مقایسه تاثیر دو نوع داربست تجاری بر رفتار زیستی سلول های اندوتلیال در ترمیم لثه (آزمایشگاهی)

دکتر امید مقدس[#1]، دکتر احسان جعفری[۲]، دکتر برهان بخشی[۳]،دکتر محمد هرندی[۴]

۱- استادیار بخش پریودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

۲- استادیار، بخش بیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دندانپزشک

۴- پریودنتیست

وصول مقاله: ۹۷/۲/۲۳ اصلاح نهایی : ۹۷/۸/۲۰ پذیرش مقاله: ۹۷/۹/۱۰

Comparison of two commercial dermal matrix on biological behavior of endothelial cells (in vitro)

Omid maghadas[1]*,Ehsan Jafari[2], Borhan Bakhshi[3],Mohamad Harandi[4]

[1]Assistant Professor, Priodontics Dept, Faculty of Dentistry,Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University,Tehran,Iran
[2] Assistant Professor, Biotechnology Dept, Tehran Medical Sciences University, Tehran, Iran.
[3]Dentist
[4]Priodontist

Received: 13May 2018; Accepted: 1 December 2018

Abstract

Aim and background: Behavior of endothelial cells can have significant role regarding their proliferation and attachment on acellualr dermal grafts in regeneration procedures.The purpose of this study is to evaluate the effects of two dermal scaffolds on attachment and proliferation of human umbilical vein endothelial cells.

Methods and Materials: This study was conducted on experimental approach. Human umbilical vein endothelial cells were seeded, experimentally. Two commercially available types of ADM were used. 1. Kish tissue regeneration co. 2. Knowledge Based Company of Persian Textile Products. The proliferation rate in matrix and control groups were evaluated 12,24, 84 hours and 7 days after culture using MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) test. The morphologic evaluation was made after 24 hours incubation with Ethanol and Dehydrated Hexamethyldisilazane (HMDS) using Platinium coated drops. The surface and circularity of cells was examined by electronic microscope.

Results: The results for DAPI and MTT index was similar in 3 groups($P<0.4$).After 1 week the control group rate was 2.66 ± 0.001, fist group, 2.09 ±0.001 and second group, 1.64±0.17. The result was statistically significant.($P<0.1$)

Conclusion: It seems, in experimental status, both matrix was similar in endothelia cell adhesion. But, proliferation rate of endothelial cells was more in matrix 1 v.s matrix 2 after 7 days.

Key words: dermal cells, Matrix, endothelial cell, biological behavior

***Corresponding Author:** hmonn555@yahoo.com

J Res Dent Sci. 2019; 15 (4) :218-226.

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر امید مقدس تلفن: ۸۸۰۷۳۴۱۹ پست الکترونیک: hmonn555@yahoo.com

[Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16]
[DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.1.5]
[DOI: 10.29252/jrds.15.4.218]

خلاصه:

سابقه و هدف: رفتار زیستی سلول های اندوتلیال به لحاظ رشد و اتصال روی داربست Acellular Dermal Matrix (ADM) اهمیت دارد. این مطالعه با هدف بررسی رفتار زیستی سلول های اندوتلیال، روی دو نوع داربست تجاری داخلی در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت

مواد و روش ها: تحقیق به روش تجربی انجام گرفت سلول های اندوتلیال انسانی مشتق شده از سیاهرگ نافی انسانی به صورت آزمایشگاهی کشت داده شدند. دو نوع (ADM) شامل گروه ۱: همانندساز بافت کیش و گروه ۲ شرکت دانش بنیان فرآورده بافت ایرانیان) در مطالعه به کار رفت. تکثیر سلولها در نمونه داربست ها و گروه کنترل در ۱۲ ساعت، ۲۴ ساعت، ۸۴ ساعت و ۷ روز بعد از کشت با آزمون کلریمتریک MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide ارزیابی شد. به منظور ارزیابی مورفولوژی سلولی، سلول ها بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون به وسیله اتانول و Hexamethyldisilazane (HMDS) دهیدراته توسط قطرات پلاتینیوم پوشش داده شده و به لحاظ مساحت و مدور بودن توسط میکروسکوپ الکترونی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: میزان اتصال شاخص MTT و DAPI (4′,6-diamidino-2-phenylindole) در هر سه گروه مشابه بود(**P<** ۰/۴) در پیگیری ۱ هفته ای میزان رشد در گروه کنترل ۰/۰۰۱ ± ۲/۶۶، داربست ۱، ۰/۱۹۲±۲/۰۹ و داربست ۲، ۰/۱۷±۱/۶۴ بود که این اختلاف لحاظ آماری بین سه گروه معنادار بود. (P<۰/۰۱)

نتیجه گیری: به نظر می رسد در شرایط آزمایشگاهی هر دو داربست مورد مطالعه از لحاظ اتصال سلولهای اندوتلیال مشابه می باشند اما رشد سلول های اندوتلیال بر روی داربست ۱ نسبت به داربست ۲ پس از ۷ روز بیشتر بود.

