

مقایسه توانایی ایجاد محیط رشد و تمایز مناسب سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی بین داربست‌های زیستی مختلف

مهديه قیائی: کارشناس ارشد سلولی مولکولی، آزمایشگاه سلول‌های بنیادی، مرکز درمان ناباروری جهاد دانشگاهی استان قم، قم، ایران. Mahdiah.ghiasi@yahoo.com
محسن شیخ حسن: کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، آزمایشگاه سلول‌های بنیادی، مرکز درمان ناباروری جهاد دانشگاهی استان قم، قم، ایران. Mohsen_sheikhhasan@yahoo.com

رضا طباطبائی قمی: کارشناس ارشد فیزیولوژی، آزمایشگاه سلول‌های بنیادی، مرکز درمان ناباروری جهاد دانشگاهی استان قم، قم، ایران. Taba_1359@yahoo.com
*** ناصر کلهر:** کارشناس ارشد ژنتیک، آزمایشگاه سلول‌های بنیادی، مرکز درمان ناباروری جهاد دانشگاهی استان قم، قم، ایران (*نویسنده مسئول). naserkalhor@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: هرچند وجود سلول‌های پیش ساز در سطح مفصلی غضروف مشاهده شده است ولی به علت عدم دسترسی به منبع خون‌رسانی، این بخش توانایی ناپیزی در ترمیم دارد. در گذشته مهندسی بافت غضروف به‌طور عمده بر اساس جمع‌آوری سلول‌های غضروفی از سطح مفصل، کشت آن‌ها در محیط آزمایشگاه روی داربست‌های قابل جذب مثل پلی گلیکولیک اسید و پیوند اتولوگ آن بوده است. اخیراً با توجه به مشکلات در جمع‌آوری سلول‌های مذکور، استفاده از سلول‌های بنیادی جهت تولید سلول‌های غضروفی مورد توجه قرار گرفته است. از جمله عوامل مهم در این موفقیت، استفاده از داربست‌های مناسب با خواص مکانیکی و زیستی فوق‌العاده جهت فراهم آوردن یک محیط رشد بهینه و شرایط مناسب تمایززایی سلول‌های بنیادی می‌باشد. در این تحقیق به ارزیابی کارایی سه داربست (FG) Fibrin glue و آلژینات و poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) در ایجاد محیط مناسب جهت رشد سلول‌های بنیادی مزانشیمی پرداخته شد.

روش کار: در این مطالعه، پس از آماده‌سازی سه داربست FG و آلژینات و PLGA و جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از بافت چربی، این سلول‌ها به‌طور جداگانه بر روی این سه داربست کشت و تمایز داده شد و پس از گذشت ۲ هفته از تمایز سلول‌ها بر روی داربست‌ها، بررسی بیان ژن‌های کندروژنیک در هر یک از داربست‌ها توسط Real time PCR انجام پذیرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که فیبرین گلو بالاترین بیان را در ژن‌های کندروژنیک نسبت به دیگر داربست‌ها دارا بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل، به نظر می‌رسد استفاده از داربست‌های طبیعی همچون فیبرین گلو می‌تواند به‌عنوان محافظی به‌منظور تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی برای توسعه استراتژی‌های کارا و جدید در مهندسی بافت و طب ترمیمی مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: مهندسی بافت، FG، آلژینات، PLGA، سلول‌های بنیادی مزانشیمی

مقدمه

مناسب برای مهندسی بافت به شمار می‌رود (۲). در آسیب‌دیدگی‌ها و عیوب بزرگ، روند خود ترمیمی انجام شده توسط بدن، کارساز نبوده و پیوند غضروف لازم می‌شود. دانشمندان از سال‌ها قبل قادر به کشت سلول‌ها در خارج از بدن بودند، ولی فناوری رشد شبکه‌های پیچیده و سه‌بعدی سلولی برای جایگزینی بافت آسیب‌دیده اخیراً توسعه یافته است. برای ساخت یک بافت به شیوه‌های مهندسی، نیاز به طراحی یک داربست با ساختار فیزیکی مناسب با امکان چسبندگی سلول‌ها به آن، مهاجرت، تکثیر و تمایز سلولی و در نهایت رشد و جایگزینی بافت جدید می‌باشد (۳ و

ترمیم آسیب‌ها و صدمات وارده به بافت غضروفی هنوز یکی از مهم‌ترین مشکلاتی است که در زمینه ارتوپدی وجود دارد، با این حال اخیراً روش‌های مهندسی بافت پتانسیل قابل قبولی را جهت حل این مشکلات و بازسازی بافت غضروفی نشان داده‌اند (۱). مهندسی بافت، علم طراحی و تولید بافت‌های جدید برای ترمیم اندام‌های آسیب‌دیده و جایگزینی قسمت‌های از دست رفته به علت عوامل مختلف می‌باشد. در بین بافت‌های بدن، غضروف به دلیل عدم انجام رگ زایی مناسب، پتانسیل بالایی برای تولید مجدد ندارد و از این رو یک نمونه

طبیعی خود را حفظ کرده و ماتریکس برون سلولی را تشکیل دهند. ترکیب لخته فیبرینوزن و ترومبین القاکننده اتصال، مهاجرت و رشد انواع مختلف سلول‌ها از جمله کندروسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها، سلول‌های عضلات صاف و کراتینوسیت‌ها هستند. در طی دو دهه گذشته پلیمر زیستی پلی لاکتیک گلایکولیک اسید (PLGA) به‌عنوان یکی از جالب‌ترین کاندیدهای پلیمری جهت ساخت داربست‌های مورد نیاز در پژوهش‌های مهندسی بافتی استفاده شده است. PLGA یک پلیمر زیست تخریب پذیر و زیست سازگار بوده و خصوصیات بهینه مکانیکی داشته و پلیمری است که توسط سازمان غذا و داروی آمریکا تأیید شده است. با این حال این پلیمر زیستی خواص آب‌دوستی و قابلیت جذب آب پایینی داشته و تخریب پذیری در آن به‌کندی صورت می‌پذیرد (۵).

