تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی – ملکولی

دوره چهارم، شماره شانزدهم، پائیز ۱۳۹۳

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی زیست‌سازگاری داربست‌های کیتوسان/ لامینین

سایه اتون[۱]، سید محمد اطیابی[۲]، شیوا ایرانی[۳] محمد تقی خراسانی[۴] ، مرتضی دلیری[۵]

۱. *دانشجوی کارشناسی ارشد سلولی مولکولی دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.*
۲. *استادیار گروه فناوری‌های نوین، بخش پایلوت بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران*
۳. *استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.*
۴. *دانشیار گروه بیومتریال، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، تهران، ایران.*
۵. *استادیارگروه دام و آبزیان، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی، تهران، ایران*

چکیده

سابقه و هدف: مهندسی بافت حوزه رو به رشدی برای ترمیم و جایگزینی عملکرد معیوب بافت یا ارگان آسیب دیده می‌باشد و امروزه به عنوان یک درمان نوین، جایگزین روش‌های مرسوم پیوند مطرح گردیده و به این منظور مواد زیستی پلیمری(داربست‌ها) و سلول‌های زنده را به‌کار می‌گیرد. داربست‌هایی در مقیاس زیر میکرون و نانو ساخته می‌شود که ساختاری مشابه ماتریکس طبیعی خارج سلولی (ECM) بوده و از چسبندگی، تکثیر و تمایزسلولی حمایت می‌کند و در عین حال پایداری فیزیکی و شیمیایی و ساختار زیستی مناسب را برای بافت جدید فراهم می‌کند. در پژوهش حاضر از نانوکامپوزیت کیتوسان/لامینین به عنوان داربست برای رشد و تکثیر سلول استفاده شده است.

مواد و روش‌ها: داربست‌های نانوکامپوزیت کیتوسان/لمینین برای کاشت و تکثیر سلولهای فیبروبلاست رده ی L929 با استفاده از روش خشک‌کن انجمادی استفاده گردید. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی داربست توسط میکروسکوپ الکترونی به‌طور کامل بررسی شد. سپس میزان زیست‌سازگاری داربست مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: مشاهدات حاصل از میکروسکوپ الکترونی حاکی از تشکیل ریزساختارهای متخلخل سیلندری شکل و حفرات به‌هم پیوسته بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که استفاده از این داربست به دلیل عدم سمیت و زیست‌سازگاری مناسب، امکان رشد و اتصال مناسب سلول‌های فیبروبلاست رده ی L929 را فراهم می‌کند.

کلمات کلیدی : مهندسی بافت، داربست، کیتوسان، لامینین.

مقدمه

به طور سنتی، کاشت بافت یا پیوند عضو برای ترمیم قسمت‌های آسیب دیده بدن استفاده می‌شود اما اغلب با کمبود اهداءکننده و مشکلات ایمونولوژیک مربوط به بیماری‌های عفونی مواجه می‌شود (۲۷). امروزه مهندسی بافت به عنوان یک درمان نوین، جایگزینی برای متدهای مرسوم پیوند مطرح گردیده (۱۶) اگرچه ساخت یک

نویسنده مسئول : شیوا ایرانی
پست الکترونیکی: Shi_irani@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۳/۰۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۵/۲۷

