

تقنيات النانو في هندسة الأنسجة العصبية

Nanotechnologies in Neural Tissue Engineering

Vivek Mukhatyar, Julie Yeh, and Ravi Bellamkonda

المحتويات CONTENTS

٤٥٣	INTRODUCTION مقدمة (١٢,١)
	تقنيات النانو المستخدمة لفهم الأنسجة العصبية بصورة أفضل لصياغة إصلاحها بعقلانية (١٢,٢)
	ANOTECHNOLOGIES USED TO BETTER UNDERSTAND NEURAL
٤٥٥	TISSUE TO RATIONALLY FASHION ITS REPAIR
	التشكيل المايكروي / النانوي في المختبر لفهم عملية توجيه المحور العصبي بصورة أفضل / Micro (١٢,٢,١)
٤٥٥	Guidance Nanopatterning in Vitro to Better Understand Axon
	التصنيع المايكروي لإنشاء أنماط لمراقبة آثار الإشارات الطبوغرافية Microfabrication to Create (١٢,٢,١,١)
٤٥٥	Patterns to Observe the Effects of Topographical Cues
	مراقبة تفاعل المحور العصبي مع بروتينات المصفوفة خارج الخلية باستخدام الحفر النانوي بواسطة القلم المنغمس (١٢,٢,١,٢)
٤٥٦	Observing Axonal Interaction with ECM Proteins Using Dip-Pen Nanolithography المنغمس
٤٥٧	Quantum Dots النقاط الكميّة (١٢,٢,٢)
	إظهار تفاعل اللّجين-المستقبل باستخدام النقاط الكميّة المقترنة بالببتيد Visualizing (١٢,٢,٢,١)
٤٥٧	Ligand-Receptor Interaction Using Peptide Conjugated Quantum Dots
	الطوبوغرافيات المايكروية-النانوية التي توجه المحاور العصبية في المختبر وفي الجسم الحي (١٢,٣)
٤٥٩	MICRO-NANO TOPOGRAPHIES THAT GUIDE AXONS IN VITRO AND IN VIVO
	الإشارات الطبوغرافية لتجديد الأعصاب: الألياف الطبيعية Topographical Cues for (١٢,٣,١)
٤٥٩	Regenerating Nerves: Natural Fibers

- ٤٦٠..... Self-Assembling Peptide Nanofibers الألياف الببتيدية النانوية ذاتية التجميع (١٢,٣,١,١)
- ٤٦١..... Silk Fibers to Enhance Nerve Regeneration ألياف الحرير لتعزيز تجديد الأعصاب (١٢,٣,١,٢)
- Magnetically Aligned Nanofibers for Cell Alignment ألياف النانو المتراففة مغناطيسياً لترافف الخلايا (١٢,٣,١,٣)
- ٤٦١..... Cell Alignment
- ٤٦١..... Biosynthetic and Synthetic Fibers الألياف التركيبية الحيوية والألياف التركيبية (١٢,٣,٢)
- ٤٦٢..... Fabrication through Electrospinning التصنيع من خلال الغزل الكهربائي (١٢,٣,٢,١)
- Synthetic Electrospun Fibers ألياف التركيبية المغزولة كهربائياً من أجل هندسة الأنسجة العصبية (١٢,٣,٢,٢)
- ٤٦٣..... for Neural Tissue Engineering
- ٤٦٣... Biosynthetic Fibers with Conductive Properties الألياف التركيبية الحيوية ذات الخصائص الموصلة (١٢,٣,٢,٣)
- Biosynthetic Fibers to Aid in Schwann Cell Migration الألياف التركيبية الحيوية للمساعدة في هجرة خلايا شيفان (١٢,٣,٢,٤)
- ٤٦٣..... in Schwann Cell Migration
- Topography for Controlled Migration الطوبوغرافية من أجل هجرة مُتحكم بها لخلايا شيفان (١٢,٣,٢,٥)
- ٤٦٤..... of Schwann Cells
- ١٢,٤) مصفوفات الإلكترودات النانوية وطلاؤها لفهم الوظيفة الكهربائية والكيميائية الحيوية وتحسين دمج الأنسجة
NANO-ELECTRODE ARRAYS AND THEIR COATINGS TO UNDERSTAND ELECTRICAL
AND BIOCHEMICAL FUNCTION AND IMPROVE TISSUE INTEGRATION
- ٤٦٥..... AND BIOCHEMICAL FUNCTION AND IMPROVE TISSUE INTEGRATION
- Neas to Evaluate مصفوفات الإلكترودات في المستوى النانوي لتقييم الشبكات العصبية (١٢,٤,١)
- ٤٦٥..... Neural Networks
- NEAs مصفوفات الإلكترودات في المستوى النانوي تقدم معلومات عن تنظيم الجهاز العصبي (١٢,٤,١,١)
- ٤٦٦..... Provide Information on the Organization of the Nervous System
- ٤٦٦..... Carbon Nanotube-Based Arrays المصفوفات المبنية على أساس أنابيب الكربون النانوية (١٢,٤,١,٢)
- ٤٦٨..... Nanoscale Electrode Coatings طبقات طلاء الإلكترودات ذات المستوى النانوي (١٢,٤,٢)
- Electrostatic طبقات الطلاء الكهرستاتيكية المبنية على أساس طبقة تلو الطبقة (١٢,٤,٢,١)
- ٤٦٨..... Layer-by-Layer-Based Coatings
- ٤٦٩..... iCVD Coatings طبقات الطلاء بواسطة الترسيب المبدوء للأبخرة الكيميائية (١٢,٤,٢,٢)
- Using Nanoscale استخدام النانوسيلولوز ذي المستوى النانوي لدمج الأدوية المضادة للالتهاب (١٢,٤,٢,٣)
- ٤٦٩..... Nitrocellulose to Incorporate Anti-Inflammatory Drugs
- NANOPARTICLES الجسيمات النانوية من أجل الإطلاق المتحكم به للعوامل الغذائية في الجهاز العصبي (١٢,٥)
- ٤٧٠... FOR THE CONTROLLED RELEASE OF TROPHIC FACTORS IN THE NERVOUS SYSTEM
- Nanoparticles for the Release of الجسيمات النانوية من أجل إطلاق الأدوية المضادة للالتهاب (١٢,٥,١)
- ٤٧٠..... Anti-Inflammatory Drugs

٤٧١ of Antiscarring Drugs
٤٧١ Nanoparticles for Neuroprotection الجسيمات النانوية من أجل الحماية العصبية
٤٧٢ FUTURE OUTLOOK الآفاق المستقبلية
٤٧٣ ACKNOWLEDGMENTS شكر وتقدير
٤٧٣ REFERENCES المراجع

INTRODUCTION مقدمة (١٢،١)

يتم إنشاء الأنظمة البيولوجية (biological systems) من بُنى هرمية (hierarchical structures) مُركبة من كتل بناء في مستوى النانو. ويتم تجميع هذه المركبات ذات المستوى النانوي لتكوين بُنى في المستوى الماكروي (macroscale structures) ذات شكل ووظيفة محددتين. وتوفر تقنية النانو أداة جديدة لتصنيع وقياس وفحص هذه الأنظمة البيولوجية والتفاعل معها في المستويات الذرية والجزيئية (atomic and molecular levels) التي تتراوح عادةً ما بين ١ إلى ١٠٠ نانومتر. تتيح هذه القدرة التحكم الدقيق بعدد من الخصائص الفيزيائية والوظيفية، والتي تعتبر فريدة من نوعها لتطبيقات محددة [1]، بما في ذلك الخصائص الميكانيكية والفيزيائية والكيميائية والكهربائية للمواد. ومن المحتمل أن تكون للمواد المنتجة باستخدام تقنية النانو مستويات قياس وخصائص مهندسة لتتفاعل بطرق يمكن التحكم بها مع المواد البيولوجية المناظرة لها؛ مما يؤدي في النهاية إلى تعزيز التوافقية الحيوية (biocompatibility) والتخصيص أو التحديد الوظيفي (functionality) [2].

في هذا الفصل، سنستعرض الجهود المستمرة في تقنية النانو وتأثيرها على مجال هندسة الأنسجة العصبية (neural tissue engineering). ويأتي هذا الدافع لتطبيق تقنية النانو على هندسة الأنسجة العصبية من الكثير من المشاكل التي لم يتم حلها في مجال العلوم العصبية (neuroscience) وفي مجال علم الأمراض العصبية (neuropathology). واحدة من الآثار الواضحة للمستويات الصغيرة تنبع من حقيقة أن النسيج العصبي غالباً ما يكون مُتوضّعاً في أماكن ضيقة أو محصورة (نشاط العمود الفقري والجمجمة (vertebral column and cranial activity))، حيث إن المكان استثنائي وأن أي طُعم أو مادة مزروعة (implant) يمكن أن تسبب مضاعفات (complications) من خلال تطبيق الضغط. إن التحديدية (النوعية) الجزيئية (molecular specificity) مهمة جداً أيضاً في تفاعل وتعديل الجهاز العصبي (interacting and modulating the nervous system)، حيث يكون العديد من أنواع الخلايا ذات الوظائف المختلفة والمحددة مكتظة بكثافة مع بعضها. ونظراً للطبيعة المعقدة للنسيج العصبي الذي يشمل كلاً من التوصيل أو الموصليّة الكهربائية والكيميائية الحيوية (electrical and biochemical connectivity) التي تقوم عليها وظيفته "الصحية" ("healthy" function)، فإن تقنية النانو التي تساعدنا في فهم الوظيفة العصبية بشكل أفضل سوف تلعب دوراً مهماً في توفير معايير التصميم من أجل هندسة الأنسجة العصبية.

يناقش هذا الفصل عدة تقنيات نانوية والتي تؤثر مجتمعةً على هندسة الأنسجة العصبية. يتضمن الجدول رقم (١٢.١) ملخصاً عن هذه التقنيات. وعلى الرغم من أن بعض هذه التقنيات لا تزال في مراحلها الأولى، إلا أن قدرتها على التأثير السريري (clinical impact) واضحة، وستتم مناقشتها في هذا الفصل.

الجدول رقم (١٢,١). تأثير تقنية النانو على هندسة الأنسجة العصبية.

التطبيق (Application)	تقنيات النانو (Nanotechnologies)
أدوات في مستوى النانو لفحص الجهاز العصبي (Nanoscale Tools to Probe the Nervous System)	
تقييم استجابة المحور العصبي (axonal response) للإشارات أو المنبهات المكانية والزمانية (spacial and temporal cues)	تصنيع الطبوغرافيات أو السمات السطحية في مستوى النانو (nanoscale topographies) والأنماط أو الزخارف الجزئية في المستوى المايكرو / النانوي (micro / nanoscale molecular patterns)
دراسة استجابة الخلايا العصبية (neuronal cell response) للئين المشابهة للمصفوفة خارج الخلية (ECM-like structures)	الحفر النانوي (nanolithography) لتصنيع بُنى المصفوفة خارج الخلية (ECM structures) من مواد طبيعية ومواد تركيبية
إظهار مسارات نقل الإشارات (image signaling pathways) والوظيفة الخلوية المستهدفة (target cellular function)؛ الاقتران الببتيدي (peptide conjugation) لتوصيل الببتيدات إلى الأهداف الجزئية (molecular targets)	النقاط الكمية (Quantum dots)
أدوات في مستوى النانو لتوجيه المحاور العصبية (Nanoscale Tools to Guide Axons)	
دمج الحواتم أو المحددات المستضدية (epitopes) لتشجيع نمو المحاور العصبية (neurite growth)	ألياف نانو ذاتية التجميع (self-assembling nanofibers)
توفير إشارات أو منبهات طبوغرافية (topographical cues) لخلايا شيفان (Schwann cells) المغمدة للألياف العصبية والمحاور العصبية (axons) لتوجيه عملية تجديد العصب (nerve regeneration)	الغزل الكهربائي (electrospinning) لألياف النانو من مواد طبيعية ومواد تركيبية ومواد تركيبية حيوية
تقنية النانو والربط البيئي العصبي (Nanotechnology and Neural Interfacing)	
التحفيز (stimulate) والتسجيل من المحاور العصبية الفردية (individual axons) والتشعبات أو التغصنات (dendrites)؛ تحسين نسبة الإشارة إلى الضجيج (signal-to-noise ratio)	مصفوفات إلكترونية نانوية (nanoelectrode arrays) (أنابيب الكربون النانوية carbon nanotubes)
تحسين التصاق وتمايز الخلايا على الإلكترودات العصبية (neural electrodes)	طلاء أو تغليف اللامينين طبقة تلو طبقة (layer-by-layer coating of laminin)
الحد من الاستجابة الالتهابية (inflammatory response)؛ توفير التوصيل المستمر للأدوية (sustained delivery of drugs) إلى موقع الزراعة (implantation site)	الطلاء أو التغليف التروسيليلوزي (Nitrocellulose coating) لدمج الأدوية
تقنية النانو والتوصيل المتحكم به للأدوية إلى الجهاز العصبي (Nanotechnology and Controlled Delivery of Drugs to the Nervous System)	
تقليل التندب (scarring) وتوفير حمأي عصبية في الحبل الشوكي (neuroprotection in the spinal cord)	أكسيد السيريوم (Cerium oxide) وجسيمات الـ ChABC النانوية (ChABC nanoparticles)
القدرة على عبور أو تحطيط حاجز الدم - الدماغ (cross blood - brain barrier)؛ إنتاج إطلاق متواصل للأدوية (sustained release of drugs)	جسيمات نانوية (nanoparticles)