آلژینات پلی ساکاریدی است که از جلبک‌های قهوه‌ای به‌دست‌آمده و خصوصیات منحصر به فردی را داراست که آن را قادر می‌سازد که در حضور کاتیون‌های دو ظرفیتی ویژه به حالت ژلی درآید. کشت و رشد پایدار سلولی در آلژینات در تعدادی از سلول‌ها از جمله سلول‌های کندروسیتی مشاهده شده است (۶). ویژگی‌های مطلوب آلژینات امکان استفاده از این ماده را به‌عنوان داربست مهیا کرده است (۷-۹). سلول‌های بنیادی مزانشیمی گروهی از سلول‌های بنیادی هستند که به علت قابلیت ویژه آن‌ها مورد توجه جوامع پزشکی و علمی قرار گرفته‌اند (۱۰). این سلول‌ها جزو سلول‌های پیش ساز چند توان هستند که قابلیت رشد و نمو و تکثیر و خود نوزایی بالایی را در محیط کشت داشته و در مقایسه با سلول‌های بنیادی جنینی که به دلیل مسائل اخلاقی کاربرد آن‌ها محدود شده است (۱۱-۱۳) به مراتب بیشتر در مهندسی بافت به‌کاررفته و می‌توانند به رده‌های مختلف سلولی همچون سلول‌های غضروفی، استئوبلاست، آدیپوسیت، سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های عصبی، سلول‌های میوسیت قلبی، سلول‌های هیپاتوسیت و سلول‌های پانکراس تمایز یابند (۱۴-۱۶). به علت قابلیت‌های ویژه این سلول‌ها در زمینه مهندسی

(۴). تا به حال، در آزمایشات زیادی از مهندسی بافت به‌منظور ترمیم بسیاری از بافت‌ها از جمله غضروف استفاده شده است. به‌منظور افزایش کارایی و بهبود عملکرد کشت سلول و بافت‌های مهندسی شده، نیاز به ایجاد داربست‌های مناسب و کارا می‌باشد. داربست‌های سلولی دارای خصوصیات هستند که از جمله آن‌ها می‌توان به عدم سمیت، قابلیت سازگاری زیستی، قابلیت تجزیه‌پذیری زیستی، عدم ایمنی‌زایی، تهیه آسان، خصوصیات فیزیکی و مکانیکی مناسب و پایداری مطلوب اشاره نمود. پلیمرهایی که به‌عنوان ماده اولیه جهت تهیه داربست سلولی کاربرد دارند به دو گروه پلیمرهای طبیعی و مصنوعی طبقه‌بندی می‌شوند. هر داربست در عمل می‌باید توانایی وارد کردن آثار بیولوژیکی و مکانیکی خاص را به‌منظور بهبود و تغییر رفتار سلولی دارا باشد. بدین منظور هر داربست بر اساس خواص بافت هدفش طراحی می‌شود. انتخاب نوع و جنس داربست مهم‌ترین بخش کار است به‌طوری‌که در نهایت جایگزین بافت آسیب‌دیده می‌گردد. داربست نه‌تنها اجازه اتصال سلول‌ها را به خود می‌دهد، بلکه باعث مهاجرت سلول‌ها، نقل و انتقال فاکتورهای بیوشیمیایی، انتشار مواد غذایی، مواد زاید و نیز مواد تولیدی سلول‌ها می‌شود. مواد زیستی مورد استفاده جهت ساخت داربست می‌توانند پلیمرهای طبیعی همچون فیبرین گلو (Fibrin glue) و آلژینات یا پلیمرهای سنتتیک همچون پلی لاکتیک گلایکولیک اسید (poly(lactic-co-glycolic acid)) (PLGA) باشند. چند سال است که علاقه‌مندی‌ها در زمینه استفاده از هیدروژل‌ها به‌عنوان یک داربست نرم برای مهندسی بافت وجود دارد. یکی از پرکاربردترین هیدروژل‌ها در پزشکی فیبرین می‌باشد. کاربرد فیبرین گلو در زمینه‌های مهمی همانند جراحی‌های شکمی، ارتوپدی، اعصاب و دهان رایج است. جهت استفاده از فیبرین گلو به‌عنوان داربست بافتی، می‌باید محیطی با عملکرد سلولی مناسب شامل ایجاد امکان مهاجرت، رشد سلولی و بافت به‌صورت مطلوب ایجاد گردد. به‌عنوان مثال، کندروسیت‌ها می‌توانند در ژل فیبرینی تمایز نیافته، شکل

سلول‌هایی که به کف فلاسک نچسبیده بودند، با تعویض محیط از فلاسک حذف شدند. محیط کشت سلول‌ها هر ۳ روز یک بار تعویض گردید. سلول‌ها پس از ترپسینه شدن به مرحله پاساژ سه انتقال یافت و جهت استفاده آماده گردید.

آماده سازی فیبرین گلو (آماده سازی فیبرینوژن و ترومبین): پلاسمای تازه منجمد و فیبرینوژن از سازمان انتقال خون قم تهیه شد. پلاسمای تازه منجمد به نسبت ۵ به ۳ به کلسیم گلوکونات اضافه شده و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با ۲۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد پس از سانتریفوژ، محلول رویی آن حذف و ترومبین آن جداسازی گردید. فیبرینوژن و ترومبین حاصله برای استفاده جهت کشت سلول آماده گردید. به همین منظور، ابتدا سلول‌های بنیادی مشتق از چربی با غلظت 5×10^6 سلول در هر سی سی در داخل ترومبین به صورت محلول درآمده و فیبرینوژن به آن‌ها اضافه گردید و در نهایت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور (۳۷ درجه، CO_2 ۵٪ و رطوبت ۹۹٪) و در محیط اختصاصی حاوی DMEM-high glucose به همراه ۵۰ میکروگرم/میلی لیتر آسکوربات ۲-فسفات، ۱٪ انسولین-ترانسفرین-سلنیوم، ۱۰۰ نانومولار دگزامتازون، ۵۰ میلی گرم/میلی لیتر آلبومین سرم گاوی، ۵ میکروگرم/میلی لیتر لینولئیک اسید، ۱٪ پنی سیلین-استرپتومایسین و ۱۰ نانوگرم/میلی لیتر فاکتور رشد TGF- $\beta 3$ به مدت ۱۴ روز قرار گرفت.

