الفصل الثالث

الزرعات والتعويضات

Implants and Prostheses

أولاً: مقدمة Introduction

أزداد الاهتمام بالتعويضات والزرعات في الطب بشكل كبير. وبسبب ازدياد فترة الحياة المأمولة، سوف يحتاج الإنسان إلى العديد من الأجهزة الاصطناعية للتغلب على المشاكل المترافقة مع تدهور أو فشل عمل أجزاء من الجسم. مثال عن الزرعات، المفاصل الاصطناعية وأجهزة القلب الوعائية والزرعات السنية والعديد من الزرعات.من غير الضروري وضع الزرعة داخل الجسم حيث هناك أجهزة تخترق الجلد مثل القثاطر من أجل حقن السوائل يجب أن تعتبر كزرعات (انظر الجدول رقم (٣.١)).علاوة على ذلك، يرتفع الازدياد المتوقع في استخدام الزرعات ليس فقط لأنه هناك أجهزة محددة مطلوبة لأسباب طبية بل لأسباب أخرى.يعني التوقع في العديد من العقود السابقة أن استخدام الزرعات من أجل أسباب حسية أصبح ذو قيمة كبيرة.

تصنع الزرعات من المواد الحيوية التي لها خواص مشتركة وهي: المطابقة الحيوية.على الرغم من أنه من الصعب تعريف المطابقة الحيوية، فإنها متعلقة بشكل

obeikandl.com

كبير بنجاح الجهاز المزروع في القيام بالوظيفة المطلوبة منه[١].هذا يعني أن المواد الحيوية المستخدمة في صناعة التعويضات أو الزرعات، والتي تصنف بأنها مطابقة حيوياً ليس من الضروري أن تستخدم من أجل تصنيع زرعات ذات وظائف مختلفة.مثال على ذلك، المواد الحيوية ذات الخواص المقاومة الالتصاق الجزيئات الحيوية والخلايا يمكن أن تصنف بأنها مطابقة حيوياً عند استخدامها في تصنيع أجهزة القلب الوعائية. على أية حال، من الممكن أن لا يكون هذا التصنيف صالحاً من أجل استخدام هذه المواد في صناعة المفاصل الاصطناعية.

الجدول رقم (٣,١). يبين تطبيقات المواد الاصطناعية والمواد الطبيعية المعدلة في الترقيعات الطبية.

المواد	التطبيقات	استجابة الانسجة
التيتانيوم وخلائطه	المفاصل الاصطناعية، الطعوم الفموية، صفائح التثبيت، ناظم الخطى، صمامات القلب.	خامل
السيراميك (CaP ceramic)	المفاصل الاصطناعية، الطعوم الفموية، استبدال العظام، استبدال الأذن الوسطى.	نشيط حيوياً
الومينا (Alumina)	المفاصل الاصطناعية، الطعوم الفموية.	خامل
الكربون (Carbon)	صمامات القلب	خامل
PTFE (polytetrafluoroethylene)	مفاصل اصطناعية، استبدال الأوتار والأربطة، اوعية الدم الاصطناعية، صمامات القلب.	خامل
Poly(methylmethacrylate)	العدسات العينية، الأسمنت العظمي	متحمل
Poly(dimethylsiloxane)	ثدي اصطناعي، قاطر، الترميمات (إعادة بناء) الوجهية، الأنابيب الطبلية	غير معروف
Poly(urethane)	ثدي اصطناعي، أوعية دموية اصطناعية، بدائل جلدية	خامل
PLA (polylactic acid)	صفائح تثبيت العظم، براغي للعظام	خامل
PGA (polyglycolic acid)	خيوط جراحية، أغشية نسيجية	خامل

لسوء الحظ فإن تصنيف الأجهزة المصنعة من المواد الحيوية كأجهزة مطابقة حيوياً ليس من الضروري أن تلقى قبولاً من قبل المكان الذي ستزرع به.غالباً ماتعتبر الأجهزة

obeikandl.com

الاصطناعية من قبل المكان المضيف لها بأنها غير طبيعية، وتعتبر بأنها جسم غريب دخيل[٢] ولهذا السبب هناك احتمال بأنه على الرغم من أن الجهاز المصنوع من المواد الحيوية مصنف كجهاز مطابق حيوياً، فإنه هناك احتمال وجود آثار جانبية لايمكن تجاهلها.على الرغم من التأثيرات الجانبية الكامنة أو المحتملة يمكن أن لا تكون مضرة لوظيفة الجهاز المزروع لكن يمكن أن تشكل عواقب غير مرغوب بها.

بشكل عام، وضع الجهاز الاصطناعي (مثال على ذلك، من خلال عملية جراحية) يمكن أن يصنف كتعايش بين المواد الحية وغير الحية. يتميز هذا التعايش بالاتصال بين المركبات الحيوية (مثل، الجزيئات الحيوية) وغير الحيوية (مثل، الجزيئات التي تشكل الأجهزة المصنوعة من المواد الحيوية).في هذه النقطة، فإن استخدام التقنية الحيوية متناهية الصغر يمكن أن يؤمن تدبير لتنعيم التداخل بين هذه الجزيئات ذات المنشأ المختلف. من أجل الفهم المنطقي حول كيفية تمكن التقنية الحيوية متناهية الصغر من إنجاز ذلك فإننا اخترنا استعراض التالي: (١) تقديم لمحة شاملة عن المواد الحيوية وخصائصها المستخدمة حتى يومنا هذا، (٢) تقديم مناقشة عامة حول العمليات الحيوية التي تحدث خلال زرع الأجهزة الاصطناعية، (٣) إلقاء الضوء على التطبيقات الحالية والمستقبلية للتقنية الحيوية متناهية الصغر بالأخذ بعين الاعتبار مظاهر التطور في علم الزرع.

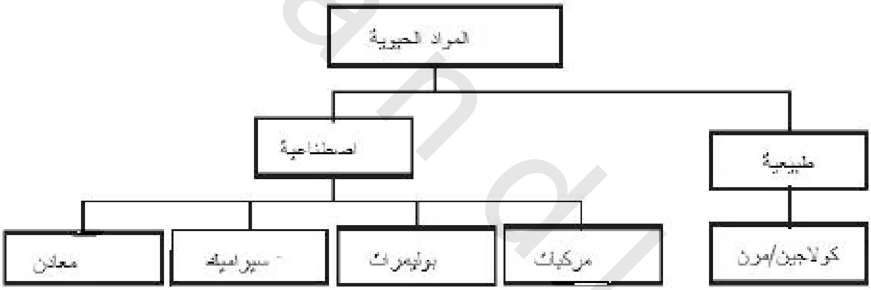
ثانياً: المواد الحيوية Biomaterials

أ) مقدمة Introduction

المواد الحيوية هي مواد تستخدم من أجل إنتاج أجهزة تتفاعل مع الأنظمة الحيوية.يفترض هذا التعريف بأنه يمكن استخدام المواد الحيوية، بشكل واسع.مثال على ذلك، تستخدم المواد الحيوية من أجل مزرعة خلوية وذلك لإنتاج أجهزة تشخيصية،

أجهزة القلب والرئة، والعديد من التطبيقات الأخرى.على أية حال يشكل إنتاج الزرعات الاستخدام الرئيس للمواد الحيوية.

إن استخدام المواد الحيوية في الطب ليس مفهوماً جديداً، حيث استخدم الذهب والحديد في الزرعات السنية منذ ألفي عام[٣].على أية حال، لايقارن الاستخدام العملي للزرعات في ذلك العصر مع استخدامها في الوقت الحاضر.نتج عن الطلب المتزايد لزرعات آمنة وموثوقة تطور في علوم المواد الحيوية كنظام مختلف.بالإضافة للمواد الحيوية المعروفة منذ القدم كمعدن الستانلس ستيل، فإن العديد من المواد الحيوية الجديدة أصبحت متوفرة الآن، وأغلبها مصنوع من البوليمرات (polymeric)، ويمكن أن تصنف هذه المواد كما هو مبين في الشكل رقم(٣.١).



الشكل رقم (٣,١).تصنيف المواد الحيوية.

ب) خواص المواد الحيوية Properties of Biomaterials

لكي تؤدي المواد الحيوية عملها بشكل مناسب فإنها يجب أن تمتلك خواصاً تسمح لها بأن تستخدم بشكل ناجح للتطبيقات المطلوبة منها. ومن ثم فإنه من المنطق أن نميز الخواص الكتلية عن خواص السطح. تحدد الخواص الكتلية (سوية مع

obeikandl.com

التصميم) القوة الميكانيكة للجسم المزروع، بينما تعتبر الخواص السطحية مهمة عند النظر إلى التفاعل بين الجسم المزروع والنظام الحيوي.

١- الخواص الكتلية Bulk Properties

تحدد الخواص الكتلية للمواد بواسطة تنظيم الذرات التي تبنى منها المواد والقوى التي تحافظ على الذرات معاً (القوى بين الذرات).هناك ثلاث قوى معروفة بين الذرات وهي: روابط شاردية، روابط تشاركية، وروابط معدنية[٤].

يجب أن تضبط الخواص الميكانيكية للمواد الحيوية للوظائف المطلوبة منها، وإلا فإن الجسم المزروع سوف يفشل في عمله.مثال على ذلك، إذا كان الجهاز المطلوب منه أن يقوم بتثبيت العظم المكسور يفتقر للصلابة المطلوبة فإنه ربما ينكسر، ومن ثم فإن هذا الجهاز غير مناسب لهذه الوظيفة المطلوبة منه. بذلك يمكن أن تكون الخواص الذاتية للمواد الحيوية مناسبة لتطبيقات محددة، وتلعب دوراً في فشل الزرعة المصنوعة من نفس المواد والمستخدمة في تطبيقات أخرى.من وجهة النظر الميكانيكية فإنه يوجد ثلاث خواص ذاتية للمواد ذات أهمية خاصة: معامل المرونة، جهد الخضوع، الجهد الأعظمي[٥].تحدد هذه البارامترات الثلاثة معاً الصلابة وقابلية التشوه وقوة المادة.

التعب هو الخاصية الكتلية الأخرى المهمة للمواد الحيوية- وهو "العمليات التي تؤدي إلى فشل البنية كنتيجة للجهد الدوري، والتي يمكن أن تكون أقل بكثير من الجهد الأعظمي"[٤].إن مثل هذا الجهد الدوري هو عام في عدة أماكن من جسم الإنسان، مثلاً في مضخة القلب (صمامات القلب الاصطناعية)، وفي الفم (أسنان تعويضية)، و في مفاصل الأطراف السفلية (مفصل الورك الاصطناعي).

obeikandi.com

٢- الخواص السطحية Surface Properties

بالإضافة إلى الخواص الذاتية (الكتلية) للمواد الحيوية فإن الخواص السطحية ذات أهمية في نجاح الجسم المزروع.بما أن التفاعل بين الأجهزة الاصطناعية والأنظمة البيولوجية يكون على سطوح الالتقاء، وعليه فإن الخواص السطحية للمواد الحيوية ذات أهمية خاصة لتنظيم اندماج الجسم المزروع.هناك العديد من العوامل التي تحدد الخواص السطحية للمادة، وهي تركيب وخشونة وتحرير الشوارد وشحن وطاقة سطح المادة[٦].من الواضح أن التفاعل بين الجسم الحي مع سطح المواد الحيوية يجب أن لايسبب أي تأثير ضار للخلايا والأنسجة المحيطة، وكذلك للأعضاء الحية.ولهذا السبب فإن الجزيئات السطحية للمواد الحيوية يجب أن لاتكون سامة، مسرطنة، مولدة للحمى، سامة للخلايا، أو مستضيدية للخلايا الحية.إذا تم استبعاد المواد التي تحتوي على واحدة أو اثنين من هذه الخواص، فإن تفاعل أنسجة الجسم مع سطح الجسم المزروع مازال يعتمد على الخواص السطحية للمواد الحيوية مشكوكاً به.

إحدى الخواص الأكثر شيوعاً في تحديد الخواص السطحية للمواد الحيوية هي الطاقة السطحية.كما سيتم شرحها لاحقاً، فإن هذا البارامتر يمكن أن يكون عاملاً مهماً في ترسيخ التصاق الخلايا مع سطوح المواد الحيوية.على أية حال، عوامل أخرى يمكن أن تكون مهمة في مراقبة التصاق الخلايا على سطوح المواد الحيوية هي نوع الخلايا، ووجود بروتين لاصق[٧].قد يكون التفاعل بين الأنظمة الحيوية مع سطوح المواد الحيوية مرغوباً به لتحريض اندماج المواد الحيوية في الجسم.إضافة إلى ذلك، قد يكون عدم تفاعل السطوح هدفاً آخر في تصميم الزرعات. مثال على ذلك، إن ترسيب المواد الحيوية في الطعم الوعائي الاصطناعي غير مرغوب به؛ لأنه قد يتسبب في انسداد الأوعية الدموية.إضافة لذلك، قد يؤدي التحكم بالالتصاق الحيوي إلى توليد سطوح

obeikandi.com

مواد حيوية والتي تحرض على التصاق الخلايا المضيفة ولكنها تخمد التصاق الجراثيم المعدية- وهي السبب الأكثر شيوعاً في فشل الزرعات[٨- ١٠].

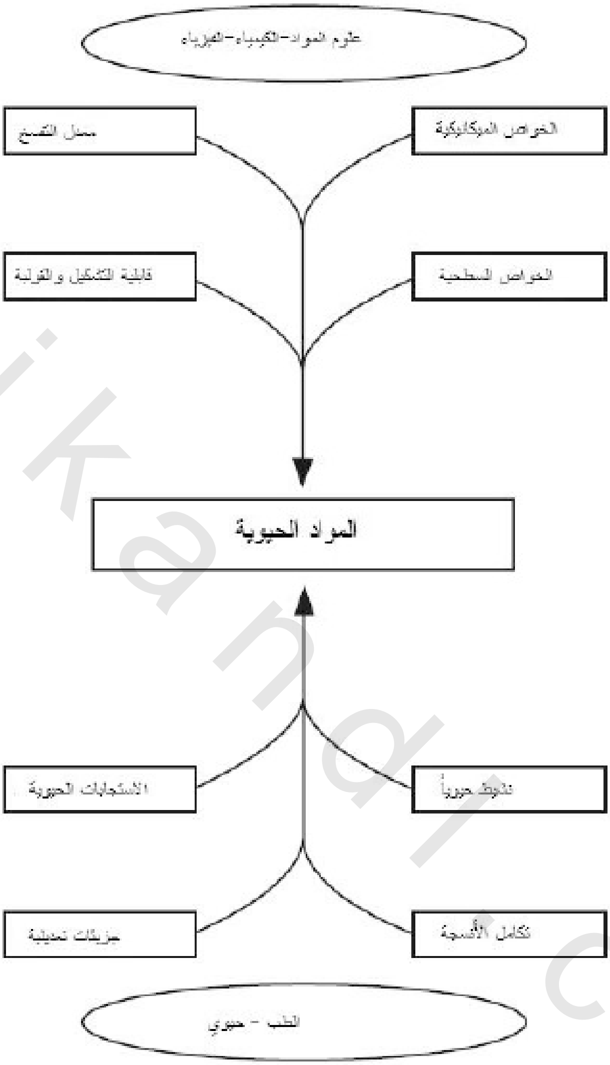
من الممكن أن تؤثر العمليات الطبيعية الحيوية على اندماج المواد الحيوية.عند القيام بعملية الزرع تتعرض المواد الحيوية للتفاعلات مع بنى المحيط الحيوية، وقد تتعرض للتفسخ الحيوي، وهو العملية التي تقوم بها عناصر المحيط الحيوي بمهاجمة المواد الحيوية.تتعرض المعادن للتآكل عن طريق عمليات كيميائية- كهربائية حيث تكون التفاعلات أكسدة وإرجاع[١١].بسبب هذه التفاعلات، فإن اندماج المعدن قد يتأثر بتشكل شوارد المعدن من المعدن الصلب مما يؤدي إلى التفسخ.أما بالنسبة للمواد السيراميكية، فإن المدى الذي يستطيع المحيط الحيوي من القيام بتفسخ السيراميك يعتمد على البنية الكيميائية للمواد الحيوية.أدت المعرفة المتزايدة في علوم المواد الحيوية إلى إنتاج المواد الحيوية البوليمرية والسيراميكية، والذي يمكن أن يتم فيها التحكم بمعدل التفسخ.كما سنحت الفرصة لتوليد واستخدام أجهزة من المواد الحيوية والتي مع الزمن ربما تستبدل بأنسجة طبيعية.

