کاربرد نانوذرات در مهندسی بافت و بازسازی استخوان: از تنظیم ریزمحیط سلولی تا توسعه داربست‌های هوشمند و چندمنظوره

طاهره سادات طباطبایی [1]، طیبه سادات طباطبایی [1*]

[1] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

طیبه سادات طباطبایی ؛ مرتبه علمی: دکتری مهندسی بافت ؛ ایمیل: t.sadat69@gmail.com ؛ ORCID: 0000-0003-2077-3900

طاهره سادات طباطبایی : مرتبه علمی: کارشناسی ارشد نانوفناوری پزشکی: ایمیل : tabatabae14021@gmail.com

چکیده

مقدمه :مهندسی بافت استخوان یکی از رویکردهای نوین برای ترمیم و بازسازی نقص‌های استخوانی است؛ بااین‌حال، ایجاد داربستی که بتواند هم‌زمان نیازهای مکانیکی، زیستی و درمانی بافت استخوان را برآورده کند، همچنان یک چالش اساسی محسوب می‌شود. نانوفناوری با فراهم‌کردن امکان طراحی مواد در مقیاس مشابه ریزمحیط طبیعی استخوان، ظرفیت قابل توجهی برای رفع این محدودیت‌ها ایجاد کرده است. هدف :این مطالعه با هدف بررسی نقش و کاربرد نانوذرات در مهندسی بافت استخوان و ارزیابی ظرفیت آن‌ها در بهبود عملکرد داربست‌ها، تحریک استخوان‌سازی و توسعه سامانه‌های درمانی چندمنظوره انجام شد. روش بررسی :در این مرور، مطالعات مرتبط با کاربرد نانوذرات و نانومواد در مهندسی بافت و بازسازی استخوان بررسی و یافته‌ها بر اساس محورهای اصلی عملکرد مکانیکی، استئوژنز، تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی، انتقال دارو و فاکتورهای رشد، رگ‌زایی، فعالیت ضدباکتریایی، مکانوترنسداکشن و طراحی نانوکامپوزیت‌ها دسته‌بندی شدند. همچنین جنبه‌های مرتبط با زیست‌سازگاری، سمیت و چالش‌های انتقال نانوسامانه‌ها به کاربردهای بالینی مورد توجه قرار گرفتند. یافته‌ها :شواهد بررسی‌شده نشان می‌دهند که نانوذرات می‌توانند با بهبود استحکام، مدول و انتقال تنش، خواص مکانیکی داربست‌های استخوانی را ارتقا دهند. علاوه بر این، ویژگی‌های نانومقیاس سطح می‌توانند چسبندگی و تکثیر سلولی و تمایز استئوژنیک را از طریق تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی و مکانوترنسداکشن، از جمله مسیرهای Integrin/FAK، RhoA/ROCK، MAPKوYAP/TAZ ، تحت تأثیر قرار دهند. نانوذرات همچنین به‌عنوان حامل دارو، ژن و فاکتورهای رشد، امکان رسانش موضعی و آزادسازی کنترل‌شده عوامل درمانی را فراهم می‌کنند. از سوی دیگر، ترکیب قابلیت‌های استئوژنیک، رگ‌زایی و ضدباکتریایی می‌تواند زمینه توسعه داربست‌های چندمنظوره را فراهم سازد. با وجود این مزایا، عواملی مانند اندازه و شکل ذرات، بار سطحی، تشکیل Protein Corona، تولیدROS ، تجمع بافتی، پاسخ ایمنی، زیست‌تخریب‌پذیری و دوز، نقش مهمی در ایمنی و کارایی نانوسامانه‌ها دارند. نتیجه‌گیری :نانوذرات با قابلیت تنظیم هم‌زمان ویژگی‌های مکانیکی و زیستی داربست و همچنین امکان انتقال کنترل‌شده عوامل درمانی، پتانسیل بالایی برای توسعه نسل جدید داربست‌های استخوانی دارند. در آینده، طراحی نانوذرات هوشمند، داربست‌های چندمنظوره، سیستم‌های پاسخگو به محرک و ترکیب فناوری نانو با چاپ زیستی سه‌بعدی می‌تواند مسیر را برای درمان‌های شخصی‌سازی‌شده و بازسازی هم‌زمان استخوان، عروق و کنترل عفونت هموار کند. بااین‌حال، انجام مطالعات *in vivo* و بالینی برای ارزیابی ایمنی بلندمدت و اثربخشی این سامانه‌ها پیش از استفاده گسترده در بالین ضروری است.

کلمات کلیدی: نانوذرات؛ نانوفناوری؛ مهندسی بافت استخوان؛ بازسازی استخوان؛ استئوژنز؛ سلول‌های بنیادی مزانشیمی؛ داربست‌های نانوساختار؛ دارورسانی کنترل‌شده؛ رگ‌زایی؛ مکانوترنسداکشن؛ نانوکامپوزیت‌ها؛ زیست‌سازگاری.

۱. مقدمه

بازسازی و ترمیم نقص‌های استخوانی یکی از چالش‌های مهم در پزشکی بازساختی و مهندسی بافت به شمار می‌رود. اگرچه بافت استخوان از قابلیت بازسازی طبیعی قابل توجهی برخوردار است، اما در شرایطی مانند ایجاد نقص‌های استخوانی بزرگ، آسیب‌های شدید، تروما، برداشت تومور، عفونت یا برخی اختلالات اسکلتی، ظرفیت ترمیم ذاتی بدن ممکن است برای بازسازی کامل ساختار و عملکرد استخوان کافی نباشد. در چنین شرایطی، استفاده از روش‌های مهندسی بافت می‌تواند راهکاری برای ایجاد یک ریزمحیط مناسب جهت هدایت فرآیندهای سلولی و مولکولی مرتبط با تشکیل استخوان جدید فراهم کند [۱]. هدف اصلی مهندسی بافت استخوان، طراحی سامانه‌ای است که بتواند شرایط لازم برای چسبندگی، تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول‌ها را فراهم کرده و در نهایت به تشکیل یک بافت استخوانی سازمان‌یافته و عملکردی منجر شود. یکی از عناصر اساسی در این رویکرد، استفاده از داربست‌های زیستی است. داربست باید علاوه بر ایجاد یک ساختار سه‌بعدی مناسب برای استقرار و رشد سلول‌ها، بتواند سیگنال‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی مورد نیاز برای بازسازی استخوان را نیز فراهم کند. با این حال، بسیاری از داربست‌های متداول، علی‌رغم برخورداری از زیست‌سازگاری و قابلیت پردازش مناسب، در بازآفرینی پیچیدگی ساختاری و عملکردی بافت استخوان محدودیت دارند[۲]. استخوان طبیعی یک بافت کامپوزیتی و سلسله‌مراتبی است که از تعامل نزدیک میان اجزای آلی و معدنی تشکیل شده است و بسیاری از ویژگی‌های آن در مقیاس نانو سازمان یافته‌اند. ازاین‌رو، طراحی موادی که بتوانند این ویژگی‌های نانومقیاس را تا حدی تقلید کنند، می‌تواند نقش مهمی در افزایش کارایی داربست‌های استخوانی داشته باشد. در این میان، ظهور و گسترش فناوری نانو فرصت‌های جدیدی را برای توسعه مواد پیشرفته در مهندسی بافت استخوان فراهم کرده است. نانوذرات به دلیل ابعاد بسیار کوچک، نسبت سطح به حجم بالا و قابلیت اصلاح شیمیایی سطح، می‌توانند برهم‌کنش مؤثری با پروتئین‌ها، غشای سلولی و اجزای ماتریکس خارج‌سلولی ایجاد کنند. این ویژگی‌ها سبب شده‌اند که نانوذرات نه‌تنها به‌عنوان اجزای ساختاری داربست‌ها، بلکه به‌عنوان عناصر فعال زیستی برای تنظیم رفتار سلول‌ها مورد توجه قرار گیرند[۳]. به‌کارگیری نانوذرات می‌تواند موجب تغییر ویژگی‌های سطحی داربست، افزایش جذب پروتئین‌ها، بهبود چسبندگی سلولی و فراهم‌شدن شرایط مناسب‌تر برای تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی شود. اهمیت استفاده از نانوذرات در مهندسی بافت استخوان تنها به اثرات سطحی و سلولی آن‌ها محدود نمی‌شود. یکی از ویژگی‌های مهم این نانوساختارها، امکان ایجاد تغییرات هم‌زمان در خواص زیستی و مکانیکی داربست است. برای مثال، افزودن نانوذرات سرامیکی مانند هیدروکسی‌آپاتیت و سایر فسفات‌های کلسیم می‌تواند ضمن افزایش استحکام داربست، محیطی شبیه‌تر به فاز معدنی استخوان ایجاد کند[۴]. این مواد به دلیل شباهت ترکیبی با بخش معدنی استخوان طبیعی، می‌توانند شرایط مناسبی برای جذب پروتئین‌های ماتریکس خارج‌سلولی و تحریک فعالیت سلول‌های استخوان‌ساز فراهم کنند. از سوی دیگر، نانوذرات می‌توانند نقش فعال‌تری در هدایت فرآیند استخوان‌سازی داشته باشند. برخی از نانومواد قادرند با آزادسازی یون‌های زیست‌فعال، از جمله یون‌های کلسیم، فسفات و سیلیسیم، ریزمحیط شیمیایی اطراف سلول را تغییر داده و مسیرهای مرتبط با تمایز استئوژنیک را تحریک کنند. این ویژگی به‌ویژه در طراحی داربست‌های زیست‌الهام‌گرفته اهمیت دارد، زیرا استخوان طبیعی خود دارای ساختار معدنی نانومقیاسی است و ترکیبات معدنی آن در تعامل نزدیک با ماتریکس آلی قرار دارند. بنابراین، استفاده از نانومواد می‌تواند امکان نزدیک‌تر کردن ترکیب و معماری داربست به ساختار طبیعی استخوان را فراهم کند. یکی دیگر از مزایای مهم نانوذرات، قابلیت استفاده از آن‌ها به‌عنوان سامانه‌های انتقال عوامل

زیست‌فعال است[۵]. نانوذرات پلیمری و برخی دیگر از نانوساختارها می‌توانند برای بارگذاری و انتقال کنترل‌شده داروها، ژن‌ها و فاکتورهای رشد مورد استفاده قرار گیرند. چنین قابلیتی امکان رساندن عوامل درمانی به محل نقص استخوان و کنترل سرعت آزادسازی آن‌ها را فراهم می‌کند. در نتیجه، می‌توان از نانوذرات برای ایجاد یک ریزمحیط درمانی استفاده کرد که در آن سیگنال‌های مورد نیاز برای بازسازی استخوان به‌صورت موضعی و در بازه زمانی مناسب ارائه شوند. علاوه بر تحریک مستقیم فرآیند استخوان‌سازی، کنترل عفونت نیز یکی از الزامات مهم در بازسازی نقص‌های استخوانی است. عفونت‌های مرتبط با داربست‌ها و ایمپلنت‌های استخوانی می‌توانند موجب التهاب، تشکیل بیوفیلم و اختلال در روند بازسازی شوند. در این زمینه، نانوذراتی مانند نانوذرات نقره به دلیل فعالیت ضدباکتریایی مورد توجه قرار گرفته‌اند. این نانوذرات می‌توانند از طریق مکانیسم‌هایی مانند آزادسازی یون‌های فلزی، ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب به ساختارهای حیاتی باکتری‌ها، رشد میکروارگانیسم‌ها را مهار کنند[۵, ۶]. بااین‌حال، افزایش بیش از حد غلظت این نانوذرات ممکن است بر سلول‌های سالم نیز اثر منفی داشته باشد؛ بنابراین، طراحی یک سامانه ضدباکتریایی مؤثر باید میان فعالیت ضدمیکروبی و زیست‌سازگاری تعادل ایجاد کند. از منظر مکانیکی نیز نانوذرات می‌توانند نقش مهمی در توسعه داربست‌های استخوانی ایفا کنند. پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر متداول، اگرچه از نظر زیست‌سازگاری و قابلیت ساخت مزایایی دارند، اما ممکن است از نظر استحکام و پایداری مکانیکی برای کاربردهای استخوانی با محدودیت مواجه باشند. افزودن نانوذرات به ماتریکس پلیمری می‌تواند از طریق افزایش برهم‌کنش میان اجزای داربست و بهبود انتقال تنش، خواص مکانیکی آن را ارتقا دهد. بااین‌حال، میزان و نحوه پراکندگی نانوذرات اهمیت زیادی دارد، زیرا تجمع ذرات می‌تواند موجب ایجاد نواحی ناهمگن و حتی کاهش عملکرد مکانیکی داربست شود. از سوی دیگر، رفتار سلول‌های استخوانی تنها تحت تأثیر ترکیب شیمیایی داربست نیست و ویژگی‌های مکانیکی ریزمحیط نیز می‌توانند سرنوشت سلولی را تنظیم کنند[۷]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی قادرند ویژگی‌هایی مانند سختی، کشسانی و نیروهای مکانیکی محیط اطراف خود را حس کرده و این محرک‌ها را از طریق فرآیندی موسوم به مکانوترنسداکشن به پاسخ‌های مولکولی تبدیل کنند. در این فرآیند، مسیرهایی مانندIntegrin/FAK ، RhoA/ROCK، MAPKو YAP/TAZ می‌توانند در تنظیم سازمان اسکلت سلولی و تمایز سلولی نقش داشته باشند. ازاین‌رو، طراحی نانوکامپوزیت‌های استخوانی باید علاوه بر توجه به ترکیب شیمیایی، به ایجاد یک ریزمحیط مکانیکی مناسب برای هدایت استئوژنز نیز توجه داشته باشد. با وجود این ظرفیت‌های قابل توجه، استفاده از نانوذرات در مهندسی بافت استخوان با چالش‌هایی نیز همراه است. عملکرد زیستی نانوذرات تنها به ترکیب شیمیایی آن‌ها وابسته نیست، بلکه ویژگی‌هایی مانند اندازه، شکل، بار سطحی، پوشش سطحی، پایداری کلوئیدی و روش سنتز می‌توانند رفتار آن‌ها را در محیط زیستی تغییر دهند. همچنین، پس از قرار گرفتن نانوذرات در محیط بدن، تشکیل تاج پروتئینی می‌تواند هویت زیستی سطح ذرات را تغییر داده و بر جذب سلولی، توزیع بافتی، سمیت و پاسخ ایمنی اثر بگذارد. بنابراین، ارزیابی عملکرد نانوذرات باید فراتر از آزمایش‌های ساده درون‌کشتگاهی بوده و سرنوشت و ایمنی آن‌ها در شرایط درون‌تنی نیز مورد توجه قرار گیرد[۸]. در مجموع، نانوذرات را می‌توان یکی از ابزارهای مهم برای عبور از نسل سنتی داربست‌های منفعل به سمت داربست‌های فعال و هوشمند در مهندسی بافت استخوان دانست. این مواد قابلیت آن را دارند که به‌صورت هم‌زمان خواص مکانیکی و زیستی داربست را بهبود دهند، تمایز استئوژنیک را هدایت کنند، عوامل درمانی را به‌صورت کنترل‌شده منتقل نمایند و حتی در کنترل عفونت و تنظیم پاسخ سلولی نقش داشته باشند. بااین‌حال، موفقیت نهایی این فناوری به ایجاد تعادل میان عملکرد بازسازی‌کننده، زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و ایمنی بلندمدت وابسته است. ازاین‌رو، مسیر آینده مهندسی بافت استخوان به سمت طراحی نانوسامانه‌های چندمنظوره، زیست‌تخریب‌پذیر و پاسخگو به محرک پیش خواهد رفت؛ سامانه‌هایی که بتوانند ریزمحیط پیچیده استخوان را با دقت بیشتری بازسازی کرده و فرآیند تشکیل بافت جدید را به‌صورت کنترل‌شده هدایت کنند[۹, ۱۰].

