Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۳، خرداد ۱۳۹۴(شماره پی در پی۹۸)

مقایسه توانایی زنده بودن سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی در دو داربست آگارز و فیبرین گلو

فرزانه تفویضی[1*]، نسیم حیاتی رودباری[2]

[1]گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، پرند، ایران، [2]گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۱۱/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۲۹

چکیده

زمینه و هدف : بهره‌گیری از تکنیک مهندسی بافت و طراحی ساختارهایی مشابه بافت‌های آسیب دیده نیازمند به کارگیری ابزارهایی نظیر داربست سلولی، سلول‌ها و ملکول‌های فعال زیستی در شرایط آزمایشگاهی است که در این میان، کشت سلول‌های مناسب با قابلیت توانایی تقسیم و تمایز در داربست‌های سلولی طبیعی که فاقد ویژگی‌هایی نظیر ایمنی زایی و تومورزایی باشند، اهمیت دارد. بافت چربی به دلیل دارا بودن سلول‌های بنیادی مزانشیمی و نیز سهولت دسترسی به آن در پی انجام لیپوساکشن توجه محققان را به خود جلب کرده است. هدف از این تحقیق بررسی قابلیت تکثیر و زنده ماندن سلول‌های بنیادی مشتق از چربی در دو داربست طبیعی فیبرین گلو و آگارز بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، شناسایی و جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی‌از بافت حاصل از لیپوساکشن انجام شد. نمونه‌های بافت چربی حاصل از لیپوساکشن پس از شستشو با PBS و سرم فیزیولوژی تحت اثر هضم آنزیمی‌به وسیله آنزیم کلاژناز I قرار گرفتند و سلول‌های بنیادی مزانشیمی‌از آن‌ها جداسازی گردید. سلول‌های حاصل در محیط کشت RPMI حاوی آنتی‌بیوتیک کشت شدند. سپس بررسی بیان مارکرهای ویژه سطح سلولی از جمله CD34، CD44، CD90 و CD105 جهت تأیید سلول‌های مزانشیمی‌به وسیله فلوسایتومتری انجام شد. پس از آماده‌سازی دو داربست آگارز و فیبرین گلو، قابلیت زنده بودن و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی‌مشتق از بافت چربی در دو داربست فوق در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، با آزمون MTT و روش الایزا بررسی گردیدند. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی‌مشتق از بافت چربی بر روی داربست‌های آگارز و فیبرین گلو نشان داد که درصد زیستایی سلول‌ها در داربست فیبرین گلو و آگارز به ترتیب ۶۸/۲۲ و ۸۹/۷۵ درصد در زمان ۲۴ ساعت، ۶۴/۰۴ و ۶۶/۹۷ درصد در زمان ۴۸ ساعت و ۲۲۲/۸۷ و ۱۰۸۹/۶۸ درصد در زمان ۷۲ ساعت نسبت به گروه کنترل بود. تکثیر و بقای سلولی بیشتری در داربست سنتزی آگارز در مقایسه با داربست فیبرین گلو در کشت ۷۲ ساعته، مشاهده شد. قابلیت زنده ماندن سلول‌ها بر روی داربست آگارز به طور معنی‌داری افزایش نشان داد $p<0/05$.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که داربست آگارز به علت داشتن تخلل و پایداری بیشتر نسبت به داربست فیبرین‌گلو، چسبندگی بهتری برای سلول‌ها ایجاد می‌کند و در فرآیند تکثیر سلولی، عملکرد بهتری را نسبت به داربست فیبرین گلو ارایه می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های مزانشیمی‌مشتق از چربی، داربست آگارز، داربست فیبرین گلو، تست MTT.

***نویسنده مسئول: فرزانه تفویضی**، پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی

Email: farzanehtafvizi54@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

مقدمه

امروزه روش مهندسی بافت برای درمان آسیب‌های بافتی و انواع بیماری‌ها، مورد توجه محققان قرار گرفته است و این امر مستلزم انجام مطالعه‌های جامع و کامل در زمینه انواع سلول‌های مناسب، داربست‌های کارآمد و فاکتورهای رشد می‌باشد. بدین منظور لازم است با استفاده از سلول‌های بنیادی، تحت تأثیر فاکتورهای مختلف رشد در شرایط کنترل شده درون آزمایشگاهی و بدون وابستگی به بدن موجود زنده، به طور مستقل طراحی بافت انجام شود. از این رو، روش‌های شناسایی و جداسازی سلول‌های بنیادی، به دست آوردن غلظت‌های مناسب از فاکتورهای مختلف مورد نیاز جهت کشت و تکثیر، مشخص نمودن انواع محیط‌های مناسب برای تمایز این سلول‌ها، درک مکانیسم‌های تمایز و تکامل، یافتن روش‌های پیوند سلول‌های بنیادی در مدل‌های حیوانی، درک عوارض و خطرات احتمالی پیوند و واکنش‌های بدن در مقابل این سلول‌ها باید به طور گسترده و دقیق مورد مطالعه و شناسایی قرار گیرند تا کاربری روش مهندسی بافت نتایج مثبت و رضایت بخشی داشته باشد(۱).

یکی از افق‌های روشن پیش رو برای غلبه بر مسائل و مشکلات بازسازی بافت و اندام آسیب دیده، مهندسی بافت می‌باشد که یکی از شاخه‌های مهندسی زیستی محسوب می‌شود و امکان بازسازی بافت‌های آسیب دیده و بازگرداندن عملکرد بافت را فراهم می‌کند(۲). اجزا اصلی مورد نیاز در مهندسی بافت عبارت است از سلول مناسب، بیو مواد و عوامل زیست فعال، انواع مختلفی از سلول‌ها در مهندسی بافت مورد استفاده قرار می‌گیرند که سلول‌های بنیادی یکی از بهترین منابع سلولی برای این مقصود می‌باشند.

سلول‌های بنیادی بالغ، دسته‌ای از سلول‌های تمایز نیافته‌اند که در بافت‌های بالغ بدن وجود دارند و توانایی تمایز و تقسیم به انواع دیگر سلول‌ها را دارا می‌باشند. زمانی که به بافت آسیبی وارد می‌شود، این سلول‌ها قادربه ترمیم بافت آسیب دیده می‌باشند. در مغز استخوان حداقل دو دسته از سلول‌های بنیادی بالغ وجود دارد که شامل سلول‌های بنیادی خون ساز و سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌باشد(۳). طی سال‌های اخیر، سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی به دلایل سهولت در دستیابی به بافت چربی و داشتن توان تمایزی بالا مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند(۴).