ج) علم المواد الحيوية: حقل متعدد الاختصاصات

Biomaterials Science: A Multidisciplinary Field

يعتمد نجاح الزرعة على مجال واسع من البارامترات التي تنشأ من عدة اختصاصات. يتضمن تصنيع الزرعات معرفة حقول علوم المواد في مجال الفيزياء والكيمياء وغيرها.يتطلب الفحص في المختبر (in vitro) وفي الأحياء (in vivo) وبالنتيجة تطبيق الزرعات معرفة طبية وحيوية.كما هو مبين في الشكل رقم(٣.٢) فإن هناك عدة عوامل تتدخل من هذه المجالات المتعددة التي تمارس في التأثير على نجاح الزرعة.لهذا السبب فإن التعاون بين الباحثين العاملين في هذه المجالات من الضروري أن يطور المعرفة في مجال علم المواد الحيوية.

obeikandi.com



الشكل رقم(٣,٢). يبين حقول متعددة الاختصاصات لعلومالمواد الحيوية تتضمن مشاركة العديـــد مـــن الاختصاصات العلمية.

ثالثاً:العمليات الحيوية biological Processes

أ) عمليات التئام الجروح Wound Healing Processes

يترافق دخول الأجسام المزروعة إلى الأعضاء الحية مع مداخلة جراحية. كما تم ذكره من قبل. ربما تعتبر الزرعة كجسم أجنبي دخيل حيث يولد الجسم استجابة اتجاه الجسم الدخيل من خلال ردود فعل محددة ناشئة عن كل من المواد المدخلة والأنسجة المتضررة أو المصابة بسبب العملية الجراحية.بشكل عام، تتكون الاستجابة من عمليات التئام الجروح، والتي هدفها في النهاية هو التئام الأنسجة المصابة، ومن المفضل أن تتم هذه العمليات بدون إصابة دائمة.بينما هذه الظاهرة، والتي تعرف أيضاً بالتعويض الكامل (restitutio ad integrum)، هي ملائمة لأجنة الإنسان والحيوان، يولد التئام الجرح ندبة عند الأشخاص اليافعين[١٢].

من الواضح أن استجابة التليف التكاثري هي التي تتحكم بترميم الأنسجة الرخوة، وليس عملية إعادة تولد الأنسجة.وفي هذه النقطة، هناك فرق ملفت للنظر بين عمليات التئام الأنسجة الرخوة مثل الجلد، وعمليات التئام الأنسجة الصلبة مثل العظام. بينما التئام الأنسجة الرخوة هي إصلاح، فإن التئام الأنسجة الصلبة عبارة عن إعادة توليد تحدث بعد الجرح[١٣].هذا يعني غياب تشكل الندبة في عملية التئام الأنسجة الصلبة.على الرغم من أن مظهره في التصوير الشعاعي مختلف لكن الأنسجة الصلبة سوف تعود في النهاية إلى ما كانت عليه قبل الإصابة[١٤] وتقوم بنفس العمل الذي كانت تقوم به، وحتى في بعض الحالات تتحسن خواصها بالمقارنة مع الأنسجة الأصلية.

تم دراسة العمليات الحيوية لالتئام الأنسجة الرخوة والصلبة بشكل واسع من قبل العديد من الباحثين، ويوجد عدة مراجعات علمية بهذا الخصوص كانت قد نشرت[١٣، ١٥- ٢٢].

على الرغم من أنه لم يتم حل كل خفاياه لكنه من الواضح أن عمليات التئام الجروح تتضمن مشاركة وثيقة لأنواع محددة من الخلايا ومنتجات إشاراتها[٢٣، ٢٤].

بشكل عام تقسم عملية التئام الجروح المسبوقة بتشكل الخثرات إلى ثلاث مراحل متداخلة: (١) التهاب، (٢) إصلاح، (٣) وترميم الأنسجة[١٣، ١٥، ١٦].

١- تشكل الخثرات Thrombus Formation

قبل البدء بعمليات الالتئام، تتشكل السوائل التي تحتوي على الدم حول المواد الحيوية المزروعة حديثاً تنتج السوائل عن تمزق وازدياد نفوذية الأوعية الدموية، وبالتالي تسرب الدم المتشكل كنتيجة لإصابة الأنسجة.من خلال تغير البيئة المحيطة، عدة عناصر من الدم بما فيها الصفيحات والأنسجة المحيطة، وحتى القريبة تصبح نشطة، بالتالي مؤدية إلى نشوء خثرات الدم بشكل كبير[١٩].إن تفعيل الصفائح ينتج عنه ازدياد اللصوقية. هذا ما يسمح للصفائح بأن تتكدس وتشكل سداً لتغلق ثقوب الأوعية المصابة، وبذلك تحد من فقدان الدم.يتعلق تشكل خثرات الدم بشكل كبير أيضاً ببلمرة الفبرين.تشكل الصفيحات المفعلة وخصل بلمرة الفبرين معاً خثرات ليفية، والتي تخدم كمصفوفة لهجرة لاحقة للعديد من الخلايا إلى منطقة الإصابة. تطويع الخلايا إلى منطقة الإصابة هو على الأقل جزء من التنسيق من خلال تحرير مواد حيوية محدد نشطة من الصفيحات ومن خلايا بطانية[٢٦].تحتوي الخلايا المهاجرة تلك المهمة للاستجابة للالتهاب، وتشكل الأنسجة الجديدة وعمليات ترميم الأنسجة.

obeikandi.com

٢- طور الالتهاب **Inflammatory Phase**

الالتهاب هو استجابة فيزيولوجية للأنسجة الناتجة عن منبهات فيزيائية أو كيميائية أو مناعية مضرة أو الناتجة عن مرض[٢٧].تبدأ استجابة الالتهاب كرد فعل لتحرر موسعات الأوعية والجاذب الكيميائي ووسائط أخرى بما فيها عامل نمو مشتق من الصفيحات (PDGF) ونمو ورم عامل بيتا (TGF-β)[٢٨] بواسطة الصفيحات وتنشيط المتممات داخل السائل المخثر المحيط بالمواد الحيوية المزروعة.تحرير هذه المواد مسؤول من أجل تطويع الالتهاب وخلايا أخرى (انجذاب كيميائي)، تطوير أوعية دموية جديدة (تولد الأوعية)، وتنظيم الخلايا في موقع الإصابة.تحتوي الاستجابة على آليات دفاع غير محددة محمولة بواسطة الخلايا وعناصر غير خلوية للدورة الدم (المحببة، الوحيدة، والنظام المتمم)، وأيضاً على خلايا إقامية ملتهبة (بلاعم وخلايا بدينة)، والتي تحاول جميعها أن تتخلص من الأجسام الدخيلة.إذا كان ضرورياً فإن استجابة مناعية محددة ربما تبدأ مثلاً إنتاج المضادات الحيوية عن طريق اللمفاويات البائية (B lymphocytes) و/أو عن طريق نشاط لمفاويات تائية سامة الخلايا.

٣- طور التصليح **Reparative Phase**

يتطلب تشكل أنسجة جديدة تفعيل و/أو تكاثر خلايا ذات أنواع متميزة مما يؤدي إلى استبدال الأنسجة المفقودة أو المتضررة.في التئام الأنسجة الرخوة، فإن الخلايا ذات الأهمية القصوى والعائدة إلى تشكل الأنسجة الجديدة هي ذات أرومات ليفية وخلايا بطانية وهي قادرة على تشكل مصفوفة أنسجة خارج الخلية، و تولد الأوعية على التوالي.تعتبر مصفوفة الأنسجة خارج الخلية مهمة كمنصة من أجل هجرة الخلايا إلى المنطقة المتضررة.إضافة لذلك، تحتوي مصفوفة الأنسجة خارج الخلية وعناصرها على إشارات من أجل تمايز وتنبيه الخلايا، بشكل رئيس عن طريق تفاعل مستقبلات

لجين (receptor-ligand).من خلال تطوير أوعية دموية جديدة تصبح المغذيات والأكسجين متوفرة من أجل تكاثر الخلايا التي تستبدل الأنسجة في المنطقة المتضررة.

أما في التئام الأنسجة الصلبة، فإن عملية تشكل العظم مهمة، وهناك آليتان تضمنان تشكل عظم جديد وهما: تشكل العظم داخل الغشاء، و داخل الغضروف[١٣].يتم تشكل العظم داخل الغشاء بواسطة خلايا سليفة العظمية (osteoprogenitor) الموجودة في قلب طبقة السمحاق (غشاء من النسيج الضام يكسو العظام).بينما يتم تشكل العظم داخل الغضروف عند وفوق موضع الخلل وخلايا متوسطية غير مميزة المجذوبة من الأنسجة المحيطة بالخلل (مثل: الأنسجة الرخوة و السمحاق)، والتي تصبح ملتزمة بإنتاج خلايا غضروفية[٢١] تحت تأثير إنتاج موضعي وتحرير الوسائط، بما فيها عوامل النمو. تقود معدنة أنسجة الغضروف إلى تشكل العظم.

٤- ترميم النسيج Tissue Remodeling

يتضمن ترميم الأنسجة انتقال الأنسجة غير الناضجة المتشكلة حديثاً إلى أنسجة ناضجة على عكس طوري الالتهاب والتصليح ربما يستغرق طور الترميم عدة سنوات. تتضمن عمليات ترميم الأنسجة الرخوة بشكل عام سرعة تخليق وتدرك (degradation) لبروتينات النسيج الضام[٢٩].يتم تدرك بروتينات مصفوفة الخلايا الخارجية (ECM, extracellular matrix) من خلال عمل مصفوفة البروتيناز المعدنية[٣٠] (MMPs, metalloproteinases).النتيجة الشائعة لترميم الأنسجة الرخوة هو تشكل ندبة، والتي تكون بشكل أساسي من عدم التوازن بين تنبيه تخليق الكولاجين، وتدرك الكولاجين خارج الخلية.

يتضمن إعادة ترميم الأنسجة الصلبة ارتشاف (resorption) العظم بواسطة ناقضة العظم (osteoclasts)، متبوعة بتخلق مصفوفة من العظام، وتمعدنها بواسطة

obeikandi.com

بانيات العظم.تتعرض عملية الترميم في الأنسجة الصلبة إلى قوى ميكانيكية مطبقة عليها[٣١]، أما بالنسبة لعملية ترميم الأنسجة الرخوة فهي لاتتعرض لأية قوى ميكانيكية، ويكون ترميم الأنسجة الصلبة خالياً من أية ندبة.علاوة على ذلك، فإن التئام الأنسجة الصلبة قادر على استعادة شكله الأصلي.

ب) البلاعم Macrophages

هناك العديد من أنواع الخلايا التي تدخل في العمليات الحيوية والتي تحدث بعد زراعة المواد الحيوية. يعتبر التفاعل بين هذه الخلايا مهم جداً؛ وذلك لأن عدم الاستجابة الخلوية ربما يعوق بشكل مباشر أو غير مباشر عمل الجهاز المزروع.تستجيب الخلايا إلى المنبهات، والتي غالبا ما تكون من المستقبلات التي على سطوحها.من خلال هذه المستقبلات تستطيع الخلايا أن تميز عدد كبير من اللجينات (ligands) بما فيها الوسائط المذيبة المفروزة من خلايا أخرى (سيتوكين cytokines)، والجزيئات الموجودة على سطوح الخلايا المجاورة، ونماذج مميزة من جزيئات بروتينات مصفوفة الخلايا الخارجية.

بسبب الظهور المبكر لجزيئات بروتينات مصفوفة الخلايا الخارجية في مكان الزرعة، وطول أعمارهم، و العدد الكبير للسيتوكين الذي قد تنتجه و تفرزه، فإن البلاعم تعتبر من أنواع الخلايا الأكثر أهمية في المنطقة المجاورة للجهاز المزروع حديثاً[٣٢].تقوم البلاعم بوظائف متعددة في مكان الزرعة، والتي تتراوح من حطام خلايا البلعمة والمرض المحتمل من خلال بداية الالتهاب إلى العمليات الضرورية لالتئام الأنسجة المعطوبة الناتجة عن العمل الجراحي. الخلاصة، تسيطر البلاعم الموجودة في مكان الزرعة على حجم وزمن كافة الأطوار، والأطوار الفرعية لعمليات التئام الجروح بوسائل متعددة الاستعمالات في الوسائط التي يفرزها، والتي تتحكم باستجابات ووظائف العديد من أنواع الخلايا.

openarab.com

ج) عمليات الربط البيني للمواد الحيوية Biomaterial Interface Processes

بالرغم من أن الزرع هو خاضع للعمليات الحيوية الخلوية عند البدء كما هو موصوف سابقاً، فإن التلامس الأولي بين الزرع والمضيف يعتمد على تفاعلات غير خلوية. الزرعة المقدمة حديثاً محاطة بسائل مائي. تستطيع جزيئات الماء المجاورة مباشرة للزرعة أن تغير مظهر سطح المادة الحيوية في البيئة الحيوية [٣٣].يعني توافر جزيئات الماء في هذا السائل أن الماء هو الجزيء الأساسي المشترك في السلسلة الأولى من تفاعلات الرابط البيني لسطح المادة الحيوية مع محيطها الحيوي.أحد المعاملات الهامة هو الطاقة الحرة لسطح المادة الحية معبر عنها برطوبة محتواها المائي.غالباً ماتصنف سطوح المادة الحيوية كمحبة للماء أو كارهة له. وهناك عامل ذو صلة لسطوح المادة الحيوية وهو التصاق الخلايا.على الرغم من أن بعض الكتاب يؤكد على وجود علاقة بين الطاقة الحرة السطحية والتصاق الخلية[٣٤- ٣٥]، فإن البعض الآخر يطعن بهذه العلاقة أو حتى يعتبر العكس أمر مسلم به[٣٧].ستشكل جزيئات الماء في الجوار المباشر لسطح المادة الحيوية طبقة مائية مفردة أو ثنائية فيها يعتمد ترتيب جزيئات الماء على خصائص السطح، وذلك على المقياس الذري، وتختلف تماماً عن الماء السائل[٣٣].

سيواجه سطح المادة الحيوية الشوارد بعد التداخلات البينية مع جزيئات الماء أولاً، ومن ثم البروتينات الموجودة في السائل المحيط.في جزيئات الماء وحيدة الطبقة أو ثنائية الطبقة تدخل الشوارد الطبيعية (مثل: Na^+ و Cl^-) كشوارد مائية[٣٨].تحدد خواص سطح المادة الحيوية نمط وكمية، والحالة المؤكدة للبروتينات المدمصة[٣٩- ٤٠].لهذا فإن طيف البروتينات المدمصة لن يعكس بالضرورة كميات ونسب البروتينات في السائل المحيط[٤١- ٤٢].بالإضافة إلى ذلك، فإنه قد يحصل تمسخ لبروتينات المدمصة.كنتيجة لذلك يمكن لمواقع هامة حيوياً أن تصبح غير فعالة، أو من الصعب الوصول إليها مما يحد من التفاعلات مع المستقبلات الموجودة على الأغشية الخلوية.

obeikandi.com

أخيراً سوف تشارك الخلايا الحية. حيث إن وجود تشكيلات واسعة من المستقبلات الغشائية الرابطة على سطوح الخلايا الذي يمكّن هذه المستقبلات من الالتصاق بالبروتينات المدمصة على سطح المادة الحيوية ؛ لأن تفاعل الخلايا مع سطح المادة الحيوية لايعتمد على التماس المباشر بين الخلايا والمادة الحيوية، ولكن فقط على تفاعل غير مباشر بوجود البروتينات المدمصة كوسيط ؛ لذا فقد تم افتراض أن المادة الحيوية ليست هي ما يسبب الاستجابات غير المرغوب بها. يتم التعرف على طبقة البروتينات غير النوعية المدمصة على سطح المادة الحيوية بعد الزرع مباشرة من قبل المضيف كمادة غريبة أو غير طبيعية. يبدو هذا الافتراض مقبولاً ؛ لأن مثل هذا المزيج المدمص من البروتينات ذو الاتجاهات والحالات التوصيفية العشوائية يقدم انحرافاً يشير إلى انحراف عن طبقات البروتين المرتبة الطبيعية والمرتبة عن عمد.

