Archive of SID

Downloaded from jmciri.ir at 14:02 +0430 on Wednesday June 12th 2019

مقـاله مروری

# جلوه‌های پیش رو در مهندسی بافت استخوان: مروری کوتاه

آرش خجسته[1*]، حنانه صفی اقدم[2]

[1] دانشیار، بخش جراحی‌های فک و صورت، مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[2] پژوهشگر، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

* نشانی نویسنده مسئول:

بخش جراحی‌های فک و صورت، مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

نشانی الکترونیک: arashkhojasteh@gmail.com

## چکیده

علی‌رغم همه پیشرفت‌ها در مهندسی بافت استخوان، همچنان اتوگرافت‌ها، استاندارد طلایی درمان ضایعات بزرگ کرانیوماگزیلوفاسیال Craniomaxillofacial می‌باشند. توسعه بیومتریال‌ها، کاربرد فاکتورهای رشدی، و سلول‌های بنیادی دریچه جدیدی را به روی مطالعات بازسازی استخوان می‌گشاید، اگرچه انتقال حقیقی نتایج به حوزه بالینی هنوز صورت نگرفته است. در این مقاله تعدادی از رویکردهای مهم و اساسی که محققین برای ارتقای احتمال موفقیت در بازسازی استخوان به کار می‌گیرند، آورده شده است. سلول‌های بنیادی چند توان القایی که با تغییر سلول‌های بالغ سوماتیک یا سلول‌های بنیادی بالغ غیر چند توان تولید می‌شوند، از نامزدهای منابع سلولی در این زمینه می‌باشند. در حوزه‌ی داربست‌های هوشمند، مهندسین بافت بر روی تغییراتی مانند افزودن مولکول‌های زیست–فعال یا نانوذرات فعالیت می‌کنند. همچنین سیستم ارائه موضعی به عنوان وسیله‌ای برای حمل و آزادسازی عوامل درمانی شامل داروها، فاکتورهای رشدی مانند فاکتور استخوان‌ساز یا آنژیوژنیک و سلول‌ها برای مدت زمان مطلوب معرفی شده‌اند. علاوه بر آن، روش‌های کشت سلولی دینامیک (بایورآکتورها) برای تقلید نسبی خصوصیات فیزیولوژیک و مکانیکی بدن استفاده می‌شوند. رویکرد تازه دیگر بازسازی استخوان با آنتی‌بادی (AMOR) است که مولکول‌های درمانی را به صورت موضعی یا سیستمیک وارد می‌کند تا موجب فعال‌سازی یا مهار فاکتورهای اندوژن به ویژه پیام‌های BMP شوند. به طور خلاصه، آزادسازی تدریجی فیزیولوژیک فاکتورهای رشدی به همراه سلول‌های بنیادی مزانشیمی MSCs کشت یافته در داربست کامپوزیتی، روش‌های کشت سلول دینامیک و ارتقای بستر دریافت‌کننده، بر چشم‌انداز آینده تاثیرگذار می‌باشند.

**واژگان کلیدی:** مهندسی بافت استخوان، سلول‌های بنیادی چند توان القایی، بایورآکتور، بازسازی استخوان به واسطه آنتی‌بادی

www.SID.ir

Archive of SID

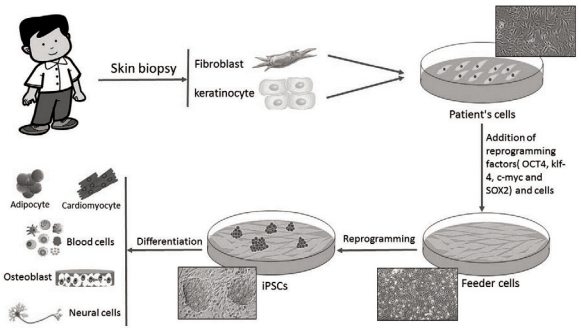
Downloaded from jmciri.ir at 14:02 +0430 on Wednesday June 12th 2019

## جلوه‌های پیشرو در مهندسی بافت استخوان

علی‌رغم همه پیشرفت‌ها در مهندسی بافت استخوان، همچنان اتوگرافت‌های استخوان داخل دهانی یا خارج دهانی انتخاب طلایی درمان ضایعات بزرگ کرانیوماگزیلوفاسیال می‌باشند. توسعه بیومتریال‌ها، کاربرد فاکتورهای رشدی و سلول‌های بنیادی دریچه جدیدی را به روی مطالعات بازسازی استخوان می‌گشایند، اما انتقال حقیقی نتایج به حوزه بالینی هنوز صورت نگرفته است. تمایز invivo فعلی سلول‌های بنیادی، کاربرد مگادوزهای فاکتورهای رشدی، عدم حضور خون‌رسانی مناسب در داربست‌های مهندسی بافت از معایب عمده رویکردهای کنونی در مهندسی بافت استخوان است. تغییر منابع سلولی، داربست‌های هوشمند، روش‌های کشت سلولی دینامیک و تغییرات بالینی رویکردهای عمده‌ای است که محققین برای ارتقای احتمال موفقیت در بازسازی استخوان به کار می‌گیرند.

منابع سلولی (۱)

