٣,٣	
ألياف الجيلاتين النانوية (Gelatin nanofibers) [102]	$10^{-3} \times (٢٠٧ \pm ٤٩٩)$	٠,٩٦ ± ٥,٧٧	
البوليمرات الاصطناعية (Synthetic Polymers) [16]			
بولي (حمض إل - لكتيك) (PLLA)	٢,٧	٥٠	
بولي (حمض دي - لكتيك) (PDLA)	١,٩	٢٩	
بولي كابرولاكتون (PCL)	٠,٤	١٦	
بولي يوريثان (PU)	٠,٠٢	٣٥	
حاملة خلايا وأنسجة مخبوة من بولي (حمض إل - لكتيك) - بولي (حمض إل - لكتيك) -كو- غليكوليك (PLLA - PLGA) [66]	٠,٢٨٣		[65] ٢٩,٤

تابع الجدول رقم (١٤، ٢).

المواد Materials	معامل يونغ (غيغا باسكال) Young's Modulus (GPa)	متانة الشد (ميغا باسكال) Tensile Strength (MPa)	الحمل الأقصى للشد (نيوتن) Ultimate Tensile Load (N)
ألياف نانوية مصنوعة من بولي (حمض إل - لاكتيك - كابرولاكتون) (PLA - CL) [41]	$3 \times 10^3 \pm 44$	1.4 ± 6.3	
ألياف مايكروية مصنوعة من البولي (كربونات دي تي إي) Poly(DTE carbonate) [103]	3,1	230	
ألياف مايكروية مصنوعة من البولي (حمض إل - لاكتيك) (PLLA) [103]	4,9	299	
ألياف مايكروية مصنوعة من البولي (حمض إل - لاكتيك - كو-غليكوليك) (PLGA) (10 : 90) [104]			
خيوط مفرد متعدد الشعيرات (Single multifilament yarn)		1.8 ± 0.3	0.02 ± 2.4
حزمة من ١٠ خيوط (10-Yarn bundle)		1.1 ± 8.8	3 ± 20
جديلة مستطيلة (Rectangular braid)		29 ± 393	40 ± 6.6
جديلة دائرية (Circular braid)		20 ± 212	132 ± 9.7
ألياف نانوية مصنوعة من البولي (حمض إل - لاكتيك - كو-غليكوليك) (PLGA) (10 : 90) [105]		$6 - 4.9$	
ألياف نانوية مصنوعة من البولي (حمض إل - لاكتيك - كو-غليكوليك) (PLGA) (85 : 15) [56]		22,67	

ملحظة: بولي (كربونات دي تي إي) Poly(DTE carbonate)، بولي (كربونات ديس أمينو تيروسيل - تيروزين إيثيل إستر) (desamino tyrosyl - tyrosine ethyl ester)، بولي (كربونات ديس أمينو تيروسيل - تيروزين إيثيل إستر) (desamino tyrosyl - tyrosine ethyl ester) .Poly(carbonate)

لقد ثبت بأن حاملات الخلايا والأنسجة المحبوكة (knitted scaffolds) تدعم ترسيب مصفوفة النسيج الكولاجيني الضام (collagenous connective tissue matrix)، والذي يُعتبر حاسماً من أجل إعادة بناء الوتر / الرباط (tendon / ligament reconstruction) [67]. إلا أن عملية بذر الخلايا في مثل حاملات الخلايا والأنسجة تلك غالباً ما تتطلب نظاماً هلامياً (gel system)، والذي يكون غير مستقر في الحالة الديناميكية، وعلى وجه الخصوص في مفصل الركبة (knee joint). وقد قام Sahoo وآخرون [108] بتطوير حاملة خلايا وأنسجة بوليمرية ليفية نانوية - مايكروية (nano - microfibrinous polymer scaffold) جديدة قابلة للتحلل الحيوي وذلك عن طريق الغزل الكهربائي لألياف البولي (حمض إل - لاكتيك - كو-غليكوليك) (PLGA) النانوية على حاملة خلايا وأنسجة محبوكة من البولي (حمض إل - لاكتيك - كو-غليكوليك) (PLGA) لتوفير سطح كبير محاكي حيوياً من أجل التصاق الخلايا. وقد تم بذر خلايا نقي العظم السَدَوِيَّة (BMSCs) للخنازير إما على حاملات الخلايا والأنسجة الجديدة وذلك عن طريق توزيع معلق الخلايا بواسطة المِمْص (pipetting a cell suspension) (المجموعة ١) وإما على حاملات الخلايا والأنسجة المحبوكة من البولي (حمض إل -

لاكتيك-كو-غليكوليك (PLGA) وذلك عن طريق التثبيت في هلام الفبرين (immobilizing in fibrin gel) (المجموعة ٢). لقد كان التصاق الخلايا مماثلاً، وكان تكاثر الخلايا أسرع في المجموعة ١. علاوة على ذلك، فقد ظهر بأن الوظيفة الخلوية (cellular function) كانت أكثر فعالية في المجموعة ١، وذلك حسب ما يثبت التعبير الأعلى لجينات الكولاجين من النمط الأول والديكورين (decorin) والبيغليكان (biglycan). وبالتالي، فإن حاملة الخلايا والأنسجة الليفية النانوية - المايكروية تلك، والتي تُسهّل عملية بذر الخلايا وتعزز تكاثر ووظيفة وتماييز الخلايا، يمكن تطبيقها في هندسة الأنسجة لتجديد الوتر / الرباط (tendon / ligament regeneration).

(١٤,٧) التحديات CHALLENGES

على الرغم من أنه يتضح وبشكل متزايد من التجارب التي يتم إجراؤها في المختبر أن البنى النانوية المناسبة يمكن أن تمارس ردود فعل أو استجابات إيجابية للخلايا، فإن التطبيق العملي لمثل هذه المعرفة لا يزال بعيداً جداً عن نقله إلى رعاية المرضى. إن هناك ثلاث مشاكل مرتبطة بشكل وثيق بحاملات الخلايا والأنسجة النانوية الحالية وهي:

- ١- التحكم غير الدقيق بالبنية النسيجية النانوية لمحاكاة الأنسجة الطبيعية المحددة.
 - ٢- بعض البنى النسيجية النانوية تؤدي إلى حدوث تفاعل خلايا - ركيزة (cell - substrate interaction)؛ وعلى أي حال، فإن التحكم الدقيق لا يزال غير مفهوم بشكل جيد.
 - ٣- انتقال بنيوي هندسي (architextural transition) غير مناسب من المستوى النانوي إلى المستوى الماكروي.
- إن الإستراتيجية المثالية هي أن تتم محاكاة المصفوفة خارج الخلية (ECM) الطبيعية بشكل كيميائي ونسيجي وميكانيكي معاً في نفس الوقت.

(١٤,٧,١) حاملات الخلايا والأنسجة النانوية ذات الأشكال المحددة للأنسجة Nanoscaffolds With Tissue-Specific Patterns

تحاول الأساليب المعاصرة لتصميم المواد اللازمة لتجديد الأنسجة محاكاة الظروف الخاصة لتطوير الأنسجة الطبيعية لتوجيه النمو لنوع واحد من الأنسجة. وبالتالي؛ فإنه من المحتمل أن تتطلب طرق تجديد الأعضاء ثلاثية الأبعاد المعقدة تقدماً متزامناً وفي نفس الوقت لمحفزات متميزة ومتعددة ضمن بنية المادة الواحدة. وقد تجاوز التقدم المحرز في حاملة الأنسجة ببساطة مطلب أن تكون حاملة الخلايا والأنسجة ذات بنية غير سامة (nontoxic structure) أو ذات بنية خاملة أو غير فعالة (inert structure) مع مسامات مترابطة فيما بينها. لقد تم وصف القدرة على التأثير على السلوك الخلوي في المستوى النانوي بإسهاب. ومع ذلك، فإنه لا تزال هناك فجوة في المعرفة فيما يتعلق بالتأثير الدقيق لآثار المستوى النانوي على الآلية الخلوية (cellular mechanism). إن تصنيع حاملة خلايا وأنسجة ذات سمات أو خصائص في المستوى النانوي لا يزال غير واضح وسابقاً لأوانه وبعيداً عما يمكن أن تفعله الطبيعة [6,109]. ولا يزال التصنيع النانوي لحاملة الخلايا والأنسجة الموجهة بشكل اصطناعي والمتحكم بها بشكل دقيق مجالاً خصباً للبحث العلمي.

(١٤,٧,٢) الخصائص الميكانيكية Mechanical Property

لقد تم استخدام طريقة اختبار الشد (tensile testing) القياسية لاختبار الغشاء الليفي النانوي (nanofibrous membrane). إن هناك نقصاً في الطرق المنهجية للاختبار حتى بالنسبة لبوليمر البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) الأكثر استخداماً وعلى نطاقٍ واسع. وقد أدرجنا في الجدول رقم (١٤,٢) الخصائص الميكانيكية للألياف النانوية المصنوعة من البوليمرات الطبيعية والبوليمرات التركيبية. ولا تزال متانة شد الألياف النانوية أقل بشكلٍ كبير من متانة شد الأنسجة الطبيعية. لقد حصل Zong وآخرون [105] على متانة شد بقيمة ٦ و ٤.٩ ميغا باسكال للألياف المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) (معدل اللاكتيك إلى الغليكوليك هو $GA : LA = 10 : 90$) ذات القطر ٤٠٠ و ١٠٠٠ نانومتر، على التوالي، ومن دراسة Li وآخرين [57] فإن متانة الشد هي ٢٢,٦٧ ميغا باسكال للألياف النانوية المصنوعة من البولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك) (PLGA) (معدل اللاكتيك إلى الغليكوليك هو $GA : LA = 85 : 15$) ذات القطر من حوالي ٥٠٠ إلى ٨٠٠ نانومتر. وبالنسبة للأغشية ذات الألياف النانوية المتراصة، تنبغي دراسة خاصية الشد في الاتجاهات المتعامدة.

إن تأثير الحجم على الخاصية الميكانيكية لليف نانوي مفرد مغزول كهربائياً هو موضوع دراسة في عدد من الأوراق العلمية. ففي الوقت الحالي، يوجد هناك ثلاثة طرائق لقياس خصائص الشد والحني (التقوس) (bending) لليف نانوي مفرد وهي: تقنية الكابول أو الدعامة الناتئة (cantilever technique) المثبتة من طرف واحد، ونظام ثلثة الأخدود النانوي (nanoindentation system) المبني على الفحص المجهرى باستخدام مجهر القوة الذرية (AFM)، وجهاز اختبار الشد النانوي (nanotensile tester) [110-114]. وباستخدام نظام ثلثة الأخدود النانوي المبني على الفحص المجهرى باستخدام مجهر القوة الذرية (AFM - based nanoindentation system)، تم إجراء اختبار حني أو تقوس ليف مفرد مصنوع من البولي (حمض إل - لاكتيك) (bending test of PLLA single fiber) وذلك عن طريق تعليق الليف على أخدود محفور (etched groove) في رقاقة من السيليكون (silicon wafer) ذات عرض ٤ مايكرومترات وعمق ٢.٥ مايكرومترًا [112]. وبلغت سرعة وصلة الذراع (crosshead) لطرف الكابول أو الدعامة الناتئة ١.٨ مايكرومترًا في الثانية وبلغ الحمل الأعظمي (maximum load) المطبق على الليف المفرد المصنوع من البولي (حمض إل - لاكتيك) (PLLA) ١٥ نانو نيوتن (nN). ومن الممكن أن تقيس هذه الطريقة الخصائص الميكانيكية للخلايا المزروعة على ليف نانوي مغزول كهربائياً وأن تقيس تأثير ألياف المصفوفة خارج الخلية (ECM) في الموضع. ويمكن أن توفر لنا هذه التقنية النانوية أداة جديد لدراسة تأثير تحفيز الإجهاد (stress stimulus effect) على نمو الخلايا والأنسجة. ولا يزال البحث العلمي على التفاعل بين الخلايا والألياف النانوية تحت الإجهاد الميكانيكي (mechanical stress) في مرحله الأولى.

(١٤,٧,٣) استكشاف تقنيات الألياف النانوية المتقدمة Exploring Advanced Nanofiber Technologies

تُمكن تقنية الغزل الكهربائي من إنتاج ألياف نانوية متواصلة إلا أن لديها القيود المتعلقة وبشكل أساسي بإنتاج غشاء الألياف النانوية. وقد أُجريت محاولات لعمل خيوط (yarns) من خلال الألياف النانوية ومن ثم تصنيع المنسوجات (textiles). فإذا كان من الممكن تصنيع بنية ثلاثية الأبعاد باستخدام مثل هذا النوع من الأنسجة القماشية (fabrics)، فسيكون لهذا التركيب بالتالي بنية هندسية ذات خصائص في المستوى النانوي والميكروني والماكروني.

وفي محاولة للحصول على خيط متواصل مصنوع من الألياف المتراصة، فقد تم تصنيع حزم من الألياف (fiber bundles) عن طريق جمع الألياف المغزولة كهربائياً على أسطوانة دوّارة (rotating drum). وقد تم ربط الألياف النانوية التي تم جمعها مع بعض ولفها في خيوط [115]. في الجهاز المصمم من قبل Khil وآخرين [116] من أجل جمع الخيط، تم استخدام مغطس مائي (water bath) لجمع الألياف المغزولة كهربائياً. وتم سحب الألياف التي تم جمعها خارج الماء على شكل حزمة من جانب واحد من المغطس المائي باستخدام شريط دليل توجيه الخيط (filament guide bar) وجمعها على بكرة في شكل خيط.

وفي نظام آخر، تم استبدال حلقات بالإلكترودات الموازية (parallel electrodes) للأشرطة المستقيمة. وتندوير واحدة من الحلقات يتم لف الألياف المتراصة في شكل حزمة (bundle) [112]. إن العقبة الكبيرة لهذه العملية هي أن طول حزمة الألياف الملفوفة (twisted fiber bundle) يكون مقتصرًا على الحيز بين الحلقات.

(١٤,٨) الاستنتاجات CONCLUSIONS

يبدو أن الطبيعة هي المتخصصة في نهاية المطاف في تصميم وتصنيع المواد الجديدة بالأحجام والخصائص المناسبة تمامًا من المستوى النانوي إلى المستوى الميكروني. إن دراسة وفهم آليات الطبيعة في تشكيل المواد النانوية يمكن أن تقدم بدورها أفكاراً مُلهمة لإستراتيجيات التصنيع الجديدة لمواد حيوية ذات بُنى نانوية مُحسّنة من أجل هندسة الأنسجة. وعلى الرغم من التقدم الذي تم إحرازه مؤخراً في تطوير البنى النانوية لهندسة الأنسجة العضلية الهيكلية، فلا يزال العديد من التحديات والقضايا الحرجة قائمة. وجنباً إلى جنب مع تطوير التقنيات النانوية والفهم الأفضل لتفاعل الخلايا - البنى النسيجية النانوية، سوف تكون لمواد حاملات الخلايا والأنسجة في المستقبل بنية نانوية تحاكي بشكل أفضل البيئة الطبيعية للنسيج الغشائي أو المصفوفة خارج الخلية (ECM). إن الهدف النهائي هو معالجة ودمج ليس فقط بنية نسيجية نانوية في المواد الحيوية، بل أيضاً دمج الإشارات الكيميائية والميكانيكية المناسبة وذلك لتحقيق تحكم أفضل بسلوك الخلايا من أجل تجديد الأنسجة.

ACKNOWLEDGMENTS شكر وتقدير

نُعبّر عن تقديرنا وامتناننا للدعم المادي المقدم من جامعة سنغافورة الوطنية (National University of Singapore) ومنحة Lee Kuan Yew الجامعية لما بعد الدكتوراه (LKY PDF).

REFERENCES المراجع

- [1] Weistein, S.L. and Buckwalter, J.A. 1994. Turek's Orthopaedics Principles and Their Application, fifth edition. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
- [2] Landis, W.J., Song, M.J., Leith, A. et al. 1993. Mineral and organic matrix interaction in normally calcifying tendon visualized in three dimensions by high-voltage electron microscopic tomography and graphic image reconstruction. *J Struct Biol* 110(1): 39–54.
- [3] Landis, W.J., Hodgins, K.J., Arena, J. et al. 1996. Structural relations between collagen and mineral in bone as determined by high voltage electron microscopic tomography. *Microsc Res Tech* 33(2): 192–202.
- [4] Weiner, S. and Traub, W. 1986. Organization of hydroxyapatite crystals within collagen fibrils. *FEBS Lett* 206(2): 262–266.
- [5] Weiner, S. and Traub, W. 1989. Crystal size and organization in bone. *Connect Tissue Res* 21(1–4): 589–595.
- [6] Stevens, M.M. and George, J.H. 2005. Exploring and engineering the cell surface interface. *Science* 310(5751): 1135–1138.
- [7] Fantner, G.E., Hassenkam, T., Kindt, J.H. et al. 2005. Sacrificial bonds and hidden length dissipate energy as mineralized fibrils separate during bone fracture. *Nat Mater* 4(8): 612–616.
- [8] Reinert, T., Reibetanz, U., Schwertner, M. et al. 2002. The architecture of cartilage: Elemental maps and scanning transmission ion microscopy/tomography. *Nucl Instr Methods Phys Res B* 188: 1–8.
- [9] Langer, R. and Vacanti, J.P. 1993. Tissue engineering. *Science* 260(5110): 920–926.
- [10] Lutolf, M.P. and Hubbell, J.A. 2005. Synthetic biomaterials as instructive extracellular microenvironments for morphogenesis in tissue engineering. *Nat Biotechnol* 23(1): 47–55.
- [11] Robert, F. 2000. Tissue engineers build new bone. *Science* 289(5483): 1498–1500.
- [12] Medtech@Insight, Tissue Engineering and Cell Transplantation: Technologies, Opportunities, and Evolving Markets. Industry Report July, 2004.
- [13] Lanza, R.P., Langer, R., and Vacanti, J. 2000. Principles of Tissue Engineering, second edition. Academic Press, USA.
- [14] Griffith, L.G. and Naughton, G. 2002. Tissue engineering—current challenges and expanding opportunities. *Science* 295(5557): 1009.
- [15] Langer, R. and Tirrell, D.A. 2004. Designing materials for biology and medicine. *Nature* 428(6982): 487–492.
- [16] Murugan, R. and Ramakrishna, S. 2006. Nanophase biomaterials for tissue engineering. In *Tissue, Cell and Organ Engineering*, ed. Challa Kumar. 226–256. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- [17] Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C. et al. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284(5411): 143–147.
- [18] Seshi, B., Kumar, S., and Sellers, D. 2000. Human bone marrow stromal cell: Co-expression of markers specific for multiple mesenchymal cell lineages. *Blood Cells Mol Dis* 26(3): 234–246.
- [19] Caplan, A.I. and Bruder, S.P. 2001. Mesenchymal stem cells: Building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Mol Med* 7(6): 259–264.

- [20] NIH Stem Cell Report entitled: Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions, Kirschstein, R. and Skirboll, L.R., Department of Health and Human Services, June 2001. <http://stemcells.nih.gov/info/basics/basics4> [accessed Feb 06, 2007].
- [21] Kraiattanapong, C., Boden, S.D., Louis-Ugbo, J. et al. 2005. Comparison of HEALOS/bone marrow to INFUSE(rhBMP-2/ACS) with a collagen-ceramic sponge bulking agent as graft substitutes for lumbar spine fusion. *Spine* 30(9): 1001–1007.
- [22] Martin, G.J. Jr., Boden, S.D., Marone, M.A. et al. 1999. Posterolateral intertransverse process spinal arthrodesis with rhBMP-2 in non-human primate: Important lessons learned regarding dose, carrier and safety. *J Spinal Disord* 12(3): 179–186.
- [23] Barnes, B., Boden, S.D., Louis-Ugbo, J. et al. 2005. Lower dose of rhBMP-2 achieves spine fusion when combined with an osteoconductive bulking agent in non-human primates. *Spine* 30(10): 1127–1133.
- [24] Schimandle, J.H. and Boden, S.D. 1997. Bone substitutes for lumbar fusion: Present and future. *Oper Tech Ortho* 7(1): 60–67.
- [25] Chan, C.K., Sampath Kumar, T.S., Liao, S. et al. 2006. Biomimetic nanocomposites for bone graft applications. *Nanomedicine* 1(2): 177–188.
- [26] Leroux, J.C., Allemann, E., Da Jaeghere, F. et al. 1996. Biodegradable nanoparticles—From sustained release formulations to improved site specific drug delivery. *J Control Release* 39: 339–350.
- [27] Soppimath, K., Aminabhavi, T., Kulkarni, A. et al. 2001. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *J Control Release* 70: 1–20.
- [28] Saltzman, W.M. and Olbricht, W.L. 2002. Building drug delivery into tissue engineering. *Drug Discov* 1: 177–186.
- [29] Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W.E. et al. 2005. *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
- [30] Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H. et al. 2000. Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics. *J Biomater Med Res* 51: 475–483.
- [31] Soppimath, K.S., Tan, D.C.W., and Yang, Y.Y. 2005. pH-triggered thermally responsive polymer core-shell nanoparticles for drug delivery. *Ad Mater* 17(3): 318–323.
- [32] Lo, C.L., Lin, K.M., and Hsiue, G.H. 2005. Preparation and characterization of intelligent core-shell nanoparticles based on poly(D,L-lactide)-g-poly(N-isopropyl acrylamide-co-methacrylic acid). *J Control Release* 104(3): 477–488.
- [33] Feng, S.S. 2006. New-concept chemotherapy by nanoparticles of biodegradable polymers—where are we now? *Nanomedicine* 1(3): 297–309.
- [34] Zhang, Y., Huang, Z.M., Xu, X. et al. 2004. Preparation of core-shell structured PCL-r-Gelatin bi-component nanofibers by coaxial electrospinning. *Chem Mater* 16: 3406–3409.
- [35] Zhang, Y.Z., Wang, X., Feng, Y. et al. 2006. Coaxial electrospinning of fitcBSA encapsulated PCL nanofibers for sustained release. *Biomacromolecules* 7(4): 1049–1057.
- [36] Wei, G., Jin, Q., Giannobile, W.V. et al. 2007. The enhancement of osteogenesis by nano-fibrous scaffolds incorporating rhBMP-7 nanospheres. *Biomaterials* 28(12): 2087–2096.
- [37] Curtis, A. and Wilkinson, C. 1999. New depths in cell behaviour: Reactions of cells to nanotopography. *Biochem Soc Symp* 65: 15–26.
- [38] Price, R.L., Ellison, K., Haberstroh, K.M. et al. 2004. Nanometer surface roughness increases select osteoblast adhesion on carbon nanofiber compacts. *J Biomed Mater Res* 70A: 129–138.
- [39] Price, R.L., Waid, M.C., Haberstroh, K.M. et al. 2003. Selective bone cell adhesion on formulations containing carbon nanofibers. *Biomaterials* 24(11): 1877–1887.

- [40] Fujihara, K., Kotaki, M., and Ramakrishna, S. 2005. Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers. *Biomaterials* 26(19): 4139–4147.
- [41] Xu, C.Y., Inai, R., Kotaki, M. et al. 2004. Aligned biodegradable nanofibrous structure: A potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials* 25(5): 877–886.
- [42] He, W., Ma, Z., Yong, T. et al. 2005. Fabrication of collagen-coated biodegradable polymer nanofiber mesh and its potential for endothelial cells growth. *Biomaterials* 26(36): 7606–7615.
- [43] Yang, F., Murugan, R., Wang, S. et al. 2005. Electrospinning of nano/micro scale poly(L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. *Biomaterials* 26(15): 2603–2610.
- [44] He, W., Yong, T., Teo, W.E. et al. 2005. Fabrication and endothelialization of collagen-blended biodegradable polymer nanofibers: Potential vascular graft for the blood vessel tissue engineering. *Tissue Eng* 11(9–10): 1575–1589.
- [45] Venugopal, J. and Ramakrishna, S. 2005. Fabrication of modified and functionalized polycaprolactone nanofiber scaffolds for vascular tissue engineering. *Nanotechnology* 16(10): 2138–2142.
- [46] Ma, Z.W., He, W., Yong, T. et al. 2005. Grafting of gelatin on electrospun poly(caprolactone) PCL nanofibers to improve endothelial cell's spreading & proliferation & to control cell orientation. *Tissue Eng* 11(7–8): 1149–1158.
- [47] He, W., Yong, T., Teo, W.E. et al. 2006. Biodegradable polymer nanofiber mesh to maintain functions of endothelial cells. *Tissue Eng* 12(9): 2457–2466.
- [48] Venugopal, J., Vadgama, P., Sampath Kumar, T.S. et al. 2007. Biocomposite nanofibres and osteoblasts for bone tissue engineering. *Nanotechnology* 18: 1–8.
- [49] Beniash, E., Hartgerink, J.D., Storrer, H. et al. 2005. Self-assembling peptide amphiphile nanofiber matrices for cell entrapment. *Acta Biomater* 1: 387–397.
- [50] Silva, G.A., Czeisler, C., Niece, K.L. et al. 2004. Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers. *Science* 303: 1352–1355.
- [51] Holmes, T.C., de Lacalle, S., Su, X. et al. 2000. Extensive neurite outgrowth and active synapse formation on self-assembling peptide scaffolds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(12): 6728–6733.
- [52] Semino, C.E., Kasahara, J., Hayashi, Y. et al. 2004. Entrapment of migrating hippocampal neural cells in three-dimensional peptide nanofiber scaffold. *Tissue Eng* 10(3–4): 643–655.
- [53] Rajangam, K., Behanna, H.A., Hui, M.J. et al. 2006. Heparin binding nanostructures to promote growth of blood vessels. *Nano Lett* 6(9): 2086–2090.
- [54] Woo, K.M., Jun, J.H., Chen, V.J. et al. 2007. Nano-fibrous scaffolding promotes osteoblast differentiation and biomineralization. *Biomaterials* 28(2): 335–343.
- [55] Woo, K.M., Chen, V.J., and Ma, P.X. 2003. Nano-fibrous scaffolding architecture selectively enhances protein adsorption contributing to cell attachment. *J Biomed Mater Res* 67A: 531–537.
- [56] Matthews, J.A., Wnek, G.E., Simpson, D.G. et al. 2002. Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules* 3: 232–238.
- [57] Li, W.J., Laurencin, C.T., Caterson, E.J. et al. 2002. Electrospun nanofibrous structure: A novel scaffold for tissue engineering. *J Biomed Mater Res* 60: 613–621.
- [58] Dzenis, Y. 2004. Spinning continuous fibers for nanotechnology. *Science* 304(5679): 1917–1919.
- [59] Ma, Z., Kotaki, M., Inai, R. et al. 2005. Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Eng* 11(1–2): 101–109.
- [60] Wang, X., Um, I.C., Fang, D. et al. 2005. Formation of water-resistant hyaluronic acid nanofibers by blowing-assisted electro-spinning and non-toxic post treatments. *Polymer* 46: 4853–4867.
- [61] Um, I.C., Fang, D., Hsiao, B.S. et al. 2004. Electro-spinning and electro-blowing of hyaluronic acid. *Biomacromolecules* 5: 1428–1436.

- [62] Li, J., He, A., Han, C.C. et al. 2006. Electrospinning of hyaluronic acid (HA) and HA/gelatin blends. *Macromol Rapid Commun* 27: 114–120.
- [63] Ji, Y., Ghosh, K., Shu, X.Z. et al. 2006. Electrospun three-dimensional hyaluronic acid nanofibrous scaffolds. *Biomaterials* 27(20): 3782–3792.
- [64] Liao, S., Li, B., Ma, Z. et al. 2006. Biomimetic electrospun nanofibers for tissue regeneration. *Biomed Mater* 1: R45–R53.
- [65] Fan, H., Hu, Y., Zhang, C. et al. 2006. Cartilage regeneration using mesenchymal stem cells and a PLGA-gelatin/chondroitin/hyaluronate hybrid scaffold. *Biomaterials* 27(26): 4573–4580.
- [66] Ge, Z., Goh, J., and Lee, E.H. 2006. The effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and fascia wrap application to anterior cruciate ligament tissue engineering. *Cell Transplant* 14(10): 763–773.
- [67] Ge, Z., Goh, J.C., Wang, L. et al. 2005. Characterization of knitted polymeric scaffolds for potential use in ligament tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed* 16: 1179–1192.
- [68] Golding, J.P., Calderbank, E., Partridge, T.A. et al. 2007. Skeletal muscle stem cells express antiapoptotic ErbB receptors during activation from quiescence. *Exp Cell Res* 313: 341–356.
- [69] Price, F.D., Kuroda, K., and Rudnicki, M.A. 2007. Stem cell based therapies to treat muscular dystrophy. *Biochim Biophys Acta* 1772: 272–283.
- [70] Payne, A.M., Messi, M.L., Zheng, Z. et al. 2007. Motor neuron targeting of IGF-1 attenuates age-related external Ca²⁺-dependent skeletal muscle contraction in senescent mice. *Exp Gerontol*, 42(4): 309–319.
- [71] Becker, C., Lacchini, S., Muotri, A.R. et al. 2006. Skeletal muscle cells expressing VEGF induce capillary formation and reduce cardiac injury in rats. *Int J Cardiol* 113: 348–354.
- [72] Ge, Z., Yang, F., Goh, J.C.H. et al. 2006. Biomaterials and scaffolds for ligament tissue engineering. *J Biomed Mater Res* 77A: 639–652.
- [73] Ito, Y., Hasuda, H., Kamitakahara, M. et al. 2005. A composite of hydroxyapatite with electrospun biodegradable nanofibers as a tissue engineering material. *J Biosci Bioeng* 100(1): 43–49.
- [74] Li, C.M., Jin, H.J., Botsaris, G.D. et al. 2005. Silk apatite composites from electrospun fibers. *J Mater Res* 20: 3374–3384.
- [75] Yoshimoto, H., Shin, Y.M., Terai, H. et al. 2003. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials* 24(12): 2077–2082.
- [76] Zhang, Y.Z., Ouyang, H.W., Lim, C.T. et al. 2005. Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. *J Biomed Mater Res* 72B: 156–165.
- [77] Li, W.J., Tuli, R., Huang, X. et al. 2005. Multilineage differentiation of human mesenchymal stem cells in a three-dimensional nanofibrous scaffold. *Biomaterials* 26(25): 5158–5166.
- [78] Boudriot, U., Goetz, B., Dersch, R. et al. 2005. Role of electrospun nanofibers in stem cell technologies and tissue engineering. *Macromol Symp* 225: 9–16.
- [79] Liao, S.S., Cui, F.Z., Zhang, W. et al. 2004. Hierarchically biomimetic bone scaffold materials: Nano-HA/collagen/PLA composite. *J Biomed Mater Res* 69B: 158–165.
- [80] Li, C., Vepari, C., Jina, H.J. et al. 2006. Electrospun silk-BMP-2 scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 27(16): 3115–3124.
- [81] Li, W.J., Tuli, R., Okafor, C. et al. 2005. A three-dimensional nanofibrous scaffold for cartilage tissue engineering using human mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 26(6): 599–609.
- [82] Matthews, J.A., Boland, E.D., Wnek, G.E. et al. 2003. Electrospinning of collagen type II: A feasibility study. *J Bioact Comp Poly* 18: 125–134.
- [83] Shields, K.J., Beckman, M.J., Bowlin, G.L. et al. 2004. Mechanical properties and cellular proliferation of electrospun collagen type II. *Tissue Eng* 10(9–10): 1510–1517.

- [84] Subramanian, A., Vu, D., Larsen, G.F. et al. 2005. Preparation and evaluation of the electrospun chitosan/PEO fibers for potential applications in cartilage tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed* 16: 861–873.
- [85] Shin, H.J., Lee, C.H., Cho, I.H. et al. 2006. Electrospun PLGA nanofiber scaffolds for articular cartilage reconstruction: Mechanical stability, degradation and cellular responses under mechanical stimulation in vitro. *J Biomater Sci Polym Ed* 17: 103–119.
- [86] Li, W.J., Danielson, K.G., Alexander, P.G. et al. 2003. Biological response of chondrocytes cultured in three dimensional nanofibrous poly(ϵ -caprolactone) scaffolds. *J Biomed Mater Res* 67A: 1105–1114.
- [87] Riboldi, S.A., Sampaolesi, M., Neuenschwander, P. et al. 2005. Electrospun degradable polyesterurethane membranes: Potential scaffolds for skeletal muscle tissue engineering. *Biomaterials* 26(22): 4606–4615.
- [88] Neumann, T., Hauschka, S.D., and Sanders, J.E. 2003. Tissue engineering of skeletal muscle using polymer fiber arrays. *Tissue Eng* 9(5): 995–1003.
- [89] Cronin, E.M., Thurmond, F.A., Bassel-Duby, R. et al. 2004. Protein-coated poly(L-lactic acid) fibers provide a substrate for differentiation of human skeletal muscle cells. *J Biomed Mater Res* 69A(3): 373–381.
- [90] Mo, X.M., Xu, C.Y., Kotaki, M. et al. 2004. Electrospun P(LLA-CL) nanofiber: A biomimetic extracellular matrix for smooth muscle cell and endothelial cell proliferation. *Biomaterials* 25(10): 1883–1890.
- [91] Vunjak-Novakovic, G., Altman, G., Horan, R. et al. 2004. Tissue engineering of ligaments. *Annu Rev Biomed Eng* 6: 131–156.
- [92] Chvapil, M., Speer, D.P., Holubec, H. et al. 1993. Collagen fibers as a temporary scaffold for replacement of ACL in goats. *J Biomed Mater Res* 27: 313–325.
- [93] Altman, G.H., Horan, R.L., Lu, H.H. et al. 2002. Silk matrix for tissue engineered anterior cruciate ligaments. *Biomaterials* 23(20): 4131–4141.
- [94] Black, J. and Hastings, G.W. 1998. *Handbook of Biomaterials Properties*. Chapman and Hall, London.
- [95] Noyes, F.R. and Grood, E.S. 1976. The strength of the anterior cruciate ligament in humans and Rhesus monkeys. *J Bone Joint Surg Am* 58: 1074–1082.
- [96] Dunn, M.G. 1998. Anterior cruciate ligament prostheses. In *Encyclopedia of Sports Medicine and Science*, ed. Fahey, T. Internet Society of Sport Science: <http://sportsoci.org>, 10 March 1998.
- [97] LaPrade, R.F., Bollom, T.S., Wentorf, F.A., Wills, N.J., and Meister, K. 2005. Mechanical properties of the posterolateral structures of the knee. *The American Journal of Sports Medicine* 33: 1386–1391.
- [98] Mow, V.C. and Hayes, W.C., Eds. 1991. *Basic Orthopaedic Biomechanics*, Raven Press, New York.
- [99] Dee, R., Hurst, L.C., Gruber, M.A. et al. 1997. *Principles of Orthopaedic Practice*. The McGraw-Hill Co., Inc. New York.
- [100] Li, M., Mondrinos, M.J., Gandhi, M.R. et al. 2005. Electrospun protein fibers as matrices for tissue engineering. *Biomaterials* 26(30): 5999–6008.
- [101] Rho, K.S., Jeong, L., Lee, G. et al. 2006. Electrospinning of collagen nanofibers: Effects on the behavior of normal human keratinocytes and early-stage wound healing. *Biomaterials* 27(8): 1452–1461.
- [102] Li, M., Guo, Y., Wei, Y. et al. 2006. Electrospinning polyaniline-contained gelatin nanofibers for tissue engineering applications. *Biomaterials* 27(13): 2705–2715.
- [103] Bourke, S.L., Kohn, J., and Dunn, M.G. 2004. Preliminary development of a novel resorbable synthetic polymer fiber scaffold for anterior cruciate ligament reconstruction. *Tissue Eng* 10(1–2): 43–52.
- [104] Cooper, J.A., Lu, H.H., Ko, F.K. et al. 2005. Fiber-based tissue-engineered scaffold for ligament replacement: Design considerations and in vitro evaluation. *Biomaterials* 26(13): 1523–1532.
- [105] Zong, X., Ran, S., Fang, D. et al. 2003. Control of structure, morphology and property in electrospun poly(glycolide-co-lactide) non-woven membranes via post draw treatments. *Polymer* 44: 4959–4967.