(١٢،٢) تقنيات النانو المستخدمة لفهم الأنسجة العصبية بصورة أفضل لصياغة إصلاحها بعقلانية
NANOTECHNOLOGIES USED TO BETTER UNDERSTAND NEURAL TISSUE TO RATIONALLY FASHION ITS REPAIR

(١٢،٢،١) التشكيل المايكروني / النانوي في المختبر لفهم عملية توجيه محور العصبي بصورة أفضل / Micro
Nanopatterning In Vitro To Better Understand Axon Guidance

يتطلب الأمر أعداداً كبيرة من الإشارات الفيزيائية والكيميائية الحيوية (physical and biochemical signals) من أجل التجديد المثالي للجهاز العصبي المركزي (central nervous system - CNS) والجهاز العصبي المحيطي (peripheral nervous system - PNS). إن فهم القواعد التي تحكم عملية التوجيه المحوري (axonal guidance) (توجيه المحور العصبي) يمكن أن تخبر عن إستراتيجيات لتصميم علاجات تجديدية (regenerative therapies) بحيث يمكن تقديم إشارات أو منبهات طوبوغرافية سطحية وكيميائية حيوية (topographical and biochemical cues) مثالية لتجديد المحاور العصبية (regenerating axons). إن التشكيل المايكروني / النانوي (micro / nanopatterning) على الركائز ثلاثية الأبعاد يزودنا بدرجة من التحكم المكاني (spatial control) اللازم لفحص استجابة المحور العصبي (axonal response) للإشارات أو المنبهات الطوبوغرافية السطحية والكيميائية الحيوية التي يتم التحكم بها بصورة جيدة [3,4]. إن بعض الجهود المبنية على تقنية النانو والموضحة في هذا القسم لا تُقدّر بثمن في إعلام الجيل القادم عن إستراتيجيات هندسة الأنسجة التي تهدف إلى إصلاح أو تجديد الجهاز العصبي (repairing or regenerating the nervous system).

(١٢،٢،١،١) التصنيع المايكروني لإنشاء أنماط لمراقبة آثار الإشارات الطوبوغرافية
Microfabrication to Create Patterns to Observe the Effects of Topographical Cues

يتم في الغالب تصميم حاملات هندسة الأنسجة العصبية مع إشارات أو منبهات توجيه طوبوغرافية سطحية (topographical guidance cues) محددة، والتي تساعد في التصاق وهجرة الخلايا العصبية (neuronal cells). وقد تم تكييف تقنيات التصنيع المايكرونية المطوّرة من أجل الاستخدام في صناعة الأجهزة الإلكترونية المايكرونية الدقيقة (microelectronics industry) لتحقيق تشكيل أو زخرفة في المستوى المايكروني والنانوي (micro - and nanoscale patterning) على ركائز تجريبية. فعلى سبيل المثال، وباستخدام الحفر الضوئي (photolithography)، يمكن حفر خطوط أو ممرات (lanes) مع أعماق تتراوح من ٥٠ نانومتراً إلى ٦ مايكرومترات، وتراكيب كيميائية (chemistries) مختلفة موضوعة على ركيزة من شريحة السيليكا المنصهرة (fused - silica slide substrate)، وذلك لفهم تأثيرات التفاعلات الهرمية (hierarchical interactions) على السلوك الخلوي [5]. على سبيل المثال، يمكن تطبيق الممرات المشكّلة أو المزخرفة بواسطة تناوب سيلان الميثيل (methylsilane) واللامينين (laminin) الكارهة للماء وذلك لتقييم توجيه المحاور أو المحور العصبي (neurite orientation) في الاستجابة للتشكيل أو الزخرفة والتركيبة الكيميائية السطحي في وقت واحد. وتشير هذه الدراسات إلى استنتاج أن المحاور العصبية تلتصق بشكل تفضيلي بركائز اللامينين اللاصقة (adhesive laminin substrates) وتستجيب أيضاً للحواجز الشبكية الطوبوغرافية السطحية (topographical gratings) مختلفة الأعماق. وتصبح هذه المحاور العصبية متراصة بشكل عالٍ عندما تتجاوز

أعماق الأبخاديد ١ مايكرومتر. إن تقنيات التصنيع الأخرى مثل الحفر بالحزمة الإلكترونية (electron beam lithography) تسمح لنا أيضاً بتصنيع ركائز ذات خصائص أو سمات تصل إلى بضعة نانومترات [6,7]؛ مما يُمكن على الأرجح من أخذ عينات للعديد من الإشارات أو المنبهات باستخدام نفس المحور العصبي أو مخاريط النمو (growth cones). إن هذا المستوى من التحكم يسمح بمزيد من الدراسة المستفيضة حول الكيفية التي يمكن أن تتم بها معالجة المعلومات أو دمجها بواسطة المحاور العصبية المفردة أو مخاريط النمو المفردة. وبالتالي، توفر تقنيات التشكيل أو الزخرفة في المستوى النانوي أداة مهمة في تعزيز فهمنا لوظيفة مخروط النمو فيما يتعلق بمقدرته على كشف ومعالجة الإشارات أو المنبهات الطبوغرافية السطحية والكيميائية الحيوية.

(١٢،٢،١،٢) مراقبة تفاعل المحور العصبي مع بروتينات المصفوفة خارج الخلية باستخدام الحفر النانوي بواسطة القلم

المغمس Observing Axonal Interaction with ECM Proteins Using Dip-Pen Nanolithography

إن الحفر النانوي بواسطة القلم المغمس أو المغمس (dip - pen nanolithography - DPN) هي تقنية أخرى تم تطبيقها لدراسة الكيفية التي تتفاعل بها المحاور العصبية مع بيئتها خارج الخلية (extracellular environment). وقد تم استخدام الحفر النانوي بواسطة القلم المغمس أو المغمس (DPN) لطباعة بُنى الكولاجين وبنى شبيهة بالكولاجين مع خطوط يتراوح عرضها بين ٣٠ و ٥٠ نانومتراً [8]. توفر هذه التقنية وسيلة قوية لتنظيم الكولاجين في بنيتها الهرمية، بينما تتم المحافظة على نشاطه البيولوجي. وبصورة مختصرة، يمكن إضافة الثيول (thiol) (الجذر SH) إلى كولاجين ذيل الجُرذ المُجفَد (المجفّف بالتجميد) (lyophilized rat tail collagen) في بيئة حمضية وذلك للمحافظة على نشاطه الحيوي. ومن ثم يمكن استخدام مجهر القوة الذرية (atomic force microscopy - AFM) لتنفيذ الحفر النانوي بواسطة القلم المغمس أو المغمس (DPN)، عن طريق غمس الطرف أو الرأس المستدق لمجهر القوة الذرية (AFM tip) في محلول ببتيدي مائي (aqueous peptide solution) ويمكن القيام بعملية التشكيل أو الزخرفة عن طريق النقر (نمط النقر tapping mode)، في حين يتم تغيير الزاوية وذلك لإنجاز بُنى مشابهة بالكولاجين. إن لهذه التقنية إمكانية واسعة في التشكيل أو الزخرفة النانوية؛ لأنه من الممكن استخدامها لتصنيع مجموعة واسعة من البوليمرات عند مستويات قياس مماثلة لحالاتها الطبيعية. ومن حيث هندسة الأنسجة العصبية، يمكن لهذه التقنية أن تكون مفيدة جداً في فهم الاستجابات العصبية (neuronal responses) لمختلف الإشارات أو المنبهات الطبوغرافية السطحية والحواتم أو مولدات المضادات الببتيدية (peptide epitopes)، وكذلك في تصميم حاملات الخلايا والأنسجة ذات الخصائص أو السمات في المستوى النانوي من أجل تعزيز السلوك الخلوي.

يمكن تشكيل أو زخرفة البروتينات والأحماض الأمينية التركيبية والببتيدات الصغيرة على ركائز مختلفة مع تحكم مكاني رائع وذلك لتعديل نمو المحور العصبي (modulate axonal growth). وبالتالي يمكن للتشكيل أو الزخرفة النانوية أن تُزود بدقة تباين أعلى لتوفر وبشكل متباين جاذبات كيميائية (chemoattractants) ومُنْفِرَات (repellants) في مواقع محددة ضمن المنطقة المجاورة لمخروط النمو المفرد لغرض فحص سلوك الخلية الأساسي [4] وتحسين تصميم البنى المستخدمة في هندسة الأنسجة العصبية.

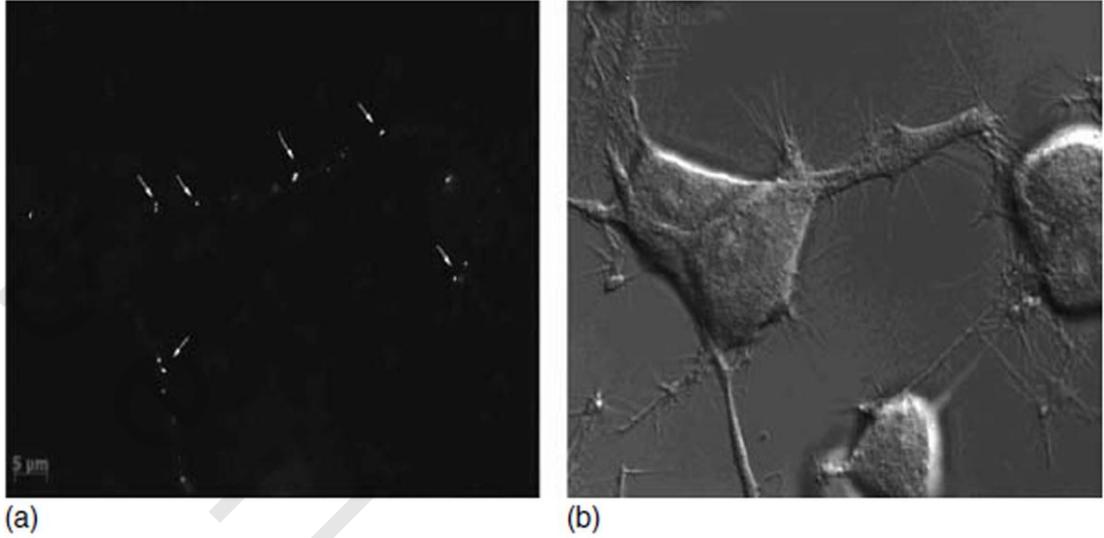
Quantum Dots الكميّة (١٢,٢,٢)

إن استخدام تقنية النانو في تمييز (وسم) (labeling) أو مراقبة الحالات والمعالجات البيولوجية واعد؛ لأن المواد النانوية (nanomaterials) غالباً ما تتمتع بميزات تالقيّة (fluorescence characteristics) فريدة. فتمتلك البلورات النانوية (nanocrystals) للنقاط الكميّة (quantum dot - QD) في أشباه الموصلات (semiconductor) ذات الأحجام التي تتراوح من ٢ إلى ٨ نانومترات خصائص تالقيّة مستقرة (stable fluorescent properties) بدرجة عالية.