محققین و کلینیسین‌ها علاقه روز افزونی به استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی[۱] در استراتژی درمان‌های بالینی سلول‌های بنیادی در دهه‌های اخیر نشان داده‌اند. با این حال، مشکل اساسی در ارتباط با این استراتژی‌ها شناسایی منابع در دسترس و قابل اعتماد سلول‌های بنیادی مزانشیمی است. استخراج سلول‌های بنیادی مغز استخوان[۲] از بیماران به علت پروسه‌ی مهاجم، حساس و گران آن مورد انتقاد قرار گرفته است. به علاوه، BMSCsها طی تعداد معینی پاساژ، عموماً دچار پیری ناشی از کشت می‌شوند و بنابراین ظرفیت گسترش آن‌ها در محیط کشت محدود است. لذا کاندیدهای امیدوارکننده‌ای برای تولید تعداد زیادی سلول برای کاربردهای بالینی نمی‌باشند. به این دلیل، یافتن منابع جایگزین سلول بنیادی ضروری است. سلول‌های بنیادی مزانشیمی بالغ که از منابع اتوژن به دست می‌آیند شامل بافت چربی و بافت دندانی به عنوان منبع امیدوارکننده‌ای از پیش‌سازها برای بازسازی استخوان مبنی بر سلول بنیادی در نظر گرفته می‌شوند. با این حال، MSCs یک جمعیت بسیار هتروژن بوده و نشان داده شده که توانایی رشد و تمایز آن‌ها با گسترش در کشت in vitro کاهش می‌یابد. به علاوه، توانایی تمایز آن‌ها مرتبط با سن است. سلول‌های بنیادی چند توان[۳] به دلیل پتانسیل آن‌ها در غلبه بر محدودیت‌های MSCs به عنوان منبع جذابی از سلول‌های بنیادی در بازسازی استخوان معرفی شده‌اند. سلول‌های بنیادی جنینی[۴] ظرفیت نامحدودی برای بازسازی خود و توانایی تمایز به همه تایپ‌های سلولی هر سه لایه ژرمینال را دارند. با این حال، مشکلات اخلاقی و قانونی استفاده از ESCs انسانی در تعدادی از کشورها و احتمال خطر رد ایمنی بعد از پیوند کاربرد بالینی آن را مختل می‌کند. کشف سلول‌های بنیادی چند توان القایی iPSCs منجر به یک جایگزین جذاب و امیدوارکننده برای به دست آوردن جمعیت بزرگی از سلول‌های بنیادی بالغ برای استفاده در پزشکی بازساختی و درمان‌های سلولی شده است. سلول‌های چند توان القایی نوعی از سلول‌های بنیادی هستند که با تغییر سلول‌های بالغ سوماتیک یا سلول‌های بنیادی بالغ غیر چند توان به سلول‌های بنیادی چند توان تولید می‌شوند. فاکتورهای رونویسی مانند Oct3/4, Sox2, Klf4 c-Myc به طور شایع برای برنامه‌ریزی مجدد این سلول‌ها استفاده می‌شوند (شکل ۱). تولید سلول‌های بنیادی چند توان مختص بیمار[۵] یعنی سلول‌های بنیادی چند توان القایی iPSCs، از تغییر سلول‌های سوماتیک خود بیمار پیشرفت قابل توجهی در زمینه بازسازی بافت بوده است. iPSCs همان خصوصیات ESCs، از جمله مورفولوژی، ظرفیت نامحدود بازسازی خود و پروفایل بیان ژن مشابه را داراست. از آنجایی که iPSCs می‌تواند از سلول‌های سوماتیک خود بیمار استخراج شود، از ریسک رد ایمنی بعد پیوند جلوگیری می‌شود. با توجه به چنین خصوصیاتی، انتظار می‌رود iPSCs جای ESCs را در بازسازی بافت بگیرد. اخیراً، علاقه زیادی به کاربرد iPSCs در بازسازی استخوان وجود دارد. به منظور کاهش تومورزایی مرتبط با چندتوانی iPSCs، تمایز iPSCs بصورت in vitro به MSCs و سلول‌های پیش‌ساز استخوانی قبل از پیوند ضروری می‌باشد. برای ساختن پیش‌سازهای استخوانی از iPSCs، به طور معمول آن‌ها به سمت ساخت جسم شبه جنینی[۶] به عنوان مرحله بینابینی حین تمایز استخوانی هدایت می‌شوند (۱).




شکل ۱. برنامه‌ریزی مجدد iPSCs از سلول‌های سوماتیک خود فرد

## خصوصیات iPSCs

شکل‌دهی تراتوما استاندارد طلایی ارزیابی سلول بنیادی به عنوان سلول بنیادی چندتوان می‌باشد و به معنای توانایی سلول‌های بنیادی در تشکیل ساختارهای تومورال تشکیل یافته از بافت‌های نماینده هر سه لایه ژرمینال در موش با ایمنی سرکوب شده است. اجسام شبه جنینی، رسوبات سه بعدی شکل گرفته به صورت معلق از سلول‌های بنیادی شامل سلول‌های بنیادی جنینی ESCs و iPSCs هستند. روش‌های استاندارد دستیابی به EBs شامل تکنیک قطره آویزان و شکل‌گیری در شرایط کشت معلق ثابت است. تشکیل EB قدم مهمی در هدایت تمایز سلول‌های بنیادی چند توان است. ولی تمایز iPSCs می‌تواند با یا بدون

۱. MSCs, Mesenchymal Stem Cells
۲. BMSCs, Bone Marrow Derived Stem Cells
۳. iPSCs, Induced Pluripotent Stem Cells
۴. ESCs, Embryonic Stem Cells
۵. Patient-specific
۶. EB, Embryonic Body

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmciri.ir at 14:02 +0430 on Wednesday June 12th 2019

مداخله مرحله EB القاء شود.

روش‌های برنامه‌ریزی مجدد به کار گرفته شده برای تولید iPSCs ترکیبی از چهار فاکتور رونویسی، شامل فاکتور رونویسی باند شونده به اکتامر[۷] ¾، جعبه ۲ ناحیه تعیین‌کننده جنسیت Y[۸]، فاکتور شبه-کراپل[۹] ۴ و انکوژن میلوسایتوماتوزیس[۱۰] به طور متداول برای القای چندتوانی استفاده شده‌اند. سه مطالعه روش برنامه‌ریزی مجدد mRNA را برای القاء استفاده کرده‌اند.

## MSCs استخراج شده از iPSC برای بازسازی استخوان

نشان داده شده است که خصوصیات iPSCs-MSCs انسانی هم در in vitro و هم در in vivo مشابه سلول‌های مزانشیمی استخراج شده از بافت‌های بالغ مانند مغز استخوان، چربی، بند ناف و غیره می‌باشد. جالب اینجاست که iPSCs-MSCs نه تنها دارای پیشرفت در رشد هستند بلکه فعالیت تلومر از بیشتر و پیری کمتری را در مقایسه با MSCs بالغ نشان می‌دهند. به علاوه، لیان و همکاران، نشان داده‌اند که MSCsهای فانکشنال استخراج شده از iPSCs انسانی می‌تواند جدا شده، خالص سازی شده و در محیط کشت معمول MSCs نگه داشته شود (۲). برای تولید iPSCs-MSCs دو استراتژی کلی با تفکیک کلونی iPSCs به سلول‌ها تکی، یکی با و یکی بدون گام شکل‌گیری EB، به کار گرفته می‌شود. یکی با و یکی بدون گام شکل‌گیری EBها رسوبات سلولی هستند که به خودی خود هر سه لایه ژرمینال را تولید می‌کنند. شکل‌گیری EB به عنوان گام میانجی در تمایز ESCs و iPSCs به MSCs مانند پر استئوبلاست در نظر گرفته می‌شود. EB شکل گرفته در فلاسک‌های پوشیده شده با ژلاتین به روش‌های متعددی از سلول‌های شبه MSCs غنی می‌شوند (۴ و ۳).

