

Polymerization
Quarterly, 2022
Volume 12, Number 1
Pages 3-13
ISSN: 2252-0449

Shape Memory and Shape Changing Polymers in Cell Mechanobiology

Mehdi Sheikhi and Fatemeh Rafiemanzelat*

Polymer Chemistry Research Laboratory, Department of Chemistry, University of
Isfahan, Postal Code 81746-73441, Isfahan, Iran

Received: 31 March 2021, Accepted: 8 May 2021

Abstract

The tissues in the human body comprise complex assemblages of several different types of cells that are dispersed on an extracellular matrix (ECM). In addition to biochemical and chemophysical factors, dynamic changes in the mechanical-structural properties of ECM lead to changes in cell behavior such as proliferation, differentiation, and its nature. Since any activity of the cells takes place on a dynamic substrate in the body, it is necessary to provide conditions in which the dynamic environment inside the body can be simulated. Therefore, researchers need intelligent biomaterials that can act as a powerful substrate to design smart cell culture platforms and tissue engineering scaffolds, as well as to simulate this complex environment. Shape memory polymers (SMPs) and shape-changing polymers (SCPs) are the new generations of intelligent materials that can be converted from shape A to shape B in a response to a stimulus, creating new mechanical and structural properties. Although tissue engineering studies on static substrates have been performed so far, it is now clear that the fate of cells in proliferation and differentiation is influenced by the dynamic conditions of the environment. However, recent studies have been focused on designing new substrates to mimic the dynamic microenvironment. In this review article, a brief definition of cell mechanobiology is introduced and then the recent advances in the design of SMPs and SCPs used in fundamental cell mechanobiology studies were highlighted. A survey of the current review can create a more innovative perspective for researchers in this field.

Key Words

mechanobiology,
smart polymer,
shape memory polymer,
shape changing polymer,
biomaterial

(*) To whom correspondence should be addressed.
E-mail: frafiemanzelat@chem.ui.ac.ir

بسیارش

فصلنامه علمی

سال دوازدهم، شماره ۱

صفحه ۱۳-۱۴۰۱

ISSN: 2252-0449

پلیمرهای حافظه شکلی و تغییر شکل دهنده در زیست کاوی مکانیکی یاخته

مهدی شیخی، فاطمه رفیع منزلت*

اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده شیمی، گروه شیمی پلیمر، کد پستی ۸۱۷۴۶-۷۳۴۴۱

دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۱، پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۱۹

بافت‌های بدن انسان مجموعه پیچیده‌ای از چند نوع یاخته مختلف است که روی ماتریس برون‌یاخته‌ای (ECM) پراکنده شده‌اند. افزون بر عوامل زیست‌شیمیایی و شیمی فیزیکی، تغییرات دینامیکی در خواص مکانیکی-ساختاری ECM، به تغییر رفتار یاخته از قبیل تکثیر، تمایز و ماهیت طبیعی منجر می‌شود. از آنجا که هر گونه فعالیت یاخته در درون بدن، روی بستر دینامیکی بوده، لازم است تا شرایط فراهم شود که محیط دینامیکی درون بدن را بتوان در مطالعات، شبیه‌سازی کرد. بنابراین، پژوهشگران به‌منظور طراحی بسترهای کشت یاخته و داربست‌های هوشمند مهندسی بافت، نیازمند زیست‌مواد هوشمندی هستند که بتوانند به‌عنوان بستری قدرتمند عمل کنند. پلیمرهای حافظه شکلی (SMP) و پلیمرهای تغییر شکل‌دهنده (SCP) نسل جدیدی از پلیمرهای هوشمند هستند که می‌توانند در مجاورت یک محرک از شکل A به B تبدیل شوند و خواص مکانیکی و ساختاری جدیدی را در شکل جدید ایجاد کنند. اگرچه تاکنون مطالعات مهندسی بافت درباره بسترهای ایستا انجام شده است، اما امروزه معلوم شده، سرنوشت یاخته در تکثیر و تمایز متأثر از شرایط دینامیکی محیط است. بنابراین، پژوهش‌های اخیر درباره طراحی بسترهایی با ویژگی‌های واپایش‌پذیر متمرکز شده است. در این مقاله مروری، ابتدا اصول اولیه علم زیست‌کاوی مکانیکی معرفی شده و سپس به پژوهش‌های انجام‌شده در زمینه طراحی بسترهای هوشمند برپایه پلیمرهای SMP و SCP پرداخته می‌شود. بدیهی است، آشنایی با روش‌های نوین مهندسی بافت، که بتوانند شرایط واقعی را حین تشکیل اندام، ترمیم، عضله‌سازی و سایر موارد فراهم آورند، می‌تواند چشم‌انداز نوآورانه‌تری را پیش روی پژوهشگران ایجاد کند.

چکیده



مهدی شیخی



فاطمه رفیع منزلت

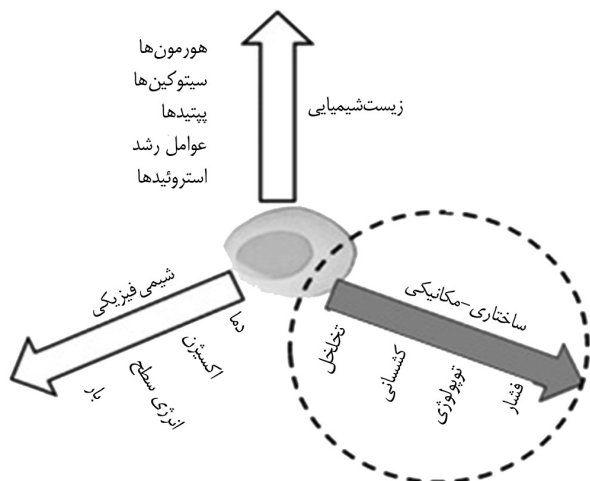
واژگان کلیدی

زیست‌کاوی مکانیکی،
پلیمر هوشمند،
پلیمر حافظه شکلی،
پلیمر تغییر شکل دهنده،
زیست‌ماده

مهندسی بافت شاخه‌ای از علم بوده که اساس آن مبتنی بر علوم زیستی و مواد برای طراحی داربست پلیمری است. در یک داربست پلیمری بسیاری از عملکردهای زیستی مهم از قبیل چسبندگی، رشد، مهاجرت و تمایز تحت مدیریت و واپایش محیط یاخته‌ای است. افزون بر خواص زیست‌شیمیایی ماتریس برون‌یاخته‌ای (extracellular matrix, ECM)، عوامل مکانیکی-ساختاری سازه مانند کشسانی و توپولوژی از اهمیت زیادی در هدایت عملکرد یاخته برخوردار هستند. شواهد نشان می‌دهند، عوامل یادشده به طور سلسله‌مراتبی سرنوشت یاخته را متأثر می‌کنند.

