


# ارزیابی و مشخصه‌یابی شیت آسلولار مشتق شده از پرده آمینون انسان

سوننا زارع<sup>۱</sup>، معصومه عالی‌پور<sup>۲\*</sup>  و حدیث معتمد رستمی<sup>۳</sup>

۱- مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه اشرفی اصفهانی، اصفهان، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\*نویسنده مسئول: معصومه عالی‌پور، [aalipour.masoum90@gmail.com](mailto:aalipour.masoum90@gmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۲/۳۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۴/۱۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۶/۲۸

## چکیده

**پیشینه و هدف:** مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که می‌توان از پرده آمینون برای تهیه شیت آسلولار مناسب استفاده کرد. در عین حال کیفیت شیت‌های آسلولار تهیه شده به روش‌های مختلف با هم متفاوت است. بر این اساس مطالعه حاضر به هدف دستیابی به یک داربست مناسب تهیه شده از پرده آمینون به بررسی مشخصه و ارزیابی شیت آسلولار مشتق از پرده آمینون پرداخته است.

**روش کار:** طی این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، نمونه کامل جفت از مادرانی که تحت عمل سزارین قرار گرفته بودند، جدا گردید. غشای آمینون توسط محلول PBS و محلول ۰.۰۳ درصد سدیم دودسیل سولفات و سالیس تریس بافر (TBS) تحت تیمار قرار گرفت و سلول‌زدایی شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از بررسی با میکروسکوپ الکترونی نشان دادند که در شیت آسلولار تهیه شده محتوای سلولی وجود ندارد.

**نتیجه‌گیری:** در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش دادند که شیت آسلولار تهیه شده از پرده آمینون انسانی دارای کیفیت مناسبی به عنوان داربست زیستی می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پرده آمینون، شیت آسلولار، داربست زیستی، غشای آمینون

## مقدمه

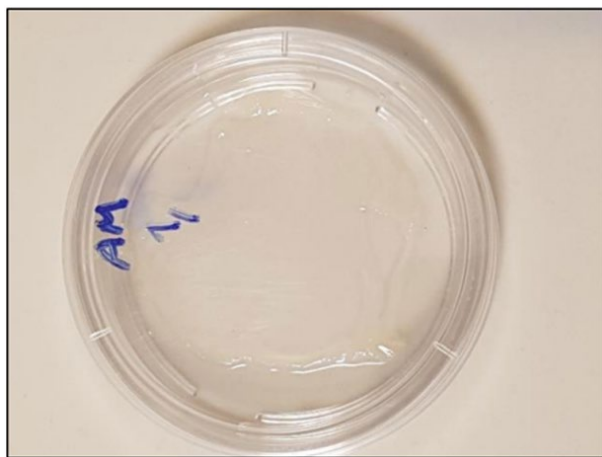
ویژگی‌های ایمونولوژیکی دارد و به عنوان یک غشا بیولوژیک مناسب شناخته می‌شود. بنابراین در جراحی‌ها، به ویژه جراحی‌های چشم، پیوند پوست، پانسمان زخم، ترمیم و کاهش درد نقش مهمی ایفا می‌کند (Faya et al., 2022). مطالعات نشان می‌دهد که بافت‌های سلول‌زدایی شده، محیطی را برای سلول‌ها فراهم می‌کنند که شبیه طاقچه طبیعی آن‌هاست. بافت‌های سلول‌زدایی شده از منابع مختلفی تولید می‌شوند، که در میان آن‌ها غشاهای جنین کاندیده‌های عالی هستند، زیرا عرضه آن‌ها تقریباً نامحدود است، به راحتی و با حداقل نگرانی‌های اخلاقی در دسترس هستند و اغلب به عنوان زباله‌های بیولوژیکی دور ریخته می‌شوند. کاربردهای مختلف غشاهای سلول‌زدایی شده جنین به عنوان بستری برای گسترش سلول‌های بنیادی و به عنوان داربست‌های دو بعدی و سه بعدی برای بازسازی

