مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
بهار ۱۳۹۲؛۵(۱):۱۴۵-۱۳۹

Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
Spring2013;5(1): 139-146

مقاله پژوهشی

بررسی اثر القایی داربست سلول زدایی شده مری رت بر چیدمان سلول های بنیادی مزانشیمی جداشده از بافت چربی انسانی

سمیه نادری [۱]، ملیحه اکبرزاده [۱]، ناصر مهدوی شهری [۲]، مریم مقدم متین [۳]، مسعود فریدونی [۴]، آزاده حقیقی طلب [۵]*

[۱]کارشناس ارشد، زیست شناسی سلولی- تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[۲]استاد سیتولوژی- هیستولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[۳]دانشیار بیولوژی مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم و گروه تحقیقاتی سلولی و مولکولی پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[۴]دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[۵]کارشناس ارشد، زیست شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
[*] **نویسنده مسئول**: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
پست الکترونیک: mahdavin@um.ac.ir

وصول:۹۱/۹/۷ اصلاح: ۹۱/۱۱/۱۶ پذیرش:۹۱/۱۲/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: *تکنیک های مهندسی بافت تلاش دارند تا در شرایط خارج بدن بافت هایی با ویژگی های مشابه بافت های طبیعی بسازند. با وجود تمام پیشرفت های صورت گرفته در زمینه مهندسی بافت به خصوص در ارتباط با طراحی و ساخت داربست های مناسب، بارگذاری سلول ها درون داربست هنوز به عنوان یک مشکل جدی مانع از حصول اهداف نهایی در مهندسی بافت است.*

هدف از این مطالعه تهیه داربست هایی از بافت مری سلول زدایی شده رت با ابعاد و هندسه مشابه بافت طبیعی مری جهت بررسی قابلیت چیدمان مناسب سلول های بنیادی مزانشیمی چربی کشت داده شده روی آن می باشد.

مواد و روش کار: *در این مطالعه تجربی، پس از جداسازی مری، روش های فیزیکی و شیمیایی سلول زدایی شامل انجماد و ذوب مکرر، و تیمار با شوینده های Triton X-100 و سدیم دودسیل سولفات انجام گرفت. سپس سلول‌های بنیادی مزانشیمی چربی انسانی به میزان ۵×۱۰^{۵} cells /cm^2 بر روی داربست ها انتقال یافت. از داربست‌های تهیه شده قبل و پس از گذشت دو هفته از کشت، مقاطع میکروسکوپی تهیه و بررسی گردید.*

یافته ها: *بررسی های بافت شناسی نشان داد که مهاجرت و گسترش مناسب سلول های بنیادی مزانشیمی چربی در ماتریکس بافت مری منجر به چیدمان این سلول ها در قسمت های مختلف داربست تهیه شده گردید.*

نتیجه گیری: *با توجه به ساختار لایه ای ماتریکس مری، داربست حاصل می تواند بستر مناسبی جهت بررسی رفتار های سلولی و مطالعات مقدماتی در زمینه مهندسی بافت مری باشد.*

واژه های کلیدی: *مری، چیدمان سه بعدی، سلول های بنیادی مزانشیمی چربی، مهندسی بافت*

مقدمه

شرایط پاتولوژیکی بسیاری اعم از مشکلات مادرزادی و ناهنجاری‌های اکتسابی وجود دارند که برای درمان ریشه‌ای نیاز به برداشت مری و جایگزین سازی آن دارند. در سال‌های اخیر، مهندسی بافت در درمان ضایعات بافتی و اندامی و حتی جایگزینی کامل یک اندام، بسیار مورد توجه قرار گرفته است و داربست، سلول و فاکتورهای رشد سه رکن اصلی آن را تشکیل می دهند. داربست ها به اشکال مختلف همچون ژل، فوم، فیبر و غیره وجود دارند و جهت بازسازی بافت ها یا اندام های بدن موجود زنده و همچنین افزایش تکثیر و تمایز سلول ها در آزمایشگاه استفاده می شوند [۴-۱]. به طور کلی داربست ها را

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-14]