تلاش‌های انجام‌شده طی دهه‌های اخیر درباره داربست و بسترهای کشت یاخته بر سامانه‌های ایستا متمرکز بوده است که در آن خواص زیست‌شیمیایی و زیست‌فیزیکی ماتریس‌ها در طول زمان ثابت باقی می‌مانند. پژوهش‌های انجام‌شده درباره اثر توپولوژی و کشسانی محیط‌های ایستا نیز نشان می‌دهند، عوامل مکانیکی-ساختاری سامانه نقش پیچیده‌ای در چگونگی پاسخ یاخته دارند [۱]. در دو دهه گذشته به رابطه اثر ایستا و پاسخ‌های یاخته‌ای با رویکردهای زیست‌شناسی مولکولی و علم مواد توجه شده است. با این حال امروزه معلوم شده است، خواص فیزیکی و شیمیایی میکرومحیط‌های یاخته‌ای به تدریج تغییر می‌یابند. از مثال‌های بارز این موارد، می‌توان به تشکیل بافت، بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده، تغییرات در آسیب ماهیچه قلب (cardiomyopathy) در هنگام بروز سرطان و تغییر کشسانی ECM در ترمیم زخم اشاره کرد. بنابراین، درک بهتر و صحیح‌تر فرایندهای زیستی بسترها و داربست‌های برون‌تنی می‌تواند پیشرفت چشمگیر مهندسی بافت و پزشکی ترمیمی را به دنبال داشته باشد. افزون بر این، داربست‌های یاخته‌ای هوشمند استفاده‌شده به شکل درون‌تنی دارای قابلیت تغییر عوامل مکانیکی-ساختاری، عملکرد شبیه‌تری به بافت طبیعی دارند و در نتیجه کارایی بهتری در پیش‌برد رسالت مهندسی بافت خواهند داشت [۲].

در بخش نخست، مفاهیم اولیه علم زیست‌کاوی مکانیکی (mechanobiology) با تمرکز بر جنبه ساختاری-مکانیکی آن بیان شده است. با توجه به وجود مقالات مروری متعدد در زمینه زیست‌کاوی مکانیکی، که به بررسی جنبه‌های مختلف آن پرداخته‌اند، در این مقاله صرفاً اصول کلی بیان شده و برای مطالعه بیشتر خواننده به منابع ارجاع داده می‌شود [۳]. در ادامه، پلیمرهای حافظه‌شکلی (SMP) و پلیمرهای تغییر شکل‌دهنده (shape changing polymers, SCP) به عنوان بسترهای میکرودینامیکی بررسی شده و پژوهش‌های اخیر



شکل ۱- عوامل اصلی مؤثر بر سرنوشت یک یاخته [۵].

درباره عملکرد این پلیمرها در راستای واپایش خواص مکانیکی-ساختاری سازه دارای یاخته ارائه می‌شود.

زیست‌کاوی مکانیکی

بدن انسان مجموعه پیچیده‌ای بوده که در آن به طور هم‌زمان هزاران رویداد مختلف در حال رخ دادن است. تقسیم و تکثیر یاخته‌ها، تمایز یاخته‌های بنیادی به بافت‌های مختلف، مرگ طبیعی یاخته‌ها، بیان پروتئین‌ها، مهاجرت یاخته‌ها و صدها مورد دیگر از این دست رویدادها هستند که در صورت بروز اختلال در روند عادی آن‌ها، تبعاتی نظیر سرطان را در پی خواهد داشت [۴]. برای واپایش این موارد، سه پارامتر اصلی دخالت دارند که شامل عوامل زیست‌شیمیایی، شیمی فیزیکی و ساختاری-مکانیکی است (شکل ۱). هورمون‌ها، عوامل رشد، دما و میزان اکسیژن از جمله عوامل اثرگذار بر عوامل شیمی فیزیکی و زیست‌شیمیایی به شمار می‌آیند. عامل ساختاری-مکانیکی به ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی محیط پخش یاخته‌ها مربوط است [۴، ۵].

یاخته‌های درون بدن در ماتریسی پراکنده هستند که به ماتریس برون‌یاخته‌ای شناخته می‌شود. این ماتریس حاوی پروتئین‌هایی از قبیل کلاژن و پروتئوگلیکان‌هاست و به عنوان داربست برای نگه‌داشتن یاخته‌ها و چسبیدن آن‌ها ایفای نقش می‌کند. میزان کشسانی، سفتی و نرمی این ماتریس، وجود یا عدم وجود تخلخل، فشار واردشده بر یاخته از طرف ماتریس و نوع توپولوژی سطح ماتریس از عوامل اثرگذار بر نحوه عملکرد یاخته است. با این توصیف‌ها می‌توان گفت، زیست‌کاوی مکانیکی علمی است که به مطالعه ارتباط ویژگی‌های ECM و نیروهای واردشده بر یاخته با سرنوشت آن می‌پردازد. یاخته‌ها روی ECM در معرض تنش‌هایی

پلیمرهای هوشمند با ماهیت حافظه شکلی و تغییر شکل دهنده

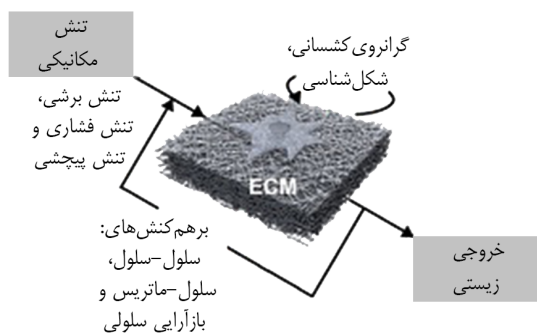
پلیمرهای هوشمند پلیمرهایی هستند که تغییرات شیمیایی و فیزیکی رخ داده در اطراف خود را حس می کنند و پاسخی به این تغییرات می دهند. پلیمرهای هوشمند در زمینه های مختلف از قبیل مواد خودترمیم، حسگرها و فعال کننده ها، جداسازی و خالص سازی، اصلاح کننده های گرانروی، مواد تغییر شکل دهنده و سایر موارد بررسی شده اند. برخی از این پلیمرها، هوشمندی سامانه های زیستی مانند حساسیت به تغییرات pH در سامانه گوارشی، پایداری هم ایستایی (homeostasis) و انعقاد خون را تقلید می کنند و می توانند تا حدی در این موارد استفاده شوند [۱۰]. این ویژگی های منحصر به فرد پلیمرهای هوشمند، امکان طراحی سامانه های واپایش از راه دور را نیز میسر می سازد. از پلیمرهای هوشمند واپاییده از راه دور می توان به پژوهش های Shimoboji و همکاران اشاره کرد. آن ها طراحی سامانه هیبریدی پلیمر-آنزیمی را گزارش کردند که با تابش و قطع نور فرابنفش امکان فعال و ناعال سازی یک آنزیم ویژه و در پی آن، واپایش رفتار یاخته وجود دارد [۱۱].

پلیمرهای حافظه شکلی

پلیمرهای SMP، نسل جدیدی از پلیمرهای هوشمند هستند که می توانند شکل خاصی را در حافظه داشته باشند و اگر تغییر شکلی انجام گرفت، تحت محرک خاصی به همان شکل اولیه بازگردند. تاریخچه پلیمرهای حافظه شکلی به دهه ۱۹۴۰ میلادی بازمی گردد. اما، پژوهش های انجام شده در زمینه این پلیمرها از سال ۲۰۰۰ به بعد به طور چشمگیری افزایش یافته است. پلیمرهای SMP به عنوان نسل جدیدی از زیست مواد، گستره وسیعی از مواد لازم برای این شاخه از دانش را مهیا ساخته اند. از پیشرفت های جدید پلیمرهای SMP می توان به کاشتنی هایی اشاره کرد که نیاز به جراحی و شکافت بسیار کوچک دارند و پلیمر پس از کاشته شدن به شکل مورد نیاز تبدیل می شود [۱۲].

