طراحی و بهینه سازی زیستمواد هیدروژلی بر پایه پپتیدهای با قابلیت خودآرایی به منظور بکارگیری در ترمیم بافت عصب مرکزی

حسین فرامرزی، شهره مشایخان*، سرور رمضان‌پور، حجت الله عباس‌زاده،
دینا مرشدی، فرهنگ علی‌اکبری

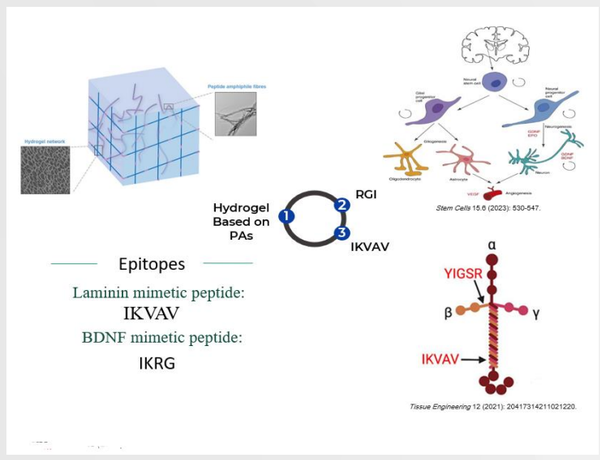
دانشکده مهندسی شیمی و نفت

چکیده

آسیب نخاعی یکی از علل اصلی ناتوانی جسمی است که در حال حاضر هیچ درمان بالینی موثری برای آن وجود ندارد. همچنین روش های متداول مهندسی بافت و طب ترمیمی نظیر بکارگیری داربست های پلیمری نیز در این زمینه توفیق چندانی نداشته اند. اما اخیرا بهره گیری از هیدروژل متشکل از نانوفیبرهای پپتیدی فوق مولکولی چشم انداز روشنی از روش های مهندسی بافت در درمان ضایعه نخاعی به نمایش گذاشته است. هدف از این پژوهش، سنتز یک داربست هیدروژلی فوق مولکولی از فیبرهای نانومقیاس پپتیدی مبتنی بر تکنولوژی پپتیدهای دوگانه دوست PA است که با دو سیگنال بیولوژیکی لامینین IKVAV و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز BDNF و با هدف افزایش نفوذ سلولی Infiltration و بلوغ سلولی functional maturity از طریق فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ مربوطه، ادغام میشود. به منظور شناسایی توالی و ترکیب درصد بهینهی پپتیدهای سازنده هیدروژل از منظر فعالیت زیستی، سلول SH-Sy5y بعد از کشت بر روی پپتیدهای دوگانه دوست، از نظر میزان رشد نوریتها مورد آنالیز و بررسی قرار خواهد گرفت. همچنین در این تحقیق با بهره گیری از ابزار شبیه سازی دینامیک مولکولی، ساختار بهینه پپتیدهای با تحرک مولکولی بیشینه تعیین و سپس با انجام آزمایش های درونتنی و ارزیابی های مربوطه، دانش فنی تولید هیدروژل ترکیبی متشکل از پپتیدهای دوگانه دوست IKVAV PA و BDNF PA توسعه می یابد. می توان امیدوار بود که توسعهی زیستمواد با ساختارهای دینامیک و متحرک اینچنینی بتواند برای طیف گسترده ای از بیماری های مرتبط با سیستم عصب مرکزی نظیر ضایعه نخاعی، صدمات اعصاب بینایی و ... قابل استفاده باشد.

مقدمه

آسیبهای عصبی ازجمله آسیبهای بافتی متداولی هستند که کیفیت زندگی فرد آسیب دیده تحت تاثیر این آسیبها به شدت کاهش مییابد. هدف از این پژوهش طراحی و بهینهسازی ساختار زیستموادی است که به کارگیری هیدروژل متشکل از آنها راهکار درمانی موثری برای این دسته از آسیبهایی که به طور طبیعی بازگشت ناپذیر هستند را فراهم میآورد. با توجه به چشمانداز روشن و عملکرد مثبت و موثر پپتیدهای دوگانه دوست لیپیدی در پژوهش‌های مرتبط با ترمیم و مهندسی بافت انواع عصب، این پژوهش بر توسعهی زیست موادی با ساختاری منطبق بر ساختار این پپتیدها متمرکز است. هدف این پژوهش به طور خاص بررسی زیستفعالیت هیدروژلی متشکل از دو نوع پپتید دوگانه دوست لیپیدی است که یکی حاوی اپیتوپ بخش زیست فعال IKVAV پپتید تقلیدکننده پروتئین لمینین و دیگری حاوی اپیتوپ IKRG پپتید تقلیدکننده پروتئین BDNF است.