غشای آمینوتیک (AM) یا آمینون یک غشای نازک در سمت داخلی جفت جنین است. در هفته دوم رشد جنین، سلول‌های داخل بلاستوسیست شروع به سازماندهی در لایه‌هایی می‌کنند و یک کیسه غشایی ایجاد می‌کنند که به آمینون تبدیل می‌شوند. سلول‌های بنیادی روی پرده آمینون، سلول‌های مزانشیمی هستند. این سلول‌ها قابلیت تمایز یافتن به سلول‌های دیگر را دارند و به دلیل این ویژگی محصولات مختلفی از آن تهیه می‌کنند، که یکی از آن‌ها شیت آسلولار می‌باشد (Gupta et al., 2015). شیت آسلولار یک داربست طبیعی است که از طریق سلول‌زدایی در پرده آمینون به دست می‌آید. پرده آمینون ویژگی‌های ضد التهابی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی و همچنین

با توجه به کاربردهای گوناگون شیت آسلولار به عنوان داربست جهت انتقال سلول‌های بنیادی به بافت‌های هدف جهت ترمیم بافت (Gupta *et al.*, 2015) و نیز با توجه به اثرات کاربردی متعدد و مفید شیت آسلولار در مهندسی بافت (Arrizabalaga and Nollert, 2018) و همچنین نظر به اینکه عمده مطالعات قبلی در خصوص تهیه شیت آسلولار معطوف به تهیه شیت آسلولار از پرده آمینون انسان انجام گرفته است، بر این اساس پژوهش حاضر به بررسی نحوه تهیه و مشخصه‌یابی شیت آسلولار مشتق از پرده آمینون انسانی می‌پردازد و نتایج حاصل از این پژوهش دارای اهمیت ویژه‌ای در حوزه تهیه شیت آسلولار از پرده آمینون انسان بوده و می‌تواند در مهندسی بافت کاربرد داشته باشد.

## روش مطالعه

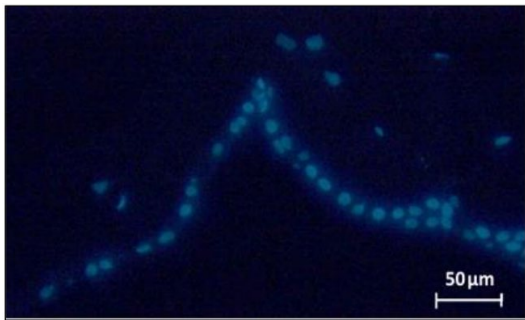
**نمونه‌گیری:** در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی نمونه کامل جفت از اهدا کننده با رعایت شرایط اخلاق در پژوهش و کسب رضایت مادر پس از زایمان در بیمارستان علوم پزشکی تهران از بین زنان تحت سزارین دریافت شد. با رضایت زنان باردار، آزمایش‌های سرولوژیکی بر روی زنان باردار انجام شد که نتایج نشان داد مادران از نظر تست‌های HBV، HCV، HIV، سیفلیس و سوزاک منفی بودند. ظرف‌های حاوی نمونه جفت به روش استریل به آزمایشگاه منتقل شد و اجزای مختلف آن جهت استفاده جدا شد. غشای آمینوتیک و کوریون جدا شدند. بنابراین، یک غشای آمینوتیک صاف و شفاف به دست آمد (شکل ۱).



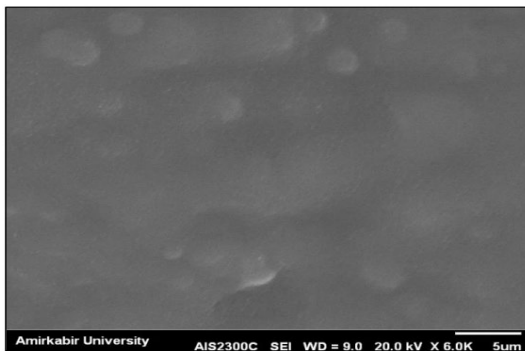
**شکل ۱.** بافت آسلولار آمینون، که در پلیت آزمایشگاه قرار گرفته است. همچنانکه در شکل مشاهده می‌شود بافت آسلولار دارای مورفولوژی هموزن و شفاف می‌باشد که از نظر ظاهری با ویژگی آسلولار بودن بافت انطباق دارد.

