Proliferation Assay of Astrocytes Isolated from Rat Neocortex in a Nanopeptide Scaffold

Ali Jahanbazi Jahan-Abad[1, 2], Parastu Morteza Zadeh[1, 3], Elham Mohammadzadeh[1, 4], Zabihollah Khaksar[5], Shahin Mohammad Sadeghi[6], Sajad Sahab Negah[1, 5*]

[1]Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran

[2]Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[3]Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University of Tehran, Tehran, Iran

[4]Department of Biology and Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[5]Histology and Embryology Group, Basic Science Department, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

[6]Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Info:

Received: **4 May 2016** ***Accepted*****: 31 Aug 2016**

ABSTRACT

Introduction: Astrocytes are the most abundant cells in the mammalian brain and play important roles in regulating neuronal signaling, protecting neurons, and determining the fate of neural precursors. Astrocytes are one of the best candidates for cell therapy. Three-dimensional (3D) scaffolds are a synthetic matrix which provided a biocompatible, biodegradable, and non-toxic 3D environment for a variety of cells. In the present study, we isolated astrocytes from rat neocortex and assessed the proliferation rate of astrocytes in 3D dimensional environment. ***Materials and Methods:*** Astrocytes isolated from adult rat neocortex. The isolated cells was cultured in DMEM/F12 medium supplement with 10٪ FBS. Astrocytes were confirmed by expression of GFAP (glial fibrillary acidic protein), assessed by immunocytochemistry. After the 3th passage, the astrocytes were cultured in 3D and two - dimensional (2D) cultures and MTS assay was used to determined cell proliferation. ***Results:*** The expression of GFAP marker was confirmed by immunocytochemistry assay. Our results showed that surface plating of astrocytes with 0.15٪ PuraMatrix showed significantly greater cell proliferation in comparison with 2D culture. ***Conclusion:*** These findings indicate the potential of the astrocytes which was cultured in 3D for using in cell transplantation.

Key words:

1. Tissue Engineering
2. Astrocytes
3. Cell Proliferation

***Corresponding Author:** Sajad Sahab Negah

E-mail: *sahabsajad@yahoo.com*

doi: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.19

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-09-16]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.19]

بررسی تکثیر آستروسیت‌های جدا شده از قشر مغز موش صحرایی در یک داربست نانوپپتید

علی جهانبازی جهان آباد[۱،۲]، پرستو مرتضی زاده[۳]، الهام محمدزاده[۱،۴]، ذبیح الله خاکسار[۵]، شاهین محمدصادقی[۶]، سجاد سحاب نگاه[۱،۵*]

[۱] مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم‌الانبیاء، تهران، ایران
[۲] گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۳] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران
[۴] گروه بیولوژی و علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۵] بخش بافت شناسی و جنین شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
[۶] گروه جراحی پلاستیک و ترمیمی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۵ اردیبهشت ۱۳۹۵
تاریخ پذیرش: ۱۰ شهریور ۱۳۹۵

چکیده

مقدمه: آستروسیت‌ها فراوان‌ترین سلول‌ها در مغز پستانداران هستند و نقش مهمی در تنظیم پیام‌رسانی عصبی، حفاظت سلول‌های عصبی و تعیین سرنوشت پیش‌سازهای عصبی ایفاء می‌کنند. آستروسیت‌ها یکی از بهترین نامزدها برای سلول درمانی می‌باشد. داربست‌های سه بعدی یک ماتریکس سنتتیک هستند که یک محیط سه بعدی زیست سازگار، زیست تخریب پذیر و غیر سمی برای انواع سلول‌ها فراهم می‌کنند. در مطالعهٔ حاضر ما آستروسیت‌ها را از قشر مغز موش صحرایی جدا کردیم و سرعت تکثیر آستروسیت‌ها در محیط سه بعدی ارزیابی شد. **مواد و روش‌ها:** آستروسیت‌ها از قشر مغز موش صحرایی بالغ جدا شد. سلول‌های جدا شده در محیط کشت DMEM/F12 حاوی ۱۰ درصد FBS کشت داده شدند. آستروسیت‌های ارزیابی شده با ایمونوسیتوشیمی با بیان پروتئین اسیدی رشته‌ای گلیال تأیید شدند. بعد از پاساژ سوم، آستروسیت‌ها در محیط‌های سه بعدی و دو بعدی کشت داده شدند و روش MTS به‌منظور مشخص کردن تکثیر سلولی استفاده شد. **یافته‌ها:** بیان نشانگر پروتئین اسیدی رشته‌ای گلیال توسط روش ایمونوسیتوشیمی تأیید شد. نتایج ما نشان داد که کشت سطحی آستروسیت‌ها در پوراماتریکس ۰/۱۵٪ به طور معنی‌داری تکثیر سلولی بیشتری را در مقایسه با محیط دو بعدی نشان می‌دهد. **نتیجه‌گیری:** این یافته‌ها پتانسیل آستروسیت‌های کشت داده شده در محیط سه بعدی را برای استفاده در پیوند سلول نشان داد.