آماده سازی داربست PLGA: ابتدا ذرات PLGA ۵٪ در کلرید متیلن حل شده و سپس NaCl به آن اضافه شده و درون یک ظرف پلاستیکی با ارتفاع ۳ میلی متر و قطر ۶ میلی متر ریخته شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز شد. داربست پلیمری منجمد شده به مدت ۲ روز در آب دوبار تقطیر شستشو داده شد تا ذرات نمک از آن خارج شود. سپس، نمونه با استفاده از الکل ۷۰٪ و UV استریل گردید. سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسان در مرحله پاساژ سوم ترپسینه شدند و سانتریفوژ شده و پس از انتقال

بافت و طب ترمیمی، از این سلول‌ها در ترمیم و بازسازی اندام‌ها و آسیب‌های فیزیولوژیکی همچون آسیب غضروف‌های مفصلی، ناهنجاری‌های عصبی و بیماری‌های حاصل از دستگاه ایمنی استفاده می‌گردد (۱۷-۳۲). سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از چربی قابلیت بسیار چشمگیری را در تمایز به غضروف در زمینه مهندسی بافت نشان داده‌اند (۲۷ و ۳۳-۳۷). در این مطالعه سعی داریم که به ارزیابی مقایسه‌ای توانایی سه داربست مختلف در زمینه قابلیت رشد و تمایز به غضروف، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی بپردازیم.

روش کار

در این تحقیق، پلی لاکتیک کو-گلیکولیک اسید ۵۰/۵۰ و محیط DMEM جهت کشت سلولی از شرکت سیگما خریداری شد. سرم جنین گوساله و آنتی‌بیوتیک penicillin-streptomycin از شرکت Gibco خریداری شد.

جداسازی و پاساژ سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی: در این مطالعه، برای جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی، بافت چربی به دست آمده از جراحی لیپوساکشن در سرم فیزیولوژی حاوی آنتی‌بیوتیک ۱٪ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد از بیمارستان به آزمایشگاه منتقل و پس از چندین بار شستشو با PBS و سرم فیزیولوژی به قطعات کوچک تبدیل شد. سپس سلول‌های بنیادی مزانشیمی به وسیله هضم با آنزیم کلاژناز I از بافت چربی استخراج گردید. به این صورت که ابتدا به ازای هر یک گرم چربی ۱٫۵ میلی گرم آنزیم کلاژناز I به آن اضافه و به مدت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس تحت سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰ دور در دقیقه قرار گرفته و در نهایت رسوب سلولی در محیط کشت DMEM حاوی آنتی‌بیوتیک پنی سیلین/استرپتومایسین و FBS ۱۰٪ به فلاسک مخصوص کشت سلول منتقل و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد حاوی CO_2 ۵٪ و رطوبت ۹۵٪ قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت،

استریتومایسین ۱٪ قرار گرفتند و سپس در داخل انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO₂ ۵٪ به مدت ۱۴ روز نگهداری و هر ۲-۳ روز محیط کشت تعویض شد.

بررسی قابلیت بقای سلول توسط تست MTT: بررسی قابلیت بقای سلول پس از گذشت ۱۴ روز از کشت سلول‌ها بر روی داربست‌ها و در حضور محیط تمایز به غضروف انجام پذیرفت. نیم میلی لیتر محیط کشت DMEM و ۵۰ میکرولیتر محلول MTT (۳٪) (۵-دی متیل) تیازول-۲-یل-۲-۵-دی متیل تترازولیوم بروماید، ۵ میلی گرم/میلی لیتر) به داربست‌ها اضافه شد. پس از ۴ ساعت انکوباسیون، نیم میلی لیتر دی متیل سولفوکسید به محلول حاصل اضافه شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه در نهایت میزان جذب نوری سلول/داربست در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر اندازه گیری شد.

بررسی بیان ژن‌های کندروژنیک توسط Real time PCR: ابتدا تمامی نمونه‌های RNA پس از گذشت ۱۴ روز از تمایز کندروژنیک از هر کدام از داربست‌ها به طور جداگانه تهیه شد. داربست‌ها در داخل نیتروژن مایع تخریب شده و سپس RNA با استفاده از کیت (bioNEER) AccuZolTM و طبق دستورالعمل مربوطه استخراج گردید. نسخه برداری معکوس RNA به cDNA با استفاده از کیت (bioNEER) AccPower[®] RT Premix و طبق دستورالعمل مربوطه انجام پذیرفت. Real-time PCR با استفاده از SYBRGreen PCR Master Mix (Amplicon) Rotor-GeneTM 6000 و

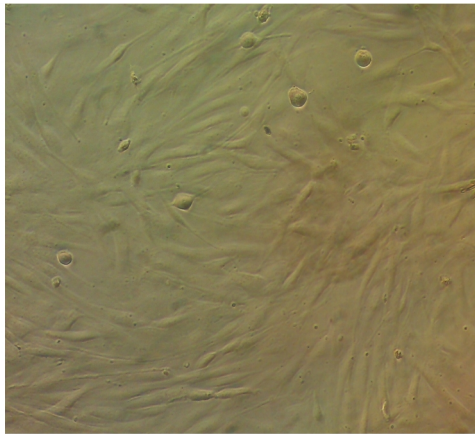
به محیط تمایزی در نهایت، بر روی داربست PLGA با دانسیته سلولی ۱×۱۰^۶ سلول/میلی متر انتشار یافتند در نهایت به مدت ۱۴ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور (۳۷ درجه، CO₂ ۵٪ و رطوبت ۹۹٪) و در محیط تمایزی قرار گرفت.

آماده سازی داربست آلژینات: ابتدا پودر آلژینات (۱٪) در ۰/۱۵ مول/لیتر کلرید سدیم به حالت سوسپانسیون درآمده و سپس از طریق فیلتر استریل شد. سپس سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی پاساژ ۳ پس از تریپسینه شدن، به مدت ۸ دقیقه در ۱۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و دوباره در محلول آلژینات به حالت سوسپانسیون درآمد. در ادامه، نمونه‌ها به محلول کلرید کلسیم ۱۰۵ میلی مولار اضافه شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. دانه‌های آلژینات پس از شستشو با کلرید سدیم و DMEM، در محیط تمایزی به مدت ۱۴ روز در دمای ۳۷ درجه و CO₂ ۵٪ قرار گرفتند.

تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از چربی به بافت غضروفی: سلول‌های بنیادی مزانشیمی کشت شده در مرحله پاساژ سوم، با استفاده از تریپسینه کردن از کف ظرف کشت جدا شده و پس از سوسپانسیون مجدد آنها، درون محیط کشت تمایزی غضروف با ترکیب DMEM-High Glucose به همراه انسولین-ترانسفرین-سلنیوم ۱٪، دگزامتازون ۱۰۰ نانومولار، سرم آلبومین گاوی ۱٪، آسکوربات ۲-فسفات ۵۰ میکروگرم بر لیتر، لینولئیک اسید ۵ میکروگرم بر لیتر، فاکتور رشد TGF-β₃ و پنی سیلین-

جدول ۱- توالی پرایمرها

نام پرایمر	توالی (۵'→۳')
پرایمر F کلاژن نوع I	TTGTACAGACATGACAAGAGGC
پرایمر R کلاژن نوع I	CTCTACCTGGGTACTACCCA
پرایمر F اگریکان	CAGAGTGAAATCCACCAAGT
پرایمر F اگریکان	TGTCCGTGGACAAACAGGTA
پرایمر F Sox9	TACGACTACACGCACCACCA
پرایمر R Sox9	TTAGGATCATCTGCGCCATC
پرایمر F کلاژن نوع II	ACACAGCGCCTTGAGAAGAG
پرایمر R کلاژن نوع II	TTCTACGGTCTCCCCAGAGA



شکل ۱- سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی با ظاهری شبیه به فیبروبلاست

توسط میکروسکوپ فاز متضاد مشاهده گردید (شکل ۱). در پاساژ سوم، سلول‌های یکنواختی با رشد و افزایش در تعداد آن‌ها به دست آمد. برای شروع فرآیند تمایز غضروفی، تعداد $10^6 \times 1$ سلول/ میلی لیتر در پاساژ سوم بر روی هر کدام از داربست‌ها قرار گرفت و در محیط تمایزی کشت شد. تمایز سلول‌های بنیادی به غضروف توسط Real-time PCR تأیید شد. بدین صورت که بیان mRNA اگریکان، کلاژن نوع I و II و SOX9 در سلول‌های تمایز یافته بعد از ۱۴ روز بررسی گردید. بیشترین بیان ژن‌های تمایزی در داربست فیبرین گلو مشاهده شد. بیان ژن اگریکان و کلاژن نوع II بین داربست‌های فیبرین گلو و PLGA نسبت به سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی بدون داربست با استفاده از روش آماری ANOVA

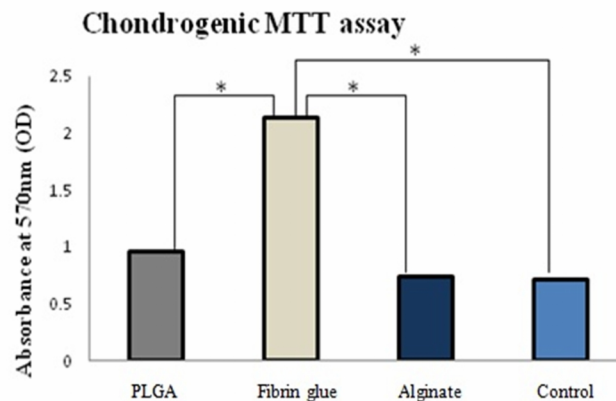
Series software version 1.7.65(Corbett Life Science) انجام پذیرفت. پرایمرها با استفاده از برنامه پرایمر ۳ برای هر کدام از ژن‌ها طراحی شد که بر طبق توالی زیر می‌باشد: ژن مورد نظر بر اساس ژن رفرنس گلیسرآلدئید ۳- فسفات دهیدروژناز نرمال سازی شد. سطح بیان هر کدام از ژن‌های هدف با استفاده از $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه گردید.

در این مطالعه، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۷) و تست‌های LSD و ANOVA استفاده شد. تمامی داده‌های به دست آمده در این مطالعه، به صورت انحراف معیار \pm میانگین بیان شدند. در تمامی محاسبات، $p < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار منظور گردید.

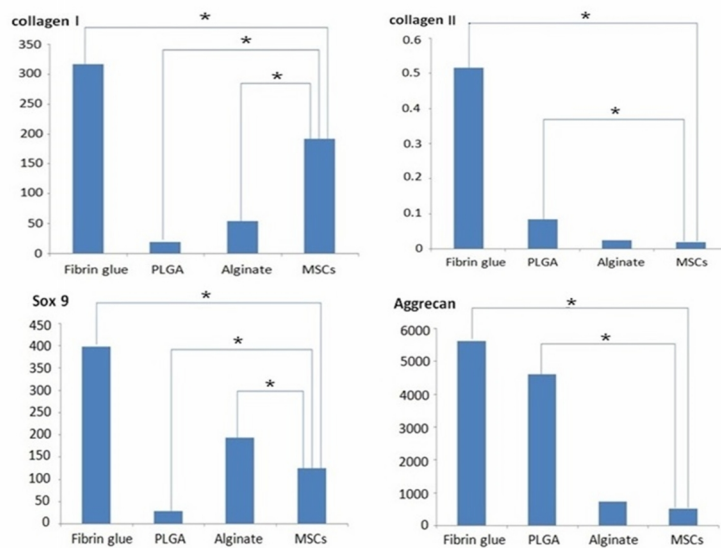
در این مطالعه، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۷) و تست‌های LSD و ANOVA استفاده شد. تمامی داده‌های به دست آمده در این مطالعه، به صورت انحراف معیار \pm میانگین بیان شدند. در تمامی محاسبات، $p < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی دار منظور گردید.