کلید واژه‌ها: سلول های پوستی، داربست، سلول های اندوتلیالی، رفتار بیولوژیک

مقدمه:

پیوندهای آتوژن معمولا در جراحی های موکوژینژیوال استفاده می شود و از مناطق مختلفی از دهان از جمله کام و ریج برداشته می‌شود[۱]، ولی به دلیل محدودیت هایی از جمله میزان بافت قابل دسترس، سلامت بافتی که قرار است از آن نمونه‌برداری شود، حفظ ویژگی های کلینیکی آن، Acellular Dermal Matrix به عنوان جایگزینی برای پیوندهای آتوژن معرفی شده است که از مزایای استفاده از آن میزان نامحدود متریال،کاهش زمان جراحی،کاهش میزان مشکلات پس از جراحی می باشد[۲]، اما عدم وجود سلول و عروق، میزان همکاری بافت ها را در مقایسه با پیوند بافت همبند کندتر می کند. بر خلاف آتوگرفت که می تواند بر پایه آناستوموزهای عروق خونی که در گرفت وجود داشته اند رگسازی کند، آلوگرفت به عنوان ساختاری بدون سلول و عروق، برای رسیدن به سازماندهی مجدد وابسته به سلول و عروق میزبان است [۳] که نشاندهنده اثر واکنش بین سلولی و ساختار عروق در بلوغ پیوند است.[۴]

به منظور ایجاد چسبندگی سلولی مناسب، داربست باید دارای سطح وسیعی باشد که به وسیله ایجاد تخلخل در سطح داربست به وجود خواهد آمد. این منافذ باید به اندازه کافی بزرگ باشند تا به سلول ها اجازه عبور داده و موجب انتقال مواد غذایی، اکسیژن، مایعات زیستی و خون از داخل داربست شود. انتخاب نوع مواد و روش ساخت داربست بافتی به دلیل این که داربست باید بتواند ساختار و فعالیت های بیولوژیک بافت اصلی را تقلید کند، بستگی به سلول ها و ویژگی های آن ها دارد. همچنین مهاجرت سلول ها در ماتریکس کلاژنی با ادهیژن سلولی و ریمادلینگ ماتریکس مرتبط می باشد.[۵] مهاجرت در ماتریکسی با شبکه رشته ای متراکم کمتر است در حالی که در ساختاری با تراکم کمتر توزیع یکنواخت تری مشاهده می شود.[۶]

سلول های اندوتلیال نقش مهمی در آنژیوژنز و واسکولوژنز بازی می کنند. Baroos و همکاران رفتار ADM خوکی (PADM)را برای تقویت لثه در ۴ رده ی سلولی مختلف دهانی بررسی کردند. فیبروبلاست لثه ای انسانی(HGF)،

[Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16]

[DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.1.5]

[DOI: 10.29252/jrds.15.4.218]

سلول های شبه استئوبلاست انسانی، سلول های اندوتلیالی سیاهرگ نافی انسانی (Human umbilical vein endothelial cells) (HUVEC) و کراتینوسایت دهانی انسانی (HOK) کشت داده شده و به PADMمنتقل شد. بر اساس معرف PrestoBlue تمام رده های سلولی افزایش قابل ملاحظه ای از زیست پذیری را در طی ۱۸ ساعت در مقایسه با گروه کنترل از خود نشان دادند. بنابراین نتایج نشان می دهد که PADM جانشین مناسبی برای پیوند بافت نرم آتوژن در جراحی پریودنتال است.[۷] همچنین Navaes و همکاران تحقیقی را در زمینه پیدایش عروق خونی جدید در PADM و سلول های اندوتلیالی جنینی انسانی در زمینه مهندسی بافت انجام دادند. در این مطالعه PADMبه عنوان راهنمایی برای سلول های اندوتلیالی سیاهرگ نافی انسانی (HUVEC)در زمینه چسبندگی و تکثیر به عنوان یک سیستم بالقوه برای رگ‌زایی در بافت های مهندسی شده استفاده شد. نتایج نشان داد که داربست PADMبه طور قابل توجهی با افزایش تکثیر HUVECs همراه است و همراه با HUVECs کاشته شده در آن ممکن است یک سیستم بالقوه برای مهندسی بافت موفق از بافت های بزرگ، ضخیم و پیچیده باشد.[۸]

با رشد سریعتر سلولهای اندوتلیال در سطح داربست های مورد استفاده در ترمیم لثه که به خودی خود غیرزنده هستند، آنژیوژنز (رگ زایی) روند سریعتری گرفته و این بافت غیرزنده با سرعت بیشتری با بافت گیرنده جایگزین خواهد شد و در نتیجه انقباض کمتری در دوران التیام بافتی خواهد داشت.