ماهیت حافظه دار بودن این پلیمرها، می تواند سازوکارهای مختلفی داشته باشد که ساده ترین آن برپایه تغییر در بخش بلوری و بی شکل پلیمر است. شکل ۴، ریزساختار پلیمرهای حافظه شکلی را نشان می دهد که عملکرد آن بر مبنای انتقالات بلور-بی شکل است. در این حالت، با گرمایش نمونه و ذوب بخش های بلوری، امکان تغییر شکل در نمونه وجود دارد. با کاهش دما، شکل ثانویه تثبیت شده و با گرمایش مجدد، به دلیل آنتروپی، برگشت نمونه به

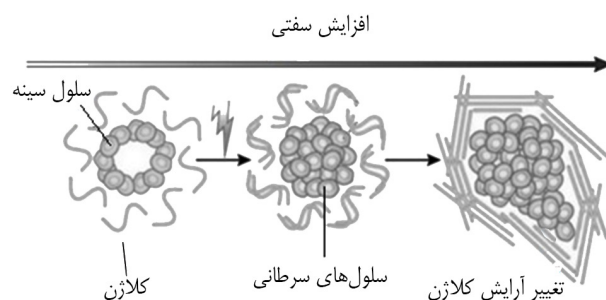
ویژگی های مکانیکی لازم در بافت



شکل ۲- ترانسدکشن مکانیکی (mechanotransduction) فرایندی است که طی آن یاخته ها، داده های مکانیکی ورودی را به پاسخ زیستی تبدیل می کنند [۷].

هستند که به شکل برشی، فشاری و کششی به یاخته وارد می شوند. این تنش ها، روی برهم کنش یاخته-ماتریس و یاخته-یاخته، نحوه تخریب و تغییر مدل ECM و بازآرایی اسکلت یاخته ای اثر گذارند. در نتیجه، یاخته یک پاسخ زیستی را در قالب مهاجرت، تمایز، تکثیر، بیان ژن و سایر موارد نشان می دهد (شکل ۲) [۶،۷].

مدل سازی دینامیکی ECM نشان داد، افزایش سفتی ECM مانند ایجاد یک دگرگونی (transformation) می تواند موجب تبدیل یاخته های سینه به تومور سرطانی شود (شکل ۳) [۸]. Williams و همکاران نیز نشان دادند، در حین تشکیل قلب در جنین و همچنین در بازسازی عضلات قلبی، ماهیت فیزیکی ECM به تدریج تغییر می کند و این تغییر الزامی است [۹]. با الهام از شرایط دینامیکی محیط طبیعی بدن، اخیرا جامعه علمی در تلاش بوده است تا بتواند بسترهای کشت یاخته هوشمندی را طراحی کند که قابلیت تقلید ویژگی های دینامیکی ECM را داشته باشد. در این زمینه، پلیمرهای حافظه شکلی و پلیمرهای تغییر شکل دهنده می توانند به عنوان ابزار قدرتمندی در طراحی این گونه بسترها مورد توجه باشند.

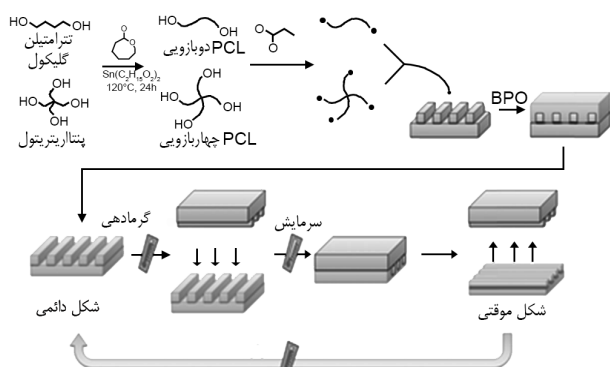


شکل ۳- مدل سازی یاخته های اپیتلیال سینه [۸].

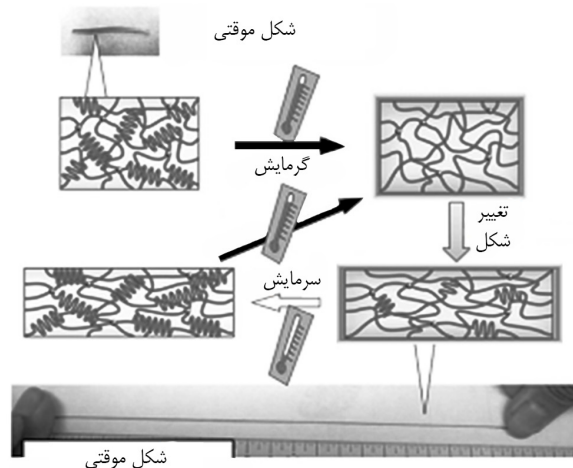
مکانیکی محیط اطراف آن، عامل اثرگذاری بر سرنوشت آن است. با وجود این اهمیت، عمده تلاش‌هایی که تاکنون درباره رفتار یاخته و واپایش آن انجام گرفته، روی بسترهای با الگوی ایستا بوده است. از آنجا که هرگونه فعالیت یاخته در درون بدن روی یک بستر دینامیکی انجام می‌شود، لازم است تا شرایطی فراهم شود که محیط دینامیکی درون بدن را بتوان در خارج از بدن شبیه‌سازی کرد. از این رو، گزارش‌هایی در این زمینه منتشر شده است تا بتوانند سطوح هوشمند برپایه پلیمرهای SMP را طراحی کنند که شرایط واقعی حین تشکیل اندام، ترمیم زخم، عضله‌سازی و موارد دیگر را فراهم آورد.

Neuss و همکاران اولین کسانی بودند که اثر حافظه شکلی پلیمرها را بر یاخته مطالعه کردند. آن‌ها یاخته‌های L929 موش و یاخته‌های مزوتلیال موش و انسانی را روی یک پلیمر حافظه شکلی از پلی کاپرولاکتون (PCL) قرار دادند. در بازگشت سطح به شکل اولیه، یاخته‌های L929 از سطح کنده می‌شد و مرگ یاخته‌ای رخ می‌داد [۱۶]. نخستین بار Davis نیز پلیمر حافظه شکلی برپایه NOA-63 (Norland Optical Adhesive 63) را طراحی کرد که ماهیت تغییر شکل تنها روی سطح آن متمرکز بود. دلیل به کارگیری این پلیمر امکان واپایش دمایی تغییر شکل با میزان شبکه‌ای شدن نمونه بود. پس از آنکه یاخته‌ها روی بستر پخش شدند، مشاهده شد، بازگشت سطح از حالت موجی به حالت صاف موجب تغییر در جهت‌گیری یاخته‌ها و پخش تصادفی آن‌ها می‌شود. نتایج نشان دادند، هندسه و شکل‌شناسی یاخته، که از اهمیت فراوانی برخوردار است، با استفاده از نوع طراحی تغییرپذیر است. در نتیجه، می‌توان رفتار یاخته را تحت واپایش داشت [۱۵].

PCL به عنوان پلیمر زیست‌سازگار در طراحی زیست‌مواد استفاده شده است. شکل ۶ طراحی یک بستر کشت یاخته با PCL دارای الگوهایی در مقیاس نانو در سطح را نشان می‌دهد که قابلیت



شکل ۶- ساخت سطح نانوتوپوگرافی با دمای برگشت پذیری 37°C برپایه PCL [۱۷].



