

کد: P52

بررسی ظرفیت اپیتلیوم زایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی رت کشت شده روی داربست لته‌ی سلول زدایی شده‌ی انسان

ناصر مهدوی شهری^۱، زهرا یارجانی^۱، مریم مقدم متین^۱، مسعود فریدونی^۱، مروارید ساعی نسب^۲، سید علی بنی هاشم راد^۳.

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

۲- گروه پژوهشی سلول‌های بنیادی، پژوهشکده فناوری زیستی دانشگاه فردوسی مشهد.

۳- گروه پرودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات دندان، دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

مقدمه: هدف اصلی مهندسی بافت بازسازی بافت‌های زنده به منظور جایگزینی بافت‌ها و اندام‌های آسیب دیده یا از بین رفته‌ی انسان و جانوران زنده می‌باشد. برای وصول به این هدف، سلول‌ها و داربست‌های طبیعی یا سنتزی اجزای ضروری می‌باشند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی به علت ویژگی‌های خاصی از جمله قابلیت خود تجدیدی و توانایی تمایز به فنوتیپ‌های مختلف سلولی، برای درمان آسیب‌های نخاعی، ایسکمی‌های میوکاردی، آسیب‌های استخوان، بیماری‌های عصبی و جراحات پوستی بکار رفته‌اند. با توجه به اینکه پیشرفت‌های بسیاری در زمینه‌ی مهندسی بافت پوست برای تهیه‌ی جایگزین‌های پوستی صورت گرفته است، با اینحال تلاش‌های اندکی جهت استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان برای بازسازی اپیتلیوم در شیشه انجام شده است. در این مطالعه به منظور بررسی پتانسیل تمایزی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان رت به سمت سلول‌های اپیتلیالی، این سلول‌ها بر روی داربست تهیه شده از لته‌ی انسان کشت داده شدند.

روش‌ها: به منظور تهیه‌ی داربست‌ها، بخش‌هایی از لته‌ی انسان که از جراحی آزاد لته تهیه شده بودند، با استفاده از دو شوینده‌ی سدیم دودسیل سولفات و تریتون X100 سلول زدایی شدند. پس از مراحل شست و شوی و استریلیزاسیون، داربست‌ها به مدت ۴ هفته با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان رت کشت شدند. در هفته‌های ۱، ۲ و ۴ از داربست‌ها مقاطع بافتی تهیه و تحت بررسی‌های میکروسکوپی قرار گرفته شد.

یافته‌ها: بررسی میکروسکوپی داربست‌های تهیه شده نشان داد که داربست‌ها کاملاً سلول زدایی شده بودند و اپیدرم آن‌ها سالم مانده بود. مطالعه‌ی داربست‌های کشت شده روشن کرد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان رت پس از گذشت یک هفته توانستند یک لایه‌ی سلولی روی اپیدرم قبلی تشکیل دهند. پس از گذشت چهار هفته، سلول‌ها تکثیر یافته و چندین لایه‌ی سلولی شبیه اپیتلیوم روی داربست تشکیل داده بودند.

بحث و نتیجه گیری: سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان رت تحت تأثیر داربست لته‌ی سلول زدایی شده‌ی انسان توانستند ساختاری مشابه با اپیتلیوم را تشکیل دهند. این مطالعه ثابت می‌کند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان قابلیت تمایز به سلول‌های کراتینوسیت را دارند و حتی می‌توانند ساختاری مشابه اپیتلیوم را بازسازی کنند. امید است که این داربست‌ها، بتوانند به عنوان بستر مناسبی برای بررسی برهمکنش‌های سلول و ماتریکس خارج سلولی به کار روند.

کلمات کلیدی: اپیتلیوم زایی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان رت، داربست، لته.

Code: P52

Investigating epithelium-forming capacity of rat's mesenchymal stem cells cultured on decellularised human gingiva as a scaffold

Nasser Mahdavi Shahri^{1,2}, Zahra Yarjanli¹, Maryam M. Matin^{1,2}, Masoud Fereidoni¹, Morvarid Saeinasab², Seyed Ali Banihashem Rad³.

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

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

3- Department of Periodontics, School of Dentistry and Dental Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Introduction: The main goal of tissue engineering is the reconstruction of living tissues for replacement of damaged or lost tissues and organs in human and animals. Cells and natural or synthetic scaffolds are necessary components required for tissue engineering. Since mesenchymal stem cells have specific characteristics including capability of self renewal, and ability to differentiate into various cell types, they have been used for treatment of spinal cord injuries, myocardial infarction, bone diseases, neurological disorders and skin injuries. Despite many progress in the field of tissue engineering to fabricate skin substitutes, little efforts have been done to use bone marrow derived mesenchymal stem cells for reconstructing epithelium in vitro. In this study rat's bone marrow mesenchymal stem cells were grown on scaffolds prepared from human gingiva in order to study their differentiation potential towards epithelial cells.

Methods: In order to fabricate scaffolds, parts of human gingiva were removed in free gingival operation, were decellularised using sodium dodecyl sulphate (SDS) and Triton X100. After washing and sterilization steps, the scaffolds were cultivated with rat's bone marrow mesenchymal stem cells for 4 weeks. Tissue sections were prepared from scaffolds after 1, 2, and 4 weeks in culture and were studied by histological methods.

Result: The microscopic study of the prepared scaffolds revealed that the scaffolds were decellularised properly and their epidermises had remained intact. The study of cultivated scaffolds elucidated that after 1 week in culture, rat's bone marrow mesenchymal stem cells could form a cell layer on present epidermis. Four weeks later, the cells had proliferated and formed several cell layers on the scaffolds, which were similar to epithelium.

Conclusion: Rat's bone marrow mesenchymal derived stem cells grown on decellularised human gingival scaffolds could form a structure similar to epithelium. This study indicates that bone marrow mesenchymal stem cells are able to differentiate into keratinocytes and even, they could reconstruct an epithelium-like structure. These scaffolds can be used as a suitable context for studying cell interactions with extracellular matrix.

Key words: epithelialisation, rat, bone marrow, mesenchymal stem cells, scaffold, gingiva, decellularization.