۲. روش کار

این مطالعه با هدف بررسی جامع کاربرد نانوذرات در مهندسی بافت استخوان و ارزیابی نقش آن‌ها در بهبود خواص مکانیکی، تحریک استئوژنز، انتقال عوامل درمانی، رگ‌زایی و کنترل عفونت انجام شد. برای دستیابی به مطالعات مرتبط، جست‌وجوی منابع علمی در پایگاه‌های PubMed، Scopus، Web of Scienceو Google Scholar انجام گرفت. کلیدواژه‌های مورد استفاده شامل ترکیبی از عبارات "nanoparticles"، "nanomaterials"، "bone tissue engineering"، "bone regeneration"، "osteogenesis"، "mesenchymal stem cells"، "osteogenic differentiation"، "drug delivery"، "growth factor delivery"، "angiogenesis" و معادل‌های مرتبط آن‌ها بود. کلیدواژه‌ها با استفاده از عملگرهای منطقی ANDو ORبا یکدیگر ترکیب شدند تا دامنه جست‌وجو متناسب با اهداف مطالعه تنظیم شود.مطالعاتی که به بررسی کاربرد نانومواد و نانوذرات در بازسازی و مهندسی بافت استخوان، داربست‌های نانوساختار، تمایز استئوژنیک سلول‌های بنیادی، انتقال دارو و فاکتورهای رشد، رگ‌زایی و خواص ضدباکتریایی پرداخته بودند، در فرایند بررسی قرار گرفتند. مطالعاتی که ارتباط مشخصی با مهندسی بافت استخوان نداشتند، فاقد اطلاعات کافی درباره ویژگی‌های نانومواد یا پاسخ‌های زیستی بودند و همچنین مقالات تکراری از روند بررسی حذف شدند. علاوه بر مقالات پژوهشی، در موارد لازم از مقالات مروری و مطالعات جامع برای شناسایی مفاهیم بنیادی، مکانیسم‌های عملکرد نانومواد و جهت‌دهی به ساختار مرور حاضر استفاده شد. پس از غربالگری عنوان و چکیده، مقالات مرتبط برای بررسی متن کامل انتخاب شدند. اطلاعات استخراج‌شده شامل نوع نانوذره، اندازه و ویژگی‌های سطحی، نوع داربست یا ماتریکس، روش ساخت، نوع سلول مورد استفاده، شرایط آزمایش، شاخص‌های استئوژنیک، خواص مکانیکی، قابلیت رگ‌زایی، فعالیت ضدباکتریایی، روش انتقال عوامل زیست‌فعال و نتایج اصلی مطالعات بود. همچنین چالش‌های مرتبط با زیست‌سازگاری، سمیت، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تجمع بافتی، زیست‌تخریب‌پذیری و تفاوت نتایج مطالعات *in vitro* و *in vivo* مورد توجه قرار گرفتند. در نهایت، یافته‌های مطالعات انتخاب‌شده بر اساس محورهای اصلی شامل خواص مکانیکی داربست‌ها، استئوژنز و تمایز سلولی، انتقال دارو و فاکتورهای رشد، رگ‌زایی، فعالیت ضدباکتریایی، تحریک مکانیکی و مکانوترنسداکشن، نانوکامپوزیت‌ها و داربست‌های زیست‌الهام‌گرفته، ایمنی زیستی و چشم‌اندازهای آینده دسته‌بندی و به‌صورت کیفی مورد تحلیل و مقایسه قرار گرفتند. هدف از این رویکرد، ارائه تصویری یکپارچه از ظرفیت‌ها، محدودیت‌ها و مسیرهای آینده استفاده از نانوذرات در مهندسی و بازسازی بافت استخوان بود

۳. طبقه‌بندی نانوذرات و ارتباط ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها با بازسازی استخوان

نانوذرات مورد استفاده در مهندسی بافت استخوان را می‌توان بر اساس ترکیب شیمیایی، ساختار، منشأ و عملکرد زیستی در گروه‌های مختلفی طبقه‌بندی کرد. از مهم‌ترین این گروه‌ها می‌توان به نانوذرات سرامیکی، پلیمری، فلزی، کربنی و مغناطیسی اشاره کرد. هر یک از این گروه‌ها ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوتی دارند و ازاین‌رو می‌توانند نقش‌های متفاوتی در بازسازی استخوان ایفا کنند. با این حال، کاربرد موفق یک نانوذره در مهندسی بافت استخوان صرفاً به انتخاب جنس مناسب آن محدود نمی‌شود؛ بلکه ویژگی‌هایی مانند اندازه، شکل، بار سطحی، میزان پراکندگی، زبری سطح، آب‌دوستی و پایداری نیز می‌توانند عملکرد زیستی آن را تعیین کنند. بنابراین، طراحی نانوذرات باید بر اساس نیازهای اختصاصی بافت استخوان و هدف مورد نظر از کاربرد آن‌ها انجام شود. نانوذرات سرامیکی: نانوذرات سرامیکی از مهم‌ترین گروه‌های نانومواد در مهندسی بافت استخوان محسوب می‌شوند؛ زیرا بسیاری از ترکیبات سرامیکی از نظر ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های سطحی به فاز معدنی استخوان نزدیک هستند[۱۱]. هیدروکسی‌آپاتیت، فسفات‌های کلسیم و شیشه‌های زیست‌فعال از جمله مهم‌ترین مواد

این گروه هستند. ویژگی برجسته این نانوساختارها، توانایی ایجاد یک محیط معدنی مناسب برای تعامل با سلول‌های استخوان‌ساز و اجزای ماتریکس خارج‌سلولی است. در میان این مواد، نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت (nHA) جایگاه ویژه‌ای دارند. هیدروکسی‌آپاتیت به دلیل شباهت ترکیبی با بخش معدنی استخوان طبیعی، می‌تواند سطح مناسبی برای جذب پروتئین‌های ماتریکس خارج‌سلولی ایجاد کرده و تعامل میان سلول و داربست را تقویت کند. حضور نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت در داربست‌های پلیمری همچنین می‌تواند موجب بهبود برخی ویژگی‌های مکانیکی و افزایش قابلیت استخوان‌سازی داربست شود. به همین دلیل، ترکیب پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر با nHA به یکی از راهبردهای مهم در توسعه داربست‌های نانوکامپوزیتی استخوان تبدیل شده است. از سوی دیگر، فسفات‌های کلسیم نیز به دلیل قابلیت آزادسازی یون‌های کلسیم و فسفات می‌توانند ریزمحیط مناسب‌تری برای فرآیند معدنی‌شدن ایجاد کنند. این ویژگی اهمیت ویژه‌ای دارد؛ زیرا یون‌های آزادشده از فاز معدنی می‌توانند در تعامل با سلول‌ها و ماتریکس خارج‌سلولی، فرآیندهای مرتبط با استخوان‌سازی را تحت تأثیر قرار دهند[۱۲]. بنابراین، نانوذرات سرامیکی را می‌توان علاوه بر اجزای تقویت‌کننده، به‌عنوان عناصر فعال زیستی در داربست‌های استخوانی در نظر گرفت. با وجود این مزایا، افزایش بیش از حد مقدار نانوذرات سرامیکی همیشه مطلوب نیست. غلظت بالای این مواد ممکن است موجب تجمع ذرات، پراکندگی غیریکنواخت و افزایش شکنندگی داربست شود. در نتیجه، طراحی داربست باید به گونه‌ای انجام شود که میان میزان نانوفاز معدنی، استحکام مکانیکی، انعطاف‌پذیری و فعالیت زیستی تعادل برقرار باشد. نانوذرات پلیمری: نانوذرات پلیمری گروه دیگری از نانوساختارهای مورد توجه در مهندسی بافت استخوان هستند. پلیمرهایی مانند پلی‌لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید(PLGA) ، کیتوسان و پلی‌کاپرولاکتون (PCL) به دلیل قابلیت زیست‌تخریب‌پذیری، انعطاف‌پذیری و امکان اصلاح ساختاری، در طراحی سامانه‌های نانویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۱۱]. مهم‌ترین مزیت نانوذرات پلیمری در مهندسی بافت استخوان، قابلیت آن‌ها برای بارگذاری و انتقال کنترل‌شده ترکیبات زیست‌فعال است. این نانوذرات می‌توانند به‌عنوان حامل داروها، فاکتورهای رشد یا مواد ژنتیکی عمل کرده و از عوامل زیست‌فعال در برابر تخریب سریع محافظت کنند. در نتیجه، امکان آزادسازی تدریجی و موضعی ترکیبات درمانی در محل نقص استخوان فراهم می‌شود. این ویژگی می‌تواند نسبت به تجویز سیستمیک، امکان ایجاد غلظت موضعی مناسب‌تر و کاهش برخی عوارض ناشی از توزیع غیرهدفمند عوامل درمانی را فراهم کند. یکی دیگر از ویژگی‌های مهم این نانوذرات، امکان تنظیم سرعت تخریب و سینتیک آزادسازی عوامل بارگذاری‌شده است. با تغییر ترکیب پلیمر، اندازه ذرات و ویژگی‌های سطحی می‌توان رفتار سامانه را تا حدی تنظیم کرد. بااین‌حال، کنترل دقیق سرعت تخریب، جلوگیری از آزادسازی ناگهانی ماده فعال و ارزیابی اثر محصولات تخریب بر محیط سلولی از موضوعات مهمی است که باید در طراحی این سامانه‌ها مورد توجه قرار گیرد. نانوذرات فلزی: نانوذرات فلزی نیز به دلیل ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی منحصربه‌فرد، در مهندسی بافت استخوان مورد توجه قرار گرفته‌اند. در میان آن‌ها، نانوذرات طلا و نقره اهمیت بیشتری دارند، اما عملکرد این دو گروه کاملاً متفاوت است. نانوذرات طلا (AuNPs) به دلیل پایداری شیمیایی، زیست‌سازگاری مناسب و قابلیت اصلاح سطحی گسترده، می‌توانند برای طراحی داربست‌های فعال و سامانه‌های انتقال عوامل زیست‌فعال مورد استفاده قرار گیرند. این نانوذرات همچنین قادرند با تغییر ریزمحیط سطحی داربست بر رفتار سلول‌های بنیادی اثر بگذارند. در مطالعات مختلف، اثر AuNPs بر مسیرهای مرتبط با تمایز سلول‌های بنیادی و افزایش بیان برخی نشانگرهای استخوانی گزارش شده است[۱۳]. با وجود این ظرفیت، کاربرد نانوذرات طلا با چالش‌هایی مانند وابستگی پاسخ سلولی به اندازه، غلظت و اصلاح سطحی همراه است. همچنین، اطلاعات مربوط به سرنوشت بلندمدت و تجمع احتمالی این ذرات در بدن هنوز از مسائل مهم در مسیر انتقال آن‌ها به کاربردهای بالینی محسوب می‌شود. در مقابل، نانوذرات نقره (AgNPs) عمدتاً به دلیل ویژگی ضدباکتریایی خود مورد توجه قرار گرفته‌اند. این ویژگی در مهندسی بافت استخوان اهمیت زیادی دارد، زیرا عفونت