کلید واژه‌ها:
۱. مهندسی بافت
۲. آستروسیت‌ها
۳. تکثیر سلولی

* **نویسنده مسئول:** سجاد سحاب نگاه
آدرس الکترونیکی: *sahabsajad@yahoo.com*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-09-16]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.19]

مقدمه

آستروسیت‌ها فراوان‌ترین سلول‌های موجود در سیستم عصبی هستند که وظایف متعددی را نیز بر عهده دارند. از جملهٔ مهم‌ترین وظایف این سلول‌ها می‌توان به نقش آن‌ها در حفظ هومئوستاز سیناپس‌ها، تنظیم پیام‌رسانی بین نورون‌ها، محافظت از نورون‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو، کنترل جریان سد خونی -مغزی و حمایت از سلول‌های عصبی اشاره کرد. مطالعات انجام گرفته بر روی آستروسیت‌ها حاکی از کشت این سلول‌ها به‌منظور کاربرد آن‌ها در درمان ضایعات نورون‌های حرکتی و همین‌طور استفاده از آن‌ها در آسیب‌های نخاعی می‌باشد (۴-۱). با توجه به اینکه شرایط رشد، تکثیر و خالص‌سازی این سلول‌ها به‌منظور استفاده از آن‌ها در کارهای درمانی بسیار سخت و محدود می‌باشد لذا بهینه‌سازی و تسهیل شرایط رشد و محیط‌های کشت مورد استفاده برای تکثیر و تمایز آن‌ها می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد.

اخیراً در مطالعات in vitro جهت نزدیک شدن به حالت طبیعی به‌منظور بهبود شرایط رشد، بقاء، تکثیر سلولی و تمایز سلول‌های عصبی در محیط‌های سه بعدی کشت داده می‌شوند (۷-۵). بنابراین امروزه مهندسی بافت با معرفی و به کارگیری انواع داربست‌ها نقش کمک‌کننده‌ای در بهبود کیفی این محیط‌های کشت سه بعدی داشته است. مواد زیادی جهت تولید ماتریکس خارج سلولی به کار می‌رود که از آن جمله می‌توان به پلیمرهای طبیعی مانند کلاژن، لامینین، فیبرین و پلیمرهای سنتزی مانند پلی هیدروکسیل اسید و پلی وینیل کلرید و غیره اشاره نمود (۱۰-۸). در مقابل داربست‌های مصنوعی می‌باشند که می‌توان به پپتیدهای خود ساخته اشاره کرد. پپتیدهای خود ساخته می‌توانند ساختارهای سه بعدی در مقیاس نانو تشکیل دهند. از مزیت‌های این داربست‌ها عدم تحریک پاسخ ایمنی از سود میزبان، پس از پیوند است (۱۳-۱۱). یکی از داربست‌های خود ساخته، پوراماتریکس می‌باشد. این داربست یک پپتید ۱۶ اسید آمینه‌ای است که پس از مواجهه با محیط‌های یونی توانایی بسیار خوبی در تشکیل داربست سه بعدی (شبیه به ماتریکس خارج سلولی طبیعی بدن) دارد که قطر فیبرهای آن در حدود ۱۰ نانومتر می‌باشد و اندازهٔ منافذ بین فیبرها حدود ۱۰۰(۱۴) نانومتر است (۱۶، ۱۵، ۱۲).

