



Immune-Mediated Tissue Regeneration Driven by a Biomaterial Scaffold: An Innovative Regenerative Medicine Strategy

ARTICLE INFO

Article Type

Analytical Review

Authors

Faghihi F.¹ BSc,
Khoraminia F.² MSc,
Imani R.*² PhD

How to cite this article

Faghihi F, Khoraminia F, Imani R. Immune-Mediated Tissue Regeneration Driven by a Biomaterial Scaffold: An Innovative Regenerative Medicine Strategy. Pathobiology Research. 2019;22(3):159-172.

¹Biomaterial Department, Biomedical Engineering Faculty, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran

²Tissue Engineering Department, Biomedical Engineering Faculty, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran

*Correspondence

Address: Amirkabir University of Technology, NO 350, Hafex Street, Valiasr Square, Tehran, Iran
Phone: +98 (21) 64545676
Fax: +98 (21) 6646818
r.imani@aut.ac.ir

Article History

Received: March 14, 2019

Accepted: April 15, 2019

ePublished: August 21, 2019

ABSTRACT

One of the most important applications of tissue engineering is aiding in the healing and regeneration of damaged tissues. There are many methods, which can be used to control the healing process and direct it to complete regeneration of the damaged tissue. Considering advances in the understanding of different aspects of the healing process, it is obvious that the immune system and inflammatory factors which are excreted by immune cells play an important role in complete regeneration. Actually, without the presence of the immune system, the healing process would not progress properly. Recently, the direction of researches in immunotherapy is toward using tissue engineering techniques for control and manipulation of the activity of immune cells. In this approach, implantation of biomaterials and scaffolds could be utilized for the stimulation of immune cells and secretion of different cytokines in order to improve the healing process. Biomaterial engineering approaches can manipulate and improve the effectiveness of the immune cells on tissue regeneration process via changing scaffolds surface properties (e.g. topography, roughness, crosslinking, and porosity), shape and geometry, size and surface chemistry and also providing sustainable release of cytokines and cell therapy. In this review, we focus on different aspects of the immune system effects on tissue regeneration. We also overview the tissue engineering methods for control and manipulation of the immune cells, which are participating in the healing process.

Keywords Immunotherapy; Tissue Engineering; Biocompatible Materials; Immune System; Drug Delivery System

CITATION LINKS

[1] Natural origin ... [2] Tissue engineering... [3] Biomimetic ... [4] Alginate -based ... [5] Extracellular ... [6] Designing ... [7] Approaches ... [8] Engineering ... [9] Promoting ... [10] Fundamental immunology... [11] Fundamentals ... [12] Role of the ... [13] Understanding ... [14] Osteal ... [15] Macrophage ... [16] Effect of CD4+ ... [17] The treatment ... [18] Understanding ... [19] Interrelation ... [20] Inflammation ... [21] The neutrophilic ... [22] Neutrophil ... [23] Mast cell ... [24] The effect ... [25] The role of ... [26] Macrophages ... [27] Wound repair ... [28] Sequential ... [29] Macrophage ... [30] A sustained ... [31] Macrophage ... [32] Lymphocyte ... [33] Wound healing ... [34] The immune ... [35] Lymphocytes ... [36] Wound healing ... [37] T cell signaling ... [38] Lymphocyte... [39] In vitro assessment ... [40] Wound ... [41] Immune ... [42] Wound ... [43] Wound ... [44] Pathophysiology ... [45] Transforming ... [46] Fibronectin ... [47] Modulation ... [48] Polyurethane ... [49] Osteoimmunomodulation ... [50] Fracture ... [51] T-lymphocytes ... [52] The role of T-system ... [53] Fracture healing ... [54] The biology ... [55] Craniofacial ... [56] Understanding ... [57] Use of heparinized ... [58] CD4 T-cells regulate ... [59] The chronic wound ... [60] The chronic wound ... [61] Role of inflammatory ... [62] Wound healing ... [63] Macrophages ... [64] Foreign ... [65] Mediation ... [66] Biocompatibility ... [67] Macrophage ... [68] Anti-inflammatory ... [69] Biocompatibility ... [70] The effects of ... [71] The inhibitory ... [72] Proteomic ... [73] Size- and shape ... [74] Macrophage ... [75] Tissue response ... [76] Microsphere ... [77] Nano-microparticles ... [78] Influence ... [79] Chemoattraction ... [80] Macrophage ... [81] Solubilized ... [82] Biomaterial ... [83] Particle ... [84] Cytokines ... [85] Intrinsic ... [86] Tissue ... [87] Strategies ... [88] Lentivirus ... [89] Induction ... [90] Concurrent ... [91] Polymeric ... [92] Interactions... [93] The extracellular ... [94] Characterization ... [95] Combined ... [96] Biomaterial ... [97] Titanium ... [98] Advancing ... [99] Macrophage ... [100] Angiogenesis ... [101] Impact ... [102] Preparation ... [103] An optimized ... [104] Macrophage ... [105] The development ... [106] Macrophage ... [107] Ex vivo programmed ... [108] Hard to heal ... [109] Concise ...

مروری بر کاربرد ایمنی‌درمانی در مهندسی بافت با استفاده از زیست‌مواد: رویکردی نوین در پزشکی بازساختی

فرهاد فقیهی BSc

گروه بیومتریال، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

فرید خرمی‌نیا MSc

گروه مهندسی بافت، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

رعنا ایمانی PhD

گروه مهندسی بافت، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

چکیده

یکی از مهم‌ترین کاربردهای مهندسی بافت، کمک به بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده است. روش‌های متفاوتی برای کنترل فرآیند ترمیم و جهت‌دهی آن به سمت بازسازی کامل بافت استفاده می‌شود. با توجه به پیشرفت‌های بسیار زیاد در درک جنبه‌های مختلف فرآیند ترمیم، مشخص شده است که سیستم ایمنی و فاکتورهای ترشح‌شده از سلول‌های آن، نقشی اساسی و بسیار گسترده در این فرآیند دارند و بازسازی بدون حضور سلول‌های سیستم ایمنی با مشکل مواجه می‌شود. در حال حاضر، جهت‌گیری بسیاری از تحقیقات، به سمت استفاده از تکنیک‌های مهندسی بافت برای تنظیم و کنترل فعالیت سلول‌های ایمنی در محیط آسیب است. در این رویکرد از کاشت مواد زیستی و داربست‌ها در بدن، برای تحریک سلول‌های ایمنی و ترشح سایتوکین‌های مختلف که باعث ارتقا فرآیند ترمیم می‌شوند، استفاده می‌شود. رویکردهای مهندسی زیست‌مواد با استفاده از تغییر خواص سطحی (مانند توپوگرافی، زبری، تخلخل و اتصالات عرضی)، تغییر شکل و هندسه، تغییر اندازه، تغییر شیمی سطح، رهایش سایتوکین‌های موثر و استفاده از سلول‌درمانی، سعی در کنترل و بهبود تأثیر سیستم ایمنی بر فرآیند ترمیم دارد. هدف از این مقاله، مروری بر جنبه‌های مختلف تأثیر سیستم ایمنی بر ترمیم بافت‌های مختلف و سپس بیان روش‌های مهندسی بافت، برای کنترل و تنظیم فعالیت و رفتار سلول‌های ایمنی شرکت‌کننده در فرآیند است.

کلیدواژه‌ها: ایمنی درمانی، مهندسی بافت، مواد زیست‌سازگار، سیستم ایمنی، سامانه رهایش دارو

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱/۲۶

* نویسنده مسئول: r.imani@aut.ac.ir

مقدمه‌ای بر ایمنی‌درمانی

"پزشکی ترمیمی یا بازساختی"، به‌عنوان شاخه‌ای از علوم بین‌رشته‌ای، زمینه‌ای بسیار وسیع است که مهندسی بافت یکی از بزرگترین زیرمجموعه‌های آن است. هدف پزشکی ترمیمی و مهندسی بافت، کمک به بازسازی کامل بافت است به‌گونه‌ای که این بازسازی می‌تواند با بهره‌گیری از توانمندی‌های ذاتی بدن یا در بعضی از موارد با استفاده از مواد بیولوژیکی خارجی صورت گیرد^[1].^[3] در این علم، از دارو برای تحریک سازوکارهای ترمیمی موجود در بدن، از سلول و به‌خصوص سلول‌های بنیادی برای جبران سلول‌های ازدست‌رفته بافتی و از مهندسی بافت برای تولید داربست در آزمایشگاه و پیوند آن به‌جای بافت آسیب‌دیده استفاده می‌شود.^[1, 4]^[5] تمایل فراوان تحقیقات چند سال اخیر به پزشکی ترمیمی یا بازساختی، بیشتر ناشی از شناخت سلول‌های بنیادی و روش‌های کنترل آنها و همچنین پیشرفت‌های قابل توجه در مهندسی بافت است. امروزه محققان با استفاده از رویکردهای مهندسی بافت در تلاش هستند که با ایجاد تغییرات روی سلول‌ها یا بافت‌ها در

محیط آزمایشگاهی، از آنها برای ترمیم اعضا آسیب‌دیده یا ازدست‌رفته استفاده نمایند. یکی از رویکردهای پزشکی بازساختی که در سال‌های اخیر در مطالعات مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از سیستم ایمنی طبیعی بدن به‌منظور تسریع بازسازی بافت‌ها، با بیشترین شباهت به بافت‌های طبیعی بدن، است^[6-9].

بدن برای مقابله با عوامل بیماری‌زا مجهز به سیستم دفاعی یا ایمنی است که انواع مختلفی از سلول‌ها با کاربردها و ویژگی‌های مختلف دارد. سلول‌های سیستم ایمنی براساس دارابودن یا نبودن "خطر یا حافظه"، به دو دسته شامل "سیستم ایمنی اختصاصی یا اکتسابی" و "سیستم ایمنی غیراختصاصی یا ذاتی" تقسیم می‌شوند. در دفاع غیراختصاصی ایجاد پاسخ در برابر انواع و اقسام آنتی‌ژن‌ها تقریباً مشابه و یکسان است و حافظه در آن نقشی ندارد. سلول‌های ماکروفاژ و نوتروفیل نقش بسیار مهمی در این نوع دفاع ایفا می‌کنند. در دفاع اختصاصی سلول‌ها برای مقابله با هر یک از پاتوژن‌ها متناسب با خود آنها برخورد می‌کنند. لنفوسیت‌ها که به دو دسته سلول‌های B و T تقسیم می‌شوند، به‌عنوان سلول‌های اصلی و مرکزی دفاع اختصاصی قلمداد می‌شوند^[10, 11]. هر یک از سلول‌های سیستم ایمنی بدن در هنگام فعالیت خود فاکتورها و سایتوکین‌های مختلفی مانند اینترلوکین‌ها (IL) و اینترفرون‌ها (IFN) را ترشح می‌کند که بر میزان التهاب بافت، تمایز سلول‌های بنیادی و مهاجرت و تکثیر سلول‌های بافت مانند فیبروبلاست‌ها تأثیرگذار هستند. علی‌رغم تصورات اولیه، فعالیت سیستم دفاعی بدن تنها به مقابله با عوامل عفونی محدود نمی‌شود، بلکه امروزه مشخص شده است که فعالیت سیستم ایمنی از دفاع در مقابل اجرام بیماری‌زا تا حفظ تعادل شرایط فیزیولوژیک بدن، دفع سلول‌ها و فاکتورهای فرسوده، کمک به بازسازی بافت‌ها پس از بروز جراحت و جلوگیری از بروز بدخیمی و سرطان‌های گسترده را شامل می‌شود^[12, 13].

پس از مطالعات گسترده مشخص شد که در فرآیند ترمیم بافت‌ها، سیستم ایمنی نقشی پررنگی ایفا می‌کند. حضور سلول‌های سیستم ایمنی و ترشح عوامل التهابی از آنها نه‌تنها مانع از انجام فرآیند طبیعی ترمیم نمی‌شود، بلکه در صورت عدم حضور این سلول‌ها و عوامل التهابی، ترمیم بافت با بهره‌وری بسیار کمی صورت گرفته و به سمت تشکیل اسکار می‌رود^[14-16]. نتایج این آزمایش‌ها، محققان را بر آن داشت تا با استفاده بهینه از عوامل سیستم ایمنی در محل آسیب، فرآیند ترمیم را کنترل کرده و آن را به سمت بازسازی کامل و سریع بافت پیش ببرند. استفاده از "ایمنی‌درمانی" به‌عنوان یک رویکرد درمانی به اواخر قرن نوزدهم میلادی باز می‌گردد. اولین بار یک جراح به نام ویلیام کولی در سال ۱۸۹۱ میلادی پس از مطالعه نمونه‌های مختلف بیماران حاوی تومور سرطانی به این نتیجه رسید که می‌توان با تحریک سیستم ایمنی به‌وسیله عوامل تحریک‌کننده‌ای مانند باکتری‌ها، باعث افزایش واکنش سلول‌های ایمنی و درنتیجه افزایش مبارزه با تومور سرطانی و درمان آن شد. او نتایج آزمایش‌های خود را در سال ۱۸۹۳ منتشر کرد^[17]. هرچند نتایج تحقیق او برای اولین بار پیشرفت چندانی را در درمان نشان نمی‌داد و حتی خطر بروز عفونت و مرگ بیمار مشاهده می‌شد، اما روش جدیدی که کولی برای درمان بیماری‌ها پایه‌گذاری کرد، موجب ایجاد امیدواری‌های بسیاری در محققان برای درمان سرطان و سایر بیماری‌های صعب‌العلاج شد. به این ترتیب در سال‌های بعد تحقیقات بسیار گسترده‌ای روی روش ایمنی‌درمانی بیماری‌ها انجام شد و پیشرفت‌های بسیار زیادی نیز در این زمینه حاصل شد به‌گونه‌ای که

چسبندگی و مهاجرت سلول به محل آسیب می‌شود. پلاکت‌های حاضر در لخته هم برای لخته‌شدن خون و هم برای ترشح فاکتورهای رشد و سایتوکین‌های پیش‌التهابی (واسطه آمدن سلول‌های ایمنی و سلول‌های بنیادی به محل) مفید هستند[19].