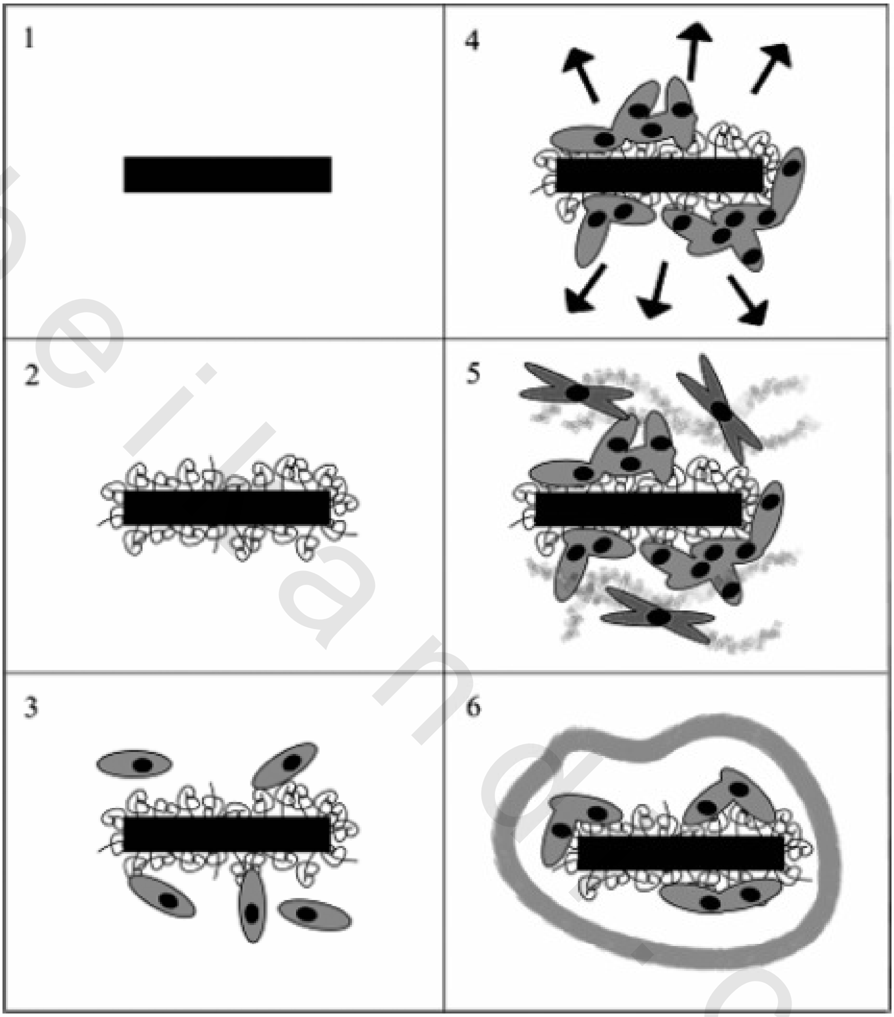
د) تفاعل الجسم الغريب Foreign Body Reaction

ينتج عن التأثيرات التراكمية لكل العمليات المساهمة المنفردة التي تحصل في السطح البيني للمادة الحيوية أحد النتائج التالية للزرع: (١) التكامل (٢)إقصاء (٣) ارتشاف (٤) تمحفظ، بالرغم من أن تكامل جهاز المادة الحيوية هو النتيجة الأكثر تفضيلاً، فإن عدد الحالات التي يتم الوصول فيها إلى تكامل حيوي حقيقي محدود جداً[٤٤]. يحصل التكامل الحيوي الحقيقي على الأغلب بعد زرع مواد حيوية متوافقة مثل التيتانيوم المطلى بالهيدروكسي ابيتايت HA في التسيج العظمي[٤٥-٤٦].ينتج عن زرع المواد الحيوية الأنسجة الرخوية عادة أحد النواتج الثلاثة الأخرى.

يحصل الإقصاء عندما يتم زرع جهاز بتماس مباشر مع النسيج البطاني.تشكل البطانة جيباً مستمراً مع الغشاء البطاني المجاور، والذي يبدد بالتالي الزرعة. في حالة

البطانة الخارجية فإن الزرعة ستستبعد من المضيف.يمكن لارتشاف الزرعة أن يحصل عندما تكون الزرعة مصنوعة من مادة قابلة للتفسخ.بعد الارتشاف الكلي سيبقى فقط ندبة منهارة في موقع الزرع.في معظم الحالات تصبح المواد الحيوية المزروعة في الأنسجة الرخوة متمحفظة بعملية تسمى تفاعل الجسم الغريب[٤٧-٢] (الشكل رقم ٣,٣).تتألف الكبسولة عادة من غشاء خلوي قليل نسبياً مع محتوى عالي من الكولاجين[٤٨].هناك طبقة ليفية عضلية، والتي تلاحظ عادة بجوار هذا الغشاء الكولاجيني.وأكثر من ذلك خلايا عملاقة للجسم الغريب (FBGCs: خلايا بلعمية ملتحمة) يتم ملاحظتها في الفراغ بين المحفظة والزرعة.بشكل عام، إن ترتيب الخلايا والملاط المحيطين بالزرعة يتم بناؤه بطريقة تؤدي إلى حاجز بين المادة الغريبة والجسم، وهذه البنية تؤدي إلى عزل الزرعة عن الجسم.المحفظة التي تضم خلايا عملاقة للجسم الغريب FBGCs المحيطة بالزرعة يمكن أن تقاوم طوال عمر الزرعة. على أية حال من غير الواضح حتى الآن فيما إذا كان وجود الخلايا العملاقة للجسم الغريب FBGCs في سطح المواد الحيوية يبقى فعالاً خلال عمر الزرعة، أو يصبح غير فعال (ساكناً).بما أن الزرعات المغلفة ممكن أن تؤدي وظائفها لعدة سنوات، فإن عزل الزرعة بالكولاجين المغلف ليس بالضرورة ظاهرة غير مرغوب بها. من الممكن أن تساعد حياة الجسم بالتعايش مع الجهاز الاصطناعي، بالرغم من أن وجود التعايش الحقيقي في هذه الحالة يمكن أن يكون قابلاً للنقاش.لسوء الحظ، فإن وجود الأرومة الليفية العضلية في المحفظة ربما يؤدي إلى تقلص، وهذا يؤدي إلى ألم و/أو فشل الزرعة. إضافة إلى ذلك، فإن تشكل المحفظة المترافق أو غير المترافق مع اهتراء المواد الحيوية قد يؤدي إلى ارتخاء الزرعة.

obeikandl.com



الشكل رقم (٣,٣). تفاعل الجسم الغريب.إدخال الزرعة (١) إلى المستقبل يؤدي إلى امتزاز البروتينات بكافة التشكيلات الممكنة على السطح (٢).فيما بعد، ترتبط الخلايا (بما فيها البلاعم) بسطح الزرعة عبر مستقبلات الخلايا السطحية، والتي تميز اللجينات المتطابقة في طبقة البروتينات المدمصة (٣).تفرز الخلايا الملتصقة تنوع واسع من إشارة الجزيئات، والتي تؤثر على سلوك خلايا مميزة (٤) والتي تصبح فعالة، وتبدأ في إنتاج مصفوفات الخلايا الخارجية (٥).أخيراً، تصبح الزرعة محفوظة في محفظة ليفية، والتي تعزل الزرعة عن الجسم (٦).

obeikandl.com

رابعاً: التقنية متناهية الصغر في علم الزرع Nanotechnology in Implantology

أ) مقدمة Introduction

من الوصف السابق لخواص المواد الحيوية و العمليات الحيوية بين السطوح، فإنه من الواضح أن وضع الزرعة في العضو الحي يسبب رد فعل محدد للمحيط الحيوي.تحدد كل من الخلايا والجزيئات الحيوية والخواص الذاتية للمواد الحيوية المطابقة الحيوية طول عمر الأجهزة الصناعية.بما أن تفاعل الجزيئات الحيوية والخلايا مع سطح المادة الحيوية هو عنصر هام في تقييم مدى مناسبة المادة الحيوية للوظيفة المطلوبة منها، فإنه من غير الضروري ملاحظة أن كل محاولة لتجنب الاستجابات غير المرغوب بها و/أو تحريض الاستجابات المرغوب بها للزرعة هي أقصى اهتمام.

في العديد من التخصصات بما فيها علم المواد الحيوية، أصبح التصغير عنواناً للاهتمام لعدة سنوات[٥١] وقاد إلى تطور طرائق التقنية الميكروية[٥٢- ٥٣] والتي سمحت بإنشاء معالم بأبعاد ميكروية على سطوح المواد الحيوية. أدى اتساع العديد من هذه التقنيات إلى تطوير تقنيات جديدة، وأدى التركيز على التطبيقات الطبية إلى اتساع حقل التقنية الطبية الحيوية متناهية الصغر[٥٤] والتي تتعامل مع أبعاد أصغر بألف مرة مما كان ممكن سابقاً.بشكل عام، يهدف إدخال مجال التقنية متناهية الصغر إلى زيادة التحكم ببنية المادة ذات الحجم المتناهي الصغر في بعد واحد على الأقل (x, y, or z)[٥٥].كما تم توضيحه من قبل، فإن خواص القياس الميكروي ممكن أن يمارس تحكم على السلوك الخلوي[٥٦- ٥٩]، من الممكن أن تؤدي التطورات الحديثة في مجال التقنية متناهية الصغر إلى أدوات فعالة إضافية؛ لزيادة التحكم بالتفاعلات الحيوية البيئية للعصي الأصغر من الميكرون في الجوار المباشر لجهاز المادة الحيوية[٦٠].

الفرق العام بين التقنية الميكروية والتقنية متناهية الصغر هو حجم البنى المتولدة من المقياس الميكروي أو المقياس النانوي.قد يعتمد نشوء البنى ذات المقياس متناهي

الصغر على تصغير البنى ذات المقياس الأعلى (أعلى- أسفل)، أو على تجميع البنى ذات المقياس متناهي الصغر من بنى صغيرة أصلاً (أسفل- أعلى).إن تقارب إستراتيجيات أعلى- أسفل، و أسفل- أعلى؛ لإنشاء مزايا بأبعاد ذات مقياس متناهي الصغر عبر تعاون العديد من التخصصات العلمية، مثال على ذلك، الكيمياء، الفيزياء، العلوم، و الطب، يجعل من الممكن أن ينتج مواد شبيه بالمحيط الطبيعي للكائنات الحية.

تؤثر الترتيبات ثلاثية الأبعاد للبنى المحيطة بالخلايا الحية على أغلب العمليات الخلوية، مثال: التصاق، هجرة، نمو، التمايز، إفراز، و تعبير جيني. معظم هذه البنى مثل عناصر المصفوفات خارج الخلايا (ECM) ومستقبلات روابط الغشاء على الخلايا تخفض الأبعاد إلى مقاييس متناهية في الصغر.كان قد افترض بأن ترتيب الخلايا وبروتينات المصفوفة خارج الخلايا هو مهم في التحكم بسلوك الخلايا، وهذا ما تم إثباته في التجارب باستخدام عدة أخاديد (مجموعة من الأخاديد الصغيرة جدا والأخاديد الضخمة)[٦١].وقد بينت التجارب بأنه من الممكن التحكم بكل من التوجه الخلوي و توجه المصفوفات خارج الخلايا. نتيجة لذلك فقد تم افتراض بأن الأخاديد المتعددة يمكن أن تسمح بإنتاج مصفوفة خارج الخلايا ثلاثية الأبعاد في الأحياء.

من الممكن تقديم البنى ذات الأبعاد متناهية الصغر على سطوح المواد الحيوية، وذلك باستخدام تقنية النانو (المتناهية الصغر)، ويمكن أن تؤثر هذه البنى على التفاعلات الحيوية لزراعة التعويضات.على الرغم من الاختلاف بين البنى النانوية الاصطناعية والبنى النانوية الطبيعية لكنها يمكن أن تؤثر على الاستجابة الخلوية لزراعة المواد الحيوية؛ لأن تقنية النانو مازالت في بدايتها، فإنه من الممكن للتطورات المستقبلية أن توسع مدى هذه الفعالية، وبالتالي أهمية إنشاء بنى نانوية على سطوح المواد

الحيوية.وفيما يلي سيتم وصف العديد من الطرق المعتمدة على تقنية النانو لتعديل سطوح المواد الحيوية ، وكذلك سيتم شرح تأثير هذا التعديل على سلوك الخلايا.

ب) الطرق الحالية لتصنيع النانو Current Nanofabrication Methods

يعتبر إنتاج البنى النانوية على سطوح المواد الحيوية حقل ناشئ في هذه التقنية ، والتي من الممكن أن تتضمن استخدام عدة تقنيات.العديد، لكن ليس الكل ، من الطرق لتصنيع سطوح المواد الحيوية بمقاسات متناهية الصغر بعصي طبوغرافية أو كيميائية مبينة في الجدول رقم (٣.٢).وقد تم شرح المبادئ الأساسية لهم في الأسفل.

الجدول رقم(٣.٢). الطرق المتوفرة من أجل تصنيع النانو لسطوح المواد الحيوية.

نوع النظام	المواد	الدقة
النقش	سيليكا، سليكون، سليكون نتريد، سليكون كربيد	x ، y، و z إلى ١٠ نانومتر
المقاومة الغروانية	سيليكا، سليكون، سليكون نتريد، سليكون كربيد	x ، y، و z إلى ٥ نانومتر
ذاتي الترتيب أو ذاتي التركيب	بوليمر demixing، طبقات أحادية و ذرات ذاتية التركيب، أنظمة أخرى ذاتية التركيب	في مجال ١٠ نانومتر
النقش الناعم	أي جزيء كبير نوعاً ما	x و y حتى ٢٠٠ نانومتر، z حتى طبقة أحادية واحدة
المحاكاة الحيوية	العديد	الأبعاد الطبيعية

يمكن أن تصنف تعديلات تقنية النانو لسطوح المواد الحيوية بشكل عام إلى تلك التي تغير السطح طبوغرافياً، وتلك التي تدخل الجزيئات الكيميائية (أو مجموعة

obeikandl.com

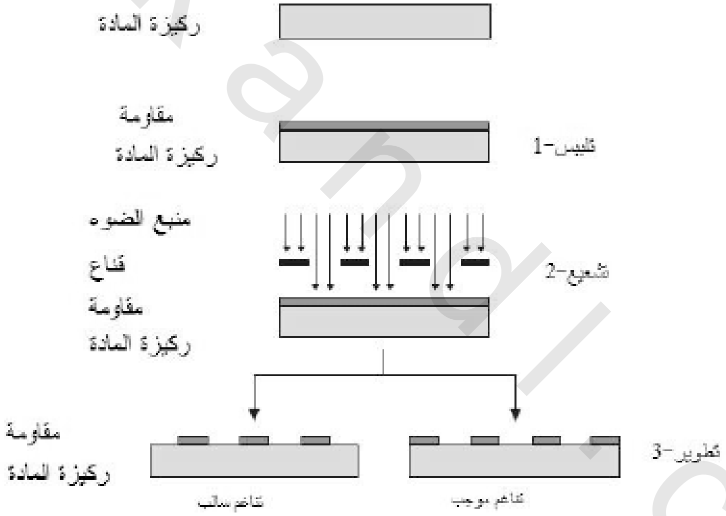
الجزيئات الكيميائية) ذات المقياس النانوي على السطح. التقنيات الموصوفة في الأسفل، على أية حال، ليس بالضرورة أن تحصر نفسها لواحدة من هذه الأنواع من التعديلات.يمكن أن تخدم العديد من التقنيات عدة أهداف، مثال على ذلك، استخدام نوع من الأقنعة يمكن أن يتضمن إما طبوغرافياً أو كيميائياً.من الممكن تحديد الطبوغرافيا بشكل أكثر وذلك بالأخذ بعين الاعتبار إما البنية أو الخشونة.يتحدد الفرق بين البنية والخشونة بانتظام العصي الطبوغرافية.بينما تصنف البنية بالترتيب المنتظم في الطبوغرافيا، تحتوي الخشونة على طبوغرافيا عشوائية.

