

تعديل سطح المواد الحيوية في المستوى النانوي:

حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيوياً

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 حيوياً من أجل هندسة الأنسجة (٦,٤)
٢٥٩.....	TISSUE ENGINEERING
٢٦١.....	Proteins Versus Peptides البروتينات مقابل الببتيدات (٦,٤,١)
	RGD-Derived Oligopeptide أجزاء قلبلات الببتيد المشتقة من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (٦,٤,٢)
٢٦٢.....	Fragments
	Design Strategy For Fabricating إستراتيجية التصميم لتصنيع مواد محاكية حيوياً (٦,٤,٣)
٢٦٥.....	Biomimetic Materials

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

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) مُحسنة. 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 مزيجًا من حاملات الخلايا والأنسجة المصنوعة من مواد حيوية مُهندسة (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 بلوريّة (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 السكاريد (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 الانسحاق (transcription activity) والمحافظة على تمايز الخلايا (cell differentiation) [14-18]. وقد تبين أن التفاعل التآزري (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.

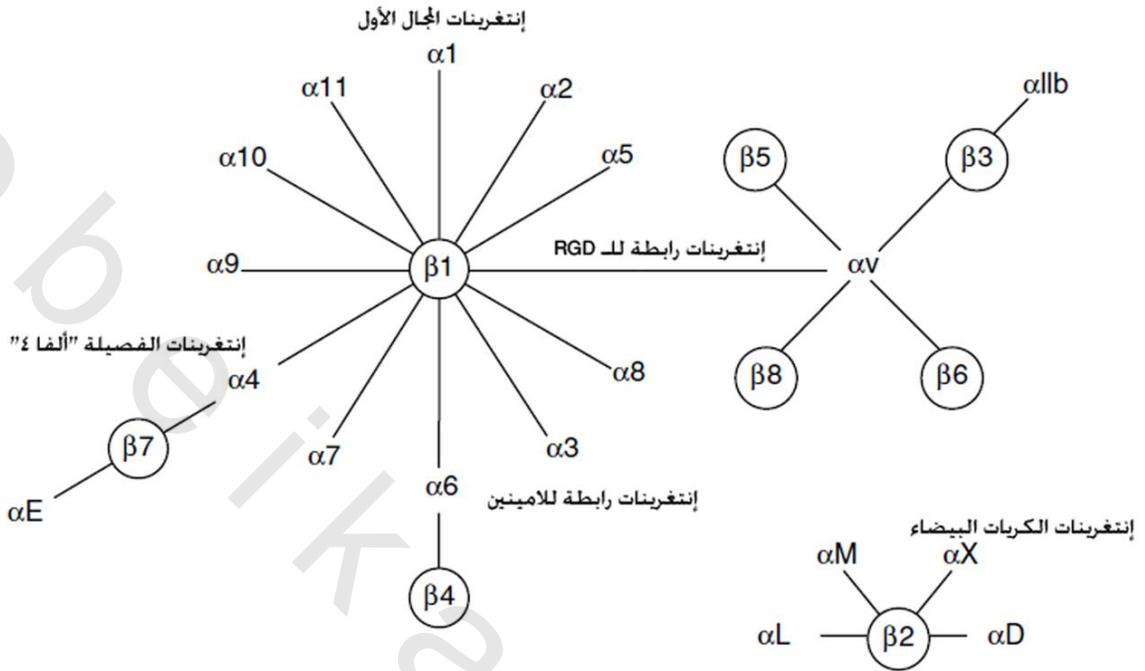
لا يمكن التأكيد على أهمية المصفوفة خارج الخلية (ECM) بما فيه الكفاية. يعتبر التفاعل في المستوى النانوي بين الخلايا والمصفوفة خارج الخلية (ECM) أساسياً من أجل العديد من الأنظمة البيولوجية الأساسية المختلفة [19-23]. إن دمج مكونات المصفوفة خارج الخلية (ECM) مع مستقبلات سطح الخلية والتنبُّع أو التبادل (transduction)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