سلول‌های بنیادی دارای خاصیت چندزایی هستند و در ترمیم بافت‌هایی با منشاء مزانشیمی مثل؛ استخوان، غضروف، ماهیچه، تاندون و چربی شرکت می کنند. یکی از ویژگی شاخص سلول بنیادی مزانشیمی، کلون‌زا بودن این سلول‌ها حتی در حالت کشت اولیه است. مطالعه‌ها نشان داده است که کلون‌های منفرد که هرکدام از یک سلول مشتق شده است از لحاظ پتانسیل تمایز، هتروژن هستند. پتانسیل تمایز سلول بنیادی مزانشیمی‌به چندین رده سلولی و فرآیند تمایز سلول بنیادی یک فرآیند پیچیده با مکانیسم مولکولی ناشناخته است. دانشمندان معتقدند

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

که عوامل مختلفی در متعهد کردن سلول بنیادی مزانشیمی در تمایز به رده خاص سلولی دخیل است. این عوامل شامل؛ ترکیب سرم، تیمارهای مختلف و نوع پلاستیک مورد استفاده در کشت سلول و تعامل سلولی است. با فراهم کردن شرایط مناسب سلول بنیادی مزانشیمی قادر است به انواعی از سلول‌ها شامل؛ استخوانی، غضروف و چربی تمایز یابد (۷-۵).

جداسازی و تکثیر نسبتاً راحت و اتولوگ بودن سلول‌های مزانشیم، آن‌ها را کاندید مناسب برای سلول درمانی ساخته است، اما به دلیل میزان پایین این سلول‌ها در مغز استخوان و هم‌چنین نیاز به عوامل تکمیل کننده با منشاء حیوانی برای تکثیر این سلول‌ها، کار را برای استفاده در مطالعه‌های بالینی مشکل کرده است، اما پژوهش‌ها و راهکارها به سمت و سوی ایجاد شرایط بهینه برای استفاده از این سلول‌ها با حذف سرم از محیط کشت آن‌ها و تکثیر به میزان بالای آن‌ها با استفاده از بیوراکتورها است(۹ و۸).

شباهت سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی (ASC_S) به سلول‌های بنیادی مغز استخوان این تصور را پیش می‌آورد که شاید منشا این سلول‌ها، سلول‌های استرومال مغز استخوان(BMS_S) در حال گردش باشند که به وسیله دیواره عروق در بافت چربی ارتشاح پیدا می‌کنند. به عبارتی دیگر بر اساس این نظریه جدید، احتمالاً این سلول‌ها در واقع سلول‌های بنیادی دور عروق هستند. سلول‌های دور عروق نیز به سطح فلاسک کشت چسبیده، تکثیر یافته و قادرند به سلول‌های استخوانی، غضروفی و چربی تمایز یابند(۱۰).

بافت چربی، یکی از بافت‌هایی است که نقش فعالی در ترشح سایتوکین‌ها و عوامل رشد دارد. سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی غلظت بالایی از عامل رشد اپیدرمی، عامل رشد اندوتلیال عروقی، عامل رشد پایه ای فیبروبلاست، عامل رشد کراتینوسیتی، عامل رشد مشتق از پلاکت، عامل رشد سلول‌های کبدی، عامل رشد تغییر دهنده بتا، عامل رشد شبه انسولینی و عامل رشد عصبی مشتق از مغز را بیان می‌کنند. احتمالاً عوامل رشد هپاتوسیت‌ها، اصلی‌ترین عامل ترشح شده از ASCs است که نقش مهمی را در رگ‌زایی جدید دارد. مهار ترشح این عامل می‌تواند موجب مهار روند رگ‌زایی و ترمیمی به وسیله ASCs گردد(۱۱).

بر اساس تعریف برای ساخت یک بافت به شیوه‌های مهندسی، نیاز به طراحی یک داربست با ساختار فیزیکی مناسب با امکان چسبندگی سلول‌ها به آن، مهاجرت سلولی، تکثیر سلولی، تمایز سلولی و در نهایت رشد و جایگزینی بافت جدید است.

داربست سلولی دارای وظایف و اعمالی مشابه فعالیت‌های ماتریکس خارج سلولی است. از خصوصیات داربست سلولی می‌توان به عدم سمیت، قابلیت سازگاری زیستی، قابلیت تجزیه زیستی، عدم ایمنی زایی، تهیه آسان و خصوصیات فیزیکی و مکانیکی مناسب که عبارتند از تخلخل و اندازه مناسب منافذ، پایداری مطلوب و وجود ساختار سه بعدی

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

مشابه بافت طبیعی، عدم سمیت داربست سلولی در تحریک سیستم ایمنی فرد اشاره نمود. پایداری داربست سلولی نیز اهمیت ویژه‌ای دارد و باعث هماهنگی در سرعت تجزیه داربست سلولی و سرعت تولید ماتریکس خارج سلولی می‌شود و از بروز مشکلاتی نظیر تخریب زودرس داربست سلولی جلوگیری می‌کند(۱۲).

پلیمرهایی که به عنوان ماده اولیه برای تهیه داربست سلولی استفاده می‌شوند شامل پلیمرهای طبیعی و مصنوعی بود. کلاژن از فراوان‌ترین انواع پروتئین‌های موجود در بدن است. از جمله منابع معمول تهیه کلاژن منابع برون‌زا مانند پوست گاو یا خوک هستند.

فیبرین گلو یک پلیمر طبیعی است و از پلیمریزه شدن فیبرینوژن با ترومبین ایجاد می‌شود و دارای یک سازگاری زیستی مناسب برای چسبیدن در محل یک زخم است و می‌تواند باعث تسهیل فعل و انفعالات سلول و ماتریکس از طریق اتصال به اینتگرین گردد. این ماده می‌تواند یک داربست مناسب طبیعی محسوب گردد، چرا که قابل تهیه به صورت اتولوگ از خود فرد می‌باشد. فیبرین گلو در طول زمان در شرایط درون تنی وآزمایشگاهی به دلیل لیز شدن فیبرین، دارای خاصیت ناپایداری و انحلال پذیری است. تخریب سریع این ماده یک مزیت برای آن محسوب می‌شود، چرا که در اعمال جراحی، مسدود کردن زخم‌ها و رهایی سلول‌ها و فاکتورهای رشد مفید است(۱۳).