١- النقش Lithography

يبين الشكل رقم (٣.٤) المبادئ الرئيسة للنقش الضوئي.النقش هو تقنية تلبيس المادة بطبقة رقيقة جداً، وذلك قبل التشكيل المرغوب به.وتكون عادة الطبقة الرقيقة جداً من البوليمر الحساس لنوع محدد من الطاقة المطبقة.من الممكن استخدام البوليمرات الحساسة للضوء أو الإلكترونات. بالاعتماد على حساسية البوليمر (تدعى أيضاً المقاومة)، تصنف تقنيات النقش بالنقش الضوئي (مقاومة حساسة للضوء)، أو النقش بحزمة إلكترون (مقاومة حساسة للإلكترون).

إن تعرض البوليمر الحساس للأشعة بنموذج محدد يعدل خواص البوليمر في تلك المنطقة المعرضة للإشعاع.حيث يتم الانحلال عن طريق إزالة البوليمر الحساس المتأثر بالأشعة، مما يترك نموذجاً محدداً من البوليمر الحساس على سطح المادة الحيوية.بشكل عام، يوظف النقش الضوئي قناعاً للسماح بالتحكم بالأشعة للسطح المقاوم، بينما في النقش بحزمة الإلكترون، فإن حزم الإلكترونات يمكن أن تركز وتناور على الوضعيات المرغوب بها للحصول على تحكم على المنطقة المعرضة للأشعة.من الممكن تطبيق نوعين من التعديلات الأخرى على السطح، وذلك لإزالة

البوليمر: (١) حفر (حك) etching و (٢) إزالة طبقة رقيقة جداً film deposition.يسمح الحك للحفر الصغيرة جداً وللثلم وللطبوغرافيا الأخرى للأشكال والأحجام الموجهة لأن تنشأ.من وجهة نظر أخرى، يعتمد بشكل أساسي فإن إزالة طبقة رقيقة جداً على تلبيس المنطقة المعرضة بالمحلول المرغوب به، حيث يتبخر المحلول أو تقوم الجزيئات بترتيب نفسها ببنية محددة.إن اختيار ودقة الطاقة المستخدمة في تعريض البوليمر الحساس للأشعة يحدد مجال أبعاد الطرازات المتولدة.بشكل عام، إن دقة النقش الضوئي التقليدي هي ٣٠٠ نانومتر، بينما معالم النقش التي تنخفض إلى ١٠ نانومتر يمكن أن تتولد بواسطة النقش بحزمة الإلكترون.

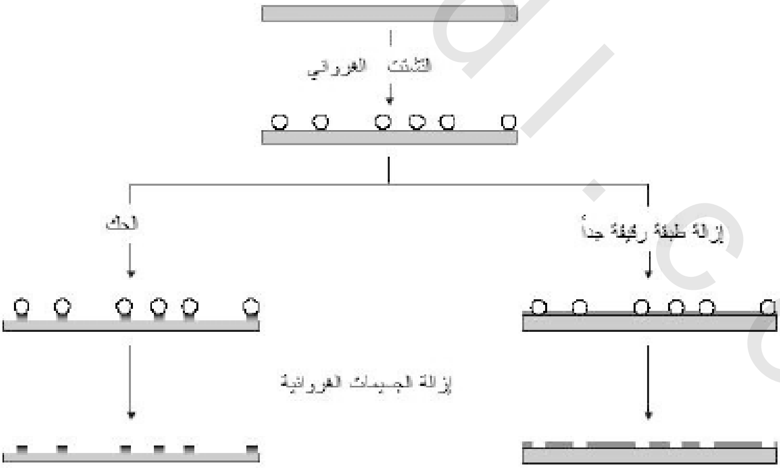


الشكل رقم (٣،٤).تقنية النقش الضوئي.في النقش التقليدي، تلبس المادة الأساسية بمادة مقاومة وبعدها تعرضها للأشعة من خلال القناع ينشأ طراز من النقش على المادة المقاومة وذلك حسب فتحات القناع.تطور هذه المادة المقاومة سوف ينتج عنه تناغم سالب أو موجب على سطح المادة والتي ممكن أن تستخدم من أجل تقنية التلبيس أو الحفر.

obeikandl.com

٢- المقاومات الغروانية Colloidal Resists

بالإضافة للقناع (كما في النقش الضوئي) أو مناورات الدقة لحزمة الإلكترون (كما في النقش بحزمة الإلكترون)، فإنه من الممكن تطبيق الجزيئات الغروانية (الشكل رقم ٣.٥).من الممكن أن تنتج الجزيئات الغروانية لمواد مختلفة وقياسات تصل إلى ٥ نانومتر، وبالتالي تتشتت على سطح المواد الحيوية.من الممكن التحكم بتوزع (مثال: الكثافة) الجزيئات على السطح بواسطة ملوحة[38b] وحموضة (pH) المحلول. ومن ثم يمكن أن تستخدم الجزيئات الممتصة كقالب من أجل طراز السطح التحتي.في تقنية شبيهة بالنقش الضوئي والنقش بحزمة الإلكترون، فإن الفراغ غير المغطى بالجزيئات الغروانية يمكن أن يتعرض للحك أو لإزالة طبقة رقيقة جداً.بعد إزالة الجزيئات الغروانية يبقى السطح ذو الطراز.باستخدام تقنيات المقاومة الغروانية يتبعها الحك أو إزالة طبقة رقيقة جداً، ومن ثم إزالة الجزيئات الغروانية فإن الاختلافات في الطراز يعود لحجم الجزيء وللتوزع الحيزي.



الشكل (٣,٥). تقنيات المقاومة الغروانية. تتشتت الغروانيات المعلقة على سطح المادة. تليها حك أو تلبيس ثم يتبعها إزالة الجزيئات الغروانية، مما ينتج عنه طراز على سطح المادة.

obeikandl.com

٣- الأنظمة ذاتية التركيب Self-Assembly Systems

التركيب الذاتي هو ظاهرة شائعة في الطبيعة. ويوصف "كترابط تلقائي للعديد من الكيانات الفردية ضمن تنظيم مترابط وبنى معرفة بشكل جيد؛ لزيادة الفائدة من الفرد بدون تعليمات خارجية"[٦٣].إذا انخفضت هذه الظاهرة إلى كيانات أصغر فسينتج تركيب ذاتي للجزيئات.تنظم الجزيئات بشكل تلقائي ضمن بنى معرفة بشكل جيد وإلى حد ما ذات ترتيب مستقر من خلال تفاعلات غير تساهمية تحت شروط توازن[٦٤].

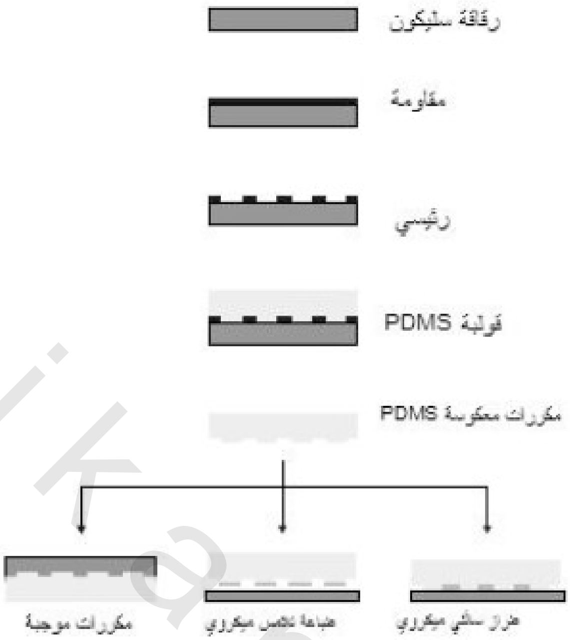
إن تشكل غشاء الخلية من أجزاء شحميه فسفورية أحادية هو مثال جيد عن الحدوث الطبيعي للتركيب الذاتي عند المقياس الجزيئي.لقد أصبح جلياً من هذا المثال بأن التركيب الذاتي يسمح بتشكل البنى المستقرة، بينما من الممكن للتفاعلات غير التساهمية الأحادية أن تكون ضعيفة، وأن التفاعلات المتراكمة يمكن أن تكون أكثر من كافية لتوليد مواد وبنى مستقرة جداً.يعتمد إنجاز نظام التركيب الذاتي على التتام الكيميائي والتوافق البنيوي.لذلك هناك متطلب أساسي من أجل التركيب الذاتي وهو استخدام الجزيئات بالحجم والاتجاه الصحيح. يمكن للجزيئات أحادية الطبقات ذات الخواص المتميزة المتعرضة على السطح الجديد أن تتولد، وأن تشير إلى تركيب ذاتي أحادي الطبقات (self-assembling monolayers, SAMs).

أحد التطبيقات الشائعة لتقنية التركيب الذاتي أحادي الطبقة هو النمط البروتيني.ينتج عن تولد طبقة أحادية ذاتية التركيب للجزيئات ضمن طبقة مرتبة[١٠] إمكانية تشكيل خواص الطبقة لمجموعات النهاية الحرة.من خلال اختلاف التفاعل الفريد للمجموعات النهائية في التركيب الذاتي أحادي الطبقة، فإنه من الممكن أن تعطي التفاعلات المتجانسة مع البروتينات آلية لنموذج البروتين.

٤- النقش الناعم Soft Lithography

النقش الناعم (الشكل رقم ٣.٦) هو مصطلح يستخدم من أجل مجموعة من تقنيات النقش التي يستخدم فيها طراز المطاط الاصطناعي، عادة متعدد ثنائي ميثيل سيلوكسان poly(dimethylsiloxane) PDMS، لتوليد أو نقل هذا الطراز المحدد من خلال القولبة، الطبعة، أو الحجب ضمن سطح المادة الحيوية.إضافة لذلك يمكن أن تستخدم النسخة المطابقة المعكوسة لمتعدد ثنائي ميثيل سيلوكسان كقالب رئيسي لتوليد الطبعة الموجبة للقالب الأصلي.

الطباعة بالتماس الميكروي هي تقنية النقش الطري باستخدام تماس الطراز المجسم لطبعة PDMS على سطح المادة الحيوية لتوليد نموذج عليه. قبل حدوث الاتصال بين طبعة PDMS وسطح المادة الحيوية، تحبر الطبعة لإنشاء نموذج الطبعة على سطح المادة الحيوية.معظم الأحيان تستخدم الطباعة بالاتصال الميكروي مع الطبقات الأحادية ذاتية التركيب على المواد الذهبية.من الممكن أن تتولد نماذج الطبقات الأحادية ذاتية التركيب النوعية بعد تعبئة فراغ النموذج الداخلي باستخدام طبقة أخرى أحادية ذاتية التركيب.تمتلك الطبقات الأحادية ذاتية التركيب، بشكل خاص لخصائصها الكيميائية، صور (بروفيلات) امتزاز انتقائية للبروتينات.إن اختيار الطبقات الأحادية ذاتية التركيب المناسبة وتصميمها في نموذج يمكن أن يتحكم بالتصاق البروتين.مثل هذا النموذج، ذو السطوح التي تحتوي على بروتين ممكن أن يخدم كجزيئات التحام من أجل مستقبلات الخلايا، ومن ثم يؤمّن فرصة من أجل الارتباط المباشر للخلية [٦٥].بالإضافة لتثبيت البروتين غير المباشر من خلال الطبقات الأحادية ذاتية التركيب، فإنه ممكن أيضاً نمذجة مباشرة للبروتين باستخدام الطباعة بالاتصال الميكروي.



الشكل رقم (٣,٦).تقنيات النقش الطري. باستخدام تقنيات النقش التقليدية، يحضر القالب الرئيسي الذي يصب في متعدد ثنائي ميثيل سيلوكسان. تستخدم النسخة المعكوسة لل PDMS لتوليد الطراز (من خلال النحر، التلبيس،... إلخ) على سطوح المادة بواسطة تقنيات مثل الصب و الطباعة بالتماس الميكروي و النموذج السائلي الميكروي

النموذج السائلي الميكروي هو تقنية تستخدم شبكة من الأقنية الميكروية المتولدة خلال تماس طبعة PDMS من أجل توليد نموذج على سطح المادة الحيوية.من خلال هذه الأقنية الميكروية ، يمكن للسوائل أن تنتقل لأماكن مختارة من المادة.في الطباعة بالتماس الميكروي، يتولد النموذج في موقع التلامس بين الطبعة والمادة الحيوية.بشكل مغاير، في النموذج السائلي الميكروي، المناطق التي تكون فيها الطبعة ليست على تماس مع المواد الحيوية تكون مسؤولة عن النموذج.بالاعتماد على نوع السائل المستخدم، فإن هناك

obeikandl.com

عدة احتمالات من أجل توليد النموذج: (١) تصلب السائل، (٢) ترسيب عناصر قابلة للحل، أو (٣) إزالة المواد التحتية.

٥- طرائق المحاكاة الحيوية Biomimetic Approaches

هناك طريقة مختلفة كلياً في تشكيل سطوح الزرعة، وهي استخدام المحاكاة الحيوية.تتجه طريقة المحاكاة الحيوية إلى إنشاء سطح الزرعة، والذي لا يعتبره الجسم المضيف كجسم غريب.إن بنى البيئة الخلوية الطبيعية (مثال، بروتينات المصفوفات خارج الخلايا ECM) التي غالباً لها أبعاد غير مقاسة ممكن أن تكون مساعدة في إنشاء سطوح المحاكاة الحيوية.

في الظروف الطبيعية، تنظم الوظائف الخلوية من خلال تفاعل الخلايا مع محيطها المباشر، وتميز الخلايا عناصر محددة من محيطها، بما فيها عناصر المصفوفات خارج الخلايا.لهذا السبب، ركزت الأبحاث على نمذجة هذه البيئة المحيطة في سطوح المواد الحيوية، طبوغرافياً و حيوياً.

لقد بذلت جهود حثيثة لتوليد سطوح مواد حيوية تحتوي على عناصر من بروتينات المصفوفات خارج الخلية.لقد تم تبيان بأن مثل هذه البروتينات تحتوي على قطاعات، والتي ممكن أن تؤثر على سلوك الخلية.من الممكن للمستقبلات الموجودة على سطح الخلية أن تتعرف على هذه القطاعات التي ممكن أن تؤثر كجزء مضاد (جزيئات ملتحمة، مبدأ مفتاح- قفل)[٦٦].تفاعلات عائلة المستقبلات المدمجة مع هذه القطاعات معروفة بشكل خاص بتأثيرها على العمليات الخلوية[٦٧،٦٨].مثال على ذلك، التصاق الخلايا على قطاعات محددة لبروتينات مصفوفات الخلايا الخارجية ممكن أن ينجز من خلال تفاعلات بوساطة المستقبلات.

إضافة لذلك، يمكن أن تؤثر التفاعلات بواسطة المستقبلات على عمليات خلوية أخرى بما فيها التكاثر، الهجرة، تغير مورفولوجي، التعبير الجيني، و بقاء الخلية بواسطة الإشارة داخل الخلايا.إن إدخال عناصر مصفوفات الخلايا الخارجية الطبيعية إلى سطوح المواد الحيوية هي طريقة تعديل مهمة، والتي ممكن أن تولد سطح مواد حيوية مجانس للسطح الطبيعي (المحاكاة الحيوية) الذي فيه ممكن أن يتأثر السلوك الخلوي.حالة أخرى إضافية لاستخدام عناصر مصفوفة الخلايا الخارجية من أجل توليد سطوح المحاكاة الحيوية تتضمن استطاعة عناصر مصفوفة الخلايا الخارجية الارتباط الوثيق بعوامل النمو[٦٩]،[٧٠] والتي ممكن أن تشكل سلوك الخلايا وذلك بالاعتماد على نوع معامل النمو المطبق.

بشكل عام يوجد ثلاث طرق من أجل تثبيت الجزيئات الحيوية مثل البروتينات والببتيدات على السطوح: (١) الامتزاز الفيزيائي (مثال، من خلال فان در فالس أو التفاعلات الكتروستاتيكية)، (٢) انحصار فيزيائي (باستخدام حاجز)، و (٣) مرفق تساهمي. إضافة لهذه الطرق، ممكن أن تستخدم تقنية أكثر تعقيداً مثل ارتباط تساهمي لشبكات البوليمر لتوليد سطوح المحاكاة الحيوية التي تحتوي على عناصر من مصفوفات الخلايا الخارجية الطبيعية[٧١]،[٧٢].