تتفاعل الخلايا بشكلٍ غير مباشر مع سطح المادة الحيوية من خلال الطبقة المترزة 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 مُعَايرة (heterodimers) مؤلفة من وحدتين فرعيتين عَبرَ غَشَائِيَّتَيْنِ (transmembrane) وهي: وحدة ألفا (α) الفرعية الكبيرة، والتي تحتوي على عدة مواقع رابطة للكاتيون (cation - binding sites)، ووحدة بيتا (β) الفرعية الأصغر مُجمَّعة معاً بشكلٍ غير تساهمي (noncovalently) في وجود شوارد الكالسيوم (Ca^{2+}) خارج الخلية. وهناك العديد من الفصائل أو العوائل الفرعية للإنتغرينات، مُعرَّفة على نطاقٍ واسع 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 المُعَايرة المختلفة [34]. إن تركيب المُتَنَوِّيات المُعَايرة ألفا بيتا ($\alpha\beta$) يحدد أيضاً تحديدية الإنتغرين اتجاه لجائز بروتين مصفوفة خارج خلية (ECM) مختلفة. إن بعض التركيبات تكون محددة للغاية، في حين تُظهر تركيبات أخرى اختلاطاً باتجاه لجائز متعددة. وعلى العكس، فإن العديد من بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM) تعمل بمثابة لجائز 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 مُنظّم من الأحداث المتداخلة جزئياً والذي يميز التصاق الخلايا بوساطة 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). تنتظم 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) وبالإشتراك مع جزيئات أخرى مثل الجزيئات العُصارية الخلوية (cytosolic)، والجزيئات عبر الغشائية والجزيئات المرتبطة بالغشاء بتشكيل اتصالات التصاق بُؤريّة (focal adhesion contacts) بين الخلية والركيزة [40-43]. يتم ربط وحدة بيتا (β) الفرعية بالإف - أكتين بوساطة بروتينات رابطة للأكتين (على سبيل المثال: الفينكولين (vinculin) والتالين (talín) 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 العُصاريّ 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 المحوِّلة (adaptor proteins) الأخرى. وبشكل خاص، يتم استهداف إنزيم الكيناز للاتصاق البُوريّ من أجل الالتصاقات البُوريّة، حيث يرتبط مع هيكل الخلية (cytoskeleton) ويتم تفعيله عن طريق عملية الفسْفَتَة الذاتية (autophosphorylation) (وهي إدخال زمرة فسفات إلى الجزئي). وتظهر أحداث نقل الإشارات في اتجاه مجرى التدفق كنتيجة لذلك، مما يؤدي إلى تفعيل إنزيمات الكيناز المنظمة 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) وزرْع الأنسجة والأعضاء (tissue and organ transplantation)، يمكن أن تؤدي في كثيرٍ 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 الموجّه 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 جزئيات 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 والتميز الخلوي في الكثير من بحوث هندسة الأنسجة [19]. إن هناك عدداً لا يحصى من المواد التي تُوجد بشكلٍ 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 البنوية 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 بشكلٍ 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 وتمييز الخلايا [72,73].

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

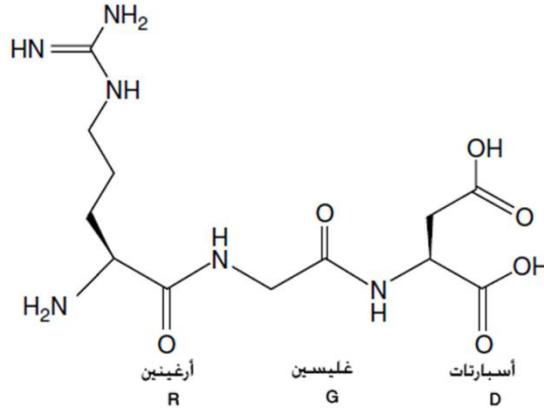
بعض أوائل الأعمال في تطوير السطوح المحاكية حيويًا (biomimetic surfaces) كان يتضمن استخدام البروتينات الموجودة بشكل طبيعي في المصفوفة خارج الخلية (ECM) كطبقات طلاء أو تغطية (coatings) على سطوح المواد، مثل الفبرونيكتين والفيترونيكتين والكولاجين واللامينين [74]. وعلى أي حال، فإن لاستخدام البروتينات ذات 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 التشكلية 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 حاجزًا 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 تتحطم 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 كجزئيات 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 كجزئيات 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 الشكل ثلاثي الأبعاد (3D) يزيل المخاوف من تغيير البروتين لطبيعته ومن الحوالم 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 قليات 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 قليات الببتيد متطلبات مكانية أقل، فإنه من الممكن تثبيتها على سطوح المواد مع كثافة سطحية أعلى من البروتينات الأكبر حجمًا.

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

يبدو أن دور الإبتغرينات 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 الإبتغرينات ربما يكون بالتالي عنصرًا مهمًا في هندسة الأنسجة البيولوجية [88]. يؤدي المزيد من استكشاف ارتباط الإبتغرين 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 غير هذا الاكتشاف طريقة تطوير حاملات الخلايا والأنسجة المحاكية حيويًا من أجل هندسة الأنسجة. فلقد وُجد أن هذه التسلسلات المتتابعة من قليات 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 قليات 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 الفيرونيكتين واللامينين (الشكل رقم ٦،٢). إن قليات الببتيد هذه ذات الوزن الجزيئي المنخفض والمعززة 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 جزئيات فعالة 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 قليات الببتيد التي تحتوي على حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) وبسرعة رواجاً كمواد 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) الحظية 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 قليات 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 قليات 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].

(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، فمثلًا 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 وكركيذة 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 (pluronics) 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 الفوسفاتاز 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 (GFOFER) المشتقة من الكولاجين وذلك من أجل تعديل سطوح البوليسترين عن طريق الربط المتشابك للببتيدات بشكلٍ كيميائي مع طبقة من الألبومين الممزوز 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 ممزوزة 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) (PLAGA) [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) (PLAGA) [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 قليلات الببتيد المحاكية حيويًا والتي تم تثبيتها على الركيزة أن تكون قادرة على مقاومة القوى التقلصية (contractile forces) المبدولة 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 قليلات 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 بيروول (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 للبيبتيدات 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 مثلًا 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 البيبتيدات على سطوح المادة على تشكيل رابط تساهمي مستقر (stable covalent bond) بين المجموعات الأمينية ذات النهاية الأمينية الأليفة للنواة (nucleophilic N-terminus amine groups) الموجودة في جزيئات البروتين وبين غيرها من المجموعات الوظيفية المفعّلة على سطح المادة الصلبة. لقد تم تثبيت البيبتيدات 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.