لذا هدف از این مطالعه، مقایسه رفتار زیستی سلول اندوتلیال بر روی دو نوع داربست تجاری مورد استفاده در ترمیم لثه می باشد.

مواد و روش ها:

طراحی این تحقیق به صورت تجربی و آزمایشگاهی بود. مطالعه بر روی دو نوع داربست تجاری مورد استفاده در بازار ایران در حال حاضر شامل داربست ۱ (شرکت همانندساز بافت کیش (Ceno Biologics-و داربست ۲ (شرکت دانش بنیان فرآورده بافت ایرانیان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران) انجام شد .

تعداد نمونه ها در گروه های مورد آزمایش ۲۶ عدد داربست بود و تعداد ۲۶ نمونه نیز به عنوان گروه کنترل (Well plate خالی) در نظر گرفته شد. جمعاً تعداد ۶ پلیت که ۲ پلیت برای بررسی اتصال به هر دو روش DAPI و MTT در بازه زمانی ۱۲ ساعت و ۳ پلیت برای بررسی اتصال به روش MTT در ۳ بازه زمانی ۲۴ ساعت، ۸۴ ساعت و ۱ هفته در نظر گرفته شد. ۱ عدد well خالی نیز به عنوان گروه کنترل بود. در هر کدام از پلیت ها ۵ عدد داربست ۱، ۵ عدد داربست ۲ و ۵ well خالی گروه کنترل قرار داده شد. یک پلیت نیز برای بررسی مورفولوژی که شامل ۱ عدد داربست ۱، ۱ عدد داربست ۲ بود. نمونه ها به دو گروه ۱ و ۲ کدگذاری شدند. بدین ترتیب عمل کننده هنگام ارزیابی از نمونه ها آگاهی نداشتند و بررسی به صورت blind انجام شد.

سلول های اندوتلیال انسانی مشتق شده از سیاهرگ نافی انسانی با استفاده از روش explant کشت داده شدند.

آماده سازی داربستها و کاشت سلولها:

ADM نوع ۱ و۲ با محلول سالین استریل (Sigma, USA) در فلاسکهای (ml50 (SPL, Korea به مدت ۱۰ دقیقه بر اساس دستورات کارخانه شسته و به ۲۶ قطعه مستطیل شکل به طول ضلع ۱/۵ در ۱ سانتی‌متر تقسیم شده و در کف ۵۲ wellدر ۶ پلیت جداگانه به شرح ذیل آداپته کردیم. به این صورت که در هر ۵ پلیت ،در ۵ well داربست۱ ودر ۵ wellداربست ۲ قرار دادیم و۵ well هم خالی از داربست به عنوان گروه کنترل در نظر گرفتیم. یک پلیت را که جهت بررسی مورفولوژی سلولی است، با قرار دادن۱ نمونه از هر داربست و ۱ well خالی بدون داربست به عنوان گروه کنترل

[Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16]
[DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.1.5]
[DOI: 10.29252/jrds.15.4.218]

آماده کردیم. سپس سلولها را با تراکم ۱۶۰۰۰ cell/ml در داربستها و گروه کنترل کاشته و به مدت ۱۲ ساعت ،۲۴ ساعت، ۸۴ ساعت و ۷ روز در دمای ۳۷ $^{\circ}C$و ۵ % CO_2 انکوباسیون شدند. در نهایت ۳ پلیت برای بررسی رشد به روش MTT و ۲ پلیت برای بررسی اتصال به روش DAPI و MTTآماده شد که هر یک را در نقطه زمانی خاص و از پیش تعیین شده اش از دستگاه انکوباتور خارج کرده و مورد بررسی قرار داده شدند.

