

بررسی امکان رشد سلولهای استخوانی (Saos-2) روی داربستهای پوشش دار شده با نانوذرات کیتوزان-آلژینات

حوری نصیرنیا^{۱*}، محمدرضا قلمبران^۲، امیر میمندی پور^۳ و منصور بیات^۱

^۱ تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست‌شناسی

^۲ تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست‌شناسی

^۳ تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۲۵

چکیده

در سالهای اخیر در کشور ایران هرساله حدود ۲۲۰۰۰ مرگ و ۷۰۰۰۰ مجروح به علت حوادث رانندگی اتفاق می‌افتد، که تقریباً ۹۲ درصد از مجروحین دارای شکستگیهای استخوانی هستند و جهت ترمیم آسیبهای استخوانی به ارتوپدی مراجعه می‌کنند. طی گزارشات منتشر شده از دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، حدود ۸۵ درصد از پیوندهای مغز استخوان به علت تهاجم باکتریها و قارچها ناموفق بوده‌اند. تکنیک استفاده از داربستها به عنوان بستر مناسبی برای تکثیر و رشد سلولها و بافتها از جمله راهکارهای ترمیم بافتهای صدمه دیده می‌باشد. با این وجود استفاده از داربستهای زیست‌سازگار به منظور درمان نقایص استخوانی همواره با چالشهای زیادی از جمله عدم استحکام، زیست‌سازگاری پایین، طول عمر پایین سلولهای روی داربست به علت تهاجم باکتریها و قارچها روبرو بوده است. در این راستا از مهم‌ترین اهداف این تحقیق، بررسی خواص سیتوتوکسیسیته داربستهای پوشش دار شده با نانوذرات کیتوزان - آلژینات، بررسی امکان رشد و حیات سلولهای استخوانی روی داربستهای بدون پوشش و پوشش دار شده با نانوذرات بودند. نتایج به دست آمده نشان داد که سلولها بر روی داربستهای پوشش دار شده با نانوذرات در مقایسه با داربستهای بدون پوشش به طور طبیعی رشد کردند. همچنین میزان چسبندگی سلولهای استخوانی پس از ۷۲ ساعت در این داربستها به شکل نرمال صورت گرفت. از طرفی دیگر بررسی ساختار داربستها با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که داربستهای پوشش دار شده با نانوذرات کیتوزان-آلژینات دارای خلل و فرج کافی برای رشد سلولهای استئوبلاست می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: داربست، نانوذرات، سلول استئوبلاست، ضدباکتریایی، پوشش دار

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۵۲۲۸۸۵۸۱، پست الکترونیکی: Hour_i_nassirmia@yahoo.co.uk

مقدمه

استفاده از داربستها در ترمیم بافتهای آسیب دیده از مهمترین روشهای مورد استفاده در جراحی اعضای بدن، شکستگیها و نقایص استخوانی محسوب می‌گردد. داربستهای ساخته شده از ترکیبات زیست‌سازگار بستر مناسبی را برای رشد سلولها و مولکولهای زیستی فراهم می‌کنند و به عنوان بافتهای مصنوعی برای انتقال و رشد

سلولها در محلهای آسیب دیده بدن مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶، ۱۱ و ۱۳). داربستها محل استقرار سلولها هستند. محیط رشد سلولها بایستی عاری از هر گونه آلودگیهای باکتریایی و قارچی باشند تا سلولها رشد کامل داشته و بافت آسیب دیده را ترمیم نمایند. با توجه به اینکه دو عامل مهم در این آلودگیها نقش دارند: (۱) تهاجم عوامل

شد. برای ساخت داربست ژلاتین - نشاسته به نسبت ۷۵:۲۵، ابتدا ۰/۷۵ گرم ژلاتین در ۷/۵ میلی لیتر آب دیونیزه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد حل شد، سپس ۰/۲۵ گرم نشاسته را به طور جداگانه در ۲/۵ میلی لیتر آب دیونیزه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد حل کرده و در مرحله بعد هر دو محلول را با هم مخلوط و در انتها ۵ برابر وزن کل NaCl اضافه گردید، برای به دست آوردن مخلوط همگن، به مدت ۲ ساعت هم زده شد تا آب محلول کاملاً تبخیر شد، در نهایت پس از ۲۴ ساعت جهت ایجاد اتصال عرضی از محلول استن و EDC استفاده گردید. در انتها جهت حذف عامل شبکه کننده، داربست‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آب مقطر قرار داده و پس از آن برای خشک کردن داربست‌ها، به روش Freez drying خشک گردید (۱) و (۱۲).