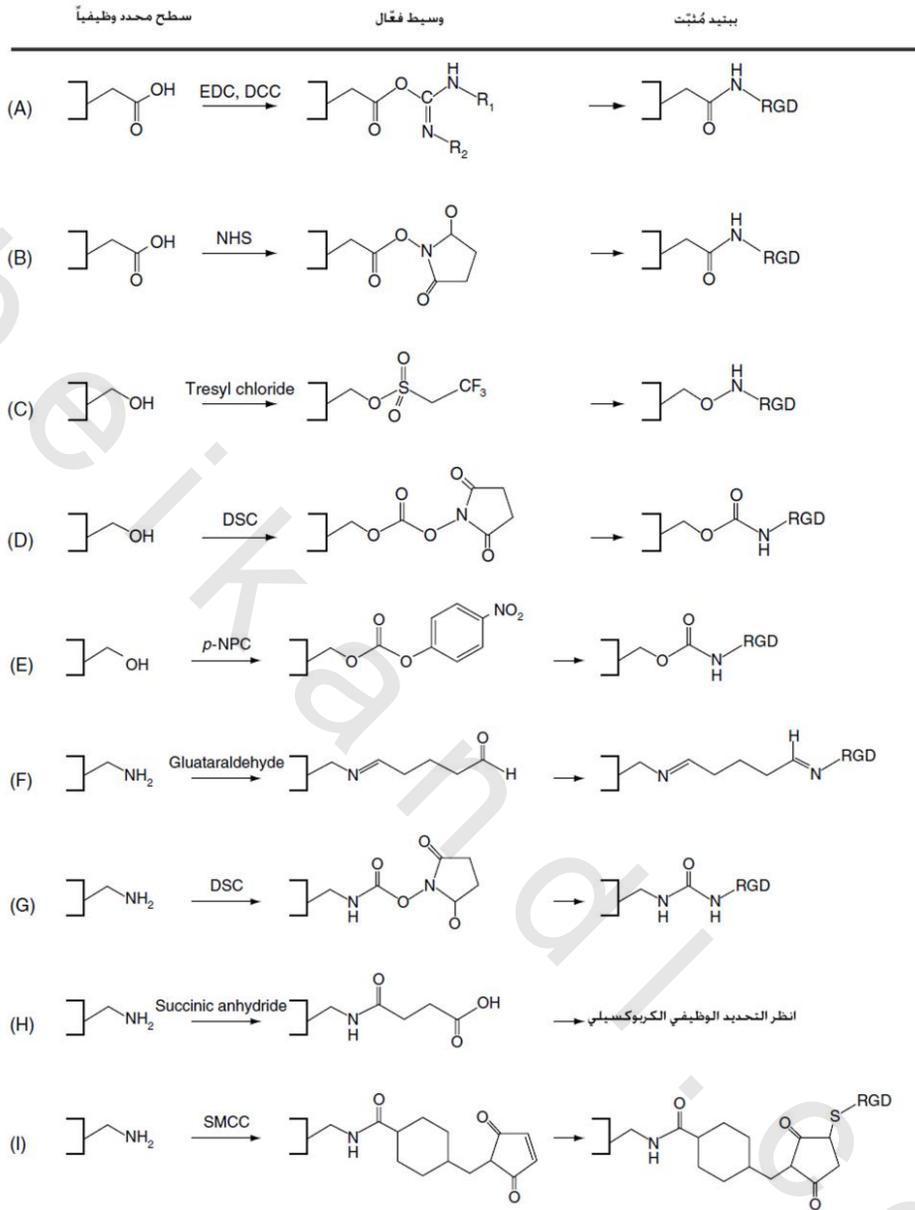
يمكن تفعيل المجموعات الوظيفية الحمضية الكربوكسيلية (carboxylic acid functional groups) على سطوح المواد الحيوية باستخدام كاشف اقتران البيبتيد (peptide - coupling reagent)، مثل ثنائي إيميد الكربون (carbodiimide). إن ثنائيات إيميد الكربون هي عبارة عن روابط متشابهة غير وظيفية ثنائية الوظيفة (heterobifunctional cross - linkers) تتوسط في تشكيل الروابط الأميدية من الأحماض الكربوكسيلية (أو الفوسفات) والمجموعات الأمينية. ولقد تم استخدامها لتوليد روابط بيتيدية من المجموعات الحمضية والأمينات وذلك من خلال تشكيل مُشْتَقِّ الأُو - يوريا (O-urea) المستقر، والذي يتفاعل بسهولة مع أليفات النواة (nucleophiles) [124]. وغالبًا ما يتم استخدام ثنائيات إيميد الكربون في تثبيت البيبتيدات على ركائز المواد مثل المشتق القابل للذوبان في الماء ١-إيثيل-٣-(٣-أمينو برويل ثنائي الميثيل) - ثنائي إيميد الكربون (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) - carbodiimide - EDC)، أو مثل المشتق 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 البيبتيدات المحاكية حيويًا بشكل تساهمي على المواد المختلفة المحتوية على مجموعات كربوكسيلية (carboxylated materials) وذلك عن طريق روابط الأמיד المستقرة (stable amide bonds). ولسوء الحظ، فإن طريقة الاقتران هذه ليست انتقائية بشكل عالٍ. وغالبًا ما تحتوي البيبتيدات 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 جانبیة غیر مرغوب فیها. وكثیراً ما يتم استخدام ان-هیدروكسي سوسین إیمید (N-Hydroxysuccinimide - NHS) للمساعدة فی اقتران ثنائي إیمید الكربون عن طریق تشكيل مركب وسيط من الإستر النشط (active ester intermediate) عبر تكثیف مجموعة الحمض الكربوكسيلي السطحي وان-هیدروكسي سوسین إیمید (NHS). إن مشتق الإستر هو أقل عُرضة للتحلل المائي (hydrolysis) ويمكن تحضيره سلفاً وتخزينه أو استخدامه كأنواع مُفعّلة فی الموقع (على سبيل المثال، فی وجود أليّف النواة الأميني (nucleophile amine)) من دون التعرض لخطر حدوث تفاعلات جانبیة غیر مرغوب فیها. إن مركب الإستر الوسيط التفاعلي مع ان-هیدروكسي سوسین إیمید (NHS) هو عُرضة للهجوم من قبل أليّف النواة وذلك عن طریق الأمينات الأولية (primary amine) مما يؤدي إلى تشكيل روابط أميديّة مستقرة بين سطح المادة الحیویة والنهاية الأمينيّة (N-terminus) للبتيد المحاكي حیویاً.