در فاز اول پس از ایجاد آسیب، سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی حضور پیدا می‌کنند که در برابر پاتوژن‌های احتمالی دفاع می‌کنند. هرچند در صورت عدم حضور پاتوژن‌ها، پاسخ ایمنی به‌دلیل آزادشدن سیگنال‌های خطر از بافت آسیب‌دیده، مشاهده می‌شود. سیگنال‌های خطر معمولاً از سلول‌های نکروزه‌شده یا ماتریس خارج سلولی (ECM) آسیب‌دیده آزاد می‌شوند. معمولاً آزادشدن عواملی همچون آدنوزین‌تری‌فسفات (ATP) خارج سلولی، DNA میتوکندریایی، IL-1 و IL-33 از سلول‌های نکروزه‌شده و آزادشدن هیالورونیک‌اسید، کلاژن، الاستین، فیبرونکتین و لامینین از ماتریس خارج سلولی آسیب‌دیده، موجب تحریک سیستم ایمنی و ایجاد پاسخ از طرف آنها می‌شود. سلول‌های ماکروفاژ و نوتروفیل در این بخش از سیستم ایمنی، نقشی حیاتی در ترشح عوامل التهابی و فاکتورهای رشد ایفا می‌کنند که منجر به ترمیم و بازسازی بافت می‌شود. پس از سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی، سلول‌های سیستم ایمنی اکتسابی وارد محل می‌شوند[9]. فعالیت سلول‌های ایمنی در ترمیم بافت به سه مرحله تقسیم می‌شود[1]. سلول‌های التهابی به محل آسیب می‌آیند و دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا و فاگوسیتوز بافت‌های نکروزه‌شده را انجام می‌دهند[2]. پاسخ التهابی به‌وسیله سلول‌های ضدالتهابی سرکوب می‌شود و در کنار آن رگ‌زایی و تکثیر سلول‌های بافت تحریک می‌شود[3]. اکثر سلول‌های ایمنی آپوپتوز شده و از بین می‌روند و فرآیند طبیعی بازسازی بافت پیگیری می‌شود[20].

در بازسازی بافت، تعداد زیادی سلول ایمنی فعالیت می‌کنند که هر کدام نقش متفاوتی در ترمیم دارند. تفاوت در نقش این سلول‌ها به‌خاطر ترشح عوامل التهابی یا ضدالتهابی مختلف و تاثیر این عوامل در مراحل مختلفی از فرآیند ترمیم است. نوتروفیل‌ها اولین سلول‌های ایمنی هستند که به محل آسیب می‌رسند. آنها تقریباً پس از یک روز از ایجاد آسیب ظاهر می‌شوند و نقش فاگوسیتوز، لایه‌برداری اولیه و کاهش عفونت را دارند. نوتروفیل‌ها نقش اساسی و جامعی در ترمیم بافت یا سنتز کلاژن ندارند اما اختلال در عملکرد آنها می‌تواند منجر به عفونت آسیب شود. نوتروفیل‌ها آمدن ماکروفاژها و مونوسیت‌ها را به محل تسهیل می‌کنند، ماکروفاژها نیز نوتروفیل‌های مرده و سایر اجزای مرده سلولی را فاگوسیتوز می‌کنند و باعث کاهش اثر آنها در محل می‌شوند[21, 22]. ماست‌سل‌ها نیز از سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی محسوب می‌شوند و با ترشح فاکتورهای مختلف، موجب آمدن ائزینوفیل‌ها و مونوسیت‌ها به محل می‌شوند. تعداد زیاد ماست‌سل‌ها در محل آسیب، اثر مخرب بر بازسازی بافت دارند زیرا مشاهده شده است که تعداد آنها در زخم‌های مزمن بسیار زیاد است[9, 23]. پلاکت‌ها قبل از نوتروفیل‌ها و به‌دلیل ایجاد لخته خون و جلوگیری از خونریزی فعال می‌شوند. فعال‌شدن این سلول‌ها و ترشح فاکتورهای التهابی، منجر به تحریک و جذب سلول‌های سیستم ایمنی می‌شود. در حالی که به نظر می‌رسد آنها برای ترمیم و بازسازی ضروری باشند اما مطالعات نشان داده است که حذف آنها از محیط آسیب، تاثیری روی تعداد نوتروفیل‌ها و ماکروفاژهای حاضر در محل آسیب ندارد و روی میزان بازسازی بافت در بلندمدت تاثیرگذار نیست[24].

ماکروفاژها ۲-۴ روز بعد از ایجاد آسیب به سلول غالب در محل، تا

امروزه به‌عنوان یک روش درمانی قدرتمند برای انواع آسیب‌های بافتی و انواع بیماری‌ها، مانند سرطان و روماتوئید آرتریت، مورد استفاده قرار می‌گیرد.

امروزه بازسازی بافت با کمک سیستم ایمنی، از طریق روش‌های بسیار متنوعی انجام می‌شود. روش‌هایی که معمولاً برای تسریع و بهبود فرآیند بازسازی بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد شامل موارد زیر است:

- ۱) سلول‌درمانی بافت هدف، از طریق انتقال سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی مانند ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها
- ۲) رهایش کنترل‌شده سایتوکین‌ها و عوامل التهابی در محل آسیب به‌منظور کنترل و جهت‌دهی فرآیند ترمیم
- ۳) رهایش داروها یا سایر عوامل تحریک‌کننده، که باعث افزایش حضور سلول‌های سیستم ایمنی در محل یا افزایش ترشح فاکتورهای التهابی توسط سلول‌های سیستم ایمنی می‌شوند.
- ۴) استفاده از داربست‌های مهندسی بافت که می‌توان با تغییر ویژگی‌های سطحی و هندسه آنها، باعث مهاجرت سلول‌های ایمنی و ترشح سایتوکین‌ها و فاکتورهای موثر از آنها شد. این روش‌ها برای افزایش بهره‌وری می‌توانند به‌صورت ترکیب با هم به کار روند. هر روش نیز می‌تواند از طریق مکانیزم‌های مختلفی مانند استفاده از داربست‌ها یا نانوذرات، اجرا شود. به‌طور کلی جهت‌گیری اکثر تحقیقات در حال حاضر به سمت استفاده از روش‌های مختلف سنتی و مدرن برای غلبه بر فرآیند ترمیم و بهینه‌کردن آن است. در این مطالعه به مرور تحقیقات انجام‌شده، روی تاثیر سیستم ایمنی بدن بر ترمیم بافت‌های مختلف، می‌پردازیم و کاربرد مهندسی بافت را در جهت‌دهی به سلول‌های ایمنی و فاکتورهای ترشح‌شده از آنها با استفاده از روش‌هایی مانند رهایش کنترل‌شده سایتوکین‌ها، سلول‌درمانی و مهندسی داربست (شامل اصلاح هندسه و اندازه، اصلاح جنس و شیمی سطح و خواص فیزیکی زیست‌ماده) مورد بررسی قرار می‌دهیم.

بافت‌های هدف در درمان به‌وسیله ایمنی‌درمانی

امروزه، بسیار واضح است که سیستم ایمنی نقش اساسی در ترمیم و بازسازی بافت ایفا می‌کند و سلول‌های ایمنی علاوه بر نقش در التهاب و واکنش‌های دفاعی، عملکرد وسیعی در ترمیم بافت دارند و فعالیت آنها از طریق ترشح سایتوکین‌ها، لنفوکین‌ها و فاکتورهای رشد برای ترمیم بافت حیاتی است. هرچند هنوز نقش اصلی آنها در ترمیم بافت به‌طور واضح مشخص نشده است و تحقیقات بیشتر در این زمینه مورد نیاز است. در واقع پاسخ ایمنی پس از ایجاد آسیب، روی قسمت‌های مختلف فرآیند ترمیم شامل میزان تشکیل اسکار و بازسازی و عملکرد ارگان، موثر است. در آزمایش‌های مختلف ثابت شده است که ظرفیت بازسازی بافت، رابطه مستقیم با مشارکت سلول‌های ایمنی در فرآیند ترمیم بافت دارد. نوع پاسخ، زمان پاسخ و سلول‌های درگیر فرآیند ترمیم به‌شدت می‌توانند روی فرآیند ترمیم بافت و حرکت آن به‌سوی بازسازی یا ترمیم اثرگذار باشند[9, 18]. با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در فهم مکانیزم مولکولی ترمیم یا بازسازی بافت، اما هنوز تمایل برای بازسازی ناکامل و ایجاد اسکار در بافت‌های پستانداران غیر قابل توضیح مانده است؛ بنابراین توسعه یک استراتژی نوین برای ارتقا ترمیم بافت بسیار مهم است و نیازمند دید کلی‌تر و وسیع‌تری نسبت به مکانیزم مولکولی و سلولی ترمیم است. آسیب بافت باعث نشت اجزای داخل خون به محیط آسیب و ترشح فاکتورهای وازواکتیو شده، که موجب فعال‌شدن آبشار انعقادی می‌شود. خون لخته‌شده ماتریسی را تشکیل می‌دهد که باعث

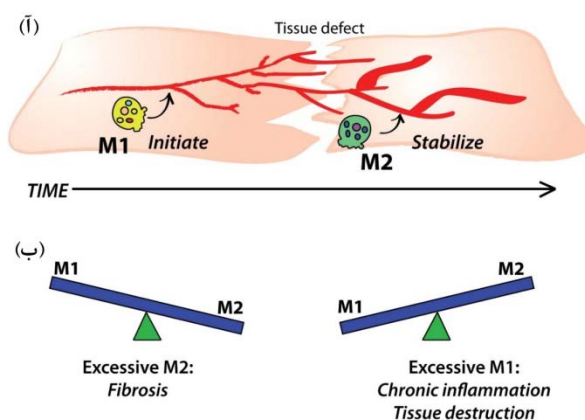
که بعد از ماکروفاژها و در پنجمین روز پس از ایجاد آسیب به محل مهاجرت می‌کنند و در روز هفتم به اکثریت می‌رسند^[32]. تحقیقات بسیاری روی تاثیر سلول‌های T بر فرآیند ترمیم انجام شده است اما همچنان اطلاعات بسیار کمی درباره نقش اصلی آنها در بازسازی بافت وجود دارد. نتایج متفاوتی از آزمایش روی اثر سلول‌های T در فرآیند ترمیم بافت مشاهده شد به گونه‌ای که برخی اثر مثبت این سلول‌ها را مشاهده کرده‌اند^[33, 34] و برخی دیگر تاثیر منفی آنها بر بازسازی را گزارش کرده‌اند^[35, 36]. در برخی از مطالعات نیز گزارش شده است که تاثیر سلول‌های T بر بازسازی بافت به صورت غیرمستقیم و از طریق فعال کردن سایر سلول‌های سیستم ایمنی مانند ماکروفاژها، است^[37, 38]. به نظر می‌رسد این نتایج متفاوت و بعضاً متضاد به دلیل تنوع گونه‌های این سلول‌ها و عوامل التهابی مختلف ترشح شده از آنها است که می‌توانند موجب تسريع یا کند شدن فرآیند بازسازی شوند. به گونه‌ای که لنفوسیت‌های CD4⁺ اثر تنظیمی مثبت و لنفوسیت‌های CD8⁺ اثر تنظیمی منفی بر روند بازسازی بافت دارند. همانند سلول‌های T، هنوز نقش سلول‌های B در ترمیم بافت واضح نیست؛ اما مشاهده شده است گونه‌ای از سلول‌های T که موجب فعال سازی سلول‌های B می‌شوند، هنگام ترمیم در محل آسیب حضور ندارند؛ بنابراین پیش‌بینی می‌شود که سلول‌های B نقش اساسی در ترمیم بافت ایفا نمی‌کنند^[18]. داشتن اطلاعات جامع از تاثیر سلول‌های ایمنی بر بازسازی بافت‌های مختلف، به همراه استفاده از رویکردهای مهندسی، از جمله استفاده از داربست‌های مهندسی بافت یا رهایش کنترل شده عوامل موثر، می‌تواند باعث تنظیم و کنترل فرآیند ترمیم بشود. به این ترتیب می‌توان اثرات مثبت سلول‌های ایمنی بر فرآیند ترمیم را تقویت کرد و اثرات منفی آنها را کاهش داد و ترمیم را به سمت بازسازی کامل بافت و تشابه حداکثری به بافت قبل از ایجاد آسیب، هدایت کرد.

تاثیر سیستم ایمنی در ترمیم زخم

درمان زخم‌های ناشی از جراحات و بیماری‌ها، به خصوص زخم‌های عمیق یا مزمن معمولاً بسیار زمان‌بر بوده و در اغلب موارد با عدم موفقیت مواجه است. از این رو امروزه توجه ویژه‌ای به حوزه ترمیم زخم و محصولات موثر بر روال ترمیم، مانند زخم‌پوش‌ها، معطوف است^[39].