- [106] Bashur, C.A., Dahlgren, L.A., and Goldstein, A.S. 2006. Effect of fiber diameter and orientation on fibroblast morphology and proliferation on electrospun poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) meshes. *Biomaterials* 27(33): 5681–5688.
- [107] Lee, C.H., Shin, H.J., Cho, I.H. et al. 2005. Nanofiber alignment and direction of mechanical strain affect the ECM production of human ACL fibroblast. *Biomaterials* 26(11): 1261–1270.
- [108] Sahoo, S., Ouyang, H., Goh, C.H.J. et al. 2006. Characterization of a novel polymeric scaffold for potential application in tendon/ligament tissue engineering. *Tissue Eng* 12(1): 91–99.
- [109] Moroni, L. and Van Bitterswijk, C.A. 2006. Biomaterials converge and regenerate. *Nat Mater* 5(6): 437–438.
- [110] Dalton, P.D., Klee, D., and Moller, M. 2005. Electrospinning with dual collection rings. *Polym Commun* 46: 611–614.
- [111] Buer, A., Ugbohue, S.C., and Warner, S.B. 2001. Electrospinning and properties of some nanofibers. *Tex Res* 71(4): 323–328.
- [112] Tan, E.P.S. and Lim, C.T. 2004. Physical properties of a single polymeric nanofiber. *Appl Phys Lett* 84(9): 1603–1605.
- [113] Tan, E.P.S., Ng, S.Y., and Lim, C.T. 2005. Tensile testing of a single ultrafine polymeric fiber. *Biomaterials* 26(12): 1453–1456.
- [114] Inai, R., Kotaki, M., and Ramakrishna, S. 2005. Structure and property of electrospun PLLA single nanofibers. *Nanotechnology* 16: 208–213.
- [115] Fennessey, S.F. and Farris, R.J. 2004. Fabrication of aligned and molecularly oriented electrospun polyacrylonitrile nanofibers and the mechanical behavior of their twisted yarns. *Polymer* 45: 4217–4225.
- [116] Khil, M.S., Bhattarai, S.R., Kim, H.Y. et al. 2005. Novel fabricated matrix via electrospinning for tissue engineering. *J Biomed Mater Res* 72B: 117–124.

ثبت المصطلحات

أولاً : عربي - إنجليزي

أ

Photo - initiation	إبتداء (تحريض) ضوئي
Vapors of glutaraldehyde	أبخرة الغلوتارالدهيد
Vapors of formaldehyde	أبخرة الفورمالدهيد
Capillary needle	إبرة شعريّة
Orientations	اتجاهات
Sporadic connection	اتصال فُرَادِيّ
Intercellular communication	اتصالات بين الخلايا
Automation	أتمتة
Multiphoton excitation	إثارة الفوتونات المتعددة
Ross procedure	إجراء روس
Oligopeptide fragments	أجزاء قليل الببتيد
Embryoid bodies (Ebs)	أجسام جنينية مُضغِيّة الشكل
Cell recruitment	إِجْلَاب الخلايا
Human embryos	أجنّة بشرية
Stress - strain imbalance	إجهاد - انفعال غير متوازن
Shear stress	إِجهاد القص
Oxidative stress	إجهاد تأكسديّ
Mechanical stress	إجهاد ميكانيكي
Physical stresses	إجهادات فيزيائية

Physiological stresses and strains	إجهادات وانفعالات فيزيولوجية
Medical devices	أجهزة طبية
Implanted devices	أجهزة مزروعة
Cyclic adenosine monophosphate (cAMP)	أُحاديّ فوسفات الأدينوزين الحلقّيّ
Adsorptive pinocytosis	احتِساء امتِزازي
Experimental myocardial infarction	احتشاء تجريبي لعضلة القلب
Proteolytic events	أحداث حالة للبروتين
Chronological events and statistics	أحداث متسلسلة زمنياً وإحصائيات
Caproic acids	أحماض الكابرويك
Carboxylic acids	أحماض كربوكسيلية
Nucleic acids	أحماض نووية
Uniaxial tensile test	اختبار شد أحادي المحور
Pulse duplicator testing	اختبار ناسخ (مُقلّد) النبض
Cellular penetration	اختراق خلوي
Dermis	أدمة (باطن الجلد تحت البشرة)
Endoderm	أديم باطن
Ectoderm	أديم ظاهر
Mesoderm	أديم متوسط
Ligaments	أربطة
Receptor - ligand binding	ارتباط بين المستقبل - واللّجين
Cellular infiltration	ارتشاح خلوي
Resorption	ارتشاف
Bone resorption	ارتشاف العظم
Localized resorption	ارتشاف موضعي
Cell attachment	ارتكاز أو التصاق الخلايا
Filopodia of cells	أرجل كاذبة خيطية للخلايا
Tissue and organ replacement	استبدال الأنسجة والأعضاء
Homeostasis	استِثباب
Wound healing responses	استجابات التئام الجروح

Biological responses	استجابات بيولوجية
Foreign body response	استجابة الجسم الأجنبي
Fight or flight response	استجابة المحاربة أو الفرار
Contact guidance response	استجابة توجيه الاتصال
Bi - phasic response	استجابة ثنائية الطور
Cellular response	استجابة خلوية
Immune response	استجابة مناعية
Immunologic response	استجابة مناعية
Adverse immune response	استجابة مناعية معاكسة
Nanoparticles uses	استخدامات الجسيمات النانوية
Sensing	استشعار
Geometry sensing	استشعار الأشكال الهندسية
Sensing of microcracks	استشعار بالشقوق المايكروية
Cellular elongation	استطالة خلوية
Straight elongation	استطالة مستقيمة
Mechanical stability	استقرار ميكانيكي
Metabolization	استقلاب
Immunogenicity	استمناع
Therapeutic cloning	استنساخ علاجي
Internalization	استيعاب أو تدخيل
Collagen sponge	إسفنج كولاجيني
Silver nanowires	أسلاك الفضة النانوية
Bone cement	إسمنت أو ملاط عظمي
Alveoli	أسناخ (الحويصلات)
Biological signals	إشارات بيولوجية
Biological and physical signals	إشارات بيولوجية وفيزيائية
Specific induction cues	إشارات تحريضية محددة
Humoral signals	إشارات خلطية
Soluble signals	إشارات ذوابة

Nanotopographic signals	إشارات طوبوغرافية سطحية نانوية
Topological signals	إشارات طوبولوجية
Bioelectrical signals	إشارات كهربائية حيوية
Biochemical signals	إشارات كيميائية حيوية
Mechanical signal	إشارة ميكانيكية
Bands of Bungner	أَشْرَطة بونغنر
Infrared laser	أشعة ليزر تحت الحمراء
Denatured forms	أشكال مَمَسَّخة
Patient - specific geometries	أشكال هندسية محددة للمرضى
Endogenous repair	إصلاح داخلي المنشأ
Craniofacial repair	إصلاح قحفي وجهي
Antibodies	أضداد
Physical perturbation	اضطراب فيزيائي
Petri dishes	أطباق بَترِي
Anti - inflammatory and antiscarring drugs release	إطلاق أدوية مضادة للالتهاب ومضادة للتندُّب
Polymeric controlled release	إطلاق بوليمري متحكَّم به
Controlled drug release	إطلاق دواء متحكَّم به
Controlled release	إطلاق متحكَّم به
Sustained release	إطلاق متواصل
Phases	أطوار
Growth phases	أطوار النمو
Perturbation wavelengths	أطوال موجات الاضطراب
Fluorescence visualization	إظهار متألق
Cytoskeletal reorganization	إعادة التنظيم الهيكلي الخلوي
Revascularization	إعادة التوعي
Regenerating nerves	إعادة تجديد الأعصاب
Bone remodeling	إعادة تشكيل العظم
Matrix remodeling	إعادة تشكيل المصفوفة
Tissue regrowth	إعادة نمو الأنسجة

Artificial organs	أعضاء اصطناعية
Ischemic organs	أعضاء إقفارية
Glandular epithelial organs	أعضاء ظهارية غدية
Perfused columns	أعمدة التدفق المتواصل
Nanocolumns	أعمدة نانوية
Cone shaped nanopillars	أعمدة نانوية على شكل مخروط
Agarose	آغاروز
Electrospun nonwoven interconnected membranes	أغشية مغزولة كهربائياً غير محبوكة مترابطة فيما بينها
Secretion	إفراز
Osteocalcin secretion	إفراز الأوستيوكالسين
Secretion of matrix	إفراز المصفوفة
Covalent coupling	اقتران أو ربط تساهمي
Bioconjugation	اقتران حيوي
Lamellipodia	أقدام صُفاحية
Intervertebral disks	أقراص بين الفقرات
Monodisperse diameters	أقطار أحادية التبعثر
Peripheral limb ischemia	إقفار (نقص تروية) الطرف المحيطي
Cancer cell detection	اكتشاف الخلايا السرطانية
Photoactive acrylate	أكريلات نشطة ضوئياً
Cerium oxide and neuroprotection	أكسيد السيريوم والوقاية العصبية
Albumin	ألبومين
Bovine serum albumin	ألبومين (زلال) المصل البقري
Cell adhesion	التصاق الخلايا
Human umbilical cord vein endothelial cells (HUVECs) adhesion	التصاق الخلايا البطانية البشرية من وريد الحبل السري
Selective adhesion of cells	التصاق انتقائي للخلايا
Adhesion with ECM	التصاق بالمصفوفة خارج الخلية
Osteoblast adhesion	التصاق بانية العظم (خلية عظمية)
Preferential adhesion	التصاق تفضيلي
Cellular adhesion	التصاق خلوي

Initial cellular attachment	التصاق خلوي أولي
Phospho - focal adhesion kinase (FAK)	التصاق فوسفاتي - بوري لإنزيم الكيناز
Focal adhesions, plaques	التصاقات بُورِيَّة، لُويحات
Endocytosis	التقام
Cell - surface receptor - mediated endocytosis	التِّقام بواسطة مُستَقْبِلات سطح الخلية
Chronic inflammation	التهاب مزمن
Local acute inflammation	التهاب موضعي حاد
Inflammation	التهابات
Degenerative arthritis	التهابات تَنكُسيَّة
Alginate	أَلجينات
mRNA	الحَمَاضُ النَّوَوِي الرَّبِّي المُرْسَال
Receptor - ligand affinity	أُلْفَة أو انجذاب بين المستقبل - واللِّجين
Binding affinity	أُلْفَة للارتباط
Lipophilic	أُلْفَة للدهون
Hydrophilic	أُلْفَة للماء
Multichannel electrodes	إِلِكترودات متعددة القنوات
Nanoelectrode	إِلِكترودات نانوية
Laminins, glycoprotein	اللامينينات، بروتين سُكَّري
Nanophase alumina	أَلومينا ذي طور نانوي
Adhesion mechanisms	آليات الالتصاق
Deformation mechanisms	آليات التشوُّه
Strengthening mechanisms	آليات التقوية
Stress fibers	ألياف إجهاد
Polyethylene oxide nanofibers	ألياف أكسيد البولي إيثيلين النانوية
PLLA vs. poly(DTE carbonate) fibers	ألياف البولي (حمض-إل-لاكتيك) مقابل ألياف البولي (كربونات دي تي إي)
Electrospun crosslinked polybutadiene fibers, SEM cross - sectional images	ألياف البولي بوتادين المتشابكة المغزولة كهربائياً، صور مقطعية عرضية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح
Polycaprolactone nanofibers	ألياف البولي كابرولاكتون النانوية

Carbon nanofibers (CNFs)	ألياف الكربون النانوية
Collagen fibres	ألياف الكولاجين
Nanofibers	ألياف النانو
Nanofibers, fibrillar morphology	ألياف النانو، مورفولوجيا أو شكل ليفي
Polyethylene oxide (PEO) nanofibers	ألياف بولي (أكسيد الإيثيلين) النانوية
Electrospun PLLA nanofiber	ألياف بولي (حمض-إل-لاكتيك) نانوية مغزولة كهربائياً
Silk fibers and collagen	ألياف حريرية وكولاجين
Shell - core fibers	ألياف ذات قشر - ولُب
Natural fibers	ألياف طبيعية
Syncytial myofibers	ألياف عضلية مَحَلَوِيَّة
Silk fibroin fibers	ألياف فيبروين الحرير
Aligned fibers	ألياف متراففة
Blended fibers	ألياف مخلوطة
Electrospun fibers	ألياف مغزولة كهربائياً
Randomly oriented fibers	ألياف مُوجَّهة بشكلٍ عشوائي
Single - phase nanofibers	ألياف نانو أحادية الطور
Weaved nanofibers	ألياف نانو محبوكة أو منسوجة
Electrospun nanofibers	ألياف نانو مغزولة كهربائياً
Single electrospun nanofibers, mechanical testing of bend test	ألياف نانو مفردة مغزولة كهربائياً، اختبار ميكانيكي لفحص الانحناء
Core - shell polymer nanofibers	ألياف نانوية بوليميرية ذات لُب وقشر
Coaxial nanofibers	ألياف نانوية متمحورة (مُتَشَاركة في المحور)
Randomly blended nanofibers	ألياف نانوية مختلطة عشوائياً
Composite nanofibers	ألياف نانوية مُركَّبة
Particulate - reinforced nanofibers	ألياف نانوية مُعزَّزة بالجسيمات
Clay reinforced nanofibers	ألياف نانوية مُعزَّزة بالغُضار
Peptide - amphiphile nanofibers	ألياف نانوية من ببتيدات - مُزدوجة الألفة
Fibers, biosynthetic and synthetic	ألياف، تركيبية حيوية وتركيبية
Mechanism	آلية

Phase transformation mechanism	آلية التحول الطوري
Stiffening mechanism	آلية التصلب
Crack deflection mechanism	آلية انحراف أو تغيير مسار الشق
Crack bridging mechanism	آلية تجسير الشق
Nucleophiles	أليفات التواء
Embryonic lethality	إماتة جنينية
Neurite extension	امتداد المحوار العصبي
Adsorption	امتزاز (امتصاص كيميائي)
Colloidal adsorption	امتزاز (امتصاص كيميائي) غرواني
Adsorption of colloids	امتزاز (امتصاص) المواد الغروانية
Protein adsorption	امتزاز البروتين
Two - photon absorption	امتصاص ثنائي الفوتونات
Bioabsorption	امتصاص حيوي
Coronary artery and peripheral vascular diseases	أمراض الشرايين التاجية والأوعية الدموية المحيطية
Chronic diseases	أمراض مزمنة
Alkaline salts	أملاح قلوية
Rehydration	إمهاء (تعويض السوائل)
Primary amines	أمينات أولية
Tertiary amines	أمينات ثالثة
Secondary amines	أمينات ثانوية
Bis - secondary amines	أمينات ثانوية مضاعفة
Aminopentanol	أمينو بنتانول
N - Hydroxysuccinimide (NHS)	إن - هيدروكسي سوسينيميد
Carbon nanotubes (CNTs)	أنابيب الكربون النانوية
Multiwalled carbon nanotubes	أنابيب الكربون النانوية المتعددة الجدران
Peptide nanotubes	أنابيب نانوية ببتيدية
Helical Rosette Nanotubes (HRN)	أنابيب نانوية حلزونية زُهَيْرِيَّة أو وردية (على شكل وردة)
Capillary tube	أنبوب شعري
Reverse transcription	انْتِسَاخ عكسي

Diffusion	انتشار
Diffusivity	انتشارية
Particulate leaching	انْتِفَاز أو اسْتِعْسال (ترشيح) الجسيمات
Porogen leaching	انْتِفَاز أو اسْتِعْسال البوروجين (مولد المسام) (مادة تستخدم لتشكيل فيلم مسامي عازل)
Architextural transition	انتقال بنيوي هندسي
Chemotaxis	انْجذاب كيميائي
Sputter drift	انحراف الرش
Standard deviation	انحراف معياري
Osteolysis	انحلال العظم
Curvatures	انحناء أو تقوس
Osseointegration	اندماج عظمي
Slippage	انزلاق
Intracellular esterase	إنزيم الإستيراز داخل الخلوي
Alkaline phosphatase	إنزيم الفوسفاتاز القلوي
Tartrate - resistant acid phosphatase	إنزيم الفوسفاتاز الحمضي المقاوم للطبْرطات
Chondroitinase ABC (ChABC)	إنزيم الكَنْدرويتيناز اي بي سي
ATPase proton - pump enzyme	إنزيم مضخة - بروتون الأَنْباز
Lactate dehydrogenase (LDH)	إنزيم نازعة هيدروجين اللاكتات
Esterases	إنزيمات الإستيراز
Proteases	إنزيمات البروتياز
Matrix metalloproteases (MMPs)	إنزيمات البروتيناز الفِلِزِيَّة بالمصفوفة
Metalloproteinases	إنزيمات البروتيناز المعدنية
Synthases in GAG	إنزيمات السينثاز في غليكوز أمينوغليكسان
Phosphatases	إنزيمات الفوسفاتاز
Carboxypeptidases	إنزيمات الكربوكسي ببتيداز
Kinases	إنزيمات الكيناز
Hyaluronidases	إنزيمات الهيالورونيداز
Degradative enzymes	إنزيمات حالة

Tyrosine kinases	إنزيمات كيناز التيروسين
Homeostatic tissue	أنسجة استتبابية أو متوازنة
Epidermal tissues	أنسجة البشرة
Fetal tissues	أنسجة جنينية
Granulation tissue	أنسجة حبيبية
Soft tissues	أنسجة رخوة
Adipose tissue	أنسجة شحمية
Hard tissues	أنسجة صلبة
Infarctuated myocardia	أنسجة عضلة قلب متنحرة (ميتة)
Natural musculoskeletal tissues, nanostructures	أنسجة عضلية هيكلية طبيعية، بني نانوية
Orthopaedic tissue	أنسجة عظمية
Multilayer tissues	أنسجة متعددة الطبقات
Spatially complex tissues	أنسجة معقدة فراغياً
Engineered tissue	أنسجة مهندسة
Clogging	انسداد
Pore occlusion	انسداد المسام
Intimal occlusion	انسداد باطنة الشريان
Semiconductors	أنصاف النواقل
Thromboembolism	انصمام خثاري (جلطات دموية)
Hybrid living - artificial systems	أنظمة اصطناعية - حية هجينة
Microelectromechanical systems (MEMS)	أنظمة إلكترونية ميكانيكية مايكروية
Thermosensitive system	أنظمة حساسة للحرارة
Biomaterial culture systems	أنظمة زراعة الخلايا من المواد الحيوية
2D stem cell culture systems	أنظمة زراعة خلايا جذعية ثنائية الأبعاد
Photocrosslinkable systems	أنظمة قابلة للارتباط بواسطة الضوء
Fraunhofer diffraction	انعراج فراونهوفر
Fresnel diffraction	انعراج فريسنل
Initial burst	انفجار أولي
Physical entrapment	انفخاخ أو انحباس فيزيائي

Strain	انفعال
Tensile strain	انفعال الشد
Creep unrecovered strain	انفعال تغيير الشكل غير المسترد
Pulsatile strain	انفعال نابض
Contractility	انقباض أو قَلْوصِيَّة
Continuous contractility	انقباض متواصل
Shrinkage	انكماش أو تقلص
Osteocytic phenotypes	أنماط ظاهرية لتشكيل الخلايا العظمية
Specific cell phenotypes	أنماط ظاهرية محددة للخلايا
Implants wear	اهتراء الطُّعُوم
Involution	أوب (الالتفاف أو الانطواء إلى الداخل)
Hematomas	أورام دموية
Lymphoma	أورام لمفاوية
Microscale origami	أوريغامي في المستوى المايكروبي
Osteocalcin	أوستيو كالسين
Slow turning lateral vessels (STLV)	أوعية جانبية ذات دوران بطيء
Autologous blood vessels	أوعية دموية ذاتية
High aspect ratio rotating vessels (HARV)	أوعية دورانية ذات نسبة جانبية عالية
Rotating wall perfused vessels (RWPV)	أوعية ذات تدفق متواصل وجدار دَوَّار
Stirred - flask vessels	أوعية ذات حَوَاجِل المزج بالتحريك
Static vessels	أوعية ساكنة
Lymphatics	أوعية لمفاوية
Oxytocin	أوكسيتوسين (هرمون معجِّل للولادة)
Oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) (OPF)	أوليغو (فوماتات بولي (غليكول الإيثيلين))
Ethanol	إيثانول
Elastins	إيلاستينات
Counterions	أيونات معاكسة
ب	
Photoinitiators	بادئات أو مُحَرِّضَات ضوئية

Reaction initiators	بادثات أو مسببات التفاعل
Electrospinning parameters	بارامترات (محددات) الغزل الكهربائي
Thermodynamic - dependent parameters	بارامترات أو محددات تعتمد على الديناميكية الحرارية (البارامترات الترموديناميكية)
Neointimal lining of EC	بَاطِنَة شريان جديدة مُبَطَّنة للخلايا البِطَانِيَّة
Peptides	ببتيدات
Cyclopeptides	ببتيدات حلقيّة
Membrane - active peptides	ببتيدات ذات غشاء فَعَال
Biomimetic keratoprotheses	بدائل اصطناعية قَرْنِيَّة مُحاكِية حيويًا
Synthetic skin substitutes	بدائل الجلد الاصطناعي
Biological substitutes	بدائل بيولوجية
Seeding	بَذْر
Dynamic cell seeding	بذر خلايا ديناميكي
Dynamic seeding	بذر ديناميكي
Static seeding	بذر ساكن
Uniform cell seeding	بذر متجانس للخلايا
Computer - aided design (CAD) software	برامج تصميم مُساعِدة الحاسوب
Protons	بروتونات
Osteopontin (OPN) protein	بروتين أوستيوبونتين
Recombinant human bone morphogenic protein	بروتين تشكيل العظم البشري المُأشوب (المؤتلف أو المعاد تركيبه)
Lysosomal - associated membrane protein (LAMP)	بروتين غشائي مرتبط بالجسيمات الحَالَّة
Globular protein	بروتين كروي
Bone sialoprotein	بروتين لُعَابِي عظمي
Complement protein	بروتين مُكَمِّل
Heterodimer glycoproteins	بروتينات سكرية مثنويّة مغايرة
Structural fibrillar proteins	بروتينات لُيْفِيَّة بنوية
Bone morphogenetic proteins (BMPs)	بروتينات مكونة للعظام
Adaptor proteins	بروتينات مُهَيِّئَة

Proteoglycans	بروتيوغليكانات
Chondroitin sulfate proteoglycans (CSPGs)	بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُوتِين
Epidermis	بَشَرَة
Multilayer reflective EUV optics	بصريات الأشعة فوق البنفسجية الشديدة العاكسة متعددة الطبقات
Diffraction optics	بصريات الانعراج
Ion beam optics	بصريات الحزمة الأيونية
Endosteal bone	بطانة العظم
Interior stomach lining	بطانة داخلية للمعدة
Postnatally	بعد الولادة
Cell survival	بقاء الخلايا على قيد الحياة
Blood plasma	بلازما الدم
Plasmid DNA	بلازميدة الحمض النووي
Macrophages	بَلَاعِم (خلايا بلعمية)
Frustrated phagocytosis	بَلْعَمَة مثبّطة أو محبّطة
Graft polymerization	بلمرة الطُعْم
Self - assembling polymerization	بلمرة بالتجميع الذاتي
Photopolymerization	بلمرة ضوئية
Electropolymerization	بلمرة كهربائية
Construction	بناء
Beta sheet structures	بُنَى بيتا الصَفِيحِيَّة (الورقية)
Engineered nerve constructs	بُنَى عصبية مهندسة
Supramolecular structures	بُنَى فوق جزيئية
Microstructures	بُنَى مايكروية
Hierarchical porous structures	بُنَى مسامية تَرَأْتِيَّة أو هرمية
Hybrid constructs	بُنَى هجينة
Structure	بنية
Protein structure	بنية البروتين
3D structure	بنية ثلاثية الأبعاد

Molecular structure	بنية جزيئية
Cellular and molecular structure	بنية خلوية و جزيئية
Core - shell structure	بنية لبية - قشرية
Highly porous structure	بنية مسامية عالية جداً
Aligned pore structure	بنية مسامية مترافقة
Polarized bilayered structure	بنية مُستقطبة ثنائية الطبقات
Potassium	بوتاسيوم
Poly(L-lactic acid)	بولي (حمض إل-لاكتيك)
Poly(amino acids)	بولي (الأحماض الأمينية)
Poly(amido-amine) (PAA)	بولي (أميدو - أمين)
Poly(amino - ester)	بولي (أمينو إستر)
Poly(anhydride-co-imide)	بولي (أنهيدريد-كو-إيميد)
Poly(ortho esters) (POEs)	بولي (أورثو إسترات)
Poly(ether-ether-ketone) (PEEK)	بولي (إيثر-إيثر-كيتون)
Poly(α -hydroxy esters)	بولي (إسترات ألفا-هيدروكسي)
Poly(β -amino esters)	بولي (بيتا-أمينو إسترات)
Poly(pyrrole) (Ppy)	بولي (بيروول)
Poly(pyrrolidone)	بولي (بيروليدون)
Poly(di-methylsiloxane) (PDMS)	بولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل)
Poly(glycolic acid) (PGA)	بولي (حمض الغليكوليك)
Poly(α -hydroxy acid)	بولي (حمض ألفا-هيدروكسي)
Poly(lactic acid) (PLA)	بولي (حمض اللاكتيك)
Poly(L-lactic-co-glycolic acid) (PLGA)	بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك)
Poly(D, L-lactic acid) (PDLLA)	بولي (حمض دي، إل-لاكتيك)
Poly(DL-lactic acid) (PDLA)	بولي (دي إل-حمض اللاكتيك)
Poly(D, L-lactide) (PLA)	بولي (دي، إل-لاكتيد)
Poly(D, L-lactide-coglycolide) (PLAGA)	بولي (دي، إل-لاكتيد-كو غليكولايد)
Poly(ethyleneglycol) - terephthalate - poly(but terephthalate) (PEGT / PBT)	بولي (غليكول الايثيلين) - تيريفثالات - بولي (لكن تيريفثالات)

Poly(ethylene glycol) (PEG)	بولي (غليكول الإيثيلين)
Acrylated poly(ethylene glycol)	بولي (غليكول الإيثيلين) المضاف إليه الأكريليت
Poly(ethylene terephthalate glycol)	بولي (غليكول تيريفثاللات الإيثيلين)
Poly(propylene fumarate) (PPF)	بولي (فومارات البروبيلين)
Poly(ethylene glycol fumarate)	بولي (فومارات غليكول الإيثيلين)
Poly(vinyl alcohol) (PVA)	بولي (فينيل الكحول)
Poly(vinyl chloride)	بولي (كلورايد الفينيل)
Poly(lactide-co-glycolide) (PLGA)	بولي (لاكتيد-كو-غليكولايد)
Poly(lactide-co-caprolactone) (PLCL)	بولي (لاكتيد-كو-كابرولاكتون)
Poly(methyl methacrylate) (PMMA)	بولي (ميثاكريلات الميثيل)
Poly(ϵ -caprolactone) (PCL)	بولي (ϵ -كابرولاكتون)
Polyetheretherketone	بولي إيثر إيثر كيتون
Poly ethylene terephthalate	بولي إيثيلين تيريفثاللات
Polyethylene terphthalate (PET)	بولي إيثيلين تيريفثاللات
Polyesterurethane	بولي إستر يوريثان
Aliphatic polyesters	بولي إسترات الأليفاتية
Polyacrylamide	بولي أكريل أميد
Poly organophosphazenes as biomaterial	بولي الفوسفازينات العضوية كمادة حيوية
Polyelectrolyte	بولي إلكتروليت (متعدد الكهارل)
Polyamidoamine (PAMAM)	بولي أميدو أمين
Polyanhydrides and poly(ortho esters)	بولي أنهيدريدات و بولي (الإسترات الطبيعية)
Polyaniline (PANi), conductive properties	بولي أنيلين، خصائص توصيلية
Ultrahigh molecular weight polyethylene (UHMWPE)	بولي إيثيلين ذي وزن جزيئي عالي جداً
Polyethylenimine (PEI)	بولي إيثيلين إيمين
Polyiminocarbonates	بولي إيمينو كربونات
Polytetrafluoroethylene (PTFE)	بولي تترافلورو إيثيلين
Polyacrylic acid	بولي حمض الأكرليك
Polymethacrylic acid (PMAA)	بولي حمض الميثاكرليك
Polyglycolide	بولي غليكولايد

Polyphosphazenes and composites	بولي فوسفازينات ومركبات
Polyfumarates	بولي فومارات
Polycaprolactone (PCL)	بولي كابرولاكتون
Polycarbonate urethane (PCU)	بولي كربونات اليوريثان
Poly lactide	بولي لاكتيد
Poly lactide coglycolide	بولي لاكتيد كو غليكوليد
Polyurethane (PU)	بولي يوريثين
Poly-L-lactide (PLL)	بولي-إل-لاكتيد
Poly-D, L-lactide (PLLA)	بولي-دي، إل-لاكتيد
Polyester	بوليستر
Polyesters, scaffolds	بوليستر، حاملات خلايا وأنسجة
Polystyrene	بوليسترين
Poly(L-lysine) polymer	بوليمر البولي (إل-ليزين)
Liquid polymer	بوليمر سائل
Liquid photopolymer	بوليمر ضوئي سائل
Photocurable polymer	بوليمر قابل للتصلب بواسطة الضوء
As copolymer	بوليمر مشترك كما هو
Polymers	بوليمرات
Proton - sponge polymers	بوليمرات إسفنجية بروتونية
Nanofiber polymers	بوليمرات ألياف النانو
Synthetic polymers	بوليمرات تركيبية أو اصطناعية
Collagen biopolymers	بوليمرات حيوية كولاجينية
Natural polymers, tissue regeneration	بوليمرات طبيعية، تجديد الأنسجة
Biodegradable polymers	بوليمرات قابلة للتحلل الحيوي
Cationic polymers	بوليمرات كاثيونية
Polycationic polymers	بوليمرات متعددة الكاثيونات
Hydrophilic polymers	بوليمرات محبة للماء
Co - polymers	بوليمرات مشتركة
Amorphous fluoropolymer	بوليمير تالفّي غير متبلور

Neurobiology	بيولوجيا الأعصاب
Stem cell biology	بيولوجيا الخلايا الجذعية
Computational biology	بيولوجيا حسابية
Biomimetic environments	بيئات مُحاكية حيويًا
Vacuum environment	بيئة خَلَايَية
Microenvironment	بيئة مايكروية
Cellular microenvironment	بيئة مايكروية خلوية
Nanoenvironment	بيئة نانوية

ن

Impact	تأثير
Oligopeptide surface concentration effects	تأثيرات التركيز السطحي لقليل الببتيد
Corrosion	تآكل
Surface erosion	تآكل سطحي
Tantalum	تانتالوم
Subcellular trafficking	تبادل ما دون الخلوي
Anisotropy	تباين الخواص المتأثر بالاتجاه
Pore anisotropy	تباين المسام
Endothelialization	تَبَطُّن (اندمال البطانة)
Uniform dispersion	تبعثر متجانس
Phagocytose	تَبْلَعِم
Crystallinity	تبلور
Cell signaling cascades	تتاليات نقل إشارات الخلايا
Peptide immobilization	تثبيت الببتيد
Immobilizing peptides	تثبيت الببتيدات
Fracture fixation	تثبيت الكسر
Physical immobilization	تثبيت فيزيائي
Covalent chemical immobilization	تثبيت كيميائي تساهمي
Inhibition	تثبيط
Nanoindentation	تثليم نانوي

Electrostatic attractions	تجاذبات كهروستاتيكية
Prochymal clinical trials	تجارب سريرية باستخدام البروشيمال لعلاج داء الطُعم حيالَ الثَّويِّ الحاد وداء كرون
Homogenization	تجانس
Nerve regeneration	تجديد الأعصاب
Tissue regeneration	تجديد الأنسجة
Neuronal tissue regeneration	تجديد الأنسجة العَصَبِيَّة
Bone tissue regeneration	تجديد الأنسجة العظمية
Skin regeneration	تجديد الجلد
Optic nerve regeneration	تجديد العصب البصري
Bone regeneration	تجديد العظم
Directed cell and tissue regeneration	تجديد موجَّه للخلايا والأنسجة
Braiding	تجديل (تصفير)
Dehydration	تَجْفَاف (ضياغ السوائل والشوارد)
Lyophilization	تَجْفِيد (تَجْفِيف بالتَّجْمِيد)
Freeze - drying	تَجْفِيد (تَجْفِيف بالتجميد)
Vacuum drying	تجفيف بالتخلية أو السحب
Blood clotting	تجلط أو تخثر الدم
Assembly	تجميع
3D bioassembly	تجميع حيوي ثلاثي الأبعاد
Self - assembly	تجميع ذاتي
Supramolecular self - assembly	تجميع ذاتي فوق جزيئي
Self - assembling peptides	تجميع ذاتي للبتيدات
Mechanotransduction	تَحَاسُّ (تحسس) ميكانيكي (ميكانيكا التبادل)
Subcutaneous	تحت الجلد
Small intestine submucosa (SIS)	تحت مُخاطِيَّةِ المَعَى الدَّقِيق (الأمعاء الدقيقة)
Functionality	تحديد وظيفي
Biological functionality	تحديد أو تخصيص وظيفي بيولوجي
Pores characteristics	تحديد خصائص المسامات