جدول ۱- مواد مورد استفاده در ساخت داربست

| کشور | مواد/ محلول |
|---------------|--|
| سازنده | |
| Sigma-Aldrich | Starch from potato |
| Sigma-Aldrich | Gelatin type A from Porcine skin |
| Sigma-Aldrich | (EDC)N-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimide hydrochloride |
| Merck | NaCl |
| Merck | Aceton |

سنتر نانوذرات: مواد مورد نیاز جهت سنتز نانوذرات کیتوزان - آلزینات در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- مواد و محلول‌های مورد استفاده در ساخت نانوذرات

| کشور سازنده | مواد/ محلول |
|---------------|--------------------------------|
| Sigma-Aldrich | Chitosan |
| Sigma-Aldrich | Alginate |
| Merck | Acetic acid |
| Merck | (TPP)Penta-sodium triphosphate |
| Merck | NaOH |

جهت ساخت نانوذرات کیتوزان- آلزینات ابتدا مقدار ۲۰ میلی گرم پودر کیتوزان را در ۱۰ میلی لیتر اسید استیک ۱ درصد حل کرده و به مدت ۱ ساعت همراه با حرارت هم زده، سپس محلول TPP با غلظت ۱ میلی گرم در میلی لیتر

بیماریزا از محیط خارج به داخل. ۲) وجود ترکیبات رشد دهنده باکتریها در داربست مانند نشاسته، ژلاتین و غیره، و داربست‌ها در محیط و شرایط آزمایشگاهی ساخته می شوند، احتمال تهاجم باکتریها و قارچها در طول ساخت داربست وجود دارد. همچنین این نوع آلودگیها در حین تصادفات و باز بودن زخم و جراحات ایجاد می گردند و در صورت انتقال بافتهای مصنوعی و یا پیوند بافتهای طبیعی می توانند موجب عدم موفقیت پیوند بافت گردند. برای نمونه نتایج گزارشات نشان داده است پیوند کلیه و یا پوست پس از سالها دچار اختلال و پس زدگی بافت شده است (۱، ۴ و ۱۰). بررسیهای تحقیقاتی بر روی داربستهایی که توسط محققین پیشین ساخته شده بود، نشان داد که از علل اصلی عدم موفقیت رشد سلولها روی داربست‌ها و بعد پس زدگی پیوند بافتها، مناسب بودن محیط و جنس داربست‌ها برای رشد باکتریها و قارچهاست. امروزه می توان به منظور افزایش توانایی داربست‌ها در کنترل رشد باکتریها و قارچها از پوششهای نانوذرات استفاده کرد. اما این ترکیبات به دلیل داشتن ویژگیهای ضد باکتریایی ممکن است برای رشد سلولهای هدف موجب استرس و یا مانع رشد طبیعی و نهایتاً باعث مرگ سلول گردند. بنابراین طرح تحقیقاتی به منظور بررسی اثرات نانوذرات زیستی کیتوزان - آلزینات به عنوان لایه های پوششی روی سطوح داربستهای ساخته شده از ژلاتین - نشاسته برای کشت و رشد سلولهای استخوانی؛ در مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی پزشکی و مهندسی بافت بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی اجرا گردید.

مواد و روشها

مواد: مواد مورد استفاده در ساخت داربست ژلاتین - نشاسته در جدول ۱ نشان داده شده است.

ساخت داربست: جهت ساخت داربست ژلاتین- نشاسته مطابق روش محققین پیشین همراه با اعمال تغییراتی عمل

پوشش دار کردن داربستها با نانوذرات کیتوزان-آلژینات: به منظور پوشش دار کردن داربستها، پس از ساخت داربست، به روش CPT (Co Precipitation Test) داربستها پوشش دار گردیدند (۵).

کشت سلول: مواد مورد نیاز جهت کشت سلولهای استخوانی در جدول (۳) مشاهده می‌شود.

آب مقطر ساخته شد. در مرحله بعد ۴۵ میلی گرم پودر آلژینات در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و دو محلول آلژینات و TPP به یک نسبت مشخص با همدیگر مخلوط گردید، محلول آلژینات/TPP به کیتوزان با نسبت ۱:۳ اضافه و در انتها سونیکیت شد (۷ و ۱۴).