براساس منشا به دو گروه کلی طبیعی و سنتزی دسته بندی می کنند. هر دو نوع داربست دارای مزایا و معایب مربوط به خود می‌باشند، برای مثال، داربست‌های مصنوعی از قبیل پلی‌لاکتیک اسید و پلی گلیکولیک اسید قابل تولید در مقیاس‌های بالا و قابل کنترل از نظر خصوصیاتی نظیر میزان استحکام، سرعت تجزیه، مقدار تخلخل و ساختار میکروسکوپی می‌باشند [۵]. از موادی که تاکنون در ساخت داربست‌های طبیعی به کار برده شده است می‌توان به پلیمرهای تخریب پذیر طبیعی و یا ماتریکس خارج سلولی مشتق از بافت ها و اندام های سلول زدایی شده اشاره کرد [۷،۶]. این داربست‌ها می‌توانند محیطی مشابه با ماده زمینه‌ای برون سلولی برای سلول‌ها فراهم کنند و به دلیل خصوصیاتی از قبیل پاسخ‌های مناسب ایمنولوژیک، خواص آنتی‌ژنیک ملایم، رگ زایی، توانایی بهبود چسبندگی سلولی و خاصیت هموستازی بسیار مورد توجه می باشند [۸،۹]. روش های سلول زدایی معمول جهت تهیه ماتریکس خارج سلولی مشتق از بافت ها، ترکیبی از روش های فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی بوده که در آن از انواعی از دترجنت ها، آنزیم ها و حلال ها برای تجزیه کردن سلول ها استفاده می گردد. این تیمار ها به طور موثری ایجاد پاسخ های ایمنی در بافت میزبان را کاهش می دهند و فضاهای آزادی را ایجاد می کنند که سلول های میزبان می توانند در آن ها تکثیر شوند [۱۰].

تاکنون تحقیقات گسترده‌ای در زمینه مهندسی بافت مری، با این هدف که ساختاری ابداع گردد که بیشترین شباهت را به مری طبیعی دارا باشد، انجام گرفته است [۱۱]. در این مسیر حوزه گسترده‌ای از مواد پروتزی سنتزی و مواد زیستی مورد آزمایش قرار گرفته است که از موارد قابل ذکر می‌توان به استفاده از لوله‌های سیلیکونی پلاستیکی، لوله‌های سیلیکونی پوشیده شده از کلاژن آنتی‌ژنیک، توری‌های قابل جذب از جنس ویکریل، کلاژن سلول‌زدایی‌شده انسان و ماتریکس‌های سلول‌زدایی شده مری اشاره نمود [۱۶-۱۲].

از میان انواع سلول های مورد استفاده در مهندسی بافت، سلول های بنیادی بالغ (به عنوان مثال MSCs) که از بافت های مختلفی (از جمله مغز استخوان، چربی، بند ناف و غیره) مشتق شده اند، آینده خوبی را در پزشکی ترمیمی به دلیل توانایی بالا برای خود ترمیمی و تمایز نوید می دهند [۱۷،۱۸]. سلول های بنیادی مشتق از چربی Adipose-derived stem cells یا (AD-MSCs) به دلیل سهولت در دستیابی از طریق لیپوساکشن یا اعمال جراحی معمولی دیگر یکی از کاندیداهای ارزشمند در مهندسی بافت محسوب می شوند. از ویژگی های ارزشمند سلول های AD-MSCs عدم بیان آنتی ژن لکوسیت انسانی DR است و این ویژگی، این سلول ها را جهت روش های پیوند آلوژنیک به دلیل عدم خطر رد پیوند مناسب می سازد [۲۱-۱۹].

هدف از این مطالعه تهیه داربست هایی از بافت مری سلول زدایی شده رت با ابعاد و هندسه مشابه بافت طبیعی مری، جهت بررسی قابلیت چیدمان مناسب سلول های بنیادی مزانشیمی کشت داده شده روی آن می باشد.