توفر البنية الفيزيائية (physical structure) للنقاط الكميّة (QDs) أيضاً عدة مزايا لاستخدامها في الأنظمة البيولوجية. وغالباً ما يكون للنقاط الكميّة (QDs) لب أو قلب معدني ثقيل (heavy metal core) من الكاديوم - السيلينيوم (cadmium - selenium) مع غلاف خامل من سلفيد الزنك (inert zinc sulfide shell) وطبقة طلاء خارجية متغيرة (variable outer coating) يمكن أن تُصنع باستخدام جزيئات حيوية مختلفة مع تطبيق محدد [9]. وبإمكان هذه الجسيمات النانوية امتصاص الضوء على طول طيف واسع مع أطراف انبعاث ضيقة (narrow emission spectra). توفر خاصية النقاط الكميّة (QDs) هذه ميزتين لاستخدامها في تصوير الأنظمة العصبية البيولوجية (neurobiological systems). الميزة الأولى هي أن طيف الانبعاث الضيق يقلل من التداخل أو التراكب الطيفي (spectral overlap) الذي يساعد في تمييز الفلوروفورات (fluorophores) المتعددة. الميزة الثانية هي أن طيف الإثارة الواسع (broad excitation spectrum) يسمح باستخدام طول موجة الإثارة المفرد (single excitation wavelength) لإثارة النقاط الكميّة (QDs) مختلفة الألوان [2,9,10]. ويمكن تعديل تالقيّة النقاط الكميّة (QDs) بسهولة عن طريق تغيير حجمها أو تركيبها الكيميائي. وبالمقارنة مع الواسمات التالقيّة (fluorescence markers) المستخدمة في الكيمياء الهستولوجية المناعية (immunohistochemistry)، تواجه النقاط الكميّة (QDs) الحد الأدنى من التبييض الضوئي (photobleaching) وتؤدي إلى ارتفاع نسبة الإشارة إلى الضجيج (signal - to - noise ratio) [9-12]. إن هذه الميزات تجعلها مفيدة من أجل إظهار التعامل أو التبادل ما دون الخلوي (subcellular trafficking) في المختبر ومن أجل تتبع (tracking) وتمييز (characterizing) الخلايا في الجسم الحي.

Visualizing Ligand-Receptor Interaction Using Peptide Conjugated Quantum Dots (١٢,٢,٢,١)**Interaction Using Peptide Conjugated Quantum Dots**

تعتبر النقاط الكميّة (QDs) مفيدة من أجل إظهار مسارات محددة لنقل الإشارات المفعلة (specific activated signaling pathways). فيمكن أن تكون النقاط الكميّة (QDs) مقترنة بالبتيدات التي ترتبط بمستقبلات محددة (specific receptors) لمراقبة عملية تفعيل المسار. فعلى سبيل المثال، يمكن استخدام النقاط الكميّة المقترنة بالبتيد (peptide conjugated QDs) لتفعيل مسارات نقل الإشارات في خلايا الـ (PC12) في المختبر. لقد تم قرن أو دمج بتيد عامل نمو العصب - بيتا (β-nerve growth factor - NGF) بالنقاط الكميّة (QDs) باستخدام مُتقارنات الستربتافيدين - بيوتين (streptavidin - biotin conjugates)، في تفاعل ربط عالي الألفة (الانجذاب) (high affinity binding interaction)، مما ترك النشاط الحيوي للبتيد سليماً. يبين الشكل رقم (١٢.١) قدرة عامل نمو العصب - النقاط الكميّة (NGF - QDs) على التداخل (internalized) والنقل وذلك من أجل سير عمليات الخلايا (PC12). وقد أظهرت الدراسة بأن النقاط الكميّة الوظيفية (functional QDs) كانت ناجحة في تفعيل المستقبلات (TrkA receptors) والبدء بعملية تمايز الخلايا (PC12) [13].



الشكل رقم (١٢، ١). النقاط الكميّة مقترنة بعامل نمو العصب (NGF - QDs) يتم نقلها إلى سير عمليات الخلايا (PC12) (b)، مُشار إليها بواسطة الأسهم في (a). (تم نشر الصورة بإذن من Dr. Tania Vu, Oregon Health and Science University).

وفي دراسةٍ أخرى، مكّنت النقاط الكميّة (QDs) المقترنة بالجسم المضاد لمستقبل الـ (TrkA) المضاد (anti - TrkA) من إظهار عملية تدخيل أو إدخال (internalization) المركب المؤلف من اللّجين - المستقبل (ligand - receptor complex) والنقل الحويصليّ (vesicular transportation) ضمن الخلية [14]. وقد كانت النقاط الكميّة المقترنة بالـ (TrkA) المضاد (anti-TrkA QDs) قادرة على أن تتألق على وجه التحديد في وجود مستقبل الـ (TrkA). كما أظهرت الدراسة أيضاً بأن النقاط الكميّة تلك (QDs) كانت قادرة على التفاعل مع المحركات الخلوية (cellular motors) لعدة أيام بعد الالتقام الأولي (initial endocytosis). وبالتناوب، يمكن أن يقترن عامل نمو العصب (NGF) بالنقاط الكميّة (QDs) ليتتبع النقل العكسي (retrograde transport) لعامل نمو العصب (NGF) في مزارع عقدة الجذر الظهراني (dorsal root ganglion - DRG). وهذا ما يُمكن من القياس أو التحديد الكميّ للطاقات الحركية (kinetics) للنقل الدخُلولي (نقل الجُسيمات الداخلية) (endosomal transport) ضمن المحور العصبي بعد تدخيل مركب النقاط الكميّة - عامل نمو العصب (QD - NGF complex) [15]. ففي حين يتم استخدام النظائر المشعة الموسومة (radiolabeled isotopes) لدراسة النقل الحويصلي، توفر النقاط الكميّة (QDs) المقترنة بطريقة أكثر أماناً لتتبع وقياس مثل هذه الطاقات الحركية. وهكذا، فإن النقاط الكميّة (QDs) تعتبر أداة قوية لدراسة آلية الامتصاص (mechanism of uptake) وآلية التبادل داخل الخلوي (mechanism of intracellular trafficking) لعوامل نمو محددة أو بروتينات المصفوفة خارج الخلية (ECM)، وهذا بدوره يمكن أن يكون أداة تمكين قوية لهندسة الأنسجة العصبية.

(١٢،٣) الطوبوغرافيات المايكروية - النانوية التي توجه المحاور العصبية في المختبر وفي الجسم الحي MICRO-NANO TOPOGRAPHIES THAT GUIDE AXONS IN VITRO AND IN VIVO

المجال البحثي الآخر الذي كان لتقنية النانو تأثيرٌ عليه في هندسة الأنسجة العصبية هو تطوير حاملات خلايا وأنسجة تساعد في تجديد الأعصاب التالفة (regeneration of damaged nerves). ونظراً للفيزيولوجيا المعقدة لتجديد الأعصاب، فإن حاملات الخلايا والأنسجة المستخدمة من أجل التجديد تتطلب سمات أو خصائص تساعد في تكاثر و تمايز وهجرة الخلايا العصبية (neuronal cells) والخلايا الدبقية (glial cells). وبالتالي؛ فإن حاملات الخلايا والأنسجة ثلاثية الأبعاد التي تحاكي الخصائص الفيزيولوجية المعقدة (complex physiological properties) والإشارات الكيميائية (chemical cues) للمصفوفة خارج الخلية (ECM)، والتي تُمكن من الهجرة أو الانتقال الموجّه للخلية والمحور العصبي (guided cell and axonal migration) في المختبر وفي الجسم الحي تكون ضرورية. ويجب على حاملات الخلايا والأنسجة تلك أن توفر أيضاً بيئة عيوشة قابلة لإبقاء الخلايا على قيد الحياة (viable environment) من أجل نمو الخلايا ولا تُظهر أي استجابات مناعية (immune responses)، وأن تكون لها مساحة سطحية كبيرة وتسمح بحركة المواد الغذائية (nutrients) وتوفر الدعم القوي في الوقت الذي تكون فيه قادرة على التحلل بمعدلٍ مساوٍ لمعدل التجديد أو أصغر منه [16]. إن التحكم بالتجميع الجزيئي (molecular assembly) وبالطوبوغرافية السطحية (topography) في المستوى النانوي يوفر القدرة على إضافة أو إدخال بعضٍ من السمات المذكورة أعلاه مع تحكم مكاني وزماني (spatial and temporal control)، والذي من المحتمل أن يؤثر على إستراتيجيات توجيه الأعصاب (nerve guidance strategies) بشكلٍ ملحوظ.

إن الخصائص الثلاثة المهمة الخاصة بحاملات الخلايا والأنسجة والتي تعزز تجديد الأعصاب تشمل التوافقية الحيوية (biocompatibility) وقابلية التحلل (degradability) والمسامية (porosity). بالإضافة إلى ذلك، وبحسب ما تمت مناقشته في وقتٍ سابق، يمكن أن تؤثر الطريقة التي يتم من خلالها التحكم مكانياً وزمانياً بالإشارات أو المنبهات الطوبوغرافية والكيميائية الحيوية والمفعلة عن طريق تقنيات التشكيل أو الزخرفة في المستوى النانوي (nanoscale patterning techniques) وبشكلٍ ملحوظ على عملية التجديد، كما هو موضح أدناه.

(١٢،٣،١) الإشارات الطوبوغرافية لتجديد الأعصاب: الألياف الطبيعية Topographical Cues For Regenerating Nerves: Natural Fibers

يمكن أن تكون الألياف الطبيعية مُشكّلة من مواد مثل الجزيئات مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر (amphiphilic molecules) (وهي جزيئات تمتلك كلاً من الأجزاء المحبة للماء والكارهة للماء) والحرير والكولاجين. إن الخصائص الطبيعية الكامنة (inherent properties) للمواد ذات الأساس الليفي تجعلها متوافقة حيوياً بشكلٍ عالٍ، وذلك نظراً لنفاذيتها (permeability) وطبيعتها المطاوعة أو المتوافقة (compliant nature). وعلى وجه التحديد، تسمح النفاذية بانتشار المواد الغذائية الضرورية التي تعزز التصاق وهجرة الخلايا. وعلى أي حال، فإن نفس هذه الخصائص تجعل إنتاج مثل هذه الألياف معقداً، ويكون من الصعب التحكم في توجيه الألياف (fiber orientation) وذلك لتوجيه عملية انتقال أو هجرة الخلايا (cell migration) [16].

Self-Assembling Peptide Nanofibers (١٢,٣,١,١) الألياف الببتيدية النانوية ذاتية التجميع

يمكن تشكيل الألياف الطبيعية من خلال تصنيع الجزيئات مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر. توجد هذه الجزيئات في شكل محلول ومن ثم تتجمع ذاتياً عندما يتم وضعها في مُستعلقات الخلايا (suspensions of cells) مثل خلايا السلف العصبية (neural progenitor cells) [17]. وتقود أو تؤدي قوى الربط الأيوني (ionic bonding) والربط الهيدروجيني (hydrogen bonding) وتفاعلات فان دير فالس (van der Waals interactions) والاستجابات الكارهة للماء (hydrophobic responses) إلى تشكيل عملية التجميع الذاتي للبتيد وتوليد مادة صلبة مشابهة للمادة الهلامية (gel-like solid) [17]. ويمكن تصميم الرؤوس المحبة للماء (hydrophilic heads) للجزيئات مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر لتشمل حواتم أو محددات مستضدية (epitopes) معينة. فعلى سبيل المثال، يمكن أن يساعد إدخال أو دمج التسلسل آيسولوسين - ليسين - فالين - آلانين - فالين (isoleucine - lysine - valine - alanine - valine - IKVAV) في تعزيز نمو المحوار (neurite) (المحور العصبي) [18]. ويتراوح قطر ألياف النانو ذات التسلسل آيسولوسين - ليسين - فالين - آلانين - فالين (IKVAV) المدمج من ٥ إلى ٨ نانومترات، ويتراوح طولها من مئات النانومترات إلى بضعة مايكرومترات [17]. وعند المقارنة مع ركائز مصنوعة من اللامينين (laminin) ومن البولي (دي-ليسين) (poly(D-lysine))، فإن الخلايا المزروعة على الألياف النانوية ذات التسلسل آيسولوسين - ليسين - فالين - آلانين - فالين (IKVAV) كانت قد تمايزت بسرعة أكبر. بالإضافة إلى ذلك، فقد كان أداء هذه الألياف النانوية أفضل من طبقات الطلاء أو التغليف (coatings) بالبتيدات القابلة للذوبان ذات التسلسل آيسولوسين - ليسين - فالين - آلانين - فالين (IKVAV soluble peptides) وذلك نظراً لأن الألياف النانوية توفر كثافة أكبر للحواتم أو المحددات المستضدية [17]. وهكذا، فإن هذه الألياف ومع دمج حواتم أو محددات مستضدية معينة في الألياف النانوية تُظهر أنها تساعد في عملية التمايز العصبي (neuronal differentiation).