ترمیم زخم یک فرآیند پیچیده بیولوژیکی است که شامل زنجیره‌ای از رخدادها برای ترمیم بافت آسیب است. نقش سیستم ایمنی نه تنها شناسایی و حمله به سلول‌های بیگانه در محل آسیب است، بلکه در لایه‌برداری ناحیه آسیب دیده و شرکت در فرآیند ترمیم نیز است. ترمیم زخم به ترتیب به فازهای انعقاد، التهابی، مهاجرت و تکثیر و بازسازی تقسیم می‌شود. این فازها به طور کامل از هم جدا نیستند و در زمان‌های خاصی با یکدیگر همپوشانی دارند. زخم‌های حاد این فازها را به ترتیب و با نظم خاصی طی می‌کنند. این در حالی است که در زخم‌های مزمن ترتیب فازها و مدت زمانی که هر فاز به طول می‌انجامد، با زخم‌های حاد تفاوت دارد. در پاسخ ایمنی غیراختصاصی در ترمیم زخم، نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک، سلول‌های کشنده طبیعی و سیستم کمپلمان نقش ایفا می‌کنند. پاسخ ایمنی اختصاصی به دو دسته همورال که به وسیله لنفوسیت‌های B و سلولی که به وسیله لنفوسیت‌های T انجام می‌شود، تقسیم می‌شود. هر کدام از این سلول‌ها در بازه زمانی خاصی از زمان ایجاد آسیب، به حداکثر میزان خود در محیط زخم و حداکثر تاثیرگذاری با ترشح فاکتورها و عوامل مختلف می‌رسند (شکل ۲) [18, 40-42]. (شکل ۲).

قبل از مهاجرت فیبروبلاست‌ها تبدیل می‌شوند. ماکروفاژها از مونوسیت‌ها که ۱-۳ روز پس از نوتروفیل‌ها وارد محل آسیب می‌شوند، تمایز می‌یابند. آنها در لایه‌برداری آسیب با استفاده از آنزیم‌هایی مانند الاستاز و کلاژناز همکاری می‌کنند. علاوه بر نقش جمع‌آوری سلول‌های مرده از محیط و مبارزه با عوامل پاتوژن، ماکروفاژها منشا بسیاری از پروتئازها، سایتوکین‌ها، فاکتورهای رشد و اجزای ماتریس خارج سلولی هستند که برای ترمیم و بازسازی بافت ضروری هستند^[25-27]. ماکروفاژهای التهابی (M1) و ضدالتهابی (M2)، دو گونه از این سلول هستند که بیشترین توجه را در مطالعات ترمیم و بازسازی بافت به خود جلب کرده‌اند. گونه M1 زمانی تولید می‌شود که تماس با سایتوکین‌های IFN- γ و TNF- α وجود داشته باشد و گونه M2 زمانی تولید می‌شود که تماس با سایتوکین‌های IL-4 و IL-13 وجود داشته باشد. در ترمیم بافت طبیعی ماکروفاژهای M1، یک تا ۵ روز پس از ایجاد آسیب حضور حداکثری دارند در حالی که ماکروفاژهای M2، ۴ تا ۱۰ روز پس از ایجاد آسیب، غالب هستند. ماکروفاژهای M1 سایتوکین‌های پیش‌التهابی را ترشح می‌کنند و با ترشح VEGF باعث آغاز رگ‌زایی می‌شوند. ماکروفاژهای M2 سایتوکین‌های ضدالتهابی ترشح می‌کنند و باعث افزایش ترشح ECM و تکثیر سلولی می‌شوند و با ترشح PDGF باعث بالغ شدن رگ می‌شود (شکل ۱). این خاصیت گونه‌های مختلف ماکروفاژها می‌تواند با استفاده از داربست مناسب و رهایش کنترل شده عوامل تحریک‌کننده، در جهت بازسازی بهتر بافت مورد استفاده قرار گیرد^[26, 28, 29]. در واقع رهایش کنترل شده مناسب از داربست می‌تواند موضع درمان را در معرض پیوسته و طولانی مدت عوامل درمانی قرار دهد و بازدهی درمان را بیافزاید^[30]. علاوه بر آن باید در نظر داشت که حضور بیش از اندازه هر کدام از گونه‌های ماکروفاژ در محیط آسیب ممکن است نه تنها باعث بهبود فرآیند ترمیم نشود، بلکه موجب التهاب مزمن، تخریب و فیبروز شدن بافت نیز بشود (شکل ۱) [31]. سلول‌های دندریتیک مانند ماکروفاژها، اجزای موجود در محل آسیب را فاگوسیتوز می‌کنند. نقش اصلی این سلول‌ها هنوز به طور دقیق مشخص نشده است. معمولاً سلول‌های دندریتیک به عنوان یک تنظیم‌کننده سیستم ایمنی از طریق کنترل هموستاز ماکروفاژها عمل می‌کنند^[9].



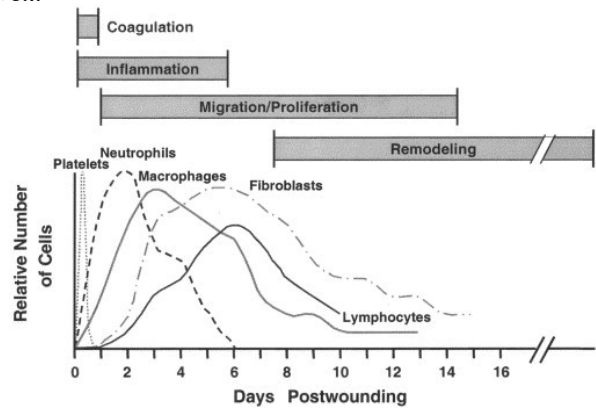
شکل ۱ (آ) تاثیر گونه‌های مختلف سلول ماکروفاژ بر رگ‌زایی پس از ایجاد آسیب؛ (ب) تاثیر مخرب حضور بیش از حد گونه‌های M1 و M2 ماکروفاژ در محل آسیب^[31]

سلول‌های T، مهم‌ترین سلول‌های سیستم ایمنی اکتسابی هستند

است اما استفاده از آنها با عدم دسترسی به اهداکننده مناسب بافت محدود شده است. یکی دیگر از مشکلات آن نیاز به انجام دو جراحی است که باعث افزایش احتمال عفونت و به‌خطر افتادن سلامت بیمار می‌شود. مهندسی بافت استخوان به‌عنوان یک رویکرد بین‌رشته‌ای برای ارتقا ترمیم شکستگی بزرگ در استخوان‌ها، با استفاده از مواد زیست‌فعال با قابلیت ایمپلنت شدن، مورد توجه قرار دارد [47, 48].

سلول‌های ایمنی به‌صورت فعال در فیزیولوژی و پاتولوژی فرآیند استخوان‌زایی با رهایش عوامل موثر، سهیم هستند. عدم فعالیت صحیح سلول‌های ایمنی، منجر به عدم توازن بین استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها و بروز بیماری‌هایی همچون استئولیز، پوکی استخوان، روماتیسم مفصلی و آرتروز می‌شود [49]. تأثیر سلول‌های ایمنی بر فرآیند استخوان‌زایی بسیار پیچیده است و شامل ترشح تعداد بسیار زیادی از عوامل التهابی، ضدالتهابی و فاکتورهای رشد می‌شود. تأثیر هر یک از این سایتوکین‌ها به‌تنهایی قابل بررسی نیست زیرا تأثیر آنها در ترکیب با سایر سایتوکین‌ها و پارامترهای فیزیکی و شیمیایی محیط مشخص می‌شود؛ اما با آزمایش‌هایی که در این زمینه انجام شده است تعدادی از فاکتورهای رها شده توسط سلول‌های ایمنی و تأثیر هر کدام بر ترمیم استخوان مشخص شده است. ماکروفاژها نقش مثبت و موثری بر فعالیت استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها دارند. به‌گونه‌ای که کاهش تولید استخوان به‌وسیله استئوبلاست‌ها در مدل موش خالی‌شده از سلول‌های ماکروفاژ مشاهده شده است [14]. علاوه بر آن، ماکروفاژها پیش‌ماده استئوکلاست‌ها به شمار می‌روند که در مجاورت سایتوکین‌هایی مانند M-CSF، در طول فرآیند بازسازی استخوان، به سلول‌های استئوکلاست تمایز می‌یابد. در رابطه با تأثیر لنفوسیت‌های T و B بر بازسازی استخوان نتایج متفاوتی در مطالعات مشاهده می‌شود. تعدادی از آزمایش‌ها اثر مخرب سلول‌های T و B را بر فرآیند ترمیم گزارش کردند [50]. در حالی که تعدادی دیگر ترمیم ناقص استخوان را هنگام عدم حضور لنفوسیت‌های T و B مشاهده کردند [51, 52]. مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی نقش فعالی در تنظیم پاسخ ایمنی دارند. به‌گونه‌ای که با ترشح عوامل سرکوب‌کننده سیستم ایمنی یا اثر مستقیم بر فعالیت این سلول‌ها شامل سلول‌های T، باعث کنترل فعالیت سلول‌های ایمنی و تنظیم اثر آنها بر ترمیم استخوان می‌شوند [53].

فرآیند ترمیم استخوان شامل فازهای التهاب، تجدید و بازسازی است. آسیب در استخوان باعث ایجاد یک پاسخ التهابی می‌شود که برای شروع فرآیند ترمیم ضروری است. در فاز التهابی سطح واسطه‌های التهابی شامل IL-1, IL-6, IL-11, IL-18 و TNF- α به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. این سیگنال‌ها موجب آمدن سلول‌های ایمنی و افزایش رگ‌زایی می‌شود. پلاکت‌های فعال شده در اثر آسیب، TGF- β 1 و PDGF ترشح می‌کنند. سلول‌های استخوان‌ساز پروتئین‌های مورفوژن بیان می‌کنند. این فاکتورها به‌همراه واسطه‌های التهابی موجب آمدن سلول‌های بنیادی مزانشیمی در محل و تمایز و تکثیرشان می‌شوند. در فاز تجدید واسطه‌های التهابی حضور ندارند [47]. استخوان ایجادشده در فاز تجدید، ویژگی‌های مکانیکی مناسبی همانند بافت طبیعی استخوان را ندارد؛ بنابراین بدن به‌صورت طبیعی مرحله بازسازی را آغاز می‌کند که در آن استخوان تشکیل‌شده قبلی به‌وسیله استئوکلاست‌ها تجزیه می‌شود و استخوان جدید به‌وسیله استئوبلاست‌ها تولیدشده و جایگزین آن می‌شود. بازسازی ۳ تا ۴

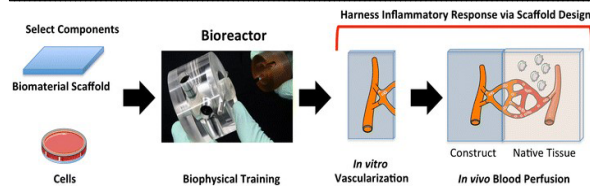


شکل ۲) دیاگرام حضور سلول‌های ایمنی در فازهای مختلف ترمیم زخم [18]

بلافاصله پس از ایجاد زخم، پلاکت‌ها فعال و فاز انعقاد آغاز می‌شود. فعال شدن پلاکت‌ها و سلول‌های سیستم ایمنی به‌دلیل تولید سیگنال‌های خطر از سلول‌های آسیب‌دیده رخ می‌دهد. فعال شدن پلاکت‌ها و در نتیجه آن لخته شدن خون، باعث می‌شود فاکتورهای PDGF که ماکروفاژها را جذب و فعال می‌کند و TGF- β که کموتاکسی سریع ماکروفاژها را فراخوانی می‌کند، ترشح شوند. با ایجاد شبکه فیبرین، علاوه بر آن که یک مانع طبیعی در برابر ورود میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا ایجاد می‌شود، باعث حفظ یکپارچگی پوست و فراهم آوردن داربست برای مهاجرت و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست و تولید ماتریس خارج سلولی جدید می‌شود. در فاز التهابی سلول‌های سیستم ایمنی مانند نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها به محل می‌آیند و به‌دلیل ترشح عوامل مختلف باعث ایجاد التهاب در محل زخم می‌شوند. در واقع فاز التهابی با ورود گلبول‌های سفید به محل زخم شناسایی می‌شود. این فاز معمولاً پس از ۲۴ از ایجاد آسیب شروع شده و تا دو روز به طول می‌انجامد. فاز مهاجرت و تکثیر پس از فاز التهابی آغاز می‌شود و هدف آن از بین بردن اثرات زخم به‌وسیله فعال‌سازی سلول‌های فیبروبلاست و کراتینوسیت است. این فاز مسئول رگ‌زایی، تکثیر سلول‌های فیبروبلاست، تشکیل بافت گرانوله، تکثیر سلول‌های کراتینوسیت و تشکیل پوست است. این فاز ۲ روز پس از ایجاد آسیب شروع می‌شود و حداکثر تا ۱۴ روز پس از آن نیز ادامه خواهد داشت [43, 44]. بافت گرانوله ۲ تا ۳ روز پس از ایجاد آسیب، محل زخم را پر می‌کنند. این بافت شامل سلول‌های اندوتلیال، فیبروبلاست‌ها، ماکروفاژهای التهابی، لنفوسیت‌ها و ماتریس خارج سلولی جدید است. ماکروفاژها فاکتورهای PDGF، TGF- β و FGF را ترشح می‌کنند که فیبروبلاست‌ها را به مهاجرت به محل زخم و تکثیر، تحریک می‌کنند. سلول‌های فیبروبلاست پس از گذشت ۷-۱۴ روز به سلول‌های غالب در محل زخم تبدیل می‌شوند و با ترشح عواملی همچون PDGF، TGF- β ، FGF، IGF-1 و KGF باعث تسهیل تولید ماتریس خارج سلولی می‌شوند [40, 45, 46]. آخرین مرحله ترمیم زخم، بازسازی نام دارد که ۲ تا ۳ هفته پس از ایجاد آسیب شروع می‌شود و می‌تواند تا یک سال یا بیشتر نیز ادامه داشته باشد. هدف اصلی در این فاز، رسیدن به حداکثر استحکام کششی با تخریب و سنتز دوباره ماتریس خارج سلولی است [43].