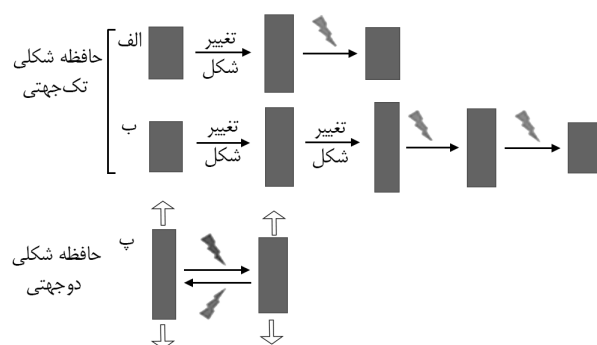
شکل ۴- حفظ شکل در پلیمرهای حافظه شکلی حساس به دما [۱۲].

شکل اولیه امکان‌پذیر می‌شود [۱۳]. بخش عمده‌ای از پلیمرهای حافظه شکلی برپایه انتقالات دمایی است. در نتیجه، با واپایش میزان بلورینگی و چگالی شبکه، می‌توان پلیمر را به گونه‌ای طراحی کرد که به یک دمای ویژه حساس باشد [۱۲].

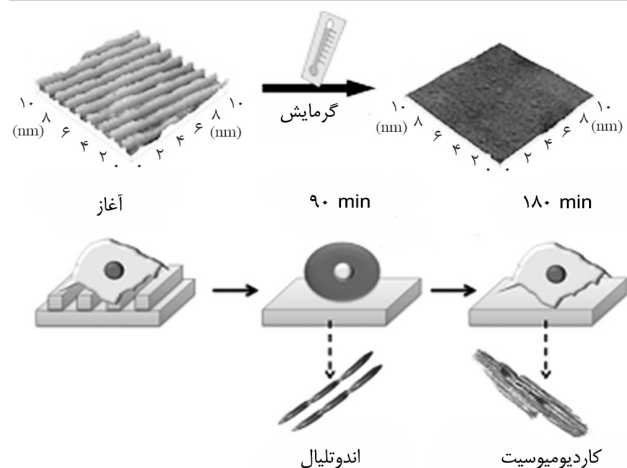
از لحاظ اثر حافظه شکلی، این سامانه‌ها یا به طور تک‌جهتی و یا دوجتهی عمل می‌کنند. همچنین ممکن است، نمونه بین دو یا چند شکل گذر کند که هر تغییر با محرکی مجزا انجام‌پذیر است (شکل ۵) [۱۴]. اهمیت این انتقالات در امکان تغییر و واپایش شکل‌شناسی سطح در بستر و داربست‌های کشت یاخته است. اخیراً پژوهش‌هایی در حال انجام است که در آن از پلیمرهای SMP چندجهتی به عنوان بستر برای ایجاد یک توپوگرافی ویژه استفاده می‌شود [۱۵]. در ادامه به کاربرد پلیمرهای SMP در این زمینه پرداخته می‌شود.

پلیمرهای حافظه شکلی در واپایش ساختاری-مکانیکی و عملکرد یاخته

همان‌طور که در بالا اشاره شد، نحوه پاسخ یاخته به شرایط

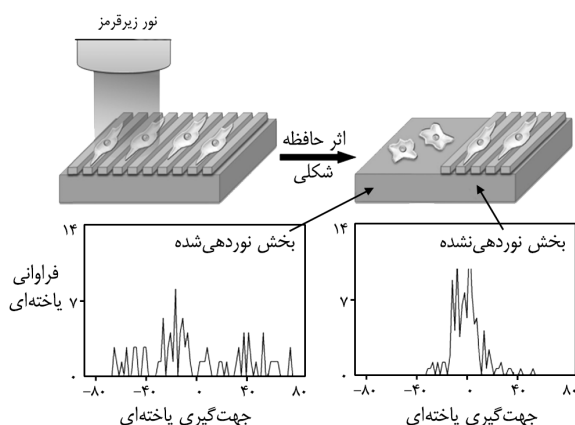


شکل ۵- پلیمرهای حافظه شکلی: (الف) تک‌جهتی تک‌شکلی، (ب) چندشکلی و (پ) دوجتهی [۱۴].

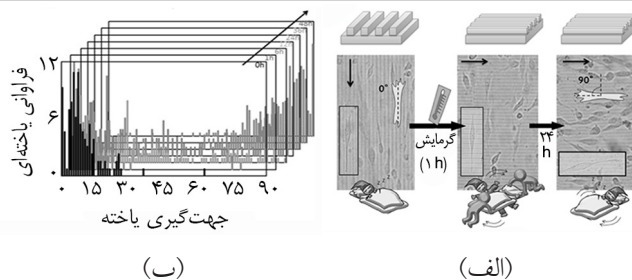


شکل ۸- بسترهای حافظه شکلی حساس به دما برپایه PCL با دمای انتقال 37°C [۱۹].

از اهمیت ویژه‌تری نسبت به محرک دما برخوردارند. بارگیری افزودنی‌های جاذب نور، روش متداولی به منظور بهره‌گیری از این قابلیت است. برای مثال، کامپوزیت کردن نانومیله‌های طلا (Au-NR) با پلیمری زیست سازگار، می‌تواند سامانه‌ای با قابلیت واپایش از راه دور را ایجاد کند. نکته حائز اهمیت این است که افزودنی فلزی، جاذب نور زیرقرمز نزدیک ($650-900\text{ nm}$) است و بافت‌های زیستی جذب چندانی در این ناحیه ندارند. عملکرد سامانه بدین صورت است که Au-NR با جذب نور موجب افزایش دما و رسیدن دمای بستر به دمای گذار می‌شود. در این حالت، برگشت پذیری از شکل موقتی (سطح شیاردار) به شکل دائمی (سطح صاف) میسر می‌شود (شکل ۹). مزیت اصلی در این حالت این است که تنها بخشی از سطح که در معرض تابش بوده، برگشت پذیری را خواهد داشت و برحسب



شکل ۹- فعال‌سازی از راه دور سطح حافظه شکلی به منظور هدایت آرایش یاخته‌ها [۲۰].

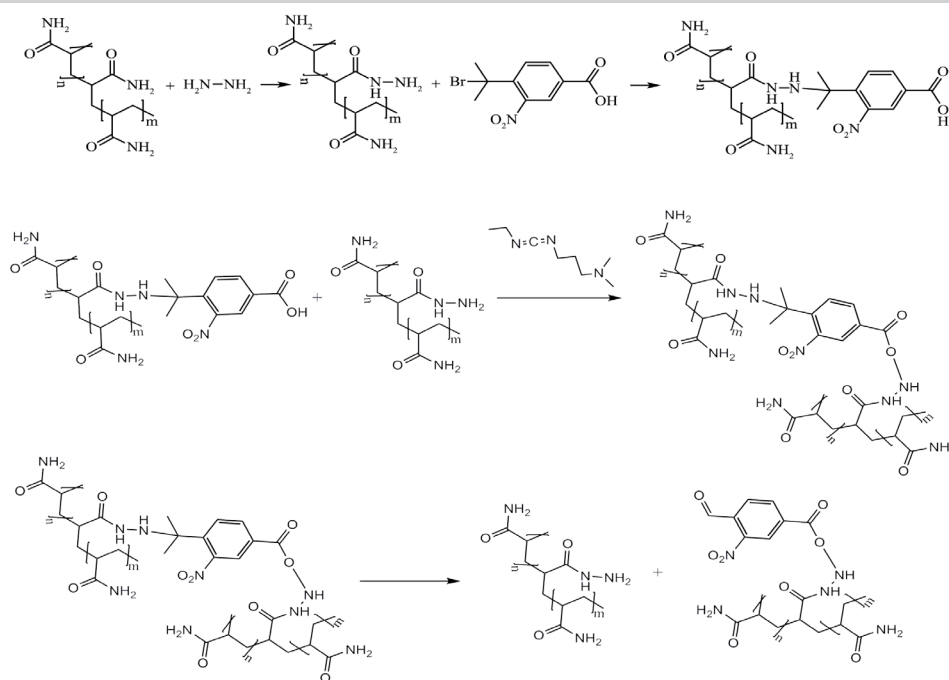


شکل ۷- (الف) تصویر یاخته‌های فیبروبلاست NIH 3T3 پخش شده بر فیلم حاوی نانوشیارهای موقت و تغییر جهت‌گیری آن‌ها پس از ۱ و ۲۴ h و (ب) تغییر زاویه یاخته‌ها با گذشت زمان [۱۸].