محل کاشت می‌تواند موجب التهاب، تشکیل بیوفیلم و اختلال در روند استخوان‌سازی شود AgNPs .می‌توانند از طریق آزادسازی یون‌های نقره، تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد اختلال در ساختارهای حیاتی باکتری‌ها، رشد میکروبی را مهار کنند. بااین‌حال، استفاده از AgNPs نیازمند کنترل دقیق دوز است؛ زیرا مکانیسم‌هایی که موجب آسیب به باکتری‌ها می‌شوند، در غلظت‌های بالا ممکن است به سلول‌های میزبان نیز آسیب وارد کنند. بنابراین، در طراحی داربست‌های استخوانی حاوی نقره، هدف نباید صرفاً دستیابی به بیشترین فعالیت ضدباکتریایی باشد، بلکه باید محدوده‌ای از غلظت و نحوه آزادسازی انتخاب شود که میان مهار عفونت و حفظ زیست‌سازگاری تعادل ایجاد کند[۱۴]. نانومواد کربنی: نانومواد کربنی شامل نانولوله‌های کربنی(CNTs) ، گرافن و گرافن اکسید (GO) به دلیل خواص مکانیکی قابل توجه و قابلیت اصلاح سطحی، در طراحی داربست‌های پیشرفته مورد توجه قرار گرفته‌اند. افزودن این مواد به ماتریس‌های پلیمری می‌تواند موجب افزایش استحکام و تغییر ویژگی‌های مکانیکی داربست شود. این موضوع در مهندسی بافت استخوان اهمیت دارد، زیرا داربست باید بتواند در برابر نیروهای مکانیکی محیط استخوان مقاومت کند. علاوه بر ویژگی‌های مکانیکی، برخی از نانومواد کربنی دارای رسانایی الکتریکی هستند و می‌توانند محیط فیزیکی متفاوتی برای سلول‌ها ایجاد کنند. با این حال، استفاده از این مواد در کاربردهای استخوانی باید با احتیاط انجام شود؛ زیرا تجمع ذرات، زیست‌تخریب‌پذیری محدود و احتمال ایجاد پاسخ‌های التهابی از جمله چالش‌های مطرح‌شده درباره آن‌ها هستند. گرافن اکسید نیز به دلیل قابلیت اصلاح سطح و توانایی برهم‌کنش با اجزای زیستی می‌تواند در طراحی داربست‌های نانوکامپوزیتی مورد استفاده قرار گیرد. بااین‌حال، مقدار GO اهمیت زیادی دارد و افزایش بیش از حد آن ممکن است بر انعطاف‌پذیری داربست اثر منفی گذاشته و تولید گونه‌های فعال اکسیژن و پاسخ‌های التهابی را افزایش دهد[۱۵]. ازاین‌رو، تعیین مقدار بهینه این نانومواد برای دستیابی هم‌زمان به خواص مکانیکی و زیستی مناسب ضروری است. نانوذرات مغناطیسی: نانوذرات مغناطیسی، به‌ویژه نانوذرات اکسید آهن، گروه دیگری از نانومواد با قابلیت‌های ویژه در مهندسی بافت استخوان هستند. این نانوذرات علاوه بر امکان استفاده در تصویربرداری و ردیابی سلول‌ها، می‌توانند در طراحی سامانه‌های پاسخگو به میدان مغناطیسی نیز مورد استفاده قرار گیرند. به‌عنوان مثال، نانوذرات اکسید آهن فوق‌پارامغناطیس (SPIONs) به دلیل قابلیت پاسخ به میدان مغناطیسی خارجی، در ردیابی سلول‌ها و توسعه سامانه‌های فعال مورد توجه قرار گرفته‌اند. اهمیت نانوذرات مغناطیسی در مهندسی بافت استخوان تنها به کاربرد تصویربرداری محدود نمی‌شود. اعمال میدان مغناطیسی می‌تواند نیروهای مکانیکی کنترل‌شده‌ای ایجاد کند و از طریق مکانوترنسداکشن بر رفتار سلول‌های بنیادی اثر بگذارد. مسیرهایی مانندIntegrin/FAK ، RhoA/ROCK، MAPKو YAP/TAZ از جمله مسیرهای مطرح در پاسخ سلول به محرک‌های مکانیکی هستند. از این منظر، نانوذرات مغناطیسی می‌توانند به‌عنوان واسطه‌ای میان یک محرک فیزیکی خارجی و پاسخ زیستی سلول عمل کنند. اهمیت اندازه، شکل، بار سطحی و پراکندگی نانوذرات: اگرچه طبقه‌بندی نانوذرات بر اساس ترکیب شیمیایی برای شناخت کلی آن‌ها مفید است، اما برای پیش‌بینی عملکرد زیستی، بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها ضروری است. اندازه ذرات می‌تواند بر میزان تماس با سلول، جذب سلولی و نحوه توزیع آن‌ها اثر بگذارد. شکل و مورفولوژی نیز می‌توانند مسیرهای جذب و پاسخ سلولی را تغییر دهند. همچنین، بار سطحی نانوذرات نقش مهمی در برهم‌کنش با غشای سلولی دارد؛ به‌گونه‌ای که افزایش برهم‌کنش با سطح سلول ممکن است جذب ذرات را افزایش دهد، اما در برخی شرایط احتمال آسیب غشایی و سمیت را نیز بیشتر کند. پراکندگی نانوذرات در داربست نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. توزیع یکنواخت می‌تواند موجب ایجاد خواص مکانیکی و زیستی همگن‌تر شود، در حالی که تجمع ذرات ممکن است نقاط تمرکز تنش ایجاد کرده و علاوه بر کاهش عملکرد مکانیکی، پاسخ سلولی غیریکنواختی ایجاد کند. بنابراین، روش ساخت داربست و نحوه ترکیب نانوذرات با ماتریس زمینه، بخشی جدایی‌ناپذیر از طراحی نانوسامانه‌های استخوانی محسوب می‌شود. در مجموع، هر گروه از نانوذرات می‌تواند یک یا چند نیاز اساسی در مهندسی بافت استخوان را

هدف قرار دهد. نانوذرات سرامیکی عمدتاً برای تقلید فاز معدنی استخوان و تقویت استئوژنز، نانوذرات پلیمری برای انتقال کنترل‌شده عوامل زیست‌فعال، نانوذرات فلزی برای تنظیم رفتار سلولی یا کنترل عفونت، نانومواد کربنی برای تقویت مکانیکی و ایجاد ویژگی‌های عملکردی ویژه و نانوذرات مغناطیسی برای تصویربرداری، ردیابی سلولی و تحریک مکانیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. بااین‌حال، مرز میان این کاربردها کاملاً مشخص نیست و یک نانوذره می‌تواند هم‌زمان چند عملکرد را در یک داربست ایجاد کند. از این رو، روند پژوهش‌های جدید از انتخاب یک نانوماده برای یک عملکرد منفرد به سمت طراحی نانوکامپوزیت‌های چندمنظوره در حال حرکت است؛ سامانه‌هایی که بتوانند به‌طور هم‌زمان استئوژنز، خواص مکانیکی، رگ‌زایی، کنترل عفونت و رسانش عوامل درمانی را تنظیم کنند. در چنین رویکردی، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذره باید نه به‌صورت مستقل، بلکه در ارتباط با معماری داربست، سلول هدف، محیط زیستی و هدف درمانی مورد طراحی قرار گیرد[۱۶]. در جدول ۱ خلاصه ای از مطالب بالا ذکر شده است.

جدول ۱: طبقه‌بندی نانوذرات و ارتباط ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها با بازسازی استخوان

گروه نانوذرات	نمونه‌های مهم	ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کلیدی	نقش/کاربرد در بازسازی استخوان	مزایا	چالش‌ها و محدودیت‌ها
نانوذرات سرامیکی	هیدروکسی‌آپاتیت (nHA)، فسفات‌های کلسیم، شیشه‌های زیست‌فعال	شباهت به فاز معدنی استخوان، سطح فعال، قابلیت آزادسازی یون‌های Ca^{2+}و PO_4^{3-}	تقلید فاز معدنی استخوان، افزایش معدنی‌شدن و استئوژنز، بهبود تعامل سلول–داربست	زیست‌سازگاری مناسب، زیست‌فعال بودن، قابلیت تقویت داربست‌های پلیمری	تجمع ذرات در غلظت بالا، پراکندگی غیریکنواخت، افزایش شکنندگی
نانوذرات پلیمری	PLGA، کیتوسان، PCL	زیست‌تخریب‌پذیری، انعطاف‌پذیری، قابلیت اصلاح سطح و کنترل سرعت تخریب	انتقال و آزادسازی کنترل‌شده دارو، فاکتورهای رشد و مواد ژنتیکی	قابلیت بارگذاری بالا، آزادسازی موضعی و تدریجی، امکان تنظیم سینتیک تخریب	احتمال آزادسازی ناگهانی، دشواری کنترل دقیق تخریب، اثر احتمالی محصولات تخریب بر سلول‌ها
نانوذرات فلزی	طلا(AuNPs) ، نقره (AgNPs)	پایداری شیمیایی، قابلیت اصلاح سطح، فعالیت ضدباکتریایی درAgNPs	تنظیم رفتار سلولی و استئوژنز؛ کنترل عفونت و بیوفیلم	AuNPs:قابلیت اصلاح سطح و اثر بر تمایز استخوانی؛ AgNPs:فعالیت ضدباکتریایی	وابستگی اثر به اندازه و غلظت؛ احتمال سمیت؛ نگرانی درباره تجمع و سرنوشت طولانی‌مدت
نانومواد کربنی	CNTs، گرافن، گرافن اکسید(GO)	استحکام مکانیکی بالا، سطح ویژه زیاد، قابلیت اصلاح سطح، رسانایی الکتریکی	تقویت مکانیکی داربست، ایجاد ویژگی‌های عملکردی و امکان اثرگذاری بر رفتار سلولی	افزایش استحکام، قابلیت مهندسی سطح، خواص الکتریکی ویژه	تجمع ذرات، زیست‌تخریب‌پذیری محدود، احتمال التهاب و تولید ROS در مقادیر بالا
نانوذرات مغناطیسی	SPIONsو سایر نانوذرات اکسید آهن	پاسخ‌پذیری مغناطیسی، قابلیت هدایت و کنترل با میدان خارجی	تصویربرداری، ردیابی سلولی، تحریک مکانیکی و تنظیم رفتار سلول‌های بنیادی	امکان تحریک از راه دور، ردیابی سلول، ایجاد مکانوترنسداکشن	نیاز به کنترل دقیق میدان و دوز، احتمال اثرات وابسته به اندازه و پوشش سطحی
نانوکامپوزیت‌های چندمنظوره	ترکیب نانوذرات سرامیکی، پلیمری، فلزی، کربنی یا مغناطیسی	ترکیب هم‌زمان چند ویژگی فیزیکی و شیمیایی	استئوژنز، تقویت مکانیکی، رگ‌زایی، کنترل عفونت و رسانش عوامل درمانی	امکان ایجاد عملکردهای هم‌زمان و طراحی اختصاصی	پیچیدگی ساخت، احتمال برهم‌کنش نامطلوب اجزا و دشواری کنترل خواص

۴. ویژگی‌های منحصربه‌فرد بافت استخوان و ضرورت استفاده از نانومواد

استخوان یکی از پیچیده‌ترین بافت‌های بدن است که ساختار و عملکرد آن در مقیاس‌های مختلف از نانو تا ماکرو سازمان یافته است. این ساختار سلسله‌مراتبی، امکان ایجاد هم‌زمان استحکام مکانیکی، سختی، انعطاف‌پذیری نسبی و قابلیت بازسازی را فراهم می‌کند. در مقیاس نانومتری، استخوان عمدتاً از تعامل میان یک ماتریکس آلی غنی از کلاژن نوع I و یک فاز معدنی متشکل از کریستال‌های نانومقیاس فسفات کلسیم با ماهیت مشابه هیدروکسی‌آپاتیت تشکیل شده است. قرارگیری این اجزا در کنار یکدیگر، استخوان را به یک نانوکامپوزیت طبیعی تبدیل کرده است که خواص مکانیکی و زیستی آن حاصل تعامل میان فاز آلی و معدنی است[۱۷]. کلاژن نقش مهمی در ایجاد چارچوب ساختاری و انعطاف‌پذیری استخوان دارد، در حالی که فاز معدنی مسئول بخش عمده‌ای از سختی و استحکام آن است. کریستال‌های معدنی در ارتباط نزدیک با فیبریل‌های کلاژن قرار گرفته‌اند و این سازمان‌یافتگی نانومقیاس در عملکرد مکانیکی استخوان اهمیت زیادی دارد. به همین دلیل، نانوذرات سرامیکی مانند هیدروکسی‌آپاتیت و سایر فسفات‌های کلسیم به‌عنوان گزینه‌های مهم در مهندسی بافت استخوان مورد توجه قرار گرفته‌اند؛ زیرا می‌توانند بخشی از ویژگی‌های فاز معدنی استخوان را بازسازی کرده و هم‌زمان محیط مناسبی برای تعامل سلول‌ها با داربست فراهم کنند[۱۸]. یکی از مهم‌ترین دلایل استفاده از نانومواد در مهندسی بافت استخوان، شباهت مقیاس آن‌ها با اجزای نانومقیاس ماتریکس خارج‌سلولی استخوان است. نانوذرات به دلیل نسبت سطح به حجم بالا و قابلیت اصلاح سطحی، می‌توانند ویژگی‌هایی مانند زبری، انرژی سطح و ظرفیت جذب پروتئین‌های داربست را تغییر دهند. این تغییرات بر نحوه تعامل سلول با سطح داربست اثر گذاشته و می‌توانند چسبندگی، تکثیر و فعالیت سلولی را بهبود دهند. در واقع، ایجاد ویژگی‌های نانومقیاس در سطح داربست می‌تواند آن را از نظر توپوگرافی و برهم‌کنش‌های زیستی به ریزمحیط طبیعی استخوان نزدیک‌تر کند. ساختار نانومقیاس داربست همچنین می‌تواند رفتار سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های استخوانی را تحت تأثیر قرار دهد. سلول‌ها علاوه بر سیگنال‌های شیمیایی، ویژگی‌های فیزیکی محیط اطراف خود مانند سختی، زبری و کشسانی را نیز حس می‌کنند[۱۹]. این فرآیند که مکانوترنسداکشن نام دارد، می‌تواند مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی مانندIntegrin/FAK ، RhoA/ROCK، MAPKو YAP/TAZ را فعال کرده و در نهایت بر تکثیر و تمایز سلولی اثر بگذارد. بنابراین، نانومواد می‌توانند از طریق تغییر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ریزمحیط، شرایط مناسب‌تری برای هدایت سلول‌های بنیادی به سمت تمایز استئوژنیک ایجاد کنند. با این حال، عملکرد نانومواد تنها به کوچک بودن ابعاد آن‌ها وابسته نیست. ویژگی‌هایی مانند اندازه، شکل، بار سطحی، ترکیب شیمیایی، پوشش سطحی و پایداری ذرات می‌توانند پاسخ سلولی و زیستی آن‌ها را تغییر دهند. بنابراین، در طراحی داربست‌های نانوساختار استخوانی باید میان ویژگی‌های نانومقیاس، عملکرد مکانیکی، زیست‌سازگاری و پاسخ سلولی تعادل برقرار شود. در مجموع، ساختار سلسله‌مراتبی و نانومقیاس استخوان، همراه با سازمان‌یافتگی کلاژن و فاز معدنی، ضرورت استفاده از نانومواد را در مهندسی بافت این بافت توجیه می‌کند. نانوذرات می‌توانند با تقلید نسبی از ویژگی‌های ریزمحیط طبیعی استخوان، اصلاح سطح داربست، بهبود تعامل سلول و ماده و تنظیم محرک‌های مکانیکی و شیمیایی، به ایجاد محیط مناسب‌تری برای بازسازی و استخوان‌سازی کمک کنند. از این منظر، استفاده از نانومواد صرفاً افزودن یک ماده تقویت‌کننده به داربست نیست، بلکه رویکردی برای نزدیک‌کردن ریزمحیط مصنوعی به ساختار و عملکرد پیچیده استخوان طبیعی است[۲۰].

