

اثر زجاجیه خرگوش در تکثیر سلول‌های NT2 (NT2) تمایز یافته انسانی

زهرا رضاییان^۱، احمد رضا بهرامی^۲، مریم مقدم متین^۳، محمد رضا هاشم زاده^۱، نفیسه طبسی^۳.

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲- گروه پژوهشی سلولی و ملکولی، پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۳- گروه ایمونولوژی، پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

مقدمه: زجاجیه (vitreous humor) ژل شفاف است که فاصله بین عدسی و شبکیه را در کره چشم انسان و سایر مهره داران پر می‌کند، در واقع توده ژلاتینه بی‌رنگی است که به وسیله سلول‌های معینی در شبکیه تولید می‌شود. چگالی آن دو تا چهار برابر آب خالص است. زجاجیه حاوی آب، اسید هیالورونیک، کلاژن، ویتامین C و مواد معدنی است. به عبارت دیگر ۹۹٪ وزنش را آب، ۰/۹٪ نمک‌ها و ۰/۱٪ پروتئین و پلی ساکاریدی باردار تشکیل می‌دهد. سلول‌های NT2 یک لاین از سلول‌های بنیادی شبه جنینی هستند که ویژگی‌هایی مانند پر توان بودن و خود نوسازی را دارا هستند. امروزه اثر اسید هیالورونیک در تکثیر و مهاجرت سلولی و در فرآیند ترمیم زخم ثابت شده است.

روش‌ها: در این آزمایش دو فلاسک T25 حاوی سلول‌های NT2 انتخاب شد و یکی از آنها با رتینوئیک اسید ۵-۱۰ مولار با غلظت ۱:۱۰۰۰ به مدت ۴ روز تیمار شد، سپس پاساژ داده شد و به یکی از دو فلاسک حاصله، زجاجیه خرگوش سفید نژاد نیوزلندی به مقدار ۳۷۵ میکرولیتر در ۵ میلی لیتر (۷/۵٪) اضافه شد و پس از ۴ روز سلول‌ها در پلیت‌های شش خانه کشت شد. سلول‌های NT2 به عنوان کنترل و سلول‌های تیمار شده با رتینوئیک اسید (بدون تیمار با زجاجیه) نیز همزمان در پلیت‌های شش خانه‌ای کشت داده شدند. سلول‌ها در فواصل زمانی سه، شش و نه روز پس از کشت با استفاده از لام نتوبار شمارش شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که تعداد سلول‌های تیمار شده با رتینوئیک اسید نسبت به سلول‌های NT2 کنترل کمتر بودند و تعداد سلول‌هایی که پس از تیمار با رتینوئیک اسید با زجاجیه تیمار شده بودند، نسبت به سلول‌هایی که به تنهایی با رتینوئیک اسید تیمار شده بود، افزایش یافته بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: از آنجایی که زجاجیه حاوی اسید هیالورونیک است و نقش اسید هیالورونیک در تکثیر سلول‌ها مشخص شده است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت زجاجیه به دلیل وجود موادی مانند اسید هیالورونیک در افزایش تکثیر سلول‌های NT2 تمایز یافته، موثر است.

کلمات کلیدی: زجاجیه، تکثیر، NT2.

Code: P27

The Effect of Vitreous Humour (VH of Rabbit) on Proliferation of Differentiated Human NTERA2 (NT2) Cells

Zohreh Rezaian¹, Ahmad R. Bahrami^{1,2}, Maryam M. Matin^{1,2}, Mohammad R. Hashemzade¹, Nafise Tabasi³

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.

3-Department of Immunology, Bu Ali Institute, Medical Science University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Introduction: Vitreous humor is a transparent gel which fills the distance between the lens and retina in the eye of human and other vertebrates. It is a gelatin mass without color that is produced by certain cells in the retina. The density of vitreous humor is two to four times more than pure water. By weight, vitreous is ~ 99% water and 0.9% salts. The remaining 0.1% is divided between protein and polysaccharide components. NTERA2, a human embryonal carcinoma (EC) stem cell line, shares many characteristics with human embryonic stem cells (hESCs). Today, the role of hyaluronic acid on proliferation and cell migration has been proven in wound healing process.

Methods: In this experiment, two T25 flask containing NT2 cells were selected and one of them was treated with retinoic acid (RA) $10^{-5}M$ with concentration 1:1000. After 4 days of incubation, the cells were subcultured then 375 μ L of VH was added (7.5% V/V) in one of the two flasks. After four days the cells were cultured in 6-well plates. NT2 cells (as control) and cells treated with RA (without treatment with vitreous) were cultured at the same time in 6-well plates. Cells were counted after three, six and nine days using Neobar slides.

Results: Results showed that number of the cells treated with retinoic acid was less than NT2 cells, while this number was partly restored upon treatment of the cells with retinoic acid and then vitreous.

Conclusion: Because vitreous humor contains hyaluronic acid and it has been shown that this compound has a significant role on cell proliferation, it could be concluded that constituents of VH such as hyaluronic acid, are effective on NT2 cells proliferation.

Key words: vitreous humour, proliferation, NT2.