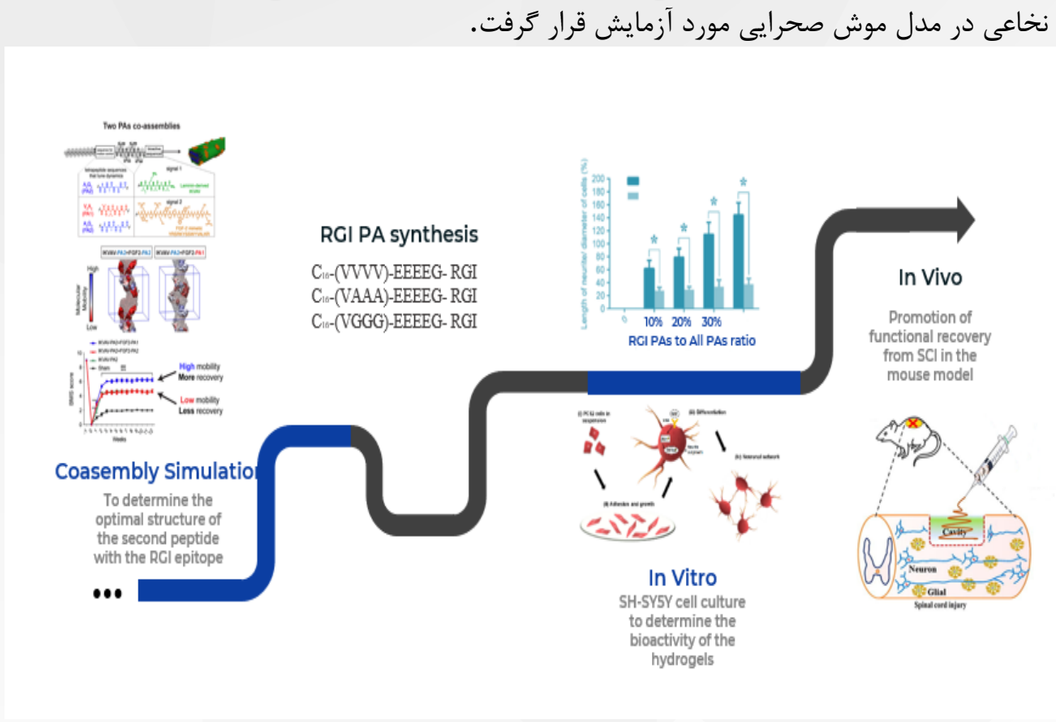
مواد و روش ها

۱. مرحله اول شامل طراحی و شبیه سازی پپتیدها بود که توسط نرم افزار Gromacs و تحت میدان نیروی Martini و به صورت درشت دانه به انجام رسید. هدف از این مرحله تعیین ترکیبات با بیشینه تحرک مولکولی به منظور دستیابی به بیشینه زیست فعالیت هیدروژل ها بود که به وسیله ارزیابی RMSF این هدف محقق شد. سپس نتایج این مرحله با نتایج مراحل آزمایشگاهی مقایسه شده و تجزیه و تحلیل شد.

