استفاده از هیدروژل ها در مهندسی بافت استخوان

چکیده:

نمونه های مختلف بسیار زیادی از مواد داربست برای کاربردهای مهندسی بافت مورد استفاده قرار گرفته اندو هیدروژل ها یک گروه از موادی را که در زمینه های مختلفی به کار می روند را شکل می دهند. هیدروژل ها شبکه های پلیمری اب دوست می باشند و یک دسته ی مهم زیست ماده ها را در زیست فناوری نشان می دهند زیرا بسیاری از هیدروژل ها، زیست سازگاری بسیار مناسبی با واکنش های التهابی حداقلی و اسیب بافت از خود نشان می دهند. مطالعات زیادی استفاده از هیدروژل ها را در کاربردهای مهندسی بافت استخوان ذکر کرده اند. در این گزارش، خلاصه ای از نمونه های مختلف پلیمرها و روش های مختلف اصلاح هیدروژل ها برای بهبود شکل گیری ان ها ارائه شده است.

نتایج حاکی از این موضوع هستند که هیدروژل ها برای بازتولید استخوان به کار می روند و اصلاح هیدروژل ها با ملکول های زیست فعال یا رویکردهای سلول گرا منجر به افزایش قابل توجه در شکل گیری استخوان جدید می شود. این موضوع حاکی از این مسئله است که استفاده از هیدروژل ها با اصلاح ممکن است گزینه ای را برای مهندسی بافت استخوان ارائه کند و در عین حال،پژوهش بیشتری برای شناسایی خصوصیات زیستی و فیزیکی نیاز است.

کلمات کلیدی: هیدروژل،پلیمر،استخوان،عامل رشد،سلول.

مقدمه:

نمونه های گوناگون زیادی از مواد داربست برای کاربردهای مهندسی بافت مورد استفاده قرار گرفته اند و هیدروژل ها تشکیل دهنده ی یک گروه از موادی هستند که استفاده های گسترده ای دارند (۱). یک ژل به صورت یک شبکه ی سه بعدی تعریف می شود که توسط یک حلال متورم شده است و هیدروژل ها شبکه های پلیمری اب دوستی

هستند که می توانند از ۱۰ تا ۲۰ درصد و تا صدها برابر بیشتر وزن خشک خود را در اب جذب کنند و این ویژگی به سلول ها اجازه می دهد تا به هیدروژل ها بچسبند،تکثیر شوند و متمایز گردند (۲).

هیدروژل ها دسته مهمی از زیست ماده ها در زیست فناوری و دارو می باشند زیرا بسیاری از انها زیست سازگاری بسیار مطلوبی با واکنش های التهابی حداقلی و اسیب بافت دارند و در نتیجه، مطالعات زیادی در مورد کاربردهای مهندسی بافت استخوان در این زمینه انجام گرفته است (۳-۶). در این گزارش، خلاصه ای از نمونه های مختلف پلیمرها و روش های مختلف صلاح هیدروژل ها در برنامه های بازتولید استخوان ارائه شده است.

مواد و روش ها

پژوهش مدلین (پاب مد)در این زمینه انجام شد و کارهای منتشر شده به زبان انگلیسی از سال ۲۰۰۰ تا جولای ۲۰۰۹ نیز در این بررسی مورد نظر قرار گرفته اند.اصطلاحات پژوهشی پیش رو در ترکیب های مختلفی مورد استفاده قرار گرفته اند: هیدروژل، پلیمر ،استخوان، عامل رشد و سلول.

با براورده شدن معیارهای زیر، متاانالیز صورت گرفت. تمام مطالعات در مورد ترمیم استخوان یا بازتولید ان که دارای هر دو گروه کنترل شده و ازمایشی بودند مورد بررسی قرار گرفتند. سنجش نتیجه ی ارزیابی بافت شناسی با تحلیل هیستومورفومتری یا ارزیابی رادیوگرافی با تراکم نسبی باید ارائه می گردید. مقادیر میانی و انحراف از معیار استخوان شکل یافته ی جدید یا تراکم رادیوگرافی هریک از موارد مطالعه ای مورد استفاده قرار گرفتند و مقادیر میانی ارزیابی شده برای بررسی تفاوت در تعداد موضوعات بین مطالعات مختلف مورد نظر قرار گرفتند. برای مقایسه ی نتایج بین گروه های ازمایش و کنترلی، نسبت ورود شانس در میانه و شکاف های اطمینان ۹۵ درصد (CI) محاسبه گردیدند. تمام تحلیل ها با استفاده از متا انالیز جامع نسخه ی ۲ انجام شدند (بیوستات،انگل وود،نیوجرسی،امریکا).