كما يمكن إنتاج الألياف النانوية الببتيدية مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر أيضاً من خلال الحفر اللين (soft lithography). ففي هذه العملية، يتم إنشاء ختم (stamp) لتوجيه الألياف ومن ثم يتم ضغطه على محلول من الجزيئات الببتيدية مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر (peptide - amphiphilic molecules) [19]. وبعد ذلك تتم عملية تبخير هذا التشكيل وصوتنته (sonicated) (تعريضه للأمواج الصوتية) وتجفيفه وذلك لإنتاج ألياف نانوية متراففة (aligned nanofibers). وتعتمد أبعاد الألياف على النسبة المئوية لوزن الجزيئات الببتيدية مُزدوجة الألفة أو مُتقابلة الزُمر. فمن أجل محلول ببتيدي ذي نسبة ٥٪ وزن، فقد تراوح عرض الألياف التي تم إنتاجها من ٢٠٠ إلى ٣٠٠ نانومتر مع ارتفاع من حوالي ٥٥.١ نانومتراً، في حين أن محلولاً ذا نسبة ١٪ وزناً قد أنتج عرضاً بقيمة ١٥٠ نانومتر، وارتفاعاً بقيمة ٢٣.١ نانومتراً [19]. وعلى أي حال، فقد ظهر بأن هذه الألياف الببتيدية النانوية متوافقة فقط مع أوساط الزراعة (media) وإنه من الضروري إجراء المزيد من الدراسات باستخدام مزارع الخلايا (cell cultures) وذلك لتحديد تأثيراتها بصورة أفضل.

Silk Fibers to Enhance Nerve Regeneration (١٢,٣,١,٢) ألياف الحرير لتعزيز تجديد الأعصاب

تمثل ألياف فيبروين الحرير (silk fibroin fibers) فئة أخرى من الألياف الطبيعية التي تم استخدامها لتعزيز عملية تجديد الأعصاب (nerve regeneration). فبعد إزالة السيريسين (sericin) (بروتين في الحرير)، والذي يحدث استجابات أو ردود فعل مناعية عكسية (adverse immunological responses)، تم استخلاص فيبروين الحرير لإنتاج ألياف بلغ قطرها ١٥ مايكرومتراً. إن تأثيراتها على عقد الجذور الظهرانية (DRGs) وخلايا شفان (Schwann cells) (الخلايا المغمدة للألياف العصبية) قد أظهرت توافقيتها الحيوية وقدرتها على تعزيز نمو الخلايا [20,21]. وقد تم أيضاً استخدام ألياف الحرير من العناكب وذلك لإنتاج قنوات (conduits). إن هذه الألياف المستخرجة من غدد العناكب يبلغ قطرها ١٠ مايكرومترات، وتسمح بالتصاق أفضل من خيوط البولي ديوكسانون الأحادية (polydioxanone monofilaments). بالإضافة إلى الالتصاق، فهي قادرة على دعم انتقال أو هجرة الخلايا وهي متوافقة حيوياً وقابلة للتحلل الحيوي؛ وعلى أي حال، فإن طريقة استخراجها (extraction method) الشاقة هي القيد الرئيسي [22].

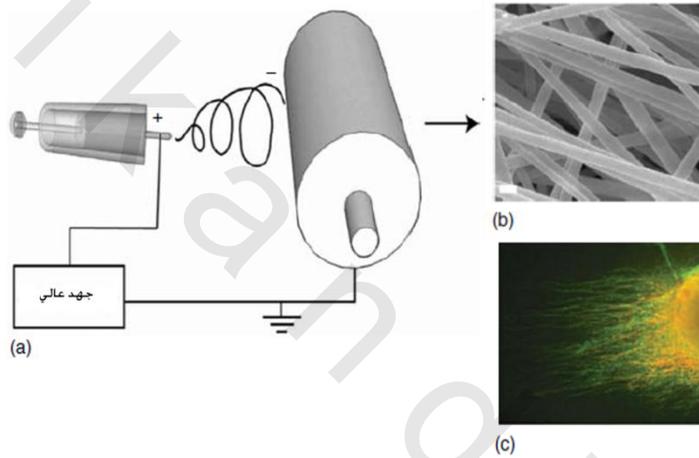
Magnetically Aligned Nanofibers for Cell Alignment (١٢,٣,١,٣) ألياف النانو المترافعة مغناطيسياً لتراسف الخلايا

عادةً ما يُستخدم الكولاجين على اعتبار أنه عنصر طبيعي من المصفوفة خارج الخلية (ECM)، وهو يوفر متانة بنيوية (structural strength) من خلال الشبكات الليفية (fibrous networks). يمكن معالجة الكولاجين مغناطيسياً لإنتاج قضيب هلامي (gel rod) من ليفات الكولاجين المترافعة (aligned collagen fibrils). وفي الحقول المغناطيسية القوية (strong magnetic fields) يتم إنتاج درجة كبيرة من تراسف الكولاجين. وقد تم توضيح ذلك من خلال مقارنة مادة الكولاجين الهلامية المنتجة في حقل مغناطيسي قدره ٤.٧ تسلا (4.7 T) و ٩.٤ تسلا (9.4 T) [23]. وكتيجة لذلك عندما تم بذرها مع عقد الجذور الظهرانية (DRGs)؛ سهّل هذا التراسف الامتداد الموجه للمحور العصبي (oriented neurite extension). وعندما تم دمجها مع خلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية، حدثت هجرة موجهة (directed migration)، وتم تعزيزها أيضاً في وجود المصل البقري الجنيني (fetal bovine serum) بنسبة ١٠٪ [23]. تشير هذه البيانات إلى أن ألياف الكولاجين المترافعة هي من المواد الواعدة كركائز تُستخدم من أجل التجديد الموجه للأعصاب (guided nerve regeneration).

Biosynthetic and Synthetic Fibers (١٢,٣,٢) الألياف التركيبية الحيوية والألياف التركيبية

يمكن إنشاء الألياف التركيبية الحيوية (biosynthetic fibers) والألياف التركيبية (synthetic fibers) من خلال مجموعة واسعة من العمليات التي تشمل الانبثاق أو القذف (extrusion) والغزل الكهربائي (electrospinning). ففي حين أن البوليمرات المستمدة طبيعياً (naturally derived polymers) بما في ذلك الكولاجين والإيلاستين والجيلاتين ستكون مواد بدأي مفيدة لتصنيع ركائز موجهة (oriented substrates) من أجل تجديد الأعصاب، إلا أنها تمثل تحديات تقنية من وجهة نظر التصنيع. ويتمثل أحد الحلول في إمكانية مزج المواد الطبيعية مع محاليل البوليمرات الاصطناعية أو التركيبية.

فمن أجل إنجاز "الغزل الكهربائي" ("electrospin") للليف يتم استخدام فرق في الجهد الكهربائي (voltage) لدفع الألياف البوليمرية (polymer fibers) إلى هدف (الشكل رقم ١٢.٢). ويمكن تصنيع الألياف الموجهة (oriented fibers) عن طريق الحصول على غزل الهدف عند سرعات عالية. ويمكن أن يكون للألياف المغزولة كهربائياً (electrospun fibers) مجموعات وظيفية (functional groups) يمكن استغلالها للمساعدة في التصاق الخلايا [16]. علاوة على ذلك، تقوم هذه الألياف المتراصة أو المتحاذاة بتوجيه عملية التراصف الدبق (glial alignment) وتعزيز النمو الموجه (directed growth) (الشكل رقم ١٢.٢ c). ومثل الألياف الطبيعية، فإن معظم المواد التركيبية الحيوية يصعب تصنيعها نظراً لخصائصها الطبيعية الكامنة، في حين أن الألياف التركيبية هي الأقل إشكالية في إنتاجها.



الشكل رقم (١٢,٢). (a) رسم تخطيطي لجهاز الغزل الكهربائي (electrospinning apparatus) مع تشكيلة الأسطوانة الدوّارة (rotating drum configuration) لإنتاج ألياف تركيبية حيوية متراصة وألياف تركيبية متراصة. (b) صور المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) لألياف الـ (PAN-MA) المغزولة كهربائياً. شريط المقياس = ٥٠٠ نانومتر. (c) عقد الجذور الظهرانية (dorsal root ganglia) من الجراء (P3 pups) والمزروعة على الألياف المتراصة المغزولة كهربائياً.

(١٢,٣,٢,١) التصنيع من خلال الغزل الكهربائي Fabrication through Electrospinning

بالنسبة لتقنية القذف وغيرها من التقنيات، تعتبر تقنية الغزل الكهربائي طريقة سهلة لإنتاج ألياف النانو. تبدأ عملية التصنيع باستخدام محلول البوليمر (polymer solution) أو مصهور البوليمر (polymer melt) الذي يتم ضخه من محقنة (syringe). ينتقل جريان أو دفق البوليمر (polymer stream) من محقنة مشحونة إلى مُجمّع مشحون (charged collector) بشكلٍ معاكس. وقبل الرسو على المجمع، يؤدي التنافر أو التدافع الكهروستاتيكي (الكهربائي الساكن) (electrostatic repulsion) بين الخيوط إلى "التفطح أو التوسع" ("splaying") الأمر الذي يؤدي إلى إنتاج ألياف بالغة النعومة [16]. ولتعزيز تراصف أو محاذاة الألياف، يمكن استخدام مُجمّعات مثل الأسطوانات الدوّارة (rotating drums) أو الأقراص الدوّارة (rotating disks). ويمكن

تكييف عملية الغزل الكهربائي لتناسب مع حجم الألياف العصبية في الجسم الحي أو لتطابق الخواص الميكانيكية للأعصاب. ويمكن تعديل هذه الخصائص من خلال التلاعب (manipulation) بالعديد من العوامل، بما في ذلك معدل التدفق (flow rate) والجهد الكهربائي وبعد المسافة بين المحقنة والمجمّع وتصميم المجمّع ولزوجة (viscosity) محلول أو مصهور البوليمر. كما يمكن أيضاً تعديل السرعة الدورانية (rotational speed) للمجمّع وذلك لتغيير توجيه الألياف. ومع ذلك، فإن زيادة سرعة الدوران تكون ممكنة فقط طالما أن نفث أو دفق البوليمر الذي يتم جمعه (collected polymer jet) لا يزال مستمراً. وسترد فيما يلي أدناه أمثلة عن الألياف المغزولة كهربائياً من أجل الاستخدام في هندسة الأنسجة العصبية.

(١٢،٣،٢،٢) الألياف التركيبية المغزولة كهربائياً من أجل هندسة الأنسجة العصبية Synthetic Electrospun Fibers for Neural Tissue Engineering

إن أكثر البوليمرات التركيبية انتشاراً في هندسة الأنسجة العصبية هي البولي (ألفا - هيدروكسي إسترات) (poly(α -hydroxy esters) والتي تشمل بولي (حمض الغليكوليك) (poly(glycolic acid) - PGA) وبولي (حمض اللاكتيك) (poly(lactic acid) - PLA) والبوليمر المشترك من الاثنين وهو بولي (حمض اللاكتيك - كو - غليكوليك) (poly(lactic-co-glycolic acid) - PLGA). ويتم استخدام هذه البوليمرات التركيبية بشكل مستمر نظراً لخصائصها الملائمة القابلة للتحلل الحيوي ولسهولة غزلها كهربائياً [24,25]. ويتم أيضاً استخدام بوليمر آخر وهو البولي كابرولاكتون (polycaprolactone - PCL) وذلك عندما يتطلب الأمر معدلاً أبطأ للتحلل في بعض تطبيقات توصيل الدواء (drug delivery applications).