جهت‌دهی به شکل‌شناسی یاخته را دارد. بدین منظور، ابتدا PCL دوبازویی و چهاربازویی در مجاروت آسیل کلرید به مشتقات وینیلی مربوط تبدیل شد. سپس در مجاورت آغازگر و قالبی با شکل‌شناسی ویژه، نوعی پلیمر شبکه‌ای با الگوهای سطحی قالب به‌دست آمد که با واپایش نسبت مونومرها دمای انتقال شیشه‌ای محصول در محدوده دمای طبیعی بدن تنظیم پذیر شد. با این سامانه، می‌توان در زمان مورد نیاز جهت‌گیری یاخته‌ها را تا 90° تغییر داد که به‌دنبال آن قطبیت یاخته نیز تغییر می‌کند [۱۷]. در ادامه پژوهش‌ها روی بستر مزبور مشاهده شد، با قرارگیری یاخته‌های NIH 3T3 روی بستر و افزایش دما تا 37°C شکل‌شناسی یاخته پس از ۱ h تغییر نیافت. اما پس از ۲۴ h، تمام یاخته‌ها 90° تغییر جهت داده بودند (شکل ۷) [۱۸].

در مطالعات دیگر مشاهده شده است، تغییر جهت یاخته‌های کشت یافته بر پلیمر SMP و عمل تغییر شکل در زمان‌های خاص می‌تواند به تمایز متفاوت یاخته منجر شود. برای مثال، موضع عامل رونویسی YAP (yes-associated protein) در نیایاخته‌های قلبی متأثر از الگوهای سطحی بستر است. به‌طوری‌که، اگر این یاخته‌ها روی شکل موقتی با سطح شیاردار قرار داشته باشند، پس از بازگشت سطح به شکل دائمی (صاف)، پس از ۹۰ min یاخته‌ها آماده تبدیل به یاخته‌های اندوتلیال می‌شوند. اما، پس از ۱۸۰ min به یاخته‌های کاردیومیوسیت تبدیل می‌شوند (شکل ۸). به عبارتی، با واپایش شکل بستر کشت، امکان جهت‌دهی تمایز نیایاخته‌های قلبی به دو نوع یاخته مختلف امکان پذیر است. دلیل زیستی آن، چگونگی فعالیت YAP در یاخته مرتبط است که پس از ۹۰ min، بیان آن در هسته به شدت کاهش یافته و پس از ۱۸۰ min به حالت اولیه برگشته است [۱۹].

در مقایسه با پلیمرهای SMP حساس به دما، پلیمرهای حساس به نور مرئی یا زیرقرمز به دلیل امکان واپایش موضعی ساختار،



شکل ۱۰- واکنش سنتز هیدروژل دارای اتصالات عرضی حساس به نور UV [۲۳].

پلیمرهای با کشسانی متغیر

پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهند، بسیاری از یاخته‌ها دارای حساسیت به تغییرات سفتی اطراف خود هستند [۲۱]. به عنوان مثال، ژل‌های سفت گسترش و پراکندگی یاخته‌ها را سبب می‌شوند. در حالی که ژل‌های نرم موجب تجمع یاخته‌ها می‌شوند، مانند آنچه در بافت وجود دارند. افزون بر آن، یاخته‌ها تمایل دارند تا از بخش‌های نرم به بخش‌های سفت‌تر مهاجرت کنند [۲۲]. به منظور واپایش دینامیکی سفتی بستری که یاخته روی آن قرار دارد، Wang و همکاران، هیدروژل‌هایی برپایه پلی‌آکریل آمید طراحی کردند که با استفاده از ترکیب ۴-برمومتیل-۳-نیتروبنزوئیک اسید (BNBA) شبکه‌ای شده بودند. گروه‌های نیتروبنزیل حساس به نور UV بوده و با تابش نور متحمل گسست می‌شوند (شکل ۱۰). با گسست گروه‌های یادشده، مدول نمونه از ۷/۲ kPa به ۵/۵ kPa کاهش می‌یابد که به دنبال آن پهن‌شدگی (spreading) یاخته‌های فیبروبلاست NIH 3T3 روی بستر کاهش می‌یابد. نکته‌ای که اهمیت دارد این است که تابش نور و نرم‌شدگی در بخش پسین (posterior) یاخته اثری بر رفتار یاخته ندارد. اما، نرم‌شدگی در بخش پیشین (anterior) با پاسخ یاخته و تغییر شکل‌شناسی آن همراه است [۲۳].

افزون بر سفتی و نرمی، تاریخچه مکانیکی، که یاخته بنیادی روی بستر تجربه می‌کند، نیز می‌تواند بر سرنوشت یاخته اثرگذار باشد. Yang و همکاران، هیدروژل‌هایی را برپایه وینیل اتر

شدت نور، مقدار غلظت Au-NR و مدت زمان نوردهی، سرعت برگشت واپایش پذیر می‌شود [۲۰].

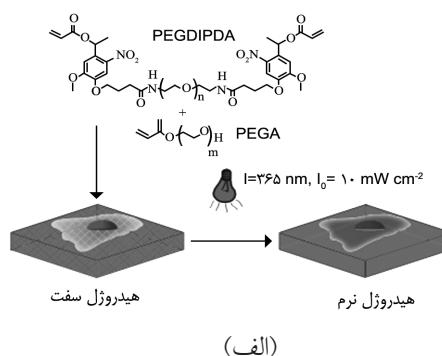
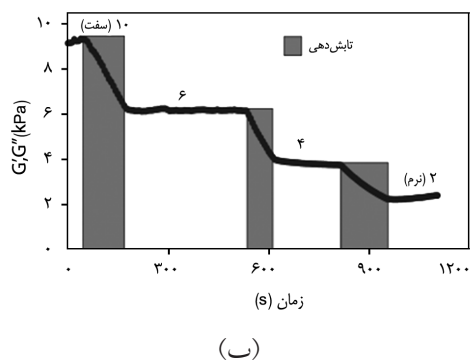
پلیمرهای تغییر شکل دهنده