این بررسی شامل نوع پلیمر،خصوصیات هیدروژل ها مطالعات ازمایشگاهی و ازمایش های درون بدن خواهد بود.

نتایج و بحث

کیفیت نظریه

اکثر مطالعات نتایج ازمایشگاهی را گزارش کردند. مطالعات بسیاری شامل نتایج ازمایش های درون بدن می باشند. در هر حال، ازمایش های بالینی کنترل شده ی تصادفی کم و مجموعه موارد اندکی بر روی بیماران با استفاده از برنامه های هیدروژلی انجام شدند (۷).

نوع پلیمر

هیدروژل ها می توانند با استفاده از مواد طبیعی،مواد ترکیبی یا ترکیبی از هر دو شکل گیرند (۱). زیست ماده های طبیعی مختلفی، مانند الژینات،هیالورونیک اسید،کولاژن،فیبرین و اگارز و پلیمرهای ترکیبی مانند پلی اتیلن و پلی گلیکول پلی اتیلن و پلی گلیکول فومارات برای اماده سازی داربست های هیدروژل مورد استفاده قرار گرفتند (۸). مواد هیدروژلی باید از لحاظ زیستی سازگار باشند و محصولات تخریب غیر سمی داشته باشند. همچنین این مواد باید دارای خصوصیات مکانیکی کافی باشند و اتصال سلولی و شکل گیری بافت را بهبود بخشند (۹).

زمان انعقاد

کنترل زمان انعقاد مهم است مخصوصا زمانی که ژل در درون بدن شکل می گیرد همانطور که این کار به دام افتادگی موثر افزودنی های فعال زیستی مانند عوامل رشد و سلول ها در محل به کارگیری را ممکن می سازد (۱۰). انعقاد را می توان با تغییر pH یا دما یا افزودن مواد افزودنی کنترل کرد (۱۱). پلیمریزاسیون یکی از تکنیک های جذاب است زیرا انعقاد به شکل بسیار سریع تحت دمای فیزیولوژیکی با حداقل تولید گرما و فضای قابل کنترل و خصوصیات زمانی رخ می دهد (۱۲).

تجزیه

ماتریس ژل ممکن است توسط تجزیه ی ساده،هیدرولیز یا هیدرولیز انزیمی مجددا جذب شود (۱۰). فضا برای شکل گیری بافت لازم است.از این رو، انتشار کولاژن و کانی سازی بعدی ان در شبکه های غیر قابل تجزیه محدود می باشند که منجر به تشکیل محدود بافت می شوند (۹). نسبت تجزیه ی هیدروژل ها را می توان با پلیمر های مختلف و مقداری از ملکول های دارای اتصال عرضی در شبکه کنترل کرد. هیدروژل هایی که با شیوه ای که نسبت تشکیل

استخوان جدید را تطبیق می دهد تجزیه می شوند ممکن است برای مهندسی بافت استخوان بسیار مطلوب باشند (۳). در محصولات تجزیه ی پلیمری، قطع وزن ملکولی پالایش کلیه و تجمع احتمالی محصولات تجزیه ی وزن ملکولی بالا در سیستم رتیکولو اندوتلیال باید در زمان بکار گیری داربست های پلمیری مورد بررسی قرار گیرند.

قدرت مکانیکی

داربست های هیدروژلی در زمینه ی مهندسی بافت استخوان نیز مورد استفاده قرار می گیرند مخصوصا در نواحی ای که باری را تحمل نمی کنند (۱۳). تراکم های اولیه ی بسیاری و طول ماکرومر بر روی تراکم اتصال عرضی شبکه تاثیر می گذارند که منجر به خصوصیات مکانیکی مختلفی می شود (۹).

خصوصیات مکانیکی ممکن است با ترکیب هیدروژل ها با ذرات مواد سرامیکی مانند بتا تری کلسیم فسفات،هیدروکسی اباتیت ،ماتریس استخوان املاح یا کلسیم کربنات (۱۴,۱۵) افزایش یابند. معرفی هیدروکسی اباتیت نه تنها منجر به بهبود خصوصیات مکانیکی و اتصال سلولی داربست های الژینات گردید،بلکه فعالیت و زیست پذیری سلول های کاشته شده بر کمپوزیت ها را نیز ارتقا داد (۱۴).ریزحامل ها ممکن است به عنوان انکورهای سلولی مناسب در نظر گرفته شوند و این موضوع نیز گزارش شد که انها مکانهای چسبیده به سلول را با بهبودهای بیوشیمیایی فراهم می سازند(۶).