(١٢،٣،٢،٣) الألياف التركيبية الحيوية ذات الخصائص الموصلة Biosynthetic Fibers with Conductive Properties

بما أنه من الصعب غزل المواد الطبيعية، فإنه من الممكن غزلها بشكل مشترك مع البوليمرات التركيبية. فعلى سبيل المثال، يمكن دمج البوليمر الموصل (conductive polymer) بولي أنيلين (polyaniline - PANi) مع الجيلاتين؛ ومن ثم تُغزل كهربائياً [26]. وقد تم إنتاج العديد من المحاليل البوليمرية مع كميات متفاوتة من البولي أنيلين (PANi) وقد تراوح حجم أليافها من ٩٢٤ إلى ٤٨ نانومتراً [26]. وقد أنتجت المحاليل ذات التراكيز الأعلى للبولي أنيلين (PANi) أليافاً أرقاً. بالإضافة إلى ذلك، يجب ألا تقل نسبة الجيلاتين في المحلول عن ٥٪ نظراً لإمكانية تشكّل الحُرَزَات أو الحبيبات (beads) على الألياف. ومن ثم تم بذر هذه الألياف بخلايا الأرومة العضلية القلبية جُرُذ (H9c2 rat cardiac myoblasts)، وقد تم إظهار تكاثر هذه الخلايا على تلك الألياف [26]. ومن المثير للاهتمام، أنه عندما كان عرض الليف أكبر من ٥٠٠ نانومتر، تم تحفيز تراصف الخلايا (cell alignment). إن خصائص التوافقية الحيوية والموصليّة هذه تُظهر بشير نجاح واعد من أجل التطبيق المستقبلي في حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو (nanofiber scaffolds).

(١٢،٣،٢،٤) الألياف التركيبية الحيوية للمساعدة في هجرة خلايا شفان Biosynthetic Fibers to Aid in Schwann Cell Migration

لتحسين عملية التجديد المحواريّ (axonal regeneration) (تجديد المحاور العصبية)، قارنت إحدى الدراسات البولي كابرولاكتون (PCL) المترافف ومزيج مركب من البولي كابرولاكتون (PCL) وألياف الكولاجين. وقد كان القيد المفروض على هذا المحلول الممزوج المؤلف من ٢٥٪ كولاجين و ٧٥٪ بولي كابرولاكتون (PCL) هو حقيقة أن الزيادة في نسبة

الكولاجين تزيد أيضاً من صعوبة غزل الألياف المتراففة [27]. في هذه الدراسة، تراوح قطر ألياف البولي كابرولاكتون (PCL) من ٨٨٩ إلى ٢٥٩ نانومتر بينما تراوح قطر ألياف الكولاجين والبولي كابرولاكتون (PCL) من ٧٠٥ إلى ٣٧٧ نانومتر [27]. وبعد أن تم بذر عقد الجذور الظهرانية (DRGs) على هذه الألياف، لوحظ بأن ألياف الكولاجين والبولي كابرولاكتون (PCL) قد حققت نمواً موجهاً أكثر للمحاور (للمحور العصبي). ومع بذر خلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية تبين أن الألياف المزوجة تمتاز بالتصاق أفضل وهجرة أو انتقال أسرع [27]. ومن المحتمل أن تكون هذه التأثيرات ناجمة عن وجود الكولاجين الذي يتواجد بشكل طبيعي في المصفوفة خارج الخلية (ECM). لذا؛ فإن دمج الكولاجين في ألياف النانو يمكن أن يساعد في انتقال أو هجرة خلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية وفي تجديد المحاور العصبية.

Topography for Controlled Migration of Schwann Cells (١٢,٣,٢,٥) الطوبوغرافية من أجل هجرة مُتحكم بها لخلايا شفان Schwann Cells

يتم توليد الطوبوغرافيات (topographies) لمحاكاة البنى الفيزيولوجية (physiological structures) الموجودة في المصفوفة خارج الخلية (ECM) على أمل أن الإشارات أو المنبهات المماثلة ستعزز النمو والاتصاق والتميز الخلوي. تلعب خلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية دوراً كبيراً في امتداد وهجرة المحور العصبي (المحور) لأنها تزود المحاور العصبية بغلاف الميالين (myelinate axons). وهي تفرز أيضاً جزيئات المصفوفة خارج الخلية (ECM molecules) مثل اللامينين وتنتج العديد من العوامل التغذوية العصبية (neurotrophic factors) مثل عامل نمو العصب (NGF) وعامل التغذية العصبية المستمد من الدماغ (BDNF) وبروتين التغذية العصبية (NT-3)، والتي تساعد في عملية تجديد الأعصاب. إن استخدام الخيوط المشكّلة أو المزخرفة مايكروياً (micropatterned filaments) يسمح لخلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية بأن تتراصف بصورة صحيحة لتكوّن أشرطة بونغنر (bands of Bungner)، وهي مرحلة حاسمة في عملية تجديد المحاور العصبية. إن هذا الترافف هو الذي يوجه النمو الخارجي للمحور العصبي (neurite outgrowth). ومن ثم يمكن إدخال هذه الخيوط ذات البنية المايكروية في قناة لتعزز عملية التجديد في الفجوات الموجودة في عصب جرد (rat nerve gaps). وقد كانت القنوات المدججة مع حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو الموجهة (oriented nanofiber scaffolds) قادرة أيضاً على إعادة إنشاء أشرطة بونغنر. تعزز حاملات الخلايا والأنسجة ذات ألياف النانو تلك هجرة خلايا شفان (Schwann) المغمدة للألياف العصبية بعد إصابات الأعصاب المحيطة (peripheral nerve injuries) وقد أظهرت نتائج وظيفية يمكن مقارنتها مع الطعوم الذاتية (autografts).

وبشكل عام، فإنه توجد خيارات متعددة للألياف. ومع ذلك، فإن السمة أو الميزة الأكثر أهمية في إنتاج هذه الألياف هي القدرة على التحكم في طوبوغرافيتها السطحية. وبناءً على ذلك، فإن هذا هو الجانب الأكثر تحدياً، حيث كان لتقنية النانو تأثير فيه. وما إن يتم تحقيق تحكم دقيق (precise control) بالبنية الفيزيائية، حتى يمكن لهذه المواد أن توفر الإشارات أو المنبهات الفيزيائية التي يمكنها أن تقترن مع الإشارات أو المنبهات الكيميائية الحيوية لتعزيز عملية التجديد.

(١٢،٤) مصفوفات الإلكترودات النانوية وطلاؤها لفهم الوظيفة الكهربائية والكيميائية الحيوية وتحسين دمج الأنسجة NANO-ELECTRODE ARRAYS AND THEIR COATINGS TO UNDERSTAND ELECTRICAL AND BIOCHEMICAL FUNCTION AND IMPROVE TISSUE INTEGRATION

لقد أظهرت تقنية النانو وجودها من أجل الدراسات الأساسية في علم الأعصاب بما في ذلك الليونة أو اللدونة (plasticity) ومن أجل علاج الصدمات (trauma) والأمراض والانحلال المرتبط بالعمر (age - related degeneration) للجهاز العصبي المركزي (CNS). إن للإلكترودات متعددة القنوات (multichannel electrodes) آثاراً مهمة على فهمنا للفيزيولوجيا الطبيعية (normal physiology) أو للباثولوجي (علم الأمراض) (pathology) أو علاج العديد من اضطرابات الجهاز العصبي المركزي (CNS). ويمكن لمجال هندسة الأنسجة العصبية أن يستفيد كثيراً من مصفوفات الإلكترودات في المستوى النانوي (nanoscale electrode arrays - NEAs) لأنها تقدم أداة تحليل ممتازة لتقييم الشبكات العصبية الوظيفية (functional neural networks)؛ لذا يمكننا تصميم ربط بيني (interfacing) أفضل بين الأنظمة البيولوجية والأنظمة الكهربائية. وعلى أي حال، فإنه عندما يتم زراعة الإلكترودات في الأنسجة الدماغية من أجل التسجيل طويل الأمد (long - term recording)، فإن قدرتها على التسجيل تكون غير موثوق بها إلى حد ما [28].

على سبيل المثال، فإن تشكّل الندبة الدبقية (glial scar) حول مصفوفات الإلكترودات يُخفّض من عملية الدمج بين الإلكترود والجهاز العصبي [28,30]. إن الاستجابة التفاعلية (reactive response) للنظام المضيف للإلكترود (host system to the electrode) تنجم من خلال العديد من العوامل. وتُحدث المواد شبه الموصلية (semiconductor materials) التي يتم عادةً استخدامها من أجل تصنيع الإلكترود بالاشتراك مع إصابة الزراعة (implantation injury) استجابة مناعية، وهي ما تؤدي إلى تكوين كبسولة أو غشاء ليفي (fibrous capsule) وتسبب زيادة في الممانعة (impedance). ويساهم الضرر في الجملة الوعائية الدموية المايكروية (المجهرية الدقيقة) (microvasculature) الذي يحدث أثناء عمليات الزراعة أيضاً في إحداث استجابة التهابية (inflammatory response). إن هذه المشاكل تمنع من أداء وظيفة مصفوفات الإلكترودات وتمثل التحدي الرئيسي في مجال الربط بيني للأنسجة العصبية (neural tissue interfacing).

(١٢،٤،١) مصفوفات الإلكترودات في المستوى النانوي لتقييم الشبكات العصبية NEAs TO EVALUATE NEURAL NETWORKS

سوف تكون للقدرة على الربط بيني للدماغ (interface the brain) بالإلكترودات الخارجية (external electronics) بشكلٍ ناجح آثاراً هائلة على مجتمعنا وسوف تيسر التغيير الثوري في نوعية حياة الأشخاص الذين يعانون من العيوب الحسية والحركية (sensory and motor defects). وقد سمحت التطورات التي حدثت في نصف القرن الماضي في مجال الإلكترودات المايكروية الدقيقة (microelectronics) وفي تقنية الأنظمة الإلكترونية الميكانيكية المايكروية الحيوية / الأنظمة الإلكترونية الميكانيكية النانوية الحيوية (bio - MEMS / NEMS technology) بدراسة الجهاز العصبي في المستوى الخلوي (cellular level) [31]. إن واحدة من نتائج هذه التقنيات هي تطوير مصفوفات الإلكترودات في المستوى النانوي (NEAs) والمصممة لفهم الوظيفة الكهربائية والكيميائية الحيوية بشكلٍ أفضل. وقد كانت مصفوفات الإلكترودات النانوية (nanoelectrode arrays) مفيدة جداً لفحص الجهاز العصبي، وبصورة خاصة لفهم تأثيرات المحفزات (stimuli) المختلفة على السلوك المورفولوجي (morphological behavior) والسلوك الوظيفي (functional behavior) للخلايا الفردية [32,33].

(١٢,٤,١,١) مصفوفات الإلكتروودات في المستوى النانوي تقدم معلومات عن تنظيم الجهاز العصبي NEAs Provide Information on the Organization of the Nervous System

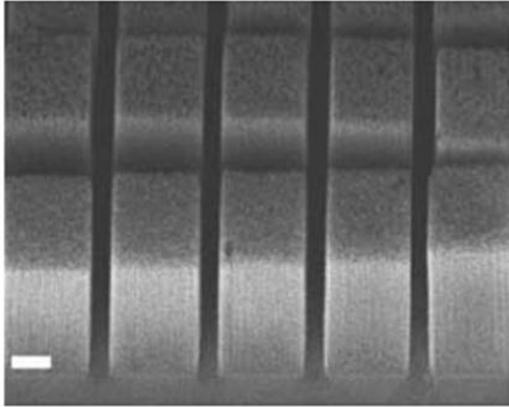
إن للإلكتروودات العصبية المقدرة على تعويض فقدان الوظيفة وذلك عن طريق تحفيز المسارات العصبية (stimulating neural pathways)، وكذلك لها المقدرة على تحسين فهمنا للجهاز العصبي. وقد تم استخدام مصفوفات الإلكتروودات المايكروية / النانوية على نحوٍ واسعٍ للتسجيل من الجهاز العصبي المركزي (CNS) والجهاز العصبي المحيطي (PNS) [28,34]. حيث يتم إدخال مصفوفات من إبر مايكروية / نانوية (arrays of nano / microneedles) في الأنسجة العصبية من أجل تسجيل الإشارات الكهربائية من الخلايا العصبية أو العصبونات (neurons) المحيطة بها. فمن خلال تصميم هذه المصفوفات من أجل التسجيل من الخلايا العصبية أو العصبونات المختلفة، وفي مواقع معينة من الجهاز العصبي المركزي (CNS) والجهاز العصبي المحيطي (PNS)، فإنه من الممكن استخلاص الإشارات ومعلومات التحكم المحفوظة مكانياً وزمانياً (spatiotemporally preserved signal and control information) من الجهاز العصبي [35]. تُوفر الإلكتروودات النانوية نقلاً كئلياً (mass transport) أسرع والذي يؤدي إلى ردود فعل أو استجابات كهركيميائية (electrochemical reactions) وردود فعل كيميائية (chemical reactions) أسرع وتُحسن في معدل الإشارة إلى الضجيج أثناء التسجيل من مزارع الخلايا البيولوجية (biological cultures) [36]. وحيث إن المواد التي يتم استخدامها عادةً من أجل تصنيع هذه الإلكتروودات غير مُفضّلة من الناحية البيولوجية، إلا أنه قد كان هناك العديد من التقنيات التي تم تطويرها لتعزيز ربطها البيئي. بعض من هذه التقنيات موضحة أدناه، وقد تم استخدامها بصورة ناجحة لتعزيز الربط البيئي العصبي (neural interfacing) مع الإلكتروودات المختلفة.