بافت استفاده می‌شوند (Wilshaw *et al.*, 2006; Shakouri-). داربست‌های مختلف پرده آمینون، التهاب را کاهش می‌دهند و ماتریکس بسیار غنی پروتئین را فراهم می‌کنند و در نتیجه مهاجرت سلول‌ها را در ناحیه آسیب دیده تسهیل می‌کنند (Leal-*Marin et al.*, 2021). غشاهای آمینوتیک نسبت به سایر مواد مصنوعی، منبع بالقوه بهتری برای بازسازی هستند. در مطالعه‌ای نشان داده شد که لایه زیرین پرده آمینون را به عنوان داربست آمینوتیک انسانی جدا کردند و سپس سلول‌های اپیتلیال مجرای ادرار اولیه خرگوش را روی سطح آن تلقیح کردند و مشخص شد که نقایص مجرای ادرار خرگوش به طور کامل در یک ماه برطرف شد (Wang *et al.*, 2014). مطالعه‌ای نشان داد که از داربست غشای آمینوتیک در جراحی چشم برای بازسازی سریع سطح چشم استفاده می‌شود (Mandal *et al.*, 2017). در مطالعه دیگری از پرده آمینون در سوختگی‌ها استفاده کردند که نتایج ارتقای بهبود زخم، اثرات ضد میکروبی، تسکین درد، کاهش مایعات و تشکیل اسکار را نشان داد (Kesting *et al.*, 2008). یکی از قدیمی‌ترین مواد زیستی که برای داربست استفاده می‌شود، غشاهای جنین است. غشاهای آمینوتیک جنین در حال رشد، یعنی آمینون (داخلی ترین پوشش) و کوریون (لایه‌ای در کنار آن)، دارای خواص بالقوه قابل توجهی در زمینه درمان از جمله دندانپزشکی هستند (Gupta *et al.*, 2015). غشای آمینوتیک انسانی به دلیل ساختار ماتریکس خارج سلولی و خواص بیولوژیکی عالی که هر دو زخم را بهبود می‌بخشند، به عنوان داربست در طیف گسترده‌ای از کاربردهای مهندسی بافت، به ویژه به عنوان پانسمان پوست و به عنوان پیوندی برای درمان قرنیه استفاده می‌شود (Leal-*Marin et al.*, 2021). خواص ساختاری، فیزیکی و بیولوژیکی پرده آمینون، آن را به یک انتخاب فوق العاده برای استفاده در برنامه های پزشکی احیا کننده تبدیل می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که شیت آسلولار پرده آمینون در پیوند و بهبود زخم و پوست، چشم پزشکی، ارتوپدی، ماتریکس کشت سلولی، آسیب قلبی، سیستم تولید مثل مردان و زنان و کبد کاربرد دارد (Doudi *et al.*, 2022). در مطالعه‌ای گزارش شده که غشای آمینون آسلولار، باعث خنثی شدن رادیکال‌های آزاد می‌شود و در عین حال به طور همزمان بهبود زخم را تسریع می‌کند (Varadaraj *et al.*, 2022). مطالعه دیگری رگ‌زایی و تغییرات مولکولی اولیه غشای آمینوتیک آسلولار انسان را برای بازسازی استخوان بررسی کرد که نتایج نشان داد غشای آمینوتیک آسلولار انسان با زیست سازگاری عالی برای تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان و تمایز استخوانی مفید است (Tang *et al.*, 2018). همچنین مطالعه دیگری نشان داد غشای آمینوتیک آسلولار انسانی حاوی آگروزوم‌های سلول‌های بنیادی مزانشیمی، باعث بهبود زخم دیابتی می‌شود (Xiao *et al.*, 2021).