زیست مواد[1] پیشرفته می‌تواند یک ریز محیطی را که تأثیر چشمگیری بر ترمیم سیستم عصبی داشته باشد بهبود ببخشد. اگرچه کشف سلول‌های بنیادی عصبی امکان دست‌یابی به ترمیم سیستم اعصاب مرکزی را ممکن کرده است، به دلیل عدم کنترل دقیق خود تجدیدی سلول‌های بنیادی عصبی و انتقال نیافتن دقیق پیام‌های عصبی تا کاربرد بالینی فاصلهٔ زیادی دارد. بنابراین، یکی از مهم‌ترین و اساسی‌ترین نیازهای مهندسی بافت و ترمیم CNS، ساخت داربست مناسب توسط طراحی مواد بیواکتیو می‌باشد که با پیچیدگی پارامترهای بیوفیزیکی و بیوشیمیایی همراه می‌باشد. بدون شک هر ویژگی بیوفیزیکی و بیوشیمیایی از زیست موادها تأثیر مستقیمی بر تنظیم سرنوشت سلول‌های بنیادی عصبی دارد. تحقیقات بر روی ترکیب مواد پایه‌ای، الگوهای تنظیمی و پارامترهای زیست موادی، جهت استفاده از زیست موادها در ترمیم مغز آسیب‌دیده می‌توانند در آینده مورد توجه قرار گیرد.

هدف از این مطالعه مقایسهٔ تأثیر داربست نانو فایبری پوراماتریکس بر تکثیر سلول‌های آستروسیت مشتق شده از قشر مغز موش صحرایی بالغ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه

در این مطالعه ابتدا سلول‌های آستروسیت از قشر مغز موش‌های صحرایی بالغ جداسازی و تخلیص شدند و در یکی از ۳ گروه زیر قرار گرفتند (۳ کشت در هر گروه):

۱- تمامی گروه‌ها حاوی محیط کشت نوروسفر (حاوی FBS ده درصد) و فاقد فاکتور رشد اپیدرمی بودند.

۲- گروه دو بعدی: سلول‌ها در ظروف بچسب کشت داده شدند.

۳- گروه داربست پوراماتریکس: سلول‌ها بر روی داربست پوراماتریکس ۰/۱۵٪ کشت داده شدند.

جداسازی و کشت سلول‌های آستروسیت

به‌منظور جداسازی و کشت آستروسیت‌ها از قشر مغز موش‌های صحرایی بالغ ابتدا موش‌های صحرایی با کتامین / زایلازین (نسبت ۱/۴) بیهوش شدند و سپس مغز آن‌ها بیرون آورده شد و با رعایت شرایط استریل قشر مغز آن‌ها با تیغ بیستوری و پنس با دقت جدا گردید. قشر جدا شده به درون یک فالکن ۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر PBS[2] انتقال و چند بار تکان داده شد تا خوب شستشو داده شود. در ادامه بافت قشر جدا شد و به هود لامینار مخصوص کشت سلول انتقال داده شد و درون یک پلیت شیشه‌ای استریل حاوی ۵ میلی‌لیتر محلول تریپسین گذاشته شد. در این مرحله بافت جدا شده با قیچی و پنس استریل به قطعات کوچک قطعه قطعه گردید. سپس جهت اطمینان از هضم بافت، محلول به حالت یک سوسپانسیون شیری رنگ تبدیل شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۵ دقیقه با سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی دور ریخته شد و رسوب سلولی جدا شده با

[1] Biomaterials
[2] Phosphate-buffered saline

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-09-16]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.19]

۵ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM/F12 پیپتاژ شد تا به حالت سوسپانسیون درآید. رسوب حاصل با ۵ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM/F12 حاوی ۱۰ درصد FBS پیپتاژ شد و در شش فلاکس T25 به طور مساوی پخش شد. فلاکس‌های T25 به درون انکوباتور انتقال داده شدند و بعد از سه روز محیط آن‌ها تعویض گردید. در نهایت در روز نهم به‌منظور خالص کردن سلول‌های کشت داده شده، فلاکس‌های T25 حاوی این سلول‌ها شیک شدند. این کار به‌منظور جدا کردن سلول‌های الیگودندروسیت از سلول‌های کشت داده شده انجام شد. سپس محلول رویی درون فلاکس‌ها دور ریخته شد و پس از شستشو و تعویض محیط کشت این سلول‌ها، فلاکس‌های مذکور به انکوباتور انتقال داده شدند تا سلول‌های خالص شده به رشد و تکثیر خود ادامه دهند.