## داربست‌های هوشمند

داربست‌ها با فراهم کردن محیط سه بعدی برای کاشت سلول و رویش آن و همچنین تأمین مکانیکال طی پرکردن ضایعات استخوانی حین بازسازی استخوان، نقش کلیدی در مهندسی بافت استخوان دارند. هدایت ساخت استخوان، تخلخل و زیست تخریب‌پذیری از ویژگی‌های ضروری داربست است تا بتواند در مهندسی بافت استخوان با ارتقای شکل‌گیری استخوان، آنژیوژنز و حمایت از اتصال و رویش استئوبلاست‌ها موفق باشد. اخیراً، مهندسین بافت بر روی طراحی ساختار و ویژگی‌های سطح داربست‌ها تمرکز کرده‌اند. تغییرات متعددی مانند افزودن مولکول‌های زیست فعال یا نانوذرات می‌تواند چسبندگی و رویش سلول‌های بنیادی روی داربست را ارتقا دهد. سیستم ارایه موضعی به عنوان وسیله‌ای برای حمل و آزادسازی عوامل درمانی شامل داروها، فاکتورهای رشدی و سلول‌ها به نواحی به خصوص برای مدت زمان مطلوب معرفی شده‌اند. این فرضیه وجود دارد که ارائه موضعی پیوسته فاکتورهای رشدی از داخل یک داربست سه بعدی می‌تواند بازسازی استخوان را بهبود بخشد هر چند تولید ذرات زیست پلی مر قابل اعتماد همچنان یک چالش باقی مانده است (۵).

## رهایی تدریجی فاکتور استخوان ساز[۱۱] (۶)

سیستم‌های ارائه مبتنی بر کیتوزان[۱۲] به دلیل توانایی رهاسازی پیوسته در یک منطقه موضعی مورد هدف به طور گسترده استفاده شده‌اند. کیتوزان یک پلی ساکارید زیست سازگار است که از داستیله کردن کیتین، پلی ساکاریدی طبیعی در سخت‌پوستان دریایی به دست می‌آید (۷). علاوه بر آن، اسفنج‌های کلاژن نیز به عنوان حامل کلینیکی پروتئین نوترکیب مورفوژنتیک استخوانی انسان[۱۳] استفاده شده‌اند. داربست‌های متشکل از کلاژن به تنهایی برای بازسازی ضایعات استخوانی مطلوب نیستند چرا که مقاومت پایینی داشته و تجزیه زودهنگام آن در داخل بدن منجر به رهاسازی یکباره BMP2 می‌شود. با این حال، خصوصیات قابلیت جذب، آنتی‌ژنتیک بودن پایین، سازگاری سلولی و پتانسیل بازسازی بافت، توجه بیشتری به استفاده از کلاژن به صورت کامپوزیت با سایر بیومتریال‌ها جلب کرده است (۸). ترکیب ژلاتین با β-TCP در بازسازی بافت استخوان به خوبی استفاده شده است و مطالعات نشان داده‌اند که افزودن ژلاتین به β-TCP خصوصیات مکانیکی آن را ارتقا داده است. به علاوه ژلاتین یا فرم نیمه هیدرولیز شده‌ای از کلاژن، Arg-Gly-Asp (RGD) motifs فراهم می‌کند که می‌توانند واسطه‌ای برای اتصال سلول‌ها از طریق تعامل با اینتگرین‌ها شوند. بنابراین، زیست سازگاری و استئوکانداکتیو بودن داربست را بهتر می‌کنند (۹). بسطامی و همکاران (۶) اقدام به طراحی داربست سه بعدی مناسبی با خصوصیات فیزیکی مطلوب و ظرفیت رهاسازی مستمر BMP2 برای مهندسی بافت استخوان کرده‌اند. یک داربست بسیار متخلخل سه بعدی β-TCP که در داخل آن دو کانال عمود بر هم قرار داشت ساخته شد. مقاومت مکانیکی این داربست با افزودن لایه پوشش ژلاتینی ارتقا یافت. به اضافه، نانوذرات کیتوزان حاوی BMP2در هیدروژل کلاژنی حل شده و وارد کانال داخل داربست پر شد. توانایی ساختار مذکور برای بازسازی استخوان در ارتباط با سلول‌های بنیادی استخراج شده از بافت چربی گونه BFPSCsبه‌صورت in vitro ارزیابی شده است. طراحی پیشنهاد شده با رهاسازی مستمر فاکتور رشدی از مرکز داربست نه تنها برای ارائه BMP2 بلکه برای سایر فاکتورهای رشدی از جمله فاکتور رشدی اندوتلیال عروقی۱۴ برای القای آنژیوژنز پیشنهاد می‌گردد (شکل ۲). مدل داربست مذکور می‌تواند برای ارائه سلول‌های سایر فاکتورهای رشدی مانند فاکتور رشدی اندوتلیال عروقی به تنهایی یا با به صورت ترکیبی در مطالعات آینده توصیه شود. به علاوه، این فرضیه وجود دارد که پرکردن این کانال‌های داربست با سلول‌های اندوتلیال که داخل کپسولی از هیدروژل قرار گرفته‌اند می‌تواند

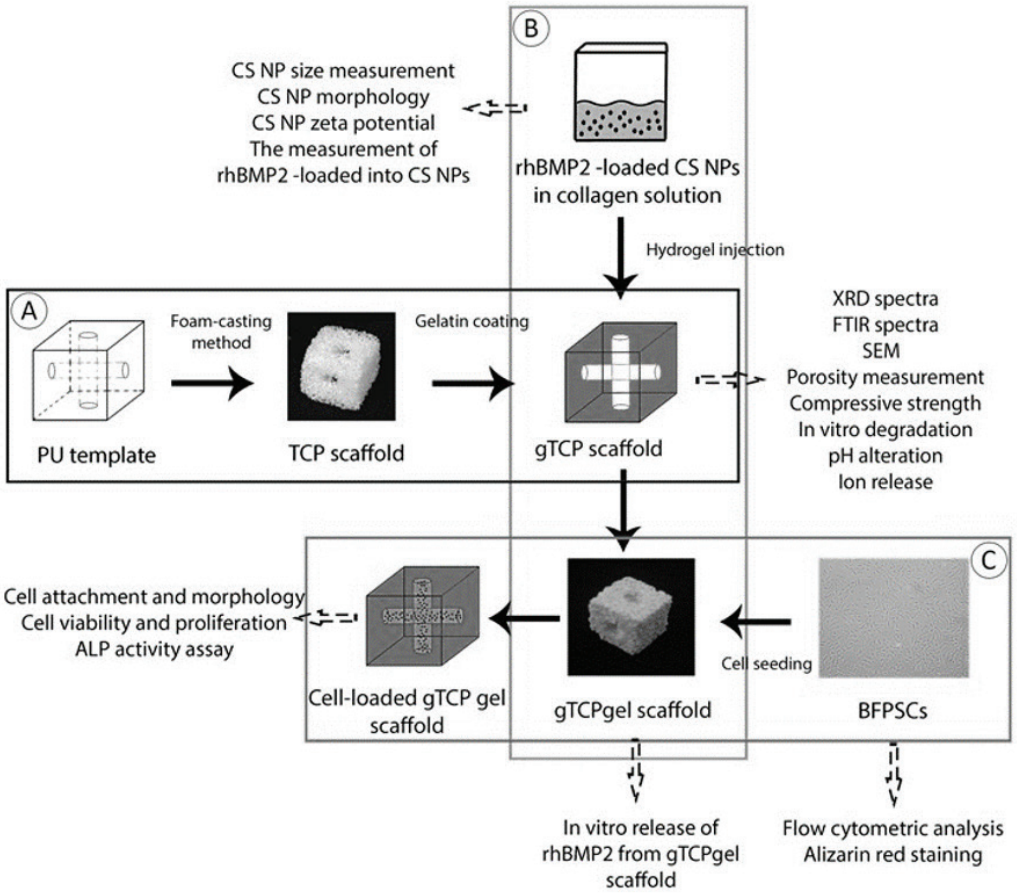
۷. (Oct3/4), Octamer-Binding Transcription Factor 3/4
۸. Sox2, Sex-Determining Region Y- Box 2
۹. Klf 4, Kruppel-Like Factor 4
۱۰. (c- Myc), Cellular Myelocytomatosis Oncogene
۱۱. Gradual Release of Osteogenic Factor
۱۲. Chitosan
۱۳. (rhBMP2), Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein 2
۱۴. VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor

www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jmciri.ir at 14:02 +0430 on Wednesday June 12th 2019




شکل ۲. سیر طراحی مطالعه؛ الف) ساخت داربست سه بعدی gTCP ب) ساخت سیستم ارایه rhBMP2 با تزریق در کانال‌های داخل داربست gTCP (ژلاتین β-TCP)
ج) آنالیز بیولوژیک داربست gTCP با رهاسازی مستمر rhBMP۲

آنژیوژنز را به ویژه در مرکز داربست بهبود بخشد.

## رهاسازی تدریجی فاکتور آنژیوژنیک[۱۵] (۱۰)

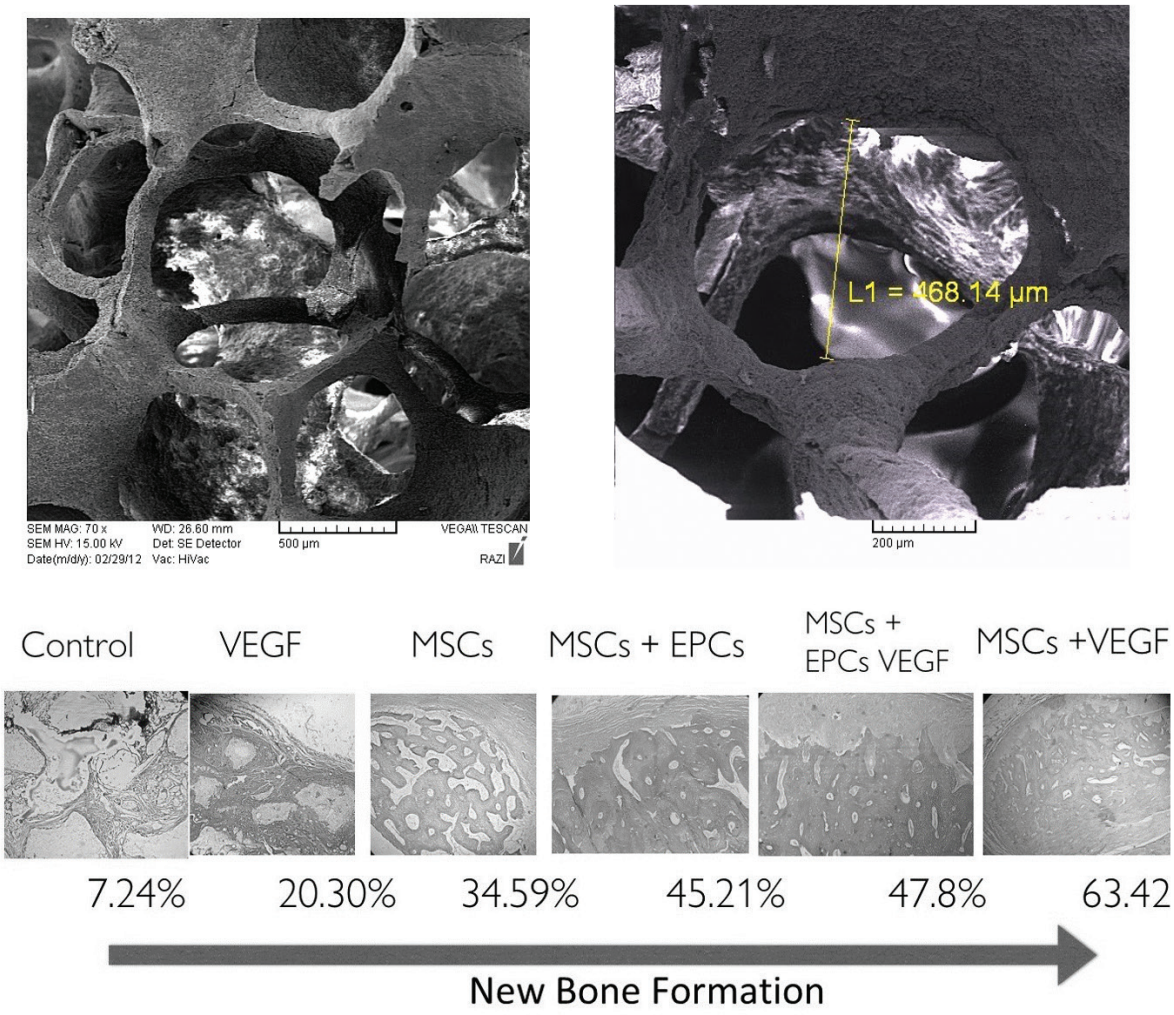
مکمل‌های تغذیه‌ای گرفت‌های استخوانی بدون عروق مهندسی بافت، از محدودیت‌های شانس موفقیت این تکنیک است. ظرفیت محدود سلول‌های کاشته شده برای دریافت مواد مغذی و اکسیژن و نفوذ آهسته عروق خونی منجر به نکروز سلول‌ها به ویژه در قسمت‌های مرکزی داربست می‌گردد، بنابراین تسریع شکل‌گیری شبکه عروقی عملکردی در داخل ساختار به تازگی شکل گرفته، جنبه بالینی مهمی از بازسازی استخوان است. سلول‌های کاشته شده به اکسیژن و مواد مغذی نیازمندند اما انتشار از بافت‌های اطراف تنها به ۱۵۰ میکرومتر محدود می‌شود (۱۱). در نتیجه، هدف مهندسی بافت استخوان باید هم بر اساس کاشت سلول‌های استخوان‌ساز بر داربست‌های استئوکانداکتیو و هم القای رگ‌سازی برای حمایت نیازهای متابولیسم سلول‌ها باشد. در سیستم‌های ارائه دارو، هم قراردادن پوشش پلیمری بر سطحی از بیوسرامیک که دارو جذب کرده و هم اندوختن دارو در پوشش پلیمری برای کنترل رفتار رهاسازی دارو استفاده شده است (۱۲). با این حال، ارائه موضعی و سیستمیک فاکتورهای رشدی رگ‌ساز شایع‌ترین رویکرد برای ارتقای رگ‌سازی است. مهم‌ترین فاکتور آنژیوژنیک فاکتور رشدی اندوتلیال عروقی VEGF است که نه تنها از طریق ارتقای میتوز سلول‌های اندوتلیال عروقی بلکه از طریق افزایش نفوذپذیری عروق، نقش‌های اساسی در آنژیوژنز بازی می‌کند. دیویس و همکاران (۱۳) اثر تجویز VEGF مداوم بر رگ‌سازی در داربست را مطالعه کردند و گزارش کردند که تجویز ۱۵۰ ng/dl می‌تواند رگ‌سازی را افزایش دهد اما ۱۵۰۰ ng/dl، رشد موقت عروقی را القا می‌کند. ارایه مستمر VEGF از PLGA بیومینرالیزه در ضایعات بحرانی رت رشد قابل توجهی در میزان استخوان‌سازی جدید ایجاد کرد. خجسته و همکاران (۱۰) VEGF را در میکروسفر PLGAهای داخل بلوک‌های بتا تری کلسیم فسفات ارائه دادند و مقدار مؤثری از بازسازی استخوان را در ضایعات مندیبل سگ مشاهده کردند (شکل ۳). آنها استخوان‌سازی بیشتری در داربست VEGF/MSC نسبت به داربست‌های MSC/EPC و VEGF/MSC/EPC مشاهده کردند که خود مشابه بودند. این می‌تواند به این دلیل باشد که داربست VEGF/MSC (تعداد ۵ × ۱۰۵) نسبت به داربست MSC and EPC (تعداد ۲٫۵ × ۱۰۵)، MSC بیشتری داشت. گروه‌هایی