اصلاح با افزودنی های فعال زیستی

پلیمرهای تشکیل دهنده ی هیدروژل را می توان برای نمایش تحرکات بیوشیمیایی،سلولی، و فیزیکی مطلوب ساخت که فرایندهای سلولی شامل مهاجرت سلول،تکثیر و تمایز ان را هدایت می کنند (جدول۱)(۱۲).

افزودنی های فعال زیستی به هیدروژل ها افزوده می شوند که شامل پروتئین شکل شناسی (BMP) و عامل رشد فیبروبلاست می باشند (FGF)((۱۶,۱۷). ازادسازی تدریجی عامل رشد در طی حداقل ۱۴ روز ادامه می یابد زمانی که در هیدروژل انعقاد جای داده می شود.

ملکولهای کوچک را می توان به سرعت منتشر کرد و این ملکولها ممکن است با پلیمر برای کنترل نمای ازاد سازی امیخته شوند (۵). تلاش های بسیاری برای جای گذاری کوالانسی لیگاندهای پپتید پذیرنده ی غشای سلولی در

ماتریس هیدروژل برای تحریک چسبندگی،توزیع و رشد سلول ها صورت گرفته است (۱۸). یکی از پپتیدهای چسبنده ای که بسیار مورد پژوهش و بررسی قرار گرفته است ارگ-گلی اسپ (RGD)می باشد. این پژوهش ها نشان داده است که هیچگونه اثر مخربی روی زیست پذیری سلول هایی که در محفظه قرار گرفته اند وجود ندارد و تراکم بسیار زیادی از سلول های متصل در هیدروژل های اصلاح شده ی RGD وجود دارد (۹). BMP-2 با هیدروژل ها امیخته می شود، که شامل لایه هایی برای ماتریس متالوپروتئیناز می باشد و به عنوان اتصال دهنده میان زنجیره های پلیمری ترکیبی عمل می کند (۱۷) و پپتید ترکیبی برامده از BMP با ژل الژینات امیخته شد تا برای اسیب های استخوانی به کار گرفته شود (۱۹).

رویکرد سلول گرا

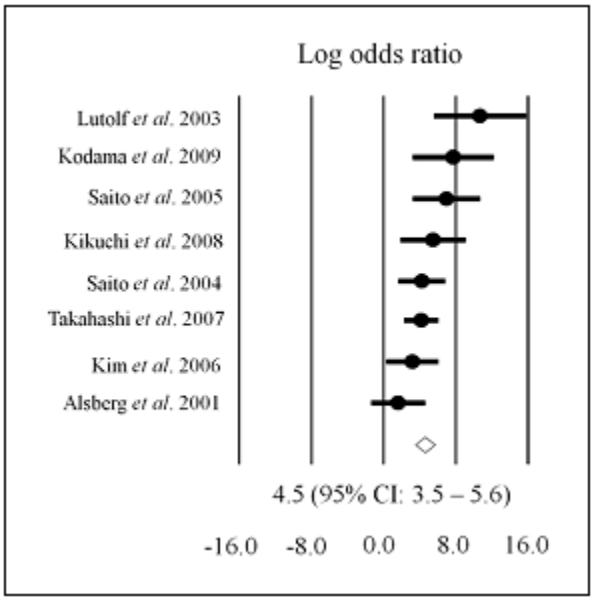
هیدروژل ها را می توان به عنوان ماتریس های عدم تحرک برای تولید محصولات زیستی مختلف مانند پروتئین ها مورد استفاده قرار داد و محیط های مناسب را برای بافت های اسیب دیده یا از بین رفته بازسازی کرد(۱۳). داربست هایی که برای محفوظ کردن سلول ها طراحی شده اند باید قابلیت تبدیل شدن به ژل را بدون اسیب زدن به سلول ها داشته باشند و باید برای سلول های بارگذاری شده غیر سمی باشند (۲). این هیدروژل ها باید اجازه ی نفوذ مواد مغذی زیستی متوسط را برای ارتقای تکثیر سلول و/یا تحریک تمایز سلول بدهند.