Archive of SID
www.SID.ir

بافت عملکردی کار پر زحمتی است اما راه امیدوارکننده‌ای را برای غلبه بر کمبود منبع اهداءکننده فراهم می‌کند و موجب بهبود زندگی میلیون‌ها نفر از بیماران می‌شود (۲۹). هدف از مهندسی بافت ترمیم از طریق به‌کارگیری ابزار زیستی مثل سلول‌های نرمال یا تغییریافته همراه با ابزارهای سنتتیک مؤثر مانند مواد زیستی برای طراحی داربست می‌باشد (۲۶). در این میان، ظهور و گسترش علوم و فناوری نانو موجب شده است تا راه‌کارهای مؤثری برای ساخت داربست‌های سه-بعدی با پایه نانوکامپوزیتی پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر زیست سازگار به‌وجود آید (۲۳). علت استفاده ازداربست، ایجاد محیطی مناسب و مشابه ماتریکس خارج سلولی است که به سبب آن حمایت فیزیکی و تحریک شیمیایی لازم برای رشد سلول جدید فراهم می‌شود (۳۰). کیتوسان پلیمری خطی با ساختاری ساکاریدی است (۱۲) که از هیدرولیز پلیمر طبیعی کیتین به‌دست می‌آید(۵) و به‌دلیل داشتن گروه‌های آمینی و هیدروکسیل برای پیوندزدن با گروه‌ها یا مولکول‌های زیست فعال به‌خوبی عمل می‌نماید (۱۳و۱۲) و دارای خصوصیات منحصر به فردی است که از آن جمله می‌توان به زیست تخریب‌پذیری، زیست سازگاری و فعالیت ضد باکتریایی آن اشاره کرد (۲۸) که کیتوسان را انتخاب مناسبی برای کاربردهای متنوع مهندسی بافت می‌کند (۱۰). خواص مکانیکی و یا زیستی و زیست فعالی کیتوسان را می‌توان از طریق ترکیب آن با مواد فعال زیستی دیگر، همچون لامینین بهبود بخشید (۱۸). لامینین به علت فعالیت‌های زیستی متعددی که دارد باعث پیشرفت چسبندگی، گسترش، مهاجرت سلول‌ها در محیط in vivo می‌شود (۱۸).

تاکنون روش‌های متعددی جهت تولید داربست‌های متخلخل برای کاربردهای مختلف مهندسی بافت مورد بررسی قرار گرفته‌اند که هر کدام مزایا و محدودیتهای خاص خود را دارند. از مهم‌ترین این فرآیندها می‌توان به الکتروریسی[۱]، روش خود تجمعی[۲] و روش خشک‌کن انجماد ی[۳] اشاره کرد (۶). امروزه با پیشرفت‌های روزافزون در علم نانوتکنولوژی سعی بر آن است که استفاده از داربست‌های نانو مقیاس جایگزین مدل‌های پیشین گردند (۳۳).

در این راستا روش خشک‌کن انجمادی از روش‌های رایج بوده و امکان تولید فوم‌های شدیداً متخلخل با تخلخل-هایی بیشتر از ۹۰٪ و توانایی کنترل اندازه حفرات در محدوده ۲۰ تا ۲۰۰ میکرومتر با این روش میسر است. اصول کار به این صورت است که.این روش شامل ایجاد یک امولسیون ازطریق همگن کردن محلول پلیمر – حلال و آب، سرد کردن سریع امولسیون جهت حفظ ساختار حالت مایع و حذف حلال و آب در اثر انجماد و خشک‌سازی است. به طور معمول از فرایند اتصال عرضی با ترکیبات شیمیایی همچون گلوتارآلدئید برای افزایش مقاومت مکانیکی نانوکامپوزیت پس از ساخت داربست به روش خشک‌کن انجمادی استفاده می‌شود (۲۴).

مواد و روش‌ها

ساخت داربست

برای ساخت نانو غشای کیتوسان طی روند روش خشک‌کن انجمادی (تهیه محلول ۲٪ وزنی کیتوسان) ۲ گرم از کیتوسان به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در ۱۰۰میلی لیتر اسید استیک با چرخش ملایم حل شد تا محلول ۲ درصد همگن ایجاد شود. به منظور شبکه‌ای کردن و ایجاد اتصالات عرضی در ساختار نمونه‌های پلیمری، از ماده گلوتارآلدئید استفاده شد. محلول رقیق شده گلوتارآلدئید به صورت قطره قطره به محلول‌های پلیمری که بر روی هم‌زنی با دور ۱۲۰ دور بر دقیقه قرار داشتند اضافه شد تا نمونه‌های کاملاً یکنواختی حاصل شود.