همان‌طور که اشاره شد، شیمی سطح نقش بسیار اثرگذاری بر رفتار یاخته دارد. افزون بر پلیمرهای حافظه شکلی، که قابلیت بازگشت از یک شکل موقت به شکل دائمی را دارند، پلیمرهای دیگری نیز مورد توجه است که در مجاورت یک محرک قابلیت تغییر شیمی سطح را دارند و به عنوان پلیمرهای تغییر شکل دهنده شناخته می‌شوند. با وجود اینکه واپایش شیمی سطح و سرعت و شدت تغییر سطح در پلیمرهای حافظه شکلی با دقت بیشتری انجام پذیر است، اما ایجاد سطحی با شکل موقتی در ابعاد نانو، دشواری بیشتری دارد که استفاده از این پلیمرها را در زیست‌کاوی مکانیکی با محدودیت مواجه ساخته است. پلیمرهای تغییر شکل دهنده نیازی به طراحی ویژه و شکل موقتی ندارند و در مواردی که در شکل سطح و تغییر آن (مانند سرعت و شدت تغییر) دقت بسیار زیادی نیاز نباشد، می‌توانند گزینه‌های مناسبی در زمینه زیست‌کاوی مکانیکی باشند. مطالعاتی که روی پلیمرهای تغییر شکل دهنده و سرنوشت یاخته انجام شده است را می‌توان در دو دسته تقسیم‌بندی کرد:

الف- پلیمرهایی با کشسانی متغیر و

ب- پلیمرهایی با توپولوژی متغیر.

در ادامه پژوهش‌های انجام شده در این بخش گردآوری شده است.

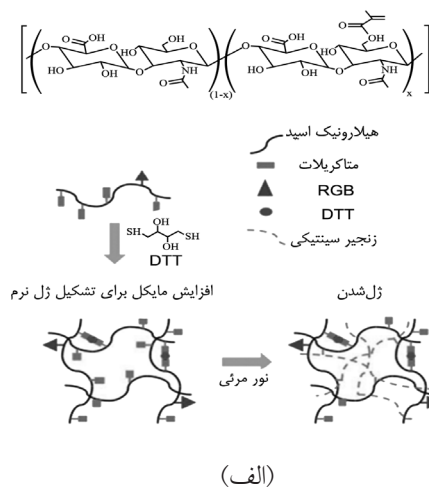
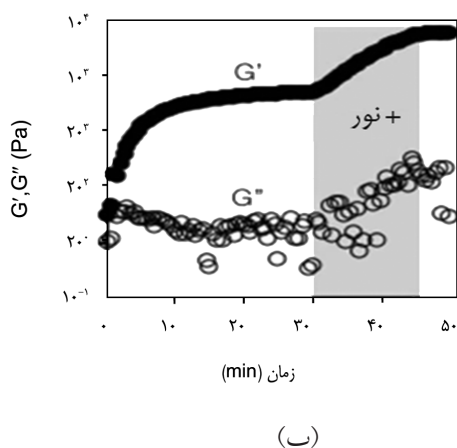


شکل ۱۱- (الف) ترکیب هیدروژل حساس به نور و (ب) تغییرات مدول هیدروژل از ۱۰ kPa به ۲ kPa در تابش دهی به مدت ۹۰۰ s [۲۴].

از هیلارونیک اسید آکریلات دار (MeHA) سنتز شده و سپس در مجاورت آغازگر لیتیم فنیل-۶،۴،۲-تری متیل بنزوئیل فسفینات (LAP) و ترکیب دی تیوتریتول (DTT) هیدروژل نرم اولیه با واکنش افزایش مایکل (Michael) سنتز می شود (شکل ۱۲). سپس در مجاورت نور مرئی، پلیمر شدن پیوندهای دوگانه به طور کامل رخ می دهد و هیدروژلی با مدول زیاد به دست می آید. مطالعات یاخته ای نشان دادند، این میزان افزایش مدول، موجب فعال سازی میوفیبروبلاست می شود که مشخصه اصلی فیبروز کبد است. مدت زمان ماندگاری یاخته روی بستر نرم و سپس افزایش سفتی آن، بر تجمع عوامل زیستی درون هسته یاخته اثرگذار بوده و در نتیجه بر سرنوشت یاخته اثر می گذارد [۲۵].

این گونه سامانه ها که در مجاورت محرک قابلیت افزایش مدول دارند، افزون بر مطالعه رفتار درون یاخته ای در سایر جنبه ها نیز استفاده شده اند. برای مثال، هنگام تشکیل قلب جوجه، تکامل از مزودرم به میوکاردیوم با افزایش ۹ برابری مدول همراه است که به خاطر بیان کلاژن ها انجام می گیرد. به منظور شبیه سازی فرایند

پلی (اتیلن گلیکول) دی آکریلات (PEGA) طراحی کردند که دارای گروه های حساس به نور نیتروبنزیل (PEGdiPDA) بود. برحسب ترکیب پلیمر، با قرارگیری آن در معرض تابش نور ویژگی های مکانیکی متفاوتی را نشان داد (شکل ۱۱ ب). مشاهده شده است، میزان فعال شدن پروتئین فعال ساز رونوشتی با بن مایه اتصال PDZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, TAZ) و عامل RUNX2 در یاخته های بنیادی مزانشیمال به مدت زمان وجود آن ها روی بسترهای با سفتی مناسب بستگی دارد [۲۴]. اخیراً مطالعات انجام شده نشان داده اند، ارتباط قوی میان بیماری ها و سفتی بافت وجود دارد. برای مثال، فیبروز کبدی که ناشی از واکنش های التهابی مزمن بوده به سفتی بافت کبد منجر می شود که متعاقباً با بیماری همراه است. با استفاده از بسترهای پلیمری (به عنوان مدل برای مطالعه بیماری) که به صورت دینامیکی قابلیت سفت شدن و تغییر مدول از ۱۷/۲ kPa (مربوط به کبد سالم) به ۳۳/۰ kPa (مربوط به کبد فیبروزی) را دارند، اثر فیبروز و تشدید آن بر رفتار یاخته ها بررسی شده است. بدین منظور، هیدروژل هایی



شکل ۱۲- (الف) سازوکار تشکیل هیدروژل نرم و افزایش مدول با شبکه ای شدن ثانویه و (ب) منحنی تغییرات مدول برحسب زمان نوردهی [۲۵].

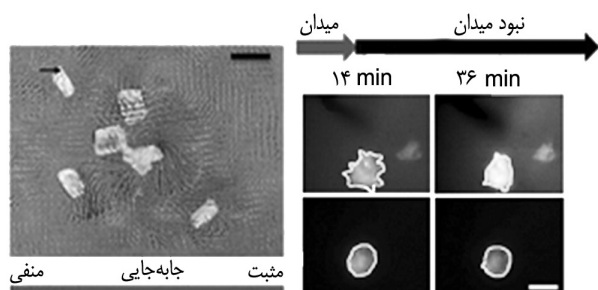
حالی است که یاخته های فیروپلاست هیچ گونه تغییری را متحمل نمی شوند [۲۸].

در این بخش، درباره طراحی بسترهای دینامیکی کشت یاخته با قابلیت واپایش کشسانی سطح و اثر آن بر رفتار یاخته ها بحث شد. همان طور که مشاهده شد، دست کاری عملکرد یاخته با بسترهای دینامیکی امکان پذیر بوده و نیازمند شیمی سطح هوشمند است. مطالبی که گفته شد، مربوط به بسترهای دوبعدی بودند و در ادامه، پژوهش های انجام شده در زمینه طراحی بسترهای هوشمند سه بعدی بحث می شوند.