۵. نقش نانوذرات در بهبود خواص مکانیکی داربست‌های استخوانی

یکی از مهم‌ترین الزامات در طراحی داربست‌های مهندسی بافت استخوان، برخورداری از خواص مکانیکی مناسب برای ایجاد حمایت ساختاری و انتقال صحیح نیرو در محل نقص است. بسیاری از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر مورد استفاده در ساخت داربست‌ها، اگرچه از زیست‌سازگاری و قابلیت فرآوری مطلوبی برخوردارند، اما ممکن است از نظر استحکام، مدول الاستیک و پایداری مکانیکی در شرایط فیزیولوژیک با محدودیت مواجه باشند. افزودن نانوذرات به این داربست‌ها یکی از راهکارهای مؤثر برای بهبود عملکرد مکانیکی و ایجاد نانوکامپوزیت‌هایی با ویژگی‌های نزدیک‌تر به استخوان طبیعی است. نانوذرات به دلیل نسبت سطح به حجم بالا می‌توانند برهم‌کنش گسترده‌ای با زنجیره‌های پلیمری ایجاد کنند و در نتیجه انتقال تنش در ساختار داربست را بهبود دهند. حضور مناسب نانوذرات می‌تواند موجب افزایش استحکام، مدول الاستیک و پایداری ساختاری داربست شود و از تغییر شکل آن تحت بارگذاری جلوگیری کند. این اثر به‌ویژه در داربست‌های استخوانی اهمیت دارد، زیرا داربست باید در مراحل اولیه ترمیم بتواند بخشی از نیروهای مکانیکی واردشده به محل نقص را تحمل کند و در عین حال با تشکیل تدریجی بافت جدید، نقش آن به‌تدریج کاهش یابد[۴]. بااین‌حال، افزایش خواص مکانیکی تنها به افزودن مقدار بیشتری از نانوذرات وابسته نیست .پراکندگی یکنواخت نانوذرات در ماتریکس یکی از عوامل تعیین‌کننده عملکرد نانوکامپوزیت است. در صورت پراکندگی مناسب، سطح تماس میان نانوذرات و فاز پلیمری افزایش یافته و انتقال تنش مؤثرتر انجام می‌شود؛ اما تجمع ذرات می‌تواند موجب ایجاد نواحی ناهمگن و نقاط تمرکز تنش شده و حتی به کاهش استحکام مکانیکی منجر شود. بنابراین، نوع نانوذره، غلظت آن، میزان پراکندگی، اتصال میان نانوذره و پلیمر و همچنین روش ساخت داربست، همگی باید در طراحی نانوکامپوزیت مورد توجه قرار گیرند. در میان نانومواد مورد استفاده برای بازسازی استخوان، نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت (nHA) اهمیت ویژه‌ای دارند. این نانوذرات به دلیل شباهت شیمیایی با بخش معدنی استخوان طبیعی، علاوه بر بهبود استحکام مکانیکی داربست، می‌توانند ویژگی‌های زیستی آن را نیز ارتقا دهند. حضور نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت در ماتریکس پلیمری می‌تواند سختی و مدول داربست را افزایش داده و سطح مناسبی برای برهم‌کنش پروتئین‌های ماتریکس خارج‌سلولی و سلول‌های استخوانی فراهم کند. بااین‌حال، افزایش بیش از حد مقدار هیدروکسی‌آپاتیت می‌تواند انعطاف‌پذیری داربست را کاهش داده و شکنندگی آن را افزایش دهد؛ بنابراین، ایجاد تعادل میان استحکام و انعطاف‌پذیری اهمیت زیادی دارد[۲۱]. در واقع، هدف از تقویت مکانیکی داربست نباید صرفاً دستیابی به بیشترین مقدار استحکام یا مدول باشد، بلکه باید خواص مکانیکی متناسب با بافت استخوان و مرحله بازسازی ایجاد شود. داربست بیش از حد سخت و شکننده ممکن است توانایی مناسبی برای تحمل بار داشته باشد، اما در برابر نیروهای پیچیده فیزیولوژیک عملکرد مطلوبی نداشته باشد. از سوی دیگر، داربست بسیار نرم ممکن است نتواند حمایت مکانیکی کافی ایجاد کند. بنابراین، طراحی نانوکامپوزیت باید به گونه‌ای انجام شود که سختی، استحکام، انعطاف‌پذیری و انتقال نیرو در یک محدوده متعادل قرار گیرند.

نکته مهم دیگر، تغییر خواص مکانیکی داربست در طول فرآیند تخریب است. داربست‌های استخوانی زیست‌تخریب‌پذیر باید به‌تدریج تخریب شوند و هم‌زمان با آن، بافت استخوانی جدید شکل بگیرد[۲۲]. در این فرآیند، تخریب ماتریکس پلیمری، تغییر ساختار شبکه، آزادسازی یا جابه‌جایی نانوذرات و تغییر برهم‌کنش میان اجزای نانوکامپوزیت می‌تواند موجب تغییر تدریجی خواص مکانیکی شود. بنابراین، ارزیابی استحکام و مدول در زمان اولیه به‌تنهایی نمی‌تواند عملکرد واقعی داربست را مشخص کند و لازم است تغییرات مکانیکی در طول زمان، هم‌زمان با تخریب داربست و تشکیل بافت جدید، مورد بررسی قرار گیرد. از سوی دیگر، ویژگی‌های مکانیکی داربست مستقیماً با رفتار سلول‌ها ارتباط دارند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی

می‌توانند سختی و ویژگی‌های مکانیکی محیط اطراف خود را حس کرده و این محرک‌ها را از طریق مکانوترنسداکشن به سیگنال‌های داخل سلولی تبدیل کنند. در نتیجه، تغییر سختی و کشسانی داربست توسط نانوذرات می‌تواند علاوه بر نقش ساختاری، بر چسبندگی، سازمان‌یافتگی سلولی و تمایز استئوژنیک نیز اثرگذار باشد. بنابراین، نانوذرات در داربست‌های استخوانی را می‌توان نه‌فقط به‌عنوان تقویت‌کننده مکانیکی، بلکه به‌عنوان عاملی برای ایجاد یک ریزمحیط مکانیکی مناسب جهت هدایت بازسازی استخوان در نظر گرفت. در مجموع، افزودن نانوذرات به داربست‌های استخوانی می‌تواند با بهبود انتقال تنش، افزایش استحکام و مدول، کاهش تغییر شکل و نزدیک‌کردن ویژگی‌های مکانیکی داربست به استخوان طبیعی، عملکرد ساختاری آن را ارتقا دهد. بااین‌حال، دستیابی به این مزایا به پراکندگی یکنواخت نانوذرات، انتخاب غلظت مناسب و ایجاد برهم‌کنش مطلوب میان نانوذره و ماتریکس وابسته است. همچنین، از آنجا که خواص داربست در طول تخریب تغییر می‌کند، طراحی موفق نانوکامپوزیت‌های استخوانی باید علاوه بر عملکرد اولیه، پایداری و تغییرات مکانیکی در طول فرآیند بازسازی را نیز در نظر بگیرد[۲۳].

۶. نقش نانوذرات در استئوژنز و تمایز سلول‌های بنیادی

یکی از مهم‌ترین کاربردهای نانوذرات در مهندسی بافت استخوان، توانایی آن‌ها در تنظیم رفتار سلول‌های بنیادی مزانشیمی و هدایت آن‌ها به سمت رده استئوژنیک است. رفتار سلول‌ها در تماس با یک داربست، تحت تأثیر مجموعه‌ای از عوامل شیمیایی، فیزیکی و زیستی قرار دارد و ویژگی‌های نانومقیاس سطح داربست می‌تواند این تعاملات را به‌طور قابل توجهی تغییر دهد. نانوذرات با افزایش سطح ویژه، تغییر توپوگرافی و زبری سطح و ایجاد جایگاه‌های مناسب برای جذب پروتئین‌ها، می‌توانند شرایط مطلوب‌تری برای اتصال و گسترش سلول‌ها فراهم کنند . پس از چسبندگی اولیه، ویژگی‌های سطحی نانومواد می‌توانند بر تکثیر و سازمان‌یافتگی سلول‌ها نیز اثرگذار باشند[۲۴]. تعامل سلول با سطح داربست از طریق گیرنده‌های غشایی و پروتئین‌های ماتریکس خارج‌سلولی، موجب ایجاد سیگنال‌های داخل سلولی شده و در نهایت رفتار سلولی را تنظیم می‌کند. بنابراین، ویژگی‌هایی مانند اندازه و شکل نانوذرات، زبری سطح، بار سطحی و نحوه توزیع آن‌ها در داربست می‌توانند میزان تعامل سلول و ماده را تغییر دهند. این مسئله اهمیت طراحی دقیق سطح نانوساختارها را در ایجاد یک ریزمحیط مناسب برای بازسازی استخوان نشان می‌دهد. یکی از اهداف اصلی این تعاملات، تقویت تمایز استئوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی است. در این فرآیند، سلول‌های بنیادی تحت تأثیر سیگنال‌های موجود در ریزمحیط به سلول‌های استخوان‌ساز تبدیل می‌شوند و در ادامه، تولید ماتریکس خارج‌سلولی و معدنی‌شدن آن افزایش می‌یابد. برای ارزیابی این فرآیند، معمولاً شاخص‌های مولکولی و آنزیمی استئوژنز مورد بررسی قرار می‌گیرند. افزایش بیان فاکتور رونویسی Runx2به‌عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های کلیدی تمایز استئوژنیک، افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز (ALP) و افزایش بیان پروتئین‌هایی مانند Osteocalcinاز جمله شاخص‌های مهم در ارزیابی پیشرفت تمایز استخوانی هستند[۲۵]. همچنین تغییرات سایر نشانگرهای مرتبط با تشکیل ماتریکس و معدنی‌شدن می‌تواند برای بررسی مراحل مختلف استئوژنز مورد استفاده قرار گیرد. نانوذرات می‌توانند از طریق ایجاد یک ریزمحیط مناسب، این فرآیند را تقویت کنند. برای مثال، نانومواد معدنی مبتنی بر فسفات کلسیم می‌توانند ویژگی‌های سطحی و شیمیایی مشابه‌تری با فاز معدنی استخوان ایجاد کنند و در تعامل با سلول‌های استخوانی و سلول‌های بنیادی نقش داشته باشند. همچنین برخی نانومواد می‌توانند با آزادسازی یون‌های زیست‌فعال یا تغییر ویژگی‌های سطحی داربست، سیگنال‌های لازم برای فعالیت و تمایز سلولی را فراهم کنند. در نتیجه، نانوذرات می‌توانند از یک سو نقش ساختاری داشته باشند و از سوی دیگر به‌عنوان تنظیم‌کننده ریزمحیط سلولی عمل کنند. یکی دیگر از مکانیسم‌های مهم در این زمینه، مکانوترنسداکشن است. سلول‌های بنیادی مزانشیمی قادرند ویژگی‌های مکانیکی محیط

اطراف خود، مانند سختی، کشسانی و نیروهای واردشده به سطح سلول را حس کنند و این محرک‌های فیزیکی را به پیام‌های بیوشیمیایی داخل سلول تبدیل نمایند. در این فرآیند، برهم‌کنش گیرنده‌های سلولی با سطح داربست و سازمان‌یافتگی اسکلت سلولی می‌تواند مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی را فعال کند[۲۶]. مسیرهای Integrin/FAK، RhoA/ROCK وMAPK از جمله مسیرهایی هستند که در پاسخ سلول به محرک‌های مکانیکی و تنظیم رفتار سلولی نقش دارند .در میان تنظیم‌کننده‌های این فرآیند، مسیر YAP/TAZاهمیت ویژه‌ای دارد. تغییر ویژگی‌های مکانیکی و توپوگرافی داربست می‌تواند بر سازمان اسکلت سلولی و فعالیت YAP/TAZ اثر گذاشته و در نتیجه بیان ژن‌های مرتبط با تکثیر و تمایز سلولی را تغییر دهد. ازاین‌رو، نانوذراتی که موجب تغییر سختی، زبری یا سایر ویژگی‌های مکانیکی داربست می‌شوند، می‌توانند به‌صورت غیرمستقیم مسیرهای مکانوترنسداکشن و در نهایت رفتار استئوژنیک سلول‌ها را تنظیم کنند. در متن مبنا نیز بر نقش ویژگی‌های مکانیکی ریزمحیط و مسیرهایIntegrin/FAK ، RhoA/ROCK، MAPKو YAP/TAZ در تنظیم پاسخ سلولی تأکید شده است . در مجموع، اثر نانوذرات بر استئوژنز حاصل یک مکانیسم واحد نیست، بلکه نتیجه تعامل میان ویژگی‌های شیمیایی، توپوگرافی و مکانیکی نانومواد است. این ویژگی‌ها می‌توانند چسبندگی و تکثیر سلولی را بهبود داده، سازمان‌یافتگی سلول‌ها را تغییر دهند و از طریق فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی و مکانوترنسداکشن، تمایز استئوژنیک را تقویت کنند. بنابراین، طراحی نانومواد برای مهندسی بافت استخوان باید به‌گونه‌ای باشد که علاوه بر زیست‌سازگاری، ویژگی‌های سطحی و مکانیکی مناسبی برای هدایت رفتار سلولی ایجاد کند[۲۷].