برای تهیه نمونه‌ها با روش خشکاندن انجمادی، محلول کیتوسان شبکه‌ای شده با گلوتارآلدئید داخل بشرهایی به حجم ۱۰ میلی‌لیتر با ضخامت حدود ۲ الی ۳ میلی متر ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا به صورت جامد درآیند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه خشکاننده انجمادی در دمای۲۵- درجه سانتی‌گراد و با خلأ ۳۳ میلی بار قرار داده شدند. پس از تهیه داربست کیتوسانی، آن را با فاصله حدود ۳ الی ۴ سانتی‌متر بالای محلول گلوتارآلدئید به

۱- Electrospinning
۲- Self-Assembly Method
۳- Freeze-Drying

Archive of SID
www.SID.ir

مدت ۵ ساعت قرار گرفت به‌طوری‌که در اثر بخار حاصل از گلوتارآلدئید رنگ داربست تا حدودی تغییر کرده و کرم رنگ شدند. پس از اتصال عرضی داربست‌ها توسط بخار گلوتارآلدئید، داربست‌ها چندین بار با سرم فیزیولوژی و سپس با آب دو بار تقطیر شستشو داده شد تا باقی‌مانده حلال (اسید استیک) از آن خارج گردد (۱۷). سپس ۳۰۰ میکرولیتر از لامینین L2020 داخل ۳ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل شد و بعد داربست‌ها داخل ظرف حاوی لامینین قرار داده شد بطوریکه کاملاً اطراف داربست آغشته به لامینین گردید. لازم به ذکر است که بهتر است ضخامت داربست‌ها تا حد ممکن کم باشد که نفوذ لامینین در آن بهتر صورت پذیرد. سپس داربست‌ها داخل بشر قرار داده شد تا خشک شده و برای تست‌های بعدی آماده گردد.

کشت سلول

در این پژوهش رده سلولی L929 در فلاسک کشت سلول cm^2 ۵۰ از بانک سلولی انستیتو پاستور تهیه شد . سپس در محیط کشت RPMI (محصول شرکت Gibco، انگلستان) و غلظت ۱۰ درصد سرم جنینی گاوی [۴] (۱۰٪ FBS) (محصول شرکت Gibco، انگلستان) و۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر آنتی-بیوتیک پنی‌سیلین- استرپتومایسین (محصول شرکت Gibco ، انگلستان) کشت داده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد Co2 گرماگذاری شد.

بررسی ریخت‌شناسی نانوکامپوزیت کیتوسان/ لامینین

ریخت‌شناسی نانوکامپوزیت حاصل از روند خشک‌کن انجمادی بااستفاده از میکروسکوپ الکترونی[۵] (SEM) تعیین شد. کلیه نمونه‌ها، ابتدا با لایه‌ای از طلا پوشانده شده و سپس عکس‌های مربوط با اعمال ولتاژ ۲۰ کیلوولت تهیه شدند.

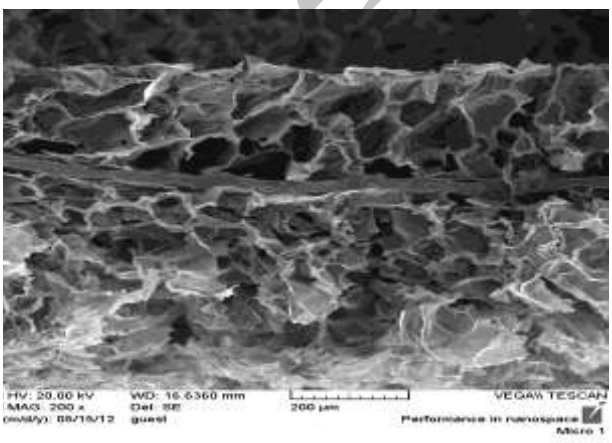
بررسی زیست سازگاری نانوکامپوزیت کیتوسان/لامینین