آلژینات پلیمری است که از تکرار دو قندی اسیدی اسید مانورونیک و اسید گلوکورونیک تشکیل می‌شود. مشخص شده است که آلژینات، باعث حفظ میزان سختی داربست شده، اما تخریب آن را تسریع می‌نماید که شکل‌گیری استخوان از سلول‌های استرومال مشتق شده از مغز استخوان را بهبود می‌بخشد (۱۴).

هیالورونیک اسید نیز از جمله اجزا طبیعی ماتریکس خارج سلولی است که در تهیه داربست سلولی استفاده می‌شود.

همانطور که پیشتر ذکر شد، برای تولید سلول‌های چربی، استخوانی و غضروفی می‌توان از سلول‌های بنیادی مشتق از چربی زیر پوست استفاده کرد. چندی از مزیت های این گونه سلول‌های بنیادی عبارتست از: پیوند اتوگرافت بدون ریسک رد پیوند، عدم انتقال بیماری های واگیردار، فقدان منع قانونی در استفاده از این سلول‌ها، عدم نیاز به نگهداری طولانی مدت در بانک های سلولی که همراه با صرف هزینه های فراوان می‌باشد (۱۶و ۱۵).

هدف از این مطالعه جداسازی و شناسایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی، طراحی دو داربست آگارز و فیبرین گلو، بررسی مقایسه‌ای درصد تکثیر و زیستایی این سلول‌ها در دو داربست فوق در زمان‌های ۲۴، ۴۸ ، ۷۲ و در نهایت معرفی داربست کارآمد در جهت تکثیر سلولی و به کارگیری داربست جهت تمایز به سلول‌های غضروفی در مطالعه‌های بعدی بود.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

روش بررسی

برای جدا سازی و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمال از بافت چربی، نمونه بافت چربی حاصل از جراحی لیپوساکشن با کسب رضایت‌نامه از بیماران در بیمارستان ولیعصر قم در سرم فیزیولوژی حاوی آنتی‌بیوتیک از بیمارستان به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه، نمونه چندین بار با فسفات بافر سالین (PBS) و سرم فیزیولوژی شسته شد و به قطعات کوچک‌تر تقسیم شد. به ازای هر یک گرم چربی، ۱/۵ میلی‌گرم آنزیم کلاژناز ا به آن اضافه و به مدت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس تحت سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت سپس محلول رویی آن حذف و رسوب سلولی حاصله در محیط کشت Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) حاوی آنتی‌بیوتیک پنی سیلین/استرپتومایسین و سرم جنین گاوی (FBS) ۱۰ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، CO_2 ۵ درصد و رطوبت ۹۹ درصد قرار داده شد. پس از گذشت یک روز، سلول‌هایی که به کف فلاسک نچسبیده بودند، با تعویض محیط از فلاسک حذف شدند. سلول‌ها هر هفته یک‌بار پاساژ شدند تا به پاساژ ۳ رسیدند. محیط کشت سلول‌ها هر ۳ روز یک بار تعویض گردید. سلول‌ها سپس در مرحله پاساژ سه، جهت استفاده آماده گردید (۱۷).

برای تأیید سلول‌های مزانشیمی مشتق از بافت چربی بیان مارکرهای سطحی CD44، CD90، CD105 و CD34 مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت انجام فلوسایتومتری، آنتی‌بادی‌های کونژوگه، Anti-Human-CD34-FITC، Anti-Human-CD44-FITC، Anti-Human-CD90-FITC و Anti-Human-CD105-RP همراه با کنترل منفی(Dako Corporation,Glostrup, Denmark) مورد استفاده قرار گرفت. از سلول‌های تریپسینه شده در پاساژ سوم استفاده شدند و آنتی‌بادی‌های نشاندار ذکر شده با غلظت(۱:۱۰) به سلول‌ها اضافه شد و به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس شستشو با PBS انجام گرفت و به دنبال آن آنالیز فلوسایتومتری (Partec III ، آمریکا) انجام شد(۱۷).

برای تهیه داربست آگارز، ابتدا با غلظت ۱/۵ درصد ابتدا اتوکلاو شد و بعد از کاهش دمای آگارز، سلول‌های بنیادی مشتق از چربی با غلظت ۱×۱۰^{۶} سلول در هر سی‌سی داخل آن به صورت سوسپانسیون درآمدند و با سرنگ به داخل چاهک تزریق شدند. سپس محیط کشت به مخلوط حاصل اضافه گردید(۱۹ و۱۸).

برای تهیه داربست فیبرین گلو، پلاسمای تازه منجمد و فیبرینوژن از سازمان انتقال خون قم تهیه شد. پلاسمای تازه منجمد به نسبت ۵ به ۳ به کلسیم گلوکورونات اضافه شد و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با ۲۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس محلول رویی حذف شد و ترومبین آن جداسازی گردید. فیبرینوژن و ترومبین حاصله برای استفاده جهت کشت سلول آماده شد. به همین منظور، ابتدا سلول‌های بنیادی مشتق از چربی با غلظت ۱×۱۰^{۶} سلول در هر سی‌سی

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

در داخل ترومبین به صورت محلول درآمده و فیبرینوژن به آن ها اضافه گردید. پس از اضافه شدن محیط در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور (۳۷ درجه، CO_2 ۵ درصد و رطوبت ۹۹ درصد) قرار گرفتند(۲۰).