ارزیابی ایمونوسیتوشیمی

برای تأیید آستروسیت‌ها از روش ایمونوسیتوشیمی با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی GFAP[3] بهره گرفته شد. بدین صورت که سلول‌ها از انکوباتور خارج و به مدت ۳ بار (هر بار ۳ دقیقه) با PBS شسته شدند. در مرحلهٔ بعد به مدت ۳۰ دقیقه در معرض پارافرمالدئید ۴٪ قرار داده شدند و بعد در دو مرحله با PBS شسته شدند و در مرحلهٔ بعد از محلول‌های تریتون X-۱۰۰ (غلظت ۰/۰۳٪) و بلاکر (حاوی NGS[4] و BSA[5]) به ترتیب برای نفوذ کردن سلول‌ها و پوشاندن مکان‌های غیر اختصاصی استفاده گردید. به دنبال آن سلول‌ها در معرض آنتی‌بادی اولیهٔ پروتئین اسیدی رشته‌ای گلیال (Millipore: MAB360; 1:100) قرار گرفتند و به مدت یک شبانه‌روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد بودند. در روز بعد آنتی‌بادی اولیه خارج و در دو مرحله با PBS شستشو صورت گرفت و آنتی‌بادی ثانویهٔ کنژوگه با FITC[6] (Anti- mouse; 1:700) به مدت یک ساعت در محیط تاریک اضافه گردید. در نهایت پس از شستشو با PBS از PI[7] جهت شناسایی سلول‌ها استفاده شد. جهت مشاهده و عکسبرداری از میکروسکوپ فلورسنت Olympus استفاده گردید.

کشت سه بعدی سلول‌ها در داربست نانو فایبری پوراماتریکس

ابتدا پوراماتریکس ۱٪ به مدت نیم ساعت ورتکس شد و سپس با آب دیونیزه غلظت ۰/۱۵٪ تهیه شد و دوباره به مدت نیم ساعت ورتکس گردید. در مرحلهٔ بعد در هر خانه از ظرف کشت ۹۶ تایی، ۵۰ میکرو لیتر از محلول پوراماتریکس ۰/۱۵٪ ریخته شد. سپس به آرامی با اضافه کردن محیط کشت به آن، داربست تشکیل شد. پوراماتریکس دارای ماهیت اسیدی می‌باشد، جهت تنظیم کردن pH سه مرتبه به مدت ۳ ساعت تعویض محیط انجام شد. پس از پاساژ، تعداد ۲×۱۰^{۴} سلول بر روی داربست به روش کشت سطحی، کشت داده شد.

بررسی تکثیر سلولی با استفاده از روش MTS

از کیت MTS[8] (Promega; G3582) جهت بررسی تکثیر سلولی بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. در روزهای ۱، ۵ و ۷، ۲۰ میکرو لیتر از محلول MTS به محیط کشت اضافه شد و سپس به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، دور از نور انکوبه شد. سپس نتایج به دست آمده با قرائتگر الایزا در طول موج ۴۹۰ نانومتر ثبت گردید.

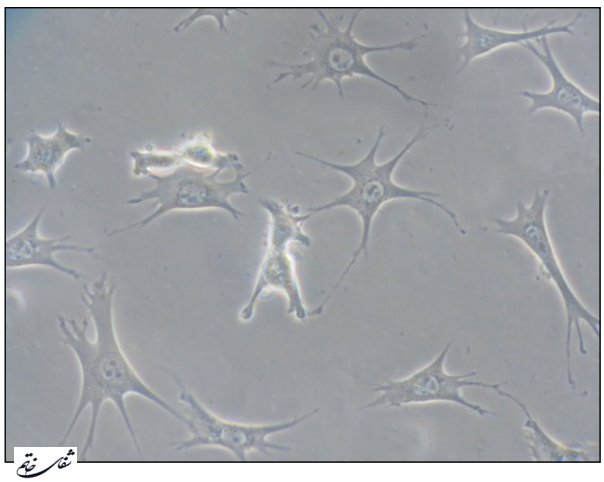
آنالیز آماری

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شدند و در نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و سپس با استفاده از Mann-Whitney U آنالیز شدند. میزان $P<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