تأثیر سیستم ایمنی در بازسازی استخوان

استخوان ظرفیت قابل توجهی در ترمیم بدون اسکار دارد اما این ترمیم در آسیب‌های بزرگ به‌درستی صورت نمی‌پذیرد. گرفت اتولوگ در حال حاضر بهترین گزینه برای ترمیم شکستگی استخوان



شکل ۳) گام‌های رسیدن به یک ساختار مهندسی‌شده که در آن داربست برای کنترل پاسخ ایمنی بافت و افزایش رگ‌زایی طراحی شده است [63].

کاربرد مهندسی بافت در تنظیم فعالیت سیستم ایمنی

مهندسی بافت یکی از حوزه‌هایی است که امیدهای زیادی را در محققان برای بازسازی کامل بافت‌های آسیب‌دیده ایجاد کرده است. در حال حاضر اکثر تحقیقات مهندسی بافت برای پیشرفت و ارتقا فرآیند ترمیم، بر پایه استفاده از سلول‌های بنیادی انجام می‌گیرد. این در حالی است که هنوز به‌صورت کلینیکی تأثیر کامل و مثبت استفاده از سلول‌های بنیادی در پزشکی بازساختی برای بازسازی کامل بافت، اثبات نشده است.

بهره‌بردن از فعالیت سیستم ایمنی در تحریک و تنظیم فرآیند ترمیم و بازسازی بافت‌های از دست‌رفته و آسیب‌دیده بدن به‌عنوان یک راهکار متفاوت برای بازسازی بافت‌ها به شمار می‌رود. در این راهکار عمدتاً با رهایش فاکتورهای موثر در موضع بافت آسیب‌دیده و تحریک سلول‌های ایمنی با استفاده از زیست‌ماده، فعالیت سیستم ایمنی تنظیم شده و در راستای بازسازی کامل بافت پیش می‌رود. در واقع مبنای این رویکرد، استفاده هم‌زمان از علوم مهندسی مواد، مهندسی پزشکی و ایمونولوژی، برای غلبه بر موانع موجود در فرآیند ترمیم است. این رویکرد می‌تواند در ترکیب با رویکردهای قبلی پزشکی بازساختی استفاده شود تا بهره‌وری روش درمان افزایش یابد. انواع مختلفی از مواد تحریک‌کننده ایمنی شامل داربست‌های مهندسی بافت، نانوذرات و میکروذرات با قابلیت رهایش کنترل‌شده دارو، برای تنظیم و کنترل فعالیت سیستم ایمنی استفاده می‌شوند. این مواد به‌دلیل داشتن ویژگی‌های خاصی مانند خواص سطحی، هندسه، اندازه، درصد تخلخل، اندازه حفرات و قابلیت رهایش دارو و عوامل موثر، می‌توانند باعث افزایش یا کاهش فعالیت سلول‌های ایمنی شوند.

عدم درک صحیح از برهم‌کنش میان سیستم ایمنی و زیست‌ماده، موجب بروز آسیب‌های پاتولوژیکی جدی به محیط اطراف زیست‌ماده می‌شود که این مساله یکی از مهم‌ترین موانع پیشرفت روش‌های درمان بر پایه زیست‌ماده است. نوع واکنش سیستم ایمنی به زیست‌ماده پس از کاشت در بدن، موفقیت یا عدم موفقیت آن را در هماهنگی با بافت اطراف مشخص می‌کند [64]. در ابتدا که زیست‌ماده در بدن کاشته می‌شود، آسیب رگ‌ها، باعث خروج خون در اطراف ایمپلنت می‌شود و برهم‌کنش بین ماده و خون آغاز می‌شود. اجزا پلاسما شامل پروتئین‌ها، چربی‌ها، قندها و یون‌ها روی سطح ایمپلنت می‌چسبند. عوامل سطحی مانند توپوگرافی، زبری، شیمی سطح و انرژی سطح، روی میزان و نوع مواد جذب‌شده تأثیر می‌گذارند. مواد جذب‌شده روی سطح ایمپلنت، موجب جذب سایر سلول‌های موجود در محیط اطراف ایمپلنت می‌شود [8, 65].

یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر میزان التهاب ایجادشده پس از بروز آسیب، نسبت سلول‌های ماکروفاژ M1 و M2 موجود در محیط است. مطالعات نشان داده است که می‌توان با رهایش سائیتوکین‌های موثر، نسبت ماکروفاژهای M1 و M2 را در محیط

هفته پس از ایجاد آسیب آغاز می‌شود و تا سال‌ها می‌تواند ادامه داشته باشد تا زمانی که ساختار استخوانی به‌طور کامل به حالت طبیعی بازسازی شود [54]. در فاز بازسازی سلول‌های استخوان‌ساز، به سلول‌های استئوبلاست تمایز می‌یابند که IL-1، IL-6، IL-11 و سایر فاکتورهایی که تشکیل استئوکلاست را ارتقا می‌دهند، بیان می‌کنند. علاوه بر واسطه‌های بالا افزایش سطح TNF- α ، IL-12 و IFN- γ در محل شکست مشاهده می‌شود [55].

تأثیر سیستم ایمنی در رگ‌زایی

رگ‌زایی یک فرآیند پیچیده است که شامل برهم‌کنش سلول‌ها و واسطه‌های مختلف به‌منظور ساخت یک محیط مناسب برای ساخت رگ‌های جدید از عروق موجود است. فرآیند رگ‌زایی بدون شک یکی از مهم‌ترین مراحل ترمیم و بازسازی بافت است. رگ‌زایی پس از مرحله التهابی و در مرحله مهاجرت و تکثیر اتفاق می‌افتد. تشکیل رگ جدید برای رسیدن مواد غذایی و اکسیژن به بافت جدید ضروری است. به همین خاطر سلول‌های اندوتلیال با تکثیر و مهاجرت، اقدام به تشکیل عروق خونی می‌کنند. رگ‌زایی برای تمامی بافت‌ها شامل پوست، استخوان، ماهیچه‌های استخوانی، ماهیچه قلب و سایر بافت‌ها مهم است. به‌دلیل اهمیت بالای رگ‌زایی در موفق‌بودن بازسازی و عملکرد بافت جایگزین شده، بسیاری از تحقیقات به بررسی جداگانه نقش سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی و عوامل ترشح‌شده از آنها در این فرآیند پرداخته‌اند [56-59].

پس از ایجاد آسیب، محیط ترمیم، به‌علت کاهش جریان خون ناشی از پاره‌شدن رگ‌ها، دچار کمبود اکسیژن می‌شود. این کمبود اکسیژن به‌عنوان یک سیگنال خطر عمل کرده و تأثیرات متفاوتی بر بازسازی بافت می‌گذارد. به‌گونه‌ای که موجب افزایش رگ‌زایی به‌منظور جبران کمبود اکسیژن می‌شود [60]. سلول‌های التهابی مانند مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و لنفوسیت‌های T، نقش اساسی در فرآیند رگ‌زایی با ترشح سائیتوکین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی ایفا می‌کنند و می‌توانند آپوپتوز، تکثیر، مهاجرت و فعالیت سلول‌های اندوتلیال را تنظیم کنند. IL-1 یک پارامتر مهم برای رگ‌زایی است. افزایش بیان IL-1 یا توسط مونوسیت‌هایی که در معرض هاپپوکسی قرار گرفته‌اند، یا به‌وسیله فاکتورهای تحریک‌کننده رگ‌زایی مانند ترومبین، تحریک می‌شود. رگ‌زایی حاصل تعادل بین فعالیت مثبت و منفی تنظیم‌کننده‌ها است. سائیتوکین‌های تحریک‌کننده رگ‌زایی شامل IL-1 و TNF- α و سائیتوکین‌های ضد رگ‌زایی شامل IL-12 و IFN- γ هستند. اصلی‌ترین فاکتورهای رشد تحریک‌کننده مهاجرت و تکثیر سلول‌های اندوتلیال، رهایش FGF به‌وسیله سلول‌های ماکروفاژ و سلول‌های اندوتلیال آسیب‌دیده و VEGF به‌وسیله سلول‌های کراتینوسیت و ماکروفاژ است [41, 61]. سلول‌های بنیادی نیز بر رگ‌زایی تأثیرگذار هستند به‌گونه‌ای که مشاهده شده است این سلول‌ها با ترشح فاکتورهای رشد موثر بر رگ‌زایی مانند VEGF، EGF، TGF- β و IGF-1 بر این فرآیند تأثیرگذار هستند [62]. با طراحی داربست‌ها و زیست‌ماده مناسب می‌توان بر فرآیند رگ‌زایی، با کنترل فعالیت سلول‌های ایمنی، تأثیر گذاشت (شکل ۳) [63]. رگ‌زایی در بافت تومور به‌علت رشد سریع و مصرف زیاد سلول‌های آن، ضروری است و بافت تومور فرآیند رگ‌زایی را به‌خوبی انجام می‌دهد. بنابراین می‌توان از نتایج حاصل از مطالعات روی رگ‌زایی تومورها برای پیشرفت رگ‌زایی در ترمیم بافت‌های عادی استفاده کرد.

در نتیجه تأثیر بیشتری بر فرآیند ترمیم خواهند گذاشت [49]. علاوه بر آن، تعبیه کردن عناصر شیمیایی روی سطح زیست‌ماده، یکی از روش‌هایی است که برای اصلاح زیست‌ماده و افزایش زیست‌سازگاری آن استفاده می‌شود. به عنوان مثال تعبیه کردن استرونتیوم روی شیشه زیست‌فعال باعث محدودیت در فعالیت استئوکلاست‌ها و افزایش استخوان‌زایی می‌شود [70].

بار سطحی مواد، باعث فراخوانی پاسخ ایمنی می‌شود؛ به گونه‌ای که مشخص شده است ذرات با بار منفی توانایی ایجاد پاسخ ایمنی بیشتری نسبت به ذرات با بار مثبت دارند [71]. اکثر سلول‌های انسانی شامل سلول‌های ایمنی، دارای بار سطحی منفی هستند. ازدست رفتن این بار منفی با چسبیدن به ذرات با بار مثبت، باعث ایجاد تغییراتی در پروتئین‌های سطحی سلول و ایجاد سیگنال‌هایی در سیتوپلاسم سلول و در نتیجه بروز واکنش‌های التهابی توسط سلول ایمنی می‌شود [49]. همچنین سطوح خنثی و سطوح اصلاح شده با پلیمرهای آب‌دوست در مقایسه با سطوح آب‌گریز و یونی، باعث تحریک بیشتر ماکروفاژها و رهایش بیشتر سایتوکین‌هایی مانند IL-1، IL-6، IL-8 و IL-10 می‌شود [72].

هندسه و اندازه زیست‌ماده

مطالعات زیادی به بررسی تأثیر هندسه مواد کاشته شده در بدن در تنظیم پاسخ ایمنی پرداخته‌اند [73، 74]. در یک مطالعه درون‌تنی، زیست‌سازگاری میله‌های با شکل سطح مقطع متفاوت مورد بررسی قرار گرفت. آنها متوجه شدند که میله‌های با سطح مقطع دایره‌ای در مقایسه با میله‌های با سطح مقطع مثلثی و پنج‌ضلعی، پاسخ ایمنی بسیار کمتری ایجاد کردند [75]. در مطالعه‌ای دیگر از ذراتی از جنس PLGA برای رهایش ترکیبات درمانی استفاده شد. برای یافتن تأثیر اندازه ذرات روی میزان رهایش و در نتیجه آن پاسخ ایمنی، ذرات با اندازه‌های مختلف را وارد بدن موش کردند و پس از ۴ هفته به بررسی آنها پرداختند. پس از بررسی و مقایسه نمونه‌های مختلف مشاهده شد که اندازه ذرات روی پاسخ ایمنی، فعالیت ماکروفاژها و میزان کلژن تولید شده موثر بوده است [76]. با مشاهده مطالعات مختلف نتیجه می‌شود که پاسخ ایمنی به اندازه و شکل زیست‌ماده بستگی دارد و با تغییر آن می‌توان به بهترین پاسخ از سلول‌های ایمنی رسید.

اندازه ذراتی که برای رهایش داروها و سایتوکین‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، بر میزان تأثیر آنها بر سلول‌های ایمنی تأثیرگذار است. اگر تعداد ذرات ثابت باشند، با کاهش اندازه ذرات و افزایش سطح ویژه، واکنش‌پذیری شیمیایی آنها افزایش می‌یابد و می‌تواند اثر بیشتری بر فعالیت سلول هدف داشته باشند. هرچند کاهش اندازه ذرات در همه شرایط به معنی واکنش‌پذیری بیشتر و ایجاد پاسخ ایمنی قوی‌تر توسط ذره نیست [49]. به عنوان مثال مشاهده شده است که ذرات بزرگ و کوچک هر دو بر سلول‌های T تأثیرگذار هستند به نحوی که ذرات بزرگ‌تر از یک میکرومتر تنها بر گونه Th1 و ذرات کوچک‌تر از آن بر گونه Th2 تأثیرگذار هستند [77]. همچنین در یک مطالعه درون‌تنی مشاهده شده است که کاهش اندازه ذرات هیدروکسی آپاتیت با شکل نامنظم، باعث ایجاد محدودیت در پاسخ التهابی می‌شود [78].

