

مطالعات تجربی به منظور آماده سازی داربست های سه بعدی جهت کاربرد مقدماتی در تحقیقات مهندسی بافت و سلول های بنیادی

ناصر مهدوی شهری^۱، فهیمه شهابی پور^۱، امین توسلی^۱، مریم مقدم متین^۲، مسعود فریدونی^۱، احمدرضا بهرامی^۲، محمد علیزاده^۱، معصومه خیرآبادی^۱، فاطمه ناصری^۱، تهمینه کاظمی^۱، زهرا یارجانلی^۱.

۱- گروه زیست شناسی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲- پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

مقدمه: در سال‌های اخیر داربست‌های زیستی مشتق شده از ماتریکس خارج سلولی تحولات بسیار امید بخشی را در مهندسی بافت فراهم ساخته اند و به نظر می‌رسد شناخت بهتر چنین ماتریکسی و جهت دادن به این گونه تحقیقات در مورد کاربردی نمودن آنها قادر خواهد بود به کشف پیشرفت های مهم در مهندسی بافت و پزشکی ترمیمی در کلینک منجر گردد. هدف اصلی این پژوهش آماده سازی مدل‌هایی از داربست های سلول زدائی شده بافت غضروف مفصل گاو، بافت استخوانی ایپی فیز گاو، ناحیه مدیا آئورت گاو و بافت لثه بوده است.

روش‌ها: به منظور حذف سلول از بافتهای مورد نظر از روشهای فیزیکی و شیمیایی که شامل : Snap freezing و استفاده از شوینده سدیم دودسیل سولفات (SDS) بوده و به منظور تهیه داربست فقط الاستیک از دیواره آئورت از محلول ۵۰ mg/ml برومید سیانوژن در ۷۰٪ اسید فرمیک استفاده گردید . به این ترتیب داربست های متخلخل با ضخامت حدود ۲ تا ۳ میلیمتر تهیه گردید . به منظور مطالعه عملکردی بودن داربستهای مورد نظر و مقایسه رفتارهای سلولی در ماتریکس‌های سه بعدی، داربست‌های تهیه شده در حلقه بلاستمای حاصل از پانچ لاله های گوش خرگوش نژاد نیوزیلندی بصورت *in vitro* قرار داده شد. برای ارزیابی مورفولوژیکی بر هم کنشهای بین سلول و ماتریکس سلول زدائی شده در روز های ۱۰ و ۲۰ و ۳۰ و ۴۰ بعد از کشت و براساس تکنیکهای هیستولوژی و با بکار گیری رنگ همتوکسیلین - ائوزین ، پیکروفوشین، اورسئین و پیکرو سیروس قرمز و همچنین رنگ فلوروسنت DAPI نمونه مورد ارزیابی قرار گرفت .

بحث و نتیجه گیری : مجموعه تجربیات نشان داد که داربستهای تهیه شده در این پژوهش می‌تواند مدل های مناسبی برای ارزیابی بعضی از رفتارهای سلولی شامل : تقسیم، مهاجرت، چسبندگی و احتمالاً تمایز را فراهم نماید . ضمن اینکه به نظر می‌رسد مدل‌های تهیه شده در این پژوهش می‌توانند بستر مناسبی جهت مطالعات پیشرفته تر در زمینه سلول‌های بنیادی باشند.

کلمات کلیدی: داربست های زیستی، بلاستما ، ماتریکس های سه بعدی، رفتارهای سلولی.

Code: P55

The experimental study of preparing extracellular matrix (ECM) derived and their application on tissue engineering research and stem cells biology

Nasser Mahdavi Shahri^{1,2}, Fahimeh Shahabipour¹, Amin Tavassoli¹, Maryam M. Matin², Masoud Fereidoni¹, Ahmad Reza Bahrami², Mohamad Alizadeh¹, Masomeh Kheirabadi¹, Fatemeh Nasser¹, Tahmineh Kazemi¹, Zahra Yarjanli¹.

1- Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2- Cell and Molecular Research Group, Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Introduction: Biological scaffolds materials derived from the extracellular matrix (ECM) have been created the most promising evolution in the field of tissue engineering. it seems that a clear understanding of such a matrix and attempt to make them applicable will let us to discover important advances in tissue engineering and regenerative medicine. This study was aimed to prepare a cellular matrix from bovine articular cartilage, bone epiphysial, media layer of bovine aortic and gingival tissue.

Methods: In order to remove cells from the desired tissue, the physico-chemical methods was used, which were including: Snap freezing and using sodium Dodecyle sulfate (SDS). In addition, elastic scaffold have been prepared from aorta by using solution of 50 mg/ml 70% bromide Syanogen and formic acid. Thus, porous scaffold with a thickness of about 2 to 3 mm were prepared. To study the quality of these scaffolds and comparison the cell behaviors into 3dimensional matrix, desired scaffolds were cultured with blastema tissue which was prepared as a ring by punching the pinnas of New Zealand white rabbits. Interaction between acellular cancellous bovin bone and blastema tissue was evaluated by histochemical techniques such as Picrofushin, hematoxylin and eosin (H&E), picrosirius red, orcein and also DAPI flurescent staining in different days (10, 20, 30 and 40).

Conclusion: It has been shown that this scaffold could be a suitable model in evaluating the cellular behaviors such as cell division, migration, adhesion and differentiation. it seems that these 3extracellular matrix can serve as a suitable model for advanced study in stem cell biology.

Key words: Bioscaffold, Blastema tissue, three-dimensional matrix, cell behavior.