جداسازی و کشت سلول‌های آستروسیت

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سلول‌های آستروسیت به کف ظرف می‌چسبند و پس از شیک کردن آن‌ها خالص می‌شوند. سلول‌های آستروسیت دارای هسته‌ای یوکروماتین با چند هستک مشخص می‌باشند. زوائد سیتوپلاسمی آن‌ها پهن و کوتاه می‌باشد (تصویر ۱).



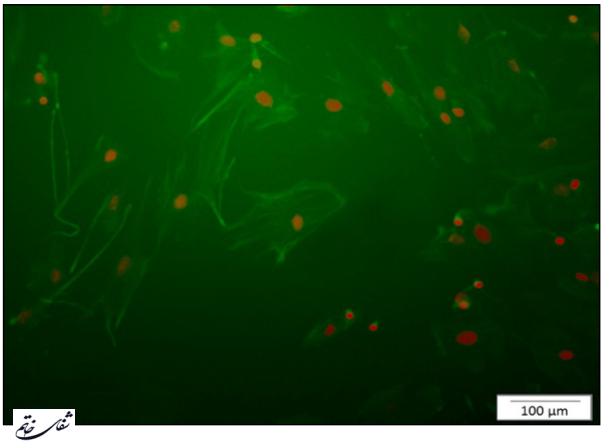
تصویر ۱- عکس میکروسکوپ فاز کنتراست سلول‌های آستروسیت جدا شده از قشر مغز موش صحرایی در روز ۹ پس از کشت می‌باشد (۱۰۰×). سلول های آستروسیت دارای هسته‌ای بزرگ و یوکروماتین می‌باشند و زوائد سیتوپلاسمی مشخصی دارند.

[3] Glial fibrillary acidic protein
[4] Normal goat serum
[5] Bovine serum albumin
[6] Fluorescein isothiocyanate
[7] Propidiumiodid
[8] 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxy-phenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt; MTS

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-09-16]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.19]

نتایج حاصل از ایمنوسیتوشیمی انجام گرفته روی سلول‌های آستروسیت جدا شده از قشر مغز موش صحرایی

جهت تأیید سلول‌های آستروسیت از روش ایمونوسیتوشیمی استفاده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که ۹۰ درصد سلول‌ها GFAP مثبت بودند (تصویر ۲).

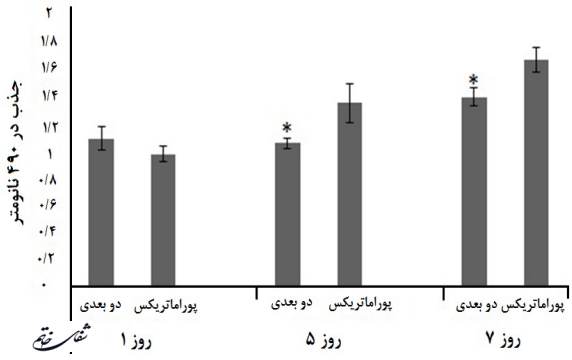


تصویر ۲- عکس میکروسکوپ فلورسنت برای تأیید نشانگر آستروسیتی پروتئین اسیدی رشته‌ای گلیال با استفاده از روش ایمنوسیتوشیمی. سلول‌های آستروسیت جدا شده از قشر مغز موش صحرایی بعد از پاساژ سوم است که میزان بالایی از پروتئین اسیدی رشته‌ای گلیال را نشان دادند.

بررسی تکثیر سلولی

در بررسی میزان تکثیر سلولی با استفاده از روش MTS، نشان داده شد در روز ۱ پس از کشت، تکثیر سلولی در گروه دو بعدی (۱/۰۶±۰/۰۴) نسبت به گروه پوراماتریکس (۰/۹۵±۰/۰۳) افزایش داشت که این تفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P=۰/۲۷۵)-(نمودار ۱).