با استفاده از کشت سلول‌های فیبروبلاستی (L929) بر روی ساختارهای تهیه شده، میزان زیست‌پذیری نانوکامپوزیتهای کیتوسان/لامینین در ۲۴ و ۴۸ ساعت مورد بررسی، قرار گرفت. داربست‌ها قبل از کشت، به مدت ۲۰ دقیقه با اشعه فوق بنفش (UV) استریل شدند و به مدت ۶ ساعت در محیط کشت بدون سرم قرار گرفتند. پس از رسیدن سلول‌ها به تراکم مناسب، با محلول تریپسین۲۵٪- EDTA از فلاسک جدا شدند و پس از شمارش به تعداد $۱۰^۳ \times ۵$ سلول به هر خانه از پلیت ۲۴ خانه‌ای که از قبل، داربست‌های استریل آغشته شده با محیط کشت در آن قرار داده شده بودند، منتقل شد. خانه‌هایی محتوی همین میزان سلول، اما بدون داربست به عنوان کنترل در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ارزیابی ریخت‌شناسی نانوکامپوزیت کیتوسان/لامینین

ساختار کامپوزیت کیتوسان/لامینین تهیه شده و همچنین تخلخل آن با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بررسی شد. در شکل (۱) مشاهدات حاصل از میکروسکوپ الکترونی نشان داد که ساختار داربست بصورت ریزساختارهای متخلخل سیلندری شکل و حفرات به‌هم پیوسته می‌باشد. این تصویر به‌خوبی وجود ارتباط داخلی (به‌هم پیوستگی) بین خلل و فرج موجود در داربست را نشان می‌دهد. وجود این ارتباطات بین منافذ داربست نقش مهمی در غذا رسانی به سلول و دفع پسماندهای حاصل از فعالیتهای زیستی سلول، ایفا می کند.



[۴] - Fetal Bovine Serum
[۵] - Scanning Electeron Microscope

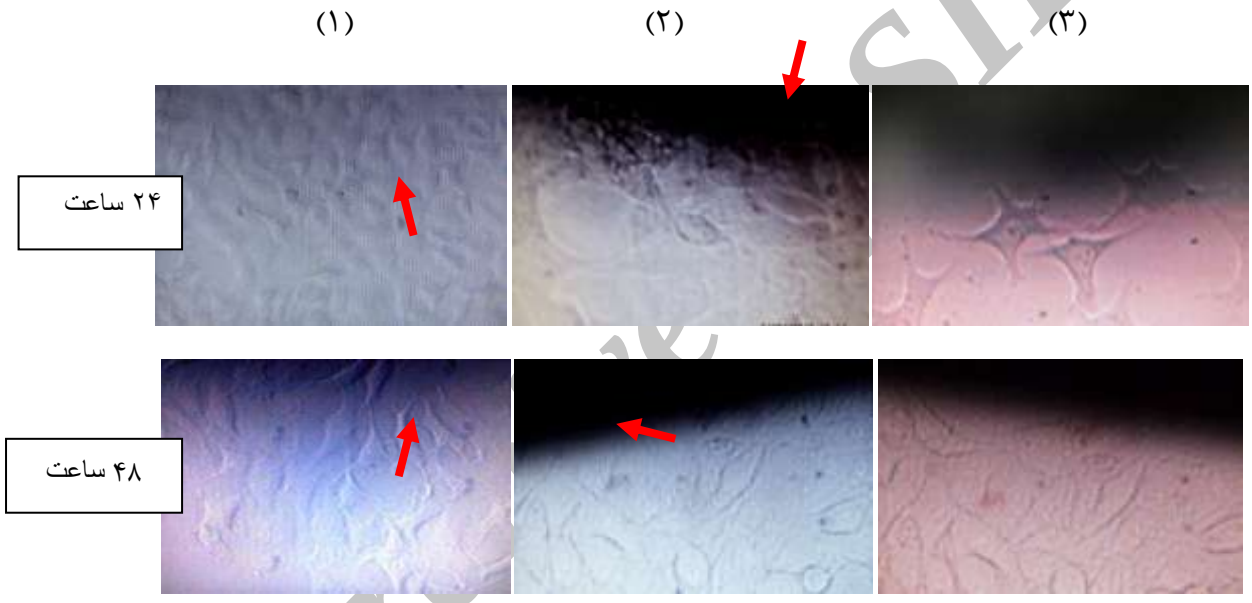
Archive of SID
www.SID.ir

شکل (۱) میکروگراف الکترونی از داربست کیتوسان-لامینین قبل از کاشت سلول که نمایانگر ریزساختار های متخلخل سیلندری شکل و حفرات به هم پیوسته می باشد.