بررسی اتصال سلولها:

بعد از ۱۲ ساعت انکوباسیون ، سلولها با گلوتارآلدهید ٪ ۲/۵ (Sigma, USA)فیکس شده و با ۵۰ µg/mlاز diamidino 2-phenylindole (DAPI) 6,4 (Sigma, USA)به مدت ۳۰ دقیقه قبل از شستشو با PBS (Sigma, USA)رنگ آمیزی شدند تا سلولهای اتصال نیافته جدا شوند. سپس سلولها با میکروسکوپ فلوروسنس SEM(NIKON, JAPAN)در طول موج290 nm ی۲۹۰ نانومتر مشاهده و شمارش سلولها در ۵ نقطه (۴ نقطه در گوشه ها و ۱ نقطه در مرکز) انجام شد [۹]. (شکل ۱)

شکل ۱-نمای اپی فلورسانس از سلول های اندوتلیالی سیاهرگ نافی انسانی در گروه کنترل(A) داربست ۱(B) داربست ۲(C) با رنگ آمیزی DAPI پس از ۱۲ ساعت

ODبه دست آمده با استفاده از آزمون MTT در۱۲ ساعت اول بعد از کاشت سلولها را به عنوان اتصال اولیه سلولها با بررسی بر روی نمونه های ۱۲ ساعت انکوباسیون شده و گروه کنترل با ۵ تکرار،در نظر گرفتیم. برای تبدیل کمیت OD به تعداد سلول، از نمودار استاندارد استفاده کردیم. برای تهیه نمودار استاندارد، یک سریال از تعداد سلولها تهیه شده و در ۱۲ ساعت بعد از کاشت، میزان OD هر نمونه (تعداد) سلولها

[Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16]
[DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.1.5]
[DOI: 10.29252/jrds.15.4.218]

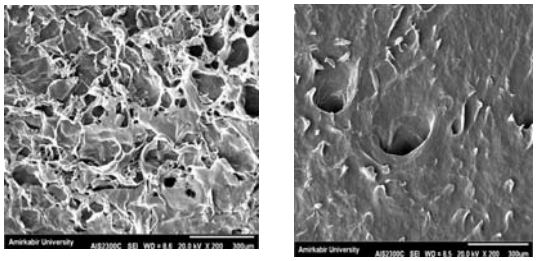
به روش MTT اندازه گیری شده و نمودار استاندارد تعداد سلول بر حسب OD رسم شد.

بررسی Viability و تکثیر سلولها:

Viability و تکثیر سلولها در نمونه داربست ها و گروه کنترل در ۲۴ ساعت، ۸۴ ساعت و ۷ روز بعد از کاشته شدن به وسیله ۳-[۴, ۵ ,2-Dimethylthiazol-2-yl]-2, 5 Diphenyltetrazolium Bromide (Sigma, USA) با آزمون کلریمتریک MTT ارزیابی شد.[۱۰] این آزمون فعالیت دهیدروژناز میتوکندری را به شکل تبدیل نور زرد MTT به Formazan آبی تیره نشان داد. شدت رنگ به شکل فتومتریک تعیین گشت.[۱۱] تعداد سلولها در داربستهای مختلف ظرفیت تکثیر و اتصال سلولهای اندوتلیال روی آنها را نشان داد (۱۲) . به این منظور μ RPMI1640 (Sigma, USA) 200و μ 20 محلول MTT (5mg/mL) (Sigma, USA) تازه به well های کشت سلولی افزوده شد و در رطوبت 37 °C در۵ CO_2 %به مدت ۴ ساعت انکوباسیون شد.[۱۱] نمک tetrazolium (Sigma, USA) موجود در MTT (Sigma, USA)توسط سلولهای فعال از نظر بیولوژیکی جذب و رنگ ارغوانی گرانولهای Formazan را ایجاد کرد.[۱۲] مدیوم فوق به دقت زدوده و Formazan اینتراسلولار با اضافه کردن isopropanol (Sigma, USA) شامل ۰/۱ (Sigma, USA) N HCl (150 mL/well)در هر ول محلول گشت و OD(optical density) محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر میکروپلیت (SPL, Korea) باکاهش طول موج از OD690 به OD570 ارزیابی گشت [۱۳] جذب کریستالهای Formazan محلول مستقیما تعداد سلولهای اتصال یافته موجود در نمونه ها را نشان داد [۱۴] Viability سلولها توسط نمودار خطی از پیش تعیین شده که ارتباط بین ODو غلظت سلولها را توضیح می دهد،مشخص شد. در بررسی رشد و اتصال سلولها، هر شمارش سلولی را در هر مرتبه ی زمانی در ۵ نمونه به صورت جداگانه بررسی کردیم.