(١٢,٤,١,٢) المصفوفات المبنية على أساس أنابيب الكربون النانوية Carbon Nanotube-Based Arrays

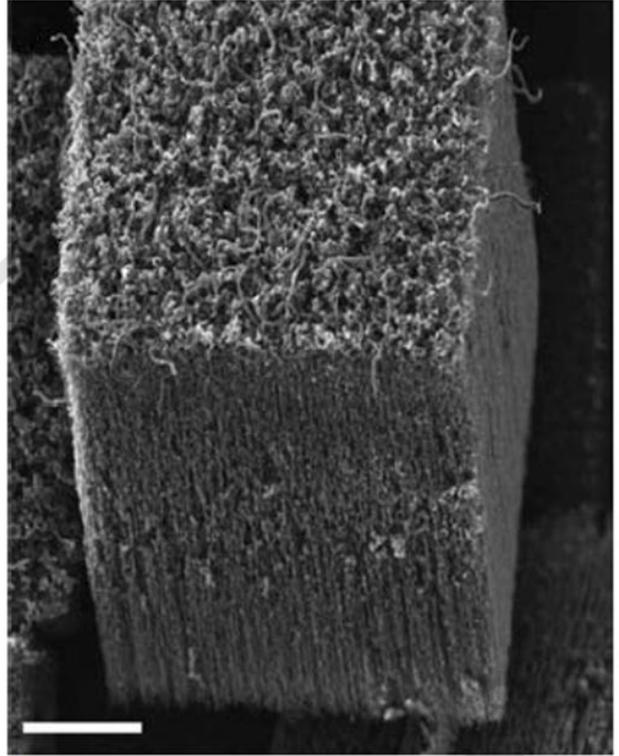
يمكن لتقنيات النانو المستخدمة في تصنيع المواد الجديدة والطلاءات (coatings) (طبقات التغليف الخارجي) أن تتغلب على التحديات الموضحة أعلاه. ويمكن لمصفوفات الإلكتروودات ذات المستوى النانوي (NEAs) وبحكم صغر حجمها أن تقلل من تكوّن التندب (scarring) إلى الحد الأدنى وذلك عن طريق تقليل مدى أضرار الأوعية الدموية المايكروية الدقيقة (microvascular damage) إلى أقل حد ممكن. ويتم استخدام أنابيب الكربون النانوية (carbon nanotubes - CNTs) نظراً لميزاتها الفريدة من نوعها، والتي يمكن أن تساعد في تعزيز دمج الإلكتروود (electrode integration) بصورة أفضل [36-38]. إن خصائص مثل المتانة الميكانيكية (mechanical strength) الكبيرة والموصليّة الكهربائية (electrical conductivity) وإمكانية التحديد أو التخصيص الوظيفي بشكلي كيميائي تجعلها اختياراً جذاباً جداً كمادة من أجل تصنيع الإلكتروودات النانوية (nanoelectrode fabrication). وتوفر أنابيب الكربون النانوية (CNTs) نسبةً عالية للسطح إلى الحجم (surface - to - volume ratio)، الأمر الذي يؤدي إلى ممانعة أقل؛ وبالتالي تؤدي إلى تحسّن في نسبة الإشارة إلى الضجيج.

ويتم استخدام عملية ترسيب الأبخرة الكيميائية المعززة بالبلازما (plasma enhanced chemical vapor deposition) على رقاقة أو شريحة من السيليكون (silicon wafer) في وجود المحفزات (catalysts) وذلك من أجل تصنيع بُنى الجرافين متعددة الجدران (multiwalled graphene structures). تنمو هذه البنى على رقائق السيليكون مع مورفولوجيا أو شكل مشابه

للخيزران (bamboo - like morphology) [37] ويمكن تشكيلها أو زخرفتها لتكوين الأشكال المطلوبة (الشكل رقم ١٢.٣). ويبلغ متوسط قطر أنابيب الكربون النانوية متعددة الجدران (multiwalled CNTs) حوالي ١٠٠ نانومتر، الأمر الذي يؤدي إلى أضرار وعائية أقل حول موقع زراعة الإلكترودات. فبالإضافة إلى خصائصها الميكانيكية والكيميائية المفضّلة، فإنه من الممكن أيضاً تخصيص أو تحديد أنابيب الكربون النانوية وظيفياً باستخدام البروتينات والحمض النووي (DNA) وذلك لجعلها متوافقة حيوياً بشكل أكبر. وتبحث واحدة من هذه الدراسات في استخدام تفاعل الستربتافيدين / البيوتين (streptavidin / biotin interaction) من أجل امتزاز أو امتصاص البروتينات على أنابيب الكربون النانوية (CNTs) [39]. وفي دراسة أخرى، تم تخفيض مجموعات النيتروجين (nitro groups) المضافة بطريقة كهركيميائية إلى مجموعات أمينية (amino groups) وذلك لربط الحمض النووي (DNA) بشكلٍ تساهمي مع أنابيب الكربون النانوية (CNTs) [40].



(a)



(b)

الشكل رقم (١٢،٣). (a) مصفوفات أنابيب الكربون النانوية (CNT arrays) نامية على ركيزة من السيليكون لاستخدامها المحتمل كإلكترودات (أقطاب كهربائية) عصبية في المستوى النانوي (nanoscale neural electrodes). شريط المقياس = ١٠ ميكرومترات. (b) الطوبوغرافية السطحية (surface topography) لأنابيب الكربون النانوية (CNTs). شريط مقياس = ١٠ ميكرومترات. (تم نشر الصورة بإذن من (Dr. Jud Ready, Georgia Institute of Technology).

وقد تم أيضاً استكشاف تطبيقات محددة للربط البيني للشبكات العصبية بأنابيب الكربون النانوية (CNTs). إن خلايا الـ (PC12) النامية على أنابيب الكربون النانوية (CNTs) قد نمت في طبقة أحادية (monolayer) وذلك بالمقارنة مع التعتُّد (clustering) الذي تم ملاحظته على مزارع الأنسجة البلاستيكية (tissue culture plastic). كذلك وبالمقارنة مع الإلكترودات المعدنية (metal electrodes)، فقد لوحظ أن الممانعة تكون أقل على مصفوفات أنابيب الكربون النانوية (CNTs) [37]. لقد لاحظ الآخرون بأن أنابيب الكربون النانوية (CNTs) ذات الأقطار التي تقل عن ١٠٠ نانومتر يمكن أن تقلل من تكوُّن أنسجة الندب العصبية (neural scar tissue) لأن حالة الطاقة المنخفضة للقطر الصغير لأنابيب الكربون النانوية (CNTs) لم تدعم تكاثر الخلايا النجمية (astrocyte)، وهي اللاعب الرئيسي في عملية الالتهاب (inflammation process) [41]. وتوفر عملية التحديد أو التخصيص الوظيفي الكيميائي (chemical functionalization) لتأمين شحنة أيونية (ionic charge) على سطح أنابيب الكربون النانوية (CNTs) ركيزة ملائمة لامتداد المحور العصبي [42]. حتى لو لم يتم إدراك السُمِّية الخلوية (cytotoxicity) بشكل كامل، فإن الخصائص الفيزيائية والكهربائية والكيميائية العديدة لأنابيب الكربون النانوية (CNTs) قد جعلتها تقنية مغرية جداً للاستخدام في مجال الربط البيني العصبي.

(١٢,٤,٢) طبقات طلاء الإلكترودات ذات المستوى النانوي Nanoscale Electrode Coatings

لقد كان طلاء أو تغليف الإلكترودات بطبقات ذات سماكة في المستوى النانوي من أجل تحسين رد الفعل الموضوعي (local reaction) للبدائل الاصطناعية العصبية (neural prosthetics) مجالاً واسعاً للبحث في مجال تقنية النانو وفي مجال هندسة الأنسجة العصبية. وقد تم تطوير طبقات الطلاء أو التغليف من أجل الكساء (passivation) والإطلاق أو التحرير المتواصل (sustained release) للعوامل التي تُعزز نمو المحور العصبي ومن أجل تقليل الاستجابة المناعية حول الإلكترود إلى الحد الأدنى وذلك لتحسين التصاق الخلايا والوظيفة الكهربائية وتعزيز عملية التجديد. ويسمح العديد من الأساليب في تقنية النانو بتعديل دقيق للسماكة وإطلاق أو تحرير الأدوية وذلك لتقليل الاستجابة الالتهابية إلى الحد الأدنى.

(١٢,٤,٢,١) طبقات الطلاء الكهرستاتيكية المبنية على أساس طبقة تلو الطبقة Electrostatic Layer-by-Layer-Based Coatings

إن التجميع الكهرستاتيكي لطبقة تلو الطبقة (electrostatic layer - by - layer (LbL) assembly) هو تقنية يتم استخدامها على نطاق واسع لترسيب أفلام (طبقات رقيقة) ذات سماكة في المستوى النانوي (nanoscale thickness films) والتي يمكن تعديلها لإطلاق أدوية محددة أو لتعمل كطبقات طلاء خاملة (inert coatings) لتفادي النظام المناعي. تستخدم عملية التجميع طبقة تلو الطبقة (LbL) تفاعلات كهرستاتيكية (electrostatic interactions) بين الركائز المشحونة وبولي إلكتروليت أو متعدد الكهارل (polyelectrolyte) مشحون بصورة عكسية وذلك لتصنيع أفلام ذات سماكة تتراوح من انغسترومات (angstroms) إلى بضعة نانومترات (nanometers). ويمكن تكرار هذه العملية عدة مرات لوضع أفلام متعددة الطبقات بالسماكة المطلوبة. وقد تم استخدام تقنية التجميع الكهرستاتيكي لطبقة تلو الطبقة (LbL) لتوصيل الجزيئات الحيوية مع غرض محدد وهو تحسين التصاق وتمايز الخلايا. وقد أظهرت الدراسات في الجسم الحي أن استخدام طبقات طلاء من

اللامينين-١ (laminin-1 coatings) على إلكترود مايكروني من السيليكون (silicon microelectrode) وباستخدام تقنية التجميع الكهرستاتيكي لطبقة تلو الطبقة (LbL) يُعدّل عملية تكوين الندبة الدبقية (glial scar formation) حول الإلكترودات المزروعة في الجهاز العصبي المركزي (CNS) [43].

(١٢,٤,٢,٢) طبقات الطلاء بواسطة الترسيب المبدوء للأبخرة الكيميائية iCVD Coatings

إن الترسيب المبدوء للأبخرة الكيميائية (iCVD: initiated chemical vapor deposition) هو تقنية أخرى يتم استخدامها لترسيب طبقات طلاء ذات سماكة نانوية على أجهزة البدائل الاصطناعية العصبية (neural prosthetic devices). تستلزم هذه المعالجة تقديم بخار مونومر (مَوْحُود) (monomer vapor) على الركيزة المطلوبة ودفع أنواع بادئات أو مُحفَرات الجذور الحرة (free radical initiator species) لإحداث ترسيب طوري لبخار المونومرات أو المواحيد (vapor phase deposition of monomers). وحيث أن هذه التقنية تستخدم عملية ترسيب البخار؛ فإن طبقات الطلاء الناتجة تكون مطابقة لشكل الركيزة. وهذا مفيد جداً في الحالات التي تكون فيها خصائص المادة مثل المسامية مهمة في وظيفة الجهاز الاصطناعي العصبي البديل. ونظراً إلى أن العملية تتم في بيئة خالية من المذيبات (solvent - free environment)، فيمكن لهذه التقنية أن تكون مفيدة أيضاً في طلاء حاملات الخلايا والأنسجة البوليمرية التي تكون عرضة لأضرار المذيبات.