برای بررسی تراکم سلول‌ها، سلول‌های تریپسینه شده در پاساژ سوم پس از سانتریفیوژ، به وسیله لام نئوبار شمارش شدند و برای هر داربست ۱۵۰۰۰ سلول مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی بقای سلول‌ها در داربست فیبرین گلو، میزان ۱۰۰ میکرولیتر ترومبین و ۱۰۰ میکرولیتر کرایو در چاهک مورد نظر اضافه شد و پس از ۳ تا ۴ دقیقه،۵۰۰ میکرولیتر محیط ۱۰ درصد DMEM و ۱۰ میکرولیتر از سلول مورد نظر به چاهک اضافه شد و پس از ۲۴، ۴۸ ،۷۲ ساعت به وسیله تست MTT مورد بررسی قرار گرفتند. جهت بررسی بقای سلول‌ها در داربست آگارز، ۱۰۰ میکرولیتر آگارز ۱/۵ درصد داخل چاهک دیگری اضافه شد و ۵۰۰ میکرولیتر ۱۰ درصد DMEM و ۱۰ میکرولیتر از سلول مورد نظر به چاهک اضافه گردید و پس از۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت به وسیله تست MTT مورد بررسی قرار گرفتند. هم‌چنین در چاهک دیگری گروه کنترل اضافه شد که شامل سلول‌های مزانشیمی بدون داربست و فقط شامل محیط ۱۰ درصد DMEM بودند.

جهت بررسی قابلیت زنده ماندن و تکثیر سلولی در روزهای تعیین شده ابتدا محیط‌ها تخلیه شدند و سپس با فسفات بافر سالین(PBS) شستشو داده شدند. در مرحله بعد، ۴۰۰ میکرولیتر محیط DMEM خالص و ۴۰ میکرولیتر MTT به آن‌ها اضافه گردید و به مدت ۴ ساعت انکوبه گردیدند. پس از انکوباسیون، محیط‌ها خالی شدند و جهت حل کردن کریستال‌های فورمازان، ۴۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید(DMSO) به آن‌ها اضافه شد و ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند و سپس به وسیله سمپلر ۲۰۰ میکرولیتر از محتویات هر چاهک داخل پلیت‌های ۹۶ تایی قرار داده شدند و میزان جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر به وسیله دستگاه الایزا خوانده شد و قابلیت زنده ماندن سلول‌ها به صورت درصد نسبت به کنترل محاسبه گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس آنووا تجزیه و تحلیل شدند. قابل ذکر است که رنگ MTT، به وسیله میتوکندری سلول‌های زنده جذب می‌شود و تحت تأثیر آنزیم‌های موجود در میتوکندری به کریستال‌های فورمازان تبدیل می‌شود.

یافته‌ها

تأیید سلول‌هایی با مورفولوژی دوکی شکل و چند وجهی در کشت اولیه به وسیله میکروسکوپ معکوس اثبات گردید. به تدریج در پاساژهای بعدی، جمعیت همگن‌تری از سلول‌هایی با مورفولوژی دوکی مانند و خاصیت چسبندگی به کف فلاسک که از خصوصیات شاخص سلول‌های بنیادی مزانشیمی است، تکثیر یافتند(شکل ۱).

با انجام فلوسایتومتری، ظهور مارکرهای CD90,CD44 و CD105 که از مارکرهای اختصاصی

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

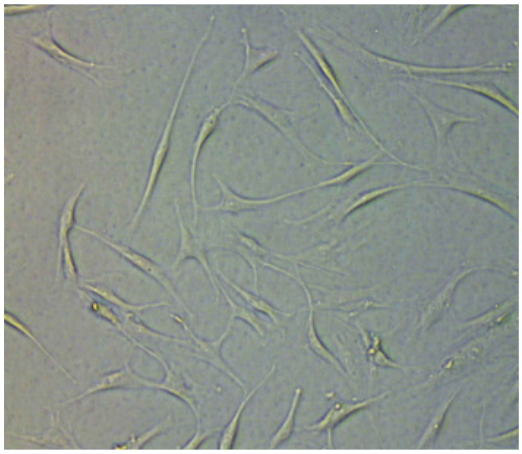
سلول‌های بنیادی مزانشیمی به شمار می‌روند تأیید گردید. به طوری که نتایج فلوسایتومتری حاکی از بیان بالای مارکرهای فوق الذکر به ترتیب برابر با ۹۹/۵۰، ۹۲/۳۶ و ۹۵/۴۲ درصد بودند. در حالی که مارکر سلولی CD34 (مارکر ویژه سلول‌های بنیادی هماتوپویتیک) به میزان بسیار پایینی و در حدود ۷/۹۳ درصد بیان گردید(شکل۲).

بررسی میزان بقای سلولی در دو داربست در زمان های ۲۴ ،۴۸ و۷۲ ساعت با آزمون MTT assay و به وسیله دستگاه الایزا سنجیده شد و با نرم‌افزار SPSS، آنالیز واریانس در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ مورد بررسی قرار گرفت. در نمودار ۱، بررسی بقا و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمال در داربست فیبرین گلو و آگارز در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت، نشان داده شده است. نمودارهای رسم شده، حاصل میانگین سه بار تکرار نمونه‌ها به وسیله MTT assay می‌باشند. هم‌چنین گروه‌های کنترل، نمونه‌های فاقد داربست می‌باشند. میزان بقای سلولی در داربست فیبرین گلو در ۲۴ ساعت ۶۸/۲۲ درصد در مقایسه با داربست آگارز ۸۹/۷۵ درصد و گروه کنترل ۱۰۰ درصد بود. بقا و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی‌مشتق از بافت چربی، پس از گذشت ۴۸ ساعت در داربست فیبرین گلو و آگارز به ترتیب ۶۴/۰۴ و ۶۶/۹۷ درصد در مقایسه با گروه کنترل بود. هم‌چنین بقا و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی در مدت ۷۲ ساعت کشت در داربست فیبرین گلو و آگارز به ترتیب ۲۲۲/۸۷ و ۱۰۸۹/۶۸ درصد نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری در بقای سلولی در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت در داربست فیبرین گلو مشاهده نشد. بر اساس نتایج حاصله، در هر دو داربست افزایش رشد و تحریک سلولی پس از گذشت ۷۲ ساعت مشاهده شد. افزایش رشد و تکثیر سلولی در داربست آگارز نسبت به داربست فیبرین گلو بیشتر بود. از طرف دیگر در داربست آگارز، بقا و تکثیر سلول‌ها در ۷۲ ساعت بیشتر از ۲۴ و ۴۸ ساعت بود. همان‌طور که ملاحظه می‌شود بیشترین میزان تکثیر و بقا سلولی در داربست آگارز و در کشت ۷۲ ساعته حاصل شد. به طوری که میزان رشد و بقای سلولی در داربست آگارز در زمان ۷۲ ساعت حدود ۵ برابر بیشتر از داربست پروتئینی فیبرین گلو ارزیابی گردید. میزان بقای سلولی در داربست آگارز در زمان ۷۲ ساعت، افزایش ۱۲ و ۱۶ برابری را به ترتیب نسبت به زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعته همین داربست نشان داد. هم‌چنین میزان بقای سلولی در داربست فیبرین گلو در زمان ۷۲ ساعت، افزایش تقریباً سه برابری را نسبت به زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان داد.