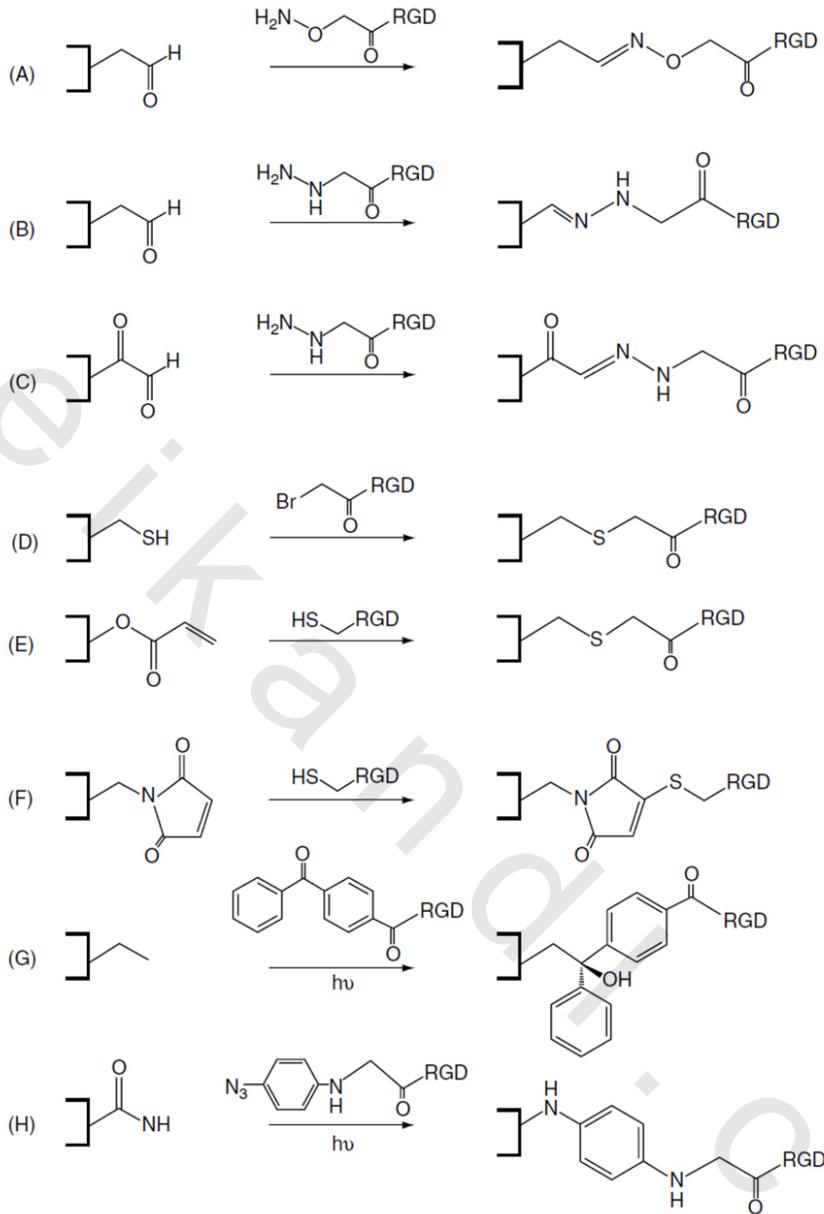
يمكن إنجاز تثبيت الجزيئات الحیویة بالمجموعات الهيدروكسيلية الموجودة على سطوح المواد الحیویة المختلفة بسهولة وبشكل مباشر وذلك بواسطة استخدام كلوريدات السلفونيل (sulfonyl chlorides) شديدة التفاعل، مثل كلوريد ٢،٢،٢- ثلاثي فلورو إيثان سلفونيل (كلوريد التريسيل) ((2,2,2-trifluoroethanesulfonyl chloride (tresyl 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 أليّف النواة عن طريق الأمينات الأولية، والثيولات (thiols)، والمجموعات الإيميدازوليّة (imidazole groups) [130-132]. ويمكن تنشيط المجموعات الهيدروكسيلية للسيليكا (silica) والأغاروز (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 الفبرونيكتين اللاصقة للخلايا على سطوح التيتانيوم [133] من خلال التفاعلات التساهمية والأيونية بين أكسجين المجموعات الهيدروكسيلية الطرفية للتيتانيوم ومجموعة النيتروجين في الفبرونيكتين [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 الإي كولي (*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 رابطة 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 لبيتيدات نشطة حيويًا على أسطح تفاعلية من خلال مجموعات أمينية طرفية. (A) مجموعات كربوكسيلية مُفعَّلة مسبقًا مع ثنائي إيميد الكربون (EDC, DCC) (carbodiimide) و (B) *N*-هيدروكسي سوسين إيميد (N-hydroxysuccinimide) (NHS) و (C) مجموعات هيدروكسيلية مُفعَّلة مسبقًا مع كلوريد التريسيل (tresyl chloride)، و (D) *إِن*، *إِن*'-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 *إِن*، *إِن*'-كربونات ثنائي السكسيني ميديل (DSC) أو (H) محوَّلة إلى أسطح محتوية على الكربوكسيل مع أميدريد السكسينيك (succinic anhydride). كما يمكن للمجموعات الأمينية أن تُحوَّل أيضًا إلى أسطح مخصصة وظيفيًا بواسطة المالِي إيميد (maleimide) عن طريق الـ (SMCC) لتثبيت البيتيدات 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 وجزئيات 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 جزئيات واسمّة (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 -oxohydrazone) 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 لتثبيت 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) والأmino 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)، (E) سطح الثيول والبرومو أستييل - حمض (RGD) (bromoacetyl - RGD)، (F) سطح المالبي إيميد (maleimide) والثيول - حمض (RGD) (thiol - RGD)، (G) سطح البوليبستيرين (polystyrene) والبيزوفينون - حمض (RGD) (benzophenone RGD)، (H) سطح (PU - PEG) والآزيد الأروماتي العطري - حمض (RGD) (aromatic azide - RGD).