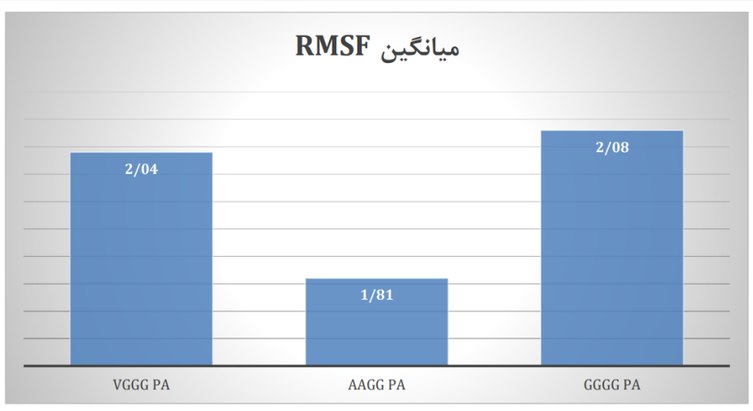
۲. در مرحله دوم پپتیدها سنتز شده و پس از مشخصه یابی پپتید با آنالیزهای MS-LC و برای تهیه هیدروژل در ابتدا محلول محتوی ۱ درصد وزنی/حجمی مخلوط PA با نسبتهای متفاوت از سه توالی تعیین شده برای IKRG PA به IKVAV PA، ۱۵۰ میلیمولار NaCl و ۳ میلیمولار KCl تحت امواج فراصوت قرار گرفته و همزمان به ازای هر ۱۰۰ میکرولیتر ۱ میکرولیتر محلول سود ۱ مولار به محلول PAها افزوده شد. سپس مخلوط حاصل به تحت عملیات حرارتی قرار گرفت تا مراحل تشکیل فیبر کامل شود.

۳. پس از تایید تشکیل فیبر توسط تست های AFM، THT و TEM هرکدام از گروه های پپتیدی تحت کشت سلول های SH-Sy5y قرار گرفت. هدف از این مرحله ارزیابی میزان زیست غعالیت هر کدام از گروه های پپتیدی با بررسی میزان تمایز سلول ها بود.

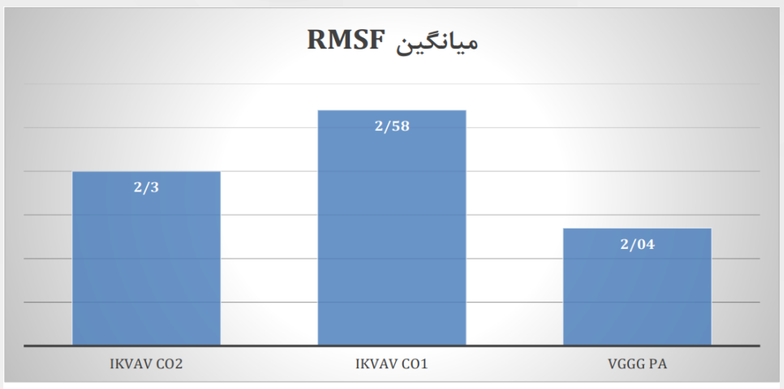
۴. در مرحله چهارم از این پژوهش، توانایی هیدروژل ترکیبی متشکل از دو پپتید دوگانه دوست IKVAV و IKRG با نسبت و توالی بهینه شده در مراحل قبل در بازیابی عملکردی پس از ضایعه نخاعی در مدل موش صحرایی مورد آزمایش قرار گرفت.



برخی نتایج



نمودار ۴-۱. نمودار میانگین RMSF. نتایج حاصل از شبیه سازی PA های منفرد



نمودار ۴-۲. نمودار میانگین RMSF. نتایج حاصل از شبیه سازی PA های کو-اسمبلی

منابع

[1]. Álvarez, Z., Kolberg-Edelbrock, A. N., Sasselli, I. R., Ortega, J. A., Qiu, R., Syrgiannis, Z., Mirau, P. A., Chen, F., Chin, S. M., Weigand, S., Kiskinis, E., & Stupp, S. I. (2021). Bioactive scaffolds with enhanced supramolecular motion promote recovery from spinal cord injury. Science (New York, N.Y.), 374(6569), 848–856.

[2]. R. Z. Pavlović, S. A. Egner, L. C. Palmer, and S. I. Stupp, "Supramolecular polymers: Dynamic assemblies of 'dancing' monomers," *Journal of Polymer Science*, vol. 61, no. 10, pp. 870–880, May 2023, doi: 10.1002/pol.20230115.

[3]. S. Sur, C. J. Newcomb, M. J. Webber, and S. I. Stupp, "Tuning supramolecular mechanics to guide neuron development," *Biomaterials*, vol. 34, no. 20, pp. 4749–4757, Jul. 2013, doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.025.