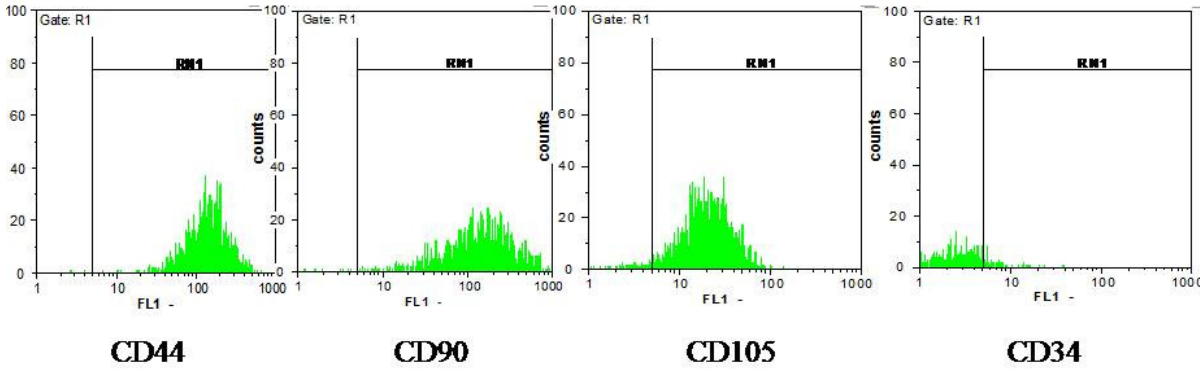
Archive of SID

www.SID.ir

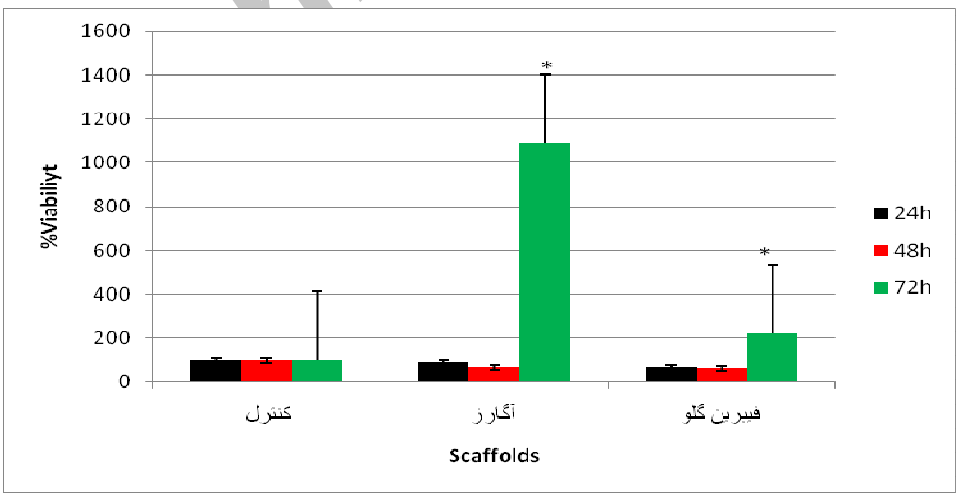
Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015



شکل ۱: تصویر سلول‌های مزانشیمال با بزرگنمایی X۴۰ در تراکم پایین.



شکل۲: ارزیابی بیان مارکرهای سطحی سلول‌های بنیادی مزانشیمی‌مشتق از بافت چربی توسط فلوسایتومتری.



نمودار ۱: نمودار مقایسه دو داربست فیبرین گلو و آگارز در زمان های ۲۴،۴۸،۷۲ ساعت.

***نشان دهنده این است که بین داربست مورد نظر و گروه کنترل مربوطه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۹۵ درصد یا $p< ۰/۰۵$ وجود دارد به عبارتی می‌توان گفت پیش تیمار مربوطه باعث شده است تا اختلاف میانگین مشاهده شود.**

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

بحث

سلول‌های بنیادی مزانشیمی‌دارای ظاهری دوکی شکل با قابلیت اتصال به کف فلاسک محیط کشت و دارای قابلیت تمایز به رده سلول‌های مزودرمی می‌باشند. هم‌چنین به دلیل پتانسیل بالای سلول‌های بنیادی مزانشیمی در ترمیم بافت‌های آسیب دیده، مطالعه بر روی عملکرد فعال سلول‌های بنیادی مشتق از چربی در ترمیم و بازسازی بافت‌های نرم از اهمیت خاصی برخوردار است. از مزایای بافت چربی می‌توان به جمعیت زیاد سلول‌های بنیادی در مقایسه با بافت‌های دیگر از جمله مغز استخوان و انجام پیوند به میزبان‌های خودی و غیر خودی اشاره نمود که در مهندسی بافت مورد توجه می‌باشند(۲۱). نکته حائز اهمیت، در دسترس بودن بافت چربی طی انجام جراحی‌های زیبایی از جمله لیپوساکشن می‌باشد(۲۲). امروزه استفاده از مهندسی بافت در درمان انواع ضایعات پوستی، استخوانی، غضروفی و غیره مورد توجه است، زیرا این بافت‌ها توانایی ترمیم خود به‌خودی ندارند و از طرف دیگر امکان انجام پیوند از یک فرد به فرد دیگر، به‌علت واکنش ایمنی زایی مقدور نیست.

در سال‌های اخیر تعدادی از مواد زیستی طبیعی مانند کیتوزان، هیالورونیک اسید و غیره به صورت تجاری در دسترس قرار گرفته‌اند. فیبرینوژن و فیبرین از دیگر انواع مواد طبیعی مشتق شده از بافت‌ها می‌باشند که می‌توانند برای ایجاد داربست‌های سه بعدی مورد استفاده قرار گیرند(۲۳).