Functionalizing	تحديد وظيفي
Biofunctionality	تحديد وظيفي حيوي
Target cell specificity	تحديدية (نوعية) الخلية المستهدفة
Integrin specificity	تحديدية إنتغرينية
Directed motility	تحرك موجّه
Electrical stimulation	تحفيز كهربائي
Controlled induction of tissue formation	تحفيز متحكّم به لتشكيل الأنسجة
Drug target validation	تحقق من صحة الهدف الدوائي
Spatial control	تحكم حيزيّ أو مكاني
Temporal control	تحكم زمنيّ
Scaffold degradation	تحلل حاملة الخلايا والأنسجة
Biodegradation	تحلل حيوي
Autocatalytic degradation	تحلل ذاتي التحفيز
Finite element analysis	تحليل العناصر المحدودة
Pathway analysis	تحليل المسار
Dynamic mechanical analysis	تحليل ميكانيكي ديناميكي
Acidification	تحميض
Diastolic loading	تحميل انبساطي
Cyclic loading	تحميل دوري
Small - diameter bypass	تحويل مجرى الأوعية الدموية صغيرة القطر
Blood coagulation	تخثر الدم
Thrombosis	تخثر أو تجلط الدم
Detoxification	تخلص من السموم
Tissue morphogenesis	تخلّق أو تشكّل الأنسجة
Mammary gland morphogenesis	تخلّق أو تكوّن غُدّة الثدي
Posttranscriptional gene silencing	تخميد جيني بعد النسخ
RNA interference (RNAi)	تداخل الحمض النووي الريبي
Spectral overlap	تداخل أو تراكب طيفي
Spatial gradient	تدرج مكاني

Gradients	تدرجات
Stress shielding	تدريع الإجهاد
Vascular stenting	تدعيم وعائي
Convective flow	تدفق الحمل
Pulsatile blood flow	تدفق الدم النابض
Laminar flow	تدفق صفائحي
Reciprocal flow	تدفق مُتبادل
Cell reciprocal flows	تدفقات مُتبادلة للخلية
Pulsatile flows	تدفقات نابضة
Age - related tissue deterioration	تدهور الأنسجة المرتبط بالعمر
Structural deterioration	تدهور بنيوي
Interconnectivity	ترابط بيني
Pore interconnectivity	ترابط بيني مسامي
Trabeculae	ترايبق
Micro - alignment	تراسف أو محاذاة مايكروية
Accumulation	تراكم
Deposition	ترسيب
Vapor deposition	ترسيب البخار
Shadow deposition	ترسيب الظل
Cell spraying deposition	ترسيب بإرذاذ الخلايا
Ion beam deposition	ترسيب باستخدام الحزمة الأيونية
Extrusion deposition	ترسيب بالقذف
Precision extrusion deposition (PED)	ترسيب بالقذف الدقيق
Plasma spray deposition	ترسيب برش البلازما
Microsyringe deposition	ترسيب بمحقنة مايكروية
Robotic deposition	ترسيب روبوتي (باستخدام جهاز روبوت آلي)
Layer - by - layer deposition	ترسيب طبقة تلو الطبقة
Film deposition	ترسيب فيلم (طبقة رقيقة)
Initiated chemical vapor deposition (iCVD)	ترسيب مبدوء للأبخرة الكيميائية

Early bone deposition	ترسيب مُبكر للعظم
Pressure assisted microsyringe - based deposition (PAM)	ترسيب ميني على محقنة مايكروية تعمل بالضغط
Mineral deposition	ترسيب معدني
Filtration	ترشيح
FIB milling	ترقيق باستخدام حزمة أيونية مركزة
Synthesis	تركيب
Structural composition	تركيب بنيوي
Chemistry	تركيب كيميائي
Surface chemistry	تركيب كيميائي سطحي
Carbodiimide chemistry	تركيب كيميائي من ثنائي إيميد الكربون
Concentration, solution viscosity	تركيز، لزوجة المحلول
Lubricating	تزييق
Glycine - aspartic acid sequence	تسلسل حمض غليسين - أسبارتيك
Amino acid sequences	تسلسلات الأحماض الأمينية
Entanglements	تشابكات
Crazing	تشقق
Formation	تشكيل
Fused deposition modeling (FDM)	تشكيل الترسيب المصهور
Thrombus formation	تشكيل الخثرة
Cardiomyocytes formation	تشكيل الخلايا العضلية القلبية
Bead - free nanofiber formation	تشكيل ألياف نانو خالية من الخرزات
Neotissue formation	تشكيل أنسجة جديدة
Collagen patterning	تشكيل أو زخرفة الكولاجين
Helix conformation	تشكيل حلزوني
Anisotropic mesh formation	تشكيل شبكة متباينة الخواص
Deformation	تشوّه (تغير الشكل)
Fiber deformation and failure mechanisms	تشوّه (تغيير شكل) الليف وآليات الفشل
Irreversible deformation	تشوّه لا عكوس
Plastic deformation	تشوّه لدن

Renal clearance	تصفية كلوية
Lamination	تصفيح
Solidification	تصلب
Arteriosclerosis and heart disease	تصلب الشرايين وأمراض القلب
Severe atherosclerosis	تصلب عصيدي حاد
Selective Laser Sintering (SLS)	تصليب أو تلييد انتقائي بواسطة الليزر
Gravity and microsphere sintering	تصليب أو تلييد بالجاذبية والجسيمات المركزية
Hierarchical design	تصميم هرمي
Fabrication	تصنيع
Solid free - form fabrication (SFF)	تصنيع الشكل الحر الصلب
Rapid prototyping / solid freeform fabrication	تصنيع النماذج الأولية السريعة / الشكل الحر الصلب
Scaffold fabrication	تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة
Encapsulated drug fabrication	تصنيع دواء مُمَحْفَظ (مُغْلَف)
Reproducible fabrication	تصنيع قابل لإعادة الإنتاج
Tissue - engineered fabrication	تصنيع نسيج مُهندَس
LSCM imaging and orientation analysis	تصوير باستخدام الفحص المجهرى المباتر الماسح بواسطة الليزر وتحليل الاتجاه
Magnetic resonance imaging (MRI)	تصوير بالرنين المغناطيسي
Scanning electron microscopy (SEM)	تصوير بالمجهر الالكتروني الماسح
Bioimaging	تصوير حيوي
Dynamic imaging	تصوير ديناميكي
Fluorescence imaging	تصوير متألّق
Computed tomography (CT)	تصوير مقطعيّ محوَسَب
MicroCT	تصوير مقطعيّ محوَسَب مايكروني
In situ imaging	تصوير موضعي
Wound dressing	تضميد الجراح
Clinical applications	تطبيقات سريرية
Biomedical applications	تطبيقات طبية حيوية
Biochemical applications	تطبيقات كيميائية حيوية

Applications and drawbacks	تطبيقات وعيوب
Peripheral nerve grafting	تطعيم الأعصاب الطرفية
Autografting	تطعيم ذاتي
Photografting	تطعيم ضوئي
Integrin expressions	تعايير إنتغرينية
Fatigue	تعب أو إجهاد
Gene expression	تعبير جيني
Gene expression and cell morphology	تعبير جيني ومورفولوجيا أو شكل الخلية
Modification	تعديل
Surface modification	تعديل السطح
Cellular transfection	تعديل أو نقل خلوي
Transfection	تعديل جيني (إدخال الأحماض النووية في الخلايا)
Reverse transfection	تعديل جيني عكسي
Chemical transfection	تعديل جيني كيميائي
Chemical - induced topological modification	تعديل طوبولوجي محرض كيميائياً
Chemical modification	تعديل كيميائي
Tortuosity	تعرج
Biological recognition	تعرف بيولوجي
Fiber reinforcements	تعزيزات الألياف
Innervation	تعصيب
Inactivation	تعطيل
Clustering	تَعْتَقْد (تجمع)
Prostheses	تعويضات أو بدلات
Blood supply	تغذية دموية
Encapsulate	تغليف أو تمحفظ
Ti anodization	تغليف بطبقة خارجية من التيتانيوم (إنتاج فيلم أكسيد) عن طريق التحليل الكهربائي للمصعد
Microencapsulation	تغليف مايكروبي
Integrin interaction	تفاعل الإنتغرين

ECM proteins interaction	تفاعل بروتينات المصفوفة خارج الخلية
Interfiber interaction	تفاعل بين الألياف
Synergistic interaction	تفاعل تآزريّ
High affinity binding interaction	تفاعل ربط عالي الألفة (الانجذاب)
Gas - phase silanization reaction	تفاعل سيلنة طوري غازي لتغطية السطح بالتجميع الذاتي لجزيئات عضوية وظيفية من ألكوكسي سيلين (جزيئات ألكيل أو كسجين سيليكون - هيدروجن)
Columbic interaction	تفاعل كولومي
Photoinitiation reactions	تفاعلات الإبتداء أو التحريض الضوئي
Acylation reactions	تفاعلات الأسيلة
Inflammatory reactions	تفاعلات التهابية
Quarternization reactions	تفاعلات الرّبع أو التربيع
Silanization reactions	تفاعلات السيلنة
Chlorination reactions	تفاعلات الكلورة
Extracellular matrix interactions	تفاعلات المصفوفة خارج الخلية
Ionic interactions	تفاعلات أيونية
Intermolecular ionic interactions	تفاعلات أيونية بين الجزيئات
Intermolecular interactions	تفاعلات بين جزيئية
Covalent interactions	تفاعلات تساهمية
Nanofibrous scaffold - cell interactions	تفاعلات حاملة خلايا وأنسجة ليفية نانوية - خلايا
Heterotypic cell - cell interactions	تفاعلات خلايا - خلايا غيرية النمط
Noncovalent interactions	تفاعلات غير تساهمية
Electrostatic interactions	تفاعلات كهروستاتيكية
Light - mediated chemical reactions	تفاعلات كيميائية بوساطة الضوء
Multivalent chemical interactions	تفاعلات كيميائية متعددة التكافؤات
Pathogenic interactions	تفاعلات مُمرضة
Chemical reactivity	تفاعلية كيميائية
Branching	تفرع
Corona or plasma discharge	تفريغ الهالة أو البلازما

Functional groups activation	تفعيل (تنشيط) مجموعات وظيفية
Bond dissociation	تفكك الروابط
Aseptic loosening	تفكك أو تخلخل عقيم (لا إيتاني)
Spinodal decomposition	تفكك طوري
Synchronized contraction	تقلص متزامن
Mimic	تقليد أو محاكاة
Scaffold microfabrication techniques	تقنيات التصنيع المايكروني لحاملات الخلايا والأنسجة
Microfabrication techniques, neural tissue engineering	تقنيات التصنيع المايكروني، هندسة الأنسجة العصبية
Nanolithographic techniques	تقنيات الحفر النانوي
Electrospinning techniques	تقنيات الغزل الكهربائي
Direct - write techniques	تقنيات الكتابة المباشرة
Nanotechnologies, neural tissue engineering	تقنيات النانو، هندسة الأنسجة العصبية
Rapid prototyping (RP) techniques	تقنيات النماذج الأولية السريعة
Nanofiber technologies	تقنيات ألياف النانو
Accelerated particle beam techniques	تقنيات حزمة الجسيمات المسرعة
Wafer - scale techniques	تقنيات مستوى الرقاقة
Embossing master techniques	تقنيات نقش الطبقة الرئيسية
Spraying technique	تقنية الإبرذاذ أو الرش
Sequential emulsion technique	تقنية المستحلب أو المزيج التتابعية
Nanotechnology	تقنية النانو
Solvent casting and particulate leaching (SCPL) technique	تقنية صب (قولبة) المذيب وإثفاذ أو استئصال (ترشيح) الجسيمات
Proliferation	تكاثر
Agglomeration	تكتل
Agglomerates	تكتلات
Aggregation	تكدس
Aggregates	تكدسات
Calcification	تكلس
Thrombus	تكوّن الخثرة

Hematopoiesis	تكوُّن الدم
Embryogenesis	تكوُّن جنيني
Callus formation	تكوين الثَّفن أو الدُّشْبُد
Plasticity	تَكْيُفِيَّة
Nanomanipulation	تلاعب أو معالجة نانوية
Noncontact manipulation of cells	تلاعب بالخلايا بدون اتصال
Mechanical manipulation	تلاعب ميكانيكي
Fibrosis	تَلْيِف
Differentiation	تمايز
Transdifferentiation	تمايز عابر
Neuronal differentiation	تمايز عَصَبُونِيّ
Osteogenic differentiation, alkaline phosphatase (ALP) staining	تمايز عظمي المنشأ، تلوين بإنزيم الفُسْفَاز القلوي
Osteogenic differentiation	تمايز مكوّن للعظم
Cell differentiation and migration	تمايز وهجرة الخلايا
Drug encapsulation	تَمَحْفُظ (تغليف) الدواء
Photoencapsulation	تَمَحْفُظ (تغليف) ضوئي
Fibrous encapsulation	تمحفظ أو تغليف ليفي
Viscous encapsulation	تمحفظ لزج
Protein denaturation	تَمْسُخ البروتين
ECM mineralization	تَمْعَدن المصفوفة خارج الخلية
Biom mineralization	تَمْعَدن حيوي
Hydration	تَمْيِه
Labeling	تَمْيِيز (وسم)
Charge repulsion	تنافر الشحنة
Inter jet Columbic repulsion	تنافر كولومي داخل النفث
Centrifugation	تَنْبِيد أو تنفيل (طرد مركزي)
Transduction	تَنْبِيع أو تبادل
Astroglial scarring	تَنْدُب دَبْقِي نَجْمِيّ الخلايا
Flocculation	تَنْدُف (تلبد)

Viral self - replication	تَنسُخُ أو تكاثر فيروسي ذاتي
Photoactivation	تنشيط ضوئي
Cytoskeletal organization	تنظيم هيكل خلوي
Electroosmotic mobility	تنقل أو تحرك تناضحيّ كهربائي
Nucleation	تَنوِّي
Acid - base balance	توازن حمضي - قاعدي
Biocompatibility	توافقية حيوية
Cytocompatibility	توافقية خلوية
Osteocompatibility	توافقية عظمية
Surface tension	تَوَثُّر سطحي
Cell - tensioning	توتير الخلية
Axonal guidance	توجيه مَحَواريّ
Pore distribution	توزيع المسام
Uniform cellular distribution	توزيع خلوي متجانس
Heterogeneous distribution	توزيع غير متجانس
Inhomogeneous distribution	توزيع غير متجانس
Spatial distribution	توزيع مكاني
Angular distributions	توزيعات زاوية
Protein delivery	توصيل البروتين
Nucleic acid delivery	توصيل الحمض النووي
Drug delivery	توصيل الدواء
Controlled drug - delivery systems	توصيل الدواء المتحكّم به
siRNA delivery	توصيل الرّنا (الْحَمَاضُ النَّوَوِيّ الرَّبِّي) قصير التداخل
Small molecule delivery	توصيل جُزْءٍ صغير
Therapeutic gene delivery	توصيل جيني علاجي
Polymer - based gene delivery	توصيل جيني مبني على البوليمر
Gene delivery and barriers	توصيل جيني وحواجز
Growth factor delivery	توصيل عامل النمو
Antisense oligonucleotides delivery	توصيل قليلات النوكليوتيدات المضادة للاتجاه

Genetic material delivery	توصيل مواد جينية
Vascularization	توعي
Neovascularization	توعي حديث (تكوّن أوعية دموية جديدة)
Angiogenesis	تولد الأوعية الدموية
Nerve generation	توليد العصب
Titania and alumina, AFM images	تيتانيا وألومينا (أدوية)، صور مجهر القوة الذرية
Tetrahydrofuran	تيتراهيدروفوران (رباعي هيدرو الفوران)

ث

Dielectric constant	ثابت العزل الكهربائي
Titanium dioxide	ثاني أكسيد التيتانيوم
Silicon dioxide	ثاني أكسيد السيليكون
Structural stability	ثبات بنوي
Blind holes	ثقوب مغلقة النهاية
Drilled - through holes	ثقوب مفتوحة النهاية
Tricalcium phosphate (TCP), bone tissue engineering	ثلاثي فوسفات الكالسيوم، هندسة الأنسجة العظمية
Disaccharide	ثنائي السكاريد
Biphasic	ثنائي الطور
Bimodal	ثنائي النسق

ج

Chemoattractants	جاذبات كيميائية
Microgravity	جاذبية مايكروية
Ventral cell wall	جدار الخلية البطني
Neointimal wall	جدار باطنة الشريان الحديث
Free oxygen radicals	جذور الأكسجين الحرة
Coronary bypass surgeries	جراحات تحويل الشريان التاجي
Arthroscopic surgery	جراحة بمنظار المفصل
Reconstructive surgery	جراحة ترميمية
Orthopaedic surgery	جراحة تقويم العظام
Chronic wounds	جروح مزمنة

Microfluidic	جريان مايكروفي
Pressure - driven microfluidics	جريانات مايكروفيّة مُوجَّهة بواسطة الضغط
Targeting moiety	جزء أو عنصر مستهدف
Intramembranous part	جزء داخل غشائي
Tracer molecule	جزئيء تتبع
Macromolecule	جزئيء ماكروي
Silver nanoparticles	جزيئات الفضة النانوية
Peptide amphiphile molecules (PA)	جزيئات ببتيدية مزدوجة الألفة
Biological molecules	جزيئات بيولوجية
Sensitive molecules	جزيئات حساسة
Biomolecules	جزيئات حيوية
Slack molecules	جزيئات رخوة
Small molecules	جزيئات صغيرة
Bioactive molecules	جزيئات فعّالة حيويًا
Branched molecules	جزيئات متفرّعة
Amphiphilic molecules	جزيئات مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُّمر
Apoptotic molecules	جزيئات مميتة للخلايا
Signaling molecules	جزيئات نقل إشارات
3D object	جسم أو كائن ثلاثي الأبعاد
Alumoxane nanoparticles	جسيمات الألوموكسين النانوية
Polymer microparticles	جسيمات بوليمرية مايكروية
Microparticles	جسيمات مايكروية
Inorganic nanoparticles	جسيمات نانوية غير عضوية
Round nanoparticles	جسيمات نانوية مستديرة
Magnetic nanoparticles	جسيمات نانوية مغناطيسية
Condensed nanoparticles	جسيمات نانوية مُكثّفة
Nanoparticles and drugs release	جسيمات نانوية وإطلاق الدواء
Nanoparticles, neuroprotection	جسيمات نانوية، حماية عصبية
Lymphohematopoietic system	جهاز لمفاويّة مكوّنة للدم

Vasculature	جَمَلَة وعائية
Nervous system	جهاز عصبي
Golgi apparatus	جهاز غُولْجي
Vascular system	جهاز وعائي
Threshold voltage	جهد العتبة
Near - neutral zeta potential	جهد زيتا شبه المحايد
Accelerating voltage	جهد مسرّع
Guanine	جوانين
Lacunae	جَوَّبات (فجوات صغيرة)
Howship's lacunae	جَوَّبات هاوشيب (جَوَّبات امْتِصاصِيَّة)
Lacunae, cortical bone	جَوَّبات، عَظْم قِشْرِيّ
Gelatin	جيلاتين
Target gene	جين مستهدف
Cell's genome	جينوم الخلية
Viral genome	جينوم فيروسي
Functional genomics	جينومات وظيفية
Liver sinusoids	جيوب كبدية

م

Blood - brain barrier (BBB)	حاجز الدم - الدماغ
Cell carrier	حامل الخلايا
BMP carriers (BMP-2 and BMP-7)	حاملات البروتينات المكونة للعظام
Peptide biological scaffolds	حاملات خلايا ببتيدية بيولوجية
Microfluidic scaffolds	حاملات خلايا ذات جريان مايكرو
Elastin electrospun scaffolds	حاملات خلايا مغزولة كهربائياً من الإيلاستين
Scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة
Designer self - assembling peptide scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ببتيدية مصممة ذاتية التجميع
Polymeric scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة بوليمرية
Nanofiber scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية

Peptide nanofiber scaffolds, designer self - assembling	حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية ببتيدية، مصممة بالتجميع الذاتي
Drug encapsulated nanofiber scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية مُغلّفة بالدواء
Macroporous scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ذات مسامية ماكروية
Self - assembling scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ذاتية التجميع
Free - floating scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة عائمة بشكل حر
Bio - reabsorbable scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة قابلة لإعادة الامتصاص الحيوي
Biodegradable scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة قابلة للتحلل الحيوي
Acellular scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة لاخلوية
Nanofibrous scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية
PCL nanofibrous scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية مصنوعة من البولي كابرولاكتون
Osteocompatible scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة متوافقة عظمياً
Knitted scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة محبوكة
Electrospun scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة مغزولة كهربائياً
Collagen and elastin scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة من الكولاجين والإيلاستين
Polylactic - polyglycolic (PLG) acid scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة من حمض البولي لاكتيك بولي غليكوليك
Nanoscaffolds with tissue specific patterns	حاملات خلايا وأنسجة نانوية مع أنماط (نماذج) محددة للأنسجة
Mechano - active scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة نشطة ميكانيكياً
3D hydrogel scaffold	حاملة خلايا ثلاثية الأبعاد مصنوعة من الهلام المائي
Artificial scaffold	حاملة خلايا وأنسجة اصطناعية
Bilayered tubular scaffold	حاملة خلايا وأنسجة أنبوبية مؤلفة من طبقتين
Peptide scaffold, biomimetic and tissue engineering	حاملة خلايا وأنسجة ببتيدية، مُحاكية حيويًا وهندسة الأنسجة
Biomimetic scaffold	حاملة خلايا وأنسجة مُحاكية حيويًا
Polyurethane nanofibrous scaffold	حاملة خلايا وأنسجة من ألياف البولي يوريثين النانوية
Hydrophilicity	حب للماء

Umbilical cord	حبل سُريّ
Spinal cord	حبل شوكي
Spatial confinement	حجز مكاني
Pore size	حجم المسام
Fenestration size	حجم النُوفَذَة
Perfused chambers	حُجَيرات التدفق المتواصل
Diffraction limit	حد الانعراج
Micromotion	حركة مايكروية دقيقة
Microfilamentous	حزم خَيْطِيَّة مايكروية
Shear sensitive	حساس للقص
Biosensors	حساسات حيوية
Field - deployable biosensors	حساسات حيوية قابلة للانتشار الحقل
Wear debris	حُطام ناتج عن الاهتراء
Reactive ion etching (RIE)	حفر أيوني تفاعلي
X - Ray lithography	حفر باستخدام الأشعة السينية
Electron beam lithography (EBL)	حفر باستخدام الحزمة الإلكترونية
Focused ion beam lithography (FIBL)	حفر باستخدام الحزمة الأيونية المركزة
Capillary force lithography (CFL)	حفر باستخدام القوة الشعريّة
Scanning probe lithography and self - assembling monolayers	حفر باستخدام مسبار المسح وطبقات أحادية ذاتية التجميع
Contact lithography	حفر بالاتصال
Plasmon lithography	حفر بالبلازمون
Dry etching	حفر جاف
Wet etching	حفر رطب
Extreme ultraviolet (EUV) lithography	حفر شديد بالأشعة فوق البنفسجية
Capillary lithography	حفر شعريّ
Solvent - induced capillary lithography	حفر شعريّ مُحَرَّض بالمذيب
Colloidal lithography	حفر غروانيّ
Block copolymer lithography	حفر كتلة بوليمر مشترك
Soft lithography	حفر لينّ

Stereolithography (STL)	حفر مُجَسَّم (ثلاثي الأبعاد)
Stereolithography and selective laser sintering	حفر مُجَسَّم (ثلاثي الأبعاد) وتصليب أو تلييد انتقائي بواسطة الليزر
Bottom - up lithography for tissue engineering	حفر من أسفل إلى أعلى من أجل هندسة الأنسجة
Top - down lithography, for tissue engineering	حفر من أعلى إلى أسفل، من أجل هندسة الأنسجة
Dip - pen nanolithography (DPN)	حفر نانوي باستخدام رأس أو قلم منغمس أو مُعْطَس
Scanning probe nanolithography (SPNL)	حفر نانوي باستخدام مسبار المسح
External magnet field	حقل مغناطيس خارجي
Infusion of isolated cells	حقن الخلايا المعزولة
Spiral loops	حلقات حلزونية
Hydrolysis	حَلْمَة أو تحلل مائي
Neuroprotection	حماية عصبية
Acetic acid	حمض الأسيتيك (حمض الخليك)
Poly - amino acid	حمض البولي أمينو
Aqueous citric acid	حمض الستريك المائي
Fumaric acid	حمض الفوماريك
Lactic acid	حمض اللاكتيك
Hyaluronic acid	حمض الهيالورونيك
Uronic acid	حمض اليورونيك
Tricarboxylic acid (TCA)	حمض ثلاثي الكربوكسيل
DNA	حمض ربي نووي متزوع الأوكسجين
RNA	حَمَضُ نوَوِي رِبِي
Acidic	حمضي
Epitopes	حَوَاتِم (في المستضد)
Antigenic epitopes	حواتم مستضدية أو مولدة للأضداد
Extracellular barriers	حواجز خارج الخلية
Microcarriers	حوامل مايكروية
Tissue culture flasks	حجالات (قوارير) زرع الأنسجة
Vesicles	حُويَصِلَات

نم

Mammary malignancy	خَبَاثَةُ الثدي
Elastomeric stamp	ختم أو طبعة مرنة
Blood clot	خثرة دموية
Beads	حُرُزَات
Spherical - shaped beads	حُرُزَات كروية الشكل
Spindle - shaped beads	حُرُزَات مغزلية الشكل
Roughness	خشونة
Micron rough	خشونة في مستوى المايكرون
Characterization	خصائص
Surface properties	خصائص السطح
Elastic properties	خصائص المرونة
Architectural properties	خصائص بنيوية هندسية
Stable fluorescent properties	خصائص تألُّفِيَّة مستقرة
Scaffold properties	خصائص حاملة الخلايا والأنسجة
Physical properties	خصائص فيزيائية
Biophysical properties	خصائص فيزيائية حيوية
Physicochemical properties	خصائص فيزيائية كيميائية
Electrophysiological properties	خصائص فيزيولوجية كهربائية
Piezoelectric properties	خصائص كهربائية ضغطية
Macroscopic properties	خصائص ماكرو سكوبية (عيانية كبيرة)
Antifouling properties	خصائص مانعة للتلوث
Polymer solution properties	خصائص محلول البوليمر
Antibacterial properties	خصائص مقاومة للبكتيريا
Mechanical properties	خصائص ميكانيكية
Bulk mechanical properties	خصائص ميكانيكية كتلية
Anisotropic mechanical properties	خصائص ميكانيكية متباينة
Properties and types	خصائص وأنماط
Properties and structure	خصائص وبنية

Steps and cell types	خطوات وأنواع الخلايا
Crossbars	خطوط مستعرضة
Xenogenic	خلايا أجنبية
Exogenous differentiated myoblast	خلايا أرومة عضلية متميزة خارجية المنشأ
Myoblasts	خلايا الأرومة العضلية
Human dermal fibroblasts	خلايا الأرومة الليفية الجلدية البشرية
Myofibroblasts	خلايا الأرومة الليفية العضلية
Human ligament fibroblasts (HLFs)	خلايا الأرومة الليفية للرباط البشري
Neuroblastoma cells	خلايا الأورام الأرومية العصبية
Mammalian cells	خلايا الثدييات
Foreign body giant cells	خلايا الجسم الغريب العملاقة
Human umbilical endothelial cells	خلايا الحبل السري البطانية البشرية
Progenitor cells	خلايا السلف (الخلايا الأصل)
Pluripotent mesenchymal progenitor cells	خلايا السلف المتوسّطة متعددة القدرات
Bladder smooth muscle cells (SMCs)	خلايا المثانة العضلية الملساء
Materials cells and growth factors	خلايا المواد وعوامل النمو
Tenocytes	خلايا الوتر
Preosteoblasts	خلايا أولية بانية للعظم
Preosteoclasts	خلايا أولية ناقضة للعظم
Osteoblasts	خلايا بانية للعظم
Primary human vascular endothelial cells (HUVEC)	خلايا بطانية وعائية بشرية أولية
Human umbilical vascular endothelial cells (HUVECs)	خلايا بطانية وعائية سريّة بشرية
Phagocytic cells	خلايا بلعمية
PC12 cells	خلايا بي سي ١٢
Stem cells	خلايا جذعية
Adult stem cells	خلايا جذعية بالغة
Embryonic stem cells	خلايا جذعية جنينية
Neural stem cells	خلايا جذعية عصبية
hMSCs	خلايا جذعية متوسطة بشرية

Human mesenchymal stem cells (hMSCs), PCL nanofibrous scaffolds	خلايا جذعية مُتوسِّطية بشرية، حاملات خلايا وأنسجة من ألياف البولي كابرولاكتون النانوية
Marrow - derived mesenchymal stem cells (MSCs)	خلايا جذعية متوسطة مستمدة من النقي
Epidermal - derived stem cells	خلايا جذعية مشتقة من البشرة
Adipose - derived stem cells	خلايا جذعية مشتقة من الشحم
Muscle - derived stem cells	خلايا جذعية مشتقة من العضلات
Bone marrow - derived stem cells (MSCs)	خلايا جذعية مشتقة من نقي العظم
Hemopoietic stem cells	خلايا جذعية مُكوِّنة للدم
Hematopoietic stem cells	خلايا جذعية مُكوِّنة للدم
Umbilical cord blood stem cells	خلايا جذعية من دم الحبل السريّ
Cord blood stem cells	خلايا جذعية من دم الحبل السريّ
Embryonic germ cells	خلايا جنسية جنينية
Human fetal osteoblasts (hFOB)	خلايا جنينية بشرية بانية للعظم
Allogeneic	خلايا خيفية
Glial cells	خلايا دبقية
Oligodendrocytes	خلايا دبقية قليلة التغصن
Activated microglia	خلايا دبقية مُنشّطة
Autologous cells	خلايا ذاتية المنشأ
Adipocytes	خلايا شحمية
Schwann cells, biosynthetic fibers	خلايا شُفان (خلايا مغمدة للألياف العصبية)
Nonmalignant human mammary epithelial cells, gene expression analysis	خلايا ظهارية ثديّة بشرية حميدة (غير خبيثة)، تحليل التعبير الجيني
Murine mammary epithelial cells (NMG)	خلايا ظهارية ثديّة فأرية
Myoepithelial cells	خلايا ظهارية عضلية
Skeletal myocytes	خلايا عضلية هيكلية
Vascular smooth muscle cells (vSMC)	خلايا عضلية وعائية ملساء
Osteocytes	خلايا عظمية
Chondrocytes	خلايا غضروفية
Meniscal fibrochondrocytes	خلايا غضروفية ليفية هِلَالِيَّة

Unspecialized cells	خلايا غير متخصصة
Labile cells	خلايا غير مستقرة
Hepatocytes	خلايا كبدية
Kupffer cells	خلايا كُوبَر (خلايا وعائية كبدية)
Human epidermal keratinocytes	خلايا كيراتينية بشرية
Luminal epithelial cells	خلايا لمعية ظهارية
Bovine annulus fibrosus (BAF) cells	خلايا ليفية حلقيّة بقرية
Specialized cells	خلايا متخصصة
Migrating cells	خلايا متنقلة أو مهاجرة
Parenchymal cells	خلايا متنبية
Mesenchyme cells	خلايا متوسّطية
Stable cells	خلايا مستقرة
Sedentary cells	خلايا مستقرة غير متنقلة
Adipogenic cells	خلايا مكونة للشحم
Encapsulated cells	خلايا مُحَفَظَة (مُغَلَّفة)
Immune cells	خلايا مناعية
Myogenic cells	خلايا مولدة للعضل
Osteogenic cells	خلايا مولدة للعظم
Chondrogenic cells	خلايا مُولّدة للغضروف
Astrocytes	خلايا نجمية
Bone marrow stromal cells	خلايا نقيّ العظم السَدَوِيّة
Immortalized human brain astrocytoma	خلايا ورم نجمي دماغي بشري مُعمّرة
Polymer blends	خلائط البوليمرات
Random blends	خلائط عشوائية
Dysfunction	خلل وظيفي
Cellularity	خلَوِيّة
Neurofilament	خيوط عصبي
Precursor filaments	خيوط طليعة

د

Acute graft versus host disease (AGHD)	داء الطعم حيال الثوي الحاد
Crohn's disease	داء كرون (داء الورم الحبيبي الالتهابي الهضمي المزمن)
Intracellular	داخل الخلايا
Intraperitoneal (IP)	داخل الصفاق
Dacron, see Polyethylene terephthalate	داكرون، انظر بولي إيثيلين تيريفثالات
Endosome	دُخْلُول (جُسِيم داخلي)
Glass transition temperature	درجة حرارة التحول الزجاجي
Cardiac stents and valves	دعامات وصمامات قلبية
Stent	دِعَامَة (وَاقِيَة الطَّعْم)
Dextran	دِكْستْران
Neuronal and glial markers	دلالات أو واسمات عصبية ودِيقِيَّة
Peripheral blood	دم المحيطي
Lipids	دهون أو شحوم
Encapsulated drug	دواء مُمَحْفَظ (مُغْلَف)
Peripheral circulation	دوران محيطي
Subcritical	دون الحرج
Dystroglycan	ديستروغليكان
DegraPol, skeletal muscle tissue engineering	ديغرابول، هندسة أنسجة العضلات الهيكلية
Dexamethasone	ديكساميثازون
Dimer	دَيَمَر

ذ

Resorption peaks	ذِرْوَات ارتشافية
Dissolution	ذوبان
Solubility	ذوبانية

ر

Revision joint arthroplasty	رَأْب المفاصل التَّراجِعي
Thioester bond	رابط الثيو إِسْتَر

Disulfide bond	رابطُ ثنائي السلفيد
Chemical binder	رابط كيميائي
Polymer resin	راتنج بوليمري
Coaxial tip	رأس متمحور
Interfacial bond	رابط بيني
Anterior cruciate ligament (ACL)	رابط تصالبيّ أمامي
Chemoselective ligation	ربط انتقائي كيميائي
Ionic bonding	ربط أيوني
Neural interfacing	ربط بيني عصبي
Cross linking	ربط عرضيّ أو متشابك
Reversible crosslink	ربط متشابك قابل للعكس
Cross linking, thermomechanical performance	ربط متشابك، أداء ميكانيكي حراري
Hydrogen bonding	ربط هيدروجيني
Electrophoresis	رَحْلان كهربائي
Immune system response	رد فعل الجهاز المناعي
Allergic reactions	ردود فعل تحسسية
Electrospraying	رش كهربائي
Trauma	رُضوض
Foams	رغوات
Gas foaming and emulsion freeze drying	رغوة غازية وتَجْفيد (تجفيف بالتجميد) المستحلب
Immune rejection	رفض مناعي
Microchip	رقاقة مايكروية
2D substrata	رَكَائِز (طبقات سطحية) ثنائية الأبعاد
Mechanical resonance	رنين ميكانيكي
Hydrolyzable ester bonds	روابط الإستير القابلة للحلّمة
Covalent linkages	روابط تساهمية
Photocrosslinkable double bonds	روابط ثنائية قابلة للارتباط بواسطة الضوء
Heterobifunctional cross - linkers	روابط متشابكة غَيْرَوِيّة ثنائية الوظيفة
Homobifunctional linkers	روابط متماثلة (من نفس النوع) ثنائية الوظيفة