نتایج به دست آمده در روز ۵ نشان داد که تکثیر سلولی در گروه پوراماتریکس (۱/۳۶±۰/۰۷) نسبت به گروه دو بعدی (۱/۰۲±۰/۰۲) به طور چشمگیری بیشتر بود (P<۰/۰۵).



نمودار ۱- مقایسهٔ تکثیر سلول‌های آستروسیت بعد از روزهای ۱، ۵ و ۷. مطالعات آماری انجام گرفته بر روی نتایج حاصل از روشMTS نشان داد که در روز اول تفاوت معنی‌داری بین سلول‌های آستروسیت کشت داده شده در محیط کشت دو بعدی و پوراماتریکس وجود نداشت درحالی‌که افزایش تکثیر این سلول‌ها در روزهای ۵ و ۷ تفاوت معنی‌داری داشت.(*: اختلاف معنی‌دار بین دو گروه).

نتایج نشان داد که تکثیر سلولی در روز ۷ در گروه پوراماتریکس (۱/۶۲±۰/۰۵) و دو بعدی (۱/۳۵±۰/۰۳) به طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۵).

نتایج به دست آمده از مقایسهٔ بین روزهای مختلف در گروه‌ها نشان داد که تکثیر سلولی در هر گروه نسبت به روزهای قبل افزایش یافت است به طوری که در روز ۷ بیشترین تکثیر در هر گروه مشاهده گردید.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای روی کشت سلول‌های آستروسیت در محیط‌های کشت سه بعدی پوراماتریکس و همین‌طور مقایسهٔ کشت این سلول‌ها با محیط‌های کشت دو بعدی انجام نگرفته است لذا در مطالعهٔ حاضر بعد از جدا سازی و کشت این سلول‌ها در محیط‌های کشت ذکر شده به بررسی و مقایسهٔ رشد و تکثیر آن‌ها نیز پرداخته شد. نتایج حاصل از تکثیر آستروسیت‌ها در روزهای مختلف ۱، ۵ و ۷ بعد از کشت این سلول‌ها در محیط‌های کشت دو بعدی و سه بعدی نشان داد که در روز اول بعد از کشت تفاوت معنی‌داری بین تکثیر آن‌ها وجود نداشت درحالی‌که در روزهای پنجم و هفتم بعد از کشت، افزایش تکثیر سلول‌های آستروسیت کشت داده شده در محیط‌های سه بعدی نسبت به دو بعدی افزایش معنی‌داری داشت. مطالعات انجام‌گرفته روی داربست‌های مختلف کشت سلول حاکی از آن است که پوراماتریکس به‌عنوان یک نانو داربست مزایای زیادی برای استفاده در تحقیقات و مهندسی بافت داشته است (۱۸، ۱۷).

طبق جستجوهای انجام گرفته در پایگاه‌های اطلاع‌رسانی مختلف از جمله سلول‌های مختلفی که در داربست‌های پوراماتریکس به کار گرفته شده‌اند می‌توان به سلول‌های پیش‌ساز عصبی جنینی انسان، سلول‌های بنیادی پالپ دندان، سلول‌های شوان جنینی انسان و سلول‌های پیش‌ساز بنیادی عصبی موش صحرایی اشاره کرد (۲۱-۱۹، ۷). Cunha و همکاران به بررسی سلول‌های بنیادی عصبی جدا شده از ناحیهٔ تحت بطنی موش بالغ در داربست سه بعدی پوراماتریکس پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی به غلظت داربست‌های خود ساخته بستگی دارد به طوری که بیشترین میزان تکثیر در غلظت ۰/۵٪ مشاهده شد (۲۲). درحالی‌که در مطالعهٔ دیگری که توسط علیقلی و همکارانش انجام گرفت مناسب‌ترین غلظت برای تکثیر این سلول‌ها در محیط پوراماتریکس در غلظت ۰/۱۵٪ مشاهده شد. لذا در این مطالعه نیز از غلظت

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-09-16]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.19]

۰/۱۵٪ پوراماتریکس به‌عنوان محیط کشت سه بعدی استفاده گردید (۲۴، ۲۳). از دیگر نتایج تحقیق Chunha و همکاران می‌توان به تکثیر بیشتر سلول‌های بنیادی عصبی در محیط دو بعدی نسبت به داربست‌های خود ساخته اشاره کرد .که با مطالعهٔ حاضر هم خوانی ندارد. البته آن‌ها علت این امر را چنین توضیح دادند که استفاده از داربست‌های خود ساخته بیشتر شبیه محیط بدن است چرا که سلول‌های عصبی در محیط بدن توانایی تکثیر پایینی دارند (۲۲).