تحقیقی در سال ۲۰۰۲ به وسیله کوری و همکاران انجام شد که برای تولید سلول‌های چربی و استخوانی از سلول‌های بنیادی مشتق از چربی زیر پوست استفاده شد و به دلیل داشتن توانایی ایجاد کلون‌هایی شبیه بافت غضروف و استخوان، روش طراحی بافت غضروفی با به کارگیری سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی، بسیار مورد توجه قرار گرفت(۲۴).

به طور کلی با ایجاد فناوری مهندسی بافت و سلول درمانی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی، درمان بسیاری از بیماری‌های بافتی امکان‌پذیر شده و البته نکته مهم جنس داربست سلولی و میزان پایداری آن است(۲۵).

در محیط درون و برون بدنی، فیبرین و فیبرونکتین امکان حمایت از رشد سلول‌های کراتینوسایت و فیبروبلاست را نشان داده است و به نظر می‌رسد که تحرک سلولی را در محل های زخم افزایش می‌دهند. زمانی که جهت کشت سلول‌های مزانشیمال از این مواد در ترکیب یک داربست استفاده می‌شود، فیبرین در مقایسه با سایر مواد طبیعی در برخی موارد برتری دارد. چسب فیبرینی هم‌چنین قابلیت خوبی در انتقال فاکتورهای رشد اکسوژنی از خود نشان داده است که می‌تواند در آینده شتاب بخشیدن به روند درمان زخم به کار گرفته شود(۲۶).

فراوانی فیبرینوژن، خالص‌سازی ساده آن، توانایی برای کنترل زمان‌های ژلاتینی شدن به وسیله

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

تغییر تغلیظ ترومبین و خواص مکانیکی فیبرین ژل‌ها، مزایای فیبرین در درمان زخم‌ها و مهندسی بافت هستند(۲۷).

اگرچه فیبرین برای افزایش استخوان‌سازی در آزمایشگاه تأثیرگذار است، قدرت مکانیکی لازم برای مهندسی بافت استخوان را ندارد و مطالعه‌های آزمایشگاه حتی زمانی که یک داربست محکم فیبرین را می‌پوشاند نا امید کننده بود(۲۹ و۲۸)، ولی فیبرین به عنوان داربست برای رشد سلول‌های غضروف، عصبی و قلبی و عروق مؤثرتر است. به کارگیری فیبرین در مهندسی بافت غضروف، سبب افزایش بیان گلوکوزآمین و کلاژن II می‌شود، در حالی که مانع از سنتز کلاژن I می‌شود. به علاوه توده فیبرین به عنوان داربست برای آنژیوژنز نیز عمل می‌کند و این ویژگی فیبرین را به طور خاص برای مهندسی بافت قلبی عروقی مناسب می‌کند (۳۱و۳۰).

در پژوهش‌های سال‌های اخیر، داربست فیبرین گلو به عنوان کاندیدی مناسب جهت داربست طبیعی برای تمایز سلول‌های چربی معرفی شد و طی آزمایش‌های صورت گرفته تلفیق سلول‌های مزانشیمی‌مشتق از چربی و داربست فیبرین گلو، موجب زنده ماندن طولانی مدت سلول‌ها تا ۸۴ روز بوده است(۳۲). نتایج این تحقیق نیز مشابه با نتیجه تحقیق آیوکی و همکاران نشان داد که فیبرین گلو سبب تحریک تکثیر سلولی می‌شود. هم‌چنین پژوهش‌های مختلف بیانگر این مساله می‌باشد که افزایش استفاده از فیبرینوژن در داربست فیبرین گلو موجب افزایش تکثیر سلول‌ها خواهد شد(۳۲).

چن و همکاران در سال ۲۰۱۲، تلفیق پلاکت انسانی با داربست فیبرین را مورد بررسی قرار دادند. پلاکت انسانی با فیبرینوژن گاوی و سپس با ترومبین که به فرم داربست فیبرین می‌باشد ترکیب شد. نتایج نشان داد با توجه به این که تمایز و تکثیر کندروسیت‌ها در داربست فیبرین گلو به خوبی صورت می‌گیرد، اما هنگامی‌که پلاکت انسانی به این مجموعه اضافه شد نتایج بهتری حاصل می‌شود(۳۳).

در تحقیقی که به وسیله جانگ و همکاران بر روی سلول‌های مزانشیمی موش صحرایی با فیبرین و هیدروکسی آپاتیت ادغام شده در داربست ساخته شده از پلی لاکتیک اسید انجام شد، ماندن سلول‌ها کاهش یافته و سمیت در طول روز اول به شدت افزایش یافته، اما به تدریج سلول‌ها در داربست تثبیت شده و از روز ۱۷ سمیت شروع به کاهش و فعالیت آلکالین فسفاتاز شروع به افزایش کرد(۳۴).

در تحقیقی از هیدروژل آگارز جهت ساخت داربست سه بعدی جهت رشد و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست استفاده شد و نتایج نشان داد که این داربست رفتاری مشابه محیط سه بعدی سلول را تقلید می‌کند و بدون اینکه سمیتی برای سلول‌ها داشته باشد، سبب رشد و تکثیر مناسب سلولی می‌شود(۱۸).

وارونی و همکاران از ژل آگارز ۱/۵ درصد به عنوان داربستی در جراحی‌های ترمیمی استفاده کردند. نتایج این مطالعه حاکی از کارآیی مناسب ژل آگارز در فرآیند ایمپلنت می‌باشد. به طوری که

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

ایمپلنت‌های آگارز زیر جلدی سبب القای مؤثر رگ های جدید و بافت فیبروز شدند(۱۹).

هانگ و همکاران نیز از داربست بهینه‌سازی شده آگارز جهت ترمیم بافت غضروفی استفاده نمودند. این داربست سازگاری بالایی را با سلول‌های مورد نظر نشان داد و درصد زیستایی سلول‌ها بیش از ۹۰ درصد گزارش شد(۳۵).