ذ

Fiber orientation angle	زاوية اتجاه الألياف
Cell orientation angle	زاوية اتجاه الخلايا
Photosensitive glass	زجاج حساس للضوء
Bioglass	زجاج حيوي
Bioactive glass	زجاج نشط حيويًا
Nanopatterning	زخرفة أو نقش نانوي
Micropattern	زخرفة مايكروية
Cell transplantation	زراعة الخلايا
Cardiomyocyte transplantation	زراعة الخلايا العضلية القلبية
Autologous chondrocytes transplantation (ACT)	زراعة الخلايا الغضروفية ذاتية المنشأ
Scaffold - based cell transplantation	زراعة خلايا مبنية على حاملة خلايا وأنسجة
Transplantation in vivo	زراعة في الجسم الحي
Co - culture	زراعة مشتركة
Bone marrow transplantation	زراعة نقي العظم
Extruded implants	زرعات مقذوفة
Irradiation time	زمن التشعيع
Annealing time	زمن التلدين
Spinning time	زمن الغزل

س

Simulated body fluid (SBF)	سائل محاكي للجسم
Metal alloys	سبائك معدنية
Urogenital	سبيل بولي تناسلي
Gastrointestinal tract	سبيل هضمي معدي معوي
Corticosteroids	ستيرويدات قشرية
Abrasion	سَحْج أو انسحال
Stroma	سَدَى
Tumor stroma	سَدَى الورم
Cancer	سرطان

Rotational speeds	سرعات تدويرية (دورانية)
Take - up velocity	سرعة السحب
Fiber take - up velocity	سرعة سحب الألياف
Cell surface	سطح الخلية
Basolateral surface	سطح القاعدة الجانبية
Implant - bone interface	سطح بيني فاصل بين الطعم - والعظم
Luminal surface	سطح لمعي
Hydrophilic surface	سطح محب للماء
Aqueous - organic interfaces	سطوح بينية مائية - عضوية
Polar and nonpolar surfaces	سطوح قطبية وغير قطبية
Hydrophobic surfaces	سطوح كارهة للماء
Biomimetic surface, coating	سطوح محاكية حيويًا، طبقة غلاف خارجي
Sulfonated surfaces	سطوح مُسلفنة
Plasma - treated surfaces	سطوح معالجة بالبلازما
Modified surfaces	سطوح مُعدّلة
Aminated surfaces	سطوح مؤمّنة
Amino sugar	سُكّر أميني
Calcium sulfate	سلفات (كبريتات) الكالسيوم
Heparin sulfate	سلفات (كبريتات) الهيبارين
Sulfatides	سلفاتيدات
Load - deformation behavior	سلوك التشوه المرتبط بالحمل
Selenium (Se)	سليينيوم
Axons in vivo / vitro, micro / nano - topographies	سمات طبوغرافية مايكروية / نانوية للمحاور العصبية داخل الجسم الحي / في المختبر
Toxicity	سُمّية
Direct contact toxicity	سُمّية بالاتصال المباشر
Cytotoxicity	سُمّية خلوية
Malnourishment	سوء التغذية
Pore - forming excipients	سبواغات تشكيل المسام

High viscosity fluids	سوائل أو موائع عالية اللزوجة
Cytoplasm	سيتوبلازم
Cytosine	سيتوزين
Cytokines	سيتوكينات
Inflammatory cytokines	سيتوكينات التهابية
Bioceramics	سيراميك حيوي
Calcium phosphate - based ceramics	سيراميك مبني على أساس فوسفات الكالسيوم
Nanoceramics	سيراميك نانوي
Cyclohexane	سيكلوهيكسان
Cellulose	سيليلوز
Syndecans	سينديكانات (بروتينات مفردة في نطاق عبر الغشاء)
Syndecans, heparan sulfate proteoglycans	سينديكانات، بروتيوغليكانات سلفات الهيبارين

ش

Microfluidic networks	شبكات الجريان المايكروي
Synthetic, resorbable, polymeric meshes	شبكات بوليمرية اصطناعية قابلة للامتصاص أو الارتشاف
Random and aligned meshes	شبكات عشوائية ومتراصة
Crosslinked networks	شبكات مترابطة
Biphasic polymer network	شبكة بوليمرية ثنائية الطور
Hydrated network	شبكة مُمِهَّة
Mature vascular network	شبكة وعائية ناضجة
Retina	شبكة العين
Semicrystalline	شبه بلوري
Proteolipids	شحوم بروتينية
Cyclical mechanical stretch	شد ميكانيكي دوروي
Intensity of irradiation	شدة التشعيع
Coronary	شرايين تاجية
Arterioles	شُرَيَّات
Laser beam	شعاع أو حزمة من الليزر
Chitin whiskers	شعيرات كيتين

Endocardium	شَغَاف
Tissue healing and regeneration	شفاء الأنسجة وتجديدها
Wound healing	شفاء أو التئام الجروح
Liposuction	شفط الشحوم
Pore shape	شكل المسام
Fibrillar morphology	شكل كُيُفِي
3D geometry	شكل هندسي ثلاثي الأبعاد
Spindle - like shape	شكل يشبه المغزل
Build wax	شمع بناء
Support wax	شمع دعم
Chitosan	شيتوزان

ص

Solvent casting	صبّ (قَوْلَكَة) المذيب
Pigment dispersion	صباغ تَبْعُثْرِيّ
Lamellae	صُفَاحَات
Plates	صفائح
Montmorillonite platelets	صفائح مونت موريللونيت
Basal lamina	صفحة قاعِديّة
Stiffness	صلابة
Toughness	صلابة
Fracture toughness	صلابة الكسر
Dynamic stiffness	صلابة ديناميكية
Pulmonary - to - aortic autograft valves	صمامات من طعم ذاتي رئوي - إلى - أبجري
Apolipoprotein	صميم البروتين الشحمي
SEM images	صور المجهر الإلكتروني الماسح
Phase image	صور طورية
AFM and SEM images	صور مجهر القوة الذرية والمجهر الإلكتروني الماسح
LSCM images and orientations	صور واتجاهات الفحص المجهر المباثر الماسح بواسطة الليزر

ض

Compression	ضغط
Turgor pressure	ضغط التورم
Osmotic pressure	ضغط تناضحي
Dynamic compression	ضغط ديناميكي
Hydrostatic pressure	ضغط هيدروستاتيكي
Lipoplexes	صفائر شحمية
Polyplexes	صفائر متعددة

ط

Wax printer	طابعة شمعية
Dual release kinetics	طاقات إطلاق حركية مزدوجة
Kinetics	طاقات حركية
Resorption kinetics	طاقات حركية للارتشاف
Diffusion kinetics	طاقات حركية للانتشار
Nanomedicine	طب النانو
Regenerative medicine	طب تجديد
Organ printing	طباعة الأعضاء
Photolithography	طباعة أو حفر ضوئي
Wax printing, scaffold fabrication	طباعة باستخدام الشمع، تصنيع حاملة خلايا وأنسجة
Microcontact printing (μ CP)	طباعة بالاتصال المايكروي
Contact printing	طباعة بالتماس
Micro - contact printing (μ CP)	طباعة بالتماس المايكروي
Ink - jet printing	طباعة بتقنية نفث الحبر
3D printing	طباعة ثلاثية الأبعاد
Three - dimensional printing (3DP)	طباعة ثلاثية الأبعاد
Self - assembled monolayers (SAMs)	طبقات أحادية مُجمعة ذاتياً
Nanofiber mats	طبقات ألياف نانوية المستوية
Adventitial layers	طبقات برآئية

Biopolymer layers	طبقات بوليمرات حيوية
Passive coatings	طبقات طلاء أو تغطية سلبية
Inert coatings	طبقات طلاء خارجية خاملة
Electrostatic layer - by - layer (LbL) based coatings	طبقات غلاف خارجية كهروستاتيكية مبنية طبقة تلو الطبقة
Nitrocellulose - based coatings	طبقات غلاف خارجية مبنية على النيتروسيلولوز
Germ layers	طبقات مُنبِثَة
Medial layers	طبقات وسَطائِيَّة
Confluent monolayer	طبقة أحادية متكدسة
ECs and vSMCs confluent monolayer	طبقة أحادية متكدسة من خلايا بطائِيَّة وخلايا عضلية وعائية ملساء
Layer - by – layer	طبقة تلو الطبقة
Quenching methods	طرق الإخماد
Treatment methods	طرق المعالجة
Combinatorial methods	طرق اندماجية
Standard tensile testing methods	طرق معيارية لاختبار الشد
Methods and limitations	طرق وقيود
Passive adsorption method	طريقة الامتزاز (الامتصاص الكيميائي) السليبي
Thermal ink deposition method	طريقة ترسيب الحبر الحراري
Spatiotemporally controlled manner	طريقة مُتحكَّم بها مكانياً وزمانياً
Xenograft	طُعم أَجَنِي (طُعم غَيْرَوِيّ)
Skin graft	طُعم جُلْدِيّ
Cadaveric allograft	طُعم خَفِيفِيّ جُثِّي (طُعم من فرد ينتمي لنفس النوع)
Orthopedic implant	طُعم عَظْمِي
Osteochondral graft	طعم عظمي غضروفي
Allografts	طُعم خَفِيفِيَّة (غيرية)
Coral bone grafts	طُعم عَظْمِيَّة مَرَجَانِيَّة
Synthetic cardiovascular grafts	طُعم قَلْبِيَّة وعائية اصطناعية
Tissue grafts	طُعم نَسِيجِيَّة
Vascular autologous grafts	طُعم وعائية ذاتِيَّة المنشأ

Recombinant human tropoelastin	طليعة الإيلاستين البشري المأشوب (المؤتلف أو المعاد تركيبه)
Procollagen precursor	طليعة البروكولاجين
Opsonization	طهيأة
Computational topology	طوبولوجيا حسابية
Nanotopology	طوبولوجيا نانوية سطحية
Aqueous phase	طور مائي

ظ

Evaporative cooling phenomenon	ظاهرة التبريد التبخري
Physiochemical phenomenon	ظاهرة فيزيائية كيميائية
Physiological salt conditions	ظروف ملحية فيزيولوجية
Epithelium	ظهارة
Mammary epithelium	ظهارة الثدي
Corneal epithelium	ظهارة القرنية
Multiple necking phenomena in nanofibers	ظواهر الاختناقات المتعددة في ألياف النانو

ع

Damping factor	عامل التخميد
Brain - derived neurotrophic factor (BDNF)	عامل التغذية العصبية المستمد من الدماغ
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	عامل النمو البطاني الوعائي
Neuronal growth factor	عامل النمو العصبي
Nerve growth factor (NGF)	عامل النمو العصبي
β -Nerve growth factor (NGF)	عامل النمو العصبي بيتا
Transforming growth factor- β (TGF β)	عامل النمو المحوّل-بيتا
Platelet - derived growth factor	عامل النمو المشتق من الصفائح الدموية
MR contrast agent	عامل تباين الرنين المغناطيسي
Granulocyte colony - stimulating factor (G-CSF)	عامل تحفيز مستعمرة الخلايا المحببة
Reinforcing agent	عامل تقوية معزز أو داعم
Binding agent	عامل ربط
Recombinant epidermal growth factor (EGF)	عامل نمو البشرة المأشوب (المؤتلف أو المعاد تركيبه)
Hepatocyte growth factor (HGF)	عامل نمو الخلايا الكبدية

Basic fibroblast growth factor (bFGF)	عامل نمو خلايا الأرومة الليفية الأساسي
Fibroblast growth factor-2 (FGF-2)	عامل نمو خلايا الأرومة الليفية-٢
Wear threshold	عتبة الاهتراء
Peclet number	عدد بيكلت
Damköhler number	عدد دامكولار
Neutrophils	عدلات
Linear bending instabilities	عدم استقرار التقوس الخطي
Insolubility	عدم القابلية للانحلال أو الذوبان
Polypeptides	عديدات الببتيد
Membrane - bound polysomes	عديدات الريبوسومات المرتبطة بالغشاء
Polysaccharides	عديدات السكاريد
Dipole moment	عزم القطب المزدوج
Cytosolic	عُصاري خلوي
Atrial myocardium	عضل قلبي أذيني
Ventricular myocardium	عضل قلبي بطيني
Cardiac muscle	عضلة القلب
Myocardium	عضلة القلب
Skeletal muscle	عضلة هيكلية
Muscle, C2C12 skeletal myoblasts	عضلة، أرومات السي ٢ سي ١٢ العضلية الهيكلية
Organelles	عُضَيَّات
Cancellous bone	عظم إسفنجي
Trabecular bone	عظم تربيقي (صلب)
Cancerous bone	عظم سرطاني
Lamellar bone	عظم صفاحي
Cortical bone, see Compact bone	عظم قشري، انظر عظم مُكثّر
Woven bone	عظم مَحْبُوك
Osteoporotic bone	عظم مخلخل أو هش
Compact bone	عظم مُكثّر
Osteons	عُظْمُونَات

Compact cylindrical osteons	عَظْمونات أسطوانية مَكْتَنَرَة
Orthopaedic	عَظْمِي
Dorsal root ganglia	عُقَد الجَذَر الظَّهْرانيّ
Stem cell - based therapy	علاج مَبْنِي على أساس الخلايا الجذعية
Autologous cell - based therapy	علاج مَبْنِي على أساس الخلايا ذاتية المنشأ
Immunosuppressive therapy	علاج مُثَبِّط للمناعة
Regenerative therapies	علاجات تَجْدِيدِيَة
Cellular therapies	علاجات خَلَوِيَة
Developmental biology	علم الأَحْيَاء أو البيولوجيا التَطَوُّريَة
Immunology	علم المناعة
Penetration depth	عَمَق الاختراق
Electrodeposition processes	عَمَلِيَّات الترسيب الكَهْرَبائي
Nanoimprint lithographies	عَمَلِيَّات الحفر بِاستخدام طَبَعات نانوية
Pathological processes	عَمَلِيَّات بَاثُولُوجِيَّة (مَرَضِيَّة)
Multiple punctures	عَمَلِيَّات بَزَل مُتَعَدِّدَة
Milling processes	عَمَلِيَّات تَرْقِيق
Purifications	عَمَلِيَّات تَنْقِيَة
Optical lithographies	عَمَلِيَّات حَفَر ضَوْئِي
Cell transfections	عَمَلِيَّات نَقْل الخَلايا
Blood transfusions	عَمَلِيَّات نَقْل الدَم
Remodeling process	عَمَلِيَّة إِعَادَة التَشْكِيل
Knitting process	عَمَلِيَّة الِئْتِمَام
NIL process	عَمَلِيَّة الحفر بِاستخدام طَبْعَة نانوية
Healing process	عَمَلِيَّة الشِّفَاء
Mechanical deformation process	عَمَلِيَّة تَشَوُّه مِيكَانِيكِيَّة
Osteogenesis	عَمَلِيَّة تَكْوَن العَظْم
Implantation	عَمَلِيَّة زَرْع
Process and mechanisms	عَمَلِيَّة وآلِيَّات
Cellular affinity motifs	عَنَاصِر الأُلْفَة الخَلَوِيَة

Cell recognition motifs	عناصر التعرف على الخلايا
Staphylococcus epidermidis	عنقوديات بشرية
Mouse acini, in cell culture on laminin - rich ECM	عُنَيَّبات فأرية، في زراعة الخلايا على مصفوفة خارج الخلية غنية ببروتين اللامينين
Transcription factors	عوامل الانْتِسَاخ
Angiogenic growth factors	عوامل النمو وعائِيَّة المنشأ
Survival factors	عوامل بقاء
Coagulation factors	عوامل تخثر
Neurotrophic factors	عوامل تَغْذَوِيَّة عصبية
Angiogenesis factors	عوامل توليد الأوعية الدموية
Molecular agents	عوامل جزيئية
Hemodynamic factors	عوامل ديناميكية دموية
Therapeutic agents	عوامل علاجية
Nonbiocompatible agents	عوامل غير متوافقة حيويًا
Immunosuppressive agents	عوامل مثبِّطة للمناعة
Tissue - inducing factors	عوامل محفزة للأنسجة
Dopants	عوامل مُنْشِطَة
Cell - signaling factors	عوامل نقل الإشارات الخلوية
Growth factors	عوامل نمو
Osteoinductive growth factors	عوامل نمو محفزة للعظم
Restenosis	عودة التضييق
Diaphyseal defects	عيوب جَدْلِيَّة
Congenital defects	عيوب خِلْقِيَّة

نم

Galactose	غالاكتوز
Developing gonadal ridge	غُدَّة تناسلية نامية
Pituitary	غدة نخامية
Schwann cell implants	غِرْسَات خلايا شفان
Cell spinning	غزل الخلايا

Electrospinning	غزل كهربائي
Bio - electrospinning	غزل كهربائي حيوي
Controlled electrospinning	غزل كهربائي خاضع للتحكم
Solution electrospinning	غزل كهربائي لمحلول
Multilayering electrospinning (ME)	غزل كهربائي متعدد الطبقات
Multispinneret electrospinning	غزل كهربائي متعدد المغازل
Multispinneret / emitter electrospinning	غزل كهربائي متعدد المغازل / الباعث
Coaxial electrospinning	غزل كهربائي متمحور
Mixing electrospinning	غزل كهربائي مزيج
Co - electrospinning	غزل كهربائي مشترك
Electrostatic spinning	غزل كهروستاتيكي
Melt electrospinning	غزل كهربائي لمصهور
Ruffled cell membrane	غشاء خلية تغصني
Lipid membrane	غشاء شحمي
Basement membrane (BM)	غشاء قاعدي
Laminin - rich basement membrane (lrBM)	غشاء قاعدي غني ببروتين اللامينين
Mucosa	غشاء مخاطي
Nuclear membrane	غشاء نووي
Joint cartilages	غضاريف المفاصل
Cartilage	غضروف
Articular cartilages	غضروف مفصلي
Engineered cartilage	غضروف مُهندَس
Immunoglobulins	غلوبولين مناعي
Glucosamine	غلو كوز أمين
Glucosaminoglycan (GAG)	غلو كوز أمينوغليكسان
Glycoproteins	غليكوبروتينات
Transmembrane glycoproteins	غليكوبروتينات عبر غشائية
Glycosaminoglycans (GAGs)	غليكوز أمينوغليكانات
Propylene glycol	غليكول البروبيلين

Noncytotoxic	غير سام للخلايا
Nonbiodegradable	غير قابل للتحلل الحيوي
Noncompliant	غير لين أو مطاوع
Amorphous	غير متبلور
Nonthrombogenic	غير مُحَثِّر
Nonimmunogenic	غير مُسْتَمْنَع
Heterotypic	غيرِي التَّمَط

ف

Fibronectin and laminins	فبرونيكتين ولامينينات
Fibronectin, glycoprotein	فبرونيكتين، بروتين سُكَّرِي
Twisting	فتل (التواء)
Screening	فحص
Drug / toxin screening	فحص دوائي / سُمِّي
Shear modulation force microscopy (SMFM)	فحص مجهري لقوة القص المعدلة
Laser scanning confocal microscopy (LSCM)	فحص مجهري مبادئ ماسح بواسطة الليزر
Intimal hyperplasia	فرط تنسج (تضخم) باطنة الشريان
ATPase	فُسْفَاز ثَلَاثِي فُسْفَاتِ الأَدِينُوزِين
Tyrosine phosphorylation	فَسْفَنة التَّيروزِين (حمض أميني)
Autophosphorylation	فَسْفَنة ذاتية
Heart failure	فشل القلب
Congestive heart failure	فشل القلب الاحتقاني
Leukapheresis techniques	فَصَادَةُ الكُرَيَاتِ البِيض
Charge separation	فصل الشحنة
Phase separation	فصل الطور
Nonsolvent - induced phase separation	فصل الطور المحدث باستخدام اللامذيبات
Microphase separation	فصل طورِي مايكروِي
Thermally induced phase separation (TIPS)	فصل طورِي مُحَرَّض حراريًا
Initial cellular activities	فعاليات خلوية أولية
Efficacy	فعالية

Anemia	فقر الدم
Metals	فِلِزَّات (معادن)
Nanophase metalloids	فلزات معدنية ذات طور نانوي
Phosphorous	فوسفور
Superoxides	فوق أكسيدات
Supercritical	فوق الحرج
Diethyl fumarate mixtures	فومارات ثنائي الإيثيل
In vivo	في الجسم الحي
In vitro	في المختبر
Vitronectin	فيترونينكتين
Lentivirus	فيروس بطيء
Adenovirus	فيروس غُدَّانيّ
Retrovirus	فيروس قهقريّ أو ارتجاعى
Bone physiology	فيزيولوجيا العظام

ق

Bioresorbable	قابل للارتشاف الحيوي
Bioabsorbable	قابل للامتصاص الحيوي
Photopolymerizable	قابل للبلورة الضوئية
Bioerodable	قابل للتآكل الحيوي
Wettability	قابلية الإبتلال أو الترطيب
Biodegradability	قابلية التحلل الحيوي
Ductility	قابلية السَّحْب أو الليونة
Immiscibility	قابلية المزج
Mold	قالب
Porous negative mold	قالب مسامي سلبي
Ischemic hindlimb	قائمة خلفية إقفاريّة
Intravenous catheter	قنطرة وريدية
Viability	قدرة البقاء على قيد الحياة

hMSC viability	قدرة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية على البقاء على قيد الحياة
Extrusion	قذف أو بثق
Dynamic shearing	قص ديناميكي
Flow - induced shear	قص محرض أو ناتج عن التدفق
Ion bombardment	قصف أيوني
Copper electrode	قطب كهربائي من النحاس
Epithelial polarity	قطبية ظهارية
Capillary diameter	قطر شعري
Fiber diameter and morphology	قطر وشكل الليف
Micromachining	قطع مايكروني
Laser micromachining	قطع مايكروني بواسطة الليزر
Droplets	قطرات
Pendent droplet	قطيرة معلقة أو متدلّية
Heart	قلب
RGD oligopeptide, see Arginine - glycine - aspartic acid oligopeptide	قليل الببتيد آر جي دي، انظر قليل الببتيد حمض الأرجينين - غليسين - أسبارتيك
Arginine - glycine - aspartic acid oligopeptide	- غليسين - أسبارتيك
Arginine - glycine - aspartic acid oligopeptide	قليل الببتيد حمض الأرجينين - غليسين - أسبارتيك
Oligosaccharides	قليلات السّكّاريد
Oligonucleotides	قليلات النّوكليوتيدات
Membrane ion channel	قناة غشائية أيونية
Photomask	قناع ضوئي
Resistive mask	قناع مقاوم
Quartz mask	قناع من الكوارتز
Microchannels	قنوات مايكرونية
Medullary canals	قنوات نخاعية
Canaliculi	قُنُيوات أو نُفَيْقات
Elastomeric molds	قوالب مرنة
Dispersion power	قوة التشتت أو التبدد

Systolic force	قوة انقباضية
Micromolding and nanomolding	قَوْلَبَة (تشكيل باستخدام قالب) مايكروية ونانوية
Biomaterials replica molding	قَوْلَبَة المواد الحيوية المطابقة للأصل
Solvent - assisted microcontact molding (SAMIM)	قولة بالاتصال المايكروي بمساعدة المذيب
Injection molding	قولة بالحقن
Capillary - assisted molding, see Capillary lithography	قَوْلَبَة بالمساعدة الشعريّة، انظر الحفر الشعريّ
Microtransfer molding (μ TM)	قولة بالنقل المايكروي
Micromolding in microcapillaries (MIMIC)	قولة مايكروية في الشعيرات المايكروية
Replica molding (RM)	قَوْلَبَة نسخة مطابقة للأصل
Dielectrophoretic forces	قوى رَحْلَانِيَّة مُزدوجة
Sonication powers	قوى صَوْتَنَة
Van der Waals forces	قوى فان دير فالز
Contact angle measurement	قياس زاوية التماس
Nano - Newton load measurements	قياسات أحمال في مجال النانو نيوتن

ك

Cantilever	كابول أو دعامة ناتئة
Acetabular cup	كأس حُقَيّ
Scavengers of free radicals	كاسِحات الجذور الحرة
Peptide - coupling reagent	كاشف اقتران الببتيد
Microorganisms	كائنات دقيقة
Dermatan sulfate	كبريتات الديرماتان
Chondroitin sulfate	كبريتات الكُنْدُرُوَيْتِن
Keratin sulfate	كبريتات الكيراتين
Inflammatory capsules	كبسولات التهابية
Kidney glomerulus	كُبَيْبَة كلوية
Proton beam writing (PBW)	كتابة باستخدام الحزمة البروتونية
Laser - guided direct writing (LGDW)	كتابة مباشرة مُوجَّهَة بالليزر
Inner cell mass of blastocyst	كتلة الخلايا الداخلية لكَيْسَات أُرَيْمِيَّة
Surface charge density	كثافة الشحنة السطحية

Initial hMSCs seeding density	كثافة أولية لبذر الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية
Amino alcohols	كُحُولَات أمينية
Hydrophobicity	كراهية للماء
Carbohydrates	كربوهيدرات (سكريات)
Chromatin	كروماتين
Microspheres	كُرَيَّات مايكروية
Chloroform	كلوروفورم
Calcium chloride	كلوريد الكالسيوم
Methylene chloride	كلوريد الميثيلين
Electrostatic	كهـرستاتيكي (كهـربائي ساكن)
Collagen	كولاجين
Electrospun collagen type II	كولاجين من النمط الثاني مغزول كهـربائياً
Immunohistochemistry	كيمياء هـيستولوجية مناعية

J

Lactide	لاكتيد
Cell adhesion ligands	لجائن التصاق الخلايا
Mesenchyme	لُحْمَة متوسّطة
Lumen	لُـمْعَة (تجويف)
Central hollow lumina	لُـمْعَة مركزية مجوفة
Lymphocytes	لِـمْفَاوِيَّات أو خلايا لمفاوية
Adhesion plaques	لويحات التصاق
Liposomes	ليبوزومات
Carbon dioxide laser	ليزر ثاني أكسيد الكربون
Ligase	ليغاز (إنزيم رابط)
As - spun PLLA nanofiber	ليف نانوي من بولي (حمض-إل-لاكتيك) مغزول كما هو (لم يخضع لمعالجة إضافية)
Elastin fibrils	لُـيَيفَات الإيلاستين
ECM nanofibrils	لُـيَيفَات المصفوفة خارج الخلية النانوية
Myofibril	لُـيَيفَة عضلية

م

Matrigel	ماتري جل
Degradable nontoxic material	مادة غير سامة قابلة للتحلل
Molten material	مادة مُنصهرة
Nanomaterial	مادة نانوية
Silicone spacer	مُباعِد من السيليكون
Radiospacers	مباعدات راديوية
Orthotics	مَبَحَثُ المقاوم (تقويم العظام)
Principle involved	مبدأ المشاركة
Principle of engineering	مبدأ الهندسة
Silk fibroin - based	مبني من فبروين الحرير
Tensile strength	متانة الشد
Scaffolds strength	متانة حاملات الخلايا والأنسجة
Compressive strength	متانة ضغطية
Mechanical strength	متانة ميكانيكية
Multivalent	متعدد التكافؤ
Multipotent	متعدد القدرات
Multinucleated	متعدد النوى
Dendrimers	متغصّئات عديدة (جزيئات كروية كبيرة متفرعة)
Polymer variables	متغيرات البوليمر
Controlled variables	متغيرات متحكّم بها (خاضعة للتحكم)
Polymer solution variables	متغيرات محلول البوليمر
Ambient variables	متغيرات محيطية
ECM derived protein sequences	متواليات (تسلسلات متعاقبة) البروتين المشتق من المصفوفة
Nuclear localization sequence	خارج الخلية متَوَالِيّة التَوَضُّع النووي
HIV TAT sequence	متَوَالِيّة الجين الخاص بفيروس العَوَزِ المناعيِّ البَشَرِيِّ (فَيروسُ الإيدز)
Functional inhibitors	مثبطات وظيفية

Nonclustered heterodimer	مثنوي مغاير غير مُتَعَقِد
Nanometric scale	مجال نانومتري
Grounded collector	مُجَمِّع مُؤَرَّض
Carboxylate groups	مجموعات الكاربوكسيلات
Atomic force microscopy (AFM)	مجهر القوة الذرية
Field emission scanning electron microscopy - FESEM	مجهر إلكتروني ماسح ذي إصدار حقلي
Transmission electron microscopy (TEM)	مجهر إلكتروني ناقل
Alignment	محاذاة (تراصف)
Cellular alignment	محاذاة خلوية
Imitate	محاكاة
Simulation	محاكاة
Biomimicry	مُحاكاة حيوية
Dilute sucrose solutions	محاليل سُكَّرُوز مَخْفَفَة
Axons and extracellular environment	محاور وبيئة خارج الخلية
Mitogens	مُحْدِثَات لِلانْقِسَامِ الفَتِيلِيّ
Morphogens	مُحْدِثَات لِلتَّخَلُّق
Viscous parameters	محددات أو بارامترات اللزوجة
Parameters	محددات أو بارامترات
Growth - inducing stimulus	محفز يحث على النمو
Catalysts	مُحفِزات
Environmental triggers	محفزات بيئية
Physical stimuli	محفزات فيزيائية
Mechanical stimuli	محفزات ميكانيكية
Casting solution	محلول صب
Isotonic solution	محلول متساوي التوتر
Phosphate - buffered saline (PBS)	محلول ملحي مَدْرُوء بالفوسفات
Taylor cone	مخروط تايلور
Envelope cone	مخروط مُعَلَّف
X - Ray diffraction (XRD) diagram	مخطط انعراج الأشعة السينية

Electrical syncytium	مَخْتَلَى كهربائي
Miscible solvent	مذيب قابل للمزج
Cytotoxic solvents	مذيبيات سامة للخلايا
Organic solvents	مذيبيات عضوية
E - beam - etched PMMA stencil	مرسام (استنسل) من بولي (ميثاكريلات الميثيل) محفور بالحزمة الإلكترونية
Nanostencil	مرسام (استنسل) نانوي
Stencil	مرسام أو استنسل
Bioplotter	مِرْسَمَة حيوية
Disease - disorder	مرض - اضطراب
Atherosclerotic vascular disease	مرض التَّصَلُّبِ العَصِيدِي الوعائي
Alzheimer	مرض الزهايمر
Parkinson	مرض باركنسون
Peripheral vascular disease	مرض وعائي محيطي
Cell - scaffold composite	مُرَكَّب حاملة خلايا وأنسجة - خلايا
Zinc complexation	مُرَكَّب زنكي
Anticancer chemistry	مركب كيميائي مضاد للسرطان
Heterodimer	مركب مثنوي مُعَاير (مركب ثنائي ذا صيغة جزيئية غير متجانسة)
PMMA / SiO ₂ nanocomposite	مُرَكَّب نانوي من بولي (ميثاكريلات الميثيل) / ثاني أكسيد السيليكون
Composites	مُرَكَّبَات
Diacrylate compounds	مُرَكَّبَات أكريليت ثنائية
Polymer mixture composites	مُرَكَّبَات بوليمرية مَزِيْجَة
Scaffold composites, tissue engineering	مُرَكَّبَات حاملة الخلايا، هندسة الأنسجة
Ceramic composites	مُرَكَّبَات سيراميكية
Insoluble complexes	مركبات غير قابلة للذوبان
Mixture composites	مُرَكَّبَات مَزِيْجَة
Nanocomposites	مركبات نانوية

Signaling complexes	مُرَكَّبَات نقل الإشارات
Filler - reinforced composites and nanofibers	مُرَكَّبَات وألياف نانوية مُعَزَّزة بِحَشْوَةٍ
Endocytic trafficking	مرور التِّقَامِيّ
Tissue cultures	مزارع الأنسجة
Advantages	مزايا
Convective mixing	مزج الحمل
Double - stranded	مزدوج الضفيرة
Water - glycerol mixture	مزيغ من ماء - غليسيرُول
Nanopowders	مساحيق نانوية
Adhesion pathways	مسارات الالتصاق
Signaling pathway	مسارات نقل الإشارة
Working distance	مسافة العمل
Scaffold pores	مسام حاملة الخلايا والأنسجة
Porosity	مسامية
Probe	مِسْبَار أو مِجَس
Scanning probe	مسبار مسح
Near - field scanning probe	مسبار مسح الحقل القريب
Emulsion	مُسْتَحْلَب
Surface antigen	مُسْتَضِدّ سطحي
Antigens	مستضدات
Colloidal suspension	مُسْتَعْلَق (مُعلَّق) غروائيّ
Effectors	مستفعلات (مستجيبات)
Adhesion receptors	مستقبلات الالتصاق
Integrin receptors	مستقبلات الإنتغرين
ECM receptors	مستقبلات المصفوفة خارج الخلية
Protein receptors	مستقبلات بروتينية
Cell surface receptors	مستقبلات سطح الخلية
Cell membrane receptors	مستقبلات غشاء الخلية
Metabolites	مُسْتَقْلَبَات

Reactive oxygen metabolites	مُستقلّبات الأكسجين التفاعليّة
Arachidonic acid metabolites	مُستقلّبات حمض الأراكيدونيك
Immunogenic	مُستمنع
Submicron levels	مستويات ما دون المايكرون
Carbonated fluorapatite powder	مسحوق فلور آباتيت المكرّن
Single - beam gradient optical traps	مصائد ضوئية متدرجة ذات حزمة مفردة
Cell source	مصدر خلايا
Exogenous cell source	مصدر خلايا خارجية المنشأ
Nanoscale electrode arrays (NEAs)	مصفوفات أقطاب كهربائية في مستوى النانو
Two - dimensional chip arrays and AFM - like cantilever tips	مصفوفات رُفَاقَات ثنائية الأبعاد ورؤوس ناتئة (ذات عتلات) مشاهة لرؤوس مجهر القوة الذريّة
Engineered matrices	مصفوفات مُهندَسة
Polymer matrix	مصفوفة البوليمر
Matrix of the bone	مصفوفة العظم
Amorphous interfibrillar matrix	مصفوفة بين ليفية لا بلوريّة (غير متبلورة)
Extracellular matrix (ECM)	مصفوفة خارج الخلية
Mineralized matrix	مصفوفة معدنة
Silk matrix	مصفوفة من الحرير
Matrix, scaffold degradation	مصفوفة، تحلل حاملة الخلايا والأنسجة
Serum	مَصَل
Cyclic polycationic peptide antibiotic	مضاد حيوي ببتيدي حلقيّ متعدد الكاتيونات
Anti - thrombogenicity	مضاد لتكوّن الخثرات
Antioxidant	مضاد للأكسدة
Antacids	مُضادّات حُموضة
Antimycotics	مضادات فُطريّة
Osmotic pumps	مضخات تناضحيّة
Matrices and basic tissue	مَطَارِس (مصفوفات) وأنسجة أساسية
Mechanical compliance	مُطاوَعَة ميكانيكية
Colloidal pastes	معاجين غروانية