۷. نانوذرات به‌عنوان سیستم انتقال دارو، ژن و فاکتورهای رشد

یکی از کاربردهای مهم نانوذرات در مهندسی بافت استخوان، استفاده از آن‌ها به‌عنوان سامانه‌های انتقال عوامل زیست‌فعال برای تحریک و هدایت فرآیند استخوان‌سازی است. بسیاری از داروها، فاکتورهای رشد و مولکول‌های ژنتیکی در صورت تجویز سیستمیک ممکن است با محدودیت‌هایی مانند پخش‌شدن در بافت‌های غیرهدف، تخریب سریع و یا نیاز به دوزهای بالا مواجه شوند. نانوذرات می‌توانند با بارگذاری این عوامل و انتقال آن‌ها به محل نقص استخوان، امکان رسانش موضعی و کنترل‌شده را فراهم کنند. در متن مبنا نیز قابلیت نانوساختارها برای بارگذاری و انتقال کنترل‌شده دارو، ژن و فاکتورهای رشد به‌عنوان یکی از کاربردهای مهم آن‌ها در مهندسی بافت مطرح شده است . در میان عوامل استخوان‌ساز، پروتئین‌های مورفوژنیک استخوان (BMPs) از مهم‌ترین فاکتورهای مورد توجه در بازسازی استخوان هستند[۲۸]. نانوذرات و نانوحامل‌ها می‌توانند برای بارگذاری و انتقال این فاکتورها در محل نقص مورد استفاده قرار گیرند و با کنترل سرعت آزادسازی، حضور آن‌ها را در ریزمحیط بازسازی برای مدت مناسب‌تری حفظ کنند. این رویکرد می‌تواند به ایجاد غلظت موضعی و پایدارتر عامل استخوان‌ساز کمک کرده و از آزادسازی سریع آن جلوگیری کند. علاوه بر فاکتورهای رشد، برخی داروهای مؤثر بر استخوان‌سازی نیز می‌توانند توسط نانوذرات منتقل شوند. قرارگیری این عوامل درون یا روی نانوحامل‌ها می‌تواند از تخریب زودهنگام آن‌ها جلوگیری کرده و آزادسازی تدریجی آن‌ها را امکان‌پذیر سازد. در چنین سامانه‌هایی، ویژگی‌هایی مانند اندازه ذرات، ترکیب شیمیایی، ساختار حامل و برهم‌کنش میان نانوذره و ماده فعال، نقش مهمی در میزان بارگذاری و سرعت آزادسازی دارند. نانوذرات همچنین ظرفیت قابل توجهی برای ژن‌درمانی در مهندسی بافت استخوان دارند. در این رویکرد، به‌جای انتقال مستقیم پروتئین یا دارو، ژن یا مولکول‌های تنظیم‌کننده بیان ژن به سلول‌های هدف رسانده می‌شوند تا تولید عوامل مورد نیاز برای استخوان‌سازی در داخل سلول افزایش یابد[۲۹]. نانوحامل‌ها می‌توانند از ماده ژنتیکی در برابر تخریب محافظت کرده و انتقال آن به سلول‌ها را تسهیل کنند. این روش می‌تواند امکان ایجاد یک منبع درون‌سلولی از عوامل استخوان‌ساز را فراهم کند و در نتیجه، پاسخ بازسازی‌کننده را برای مدت طولانی‌تری حفظ نماید. یکی از مزایای اصلی

استفاده از نانوذرات، قابلیت آزادسازی کنترل‌شده عوامل زیست‌فعال است. در یک داربست ایده‌آل، آزادسازی عامل درمانی نباید به‌صورت ناگهانی و در مدت کوتاه انجام شود، بلکه باید با روند بازسازی بافت هماهنگ باشد. با تنظیم ویژگی‌های نانوذره و برهم‌کنش آن با ماتریکس داربست می‌توان سرعت آزادسازی را کنترل کرد و یک ریزمحیط درمانی پایدارتر ایجاد نمود. این ویژگی به‌خصوص برای فاکتورهای رشد اهمیت دارد، زیرا غلظت بیش از حد یا آزادسازی سریع برخی عوامل می‌تواند اثرات نامطلوب ایجاد کند. از سوی دیگر، قرار دادن نانوحامل‌ها درون یک داربست استخوانی می‌تواند امکان رسانش موضعی و هدفمند را افزایش دهد. در این حالت، داربست علاوه بر نقش فیزیکی و حمایتی، به یک مخزن موضعی برای انتقال عوامل زیست‌فعال تبدیل می‌شود. چنین سامانه‌ای می‌تواند عامل درمانی را مستقیماً در محل نقص استخوان آزاد کند و در نتیجه، نیاز به انتشار گسترده آن در بدن را کاهش دهد. ترکیب این قابلیت با ویژگی‌های زیست‌فعال داربست می‌تواند شرایط مناسبی برای تکثیر و تمایز سلولی، تشکیل ماتریکس و بازسازی استخوان فراهم کند[۳۰]. در مجموع، استفاده از نانوذرات به‌عنوان حامل دارو، ژن و فاکتورهای رشد، امکان تبدیل داربست‌های استخوانی از ساختارهایی صرفاً حمایتی به سامانه‌های فعال و کنترل‌کننده بازسازی را فراهم می‌کند. این نانوسامانه‌ها می‌توانند با افزایش پایداری عوامل زیست‌فعال، رسانش موضعی، کاهش آزادسازی ناگهانی و کنترل سرعت انتقال، ریزمحیط مناسب‌تری برای استخوان‌سازی ایجاد کنند. بااین‌حال، انتخاب نوع نانوحامل، میزان بارگذاری، دوز عامل زیست‌فعال و سرعت آزادسازی باید به‌دقت تنظیم شود تا ضمن دستیابی به اثر استخوان‌ساز مطلوب، زیست‌سازگاری و ایمنی سامانه نیز حفظ شود. رگ‌زایی یکی از مراحل اساسی در فرآیند بازسازی استخوان است، زیرا تشکیل عروق جدید نقش مهمی در تأمین اکسیژن و مواد غذایی، انتقال سلول‌ها و فراهم‌کردن شرایط مناسب برای تشکیل بافت استخوانی جدید دارد. ازاین‌رو، بازسازی موفق استخوان تنها به تحریک مستقیم تمایز استئوژنیک محدود نمی‌شود و ایجاد یک شبکه عروقی مناسب نیز باید مورد توجه قرار گیرد. ارتباط نزدیک میان رگ‌زایی و استخوان‌سازی باعث شده است که طراحی داربست‌هایی با قابلیت تحریک هم‌زمان این دو فرآیند به یکی از رویکردهای مهم در مهندسی بافت استخوان تبدیل شود. نانوذرات می‌توانند در این زمینه به‌عنوان حامل و انتقال‌دهنده عوامل پروآنژیوژنیک-pro) (angiogenicمورد استفاده قرار گیرند[۳۱]. بارگذاری و انتقال موضعی این عوامل توسط نانوحامل‌ها می‌تواند موجب ایجاد یک ریزمحیط مناسب برای تشکیل عروق جدید در محل نقص شود. همچنین، کنترل سرعت آزادسازی عوامل زیست‌فعال می‌تواند به هماهنگی بهتر میان رگ‌زایی و استخوان‌سازی کمک کند. در متن مبنا نیز استفاده از نانوساختارها برای انتقال عوامل زیست‌فعال و ایجاد ریزمحیط مناسب برای بازسازی به‌عنوان یکی از ظرفیت‌های مهم نانوفناوری مطرح شده است . یکی از رویکردهای امیدوارکننده، طراحی نانوساختارهای چندمنظوره است که بتوانند به‌طور هم‌زمان چند نیاز بازسازی را برآورده کنند. برای مثال، یک داربست نانوکامپوزیتی می‌تواند علاوه بر ایجاد استحکام مکانیکی و تحریک استئوژنز، عوامل مؤثر بر رگ‌زایی را نیز به‌صورت کنترل‌شده آزاد کند. چنین سامانه‌هایی با ترکیب ویژگی‌های ساختاری، زیستی و دارورسانی، می‌توانند ریزمحیطی نزدیک‌تر به شرایط طبیعی بافت ایجاد کنند. در نتیجه، استفاده از نانوذرات می‌تواند زمینه توسعه داربست‌هایی را فراهم کند که به جای تمرکز بر یک فرآیند منفرد، رگ‌زایی، استخوان‌سازی و بازسازی ماتریکس را به‌صورت هم‌زمان و هماهنگ تنظیم می‌کنند[۳۲].

۸. نانوکامپوزیت‌ها و داربست‌های زیست‌الهام‌گرفته استخوان

با توجه به ساختار پیچیده و چندمقیاسی استخوان طبیعی، استفاده از یک ماده منفرد معمولاً نمی‌تواند تمام نیازهای مکانیکی و زیستی این بافت را برآورده کند. به همین دلیل، نانوکامپوزیت‌ها که از ترکیب دو یا چند ماده با ویژگی‌های مکمل تشکیل می‌شوند، به‌عنوان یکی از رویکردهای مهم در طراحی داربست‌های استخوانی مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این سامانه‌ها، نانوذرات می‌توانند درون یک ماتریکس پلیمری یا در ترکیب با فازهای سرامیکی قرار گیرند و به‌صورت هم‌زمان خواص مکانیکی، سطحی و زیستی داربست را بهبود دهند. ترکیب پلیمر و نانوذرات یکی از رایج‌ترین رویکردها در این زمینه است. پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر می‌توانند قابلیت فرآوری و انعطاف‌پذیری مناسبی ایجاد کنند، در حالی که افزودن نانوذرات سرامیکی یا سایر نانومواد می‌تواند استحکام، مدول و ویژگی‌های سطحی داربست را افزایش دهد. به‌طور ویژه، ترکیب پلیمرها با نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت یا سایر فسفات‌های کلسیم می‌تواند تا حدی ساختار نانوکامپوزیتی استخوان طبیعی را تقلید کند [۳۳]. از سوی دیگر، ترکیب سرامیک و پلیمر امکان ایجاد تعادل میان سختی و انعطاف‌پذیری را فراهم می‌کند. فاز سرامیکی می‌تواند ویژگی‌های معدنی و مکانیکی مورد نیاز را فراهم کند، در حالی که فاز پلیمری قابلیت شکل‌دهی، انعطاف‌پذیری و ایجاد محیط مناسب برای سلول‌ها را بهبود می‌دهد. هدف از این ترکیبات، ایجاد داربستی است که نه‌تنها از نظر مکانیکی عملکرد مناسبی داشته باشد، بلکه بتواند ویژگی‌های زیستی و شیمیایی ریزمحیط استخوان را نیز تا حدی بازسازی کند. یکی از اهداف مهم در طراحی این نانوکامپوزیت‌ها، ایجاد ساختارهایی شبیه ماتریکس خارج‌سلولی (ECM) است. از آنجا که استخوان طبیعی دارای سازمان‌یافتگی سلسله‌مراتبی و اجزای نانومقیاس است، ایجاد سطوح نانوساختار، نانوالیاف و معماری‌های چندمقیاسی می‌تواند تعامل میان سلول و داربست را بهبود دهد. نانوالیاف با فراهم‌کردن ساختاری مشابه برخی ویژگی‌های ماتریکس خارج‌سلولی می‌توانند بستر مناسبی برای چسبندگی و سازمان‌یافتگی سلولی ایجاد کنند و در کنار نانوذرات، ریزمحیط مناسب‌تری برای استخوان‌سازی فراهم آورند [۳۴]. چاپ سه‌بعدی نیز امکان ساخت داربست‌های نانوکامپوزیتی با معماری کنترل‌شده را فراهم کرده است. با استفاده از این فناوری می‌توان ساختار، تخلخل، هندسه و توزیع اجزای مختلف داربست را تا حدی کنترل کرد و نانوذرات را درون یک معماری سه‌بعدی مناسب برای رشد بافت قرار داد. این رویکرد به‌ویژه در ایجاد داربست‌های شخصی‌سازی‌شده برای نقص‌های پیچیده استخوانی اهمیت دارد، زیرا می‌توان ساختار داربست را متناسب با شکل و نیاز مکانیکی ناحیه آسیب‌دیده طراحی کرد. در مجموع، ترکیب نانوذرات با پلیمرها، سرامیک‌ها، نانوالیاف و فناوری‌های پیشرفته ساخت مانند چاپ سه‌بعدی، امکان توسعه داربست‌هایی را فراهم می‌کند که از یک ماده ساده فراتر رفته و چندین عملکرد را به‌صورت هم‌زمان ارائه می‌دهند. چنین داربست‌هایی می‌توانند حمایت مکانیکی، تقلید از ماتریکس خارج‌سلولی، تحریک چسبندگی و تمایز سلولی و فراهم‌کردن ریزمحیط مناسب برای بازسازی استخوان را در یک سامانه واحد ترکیب کنند. از این منظر، نانوکامپوزیت‌های زیست‌الهام‌گرفته یکی از مسیرهای مهم برای نزدیک‌کردن داربست‌های مصنوعی به ساختار و عملکرد پیچیده استخوان طبیعی محسوب می‌شوند[۳۵].