استفاده مستقیم از ماتریس خارج سلولی یا استفاده از ساختارهایی که آن را شبیه‌سازی می‌کنند، یکی از روش‌های مرسوم در تنظیم پاسخ ایمنی و کنترل آن است؛ زیرا استفاده از ساختاری شبیه بافت قبل از ایجاد آسیب باعث جذب سلول‌های ایمنی و سلول‌های تولیدکننده بافت به آن و سبب جهت‌دهی فرآیند ترمیم به سمت بازسازی کامل بافت می‌شود. در این زمینه می‌توان از

کنترل کرد [67، 66]. به این ترتیب رهایش کنترل شده سایتوکین‌ها می‌تواند یکی از اهداف پزشکی بازساختی برای کنترل التهاب پس از ایجاد آسیب باشد. تنظیم ایمنی در اطراف زیست‌ماده می‌تواند با اتخاذ رویکردهای مختلفی مانند تغییر خواص شیمیایی سطح زیست‌ماده، رهایش کنترل شده سایتوکین‌های التهابی یا ضدالتهابی از زیست‌ماده، تغییر خواص فیزیکی سطح زیست‌ماده یا انتقال مستقیم سلول‌های ایمنی به محل آسیب، صورت گیرد [8].

امروزه مشخص شده است که بازسازی بافت‌هایی مانند استخوان، تنها به وسیله حضور سلول‌های استخوان انجام نمی‌شود. بلکه فرآیند ترمیم حاصل همکاری قسمت‌های مختلف بدن است؛ بنابراین استفاده از روش‌های سنتی که تنها به یک جنبه از فرآیند ترمیم توجه می‌شد، برای بازسازی کامل بافت کافی نیست. استفاده از زیست‌ماده تنظیم‌کننده پاسخ ایمنی یکی از روش‌های نوین برای رسیدن به حداکثر بازسازی بافت است. توسعه زیست‌ماده برای ترمیم بافت نیاز به داشتن اطلاعات جامعی در رابطه با تأثیر سلول‌های ایمنی بر فعالیت سلول‌ها، آشنایی با مکانیزم اثر زیست‌ماده بر پاسخ دستگاه ایمنی بدن برای طراحی و آماده‌سازی بهتر زیست‌ماده و آشنایی با روش‌های ارزیابی میزان تأثیر هر روش بر نتیجه فرآیند ترمیم، است [49].

جنس و شیمی سطح زیست‌ماده

زیست‌ماده کاشته شده در بدن تأثیر اساسی بر فعالیت سیستم ایمنی با کاهش یا افزایش التهاب دارد. اگرچه حضور یک زیست‌ماده درون بدن، به عنوان جسم خارجی، سبب فراخوانی سیستم ایمنی به محل می‌شود، حالتی که زیست‌ماده دارد (جامد، هیدروژل، نانوذره یا میکروذره)، میزان اتصال عرضی پلیمر، تخریب‌پذیری، آب‌دوستی و طبیعی یا مصنوعی بودن آن، عوامل مهمی هستند که بر فعالیت سیستم ایمنی تأثیرگذار هستند. زیست‌مواد مصنوعی که برای تنظیم پاسخ ایمنی به کار می‌روند معمولاً از جنس پلی‌لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید (PLGA)، پلی‌لاکتیک اسید (PLA) و پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) هستند. زیست‌مواد طبیعی عمدتاً شامل بافت‌های آسولار شده انسانی و حیوانی یا داربست‌های ساخته شده از مواد طبیعی مانند کلژن، فیبرین، هیالورونیک اسید، کیتوسان، آلژینات و ابریشم هستند.

اصلاح سطح زیست‌ماده یکی از روش‌های مدیریت جذب پروتئین‌ها و در نتیجه آن رفتار سلولی است. تغییر خواص فیزیکی و شیمیایی سطح زیست‌ماده به طور مستقیم بر رفتار سلول‌های ایمنی تأثیر می‌گذارد [8]. روش‌های قدیمی اصلاح سطح در جهت خنثی‌سازی سطح با کاهش جذب پروتئین، کاهش تحریک گلبول‌های سفید و کاهش جذب آنها روی سطح بود. در مطالعات مختلف از هیدروژل‌ها به عنوان ماده زیست‌خنثی، برای تنظیم فعالیت ایمنی استفاده شده است [68]. امروزه این باور وجود دارد که جلوگیری از واسرشتن پروتئین‌ها اهمیت بیشتری نسبت به جلوگیری از جذب آنها روی سطح دارد. جذب پروتئین‌ها یک سطح زیست‌فعال ایجاد می‌کند که می‌تواند موجب تحریک شروع بسیاری از فرآیندها شود. امروزه استفاده روش‌های ساخت سطوح زیست‌فعال نسبت به سطوح خنثی، بسیار بیشتر مورد توجه است [69].

به طور کلی سطوح آب‌گریز موجب افزایش چسبندگی مونوسیت‌ها و ایجاد پاسخ ایمنی در محل می‌شوند. همچنین مشاهده شده است که سطوح آب‌دوست یا خنثی، باعث محدودیت در چسبندگی و فعالیت ماکروفاژها می‌شوند. سلول‌هایی که به سطح می‌چسبند، مقدار بیشتری سایتوکین و فاکتورهای رشد تولید می‌کنند که

اثرگذاری آنها است. استفاده از رهایش کنترل شده دو مزیت عمده دارد، اول جلوگیری از خنثی سازی داروها یا پروتئین ها در محیط درون تنی و دوم رهایش پایدار در محیط که باعث در دسترس بودن ماده در یک غلظت مشخص تا مدت های طولانی می شود [83]. رهایش سایتوکین ها و به طور کلی داروها، یکی از مهم ترین روش های کنترل سیستم ایمنی در مهندسی بافت است. در این روش از پلیمرهای مختلف طبیعی و سنتزی برای تولید نانوذرات یا میکروذرات استفاده می شود. پلیمر مورد استفاده خلل و فرج های مشخصی دارد و دارو با گذشت زمان در این حفرات نفوذ کرده و به صورت آهسته و یکنواخت رهایش می یابد. پراکندترین سایتوکین های موثر بر التهاب بافت که در روش های درمان بر پایه زیست ماده از آنها استفاده می شود، شامل IL-1، IL-4، IFN- γ ، IL-6، IL-17، IL-23، TNF و IL-10 هستند [84]. تلاش ها در مهندسی بافت بر آن است که رهایش این سایتوکین ها به صورت یکنواخت و در زمان طولانی در محل صورت گیرد و فعالیت زیستی زیست مولکول تا زمان رهایش حفظ شده یا افزایش یابد. در این زمینه باید ذرات با اندازه، جنس، خواص سطحی و تخلخل مختلف بررسی و آزمایش شوند تا بهترین پروفایل رهایش سایتوکین با بیشترین فعالیت زیستی به دست آید.

استفاده از زیست ماده برای رهایش سایتوکین ها، مزایا و معایبی دارد. مزایای آن شامل رهایش طولانی مدت، افزایش فعالیت، راحتی نسبی روش، توانایی رهایش بیش از یک نوع سایتوکین به صورت هم زمان یا متوالی و افزایش نیمه عمر سایتوکین است؛ اما این روش محدودیت هایی نیز دارد. استفاده از زیست ماده می تواند باعث افزایش حساسیت سیستم ایمنی و بروز عفونت های گسترده شود. مشکل دیگر این است که خود زیست ماده می تواند موجب تحریک سیستم ایمنی و ایجاد پاسخ ایمنی شود که تحلیل میزان تاثیر عوامل مختلف بر پاسخ ایمنی و گرفتن نتیجه از آزمایش ها، دشوار خواهد بود. تحقیقات نشان داده است که وزن مولکولی، اندازه، بار سطحی، آبگریزی، سیگنال های محیطی، فعالیت شیمیایی، جنس زیست ماده و شکل آن، عواملی هستند که بر میزان پاسخ ایمنی علیه زیست ماده تاثیرگذار هستند [82]. در یک تحقیق مشاهده شد که تحریک سیستم ایمنی به وسیله داربست، باعث تغییر در میزان تخریب ماده و رهایش دارو می شود [85].

سایتوکین ها نقش فعالی در تنظیم فعالیت سلول های ایمنی دارند و رهایش آنها می تواند باعث کنترل فرآیند بازسازی بافت شود. رهایش سایتوکین می تواند به دو صورت رهایش مستقیم خود سایتوکین یا رهایش ژن بیان کننده سایتوکین انجام شود [86]. استفاده از پلی اتیلن گلیکول (PEG) برای تثبیت اینترلوکین ۱۰ و TGF- β با موفقیت صورت گرفته است [87] و از حامل های ویروسی برای انتقال و رهایش ژن کدکننده IL-4 و IL-10 استفاده کرده اند [88]. اصلی ترین مشکل رهایش مستقیم سایتوکین ها، ثابت نگه داشتن غلظت آنها در مدت زمان طولانی است. برای رفع این مشکل استفاده از رهایش ژن کدکننده سایتوکین مطرح می شود. رهایش اسیدهای نوکلئیک موجب تحریک سایتوکین ها یا افزایش بیان فاکتورهای ترجمه کننده شده و در نتیجه باعث افزایش بیان ژن های مرتبط می شود که موجب ثابت ماندن غلظت سایتوکین های هدف در طولانی مدت می شود [8].

رهایش تنها یک داروی خاص می تواند منجر به بروز مشکلاتی در ترمیم زخم شود. به عنوان مثال استفاده گلوکوکورتیکوئید باعث کاهش التهاب در محل آسیب می شود اما اثرات دیگری همچون کاهش رگ زایی و افزایش خطر ایجاد عفونت را به همراه دارد [89].

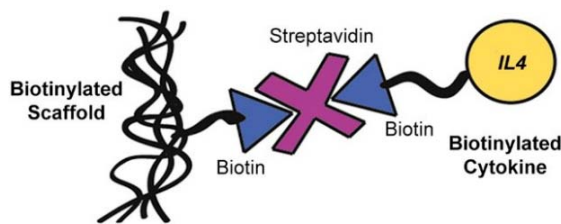
ماتریس های خارج سلولی مصنوعی که با الهام از بافت طبیعی و با روش هایی مانند الکتروپرسی ساخته می شوند، استفاده کرد. علاوه بر ماتریس خارج سلولی مصنوعی، می توان از بافت طبیعی آسلولار شده نیز استفاده کرد. استفاده از بافت آسلولار شده نسبت به بافت عادی، به دلیل حذف سلول ها و مقادیر زیادی از آنتی ژن های تحریک کننده سیستم ایمنی، پاسخ ایمنی بسیار کمتری دارد و برای اهداف مهندسی بافت، قابلیت کنترل پذیری بیشتری دارد.

مطالعات نشان داده است که بیشترین تاثیر ماتریس خارج سلولی بر فرآیند ترمیم، پلاریزاسیون ماکروفاژهای حاضر در محل آسیب است؛ اما مکانیزم دقیق این تغییر در سلول های ماکروفاژ توسط بافت آسلولار شده به طور دقیق مشخص نیست [67]. توانایی کنترل التهاب از طریق پلاریزاسیون ماکروفاژها باعث بهره وری بیشتر استفاده از بافت های آسلولار شده زونگرفت نسبت به پیوند بافت طبیعی اتولوگ، در برخی از نمونه ها شده است [9]. به عنوان مثال در یک تحقیق مشاهده شد در یک مدل بازسازی تاندون در موش، استفاده از بافت آسلولار شده مثانه در مقایسه با گرفت اتولوگ، باعث فراخوانی تعداد بیشتری از سلول های تولیدکننده استخوان به محیط شد [79]. استفاده از پوشش دهی سطح ماتریس های خارج سلولی مصنوعی، باعث افزایش اثر آن بر محیط اطراف می شود. در یک تحقیق بر روی همکاران [80] مشاهده کردند که پوشش دهی سطح ایمپلنت با کلاژن نوع یک و هیالورونان، باعث کاهش تمایز سلول های مونوسیت به ماکروفاژهای M1 و در نتیجه بازسازی بهتر بافت آسیب دیده شد. نوع بافتی که ماتریس خارج سلولی آسلولار شده از آن تهیه شده است، بر نوع تحریک سیستم ایمنی تاثیر دارد. در یک تحقیق مشاهده شد که بافت های آسلولار شده مثانه، مغز، مری و کولون باعث فعال شدن ماکروفاژ M2 می شوند، در حالی که بافت آسلولار شده پوست، باعث فعال شدن ماکروفاژ M1 می شود. همچنین ماتریس خارج سلولی تولید شده از بافت کبد و ماهیچه استخوانی، هیچ یک از انواع گونه های ماکروفاژها را تحریک نکردند [81].

