بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده‌ی علوم

گروه آموزشی زیست‌شناسی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته‌ی زیست‌شناسی گرایش علوم‌جانوری

عنوان:

کشت سلول‌های مزانشیمی دندانی بر روی نانوداربست‌های پلیمری و بررسی رفتار تمایزی آن

اساتید راهنما:

دکتر اسداله اسدی

دکتر صابر زهری

پژوهشگر:

زهرا سعادتی شرفه

پاییز- ۱۳۹۲

تعهدنامه‌ی اصالت اثر و رعایت حقوق دانشگاه

تمامی حقوق مادّی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات و نوآوری‌هایِ ناشی از انجام این پژوهش، متعلق به **دانشگاه محقق اردبیلی** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقرّرات مربوطه و با ذکر نام دانشگاه محقق اردبیلی، نام استاد راهنما و دانشجو بلامانع است.

اینجانب زهرا سعادتی‌شرفه دانش‌آموخته‌ی‌مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی گرایش علوم جانوری دانشکده‌ی علوم دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی ۹۰۲۲۳۰۳۱۱۱ که در تاریخ ۱۳۹۲/۰۷/۲۳ از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان کشت سلول‌های مزانشیمی دندانی بر روی نانوداربست‌های پلیمری و بررسی رفتار تمایزی آن دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که:

۱) این پایان‌نامه را قبلاً برای دریافت هیچ‌گونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.
۲) مسئولیت صحّت و سقم تمامی مندرجات پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.
۳) این پایان‌نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد.
۴) در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه و با رعایت اصل امانتداری علمی، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در متن و فهرست منابع و مآخذ ذکر نموده‌ام.
۵) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هر گونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فنّاوری دانشگاه محقق اردبیلی، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.
۶) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه محقق اردبیلی را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکر نمایم.
۷) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن (منجمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه محقق اردبیلی را مجاز می‌دانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه رفتار نماید.

نام ونام خانوادگی دانشجو: زهرا سعادتی‌شرفه

امضا

تاریخ

تقدیم به

پدر بزرگوارم

مادر عزیز و مهربانم

خواهران و برادران خوبم

سپاس‌گزاری

شکر و امتنان پاک یزدان الهی، که مرا توفیق علم‌آموزی عطا فرمود و لحظه لحظه در این راه یاری‌ام نمود.

از پدر و مادر مهربان و عزیزتر از جانم که دعای خیرشان در تمام زندگی بدرقه راهم بوده و موفقیت‌هایم مرهون زحمات و گذشت بیکرانشان می‌باشد و همچنین خواهران و برادران عزیزم که همچون کوهی استوار پشتیبان زندگی‌ام بوده‌اند، بی‌نهایت سپاسگزارم و آرزوی سلامتی و سعادت ایشان را از درگاه خداوند متعال، خواستارم.

بر خود لازم می‌دانم از استاد راهنمای بزرگوار و گران‌قدرم، جناب آقای دکتر اسداله اسدی که راهنمایی این پایان‌نامه را بر عهده داشتند و در تمام سختی‌ها و مشکلات، قدم به قدم همراه و پشتیبانم بوده و با صبر و حوصله اینجانب را،در آموزش مطالب علمی و تکنیک‌های عملی و آزمایشگاهی راهنمایی نمودند مراتب تشکر و سپاسگزاری را داشته باشم.از استاد مهربان و صبورم، جناب آقای دکتر صابر زهری که همواره در همه‌ی زمینه‌ها پشتیبان من بودند صمیمانه سپاس گزارم و از ایزد منان بهترین‌ها را برایشان خواستارم. از دندانپزشک محترم، جناب آقای دکتر سردار جهانگیری بابت همکاری و لطف بی دریغشان کمال تشکر را دارم. از استادان عزیزم، سرکار خانم دکتر طوبی میرزاپور و جناب آقای دکتر ابوالفضل بایرامی که زحمت بازخوانی و داوری پایان نامه‌ام را بر عهده گرفتند صمیمانه سپاس گزارم. از سایر اساتید گروه زیست شناسی، جناب آقای دکتر معصومی، دکترلطیفی و... نیز صمیمانه سپاس گزارم. از سایر افرادی که هر یک به نحوی یاری‌بخش پایان‌نامه‌ام بوده‌اند، جناب آقای نظمی و خدایاری بی‌نهایت سپاسگزارم و برای همگی آرزوی سلامتی و سربلندی را از خداوند متعال خواستارم.