پلیمرهای با توپولوژی متغیر

افزون بر کشسانی سطح، توپوگرافی سطح نیز نقش مؤثری در واپایش پارامتر ساختاری-مکانیکی دارد. با روش های مختلف می توان بسترهایی را طراحی کرد که توپولوژی سطح برحسب زمان تغییرپذیر باشد. در این راستا، می توان به نتایج پژوهشی اشاره کرد که در آن وارد کردن نانوسیم های نیکل در شبکه پلی (آکریل آمید) سطحی را فراهم می کند که در مجاورت میدان مغناطیسی و به دلیل جنبش نانوسیم ها، تغییرات برگشت پذیری در زبری سطح رخ می دهد (شکل ۱۴). سرعت تغییر توپولوژی بر شکل شناسی یاخته های سطح اثرگذار است، به طوری که با تغییر سریع توپولوژی سطح، یاخته عضله صاف عروقی (vascular smooth muscle cell, VSMC) تغییر شکل شناسی می دهد، اما پاسخی به تغییر آهسته در سطح نمی دهند [۲۹].

برای ایجاد بستری با قابلیت تغییر توپولوژی از حالت صاف به موجی شکل، مسیرهای دیگری با استفاده از پلیمرهای حافظه شکلی گزارش شده است. بدین منظور، Yang و همکاران بستر دولایه ای را با استفاده از tert-بوتیل آکریلات، n-بوتیل آکریلات و تری اتیلن گلیکول دی آکریلات با دمای گذار شیشه ای 55°C تهیه کردند. همان طور که در شکل ۱۵ نشان داده شده

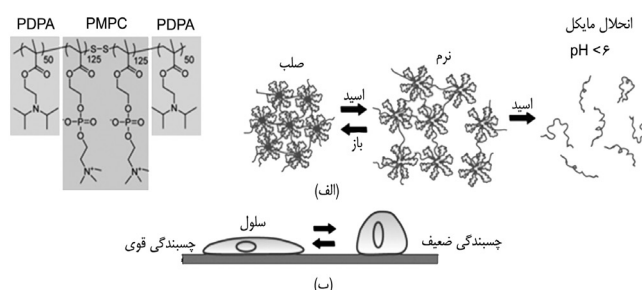


شکل ۱۴- پاسخ ژل های حاوی نانوسیم های نیکل به میدان مغناطیسی 0.3 T [۲۹].

مزبور در محیط مصنوعی، Young و همکاران سنتز هیدروژل هایی از هیالرونیک اسید (تیول دار) شبکه ای شده با پلی (اتیلن گلیکول) را گزارش کردند که به دلیل افزایش مایکل، در طول چند روز مدول آن از $1/9\text{ kPa}$ به $8/2\text{ kPa}$ افزایش یافته است. زمانی که یاخته های پیش قلبی (pre-cardiac) روی این هیدروژل دینامیکی کشت داده شدند، مشاهده شد، میزان تبدیل یاخته ها به یاخته های ویژه قلبی پس از دو هفته نسبت به بستر کشت ایستای پلی (آکریل آمید) 60% بیشتر است [۲۶].

با توجه به پاسخ یاخته ها به مشخصات مکانیکی بستر، تلاش هایی انجام شد تا بتوان سامانه ای با قابلیت تغییر سفتی رفت و برگشتی طراحی شود. در این راستا Yoshikawa و همکاران، هیدروژل های میسلی برپایه کوپلیمرهای سه دسته ای ABA را طراحی کردند که تغییرات مدول آن برگشت پذیر بوده و وابسته به تغییرات pH است. دسته میانی این کوپلیمر برپایه پلی (۲-دی ایزوپروپیل آمینو) اتیل متاکریلات (PDPA) و دسته کناری از پلی (۲-متاکریلوئیلوکسی) اتیل فسفریل کولین (PMPC) تشکیل شده بود. با کاهش pH از 8 (مدول 40 kPa) به 7 ($1/4\text{ kPa}$) و پروتون دار شدن تمام گروه های آمین PDPA دافعه ایجاد شده و تغییر شکل شناسی و در نتیجه نرم شدگی رخ می دهد (شکل ۱۳) [۲۷].

در کنار هیدروژل ها، پلیمرهای نیمه بلوری نیز می توانند به عنوان بسترهای نرم شونده حساس به دما استفاده شوند. چگالی شبکه سامانه ای برپایه پلی کاپرولاکتون را می توان تا حدی تنظیم کرد که دمای گذار آن در حد دمای 37°C باشد. لازم به ذکر است، پاسخ به تغییرات مکانیکی برحسب نوع یاخته می تواند متفاوت باشد. برای مثال، با افزایش نرمی بستر، یاخته های میوبلاست از حالت پهن به حالت کروی تغییر شکل شناسی می دهند. این در



شکل ۱۳- نمایش تغییرات ساختاری ژل میسلی PDPA50-PMPC250-PDPA50 با افزایش اسید یا باز و (ب) با کاهش pH یاخته های میوبلاست C2C12 از حالت پهن به حالت کروی تبدیل می شوند [۲۷].

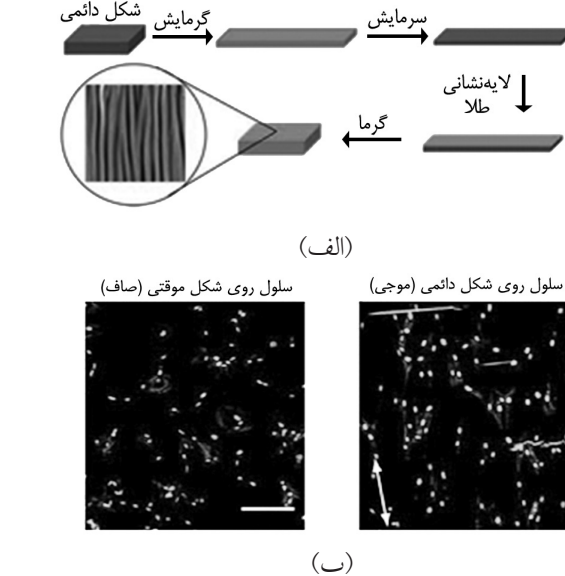
cells, hASCs) به طور موفقیت آمیز می تواند روی این بستر انجام شود. با این کار تمام یاخته ها در یک جهت آرایش می یابند (شکل ۱۵ب) [۳۰].

نتیجه گیری و چشم انداز

بستر کشت یاخته ای و در سطح پیچیده تر داربست یاخته ای هوشمند با ویژگی های مکانیکی و ساختاری تنظیم پذیر، ابزاری قدرتمند در بررسی پاسخ یاخته به محیط میکرودینامیکی خود و در پی آن، پیشرفت انسان در درک رفتار یاخته است. افزون بر این، سامانه های حافظه شکلی تنها برای تنظیم آرایش یاخته ای نیستند، بلکه عملکرد آن ها در تمایز یاخته های بنیادی و تبدیل به یاخته های ویژه می تواند راهگشای مهندسی بافت و پزشکی ترمیمی باشد. پلیمرهای هوشمند از نوع حافظه شکلی و تغییر شکل دهنده مناسب ترین گزینه به منظور واپایی عوامل مکانیکی در واپایش سرنوشت یاخته هستند. تاکنون مطالعات ویژه ای به طراحی نمونه هایی با توپولوژی ها یا کشسانی های مختلف اختصاص یافته است. شاید تلفیقی از این موارد بتواند راهکار مناسبی به منظور افزایش مدیریت در مراحل پسین مهندسی بافت باشد.