افزایش در تراکم ماکرو مر ممکن است منجر به شبکه ی دارای اتصال عرضی بیشتر با قدرت مکانیکی بالاتر شود. در هر حال، افزایش در تراکم های رادیکال در طول پلیمریزاسیون ممکن است به محدودیت های انتقال مواد مغذی و اکسیژن به سمت سلول های محفوظ شده گردد. علاوه بر این، این موضوع نیز نشان داده شد که زیست پذیری اولیه ی کمتر در تراکم ماکرومر بالاتر دیده می شود (۲,۹).

تمایل به کاهش زیست پذیری پس از چندین هفته در کشت های ازمایشگاهی دیده شد و این کاهش ممکن است تاحدی مرتبط با محتوای ماتریس خارج سلولی از سلول های محافظت شده باشد(۹). ذکر این نکته ضروری است که هیدروژل های دارای تورم بالاتر تمایز سلول های ریشه ی مزانشیمی بیشتری (MSC ها) در مقایسه با هیدروژلهایی که تورم کمتر دارند از خود نشان دادند.

اثر هیدروژل ها در مدل های درون بدن

مطالعات زیادی اثر ارتقای استخوانی را کاربرد محلی با هیدروژل های مختلف در مدل های حیوانی گوناگون نشان داده اند (۳,۱۷,۱۹). این موضوع نشان داده شد که زمانی که سلول های استرومای مغز استخوان بدلیل کمبود استخوان درشت نی در کنار ذرات ژل الژینات جای گذاری می شوند، بطور خودکار به استئوبلاست ها متمایز می شوند (۱۹). به کار گیری ترکیب عامل رشد بافت با پیوند هیدروژل انعقاد،همراه با داربست کولاژن در کمبود استخوانی در ران موش منجر به تحریک قابل توجه مارکرهای کانی استئوبلاستی و ارتقای جداگانه ی بازتولید استخوان می شود (۲۰). ذکر این نکته ضروری است که هیدروژل های ترکیبی BMP-2 بارگذاری شده انسانی نوترکیب شامل لایه های ماتریس متالوپروتئیناز که به عنوان ارتباط دهنده عمل می کنند، در بافت استخوانی، زمانی که ژل ها به دلیل کمبودهای زیاد در کاسه ی سر موش جای گذاری می شوند، مجددا مدل سازی می گردند (۷). تفاوت ها در نسبت ورود شانس استخوان باز تولید شده میان گروه های اصلاح شده و اصلاح نشده با توجه به متاانالیز و CI ۹۵ درصدی انها،به صورت ۴,۵ و ۳,۵-۵,۶ بودند (شکل ۱). این اعداد نشان می دهند که اصلاح هیدروژل ها با ملکولهای زیست فعال یا رویکردهای سلول گرا منجر به بهبود قابل توجهی در شکل گیری استخوان جدید خواهد شد.



شکل ۱: تفاوت ها در نسبت ورود شانس استخوان باز تولید شده میان گروه های اصلاح شده و اصلاح نشده از متا انالیز و شکاف های اطمینان ۹۵ درصدی انها (CI ۹۵ درصد).

نتیجه گیری:

در این گزارش خلاصه ای از نمونه های مختلف پلیمرها و روش های گوناگون اصلاح هیدروژل ها برای ارتقای تشکیل استخوان ارائه شد. نتایج نشان می دهند که هیدروژل ها برای باز تولید استخوان مورد استفاده قرار می گیرند و اصلاح هیدروژل ها با ملکول های زیست فعال یا رویکردهای سلول گرا منجر به افزایش قابل توجه در تشکیل استخوان جدید خواهد شد. این موضوع پیشنهاد می کند که استفاده از هیدروژل ها ممکن است گزینه ای را برای مهندسی بافت استخوان ارائه کند و البته پژوهش بیشتری برای شناسایی خصوصیات زیستی و فیزیکی هیدروژل ها نیاز است.