بر خود لازم می‌دانم از همکلاسی‌ها و دوستان مهربانم،خانم‌ها سونا اعیادی، سعیده آران، وحیده میری، الهام انوری آذر، ملیحه صمدی، زهرا چهره برقی، ندا شفیعی، فرزانه شهابی، منصوره نوروزی، سمیه صرامی، آنیا اکرمی، نسیم علیزاده ، سارا بنی ابراهیم، الهام مقری، رعنا محدث‌نیا و آقایان علی حاتمیان، حمید لطیفی نوید، محمد قنبری و سایر دوستانم کمال سپاس و قدردانی را دارم و برای همه عزیزان آرزوی سلامتی و توفیق را از خداوند متعال خواستارم.

نام خانوادگی دانشجو: **سعادتی شرفه** نام: **زهرا**

عنوان پایان‌نامه: **کشت سلول‌های مزانشیمی دندانی برروی نانوداربست‌های پلیمری و بررسی رفتار تمایزی آن**

اساتید راهنما: **دکتر اسداله اسدی، دکتر صابر زهری**

مقطع تحصیلی: **کارشناسی ارشد** رشته: **زیست‌شناسی**

گرایش: **علوم‌جانوری** دانشگاه: **محقق اردبیلی**

دانشکده: **علوم** تاریخ دفاع : **۱۳۹۲/۰۷/۲۳** تعداد صفحات: **۹٤**

چکیده:. در این پایان‌نامه نانوداربست پلیمری PLGA(۸۵/۱۵) با روش Freeze drying و با استفاده از پروژن (نمک NaCL) با ابعاد ۲۵۰-۱۰۰میکرومتر ساخته شد. نانوداربست متخلخل تهیه شده، از لحاظ خصوصیات سطحی، اندازه‌ی منافذ، توزیع منافذ بررسی گردید. و به این منظور تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از نانوداربست‌های مذکور تهیه و مورد تحلیل قرارگرفت. سلول‌های بنیادی مزانشیمی دندان از پالپ دندان شیری و پاپیلای اپیکال دندان شیری نارس از کودکانی با میانگین سنی ٦ تا ۱۱سال استخراج و خالص‌سازی شد. سلول‌های جداسازی شده از نظر مورفولوژی، زیستایی و توان تکثیر سلولی بررسی شدند و سپس امکان کشت، رشدوتکثیر و زیستایی آن‌ها بر روی نانوداربست پلیمری PLGA بررسی گردید. سلول‌های بنیادی به تنهایی و نیز داربست حاوی این سلول‌ها به مدت ۲۱ روز تحت تیمار محیط تمایزی استئوژنیک قرار گرفتند. در روز ۲۱ رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز و ون‌کوسا برای سلول‌های تحت تیمار انجام شد. بررسی سلول‌ها پس از رنگ‌آمیزی رسوب توده-های کلسیمی را در سلول‌ها و نیز تشکیل ندول استخوانی را توسط سلول‌ها نشان داد. داربست حاوی سلول‌های تمایزی نیز به دلیل دارا بودن رسوب کلسیم به رنگ قرمز درآمد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره رسوب کلسیم را در داربست حاوی سلول‌های تمایز یافته به استئوبلاست تأیید کرد. با توجه به نتایج بدست آمده استخراج، کشت و تمایز سلول‌های بنیادی دندانی بر روی نانوداربست پلیمری مذکور می‌تواند الگوی مناسبی جهت اهداف مهندسی بافت (استخوان) باشد.

کلیدواژه‌ها: نانوداربست پلیمری، PLGA، سلول‌های بنیادی دندانی، تمایز

فهرست مطالب

شماره و عنوان مطالب **صفحه**

فصل اول: کلیات پژوهش

۱- مقدمه و پیشینه‌ی تحقیق..... ۲

۱-۱- مهندسی بافت..... ۲

۱-۱-۱- مهندسی بافت استخوان..... ۳

۱-۱-۱-۱- ویژگی داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت استخوان..... ۴