۱۵. Gradual Release of Angiogenic Factor

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmciri.ir at 14:02 +0430 on Wednesday June 12th 2019




شکل ۳. تصاویر SEM نشان‌دهنده میکروسفرهای PLGA داخل ساختار متخلخل داربست بتا تری کلسیم فسفات. آنالیز مورفومتریک ضایعات دایره‌ای در بورد تحتانی مندیبل سگ نشان داد که MSCs ارایه شده با رهاسازی تدریجی VEGF می‌تواند در مهندسی بافت استخوان موثر باشد.
VEGF: Vascular endothelial growth factor; MSCs: Mesenchymal Stem cells; EPCs: Endothelial Progenitor cells.

که میکروسفرهای VEGF داشتند همچنین تمایل بیشتری برای ساخت استخوان لاملار در نمای هیستولوژیک داشتند. با اینکه شرایط in vitro، کشت همزمان MSCs و EPCs را نشان می‌داد، پس از انکوبه کردن بر روی داربست به جز در تصاویر SEM، آن‌ها نتوانستند ارایه مؤثر MSCs را به همراه EPCs ثابت نمایند.

## روش‌های دینامیک کشت سلولی (۱۴)

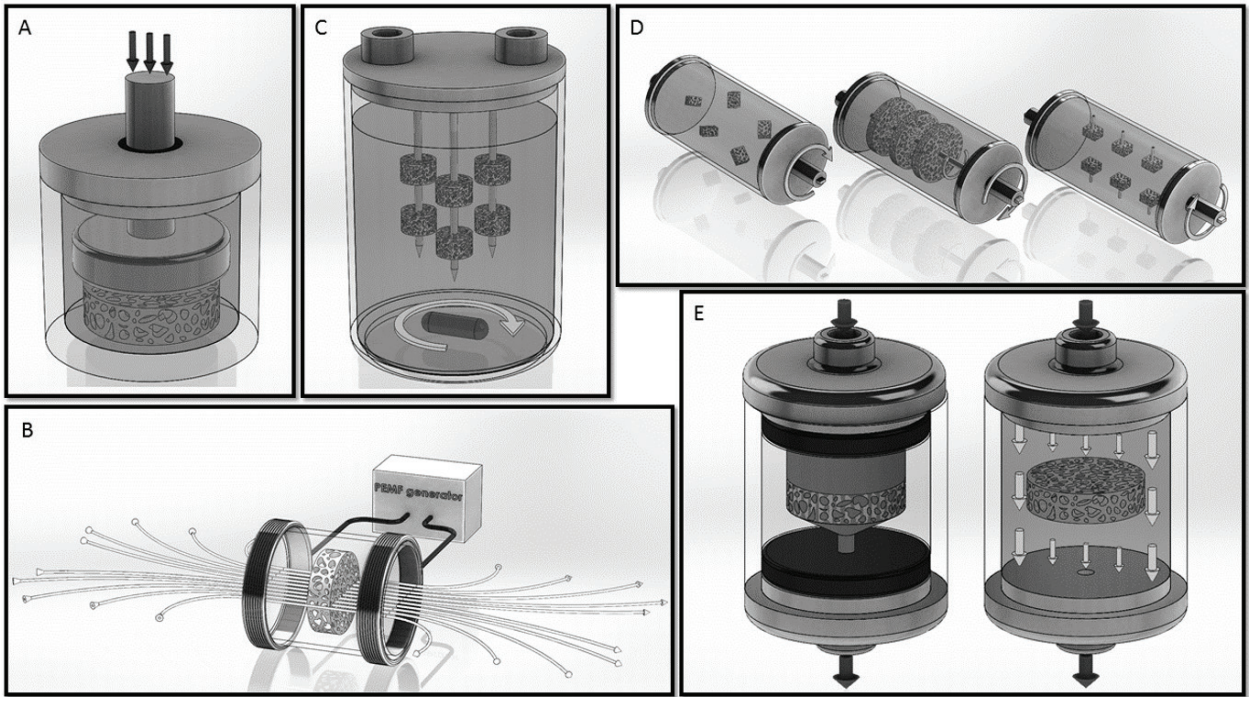
شرایط کشت ثابت به طور معمول برای کشت گرفت‌های بافت استخوانی استفاده شده است (۱۰). با این حال، محدودیت‌هایی مانند شکست در ارائه اکسیژن و مواد مغذی کافی و حذف محصولات دفعی، می‌تواند منجر به شکل‌گیری ضعیف بافت و نکروز شود (۱۵). مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌ها در مرکز داربست‌ها بدون غذا و اکسیژن زنده نمی‌مانند چرا که بیشترین فاصله انتشار اکسیژن و مواد مغذی ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرومتر است و غلظت‌های هتروژنی از مواد مغذی و اکسیژن برای رسیدن به سلول‌ها مورد نیاز است (۱۱). به علاوه، سلول‌ها تمایل به اتصال به سطوح داربست را دارند و داخل آن انتشار نمی‌یابند. در کنار منبع محدود غذایی حین کشت بافت، نشان داده شده است که دو نوع از محرک‌های مکانیکی تمایز سلول استخوانی را تحت تأثیر قرار می‌دهند: ۱) تنش برشی مایعات که به دنبال حرکات داخلی مایع از داخل لاکونا به علت وارد آمدن نیرو ایجاد می‌شود و ۲) کششی که به دنبال دفورمه شدن شامل خم شدن و تحت فشار قرار گرفتن به علت فعالیت‌های فیزیکی ایجاد می‌شود (۱۶). در بدن ما، دوباره‌سازی Remodeling استخوان تحت تأثیر استرس مکانیکی وارد بر سلول‌های پیش‌ساز استخوان است که منجر به بروز ژن‌های مرتبط با استخوان‌سازی می‌شود (۱۷). برای تقلید این شرایط فیزیولوژیک، توجه به مهندسی بافت استخوان به منظور توسعه انواع مختلف تکنولوژی‌ها و ابزار بیشتر شده است. در حال حاضر، بایورآکتورها برای تقلید نسبی خصوصیات فیزیولوژیک و مکانیکی بدن استفاده می‌شوند (۱۸). ترکیب سلول‌های بنیادی، داربست‌ها، فاکتورهای القاکننده استخوان‌سازی و بایو رآکتورها به تازگی «چهارضلعی مهندسی