علی رغم فهم عمیقی که امروزه از تاثیر و مکانیزم اثر ماتریس خارج سلولی طبیعی بر محیط اطراف وجود دارد، اما استفاده از داربست های مهندسی شده، به دلیل قابلیت کنترل پذیری بیشتر و امکان ساخت سفارشی برای شرایط مختلف، توجه تعداد زیادی از محققان را به خود جلب کرده است. در این زمینه حتی می توان از مواد طبیعی مانند آگاروز، آلژینات، کیتوسان و هیالورونیک اسید استفاده کرد و با استفاده از روش های مختلف شکل دهی به حد مطلوب پاسخ سیستم ایمنی دست یابیم [82].

رهایش کنترل شده سایتوکین ها

در چند سال اخیر مقالات متعددی به مبحث کنترل رهایش دارو با استفاده از تکنیک های مهندسی پرداخته اند و در برخی از موارد به پیشرفت های قابل توجهی دست یافته اند. توجه زیاد به سامانه های رهایش کنترل شده داروها و زیست مولکول ها در مطالعات متعدد و همچنین موفقیت آمیز بودن برخی از آنها، نشان از اهمیت و موثر بودن این روش دارد. استفاده از داروها و عوامل التهابی به منظور ترمیم یا بهبود برخی بیماری ها، نیازمند رسیدن به دوز مشخصی از آن در بدن است. در دوزهای پایین، اثرگذاری لازم بر بافت حاصل نمی شود؛ بنابراین نیاز است غلظت آن تا حد مطلوبی بالا برود. این افزایش غلظت منجر به افزایش اثرات جانبی و کاهش اثرگذاری می شود. یکی از رویکردها برای جلوگیری از این اثرات جانبی، استفاده از ذرات پلیمری و لیپیدی برای پوشینه سازی یا انکپسوله کردن داروها و عوامل التهابی مختلف و افزایش



شکل ۵) نحوه اتصال IL-4 به داربست با استفاده از پیوند بیوتین-استرپت‌آویدین برای رهایش کنترل‌شده و تأثیر بر فعالیت ماکروفاژ [28]

خواص فیزیکی سطح زیست‌ماده

خواص فیزیکی سطح زیست‌ماده مانند زبری سطح، توپوگرافی و تخلخل، تأثیر حیاتی بر جذب پروتئین و پاسخ سیستم ایمنی دارند. به‌طور کلی از آنجایی که تمامی برهم‌کنش‌ها با محیط اطراف ابتدا از طریق سطح انجام می‌شود، بنابراین تغییرات سطحی می‌تواند اثر قابل توجهی بر میزان هماهنگی زیست‌ماده با محیط اطراف داشته باشد. در مطالعات مختلف مشاهده شده است که تغییر توپوگرافی سطح با ایجاد طرح‌های منظم روی سطح زیست‌ماده باعث تغییر رفتار سلول‌های ایمنی و تغییر در نوع و میزان رهایش سیتوکین می‌شود [94-96].

زبری سطح بر چسبندگی سلول‌های ایمنی و میزان فعالیت آنها تأثیرگذار است. مشاهده شده است که چسبندگی و پهن‌شدن سلول ماکروفاژ با افزایش زبری سطح، افزایش می‌یابد. علاوه بر آن زبری سطح روی ترشح سیتوکین‌های التهابی و کموکین‌ها توسط سلول‌های ماکروفاژ تأثیرگذار است [97]. برای داشتن بهترین پاسخ ایمنی، باید ایمپلنت ما مشابه‌ترین زبری سطح را به بافت طبیعی هدف، داشته باشد. به‌عنوان مثال مشاهده شده است که زبری سطح استخوان حدود ۳۲ نانومتر است [98]؛ بنابراین برای داشتن بهترین پاسخ ایمنی برای بازسازی بافت استخوان، باید ایمپلنتی با زبری سطح حدود ۳۲ نانومتر استفاده شود. جالب است که میزان اتصالات عرضی زیست‌ماده نیز اهمیت فراوانی در تنظیم پاسخ ایمنی دارد. در یک تحقیق با کاشت داربست‌ها در بدن موش مشاهده شد که داربست‌های با اتصالات عرضی کم باعث تحریک ماکروفاژهای M2 می‌شوند در حالی که داربست‌های دارای اتصالات عرضی زیاد ماکروفاژها M1 را تحریک می‌کنند [99].

تخلخل و اندازه حفرات زیست‌ماده نیز دو عامل مهم در تعیین میزان رشد بافت به داخل ایمپلنت هستند. حفرات کوچک مانع از نفوذ اکسیژن و مواد غذایی می‌شوند و یک محیط کم‌اکسیژن را به‌خصوص در مرکز ایمپلنت ایجاد می‌کنند. ایجاد محیط کم‌اکسیژن موجب بروز التهاب می‌شود که در صورت افزایش التهاب فرآیند ترمیم به‌صورت ناقص انجام می‌شود. این در حالی است که با کاهش اکسیژن، عوامل پیش‌ران رگ‌زایی به‌وسیله سلول‌های ایمنی و سلول‌های بنیادی موجود در محیط ترشح می‌شوند و باعث افزایش رگ‌زایی می‌شوند که برای فرآیند بازسازی بافت مفید است. اندازه حفره باید به‌گونه‌ای تعیین شود که مانع از ایجاد التهاب گسترده شود اما سبب تحریک شروع فرآیند رگ‌زایی شود [49, 100, 101].

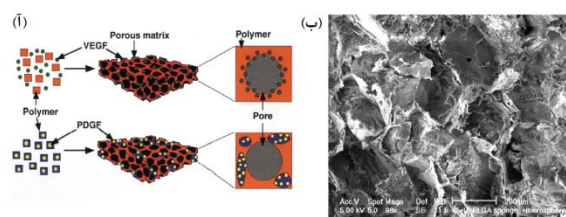
سلول‌درمانی

استفاده از انکپسوله‌کردن سلول‌ها برای سلول‌درمانی، یک روش رایج در مهندسی بافت است. در این روش، سلول‌ها با یک هیدروژل نیمه‌تراوا مانند کیتوسان یا آلژینات پوشش داده می‌شوند [102]. این

پاتیل و همکاران برای غلبه بر این مشکل پیشنهاد کردند که از رهایش هم‌زمان فاکتور رشد VEGF به‌همراه داروی دگرآمتازون استفاده شود. در این تحقیق از PLGA به‌عنوان پلیمر استفاده شد. نتایج آزمایش روی نمونه‌های موش، وجود تعداد بیشتری رگ خونی بالغ را نسبت به نمونه کنترل نشان می‌داد [90]. در مطالعه‌ای دیگر ریچاردسون و همکاران یک سامانه پلیمری جدید را طراحی کردند که اجازه رهایش دو یا چند فاکتور التهابی را به‌صورت هم‌زمان می‌دهد (شکل ۴) [91]. این سامانه برای رهایش فاکتورهای VEGF و PDGF و به‌منظور افزایش رگ‌زایی در بافت آسیب‌دیده مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهند، استفاده از یک داربست پلیمری که دو فاکتور التهابی را در محل آسیب رها می‌کند، باعث افزایش سرعت تشکیل شبکه رگی بالغ می‌شود [91]. به این ترتیب رهایش ترکیب داروها و سیتوکین‌ها می‌تواند اثر بیشتری بر فرآیند داشته باشد و در بعضی از موارد برای غلبه بر عوامل مختلف موثر بر فرآیند استفاده از ترکیب به‌جای رهایش یک سیتوکین، ضروری است.

برای رهایش موضعی سیتوکین‌ها و تنظیم فعالیت سیستم ایمنی، می‌توان از داربست‌های مهندسی بافت یا بافت‌های آسلولار شده استفاده کرد. در یک مطالعه اسپیلر و همکاران [28] به بررسی تأثیر رهایش IFN- γ و IL-4، از یک بافت استخوان آسلولار شده، بر رگ‌زایی در یک نمونه موش، پرداختند. از IFN- γ به‌منظور افزایش فعالیت ماکروفاژ نوع M1 و از IL-4 به‌منظور افزایش فعالیت ماکروفاژ نوع M2 استفاده شد. برای رسیدن به رهایش کوتاه‌مدت و سریع، IFN- γ به‌صورت فیزیکی جذب داربست شد و برای رسیدن به رهایش کنترل‌شده و بلندمدت، IL-4 با پیوند به داربست متصل شد.)

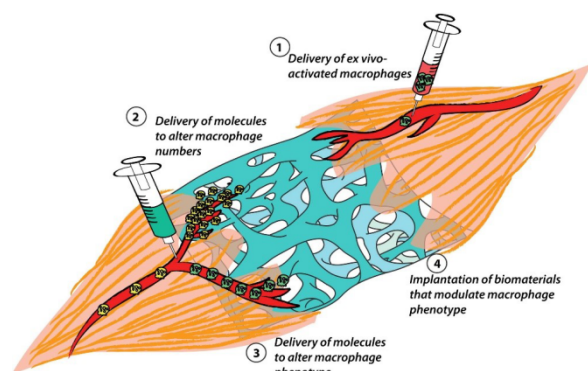
شکل ۴) نتایج کاشت زیرجلدی داربست در موش، افزایش رگ‌زایی در محل را در مقایسه با نمونه کنترل نشان می‌داد. استفاده از داربست‌ها برای رهایش کنترل‌شده سیتوکین‌ها و فاکتورهای رشد می‌تواند مزایای فراوانی داشته باشد. به‌طور معمول فاکتورهای رهایش‌یافته از سلول‌های ایمنی، نیمه‌عمر پایینی دارند و حساسیت بالایی به تخریب شدن توسط آنزیم‌های پرتئین کافنده موجود در محیط دارند. اتصال این پروتئین‌ها به داربست موجب جلوگیری از شکسته‌شدن آنزیمی آنها می‌شود [92]. از طرفی دیگر اتصال به داربست می‌تواند موجب غیرفعال شدن سیتوکین شود به‌صورتی که تنها پس از رهایش سیتوکین از داربست، بتواند به حالت فعال تبدیل شده و روی سلول هدف تأثیر بگذارد [93]. بنابراین، روش‌هایی که برای اتصال سیتوکین یا فاکتور رشد به داربست به کار می‌رود، تأثیر به‌سزایی در نتیجه نهایی تنظیم سیستم ایمنی به‌وسیله داربست دارد.



شکل ۴) داربست پلیمری با قابلیت رهایش هم‌زمان دو فاکتور رشد؛ (آ) فاکتورهای رشد داخل داربست به دو صورت، برای داشتن سینتیک رهایش متفاوت، تعبیه می‌شوند، (ب) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از داربست مورد استفاده برای رهایش دو فاکتور رشد [91]

پلیمرها اجازه ورود مواد غذایی و خروج سایتوکین‌های ترشح‌شده از سلول به محیط اطراف را می‌دهند و در عوض از سلول در برابر حملات سیستم ایمنی محافظت می‌کنند^[103].

پیشرفت‌های اخیر در درک پاسخ ایمنی در برابر زیست‌ماده و داربست‌های مهندسی بافت، محققان را به این نتیجه رسانده است که از سلول‌ها به‌طور مستقیم برای تحریک سیستم ایمنی و کنترل آن استفاده کنند. همان‌طور که بیان شد، رویکردهای مختلفی برای استفاده از سلول‌های ماکروفاژ در ایمنی‌درمانی بافت آسیب‌دیده وجود دارد (شکل ۶). بسیاری از فاکتورهای پیشران رگ‌زایی مانند VEGF، TNF- α ، IL-6 و IL-8 در غلظت‌های بالا به‌وسیله سلول‌های ایمنی مانند ماکروفاژها تولید می‌شوند؛ بنابراین استفاده مستقیم از ماکروفاژها به‌عنوان یک منبع تولید سایتوکین‌های عامل رگ‌زایی، می‌تواند یکی از راه‌های غلبه بر مشکل رگ‌زایی ناقص در بافت‌های آسیب‌دیده باشد^[104]. در یک مطالعه روی بافت آسیب‌دیده ماهیچه استخوانی در موش، سلول‌های ماکروفاژ M1 که در محیط برون‌تنی به‌وسیله LPS و IFN- γ تحریک و فعال شده‌اند را به محیط آسیب وارد کردند. نتایج نشان می‌دهد که انتقال ماکروفاژ M1 به محیط آسیب ماهیچه استخوانی موجب افزایش سرعت ترمیم فیبرهای ماهیچه‌ای، کاهش تشکیل بافت فیبروز و افزایش ترشح فاکتور رشد IGF-I توسط سلول‌های ماهیچه‌ای، می‌شود^[105]. برخلاف برخی از مطالعات که اثر مثبت سلول‌درمانی به‌وسیله ماکروفاژها را در آسیب‌های ماهیچه‌ای نشان می‌دهند^[106]، در مطالعات دیگر افزایش فیبروز شدن بافت آسیب‌دیده کلیه را به هنگام سلول‌درمانی با ماکروفاژ، گزارش کرده‌اند^[107]. استفاده از انتقال مستقیم سلول‌های ایمنی به محل آسیب، برای افزایش سرعت و کیفیت ترمیم بافت، به مرحله کارآزمایی بالینی نیز رسیده است؛ به‌گونه‌ای که در یک آزمایش روی ۱۰۰ بیمار دارای زخم بستر سطح ۳ و ۴ مشخص شد، تزریق سلول‌های ماکروفاژی که با روش شوک هایپواسمیتیک فعال شده‌اند، باعث بهبود فرآیند ترمیم زخم‌های مزمن می‌شود^[108]. علاوه بر ماکروفاژها، اثر مثبت سلول‌درمانی بر ترمیم بافت، به‌وسیله سایر سلول‌های سیستم ایمنی مانند نوتروفیل‌ها، مشاهده شده است^[109].