Bioinert metals	معادن خاملة حيويًا
Manipulators	مُعَالِجَات
Stem cell therapies	معالجات بالخلايا الجذعية
Pure stem cell - based therapies and clinical trials	معالجات وتجارب سريرية مبنية على الخلايا الجذعية النقية
Anodization	معالجة أنودية
Prochymal therapy	معالجة باستخدام البروشيمال
Ammonia gas plasma treatment	معالجة ببلازما غاز الأمونيا
Tissue engineering treatment	معالجة بمهندسة الأنسجة
Heat treatment, annealing	معالجة حرارية، تُلْدِين
Post electrospinning treatment	معالجة ما بعد الغزل الكهربائي
Bending modulus	معامل الانحناء
Flexural modulus	معامل الانحناء أو الثني
Equilibrium modulus	معامل التوازن
Elastic modulus	معامل المرونة
Tensile elastic modulus	معامل مرونة الشد
Young's modulus	معامل يونغ
Mechanical moduli	معاملات ميكانيكية
Degradation rate	معدل التحلل
Feed rate	معدل التغذية
Media flow rate	معدل تدفق أو ساط التغذية
Patency rate	معدل سَالِكِيَّة
Genetically modified	مُعَدَّل وراثيًا أو جينياً
Cell deformation rates	معدلات تشوهات الخلايا
Reaction rates	معدلات تفاعل
Pericellular coat	معطف محيط بالخلايا
Suspension	مُعْلَق
Rotating mandrel	مغزل دَوَّار
Socket joints	مفاصل سَنَخِيَّة الشكل
Bioreactors	مفاعلات حيوية

Perfused bioreactors	مفاعلات حيوية ذات تدفق متواصل
Spinner flask bioreactors	مفاعلات حيوية ذات حَوَاجِلَة دَوَّارة
Infection resistant	مُقاوِم للعدوى
Photoresists; see also Top - down lithography, for tissue engineering	مقاومات ضوئية؛ انظر أيضاً الحفر من أعلى إلى أسفل، من أجل هندسة الأنسجة
Thromboresistance	مقاومة التخثر
Tension resistance	مقاومة التوتر
Methanol - treated fiber cross section, AFM phase image	مقطع عرضي للليف معالج بالميثانول، صورة طورية باستخدام مجهر القوة الذرية
Viscosupplementation	مكملات اللزوجة
Noncellular component	مُكوِّن غير خلوي
Filamentous ECM components	مكونات خيطية للمصفوفة خارج الخلية
Subcellular components	مكونات دُوَّيْن (دون) الخلوية
Nonfibrous components	مُكوِّنات غير ليفيَّة
Optical tweezers	ملاقيط ضوئية
Impedance	ممانعة
Pathogenic	مُمرِّض
Zones	مناطق
Metaphyseal regions	مناطق كُرْدوسِيَّة
Autoimmune and metabolic disorders	مناعة ذاتية واضطرابات استقلابية
Biological cues	منبهات بيولوجية
Topographical cues	منبهات طبوغرافية
Nanotopographic cues	منبهات طبوغرافية سطحية نانوية
Chemical cues	منبهات كيميائية
Lactogenic cues	منبهات محفزة للإلبان
Spatial cues	منبهات مكانية
Byproducts of degradation	منتجات ثانوية للتحلل
Tensile stress - strain curves	منحنيات إجهاد - انفعال الشد
Mesodermal origin	منشأ أو أصل أديمي متوسطي

3D platforms	منصات (وحدات) ثلاثية الأبعاد
Cytoplasmic region	منطقة هيوليّة
Repellants	مُنفرات
Monomers	مَواحيد (مونومرات)
Conventional materials	مواد اعتيادية (تقليدية)
Synthetic materials	مواد تركيبية أو اصطناعية
Reinforcement materials	مواد تقوية أو تعزيز
Scaffold materials	مواد حاملات الخلايا والأنسجة
Filler materials	مواد حشو
Biomaterials	مواد حيوية
Nanofeatured biomaterials	مواد حيوية ذات سمات نانوية
Alginate - based biomaterials	مواد حيوية مبنية من الألجينات
Repellant biomaterials	مواد حيوية مُنفرة أو طاردة
Nanophase materials	مواد ذات طور نانوي
Natural materials	مواد طبيعية
Bioadhesives	مواد لاصقة حيوية
Tissue - inducing substances	مواد مُحفزة للأنسجة
Molecular recognition sites	مواضع التعرف الجزيئي
Apoptosis	موت الخلايا المبرمج
Morphology	مورفولوجيا أو شكل
Microphase morphology	مورفولوجيا أو شكل طوري مايكروبي
Electically conducting	مُوصِّل كهربائيًا
Junctions	موصلات (نقاط الاتصال)
Conductivity	مُوصليّة أو ناقلية
Osteoconductivity	مُوصليّة عظمية
Electrical conductivity	مُوصليّة كهربائية
In situ	موضعي
Ectopic site	موقع مُتنبذ
Fibrinogen	مولد الليف (الفيرينوجين)

Liquid photocurable monomer	مونومر (مَوْحُود) سائل قابل للمعالجة الضوئية
Topographic features	مميزات (سمات) طبوغرافية
Exogenous microorganisms	ميكروبات خارجية المنشأ
Myoglobin	ميوغلوبين

ن

Hypoxic	ناقص التأكسج
Osteoclasts	ناقضات العظم (خلايا ناقضة للعظم)
Vector	ناقل
Gene vectors	ناقلات الجينات
Synthetic vectors	ناقلات تركيبية أو اصطناعية
Liquid nitrogen	نتروجين سائل
Epicardium	نخاب
Necrosis	نخر الأنسجة
Necrosis of bone cells	نخر خلايا العظم
Monocyte tumor necrosis	نخر ورم الوحيدات
Bleeding	نزيف
Signal - to - noise ratio	نسبة الإشارة إلى الضجيج
Gene transcription	نسخ جيني
Allgeneic tissue	نسيج خيفي
Autogenous tissue	نسيج ذاتي المنشأ
Connective tissue	نسيج ضام
Nervous tissue	نسيج عصبي
Osteochondral tissue	نسيج عظمي غضروفي
Cardiovascular tissue	نسيج قلبي وعائي
Avascular tissue	نسيج لاوعائي
Glial scar tissue	نسيج ندبي دُبقي
Transcription activity	نشاط الانتساخ
Metabolic activity	نشاط أو فعالية استقلابية
Procoagulant activity	نشاط مُحَفِّز التَّخَثُّر

Unfolding	نشر
Load - bearing	نشر الحمل
Micropositioning system	نظام استيضاع (وضع) مايكروي
Mechanical stepping system	نظام الخطى (الخطوة) الميكانيكي
Nanoparticulate drug delivery system	نظام توصيل دواء جسيماني نانو
Particulate system	نظام جسيماني
Zero - order	نظام صفري
Cardiovascular system	نظام قلبي وعائي
Biomimetic system	نظام محاكي حيوي
Radiolabeled isotopes	نظائر مشعة موسومة
Contact guidance theory	نظرية توجيه الاتصال
Micron smooth	نعومة في مستوى المايكرون
Electrically charged jet	نفاث مشحون كهربائياً
Haversian canal	نَقْطُ هافيرسي (النَقْطُ المَعْدِي للعَظْم)
Permeability	نَفوذِيَّة (نفاذية)
Electroporation	نَفوذِيَّة كهربائية
Synapses	نقاط التشابك العصبي
Anchorage points	نقاط تثبيت
Quantum dots (QD)	نقاط كمّية
NGF - conjugated quantum dots (NGF - QDs)	نقاط كمّية مُقترَنة بعامل النمو العصبي
Hot embossing	نقش ساخن
Ischemia	نقص تروية
Engraftment	نقص نمو الطعم
Melting point	نقطة الانصهار
Nanoscale dynamic signaling	نقل إشارات ديناميكي في مجال النانو
Cellular signaling	نقل الإشارات الخلوية
Microenvironment - mediated signaling	نقل الإشارات بوساطة البيئة المايكروية
Intracellular signaling	نقل الإشارات داخل الخلايا
Intracellular signaling and remodeling	نقل الإشارات وإعادة التشكيل داخل الخلوي

Load transfer	نقل الحمل
Nutrient transport	نقل المغذيات
Signal transduction	نقل أو تبادل الإشارة
Gene translation	نقل جيني
Vesicular transportation	نقل حوَّصليّ
Efficient transport	نقل فعّال
Mass transfer	نقل كتلي
Diffusional mass transfer	نقل كتلي انتشاري
Cross - talk	نقل متبادّل
Somatic cell nuclear transfer	نقل نواة خلية جسدية
Bone marrow	نقيّ العَظم
Computational modeling	نمذجة حسابية
Biomimetic modeling	نمذجة مُحاكِية حيويّاً
Tapping mode	نمط النقر
Genotype	نمط جيني
Phenotype	نمط ظاهري
Alveolar phenotype	نمط ظاهري سِنخيّ
Cell phenotype	نمط ظاهري للخلية
Spindle - like contractile phenotype	نمط ظاهري يشبه المغزل قابل للتقلص
Guided neurite growth	نمو المحوار العصبي الموجّه
Ingrowth	نمو أو نُشُوب
Directed growth	نمو مُوجّه
Dynamic reciprocity model	نموذج تبادليّة ديناميكي
Cell nucleus	نواة الخلية
Nonviral vectors	نواقل غير فيروسية

٥

Implant migration	هجرة (تحرك) الطّعم أو المادة المزروعة
Grounded target	هدف مؤرّض
α -Melanocyte stimulating hormone (α -MSH)	هرمون تحفيز خلايا ألفا الميلانينية

Lactogenic hormones	هرمونات محفزة للإلبان
Osteoporosis	هشاشة أو ترقق العظام
Enzymatically digesting	هضم النسيج إنزيمياً
Hydrogel	هلام مائي
Cell - laden hydrogel	هلام مائي حامل للخلايا
Thermoreversible gel	هلام مائي قابل للانعكاس حرارياً
Agar hydrogel	هلام مائي من الآغار
Viscous hydrated gel	هلام مُميه (مائي) لزج
Wharton's jelly	هلام وارطون (المادة الهلامية في الحبل السري)
Laden hydrogels	هلامات مائية حاملة
Cell - encapsulated hydrogels	هلامات مائية مغلقة بالخلايا
Hydrogels, scaffold fabrication	هلامات مائية، تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة
Tissue engineering	هندسة الأنسجة
Connective tissue engineering	هندسة الأنسجة الضامة
Musculoskeletal tissue engineering	هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية
Cardiovascular tissue engineering	هندسة الأنسجة القلبية الوعائية
Vascular tissue engineering	هندسة الأنسجة الوعائية
Blood vessels tissue engineering	هندسة أنسجة الأوعية الدموية
Epidermal tissue engineering	هندسة أنسجة البشرة
Cell - instructive tissue engineering	هندسة أنسجة موجهة للخلايا
Bioengineering	هندسة حيوية
Hyaluronan, nonfibrous components	هياالورونان، مكونات ليفية ناعمة
Hydroxyapatite (HA)	هيدروكسي آباتيت
Calcium hydroxyapatite (HA)	هيدروكسي آباتيت الكالسيوم
Hydroxyapatite and calcium phosphate	هيدروكسي آباتيت وفوسفات الكالسيوم
Cytoskeleton	هيكل الخلية
Actin cytoskeleton	هيكل الخلية الأكتيني
Cellular cytoskeleton	هيكل الخلية الخلوي
Cytoplasmic cytoskeleton	هيكل الخلية الهيولي

Endoskeleton of vertebrates	هيكل داخلي للفقاريات
Nuclear skeleton	هيكل نووي
Hemoglobin	هيموغلوبين

و

Bone - specific markers	واسمات محددة للعظم
Lyoprotectants	واقيات ذوبان
Tendon	وتر
Terminal ductal lobular units (TDLU)	وحدات فُصيصية قنوية انتهائية
Leaflet - sinus unit	وحدة وريقية - جيبية
Monocytes	وَحِيدَات أو كريات أحادية النواة
Influenza virus hemagglutinin subunit (HA-2)	وَحِيدَة الرَاصَة الدَمَوِيَّة لفيروس الانفلونزا
Tumor	ورم
Venules	ورائدات
Leaflets	وريقات
Molecular weight	وزن جزيئي
Chemical mediators	وسائط كيميائية
Delivery vehicles	وسائل نقل أو توصيل
Plotting medium	وسط التخطيط أو الرسم
Growth medium	وسط النمو
Cell culture medium	وسط زراعة الخلايا
Connective milieu	وسط ضامّ
Minimal essential medium (MEM)	وسط غذائي أساسي بسيط
Functions	وظائف
Secretory functions	وظائف إفرازية
Systolic function	وظيفة انقباضية
Visual function	وظيفة بصرية
Epithelial function	وظيفة ظهارية

ي

Lysosome	يَحْلُول (جُسيم حالّ)
----------	-----------------------

ثانياً: إنجليزي - عربي

2D stem cell culture systems	أنظمة زراعة خلايا جذعية ثنائية الأبعاد
2D substrata	رَكائِز (طبقات سطحية) ثنائية الأبعاد
3D bioassembly	تجميع حيوي ثلاثي الأبعاد
3D geometry	شكل هندسي ثلاثي الأبعاد
3D hydrogel scaffold	حاملة خلايا ثلاثية الأبعاد مصنوعة من الهلام المائي
3D object	جسم أو كائن ثلاثي الأبعاد
3D platforms	منصات (وحدات) ثلاثية الأبعاد
3D printing	طباعة ثلاثية الأبعاد
3D structure	بنية ثلاثية الأبعاد

A

Abrasion	سَحْج أو انسِحَال
Accelerated particle beam techniques	تقنيات حزمة الجسيمات المُسرَّعة
Accelerating voltage	جهد مُسرَّع
Accumulation	تراكم
Acellular scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة لاختِلَويَّة
Acetabular cup	كأس حُقِّيّ
Acetic acid	حمض الأسيتيك (حمض الخليك)
Acid - base balance	توازن حمضي - قاعدي
Acidic	حمضي
Acidification	تَحْمِيز
Acrylated poly(ethylene glycol)	بولي (غليكول الإيثيلين) المضاف إليه الأكريليت
Actin cytoskeleton	هيكل الخلية الأكتيني
Activated microglia	خلايا دبقية مُنشَّطة
Acute graft versus host disease (AGHD)	داء الطُّعم حيال الثَّويّ الحاد
Acylation reactions	تفاعلات الأسيلَة
Adaptor proteins	بروتينات مُهيَّنة
Adenovirus	فيروس غُدَّانيّ

Adhesion mechanisms	آليات الالتصاق
Adhesion pathways	مسارات الالتصاق
Adhesion plaques	لويحات التصاق
Adhesion receptors	مستقبلات الالتصاق
Adhesion with ECM	التصاق بالمصفوفة خارج الخلية
Adipocytes	خلايا شحمية
Adipogenic cells	خلايا مكونة للشم
Adipose - derived stem cells	خلايا جذعية مشتقة من الشحم
Adipose tissue	أنسجة شحمية
Adsorption	امتزاز (امتصاص كيميائي)
Adsorption of colloids	امتزاز (امتصاص) المواد الغروائية
Adsorptive pinocytosis	احتساء امتزازي
Adult stem cells	خلايا جذعية بالغة
Advantages	مزايا
Adventitial layers	طبقات برآئية
Adverse immune response	استجابة مناعية معاكسة
AFM and SEM images	صور مجهر القوة الذرية والمجهر الإلكتروني الماسح
Agar hydrogel	هلام مائي من الآغار
Agarose	آغاروز
Age - related tissue deterioration	تدهور الأنسجة المرتبط بالعم
Agglomerates	تكتلات
Agglomeration	تكتل
Aggregates	تكدسات
Aggregation	تكدس
Albumin	ألبومين
Alginate	ألجينات
Alginate - based biomaterials	مواد حيوية مبنية من الألجينات
Aligned fibers	ألياف متراففة
Aligned pore structure	بنية مسامية متراففة

Alignment	محاذاة (تراسف)
Aliphatic polyesters	بولي إسترات الأليفاتية
Alkaline phosphatase	إنزيم الفوسفاتاز القلوي
Alkaline salts	أملاح قلوية
Allergic reactions	ردود فعل تحسسية
Allgeneic tissue	نسيج خيفي
Allogeneic	خلايا خيفية
Allografts	طُعوم خيفية (غيرية)
Alumoxane nanoparticles	جسيمات الألوموكسين النانوية
Alveolar phenotype	نمط ظاهري سينخي
Alveoli	أسناخ (الحويصلات)
Alzheimer	مرض الزهايمر
Ambient variables	متغيرات محيطية
Aminated surfaces	سطوح مؤمينة
Amino acid sequences	تسلسلات الأحماض الأمينية
Amino alcohols	كحولات أمينية
Amino sugar	سُكَّر أميني
Aminopentanol	أمينو بنتانول
Ammonia gas plasma treatment	معالجة بلازما غاز الأمونيا
Amorphous	غير متبلور
Amorphous fluoropolymer	بوليمير تآلقي غير متبلور
Amorphous interfibrillar matrix	مصفوفة بين ليفية لا بلورية (غير متبلورة)
Amphiphilic molecules	جزيئات مزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزمر
Anchorage points	نقاط تثبيت
Anemia	فقر الدم
Angiogenesis	تَوَلَّد الأوعية الدموية
Angiogenesis factors	عوامل توليد الأوعية الدموية
Angiogenic growth factors	عوامل النمو وعائية المنشأ
Angular distributions	توزيعات زاوية

Anisotropic mechanical properties	خصائص ميكانيكية متباينة
Anisotropic mesh formation	تشكيل شبكة متباينة الخواص
Anisotropy	تباين الخواص المتأثر بالاتجاه
Annealing time	زمن التلدين
Anodization	معالجة أنودية
Antacids	مُضادّات حُموضة
Anterior cruciate ligament (ACL)	رباط تصاليّ أمامي
Anti - inflammatory and antiscarring drugs release	إطلاق أدوية مضادة للالتهاب ومضادة للتندّب
Anti - thrombogenicity	مضاد لتكوّن الخثرات
Antibacterial properties	خصائص مقاومة للبكتيريا
Antibodies	أضداد
Anticancer chemistry	مركب كيميائي مضاد للسرطان
Antifouling properties	خصائص مانعة للتلوّث
Antigenic epitopes	حواتم مستضدية أو مولدة للأضداد
Antigens	مستضدات
Antimycotics	مضادات فُطريّة
Antioxidant	مضاد للأكسدة
Antisense oligonucleotides delivery	توصيل قليلات النوكليوتيدات المضادة للاتجاه
Apolipoprotein	صميم البروتين الشحمي
Apoptosis	موت الخلايا المبرمج
Apoptotic molecules	جزيئات مميتة للخلايا
Applications and drawbacks	تطبيقات وعيوب
Aqueous - organic interfaces	سطوح بينية مائية - عضوية
Aqueous citric acid	حمض الستريك المائيّ
Aqueous phase	طور مائي
Arachidonic acid metabolites	مُستقلّبات حمض الأراكيدونيك
Architectural properties	خصائص بنيوية هندسية
Architextural transition	انتقال بنيوي هندسي
Arginine - glycine - aspartic acid oligopeptide	قليل الببتيد حمض الأرجينين - غليسين - أسبارتيك

Arterioles	شَرِينَات
Arteriosclerosis and heart disease	تصلب الشرايين وأمراض القلب
Arthroscopic surgery	جراحة بمنظار المفصل
Articular cartilages	غضروف مفصلي
Artificial organs	أعضاء اصطناعية
Artificial scaffold	حاملة خلايا وأنسجة اصطناعية
As - spun PLLA nanofiber	ليف نانوي من بولي (حمض-إل-لاكتيك) مغزول كما هو (لم يخضع لمعالجة إضافية)
As copolymer	بوليمر مشترك كما هو
Aseptic loosening	تفكك أو تخلخل عقيم (لا إنتاني)
Assembly	تجميع
Astrocytes	خلايا نجمية
Astroglial scarring	تَنَدُّب دِبْقِي نُجْمِيّ الخَلايا
Atherosclerotic vascular disease	مرض التَّصَلُّبِ العَصيدِي الوعائي
Atomic force microscopy (AFM)	مجهر القوة الذرية
ATPase	فُسْفَاز تُلَاثِيّ فُسْفَاتِ الأَدِينُوزِين
ATPase proton - pump enzyme	إنزيم مضخة - بروتون الأَئباز
Atrial myocardium	عضل قلبي أذيني
Autocatalytic degradation	تحلل ذاتي التحفيز
Autogenous tissue	نسيج ذاتي المنشأ
Autografting	تطعيم ذاتي
Autoimmune and metabolic disorders	مناعة ذاتية واضطرابات استقلابية
Autologous blood vessels	أوعية دموية ذاتية
Autologous cell - based therapy	علاج مبني على أساس الخلايا ذاتية المنشأ
Autologous cells	خلايا ذاتية المنشأ
Autologous chondrocytes transplantation (ACT)	زراعة الخلايا الغضروفية ذاتية المنشأ
Automation	أتمتة
Autophosphorylation	فَسْفَتَة ذاتية
Avascular tissue	نسيج لاوعائي

Axonal guidance	توجيه محواريّ
Axons and extracellular environment	محاور وبيئة خارج الخلية
Axons in vivo / vitro, micro / nano - topographies	سمات طبوغرافية مايكروية / نانوية للمحاور العصبية داخل الجسم الحي / في المختبر

B

Bands of Bungner	أَشْرَطة بونغنر
Basal lamina	صفحة قاعدية
Basement membrane (BM)	غشاء قاعدي
Basic fibroblast growth factor (bFGF)	عامل نمو خلايا الأرومة الليفيّة الأساسي
Basolateral surface	سطح القاعدة الجانبية
Bead - free nanofiber formation	تشكيل ألياف نانو خالية من الخرزات
Beads	خرزات
Bending modulus	معامل الانحناء
Beta sheet structures	بُنَي بيتا الصفيحيّة (الورقية)
Bi - phasic response	استجابة ثنائية الطور
Bilayered tubular scaffold	حاملة خلايا وأنسجة أنبوبية مؤلفة من طبقتين
Bimodal	ثنائي النسق
Binding affinity	أُلْفَة للارتباط
Binding agent	عامل ربط
Bio - electrospinning	غزل كهربائي حيوي
Bio - reabsorbable scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة قابلة لإعادة الامتصاص الحيوي
Bioabsorbable	قابل للامتصاص الحيوي
Bioabsorption	امتصاص حيوي
Bioactive glass	زجاج نشط حيويًا
Bioactive molecules	جزيئات فعّالة حيويًا
Bioadhesives	مواد لاصقة حيوية
Bioceramics	سيراميك حيوي
Biochemical applications	تطبيقات كيميائية حيوية
Biochemical signals	إشارات كيميائية حيوية

Biocompatibility	توافقية حيوية
Bioconjugation	اقتران حيوي
Biodegradability	قابلية التحلل الحيوي
Biodegradable polymers	بوليمرات قابلة للتحلل الحيوي
Biodegradable scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة قابلة للتحلل الحيوي
Biodegradation	تحلل حيوي
Bioelectrical signals	إشارات كهربائية حيوية
Bioengineering	هندسة حيوية
Bioerodable	قابل للتآكل الحيوي
Biofunctionality	تحديد وظيفي حيوي
Bioglass	زجاج حيوي
Bioimaging	تصوير حيوي
Bioinert metals	معادن خاملة حيويًا
Biological and physical signals	إشارات بيولوجية وفيزيائية
Biological cues	منبهات بيولوجية
Biological functionality	تحديد أو تخصيص وظيفي بيولوجي
Biological molecules	جزيئات بيولوجية
Biological recognition	تعرف بيولوجي
Biological responses	استجابات بيولوجية
Biological signals	إشارات بيولوجية
Biological substitutes	بدائل بيولوجية
Biomaterial culture systems	أنظمة زراعة الخلايا من المواد الحيوية
Biomaterials	مواد حيوية
Biomaterials replica molding	قوالب المواد الحيوية المطابقة للأصل
Biomedical applications	تطبيقات طبية حيوية
Biomimetic environments	بيئات محاكية حيويًا
Biomimetic keratoprotheses	بدائل اصطناعية قرنية محاكية حيويًا
Biomimetic modeling	نمذجة محاكية حيويًا
Biomimetic scaffold	حاملة خلايا وأنسجة محاكية حيويًا

Biomimetic surface, coating	سطوح مُحاكية حيويًا، طبقة غلاف خارجي
Biomimetic system	نظام مُحاكي حيوي
Biomimicry	مُحاكاة حيوية
Biomineralization	تَمَعْدَن حيوي
Biomolecules	جزيئات حيوية
Biophysical properties	خصائص فيزيائية حيوية
Bioplotter	مِرْسَمَة حيوية
Biopolymer layers	طبقات بوليمرات حيوية
Bioreactors	مفاعلات حيوية
Bioresorbable	قابل للارتشاف الحيوي
Biosensors	حساسات حيوية
Biphasic	ثنائي الطور
Biphasic polymer network	شبكة بوليمرية ثنائية الطور
Bis - secondary amines	أَمِينَات ثانوية مُضَاعَفَة
Bladder smooth muscle cells (SMCs)	خلايا المثانة العضلية الملساء
Bleeding	نزيف
Blended fibers	ألياف مخلوطة
Blind holes	ثقوب مغلقة النهاية
Block copolymer lithography	حفرة كتلة بوليمر مشترك
Blood - brain barrier (BBB)	حاجز الدم - الدماغ
Blood clot	خثرة دموية
Blood clotting	تجلط أو تخثر الدم
Blood coagulation	تخثر الدم
Blood plasma	بلازما الدم
Blood supply	تغذية دموية
Blood transfusions	عمليات نقل الدم
Blood vessels tissue engineering	هندسة أنسجة الأوعية الدموية
BMP carriers (BMP-2 and BMP-7)	حاملات البروتينات المكونة للعظام
Bond dissociation	تفكك الروابط

Bone - specific markers	واسمات محددة للعظم
Bone cement	إسمنت أو ملاط عظمي
Bone marrow	نقي العظم
Bone marrow - derived stem cells (MSCs)	خلايا جذعية مشتقة من نقي العظم
Bone marrow stromal cells	خلايا نقي العظم السدوية
Bone marrow transplantation	زراعة نقي العظم
Bone morphogenetic proteins (BMPs)	بروتينات مكونة للعظام
Bone physiology	فيزيولوجيا العظام
Bone regeneration	تجديد العظم
Bone remodeling	إعادة تشكيل العظم
Bone resorption	ارتشاف العظم
Bone sialoprotein	بروتين لعابي عظمي
Bone tissue regeneration	تجديد الأنسجة العظمية
Bottom - up lithography for tissue engineering	حفر من أسفل إلى أعلى من أجل هندسة الأنسجة
Bovine annulus fibrosus (BAF) cells	خلايا ليفية حلزونية بقرية
Bovine serum albumin	ألبومين (زلال) المصل البقري
Braiding	تجديل (تصفير)
Brain - derived neurotrophic factor (BDNF)	عامل التغذية العصبية المستمد من الدماغ
Branched molecules	جزيئات متفرعة
Branching	تفرع
Build wax	شمع بناء
Bulk mechanical properties	خصائص ميكانيكية كتلية
Byproducts of degradation	منتجات ثانوية للتحلل

C

Cadaveric allograft	طعم خيفي جثي (طعم من فرد ينتمي لنفس النوع)
Calcification	تكلس
Calcium chloride	كلوريد الكالسيوم
Calcium hydroxyapatite (HA)	هيدروكسي آباتيت الكالسيوم
Calcium phosphate - based ceramics	سيراميك مبني على أساس فوسفات الكالسيوم

Calcium sulfate	سلفات (كبريتات) الكالسيوم
Callus formation	تكوين الثفن أو الدُّشْبُد
Canaliculi	قُنَيَوَات أو نُفَيْقَات
Cancellous bone	عظم إسفنجي
Cancer	سرطان
Cancer cell detection	اكتشاف الخلايا السرطانية
Cancerous bone	عظم سَرَطَانِيّ
Cantilever	كابول أو دعامة ناتئة
Capillary - assisted molding, see Capillary lithography	قَوْلَبَة بالمساعدة الشَّعْرِيَّة، انظر الحفر الشَّعْرِيّ
Capillary diameter	قطر شعريّ
Capillary force lithography (CFL)	حفر باستخدام القوة الشَّعْرِيَّة
Capillary lithography	حفر شَّعْرِيّ
Capillary needle	إبرة شعريّة
Capillary tube	أنبوب شعريّ
Caproic acids	أحماض الكابرويك
Carbodiimide chemistry	تركيب كيميائي من ثنائي إيميد الكربون
Carbohydrates	كربوهيدرات (سكريات)
Carbon dioxide laser	ليزر ثاني أكسيد الكربون
Carbon nanofibers (CNFs)	ألياف الكربون النانوية
Carbon nanotubes (CNTs)	أنابيب الكربون النانوية
Carbonated fluorapatite powder	مسحوق فلور آباتيت المكرن
Carboxylate groups	مجموعات الكاربوكسيلات
Carboxylic acids	أحماض كربوكسيلية
Carboxypeptidases	إنزيمات الكربوكسي ببتيداز
Cardiac muscle	عضلة القلب
Cardiac stents and valves	دعامات وصمامات قلبية
Cardiomyocyte transplantation	زراعة الخلايا العضلية القلبية
Cardiomyocytes formation	تشكيل الخلايا العضلية القلبية
Cardiovascular system	نظام قلبي وعائي

Cardiovascular tissue	نسيج قلبي وعائي
Cardiovascular tissue engineering	هندسة الأنسجة القلبية الوعائية
Cartilage	غُضُرُوف
Casting solution	محلول صب
Catalysts	مُحفِزات
Cationic polymers	بوليمرات كاتيونية
Cell - encapsulated hydrogels	هلامات مائية مغلقة بالخلايا
Cell - instructive tissue engineering	هندسة أنسجة مُوجَّهة للخلايا
Cell - laden hydrogel	هلام مائي حامل للخلايا
Cell - scaffold composite	مُرَكَّب حاملة خلايا وأنسجة - خلايا
Cell - signaling factors	عوامل نقل الإشارات الخلوية
Cell - surface receptor - mediated endocytosis	التَّقام بواسطة مُستَقْبَلات سطح الخلية
Cell - tensioning	توتير الخلية
Cell adhesion	التصاق الخلايا
Cell adhesion ligands	لجائن التصاق الخلايا
Cell attachment	ارتكاز أو التصاق الخلايا
Cell carrier	حامل الخلايا
Cell culture medium	وسط زراعة الخلايا
Cell deformation rates	معدلات تشوهات الخلايا
Cell differentiation and migration	تمايز وهجرة الخلايا
Cell membrane receptors	مستقبلات غشاء الخلية
Cell nucleus	نواة الخلية
Cell orientation angle	زاوية اتجاه الخلايا
Cell phenotype	نمط ظاهري للخلية
Cell reciprocal flows	تدفقات مُتبادلة للخلية
Cell recognition motifs	عناصر التعرف على الخلايا
Cell recruitment	إِجْلَاب الخلايا
Cell signaling cascades	تتاليات نقل إشارات الخلايا
Cell source	مصدر خلايا

Cell spinning	غزل الخلايا
Cell spraying deposition	ترسيب بإرذاذ الخلايا
Cell surface	سطح الخلية
Cell surface receptors	مستقبلات سطح الخلية
Cell survival	بقاء الخلايا على قيد الحياة
Cell transfections	عمليات نقل الخلايا
Cell transplantation	زراعة الخلايا
Cell's genome	جينوم الخلية
Cellular adhesion	التصاق خلوي
Cellular affinity motifs	عناصر الألفة الخلوية
Cellular alignment	محاذاة خلوية
Cellular and molecular structure	بنية خلوية و جزيئية
Cellular cytoskeleton	هيكل الخلية الخلوي
Cellular elongation	استطالة خلوية
Cellular infiltration	ارتشاح خلوي
Cellular microenvironment	بيئة مايكروية خلوية
Cellular penetration	اختراق خلوي
Cellular response	استجابة خلوية
Cellular signaling	نقل الإشارات الخلوية
Cellular therapies	علاجات خلوية
Cellular transfection	تعديل أو نقل خلوي
Cellularity	خَلَوِيَّة
Cellulose	سيليلوز
Central hollow lumina	لُمْعَة مركزية مجوفة
Centrifugation	تَنْبِيد أو تنفيل (طرد مركزي)
Ceramic composites	مُرَكَّبَات سيراميكية
Cerium oxide and neuroprotection	أكسيد السيريوم والوقاية العصبية
Characterization	خصائص
Charge repulsion	تنافر الشحنة

Charge separation	فصل الشحنة
Chemical - induced topological modification	تعديل طوبولوجي محرض كيميائياً
Chemical binder	رابط كيميائي
Chemical cues	منبهات كيميائية
Chemical mediators	وسائط كيميائية
Chemical modification	تعديل كيميائي
Chemical reactivity	تفاعلية كيميائية
Chemical transfection	تعديل جيني كيميائي
Chemistry	تركيب كيميائي
Chemoattractants	جاذبات كيميائية
Chemoselective ligation	ربط انتقائي كيميائي
Chemotaxis	انجذاب كيميائي
Chitin whiskers	شعيرات كيتين
Chitosan	شيتوزان
Chlorination reactions	تفاعلات الكلورة
Chloroform	كلوروفورم
Chondrocytes	خلايا غضروفية
Chondrogenic cells	خلايا مُولدة للغضروف
Chondroitin sulfate	كبريتات الكُنْدُرُوتِين
Chondroitin sulfate proteoglycans (CSPGs)	بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُوتِين
Chondroitinase ABC (ChABC)	إنزيم الكُنْدُرُوتِيناز اي بي سي
Chromatin	كروماتين
Chronic diseases	أمراض مزمنة
Chronic inflammation	التهاب مزمن
Chronic wounds	جروح مزمنة
Chronological events and statistics	أحداث متسلسلة زمنياً وإحصائيات
Clay reinforced nanofibers	ألياف نانوية مُعززة بالغُضار
Clinical applications	تطبيقات سريرية
Clogging	انسداد