روش کار

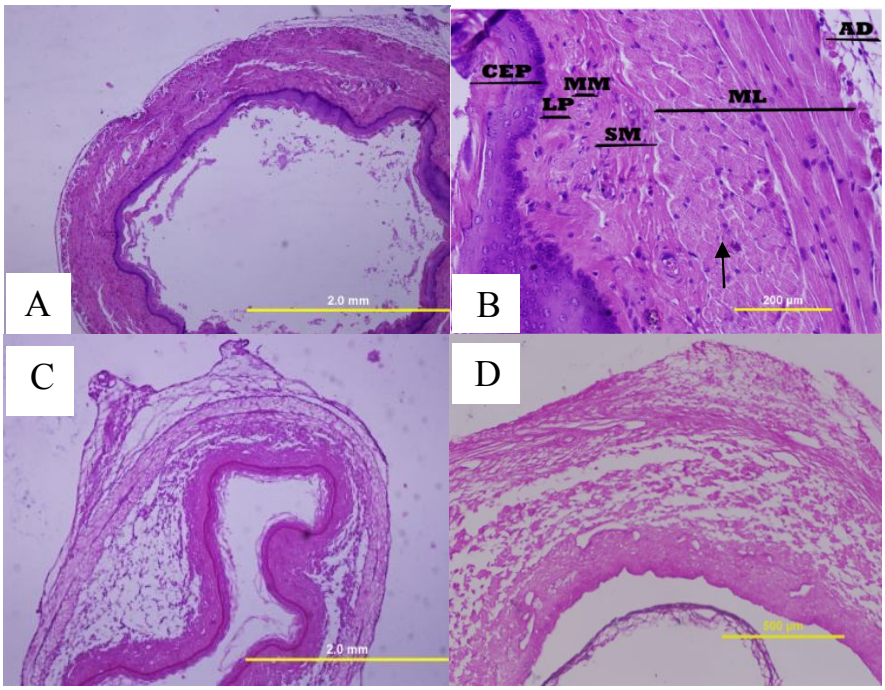
در این مطالعه تجربی، از تعداد ۶ سر رت ماده نژاد ویستار با سن ۳-۲ ماه و با محدوده وزنی ۲۰۰-۱۸۰ گرم استفاده گردید. در تمامی مراحل انجام این پژوهش، مصوبات مربوط به اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی همچون دسترسی آزادانه به آب و غذا رعایت گردیده است. به منظور انجام سلول زدایی مری رت نژاد ویستار، ترکیبی از روش های فیزیکی و شیمیایی سلول زدایی انجام گرفت [۲۲]. پس از برداشت مری (یک سوم میانی)، و برش آن به قطعات ۱۰ میلی متری، نمونه ها در نرمال سالین شستشو داده شدند و به مدت یک هفته در دمای صفر درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از ذوب و شستشوی مجدد نمونه ها در نرمال سالین، روش انجماد و ذوب مکرر در ازت مایع انجام گرفت. در مرحله بعدی از شوینده سدیم دودسیل سولفات (SDS)(CinnaGen, Iran) ۰.۵٪ و تریتون X-100 ۱٪ ، هر یک به مدت ۴۸ ساعت جهت هضم غشا و اجزای سلولی استفاده گردید. به منظور استریلیزاسیون داربست ها، نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در اتانل ۷۰٪ قرار گرفتند و پس از شستشو با آب مقطر استریل، به مدت ۱ ساعت در PBS (BioGene, UK) استریل قرار داده شدند [۲۳]. سلول های بنیادی مزانشیمی از بافت چربی انسانی گرفته شده و پس از تعیین هویت مورد استفاده قرار گرفتند [۲۴]. برای کشت

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-14]

سلو ل های بنیادی مزانشیمی مشتق ازبافت چربی انسانی (AD- MSCs) بر روی داربست های سلول زدایی شده، ابتدا آن‌ها را تریپسینه نموده تا از فلاسک جدا گردند. پس از سانتریفیوژ و تعیین تراکم سلو لی با لام نئوبار، سوسپانسیون سلولی با تراکم 5×10^5 سلول در $50\ \mu l$ تهیه گردید. سپس داربست‌ها در ظروف کشت ۲۴ خانه ای قرار داده شد و به دوگروه، کنترل و مورد آزمایش تقسیم شدند. در گروه کنترل تنها محیط کشت به داربست‌ها اضافه گردید. و در گروه مورد آزمایش 5×10^5 cells /cm^2 بر روی هر داربست کشت شد. تا یک ساعت پس از کشت سلول‌ها، داربست‌ها بدون حرکت ماندند، سپس به آن‌ها مقدار ۱ ml محیط کشت (Dulbecco's DMEM modified Eagle medium, Gibco) حاوی ۱۵٪ سرم جنینی گاو (FBS) و پنی سیلین / استرپتومایسین (1µg/ml) افزوده شد. هر ۳-۲ روز یک بار محیط کشت آن‌ها تعویض گردید. داربست های تهیه شده پس از گذشت ۲ هفته از کشت، با استفاده از محلول بوئن تثبیت شدند. پس از مراحل پاساژ بافت، مقاطع میکروسکوپی تهیه و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بررسی گردیدند. در رنگ‌آمیزی H&E سلول‌ها با رنگ آبی و زمینه با رنگ صورتی تا بنفش مشخص می گردند.