إن المواد الحيوية التي تفتقر إلى المجموعات الوظيفية السطحية التي تنشأ بشكل طبيعي تتم إعاقتها 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 الحلمنة (التفكيك بإقحام جذر أميني) (aminolysis reactions) وتفاعلات الأكسدة / الإختزال (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 وظيفياً بواسطة الأمينات (amino - functionalized surfaces) [162]. لقد تم تثبيت خيوط (sutures) مصنوعة من البولي (غليكولايد) ذي سطح مُحلّمه ((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 كابرولاكتون (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 إيثيلين-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 البورنة المائية / الأكسدة (hydroboration / oxidation) أو لإدخال مجموعات كربوكسيلية من خلال الأكسدة. وتم إقران السطوح المخصصة وظيفياً بالهيدروكسيل والكربوكسيل مع بيتيدات اللامينين اللاصقة باستخدام كلوريد التريسييل وقد أظهرت زيادة في التصاق وامتداد خلايا المحوار الحُصِيَّية (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 انبثبات أو نمو المحوار (neurite - outgrowth) لسلسلة البيتا اثنان (β_2 -chain) في اللامينين. وتم إقران البيتيدات بنجاح مع السطوح المخصصة وظيفياً بواسطة الأمينات باستخدام رابط متشابه غير وظيفي 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 برويل 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 البرودات (periodate oxidation reactions) [172]. تتضمن التفاعلات الكيميائية السطحية الأخرى تفاعلات السيلنة (silanization reactions) وتفاعلات الكلورة (chlorination reactions) وتفاعلات الأسيلة (acylation reactions) وتفاعلات الرّبع أو التريبع (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 (peroxy) 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) ريبًا 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) سطحياً باستخدام المعالجة ببلازما الأمونيا المفعلّة بالأشعة فوق البنفسجية لإنتاج مجموعات مخصصة أو محددة وظيفياً 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 بلمرة الطعم (٦, ٤, ٣, ٢, ٢)

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 - بيتيدية 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 خلايا 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 الإبتداء (التحريض) الضوئي (photo - initiation) أو التثعيع 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] والبيتيدات 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 طاقيّة 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 كبادئات 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 (PE - polyethylene) 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 لموحد (مونومر) حمض الأكريليك (acrylic acid monomer) على سطح البولي إيثيلين (PE). وقد تم تثبيت ألبومين المصل البقري (bovine serum albumin) والكولاجين من النمط الأول وبيتيدات الـ (RGDS) على سطوح الأفلام حيث لوحظ التمايز العصبي (neural differentiation) لخلايا الدماغ المتوسط (midbrain cells) [202]. وتم استخدام تفاعلات الأبتداء 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 كابرولاكتون (PCL - poly(ϵ -caprolactone)) من خلال الحفر بالمذيبات (solvent etching) باستخدام نظام المذيب المشارك. وتم طمر (تضمين) أنصاف أو أجزاء غليكول الإثيلين (ethylene glycol moieties) على سطوح البولي كابرولاكتون (PCL)، والتي تم تطعيمها في نفس الوقت بجزيئات الـ (GRGD) بشكل ضوئي كيميائي (photochemically) وذلك لتشكيل سطوح من البولي كابرولاكتون - 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 واعد في تطبيقات هندسة الأنسجة للمساء [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 بيتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) باستخدام رابط متشابك غَيْرَوِيّ ثنائي الوظيفة (heterobifunctional) لإقران البيتيدات مع المجموعات الأمينية الطرفية على طبقة البولي (غليكول الإثيلين) (PEG) المطعمة من خلال مجموعات سلفهيدريل السيسْتَيْن 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-أزيدو-2-نيتوفينيلامينو-6-إين-سانبأه (N-succinimidyl-6-[4-azido-2-nitophenylamino]-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**