Clustering	تَعْتَقْدُ (تجمع)
Co - culture	زراعة مشتركة
Co - electrospinning	غزل كهربائي مشترك
Co - polymers	بوليمرات مشتركة
Coagulation factors	عوامل تخثر
Coaxial electrospinning	غزل كهربائي متمحور
Coaxial nanofibers	ألياف نانوية متمحورة (مُتَشَارِكَة في المحور)
Coaxial tip	رأس متمحور
Collagen	كولاجين
Collagen and elastin scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة من الكولاجين والإيلاستين
Collagen biopolymers	بوليمرات حيوية كُولَاجِينِيَّة
Collagen fibres	ألياف الكولاجين
Collagen patterning	تشكيل أو زخرفة الكولاجين
Collagen sponge	إِسْفَنج كولاجيني
Colloidal adsorption	امتزاز (امتصاص كيميائي) غَرَوَانِيّ
Colloidal lithography	حفر غَرَوَانِيّ
Colloidal pastes	معاجين غروانية
Colloidal suspension	مُسْتَعْلَق (مُعلَق) غروانيّ
Columbic interaction	تفاعل كولومي
Combinatorial methods	طرق اندماجية
Compact bone	عظم مُكْتَنَز
Compact cylindrical osteons	عَظْمُونَات أسطوانية مكتنزة
Complement protein	بروتين مُكَمِّل
Composite nanofibers	ألياف نانوية مُرَكَّبَة
Composites	مُرَكَّبَات
Compression	ضغط
Compressive strength	متانة ضغطية
Computational biology	بيولوجيا حسابية
Computational modeling	نمذجة حسابية

Computational topology	طوبولوجيا حسابية
Computed tomography (CT)	تصوير مقطعيّ محوَسَب
Computer - aided design (CAD) software	برامج تصميم بمُساعدَة الحاسوب
Concentration, solution viscosity	تركيز، لزوجة المحلول
Condensed nanoparticles	جسيمات نانوية مُكثَّفة
Conductivity	مُوصِلِيَّة أو ناقلية
Cone shaped nanopillars	أعمدة نانوية على شكل مخروط
Confluent monolayer	طبقة أحادية متكلسة
Congenital defects	عيوب خِلْقِيَّة
Congestive heart failure	فشل القلب الاحتقاني
Connective milieu	وسط ضامّ
Connective tissue	نسيج ضامّ
Connective tissue engineering	هندسة الأنسجة الضامّة
Construction	بناء
Contact angle measurement	قياس زاوية التماس
Contact guidance response	استجابة توجيه الاتصال
Contact guidance theory	نظرية توجيه الاتصال
Contact lithography	حفر بالاتصال
Contact printing	طباعة بالتماس
Continuous contractility	انقباض متواصل
Contractility	انقباض أو قَلْوصِيَّة
Controlled drug - delivery systems	توصيل الدواء المتحكّم به
Controlled drug release	إطلاق دواء متحكّم به
Controlled electrospinning	غزل كهربائي خاضع للتحكّم
Controlled induction of tissue formation	تحفيز متحكّم به لتشكيل الأنسجة
Controlled release	إطلاق متحكّم به
Controlled variables	متغيرات متحكّم بها (خاضعة للتحكم)
Convective flow	تدفق الحمل
Convective mixing	مزج الحمل

Conventional materials	مواد اعتيادية (تقليدية)
Copper electrode	قطب كهربائي من النحاس
Coral bone grafts	طُعوم عظمية مَرَجَانِيَّة
Cord blood stem cells	خلايا جذعية من دم الحبل السُّرِّيّ
Core - shell polymer nanofibers	ألياف نانوية بوليميرية ذات لُبّ وقشر
Core - shell structure	بنية لبية - قشرية
Corneal epithelium	ظَهَارَةُ الْقَرْنِيَّة
Corona or plasma discharge	تفريغ الهالة أو البلازما
Coronary	شرايين تاجية
Coronary artery and peripheral vascular diseases	أمراض الشرايين التاجية والأوعية الدموية المحيطية
Coronary bypass surgeries	جراحات تحويل الشريان التاجي
Corrosion	تآكل
Cortical bone, see Compact bone	عظم قشريّ، انظر عظم مُكْتَنَر
Corticosteroids	ستيرويدات قشرية
Counterions	أيونات معاكسة
Covalent chemical immobilization	تثبيت كيميائي تساهمي
Covalent coupling	اقتران أو ربط تساهمي
Covalent interactions	تفاعلات تساهمية
Covalent linkages	روابط تساهمية
Crack bridging mechanism	آلية تجسير الشق
Crack deflection mechanism	آلية انحراف أو تغيير مسار الشق
Craniofacial repair	إصلاح قحفي وجهي
Crazing	تشقق
Creep unrecovered strain	انفعال تغيير الشكل غير المسترد
Crohn's disease	داء كرون (داء الورم الحبيبيّ الالتهابي الهضمي المزمن)
Cross - talk	نقل متبادل
Cross linking	ربط عَرَضِيّ أو متشابك
Cross linking, thermomechanical performance	ربط متشابك، أداء ميكانيكي حراري
Crossbars	خطوط مستعرضة

Crosslinked networks	شبكات مترابطة
Crystallinity	تبلور
Curvatures	انحناء أو تقوس
Cyclic adenosine monophosphate (cAMP)	أحاديّ فوسفات الأدينوزين الحلقيّ
Cyclic loading	تحميل دوري
Cyclic polycationic peptide antibiotic	مضاد حيوي ببتيدي حَلَقِيّ متعدد الكاتيونات
Cyclical mechanical stretch	شدّ ميكانيكي دَوْرِيّ
Cyclohexane	سيكلوهيكسان
Cyclopeptides	ببتيدات حلقية
Cytocompatibility	توافقية خلوية
Cytokines	سيتوكينات
Cytoplasm	سيتوبلازم
Cytoplasmic cytoskeleton	هيكل الخلية الهَيَوَلِيّ
Cytoplasmic region	منطقة هَيَوَلِيّة
Cytosine	سيتوزين
Cytoskeletal organization	تنظيم هيكل خلوي
Cytoskeletal reorganization	إعادة التنظيم الهيكلي الخلوي
Cytoskeleton	هيكل الخلية
Cytosolic	عُصَارِيّ خلوي
Cytotoxic solvents	مذيبات سامة للخلايا
Cytotoxicity	سُمِّيّة خلوية

D

Dacron, see Polyethylene terephthalate	داكرون، انظر بولي إيثيلين تيريفثالات
Damköhler number	عدد دامكولار
Damping factor	عامل التخميد
Deformation	تشوّه (تغير الشكل)
Deformation mechanisms	آليات التشوّه
Degenerative arthritis	التهابات نَنكُسيّة
Degradable nontoxic material	مادة غير سامة قابلة للتحلل

Degradation rate	معدل التحلل
Degradative enzymes	إنزيمات حائلة
DegraPol, skeletal muscle tissue engineering	ديغرابول، هندسة أنسجة العضلات الهيكلية
Dehydration	تجفاف (ضياح السوائل والشوارد)
Delivery vehicles	وسائل نقل أو توصيل
Denatured forms	أشكال متمسكة
Dendrimers	متغصنات عديدة (جزيئات كروية كبيرة متفرعة)
Deposition	ترسيب
Dermatan sulfate	كبريتات الديرماتان
Dermis	أدمة (باطن الجلد تحت البشرة)
Designer self - assembling peptide scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ببتيدية مصممة ذاتية التجميع
Detoxification	تخلص من السموم
Developing gonadal ridge	غدة تناسلية نامية
Developmental biology	علم الأحياء أو البيولوجيا التطورية
Dexamethasone	ديكساميثازون
Dextran	دكستران
Diacylate compounds	مركبات أكريليت ثنائية
Diaphyseal defects	عيوب جاذبية
Diastolic loading	تحميل انبساطي
Dielectric constant	ثابت العزل الكهربائي
Dielectrophoretic forces	قوى رحلانية مزدوجة
Diethyl fumarate mixtures	فومارات ثنائي الإيثيل
Differentiation	تمايز
Diffraction limit	حد الانعراج
Diffraction optics	بصريات الانعراج
Diffusion	انتشار
Diffusion kinetics	طاقات حركية للانتشار
Diffusional mass transfer	نقل كتلي انتشاري
Diffusivity	انتشارية

Dilute sucrose solutions	محاليل سُكروز مخففة
Dimer	دَيَمَر
Dip - pen nanolithography (DPN)	حفر نانوي باستخدام رأس أو قلم منغمس أو مُغَطَّس
Dipole moment	عزم القطب المزدوج
Direct - write techniques	تقنيات الكتابة المباشرة
Direct contact toxicity	سُمِّيَّة بالاتصال المباشر
Directed cell and tissue regeneration	تجديد موجه للخلايا والأنسجة
Directed growth	نمو مُوجَّه
Directed motility	تحرك مُوجَّه
Disaccharide	ثنائي السَّكَّاريد
Disease - disorder	مرض - اضطراب
Dispersion power	قوة التشتت أو التبدد
Dissolution	ذوبان
Disulfide bond	رابط ثنائي السُّلفيد
DNA	حمض ربي نووي متروَّع الأوكسجين
Dopants	عوامل مُنَشِّطة
Dorsal root ganglia	عُقَد الجَذَر الظَّهْرانيّ
Double - stranded	مزدوج الضفيرة
Drilled - through holes	ثقوب مفتوحة النهاية
Droplets	قطرات
Drug / toxin screening	فحص دوائي / سميّ
Drug delivery	توصيل الدواء
Drug encapsulated nanofiber scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية مُغلَّفة بالدواء
Drug encapsulation	تَمَحْفُظ (تغليف) الدواء
Drug target validation	تحقق من صحة الهدف الدوائي
Dry etching	حفر جاف
Dual release kinetics	طاقات إطلاق حركية مزدوجة
Ductility	قابلية السَّحْب أو الليونة
Dynamic cell seeding	بذر خلايا ديناميكي

Dynamic compression	ضغط ديناميكي
Dynamic imaging	تصوير ديناميكي
Dynamic mechanical analysis	تحليل ميكانيكي ديناميكي
Dynamic reciprocity model	نموذج تبادلية ديناميكي
Dynamic seeding	بذر ديناميكي
Dynamic shearing	قص ديناميكي
Dynamic stiffness	صلابة ديناميكية
Dysfunction	خلل وظيفي
Dystroglycan	ديستروغليكان

E

E - beam - etched PMMA stencil	مرسام (إستنسل) من بولي (ميثاكريلات الميثيل) محفور بالحزمة الإلكترونية
Early bone deposition	ترسيب مُبكر للعظم
Eclectically conducting	مُوصِّل كهربائيًا
ECM derived protein sequences	متواليات (تسلسلات متعاقبة) البروتين المشتق من المصفوفة خارج الخلية
ECM mineralization	تمعدن المصفوفة خارج الخلية
ECM nanofibrils	لييفات المصفوفة خارج الخلية النانوية
ECM proteins interaction	تفاعل بروتينات المصفوفة خارج الخلية
ECM receptors	مستقبلات المصفوفة خارج الخلية
ECs and vSMCs confluent monolayer	طبقة أحادية متكدسة من خلايا بطانية وخلايا عضلية وعائية ملساء
Ectoderm	أديم ظاهر
Ectopic site	موقع مُتَبَدِّل
Effectors	مستفعلات (مستجيبات)
Efficacy	فعالية
Efficient transport	نقل فعّال
Elastic modulus	معامل المرونة
Elastic properties	خصائص المرونة

Elastin electrospun scaffolds	حاملات خلايا مغزولة كهربائياً من الإيلاستين
Elastin fibrils	لُيَيفَات الإيلاستين
Elastins	إيلاستينات
Elastomeric molds	قوالب مرنة
Elastomeric stamp	ختم أو طبعة مرنة
Electrical conductivity	موصِّلِيَّة كهربائية
Electrical stimulation	تحفيز كهربائي
Electrical syncytium	مَخْتَلَى كهربائي
Electrically charged jet	نفاث مشحون كهربائياً
Electrodeposition processes	عمليات الترسيب الكهربائي
Electron beam lithography (EBL)	حفر باستخدام الحزمة الإلكترونية
Electroosmotic mobility	تنقل أو تحرك تَنَاضُجِيّ كهربائي
Electrophoresis	رَحْلَان كهربائي
Electrophysiological properties	خصائص فيزيولوجية كهربائية
Electropolymerization	بلمرة كهربائية
Electroporation	نَفُوذِيَّة كهربائية
Electrospinning	غزل كهربائي
Electrospinning parameters	بارامترات (محددات) الغزل الكهربائي
Electrospinning techniques	تقنيات الغزل الكهربائي
Electrospraying	رش كهربائي
Electrospun collagen type II	كولاجين من النمط الثاني مغزول كهربائياً
Electrospun crosslinked polybutadiene fibers, SEM cross - sectional images	ألياف البولي بوتادين المتشابكة المغزولة كهربائياً، صور مقطعية عرضية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح
Electrospun fibers	ألياف مغزولة كهربائياً
Electrospun nanofibers	ألياف نانو مغزولة كهربائياً
Electrospun nonwoven interconnected membranes	أغشية مغزولة كهربائياً غير محبوكة مترابطة فيما بينها
Electrospun PLLA nanofiber	ألياف بولي (حمض-إل-لاكتيك) نانوية مغزولة كهربائياً
Electrospun scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة مغزولة كهربائياً
Electrostatic	كهرستاتيكي (كهربائي ساكن)

Electrostatic attractions	تجاذبات كهروستاتيكية
Electrostatic interactions	تفاعلات كهروستاتيكية
Electrostatic layer - by - layer (LbL) based coatings	طبقات غلاف خارجية كهروستاتيكية مبنية طبقة تلو الطبقة
Electrostatic spinning	غزل كهروستاتيكي
Embossing master techniques	تقنيات نقش الطبقة الرئيسية
Embryogenesis	تكوّن جنيني
Embryoid bodies (Ebs)	أجسام جنينية مُضغّية الشكل
Embryonic germ cells	خلايا جنسية جنينية
Embryonic lethality	إماتة جنينية
Embryonic stem cells	خلايا جذعية جنينية
Emulsion	مُستحلب
Encapsulate	تغليف أو تمحفظ
Encapsulated cells	خلايا مُمَحْفَظَة (مُغلّفة)
Encapsulated drug	دواء مُمَحْفَظ (مُغلّف)
Encapsulated drug fabrication	تصنيع دواء مُمَحْفَظ (مُغلّف)
Endocardium	شعاف
Endocytic trafficking	مرور التّقامي
Endocytosis	التقام
Endoderm	أديمٌ باطن
Endogenous repair	إصلاح داخلي المنشأ
Endoskeleton of vertebrates	هيكل داخلي للفقاريات
Endosome	دُخْلُول (جُسيم داخلي)
Endosteal bone	بطانة العظم
Endothelialization	تَبَطْن (اندمال البطانة)
Engineered cartilage	غضروف مُهندَس
Engineered matrices	مصفوفات مُهندَسة
Engineered nerve constructs	بُنى عصبية مُهندَسة
Engineered tissue	أنسجة مُهندَسة
Engraftment	نقص نمو الطُعم

Entanglements	تشابكات
Envelope cone	مخروط مُغلّف
Environmental triggers	محفزات بيئية
Enzymatically digesting	هضم النسيج إنزيمياً
Epicardium	نخاب
Epidermal - derived stem cells	خلايا جذعية مشتقة من البشرة
Epidermal tissue engineering	هندسة أنسجة البشرة
Epidermal tissues	أنسجة البشرة
Epidermis	بشرة
Epithelial function	وظيفة ظهارية
Epithelial polarity	قطبية ظهارية
Epithelium	ظهارة
Epitopes	حواتم (في المستضد)
Equilibrium modulus	معامل التوازن
Esterases	إنزيمات الإستيراز
Ethanol	إيثانول
Evaporative cooling phenomenon	ظاهرة التبريد التبخري
Exogenous cell source	مصدر خلايا خارجية المنشأ
Exogenous differentiated myoblast	خلايا أرومة عضلية متميزة خارجية المنشأ
Exogenous microorganisms	ميكروبات خارجية المنشأ
Experimental myocardial infarction	احتشاء تجريبي لعضلة القلب
External magnet field	حقل مغناطيس خارجي
Extracellular barriers	حواجز خارج الخلية
Extracellular matrix (ECM)	مصفوفة خارج الخلية
Extracellular matrix interactions	تفاعلات المصفوفة خارج الخلية
Extreme ultraviolet (EUV) lithography	حفر شديد بالأشعة فوق البنفسجية
Extruded implants	زرعات مقذوفة
Extrusion	قذف أو بثق
Extrusion deposition	ترسيب بالقذف

F

Fabrication	تصنيع
Fatigue	تعب أو إجهاد
Feed rate	معدل التغذية
Fenestration size	حجم النُوفَذَة
Fetal tissues	أنسجة جنينية
FIB milling	ترقيق باستخدام حزمة أيونية مركزة
Fiber deformation and failure mechanisms	تشوّه (تغيير شكل) الليف وآليات الفشل
Fiber diameter and morphology	قطر وشكل الليف
Fiber orientation angle	زاوية اتجاه الألياف
Fiber reinforcements	تعزيزات الألياف
Fiber take - up velocity	سرعة سحب الألياف
Fibers, biosynthetic and synthetic	ألياف، تركيبية حيوية وتركيبية
Fibrillar morphology	شكل ليفي
Fibrinogen	مولد الليف (الفيرينوجين)
Fibroblast growth factor-2 (FGF-2)	عامل نمو خلايا الأرومة الليفية-٢
Fibronectin and laminins	فبرونيكتين ولامينينات
Fibronectin, glycoprotein	فبرونيكتين، بروتين سُكّري
Fibrosis	تليف
Fibrous encapsulation	تمحفظ أو تغليف ليفي
Field - deployable biosensors	حساسات حيوية قابلة للانتشار الحقلية
Field emission scanning electron microscopy - FESEM	مجهر إلكتروني ماسح ذي إصدار حقلية
Fight or flight response	استجابة المحاربة أو الفرار
Filamentous ECM components	مكونات خيطية للمصفوفة خارج الخلية
Filler - reinforced composites and nanofibers	مركّبات وألياف نانوية مُعزّزة بِحَشْوَة
Filler materials	مواد حشو
Film deposition	ترسيب فيلم (طبقة رقيقة)
Filopodia of cells	أرجل كاذبة خيطية للخلايا
Filtration	ترشيح

Finite element analysis	تحليل العناصر المحدودة
Flexural modulus	معامل الانحناء أو الثني
Flocculation	تَنَدُّف (تلبد)
Flow - induced shear	قص محرض أو ناتج عن التدفق
Fluorescence imaging	تصوير متألق
Fluorescence visualization	إظهار متألق
Foams	رغوات
Focal adhesions, plaques	التصاقات بُؤْرِيَّة، لُويَحَات
Focused ion beam lithography (FIBL)	حفر باستخدام الحزمة الأيونية المركزة
Foreign body giant cells	خلايا الجسم الغريب العملاقة
Foreign body response	استجابة الجسم الأجنبي
Formation	تشكيل
Fracture fixation	تثبيت الكسر
Fracture toughness	صلابة الكسر
Fraunhofer diffraction	انعراج فراونهوفر
Free - floating scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة عائمة بشكل حر
Free oxygen radicals	جذور الأكسجين الحرة
Freeze - drying	تَجْفِيد (تجفيف بالتجميد)
Fresnel diffraction	انعراج فريسنل
Frustrated phagocytosis	بَلْعَمَة مثبّطة أو محبّطة
Fumaric acid	حمض الفوماريك
Functional genomics	جينيومات وظيفية
Functional groups activation	تفعيل (تنشيط) مجموعات وظيفية
Functional inhibitors	مثبطات وظيفية
Functionality	تحديد وظيفي
Functionalizing	تحديد وظيفي
Functions	وظائف
Fused deposition modeling (FDM)	تشكيل الترسيب المصهور

G

Galactose	غالاكتوز
Gas - phase silanization reaction	تفاعل سيلنة طوري غازي لتغطية السطح بالتجميع الذاتي لجزئيات عضوية وظيفية من ألكوكسي سيلين (جزئيات ألكيل أو كسجين سيليكون - هيدروجين)
Gas foaming and emulsion freeze drying	رغوة غازية وتجميد (تجفيف بالتجميد) المستحلب
Gastrointestinal tract	سبيل هضمي معدي معوي
Gelatin	جيلاتين
Gene delivery and barriers	توصيل جيني وحواجز
Gene expression	تعبير جيني
Gene expression and cell morphology	تعبير جيني ومورفولوجيا أو شكل الخلية
Gene transcription	نسخ جيني
Gene translation	نقل جيني
Gene vectors	ناقلات الجينات
Genetic material delivery	توصيل مواد جينية
Genetically modified	معدل وراثياً أو جينياً
Genotype	نمط جيني
Geometry sensing	استشعار الأشكال الهندسية
Germ layers	طبقات مُنتَشَة
Glandular epithelial organs	أعضاء ظهارية غُدِّيَة
Glass transition temperature	درجة حرارة التحول الزجاجي
Glial cells	خلايا دبقية
Glial scar tissue	نسيج ندبي دَبْقِي
Globular protein	بروتين كروي
Glucosamine	غلوكوز أمين
Glucosaminoglycan (GAG)	غلوكوزامينوغليكان
Glycine - aspartic acid sequence	تسلسل حمض غليسين - أسبارتيك
Glycoproteins	جليكوبروتينات

Glycosaminoglycans (GAGs)	غليكوز أمينوغليكانات
Golgi apparatus	جهاز غُولْجي
Gradients	تدرجات
Graft polymerization	بلمرة الطُعم
Granulation tissue	أنسجة حَبَبِيَّة
Granulocyte colony - stimulating factor (G-CSF)	عامل تحفيز مستعمرة الخلايا الحَبَّية
Gravity and microsphere sintering	تصليب أو تلييد بالجاذبية والجسيمات المركزية
Grounded collector	مُجمِّع مُؤرَّض
Grounded target	هدف مُؤرَّض
Growth - inducing stimulus	محفز يحث على النمو
Growth factor delivery	توصيل عامل النمو
Growth factors	عوامل نمو
Growth medium	وسط النمو
Growth phases	أطوار النمو
Guanine	جوانين
Guided neurite growth	نمو المحوار العصبي الموجَّه

H

Hard tissues	أنسجة صلبة
Haversian canal	نَقْفُ هافيرسي (النَقْفُ المَعْدِّي للعَظْم)
Healing process	عملية الشفاء
Heart	قلب
Heart failure	فشل القلب
Heat treatment, annealing	معالجة حرارية، تُلْدِين
Helical Rosette Nanotubes (HRN)	أنابيب نانوية حلزونية زُهَيْرِيَّة أو وردية (على شكل وردة)
Helix conformation	تشكيل حلزوني
Hematomas	أورام دموية
Hematopoiesis	تكوُّن الدم
Hematopoietic stem cells	خلايا جذعية مُكوِّنة للدم
Hemodynamic factors	عوامل ديناميكية دموية

Hemoglobin	هيموغلوبين
Hemopoietic stem cells	خلايا جذعية مُكوِّنة للدم
Heparin sulfate	سلفات (كبريتات) الهيبارين
Hepatocyte growth factor (HGF)	عامل نمو الخلايا الكبديَّة
Hepatocytes	خلايا كبديَّة
Heterobifunctional cross - linkers	روابط متشابكة عَبرَويَّة ثنائية الوظيفة
Heterodimer	مركب مُثنوي مُغاير (مركب ثنائي ذا صيغة جزيئية غير متجانسة)
Heterodimer glycoproteins	بروتينات سكرية مثنويَّة مغايرة
Heterogeneous distribution	توزيع غير متجانس
Heterotypic	غَيري النمط
Heterotypic cell - cell interactions	تفاعلات خلايا - خلايا غيريَّة النمط
Hierarchal design	تصميم هرمي
Hierarchical porous structures	بُنى مسامية ترأُتبيَّة أو هرمية
High affinity binding interaction	تفاعل ربط عالي الألفة (الانجذاب)
High aspect ratio rotating vessels (HARV)	أوعية دَوَرائية ذات نسبة جانبية عالية
High viscosity fluids	سوائل أو موائع عالية اللزوجة
Highly porous structure	بنية مسامية عالية جدًّا
HIV TAT sequence	مُتوالية الجين الخاص بفيروسُ العَوَزِ المناعيِّ البَشَريِّ (فيروسُ الإيدز)
hMSC viability	قدرة الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية على البقاء على قيد الحياة
hMSCs	خلايا جذعية متوسطة بشرية
Homeostasis	استتباب
Homeostatic tissue	أنسجة استتبابية أو متوازنة
Homobifunctional linkers	روابط متماثلة (من نفس النوع) ثنائية الوظيفة
Homogenization	تجانس
Hot embossing	نقش ساخن
Howship's lacunae	جَوَوات هاوشيب (جَوَوات امْتِصاصيَّة)

Human dermal fibroblasts	خلايا الأرومة الليفية الجلدية البشرية
Human embryos	أجنة بشرية
Human epidermal keratinocytes	خلايا كيراتينية بشرية
Human fetal osteoblasts (hFOB)	خلايا جنينية بشرية بانية للعظم
Human ligament fibroblasts (HLFs)	خلايا الأرومة الليفية للرباط البشري
Human mesenchymal stem cells (hMSCs), PCL nanofibrous scaffolds	خلايا جذعية متوسطة بشرية، حاملات خلايا وأنسجة من ألياف البولي كابريولاكتون النانوية
Human umbilical cord vein endothelial cells (HUVECs) adhesion	التصاق الخلايا البطانية البشرية من وريد الحبل السري
Human umbilical endothelial cells	خلايا الحبل السري البطانية البشرية
Human umbilical vascular endothelial cells (HUVECs)	خلايا بطانية وعائية سرية بشرية
Humoral signals	إشارات خلطية
Hyaluronan, nonfibrous components	هياالورونان، مكونات ليفية نانوية
Hyaluronic acid	حمض الهياالورونيك
Hyaluronidases	إنزيمات الهياالورونيداز
Hybrid constructs	بنى هجينة
Hybrid living - artificial systems	أنظمة اصطناعية - حية هجينة
Hydrated network	شبكة مُميهة
Hydration	تَمِيه
Hydrogel	هلام مائي
Hydrogels, scaffold fabrication	هلامات مائية، تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة
Hydrogen bonding	ربط هيدروجيني
Hydrolysis	حَلْمَهة أو تحلل مائي
Hydrolyzable ester bonds	روابط الإستر القابلة للحلمهة
Hydrophilic	ألفة للماء
Hydrophilic polymers	بوليمرات محبة للماء
Hydrophilic surface	سطح محب للماء
Hydrophilicity	حب للماء
Hydrophobic surfaces	سطوح كارهة للماء
Hydrophobicity	كراهية للماء

Hydrostatic pressure	ضغط هيدروستاتيكي
Hydroxyapatite (HA)	هيدروكسي آباتيت
Hydroxyapatite and calcium phosphate	هيدروكسي آباتيت وفوسفات الكالسيوم
Hypoxic	ناقص التأكسج
I	
Imitate	محاكاة
Immiscibility	قابلية المزج
Immobilizing peptides	تثبيت الببتيدات
Immortalized human brain astrocytoma	خلايا ورم نجمي دماغي بشري مُعمّرة
Immune cells	خلايا مناعية
Immune rejection	رفض مناعي
Immune response	استجابة مناعية
Immune system response	رد فعل الجهاز المناعي
Immunogenic	مُسْتَمْنَع
Immunogenicity	اسْتِمْنَاع
Immunoglobulins	غلوبولين مناعيّ
Immunohistochemistry	كيمياء هيستولوجية مناعيّة
Immunologic response	استجابة مناعية
Immunology	علم المناعة
Immunosuppressive agents	عوامل مثبّطة للمناعة
Immunosuppressive therapy	علاج مثبّط للمناعة
Impact	تأثير
Impedance	ممانعة
Implant - bone interface	سطح بيني فاصل بين الطُّعْم - والعظم
Implant migration	هجرة (تحرك) الطُّعْم أو المادة المزروعة
Implantation	عملية زَرْع
Implanted devices	أجهزة مزروعة
Implants wear	اهْتِراء الطُّعُوم
In situ	موضعي

In situ imaging	تصوير موضعي
In vitro	في المختبر
In vivo	في الجسم الحي
Inactivation	تعطيل
Inert coatings	طبقات طلاء خارجية خاملة
Infarctuated myocardia	أنسجة عضلة قلب متتخّرة (ميتة)
Infection resistant	مقاوم للعدوى
Inflammation	التهابات
Inflammatory capsules	كبسولات التهابية
Inflammatory cytokines	سيتوكينات التهابية
Inflammatory reactions	تفاعلات التهابية
Influenza virus hemagglutinin subunit (HA-2)	وَحْدَةُ الرَّاصَّةِ الدَّمَوِيَّةِ لفيروس الانفلونزا
Infrared laser	أشعة ليزر تحت الحمراء
Infusion of isolated cells	حقن الخلايا المعزولة
Ingrowth	نمو أو نُشُوب
Inhibition	تشبيط
Inhomogeneous distribution	توزيع غير متجانس
Initial burst	انفجار أولي
Initial cellular activities	فعايلات خلوية أولية
Initial cellular attachment	التصاق خلوي أولي
Initial hMSCs seeding density	كثافة أولية لبذر الخلايا الجذعية المتوسطة البشرية
Initiated chemical vapor deposition (iCVD)	ترسيب مبدوء للأبخرة الكيميائية
Injection molding	قولبة بالحقن
Ink - jet printing	طباعة بتقنية نفث الحبر
Inner cell mass of blastocyst	كتلة الخلايا الداخلية لكيسات أُرِمِيَّة
Innervation	تعصيب
Inorganic nanoparticles	جسيمات نانوية غير عضوية
Insolubility	عدم القابلية للانحلال أو الذوبان
Insoluble complexes	مركبات غير قابلة للذوبان

Integrin expressions	تعايير إنتغرينية
Integrin interaction	تفاعل الإنتغرين
Integrin receptors	مستقبلات الإنتغرين
Integrin specificity	تحديدية إنتغرينية
Intensity of irradiation	شدة التشعيع
Inter jet Columbic repulsion	تنافر كولومي داخل النفث
Intercellular communication	اتصالات بين الخلايا
Interconnectivity	ترابط بيني
Interfacial bond	رابط بيني
Interfiber interaction	تفاعل بين الألياف
Interior stomach lining	بطانة داخلية للمعدة
Intermolecular interactions	تفاعلات بين جزيئية
Intermolecular ionic interactions	تفاعلات أيونية بين الجزيئات
Internalization	استيعاب أو تدخيل
Intervertebral disks	أقراص بين الفقرات
Intimal hyperplasia	فرط تنسج (تضخم) باطنة الشريان
Intimal occlusion	انسداد باطنة الشريان
Intracellular	داخل الخلايا
Intracellular esterase	إنزيم الإستراز داخل الخلوي
Intracellular signaling	نقل الإشارات داخل الخلايا
Intracellular signaling and remodeling	نقل الإشارات وإعادة التشكيل داخل الخلوي
Intramembranous part	جزء داخل غشائي
Intraperitoneal (IP)	داخل الصفاق
Intravenous catheter	قثطرة وريدية
Involution	أوب (الالتفاف أو الانطواء إلى الداخل)
Ion beam deposition	ترسيب باستخدام الحزمة الأيونية
Ion beam optics	بصريات الحزمة الأيونية
Ion bombardment	قصف أيوني
Ionic bonding	ربط أيوني

Ionic interactions	تفاعلات أيونية
Irradiation time	زمن التشعيع
Irreversible deformation	تشوه لا عكوس
Ischemia	نقص تروية
Ischemic hindlimb	قائمة خلفية إقفارية
Ischemic organs	أعضاء إقفارية
Isotonic solution	محلول متساوي التوتر

J

Joint cartilages	غضاريف المفاصل
Junctions	موصلات (نقاط الاتصال)

K

Keratin sulfate	كبريتات الكيراتين
Kidney glomerulus	كُبيبة كلوية
Kinases	إنزيمات الكيناز
Kinetics	طاقات حرارية
Knitted scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة محبوكة
Knitting process	عملية الأنتام
Kupffer cells	خلايا كُوبفر (خلايا وعائية كبدية)

L

Labeling	تمييز (وسم)
Labile cells	خلايا غير مستقرة
Lactate dehydrogenase (LDH)	إنزيم نازعة هيدروجين اللاكتات
Lactic acid	حمض اللاكتيك
Lactide	لاكتيد
Lactogenic cues	منبهات محفزة للإلبان
Lactogenic hormones	هرمونات محفزة للإلبان
Lacunae	جَوَّات (فجوات صغيرة)
Lacunae, cortical bone	جَوَّات، عَظْم قِشْرِيّ

Laden hydrogels	هلامات مائية حاملة
Lamellae	صفائح
Lamellar bone	عظم صفاجي
Lamellipodia	أقدام صفاجية
Laminar flow	تدفق صفائحي
Lamination	تصفيح
Laminin - rich basement membrane (IrBM)	غشاء قاعدي غني بروتين اللامينين
Laminins, glycoprotein	اللامينينات، بروتين سُكري
Laser - guided direct writing (LGDW)	كتابة مباشرة مُوجهة بالليزر
Laser beam	شعاع أو حزمة من الليزر
Laser micromachining	قطع مايكروني بواسطة الليزر
Laser scanning confocal microscopy (LSCM)	فحص مجهرى مباتر ماسح بواسطة الليزر
Layer - by - layer	طبقة تلو الطبقة
Layer - by - layer deposition	ترسيب طبقة تلو الطبقة
Leaflet - sinus unit	وحدة وريقية - جيبية
Leaflets	وريقات
Lentivirus	فيروس بطيء
Leukapheresis techniques	فصادة الكُرَيَات البيض
Ligaments	أربطة
Ligase	ليغاز (إنزيم رابط)
Light - mediated chemical reactions	تفاعلات كيميائية بوساطة الضوء
Linear bending instabilities	عدم استقرار التقوّس الخطي
Lipid membrane	غشاء شحمي
Lipids	دهون أو شحوم
Lipophilic	ألفة للدهون
Lipoplexes	ضفائر شحمية
Liposomes	ليبوزومات
Liposuction	شفط الشحوم
Liquid nitrogen	نيتروجين سائل