جدول ۳- مواد مورد استفاده در کشت سلول

| کشور سازنده | مواد/ محلول |
|----------------|---|
| Biowest | RPMI(1640) |
| Biowest | Fetal bovine serum (FBS) |
| Biowest | Phosphate buffered saline (PBS) |
| Biosera | Trypsin |
| Gibco | Antibiotics(penicillin, streptomycin) |
| Gibco | Dimethyl sulfoxide (DMS) |
| Gibco | (MTT)3-(4,5-dimethyl ethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide |
| Gibco | Glutaraldehyde |
| Sigma- Aldrich | Trypan blue |

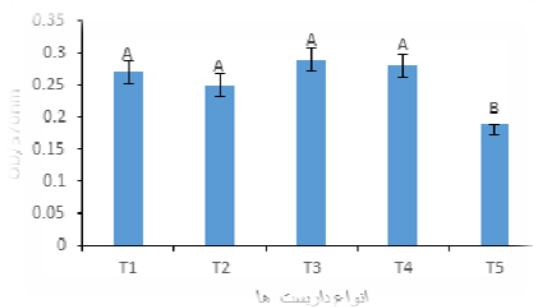
سرم جنین گاوی (FBS) و ۱۰۰ mg/ml آنتی بیوتیک پنی سیلین- استرپتومایسین بود.

جهت کشت سلول، ابتدا سلولهای استخوانی از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند، (تصویر ۱- سلولهای Saos-2). محیط کشت سلول حاوی، RPMI 1640، ۱۰ درصد



تصویر ۱- سلولهای استنوبلاست (Saos-2)

مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند، سپس با محلول PBS شستشو گردیدند و پس از تثبیت سلولی، داربست‌ها در محلول اتانول با غلظت‌ها مختلف (۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ درصد) هر کدام به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته و دهیدراته شدند (۱۷). سپس نمونه‌ها در محیط قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند. بعد از خشک شدن کامل با طلا پوشش دار شده سپس با استفاده از دستگاه SEM، مورفولوژی و رفتار آنها مشاهده شد (تصویرهای ۲ و ۳).



نمودار ۱- نمودار آزمون MTT سلول‌های ۳ روزه. T1: داربست ژلاتین - نشاسته (بدون پوشش)، T2: داربست با پوشش کیتوزان، T3: داربست با پوشش کیتوزان - آلژینات، T4: داربست با پوشش آلژینات، T5: داربست کیتوزان آلژینات. حروف الفبای انگلیسی بیانگر مقادیر واریانس خطای آزمایش برای هر تیمار به طور جداگانه در آزمون LSD می‌باشد. عدم مشابهت حروف برای تیمارها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۹ درصد می‌باشد. سلول‌ها در حضور نانوذرات (T2-T4)، در مقایسه با داربست بدون پوشش (T1) دارای رشد و تکثیر طبیعی هستند.

بحث

توسعه داربست‌های زیستی به عنوان بسترهای مناسب جهت رشد و انتقال مولکول‌های زیستی و سلول‌های حیاتی از مهم‌ترین نیازهای مهندسی بافت می‌باشد. داربست‌ها به طور موفقیت‌آمیز در زمینه‌های مختلف مهندسی بافت استفاده شده‌اند. از جمله این موارد می‌توان به تشکیل استخوان، بازسازی دندان، اصلاح ناهنجاری‌های گوش و بینی، گسترش غضروف، قرنیه مصنوعی، دریچه‌های قلب، اصلاح تاندون، جایگزینی رباط و تومورها اشاره کرد. آنها همچنین در التهاب مهره، دیابت، بیماری‌های قلبی و پانسمان

سلول‌ها در فلاسک‌های فیلتردار کشت و هر دو روز یک بار پاساژ داده شدند، این مرحله چندین بار تکرار شد تا مقدار معینی سلول به دست آمد. پس از اینکه داربست‌های ژلاتین - نشاسته برای کشت سلول آماده سازی شدند، به مدت ۴۸ ساعت در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفته و با محلول PBS شستشو داده شدند. در انتها شمارش سلولی با محلول تریپان بلو (۰/۴ گرم پودر تریپان بلو در ۱۰۰ میلی لیتر محلول PBS) انجام گرفت و مقدار 3×10^5 سلول روی هر داربست ریخته شد (۹). پس از ۳ روز رشد سلول‌های استخوانی بر روی داربست، تست‌های مربوطه انجام گرفت.