یافته‌ها

در کشت اولیه، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی با ظاهری شبیه به فیبروبلاست یا دوکی شکل با هسته‌های مشخص رشد کردند که



نمودار ۱- ارزیابی MTT سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی تمایز یافته به غضروف بر روی داربست‌های فیبرین گلو و آلژینات



نمودار ۲- بیان SOX9 mRNA، اگریکان، کلاژن I و II در سلول‌های تمایز یافته بر روی داربست‌های فیبرین گلو و آلژینات

غضروفی نیاز به استفاده از روش‌های کارآمدی می‌باشد (۱، ۳ و ۴). روش‌های مهندسی بافت مبتنی بر استفاده از سلول‌های بنیادی، روشی کاراست که پتانسیل بالقوه‌ای را در درمان این آسیب‌ها ایجاد نموده است. یکی از عوامل مهم در موفقیت مهندسی بافت، انتخاب داربست مناسب می‌باشد که توانایی ایجاد محیط مطلوبی جهت رشد سلول‌ها و تمایز آنها را داشته باشد. در نتیجه در مورد مهندسی بافت غضروفی، وجود یک داربست مناسب و ایده آل که فنوتیپ کندروسیت‌ها را در اثر فرآیند تمایز حفظ کند ضروری به نظر می‌رسد (۴، ۳۸-۴۰). به دلیل این که اکثر تحقیقات مهندسی بافت که مبتنی بر کاربرد سلول‌های بنیادی می‌باشد به منظور تمایز غضروفی از فاکتورهای شیمیایی (همچون فاکتورهای رشد) و یا دستکاری سیگنال‌های میکائیکی که این سلول‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند استفاده می‌کنند، در نتیجه توجه کمتری نسبت به اهمیت مواد داربستی به عنوان عوامل تاثیرگذار در تنظیم تمایز و رشد بافت‌ها شده است (۷، ۱۶ و ۴۱). در این مطالعه نشان داده شد که قابلیت تمایزی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در داربست‌های زیستی مختلف متفاوت می‌باشد و انتخاب داربست در فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی تاثیرگذار است.

(Least square analysis of variance) و (Significant Difference) اختلاف معنی داری (p= 0.028) را ظاهر کرد. بیان نسبی ژن کلاژن نوع I و فاکتور نسخه برداری SOX9 نیز بین تمامی داربست‌ها نسبت به سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی بدون داربست اختلاف معنی داری (p<0.05) را نشان داد. ژن کلاژن نوع II و اگریکان بیشترین بیان را در فیبرین گلو و کمترین بیان را در سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از چربی نسبت به دیگر داربست‌ها نمایش دادند. در داربست فیبرین گلو میزان بیان ژن کلاژن نوع II، 0.5 ± 0.45 و در سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از چربی 0.02 ± 0.03 گزارش گردید. بیان ژن اگریکان در داربست فیبرین گلو $135/8 \pm 5617/52$ و در سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از چربی $31/74 \pm 519/1$ بود. ژن SOX9 بیشترین بیان را در داربست فیبرین گلو برابر با $27/39 \pm 397$ و کمترین بیان را در PLGA برابر با $3/8 \pm 28/81$ داشت.

بحث و نتیجه گیری

از آنجا که غضروف یک بافت فاقد رگ خونی بوده و دارای توانایی محدود برای خود ترمیمی است، در نتیجه جهت بازسازی آسیب‌های وارد به بافت

ژل فیبرینی فرصت مناسبی را برای رشد سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی ایجاد می‌نماید (۵۱). برخلاف هیدروژل‌های سنتتیک، فیبرین نه تنها فقط یک ماتریکس سلول رسان تنها نیست بلکه فعالیت زیستی فیبرین آن را برای تمایز سلول‌های بنیادی و مهندسی بافت مناسب می‌سازد (۵۲). توالی اتصالاتی اینتگرینی آرژنین-گلیسین-آسپارتیک اسید که یک عامل تحریک کننده اتصال و رشد سلولی می‌باشد در فیبرین وجود دارد. برخی از پژوهش‌ها گزارش کردند که در مهندسی بافت غضروف، فیبرین کلاژن نوع ۲ را تحریک می‌نماید در حالیکه از تجزیه و هضم کلاژن نوع I توسط کندروسیت‌های مشتق شده از سلول‌های بنیادی یا اولیه جلوگیری می‌کند (۵۲). نتایج مطالعات قبلی نشان داد که داربست‌های خالص فیبرینی دارای بیان ژن کلاژن نوع ۲ و اگریکان پایین تری نسبت به آلژینات بودند (۴، ۶ و ۵۳). همچنین در این آزمایش، آلژینات نسبت به فیبرین تحریک به غضروف سازی بهتری را در سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از مغز استخوان نشان داد (۴۱). یکی دیگر از مواد هیدروژلی که در این تحقیق از آن به‌عنوان داربست استفاده شد آلژینات می‌باشد. به طور کلی داربست‌های جامد مبتنی بر پلی استرها از مواد سنتتیک سازگارپذیر تشکیل شده و خواص زیست مکانیکی فوق العاده ای را نسبت به داربست‌های هیدروژلی دارند. این مواد طراحی شکل و معماری داخلی در داربست‌ها را تسهیل نموده اند. یکی از فراوان ترین پلیمرهای سنتتیک مورد استفاده در مهندسی بافت غضروف، PLGA می‌باشد که حدود ۲۰ سال است که تاییدیه FDA را کسب نموده است. داربست‌های PLGA توانایی فوق العاده ای را جهت ایجاد زمان جذب ویژه ای که برای فرآیند بازسازی ضروری است دارا می‌باشند. PLGA به دلیل تجربه استفاده طولانی از آن در زمینه بالینی و خصوصیات تخریب پذیری مطلوب آنها به‌عنوان یکی از محبوب ترین پلیمرهای زیست تخریب پذیر به شمار می‌آید. تجزیه PLGA در شرایط زنده توسط هیدرولیز ساده غیرآنزیمی انجام پذیرفته و محصولات حاصل از آن لاکتیک و