۱-۱-۲- مواد مورد استفاده در مهندسی بافت برای ساخت داربست..... ۵

۱-۱-۲-۱- داربست کوپلیمری پلی‌لاکتیک-پلی‌گلیکولیک اسید..... ۶

۱-۱-۳- تکنیک‌هایی برای ساخت داربست‌های پلیمری..... ۷

۱-۱-۳-۱- خشک‌کردن انجمادی..... ۷

۱-۲- سلول‌های بنیادی..... ۸

۱-۲-۱- انواع سلول‌های بنیادی..... ۹

۱-۲-۱-۱- ویژگی‌های سلول‌های بنیادی جنینی..... ۹

۱-۲-۱-۲- سلول‌های بنیادی بالغ..... ۱۰

۱-۲-۱-۲-۱- منابع سلول‌های بنیادی بالغ..... ۱۰

۱-۲-۱-۲-۲- سلول‌های بنیادی بزرگسال مغزاستخوان..... ۱۰

۱-۲-۱-۲-۲-۱- سلول‌های بنیادی خونی..... ۱۱

۱-۲-۱-۲-۲-۲- سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان..... ۱۱

۱-۲-۱-۲-۳- منابع اصلی برای سلول‌های بنیادی مزانشیمال..... ۱۱

۱-۲-۱-۲-۳-۱- معیار ارزیابی برای شناسایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی..... ۱۲

۱-۳- تمایز سلولی..... ۱۲

۱-۳-۱- فاکتورهای رشد..... ۱۳
۱-۴- دندان..... ۱۴
۱-۴-۱- سلول‌های بنیادی دندان..... ۱۵
۱-۴-۱-۱- رده‌بندی سلول‌های بنیادی دندان..... ۱۵
۱-۴-۲- انواع سلول‌های بنیادی دندانی..... ۱۷
۱-۴-۳- مکان سلول‌های بنیادی دندان..... ۱۷
۱-۴-۵- مشخصات سلول‌های بنیادی دندان..... ۱۸
۱-۴-۶- پالپ دندان و سلول‌های بنیادی آن..... ۲۰
۱-۴-۷- ادنتوژنزیس (دندان زایی)..... ۲۱
۱-۴-۸- فاکتورهای رونویسی دخیل در ادنتوژنزیس..... ۲۲
۱-۴-۹- نقش بافت پالپ در دندان‌زایی..... ۲۳
۱-۴-۹-۱- سلول‌های بنیادی پالپ تولیدکننده‌ی استرومای استخوانی..... ۲۴
۱-۴-۱۰- سلول‌های بنیادی پالپ از دندان عقل..... ۲۴
۱-۴-۱۱- سلول‌های بنیادی جداشده از دندان‌های شیری افتاده..... ۲۵
۱-۴-۱۲- سلول‌های بنیادی لیگامان پریودنتال..... ۲۷
۱-۴-۱۳- سلول‌های پیش‌ساز فولیکول دندانی..... ۲۸
۱-۴-۱۵- سلول‌های بنیادی جداشده از پاپیلای‌آپیکال..... ۲۹
۱-۵- مهندسی بافت دندان..... ۳۰
۱-۵-۱- داربست‌های مورد استفاده برای ایجاد ساختارهای مختلف دندانی..... ۳۲
۱-۶- پیشینه‌ی تحقیق..... ۳۴

فصل دوم: مواد و روش پژوهش

۲- مواد و روش‌ها..... ۳۷
۲-۱- لیست دستگاه‌هاو موادمصرفی..... ۳۷
۲-۲- محلول‌های مورد استفاده..... ۳۹
۲-۲-۱- بافر PBS..... ۳۹