شکل ۶) رویکردهای انتقال یا فعال‌سازی ماکروفاژها برای اثرگذاری بر فرآیند ترمیم^[31]

به توجه به این که رویکرد استفاده از سیستم ایمنی در راستای بازسازی بافت‌های بدن رویکردی نسبتاً نوین در پزشکی بازساختی به شمار می‌رود و همچنین شمار مطالعه توسعه‌یافته و در دست انجام در این خصوص قابل توجه و رو به افزایش است، هنوز سئوالات بسیاری در خصوص مکانیزم‌های تاثیرپذیری فرآیند

ترمیم از فعالیت سیستم ایمنی و خصوصاً تأثیر برخی فاکتورهای سیستم ایمنی و نحوه کنترل آنها وجود دارد که پاسخ قاطعی تاکنون به آنها داده نشده است و این امر به‌عنوان محدودیت این مطالعه نیز به شمار می‌رود. پیشنهاد می‌شود، مطالعات آینده در این حوزه با مطالعه عمیق‌تر در یافته‌های جدید علم ایمنی‌شناسی همراه شود، به‌طوری که امکان تحلیل مکانیزم‌ها و پاسخ به ابهامات این حوزه و همچنین بهره‌گیری بیشتر از ابزارهای نام سیستم ایمنی در راستای اهداف پزشکی بازساختی و مهندسی بافت هرچه بیشتر فراهم آید.

نتیجه‌گیری

استفاده از سیستم ایمنی و فاکتورهای التهابی ترشح‌شده از آنها به‌منظور تسریع فرآیند ترمیم بافت‌ها، یکی از جذاب‌ترین زمینه‌های حال حاضر در رشته مهندسی بافت و پزشکی بازساختی است. تنظیم فعالیت سیستم ایمنی نه‌تنها در حوزه ترمیم بافت، بلکه در زمینه‌های دیگری مانند درمان سرطان، مقابله با بیماری‌های صعب‌العلاج مانند ام‌اس و پارکینسون، کاربرد دارد. اهمیت این روش از آن جهت است که درمان با استفاده از سلول‌های خود فرد انجام می‌شود و تلاش بر این است که کمترین ماده خارجی مانند داروها وارد بدن فرد بیمار شود؛ بنابراین علاوه بر آن که بیمار با کمترین عوارض جانبی مواجه می‌شود، به‌علت درگیری سلول‌های خود فرد با بیماری، احتمال بروز واکنش‌های التهابی، به حداقل می‌رسد. در صورتی که این روش به‌طور متداول در درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرد، می‌تواند عوارض ناشی از روش‌های سنتی را کاهش دهد. استفاده از مهندسی بافت برای ایمنی‌درمانی آسیب بافت‌ها، نیاز به درک صحیح و جامعی از تأثیر سلول‌های سیستم ایمنی و فاکتورهای ترشح‌شده از آنها پس از ایجاد آسیب دارد.

فرآیند ترمیم بافت در چند مرحله شامل انعقاد، التهاب، تکثیر و بازسازی انجام می‌شود. در هر مرحله، سلول‌های خاصی به حداکثر مقدار خود در محل آسیب می‌رسند و با ترشح سایتوکین‌ها و فاکتورهای رشد بر مهاجرت و تکثیر سلول‌های بافت تأثیر می‌گذارند. ماکروفاژها مهم‌ترین سلول‌های سیستم ایمنی هستند که در بازسازی بافت مورد بررسی قرار می‌گیرند. تنظیم نسبت دو گونه التهابی (M1) و ضدالتهابی (M2) ماکروفاژها در محیط آسیب، بر نتیجه ترمیم تأثیر زیادی دارد؛ زیرا ماکروفاژهای التهابی برای شروع بازسازی ضروری هستند اما در ادامه و با ایجاد التهاب در محیط آسیب، باعث کاهش بهره‌وری ترمیم و تشکیل بافت اسکار می‌شود. کاهش ماکروفاژهای M1 و افزایش ماکروفاژهای M2 در محیط آسیب پس از شروع ترمیم، باعث بالغ‌شدن بافت و جلوگیری از تشکیل اسکار می‌شود. به همین دلیل بسیاری از مطالعات ایمنی‌درمانی با استفاده از مهندسی بافت، به تنظیم فعالیت سلول‌های ماکروفاژ و کنترل سایتوکین‌های ترشح‌شده از آنها پرداخته‌اند.

هدف مهندسی بافت استفاده از داربست‌ها و مواد زیستی، برای تأثیر بر فعالیت سلول‌های ایمنی است. در مهندسی بافت می‌توان با تغییر توپوگرافی سطح، هندسه، اندازه، تخلخل، زبری سطح، جنس ماده و شیمی سطح زیست‌ماده و همچنین رهایش کنترل‌شده سایتوکین‌ها و سلول‌درمانی، برای کنترل پاسخ ایمنی در فرآیند ترمیم و جهت‌دهی آن به سمت بازسازی کامل بافت استفاده کرد. چالش اصلی در مهندسی بافت، طراحی و بهینه‌سازی زیست‌ماده، برای داشتن بیشترین تأثیر بر بهبود فرآیند ترمیم است

immune system in the development of cancer: New opportunities for population-based research. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2015;24(12):1811-9.

14- Chang MK, Raggatt LJ, Alexander KA, Kuliwaba JS, Fazzalari NL, Schroder K, et al. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo. *J Immunol.* 2008;181(2):1232-44.

15- Van Amerongen MJ, Harmsen MC, Van Rooijen N, Petersen AH, Van Luyn MJA. Macrophage depletion impairs wound healing and increases left ventricular remodeling after myocardial injury in mice. *Am J Pathol.* 2007;170(3):818-29.

16- Davis PA, Corless DJ, Aspinall R, Wastell C. Effect of CD4⁺ and CD8⁺ cell depletion on wound healing. *Br J Surg.* 2001;88(2):298-304.

17- Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clin Orthop Relat Res.* 1991;(262):3-11.

18- Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg.* 2004;187(5A):11S-6.

19- Eming SA, Hammerschmidt M, Krieg T, Roers A. Interrelation of immunity and tissue repair or regeneration. *Semin Cell Dev Biol.* 2009;20(5):517-27.

20- Eming SA, Wynn TA, Martin P. Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration. *Science.* 2017;356(6342):1026-30.

21- Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair a study with antineutrophil serum. *J Clin Invest.* 1972;51(8):2009-23.

22- Kolaczowska E, Kuberski P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(3):159-75.

23- Wulff BC, Wilgus TA. Mast cell activity in the healing wound: More than meets the eye? *Exp Dermatol.* 2013;22(8):507-10.

24- Szpadarska AM, Egozi EI, Gamelli RL, Di Pietro LA. The effect of thrombocytopenia on dermal wound healing. *J Invest Dermatol.* 2003;120(6):1130-7.

25- Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair, a study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol.* 1975;78(1):71-100.

26- Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity.* 2016;44(3):450-62.

27- Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature.* 2008;453:314-21.

28- Spiller KL, Nassiri S, Witherell CE, Anfang RR, Ng J, Nakazawa KR, et al. Sequential delivery of immunomodulatory cytokines to facilitate the M1-to-M2 transition of macrophages and enhance vascularization of bone scaffolds. *Biomaterials.* 2015;37:194-207.

29- Novak ML, Koh TJ. Macrophage phenotypes during tissue repair. *J Leukoc Biol.* 2013;93(6):875-81.

30- Bolandi B, Imani R. A sustained release gene delivery system based on polymerosome-entrapped injectable hydrogel for articular cartilage tissue engineering: A hypothetical approach. *J Appl Tissue Eng.* 2018;5(2).

31- Spiller KL, Koh TJ. Macrophage-based therapeutic strategies in regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;122:74-83.

32- Fishel RS, Barbul A, Beschoner WE, Wasserkrug HL, Efron G. Lymphocyte participation in wound healing,

که حداقل اثرات جانبی را بر بافت آسیب‌دیده و بافت‌های اطراف آن، داشته باشد. این مهم با مطالعه دقیق تحقیقات صورت گرفته، تکمیل و بهبود روش‌های به‌کاررفته در این تحقیقات و ارزیابی دقیق آنها، تحقق می‌یابد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله از مسئولین آزمایشگاه مهندسی بافت دانشگاه صنعتی امیرکبیر تشکر می‌نمایند.

تأییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی در این پژوهش وجود ندارد.

سهم نویسندگان: فرهاد فقیهی (نویسنده اول)، نگارنده مقاله/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی (۴۰٪)؛ فرید خرمی‌نیا (نویسنده دوم)، پژوهشگر کمکی (۱۰٪)؛ رعنا ایمانی (نویسنده سوم)، نگارنده مقاله/روش‌شناس (۵۰٪)

منابع مالی: این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه صنعتی امیرکبیر انجام شده است.

منابع

- 1- Mano JF, Silva GA, Azevedo HS, Malafaya PB, Sousa RA, Silva SS, et al. Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: Present status and some moving trends. *J R Soc Interface.* 2007;4(17):999-1030.
- 2- Berthiaume F, Maguire TJ, Yarmush ML. Tissue engineering and regenerative medicine: History, progress, and challenges. *Annu Rev Chem Biomol Eng.* 2011;2:403-30.
- 3- Ma PX. Biomimetic materials for tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008;60(2):184-98.
- 4- Sun J, Tan H. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. *Materials (Basel).* 2013;6(4):1285-309.
- 5- Daley WP, Peters SB, Larsen M. Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine. *J Cell Sci.* 2008;121(Pt 3):255-64.
- 6- Andorko JI, Jewell CM. Designing biomaterials with immunomodulatory properties for tissue engineering and regenerative medicine. *Bioeng Transl Med.* 2017;2(2):139-55.
- 7- Kopan C, Tucker T, Alexander M, Rezaa Mohammadi M, Pone EJ, Lakey JRT. Approaches in immunotherapy, regenerative medicine, and bioengineering for type 1 diabetes. *Front Immunol.* 2018;9:1354.
- 8- Vishwakarma A, Bhise NS, Evangelista MB, Rouwkema J, Dokmeci MR, Ghaemmaghami AM, et al. Engineering immunomodulatory biomaterials to tune the inflammatory response. *Trends Biotechnol.* 2016;34(6):470-82.
- 9- Julier Z, Park AJ, Briquez PS, Martino MM. Promoting tissue regeneration by modulating the immune system. *Acta Biomater.* 2017;53:13-28.
- 10- Paul WE, editor. *Fundamental immunology.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008.
- 11- Bier OG, Dias Da Silva W, Goetze D, Mota I. *Fundamentals of immunology.* New York: Springer Science & Business Media; 2012.
- 12- Abnave P, Ghigo E. Role of the immune system in regeneration and its dynamic interplay with adult stem cells. *Semin Cell Dev Biol.* 2019;87:160-8.
- 13- Michaud DS, Andres Houseman E, Marsit CJ, Nelson HH, Wiencke JK, Kelsey KT. Understanding the role of the