على الرغم من أن الامتزاز لكامل البروتينات (مثال، بروتين لاصق للخلايا fibronectin) فعال في تحريض الارتباط الخلوي[٤٢]، فقد ركزت البحوث على تصميم مواد تمثل فقط جزء من بروتينات مصفوفات الخلايا الخارجية.بشكل عام، تعتمد هذه الأجزاء (أو الببتيدات) على البنية الأولية لمجال روابط المستقبلات لكامل البروتين مثل البروتين للاصق للخلايا أو لامينين laminin.ممكن أن تمتلك هذه الببتيدات وظائف

مماثلة فيما إذا كانت خطية أو حلقية، مثال، خواص المستقبل، ألفة الربط، و إشارة استجابة الخلية، بالمقارنة مع البروتينات الطبيعية[٧٣،٧٤].

يوجد فرصة كبيرة باستخدام الببتيدات بدلاً من البروتينات، وذلك باستهداف تفاعلات خلوية محددة لببتيد معطى، في حين تزال الاستجابات غير المرغوبة التي ممكن أن تحدث للبروتين السليم. إضافة لذلك، تعريض ببتيدات قصيرة يبدو بأنه يعزز على توفر ونشاط حقل روابط المستقبلات بالمقارنة مع تعرض كامل البروتين الطبيعي[٧٥].من المسلم به أن استخدام كامل البروتينات مرتبط مع العديد من الاتجاهات المحتملة وأحياناً إعاقة تجسيمية، ينتج عنه عرض فعالية أقل لحقل روابط المستقبل بالمقارنة مع الببتيدات القصيرة.على الرغم من أن عدة حقول معروفة بأنها مفيدة في تحريض ربط الخلية إلى سطوح المواد الحيوية[٧٦]، فإن الببتيدات التي تحتوي على حمض أرجينين جليسين اسبارتيك (RGD) متواليات الحموض الأمينية تستخدم على الأغلب.هذا الببتيد الثلاثي هو حقل ربط خلية الفيبرونكتين (بروتين لاصق للخلايا)، وهو معروف بأنه يخدم كجزيء ملتحم بآخر من أجل استكمال المستقبل ($\alpha_5\beta_1$) المعبر عنه على سطوح العديد من الخلايا والمتضمن في العديد من العمليات الخلوية، بما فيها الالتصاق، الهجرة، تجميع منتجات مصفوفات الخلايا الخارجية، وتبادل الإشارة[٧٧].

التعديلات المذكورة سابقاً على المواد الحيوية المتضمنة عناصر مصفوفات الخلايا الخارجية الطبيعية ممكن أن تكون مفيدة من أجل تحريض تكامل أنسجة الزرعات في كل من الأنسجة الرخوة والصلبة[٧٨-٨٠].على أية حال، بما أن الأنسجة الصلبة الطبيعية تحتوي على معادن مرسبة، فإنهم يستخدمون أيضاً من أجل توليد سطوح مواد حيوية بمحاكاة حيوية.العنصر غير العضوي الأكثر أهمية المكون من الأنسجة الصلبة الحيوية مثل العظام والأسنان هو فوسفات الكالسيوم، وهي تستخدم بشكل

obeikandl.com

واسع كتلبيس لسطح المادة الحيوية من أجل زرعات العظام.إضافة لذلك، فإن فوسفات الكالسيوم هو منشط حيوي، والذي يعني بأنه يسمح بالتفاعل الديناميكي الذي يميل إلى تشكيل العظم بوجود الزرعة حوله[٦، ٨١].تم تطوير العديد من التقنيات لتحرير فوسفات الكالسيوم على سطوح المواد الحيوية، بما فيها تقنيات المسرع المغناطيسي[٨٢، ٨٣]، تقنيات رش البلازما[٨٤]، وتقنية ترسيب الرش الإلكتروستاتيكية الجديدة[٨٥].تسمح هذه التقنيات بتوليد تلبيس فوسفات الكالسيوم ببنى النانو بعدة أطوار كامنة لفوسفات الكالسيوم.

٦– التلبيس بالحمض النووي منزوع الأكسجين (الدنا) DNA Coatings

مثال أخر عن تعديلات بقياس النانو على سطوح المواد الحيوية هو التعامل مع التلبيس بالحمض النووي منزوع الأكسجين من أجل المواد الحيوية. الفرضية هي أن للحمض النووي منزوع الأكسجين عدة ميزات عندما يستخدم كعنصر بنيوي، بغض النظر عن المعلومات الوراثية التي يمتلكها.روابط (vertebrate) الحمض النووي منزوع الأكسجين، وهي مادة بوليمرية طبيعية، تعتبر غير منيعة وراثياً أو منيعة وراثياً نوعاً ما[٨٦]، على خلاف الحمض النووي منزوع الأكسجين الجرثومي، وهو المحرض القوي لتفاعلات المناعة[٨٧، ٨٨].سبب هذا الفرق في تفاعل التنبيه المناعي هو وفرة عديم الميثيلات سيستئين فوسفات غوانين (CpG) ثنائي النوكليوتيدات في الحمض النووي منزوع الأكسجين الجرثومي[٨٩].إضافة لذلك، ممكن أن يستخدم الحمض النووي منزوع الأكسجين كأداة لتوصيل الدواء.

تسمح بنية الحمض النووي منزوع الأكسجين بالتفاعل مع جزيئات أخرى وذلك من خلال آليات بما فيها الروابط الأخدودية و الإقحام[٩٠– ٩٢] بالنظر إلى هذا، فإن تحميل الحمض النووي منزوع الأكسجين مع الجزيئات التي تثير استجابات خلوية

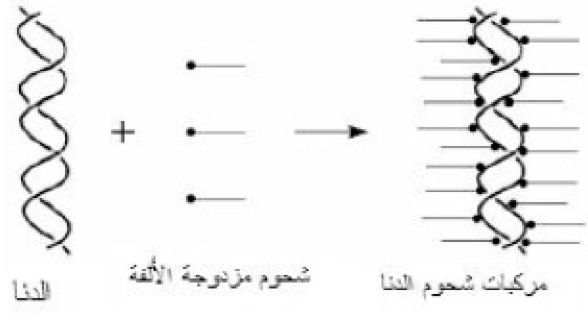
obeikandl.com

محددة (عوامل النمو، مضادات حيوية...إلخ) ممكن أن توصل هذه الجزيئات الإشارية إلى موقع الزرعة.تطبيق ثالث للحمض النووي منزوع الأكسجين ممكن أن يستخدم كمادة مناسبة لترسيب العظم.بما أن مجموعة الفوسفات تفضل ترسيب فوسفات الكالسيوم[٩٣،٩٤]، فإن المحتوى الكبير لمجموعة الفوسفات في الحمض النووي منزوع الأكسجين ممكن أن تفضل أيضاً ترسيب فوسفات الكالسيوم.

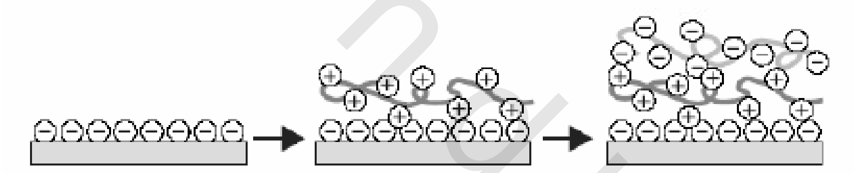
أخيراً، مركبات شحوم الحمض النووي منزوع الأكسجين، بالاعتماد على التركيب، ممكن أن تمارس نشاطات مضادة للجراثيم[٩٥]. بما أن الإصابات هي مشاكل شائعة مترابطة مع عمليات الزرع، فإن التلبيس الذي يمتلك نشاط مضاد للجراثيم ممكن أن يزيل حدوث الإصابات في الزرعة.

على أية حال، فإن استخدام الحمض النووي منزوع الأكسجين كتلبيس نانوي على سطح المادة يقتضي على ضرورة تطويق خواص محددة للحمض النووي منزوع الأكسجين، بما فيها انحلاله بالماء، وسهولة التفسخ بواسطة الجزيئات.ممكن للحمض النووي منزوع الأكسجين أن يتركب مع محب كل (مزدوج الألفة amphiphilic) الشحوم[٩٦،٩٧] (انظر للشكل رقم ٣.٧) أو متعدد الالكترونات المهبطي[٩٨] (كما في الشكل رقم ٣.٨).تكون البنى المتولدة بهذه العملية مستقرة خلال التفاعلات الإلكتروستاتيكية بين مجموعة الفوسفات سالبة الشحنة في الحمض النووي منزوع الأكسجين، والمجموعة موجبة الشحنة في الشحم مزدوج الألفة أو البوليمر. تطبيق تلبيس الحمض النووي منزوع الأكسجين في عمليات الزرع ممكن أن يقود بالنهاية إلى تلبيس متعدد الوظائف، والذي ممكن أن يطبق في عدة مواقع من الجسم، يحرض تفاعلات مناعية أصغريه، ويوصل مواد حيوية نشطة إلى السلوك الخلوي المعدل.

openkarabi.com



الشكل رقم (٣،٧). تشكل مركبات شحوم الحمض النووي منزوع الأكسجين. يمزج محلول مائي للحمض النووي منزوع الأكسجين والشحوم مزدوجة الألفة في نسبة مناسبة شوارد الفوسفات السالبة مع شوارد الشحم مزدوجة الألفة الموجبة. تشكل مركبات شحوم الحمض النووي منزوع الأكسجين مترافق مع ترسبها في المحلول (المزيج) المائي. بواسطة مراحل الغسيل المتتالية والتجفيف بالتجميد، ينتج مركبات شحوم الحمض النووي منزوع الأكسجين الجافة، والتي تذوب في المحاليل العضوية.



الشكل رقم (٣،٨).تشكل طبقات متعددة من تلبيس متعدد الالكترونات.متعدد الشوارد السالبة (مثال، الحمض النووي منزوع الأكسجين) والبوليمرات متعدد الشوارد الموجبة ممكن أن يستخدم لتوليد عدة طبقات بالاعتماد على التفاعلات إلالكتروستاتيكية بين الطبقات المتناوبة. تسمح هذه التقنية بتغير كبير في عدد الطبقات متعددة الإلكترونات، والتي تشكل تلبيس متعدد الطبقات، وأنواع من الإلكترونات المتعددة.

ج) تأثير المواد الحيوية مع بنى النانو على سلوك الخلية

Influence of Biomaterials with Nanostructures on Cell Behavior

يصف هذا الجزء تأثير المواد الحيوية ذات البنى متناهية الصغر (النانوية) على سلوك الخلية بالاعتماد على عدة أبحاث حديثة منشورة.بسبب التطور الحديث لبنى

النانو فإن الزرعات المعدلة بتقنية النانو لم يتم تطبيقها طبياً حتى الآن. قبل إمكانية التطبيق الطبي، فإنه يجب إجراء تجارب مخبرية وفي الكائن الحي؛ لتوضيح فوائد الزرعات المعدلة بتقنية النانو.

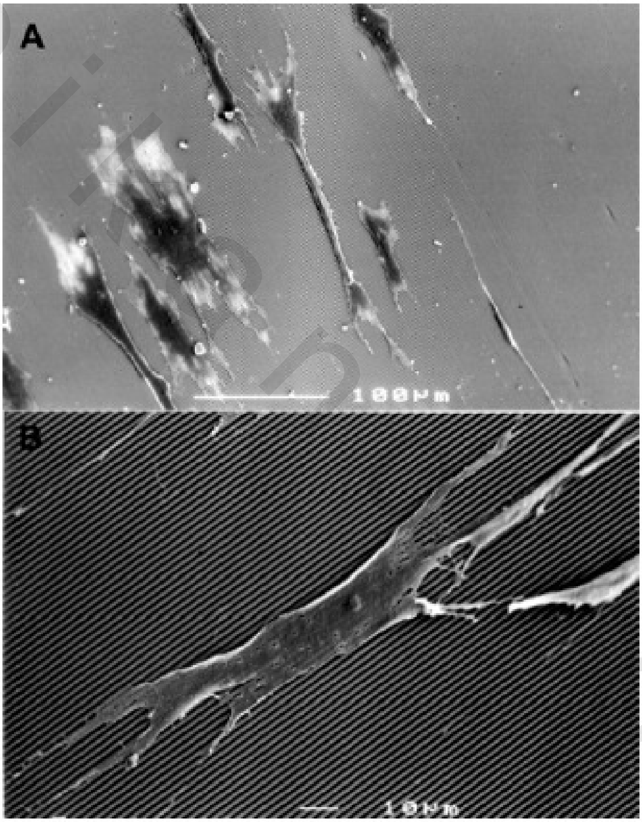
من وجهة نظرنا، تحتوي المواد الحيوية ذات البنى النانوية خواصاً تمتلك على الأقل بعداً واحداً (x, y, or z) في مجال أقل من الميكرون. على الرغم من صعوبة تصنيف طرق تقنيات النانو، فإننا حاولنا إحداث نظرة عامة عن سلوك الخلية بعلاقتها بالمواد الحيوية مع بنى النانو الطبوغرافية، والبروتينة- الببتيدية، والكالسيوم فوسفات.

١- بنى النانو الطبوغرافية Topographical Nanostructures

لقد أضحى طبوغرافيا سطوح المواد الحيوية الموضوع الأكثر تداولاً في علوم المواد الحيوية في العقد الأخير.من الممكن أن يكون طبوغرافيا السطح مهماً جداً مع مراعاة تكبير المنطقة.من الممكن أن يقدم تكبير مساحة السطح احتمال التئام الأنسجة (تلاحم ميكانيكي).لقد أثبتت المراجعات التاريخية الممتازة في هذا الموضوع[٥٦- ١٠١)،(٥٧)،(٩٩] أن هناك إجماع بالرأي على تأثير الطبوغرافيا على سلوك الخلية.في الدراسة الأولى التي استكشفت عن تأثير الطبوغرافيا على سلوك الخلية، حيث بينت هذه الدراسة بأن عصي طبوغرافيا بقياس المايكرو كانت تستخدم عادة.استخدم تنوع كبير من عصي الطبوغرافيا وهي: ثلم، نقرات، شروخ، حروف، أنفاق، خطوات، أمواج، آبار، أنابيب، عقد، أعمدة، مسامات، كرات، وأسطوانات.استخدم الباحثون أنواعاً مختلفة من الخلايا في الدراسات وذلك لفحص تأثير عصي الطبوغرافيا بقياس المايكرو على سلوك الخلايا المعزولة الأولية أو على خطوط الخلايا الأبدية بما فيها الأرومة الليفية، البلاعم، خلايا ظهارية، كريات بيض، خلايا عصبية، خلايا بطانية، والخلايا بانية العظم.

على الرغم من أن التفاعل يعتمد على نوع الخلية، تتفاعل الخلايا التي على تماس مع سطوح الطبوغرافيا بقياس المايكرو في مجال واسع من الطرق بما فيها الاتجاه والتمديد والحركة والتنشيط [فسفتة (إدخال زمرة فوسفات إلى الجزيء)، أكتين بلمرة،

مرسال حمض الريبونوكلييك (mRNA)، والنشاط البلعمي].تلاحظ الظاهرة التي تدعى دلالة الاتصال عندما تزرع الخلايا في ركيزة الثلم الميكروية (الشكل رقم ٣,٩)؛ تتراصف الخلايا على طول محور الثلم. التحكم على التراصف الخلوي (بما فيها تراصف تمدد الخلية) ممكن أن يكون معاملاً مهماً جداً في تنسيق الخلية المورفولوجي والجهة، وذلك من أجل توليد العصب، وأنسجة أخرى منسقة بشكل جيد.



الشكل رقم (٣,٩).ظاهرة التلامس الموجه لجلد أرومة ليفية للجرذ على ركيزة ثلم مايكروية (A) تراصف الخلايا نفسها على طول محور الثلم المايكروية (عرض الثلم = ١ مايكرومتر، عرض الشرخ = ١ ميكرومتر، وعمق الثلم = ١ ميكرومتر). (B) تكبير أعلى يوضح تمدد الخلية على طول محور الثلم الميكروية.

لسوء الحظ فإن التأثير الحيوي الدقيق للطبوغرافيا بقياس المايكرو مازال غير واضح – لعديد من مجموعات البحث حصلوا على نتائج متناقضة.وجدت مجموعة باركر (Parker et al.) [١٠٢] بأنه لايوجد تأثير مفضل لبنية السطح على تشكل الكبسولة حول الزرعة تحت الجلد، لكن في الدراسات في الكائن الحيوي التي أجراها باحثون آخرون بينت بأن الثلم في سطوح الزرعة أنتجت تأثيرات مفيدة على الأنسجة المحيطة بالزرعة[٩٩].في دراسات لاحقة، بينت طبوغرافيا الثلم بأنها تشجع ترتيب النسيج وبينت أيضاً انخفاض في تشكل كبسولات الألياف بالمقارنة مع سطوح الزرعة الملساء.