۹. ایمنی زیستی، سمیت و چالش‌های انتقال به بالین

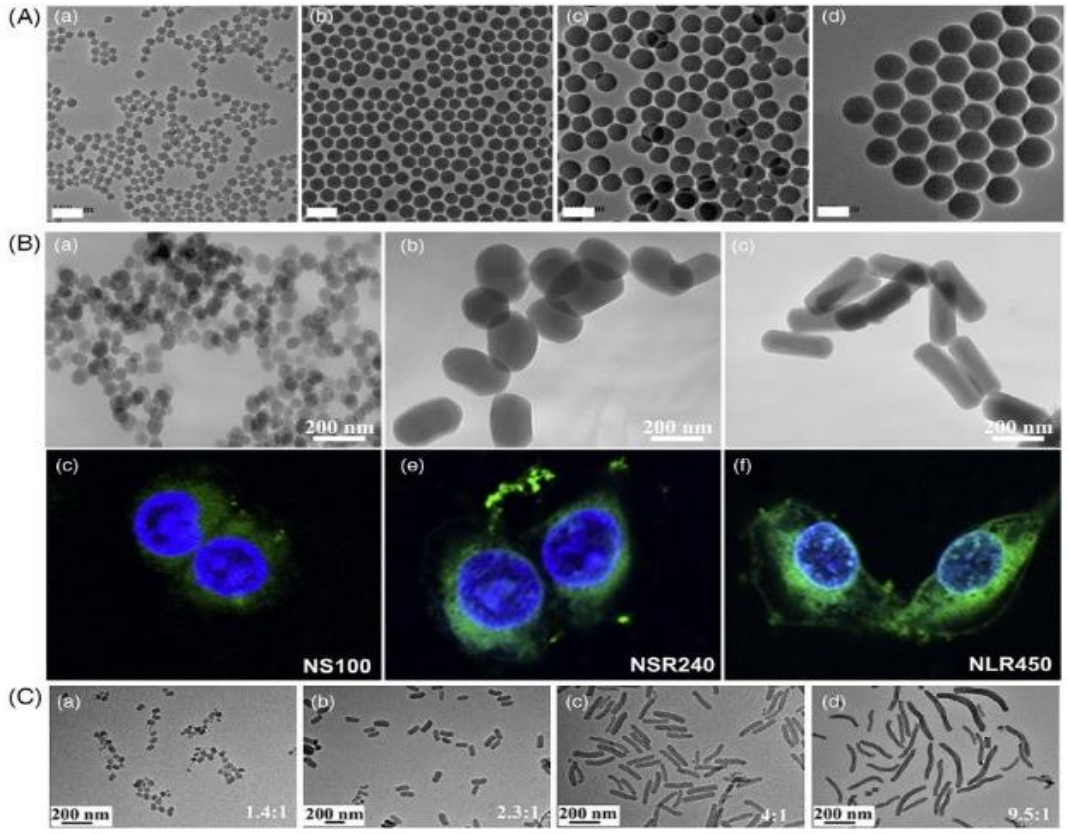
با وجود ظرفیت بالای نانوذرات در مهندسی بافت استخوان، ارزیابی ایمنی زیستی و سمیت آن‌ها یکی از مهم‌ترین الزامات پیش از انتقال این فناوری‌ها به کاربردهای بالینی است. رفتار زیستی نانوذرات تنها به ترکیب شیمیایی آن‌ها وابسته نیست، بلکه ویژگی‌هایی مانند اندازه، شکل، بار سطحی، پوشش و پایداری می‌توانند بر نحوه تعامل ذرات با سلول‌ها و بافت‌ها تأثیر بگذارند. در نتیجه، حتی نانوذراتی با ترکیب شیمیایی مشابه ممکن است در صورت تفاوت در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، پاسخ‌های زیستی متفاوتی ایجاد کنند . یکی از عوامل مهم، اندازه و شکل نانوذرات است؛ زیرا این ویژگی‌ها می‌توانند بر میزان تماس با سلول، ورود به سلول و توزیع ذرات در محیط زیستی اثرگذار باشند. همچنین بار سطحی می‌تواند نحوه برهم‌کنش نانوذرات با غشای سلولی و پروتئین‌های محیط را تغییر دهد. پس از ورود نانوذرات به محیط بدن، جذب پروتئین‌ها بر سطح آن‌ها می‌تواند منجر به تشکیل ساختاری موسوم به Protein Corona شود. این لایه پروتئینی ممکن است ویژگی‌های سطحی اولیه نانوذره را تغییر داده و در نتیجه بر جذب سلولی، توزیع، پاسخ ایمنی و سمیت آن اثر بگذارد [۳۶] . از دیگر عوامل مؤثر بر سمیت نانوذرات، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است. افزایش بیش از حد ROS می‌تواند موجب ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب به اجزای سلولی شود. این مسئله به‌ویژه در طراحی نانوذرات ضدباکتریایی اهمیت دارد، زیرا افزایش فعالیت ضدباکتریایی باید بدون ایجاد آسیب قابل توجه به سلول‌های استخوانی انجام شود. برای مثال، در مورد نانوذرات نقره، افزایش غلظت می‌تواند اثر ضدباکتریایی را افزایش دهد، اما هم‌زمان خطر سمیت سلولی را نیز بالا ببرد . تجمع بافتی و پاسخ ایمنی نیز از چالش‌های مهم در کاربرد نانوذرات محسوب می‌شوند. ذراتی که به‌سرعت تخریب یا دفع نمی‌شوند، ممکن است برای مدت طولانی در محیط زیستی باقی بمانند و بر عملکرد سلول‌ها یا بافت‌های اطراف اثر بگذارند. بنابراین، زیست‌تخریب‌پذیری و سرنوشت نانوذرات پس از قرارگیری در بدن باید به‌طور دقیق بررسی شود[۳۷]. همچنین پاسخ سیستم ایمنی به نانوذرات می‌تواند بر موفقیت بازسازی استخوان اثرگذار باشد؛ زیرا ایجاد التهاب بیش از حد ممکن است روند ترمیم و تشکیل بافت جدید را مختل کند. یکی دیگر از محدودیت‌های مهم، تفاوت نتایج مطالعات in vitro و in vivo است. ممکن است یک نانوذره در شرایط کشت سلولی، زیست‌سازگاری و فعالیت استخوان‌سازی مطلوبی نشان دهد، اما پس از ورود به بدن تحت تأثیر عواملی مانند پروتئین‌های موجود در خون، سلول‌های ایمنی، جریان مایعات، تخریب ماده و برهم‌کنش با بافت‌های مختلف، رفتار متفاوتی داشته باشد. بنابراین، نتایج آزمایشگاهی به‌تنهایی برای اثبات ایمنی و کارایی بالینی کافی نیستند و مطالعات درون‌تنی و ارزیابی‌های بلندمدت ضروری هستند . در نهایت، تعیین دوز مناسب یکی از مهم‌ترین عوامل در طراحی نانوسامانه‌های استخوانی است. دوز باید به اندازه‌ای باشد که اثر زیستی مورد نظر، مانند تحریک استخوان‌سازی یا کنترل عفونت، ایجاد شود، اما از محدوده‌ای که موجب سمیت سلولی یا التهاب نامطلوب می‌شود فراتر نرود. بنابراین، توسعه نانوذرات برای کاربرد بالینی نیازمند استانداردسازی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، تعیین دوز ایمن، بررسی زیست‌توزیع و تخریب و ارزیابی دقیق پاسخ‌های سلولی و ایمنی است[۳۸].

۱۰. کاربرد نانوذرات در مهندسی بافت استخوان

بافت استخوان یکی از معدود بافت‌های بدن است که توانایی قابل توجهی در ترمیم خودبه‌خودی دارد، اما در نقص‌های وسیع ناشی از تروما، تومور، عفونت، ناهنجاری‌های مادرزادی یا بیماری‌هایی مانند پوکی استخوان، ظرفیت طبیعی بازسازی کافی نیست. در چنین شرایطی، پیوند استخوان اتولوگ همچنان استاندارد طلایی درمان محسوب می‌شود، اما محدودیت‌هایی مانند کمبود بافت دهنده، درد محل برداشت، افزایش زمان جراحی و احتمال عفونت، پژوهشگران را به سمت توسعه راهکارهای مهندسی بافت سوق داده است. هدف اصلی مهندسی بافت استخوان، طراحی داربست‌هایی است که علاوه بر ایجاد حمایت مکانیکی، بتوانند محیطی شبیه به ماتریکس خارج‌سلولی استخوان ایجاد کرده و تکثیر، مهاجرت و تمایز سلول‌های استخوان‌ساز را هدایت کنند. در این میان، نانوذرات به دلیل شباهت ابعادی با اجزای معدنی استخوان، به یکی از مهم‌ترین ابزارهای مهندسی بافت استخوان تبدیل شده‌اند. استخوان طبیعی دارای ساختاری سلسله‌مراتبی است که از نانوبلورهای هیدروکسی‌آپاتیت در میان رشته‌های کلاژن تشکیل شده است. بنابراین، استفاده از نانوذرات می‌تواند معماری طبیعی استخوان را بهتر از مواد میکرومتری تقلید کند و تعامل سلول‌ها با داربست را بهبود بخشد. یکی از پرکاربردترین نانوذرات در این حوزه، نانوهیدروکسی‌آپاتیت (nHA) است[۳۹]. این نانوماده به دلیل شباهت شیمیایی و ساختاری با فاز معدنی استخوان، زیست‌سازگاری بسیار بالایی دارد و موجب افزایش جذب پروتئین‌های ماتریکس خارج‌سلولی، چسبندگی سلول‌های بنیادی مزانشیمی و تسریع تمایز استئوژنیک می‌شود. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که افزودن nHA به داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون (PCL)، پلی‌لاکتیک اسید(PLA) ، پلی‌لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید (PLGA) و هیدروژل‌ها، بیان ژن‌های کلیدی استخوان‌سازی مانند Runx2، ALP، Osteopontin (OPN)، Osteocalcin (OCN)و Collagen Iرا افزایش می‌دهد. علاوه بر این، nHAبا افزایش زبری سطح داربست، چسبندگی سلولی را بهبود بخشیده و تشکیل ماتریکس معدنی را تسریع می‌کند. در کنار هیدروکسی‌آپاتیت، نانوذرات سیلیکاتی و بیوگلس (Bioactive Glass Nanoparticles) نیز به دلیل آزادسازی یون‌های زیست‌فعال مانند سیلیسیم، کلسیم و فسفات، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. این یون‌ها مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با استخوان‌سازی، به‌ویژه مسیرهای BMP/Smadو Wnt/β-cateninرا فعال کرده و رگ‌زایی را نیز تحریک می‌کنند. آزادسازی کنترل‌شده این یون‌ها نه‌تنها تمایز سلول‌های بنیادی را افزایش می‌دهد، بلکه تشکیل همزمان استخوان و شبکه عروقی را نیز تسهیل می‌کند؛ موضوعی که برای ترمیم نقص‌های استخوانی بزرگ اهمیت ویژه‌ای دارد. نانوذرات طلا (AuNPs) نیز نقش مهمی در مهندسی بافت استخوان ایفا می‌کنند. این نانوذرات علاوه بر زیست‌سازگاری مطلوب، می‌توانند مسیرهای پیام‌رسانی MAPK، ERKو p38 را فعال کرده و بیان ژن‌های استئوژنیک را افزایش دهند[۴۰]. برخی مطالعات نشان داده‌اند که AuNPها بدون نیاز به فاکتورهای رشد خارجی نیز قادر به تحریک تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی هستند. با این حال، اثربخشی آن‌ها به اندازه، غلظت و نوع پوشش سطحی وابسته است و هنوز اجماع کاملی درباره ویژگی‌های بهینه این نانوذرات وجود ندارد. در سال‌های اخیر، نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن (SPIONs) نیز وارد مهندسی بافت استخوان شده‌اند. این نانوذرات با استفاده از میدان مغناطیسی خارجی امکان اعمال تحریک مکانیکی کنترل‌شده را فراهم می‌کنند. فعال شدن مسیرهای Integrin/FAK، RhoA/ROCKو YAP/TAZ در اثر این تحریک، موجب افزایش تمایز استخوانی و سنتز ماتریکس معدنی می‌شود. افزون بر این، SPIONها امکان هدایت هدفمند سلول‌ها و فاکتورهای رشد به محل آسیب را نیز فراهم می‌کنند که می‌تواند کارایی درمان را افزایش دهد. یکی دیگر از کاربردهای مهم نانوذرات در مهندسی استخوان، رهایش کنترل‌شده فاکتورهای رشد و داروها است. نانوذرات پلیمری، لیپیدی و مزومتخلخل سیلیکا (Mesoporous Silica Nanoparticles; MSNs)می‌توانند مولکول‌هایی مانند BMP-2، VEGF، دگزامتازون، استاتین‌ها وmiRNA ها را در خود بارگذاری کرده و به‌صورت تدریجی آزاد کنند. این رویکرد باعث می‌شود غلظت درمانی در محل آسیب برای مدت طولانی