- 51- Nam D, Mau E, Wang Y, Wright D, Silkstone D, Whetstone H, et al. T-lymphocytes enable osteoblast maturation via IL-17F during the early phase of fracture repair. *PLoS One*. 2012;7(6):e40044.
- 52- Askalonov AA, Gordienko SM, Avdyunicheva OE, Bondarenko AV, Voronkov SF. The role of T-system immunity in reparatory regeneration of the bone tissue in animals. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1987;31(2):219-24.
- 53- Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Fracture healing: Mechanisms and interventions. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11(1):45-54.
- 54- Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury*. 2011;42(6):551-5.
- 55- Doll BA, Sfeir C, Azari K, Holland S, Hollinger JO. Craniofacial repair. In: Lieberman JR, Friedlaender GE, editors. *Bone regeneration and repair: Biology and clinical applications*. Totowa: Springer Science & Business Media; 2005. pp. 337-58.
- 56- Otrrock ZK, Mahfouz RA, Makarem JA, Shamseddine AI. Understanding the biology of angiogenesis: Review of the most important molecular mechanisms. *Blood Cells Mol Dis*. 2007;39(2):212-20.
- 57- Zhou Y, Han Sh, Xiao L, Han P, Wang Sh, He J, et al. Accelerated host angiogenesis and immune responses by ion release from mesoporous bioactive glass. *J Mater Chem B*. 2018;6(20):3274-84.
- 58- Wang B, Lv X, Chen S, Li Z, Yao J, Peng X, et al. Use of heparinized bacterial cellulose based scaffold for improving angiogenesis in tissue regeneration. *Carbohydr Polym*. 2018;181:948-56.
- 59- Kwee BJ, Budina E, Najibi AJ, Mooney DJ. CD4 T-cells regulate angiogenesis and myogenesis. *Biomaterials*. 2018;178:109-21.
- 60- Falanga V. The chronic wound: Impaired healing and solutions in the context of wound bed preparation. *Blood Cells Mol Dis*. 2004;32(1):88-94.
- 61- Naldini A, Carraro F. Role of inflammatory mediators in angiogenesis. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005;4(1):3-8.
- 62- Demidova-Rice TN, Durham JT, Herman IM. Wound healing angiogenesis: Innovations and challenges in acute and chronic wound healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2012;1(1):17-22.
- 63- Spiller KL, Freytes DO, Vunjak-Novakovic G. Macrophages modulate engineered human tissues for enhanced vascularization and healing. *Ann Biomed Eng*. 2015;43(3):616-27.
- 64- Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol*. 2008;20(2):86-100.
- 65- Wilson CJ, Clegg RE, Leavesley DI, Percy MJ. Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: A review. *Tissue Eng*. 2005;11(1-2):1-18.
- 66- Anderson JM, Mc Nally AK. Biocompatibility of implants: Lymphocyte/macrophage interactions. *Semin Immunopathol*. 2011;33(3):221-33.
- 67- Brown BN, Ratner BD, Goodman SB, Amar S, Badylak SF. Macrophage polarization: An opportunity for improved outcomes in biomaterials and regenerative medicine. *Biomaterials*. 2012;33(15):3792-802.
- 68- Bridges AW, Garcia AJ. Anti-inflammatory polymeric coatings for implantable biomaterials and devices. *J Diabetes Sci Technol*. 2008;2(6):984-94.
- 69- Blaszykowski C, Sheikh S, Thompson M. Biocompatibility and antifouling: Is there really a link?. morphologic assessment using monoclonal antibodies. *Ann Surg*. 1987;206(1):25-9.
- 33- Efron JE, Frankel HL, Lazarou SA, Wasserkrug HL, Barbul A. Wound healing and T-lymphocytes. *J Surg Res*. 1990;48(5):460-3.
- 34- Hauser CJ, Zhou X, Joshi P, Cuchens MA, Kregor P, Devidas M, et al. The immune microenvironment of human fracture/soft-tissue hematomas and its relationship to systemic immunity. *J Trauma*. 1997;42(5):895-903.
- 35- Linfert D, Chowdhry T, Rabb H. Lymphocytes and ischemia-reperfusion injury. *Transplant Rev (Orlando)*. 2009;23(1):1-10.
- 36- Barbul A, Shawe T, Rotter SM, Efron JE, Wasserkrug HL, Badawy SB. Wound healing in nude mice: A study on the regulatory role of lymphocytes in fibroplasia. *Surgery*. 1989;105(6):764-9.
- 37- Stout RD, Suttles J. T cell signaling of macrophage function in inflammatory disease. *Front Biosci*. 1997;2:d197-206.
- 38- Schäffer M, Barbul A. Lymphocyte function in wound healing and following injury. *Br J Surg*. 1998;85(4):444-60.
- 39- Hajian M, Mahmoodi M, Imani R. In vitro assessment of poly (vinyl alcohol) film incorporating aloe vera for potential application as a wound dressing. *J Macromol Sci Part B*. 2017;56(7):435-50.
- 40- Tsirogiani AK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM. Wound healing: Immunological aspects. *Injury*. 2006;37 Suppl 1:S5-12.
- 41- Wilgus TA. Immune cells in the healing skin wound: Influential players at each stage of repair. *Pharmacol Res*. 2008;58(2):112-6.
- 42- Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet*. 2005;366(9498):1736-43.
- 43- De Oliveira Gonzalez AC, Costa TF, De Araújo Andrade Z, Peixoto Medrado ARA. Wound healing - a literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2016;91(5):614-20.
- 44- Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol*. 2007;25(1):9-18.
- 45- Assoian RK, Komoriya A, Meyers CA, Miller DM, Sporn MB. Transforming growth factor-beta in human platelets, identification of a major storage site, purification, and characterization. *J Biol Chem*. 1983;258(11):7155-60.
- 46- Greiling D, Clark RA. Fibronectin provides a conduit for fibroblast transmigration from collagenous stroma into fibrin clot provisional matrix. *J Cell Sci*. 1997;110(Pt 7):861-70.
- 47- Mountziaris PM, Mikos AG. Modulation of the inflammatory response for enhanced bone tissue regeneration. *Tissue Eng Part B Rev*. 2008;14(2):179-86.
- 48- Meskinfam M, Bertoldi S, Albanese N, Cerri A, Tanzi MC, Imani R, et al. Polyurethane foam/nano hydroxyapatite composite as a suitable scaffold for bone tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018;82:130-40.
- 49- Chen Z, Klein T, Murray RZ, Crawford R, Chang J, Wu C, et al. Osteoimmunomodulation for the development of advanced bone biomaterials. *Mater Today*. 2016;19(6):304-21.
- 50- Toben D, Schroeder I, El Khassawna T, Mehta M, Hoffmann JE, Frisch JT, et al. Fracture healing is accelerated in the absence of the adaptive immune system. *J Bone Miner Res*. 2011;26(1):113-24.

- tools for modulation of the immune response. *Biotechniques*. 2011;51(4):239-40,242,244 passim.
- 87- Hume PS, He J, Haskins K, Anseth KS. Strategies to reduce dendritic cell activation through functional biomaterial design. *Biomaterials*. 2012;33(14):3615-25.
- 88- Boehler RM, Kuo R, Shin S, Goodman AG, Pilecki MA, Leonard JN, et al. Lentivirus delivery of IL-10 to promote and sustain macrophage polarization towards an anti-inflammatory phenotype. *Biotechnol Bioeng*. 2014;111(6):1210-21.
- 89- Tsianakas A, Varga G, Barczyk K, Bode G, Nippe N, Kran N, et al. Induction of an anti-inflammatory human monocyte subtype is a unique property of glucocorticoids, but can be modified by IL-6 and IL-10. *Immunobiology*. 2012;217(3):329-35.
- 90- Patil SD, Papadimitrakopoulos F, Burgess DJ. Concurrent delivery of dexamethasone and VEGF for localized inflammation control and angiogenesis. *J Control Release*. 2007;117(1):68-79.
- 91- Richardson TP, Peters MC, Ennett AB, Mooney DJ. Polymeric system for dual growth factor delivery. *Nat Biotechnol*. 2001;19(11):1029-34.
- 92- Schultz GS, Wysocki A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2009;17(2):153-62.
- 93- Hynes RO. The extracellular matrix: Not just pretty fibrils. *Science*. 2009;326(5957):1216-9.
- 94- Chen S, Jones JA, Xu Y, Low HY, Anderson JM, Leong KW. Characterization of topographical effects on macrophage behavior in a foreign body response model. *Biomaterials*. 2010;31(13):3479-91.
- 95- Jeon H, Tsui JH, Jang SI, Lee JH, Park S, Mun K, et al. Combined effects of substrate topography and stiffness on endothelial cytokine and chemokine secretion. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2015;7(8):4525-32.
- 96- Bota PC, Collie AM, Puolakkainen P, Vernon RB, Sage EH, Ratner BD, et al. Biomaterial topography alters healing in vivo and monocyte/macrophage activation in vitro. *J Biomed Mater Res A*. 2010;95(2):649-57.
- 97- Takebe J, Champagne CM, Offenbacher S, Ishibashi K, Cooper LF. Titanium surface topography alters cell shape and modulates bone morphogenetic protein 2 expression in the J774A.1 macrophage cell line. *J Biomed Mater Res A*. 2003;64(2):207-16.
- 98- Mendonça G, Mendonça DB, Aragão FJ, Cooper LF. Advancing dental implant surface technology--from micron- to nanotopography. *Biomaterials*. 2008;29(28):3822-35.
- 99- Badylak SF, Valentin JE, Ravindra AK, Mc Cabe GP, Stewart-Akers AM. Macrophage phenotype as a determinant of biologic scaffold remodeling. *Tissue Eng Part A*. 2008;14(11):1835-42.
- 100- Laschke MW, Harder Y, Amon M, Martin I, Farhadi J, Ring A, et al. Angiogenesis in tissue engineering: Breathing life into constructed tissue substitutes. *Tissue Eng*. 2006;12(8):2093-104.
- 101- Klinge U, Klosterhalfen B, Birkenhauer V, Junge K, Conze J, Schumpelick V. Impact of polymer pore size on the interface scar formation in a rat model. *J Surg Res*. 2002;103(2):208-14.
- 102- Imani R, Hojjati Emami Sh, Rahnama Moshtagh P, Baheiraei N, Sharifi AM. Preparation and characterization of agarose-gelatin blend hydrogels as a cell encapsulation matrix: An in-vitro study. *J Macromol Sci Part B*. 2012;51(8):1606-16.
- 103- Rahnamay Moshtagh P, Imani R, Hojjati Emami Sh, Sharifi AM. An optimized calcium alginate microcapsule Trends *Biotechnol*. 2014;32(2):61-2.
- 70- Gentleman E, Fredholm YC, Jell G, Lotfibakhshairesh N, O'Donnell MD, Hill RG, et al. The effects of strontium-substituted bioactive glasses on osteoblasts and osteoclasts in vitro. *Biomaterials*. 2010;31(14):3949-56.
- 71- Tan Y, Li S, Pitt BR, Huang L. The inhibitory role of CpG immunostimulatory motifs in cationic lipid vector-mediated transgene expression in vivo. *Hum Gene Ther*. 1999;10(13):2153-61.
- 72- Jones JA, Chang DT, Meyerson H, Colton E, Kwon IK, Matsuda T, et al. Proteomic analysis and quantification of cytokines and chemokines from biomaterial surface-adherent macrophages and foreign body giant cells. *J Biomed Mater Res A*. 2007;83(3):585-96.
- 73- Veiseth O, Doloff JC, Ma M, Vegas AJ, Tam HH, Bader AR, et al. Size- and shape-dependent foreign body immune response to materials implanted in rodents and non-human primates. *Nat Mater*. 2015;14(6):643-51.
- 74- Shanbhag AS, Jacobs JJ, Black J, Galante JO, Glant TT. Macrophage/particle interactions: Effect of size, composition and surface area. *J Biomed Mater Res*. 1994;28(1):81-90.
- 75- Matlaga BF, Yasenchak LP, Salthouse TN. Tissue response to implanted polymers: The significance of sample shape. *J Biomed Mater Res*. 1976;10(3):391-7.
- 76- Zandstra J, Hiemstra C, Petersen AH, Zuidema J, Van Beuge MM, Rodriguez S, et al. Microsphere size influences the foreign body reaction. *Eur Cell Mater*. 2014;28:335-47.
- 77- Oyewumi MO, Kumar A, Cui Z. Nano-microparticles as immune adjuvants: Correlating particle sizes and the resultant immune responses. *Expert Rev Vaccines*. 2010;9(9):1095-107.
- 78- Malard O, Boulter JM, Guicheux J, Heymann D, Pilet P, Coquard C, et al. Influence of biphasic calcium phosphate granulometry on bone ingrowth, ceramic resorption, and inflammatory reactions: Preliminary in vitro and in vivo study. *J Biomed Mater Res*. 1999;46(1):103-11.
- 79- Beattie AJ, Gilbert TW, Guyot JP, Yates AJ, Badylak SF. Chemoattraction of progenitor cells by remodeling extracellular matrix scaffolds. *Tissue Eng Part A*. 2009;15(5):1119-25.
- 80- Brown BN, Londono R, Tottey S, Zhang L, Kukla KA, Wolf MT, et al. Macrophage phenotype as a predictor of constructive remodeling following the implantation of biologically derived surgical mesh materials. *Acta Biomater*. 2012;8(3):978-87.
- 81- Dziki JL, Wang DS, Pineda C, Sicari BM, Rausch T, Badylak SF. Solubilized extracellular matrix bioscaffolds derived from diverse source tissues differentially influence macrophage phenotype. *J Biomed Mater Res A*. 2017;105(1):138-47.
- 82- Kelly SH, Shores LS, Votaw NL, Collier JH. Biomaterial strategies for generating therapeutic immune responses. *Adv Drug Deliv Rev*. 2017;114:3-18.
- 83- Christian DA, Hunter CA. Particle-mediated delivery of cytokines for immunotherapy. *Immunotherapy*. 2012;4(4):425-41.
- 84- Siebert S, Tsoukas A, Robertson J, McInnes I. Cytokines as therapeutic targets in rheumatoid arthritis and other inflammatory diseases. *Pharmacol Rev*. 2015;67(2):280-309.
- 85- Andorko JI, Hess KL, Pineault KG, Jewell CM. Intrinsic immunogenicity of rapidly-degradable polymers evolves during degradation. *Acta Biomater*. 2016;32:24-34.
- 86- Boehler RM, Graham JG, Shea LD. Tissue engineering

- 107- Wang Y, Wang YP, Zheng G, Lee VW, Ouyang L, Chang DH, et al. Ex vivo programmed macrophages ameliorate experimental chronic inflammatory renal disease. *Kidney Int.* 2007;72(3):290-9.
- 108- Zulooff-Shani A, Adunsky A, Even-Zahav A, Semo H, Orenstein A, Tamir J, et al. Hard to heal pressure ulcers (stage III-IV): Efficacy of injected Activated Macrophage Suspension (AMS) as compared with Standard of Care (SOC) treatment controlled trial. *Arch Gerontol Geriatr.* 2010;51(3):268-72.
- 109- Brunck ME, Nielsen LK. Concise review: Next-generation cell therapies to prevent infections in neutropenic patients. *Stem Cells Transl Med.* 2014;3(4):541-8.
- for mesenchymal stem cells encapsulation. *J Appl Tissue Eng.* 2018;5(1).
- 104- Dohle E, Bischoff I, Böse T, Marsano A, Banfi A, Unger RE, et al. Macrophage-mediated angiogenic activation of outgrowth endothelial cells in co-culture with primary osteoblasts. *Eur Cell Mater.* 2014;27:149-64.
- 105- Rybalko V, Hsieh PL, Merscham-Banda M, Suggs LJ, Farrar RP. The development of macrophage-mediated cell therapy to improve skeletal muscle function after injury. *PLoS One.* 2015;10(12):e0145550.
- 106- Novak ML, Weinheimer-Haus EM, Koh TJ. Macrophage activation and skeletal muscle healing following traumatic injury. *J Pathol.* 2014;232(3):344-55.