على الرغم من أن تقنية إنشاء عصي طبوغرافيّة على سطوح المواد الحيوية بأبعاد بقياس النانو هي إبداع، فإن هناك عدة دراسات بينت التأثير الملموس الذي ممكن أن تحدثه العصي على سلوك الخلية.التأثير على سلوك الخلية للثلم مع أبعاد بقياس النانو كانت موضوع اهتمام للعديد من الدراسات المخبرية[١٠٣- ١٠٦].بالنسبة لتأثير الثلم مع أبعاد بقياس النانو، فقد بينت الأبحاث بأن الخلايا تصبح موجهة وممددة على طول سطح الثلم.ثم إن نشاط الخلايا على الركائز المعدلة لطبوغرافيا النانو يزداد بالمقارنة مع نشاطها على ركائز التحكم الملساء.برهنت هذه بمعدل تكاثر أعلى وبانتشار معزز للأرومات الليفية[١٠٧]، وبازدياد النشاط البلعمي للبلاعم[١٠٦]، وبتنظيم ملحوظ لأسلوب الجين المتعلق بإشارة الخلية، والتكاثر، وبإنتاج هيكل الخلية وبروتينات مصفوفة خارج الخلية[١٠٨].

لقد تم توضيح بأنه للطبوغرافيا النانوية لسطح المادة الحيوية دور محدد من أجل نمو الأنسجة العصبية.التحكم بنمو محور العصب من أجسام خلية العصبونات (الموضعين الذين ينشأن من أجسام الخلية والاتجاهات) تم إنجازه في المختبر، وذلك باستخدام المواد الحيوية بثلم ذات أبعاد بقياس النانو[١٠٤].النتيجة العامة لهذه الدراسة

كانت بأن طبوغرافيا السطح للطبقة السفلى ذات قياس النانو ممكن أن تكون عاملَ تخليق فعالاً من أجل تطوير العصبونات، وتستطيع هذه الطبقة أن تساعد في تأسيس قطبية العصبون.

بالإضافة إلى البنية بقياس النانو، فقد تم تبيان تأثير الخشونة بقياس النانو على السلوك الخلوي باستخدام النسيج الطبيعي للنسخ المعكوسة للبوليمر فقد أظهرت العضلات الملساء للمثانة[١٠٩] والخلايا البطانية القلبية الوعائية[١١٠] معدل تكاثر أعلى وانتشار أسرع بكثير، وكذلك ظهور طبيعي أكثر.تبين أيضاً بأن سلالة الخلايا المولدة للعظم تتأثر بطبوغرافيا السطح بقياس النانو.في سلسلة من الدراسات باستخدام سيراميك بطور النانو[١١١- ١١٤]، فقد أظهرت الخلايا بانية العظام (تشكيل العظم) والخلايا ناقضة العظام (تحلل العظم) سلوكاً مختلفاً بالاعتماد على السيراميك بطور النانو.لقد ازداد التكاثر وترسيب الكالسيوم في الخلايا البانية للعظام.بشكل مماثل، فإن وظائف الخلايا الناقضة للعظام كانت قد تعززت بشكل كبير (بما فيها تشكل امتصاص النقرات).

٢- بنى نانو بروتينية و ببتيدية Protein and Peptide Nanostructures

بينما تفتقر السطوح الاصطناعية لإشارات خلايا محددة التي ممكن أن تتميز، فإن المواد الطبيعية المشتقة ممكن أن تمتلك إشارات عديدة مشمولة بتنوع كبير من العمليات الحيوية. بالنظر إلى هذه الخصائص، تعديل سطح المادة الحيوية بأبعاد بقياس النانو، فإن عناصر بروتينات مصفوفات الخلايا الخارجية التي تحدث بشكل طبيعي والتي تحتوي على مثل هذه الإشارات أصبحت وسيلة مشتركة. تسعى هذه الطرق النانوية لدمج الأنظمة الحية وغير الحية.لقد تم دراسة تأثير ثبات ببتيدات محددة متوالية بما فيها حمض أرجينين جليسين اسبارتيك (RGD) على سطوح المواد من أجل المواد

الحيوية المعدة للزرع في كل من الأنسجة الطرية والصلبة. بينت الدراسات المرجعية الممتازة المتعلقة بهذا الموضوع[١١٥،١١٦] التطبيقات الواعدة في المستقبل.

لقد تم إيضاح أن سطوح المواد الحيوية والمصفوفات الممنوحة بالببتيدات من أجل هندسة النسج لها تأثير كبير على السلوك الخلوي (الجدول رقم ٣,٣).لقد تم توضيح التأثير المفيد لمثل هذه السطوح لنوع الخلية بوظائف مختلفة والمتولدة أصلاً من كل من الأنسجة الرخوة والصلبة، وفيما يلي بعض الأمثلة، الأنسجة الرابطة (الأرومات الليفية fibroblasts)، أنسجة العضلات (أرومة عضلية وخلايا العضلات الملساء)، الأنسجة الوعائية (خلايا بطانية endothelial cells)، الأنسجة العصبية (خلايا عصبونية neuronal cells)، عظم (تشكل العظام osteoblasts)، و غضروف (خلايا غضروفية chondrocytes).

العامل البالغ الأهمية الذي يحدد قدرات الببتيدات لتعديل السلوك الخلوي هو التوزع المكاني.من أجل إثارة الإشارة الوظيفية داخل الخلايا، فإن المستقبلات التي على سطح الخلية يجب أن تتجمع.يمكن لهذا التجمع أن ينجز بزيادة كثافة الببتيد أو بالمرونة باستخدام المباعد.على أية حال، فإن المبالغة بزيادة كثافة الببتيدات على سطح المادة الحيوية ممكن أيضاً أن يؤثر بشكل كبير على حركة الخلية، والتي ممكن أن تكون مفيدة لتثبيت الخلايا البطانية من أجل التطعيم الوعائي، لكن غير مرغوب بها من أجل تطبيقات نمو الأنسجة في مصفوفة هندسة النسج.

الجدول رقم (٣,٣). تطبيقات تثبيت الببتيدات على المواد الحيوية.

الببتيد	مصدر جزيئات مصفوفات الخلايا الخارجية	التطبيق
حمض أرجينين جليسين اسبارتيك (RGD)	جزيئات مصفوفات الخلايا الخارجية المتعددة، مثال، بروتين لاصق للخلايا (fibronectin)، فيترونكتين (vitronectin)، لامينين (laminin)، كولاجين، وثرومبوسبونڈين (thrombospondin)	التحريض على تشكل أنسجة العظم والغضروف في المختبر وفي الأحياء (in vivo)؛ ينظم النمو المحوري في المختبر وفي الأحياء؛ يحرض على التصاق الأرومة العضلية، وعلى التكاثر، وعلى التمايز؛ يعزز على التصاق الخلية البطانية وعلى التكاثر.
IKVAV YIGSR RNIAEIIKDI	لامينين (Laminin)	ينظم النمو المحوري في المختبر وفي الأحياء
تشدف فيبرونكتين مأشوب (Recombinant fibronectin fragment)	فيبرونكتين (Fibronectin)	يشجع على تشكل التماس البؤري قبل تشكل العظام
Ac-GCRDGPQ-GIWGQDRCG	MMP ركيزة مشتركة، مثال، الكولاجين (collagen)، فيبرونكتين (fibronectin)، ولامينين (laminin)	يشجع وسيط الخلية على تحلل البروتين، إعادة التشكل، وإعادة تولد العظم في الأحياء

هناك العديد من الدراسات المخبرية، وفي الأحياء التي بحثت في تعديل ببتيد المواد الحيوية، وركزت في البدء على ببتيدات حمض أرجينين جليسين اسبارتيك (RGD).وفيما يلي دراسة شاملة لبعض هذه الدراسات من أجل الاستخدام مع كل من خلايا الأنسجة الرخوة والأنسجة الصلبة.

obeikandl.com

في الدراسات المخبرية، تقوم ببتيدات حمض أرجينين جليسين اسبارتيك (RGD) بالتحرض بشكل كبير على اتصال وتوزع الخلايا، مثال، الخلايا البطانية[١١٧] endothelial cells.وقد تم َشْرحٌ بأن معدل تكاثر الأرومة الليفية يزداد بشكل ملحوظ على مواد البوليمر المعدلة لحمض أرجينين جليسين اسبارتيك (RGD)[١١٨].بالإضافة لهذه الخصائص الخلوية، فإن هجرة الخلايا وانحلال مصفوفة الخلايا الخارجية (ECM) تبدوان بأنهما قابلتين للتحكم، وذلك باستخدام كثافة كافية، وتوزع مناسب لببتيدات حمض أرجينين جليسين اسبارتيك (RGD)[١١٩- ١٢٠]في محاولة لتحريض اتصال الخلايا البطانية بأوعية الدم الاصطناعية. فقد تم توظيف المواد البوليمرية بحقل ببتيدي مختار من أجل الخلايا البطانية (وليس من أجل أنواع أخرى من الخلايا مثل الأرومات الليفية، أوعية خلايا العضلات الملساء، والصفيحات)[١٢١].أثبتت الطبقات الأحادية البطانية المزروعة في هذه المواد البوليمرية الموظفة بأنها غير مخثرة مما ينتج عنه زيادة جلية لرقع الأوعية.

لقد تم أيضاً التوضيح في التجارب المخبرية بأن التأثير النافع لحمض أرجينين جليسين اسبارتيك (RGD) الثابت ممكن أن يمارس على خلايا ذات سلالة عظمية المنشأ. بالاعتماد على كثافة ونوع الببتيد المثبت على سطح المادة، ممكن أن تزداد بشكل ملحوظ الخلايا بانية العظام (osteoblast-like) الملتصقة، ومصفوفة الخلايا الخارجية التخليقية المتمعدنة[٧٢]،[١٢٣].

تم تقييم استجابة الخلايا للمعالجة الببتيدية بمادة البوليمر في الجسم الحي بعد ١٢ أسبوعاً من الزرع داخل الصفاق أو تحت الجلد[١٢٤].على الرغم من أن تحليل الدم لم يظهر أية استجابات ضارة، فإن التقييم الخلوي (هيستولوجي histological) بعد ١٢ أسبوعاً أظهر وجود كتل ليفية أثخن حول الزرعات المعالجة بحمض أرجينين جليسين

obeikandl.com

اسبارتيك (RGD) بالمقارنة مع مجموعة التحكم. وبشكل مغاير، فإن حمض أرجينين جليسين اسبارتيك (RGD) المطلي ببولي ميثايل متا أكريليت (poly methyl-methacrylate) المزروع في نموذج أرنب أوضح تحريض وتسارع في نمو العظم الأسفنجي بالمقارنة مع مجموعة التحكم غير المطلية[(١٢٥)]. إضافة إلى ذلك، فقد تم ملاحظة توضع العظم المتشكل حديثاً مباشرة باتجاه سطح الزرعة، بينما مجموعة التحكم غير المطلية كانت محاطة بطبقات من أنسجة الألياف التي تمنع الارتباط المباشر للعظم على سطح الزرعة.

٣- البنية النانوية للكالسيوم فوسفات Calcium Phosphate Nanostructures

في العديد من الدراسات تم وصف فعالية الزرعات المطلية بالكالسيوم فوسفات والمواد من أجل العظام. من الواضح أن التلبيس بالكالسيوم فوسفات يحسن الأداء الحيوي للطعم داخل العظم[(٦)،(١٢٦)،(١٢٧)].لقد أدى التوسع في تقنيات ترسيب فوسفات الكالسيوم لتشكيل التلبيس الذي يشبه نسيج العظم الأصلي ذي الأبعاد النانوية إلى عدد محدود من المنشورات العلمية لحد الآن.

استخدم الهيدروكسي أبيتايت ذو البلورات النانومترية القياس لتعديل صفائح الكولاجين المتوفرة تجارياً[(١٢٨)] استخدم تقنية زرع الأعضاء، والتي يستخدم فيها شظايا عظمية؛ لتأمين خلايا مولدة للعظم، أظهرت السقالة المركبة بأنها ملائمة لزراعة الخلايا المولدة للعظم. هاجرت الخلايا من شظايا العظم إلى السقالة المركبة ذات المسام وفي النهاية اكتسبت مظهراً متعدداً الأضلاع ثلاثياً الأبعاد. تم اقتراح أن الخلايا المولدة للعظم ثلاثية الأبعاد (معقد كولاجين- هيدروكسي أبيتايت النانوي) كمرشح واعد في هندسة النسيج العظمي.في دراسة لاحقة تم زرع معقد كولاجين- هيدروكسي أبيتايت النانوي كزرعات معقدة بدون خلايا عظمية (أو شظايا) في عظم فخذ

obeikandl.com

أرنب[١٢٩].بعد الزرع أعاد كل من تشكل العظم الجديد وتشقق الزرعة إلى الذاكرة عملية إعادة تشكيل العظم.ولكن، نقص ترتيب مكونات العظم في المركب (مقارنة بالعظم الطبيعي) أدى إلى تناقص في القوة الميكانيكية، والتي وصلت فقط إلى الحد الأدنى من تلك في العظم الطبيعي.

خامساً:الاعتبارات CONSIDERATIONS

بالرغم من أن المواد الحيوية المشكلة بالتقانة النانوية لديها تأثيرات محتملة على السلوك الخلوي، فإن عدد من الأمور يجب أن تؤخذ بعين الاعتبار.تشمل هذه الأمور تحديد الأسباب التي تؤدي إلى سلوك خلوي معين، وفيما إذا كانت العصي النانوية بنفس قوة الوحدات النانوية الطبيعية.

أ) عصي طبوغرافيّةِ مقابل عصي كيميائية Topographical versus Chemical Cues

بشكل مبدئي كل الطرق الموصوفة سابقاً يمكن تصنيفها في تقنيات أولاً تشكل بنى نانوية متسقة الاتجاهات، والتي لاتختلف كيميائياً عن الركيزة الداخلية، أو ثانياً تشكل بنى نانوية متباينة تستخدم أنماط من الجزيئات تختلف كيميائياً عن تلك في الركيزة الداخلية.

بالرغم من أن نمطي البنى النانوية يسمحان بتشكيل عصي نانوية على سطح المادة الحيوية، فإن السؤال، ما الذي يسبب سلوك الخلية المميز مبرر حيث إن التقنية الأولى تستخدم عصي طبوغرافية للسيطرة على سلوك الخلية، والأخرى تستخدم أيضاً عصي كيميائية. بالرغم من أن كيميائياً يعني تحليل الفروقات الطفيفة المحتملة في الصفات الكيميائية للبنى النانوية متسقة الاتجاهات، فإن سطوح المواد الحيوية المعدلة ليست متوفرة حتى الآن؟ يبدو أن العصي الطبوغرافية في المجال النانوي تؤثر على

سلوك الخلايا مباشرة.الدليل على ذلك أن تفاعلات الخلايا اتجاه طبوغرافيا مماثلة على سطوح مواد حيوية مختلفة كيميائياً متماثلة[١٣٠].

بالرغم من أننا لاحظنا أن ادمصاص البروتينات على سطوح المادة الحيوية مسؤول على التصاق الخلايا، وتفاعل الخلية التالي لسطوح المادة الحيوية، فإن خصائص ادمصاص البروتين مايزال هو المحدد لتركيب طبقة البروتينات.لذا، إذا كانت تفاعلات الخلايا اتجاه العصي الطبوغرافية متماثلة بغض النظر عن المادة الحيوية المستخدمة، فمن الممكن استنتاج أن الطبقة المدمصة من البروتين، والتي تركيبها محدد من قبل نمط المادة الحيوية[١٣١] لها تأثير طفيف على تفاعل الخلية مقارنة بتأثير طبوغرافية سطح المادة الحيوية.