(١٢,٤,٢,٣) استخدام النتروسيلولوز ذي المستوى النانوي لدمج الأدوية المضادة للالتهاب Using Nanoscale Nitrocellulose to Incorporate Anti-Inflammatory Drugs

يحدث رد الفعل أو الاستجابة الالتهابية (inflammatory reaction) حاجزاً (barrier) بين الإلكترود والخلايا العصبية (العَصَبونات) المحيطة به. إن الطرق المذكورة أعلاه تعتبر مفيدة لإنتاج طبقات طلاء ثابتة، والتي تجعل الإلكترود خاملاً (passivate) ولكنها تفشل في التقليل من ردود الفعل أو الاستجابات الالتهابية. ولتحسين عملية التسجيل طويل الأمد في الجسم الحي، فقد تم استخدام طبقات الطلاء المبنية على أساس النتروسيلولوز (nitrocellulose - based coatings) وذلك للقيام بدمج الأدوية المضادة للالتهاب (anti - inflammatory drugs) مثل الهرمون ألفا المنبّه للخلايا الميلانينية (α -melanocyte stimulating hormone - α -MSH) من أجل الإطلاق المتواصل على مدى يمتد لأسابيع. وباستخدام تقنيات الطلاء بالغزل (spin coating techniques)، تم تصنيع طبقات طلاء ذات سماكة مايكرونية من أجل دمج الهرمون ألفا المنبّه للخلايا الميلانينية (α -MSH) النشطة حيويًا على الركائز المصنوعة من السيليكون. وقد كانت طبقات الطلاء تلك قادرة وبشكل ناجح على التقليل من تكوين أكسيد النيتريك (nitric oxide)؛ وذلك نظراً إلى وجود الدبقيّات أو الخلايا الدبقية المنشّطة (activated microglia).

الطريقة الأخرى، هي طلاء الإلكترودات بدواء ديكساميثازون (dexamethasone) المحتبس في أفلام من النتروسيلولوز (nitrocellulose films)، والتي تُمكن من إطلاق الأدوية بطريقة موضعية ومتواصلة [44]. وقد تم استخدام طبقات الطلاء المبنية على الأساس النتروسيلولوزي لدواء الديكساميثازون وذلك لتغطية المحسّات (probes)، وقد أظهرت اختبارات التصاق طبقة الطلاء بأن طبقة الطلاء بقيت (نجت) بعد انتهاء إجراءات الزراعة. لقد قلل الديكساميثازون المحرّر من الإلكترودات المزروعة من ممانعة الإلكترود (electrode impedance) وبالتالي فقد حسّن من نقل الإشارات العصبية (neural

(signaling). كما قلل أيضاً من تعبير بروتيوغليكانات سلفات الكوندرويتين (chondroitin sulfate proteoglycans - CSPGs) (الكوندرويتين هي مادة من مكونات الغضروف) ومنع الفقد العصبي (neuronal loss) عند كل من الأسبوعين الأول والرابع بعد الزراعة. وعلى الرغم من أن الجرعات اللازمة من الديكساميثازون على المدى الطويل هي غير معروفة، إلا أن الإطلاق الأولي للدواء قد يكون قادراً على درء تأثيرات الالتهاب الحاد (acute inflammation) ويمكن أن يؤدي إلى ارتباطات بينية أفضل بين الإلكترود والجهاز العصبي المركزي (CNS).

وبالتالي؛ يمكن لطبقات الطلاء في المستوى النانوي (nanoscale coatings) أن تغير وبشكل كبير من مصير الإلكترودات أو الأقطاب الكهربائية المزروعة ويمكن أن تحسّن من استقرار تسجيل الإلكترودات المزروعة. إن لاستقرار التسجيلات من الجهاز العصبي في الجسم الحي آثاراً مهمة ليس فقط من أجل أجهزة البدائل الاصطناعية العصبية (neuroprosthetic devices) ولكن أيضاً من أجل تعزيز المزيد من الفهم الأساسي لعمل الجهاز العصبي.

(١٢,٥) الجسيمات النانوية من أجل الإطلاق المتحكم به للعوامل الغذائية في الجهاز العصبي NANOPARTICLES FOR THE CONTROLLED RELEASE OF TROPHIC FACTORS IN THE NERVOUS SYSTEM

إن الجسيمات النانوية هي وسيلة للتوصيل المستهدف والمتواصل للدواء في الجهاز العصبي. وتسمح لها قدرتها على توفير تحكم دقيق بأن تُستخدم للتوسط (mediate) في الاستجابات الالتهابية أو لتوصيل عوامل مفيدة لنمو المحور العصبي. ويمكن تصنيعها من مواد مختلفة بما في ذلك السيليكا (silica) والبوليمرات والدهون (lipids) والمواد المعدنية والمواد المغناطيسية. لإنتاج هذه الجسيمات النانوية، يُذاب المحلول البوليمري في مذيب يكون غير قابل للمزج في الماء (immiscible in water). ومن ثم يتم استحلاب (emulsifying) هذا المزيج ويُسمح للمذيب بأن يتبخّر، تاركاً وراءه الجسيمات النانوية. وهناك طريقة أخرى تنطوي على إذابة أو حل (dissolving) البوليمر في مذيب قابل للمزج (miscible solvent) والسماح للمحلول بالانتشار (diffuse) من خلال الطور المائي (aqueous phase) الذي يتسبب في ترسيب الجسيمات النانوية.

(١٢,٥,١) الجسيمات النانوية من أجل إطلاق الأدوية المضادة للالتهاب Nanoparticles for the Release of Anti-Inflammatory Drugs

بحسب ما تمت مناقشته في وقت سابق، فإن التندّب الدبقيّ نجميّ الخلايا (astroglial scarring) حول الإلكترودات المزروعة يمكن أن يتداخل مع قدرتها على توفير تسجيلات مستقرة طويلة الأمد. وقد كان البديل لإستراتيجية الطلاء في المستوى النانوي (nanoscale coating strategy) المذكورة أعلاه هو الزراعة المشتركة (co-implant) للجسيمات النانوية التي تطلق العامل المضاد للالتهاب (anti-inflammatory agent) في المنطقة المجاورة مباشرة للإلكترودات المزروعة. يمكن غمر الجسيمات النانوية للديكساميثازون - بولي (حمض إل - لاكتيك - كو - غليكوليك) (dexamethasone - PGLA nanoparticles)، ذات حجم حوالي من ٤٠٠ إلى ٦٠٠ نانومتر، في هلامات الألجينات المائية (alginate hydrogel) ومن ثم زراعتها بشكل مشترك مع الإلكترودات وذلك للتقليل وبصورة فعالة من التندّب الدبقيّ نجميّ الخلايا. وقد كانت هذه الجسيمات قادرة على الحفاظ على الإطلاق المستمر للدواء لمدة تصل إلى ثلاثة أسابيع [45].

١٢,٥,٢) الجسيمات النانوية من أجل إطلاق الأدوية المضادة للتندب Nanoparticles for Release of Antiscarring Drugs

إن أحد العوائق الرئيسية لعملية التجديد في الجهاز العصبي المركزي (CNS) هي تكوين النسيج التندبي الدبقي نجمي الخلايا (astroglial scar tissue) حول موقع الآفة (lesion site) [46]. وتعتبر بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُوتِين (CSPGs) عنصر مُثَبِّط (inhibitory constituent) رئيسي للنسيج التندبي الدبقي نجمي الخلايا، وقد تبين أن هضمها (digestion) يخفف من تثبيت الندبة ويعزز عملية التجديد بعد إصابة الجهاز العصبي المركزي (CNS) [47]. وقد شملت إحدى الإستراتيجيات الواعدة لتعزيز تجديد الجهاز العصبي المركزي (CNS) هضم النسيج التندبي من خلال استخدام إنزيم الكُنْدُرُوتِيناز البكتيري (bacterial enzyme chondroitinase ABC - ChABC) [46]. على الرغم من أنه قد تم استخدام المضخات التناضحية (osmotic pumps) في الدراسات الأولية، إلا أن استخدامها في الحبل الشوكي المصاب (injured cord) غير مثالي لأن القنينة (canula) يمكن أن تسبب الالتهاب ويتضرر بسبب وجودها. للالتفاف على هذه المشكلة، فإن الجسيمات المايكروية والجسيمات النانوية التي تطلق إنزيم الكُنْدُرُوتِيناز البكتيري (ChABC) توفر بديلاً جذاباً. فعندما تم استخدام الأجسام الكروية النانوية لإنزيم الكُنْدُرُوتِيناز البكتيري (ChABC nanospheres) لتوصيل إنزيم الكُنْدُرُوتِيناز البكتيري (ChABC) بعد إصابة الحبل الشوكي (spinal cord injury - SCI)، كشف تلوين الـ (CS-56) انخفاضاً في بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُوتِين (CSPGs) وزيادة مصاحبة في تلوين الـ (GAP-43) في مكان الإصابة [48]. تكتسب تقنية الجسيمات المايكروية والجسيمات النانوية (micro - and nanoparticle technology) من أجل هضم بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُوتِين (CSPGs) أهمية لأن هناك حاجة للتحكم في التوزيع المكاني (spatial distribution) لهضم بروتيوغليكانات سلفات الكُنْدُرُوتِين (CSPGs)؛ نظراً لدورها المهم في تحقيق الاستقرار في نقاط التشابك العصبي (synapses) في الحبل الشوكي عن طريق الشبكات حول العصب (perineural nets) [48].

١٢,٥,٣) الجسيمات النانوية من أجل الحماية العصبية Nanoparticles for Neuroprotection

على غرار إصابات الحبل الشوكي، فقد تمت دراسة إدارة الجسيمات النانوية المضادة للأكسدة ذاتية التحفيز (autocatalytic nanocereria particles). يمكن لأكسيد السيريوم (cerium oxide) أن يتواجد في حالات تكافؤ (valence states) مختلفة (Ce^{4+} و Ce^{3+}). تؤدي هذه الخاصية إلى تأثيرات مضادة للأكسدة (antioxidant effects) تُعزز من الحماية العصبية (neuroprotection). وقد تم اختبار هذا التأثير باستخدام إصابة تأكسدية ناجمة عن بيروكسيد الهيدروجين (hydrogen peroxide - induced oxidative injury)، والتي كانت فيها الجسيمات النانوية المضادة للأكسدة قادرة على توفير وسيلة لإزالة السُمِّية (detoxification) [49]. تتوفر مضادات الأكسدة (antioxidants) الأخرى من خلال الإضافة أو الملحق B27 (B27 supplement) الذي يشمل فيتامين (E) وإنزيم الكاتالاز (catalase) وثلاثي الببتيد الغلوتاثيون (glutathione)، إلا أنها لا تدوم طويلاً ويتعين استبدالها باستمرار. وفي مقارنة بين مزارع الخلايا المعالجة بالجسيمات النانوية المضادة للأكسدة (nanocereria treated cultures) ومزارع الخلايا مع الملحق (B27) فقط، تبين أن مدة بقاء الخلايا العصبية على قيد الحياة

لمزارع الخلايا المعالجة بالجسيمات النانوية المضادة للأوكسدة قد تجاوزت مدة بقاء الخلايا في مزارع عينات المراقبة [49]. وهكذا، فإن الجسيمات النانوية التي تعتبر مضادة للالتهاب، وهي كاسحات للجذور الحرة (scavengers of free radicals) أيضاً تمثل الذراع المهمة في التخفيض من الإصابة الثانوية (secondary injury) بعد إصابة الحبل الشوكي (SCI).

لقد تم تطبيق العديد من الجسيمات النانوية وذلك لتوصيل الدواء في الجهاز العصبي. وقد كان البولوي بوتيل سيانو أكريليت (polybutylcyanoacrylate - PBCA) قادراً على الانتقال من خلال حاجز الدم - الدماغ (blood - brain barrier - BBB) عندما تم طلاؤه بطبقة من البولوي سورييت ٨٠ (polysorbate 80) [50]. وعلى أي حال، فإن سُميته وعدم قدرته على إنتاج تأثيرات طويلة المدى تجعله ناقلاً غير واعد للأدوية. وتعتبر الجسيمات النانوية المصنوعة من ميثوكسي بولي (غليكول الإيثيلين) - بولي لاكتيد (methoxypoly(ethylene glycol) - polylactide) أو الجسيمات النانوية المصنوعة من بولي (لاكتيد - كو - غليكولايد) (poly(lactide-co-glycolide) (mPEG - PLA / PLGA) مرشحات جذابة من أجل توصيل الدواء. فهي تتحلل حيويًا (biodegradable) ومتوافقة حيويًا (biocompatible) وقادرة على توفير إطلاق متواصل للدواء (sustained drug release) - وهي الخصائص التي يتم استخدامها في تطبيقات أخرى مثل الطعوم أو المواد المزروعة (implants). ومع ذلك، فلا تزال الجسيمات النانوية المصنوعة من البولوي (غليكول الإيثيلين) - البولوي لاكتيد (PEG - PLA) تحتاج إلى المزيد من التحسينات والدراسة قبل التوصل إلى إمكانية التطبيق السريري [50].