تصاویر میکروسکوپ معکوس (Bell: INV-100 FL) (شکل۲)، نتایج کشت سلولهای L929 را بر داربست‌های کیتوسان.

ارزیابی زیست‌سازگاری نانوکامپوزیت کیتوسان/لامینین

لامینین وکیتوسان در ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان می‌دهند. در ۴۸ ساعت بیشترین میزان تکثیر سلول‌ها بر روی داربست کیتوسان-لامینین نسبت به داربست کیتوسان اتفاق افتاد که نمایانگر عملکرد بهتر این داربست به‌دلیل حضور پروتئین طبیعی در داربست بود.



شکل (۲) تصاویر تهیه شده از رشد سلول L929 در کنار داربست‌ها ۱) کیتوسان، ۲) کیتوسان/ لامینین و ۳) کنترل (کف پلیت بدون داربست). محل داربست‌ها با پیکان مشخص شده است. افزایش میزان رشد با گذشت زمان تا ۴۸ ساعت پس از کشت

بحث

برای ساخت داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت، مواد طبیعی و سنتتیک متفاوتی مانندکلاژن، فیبروئین ابریشم، کیتوسان و ژلاتین استفاده شده اند. در سال ۲۰۰۲ Sipe، و در سال ۲۰۰۵ Segura و همکارانش، نشان دادند که داربست‌های طبیعی به‌علت زیست‌سازگاری، محیط مناسبی جهت چسبندگی سلول‌ها فراهم می‌کنند. چندین محقق در مطالعات جداگانه نشان دادند که پروتئین‌های طبیعی در ماتریکس خارج سلولی به‌صورت خالص شده، شامل، کلاژن و فیبرونکتین نقش قابل توجهی در تکامل آکسون و ترمیم دارند (۱۱).

تحقیقات فراوانی در زمینه استفاده از کیتوسان به‌منظور ساخت داربست مناسب انجام شده است. در سال ۲۰۰۳ محققان ژاپنی، لوله‌های کیتوسان - اپاتیت را که از زردپی

www.SID.ir

خرچنگ تهیه کرده بودند برای هدایت جانشینی عصب سیاتیک، در موش‌های نر بالغ استفاده کردند که نتایج موفقیت‌آمیزی را به همراه داشت (۳۲). محققان ایتالیایی در سال ۲۰۰۶ آزمون چسبندگی را برای نورو بلاست‌ها روی فیلمهای کیتوسان– ژلاتین و کیتوسان- پلی کاپرالاکتون انجام دادند و متوجه شدند که چسبندگی سلول‌ها روی کیتوسان –ژلاتین بهتر از کیتوسان-پلی کاپرالاکتون است(۲۱).گروه دیگری از محققان در سال۲۰۰۷ دریافتند که فیلمهای کربوکسی متیل کیتوسان باعث افزایش گسترش نورون‌ها شده و بستر مناسبی را برای تکثیر این سلول‌ها در مقایسه با فیلم‌های کیتوسان فراهم می‌کند. یک گروه از محققین آمریکایی در سال ۲۰۰۸ با استفاده از ترکیبی از کیتوسان و کلاژن تیپ I موش هدایت عصبی را برای سلول‌ها ایجاد کردند، که بهتر از کیتوسان خالص بود (۲۵). نتایج آن‌ها مشخص کرد که استفاده از کیتوسان می‌تواند بافت آسیب‌دیده را ترمیم کند. به این ترتیب کیتوسان یک ماده‌ی حمایت کننده‌ی بالقوه بوده و یک رهیافت جدید برای بهبود و درمان جراحات بافتی محسوب می‌شود(۳۲). اما تاکنون تحقیقی در زمینه بررسی نانوکامپوزیت کیتوسان/لامینین صورت نگرفته است.