Liquid photocurable monomer	مونومر (مَوْحُود) سائل قابل للمعالجة الضوئية
Liquid photopolymer	بوليمر ضوئي سائل
Liquid polymer	بوليمر سائل
Liver sinusoids	جيوب كبدية
Load - bearing	نشر الحمل
Load - deformation behavior	سلوك التشوه المرتبط بالحمل
Load transfer	نقل الحمل
Local acute inflammation	التهاب موضعي حاد
Localized resorption	ارتشاف موضعي
LSCM images and orientations	صور واتجاهات الفحص المجهرى المباثر الماسح بواسطة الليزر
LSCM imaging and orientation analysis	تصوير باستخدام الفحص المجهرى المباثر الماسح بواسطة الليزر وتحليل الاتجاه
Lubricating	تزليق
Lumen	لُمعة (تجويف)
Luminal epithelial cells	خلايا لُمعية ظهارية
Luminal surface	سطح لُمعيّ
Lymphatics	أوعية لمفاوية
Lymphocytes	لُمفاويّات أو خلايا لمفاوية
Lymphohematopoietic system	جهاز لمفاويّ مكونة للدم
Lymphoma	أورام لمفاوية
Lyophilization	تجفيد (تجفيف بالتجميد)
Lyoprotectants	واقيات ذوبان
Lysosomal - associated membrane protein (LAMP)	بروتين غشائي مرتبط بالجسيمات الحالة
Lysosome	يَحْلُول (جُسيم حالّ)

M

Macromolecule	جزيء ماكروي
Macrophages	بَلَاعِم (خلايا بلعية)
Macroporous scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ذات مسامية ماكروية
Macroscopic properties	خصائص ماكروسكوبية (عيانية كبيرة)

Magnetic nanoparticles	جسيمات نانوية مغناطيسية
Magnetic resonance imaging (MRI)	تصوير بالرنين المغناطيسي
Malnourishment	سوء التغذية
Mammalian cells	خلايا الثدييات
Mammary epithelium	ظهارة الثدي
Mammary gland morphogenesis	تَحَلُّقٌ أو تَكُونُ غُدَّةُ الثَّدْيِ
Mammary malignancy	خَبَاثَةُ الثدي
Manipulators	مُعالِجات
Marrow - derived mesenchymal stem cells (MSCs)	خلايا جذعية متوسطة مستمدة من النقي
Mass transfer	نقل كتلي
Materials cells and growth factors	خلايا المواد وعوامل النمو
Matrices and basic tissue	مَطَارِس (مصفوفات) وأنسجة أساسية
Matrigel	ماتري جل
Matrix metalloproteases (MMPs)	إنزيمات البروتيناز الفليزية بالمصفوفة
Matrix of the bone	مصفوفة العظم
Matrix remodeling	إعادة تشكيل المصفوفة
Matrix, scaffold degradation	مصفوفة، تحلل حاملة الخلايا والأنسجة
Mature vascular network	شبكة وعائية ناضجة
Mechanical compliance	مُطَاوَعَة ميكانيكية
Mechanical deformation process	عملية تشوّه ميكانيكية
Mechanical manipulation	تلاعب ميكانيكي
Mechanical moduli	معاملات ميكانيكية
Mechanical properties	خصائص ميكانيكية
Mechanical resonance	رنين ميكانيكي
Mechanical signal	إشارة ميكانيكية
Mechanical stability	استقرار ميكانيكي
Mechanical stepping system	نظام الخُطى (الخطوة) الميكانيكي
Mechanical stimuli	محفزات ميكانيكية
Mechanical strength	متانة ميكانيكية

Mechanical stress	إجهاد ميكانيكي
Mechanism	آلية
Mechano - active scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة نشطة ميكانيكياً
Mechanotransduction	تَحَاسَّ (تحسس) ميكانيكي (ميكانيكا التبادل)
Media flow rate	معدل تدفق أو ساط التغذية
Medial layers	طبقات وسطانية
Medical devices	أجهزة طبية
Medullary canals	قنوات نخاعية
Melt electrospinning	غزل كهربائي لمصهور
Melting point	نقطة الانصهار
Membrane - active peptides	بتيدات ذات غشاء فَعَّال
Membrane - bound polysomes	عَدِيدَات الرِّيوسومات المرتبطة بالغشاء
Membrane ion channel	قناة غشائية أيونية
Meniscal fibrochondrocytes	خلايا غضروفية ليفية هِلَالَوِيَّة
Mesenchyme	لُحْمَة متوسطة
Mesenchyme cells	خلايا مُتَوَسِّطِيَّة
Mesoderm	أديمٌ متوسط
Mesodermal origin	منشأ أو أصل أديمي متوسطي
Metabolic activity	نشاط أو فَعَّالية استقلابية
Metabolites	مُسْتَقْلَبَات
Metabolization	استقلاب
Metal alloys	سبائك معدنية
Metalloproteinases	إنزيمات البروتيناز المعدنية
Metals	فِلِزَّات (معادن)
Metaphyseal regions	مناطق كُرْدوسِيَّة
Methanol - treated fiber cross section, AFM phase image	مقطع عرضي للليف معالج بالميثانول، صورة طورية باستخدام مجهر القوة الذرية
Methods and limitations	طرق وقيود
Methylene chloride	كلوريد الميثيلين

Micro - alignment	ترافف أو محاذاة مايكروية
Micro - contact printing (μ CP)	طباعة بالتماس المايكروي
Microcarriers	حوامل مايكروية
Microchannels	قنوات مايكروية
Microchip	رقاقة مايكروية
Microcontact printing (μ CP)	طباعة بالاتصال المايكروي
MicroCT	تصوير مقطعيّ محوسب مايكروي
Microelectromechanical systems (MEMS)	أنظمة إلكترونية ميكانيكية مايكروية
Microencapsulation	تغليف مايكروي
Microenvironment	بيئة مايكروية
Microenvironment - mediated signaling	نقل الإشارات بواسطة البيئة المايكروية
Microfabrication techniques, neural tissue engineering	تقنيات التصنيع المايكروي، هندسة الأنسجة العصبية
Microfilamentous	حزم خيطية مايكروية
Microfluidic	جريان مايكروي
Microfluidic networks	شبكات الجريان المايكروي
Microfluidic scaffolds	حاملات خلايا ذات جريان مايكروي
Microgravity	جاذبية مايكروية
Micromachining	قطع مايكروي
Micromolding and nanomolding	قوالب (تشكيل باستخدام قالب) مايكروية ونانوية
Micromolding in microcapillaries (MIMIC)	قوالب مايكروية في الشعيرات المايكروية
Micromotion	حركة مايكروية دقيقة
Micron rough	خشونة في مستوى المايكرون
Micron smooth	نعومة في مستوى المايكرون
Microorganisms	كائنات دقيقة
Microparticles	جسيمات مايكروية
Micropattern	زخرفة مايكروية
Microphase morphology	مورفولوجيا أو شكل طوري مايكروي
Microphase separation	فصل طوري مايكروي
Micropositioning system	نظام استئضاع (وضع) مايكروي

Microscale origami	أوريغامي في المستوى المايكروي
Microspheres	كُرَيَّات مايكروية
Microstructures	بُنى مايكروية
Microsyringe deposition	ترسيب بمحقنة مايكروية
Microtransfer molding (μ TM)	قولة بالنقل المايكروي
Migrating cells	خلايا متَنَقِّلة أو مهاجرة
Milling processes	عمليات ترقيق
Mimic	تقليد أو محاكاة
Mineral deposition	ترسيب معدني
Mineralized matrix	مصفوفة معدنة
Minimal essential medium (MEM)	وسط غذائي أساسي بسيط
Miscible solvent	مذيب قابل للمزج
Mitogens	مُحْدِثَات لِلانْقِسَامِ الفَتِيلِيّ
Mixing electrospinning	غزل كهربائي مزيج
Mixture composites	مُرَكَّبَات مَزِيجَة
Modification	تعديل
Modified surfaces	سطوح مُعدَّلة
Mold	قالب
Molecular agents	عوامل جزيئية
Molecular recognition sites	مواقع التعرف الجزيئي
Molecular structure	بنية جُزيئية
Molecular weight	وزن جزيئي
Molten material	مادة مُنصهرة
Monocyte tumor necrosis	نخر ورم الوحيدات
Monocytes	وَحِيدَات أو كريات أحادية النواة
Monodisperse diameters	أقطار أحادية التبعثر
Monomers	مَواحيد (مونومرات)
Montmorillonite platelets	صفائح مونت موريللونيت
Morphogens	مُحْدِثَات لِلتَّحَلُّق

Morphology	مورفولوجيا أو شكل
Mouse acini, in cell culture on laminin - rich ECM	عُنَيْبَات فَأَرِيَّة، في زراعة الخلايا على مصفوفة خارج الخلية غنية ببروتين اللامينين
MR contrast agent	عامل تباين الرنين المغناطيسي
mRNA	الْحَمَاضُ النَّوَوِيُّ الرَّيْبِي الْمُرْسَال
Mucosa	غشاء مخاطي
Multichannel electrodes	إلكترودات متعددة القنوات
Multilayer reflective EUV optics	بصريات الأشعة فوق البنفسجية الشديدة العاكسة متعددة الطبقات
Multilayer tissues	أنسجة متعددة الطبقات
Multilayering electrospinning (ME)	غزل كهربائي متعدد الطبقات
Multinucleated	متعدد النوى
Multiphoton excitation	إثارة الفوتونات المتعددة
Multiple necking phenomena in nanofibers	ظواهر الاختناقات المتعددة في ألياف النانو
Multiple punctures	عمليات بزل متعددة
Multipotent	متعدد القدرات
Multispinneret / emitter electrospinning	غزل كهربائي متعدد المغازل / الباعث
Multispinneret electrospinning	غزل كهربائي متعدد المغازل
Multivalent	متعدد التكافؤ
Multivalent chemical interactions	تفاعلات كيميائية متعددة التكافؤات
Multiwalled carbon nanotubes	أنابيب الكربون النانوية المتعددة الجدران
Murine mammary epithelial cells (NMuMG)	خلايا ظهارية ثديية فأرية
Muscle - derived stem cells	خلايا جذعية مشتقة من العضلات
Muscle, C2C12 skeletal myoblasts	عضلة، أرومات السي ٢ سي ١٢ العضلية الهيكلية
Musculoskeletal tissue engineering	هندسة الأنسجة العضلية الهيكلية
Myoblasts	خلايا الأرومة العضلية
Myocardium	عضلة القلب
Myoepithelial cells	خلايا ظهارية عضلية
Myofibril	لُييفة عضلية

Myofibroblasts	خلايا الأرومة الليفية العضلية
Myogenic cells	خلايا مولدة للعضل
Myoglobin	ميوغلوبين

N

N - Hydroxysuccinimide (NHS)	إن - هيدروكسي سوسينيميد
Nano - Newton load measurements	قياسات أحمال في مجال النانو نيوتن
Nanoceramics	سيراميك نانوي
Nanocolumns	أعمدة نانوية
Nanocomposites	مركبات نانوية
Nanoelectrode	إلكترودات نانوية
Nanoenvironment	بيئة نانوية
Nanofeatured biomaterials	مواد حيوية ذات سمات نانوية
Nanofiber mats	طبقات ألياف نانوية المستوية
Nanofiber polymers	بوليمرات ألياف النانو
Nanofiber scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية
Nanofiber technologies	تقنيات ألياف النانو
Nanofibers	ألياف النانو
Nanofibers, fibrillar morphology	ألياف النانو، مورفولوجيا أو شكل ليفي
Nanofibrous scaffold - cell interactions	تفاعلات حاملة خلايا وأنسجة ليفية نانوية - خلايا
Nanofibrous scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية
Nanoimprint lithographies	عمليات الحفر باستخدام طبقات نانوية
Nanoindentation	تقليم نانوي
Nanolithographic techniques	تقنيات الحفر النانوي
Nanomanipulation	تلاعب أو معالجة نانوية
Nanomaterial	مادة نانوية
Nanomedicine	طب النانو
Nanometric scale	مجال نانومتري
Nanoparticles and drugs release	جسيمات نانوية وإطلاق الدواء
Nanoparticles uses	استخدامات الجسيمات النانوية

Nanoparticles, neuroprotection	جسيمات نانوية، حماية عصبية
Nanoparticulate drug delivery system	نظام توصيل دواء جُسيمانيّ نانوي
Nanopatterning	زخرفة أو نقش نانوي
Nanophase alumina	ألومينا ذي طور نانوي
Nanophase materials	مواد ذات طور نانوي
Nanophase metalloids	فلزات معدنية ذات طور نانوي
Nanopowders	مساحيق نانوية
Nanoscaffolds with tissue specific patterns	حاملات خلايا وأنسجة نانوية مع أنماط (نماذج) محددة للأنسجة
Nanoscale dynamic signaling	نقل إشارات ديناميكي في مجال النانو
Nanoscale electrode arrays (NEAs)	مصغوفات أقطاب كهربائية في مستوى النانو
Nanostencil	مرسام (إستنسل) نانوي
Nanotechnologies, neural tissue engineering	تقنيات النانو، هندسة الأنسجة العصبية
Nanotechnology	تقنية النانو
Nanotopographic cues	منبهات طوبوغرافية سطحية نانوية
Nanotopographic signals	إشارات طوبوغرافية سطحية نانوية
Nanotopolgy	طوبولوجيا نانوية سطحية
Natural fibers	ألياف طبيعية
Natural materials	مواد طبيعية
Natural musculoskeletal tissues, nanostructures	أنسجة عضلية هيكلية طبيعية، بني نانوية
Natural polymers, tissue regeneration	بوليمرات طبيعية، تجديد الأنسجة
Near - field scanning probe	مسبار مسح الحقل القريب
Near - neutral zeta potential	جهد زيتا شبه المحايد
Necrosis	نخر الأنسجة
Necrosis of bone cells	نخر خلايا العظم
Neointimal lining of EC	باطنة شريان جديدة مُبطّنة للخلايا البِطانيّة
Neointimal wall	جدار بَاطنة الشَّريان الحديث
Neotissue formation	تشكيل أنسجة جديدة
Neovascularization	توعيّ حديث (تكوّن أوعية دموية جديدة)

Nerve generation	توليد العصب
Nerve growth factor (NGF)	عامل النمو العصبي
Nerve regeneration	تجديد الأعصاب
Nervous system	جهاز عصبي
Nervous tissue	نسيج عصبي
Neural interfacing	ربط بيني عصبي
Neural stem cells	خلايا جذعية عصبية
Neurite extension	امتداد المحوار العصبي
Neurobiology	بيولوجيا الأعصاب
Neuroblastoma cells	خلايا الأورام الأرومية العصبية
Neurofilament	خيوط عصبية
Neuronal and glial markers	دلالات أو واسمات عصبية ودبقية
Neuronal differentiation	تمايز عصبوني
Neuronal growth factor	عامل النمو العصبوني
Neuronal tissue regeneration	تجديد الأنسجة العصبونية
Neuroprotection	حماية عصبية
Neurotrophic factors	عوامل تغذوية عصبية
Neutrophils	عدلات
NGF - conjugated quantum dots (NGF - QDs)	نقاط كمية مقترنة بعامل النمو العصبي
NIL process	عملية الحفر باستخدام طبعة نانوية
Nitrocellulose - based coatings	طبقات غلاف خارجية مبنية على النيتروسيلولوز
Nonbiocompatible agents	عوامل غير متوافقة حيويًا
Nonbiodegradable	غير قابل للتحلل الحيوي
Noncellular component	مكون غير خلوي
Nonclustered heterodimer	مثنوي مغاير غير متعنقد
Noncompliant	غير لين أو مطاوع
Noncontact manipulation of cells	تلاعب بالخلايا بدون اتصال
Noncovalent interactions	تفاعلات غير تساهمية
Noncytotoxic	غير سام للخلايا

Nonfibrous components	مُكوّنات غير ليفيّة
Nonimmunogenic	غير مُستمنع
Nonmalignant human mammary epithelial cells, gene expression analysis	خلايا ظهاريّة ثدييّة بشرية حميدة (غير خبيثة)، تحليل التعبير الجيني
Nonsolvent - induced phase separation	فصل الطور المحدّث باستخدام اللامذبيات
Nonthrombogenic	غير مُخثّر
Nonviral vectors	نواقل غير فيروسية
Nuclear localization sequence	متوالية التّوضّع النووي
Nuclear membrane	غشاء نووي
Nuclear skeleton	هيكل نووي
Nucleation	تنوّي
Nucleic acid delivery	توصيل الحمض النووي
Nucleic acids	أحماض نووية
Nucleophiles	أليّفات التّواة
Nutrient transport	نقل المغذّيات

O

Oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) (OPF)	أوليغو (فومارات بولي (غليكول الإيثيلين))
Oligodendrocytes	خلايا دِبقية قليلة التّغصّن
Oligonucleotides	قليلات النّوكليوتيدات
Oligopeptide fragments	أجزاء قليل الببتيد
Oligopeptide surface concentration effects	تأثيرات التركيز السطحي لقليل الببتيد
Oligosaccharides	قليلات السّكّاريد
Opsonization	طُهاية
Optic nerve regeneration	تجديد العصب البصري
Optical lithographies	عمليات حفر ضوئي
Optical tweezers	ملاقيط ضوئية
Organ printing	طباعة الأعضاء
Organelles	عُضيّات
Organic solvents	مذيبيات عضوية
Orientations	اتّجاهات

Orthopaedic	عظمي
Orthopaedic surgery	جراحة تقويم العظام
Orthopaedic tissue	أنسجة عظمية
Orthopedic implant	طُعْم عظمي
Orthotics	مَبَحَثُ المقاوم (تقويم العظام)
Osmotic pressure	ضغط تناضحيّ
Osmotic pumps	مضخات تناضحيّة
Osseointegration	اندماج عظمي
Osteoblast adhesion	التصاق بانية العظم (خلية عظمية)
Osteoblasts	خلايا بانية للعظم
Osteocalcin	أوستيو كالسين
Osteocalcin secretion	إفراز الأوستيو كالسين
Osteochondral graft	طعم عظمي غضروفي
Osteochondral tissue	نسيج عظمي غضروفي
Osteoclasts	ناقِضَات العظم (خلايا ناقضة للعظم)
Osteocompatible scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة متوافقة عظمياً
Osteocompatibility	توافقية عظمية
Osteoconductivity	مُوصِلِيَّة عظمية
Osteocytes	خلايا عظمية
Osteocytic phenotypes	أنماط ظاهرية لتشكيل الخلايا العظمية
Osteogenesis	عملية تكوّن العظم
Osteogenic cells	خلايا مولدة للعظم
Osteogenic differentiation	تمايز مكوّن للعظم
Osteogenic differentiation, alkaline phosphatase (ALP) staining	تمايز عظمي المنشأ، تلوين بإنزيم الفُسْفَاز القلوي
Osteoinductive growth factors	عوامل نمو محفزة للعظم
Osteolysis	ال انحلال العظم
Osteons	عَظْمونات
Osteopontin (OPN) protein	بروتين أوستيوبونتين
Osteoporosis	هشاشة أو ترقق العظام

Osteoporotic bone	عظم مخلخل أو هش
Oxidative stress	إجهاد تأكسدي
Oxytocin	أو كسيتوسين (هرمون معجل للولادة)

P

Parameters	محددات أو بارامترات
Parenchymal cells	خلايا متنية
Parkinson	مرض باركنسون
Particulate - reinforced nanofibers	ألياف نانوية مُعززة بالجسيمات
Particulate leaching	انْتِفاذ أو استِغْسَال (ترشيح) الجسيمات
Particulate system	نظام جسيماتي
Passive adsorption method	طريقة الامْتِزاز (الامتصاص الكيميائي) السلي
Passive coatings	طبقات طلاء أو تغطية سلبية
Patency rate	معدل سالكية
Pathogenic	مُمْرِض
Pathogenic interactions	تفاعلات مُمرِضة
Pathological processes	عمليات باثولوجية (مَرَضِيَّة)
Pathway analysis	تحليل المسار
Patient - specific geometries	أشكال هندسية محددة للمرضى
PC12 cells	خلايا بي سي ١٢
PCL nanofibrous scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ليفية نانوية مصنوعة من البولي كابرولاكتون
Peclet number	عدد بيكلت
Pendent droplet	قطيرة معلقة أو متدلّية
Penetration depth	عمق الاختراق
Polyethylene oxide (PEO) nanofibers	ألياف بولي (أكسيد الإيثيلين) النانوية
Peptide - amphiphile nanofibers	ألياف نانوية من ببتيدات - مزدوجة الألفة
Peptide - coupling reagent	كاشف اقتران الببتيد
Peptide amphiphile molecules (PA)	جزيئات ببتيدية مزدوجة الألفة
Peptide biological scaffolds	حاملات خلايا ببتيدية بيولوجية

Peptide immobilization	تثبيت الببتيد
Peptide nanofiber scaffolds, designer self- assembling	حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف نانوية ببتيدية، مصممة بالنجميع الذاتي
Peptide nanotubes	أنابيب نانوية ببتيدية
Peptide scaffold, biomimetic and tissue engineering	حاملة خلايا وأنسجة ببتيدية، مُحاكية حيويًا وهندسة الأنسجة
Peptides	ببتيدات
Perfused bioreactors	مفاعلات حيوية ذات تدفق متواصل
Perfused chambers	حُجَيرات التدفق المتواصل
Perfused columns	أعمدة التدفق المتواصل
Pericellular coat	معطف محيط بالخلايا
Peripheral blood	دم المحيطي
Peripheral circulation	دوران محيطي
Peripheral limb ischemia	إِقفار (نقص تروية) الطرف المحيطي
Peripheral nerve grafting	تطعيم الأعصاب الطرفية
Peripheral vascular disease	مرض وعائي محيطي
Permeability	نَفوذِيَّة (نفاذية)
Perturbation wavelengths	أطوال موجات الاضطراب
Petri dishes	أطباق بَترِي
Phagocytic cells	خلايا بَلْعَمِيَّة
Phagocytose	تَبَلَّعَ
Phase image	صور طورية
Phase separation	فصل الطور
Phase transformation mechanism	آلية التحول الطوري
Phases	أطوار
Phenotype	نمط ظاهري
Phosphatases	إنزيمات الفُسْفَاز
Phosphate - buffered saline (PBS)	محلول ملحي مَدْرُوء بالفوسفات
Phospho - focal adhesion kinase (FAK)	التصاق فوسفاتي - بؤري لإنزيم الكيناز
Phosphorous	فوسفور

Photo - initiation	إِبتداء (تَحْرِيط) ضوئي
Photoactivation	تنشيط ضوئي
Photoactive acrylate	أكريلات نشطة ضوئياً
Photocrosslinkable double bonds	روابط ثنائية قابلة للارتباط بواسطة الضوء
Photocrosslinkable systems	أنظمة قابلة للارتباط بواسطة الضوء
Photocurable polymer	بوليمر قابل للتصلب بواسطة الضوء
Photoencapsulation	تَمَحْفُظ (تَغْلِيف) ضوئي
Photografting	تطعيم ضوئي
Photoinitiation reactions	تفاعلات الإبتداء أو التحريض الضوئي
Photoinitiators	بادئات أو مُحَرِّضَات ضوئية
Photolithography	طباعة أو حفر ضوئي
Photomask	قناع ضوئي
Photopolymerizable	قابل للبلورة الضوئية
Photopolymerization	بلورة ضوئية
Photoresists; see also Top - down lithography, for tissue engineering	مقاومات ضوئية؛ انظر أيضاً الحفر من أعلى إلى أسفل، من أجل هندسة الأنسجة
Photosensitive glass	زجاج حساس للضوء
Physical entrapment	انْفِخَاخ أو انحباس فيزيائي
Physical immobilization	تثبيت فيزيائي
Physical perturbation	اضطراب فيزيائي
Physical properties	خصائص فيزيائية
Physical stimuli	محفزات فيزيائية
Physical stresses	إجهادات فيزيائية
Physicochemical properties	خصائص فيزيائية كيميائية
Physiochemical phenomenon	ظاهرة فيزيائية كيميائية
Physiological salt conditions	ظروف مِلْحِيَّة فيزيولوجية
Physiological stresses and strains	إجهادات وانفعالات فيزيولوجية
Piezoelectric properties	خصائص كهروضغطية
Pigment dispersion	صباغ تَبْعُثْرِي

Pituitary	غدة نخامية
Plasma - treated surfaces	سطوح معالجة بالبلازما
Plasma spray deposition	ترسيب برش البلازما
Plasmid DNA	بلازميدة الحمض النووي
Plasmon lithography	حفر بالبلازمون
Plastic deformation	تشوّه لدن
Plasticity	تَكْيُفِيَّة
Platelet - derived growth factor	عامل النمو المشتق من الصفائح الدموية
Plates	صفائح
PLLA vs. poly(DTE carbonate) fibers	ألياف البولي (حمض-إل-لاكتيك) مقابل ألياف البولي (كربونات دي تي إي)
Plotting medium	وسط التخطيط أو الرسم
Pluripotent mesenchymal progenitor cells	خلايا السلف المتوسّطة متعددة القدرات
PMMA / SiO ₂ nanocomposite	مركّب نانوي من بولي (ميثاكريلات الميثيل) / ثاني أكسيد السيليكون
Polar and nonpolar surfaces	سطوح قطبية وغير قطبية
Polarized bilayered structure	بنية مُستَقَطَّة ثنائية الطبقات
Poly - amino acid	حمض البولي أمينو
Poly ethylene terephthalate	بولي إيثيلين تيريفثالات
Poly organophosphazenes as biomaterial	بولي الفوسفازينات العضوية كمادة حيوية
Poly(amido-amine) (PAA)	بولي (أميدو - أمين)
Poly(amino - ester)	بولي (أمينو إستر)
Poly(amino acids)	بولي (الأحماض الأمينية)
Poly(anhydride-co-imide)	بولي (ألهيدريد-كو-إيميد)
Poly(D, L-lactic acid) (PDLA)	بولي (حمض دي، إل-لاكتيك)
Poly(D, L-lactide) (PLA)	بولي (دي، إل-لاكتيد)
Poly(D, L-lactide-coglycolide) (PLAGA)	بولي (دي، إل-لاكتيد-كو غليكولايد)
Poly(di-methylsiloxane) (PDMS)	بولي (ثنائي سيلوكسين الميثيل)
Poly(DL-lactic acid) (PDLA)	بولي (دي إل-حمض اللاكتيك)

Poly(ϵ -caprolactone) (PCL)	بولي (ϵ -كابرولاكتون)
Poly(ether-ether-ketone) (PEEK)	بولي (إيثر-إيثر-كيتون)
Poly(ethylene glycol fumarate)	بولي (فومارات غليكول الإيثيلين)
Poly(ethylene glycol) (PEG)	بولي (غليكول الإيثيلين)
Poly(ethylene terephthalate glycol)	بولي (غليكول تيريفثالالات الإيثيلين)
Poly(ethyleneglycol) - terephthalate - poly(but terephthalate) (PEGT / PBT)	بولي (غليكول الإيثيلين) - تيريفثالالات - بولي (لكن تيريفثالالات)
Poly(glycolic acid) (PGA)	بولي (حمض الغليكوليك)
Poly(lactic acid) (PLA)	بولي (حمض اللاكتيك)
Poly(lactide-co-caprolactone) (PLCL)	بولي (لاكتيد-كو-كابرولاكتون)
Poly(lactide-co-glycolide) (PLGA)	بولي (لاكتيد-كو-غليكولايد)
Poly(L-lactic acid)	بولي (حمض إل-لاكتيك)
Poly(L-lactic-co-glycolic acid) (PLGA)	بولي (حمض إل-لاكتيك-كو-غليكوليك)
Poly(L-lysine) polymer	بوليمر البولي (إل-ليزين)
Poly(methyl methacrylate) (PMMA)	بولي (ميثاكريلات الميثيل)
Poly(ortho esters) (POEs)	بولي (أورثو إسترات)
Poly(propylene fumarate) (PPF)	بولي (فومارات البروبيلين)
Poly(pyrrole) (Ppy)	بولي (بيروول)
Poly(pyrrolidone)	بولي (بيروليدون)
Poly(vinyl alcohol) (PVA)	بولي (فينيل الكحول)
Poly(vinyl chloride)	بولي (كلورايد الفينيل)
Poly(α -hydroxy acid)	بولي (حمض ألفا-هيدروكسي)
Poly(α -hydroxy esters)	بولي (إسترات ألفا-هيدروكسي)
Poly(β -amino esters)	بولي (بيتا-أمينو إسترات)
Polyacrylamide	بولي أكريل أميد
Polyacrylic acid	بولي حمض الأكرليك
Polyamidoamine (PAMAM)	بولي أميدو أمين
Polyanhydrides and poly(ortho esters)	بولي أنهيدريدات و بولي (الإسترات الطبيعية)
Polyaniline (PANi), conductive properties	بولي أنيلين، خصائص توصيلية

Polycaprolactone (PCL)	بولي كابرولاكتون
Polycaprolactone nanofibers	ألياف البولي كابرولاكتون النانوية
Polycarbonate urethane (PCU)	بولي كربونات اليوريثان
Polycationic polymers	بوليمرات متعددة الكاتيونات
Poly-D, L-lactide (PLLA)	بولي-دي، إل-لاكتيد
Polyelectrolyte	بولي إلكتروليت (متعدد الكهارل)
Polyester	بوليستر
Polyesters, scaffolds	بوليستر، حاملات خلايا وأنسجة
Polyesterurethane	بولي إستر يوريثان
Polyetheretherketone	بولي إيثر إيثر كيتون
Polyethylene oxide nanofibers	ألياف أكسيد البولي إيثيلين النانوية
Polyethylene terphthalate (PET)	بولي إيثيلين تيريفثالات
Polyethylenimine (PEI)	بولي إيثيلين إيمين
Polyfumarates	بولي فومارات
Polyglycolide	بولي غليكولايد
Polyiminocarbonates	بولي إيمينو كربونات
Polylactic - polyglycolic (PLG) acid scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة من حمض البولي لاكتيك بولي غليكوليك
Poly lactide	بولي لاكتيد
Poly lactide coglycolide	بولي لاكتيد كو غليكولايد
Poly-L-lactide (PLL)	بولي-إل-لاكتيد
Polymer - based gene delivery	توصيل جيني مبني على البوليمر
Polymer blends	خلائط البوليمرات
Polymer matrix	مصفوفة البوليمر
Polymer microparticles	جسيمات بوليمرية مايكروية
Polymer mixture composites	مركبات بوليمرية مزيجية
Polymer resin	راتنج بوليمري
Polymer solution properties	خصائص محلول البوليمر
Polymer solution variables	متغيرات محلول البوليمر

Polymer variables	متغيرات البوليمر
Polymeric controlled release	إطلاق بوليمري متحكّم به
Polymeric scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة بوليمرية
Polymers	بوليمرات
Polymethacrylic acid (PMAA)	بولي حمض الميثاكريليك
Polypeptides	عَدِيدَات البَبْتِيد
Polyphosphazenes and composites	بولي فوسفازينات ومُركّبات
Polyplexes	ضفائر متعددة
Polysaccharides	عَدِيدَات السَّكَّاريد
Polystyrene	بوليستيرين
Polytetrafluoroethylene (PTFE)	بولي تترافلورو إيثيلين
Polyurethane (PU)	بولي يوريثين
Polyurethane nanofibrous scaffold	حاملة خلايا وأنسجة من ألياف البولي يوريثين النانوية
Pore - forming excipients	سِوَاعَات تشكيل المسام
Pore anisotropy	تباين المسام
Pore distribution	توزيع المسام
Pore interconnectivity	ترابط بيني مسامي
Pore occlusion	انسداد المسام
Pore shape	شكل المسام
Pore size	حجم المسام
Pores characteristics	تحديد خصائص المسامات
Porogen leaching	انْتِفَاز أو اسْتِعْسال البوروجين (مولد المسام) (مادة تستخدم لتشكيل فيلم مسامي عازل)
Porosity	مسامية
Porous negative mold	قالب مسامي سلبي
Post electrospinning treatment	معالجة ما بعد الغزل الكهربائي
Postnatally	بعد الولادة
Posttranscriptional gene silencing	تخميد جيني بعد النسخ
Potassium	بوتاسيوم

Precision extrusion deposition (PED)	ترسيب بالقذف الدقيق
Precursor filaments	خيوط طليعة
Preferential adhesion	التصاق تفضيلي
Preosteoblasts	خلايا أولية بانية للعظم
Preosteoclasts	خلايا أولية ناقضة للعظم
Pressure - driven microfluidics	جريانات مايكروية مُوجَّهة بواسطة الضغط
Pressure assisted microsyringe - based deposition (PAM)	ترسيب ميني على محقنة مايكروية تعمل بالضغط
Primary amines	أمينات أولية
Primary human vascular endothelial cells (HUVEC)	خلايا بطانية وعائية بشرية أولية
Principle involved	مبدأ المشاركة
Principle of engineering	مبدأ الهندسة
Probe	مِسْبار أو مِجَس
Process and mechanisms	عملية وآليات
Prochymal clinical trials	تجارب سريرية باستخدام البروشيمال لعلاج داء الطُعْم حيالَ الثَّويِّ الحاد وداء كرون
Prochymal therapy	معالجة باستخدام البروشيمال
Procoagulant activity	نشاط مُحَفِّز التَّخَثُّر
Procollagen precursor	طليعة البروكولاجين
Progenitor cells	خلايا السَّلَف (الخلايا الأصل)
Proliferation	تكاثر
Properties and structure	خصائص وبنية
Properties and types	خصائص وأنماط
Propylene glycol	غليكول البروبيلين
Prostheses	تعويضات أو بدلات
Proteases	إنزيمات البروتياز
Protein adsorption	امتزاز البروتين
Protein delivery	توصيل البروتين
Protein denaturation	تَمَسُّخ البروتين
Protein receptors	مستقبلات بروتينية

Protein structure	بنية البروتين
Proteoglycans	بروتيوغليكانات
Proteolipids	شحوم بروتينية
Proteolytic events	أحداث حالة للبروتين
Proton - sponge polymers	بوليمرات إسفنجية بروتونية
Proton beam writing (PBW)	كتابة باستخدام الحزمة البروتونية
Protons	بروتونات
Pulmonary - to - aortic autograft valves	صمامات من طعم ذاتي رئوي - إلى - أهري
Pulsatile blood flow	تدفق الدم النابض
Pulsatile flows	تدفقات نابضة
Pulsatile strain	انفعال نابض
Pulse duplicator testing	اختبار ناسخ (مُقلد) النبض
Pure stem cell - based therapies and clinical trials	معالجات وتجارب سريرية مبنية على الخلايا الجذعية النقية
Purifications	عمليات تنقية

Q

Quantum dots (QD)	نقاط كمّية
Quarternization reactions	تفاعلات الرّبع أو التّربيع
Quartz mask	قناع من الكوارتز
Quenching methods	طرق الإخماد