www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jmciri.ir at 14:02 +0430 on Wednesday June 12th 2019




شکل ۴. الف) بایورآکتور فشردگی؛ ب) بایورآکتورهای مبتنی بر میدان‌های مغناطیسی؛ ج) بایورآکتور فلاسک چرخاننده؛ د) بایورآکتور چرخشی؛ ه) بایورآکتور مبتنی بر انتشار؛ چپ: مستقیم و راست: غیرمستقیم.

بافت» نام گرفته است. استفاده از بیورآکتورها نه تنها بر محدودیت‌های سیستم‌های کشت ثابت گذشته غلبه کرده است، بلکه همچنین نمایانگر یک تغییر عمده در جهت ساخت ex vivo جایگزین‌های زنده بافتی است (۱۹). انواع مختلفی از سیستم‌های طراحی بایورآکتورها موجود است: تنش برشی هیدرودینامیک، استرس مکانیکی مستقیم (شکل A ۴) و بایورآکتورهای مبتنی بر میدان‌های مغناطیسی (شکل B ۴). سیستم‌های تنش برشی شامل مدل‌های مختلف مانند فلاسک چرخاننده (شکل C ۴)، چرخشی (شکل D ۴) و بایورآکتور مبتنی بر انتشار (شکل E ۴) می‌باشد. به منظور بهره‌وری از مزایای سیستم‌های طراحی مختلف و نیز شباهت بیشتر به شرایط طبیعی بدن، بایورآکتورهای ترکیبی نیز مکرراً مورد استفاده قرار گرفته است.

به طور خلاصه در این مرور ما دریافتیم که: ۱) بایورآکتورهای ترکیبی در بازسازی بافت استخوان به نظر مفید می‌رسند. ۲) ۱ تا ۲ میلی‌لیتر سرعت جریان در دقیقه محدوده مناسبی است. ۳) سیلندر، شکل مناسبی برای داربست است. ۴) انکوبه کردن داربست با سلول‌ها قبل از انتقال به بایورآکتور به همراه تجویز محیط کشت استخوان‌ساز در بایورآکتور رویکرد کارآمدی برای کمک به اتصال مناسب و تمایز سلول‌ها به نظر می‌رسد (۱۴).

## بازسازی استخوان به واسطه آنتی‌بادی AMOR16 (۲۰)

نشان داده شده است که rhBMP-2 میزان استخوان‌سازی جدید، رویش عروق و به کارگیری سلول‌های پیش‌ساز استخوانی را افزایش می‌دهد. به علاوه، در ضایعات تکه‌ای استخوانی، جوش خوردگی‌های نخاعی و ترمیم شکستگی‌های استخوان، جایگزین قابل اعتمادی برای اتوگرفت‌های استخوانی است (۲۱). با این حال، تجویز بالینی rhBMP2 اگزوژن به دلیل فعالیت کمتر آن نسبت به آنالوگ اندوژنش و غلظت نامستمر آن در طی زمان و همچنین نیمه عمر کوتاه به شکل in vivo، محدود است. به علاوه، روش‌های ارائه در دسترس نیازمند تجویز غلظت‌های فوق فیزیولوژیک بوده که به نوبه خود منجر به عوارض جانبی قابل توجه و هزینه بالا می‌گردد (۲۳).

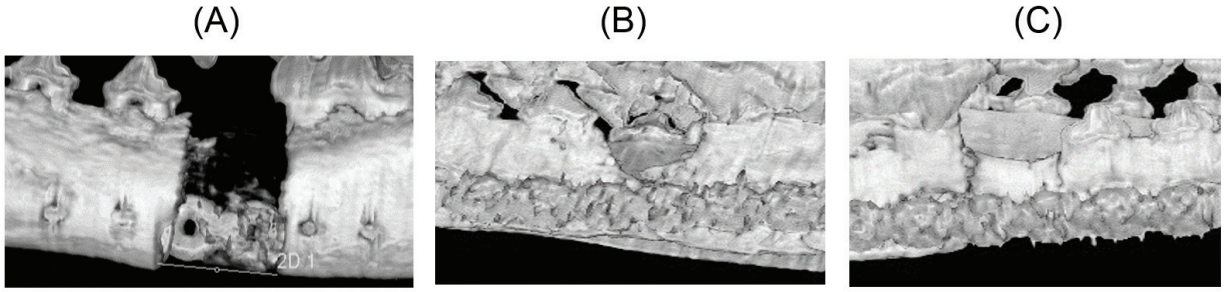
روش دیگر، ارائه رویکردی است که مولکول‌های درمانی را به صورت موضعی یا سیستمیک وارد می‌کند تا موجب فعال‌سازی یا مهار فاکتورهای اندوژن به ویژه پیام‌های BMP شود که حوزه بسیار جذابی برای محققین بوده است. مطالعات مختلفی اثر آنتی‌بادی را بر بازسازی استخوان به ویژه در مدل‌های حیوانی در تلاش برای به دام انداختن فاکتورهای رشدی اندوژن بررسی نموده‌اند (۲۴). این رویکرد جدید بازسازی استخوان به واسطه آنتی‌بادی AMOR نام گرفته است (۲۵). در این حوزه، آنتی‌بادی anti-BMP 2 برای جذب BMP-2 اندوژن به ناحیه ضایعه و تسریع پروسه ترمیم استخوان استفاده کرده‌اند. این اصل بر اساس این رویکرد است که از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال mAb خاص مانند anti-BMP 2 برای به دام انداختن BMP-2 اندوژن برای ارتقای بازسازی استخوان استفاده شود. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که AMOR جایگزین امیدوارکننده‌ای در بازسازی