۲-۲-۲- آنتی بیوتیک ۳۹
۲-۲-۳- محیط کشت برای ذخیره‌ی طولانی مدت سلول‌ها..... ۴۰
۲-۲-۴- تهیه نیترات نقره ۱ درصد..... ۴۰
۲-۲-۵- تهیه تیوسولفات سدیم ۲/۵ درصد..... ۴۰
۲-۲-۶- دندان..... ۴۰
۲-۳- روش‌ها..... ۴۰
۲-۳-۱- تعویض محیط کشت..... ۴۰
۲-۳-۲- کشت مجدّد سلول‌ها..... ۴۱
۲-۳-۳- ذخیره و نگه‌داری بلندمدّت سلول‌ها..... ۴۲
۲-۳-۴- حیات مجدّد سلول‌ها..... ۴۴
۲-۳-۵- شمارش سلول‌ها با تریپانبلو..... ۴۵
۲-۳-۶- سنجش حیات سلول‌ها با آزمونMTT..... ۴۵
۲-۴- تهیه‌ی نمک با ابعاد مشخص..... ۴۶
۲-۴-۱- ساخت داربست PLGA..... ۴۷
۲-۴-۲- بررسی ویژگی‌های داربست..... ۴۹
۲-۴-۲-۱- مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره..... ۴۹
۲-۵- جداسازی و کشت اولیه سلول‌های بنیادی دندان ۴۹
۲-۵-۱- جداسازی وکشت اولیه‌ی سلول‌های بنیادی پاپیلای‌اپیکال..... ۴۹
۲-۵-۲- جداسازی و کشت اولیه سلول‌های بنیادی پالپ دندان شیری..... ۵۰
۲-۶- بررسی میزان بقای سلول‌های بنیادی دندان طی مرحله‌ی کشت..... ۵۲
۲-۶-۱- مقایسه و بررسی رشد SCAP و SHED..... ۵۲
۲-۶-۲- بررسی خصوصیّات SCAP و SHED..... ۵۲
۲-۶-۳- تمایز استئوبلاستیک سلول‌های بنیادی دندان..... ۵۳
۲-۷- کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی دندان بر روی داربست PLGA..... ۵۳
۲-۷-۱- بررسی اتصال سلول‌های بنیادی دندانی بر روی داربست توسط تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره..... ۵۴
۲-۷-۲- تمایز استئوبلاستیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی متصل به داربست ۵۴

۲-۸- تأیید تمایز استئوبلاستیک.....۵۴
۲-۸-۱- رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز.....۵۴
۱-۸-۲- رنگ‌آمیزی ون‌کوسا.....۵۵
۲-۸-۹- بررسی میکروسکوپ الکترونی.....۵۵

فصل سوم: نتایج و یافته‌های پژوهش

۳- نتایج.....۵۸
۳-۱- استخراج سلول‌های بنیادی مزانشیمی.....۵۸
۳-۲- سنجش حیات سلول‌ها با آزمون MTT.....۶۶
۳-۳- خصوصیّات داربست.....۶۹
۳-۳-۱- مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره.....۶۹
۳-۳-۲- بررسی اتصال سلول به داربست توسط تصاویر میکروسکوپ الکترونی.....۷۰
۳-۴- مقایسه و بررسی رشد SCAP و SHED.....۷۱
۳-۵- تأیید تمایز استئوبلاستیک.....۷۲
۳-۵-۱- رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز.....۷۲
۳-۵-۲- رنگ‌آمیزی ون‌کوسا.....۷۵
۳-۵-۳- بررسی میکروسکوپ الکترونی نگاره.....۷۸