این پژوهش، مطالعات قبلی در مورد قابلیت تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از چربی را تحت شرایط مشخص تأیید نمود (۲۹، ۴۲ و ۴۳). هیدروژل‌ها ویژگیهای شبیه به بافت‌های نرم را نشان داده و بنابراین توانایی تامین یک ماتریکس قابل پشتیبان برای فعالیت کندروسیتی و ترشح ECM غضروفی را دارند. کارایی بالای کپسوله شدن سلول‌ها و توزیع یکنواخت آنها در داخل هیدروژل‌ها، از جمله مزایای آنها به شمار می‌آید که می‌تواند بر روی کیفیت بافت تشکیل یافته موثر واقع شود (۸، ۴۱ و ۴۴). داربست‌های هیدروژلی کلونی سازی یکنواخت سلول‌ها را به مانند یکپارچه سازی آسان فاکتورهای رشد انجام می‌دهند در حالی که پلیمرهای سنتتیک ظرفیت تحمل بار مورد نیاز را فراهم می‌سازند (۳۲ و ۴۵). هیدروژل‌ها به راحتی تهیه شده و توسط کندروسیت‌ها احاطه می‌شود که در نتیجه باعث حفاظت از فنوتیپ و مرفولوژی آنها می‌شود (۴۶ و ۴۷). همچنین شامل مواد طبیعی مبتنی بر کربوهیدرات (همچون آلژینات) و پروتئین (همانند فیبرین گلو) می‌باشند (۴۱ و ۴۸). مطالعات زیادی هیدروژل‌های مختلف را به‌منظور استفاده در زمینه کاربردهای مهندسی بافت غضروف در شرایط آزمایشگاهی پیشنهاد نموده است (۷، ۴۱ و ۴۶). فیبرین به‌عنوان یک داربست به‌منظور استفاده در علم مهندسی بافت غضروف همراه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌کاررفته است (۴، ۴۱ و ۵۰). بر طبق گزارشات حاصل از تحقیقات، فیبرین نه تنها نسبت به دیگر هیدروژل‌های استفاده شده در مهندسی بافت غضروف کارایی کمتری را ندارد بلکه برخی مطالعات از جمله مطالعه حاضر نشان می‌دهد که فیبرین می‌تواند غضروف سازی سلول‌های بنیادی جدا شده از منابع مختلف را پشتیبانی نماید (۴ و ۴۱). مشخص شد که با استفاده از مواد زیستی نرم تر فنوتیپ غضروفی بهتر ساپورت می‌شود. بنابراین، بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، این موضوع که سختی کمتر فیبرین منجر به غضروف سازی بیشتر آن می‌شود محتمل به نظر می‌رسد (۸ و ۹). نتایج حاصل از تحقیقات نشان دادند که کشت

تقدیر و تشکر

از جناب آقایان زارع و رجائی و دکتر فرهنگ که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تشکر بعمل می آوریم.

منابع

1. Khan IM, Gilbert SJ, Singhrao SK, Duance VC, Archer CW. Cartilage integration: evaluation of the reasons for failure of integration during cartilage repair. A review. *Eur Cell Mater*. 2008;16:26-39.
2. Sheykh Hasan M, Kalhor N, Tabatabaei Qomi SR, Ghiasi M. Optimization method for isolation and culture of chondrocytes in human nasal cartilage tissue. *International Journal of Advanced Biological Science and Engineering*. 2014;1(1):74-85.
3. Ghiasi M, Kalhor N, Tabatabaei Qomi R, Sheykhhasan M. The effects of synthetic and natural scaffolds on viability and proliferation of adipose-derived stem cells. *Frontiers in Life Science*. 2015;8(4):1-12. <http://dx.doi.org/10.1080/21553769.2015.1077477>.
4. Sheykhhasan M, Tabatabaei Qomi R, Kalhor N, Mehdizadeh M, Ghiasi M. Evaluation of the ability of natural and synthetic scaffolds in providing an appropriate environment for growth and chondrogenic differentiation of adipose derived mesenchymal stem cel. *Indian J Orthop*. 2015; 49:561-8.
5. Uematsu K, Hattori K, Ishimoto Y, Yamauchi J, Habata T, Takakura Y, et al. Cartilage regeneration using mesenchymal stem cells and a three-dimensional poly-lactic-glycolic acid (PLGA) scaffold. *Biomaterials*. 2005; 26(20): 4273-4279.
6. Chen WC, Yao CL, Wei YH, Chu IM. Evaluating osteochondral defect repair potential of autologous rabbit bone marrow cells on type II collagen scaffold. *Cytotechnology*. 2011 Jan; 63(1):13-23.
7. Awad HA, Wickham MQ, Leddy HA, Gimble JM, Guilak F. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds. *Biomaterials*. 2004;25(16):3211-22.
8. Sun J, Tan H. Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. *Materials*. 2013; (6): 1285-1309.
9. Wang W, Li B, Yang J, Xin L, Li Y, Yin H, et al. The restoration of full-thickness cartilage defects with BMSCs and TGF-beta 1 loaded PLGA/fibrin gel constructs. *Biomaterials*. 2010; 31(34): 8964-73.

گلیکولیک اسید می باشند که توسط سیستم تنفس حذف می‌شوند. با این حال، PLGA و محصولات حاصل از تجزیه آن به فقط به صورت موضعی بر روی بافت مورد نظر صدمه وارد کرده و یا با سمیت سیستمیک و جزئی در شرایط آزمایشگاهی مرتبط هستند که این موضوع نمایانگر سازگارپذیری زیستی آن‌هاست با این حال، کمبود جایگاه اتصالی بر روی پلیمر می تواند مانع چسبندگی و رشد سلولی شود. نتایج حاصل از تحقیقات Chung و همکاران نشان داد که داربست متخلخل PLGA به دلیل خواص مکانیکی و رفتار تخریبی مناسب، بستر ایده آلی را برای تمایز سلول‌ها به بافت غضروف فراهم می کند (۴۶). این داربست محیط سه بعدی ای را می‌سازد که کندروسیت‌ها می‌توانند قبل از پیوند مجدد در داخل آن قرار گیرند. شواهدی وجود دارد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی توانایی تولید غضروف را به صورت بالقوه دارند. یافته‌های حاصل از برخی مطالعات نشان می دهد که سلول‌های بنیادی قادر به تکمیل فرآیند بازسازی در دوره طولانی مدت نیستند. شواهد نشان می دهد که غضروف سازی توسط افزایش در بیان و تجمع کلاژن نوع ۲ و اگریکان شناخته می شود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که داربست فیبرین گلو به دلیل بیان بیشتر ژن‌های دخیل در تمایز غضروفی نسبت به دو داربست دیگر می تواند به‌عنوان یک داربست مناسب جهت تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از چربی در نظر گرفته شود. در این تحقیق، ارزیابی قابلیت حفظ و نگهداری رشد و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی حاصل از چربی سه داربست مختلف انجام پذیرفت که طی آن داربست‌ها قابلیت‌های متفاوتی را در تمایز به بافت غضروفی نشان دادند. در نهایت، داربست فیبرین گلو نسبت به داربست‌های دیگر پتانسیل بیشتری را در جهت بیان ژن‌های دخیل در تمایز ظاهر ساخت و نشان داد که به‌عنوان یک داربست، توانایی استفاده در مهندسی بافت غضروف را فراهم می آورد.