بررسی مورفولوژی سلولها:

برای ارزیابی مورفولوژی سلولها، سلولها در داربستها کاشته و ۲۴ ساعت در شرایط نرمال ذکر شده انکوباسیون شدند سپس ۲ بار با(PBS (Sigma, USA شسته و به مدت ۱ساعت دردمای اتاق با ۲/۵٪ گلوتارآلدهید فیکس شده و بعد از شستن نمونه ها در اتانول به ترتیب با غلظت ۵۰٪ و ۶۰٪ و ۷۰٪ و ۸۰٪ و ۹۰٪ و ۱۰۰ % (HMDS) hexamethyldisilazane (Sigma, USA)دهیدراته شدند. سپس نمونه ها با قطرات پلاتینیوم پوشش داده شدند و زیر SEM (NIKON, JAPAN) مشاهده شدند. دو پارامتر مساحت (در میکرومتر مربع ،مساحت پوشیده شده ی سطح داربست توسط سلول) و مدور بودن سلولها (نسبت بین محور کوچکتر و بزرگتر هر سلول که عدد صفر برای سلول با کشیدگی بیشتر و عدد ۱ برای سلول کروی تر در نظر گرفته شد.) مورد ارزیابی قرار گرفت.[۹] فعال شدن سلولهای اندوتلیال به صورت تغییر مورفولوژی سلولها از شکل سنگفرشی به شکل درهم ریخته و منقبض و دوکی مشاهده شد.[۱۵] ۱نمونه از هر نوع داربست را توسط میکروسکوپ الکترونی اسکن نمودیم. (شکل ۲)



(A) (B)

شکل ۲-نمایی از میکروسکوپ الکترونی از سلول های اندوتلیالی سیاهرگ نافی انسانی روی سطح داربست ۱(A) و داربست ۲(B) در بزرگنمایی K۱ در ساعت ۲۴ ام پس از کاشت

[Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16]
[DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.1.5]
[DOI: 10.29252/jrds.15.4.218]

برای بررسی اتصال از آزمون آماری Man-U-Whitneyو برای بررسی رشد از آزمون آماری A Nova و در صورت وجود تفاوت معنادار از آزمون Post-Hoc استفاده شد. در این مطالعه α=۹۰٪ و با P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری تلقی شده است.

یافته‌ها:

تحقیق روی میزان رشد و اتصال سلولهای اندوتلیال بر روی ۷۵ نمونه شامل داربست ۱ و ۲ و گروه کنترل، در هر گروه ۲۵ نمونه و در چهار زمان پیگیری ۱۲ ساعت، ۲۴ ساعت، ۸۴ ساعت و ۷ روز با دو تکنیک MTT و DAPI انجام گرفت.

در بررسی میزان اتصال، تحقیق در ۳ گروه کنترل و داربست ۱ و ۲ و با دو تکنیک MTT و DAPI در هر گروه ۵ نمونه (جمعا ۳۰ نمونه) در ۱۲ ساعت انجام گرفت که در جدول ۱ ارائه شده است و نشان می دهد که:

در تکنیک DAPI کمترین میزان آن مربوط به گروه کنترل به میزان ۱۲۸ و داربست ۲ به میزان ۱۲۶ و بیشترین میزان آن مربوط به داربست ۱ به میزان ۱۳۵ بود . آزمون ANOVA نشان داد که بین آنها اختلافی وجود ندارد (P<۰/۴) و طبعا بین گروه ها نیز اختلافی وجود نداشت.

در تکنیک MTT بیشترین میزان مربوط به گروه کنترل به میزان ۰/۱۳۵ و کمترین میزان مربوط به داربست ۱ به میزان ۰/۱۲۱ بود و آزمون ANOVA نشان داد که بین آنها اختلافی وجود نداشت. (P<۰/۴)

جدول ۱- میزان اتصال سلول های اندوتلیال بر حسب تکنیک ارزیابی و به تفکیک نوع داربست

تکنیک داربست	DAPI	MTT
گروه کنترل	۱۲۵ ± ۲۵/۸	۱۳۵± ۰/۰۲
داربست ۱	۱۳۵/۳ ± ۱۹/۵	۰/۱۲۱± ۰/۰۲۳
داربست ۲	۱۲۶± ۲۳/۲	۰/۱۲۲± ۰/۰۲

در بررسی میزان رشد، تحقیق در ۳ گروه کنترل و داربست ۱ و ۲ و با تکنیک MTT در هر گروه ۵ نمونه (جمعا ۴۵ نمونه) در زمانهای ۲۴ ساعت، ۸۴ ساعت و ۷ روز انجام گرفت که در جدول شماره ۲ ارائه شده است و نشان می دهد که:

در پیگیری ۲۴ ساعت میزان رشد در گروه کنترل ۰/۲۴، داربست ۱، ۰/۲۳ و داربست ۲، ۰/۲۵ بود که اختلافشان به لحاظ آماری معنادار نبود. (P<۰/۹)

در پیگیری ۴۸ ساعت میزان رشد در گروه کنترل ۰/۶۴، داربست۱، ۰/۶ و داربست ۲، ۰/۶۵ بود که اختلاف کم بین ۳ گروه نیز از لحاظ آماری معنادار نبود. (P<۰/۸)

در پیگیری ۱ هفته ای میزان رشد در گروه کنترل ۲/۶۶ ، داربست ۱، ۲/۰۹ و داربست ۲ ، ۱/۶۴ بود و آزمون ANOVA نشان داد که میزان رشد در ۳ گروه معنادار است (P<۰/۰۱) و مقایسات چندگانه نشان داد که اختلاف بین گروه کنترل و داربست ۱ و همین طور بین داربست ۱ و داربست ۲ معنادار است (P<۰/۰۱)

جدول ۲- میزان رشد سلول های اندوتلیال بر حسب زمان پیگیری و به تفکیک نوع داربست

داربست	زمان	میزان	C.V
گروه کنترل	۲۴ ساعت	۰/۲۴± ۰/۰۱۵	۶
	۸۴ ساعت	۰/۶۴ ± ۰/۰۴۶	۷
	۱ هفته	۲/۶۶ ± ۰/۱۰۱	۴
داربست ۱	۲۴ ساعت	۰/۲۳ ± ۰/۰۳	۱۲
	۸۴ ساعت	۰/۶ ± ۰/۰۴	۶
	۱ هفته	۲/۰۹ ± ۰/۱۹۲	۹
داربست ۲	۲۴ ساعت	۰/۲۵ ± ۰/۰۰۸	۳
	۸۴ ساعت	۰/۶۵ ± ۰/۰۲۶	۴
	۱ هفته	۱/۶۴ ± ۰/۱۷	۱۰

[Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16]
[DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.1.5]
[DOI: 10.29252/jrds.15.4.218]

بحث:

تحقیق نشان داد که تکثیر و تمایز سلولها تا حد زیادی با ویژگی های سطحی داربست وابسته است. تخلخل زیاد و اتصال با میزان تکثیر و تمایز نسبت مستقیم دارد. مطالعه بر روی ماتریکس های کلاژنی صناعی قابل جذب، مهاجرت پایین سلولها را در یک ساختار متراکم نسبت به ساختاری با فیبرهای شل نشان می دهد.[۱۶]

LIو همکاران تحقیقی در مورد اتصال و تکثیر سلولهای اندوتلیال جنینی انسانی بر روی داربست رسانای PANI-PCL توسط القای الکتریکی انجام دادند. اخیرا داربست های رسانا، پتانسیل زیادی برای القای بافت از خود نشان داده اند. تکثیر سلولها توسط روش MTT در روز ۵ (۲۴ ساعت بعد از آخرین القای الکتریکی) مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان داد که فیبرهای PCL القاشده با PANI در مقایسه با فیبرهای PCL معمولی میزان چسبندگی و زیست پذیری بیشتری از HUVECرا به ویژه تحت القای الکتریکی ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ mv/cmنشان می دهند.[۱۷]

در نتیجه طبق تحقیقات پیشین نتایج حاصل از روش MTT در بررسی رشد و اتصال سلولها در آزمایشگاه می تواند با موفقیت نسبی در شرایط کلینیکال همراه باشد. همچنین تاکنون مطالعه ای که رشد و اتصال سلول های اندوتلیال را توسط روش DAPI مورد ارزیابی قرار داده باشد، انجام نشده است و شاید این تحقیق اولین باشد.

تصاویر SEM نشان می دهد که قطر فیبرها و مورفولوژی داربست بافتی می تواند به طور گسترده ای چسبندگی، تکثیر و تمایز سلولها را تحت تاثیر قرار دهد [۱۷] عقیده بر این است که سطوح خشن محیط مساعدتری برای چسبندگی سلولهاست و حداکثر قطر آنها می تواند ۲۰ میکرومتر باشد [۱۸، ۱۷] و در نهایت نتایج نشان می دهد که فیبرهای PANI-PCL به دلیل اینکه دارای سطح آبدوست بیشتر و خشن تری است، می تواند چسبندگی سلولها را تحت تاثیر قرار دهد و سرعت بخشد.[۲۰-۱۸]

در نتیجه بنا به نتایج سایر تحقیقات تصاویر حاصل ازSEM ، هر چه داربست دارای سطح خشن تر و متخلخل تر باشد، رشد، اتصال و تمایز سلولها را تحت تاثیر قرار داده و بیشتر می کند. در تحقیق ما نیز بنابر تصاویر حاصل از SEM داربست ۱ سطح خشن تر و متخلخل تری را برای رشد و اتصال سلول های اندوتلیال نسبت به داربست ۲ فراهم می کند که می تواند رشد، اتصال و تمایز سلول ها را تحت تاثیر قرار دهد.