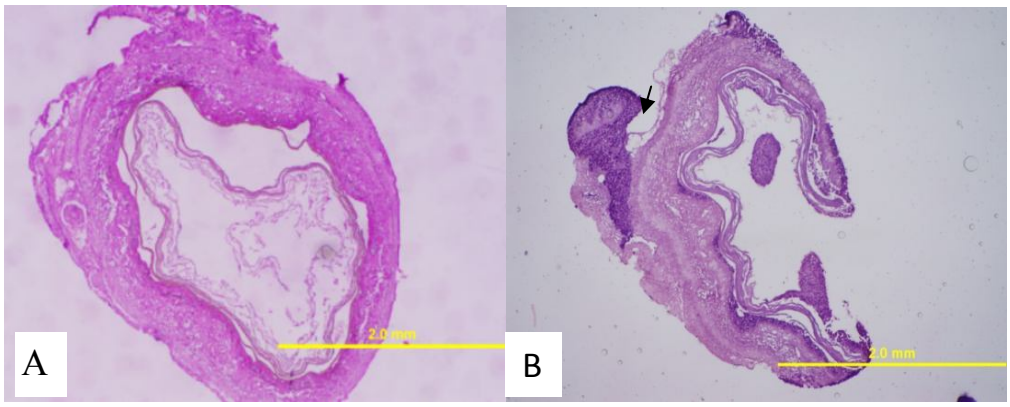
یافته ها

تصویر میکروسکوپی از بافت مری رت قبل و بعد از فرایند سلول زدایی در شکل ۱ نشان داده شده است. طبق مطالعات بافت شناسی، بعد از فرایند سلول زدایی با استفاده از روش بکاربرده شده در این بررسی، حذف سلول ها از بافت مری به طور کامل صورت گرفته است (شکل ۱- C,D). داربست‌های تهیه شده که با سلول‌های بنیادی مزانشیمی کشت شده بودند پس از گذشت دو هفته از محیط کشت خارج شدند و به منظور بررسی رفتارهای سلول‌های کشت شده، مورد مطالعات بافت‌شناسی قرار گرفتند. مطالعه بر اساس مشاهدات میکروسکوپی، نفوذ و مهاجرت سلول های بنیادی مزانشیمی چربی را در داربست سلول زدایی شده ی مری نشان می دهد (شکل های۳ و ۲).