جدول ۱: روش های گوناگون اصلاح هیدروژل

ارجاع	اصلاح	نوع
(17)	Arg-Gly-Asp (RGD)	ترکیب
(4)	پپتید برگرفته از پروتئین-۲ مورفوژنتیک استخوان (BMP-2)	ترکیب
(5)	فلوواستاتین	ترکیب
(11)	سلول ریشه ی مزانشیمی	بارگذاری
(6)	استئوبلاست	بارگذاری
(17)	پروتئین مورفوژنتیک استخوان	بارگذاری
(16)	عامل رشد فیبروبلاست	بارگذاری
(14)	هیدروکسی اپاتیت	داربست
(15)	بتا تری کلسیم فسفات	داربست

References with links to CrossRef - DOI

References

1. Mann BK. Biologic gels in tissue engineering. Clin Plast Surg. 2003;30:601-9.
2. Drury JL, Mooney DJ. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. Biomaterials. 2003;24:4337-51.
3. Lee KY, Alsberg E, Mooney DJ. Degradable and injectable poly(aldehyde guluronate) hydrogels for bone tissue engineering. J Biomed Mater Res. 2001;56:228-33.
4. Saito A, Suzuki Y, Ogata S, Ohtsuki C, Tanihara M. Prolonged ectopic calcification induced by BMP-2-derived synthetic peptide. J Biomed Mater Res A. 2004;70:115-21.
5. Benoit DS, Nuttelman CR, Collins SD, Anseth KS. Synthesis and characterization of a fluvastatin-releasing hydrogel delivery system to modulate hMSC differentiation and function for bone regeneration. Biomaterials. 2006;27:6102-10.
6. Wang C, Gong Y, Zhong Y, Yao Y, Su K, Wang DA. The control of anchorage-dependent cell behavior within a hydrogel/microcarrier system in an osteogenic model. Biomaterials. 2009;30:2259-69.
7. Gelbart M, Friedman R, Burlui V, Rohrer M, Atkinson B. Maxillary sinus augmentation using a peptide-modified graft material in three mixtures: a prospective human case series of histologic and histomorphometric results. Implant Dent. 2005;14:185-93.
8. Ahn HH, Kim KS, Lee JH, Lee JY, Kim BS, Lee IW, et al. In vivo osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells in an injectable in situ-forming gel scaffold. Tissue Eng Part A. 2009;15:1821-32.
9. Burdick JA, Anseth KS. Photoencapsulation of osteoblasts in injectable RGD-modified PEG hydrogels for bone tissue engineering. Biomaterials. 2002;23:4315-23.
10. Gutowska A, Jeong B, Jasionowski M. Injectable gels for tissue engineering. Anat Rec. 2001;263:342-9.
11. Kim HK, Shim WS, Kim SE, Lee KH, Kang E, Kim JH, et al. Injectable in situ-forming pH/thermo-sensitive hydrogel for bone tissue engineering. Tissue Eng Part A. 2009;15:923-33.
12. Fedorovich NE, Oudshoorn MH, Van Geemen D, Hennink WE, Alblas J, Dhert WJ. The effect of photopolymerization on stem cells embedded in hydrogels. Biomaterials. 2009;30:344-53.
13. Kong HJ, Smith MK, Mooney DJ. Designing alginate hydrogels to maintain viability of immobilized cells. Biomaterials. 2003;24:4023-9.
14. Tang Y, Du Y, Li Y, Wang X, Hu X. A thermosensitive chitosan/poly(vinyl alcohol) hydrogel containing hydroxyapatite for protein delivery. J Biomed Mater Res A. 2009;91:953-63.
15. Weinand C, Pomerantseva I, Neville CM, Gupta R, Weinberg E, Madisch I, et al. Hydrogel-beta-TCP scaffolds and stem cells for tissue engineering bone. Bone. 2006;38:555-63.
16. Kodama N, Nagata M, Tabata Y, Ozeki M, Ninomiya T, Takagi R. A local bone anabolic effect of rhFGF2-impregnated gelatin hydrogel by promoting cell proliferation and coordinating osteoblastic differentiation. Bone. 2009;44:699-707.
17. Lutolf MP, Weber FE, Schmoekel HG, Schense JC, Kohler T, Müller R, et al. Repair of bone defects using synthetic mimetics of collagenous extracellular matrices. Nat Biotechnol. 2003;21:513-8.
18. Hoffman AS. Hydrogels for biomedical applications. Ann N Y Acad Sci. 2001;944:62-73.
19. Saito A, Suzuki Y, Ogata S, Ohtsuki C, Tanihara M. Accelerated bone repair with the use of a synthetic BMP-2-derived peptide and bone-marrow stromal cells. J Biomed Mater Res A. 2005;72:77-82.
20. Kikuchi T, Kubota S, Asaumi K, Kawaki H, Nishida T, Kawata K, et al. Promotion of bone regeneration by CCN2 incorporated into gelatin hydrogel. Tissue Eng Part A. 2008;14:1089-98.