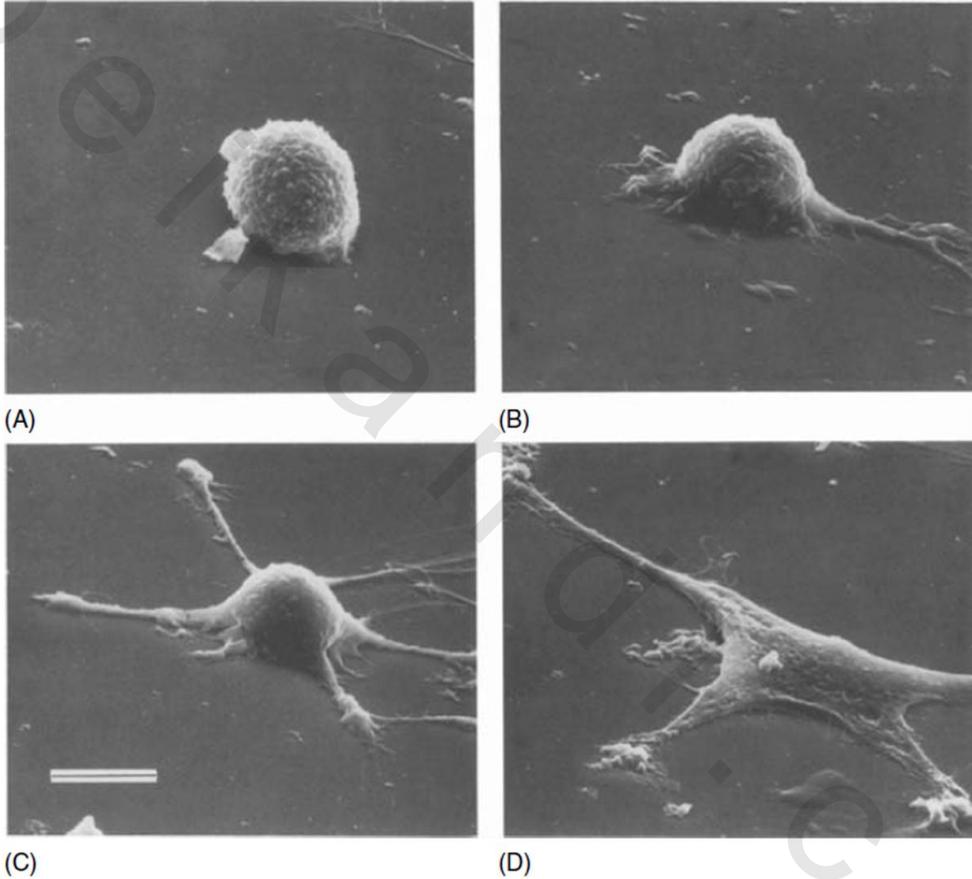
يمكن تصنيع حاملات خلايا وأنسجة محاكية حيوياً من أجل هندسة الأنسجة وذلك لغرض التنظيم أو التحكم بالاستجابات البيولوجية والخلوية عند السطح الفاصل (interface) بين المواد الحيوية والبيئة المضيفة. ويمكن التحكم بالاستجابات في المختبر وفي الجسم الحي لهذه المواد المعدلة ليس فقط عن طريق نوع الجزيء الحيوي المحاكي 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 حيوياً ومعدلة السطح من أجل هندسة الأنسجة.

يعتمد العديد من العمليات الخلوية ضمن الأنسجة على تركيب جزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM) الأساسية المشكّلة 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 حدٍ أدنى من التركيز السطحي للفبرونيكتين 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 حدٍ أدنى من الكثافة السطحية من أجل الحصول على استجابات خلوية. لقد قام Massia وآخرون بإجراء دراسات كميّة (quantitative studies) لفحص الاستجابة الخلوية للـ (GRGDY) المثبت على ركائز من الزجاج والمعدّل بواسطة البوليمير من خلال بقايا الغليسين ذات النهاية الأمينية (-N-terminal glycine residue) [218] (الشكل رقم ٦.٥). وقد وُجد أن حدّاً 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 حيوياً 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 تم توظيف طريقة لربط بوليمر اصطناعي بحيث سمحت بتغيير كلٍ من متوسط الكثافة السطحية والتوزيع المكاني الموضوعي للبيبتيدات المثبتة بالسطح [223]. فتم ربط بيبتيدات الـ (YGRGD) على سواير مُعدّلة بهلام مائي مصنوع من البولي (غليكول 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) المنثقة من لب أو نواة مركزية (central core). وقد تم 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 لجائن يتراوح بين ١٠٠٠ و ٢٠٠٠٠٠٠ 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 المتعقّدة (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 الموضوعي (local cluster size). كما أظهرت الخلايا أيضاً ألبافاً إجهادية واتصالات بُورية مُشكّلة بشكلٍ جيد عندما تم تقديم اللجان الببتيدية في أشكال متعقّدة أو مُجمّعة (clustered forms).