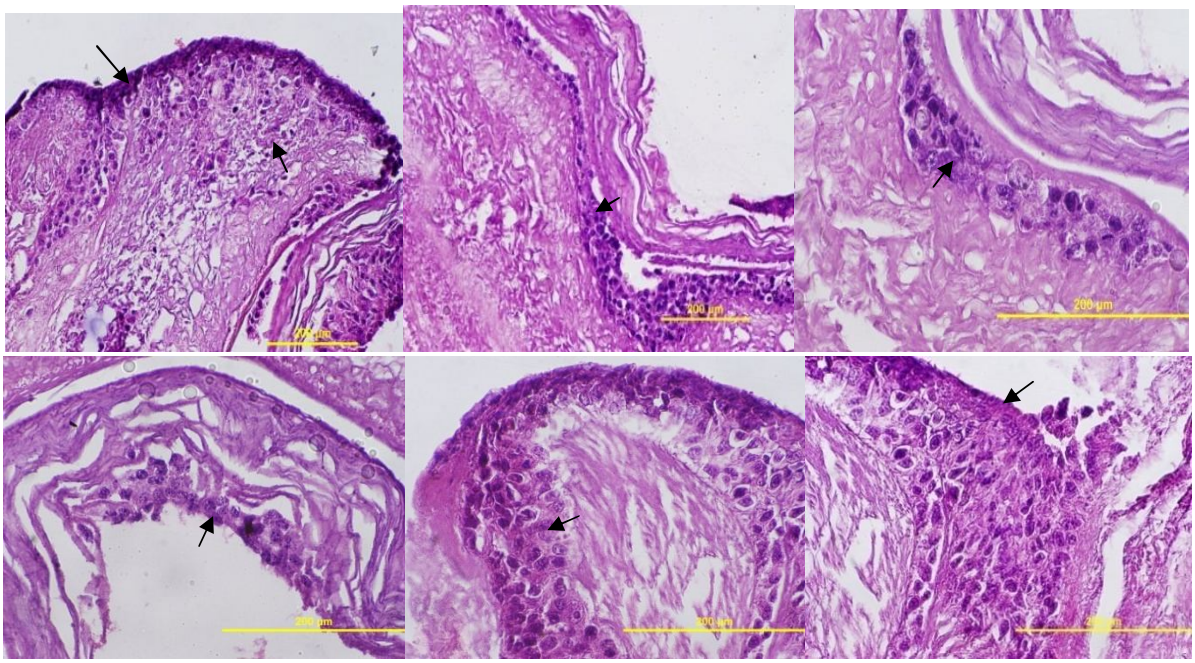


شکل ۱:(A,B) رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین بافت مری رت قبل (A,B) و بعد از فرایند سلول زدایی (C,D). با توجه به تصاویر، بعد از فرایند سلول زدایی حذف سلول ها از بافت مری به طور کامل صورت گرفته است.
CEP اپی‌تلیوم سنگفرشی مطبق شاخی، LP آستر مخاط، MM عضله مخاطی، SM زیرمخاط، ML لایه‌های عضلانی خارجی و AD آدوانتیس را نشان می‌دهند و پیکان نمایانگر سلول‌ها می‌باشد. (بزرگنمایی ۴۰X(A وC)، بزرگنمایی ۲۰۰X (B وD)).

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-14]



شکل ۲: مقایسه داربست در دوگروه کنترل (A) و مورد آزمایش (B) پس از کشت با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین. پیکان نمایانگر سلول‌های بنیادی کشت شده در داربست در گروه مورد آزمایش می‌باشد.



شکل ۳: مطالعه رفتار سلول‌های بنیادی مزانشیمی در هفته دوم پس از کشت.

نفوذ و مهاجرت سلول های بنیادی مزانشیمی چربی در داربست، که منجر به چیدمان این سلول ها در قسمت های مختلف گردیده است، با رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین نشان داده شده است. پیکان نمایانگر سلول‌ها می‌باشد.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-14]

بحث

از آنجا که داربست‌های زیستی مشتق از ماتریکس خارج سلولی (ECM) ابزار مناسبی جهت فراهم نمودن یک محیط سه بعدی، به منظور بررسی دقیق‌تر برهم‌کنش‌های سلولی و بافتی می‌باشند، در این پژوهش تلاش گردید مری رت را با استفاده از روش‌های فیزیکی و شیمیایی سلول‌زدایی نموده، سپس از آن به عنوان داربستی جهت کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی چربی انسانی استفاده شود و با کمک روش‌های بافت‌شناسی رفتار سلول ها در داربست تهیه شده مورد بررسی و مطالعه قرار گیرد.

سلول زدایی به عنوان روشی مناسب جهت دستیابی به داربست طبیعی مشتق از ماتریکس خارج سلولی بکار می رود. هدف نهایی فرآیند سلول زدایی حذف مواد سلولی و هسته ای و در عین حال حفظ مولکول های موجود در ماتریکس خارج سلولی بافت مورد نظر است [۲۵]. تفاوت در چگالی، ترکیب و معماری داربست های مشتق از ماتریکس خارج سلولی (ECM) می تواند رفتار های سلولی را تحت تاثیر قرار دهد و مولکول های متنوع موجود در آن می توانند اثرات متفاوتی بر روی چسبندگی و سرعت مهاجرت در انواع مختلف سلولی داشته باشند. به همین منظور تاکنون مولکول هایی از قبیل کلاژن، فیبرین، هیالورونیک اسید (HA) و لامینین برای تهیه یک ماتریکس مناسب استفاده شده اند [۲۶].

بهرانی[1] و همکارانش در سال ۲۰۰۶ با استفاده از شوینده سدیم دودسیل سولفات (SDS)، روشی برای تولید مری سلول‌زدایی‌شده موش صحرایی به منظور کاربردهای مهندسی بافت مری ارائه دادند و با کاشت سلول‌های اپی‌تلیال مری بر روی داربست مری سلول زدایی شده ی موش صحرایی نشان دادند که ECM مری، دارای قدرت القاء تکثیر سلول‌های اپی‌تلیال با الگویی مشابه با مری طبیعی می‌باشد [۲۷].