Koo و همکاران تحقیقی را در مورد مهاجرت و نفوذ سلولهای اندوتلیال به داخل داربست Poly (L-lactic) acid در سیستم محفظه جریان با صفحات موازی انجام دادند تا تنش برشی به سلولها وارد شود.[۲۱] در طی تحقیق مورفولوژی سلولهای اندوتلیال که روی داربست قرار گرفته بودند و تحت تنش برشی قرار گرفته بود، تغییر کرد. در حالت استاتیک سلولها به شکل گرد و سنگفرشی هستند و بعد از وارد شدن تنش، تغییراتی در مورفولوژی آنها ایجاد شد.[۲۲] Zhang و همکاران تحقیقی را در زمینه پیدایش عروق خونی جدید در PADM و سلول های اندوتلیالی سیاهرگ نافی انسانی در زمینه مهندسی بافت انجام دادند. در این مطالعه PADM به عنوان راهنمایی برای سلول های اندوتلیالی سیاهرگ نافی انسانی (HUVECs) در زمینه چسبندگی و تکثیر به عنوان یک سیستم بالقوه برای رگزایی در بافت های مهندسی شده استفاده شد.[۲۳] در این مطالعه نیز همانند مطالعه Koo و همکاران ، مورفولوژی سلولهای اندوتلیال در حالی که بر روی داربست کشت داده شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت و سلولهای HUVEC تنها بعد از ۱ روز از کشت بر روی داربست PADM از شکل معمول خود که به صورت سنگفرشی است، تغییر کرد و ساختارهای لوله مانند ایجاد کرد.[۲۱] در مطالعه ما نیز مورفولوژی سلول ها بعد از ۲۴ ساعت مورد مطالعه قرار گرفت و سلول ها از حالت معمول و سنگفرشی خود درآمدند که این تغییر مورفولوژی نشان از فعال شدن سلولهای اندوتلیال بعد از کشت داده شدن بر روی

[Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16]
[DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.1.5]
[DOI: 10.29252/jrds.15.4.218]

داربست دارد.

نتیجه‌گیری:

در شرایط آزمایشگاهی داربست ۱ و داربست ۲ هر دو از لحاظ اتصال سلولهای اندوتلیال نتایج مشابهی دارند اما رشد سلول های اندوتلیال بر روی داربست ۱ نسبت به داربست ۲ پس از ۷ روز بیشتر بود. سلولهای اندوتلیال بر روی داربست ۱ نسبت به داربست ۲ از لحاظ مورفولوژی فعالتر و گسترده تر و دارای زواید بیشتر سلولی بودند و به نظر میرسد که داربست۱ از لحاظ رشد و اتصال و مورفولوژی سلولها نسبت به داربست۲ در شرایط آزمایشگاهی داربست مناسب تری است.

[Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16]

[DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.1.5]

[DOI: 10.29252/jrds.15.4.218]

References:

1. Drisko, CH. Dentine hypersensitivity-dental hygiene and periodontal considerations. Int Dent J 2002; 52 supp1:385-93.
2. Allen Al. Use of the supraperiosteal envelope in soft tissue grafting for root coverage I. Rationale and technique. Int J Periodontics Restorative Dent 1994; 14(3):216-27.
3. Baer PN, Benjamin SD. Gingival grafts: A historical note. J Periodontol 1981; 52(4):206-7.
4.Bernimoulin JP, Luscher B, Muhlemann Hr. Coronally positioned periodontal flap: Clinical evaluation after one year. J Clin Periodontol 1975;2(1):1-13.
5. Erdag G, Sheridan RL. Fibroblasts improve performance of cultured composite skin substitutes on athymic mice. Burns 2004;30(4):322-8.
6. Chatterjee A, Sharma E, Gundanavar G, Subbaiah SK. Treatment of multiple gingival recession with vista technique: A case-series. J Indian Soc Periodontol 2015;19(2);232-5.
7. Barros RR, Novaes AB Jr, Grisi MF, Souza SL, Taba M Jr, Palioto DB. New surgical approach for root coverage of localized gingival recession with acellular dermal matrix: a 12-month coparative clinical study.J Esthet Restor Den 2005;17(3):156-64.
8. Novaes AB Jr, Grisi DC, Molina GO, Souza SL, Taba M Jr, Grisi MF. Comparative 6-month clinical study of subepithelial connective tissue graft and acellular dermal matrix graft for the treatment of gingival recession. J Periodontol 2001; 72(11):1477-84.
9. Collart-Dutilleul PY1, Secret E, Panayotov I, Deville de Périère D, Martín-Palma RJ, Torres-Costa V, et al. Adhesion and proliferation of human mesenchymal stemcells from dental pulp on porous silicon scaffolds. ACS Appl Mater Interfaces 2014;6(3):1719-28
10. Liu Y, Peterson DA, Kimura H, Schubert D. Mechanism of cellular 3-(4,5-dimethylthia-zol-2 yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction. J Neurochemistry 1997; 69(2):581-93.
11. Jahani H, Kaviani S, Hassanpour-Ezatti M, Soleimani M, Kaviani Z, Zonoubi Z. The Effect of aligned and random electrospun fibrous scaffolds on rat mesenchymal stem cell proliferation. Cell J 2012; 14(1): 31-8.
12. Mansourizadeh F, Asadi A, Oryan S, Nematollahzadeh A, Dodel M, Asghari-Vostakolaei M. PLLA/HA Nano composite scaffolds for stem cell proliferation and differentiation in tissue engineering. Molecular Biology Research Communications 2013;2(1-2):1-10.
13. Mohajeri S, Hosseinkhani H, Ebrahimi NG, Nikfarjam L, Soleimani M, Kajbafzadeh AM. Proliferation and differentiation of mesenchymal stem cell on collagen sponge reinforced with polypropylene/polyethylene terephthalate blend fibers. Tissue Eng Part A 2010; 16(12):3821-30.
14. Mota A, Sahebghadam Lotfi A, Barzin J, Hatam M, Adibi M, Khalaj Z, etal. Human bone marrow mesenchymal stem cell behaviors on PCL/gelatin nanofibrous scaffolds modified with a collagen IV-derived RGD- containing peptide. Cell J 2014; 16(1):1–10.
15. Steen MB, Tuck FL, Selvan RS. Spontaneous activation of endothelial cells: a central role for endogenous IL-1alpha. In Vitro Cell Dev Bial Anim 1999; 35(6):327-32.
16. Hillman G, Steinkamp-Zucht A, Geurtsen W, Gross G, Hoffmann A. Culture of human gingival fibroblasts on biodegradable membranes. Biomaterials 2002; 23(6):1461-9.
17. Li Y, Li X, Zhao R, Wang C, Qiu F, Sun B, Ji H, Qiu J, Wang C. Enhanced adhesion and proliferation of human umbi lical vein endothelial cells on conductive PANI-PCL fiber scaffold by electrical stimulation. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2017; 72:106-112.
18. Lampin M, Warocquier-Clérout, Legris C, Degrange M, Sigot-Luizard MF. Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion, and cell migration. J Biomed Mater Res 1997;36(1):99–108.
19. J.Zhang, K.Qiu, B.Sun, J.Fang, K.Zhang, E.H.Hany, X.Mo. The aligned core–sheath nanofibers with electrical conductivity for neural tissue engineering,J.Mater.Chem 2014:7945–54.
20. C.J.Pan, Y.Hou, Y.N.Wang, F.Gao, T.Liu, Y.H.Hou, L.R.Wang. Effects of self-assembly of 3-phosphonopropionic acid, 3-amino propyltrimethoxysilane and dopamine on the corrosion behaviors and biocompatibility of a magnesium alloy. Mater.Sci. Eng.2016:132–43.
21. Koo MA, Kang JK, Lee MH, Seo HJ, Kwon BJ, You KE, Kim MS, etal. Stimulated migration and penetration of vascular en dothelial cells into poly (L-lactic acid) scaffolds under flow conditions. Biomater Res 2014; 18:7.
22. Malek AM, Izumo S. Mechanism of endothelial cell shape change and cytoskeletal remodeling in response to fluid shear stress. J Cell Sci 1996, 109:713–726.
23. Zhang X, Yang J, Li Y, Liu S, Long K, Zhao Q, Zhang Y, Deng Z, Jin Y. Functional neovascularization in tissue engineering with porcine acellular dermal matrix and human umbilical vein endothelial cells. Tissue Eng Part C Methods 2011; 17(4):423-33.

[Downloaded from mail.jrds.ir on 2026-10-16]
[DOR: 20.1001.1.20084676.1397.15.4.1.5]
[DOI: 10.29252/jrds.15.4.218]