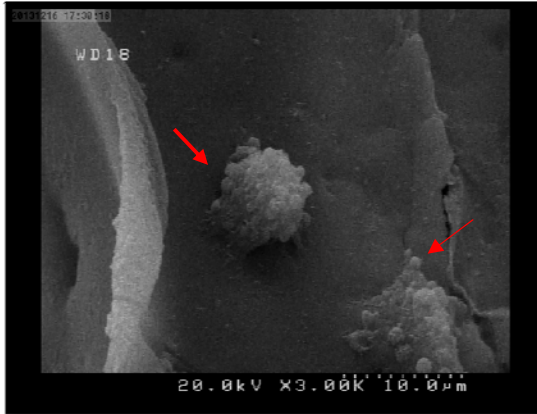
نتایج

سنجش چسبندگی و رشد سلول با آزمون MTT: ابتدا داربست‌های حاوی سلول با محلول PBS شستشو داده و به خانه‌های جدید در پلیت ۶ خانه انتقال داده شد، بر روی هر داربست ۴۵۰ میکرولیتر محیط کشت RPMI 1640 و ۵۰ میکرولیتر معرف MTT ریخته و به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند و در مرحله بعدی به منظور حل کردن بلورهای فرمازان محلول قبلی خارج گردید و به هر یک از نمونه‌ها ۵۰۰ میکرولیتر محلول DMSO اضافه گردید. سپس نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردیدند (۸ و ۱۵). البته با توجه به جذب مقداری از رنگ فورمازان توسط داربست‌ها این تست به طور رایج صورت نمی‌گیرد. اما اختلاف رنگ بین داربست‌های حاوی سلول با داربست شاهد قابل مشاهده است. نمودار ۱ نتایج آزمون MTT سلول‌های سه روزه را نشان می‌دهد.

مشاهده مورفولوژی سلول با میکروسکوپ الکترونی (SEM): پس از گذشت ۳ روز از رشد سلول‌ها، جهت تثبیت داربست حاوی سلول و آماده سازی برای عکسبرداری SEM ابتدا داربست‌ها توسط محلول PBS دو بار شستشو شدند و در محلول گلو تار آلدهید ۲/۵ درصد به

ویژگی ضد باکتریایی بستر مناسبی جهت رشد و تکثیر سلولها در مقایسه با داربستهای بدون پوشش می باشند. با این حال هنوز این تکنیک احتیاج به تحقیقات و آزمایشات بیشتری دارد.

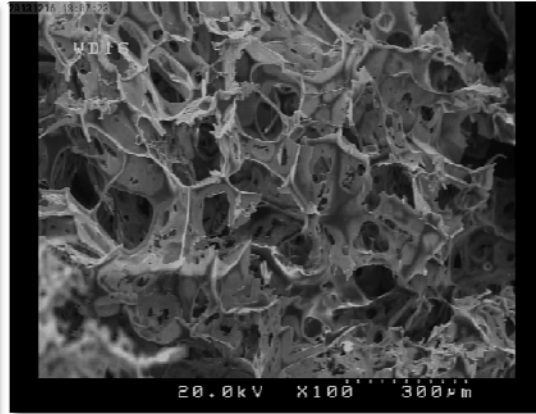
زخمها استفاده می شوند. داربستها می توانند جهت ارائه سیگنالهای مناسب به سلولها، القاء و حفظ آنها در مرحله تمایز و حفظ بقاء و رشدشان مورد استفاده قرار گیرند (۴ و ۱۵). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که داربستهای پوشش دار با نانوذرات سنتز شده از پلیمرهای زیست سازگار با



تصویر ۳- سلول Saos-2 بر روی داربست پوشش دار شده با نانوذرات

بر روی سطح داربست متخلخل پلیمری جذب شود و موجب افزایش رشد سلول گردد، (۴) pH محیط، به طوری که سلول در pH تقریبی ۷ دارای رشد نرمال است بدین منظور محلول نانوذرات ساخته شده جهت پوشش دار کردن داربستها، با این شرایط سازگار گردیدند. (۵) دما.