دليل إضافي لهذا، التسلسل الهرمي للطبوغرافيا على العصي الكيميائية في التحكم بتفاعلات الخلايا خلصت من الدراسة التي يتنافس فيها الطبوغرافيا والكيمياء في التحكم بسمت (alignments) المحور[١٣٢].تحتوي سطوح المواد الحيوية المستخدمة في هذه التجربة على ثلم (grooves) أو نماذج بروتين أو كليهما معاً.تصنع النماذج إما متوازية أو متعامدة.الخلاصة المستنتجة بعد زرع خلايا عصبية في هذه الركيزة كانت بأن مثل عصي التوجيه المخلقة التفضيلية تعمل بشكل مؤازر.على أية حال، في الموقع حيث أن عمق الثلم يزيد عن ٥٠٠ نانومتر، تبدو العصي الطبوغرافيةِ بأنها أعلى في السلسلة الهرمية من تلك العصي الكيميائية.من المهم التأكيد بأن تفاعلات الخلايا للعصي متسقة الاتجاهات أو متباينة الأوضاع تعتمد على نوع الخلية.إضافة على ذلك، وجود العصي الكيميائية مترافق بشكل حتمي مع عصي طبوغرافيّةِ طفيفة متوازية حيث إن الطراز الكيميائي له سماكة محددة، والتي ممكن للخلايا أن تتفاعل أيضاً.

أظهر نموذج التجارب في الأحياء التي استخدم فيها زرعات التيتانيوم بأن الطبوغرافيا هي العامل الأساسي في نمذجة استجابات الخلية[١٣٣].استخدم كل من التلميع ، والخشونة ، والتلبيس بالهيدروكسي ابيتايت ، والتيتانيوم ، المطلي بغشاء رقيق من الهيدروكسي ابيتايت لزرعات التيتانيوم وذلك لتحديد المساهمة النسبية لطبوغرافيا السطح والكيمياء للتكامل العظمي (osseointegration) لزرعات الأنسجة الصلبة.باستخدام مقطع رقيق للتقييم الخلوي، ويليه مسح الفحص المجهري الالكتروني، أظهر المؤلفون بأنه على الرغم من أن التكامل العظمي كان أكبر بشكل ملحوظ في زرعات التيتانيوم المطلية بالهيدروكسي ابيتايت، ٨٠٪ من استجابة تشكل العظم الأعظمية كانت قد لوحظت على زرعات التيتانيوم المطلية بالهيدروكسي ابيتايت المغطاة بغشاء رقيق من التيتانيوم. وكان الاستنتاج بأن الطبوغرافيا هو عامل فوق السلسلة الهرمية مقارنة مع الكيميائي في مقاربة العظم (bone apposition).

ب) بنى نانو طبيعية مقابل بنى نانو اصطناعية Nanostructures Natural versus Synthetic

يهدف إنشاء بنى نانو على سطوح المواد الحيوية إلى تعزيز معدل نجاح الزرعة ، والذي يبقى طريقة تعديله بيد الإنسان.لذلك ، حتى طرق تقنية النانو لإنشاء سطوح مواد حيوية بالمحاكاة الحيوية ينتج عنه سطوح مغايرة بشكل كبير لتلك الموجودة في الطبيعة. السبب الرئيس هو نقص في التفاعلات الديناميكية الثنائية ، والاستجابات بين سطح المواد الحيوية وبين محيطها الحيوي.مثال على ذلك ، التفاعل الطبيعي لمستقبلات سطح الخلية مع الجزيئات الملتحمة الخاصة بها هو عملية ديناميكية التي تكون فيها المستقبلات والجزيئات الملتحمة بشكل مستمر مترابطة وغير مترابطة ، ينتج في إشارة داخل الخلية من خلال أحداث متتالية لحقول داخل الخلايا والمركبات الثانوية والشلالات (cascades)[١٣٤]،[١٣٥].

يعتبر تجمع مركبات المستقبل- الجزيء مهم من أجل عدة عمليات خلوية بما في ذلك الحركة الذاتية[١٣٦] كما يعتبر التوزع الحيزي لمركب المستقبل- الجزيء موضوعاً مهماً.بما أن مركبات مصفوفات الخلايا الخارجية المثبتة على سطوح المواد الحيوية لاتسمح بتغيرات حيزية في توزع الجزيء على ترابط الخلية، فإن تجمع المستقبل على سطوح الخلايا الملتصقة في سطح المادة الحيوية هو محدود للمواقع التي فيها كثافة الجزيء مناسبة بعد التثبيت.هدفت الدراسات التي أجراها كل من Massia و Hubbell[٧٥] إلى تفسير التوزع الأصغري لببتيدات حمض أرجينين جليسين اسبارتيك المطلوبة من أجل التفاعلات مع مستقبل $\alpha_v\beta_3$-integrin ، والتي بينت أنه من أجل الأرومة الليفية لقلفة (foreskin جلدة الذكر التي تقطع في الختان) الإنسان فإنه يتطلب فراغ ٤٤٠ نانومتر ببتيد لببتيد (حمض أرجينين جليسين اسبارتيك) من أجل الانتشار الخلوي، بينما يتطلب تشكل الاتصال البؤري، وترتيب إجهاد الليف إلى فراغ حمض أرجينين جليسين اسبارتيك أقل بثلاثة أضعاف تقريباً.

سادساً:الخاتمة

يتطلب توليد الزرعات التي سوف تنجح في أدائها الوظيفي المراد منها طرق متعددة الصرامة، والتي تتضمن فهم للعمليات المتشعبة.لهذا السبب، أوصت مشاركة الباحثين إلى تطوير زرعات آمنة وموثوقة طبياً.عندما تتلاقى معظم خواص المواد الحيوية مع المعايير المطلوبة من أجل وظيفة محددة مطلوبة، تصبح خواص السطح مهمة من أجل تقليل الاستجابات المحتملة غير المرغوب بها من الوسط الحيوي المحيط.بهذه النظرة، نأمل بأن تقدم تقنية النانو طريقة هامة، والتي فيها يمكن تعديل سطح المادة الحيوية من أجل تقليل استجابات المضيف الشائعة مقابل المادة الحيوية.

obeikandl.com

ممكن لتقنية النانو أن تؤمن استراتيجيات التي ممكن أن تساعد في إنشاء ميزات على سطوح المادة الحيوية بمجال قياس ممكن أن يكون كافياً للخلايا.في موطنه الطبيعي، تحاط الخلية بخلايا أخرى وببروتينات مصفوفة الخلايا الخارجية، والتي تؤمن مجال مختلف من الإشارات (من خلال اتصال خلية- خلية أو اتصال خلية- مصفوفة الخلايا الخارجية) التي تؤثر على السلوك الخلوي.ترسل معظم هذه الإشارات عبر تفاعلات المستقبل- الجزيء، وتقع أبعادها في مجال النانومتر.لذلك استخدمت عدة طرق لتعديل سطوح المادة الحيوية بميزات قياس النانو، وذلك؛ لدراسة تأثيرها على استجابات الأنسجة في الأماكن القريبة من الزرعة.هناك عدة طرق لتعديل سطح المادة والتي تتضمن طبوغرافيا بقياس النانو، وتعديلات كيميائية عند سطح المادة الحيوية.ممكن أن يؤدي اجتماع الطرق (مثال: استخدام كل من طبوغرافيا النانو والببتيد الوظيفي) إلى تقديم طاقة إضافية على السلوك الخلوي.

بالرغم من أن الأبحاث في هذا المجال مازالت حديثة، فقد أشارت عدة دراسات منشورة إلى التأثيرات المفيدة لتعديل السطوح بتقنية النانو التي ممكن أن تحدثها على علم الزرع[١٣٨].بسبب عدم معرفة العديد من مظاهر الاستجابات الخلوية على المواد، فإن التوسع في فهم تقنية النانو والاستجابات الحيوية لميزات قياس النانو سوف ينتج في النهاية تصاميم طبية قابلة للتطبيق لسطوح المادة الحيوية، والتي سوف تكون قادرة على ضبط الوظيفة المطلوبة من الزرعة.

التقنيات الموصوفة في هذا الفصل محدودة للتجارب والمختبرات. ينتظر الاستخدام الطبي للزرعات المعدلة بتقنية النانو، والتعويضات الإثبات غير الملتبس للتأثير المفيد للتطبيقات الطبية.على أية حال، التحسينات في استغلال التقنيات المتوفرة حالياً والمستقبلية مجتمعة مع فهم أفضل لتأثير ميزات قياس النانو على الخلايا، وعلى

obeikandl.com

الأنسجة المحيطة بالزرعات، وعلى الطرق متعددة الصرامة في علم الزرع سوف تعبد الطريق إلى استخدام بنى النانو في تصميم الزرعات والتعويضات.

المراجع

1. Anderson, J.M. et al. Implants and devices, in Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen,F.J., and Lemons, J.E., Eds., Biomaterials Science: Introduction to Materials in Medicine. Academic Press, London, 1996.
2. Ratner, B.D. Replacing and renewing: synthetic materials, biomimetics, and tissue engineering in implant dentistry. J Dent Educ 65, 1340–1347, 2001.
3. Crubezy, E., Murail, P., Girard, L., and Bernadou, J.P. False teeth of the Roman world. Nature 391, 29, 1998.
4. Cooke, F.W. Bulk properties of materials, in Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., and Lemons, J.E., Eds., Biomaterials Science: Introduction to Materials in Medicine. Academic Press, London, 1996.
5. Black, J. Biological Performance of Materials: Fundamentals of Biocompatibility. Marcel Dekker, New York, 1992.
6. Lacefield, W.R. Materials characteristics of uncoated/ceramic-coated implant materials. Adv Dent Res 13, 21–26, 1999.
7. Schakenraad, J.M. Cells: their surfaces and interactions with materials, in Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., and Lemons, J.E., Eds., Biomaterials Sciences:Introduction to Materials in Medicine. Academic Press, London, 1996.
8. Cordero, J., Munuera, L., and Folgueira, M.D. The influence of the chemical composition and surface of the implant on infection. Injury 27, Suppl. 3, SC34–SC37, 1996.
9. Bauer, T.W. and Schils, J. The pathology of total joint arthroplasty. II. Mechanisms of implant failure. Skeletal Radiol 28, 483–497, 1999.
10. Allara, D.L. Critical issues in applications of self-assembled monolayers. Biosensors Bioelectron 10, 771–783, 1995.
11. Williams, D.F. and Williams, R.L. Degradative effects of the biological environment on metals and ceramics, in Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., and Lemons, J.E., Eds., Biomaterials Science: Introduction to Materials in Medicine. Academic Press, London, 1996.
12. Liu, W., Cao, Y., and Longaker, M.T. Gene therapy of scarring: a lesson learned from fetal scarless wound healing. Yonsei Med J 42, 634–645, 2001.
13. Webb, J.C.J. and Tricker, J. Bone biology: a review of fracture healing. Curr Orthop14, 457–463, 2000.
14. Glowacki, J. Angiogenesis in fracture repair. Clin Orthop 355 (Suppl) S82–S89, 1998.

obeikandi.com

15. Harding, K.G., Morris, H.L., and Patel, G.K. Science, medicine and the future: healing chronic wounds. Br Med J 324, 160–163, 2002.
16. Singer, A.J. and Clark, R.A. Cutaneous wound healing. New Engl J Med 341,738–746, 1999.
17. Bello, Y.M. and Phillips, T.J. Recent advances in wound healing. JAMA 283, 716–718, 2000.
18. Clark, R.A. Fibrin and wound healing. Ann NY Acad Sci 936, 355–367, 2001.
19. Hart, J. Inflammation. 1: Its role in the healing of acute wounds. J Wound Care 11, 205–209, 2002.
20. Hart, J. Inflammation. 2: Its role in the healing of chronic wounds. J Wound Care 11, 245–249, 2002.
21. Hollinger, J. and Wong, M.E. The integrated processes of hard tissue regeneration with special emphasis on fracture healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 82, 594–606, 1996.
22. Wong, M.E., Hollinger, J.O., and Pinero, G.J. Integrated processes responsible for soft tissue healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 82, 475–492, 1996.
23. Werner, S. and Grose, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. Physiol Rev 83, 835–870, 2003.
24. Gerstenfeld, L.C., Cullinane, D.M., Barnes, G.L., Graves, D.T., and Einhorn, T.A. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. J Cell Biochem 88, 873–884, 2003.
25. Baj-Krzyworzeka, M. et al. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. Exp Hematol 30, 450–459, 2002.
26. Mackay, C.R. Chemokines: immunology's high impact factors. Nat Immunol 2, 95–101, 2001.
27. Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M., and Capra, J. Immunobiology: the immune system in health and disease. Elsevier Science Ltd. (Garland Publishing), 1999.
28. Einhorn, T.A. The cell and molecular biology of fracture healing. Clin Orthop S7–S21, 1998.
29. Mutsaers, S.E., Bishop, J.E., McGrouther, G., and Laurent, G.J. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. Int J Biochem Cell Biol 29, 5–17, 1997.
30. Visse, R. and Nagase, H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. Circ Res 92, 827–839, 2003.
31. Chamay, A. and Tschantz, P. Mechanical influences in bone remodeling: experimental research on Wolff's law. J Biomech 5, 173–180, 1972.
32. Thomsen, P. and Gretzer, C. Macrophage interactions with modified material surfaces. Curr Opin Sol State Mater Sci 5, 163–176, 2001.

33. Vogler, E.A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. Adv Colloid Interface Sci 74, 69–117, 1998.
34. Hallab, N.J., Bundy, K.J., O'Connor, K., Moses, R.L., and Jacobs, J.J. Evaluation of metallic and polymeric biomaterial surface energy and surface roughness characteristics for directed cell adhesion. Tissue Eng 7, 55–71, 2001.
35. Walboomers, X.F., Croes, H.J., Ginsel, L.A., and Jansen, J.A. Contact guidance of rat fibroblasts on various implant materials. J Biomed Mater Res 47, 204–212, 1999.
36. Jansen, J.A., van der Waerden, J.P., and de Groot, K. Effect of surface treatments on attachment and growth of epithelial cells. Biomaterials 10, 604–608, 1989.
37. Horbett, T.A. and Schay, M.B. Correlations between mouse 3T3 cell spreading and serum fibronectin adsorption on glass and hydroxylethyl-methacrylate–ethylmethacrylate copolymers. J Biomed Mater Res 22, 763–793, 1988.
38a. Kasemo, B. and Gold, J. Implant surfaces and interface processes. Adv Dent Res 13, 8–20, 1999.
38b. Hanarp, P., Sutherland, D., Gold, J., and Kasemo, B. Nanostructured model biomaterial surfaces prepared by colloidal lithography. Nanostructured Mater. 12(1–4), 429–432, 1999.
39. Horbett, T.A. The role of adsorbed adhesion proteins in cellular recognition of biomaterials. BMES Bull 23, 5–9, 1999.
40. Horbett, T.A. and Klumb, L.A. Cell culturing: surface aspects and considerations, in Brash, W.P., Ed., Interfacial Phenomena and Bioproducts. Marcel Dekker, New York, 1996.
41. Steele, J.G., Dalton, B.A., Johnson, G., and Underwood, P.A. Adsorption of fibronectin and vitronectin onto Primaria and tissue culture polystyrene and relationship to the mechanism of initial attachment of human vein endothelial cells and BHK-21 fibroblasts. Biomaterials 16, 1057–1067, 1995.
42. Steele, J.G. et al. Roles of serum vitronectin and fibronectin in initial attachment of human vein endothelial cells and dermal fibroblasts on oxygen- and nitrogen-containing surfaces made by radiofrequency plasmas. J Biomater Sci Polym Ed 6, 511–532, 1994.
43. Ratner, B.D. Reducing capsular thickness and enhancing angiogenesis around implant drug release systems. J Control Release 78, 211–218, 2002.
44. Seare, W.J., Jr. Alloplasts and biointegration. J Endourol 14, 9–17, 2000.
45. Ducheyne, P. et al. Effect of hydroxyapatite impregnation on skeletal bonding of porous coated implants. J Biomed Mater Res 14, 225–237, 1980.
46. Geesink, R.G., de Groot, K., and Klein, C.P. Bonding of bone to apatite-coated implants. J Bone Joint Surg Br 70, 17–22, 1988.
47. Anderson, J. M. Biological responses to materials. Annu Rev Mater Res 31, 81–110, 2001.