فصل چهارم: نتیجه‌گیری و بحث

۴-۱- بحث و نتیجه‌گیری.....۸۲
۴-۲- پیشنهادات.....۸۷
فهرست منابع و مآخذ.....۸۸

فهرست جدول‌ها

شماره و عنوان جدول **صفحه**

جدول ۱-۱: خلاصه‌ی مشخصات سلول‌های بنیادی دندان..... ۱۹

جدول ۲-۲: دستگاه‌های استفاده شده..... ۳۷

جدول ۲-۳: لیست مواد مصرفی..... ۳۸

فهرست شکل‌ها

شماره و عنوان شکل **صفحه**

شکل ۱-۱: ساختمان دندان..... ۱۵

شکل۱-۲: رده‌بندی سلول‌های بنیادی دندانی..... ۱۶

شکل۱-۳: A- ساختار دندان رسیده و B- دندان نارس..... ۱۷

شکل۱-۴: مراحل دندان‌زایی..... ۲۲

شکل۱-۵: بازسازی لیگامان پریودنتال..... ۲۸

شکل۱-۶: اصول مهندسی بافت دندان..... ۳۲

شکل۲-۱: مراحل ساخت داربست PLGA..... ۴۸

شکل۲-۲: جداسازی بافت پاپیلای اپیکالی از دندان نارس..... ۵۰

شکل۲-۳: جداسازی بافت از پالپ دندان..... ۵۱

شکل۲-۴: مکان بافت پاپیلای اپیکال و پالپ..... ۵۱

شکل۳-۱: خروج جوانه‌های سلولی از بافت پاپیلای اپیکالی..... ۵۹

شکل۳-۲: خروج سلول از بافت پاپیلای اپیکالی،تکثیر سلولی وتشکیل کلنی..... ۶۰

شکل۳-۳: تشکیل حالت بافتی از SCAP..... ۶۰

شکل۳-۴: تشکیل گره معدنی در SCAP ۶۱

شکل۳-۵: ادامه خروج SCAP و پرشدگی ۱۰۰٪..... ۶۱

شکل۳-۶: مورفولوژی SCAP..... ۶۲

شکل۳-۷: خروج جوانه‌های سلولی از بافت پالپ دندان شیری..... ۶۳

شکل۳-۸: تجمع سلولی و تشکیل ماتریکس خارج سلولی در SHED ۶۳

شکل۳-۹: تشکیل گره معدنی در SHED..... ۶۴

شکل۳-۱۰: ایجاد شبکه‌های ترابکولار در حاشیه‌ی ماتریکس خارج سلولی SHED..... ۶۴

شکل۳-۱۱: مورفولوژی SHED در ابتدا..... ۶۵

شکل۳-۱۲: مورفولوژی SHED در پرشدگی ۱۰۰٪..... ۶۵

شکل۳-۱۳: بررسی سطح داربست..... ۶۹
شکل۳-۱۴: اتصال سلول به داربست..... ۷۰
شکل۳-۱۵: رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز روز ۱۴..... ۷۲
شکل۳-۱۶: رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز در روز ۲۱ SHED..... ۷۳
شکل۳-۱۷: رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز در روز ۲۱ SCAP..... ۷۴
شکل۳-۱۸: رنگ‌آمیزی ون کوسادر روز ۲۱ SHED..... ۷۶
شکل۳-۱۹: رنگ‌آمیزی ون کوسادر روز ۲۱ SCAP..... ۷۷
شکل۳-۲۰:رنگ‌آمیزی آلیزارین رد و ون کوسا در داربست با میکروسکوپ نوری معکوس..... ۷۸
شکل۳-۲۱: بررسی تمایز سلول بنیادی از پاپیلای اپیکال بر روی داربست با SEM..... ۷۹
شکل۳-۲۲ : بررسی تمایز سلول بنیادی از پالپ دندان شیری بر روی داربست با SEM..... ۸۰

فهرست نمودارها

شماره و عنوان شکل **صفحه**

نمودار۳-۱: زیستایی SHED به تنهایی و همراه با داربست PLGA..... ۶۶

نمودار۳-۲: زیستایی SCAP به تنهایی و همراه داربست PLGA..... ۶۷

نمودار۳-۳: زیستایی SHED و SCAP به تنهایی و روی داربست..... ۶۸

نمودار۳-۵: مقایسه‌ی رشد سلولی SHED و SCAP..... ۷۱

فهرست علائم اختصاری

علامت اختصاری	مفهوم یا توضیح
SHED	Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous teeth
DPSCs	Dental Pulp Stem Cells
PDLSCs	Periodontal Ligament Stem Cells
SCAP	Stem Cells from Apical Papilla
DFPCs	Dental Follicle Progenitor Cells
BMPs	Bone Morphogenetic Proteins
TGFs	Transforming Growth Factors
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
FGFs	Fibroblast Growth Factors
CD	Cluster Designation
DMEM-LG	Dublecco Modified Eagle Medium-Low Glucose
DMSO	Dimethyl Sulphoxide
EDTA	Ethylendiamine Tetra Acetic Acid
FBS	Fetal Bovin Serum
MSC	Mesenchymal Stem Cell
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]2-, 5diphenyltetrazolium bromide
pH	Measure of acidity/alkalinity
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medium
SEM	Scanning Electron Microscopy
PBS	Phosphate Buffer Saline
PLGA	Poly(Lactic-co-Glycolic Acid)
LAB	Living Autologous bibrous Bone
SBP-DPSCs	Stromal Bone Producing-Dental Pulp Stem Cells
Dmp-1	Dentin matrix protein-1
Dsp	Dentin sialoprotein
Dpp	Dentin phosphoprotein
Ocn	Osteocalcin
Wnts	Wingless family
Shh	Sonic hedgehog

فصل اول:

کلیات پژوهش

۱- مقدمه

۱-۱- مهندسی بافت

اصطلاح مهندسی‌بافت را Vicanti و Langer به عنوان یک شاخه‌ی بین رشته‌ای تعریف نمودند که اصول مهندسی و علم حیات را در کنار هم برای تکامل اجزای بیولوژیکی که باید ترمیم شده یا بهبود یابند، به‌کار می‌برد (لنگر و همکاران، ۱۹۹۵)، و به مثابه فرآیندی توصیف کردند که در آن بافت‌ها و اندام‌ها با پیوندزدن سلول‌ها با یا بدون یک داربست[۱] سلولی بازسازی می‌شود. تقریباً بیست سال بعد مهندسی بافت با وجود دست‌آوردهای مهم، به حد انتظار پیشرفت نکرده است (لنگر و ویکانتی[۲] ، ۱۹۹۳).

نقش اصلی سلول‌های بنیادی شرکت در پدیده‌ی ترمیم و بازسازی بافت است. بین فرآیند بازسازی و ترمیم یک اندام و تکامل اولیه‌ی آن شباهت وجود دارد. فرآیند بازسازی بافت در کلیّت خود تحت تأثیر ماتریکس خارج سلولی قرار می‌گیرد (گیوروسکی و نلسون[۳] ، ۲۰۰۹).

در همین ارتباط مهندسی بافت با استفاده از یک داربست زیست‌سازگار، فاکتورهای رشدی مناسب و سلول‌های بنیادی میسّر می‌شود (ژانگ[۴] و همکاران، ۲۰۰۵).

[1] Scaffold
[2] Langer & Vicanti
[3] Gyorevski & Nelson
[4] Zhang

داربست‌ها که امروزه به دو دسته‌ی اصلی داربست‌های طبیعی و مصنوعی تقسیم می‌شوند، درواقع نقشی مانند ماتریکس خارج سلولی ایفاء کرده و به‌عنوان حاملی برای فاکتورهای رشد عمل می‌کنند که بسته به نوع بافتی که بازسازی می‌شود، تنوع فراوانی در این فاکتورها وجود دارد. بنابراین یکی از ارکان اساسی مهندسی بافت نیاز به یک داربست برای حمایت و هدایت سلول‌ها در جهت بازسازی است (بوکاکسینی[1] و همکاران، ۲۰۰۵).

۱-۱-۱- مهندسی‌بافت استخوان

در بین بافت‌های بدن، استخوان پتانسیل بالایی برای تولید مجدّد دارد، از این رو یک نمونه‌ی مناسب برای مهندسی بافت به‌شمار می‌رود. سلول‌های تولیدکننده‌ی استخوان یا همان استئوبلاست‌ها از تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌وجود می‌آید (نوس[2] و همکاران، ۲۰۰۲). این سلول‌ها با دو روش استخوان سازی درون غشایی که در آن سلول‌های مزانشیمی مستقیم به سلول‌های استئوبلاستی تبدیل می‌شوند و یا روش استخوان سازی درون غضروفی که در آن سلول‌های مزانشیمی ابتدا غضروف را ایجاد می‌کنند و بعد از آن بافت غضروفی به استخوان تبدیل می‌شوند، فرآیندهای استخوان‌سازی را انجام می‌دهند (کیما[3] و همکاران، ۱۹۹۹). بررسی‌ها نشان می‌دهند که درمان شکستگی‌های استخوان و مشکلات غضروف با استفاده از سلول‌های بنیادی مغز استخوان امکان‌پذیر است. برای ساخت موادی که در بازسازی استخوان به‌کارگرفته می‌شود باید از فرآیندهای رشد سلولی، خصوصیّات فنوتیپی و بیان ژنی سلول‌ها با اطلاع بود تا با در نظر گرفتن این موارد بتوان از پاسخ سلول با مواد زیستی مختلف آگاهی

[1] Boccaccini
[2] Notch
[3] Cima

یافت (لوین[1] و همکاران، ۱۹۷٤). هم‌اکنون استفاده از سلول‌های مغز استخوان و از جمله سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان و تأثیر درمانی آن‌ها در بهبود مشکلات ارتوپدی به‌صورت بالینی در سطح جهانی درحال انجام است. در این تکنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی از خود فرد گرفته شده و در محیط آزمایشگاهی به سلول‌های استئوبلاست (استخوانی) تبدیل می‌شوند. سپس این سلول‌ها در کنار بافت‌های آسیب دیده استقرار می‌یابد تا باعث جوش‌خوردگی سریع این بافت‌ها گردند. در این مورد، سلول‌ها از خود شخص جدا می‌شوند؛ بنابراین مشکل پس‌زدگی و عوارض جانبی را نیز دربر ندارند (میجر[2] و همکاران، ۲۰۰۷).