وفي حين يسمح تعنُّد أو تجميع (clustering) ببتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) في المستوى النانوي بتعزيز استجابات خلوية محددة، إلا أن المسافة التي منها تكون البيبتيدات مُوجهة من سطح الركيزة يمكن أن تؤثر على سلوك الخلايا أيضاً. ومن الممكن أن تتطلب الخلايا بأن تكون بيبتيدات 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 تم 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 البيبتيد [226-229]. وقد لاحظ Hern وآخرون بأن السطوح المعدّلة بواسطة بيبتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) والتي تحتوي على فواصل من البولي (غليكول 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 بيبتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGDs) من دون فواصل من البولي (غليكول الإيثيلين) (PEG) قد أظهرت التصاقاً محدوداً للخلايا وذلك حتى عند كثافات سطحية أعلى [230]. وقد ظهر بأن ارتباط الصفيحات (platelet) بالخزرات (beads) المصنوعة من البولي (أكريلو نتريل) (poly(acrylonitrile)) يتعزز عن طريق إقران أو ربط ما يصل إلى ١٣ من بقايا الغليسين مع النهاية الأمينية لبيبتيد الـ (RGDF) [231]. وقد اقترح Beer وآخرون أن غالبية مواقع الارتباط لبيبتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) يمكن الوصول إليها عن طريق بيبتيدات تمتد باستطالة قدرها من ١١ إلى ٣٢ أنغستروماً ($11 - 32 \text{ \AA}$) من سطح الركيزة وأن معظم مستقبلات الخلايا يمكن الوصول إليها بطول فاصل قدره ٤٦ أنغستروماً (46 \AA). وقد اكتشف Craig وآخرون بأن ١٢ من بقايا الحمض الأميني كانت مثالية للطول الفاصل في طبقات التغطية الجديدة باستخدام قليل البيبتيد [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 المايكروي [1].



الشكل رقم (٥، ٦). صور مجهرية بواسطة المجهر الإلكتروني الماسح (SEMs) للخلايا المنتصقة على ركائز تحتوي على ببتيد الـ (GRGDY) مُطعم بشكلٍ تساهمي تبين عملية التصنيف إلى الأنماط ١-٤ (I-IV). لقد تم إظهار الخلايا المنتصقة 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 بشكلٍ 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 بالبيتيد. وبما أن لكل نوع من الخلايا نمطه النموذجي الخاص به للتعبير عن الإنتغرين (integrin expression)، فإنه من الممكن استخدام بيتيدات 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 ببيتيدات الـ (RGD)، و (RGDS)، و (RGDT) [239]. وقد أظهرت رباعيات الببتيد (tetrapeptides) المشتقة من الفبرونيكتين 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 بيتيدات 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 بيتيدات حلقيّة بالمقارنة مع تشكيلاتها الخطية [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 $(\alpha_{11b}\beta_3)$ ؛ وعلى أي حال، فإن لها انجذابًا أعلى بشكل ملحوظ نحو إنتغرينات $(\alpha_5\beta_3)$ [242]. يمكن للبيتيدات الحلقيّة (G*PenGRGDSPC*A) [243] و (cyclo(RGDf (NMe) V)) [244] أن تتوسط في تفاعلات الإنتغرين $(\alpha_v\beta_3)$ الانتقائية، بينما تعزز الببتيدات الخطية المشتقة من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) التصاق الخلايا بوساطة الإنتغرين $(\alpha_5\beta_1)$ [245-247]. تُظهر نفس هذه الببتيدات الخطية من حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD)، مع بقايا الأحماض الأمينية المحبة للشحم (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 $(\alpha_{11b}\beta_3)$ والتصاقًا انتقائيًا للخلايا من خلال هذه المستقبلات [218,248-250]. ويمكن لتراص أو لصق الصفائح (platelet agglutination) المضي قدمًا بشكل انتقائي على سطوح الـ (GRGDF) من خلال إنتغرينات الـ $(\alpha_{11b}\beta_3)$ [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]. وبشكلٍ 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 ببتيد 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 سالكية (patency rate) أقل بسبب تكوّن الخثرة (thrombus) وانسداد باطنة الشريان (intimal occlusion) عند عملية الزرع [255]. لذلك؛ فقد تم بذل الجهود باتجاه تطوير طُعوم وعائية ذات توافقية حيوية مُحسّنة ومُطاوَعَة ميكانيكية (mechanical compliance) مُحسّنة 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 ببتيديات بيولوجية مثبتة على سطوح الركائز. وقد تم طلاء أو تغطية رباعي فلورو إيثيلين (tetrafluoroethylene) الموسّع وتثبيتته مع الفيرونيكتين والببتيديات 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 تحسّنًا في التصاق وتكاثر الخلايا البطانية [260-262]. لقد تم استكشاف ببتيديات أخرى من أجل المزيد من تفاعلات الالتصاق النوعية التي تتم بوساطة 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 الفيرونيكتين 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 (غليكول الإيثيلين) - ثنائي الأكريلات (poly(ethylene glycol) - diacrylate) عن طريق التعديل الكيميائي والبلمرّة 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 / Fik-1)، والذي يعتبر واسمة وعائية (vascular marker)، قد ازداد حتى عشرين ضعفاً، بالمقارنة مع الأجسام الجنينية مُضغِيَّة 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 السريية الرئيسية 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 التراجعي (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 السدوية (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 سليفة العظمية البشرية (osteoprogenitor) [107]. كما تم أيضاً ربط ببتيدات حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) مع البوليمرات 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 نُشوباً أو نموًا عظمياً معززاً ومُسرَّعاً، من دون تشكيل نسيج ليفي بيني (interfacial fibrous tissue)، وذلك بالمقارنة مع عينات المراقبة غير المطلية [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 لإنزيم 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 للديكورين (decorin) والكول-1 (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) الحلقية 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 (hyalauronic acid) أو بيتيدات الـ (YRGDS) وتم تقييمها فيما يتعلق بالنشاط المكوّن للغضروف (chondrogenic). وقد أظهرت الخلايا الممحفظة في الهلامات المائية المعدلة بواسطة بيتيد حمض الأرجينين - الغليسين - الأسبارتيك (RGD) تشكيل غضروف جديد (neocartilage) مع ترسيب مصفوفة خارج خلوية قعدة (basophilic extracellular matrix) (تتلون بالملونات القاعدية) في غضون ثلاثة أسابيع من الزراعة وأنتجت تنظيماً عالياً 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 متقطع (flow intermittency bioreactor). وقد أظهرت الحاملات المايكروية المعدلة السطح تكادساً 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 يوماً [164]. وعلى أي حال، فقد أثبتت الأفلام الرقيقة المصنوعة من البولي (حمض -إل-لاكتيك) (PLLA) والبولي (حمض -إل-لاكتيك-كو-جليكوليك) (PLGA) بنسبة (50 : 50) 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 - الألبينات - 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 رتبة 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 مجالاً مزدهراً 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 حسنت السطوح المعدلة باستخدام ببتيدات مشتقة من اللامينين وال (YIGSR) وال (IKVAV) وبشكل ملحوظ من التصاق الخلايا العصبية (P12) [281]. وقد وجهت 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 الجذر الظهراني (dorsal root ganglia) [282]، في حين عززت الهلامات المشتقة من