بک استید[2] و همکارانش در سال ۲۰۰۵ در اولین قدم های مهندسی بافت، برهم کنش سلول های اپی تلیال مری را با داربست های سنتزی کلاژن به عنوان داربست مصنوعی و آلودرم پوست انسان به عنوان داربست طبیعی بررسی نمودند. نتایج این آزمایشات نشان داد که هر دو نوع داربست طبیعی پوست سلول‌زدایی شده انسان (آلودرم) و داربست مصنوعی پلی‌استری قابلیت جذب، اتصال و تکثیر سلول اپی‌تلیال مری را القاء می‌کنند اما داربست‌های طبیعی نسبت به داربست‌های مصنوعی از سازمان‌یابی و لایه‌بندی مناسب‌تری برخوردارند [۲۸].

از خصوصیات مهم داربست های استفاده شده در مهندسی بافت این است که ویژگی های سطح داربست برای چسبندگی، تکثیر، مهاجرت و رشد سلولی مناسب باشد و شرایط مناسب جهت تشکیل و جایگزین شدن ماتریکس توسط سلول ها را فراهم کند[۳۰-۲۹]. در مطالعه ای که توسط آلتمن[3] و همکارانش در سال ۲۰۰۸ انجام گرفت سلول های بنیادی چربی (AD- MSCs) در آلودرم جایگزین شد. نتایج مطالعات آنها توسط میکروسکوپ الکترونی حاکی از چسبندگی AD-MSCs به داربست درمی فاقد سلول بود [۳۱].

بنابراین از آنجا که مولکول‌های موجود در ماتریکس خارج سلولی مری از قبیل کلاژن، الاستین، لامینین و فیبرونکتین موجود در لایه بازال، نقش بسزایی در القاء چسبندگی و قطبیت و ایجاد مسیرهایی برای مهاجرت سلول‌ها ایفا می‌کنند، همچنین با توجه به ساختار طبیعی لایه ای مری جوندگان که شامل چندین لایه بافتی از قبیل اپی تلیوم سنگفرشی مطبق شاخی، آستر مخاط، عضله مخاطی، زیرمخاط، لایه های عضلانی حلقوی و طولی و آدوانتیس می باشد [۳۳,۳۲]. در مطالعه حاضر به نظر می رسد وجود ECM و لایه بندی متنوع در بافت مری توانسته فضای سه بعدی مناسبی را جهت گسترش سلول های بنیادی مزانشیمی چربی در داربست فراهم نماید.

با توجه به نتایج، از آنجا که نفوذ و گسترش مناسب سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی در ماتریکس بافت مری رت منجر به چیدمان این سلول ها در داربست تهیه شده گردید و همچنین با توجه به ساختار لوله ای شکل متفاوت ماتریکس مری، احتمالا داربست حاصل می تواند بستر مناسبی جهت بررسی رفتار های سلولی، مطالعات مقدماتی در زمینه مهندسی بافت

1 -Bhrany
2- Beckstead
3- Altman

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-14]

مری و همچنین پزشکی ترمیمی باشد. علاوه بر این استفاده از موادی از قبیل فاکتورهای رشد، فیبرونکتین و لامینین می تواند چشم اندازی در جهت توسعه پژوهش های آتی در جهت هدفمند سازی این گونه داربست های طبیعی باشد.

نتیجه گیری

با توجه به اهمیت معماری و ترکیب داربست ها، تجربیات این پژوهش نشان داد که داربست سلول زدایی شده مری به دلیل داشتن لا یه های متنوع بافتی می تواند بعنوان داربست بسترهای مناسبی را برای پذیرش سلول های بنیادی مزانشیمی در محیط کشت فراهم نماید. لذا مدل مناسبی برای تحقیقات مقدماتی مهندسی بافت مری می باشد.

تشکر و قدردانی

این طرح از بودجه مصوبه مربوط به طرح پژوهشی شماره ۲۱۱۰۲/۲ معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شده است که بدین وسیله مراتب قدردانی از آنها اعلام می گردد.