در این مطالعه رفتار سلولهای استئو بلاست بر روی داربستهای پوشش دار شده با نانوذرات کیتوزان - آلژینات بررسی شد و به منظور بررسی تغییرات چسبندگی سلولها استخوانی (Saos-2) پس از ۳ روز، عکسبرداری (SEM) صورت گرفت و مشاهده شد سلولها در خلل و فرج داخل داربستها (پوشش دار و بدون پوشش) به طور طبیعی جایگزین شده و رشد مطلوب داشتند. هیچ گونه تغییرات مورفولوژی در داربستهای پوشش دار شده در مقایسه با داربستهای بدون پوشش مشاهده نشد. تصاویر SEM مربوط به داربست پوشش دار شده فاقد سلول و حاوی سلول که در تصویر ۲ و ۳ قابل مشاهده است و نشان دهنده



تصویر ۲- داربست ژلاتین- نشاسته فاقد سلول

تاثیر نانوذرات بر حیات سلولهای روی داربست: فاکتورهای مهمی مبنی بر پاسخ سلول به داربست و حیات مطلوب سلول بر روی داربستهای زیستی وجود دارد. حیات سلول روی داربست به عوامل متعددی بستگی دارد، مانند: (۱) مواد مورد استفاده در ساخت داربست، نقش ویژه ای در جذب پروتئین دارند بدین صورت که، وقتی سلول به سطح مواد داربست می چسبد، به یکسری از پروتئینهای سیتوپلاسمی، پروتئینهای داخل غشایی و پروتئینهای خارج سلولی نیازمند است، (۲) زیست سازگاری داربستهای سلولی، در صورتی که داربستهای سلولی دارای زیست سازگاری مطلوبی نباشد، علاوه بر ایجاد سمیت برای سلولها باعث می شود رفتار ثانویه سلول نیز تحت تاثیر قرار گیرد و پاسخ آلرژیک در سلولها ایجاد نماید، (۳) آب گریزی سطوح داربستها به عنوان یک فاکتور کلیدی بر پاسخ سلول شناخته شده است، سطح آب دوستی مواد داربست، چسبندگی سلولی بیشتری را در سطوح ایجاد می کند (۲ و ۳). یا اینکه ممکن است لایه پروتئینی چسبناکی

سمیت، زیست‌سازگاری و خواص فیزیکی- شیمیایی مناسب مواد مورد استفاده در ساخت داربست و نانوذراتی که به عنوان پوشش ضد باکتریایی بر روی داربستها استفاده شده‌اند، است و این داربستها کاندید مناسبی جهت کاربرد در مهندسی بافت استخوان هستند.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی پزشکی و مهندسی بافت بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام یافته است، نگارندگان بدین وسیله از سرکار خانم صدف مهبودی، جناب آقای مهندس محسن جانملکی و جناب آقای دکتر حبیب اله پیروی به خاطر همکاری بی دریغشان کمال تشکر و امتنان را دارد.

این است که این داربستها محیطی خوب و مناسبی برای رشد سلولهای استئوبلاست فراهم نموده‌اند. با توجه به نتایج آزمون MTT صورت گرفته بر روی داربستها، درصد رشد و حیات سلولها بر روی هر یک از داربست بدون پوشش ژلاتین - نشاسته و داربست با پوشش کیتوزان - آلژینات قابل قبول بوده است. با نظر به اینکه سلولها در حضور نانوذرات زیستی با خاصیت ضد باکتریایی، دارای رشد و تکثیر طبیعی بوده، علاوه بر این نانوذرات فاقد سمیت احتمالی برای سلولها هستند. با تحقیقاتی که تاکنون انجام گرفته است، داربستهای پوشش دار شده با نانوذرات زیستی که دارای خاصیت ضد باکتریایی هستند در کشت سلولهای بنیادی استفاده نشده است بدین جهت در این زمینه نیاز به آزمایشات و تحقیقات بیشتری است و به طور خلاصه این نتایج نشان دهنده تخلخل مناسب، عدم