ویژگی مهم یک ماده نانو زیستی، تراوایی آن است (۳۱). سلول‌ها در مخلوط پیچیده‌ای از منافذ و تیغه‌های ECM در مقیاس‌های نانومتری زندگی می‌کنند (۱۹). در شرایط بدن جاندار، سلول‌ها در واقع در ریزمحیط‌های سه‌بعدی قرار می-گیرند، که اطرافشان به‌وسیله‌ی سلول‌های دیگر و ECM احاطه می‌شود. ماده‌ی زمینه‌ی برون سلولی از ماکرومولکول-های مترشحه از سلول‌ها به محیط اطرافشان تشکیل شده است. این ماکرومولکول‌ها ناحیه‌ای از مواد غیر سلولی را در فاصله‌ی بین سلول‌ها تشکیل می‌دهند. ماده‌ی زمینه‌ی برون سلولی یک ناحیه حیاتی برای تکوین اغلب جانوران می‌باشد. چسبندگی سلولی، مهاجرت سلولی، و تشکیل صفحات و مجراهای اپیتلیالی، همه به توانایی سلول‌ها در ایجاد اتصال بامادهٔ زمینه‌ی برون سلولی بستگی دارد. در بعضی موارد، مثل تشکیل اپی تلیال، این اتصالات بی‌نهایت محکم هستند. در موارد دیگر مثل وقتی که سلول‌ها مهاجرت می‌کنند، اتصالات ایجاد شده، شکسته و مجدداً ایجاد می‌شوند. گاهی ماده‌ی زمینه برون سلولی تنها به عنوان ماده‌ی نفوذپذیر برای اتصال یا مهاجرت سلول‌ها، در برخی موارد به عنوان یک هادی جهت حرکت سلول‌ها، یا پیامی برای یک رویداد تکوینی عمل می‌کند که اجزای آن مثل کلاژن، الاستین و لامینین در مقیاس‌های نانو با موتیف‌های زیست فعال اختصاصی سازماندهی می‌شوند (۲۰و۴و۲و۱). ECM نقش مهمی را در ایجاد رفتار سلولی، از طریق پیام‌های بیوشیمیایی و عوامل توپوگرافیکی بازی می‌کند (۳۳و۲۲و۱۴) و تعادل (هموستازی) سلول را تنظیم می‌کند (۹). با تقلید از ECM و عناصر ساختاری در مقیاس نانوی موجود در مهندسی بافت، داربست-ها بر پاسخ سلولی در برخورد سلول – داربست اثر می‌گذارند (۱۵). نانو تکنولوژی مسیر جالبی را برای مهندسی بافت در درمان ضایعات بافتی پیشنهاد می‌کند با به‌کارگیری نانو تکنولوژی، داربست بیومتریال می‌تواند به میزان اتمی – مولکولی و ماکرو مولکولی دست‌کاری شود و به صورت ساختارهای اختصاصی هندسی و توپولوژیکی در مقیاس‌های ۱-۱۰ nm ساخته شود (۱۹و۱۵) ایجاد داربست‌های مهندسی بافت در مقیاس نانو ممکن است ویژگی‌های جدید غیر قابل پیش‌بینی همچون خواص مکانیکی (سخت‌تر)، فیزیکی (سبک‌تر)، نفوذپذیرتر (تنظیم‌پذیری)، افزایش زیست‌سازگاری، بهبود تماس هدایتی، کاهش اصطحکاک (سایش و حساسیت) باشد و بنابراین نیاز به جراحی مجدد و القاء رشد بافت اطراف پیوند را کاهش دهد (۳۱و۱۹و۱۵) چنین داربست‌هایی با این عملکرد های جدید ممکن است در مقیاس‌های میکرو یا ماکرو قابل دسترس نباشند(۳۱). بازسازی دوباره و تولید مجدد عملکرد اندام اغلب به داربست سه‌بعدی نفوذپذیر به عنوان یک الگو نیاز دارد (۱۹). تراوایی و اتصال بینابینی منافذ درون داربست برای چسبیدن و تکثیر سلول و توزیع مواد مغذی و اکسیژن در سرتاسر ساختار سه بعدی ضروری است (۳۱). پوشاندن سطح حمایت کننده، با لامینین (یا یکی از پروتئین-های ماتریکس سلولی) برای اتصال و رشد سلول ضروری می-باشد(۱۸). اتصال سلول به یک سوبسترا از طریق واکنش با پروتئین‌های چسبندگی مثل فیبرونکتین، ویترونکتین و