References

1. Bronzino JD, Tissue Engineering and Artificial Organs, The Biomedical Engineering Handbook, CRC Press, New York, 2006.
2. Vunjak-Novakovic G, Freshney RI, Culture of cells for tissue engineering, John Wiley & Sons, New Jersey, 2006.
3. Chung C, Burdick JA, Engineering cartilage tissue, Adv Drug Deliv Rev 2008; 60: 243-62.
4. Sun J, Hou XK, Li X, Tang TT, Zhang RM, Kuang Y, Shi M, Mosaicplasty associated with gene enhanced tissue engineering for the treatment of acute osteochondral defects in a goat model, Arch Orthop Trauma Surg 2009; 129: 757-71.
5. Atala A, Regenerative medicine strategies, J Pediatr Surg 2012; 47: 17-28.
6.Caplan AI, Tissue engineering designs for the future: new logics, old molecules, Tissue Eng 2000; 6: 1-8.
7. Lu Q, Ganesan K, Simionescu DT, Vyavahare RN, Novel porous aortic elastin and collagen scaffolds for tissue engineering. Biomaterials 2003; 25: 5227-37.
8. Yang Q, Peng J, Guo Q, Huang J, Zhang L, Yao J, Yang F, Wang S, Xu W, Wang A, Lu S, A cartilage ECM-derived 3-D porous acellular matrix scaffold for in vivo cartilage tissue engineering with PKH26-labeled chondrogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cells, Biomaterials 2008; 29: 2378-87.
9. Badylak B, Gilbert T, Myers-Irvin J, Tissue Engineering. Edited by Blitterswijk, C. A. V. and Thomsen, P. Academic Press London; Burlington 2008; 121-43.
10. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF, An overview of tissue and whole organ decellularization
processes. Biomaterials 2011; 32: 3233-43.
11. Urita Y, Komuro H, Chen G, Shinya M, Kaneko S, Kaneko M, Ushida T, Regeneration of the esophagus using gastric acellular matrix: an experimental study in a rat model. Pediatr Surg Int 2007; 23: 21-6.
12. Fukushima M, Kako N, Chiba K, Kawaguchi T, Kimura Y, Sato M, Yamauchi M, andKoie H, Seven-year follow-up study after the replacement of the esophagus with an artificial esophagus in the dog, Surgery 1983; 93: 70-7.
13. Takimoto Y, Nakamura T, Yamamoto Y, Kiyotani T, Teramachi M, Shimizu Y, The experimental replacement of a cervical esophageal segment with an artificial prosthesis with the use of collagen matrix and a silicone stent, J Thorac Cardiovasc Surg 1998; 116: 98-106.
14. Shinhar D, Finaly R, Niska A, Mares AJ, The use of collagen-coated vicryl mesh for reconstruction of the canine cervical esophagus, Pediatr Surg Int 1998; 13: 84-7.
15. Isch JA, Engum SA, Ruble CA, Davis MM, Grosfeld JL, Patch esophagoplasty using AlloDerm as a tissue scaffold. Pediatr Surg Int 2001; 36: 266-68.
16. Ozeki M, Narita Y, Kagami H, Ohmiya N, Itoh A, Hirooka Y, Niwa Y, Ueda M, Goto H, Evaluation of decellularized esophagus as a scaffold for cultured esophageal epithelial cells, J Biomed Mater Res A 2006; 79: 771-78.
17. Williams CG, Kim TK, Taboas A, Malik A, Manson P, Elisseeff J, In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a photopolymerizing hydrogel, Tissue Eng 2003; 9: 679-88.
18. Fukumoto T, Sperling JW, Sanyal A, Fitzsimmons JS, Reinholz GG, Conover CA, O'Driscoll SW, Combined effects of insulin-

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-14]