در مطالعهٔ دیگری که توسط مرادی و همکاران بر روی سلول‌های شوان جنینی انسان انجام گرفت نیز مشاهده شد که رشد و بقاء این سلول‌ها در محیط‌های کشت سه بعدی نسبت به دو بعدی افزایش معنی‌داری داشته است. نتایج مطالعهٔ حاضر در بررسی تکثیر سلولی با استفاده از داربست پوراماتریکس با تحقیق مرادی و همکاران همسو می‌باشد چرا که تکثیر سلولی در داربست پوراماتریکس نسبت به گروه دو بعدی افزایش داشت. شایان ذکر است که مرادی و همکارانش در مطالعهٔ مذکور همین‌طور به بررسی پیوند این سلول‌ها با استفاده از پوراماتریکس در مدل‌های حیوانی آسیب‌های مغزی و نخاعی پرداختند. نتایج حاصل از مطالعهٔ آن‌ها حاکی از آن بوده است که استفاده از این داربست‌ها در ترمیم ضایعات مغزی و نخاعی ایجاد شده می‌تواند در بهبود عملکرد حرکتی مدل‌های حیوانی ایجاد شده در مدت زمان کوتاه‌تر و همین‌طور کاهش فرایند آستریوگلیوزیس آن‌ها طی فرایند ترمیم حائز اهمیت باشد(۲۵، ۲۰). از طرفی مطالعات انجام گرفته حاکی از کاربرد آستروسیت‌ها در درمان ضایعات نورون‌های حرکتی و همین‌طور استفاده از آن‌ها در آسیب‌های نخاعی است (۲۶، ۲، ۱).

با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای بر روی استفاده از آستروسیت‌ها در داربست‌های پوراماتریکس در پیوند این سلول‌ها در آسیب‌های مغزی و نخاعی انجام نگرفته است بنابراین در مطالعهٔ حاضر به بررسی تکثیر این سلول‌ها در محیط پوراماتریکس پرداخته شد تا بدین وسیله برای انجام مطالعات بیشتر روی کاربرد این سلول‌ها در ترمیم آسیب‌های مغزی و نخاعی زمینه‌ای فراهم شود.

منابع

1. Blackburn D, Sargsyan S, Monk PN, Shaw PJ. Astrocyte function and role in motor neuron disease: a future therapeutic target? Glia. 2009; 57(12): 1251-64.

2. Savitz SI, Dinsmore JH, Wechsler LR, Rosenbaum DM, Caplan LR. Cell therapy for stroke. NeuroRx. 2004; 1(4): 406-14.

3. Seifert G, Schilling K, Steinhäuser C. Astrocyte dysfunction in neurological disorders: a molecular perspective. Nat Rev Neurosci. 2006; 7(3): 194-206.

4. Nedergaard M. Direct signaling from astrocytes to neurons in cultures of mammalian brain cells. Science. 1994; 263(5154): 1768-71.

5. Ai J, Kiasat-Dolatabadi A, Ebrahimi-Barough S, Ai A, Lotfibakhshaiesh N, Norouzi-Javidan A, et al. Polymeric scaffolds in neural tissue engineering: a review. Archives of Neuroscience. 2014; 1(1): 15-20.

6. Iwasaki M, Wilcox JT, Nishimura Y, Zweckberger K, Suzuki H, Wang J, et al. Synergistic effects of self-assembling peptide and neural stem/progenitor cells to promote tissue repair and forelimb functional recovery in cervical spinal cord injury. Biomaterials. 2014; 35(9): 2617-29.

7. Sahab Negah S, Khaksar Z, Aligholi H, Mohammad Sadeghi S, Modarres Mousavi SM, Kazemi H, et al. Enhancement of neural stem cell survival, proliferation, migration, and differentiation in a novel self-assembly peptide nanofibber scaffold. Mol Neurobiol. 2016: 1-3.