R

Radiolabeled isotopes	نظائر مشعة موسومة
Radiospacifiers	مباعدات راديوية
Random and aligned meshes	شبكات عشوائية ومتراصة
Random blends	خلائط عشوائية
Randomly blended nanofibers	ألياف نانوية مختلطة عشوائياً
Randomly oriented fibers	ألياف موجهة بشكل عشوائي
Rapid prototyping (RP) techniques	تقنيات النماذج الأولية السريعة
Rapid prototyping / solid freeform fabrication	تصنيع النماذج الأولية السريعة / الشكل الحر الصلب
Reaction initiators	بادئات أو مسببات التفاعل

Reaction rates	معدلات تفاعل
Reactive ion etching (RIE)	حفز أيوني تفاعلي
Reactive oxygen metabolites	مُستقلّبات الأكسجين التفاعليّة
Receptor - ligand affinity	ألفة أو انجذاب بين المستقبل – واللّجين
Receptor - ligand binding	ارتباط بين المستقبل – واللّجين
Reciprocal flow	تدفق مُتبادّل
Recombinant epidermal growth factor (EGF)	عامل نمو البشرة المأشوب (المؤتلف أو المعاد تركيبه)
Recombinant human bone morphogenic protein	بروتين تشكيل العظم البشري المأشوب (المؤتلف أو المعاد تركيبه)
Recombinant human tropoelastin	طليعة الإيلاستين البشري المأشوب (المؤتلف أو المعاد تركيبه)
Reconstructive surgery	جراحة ترميمية
Regenerating nerves	إعادة تجديد الأعصاب
Regenerative medicine	طب تجديد
Regenerative therapies	علاجات تجديد
Rehydration	إمهاء (تعويض السوائل)
Reinforcement materials	مواد تقوية أو تعزيز
Reinforcing agent	عامل تقوية معزز أو داعم
Remodeling process	عملية إعادة التشكيل
Renal clearance	تصفية كلوية
Repellant biomaterials	مواد حيوية مُنفرة أو طاردة
Repellants	مُنفرات
Replica molding (RM)	قوالب نسخة مطابقة للأصل
Reproducible fabrication	تصنيع قابل لإعادة الإنتاج
Resistive mask	قناع مقاوم
Resorption	ارتشاف
Resorption kinetics	طاقات حركية للارتشاف
Resorption peaks	ذروات ارتشافية
Restenosis	عودة التضيّق

Retina	شبكة العين
Retrovirus	فيروس قهقريّ أو ارتجاعي
Revascularization	إعادة التوعي
Reversible crosslink	ربط متشابك قابل للعكس
Reverse transcription	اُنْتِساخ عكسي
Reverse transfection	تعديل جيني عكسي
Revision joint arthroplasty	رَأْب المفاصل التّراجعيّ
RGD oligopeptide, see Arginine - glycine - aspartic acid oligopeptide	قليل الببتيد آر جي دي، انظر قليل الببتيد حمض الأرجينين - غليسين - أسبارتيك
RNA	حَمَظُ نوَوِيّ رِبِيّ
RNA interference (RNAi)	تداخل الحمض النووي الريبي
Robotic deposition	ترسيب روبوتي (باستخدام جهاز روبوت آلي)
Ross procedure	إجراء روس
Rotating mandrel	مغزل دوّار
Rotating wall perfused vessels (RWPV)	أوعية ذات تدفق متواصل وجدار دوّار
Rotational speeds	سرعات تدويرية (دورانية)
Roughness	خشونة
Round nanoparticles	جسيمات نانوية مستديرة
Ruffled cell membrane	غشاء خلية تغضني

S

Scaffold - based cell transplantation	زراعة خلايا مبنية على حاملة خلايا وأنسجة
Scaffold composites, tissue engineering	مُرَكَّبَات حاملة الخلايا، هندسة الأنسجة
Scaffold degradation	تحلل حاملة الخلايا والأنسجة
Scaffold fabrication	تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة
Scaffold materials	مواد حاملات الخلايا والأنسجة
Scaffold microfabrication techniques	تقنيات التصنيع المايكروني لحاملات الخلايا والأنسجة
Scaffold pores	مسام حاملة الخلايا والأنسجة
Scaffold properties	خصائص حاملة الخلايا والأنسجة
Scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة

Scaffolds strength	متانة حاملات الخلايا والأنسجة
Scanning electron microscopy (SEM)	تصوير بالمجهر الإلكتروني الماسح
Scanning probe	مسبار مسح
Scanning probe lithography and self - assembling monolayers	حفر باستخدام مسبار المسح وطبقات أحادية ذاتية التجميع
Scanning probe nanolithography (SPNL)	حفر نانوي باستخدام مسبار المسح
Scavengers of free radicals	كاسحات الجذور الحرة
Schwann cell implants	غُرْسَات خلايا شفان
Schwann cells, biosynthetic fibers	خلايا شُفان (خلايا مغمدة للألياف العصبية)
Screening	فحص
Secondary amines	أَمِينَات ثانوية
Secretion	إفراز
Secretion of matrix	إفراز المصفوفة
Secretory functions	وظائف إفرازية
Sedentary cells	خلايا مستقرة غير متنقلة
Seeding	بَذْر
Selective adhesion of cells	التصاق انتقائي للخلايا
Selective Laser Sintering (SLS)	تصليب أو تلييد انتقائي بواسطة الليزر
Selenium (Se)	سليينيوم
Self - assembled monolayers (SAMs)	طبقات أحادية مُجمَّعة ذاتياً
Self - assembling peptides	تجميع ذاتي للبتيدات
Self - assembling polymerization	بلمرة بالتجميع الذاتي
Self - assembling scaffolds	حاملات خلايا وأنسجة ذاتية التجميع
Self - assembly	تجميع ذاتي
SEM images	صور المجهر الإلكتروني الماسح
Semiconductors	أنصاف النواقل
Semicrystalline	شبه بلّوري
Sensing	استشعار
Sensing of microcracks	استشعار بالشقوق المايكروية
Sensitive molecules	جزيئات حساسة

Sequential emulsion technique	تقنية المستحلب أو المزيج التتابعية
Serum	مصل
Severe atherosclerosis	تصلب عصيدي حاد
Shadow deposition	ترسيب الظل
Shear modulation force microscopy (SMFM)	فحص مجهري لقوة القص المعدلة
Shear sensitive	حساس للقص
Shear stress	إجهاد القص
Shell - core fibers	ألياف ذات قشر - ولب
Shrinkage	انكماش أو تقلص
Signal - to - noise ratio	نسبة الإشارة إلى الضجيج
Signal transduction	نقل أو تبادل الإشارة
Signaling complexes	مركبات نقل الإشارات
Signaling molecules	جزيئات نقل إشارات
Signaling pathway	مسارات نقل الإشارة
Silanization reactions	تفاعلات السيلنة
Silicon dioxide	ثاني أكسيد السيليكون
Silicone spacer	مُباعِد من السيليكون
Silk fibers and collagen	ألياف حريرية وكولاجين
Silk fibroin - based	مبني من فيبروين الحرير
Silk fibroin fibers	ألياف فيبروين الحرير
Silk matrix	مصفوفة من الحرير
Silver nanoparticles	جزيئات الفضة النانوية
Silver nanowires	أسلاك الفضة النانوية
Simulated body fluid (SBF)	سائل محاكي للجسم
Simulation	محاكاة
Single - beam gradient optical traps	مصادر ضوئية متدرجة ذات حزمة مفردة
Single - phase nanofibers	ألياف نانو أحادية الطور
Single electrospun nanofibers, mechanical testing of bend test	ألياف نانو مفردة مغزولة كهربائياً، اختبار ميكانيكي لفحص الانحناء

siRNA delivery	توصيل الرُّنا (الحَمَضُ التَّوَوِيّ الرَّيِّي) قصير التداخل
Skeletal muscle	عضلة هيكلية
Skeletal myocytes	خلايا عضلية هيكلية
Skin graft	طُعْم جُلْدِيّ
Skin regeneration	تجديد الجلد
Slack molecules	جزيئات رخوة
Slippage	انزلاق
Slow turning lateral vessels (STLV)	أوعية جانبية ذات دَوَّارٍ بطيء
Small - diameter bypass	تحويل مجرى الأوعية الدموية صغيرة القطر
Small intestine submucosa (SIS)	تحت مُحاطِيَّة المِعَى الدَّقِيق (الأمعاء الدقيقة)
Small molecule delivery	توصيل جُزَيء صغير
Small molecules	جزيئات صغيرة
Socket joints	مفاصل سَنَجِيَّة الشكل
Soft lithography	حفر لَيِّن
Soft tissues	أنسجة رخوة
Solid free - form fabrication (SFF)	تصنيع الشكل الحر الصلب
Solidification	تصلب
Solubility	ذوبانية
Soluble signals	إشارات ذوَابَّة
Solution electrospinning	غزل كهربائي لحلّول
Solvent - assisted microcontact molding (SAMIM)	قولة بالاتصال المايكروبي بمساعدة المذيب
Solvent - induced capillary lithography	حفر شَعْرِيّ مُحَرَّض بالمذيب
Solvent casting	صَبّ (قَوْلَبَة) المذيب
Solvent casting and particulate leaching (SCPL) technique	تقنية صَبّ (قَوْلَبَة) المذيب وإنتفاذ أو استِغْسَال (ترشيح) الجسيمات
Somatic cell nuclear transfer	نقل نواة خلية جسدية
Sonication powers	قوى صَوْتَنَة
Spatial confinement	حجز مكاني
Spatial control	تحكم حَيِّزِيّ أو مكاني

Spatial cues	منبهات مكانية
Spatial distribution	توزيع مكاني
Spatial gradient	تدرج مكاني
Spatially complex tissues	أنسجة معقدة فراغياً
Spatiotemporally controlled manner	طريقة مُتحكَّم بها مكانياً وزمانياً
Specialized cells	خلايا متخصصة
Specific cell phenotypes	أنماط ظاهرية محددة للخلايا
Specific induction cues	إشارات تحريضية محددة
Spectral overlap	تداخل أو تراكم طيفي
Spherical - shaped beads	خرزات كروية الشكل
Spinal cord	جبل شوكي
Spindle - like contractile phenotype	نمط ظاهري يشبه المغزل قابل للتقلص
Spindle - like shape	شكل يشبه المغزل
Spindle - shaped beads	خرزات مغزلية الشكل
Spinner flask bioreactors	مفاعلات حيوية ذات حَوَاجِلَة دَوَّارة
Spinning time	زمن الغزل
Spinodal decomposition	تفكك طوري
Spiral loops	حلقات حلزونية
Sporadic connection	اتصال فُرَادِيّ
Spraying technique	تقنية الإِرْذاذ أو الرش
Sputter drift	انحراف الرش
Stable cells	خلايا مستقرة
Stable fluorescent properties	خصائص تَأَلُّقِيَّة مستقرة
Standard deviation	انحراف معياري
Standard tensile testing methods	طرق معيارية لاختبار الشد
Staphylococcus epidermidis	عنقوديات بشرية
Static seeding	بذر ساكن
Static vessels	أوعية ساكنة
Stem cell - based therapy	علاج مبني على أساس الخلايا الجذعية

Stem cell biology	بيولوجيا الخلايا الجذعية
Stem cell therapies	معالجات بالخلايا الجذعية
Stem cells	خلايا جذعية
Stencil	مرسام أو إستنسل
Stent	دِعَامَة (وَاقِيَةُ الطَّعْم)
Steps and cell types	خطوات وأنواع الخلايا
Stereolithography (STL)	حفر مُجَسَّم (ثلاثي الأبعاد)
Stereolithography and selective laser sintering	حفر مُجَسَّم (ثلاثي الأبعاد) وتصليب أو تلييد انتقائي بواسطة الليزر
Stiffening mechanism	آلية التصليب
Stiffness	صلابة
Stirred - flask vessels	أوعية ذات حَوَاجِلِ المزج بالتحريك
Straight elongation	استطالة مستقيمة
Strain	انفعال
Strengthening mechanisms	آليات التقوية
Stress - strain imbalance	إجهاد - انفعال غير متوازن
Stress fibers	ألياف إجهاد
Stress shielding	تدريع الإجهاد
Stroma	سَدَى
Structural composition	تركيب بنيوي
Structural deterioration	تدهور بنيوي
Structural fibrillar proteins	بروتينات لُيْفِيَّة بنيوية
Structural stability	ثبات بنيوي
Structure	بنية
Subcellular components	مكونات دُوَّيْن (دون) الخلوية
Subcellular trafficking	تبادل ما دون الخلوي
Subcritical	دون الحرج
Subcutaneous	تحت الجلد
Submicron levels	مستويات ما دون المايكرون

Sulfatides	سَلْفَاتِيدَات
Sulfonated surfaces	سطوح مُسَلْفَنَة
Supercritical	فوق الحرج
Superoxides	فوق أكسيدات
Support wax	شمع دعم
Supramolecular self - assembly	تجميع ذاتي فوق جزيئي
Supramolecular structures	بُنى فوق جزيئية
Surface antigen	مُسْتَضِدٌّ سطحي
Surface charge density	كثافة الشحنة السطحية
Surface chemistry	تركيب كيميائي سطحي
Surface erosion	تآكل سطحي
Surface modification	تعديل السطح
Surface properties	خصائص السطح
Surface tension	تَوُثِّر سطحي
Survival factors	عوامل بقاء
Suspension	مُعَلَّق
Sustained release	إطلاق متواصل
Synapses	نقاط التشابك العصبي
Synchronized contraction	تقلص متزامن
Syncytial myofibers	ألياف عضلية مَحْلَوِيَّة
Syndecans	سينديكانات (بروتينات مفردة في نطاق عبر الغشاء)
Syndecans, heparan sulfate proteoglycans	سينديكانات، بروتيوغليكانات سلفات الهيبارين
Synergistic interaction	تفاعل تآزُرِيّ
Synthases in GAG	إنزيمات السينثاز في غليكوز أمينوغليكان
Synthesis	تركيب
Synthetic cardiovascular grafts	طُعُوم قلبية وعائية اصطناعية
Synthetic materials	مواد تركيبية أو اصطناعية
Synthetic polymers	بوليمرات تركيبية أو اصطناعية
Synthetic skin substitutes	بدائل الجلد الاصطناعي

Synthetic vectors	ناقلات تركيبية أو اصطناعية
Synthetic, resorbable, polymeric meshes	شبيكات بوليمرية اصطناعية قابلة للامتصاص أو الارتشاف
Systolic force	قوة انقباضية
Systolic function	وظيفة انقباضية

T

Take - up velocity	سرعة السحب
Tantalum	تانتالوم
Tapping mode	نمط النقر
Target cell specificity	تحديدية (نوعية) الخلية المستهدفة
Target gene	جين مستهدف
Targeting moiety	جزء أو عنصر مستهدف
Tartrate - resistant acid phosphatase	إنزيم الفوسفاتاز الحمضي المقاوم للطُّرَّات
Taylor cone	مخروط تايلور
Temporal control	تحكم زَمَانِيّ
Tendon	وتر
Tenocytes	خلايا الوتر
Tensile elastic modulus	معامل مرونة الشد
Tensile strain	انفعال الشد
Tensile strength	متانة الشد
Tensile stress - strain curves	منحنيات إجهاد - انفعال الشد
Tension resistance	مقاومة التوتر
Terminal ductal lobular units (TDLU)	وحدات فُصِيصِيَّة قنويَّة انتهائيَّة
Tertiary amines	أَمِينَات ثالِثِيَّة
Tetrahydrofuran	تيتراهيدروفوران (رباعيّ هيدرو الفوران)
Therapeutic agents	عوامل علاجية
Therapeutic cloning	استنساخ علاجي
Therapeutic gene delivery	توصيل جيني علاجي
Thermal ink deposition method	طريقة ترسيب الحبر الحراري
Thermally induced phase separation (TIPS)	فصل طورِيّ مُحَرَّض حراريّاً

Thermodynamic - dependent parameters	بارامترات أو محددات تعتمد على الديناميكية الحرارية (البارامترات الترموديناميكية)
Thermoreversible gel	هلام مائي قابل للانعكاس حرارياً
Thermosensitive system	أنظمة حساسة للحرارة
Thioester bond	رابط الثيو إستر
Three - dimensional printing (3DP)	طباعة ثلاثية الأبعاد
Threshold voltage	جهد العتبة
Thromboembolism	انصمام خثاريّ (جلطات دموية)
Thromboresistance	مقاومة التخثر
Thrombosis	تخثر أو تجلط الدم
Thrombus	تكوّن الخثرة
Thrombus formation	تشكيل الخثرة
Ti anodization	تغليف بطبقة خارجية من التيتانيوم (إنتاج فيلم أكسيد) عن طريق التحليل الكهربائي للمصعد
Tissue - engineered fabrication	تصنيع نسيج مُهندَس
Tissue - inducing factors	عوامل محفزة للأنسجة
Tissue - inducing substances	مواد مُحفزة للأنسجة
Tissue and organ replacement	استبدال الأنسجة والأعضاء
Tissue culture flasks	حجرات (قوارير) زرع الأنسجة
Tissue cultures	مزارع الأنسجة
Tissue engineering	هندسة الأنسجة
Tissue engineering treatment	معالجة بهندسة الأنسجة
Tissue grafts	طُعوم نسيجية
Tissue healing and regeneration	شفاء الأنسجة وتجديدها
Tissue morphogenesis	تَخلُّق أو تشكُّل الأنسجة
Tissue regeneration	تجديد الأنسجة
Tissue regrowth	إعادة نمو الأنسجة
Titania and alumina, AFM images	تيتانيا وألومينا (أدوية)، صور مجهر القوة الذرية
Titanium dioxide	ثاني أكسيد التيتانيوم

Top - down lithography, for tissue engineering	حفر من أعلى إلى أسفل، من أجل هندسة الأنسجة
Topographic features	مميزات (سمات) طبوغرافية
Topographical cues	منبهات طبوغرافية
Topological signals	إشارات طبولوجية
Tortuosity	تعرج
Toughness	صلابة
Toxicity	سُمّية
Trabeculae	ترايبيق
Trabecular bone	عظم ترّبيقيّ (صلب)
Tracer molecule	جزئيء تتبع
Transcription activity	نشاط الانتساخ
Transcription factors	عوامل الانتساخ
Transdifferentiation	تمايز عابر
Transduction	تنبّغ أو تبادل
Transfection	تعديل جيني (إدخال الأحماض النووية في الخلايا)
Transforming growth factor- β (TGF β)	عامل النمو المحوّل-بيتا
Transmembrane glycoproteins	غليكوبروتينات عبر غشائية
Transmission electron microscopy (TEM)	مجهر إلكتروني ناقل
Transplantation in vivo	زراعة في الجسم الحي
Trauma	رُضوض
Treatment methods	طرق المعالجة
Tricalcium phosphate (TCP), bone tissue engineering	ثلاثي فوسفات الكالسيوم، هندسة الأنسجة العظمية
Tricarboxylic acid (TCA)	حمض ثلاثي الكربوكسيل
Tumor	ورم
Tumor stroma	سدَى الورم
Turgor pressure	ضغط التورّم
Twisting	فتل (التواء)
Two - dimensional chip arrays and AFM - like cantilever tips	مصفوفات رُقاقات ثنائية الأبعاد ورؤوس ناتئة (ذات عتلات) مشابة لرؤوس مجهر القوة الذرية

Two - photon absorption

امتصاص ثنائي الفوتونات

Tyrosine kinases

إنزيمات كيناز التيروسين

Tyrosine phosphorylation

فَسْفَتَة التُّيروزين (حمض أميني)

U

Ultrahigh molecular weight polyethylene
(UHMWPE)

بولي إيثيلين ذي وزن جزيئي عالٍ جدًا

Umbilical cord

حبل سُرِّيّ

Umbilical cord blood stem cells

خلايا جذعية من دم الحبل السُرِّيّ

Unfolding

نشر

Uniaxial tensile test

اختبار شد أحادي المحور

Uniform cell seeding

بذر متجانس للخلايا

Uniform cellular distribution

توزيع خلوي متجانس

Uniform dispersion

تبعثر متجانس

Unspecialized cells

خلايا غير متخصصة

Urogenital

سبيل بولي تناسلي

Uronic acid

حمض اليورونيك

V

Vacuum drying

تجفيف بالتخلية أو السحب

Vacuum environment

بيئة خَلَائِيَّة

Van der Waals forces

قوى فان دير فالز

Vapor deposition

ترسيب البخار

Vapors of formaldehyde

أبخرة الفورمالدهيد

Vapors of glutaraldehyde

أبخرة الغلوتارالدهيد

Vascular autologous grafts

طُعوم وعائية ذاتية المنشأ

Vascular endothelial growth factor (VEGF)

عامل النمو البطانيّ الوعائي

Vascular smooth muscle cells (vSMC)

خلايا عضلية وعائية ملساء

Vascular stenting

تدعيم وعائي

Vascular system

جهاز وعائي

Vascular tissue engineering

هندسة الأنسجة الوعائية

Vascularization	توعّي
Vasculature	جَمَلَة وعائِيَة
Vector	ناقل
Ventral cell wall	جدار الخلية البطني
Ventricular myocardium	عضل قلبي بطيني
Venules	ورِيْدَات
Vesicles	حُويَصِلَات
Vesicular transportation	نقل حُويَصِلِيّ
Viability	قدرة البقاء على قيد الحياة
Viral genome	جينوم فيروسي
Viral self - replication	تَنَسُّخ أو تكاثر فيروسي ذاتي
Viscosupplementation	مكَمَلَات اللزوجة
Viscous encapsulation	تَمَحْفَظ لَزَج
Viscous hydrated gel	هَلام مُمَيَّه (مائي) لَزَج
Viscous parameters	مَحَدَدَات أو بارامترات اللزوجة
Visual function	وظيفة بصرية
Vitronectin	فيترونِيَكْتِين

W

Wafer - scale techniques	تقنيات مستوى الرقاقة
Water - glycerol mixture	مزيج من ماء - غليسيرُول
Wax printer	طابعة شمعيّة
Wax printing, scaffold fabrication	طباعة باستخدام الشمع، تصنيع حاملة خلايا وأنسجة
Wear debris	حُطَام ناتج عن الاهتراء
Wear threshold	عَتَبَة الاهتراء
Weaved nanofibers	ألياف نانو محبوكة أو منسوجة
Wet etching	حفر رطب
Wettability	قابلية الإِتْيَال أو الترطيب
Wharton's jelly	هَلام وارطون (المادة الهَلَامِيَّة في الحبل السُريّ)
Working distance	مسافة العمل

Wound dressing	تضميد الجراح
Wound healing	شفاء أو التئام الجروح
Wound healing responses	استجابات التئام الجروح
Woven bone	عظم مَحْبُوك

X

X - Ray diffraction (XRD) diagram	مخطط انعراج الأشعة السينية
X - Ray lithography	حفر باستخدام الأشعة السينية
Xenogenic	خلايا أجنبية
Xenograft	طُعْم أجنبي (طُعْم غَيْرَوِيّ)

Y

Young's modulus	معامل يونغ
-----------------	------------

Z

Zero - order	نظام صفري
Zinc complexation	مُرَكَّب زنكي
Zones	مناطق
α -Melanocyte stimulating hormone (α -MSH)	هرمون تحفيز خلايا ألفا الميلانينية
β -Nerve growth factor (NGF)	عامل النمو العصبي بيتا

كشاف الموضوعات

ألياف النانو المركبة، ٣٤٠، ٣٤٤، ٣٥٣، ٣٥٤، ٣٦٢
أنواع العوامل المحفزة للأنسجة، ٤
أنواع مواد حاملات الخلايا والأنسجة، ٧٨، ١١١
أهمية حاملات الخلايا والأنسجة المغزولة كهربائياً في
هندسة الأنسجة، ٣٠٧، ٣١٣

ب

بارامترات الغزل الكهربائي، ٣٣٩، ٣٤٥، ٣٦٥
بَلْمَرَة الطُّعْم، ٢٥٤، ٢٧٥
بنية ووظيفة الأعضاء والأنسجة الطبيعية، ٤٩، ٥١
بولي (أورثو إسترات)، ١١٥
بوليمرات اصطناعية، ٢٢، ١٣٣، ١٤١، ٣١٠
بوليمرات طبيعية، ١٣٣، ١٤١، ١٤٨

ن

تأثير معالجة الألياف على البنية والخصائص الميكانيكية،
٣٣٩، ٣٤٤
ترسيب طبقة تلو الطبقة، ١٣٤، ١٦٠، ١٦١، ١٧٠
تركيب المصفوفة خارج الخلية، ٤٩، ٥٤، ٥٩، ٦٦، ٦٧،
٤٨٧
تصنيع حاملات خلايا وأنسجة ثلاثية الأبعاد، ١٣٤
١٦١، ١٥٥

أ

أجزاء قليلات الببتيد المشتقة من حمض الأرجينين -
الغليسين - الأسبارتيك، ٢٥٣، ٢٦٢
استجابة المضيف للمواد الغريبة، ١٩٠، ٢٠٧
إعادة التنظيم الهيكلي الخلوي والتصاقات الخلايا الجذعية
المتوسطة البشرية - ألياف النانو، ٣٩٠
التصاق، ١٢، ١٥، ٢٠، ٣٤، ٥٧، ٦٤، ٦٥، ٨٠، ٩١،
١٠٣، ١٠٤، ١٠٥، ١٠٦، ١٠٧، ١٠٨، ١١١،
١١٦، ١٣٦، ١٣٨، ١٦٨، ١٧١، ١٨٩، ١٩٧،
١٩٨، ١٩٩، ٢٠٠، ٢٠١، ٢٠٢، ٢٠٧، ٢٠٨،
٢١٥، ٢١٧، ٢١٨، ٢١٩، ٢٢٠، ٢٢١، ٢٢٥،
٢٢٧، ٢٢٨، ٢٢٩، ٢٣٢، ٢٣٣، ٢٣٥، ٢٣٦،
٢٣٧، ٢٣٩، ٢٤٠، ٢٤١، ٢٤٢، ٢٤٣، ٢٥٨،
٢٦٠، ٢٦١، ٢٦٣، ٢٦٤، ٢٦٥، ٢٧٠، ٢٧٤،
٢٧٦، ٢٧٧، ٢٧٩، ٢٨١، ٢٨٢، ٢٨٣، ٢٨٤،
٢٨٥، ٣٢٤، ٣٣٠، ٣٧٠، ٣٧٢، ٣٩٢، ٤٠٥،
٤٠٨، ٤١١، ٤٤٤، ٤٥٤، ٤٥٥، ٤٦٠، ٤٦٢،
٤٦٩، ٤٧٠، ٤٨٦، ٤٨٧، ٤٨٩، ٤٩٠، ٤٩٣،
٥١٢، ٥١٧، ٥٢٠، ٥٢٣، ٥٢٨، ٥٢٩، ٥٣٠،
٥٣٣
التصاق الخلايا على سطوح الطُّعْم، ١٨٩، ١٩٧
ألياف الحرير لتعزيز تجديد الأعصاب، ٤٥٢، ٤٦١

تصنيع حاملات خلايا وأنسجة من ألياف النانو المتراففة
المغزولة كهربائياً، ٣٦٩، ٣٧٣

تصنيع حاملة الخلايا والأنسجة، ٣، ١٥، ٧٨، ٨٤، ٩٤،
١٠١، ١٤٩، ١٥٦، ١٦٠، ١٦٥، ١٦٦، ١٧٠،

١٧٨، ٤٩١، ٥١٢

تعديل حاملات الخلايا والأنسجة، ٧٨، ١٠٩

تفاعل الخلايا - المواد الحيوية، ٦٤

تقنيات التشكيل (الزخرفة) المتقدمة، ١٣٤، ١٥٢

تقنيات التصنيع المايكروني التقليدي، ١٣٣، ١٣٧

تقنيات الكتابة المباشرة، ٤٠٧، ٤١٣

تقنية النانو، ٥٠، ١٩٠، ٢٠١، ٢٠٢، ٢٠٤، ٢٠٩،

٢١٠، ٢١١، ٢١٨، ٣٠٩، ٣١٢، ٤٥٣، ٤٥٤،

٤٥٥، ٤٥٧، ٤٦٥، ٤٦٩، ٤٧٣، ٤٨٠

توافقية حيوية، ٢٨٢، ٥٢٤

توجيه الخلايا وألياف النانو من أجل حاملات الخلايا

والأنسجة العشوائية والموجهة، ٣٧٠، ٣٨٤

جهاز الغزل الكهربائي، ٣٠٧، ٣١٠، ٣١٧، ٣٢١،

٣٨٤

حفر من الأعلى إلى الأسفل، ١٥٣

خ

خصائص السطح، ٧٧، ٨٥

خصائص وبنية العظم، ١٨٩، ١٩٠

خلايا جذعية، ١٠، ٢٨٤، ٣٧١، ٣٨٩، ٤٣٧

خلايا ناقضة للعظم، ١٩٦

د

دعامات قلبية، ٤٧٧، ٤٨٢

ص

صمامات قلبية مهندسة نسيجياً، ٤٧٧، ٤٨١

ط

طباعة الخلايا بتقنية نفث الحبر، ١٣٤، ١٧٥

طباعة بالاتصال، ١٤٨

طباعة بالاتصال المايكروني، ١٤٨

طباعة ثلاثية الأبعاد، ١٧

طبعة نانوية، ٤٠٩

طُعوم أوعية دموية ووعائية مهندسة نسيجياً، ٤٧٧، ٤٨٢

ع

عوامل النمو، ١٢، ٢٥، ٢٦، ٣١، ٥٥، ٥٧، ٥٩، ٦٠،

٦٤، ٧٩، ٨٠، ٨٨، ١٠٩، ١٩٤، ١٩٥، ٢٥٦،

٢٦٠، ٢٦٥، ٢٨٢، ٢٨٦، ٣٢٨، ٣٣٠، ٣٣١،

٥٠٥، ٥١٢، ٥١٦، ٥١٩، ٥٢٢، ٥٢٤

ح

حاملات خلايا وأنسجة ذات ألياف النانو، ١٠٥

حاملات خلايا وأنسجة من أجل هندسة الأنسجة، ١١٧

حزمة الجسيمات المسرّعة، ٣٩٧، ٤١٣

حزمة إلكترونية، ٤١٣، ٤٢٥، ٤٢٦

حزمة أيونية مُركّزة، ٤١٦

حفر بالقوة الشعرية، ١٤٨

حفر بوليمر مشترك كتلي، ٣٩٧، ٣٩٩

حفر من الأسفل إلى الأعلى، ٤٠٢

مصفوفات الإلكترونيات في المستوى النانوي لتقييم

الشبكات العصبية، ٤٥٢، ٤٦٥

مصفوفة خارج الخلية، ٤٩، ٥١، ٥٣، ٦٠، ٦١، ٦٣،

٦٦، ٢٥٦، ٤٠١، ٤٣٦، ٥١٢

ن

نسيج جدار قلبي مُهندَس نسيجيًا، ٤٧٧، ٤٨٠

نفاذية، ٨٧، ٩٢، ٩٣، ٩٤، ٩٥

هـ

هلامات مائية، ٢٠، ٢١، ٢٤، ٢٦، ١٠٠، ١٠٢،

١٠٣، ١٠٤، ١٧٢، ٢٨٢، ٢٨٤، ٤٠١، ٤٤٦،

٤٨٥

هندسة الأنسجة لعلاج المشاكل العضلية الهيكلية، ٥٠٥،

٥١١

و

وظائف المصفوفة خارج الخلية، ٤٩، ٥٠، ٥٩، ٢٦٨،

وظائف ومتطلبات حاملات الخلايا والأنسجة، ٧٧، ٧٩،

٥٤٥

غ

غزل كهربائي، ٣٢٢، ٣٥٩، ٤٩١، ٤٩٢، ٤٩٧، ٥٢٨

ق

قوالب النسخة المطابقة للأصل للمواد الحيوية، ١٣٣، ١٣٧

م

متطلبات المفاعلات الحيوية في هندسة الأنسجة، ٥، ٣٣

مجهر القوة الذرية، ١٥٥، ٢٢٠، ٢٢١، ٢٤٠، ٣٤١،

٣٩٨، ٤١٦، ٤١٧، ٤١٨، ٤٤٠، ٤٤١، ٤٥٦،

٤٩٠، ٥٣٥

مراقبة تفاعل المحور العصبي مع بروتينات المصفوفة خارج

الخلية، ٤٥١، ٤٥٦

مزارع الأنسجة في المختبر، ٤٣١، ٤٣٥

مسامية، ١٣، ١٥، ١٦، ٧٩، ٨٦، ٨٧، ٨٨، ٨٩، ٩١،

٩٢، ٩٥، ٩٦، ١٠٣، ١٠٥، ١١٠، ١٤٩، ١٥٩،

١٦٠، ١٦٥، ١٦٦، ١٦٧، ١٦٨، ١٩٢، ٢٢٥،

٢٣٥، ٢٧٥، ٢٨٥، ٣١٧، ٣٢٤، ٤٠١، ٤٣٨،

٥١٣، ٥٢٢، ٥٢٣

مسبار المسح، ٣٩٨، ٣٩٩، ٤١٦، ٤١٨، ٤١٩، ٤٢٠،

٤٢١، ٤٢٥

مسبار المسح في الحقل القريب، ٣٩٨، ٤٢١

مصدر الخلايا الجذعية، ٣، ٨، ٣٨١

نبذة عن المترجم

الدكتور المهندس محمد فائز نادر الرز هو أستاذ الهندسة الطبية الحيوية المساعد في جامعة الملك سعود.

حصل الدكتور محمد فائز الرز على شهادة البكالوريوس في الهندسة الطبية الحيوية من جامعة دمشق (سورية)، وعلى شهادة الدبلوم في الدراسات العليا (الماجستير) في الهندسة الطبية الحيوية من جامعة دمشق، وعلى شهادة الدكتوراه في الهندسة الطبية الحيوية من جامعة درسدن التقنية (ألمانيا الاتحادية) في مجال الحلول التقنية لزراعة الخلايا والأنسجة، حيث عمل باحثاً علمياً في معهد الهندسة الطبية الحيوية في جامعة درسدن التقنية. عمل الدكتور محمد فائز الرز في وزارة الصحة السورية في قسم إدارة التجهيزات الطبية وتجهيزات المشافي في دمشق. وعمل كخبير محلي لدى منظمة الصحة العالمية في إدارة التجهيزات الطبية وتجهيزات المشافي في دمشق. يعمل حالياً كأستاذ مساعد وكباحث علمي رئيس في جامعة الملك سعود. تتركز خبرته بالإضافة إلى التدريس في إدارة التجهيزات الطبية وتجهيزات المشافي.

تتضمن الاهتمامات الأكاديمية والبحثية للدكتور محمد فائز الرز مجالات الهندسة الطبية الحيوية وهندسة الأنسجة والمواد الحيوية وتقنية النانو. وله العديد من الأعمال المنشورة في مجال هندسة الأنسجة والمواد الحيوية.