like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1 on periosteal mesenchymal cells during chondrogenesis in vitro, Osteoarthritis Cartilage 2003; 11: 55-64.
19. Xu Y, Malladi P, Wagner DR, Longaker MT, Adipose-derived mesenchymal cells as a potential cell source for skeletal regeneration, Curr Opin Mol Ther 2005; 7: 300-5.
20. Dicker A, Götherström C, Aström G, Tammik C, Arner P, Le Blanc K, Functional characterization of human mesenchymal stem cell-derived adipocytes, Biochem Biophys Res Commun 2003; 311: 391-97.
21. Puissant B, Barreau C, Bourin P, Clavel C, Corre J, Bousquet C, "et al", Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells, Br J Haematol 2005; 129: 118-29.
22. Mahdavishahri N, M.Matin M, Fereidoni M, Yarjanli Y, Banihashem Rad A, Khajeh Ahmadi S, In vitro Assay of Human Gingival Scaffold in Differentiation of Rat's Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells to Keratinocystes, IJBMS 2012; 15(6): 1185-90[Persian]
23. Abousleiman RI, Reyes Y, McFetridge P, Sikavitsas V, The Human Umbilical Vein: A Novel Scaffold for Musculoskeletal Soft Tissue Regeneration, Artif Organs 2008; 32: 735-41.
24. Ahmadian Kia N, Bahrami AR, Ebrahimi M, Matin MM, Neshati Z, Almohaddesin MR, Aghdami N, Bidkhori HR, Comparative analysis of chemokine receptor's expression in mesenchymal stem cells derived from human bone marrow and adipose tissue, J Mol Neurosci 2011; 44: 178-85[Persian].
25. Badylak SF, Freytes DO, Gilbert TW, Extracellular matrix as a biological scaffold material: Structure and function. Acta Biomater 2009; 5: 1-13.
26. Dutta RC, Dutta AK, Comprehension of ECM-Cell dynamics: A prerequisite for tissue regeneration. Biotechnology Advances 2010; 28: 764–69 .
27. Bhrany AD, Beckstead BL, Lang TC, Farwell DG, Giachelli CM, Ratner BD, Development of an esophagus acellular matrix tissue scaffold, Tissue Engineering 2006; 12: 319-30.
28. Beckstead BL, Pan S, Bhrany AD, Bratt-Leal AM, Ratner BD, Giachelli CM, Esophageal epithelial cell interaction with synthetic and natural scaffolds for tissue engineering, Biomaterials 2005; 26: 6217-28.
29. Tabato Y, Recent progress in tissue engineering, Drug Discovery Today 2001; 6: 483-87.
30. Tsuchiya K, Chen G, Ushida T, Matsuno T, Tateishi T, The effect of coculture of chondrocytes with mesenchymal stem cells on their cartilaginous phenotype in vitro. Mat Sci Eng 2004; 24: 391-96.
31. Altman AM, Chiu ES, Bai X, Yan Y, Song YH, Newsome RE, Alt EU, Human adipose-derived stem cells adhere to acellular dermal matrix, Aesthetic Plast Surg 2008; 32: 698-9.
32. Tan JY, Chua CK, Leong KF, Chian KS, Leong WS, Tan LP, Esophageal tissue engineering: an in-depth review on scaffold design. Biotechnol Bioeng 2012; 109: 1-15.
33. Saxena AK, Ainoedhofer H, Höllwarth ME, Esophagus tissue engineering: in vitro generation of esophageal epithelial sheets and viability on scaffold, J Pediatr Surg 2009; 44: 896-901.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-14]

Original Article

Characterization of Rat esophagus Decellularized Scaffold Inductive Effect on Arrangement of Human adipose Derived Mesenchymal Stem Cells

*Naderi S [1], Akbar Zadeh M[1], Mahdavi Shahri N[2] *, Matin M M [3] , Fereidoni M[4], Haghighitalab A[5]*

[1]MSc of Developmental Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[2*]Professor, Histology and Cytology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[3]Associate Professor, Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences and Cell & Molecular Biotechnology Research Group, Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[4]Associate Professor ,Physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[5]MSc of Cell & Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

***Corresponding author:**
Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
mahdavin@um.ac.ir

Abstract

Background & objectives: *Tissue engineering techniques try to produce artificial tissues with properties like normal tissues. Regardless of progress in tissue engineering techniques especially in design and synthesis of suitable scaffolds, loading of cells into scaffolds is a serious obstacle in obtaining proper results in tissue engineering. Aim of this study was to prepare scaffolds from decellularized esophagus tissue with dimensions like normal tissue to study arrangement capability of cultured human adipose derived mesenchymal stem cells (AD-MSCs).*

Methods: *After removing the esophagus, physical and chemical decellularization methods including snap freeze-thaw and treatment with Triton X-100 and sodium dodecyl sulfate (SDS), as detergents, were performed. The scaffolds, were then cultivated with human AD-MSCs at a density of 5×10^5 cells /cm^2. Microscopic sections were prepared from the scaffolds before and after 2 weeks of culture with cells and were studied.*

Results: *Histological studies showed that proper migration and extension of mesenchymal stem cells in esophagus matrix led to arrangement of these cells in different layers of the prepared scaffold.*

Conclusion*: considering layers structure of esophagus matrix, prepared scaffold might be a suitable scaffold for studying cell behaviors and preliminary studies in esophagus tissue engineering.*

Key words: esophagus, 3D arrangement, mesenchymal stem cells, tissue engineering

Submitted:27Nov2012
Revised:14Feb2013
Accepted:11Mar2013

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-14]