در این مطالعه بررسی مقایسه‌ای توانایی زیستایی سلول‌های مزانشیمی‌مشتق از بافت چربی در داربست‌های آگارز و فیبرین گلو انجام شد. نتایج تست MTT assay در تحقیق حاضر نشان داد که سلول‌ها در ۲۴ ساعت پس از کشت، رشد و بقای بیشتری بر روی داربست آگارز نسبت به داربست فیبرین گلو داشتند. ولی ۴۸ ساعت پس ازکشت، تفاوت معنی‌داری در رشد و بقای سلولی در دو داربست مشاهده نشد. در عوض پس از گذشت ۷۲ ساعت از کشت سلولی، تکثیر و بقای سلولی در داربست آگارز نسبت به فیبرین گلو، ۵ برابر بیشتر بود، به نظر می‌رسد که داربست آگارز به دلیل میزان تخلخل بالا، چسبندگی مناسبی برای سلول‌ها فراهم کرده و سمیت کمتری نسبت به داربست فیبرین گلو ایجاد نموده به نحوی که در ۷۲ ساعت پس از کشت، به طور معنی‌داری درصد زنده ماندن سلول‌ها بر روی داربست آگارز افزایش یافت. نتایج به خوبی بیانگر این مسئله است که داربست آگارز در ایجاد رفتار سلولی مناسب، عملکرد بهتری داشته و سبب تحریک رشد سلولی شد. با توجه به شباهت ساختاری آن با ماتریکس خارج سلولی طبیعی این انتظار هم وجود داشت.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج تحقیق، هر دو داربست جهت تکثیر سلول‌های مزانشیمی مناسب هستند، ولی داربست آگارز، بستر مناسب‌تری جهت رشد سلول‌های مزانشیمی فراهم می‌آورد. نتایج مطالعه‌ها نشان می‌دهد که ژل آگارز دارای خواص زیست سازگاری مناسبی می‌باشد که از آن جمله می‌توان به ایمن بودن، مؤثر بودن، کم هزینه بودن و دسترسی آسان آن اشاره کرد. از سویی قابل کنترل بودن و تخریب پذیری آن از دیگر مزایای آگارز به شمار می‌رود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد می باشد. بدین وسیله از حمایت های آزمایشگاه سلول های بنیادی، در مرکز فوق تخصصی درمان ناباروری جهاد دانشگاهی واحد قم تشکر می گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

REFERENCES:

1.Tabata Y. Tissue regeneration based on tissue engineering technology. Congenit Anom 2004; 44: 111-24.
2.Mikos AG, Temenoff JS. Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue. Elec J Biotech 2000; 3(2): 1-6.
3.Krampera M, Pizzolo G, Franchini M. Mesenchymal stem cells for bone,cartilage,tendon and skeletal muscle repair. Bone 2006; 39 (4): 678-83.
4.Choi YS, Cha SM, Lee YY, Kwon SW, Park CJ, Kim M. Adipogenic differentiation of adipose tissue derived adult stem cells in nude mouse. Biochem Biophys Res Commun 2006; 345(2): 631-7.
5.Colter DC, Sekiya I, Prockop DJ. Identification of a subpopulation rapidly self-renewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells. Proc Natl Acad Sci 2001; 98(14): 7841-5.
6.Dezawa M, Kanno H, Hoshino M, Cho H, Matsumoto N, Itokazu Y, et al . Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologus transplantation. J Clin Invest 2004; 113(12): 1701-10.
7.Jacobi A, Rauh J, Bemstein P, Liebers C, Zou X, Stiehler M. Comparative analysis of reference gene stability in human mesenchymal stromal cells during osteogenic differentiation. Biotechnol Prog 2013; 29(4): 1034-42.
8.Lovell-Badge R. The future for stem cell research. Nature 2001; 414(6859): 88-91.
9.Jacobi A, Rauh J, Bernstein P, Liebers C, Zou X, Stiehler M. Comparative analysis of refrence gene stability in human mesenchymal stromal cells during osteogenic differentiation. Biotechnol Prog 2013; 29(4):1034-42.
10.Song L, Baksh D, Tuan RS. Mesenchymal stem cells based cartilage tissue engineering cells scaffold and biology. Cytoherapy 2004; 6 (6): 596-601.
11.Reddi AH. Symboisis of biotechnology and biomaterials:applications in tissue engineering of bone and cartilage. J Cell Biochem 1994; 56(2): 192-5.
12.Ferretti JL, Gaffuri O, Capozza R, Cointry G, Bozzini C, Olivera M, et al. Dexamethasone effects on mechanical,geometric and densitometric by peripheral quantitative computerized tomography and bending tests. Bone 1995; 16(1):119-24.
13.Currie LJ, Sharpe JR, Martin R. The use of fibrin glue in skin grafts and tissue engineered skin replacements:a review. Plast Reconstr Surg 2002; 108(6): 1713-26.
14.Tønnesen HH, Karlsen J. Alginate in drug delivery system. Drug Dev Ind Pharm 2002; 28 (6): 621-30.
15.Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell 2002; 13(12): 4279-95.
16.Hashemibeni B, Razavi S, Esfandiary E, Karbasi S, Mardani M, Nasresfahani M. Induction of chondrogenic differentiation of human adipose-derived stem cells with TGF-β3 in pellet culture system. IJBMS 2008; 11(1): 10-7.
17.Woo EY, Lee JE, Yang MS, Jang IK, Kim HE, Lee DH, et al. Rapid Isolation of Adipose Tissue-Derived Stem Cells by the Storage of Lipoaspirates. Yonsei Med J 2011; 52(6): 999–1007.
18.Bates M. Three-Dimensional Mammalian Cell Culture Using Hydrogel Filled Scaffold. Proceeding of the National Conference On Undergraduate Research (NCUR): 2013; 11-13 University of Wisconsin, La Crosse, Wisconsin.
19.Varoni E, Tschon M, Palazzo B, Nitti P, Martini L, Rimondini L. Agarose gel as biomaterial or scaffold for implantation surgery: characterization, histological andhis tomorphometric study on soft tissue response. Connect Tissue Res 2012; 53(6): 548-54.
20.Zhao H, Ma L, Zhou J, Mao Z, Gao C, Shen J. Fabrication and physical and biological properties of fibrin gel derived from human plasma. Biomed Mater 2008; 3(1): 015001.
21.Ra JC, Shin IS, Kim SH, Kang SK, Kang BC, Lee HY, et al. Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans. Stem Cells Dev 2011; 20 (8): 1297-308.
22.Elahi M, Kabirsoleimani M, Shiravi A. Investigate the possibility of using enzymes to extract mesenchymal stem cells from human adipose tissue. J Med Res 2011; 4(35): 200-80.
23.Rackwitz L, Djouad F, Janjanin S, Nöth U, Tuan RS. Functional cartilage repair capacity of de-differentiated, chondrocyte- and mesenchymal stem cell-laden hydrogels in vitro. Osteoarthritis Cartilage 2014; 22(8): 1148-57.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