24. McCarty R, Leavesley DI, Simmons P. Application of Mesenchymal Stem Cells for repair and regeneration of cartilage and bone. *Australian Biochemist*. 2005; 36 (1): 7-10.
25. O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB. Durability of regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. A follow-up report at one year. *J Bone Joint Surg Am*. 1988; 70(4): 595-606.
26. Parchi PD, Vittorio O, Andreani L, Piolanti N, Cirillo G, et al. How Nanotechnology can Really Improve the Future of Orthopedic Implants and Scaffolds for Bone and Cartilage Defects. *J Nanomedicine Biotherapeutic Discov*. 2013;3:114.
27. Qi Y, Zhao T, Xu K, Dai T, Yan W. The restoration of full-thickness cartilage defects with mesenchymal stem cells (MSCs) loaded and cross-linked bilayer collagen scaffolds on rabbit model. *Mol Biol Rep*. 2012;39(2):1231-7.
28. Roelofs AJ, Rocke JP, De Bari C. Cell-based approaches to joint surface repair: a research perspective. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013; 21(7): 892-900.
29. Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of fullthickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*. 1993; 75(4): 532-553.
30. Wakitani S, Yamamoto T. Response of the donor and recipient cells in mesenchymal cell transplantation to cartilage defect. *Microsc Res Tech*. 2002;58(1):14-18.
31. Yang P, Huang X, Wang C, Dang X, Wang K. Repair of bone defects using a new biomimetic construction fabricated by adipose-derived stem cells, collagen I, and porous beta-tricalcium phosphate scaffolds. *Experimental Biology and Medicine*. 2013; 238 (12): 1331.
32. Zhang L, Hu J, Athanasiou KA. The role of tissue engineering in articular cartilage repair and regeneration. *Crit Rev Biomed Eng*. 2009;37(1-2):1-57.
33. Guilak F, Awad HA, Fermor B, Leddy HA, Gimble JM. Adipose-derived adult stem cells for cartilage tissue engineering. *Biorheology*. 2004;41(3-4):389-99.
34. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells*. 2006; 24(5):1294-301.
35. Shahdadfar A, Fronsdal K, Haug T, Reinholt F P, Brinchmann JE. In vitro expansion of human mesenchymal stem cells: choice of serum is a determinant of cell proliferation, differentiation, gene expression, and transcriptome stability. *Stem Cells*. 2005; 23(9): 1357-1366.
36. Veronesi F, Maglio M, Tschon M, Aldini NN, Yoshimura H, Muneta T, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I. Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle. *Cell Tissue Res*. 2007; 327(3): 449-46.
11. Ajibade DA . Vance DD, Hare JM, Kaplan LD, Lesniak BP. Emerging Applications of Stem Cell and Regenerative Medicine to Sports Injuries. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*. 2014; 2 (2): 1-7.
12. Brown PT, Handorf AM, Jeon WB, Li WJ. Stem Cell-based Tissue Engineering Approaches for Musculoskeletal Regeneration. *Curr Pharm Des*. 2013;19(19):3429-45.
13. Tuan RS, Boland G, Tuli R. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. *Arthritis Res Ther*. 2003; 5(1): 32-45.
14. Chen FH, Rousche KT, Tuan RS. Technology Insight: adult stem cells in cartilage regeneration and tissue engineering. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2006; 2(7): 373-382.
15. Chen F H, Tuan R S. Mesenchymal stem cells in arthritic diseases. *Arthritis Res Ther*. 2008; 10(5):223.
16. Kessler MW, Grande DA. Tissue engineering and cartilage. *Organogenesis*. 2008; 4:1, 28-32.
17. Diekman BO, G Farshid. Stem cell-based therapies for osteoarthritis: challenges and opportunities. *Curr Opin Rheumatol*. 2013; 25(1): 119-26.
18. Drobnic M, Kregar-Velikonja N, Radosavljevic D, Gorenssek M, Koritnik B, Malicev E, et al. The outcome of autologous chondrocyte transplantation treatment of cartilage lesions in the knee. *Cell Mol Biol Lett*. 2002; 7(2): 361-3.
19. Sheykhhasan M, Tabatabaei Qomi SR, Kalhor N, Ghiasi M. 2014. Isolation and maintenance of canine Adipose-derivedmesenchymal stemcells in order to tissue engineering application. *Int J Adv Biol Sci Eng*. 2015;1(2):86-97.
20. Frenkel S R, Bradica G, Brekke JH, Goldman S M, Ieska K, Issack P, et al. Regeneration of articular cartilage--evaluation of osteochondral defect repair in the rabbit using multiphasic implants. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005; 13(9): 798-807.
21. Johnstone B, Alini M, Cucchiari M, Dodge GR, Eglin D, Guilak F, et al. Tissue engineering for articular cartilage repair--the state of the art. *Eur Cell Mater*. 2013;25:248-67.
22. Mainil-Varlet P. A validated histological score for human cartilage biopsies in clinical trial. Presentation, 7th World Congress of the International Cartilage Repair Society, Warsaw, Poland 2007.
23. Matsiko A, Levingstone TJ, O'Brien FJ. Advanced Strategies for Articular Cartilage Defect Repair; *Materials*. 2013; 6(2): 637-668.

Sci. 2015;14(4):269-82.