إن الجسيمات النانوية واعدة نظراً لقدرتها الظاهرة على تخطي حاجز الدم - الدماغ (BBB) وهي توفر وسيلة لتوصيل الأدوية اللازمة. بالإضافة إلى ذلك، يمكن استخدام خصائصها التحليلية (degradation properties) لإطلاق علاجات على مدى فترة من الزمن. كما يمكن أيضاً تعديل تركيبها الكيميائي من أجل التوصيل المستهدف (targeted delivery) إلى أجزاء مختلفة من الجهاز العصبي ويمكن لمستويات أحجامها أن تكون مفيدة لتفادي الجهاز المناعي (immune system).

(١٢،٦) الآفاق المستقبلية FUTURE OUTLOOK

لقد أظهر استخدام تقنية النانو في هندسة الأنسجة العصبية إمكانية كبيرة. وطوّرت استخدام تقنية النانو لتقييم وتعديل السلوك الخلوي فهنا للجهاز العصبي بشكل كبير، وقد تم استخدام المواد ذات المستوى النانوي مع مجموعات واسعة من الخصائص الفريدة للتصوير والتسجيل البيولوجي من الجهاز العصبي. وقد أتاحت لنا تقنية النانو تحكماً دقيقاً بالتفاعل مع الأنظمة البيولوجية عند المستوى الخلوي، وتم إدراك فوائدها في هذا الفصل.

وفي الوقت الذي يُعتبر فيه التحكم في المستوى النانوي واعداً بصورة غير عادية، فإنه من المهم أن ندرك بأنه ليس سوى ذراعاً واحدة في طيفٍ واسع من التدخلات (interventions) المحتملة التي سوف تؤثر على الأرجح على هندسة الأنسجة العصبية. وبالتالي؛ فإن التحكم الدقيق بالسمات أو الخصائص الجزيئية (molecular features)، والذي يسمح بالتجميع المتحكم به للبنية النانوية، سوف يكون ثورياً في التأثير على الربط البيئي بين المواد والجهاز العصبي. ونظراً لطبيعته المعقدة؛ فإن النظام العصبي يعرض مجال التحدي الذي سوف يُجسّد تطور التقنيات النانوية عندما يتم تطبيقها على الأنظمة البيولوجية.

ACKNOWLEDGMENTS شكر وتقدير

يود المؤلفون أن يُعبّروا عن شكرهم وامتنانهم للدكتورة Tania Vu من جامعة أوريغون للصحة والعلوم (Oregon Health and Science University)، على استخدام صورة النقاط الكميّة (QD image) وللدكتور Jud Ready من معهد جورجيا للتقنية (Georgia Institute of Technology)، على استخدام صورة مصفوفة ألياف الكربون النانوية (CNT array image). كما يود المؤلفون أن يشكروا الدكتورة Anjana Jain والدكتور Isaac Clements على خبراتهما ومساهماتهما تجاه هذا العمل. كما أن التمويل المقدم لمختبر بيلامكوندا (Bellamkonda Laboratory) من المعهد الوطني للصحة (NS44409, NS43486, NS45072, DC006849) والمؤسسة الوطنية للعلوم (CBET 065176) هو محل شكرٍ وتقدير.

REFERENCES المراجع

- [1] Xuejun, W., S. Donglu, and N. Zhang, Applications of nanotechnology in tissue engineering, in Handbook of Nanostructured Biomaterials and Their Applications in Nanobiotechnology, H.S. Nalwa, Editor. 2005, American Scientific Publishers. pp. 1–23.
- [2] West, J.L. and N.J. Halas, Applications of nanotechnology to biotechnology commentary. Curr Opin Biotechnol, 2000, 11(2): 215–217.
- [3] Li, N. and A. Folch, Integration of topographical and biochemical cues by axons during growth on microfabricated 3-D substrates. Exp Cell Res, 2005, 311(2): 307–316.
- [4] Johansson, F., et al., Axonal outgrowth on nano-imprinted patterns. Biomaterials, 2006, 27(8): 1251–1258.
- [5] Britland, S., C. Perridge, M. Denyer, et al., Morphogenetic guidance cues can interact synergistically and hierarchically in steering nerve cell growth. Exp Biol, 1996, 1(2): 1–15.
- [6] Ressler, L., et al., Fabrication of planar cobalt electrodes separated by a sub-10 nm gap using high resolution electron beam lithography with negative PMMA. Ultramicroscopy, 2007, 107(10–11): 985–988.
- [7] Wilkinson, C.D., Making structures for cell engineering. Eur Cell Mater, 2004, 8: 21–25; discussion 25–26.
- [8] Wilson, D.L., et al., Surface organization and nanopatterning of collagen by dip-pen nanolithography. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(24): 13660–13664.
- [9] Han, M., et al., Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. Nat Biotechnol, 2001, 19(7): 631–635.
- [10] Jaiswal, J.K. and S.M. Simon, Potentials and pitfalls of fluorescent quantum dots for biological imaging. Trends Cell Biol, 2004, 14(9): 497–504.
- [11] Alivisatos, A.P., W. Gu, and C. Larabell, Quantum dots as cellular probes. Annu Rev Biomed Eng, 2005, 7: 55–76.
- [12] Silva, G.A., Neuroscience nanotechnology: Progress, opportunities and challenges. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(1): 65–74.
- [13] Vu, T.Q., et al., Peptide-conjugated quantum dots activate neuronal receptors and initiate downstream signaling of neurite growth. Nano Lett, 2005, 5(4): 603–607.
- [14] Sundara Rajan, S. and T.Q. Vu, Quantum dots monitor TrkA receptor dynamics in the interior of neural PC12 cells. Nano Lett, 2006, 6(9): 2049–2059.
- [15] Cui, B., et al., One at a time, live tracking of NGF axonal transport using quantum dots. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(34): 13666–13671.

- [16] Murugan, R. and S. Ramakrishna, Design strategies of tissue engineering scaffolds with controlled fiber orientation. *Tissue Eng*, 2007, 13(8): 1845–1866.
- [17] Silva, G.A., et al., Selective differentiation of neural progenitor cells by high-epitope density nanofibers. *Science*, 2004, 303(5662): 1352–1355.
- [18] Silva, G.A., Nanotechnology approaches for the regeneration and neuroprotection of the central nervous system. *Surg Neurol*, 2005, 63(4): 301–306.
- [19] Hung, A.M. and S.I. Stupp, Simultaneous self-assembly, orientation, and patterning of peptide-amphiphile nanofibers by soft lithography. *Nano Lett*, 2007, 7(5): 1165–1171.
- [20] Yang, Y., et al., Biocompatibility evaluation of silk fibroin with peripheral nerve tissues and cells in vitro. *Biomaterials*, 2007, 28(9): 1643–1652.
- [21] Yang, Y., et al., Development and evaluation of silk fibroin-based nerve grafts used for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials*, 2007, 28(36): 5526–5535.
- [22] Allmeling, C., et al., Use of spider silk fibres as an innovative material in a biocompatible artificial nerve conduit. *J Cell Mol Med*, 2006, 10(3): 770–777.
- [23] Dubey, N., P.C. Letourneau, and R.T. Tranquillo, Guided neurite elongation and Schwann cell invasion into magnetically aligned collagen in simulated peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol*, 1999, 158(2): 338–350.
- [24] Li, W.J., et al., Fabrication and characterization of six electrospun poly(alpha-hydroxy ester)-based fibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Acta Biomater*, 2006, 2(4): 377–385.
- [25] Li, W.J., et al., Electrospun nanofibrous structure: A novel scaffold for tissue engineering. *J Biomed Mater Res*, 2002, 60(4): 613–621.
- [26] Li, M., et al., Electrospinning polyaniline-contained gelatin nanofibers for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 2006, 27(13): 2705–2715.
- [27] Schnell, E., et al., Guidance of glial cell migration and axonal growth on electrospun nanofibers of poly-epsilon-caprolactone and a collagen=poly-epsilon-caprolactone blend. *Biomaterials*, 2007, 28(19): 3012–3025.
- [28] Polikov, V.S., P.A. Tresco, and W.M. Reichert, Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes. *J Neurosci Methods*, 2005, 148(1): 1–18.
- [29] Biran, R., D.C. Martin, and P.A. Tresco, Neuronal cell loss accompanies the brain tissue response to chronically implanted silicon microelectrode arrays. *Exp Neurol*, 2005, 195(1): 115–126.
- [30] Edell, D.J., et al., Factors influencing the biocompatibility of insertable silicon microshafts in cerebral cortex. *IEEE Trans Biomed Eng*, 1992, 39(6): 635–643.
- [31] Wise, K.D., D.J. Anderson, J.F. Hetke, et al., Wireless implantable microsystems: High-density electronic interfaces to the nervous system. *Proc IEEE*, 2004, 92(1): 76–97.
- [32] Irina Kleps, M.M., F. Craciunoiu, and M. Simion, Develo‍pment of the micro- and nanoelectrodes for cells investigation. *Microelectron Eng*, 2007, 84: 1744–1748.
- [33] Franks, W., et al., Impedance characterization and modeling of electrodes for biomedical applications. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2005, 52(7): 1295–1302.
- [34] Kipke, D.R., et al., Silicon-substrate intracortical microelectrode arrays for long-term recording of neuronal spike activity in cerebral cortex. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*, 2003, 11(2): 151–155.
- [35] Normann, R.A., Technology insight: Future neuroprosthetic therapies for disorders of the nervous system. *Nat Clin Pract Neurol*, 2007, 3(8): 444–452.
- [36] Arrigan, D.W., Nanoelectrodes, nanoelectrode arrays and their applications. *Analyst*, 2004, 129(12): 1157–1165.

- [37] Nguyen-Vu, T.D., et al., Vertically aligned carbon nanofiber arrays: An advance toward electrical–neural interfaces. *Small*, 2006, 2(1): 89–94.
- [38] Nguyen-Vu, T.D., et al., Vertically aligned carbon nanofiber architecture as a multifunctional 3-D neural electrical interface. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2007, 54(6) (Pt 1): 1121–1128.
- [39] Shim, M., et al., Functionalization of carbon nanotubes for biocompatibility and biomolecular recognition. *Nano Lett*, 2002, 2(4): 285–288.
- [40] Lee, C., et al., Electrically addressable biomolecular functionalization of carbon nanotubes and carbon nanofiber electrodes. *Nano Lett*, 2004, 4(9): 1713–1716.
- [41] McKenzie, J.L., et al., Decreased functions of astrocytes on carbon nanofiber materials. *Biomaterials*, 2004, 25(7–8): 1309–1317.
- [42] Ni, Y., et al., Chemically functionalized water soluble single-walled carbon nanotubes modulate neurite outgrowth. *J Nanosci Nanotechnol*, 2005, 5(10): 1707–1712.
- [43] He, W. and R.V. Bellamkonda, Nanoscale neuro-integrative coatings for neural implants. *Biomaterials*, 2005, 26(16): 2983–2990.
- [44] Zhong, Y. and R.V. Bellamkonda, Dexamethasone-coated neural probes elicit attenuated inflammatory response and neuronal loss compared to uncoated neural probes. *Brain Res*, 2007, 1148: 15–27.
- [45] Kim, D.H. and D.C. Martin, Sustained release of dexamethasone from hydrophilic matrices using PLGA nanoparticles for neural drug delivery. *Biomaterials*, 2006, 27(15): 3031–3037.
- [46] Li, H.P., et al., Regeneration of nigrostriatal dopaminergic axons by degradation of chondroitin sulfate is accompanied by elimination of the fibrotic scar and glia limitans in the lesion site. *J Neurosci Res*, 2007, 85(3): 536–547.
- [47] Bradbury, E.J., et al., Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury. *Nature*, 2002, 416(6881): 636–640.
- [48] Osterhour, D.J., et al., Chondroitinase release from nanospheres induces axonal sprouting after spinal cord injury, in *Society of Neuroscience*. 2006: Atlanta.
- [49] Das, M., et al., Auto-catalytic ceria nanoparticles offer neuroprotection to adult rat spinal cord neurons. *Biomaterials*, 2007, 28(10): 1918–1925.
- [50] Olivier, J.C., Drug transport to brain with targeted nanoparticles. *NeuroRx*, 2005, 2(1): 108–119.