۱-۱-۱-۱- ویژگی‌داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت استخوان

داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت استخوان باید دارای ویژگی‌های زیر باشند:

الف) داربست باید به گونه‌ای باشد که اجازه چسبیدن سلول‌های استخوان‌ساز به سطح آن به راحتی میسّر بوده و انجام اعمال مربوط به تجزیه‌ی سلولی و رشد سلول‌ها در سرتاسر ساختار آن امکان‌پذیر باشد. ب) داربست بایستی زیست‌سازگار باشد، به این معنی‌که نه‌تنها پلیمر به‌کار رفته در ساخت داربست بلکه محصولات حاصل از تخریب آن نیز سمّی نبوده و منجر به ایجاد آماس و التهاب در محیط in vivo نگردد. ج) داربست بایستی زیست تخریب‌پذیر بوده و در موعد مناسب بر اثر تخریب و فرسایش حذف شود. د) داربست بایستی به اندازه‌ی کافی متخلخل باشد تا فضای کافی را برای چسبیدن سلول‌های استخوان‌ساز، بازسازی ماتریکس مافوق سلولی و حداقل ممانعت به نفوذ فاکتورهای رشد را سبب گردد، ضمن آن‌که ساختار حفرات بایستی به گونه‌ای باشند که توزیع سلول‌ها در سرتاسر داربست را موجب

[1] Levin
[2] Mijer

شوند و شکل‌گیری بافت همگن تسهیل گردد. در این ارتباط محققین بر این باورند که یک داربست ایده‌آل در مهندسی بافت استخوان بایستی از اندازه تخلخل‌هایی بالاتر از ۲۰۰ میکرومتر برخوردار باشد تا امکان تغذیه برای سلول‌های واقع در نواحی درونی داربست نیز به‌راحتی میسّر گردد و سلول‌ها مجبور به مهاجرت به نواحی سطحی داربست نگردند. ه) مواد به کار رفته در ساخت داربست بایستی از نقطه نظر مکانیکی از خواص مکانیکی و استحکام بالایی برخوردار باشند و فرآیندهای تولید ساختارهای سه‌بعدی از آن به راحتی امکان‌پذیر بوده و این فرآیند تکرارپذیر باشد (جوپینگ چن[1] و همکاران، ۲۰۰۲).

۱-۱-۲- مواد مورد استفاده در مهندسی بافت برای ساخت داربست

به‌طور کلی دو دسته مواد در مهندسی بافت برای ساخت داربست‌ها به‌کار می‌روند: ۱) پلیمرهای طبیعی مثل کلاژن، آلژینات، فیبرین و غیره. ۲) پلیمرهای مصنوعی یا سنتزی مثل پلی‌استرها هم‌چون پلی لاکتیک اسید (PLA) پلی‌گلیکولیک اسید (PGA)، پلی کاپرولاکتون (PCL)، پروپلین‌فومارات و از این قبیل مواد می‌باشند (کوه و آتالا[2] ، ۲۰۰٤). البته مواد معدنی نیز در مهندسی بافت استخوان به‌کار می‌روند، که این دسته شامل سرامیک‌ها به‌عنوان مثال انواع ترکیبات کلسیم فسفات مثل هیدروکسی‌آپاتیت (HA)، تری‌کلسیم فسفات (TCP) و کلسیم فسفات سیمانی (CPC) هستند. دیگر سرامیک‌های معدنی شامل کلسیم سولفات، فلزات و بیوگلاس‌ها هستند (رزوان[3] و همکاران، ۲۰۰٦). یکی از ترکیباتی که در پرکردن مکانیکی و بیولوژیکی استخوان امروزه به کار گرفته می‌شود، ترکیبات تری‌کلسیم فسفات می‌باشد و رایج‌ترین سرامیک مورداستفاده در مطالعات بازسازی استخوان، HA می‌باشد که یک ماده معدنی از اشکال طبیعی کلسیم آپاتیت بوده و دارای سازگاری زیستی عالی، زیست فعال، بیومتریال و پیوند

[1] Chen
[2] Koh & Atala
[3] Rezvan