۱۶. Antibody- Mediated Osseous Regeneration (AMOR)

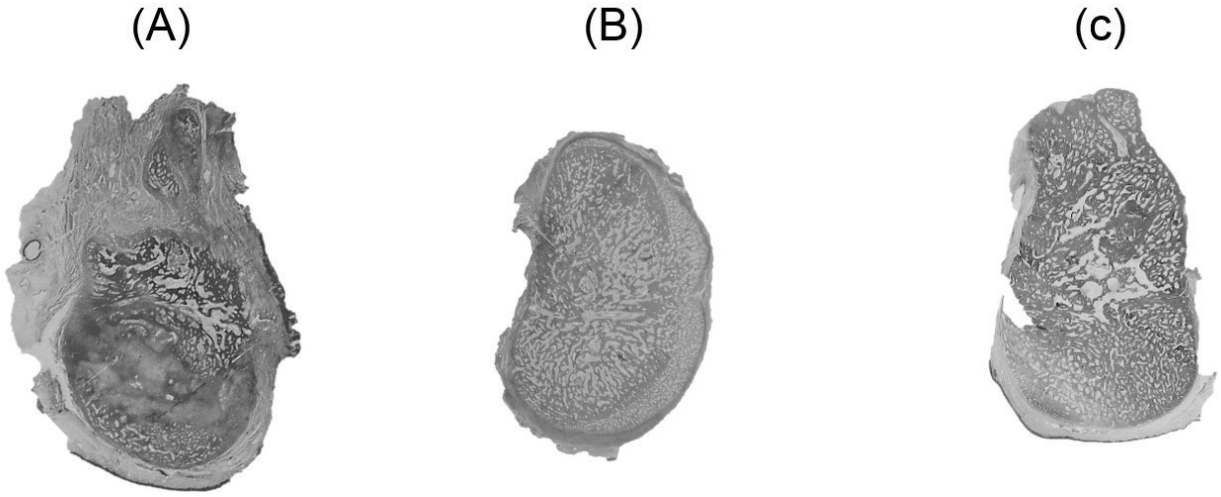
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jmciri.ir at 14:02 +0430 on Wednesday June 12th 2019




شکل ۵. تصاویر سی‌تی اسکن استخوان سای در ضایعات تکه‌ای سگ. تصاویر سه بعدی ضایعات پس از ۶ هفته در گروه‌های isotype mAb (a1), rhBMP-2 (b1), and anti-BMP-2 mAb (c1). سکشن‌های کرونالی نام‌های مرکز ضایعه در هفته ششم در گروه‌های isotype mAb (a2), rhBMP-2 (b2), and anti-BMP-2 mAb (c2). همان سکشن‌ها در هفته ۱۲ ام در گروه‌های isotype mAb (a3), rhBMP-2 (b3), and anti-BMP-2 (c3) groups.




شکل ۶. هیستومیکروگراف‌های رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ایوزین در نمونه‌های استخوانی در بزرگ نمایی x۴۰. درصد استخوان جدید ساخته شده داخل هیستومیکروگراف‌ها با آنالیز هیستومورفومتری اندازه‌گیری شد. گروه‌های (A): isotype mAb; (B): rhBMP-2 ;(C): anti-BMP-2

بافت استخوان به صورت in vitro و in vivo می‌باشد (۲۹-۲۶). در ضایعات بحرانی جمجمه مدل رت و خرگوش، ترمیم کامل بعد از ۶ تا ۸ هفته مشاهده گردید (۲۸) و ضایعه مشابهی در خرگوش‌ها مقدار قابل توجهی از ساخت استخوان جدید را بعد از ۴۵ روز نشان داد (۲۹). ارزیابی تأثیرات در مدل‌های بزرگ‌تر به منظور تقلید شرایط بالینی واقعی ضروری است. خجسته و همکاران با استفاده از اصل AMOR در ضایعات تکه‌ای مندیبل سگ، نتایج ساخت استخوان جدید با گروه rh-BMP-2 را نشان دادند (۲۰). ضایعه تکه‌ای یک طرفه ۱۵ میلی‌متری در مندیبل ایجاد شده و با پلیت تیتانیومی ثابت شد. ماده معدنی غیرآلی گاوی به همراه ۱۰% کلاژن ABBM-C به وسیله ۲۵µg/mL از chimeric anti-BMP-2mAb یا isotype-matched mAb (کنترل منفی) فعال شد. BMP-2 (rh) به عنوان کنترل مثبت بود. آنالیزهای مورفومتریک بر تصاویر هیستولوژی و سی‌تی اسکن CT صورت گرفت. تراکم استخوان در نواحی ضایعات بهبود یافته ۱۲ هفته پس از جراحی در نواحی دارای isotype mAb, rhBMP-2, an-ti-BMP-2 mAb به ترتیب ۱۰/۵۲ ± ۱۳۶۰/۸۱ هانسفیلد، ۱۴۱/۱۶ ± ۱۰۴۴/۲۷ و ۱۷۹/۴۱ ± ۸۳۹/۴۵ بود (شکل ۵). میزان شکل‌گیری استئویید در گروه‌های anti-BMP-2 mAb (۸/۶۷ % ± ۴۲/۹۹) و گروه rhBMP-۲ ((۲/۹۶ % ± ۴۸/۹۷) به میزان قابل توجهی متفاوت نبود اما از نواحی دارای isotype control mAb (۵/۳۵ % ± ۲۶/۸) بالاتر (P<۰/۰۵) بود (شکل ۶). رویکرد جدید ارایه آنتی‌بادی‌ها نتایج امیدوارکننده‌ای برای بازسازی بافت استخوان نشان داده است. با این حال، مطالعات بیشتر به ویژه در حیوانات بزرگ‌تر با ارائه بالینی احتمالی آن‌ها در آینده ضروری است.

## نتیجه‌گیری

استخوان اتوژن ممکن است در آینده با ساختارهای هوشمند جایگزین شود. آزادسازی تدریجی فیزیولوژیک فاکتورهای رشد به همراه MSCs کشت یافته در داربست کامپوزیتی، روش‌های کشت سلول دینامیک و ارتقای بستر دریافت‌کننده، همگی بر چشم‌انداز آینده تاثیرگذار می‌باشند.

www.SID.ir

Archive of SID



Downloaded from jmciri.ir at 14:02 +0430 on Wednesday June 12th 2019

# مراجع


1. Bastami F, Nazeman P, Moslemi H, Rezai Rad M, Sharifi K, Khojasteh A. Induced pluripotent stem cells as a new getaway for bone tissue engineering: A systematic review. Cell Prolif 2017;50(2).