Archive of SID

www.SID.ir

لامینین وساطت می‌شود (۱۹). لامینین از اجزای اصلی نوعی ماده زمینه‌ی برون سلولی به نام غشای پایه هستند (۱۸). غشای پایه همان صفحات بسیار منظمی است که بافت اپی تلیالی را احاطه می‌کنند. اینتگرین‌ها، گیرنده‌های مولکول‌های ماده‌ی زمینه‌ی برون سلولی هم‌چون لامینین هستند. این گیرنده‌ها داربست درون و برون سلولی را به‌هم متصل می‌کنند و به آنها این امکان را می‌دهند که به طور هماهنگ با یکدیگر عمل کنند (۳). اینتگرین‌ها در سطح خارج سلول به توالی آرژینین – گلیسین – آسپارتات (RGD) که در چندین پروتئین هم‌چون لامینین وجود دارد متصل می‌گردد (۷و۳). اینتگرین‌ها در سطح سیتوپلاسیمی به دو پروتئین به نام‌های تالین و اکتنین که خود در ارتباط با ریز رشته‌های اکتین هستند متصل می‌شوند(۳). این اتصال دو جانبه سلول را قادر می‌سازد که با وجود ماده‌ی زمینه‌ی برون‌سلولی ثابت، با انقباض رشته‌های اکتین حرکت کند (۷) در واقع پروتئین اینتگرین دایمری است که با فعال شدن، سیگنال به هسته می‌فرستد که در نتیجه اولین اتفاقی که پس از این سیگنال روی می‌دهد، چسبندگی است. گیرنده‌های اینتگرین در سطح سلول و در تماس سلول با سلول هستند. تعامل بین گیرنده‌ای خارج سلولی اینتگرین ولیگاند خارج سلولی تولید انواع سیگنال می‌کند. این برهم‌کنش منجربه ایجاد مسیرهای پشت سر هم وفسفوریلاسیون سریع پروتئین تیروزین درسیتوپلاسم وچسبندگی کانونی کینازتیروزین، می‌شود. یکی دیگر از مسیرهای سیگنالینگ فعال ، توسط برهمکنش‌های اینتگرین منجر به سازماندهی سنتز پروتئین در سیتوپلاسم می‌شود.در ECM پروتئین‌های مختلفی وجود دارد که این پروتئین‌ها می‌توانند اینتگرین را فعال کنند. همان‌طورکه گفتیم، سه اسید آمینهيRGD و ساخت سطح داربست‌ها به صورتی که حاوی لیگاندهای باشند که در سطح سلول گیرنده آنها وجود دارد که باعث فعال شدن اینتگرین می‌شوند. اگر RGD را در بستر قرار دهیم، ارتباط بستر با اینتگرین بیشتر شده و ارسال سیگنال صورت می‌گیرد که باعث چسبندگی، تکثیر و تمایز می‌شود(۸).

در این مطالعه تصاویر SEM به‌دست‌آمده از داربستهای کیتوسان و کیتوسان-لامینین، قبل از نشاندن سلول بر روی آن نشان‌دهنده‌ی یک داربست سه بعدی در مقیاس نانومتر و با خلل و فرج بسیار بود. هر ساختاری که به‌عنوان داربست مطرح می شود باید قادر باشد تا با سلول‌ها واکنش مناسب دهد و این ارتباط را تسهیل کند. این نتایج حاکی از آن است که سلول‌ها به داربست‌های کیتوسان / لامینین به دلیل میزان تخلخل بالا در ۲۴ ساعت پس از کشت به طور مناسب اتصال برقرار کردند اما پس از گذشت زمان۴۸ ساعت، به دلیل مناسب بودن ساختار داربست کیتوسان / لامینین به دلیل حضور لامینین که یکی از پروتئین‌ها ماتریکس خارج سلولی است و توانایی تقلید از ساختار ECM[6] طبیعی را دارد، به خوبی افزایش چسبندگی و رشد سلول را نشان دادند.