الـ (IKVAV) وبشكلٍ ملحوظ النمو الخارجي للمحور العصبي (neurite outgrowth) من الخلايا (PC12) [283]. لقد تم تثبيت خماسيات الببتيد (pentapeptides) المشتقة من اللامينين (YIGSR و IKVAV) على أفلام من بروبيلين الإيثيلين المفلور (fluorinated ethylene propylene) وأظهرت زيادة في التصاق الخلايا (NG108-15) بواسطة المستقبل [284,285]. وبشكلٍ مماثل، فإن الهلام المائي المصنوع من البولي (هيما-كو-إيما) (poly(HEMA-co-AEMA)) المعدل باستخدام الببتيدات المشتقة من اللامينين قد وجّه التصاق الخلايا والنمو الخارجي للمحور 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 وبشكلٍ مزيج في هلامات الفيبرين (fibrin gels) وقد عززت امتداد المحور العصبي (neurite extension) في المختبر وتجديد محور عقدة الجذر الظهرانيّ (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 بيروول (polypyrrole - PPy) وتم تثبيتها على السطوح لتتفاعل بشكلٍ موضعي مع الخلايا. ولقد عززت السطوح المعدلة بخصائص 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 الأروميّ العصبي (neuroblastoma cells) في المختبر [289]. وعلاوة على ذلك، فقد أثبتت الدراسات التي تم إجراؤها في المختبر بأن سطوح الإلكتروتودات المعدلة باستخدام (PPy / CDPGYIGSR) أظهرت زيادة كبيرة في التلوين الموضعي للخيوط العصبي (neurofilament) بعد أسبوعٍ 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 بيروول (PPy). لقد دعمت السطوح المنشِطة باستخدام مزيج من الببتيد أعلى كثافة عصبية، في حين كان لدى السطوح المنشِطة باستخدام الـ (RNIAEIIKDI) محاور عصبية أساسية (primary neurites) أطول بشكلٍ ملحوظ والتصاقًا أقل للخلية النجمية (astrocyte) من مادة الإلكتروتودات الشائعة، وهي الذهب [291].

(٦,٨) الاستنتاجات CONCLUSIONS

إن التحدي الرئيسي الأول في تطوير بنية مُهندسة نسيجياً يكمن في تطوير بيئة مايكروية اصطناعية (synthetic microenvironment) يمكن أن تحاكي عن كَثَب البنية المايكروية والنانوية الهرمية (hierarchical micro- and nanoarchitecture) المعقدة للمصفوفة خارج الخلية (ECM). إن لاستنساخ 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-RGDSGGC 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 11bb3 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-co-glycolide)/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, Rezania 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] Jennissen 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] Hayakawa 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] Hayakawa 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, Besselink 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 r-oxo hydrazone bonds. Preliminary functional investigations. *Bioconj. 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-glycolide). *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 Shekeshoff 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 Shekeshoff 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 Lednický 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 polyethylenterephthalat 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] Loebbeck A, Greene K, Wyatt S, Culbertson 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 α IIb β 3, α v β 3, and α 5 β 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 α v β 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] Rezanian 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-alginate-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, Hersh 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 Zambonin 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 alphaxbeta2 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.