حفظ شود، در حالی که عوارض ناشی از تجویز سیستمیک کاهش می‌یابد. از سوی دیگر، نانوذرات نقش مهمی در رگ‌زایی (Angiogenesis)نیز دارند. بازسازی موفق استخوان بدون تشکیل شبکه عروقی جدید امکان‌پذیر نیست. نانوذرات حاوی یون‌های مس، سیلیسیم، استرانسیم یا منیزیم می‌توانند بیان VEGF، HIF-1αو FGF را افزایش داده و تشکیل مویرگ‌های جدید را تسریع کنند. امروزه بسیاری از داربست‌های نسل جدید به‌گونه‌ای طراحی می‌شوند که به‌طور همزمان استخوان‌سازی و رگ‌زایی را تحریک کنند؛ رویکردی که با عنوان Osteoimmunomodulationو Angio-osteogenesis couplingشناخته می‌شود[۴۱]. علاوه بر این، نانوذرات ضدباکتریایی مانند نقره(AgNPs) ، اکسید روی (ZnO) و سلنیوم (SeNPs) می‌توانند خطر عفونت پس از کاشت داربست را کاهش دهند. این ویژگی به‌ویژه در ایمپلنت‌های استخوانی اهمیت بالایی دارد، زیرا عفونت یکی از مهم‌ترین دلایل شکست درمان است. با این حال، آزادسازی بیش از حد یون‌های فلزی می‌تواند به سلول‌های استخوانی آسیب برساند؛ بنابراین طراحی سامانه‌های رهایش کنترل‌شده ضروری است. با وجود پیشرفت‌های چشمگیر، هنوز چالش‌های مهمی باقی مانده است. بسیاری از مطالعات تنها افزایش بیان ژن‌های استخوانی یا تشکیل گره‌های معدنی را به‌عنوان شاخص موفقیت گزارش کرده‌اند، در حالی که بازسازی واقعی استخوان مستلزم ایجاد ساختاری با استحکام مکانیکی مناسب، عروق خونی کارآمد و اتصال کامل با استخوان میزبان است. افزون بر این، بیشتر مطالعات در مدل‌های حیوانی کوچک انجام شده‌اند و داده‌های بالینی درباره عملکرد بلندمدت، ایمنی و سرنوشت نهایی نانوذرات در بدن محدود است. در مجموع، نانوذرات با بهبود استخوان‌سازی، رگ‌زایی، تنظیم پاسخ ایمنی، انتقال عوامل زیستی و افزایش استحکام داربست‌ها، چشم‌انداز جدیدی برای درمان نقص‌های استخوانی ایجاد کرده‌اند. با این حال، آینده این حوزه در توسعه داربست‌های هوشمند چندمنظوره نهفته است؛ داربست‌هایی که بتوانند به‌صورت هم‌زمان بازسازی استخوان، تشکیل عروق، کنترل التهاب، پیشگیری از عفونت و رهایش هدفمند مولکول‌های درمانی را مدیریت کنند و در نهایت، انتقال موفق این فناوری را از آزمایشگاه به کاربردهای بالینی امکان‌پذیر سازند[۴۲]. Heidari و همکاران با هدف توسعه یک داربست نانوساختاری برای مهندسی بافت استخوان، روش جدیدی را برای سنتز درجا (in situ) نانوذرات اکسید آهن در ماتریس هیدروکسی‌آپاتیت/کیتوزان ارائه کردند. در این مطالعه، هیدروکسی‌آپاتیت و کیتوسان به‌ترتیب از استخوان کورتیکال گاوی و پوسته میگو تهیه شدند و به‌عنوان اجزای زیست‌سازگار داربست مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نانوذرات اکسید آهن تشکیل‌شده در ساختار داربست، اندازه‌ای در محدوده 40–10نانومتر داشتند و اندازه بلوری مگنتیت بر اساس آنالیز پراش پرتو X حدود 23.5نانومتر گزارش شد. همچنین، بررسی خواص مغناطیسی نشان داد که داربست حاصل دارای شدت مغناطش اشباع حدود 3.04 emu/gو نیروی وادارندگی 128.39 Oeاست که بیانگر رفتار سوپرپارامغناطیسی نانوذرات مگنتیت می‌باشد. از دیدگاه مهندسی بافت استخوان، وجود فاز مغناطیسی درون داربست می‌تواند اهمیت ویژه‌ای داشته باشد، زیرا اعمال تحریک مغناطیسی خارجی قادر است بر فرایندهای سلولی مرتبط با ترمیم و تشکیل استخوان تأثیرگذار باشد. از سوی دیگر، ترکیب هیدروکسی‌آپاتیت به‌عنوان جزء معدنی مشابه استخوان با کیتوسان به‌عنوان پلیمر زیست‌سازگار، بستری مناسب برای ادغام ویژگی‌های زیستی و مغناطیسی فراهم می‌کند. بنابراین، یافته‌های Heidari و همکاران نشان می‌دهد که سنتز درجا نانوذرات مگنتیت در داربست هیدروکسی‌آپاتیت/کیتوسان می‌تواند رویکردی امیدوارکننده برای ایجاد داربست‌های مغناطیسی در کاربردهای بازسازی استخوان باشد؛ اگرچه ارزیابی‌های سلولی و درون‌تنی برای تعیین اثر واقعی این نانوذرات بر استخوان‌زایی همچنان ضروری است[۴۳]. Pan و همکاران (۲۰۱۲) با تغییر مقدار کاتالیزور قلیایی TEA موفق به تهیه نانوذرات سیلیکای مزومتخلخل (MSNs) با اندازه‌های مختلف در محدوده ۲۵ تا ۱۰۵ نانومتر شدند و نشان دادند که افزایش مقدار TEAموجب کاهش اندازه ذرات می‌شود (شکل a. ۱) Chiang و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که pH مهم‌ترین عامل مؤثر بر اندازه MSNs است. همچنین، Heو همکاران (۲۰۰۹) دریافتند که دما و نوع سورفکتانت می‌توانند بر اندازه و

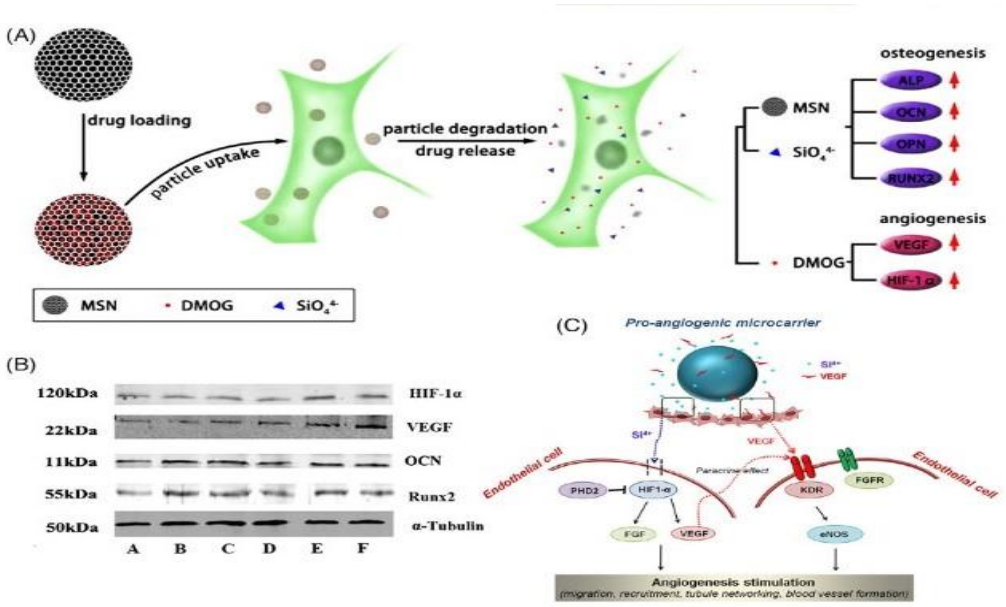
یکنواختی ذرات تأثیر بگذارند. علاوه بر اندازه، شکل و نسبت ابعادی MSNs نیز قابل کنترل است؛ به‌طوری‌که با تغییر غلظت CTAB، آمونیاک و شرایط واکنش می‌توان ساختارهای کروی و میله‌ای با نسبت‌های ابعادی متفاوت ایجاد کرد. شکل b.۱در مطالعات دیگر، افزودن ترکیبات آلی مانند Ce6 و BTES نیز امکان تغییر مورفولوژی و ایجاد نانوذرات میله‌ای با نسبت‌های ابعادی مختلف را فراهم کرده است شکل c. ۱این یافته‌ها نشان می‌دهند که کنترل دقیق شرایط سنتز می‌تواند اندازه، شکل و نسبت ابعادی MSNs را تنظیم کرده و در نتیجه امکان طراحی نانوذرات با ویژگی‌های مناسب برای کاربردهای زیستی را فراهم کند[۶].



شکل ۱ .تصاویر TEM از نانوذرات سیلیکای مزومتخلخل با اندازه‌های مختلف(a) ، تصاویر TEM و CLSM از MSNs کروی و میله‌ای با نسبت‌های ابعادی متفاوت(b) ، و تصاویر TEM از نانوذرات ارگانوسیلیکای مزومتخلخل با نسبت‌های ابعادی مختلف(c) [٦] .

Maoو همکاران نشان دادند که یون‌های Si آزادشده از MSNs نقش مهمی در تحریک تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسان (hBMSCs) دارند و این اثر لزوماً به جذب سلولی نانوذرات وابسته نیست. همچنین، آن‌ها داروی DMOG را روی MSNs بارگذاری کردند تا با فعال‌سازی مسیرهای مرتبط با HIF-1α وVEGF ، فرآیند رگ‌زایی را تقویت کنند (شکل ۵ .a) نتایج نشان داد که ترکیب یون‌های Si و DMOG می‌تواند به‌صورت هم‌افزا، هم تمایز استخوانی و هم رگ‌زایی را افزایش دهد. در مطالعات بعدی، اثر ترکیبی یون‌های Sr و Si نیز در افزایش استخوان‌سازی و رگ‌زایی مورد

بررسی قرار گرفت Dai .و همکاران (۲۰۱۱) نیز با تهیه داربست‌های سیلیکای مزومتخلخل حاوی Ca وMg ، اثر مثبت ساختار مزومتخلخل و یون‌های آزادشده را بر فعالیت زیستی نشان دادند. همچنین، MSNsحاوی Ca توانایی القای معدنی‌شدن آپاتیت را نشان داده‌اند. در مجموع، این مطالعات بیانگر آن هستند که دوپینگ MSNs با یون‌های زیست‌فعال و بارگذاری عوامل درمانی می‌تواند عملکرد استخوان‌سازی و رگ‌زایی این نانوساختارها را به‌طور هم‌زمان تقویت کند[۶] . (شکل b.c .۵)



شکل ۵ .اثر MSNs بارگذاری‌شده با DMOG و یون‌های آزادشده بر تحریک استخوان‌سازی و رگ‌زایی؛ (a) شماتیک اثر DMOGبر استخوان‌سازی و رگ‌زاییhBMSCs ، (b) بیان پروتئین‌های مرتبط با استخوان‌سازی و (c) اثر یون Si و VEGF آزادشده بر فرآیند رگ‌زایی سلول‌های اندوتلیال[۶].

۱۱. چشم‌انداز آینده

با پیشرفت فناوری نانو و مهندسی بافت، آینده بازسازی استخوان به سمت طراحی نانوسامانه‌های هوشمند، چندمنظوره و پاسخگو به شرایط محیطی پیش می‌رود. هدف این سامانه‌ها صرفاً ایجاد یک داربست مکانیکی نیست، بلکه فراهم‌کردن یک ریزمحیط پویا است که بتواند در مراحل مختلف بازسازی، رفتار سلول‌ها و آزادسازی عوامل زیست‌فعال را تنظیم کند. یکی از رویکردهای آینده، توسعه نانوذرات هوشمند و سیستم‌های پاسخگو به محرک است. این نانوسامانه‌ها می‌توانند در پاسخ به محرک‌هایی مانند تغییرpH ، دما، آنزیم‌ها، میدان مغناطیسی یا سایر شرایط محیطی، ویژگی‌های خود را تغییر داده یا عوامل درمانی را آزاد کنند. چنین قابلیتی امکان هماهنگ‌کردن آزادسازی دارو، فاکتور رشد یا سایر عوامل زیست‌فعال با شرایط ریزمحیط استخوان را فراهم می‌کند. همچنین توسعه داربست‌های چندمنظوره یکی از مهم‌ترین مسیرهای آینده خواهد بود. به جای استفاده از یک ماده برای یک عملکرد خاص، می‌توان نانوکامپوزیت‌هایی طراحی کرد که به‌طور هم‌زمان استحکام مکانیکی، زیست‌فعالی، استئوژنز، رگ‌زایی و کنترل عفونت را فراهم کنند[۴۴]. چنین سامانه‌ای می‌تواند چندین مرحله ضروری بازسازی استخوان را در یک پلتفرم واحد پوشش دهد. ترکیب نانوفناوری با چاپ سه‌بعدی و چاپ زیستی سه‌بعدی

نیز فرصت مهم دیگری برای ایجاد داربست‌های شخصی‌سازی‌شده فراهم می‌کند. این فناوری‌ها امکان کنترل هندسه، تخلخل، معماری داخلی و توزیع اجزای مختلف داربست را فراهم کرده و می‌توانند برای بازسازی نقص‌های پیچیده و متناسب با ویژگی‌های هر بیمار مورد استفاده قرار گیرند. در آینده، درمان شخصی‌سازی‌شده نیز می‌تواند نقش مهمی در مهندسی بافت استخوان داشته باشد. انتخاب نوع نانوذره، ترکیب داربست، میزان ماده زیست‌فعال و سرعت آزادسازی می‌تواند بر اساس ویژگی‌های نقص استخوانی و شرایط فرد تنظیم شود. چنین رویکردی می‌تواند اثربخشی درمان را افزایش داده و احتمال بروز عوارض ناخواسته را کاهش دهد. در نهایت، یکی از مهم‌ترین اهداف آینده، طراحی یک سامانه واحد با قابلیت ترکیب استئوژنز، رگ‌زایی و کنترل عفونت است[۴۰]. از آنجا که تشکیل استخوان جدید به تأمین عروقی مناسب وابسته است و عفونت نیز می‌تواند روند بازسازی را مختل کند، ایجاد یک داربست که بتواند هم‌زمان تمایز استئوژنیک را تحریک، رگ‌زایی را تقویت و رشد باکتری‌ها را مهار کند، می‌تواند گامی مهم در توسعه نسل جدید داربست‌های استخوانی باشد. در مجموع، مسیر آینده نانوفناوری در مهندسی بافت استخوان از داربست‌های منفعل به سمت سامانه‌های فعال، هوشمند و چندعملکردی حرکت خواهد کرد. بااین‌حال، تحقق این چشم‌انداز مستلزم درک دقیق‌تر تعامل نانوذرات با سلول‌ها و بافت، استانداردسازی روش‌های ساخت و ارزیابی، بررسی ایمنی بلندمدت و تبدیل نتایج آزمایشگاهی به شواهد قابل اتکا در مطالعات حیوانی و بالینی است . [۴۵]