8. Tysseling-Mattiace VM, Sahni V, Niece KL, Birch D, Czeisler C, Fehlings MG, et al. Self-assembling nanofibers inhibit glial scar formation and promote axon elongation after spinal cord injury. J Neurosci. 2008; 28(14): 3814-23.

9. Straley KS, Foo CWP, Heilshorn SC. Biomaterial design strategies for the treatment of spinal cord injuries. J Neurotrauma. 2010; 27(1): 1-19.

10. Allen P, Melero-Martin J, Bischoff J. Type I collagen, fibrin and PuraMatrix matrices provide permissive environments for human endothelial and mesenchymal progenitor cells to form neovascular networks. J Tissue Eng Regen Med. 2011; 5(4): e74-e86.

11. Leung G, Wang YC, Wu W. Peptide nanofiber scaffold for brain tissue reconstruction. Methods Enzymol. 2011; 508: 177-90.

12. Sun L, Zhao X. A self-assembling peptide RADA16-I integrated with spider fibroin uncrystalline motifs. A self-assembling peptide RADA16-I integrated with spider fibroin uncrystalline motifs. 2012; 7: 571-80.

13. Rudra JS, Sun T, Bird KC, Daniels MD, Gasiorowski

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-09-16]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.19]

JZ, Chong AS, et al. Modulating adaptive immune responses to peptide self-assemblies. ACS Nano. 2012; 6(2): 1557-64.

14. Reed S, Coler R. Device and method for enhancing immune response by electrical stimulation. Google Patents; 2006.

15. Gelain F, Horii A, Zhang S. Designer self-assembling peptide scaffolds for 3-d tissue cell cultures and regenerative medicine. Macromol Biosci. 2007; 7(5): 544-51.

16. Zhang S, Zhao X, Spirio L. PuraMatrix: self-assembling peptide nanofiber scaffolds. Scaffolding in Tissue Engineering. 2005: p. 217-38.

17. Yang S, Leong K-F, Du Z, Chua C-K. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. Tissue Eng. 2001; 7(6): 679-89.

18. Yang S, Leong K-F, Du Z, Chua C-K. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques. Tissue Eng. 2002; 8(1): 1-11.

19. Thonhoff JR, Lou DI, Jordan PM, Zhao X, Wu P. Compatibility of human fetal neural stem cells with hydrogel biomaterials in vitro. Brain Res. 2008; 1187: 42-51.

20. Moradi F, Bahktiari M, Joghataei MT, Nobakht M, Soleimani M, Hasanzadeh G, et al. BD PuraMatrix peptide hydrogel as a culture system for human fetal Schwann cells in spinal cord regeneration. J Neurosci Res. 2012; 90(12): 2335-48.

21. Sahab Negah S, Mohammad Sadeghi S, Kazemi H, Modarres Mousavi M, Aligholi H. Effect of injured brain extract on proliferation of neural stem cells cultured in 3-dimensional environment. Shefaye Khatam. 2015; 3(1): 49-56.

22. Cunha C, Panseri S, Villa O, Silva D, Gelain F. 3D culture of adult mouse neural stem cells within functionalized self-assembling peptide scaffolds. Int J Nanomedicine. 2011; 6: 943-55.

23. Aligholi H, Hassanzadeh G, Rezayat M, Azari H, Ejtemaei Mehr S, Akbari M, et al. Three-dimensional transplantation of adult neural stem cells in an acute brain injury model. Shefaye Khatam. 2015; 2(4): 36.

24. Aligholi H, Rezayat SM, Azari H, Mehr SE, Akbari M, Mousavi SMM, et al. Preparing neural stem/progenitor cells in PuraMatrix hydrogel for transplantation after brain injury in rats: a comparative methodological study. Brain Res. 2016; 1642: 197-208.

25. Shivachar AC. Isolation and culturing of glial, neuronal and neural stem cell types encapsulated in biodegradable peptide hydrogel. Brain Tissue Engineering. 2008; p. 4.

26. Burda JE, Bernstein AM, Sofroniew MV. Astrocyte roles in traumatic brain injury. Exp Neurol. 2016; 275: 305-15.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-09-16]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.19]