بنابراین به نظر می‌رسد که نانوکامپوزیت کیتوسان/ لامینین به دلیل زیست سازگاری مناسب، می تواند در ترمیم بافت اسیب دیده به‌منظور مهندسی بافت، استفاده شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از همکاری کارشناسان و مسئولین پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران و دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات کمال تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[6] - Extra Cellular Matrix

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

1. Chapekar MS, Skalak S. Tissue Engineering: Challenges and Opportunities. J Biomed Mater Res, 2000; 53: 617–620.
2. Chen G, Ushida T, Tateishi T .Scaffold Design for Tissue Engineering. Biosci, 2002; 2: 67-77.
3. Diederich .M. Signal Transduction Pathways as therapeutic targets. Cell Sci, 2006; 23-607.
4. Friedenstein AJ, chailakhajan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. Cell Tissue Kinel, 1970; 3: 393-403.
5. Guerra G, Barbani N, Gagliardi Ma, Rosellini E, Cristallini C. Chitosan-Based Macromolecular Biomaterials for the Regeneration of Chondroskeletal and Nerve Tissue. International Journal of Carbohydrate Chemistry, 2011; 9
6. Gunatilake AP, Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. European Cells and Material, 2003; 5: 1-16
7. Haj F, Dubois C, Moran B. MPTP-1B is an essential positive regulator of platelet integrin signaling. The Journal of Cell Biology, 2005; 837–845.
8. Kam L, Shain W, Turner J N, Bizios R. Selective adhesion of astrocytes to surfaces modified with immobilized peptides. Biomaterials, 2002, 23 (2): 511-515.
9. Kaplan D, Boccaccini A, Bank RA. Design strategies for tissue engineering scaffolds. Science, 2009;260:920-926.
10. Khor E, Lim LY. Implantable applications of chitin and chitosan. Biomaterials, 2003; 24: 2339
11. Kim I. Y, Seo. S. J., Moon. H. S. et al. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. Biotechnology Advances, 2008; 26(1): 1–21.
12. Kumar MN, Muzzarelli RA, Muzzarelli C, Domb AJ. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. Chem Rev, 2004; 104.
13. Lahiji A, Sohrabi A, Hungerford DS, Frondoza CG. Chitosan supports the expression of extra cellular matrix proteins in human osteoblasts and chondrocytes. J Biomed Mater Res, 2000; 51:586.
14. Langer R, Borenstein J, Vacanti P. Microscale technologies for tissue engineering and biology. Biomaterials, 2005; 26: 3655–3662.
15. Li WJ, Laurencin CT, Caterson EJ .Electrospun nanofibrous structure: a novel scaffold for tissue engineering . J Biomedical Materials Research, 2002; 60: 613-621.
16. Li WJ, Tuli R, Huang X, Laquerrier P, Tuan RS. Multilineage differentiation of human mesenchymal stem cells in a three- dimensional nanoibrous scaffold. Biomaterials, 2005; 26: 5158-5166.
17. Madihally SV, Matthew HWT. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. Biomaterials 1999; 20:1133–1142.
18. Matsuda A, Kobayashi H, Itoh S, Kataoka K, Tanaka J. Immobilization of laminin peptide in molecularly aligned chitosan by covalent bonding. Biomaterials, 2005; 26: 2273
19. Ma Z, Kotaki M, Inai R, Ramakrishna S. Potential of nanofiber matrix as tissue- engineering scaffolds. Tissue Eng, 2005; 11: 101-109.
20. Miychell KE, Weiss ML, Mitchell BM, et al. Matrix cells from Whartons jelly from neurons and glia. Stem cells, 2003; 21: 50-60.
21. Muzzarelli R. A. A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. Carbohydrate Polymers, 2009; 76(2):167–182.
22. Nyilas E, Chiu TH, sidman RL, Henry EW, Brushart TM, Dikkes P, Madison R. Peripheral nerve repair with bioresorbable prosthesis. Trans Am. Soc. Artif. Intern. Organs, 1983; 29: 307-13.

Archive of SID

www.SID.ir