50. Tabatabaei Qomi R, Sheykhasan M, Kalhor N, Ghiasi M. Chondrogenic Differentiation of Human Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells Using Fibrin Hydrogel Scaffold. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2015;25(123):21-30.

51. Lam G. Exploring the Role of Hypoxia Related Parameters in the Vascularization of Modular Tissues. MASC thesis, University of Toronto, Ontario, 2013.

52. Cheng NC, Estes BT, Young TH, Guilak F. Engineered cartilage using primary chondrocytes cultured in a porous cartilage-derived matrix. *Regen Med*. 2011;6(1):81-93.

53. Rajangam T, An SS. Fibrinogen and fibrin based micro and nano scaffolds incorporated with drugs, proteins, cells and genes for therapeutic biomedical applications. *Int J Nanomedicine*. 2013; 8:3641-62.

Fini M. Adipose-derived mesenchymal stem cells for cartilage tissue engineering: State-of-the-art in vivo studies. *J Biomed Mater Res A*. 2014;102(7):2448-66.

37. Zhu Y, Liu T, Song K, Fan X, Ma X, Cui Z. Adipose-derived stem cell: a better stem cell than BMSC. *Cell Biochem Funct*. 2008;26(6):664-75.

38. Iwasa J, Engebretsen L, Shima Y, Ochi M. Clinical application of scaffolds for cartilage tissue engineering. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2009;17(6):561-77.

39. Koga H, Muneta T, Nagase T, Nimura A, Ju YJ, Mochizuki T, et al. Comparison of mesenchymal tissues-derived stem cells for in vivo chondrogenesis: suitable conditions for cell therapy of cartilage defects in rabbit. *Cell Tissue Res*. 2008;333(2):207-15.

40. Marcacci M, Berruto M, Brocchetta D, Delcogliano A, Ghinelli D, Gobbi A, et al. Articular cartilage engineering with Hyalograft C: 3-year clinical results. *Clin Orthop Relat Res*. 2005; 435(435): 96-105.

41. Panseri S, Russo A, Cunha C, Bondi A, Di Martino A, Patella S, et al. Osteochondral tissue engineering approaches for articular cartilage and subchondral bone regeneration. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2012;20(6):1182-91.

42. Ghiasi M, Tabatabaei Qomi R, Nikbakht M, Sheykhasan M. Expression of collagen type I and II, aggrecan and SOX9 genes in mesenchymal stem cells on different bioscaffolds. *Tehran University Medical Journal*. 2015;73(3):158-167.

43. Zwingmann J, et al. Chondrogenic differentiation of human articular chondrocytes differs in biodegradable PGA/PLA scaffolds. *Tissue Eng*. 2007;13(9):2335-43.

44. Zhu J. Bioactive modification of poly (ethylene glycol) hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials*. 2010;31(17):4639-56.

45. Ghiasi M, Tabatabaei-Qomi R, Kalhor N, Fazaely H, Mehdizadeh M, Sheykhasan M. The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. *SMU Medical Journal*. 2014;1(2):261-273.

46. Chung C, Erickson IE, Mauck RL, Burdick JA. Differential behavior of auricular and articular chondrocytes in hyaluronic acid hydrogels. *Tissue Eng Part A*. 2008;14(7):1121-31.

47. Lindahl A, Brittberg M, Peterson L. Cartilage repair with Chondrocytes: clinical and cellular aspects. *Novartis Found Symp*. 2003;249:175-86; discussion 186-9, 234-8, 239-41.

48. Laurienzo P. Marine polysaccharides in pharmaceutical applications: an overview. *Mar Drugs*. 2010;8(9):2435-65.

49. Tabatabaei Qomi R. Sheykhasan M. Kalhor N. Ghiasi M. Introduction of Pellet Culture System of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells as an in vitro Model for Cartilage Engineering Approaches. *J Rafsanjan Univ Med*

Comparison of the ability to make a suitable environment for the growth and differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells among various biological scaffolds

Mahdieh Ghiasi, MSc. Laboratory of Stem Cell, The Academic Center for Education, Culture and Research, Qom Branch, Qom, Iran. Mahdieh.ghiasi@yahoo.com

Mohsen Sheykh Hasan, MSc. Laboratory of Stem Cell, The Academic Center for Education, Culture and Research, Qom Branch, Qom, Iran. Mohsen_sheikhhasan@yahoo.com

Reza Tabatabaei Qomi, MSc. Laboratory of Stem Cell, The Academic Center for Education, Culture and Research, Qom Branch, Qom, Iran. taba_1359@yahoo.com

Mohammad Mehdizadeh, Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Dental Faculty, Babol Medical Science University, Babol, Iran. dr_rmohammad@yahoo.com

***Naser Kalhor**, MSc. Laboratory of Stem Cell, The Academic Center for Education, Culture and Research, Qom Branch, Qom, Iran (*Corresponding author). naserkalhor@gmail.com

Abstract

Background: Although the presence of articular cartilage progenitor cells is already known, but due to lack of blood supply, its ability to heal is poor. In past, tissue engineering approaches has been mainly focused on the collection and culture of chondrocyte cells on biodegradable scaffolds such as polyglycolic acid in vitro and their autologous transplantation. Recently, due to the difficulties in collecting these cells, research have shifted to stem cells to chondrocyte production. Biological scaffolds with good mechanical properties are important factors for tissue engineering and to provide a suitable environment for optimal growth and differentiation of stem cells. In this study, the efficacy of three scaffolds including alginate, poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) and fibrin glue (FG) in creation of the perfect environment for the growth and differentiation of mesenchymal stem was evaluated.

Methods: In this study, the alginate and PLGA and FG scaffolds were prepared and mesenchymal stem cells were isolated from adipose tissue. Then, these cells were cultured and differentiated on the three scaffolds, separately. After 2 weeks, chondrogenic gene expression analysis was performed for each scaffold by Real time PCR.

Results: The results of this study showed that the highest expression of chondrogenic genes was in the FG compared to other scaffolds.

Conclusion: It was seen that natural scaffolds have a huge potential for appropriate growth and differentiation of cells.

Keywords: Tissue engineering, FG, Alginate, PLGA, Mesenchymal stem cells