2. Lian Q, Chow Y, Esteban MA, Pei D, Tse HF. Future perspective of induced pluripotent stem cells for diagnosis, drug screening and treatment of human diseases. Thromb Haemost 2010;104(1):39-44.

3. Chijimatsu R, Ikeya M, Yasui Y, Ikeda Y, Ebina K, Moriguchi Y, et al. Characterization of Mesenchymal Stem Cell-Like Cells Derived From Human iPSCs via Neural Crest Development and Their Application for Osteochondral Repair. Stem Cells Int 2017;2017:1960965.

4. Qi X, Zhang J, Yuan H, Xu Z, Li Q, Niu X, et al. Exosomes Secreted by Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells Repair Critical-Sized Bone Defects through Enhanced Angiogenesis and Osteogenesis in Osteoporotic Rats. Int J Biol Sci 2016;12(7):836-49.

5. Della Porta G, Nguyen BN, Campardelli R, Reverchon E, Fisher JP. Synergistic effect of sustained release of growth factors and dynamic culture on osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells. J Biomed Mater Res A 2015;103(6):2161-71.

6. Bastami F, Paknejad Z, Jafari M, Salehi M, Rezai Rad M, Khojasteh A. Fabrication of a three-dimensional β-tricalcium-phosphate/gelatin containing chitosan-based nanoparticles for sustained release of bone morphogenetic protein-2: Implication for bone tissue engineering. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2017;72:481-491.

7. Kim S, Tsao H, Kang Y, Young DA, Sen M, Wenke JC, et al. In vitro evaluation of an injectable chitosan gel for sustained local delivery of BMP-2 for osteoblastic differentiation. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2011;99(2):380-90.

8. Villa MM, Wang L, Huang J, Rowe DW, Wei M. Bone tissue engineering with a collagen-hydroxyapatite scaffold and culture expanded bone marrow stromal cells. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2015;103(2):243-53.

9. Teotia AK, Gupta A, Raina DB, Lidgren L, Kumar A. Gelatin-Modified Bone Substitute with Bioactive Molecules Enhance Cellular Interactions and Bone Regeneration. ACS Appl Mater Interfaces 2016;8(17):10775-87.

10. Khojasteh A, Fahimipour F, Eslaminejad MB, Jafarian M, Jahangir S, Bastami F, et al. Development of PLGA-coated β-TCP scaffolds containing VEGF for bone tissue engineering. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2016;69:780-8.

11. Koike N, Fukumura D, Gralla O, Au P, Schechner JS, Jain RK. Tissue engineering: creation of long-lasting blood vessels. Nature 2004;428(6979):138-9.

12. Coultas L, Chawengsaksophak K, Rossant J. Endothelial cells and VEGF in vascular development. Nature 2005;438(7070):937-45.

13. Davies N, Dobner S, Bezuidenhout D, Schmidt C, Beck M, Zisch AH, et al. The dosage dependence of VEGF stimulation on scaffold neovascularisation. Biomaterials 2008;29(26):3531-8.

14. Nokhbatolfoghahaei H, Rad MR, Khani MM, Shahriari S, Nadjmi N, Khojasteh A. Application of Bioreactors to Improve Functionality of Bone Tissue Engineering Constructs: A Systematic Review. Curr Stem Cell Res Ther 2017;12(7):564-599.

15. Du D, Asaoka T, Ushida T, Furukawa KS. Fabrication and perfusion culture of anatomically shaped artificial bone using stereolithography. Biofabrication 2014;6(4):045002.

16. Lim KT, Kim J, Seonwoo H, Chang JU, Choi H, Hexiu J, et al. Enhanced osteogenesis of human alveolar bone-derived mesenchymal stem cells for tooth tissue engineering using fluid shear stress in a rocking culture method. Tissue Eng Part C Methods 2013;19(2):128-45.

17. Takano-Yamamoto T, Fukunaga T, Takeshita N. Gene Expression Analysis of CCN Protein in Bone Under Mechanical Stress. Methods Mol Biol 2017;1489:283-308.

18. Partap S, Plunkett NA, O'brien FJ. Bioreactors in tissue engineering. InTissue engineering 2010. IntechOpen.

19. Rauh J, Milan F, Günther KP, Stiehler M. Bioreactor systems for bone tissue engineering. Tissue Eng Part B Rev 2011;17(4):263-80.

20. Khojasteh A, Hosseinpour S, Dehghan MM, Mashhadiabbas F, Rezai Rad M, Ansari S, et al. Antibody-Mediated Osseous Regeneration for Bone Tissue Engineering in Canine Segmental Defects. Biomed Res Int 2018;2018:9508721.

21. Wozney JM. Overview of bone morphogenetic proteins. Spine 2002;27(16S):S2-8.

22. Koh JT, Zhao Z, Wang Z, Lewis IS, Krebsbach PH, Franceschi RT. Combinatorial gene therapy with BMP2/7 enhances cranial bone regeneration. J Dent Res 2008;87(9):845-9.

23. Carragee EJ, Hurwitz EL, Weiner BK. A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned. Spine J. 2011;11(6):471-91.

24. Vo TN, Kasper FK, Mikos AG. Strategies for controlled delivery of growth factors and cells for bone regeneration. Adv Drug Deliv Rev 2012;64(12):1292-309.

25. Moshaverinia A, Ansari S, Chen C, Xu X, Akiyama K, Snead ML, et al. Co-encapsulation of anti-BMP2 monoclonal antibody and mesenchymal stem cells in alginate microspheres for bone tissue engineering. Biomaterials 2013;34(28):6572-9.

26. Ansari S, Phark JH, Duarte S Jr, Paulino da Silva M, Sharifzadeh N, Moshaverinia A, et al. Biomechanical analysis of engineered bone with anti-BMP2 antibody immobilized on different scaffolds. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2016;104(7):1465-73.

27. Ansari S, Freire M, Choi MG, Tavari A, Almohaimeed M, Moshaverinia A, et al. Effects of the orientation of anti-BMP2 monoclonal antibody immobilized on scaffold in antibody-mediated osseous regeneration. J Biomater Appl 2015;30(5):558-67.

28. Freire MO, You HK, Kook JK, Choi JH, Zadeh HH. Antibody-mediated osseous regeneration: a novel strategy for bioengineering bone by immobilized anti-bone morphogenetic protein-2 antibodies. Tissue Eng Part A 2011;17(23-24):2911-8.

29. Freire M, Choi JH, Nguyen A, Chee YD, Kook JK, You HK, et al. Application of AMOR in craniofacial rabbit bone bioengineering. Biomed Res Int 2015;2015:628769.


www.SID.ir