obeikandi.com

48. van Diest, P.J., Beekman, W.H., and Hage, J.J. Pathology of silicone leakage from breast implants. J Clin Pathol 51, 493–497, 1998.
49. Anderson, J.M. Multinucleated giant cells. Curr Opin Hematol 7, 40–47, 2000.
50. Zhao, Q. et al. Foreign body giant cells and polyurethane biostability: in vivo correlation of cell adhesion and surface cracking. J Biomed Mater Res 25, 177–183, 1991.
51. Whitesides, G.M. and Love, J.C. Nanofabrication: the art of building small. Sci Am 39–47, September 2001.
52. Sorribas, H., Padeste, C., and Tiefenauer, L. Photolithographic generation of protein micropatterns for neuron culture applications. Biomaterials 23, 893–900, 2002.
53. Kane, R.S., Takayama, S., Ostuni, E., Ingber, D.E., and Whitesides, G.M. Patterning proteins and cells using soft lithography. Biomaterials 20, 2362–2376, 1999.
54. Wilkinson, J.M. Nanotechnology: applications in medicine. Med Dev Tech 29–31, June 2003.
55. ten Wolde, A. Nanotechnology: Toward a Molecular Construction Kit. Netherlands Study Centre for Technology Trends, The Hague, 1998.
56. Curtis, A. and Wilkinson, C. Topographical control of cells. Biomaterials 18, 1573–1583, 1997.
57. Ito, Y. Surface micropatterning to regulate cell functions. Biomaterials 20, 2333–2342, 1999.
58. Desai, T.A. Micro- and nano-scale structures for tissue engineering constructs. Med Eng Phys 22, 595–606, 2000.
59. Walboomers, X.F. Engineered Implant Surfaces: Modification of Cell and Tissue Response by Microgrooves. University of Nijmegen, Netherlands, 2000.
60. Prokop, A. Bioartificial organs in the 21st century: nanobiological devices. Ann NY Acad Sci 944, 472–490, 2001.
61. Yoshinari, M., Matsuzaka, K., Inoue, T., Oda, Y., and Shimono, M. Effects of multigrooved surfaces on fibroblast behavior. J Biomed Mater Res 65A, 359–368, 2003.
62. von Recum, A.F., Shannon, C.E., Cannon, E.C., Long, K.J., van Kooten, T.G., and Meyle, J. Surface roughness, porosity, and texture as modifiers of cellular adhesion. Tissue Eng 2, 241–253, 1996.
63. Zhang, S. Emerging biological materials through molecular self-assembly. Biotechnol Adv 20, 321–339, 2002.
64. Whitesides, G.M., Mathias, J.P., and Seto, C.T. Molecular self-assembly and nanochemistry: a chemical strategy for the synthesis of nanostructures. Science 254, 1312–1319, 1991.
65. Mrksich, M., Dike, L.E., Tien, J., Ingber, D.E., and Whitesides, G.M. Using microcontact printing to pattern the attachment of mammalian cells to self-assembled monolayers of alkanethiolates on transparent films of gold and silver. Exp Cell Res 235, 305–313, 1997.

openkanal.com

66. Pierschbacher, M.D. and Ruoslahti, E. Cell attachment activity of fibronectin can be duplicated by small synthetic fragments of the molecule. Nature 309, 30–33, 1984.
67. Hynes, R.O. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. Cell 69, 11–25, 1992.
68. Danen, E.H. and Sonnenberg, A. Integrins in regulation of tissue development and function. J Pathol 200, 471–480, 2003.
69. Kim, B.S. and Mooney, D.J. Development of biocompatible synthetic extracellular matrices for tissue engineering. Trends Biotechnol 16, 224–230, 1998.
70. Sakakura, S., Saito, S., and Morikawa, H. Stimulation of DNA synthesis in trophoblasts and human umbilical vein endothelial cells by hepatocyte growth factor bound to extracellular matrix. Placenta 20, 683–693, 1999.
71. Barber, T.A., Golledge, S.L., Castner, D.G., and Healy, K.E. Peptide-modified pAAmco-EG/AAc IPNs grafted to bulk titanium modulate osteoblast behavior in vitro. J Biomed Mater Res 64, 38–47, 2003.
72. Rezania, A. and Healy, K.E. Biomimetic peptide surfaces that regulate adhesion, spreading, cytoskeletal organization, and mineralization of the matrix deposited by osteoblast-like cells. Biotechnol Prog 15, 19–32, 1999.
73. Hubbell, J.A. Bioactive biomaterials. Curr Opin Biotechnol 10, 123–129, 1999.
74. Hubbell, J.A. Biomaterials in tissue engineering. Biotechnology 13, 565–576, 1995.
75. Massia, S.P. and Hubbell, J.A. An RGD spacing of 440 nm is sufficient for integrin alpha V beta 3-mediated fibroblast spreading and 140 nm for focal contact and stress fiber formation. J Cell Biol 114, 1089–1100, 1991.
76. Healy, K.E., Rezania, A., and Stile, R.A. Designing biomaterials to direct biological responses. Ann NY Acad Sci 875, 24–35, 1999.
77. Hill, I.R., Garnett, M.C., Bignotti, F., and Davis, S.S. Determination of protection from serum nuclease activity by DNA–polyelectrolyte complexes using an electrophoretic method. Anal Biochem 291, 62–68, 2001.
78. Reyes, C.D. and Garcia, A.J. Engineering integrin-specific surfaces with a triplehelical collagen mimetic peptide. J Biomed Mater Res 65A, 511–523, 2003.
79. Cutler, S.M. and Garcia, A.J. Engineering cell adhesive surfaces that direct integrin alpha 5–beta 1 binding using a recombinant fragment of fibronectin. Biomaterials 24, 1759–1770, 2003.
80. Garcia, A.J. and Keselowsky, B.G. Biomimetic surfaces for control of cell adhesion to facilitate bone formation. Crit Rev Eukaryot Gene Expr 12, 151–162, 2002.
81. Barrere, F. et al. In vitro and in vivo degradation of biomimetic octacalcium phosphate and carbonate apatite coatings on titanium implants. J Biomed Mater Res 64A, 378–387, 2003.

82. Jansen, J.A., Wolke, J.G., Swann, S., Van der Waerden, J.P., and de Groot, K. Application of magnetron sputtering for producing ceramic coatings on implant materials. Clin Oral Implants Res 4, 28–34, 1993.
83. Wolke, J.G., van Dijk, K., Schaeken, H.G., de Groot, K., and Jansen, J.A. Study of the surface characteristics of magnetron-sputter calcium phosphate coatings. J Biomed Mater Res 28, 1477–1484, 1994.
84. Rivero, D.P., Fox, J., Skipor, A.K., Urban, R.M., and Galante, J.O. Calcium phosphate-coated porous titanium implants for enhanced skeletal fixation. J Biomed Mater Res 22, 191–201, 1988.
85. Leeuwenburgh, S., Wolke, J., Schoonman, J., and Jansen, J. Electrostatic spray deposition ESD of calcium phosphate coatings. J Biomed Mater Res 66A, 330–334, 2003.
86. McMichael, A.J. Antigens and MHC systems, in McGee, J.O.D., Isaacson, P.G., and Wright, N.A., Eds. Oxford Textbook of Pathology. Oxford University Press, Oxford, 1992.
87. Yamamoto, S. et al. DNA from bacteria, but not from vertebrates, induces interferons, activates natural killer cells and inhibits tumor growth. Microbiol Immunol 36, 983–997 1992.
88. Krieg, A.M. Immune effects and mechanisms of action of CpG motifs. Vaccine 19, 618–622, 2000.
89. Krieg, A.M. et al. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. Nature 374, 546–549, 1995.
90. Werner, M.H., Gronenborn, A.M., and Clore, G.M. Intercalation, DNA kinking, and the control of transcription. Science 271, 778–784 1996.
91. Wilson, W.D. Reversible interactions of nucleic acids with small molecules, in Blackburn, G.M. and Gait, M.J., Eds. Nucleic Acids in Chemistry and Biology. Oxford University Press, Oxford, 1996.
92. Goldman, A. and Glumoff, T. Interaction of proteins with nucleic acids, in Blackburn, G.M. and Gait, M.J., Eds. Nucleic Acids in Chemistry and Biology. Oxford University Press, Oxford, 1996.
93. Kamei, S., Tomita, N., Tamai, S., Kato, K., and Ikada, Y. Histologic and mechanical evaluation for bone bonding of polymer surfaces grafted with a phosphate-containing polymer. J Biomed Mater Res 37, 384–393, 1997.
94. Tretinnikov, O.N., Kato, K., and Ikada, Y. In vitro hydroxyapatite deposition onto a film surface-grated with organophosphate polymer. J Biomed Mater Res 28, 1365–1373, 1994.
95. Inoue, Y. et al. Antibacterial characteristics of newly developed amphiphilic lipids and DNA-lipid complexes against bacteria. J Biomed Mater Res 65A, 203–208, 2003.
96. Tanaka, K. and Okahata, Y. A DNA-lipid complex in organic media and formation of an aligned cast film. J Am Chem Soc 118, 10679–10683, 1996.
97. Okahata, Y. and Tanaka, K. Oriented thin films of a DNA–lipid complex. Thin Solid Films 284–285, 6–8, 1996.

98. Decher, G. Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites. Science 277, 1232–1237, 1997.
99. Brunette, D.M. and Chehroudi, B. The effects of the surface topography of micromachined titanium substrata on cell behavior in vitro and in vivo. J Biomech Eng 121, 49–57, 1999.
100. Singhvi, R. et al. Engineering cell shape and function. Science 264, 696–698, 1994.
101. Walboomers, X.F. and Jansen, J.A. Cell and tissue behavior on micro-grooved surfaces. Odontology 89, 2–11, 2001.
102. Parker, J.A., Walboomers, X.F., Von den Hoff, J.W., Maltha, J.C., and Jansen, J.A. Soft-tissue response to silicone and poly-L-lactic acid implants with a periodic or random surface micropattern. J Biomed Mater Res 61, 91–98, 2002.
103. den Braber, E.T., de Ruijter, J.E., Ginsel, L.A., von Recum, A.F., and Jansen, J.A. Quantitative analysis of fibroblast morphology on microgrooved surfaces with various groove and ridge dimensions. Biomaterials 17, 2037–2044, 1996.
104. Rajnicek, A., Britland, S., and McCaig, C. Contact guidance of CNS neurites on grooved quartz: influence of groove dimensions, neuronal age and cell type. J Cell Sci 110, Pt. 23, 2905–2913, 1997.
105. Clark, P., Connolly, P., Curtis, A.S., Dow, J.A., and Wilkinson, C.D. Cell guidance by ultrafine topography in vitro. J Cell Sci 99, Pt. 1, 73–77, 1991.
106. Wojciak-Stothard, B., Curtis, A., Monaghan, W., MacDonald, K., and Wilkinson, C. Guidance and activation of murine macrophages by nanometric scale topography. Exp Cell Res 223, 426–435, 1996.
107. Dalby, M.J., Riehle, M.O., Johnstone, H.J., Affrossman, S., and Curtis, A.S. Polymerdemixed nanotopography: control of fibroblast spreading and proliferation. Tissue Eng 8, 1099–1108, 2002.
108. Dalby, M.J. et al. Increasing fibroblast response to materials using nanotopography: morphological and genetic measurements of cell response to 13-nm-high polymer demixed islands. Exp Cell Res 276, 1–9, 2002.
109. Thapa, A., Miller, D.C., Webster, T.J., and Haberstroh, K.M. Nano-structured polymers enhance bladder smooth muscle cell function. Biomaterials 24, 2915–2926, 2003.
110. Goodman, S.L., Sims, P.A., and Albrecht, R.M. Three-dimensional extracellular matrix textured biomaterials. Biomaterials 17, 2087–2095, 1996.
111. Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H., Siegel, R.W., and Bizios, R. Enhanced osteoclast-like cell functions on nanophase ceramics. Biomaterials 22, 1327–1333, 2001.
112. Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H., Siegel, R.W., and Bizios, R. Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics. Biomaterials 21, 1803–1810, 2000.

obeikandl.com

113. Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H., Siegel, R.W., and Bizios, R. Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics. J Biomed Mater Res 51, 475–483, 2000.
114. Webster, T.J., Siegel, R.W., and Bizios, R. Osteoblast adhesion on nanophase ceramics. Biomaterials 20, 1221–1227, 1999.
115. Hersel, U., Dahmen, C., and Kessler, H. RGD-modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. Biomaterials 24, 4385–4415, 2003.
116. LeBaron, R.G. and Athanasiou, K.A. Extracellular matrix cell adhesion peptides: functional applications in orthopedic materials. Tissue Eng 6, 85–103, 2000.
117. Porte-Durrieu, M.C. et al. Development of RGD peptides grafted onto silica surfaces: XPS characterization and human endothelial cell interactions. J Biomed Mater Res 46, 368–375, 1999.
118. Davis, D.H., Giannoulis, C.S., Johnson, R.W., and Desai, T.A. Immobilization of RGD to <111> silicon surfaces for enhanced cell adhesion and proliferation. Biomaterials 23, 4019–4027, 2002.
119. Maheshwari, G., Brown, G., Lauffenburger, D.A., Wells, A., and Griffith, L.G. Cell adhesion and motility depend on nanoscale RGD clustering. J Cell Sci 113, Pt. 10, 1677–1686, 2000.
120. Mann, B.K. and West, J.L. Cell adhesion peptides alter smooth muscle cell adhesion, proliferation, migration, and matrix protein synthesis on modified surfaces and in polymer scaffolds. J Biomed Mater Res 60, 86–93, 2002.
121. Hubbell, J.A., Massia, S.P., Desai, N.P., and Drumheller, P.D. Endothelial cell-selective materials for tissue engineering in the vascular graft via a new receptor. Biotechnology 9, 568–572, 1991.
122. Massia, S.P. and Hubbell, J.A. Tissue engineering in the vascular graft. Cytotechnology 10, 189–204, 1992.
123. Rezania, A. and Healy, K.E. The effect of peptide surface density on mineralization of a matrix deposited by osteogenic cells. J Biomed Mater Res 52, 595–600, 2000.
124. Johnson, R. et al. Fibrous capsule formation in response to ultrahigh molecular weight polyethylene treated with peptides that influence adhesion. Biomed Sci Instrum 34, 47–52, 1997.
125. Kantlehner, M. et al. Surface coating with cyclic RGD peptides stimulates osteoblast adhesion and proliferation as well as bone formation. Chem Biochem 1, 107–114, 2000.
126. Dorozhkin, S.V. and Epple, M. Biological and medical significance of calcium phosphates. Angew Chem Int Ed 41, 3130–3146, 2002.
127. Kokubo, T., Kim, H.M., and Kawashita, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. Biomaterials 24, 2161–2175, 2003.
128. Du, C., Cui, F.Z., Zhu, X.D., and de Groot, K. Three-dimensional nano-HAp/collagen matrix loading with osteogenic cells in organ culture. J Biomed Mater Res 44, 407–415, 1999.

129. Du, C., Cui, F.Z., Feng, Q.L., Zhu, X.D., and de Groot, K. Tissue response to nanohydroxyapatite/collagen composite implants in marrow cavity. J Biomed Mater Res 42, 540–548, 1998.
130. Curtis, A. and Wilkinson, C. Nantotechniques and approaches in biotechnology. Trends Biotechnol 19, 97–101, 2001.
131. Hlady, V. V. and Buijs, J. Protein adsorption on solid surfaces. Curr Opin Biotechnol 7, 72–77, 1996.
132. Britland, S. et al. Morphogenetic guidance cues can interact synergistically and hierarchically in steering nerve cell growth. Exp Biol Online 1, 2, 1996.
133. Hacking, S.A., Tanzer, M., Harvey, E.J., Krygier, J.J., and Bobyn, J.D. Relative contributions of chemistry and topography to the osseointegration of hydroxyapatite coatings. Clin Orthop 133, 24–38, 2002.
134. Zamir, E. and Geiger, B. Molecular complexity and dynamics of cell-matrix adhesions. J Cell Sci 114, 3583–3590, 2001.
135. Fernandez, C., Clark, K., Burrows, L., Schofield, N.R., and Humphries, M.J. Regulation of the extracellular ligand binding activity of integrins. Front Biosci 3, D684–D700, 1998.
136. Maheshwari, G., Brown, G., Lauffenburger, D.A., Wells, A., and Griffith, L.G. Cell adhesion and motility depend on nanoscale RGD clustering. J Cell Sci 113, Pt. 10, 1677–1686, 2000.
137. Boontheekul, T. and Mooney, D.J. Protein-based signaling systems in tissue engineering. Curr Opin Biotechnol 14, 559–565, 2003.
138. Castner, D.G. and Ratner, B.D. Biomedical surface science: foundations to frontiers. Surf Sci 500, 28–60, 2002.

obeikandl.com