24.Currie LJ, Sharpe JR, Martin R. The use of fibrin glue in skin grafts and tissue engineered skin replacements:a review. Plast Reconstr Surg 2002; 108 (6): 1713-26.
25.Hayes DW JR, Averett RK. Articular cartilage transplantation.Current and future limitations and solutions. Clin podiatry Med Surg 2001; 18(1): 161-76.
26.Laurens N, Koolwijk P, de Maat MP. Fibrin structure and wound healing. J Thromb Haemost 2006; 4(5): 932–9.
27.Weisel JW, Cederholm-Williams SA. Fibrinogen and fibrin: characterization, processing and medical applications. In Handbook of biodegradable polymers. Domb AJ, Kost J, Wiseman DM(editors). Amsterdam: The Netherlands; 1997; 347–65.
28.Kneser U, Voogd A, Ohnolz J, Buettner O, Stangenberg L, Zhang YH, et al. Fibrin gel-immobilized primary osteoblasts in calcium phosphate bone cement: in vivo evaluation with regard to application as injectable biological bone substitute. Cells Tissues Organs 2005; 179 (4): 158–69.
29.Arkudas A, Tjiawi J, Bleiziffer O, Grabinger L, Polykandriotis E, Beier J, et al. Fibrin gel-immobilized VEGF and bFGF efficiently stimulate angiogenesis in the AV loop model. Mol Med 2007; 13(9-10): 480–7.
30.Dragoo JL, Carlson G, McCormick F, Khan-Farooqi H, Zhu M, Zuk PA, et al. Healing full thickness cartilage defects using adipose-derived stem cells. Tissue Eng 2007; 13(7): 1615–21.
31.Eyrich D, Brandl F, Appel B, Wiese H, Maier G, Wenzel M, et al. Long- term stable fibrin gels for cartilage engineering. Biomaterials 2007; 28(1): 55–65.
32.Aoyaqi Y, Kuroda M, Asada S, Tanaka S, Konno S, Tanio M, et al. Fibrin glue is a candidate scaffold for long-term therapeutic protein expression in spontaneously differentiated adipocytes in vitro. Exp Cell Res 2011; 318(1): 8-15.
33.Chien CS, Ho HO, Liang YC, Ko PH, Sheu MT, Chen CH. Incorporation of exudates of human platelet-rich fibrin gel in biodegradable fibrin scaffolds for tissue engineering of cartilage. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2012; 100(4): 948-55.
34.Jung O, Hanken H, Smeets R, Hartjen P, Friedrich RE, Schwab B, et al. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in fibrin-hydroxyapatite matrix in a 3-dimensional mesh scaffold. In Vivo 2014; 28(4): 477-82.
35.Hung CT, Lima EG, Mauck RL, Takai E, LeRoux MA, Lu HH, et al. Anatomically shaped osteochondral constructs for articular cartilage repair. J Biomech 2003; 36 (12): 1853-64.

Archive of SID

www.SID.ir

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:12 IRST on Sunday December 13th 2015

Comparison of Viability of Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells on Agarose and Fibrin Glue Scaffolds

Tafvizi F [1*], Hayati Roodbari N [2]

[1]Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran, [2]Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 28 Jan 2015 Accepted: 18 April 2015

Abstract

Background & aim: Utilizing tissue engineering techniques and designing similar structures of the damaged tissues require the use of tools such as scaffolds, cells, and bioactive molecules *in vitro*. Meanwhile, appropriate cell cultures with the ability to divide and differentiate on the natural scaffolds lacking features like immunogenicity and tumorgenesis is particularly important. Adipose tissue has attracted researchers' attention due to its abundance of mesenchymal stem cells and its availability through a liposuction. The purpose of the present study was to investigate the reproducibility and viability of the adipose-derived stem cells on natural scaffolds of fibrin glue and agarose.

Methods: In the present experimental study, the isolation and identification of the mesenchymal stem cells was performed on tissue obtained from liposuction. The tissues were extensively washed with PBS and were digested with collagenase I, then the mesenchymal stem cells were isolated. The cells were cultured in RPMI medium supplemented with antibiotic. Subsequently, the expression of cell surface markers including CD34, CD44, CD90, and CD105 were analyzed by flow cytometry to confirm the mesenchymal cells. After preparing fibrin glue and agarose scaffolds, the viability and proliferation of the adipose tissue-derived mesenchymal stem cells were examined at the period of 24, 48, and 72 hours by MTT and ELISA assays. The obtained results were analyzed by SPSS ver.19.

Results: The results of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells culture on the fibrin glue and agarose scaffolds indicated that cell viability on fibrin glue and agarose scaffold were 68.22% and 89.75% in 24 hrs, 64.04% and 66.97% in 48 hours, 222.87% and 1089.68% in 72 hours respectively. Significant proliferation and viability cells on a synthesized agarose scaffold were seen compared to the fibrin glue scaffold after 72 hrs. The viability of the cells significantly increased on the agarose scaffold.

Conclusion: Due to stability and permeability of scaffolding agarose, it seems that scaffolding agarose created better adhesion of cells in the performance of cell proliferation process compared with fibrin glue scaffold.

Keywords: Adipose-derived mesenchymal stem cells, Agarose scaffold, Fibrin glue scaffold, MTT assay.

[*]**Corresponding author: Tafvizi F,** Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran
Email: Farzanehtafvizi54@gmail.com

Please cite this article as follows:
Tafvizi F, Hayati Roodbari N. Comparison of Viability of Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells on Agarose and Fibrin Glue Scaffolds. Armaghane-danesh 2015; 20 (3): 184-197.

Archive of SID

www.SID.ir