مراجع

1. Ozkale B., Sakar M.S., and Mooney D.J., Active Biomaterials for Mechanobiology, *Biomaterials*, 120497, 2020.
2. Mohammed D., Versaevael M., Bruyère C., Alaimo L., Luciano M., Vercruysse E., Procès A., and Gabriele S., Innovative Tools for Mechanobiology: Unraveling Outside-In and Inside-Out Mechanotransduction, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **7**, 162, 2019.
3. Uto K., Tsui J.H., DeForest C.A., and Kim D.H., Dynamically Tunable Cell Culture Platforms for Tissue Engineering and Mechanobiology, *Prog. Polym. Sci.*, **65**, 53-82, 2017.
4. Tibbitt M.W. and Anseth K.S., Dynamic Microenvironments: The Fourth Dimension, *Sci. Transl. Med.*, **4**, 160ps24, 2012.
5. Van Haaften E.E., Bouten C.V., and Kurniawan N.A., Vascular Mechanobiology: Towards Control of In Situ Regeneration, *Cells*, **6**, 19, 2017.
6. Page-McCaw A., Ewald A.J., and Werb Z., Matrix



شکل ۱۵- (الف) مراحل ساخت سطح با توپولوژی موجی و (ب) تغییر آرایش یاخته ها پس از بازگشت شکل از حالت موقت به حالت دائمی (خط بزرگ نمایی $200 \mu m$ است) [۳۰].

است، نمونه پس از رساندن به دمای گذار شیشه ای کشیده شده و شکل موقت با سرمایش ایجاد می شود. یک لایه نازک از طلا روی سطح نشانده شده و با بازگشت بستر زیری به شکل دائمی، سطح موج داری روی آن ایجاد می شود. کشت و جهت دهی یاخته های بنیادی مشتق از چربی انسانی (human adipose-derived stem

1. Metalloproteinases and the Regulation of Tissue Remodeling, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 221, 2007.
7. Shi H., Wang C., and Ma Z., Stimuli-Responsive Biomaterials for Cardiac Tissue Engineering and Dynamic Mechanobiology, *APL Bioeng.*, **5**, 011506, 2021.
8. Cox T.R. and Erler J.T., Remodeling and Homeostasis of the Extracellular Matrix: Implications for Fibrotic Diseases and Cancer, *Dis. Model. Mech.*, **4**, 165-178, 2011.
9. Williams C., Quinn K.P., Georgakoudi I., and Black L.D., Young Developmental Age Cardiac Extracellular Matrix Promotes the Expansion of Neonatal Cardiomyocytes In Vitro, *Acta Biomater.*, **10**, 194-204, 2014.
10. Garbern J.C., Hoffman A.S., Stayton and P.S., Injectable pH- and Temperature-Responsive Poly(N-isopropylacrylamide-co-propylacrylic acid) Copolymers for Delivery of Angiogenic Growth Factors, *Biomacromolecules*, **11**, 1833-1839, 2010.

11. Shimoboji T., Larenas E., Fowler T., Kulkarni S., Hoffman A.S., and Stayton P.S., Photoresponsive Polymer-Enzyme Switches, *PNAS*, **99**, 16592-16596, 2002.
12. Liu C., Qin H., and Mather P.T., Review of Progress in Shape-Memory Polymers, *J. Mater. Chem.*, **17**, 1543-58, 2007.
13. Huang W.M., Ding Z., Wang C.C., Wei J., Zhao Y., and Purnawali H., Shape Memory Materials, *Mater. Today*, **13**, 54-61, 2010.
14. Wang K., Strandman S., and Zhu X.X., A Mini Review: Shape Memory Polymers for Biomedical Applications, *Front. Chem. Sci. Eng.*, **11**, 143-153, 2017.
15. Davis K.A., Burke K.A., Mather P.T., and Henderson J.H., Dynamic Cell Behavior on Shape Memory Polymer Substrates, *Biomaterials*, **32**, 2285-2293, 2011.
16. Neuss S., Blumenkamp I., Stainforth R., Boltersdorf D., Jansen M., Butz N., Perez-Bouza A., and Knüchel R., The Use of a Shape-Memory Poly(ϵ -caprolactone) Dimethacrylate Network as a Tissue Engineering Scaffold, *Biomaterials*, **30**, 1697-1705, 2009.
17. Ebara M., Uto K., Idota N., Hoffman J.M., and Aoyagi T., Shape-Memory Surface with Dynamically Tunable Nano-Geometry Activated by Body Heat, *Adv. Mater.*, **24**, 273-278, 2012.
18. Ebara M., Uto K., Idota N., Hoffman J.M., and Aoyagi T., The Taming of the Cell: Shape-Memory Nanopatterns Direct Cell Orientation, *Int. J. Nanomedicine*, **9**, 117, 2014.
19. Ebara M., Shape-Memory Surfaces for Cell Mechanobiology, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, **16**, 014804, 2015.
20. Shou Q., Uto K., Lin W.C., Aoyagi T., and Ebara M., Near-Infrared-Irradiation-Induced Remote Activation of Surface Shape-Memory to Direct Cell Orientations, *Macromol. Chem. Phys.*, **24**, 2473-2481, 2014.
21. Engler A.J., Sen S., Sweeney H.L., and Discher D.E., Matrix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification, *Cell*, **126**, 677-689, 2006.
22. Reinhart-King C.A., Dembo M., and Hammer D.A., Cell-Cell Mechanical Communication through Compliant Substrates, *Biophys. J.*, **95**, 6044-6051, 2008.
23. Frey M.T. and Wang Y.L., A Photo-Modulatable Material for Probing Cellular Responses to Substrate Rigidity, *Soft Matter*, **5**, 1918-1924, 2009.
24. Yang C., Tibbitt M.W., Basta L., and Anseth K.S., Mechanical Memory and Dosing Influence Stem Cell Fate, *Nat. Mater.*, **13**, 645, 2014.
25. Caliri S.R., Perepelyuk M., Cosgrove B.D., Tsai S.J., Lee G.Y., Mauck R.L. and Wells R.G., Stiffening Hydrogels for Investigating the Dynamics of Hepatic Stellate Cell Mechanotransduction During Myofibroblast Activation, *Sci. Rep.*, **6**, 21387, 2016.
26. Young J.L. and Engler A.J., Hydrogels with Time-Dependent Material Properties Enhance Cardiomyocyte Differentiation In Vitro, *Biomaterials*, **32**, 1002-1009, 2011.
27. Yoshikawa H.Y., Rossetti F.F., Kaufmann S., Kaindl T., Madsen J., Engel U., Lewis A.L., Armes S.P., and Tanaka M., Quantitative Evaluation of Mechanosensing of Cells on Dynamically Tunable Hydrogels, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 1367-1374, 2011.
28. Uto K., Ebara M., and Aoyagi T., Temperature-Responsive Poly(ϵ -caprolactone) Cell Culture Platform with Dynamically Tunable Nano-Roughness and Elasticity for Control of Myoblast Morphology, *Int. J. Mol. Sci.*, **15**, 1511-1524, 2014.
29. Kiang J.D., Wen J.H., del Álamo J.C., and Engler A.J., Dynamic and Reversible Surface Topography Influences Cell Morphology, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **101**, 2313-2321, 2013.
30. Yang P., Baker R.M., Henderson J.H., and Mather P.T., In Vitro Wrinkle Formation Via Shape Memory Dynamically Aligns Adherent Cells, *Soft Matter*, **9**, 4705-4714, 2013.