منابع

- 1- مهبودی، صدف. (۱۳۹۰). بررسی رشد سلولهای فیروبللاست بر روی داربست ساخته شده از ژلاتین- نشاسته. پایان نامه کارشناسی ارشد زیست‌شناسی- سلولی مولکولی. دانشکده علوم پایه. دانشگاه آزاد اسلامی. واحد علوم تحقیقات.
- 2- Armentano, I., Dottori, M., Fortunati, E., Mattioli, S., & Kenny, J. M. (2010). Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: a review. *Polymer degradation and stability*, 95(11), 2126-2146.
- 3- Chang, H. I., & Wang, Y. (2011). Cell responses to surface and architecture of tissue engineering scaffolds. *Regenerative Medicine and Tissue Engineering—Cells and Biomaterials*, InTech: Rijeka, Croatia, 569-588.
- 4- Costa-Pinto, A. R., Reis, R. L., & Neves, N. M. (2011). Scaffolds based bone tissue engineering: the role of chitosan. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 17(5), 331-347.
- 5- Ding, Y., Jiang, Y., Xu, F., Yin, J., Ren, H., Zhuo, Q., ... & Zhang, P. (2010). Preparation of nano-structured LiFePO_4 /graphene composites by co-precipitation method. *Electrochemistry Communications*, 12(1), 10-13.
- 6- Garg, T., Singh, O., Arora, S., & Murthy, R. S. R. (2012). Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 29(1).
- 7- Goycoolea, F. M., Lollo, G., Remunan-Lopez, C., Quaglia, F., & Alonso, M. J. (2009). Chitosan-alginate blended nanoparticles as carriers for the transmucosal delivery of macromolecules. *Biomacromolecules*, 10(7), 1736-1743.
- 8- Gupta, S. K., Dinda, A. K., Potdar, P. D., & Mishra, N. C. (2013). Modification of decellularized goat-lung scaffold with chitosan/nanohydroxyapatite composite for bone tissue engineering applications. *BioMed research international*, 2013.
- 9- He, B., Leung, M., & Zhang, M. Optimizing creation and degradation of chitosan-alginate scaffolds for in vitro cell culture.
- 10- Hutmacher, D. W. (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 21(24), 2529-2543.
- 11- Lanza, R., Langer, R., & Vacanti, J. P. (Eds.). (2011). *Principles of tissue engineering*. Academic press.
- 12- Lee, S. B., Kim, Y. H., Chong, M. S., Hong, S. H., & Lee, Y. M. (2005). Study of gelatin-containing artificial skin V: fabrication of

- gelatin scaffolds using a salt-leaching method. *Biomaterials*, 26(14), 1961-1968.
- 13- Liu, S. Q. (2007). *Bioregenerative engineering: principles and applications*. John Wiley & Sons.
- 14- Li, P., Dai, Y. N., Zhang, J. P., Wang, A. Q., & Wei, Q. (2008). Chitosan-Alginate nanoparticles as a novel drug delivery system for nifedipine. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(3), 221.
- 15- Mansourizadeh, F., Asadi, A., Oryan, S., Nematollahzadeh, A., Dodel, M., & Asghari-Vostakolaei, M. (2013). PLLA/HA Nano composite scaffolds for stem cell proliferation and differentiation in tissue engineering. *Molecular Biology Research Communications*, 2(1), 1-10.
- 16- Nerem, R. M., & Sambanis, A. (1995). Tissue engineering: from biology to biological substitutes. *Tissue Engineering*, 1(1), 3-13.
- 17- Peter, M., Binulal, N. S., Nair, S. V., Selvamurugan, N., Tamura, H., & Jayakumar, R. (2010). Novel biodegradable chitosan-gelatin/nano-bioactive glass ceramic composite scaffolds for alveolar bone tissue engineering. *Chemical Engineering Journal*, 158(2), 353-361.

The possibility of bone cell growth (Saos-2) on the coated scaffolds with Chitosan- alginate nanoparticles

Nassirnia H.¹ Ghalamboran M.R.² Meimandi Pour A.³ and Bayat M.¹

¹ Biology Group, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, I.R. of Iran

² Biology Group, Shahid Beheshti University, School of Biological Sciences, Tehran, I.R. of Iran

³ National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

In recent years in Iran about 22,000 deaths and 70,000 injured due to traffic accidents happen, almost 92% of bone fractures and retriever has to refer to the restoration of bony orthopedic pathologies. Based on report from Shahid Beheshti University of medical sciences, about 85% of the bone marrow grafting due to the invasion of bacteria and fungi have been unsuccessful. As the use of scaffolding techniques suitable for reproduction and growth of cells and tissues, including strategies for restoration of the damaged tissue. However, the use of eco-compatible scaffolds in order to treat bone defects with a lot of challenges including a poor biocompatibility, low strength, low life expectancy of scaffolds cells due to invasion of bacteria and fungi have been met. In this regard, the main objectives of this research, investigating of cytotoxicity properties of coated scaffolds with chitosan-alginate nanoparticles, review and compare the possibility of growth and life (viability) of bone cells on the scaffold without coating and coated with nanoparticles. Results obtained showed that the bone cells growth on the coated scaffolds with nanoparticles compared with uncoated scaffolds had a normal growth. As well as the amount of bone cells adhesion after 72 hours in normal shape to this scaffolds. Of the other hand, study on scaffolds structure with electron microscopic showed that coated scaffolds with chitosan-alginate nanoparticles has a suitable size and porosity for the growth of osteoblast cells.

Key words: Scaffold, nanoparticles, anti bacterial, osteoblasts cells