۱۲.نتیجه‌گیری

نانوذرات به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ابزارهای نانوفناوری، ظرفیت قابل توجهی برای بهبود و توسعه نسل جدید سامانه‌های مهندسی بافت استخوان دارند. ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانومواد، به‌ویژه سطح ویژه بالا، قابلیت اصلاح ویژگی‌های سطحی و شباهت ابعاد آن‌ها با اجزای نانومقیاس ماتریکس خارج‌سلولی استخوان، امکان ایجاد ریزمحیطی نزدیک‌تر به شرایط طبیعی استخوان را فراهم می‌کند. افزودن نانوذرات به داربست‌ها می‌تواند علاوه بر بهبود استحکام، مدول و انتقال تنش، با تنظیم ویژگی‌های سطحی و مکانیکی، چسبندگی، تکثیر و تمایز استئوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی را نیز تحت تأثیر قرار دهد. از سوی دیگر، نانوذرات با قابلیت انتقال و آزادسازی کنترل‌شده داروها، ژن‌ها و فاکتورهای رشد، امکان تبدیل داربست‌های سنتی به سامانه‌های فعال و درمانی را فراهم کرده‌اند. همچنین، نقش آن‌ها در تحریک رگ‌زایی و کنترل رشد باکتری‌ها، زمینه طراحی داربست‌های چندمنظوره‌ای را ایجاد کرده است که می‌توانند چندین فرآیند ضروری برای بازسازی استخوان، از جمله استئوژنز، رگ‌زایی و کنترل عفونت را به‌صورت هم‌زمان هدف قرار دهند. در این میان، نانوذرات مغناطیسی و مکانیسم‌های مکانوترنسداکشن نیز فرصت جدیدی برای تنظیم رفتار سلولی از طریق محرک‌های خارجی و مسیرهایی مانندIntegrin/FAK ، RhoA/ROCK، MAPKو YAP/TAZ فراهم می‌کنند. با وجود این مزایا، استفاده از نانوذرات با چالش‌هایی از جمله سمیت سلولی، تولیدROS ، پاسخ ایمنی، تجمع بافتی، زیست‌تخریب‌پذیری، تشکیل Protein Corona و تعیین دوز مناسب همراه است. همچنین تفاوت میان نتایج مطالعات *in vitro* و *in vivo* نشان می‌دهد که نتایج آزمایشگاهی به‌تنهایی برای ارزیابی ایمنی و اثربخشی نانوسامانه‌ها کافی نیستند. ازاین‌رو، شناخت دقیق ارتباط میان ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات و پاسخ زیستی، همراه با استانداردسازی روش‌های ساخت و ارزیابی، برای انتقال موفق این فناوری‌ها به کاربردهای بالینی ضروری است. در مجموع، آینده مهندسی بافت استخوان به سمت توسعه نانوذرات هوشمند، نانوکامپوزیت‌های زیست‌الهام‌گرفته، داربست‌های چندمنظوره، سیستم‌های پاسخگو به محرک و ساختارهای تولیدشده با چاپ زیستی سه‌بعدی در حال حرکت است. ترکیب این فناوری‌ها می‌تواند امکان طراحی درمان‌های شخصی‌سازی‌شده و داربست‌هایی با قابلیت تنظیم هم‌زمان ریزمحیط مکانیکی و زیستی را فراهم کند. بااین‌حال، تحقق کامل این ظرفیت نیازمند

مطالعات *in vivo* و کارآزمایی‌های بالینی بیشتر برای تعیین ایمنی بلندمدت، اثربخشی و شرایط بهینه استفاده از نانوسامانه‌ها است. بنابراین، نانوفناوری را می‌توان یکی از امیدوارکننده‌ترین مسیرها برای گذار از داربست‌های منفعل به سمت سامانه‌های هوشمند، زیست‌فعال و چندعملکردی در بازسازی استخوان دانست.

قدردانی و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی صمیمانه خود را از دانشگاه علوم پزشکی شاهرود به‌پاس حمایت‌های علمی و پژوهشی و فراهم نمودن امکانات و بستر مناسب برای انجام این پژوهش اعلام می‌دارند. همچنین از تمامی مسئولان، اساتید و همکارانی که در مسیر انجام این پژوهش یاری‌رسان بودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع:

1. Hasan, A., et al., *Nanoparticles in tissue engineering: applications, challenges and prospects.* International journal of nanomedicine, 2018: p. 5637-5655.
2. Farjaminejad, S., R. Farjaminejad, and F. Garcia-Godoy, *Nanoparticles in bone regeneration: a narrative review of current advances and future directions in tissue engineering.* Journal of Functional Biomaterials, 2024. **15**(9): p. 241.
3. Tautzenberger, A., A. Kovtun, and A. Ignatius, *Nanoparticles and their potential for application in bone.* International journal of nanomedicine, 2012: p. 4545-4557.
4. Eivazzadeh-Keihan, R., et al., *Metal-based nanoparticles for bone tissue engineering.* Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 2020. **14**(12): p. 1687-1714.
5. Walmsley, G.G., et al., *Nanotechnology in bone tissue engineering.* Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2015. **11**(5): p. 1253-1263.
6. Chen, L., X. Zhou, and C. He, *Mesoporous silica nanoparticles for tissue-engineering applications.* Wiley Interdisciplinary Reviews :Nanomedicine and Nanobiotechnology, 2019. **11**(6): p. e1573.
7. Bauso, L.V., et al., *Bone tissue engineering and nanotechnology: a promising combination for bone regeneration.* Biology, 2024. **13**(4): p. 237.
8. Bianchi, M., et al., *Magnetic scaffolds for bone tissue engineering.* Biomimetic Approaches for Tissue Healing; Panseri, S., Taraballi, F., Cunha, C., Eds, 2015: p. 1-9.
9. Pina, S., J.M. Oliveira, and R.L. Reis, *Natural-based nanocomposites for bone tissue engineering and regenerative medicine: A review.* Advanced Materials, 2015. **27**(7): p. 1143-1169.
10. Pina, S., et al., *Scaffolding strategies for tissue engineering and regenerative medicine applications.* Materials, 2019. **12**(11): p. 1824.
11. Farjaminejad, S., et al., *Advances and challenges in polymer-based scaffolds for bone tissue engineering: A path towards personalized regenerative medicine.* Polymers, 2024. **16**(23): p. 3303.
12. Ma, J., et al., *Concise review: cell-based strategies in bone tissue engineering and regenerative medicine.* Stem cells translational medicine, 2014. **3**(1): p. 98-107.

13. Black, C.R., et al., *Bone tissue engineering.* Current molecular biology reports, 2015. **1**(3): p. 132-140.
14. Anjum, S., et al., *Electrospun biomimetic nanofibrous scaffolds: a promising prospect for bone tissue engineering and regenerative medicine.* International Journal of Molecular Sciences, 2022. **23**(16): p. 9206.
15. Polymeri, A., W. Giannobile, and D. Kaigler, *Bone marrow stromal stem cells in tissue engineering and regenerative medicine.* Hormone and Metabolic Research, 2016. **48**(11): p. 700-713.
16. Amini, A.R., C.T. Laurencin, and S.P. Nukavarapu, *Bone tissue engineering: recent advances and challenges.* Critical Reviews™ in Biomedical Engineering, 2012. **40**.(٥)
17. Zhang, L. and T.J. Webster, *Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration.* Nano today, 2009. **4**(1): p. 66-80.
18. McMahon, R.E., et al., *Development of nanomaterials for bone repair and regeneration.* Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2013. **101**(2): p. 387-397.
19. Saiz, E., et al., *Perspectives on the role of nanotechnology in bone tissue engineering.* Dental Materials, 2013. **29**(1): p. 103-115.
20. Vieira, S., et al., *Nanoparticles for bone tissue engineering.* Biotechnology progress, 2017. **33**(3): p. 590-611.
21. Singh, R.K., et al., *Potential of magnetic nanofiber scaffolds with mechanical and biological properties applicable for bone regeneration.* PloS one, 2014. **9**(4): p. e91584.
22. Corona-Gomez, J., X. Chen, and Q. Yang, *Effect of nanoparticle incorporation and surface coating on mechanical properties of bone scaffolds: a brief review.* Journal of Functional Biomaterials, 2016. **7**(3): p. 18.
23. Morovvati, M., et al., *Global criterion optimization method for improving the porosity of porous scaffolds containing magnetic nanoparticles: Fabrication and finite element analysis.* Materials Science and Engineering: B, 2023. **292**: p. 116414.
24. Zhang, R., et al., *Silver nanoparticles promote osteogenesis of mesenchymal stem cells and improve bone fracture healing in osteogenesis mechanism mouse model.* Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2015. **11**(8): p. 1949-1959.
25. Yi, C., et al., *Gold nanoparticles promote osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells through p38 MAPK pathway.* ACS nano, 2010. **4**(11): p. 6439-6448.
26. Naruphontjirakul, P., et al., *Human mesenchymal stem cells differentiate into an osteogenic lineage in presence of strontium containing bioactive glass nanoparticles.* Acta biomaterialia, 2019. **90** :p. 373-392.
27. Zheng, C., et al., *Functional selenium nanoparticles enhanced stem cell osteoblastic differentiation through BMP signaling pathways.* Advanced Functional Materials, 2014. **24**(43): p. 6872-6883.
28. Panyam, J. and V. Labhasetwar, *Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue.* Advanced drug delivery reviews, 2003. **55**(3): p. 329-347.
29. Nitta, S.K. and K. Numata, *Biopolymer-based nanoparticles for drug/gene delivery and tissue engineering.* International journal of molecular sciences, 2013. **14**(1): p. 1629-1654.
30. Zhang, S. and H. Uludağ, *Nanoparticulate systems for growth factor delivery.* Pharmaceutical research, 2009. **26**(7): p. 1561-1580.
31. Ho, Y.T., B. Poinard, and J.C.Y. Kah, *Nanoparticle drug delivery systems and their use in cardiac tissue therapy.* Nanomedicine, 2016. **11**(6): p. 693-714.
32. Wilczewska, A.Z., et al., *Nanoparticles as drug delivery systems.* Pharmacological reports, 2012. **64**(5): p. 1020-1037.

33. Liu, Y., D. Luo, and T. Wang, *Hierarchical structures of bone and bioinspired bone tissue engineering.* Small, 2016. **12**(34): p. 4611-4632.
34. Lv, Z., et al., *Structure-optimized and microenvironment-inspired nanocomposite biomaterials in bone tissue engineering.* Burns & Trauma, 2024. **12**: p. tkae036.
35. Gao, X., et al., *Bioinspired design of polycaprolactone composite nanofibers as artificial bone extracellular matrix for bone regeneration application.* ACS applied materials & interfaces, 2016. **8**(41): p. 27594-27610.
36. Wei, Y., et al., *Appreciable biosafety, biocompatibility and osteogenic capability of 3D printed nonstoichiometric wollastonite scaffolds favorable for clinical translation.* Journal of Orthopaedic Translation, 2024. **45**: p. 88-99.
37. Awasthi, S., *Nanohydroxyapatite Composites Toxicity and Biosafety for Safe Clinical Translation.* Nanoscale Advances, 2026.
38. He, Y. and Q. Peng, *Advances and Clinical Translation Potentials of Functional Nanomaterials in Tissue Engineering.* Bioengineering, 2026. **13**(8): p. 902.
39. Bozorgi, A., et al ,.*Application of nanoparticles in bone tissue engineering; a review on the molecular mechanisms driving osteogenesis.* Biomaterials science, 2021. **9**(13): p. 4541-4567.
40. Sekar, M.P., et al., *Current standards and ethical landscape of engineered tissues—3D bioprinting perspective.* Journal of tissue engineering, 2021. **12**: p. 20417314211027677.
41. Gonzálvez-García, M., et al., *Preclinical studies of the biosafety and efficacy of human bone marrow mesenchymal stem cells pre-seeded into β-TCP scaffolds after transplantation.* Materials, 2018. **11**(8): p. 1349.
42. Pathak, D.K. and A. Lamba, *Clinical Translation, Regulatory Considerations, and Future Perspectives: challenges in Magnesium-Based Biodegradable Materials for Biomedical Applications*, in *Biodegradable Metallic Materials: Design, Development and Characterization*. 2025, Springer. p. 149-171.
43. Heidari, F., et al., *In situ preparation of iron oxide nanoparticles in natural hydroxyapatite/chitosan matrix for bone tissue engineering application.* Ceramics International, 2015. **41**(2): p. 3094-3100.
44. Quek, J., et al., *Towards stem cell therapy for critical-sized segmental bone defects: current trends and challenges on the path to clinical translation.* Journal of functional biomaterials, 2024. **15**(6): p. 145.
45. Patel, J.C., M. Shukla, and M. Shukla, *From bench to bedside: translating mesenchymal stem cell therapies through preclinical and clinical evidence.* Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2025. **13**: p. 1639439.