آمینون سلول زدایی شده، تصاویر میکروسکوپ الکترونی تهیه گردید (شکل ۳). نتایج حاصل از بررسی با میکروسکوپ الکترونی نشان دادند که در شیت آسلولار تهیه شده محتوای سلولی وجود ندارد و در نهایت از این بافت، شیت‌های آسلولار با کیفیتی به عنوان داربست سلولی تهیه شد (شکل ۴).



**شکل ۲.** بافت آسلولار آمینون با رنگ آمیزی DAPI. در شکل به وضوح وجود DNA به رنگ آبی روشن مشاهده می‌گردد که نشانگر آن است که سلول‌ها دچار مرگ شده‌اند.



**شکل ۳.** تصویر میکروسکوپ الکترونی از بافت آسلولار آمینون. همچنان که در این تصویر مشاهده می‌شود بستر مورد مشاهده بستری صاف و یکنواخت می‌باشد و محتوای سلولی در تصویر مشاهده نمی‌شود.



**شکل ۴.** شیت تهیه شده از بافت آسلولار. همچنانکه در تصویر مشاهده می‌شود، شیت‌های تهیه شده دارای مورفولوژی قرصی شکل می‌باشند و این شیت‌ها پس از قرارگیری تحت تابش اشعه ماورای بنفش می‌توانند به عنوان داربست در مهندسی بافت مورد استفاده قرار گیرند.

**استخراج سلول‌ها:** غشای آمینوتیک سه بار با PBS حاوی ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین شسته شد. سپس پرده آمینون در محلول ۰.۰۳ درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS) (Merck، آلمان) در سالین تریس بافر (TBS) قرار داده شد. به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق تکان داده شد. در مرحله بعد آمینون در PBS شستشو شد. آمینون به مدت ۲۴ ساعت در فریزر (-۷۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، نمونه خشک گردید.

**رنگ‌آمیزی سلول‌ها:** آمینون‌های بدون سلول (آسلولار) در فرمالدئید ۱۰ درصد تثبیت شدند، در اتانول و زایلین درجه بندی شده آگیری شدند و متعاقباً در پارافین جاسازی شدند. برش‌های ۵ میلی متری برش داده شد و با هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شدند.

**تصویربرداری از سلول‌ها:** نمونه‌ها در گلو تار آلدئید ۲.۵ درصد تثبیت شدند و سپس با یک سری اتانول درجه‌بندی شده آگیری شدند. پس از آگیری گرادیان، نمونه‌های خشک شده قبل از بررسی زیر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) با طلا پوشش داده شدند و سپس با میکروسکوپ الکترونی، شیت آسلولار مورد ارزیابی قرار داده شد و از آن عکس برداری شد.

**سنجش میزان DNA:** DNA سلولی باقیمانده در آمینون آسلولار با استفاده از کیت سنجش DNA (Roche، آلمان) طبق دستورالعمل سازنده اندازه‌گیری شد. چگالی نوری (OD) در ۲۶۰ نانومتر با فلورسانس خوان میکرو صفحه اندازه‌گیری شد. غلظت‌های مختلف از DNA در لوله‌های مخصوص و با بافر ویژه ریخته شد و منحنی استاندارد بر مبنای OD حاصل از خوانش غلظت‌های مختلف DNA رسم شده و محتوای DNA نمونه بر مبنای منحنی استاندارد محاسبه شد. مقدار DNA توسط رنگ آمیزی DAPI که یک رنگ فلورسنت اتصال یابنده به مناطق غنی از آدنین-تیمین در DNA می‌باشد به وسیله میکروسکوپ فلورسنت سنجش شد (Hekmat et al., 2023).

## نتایج

**شمارش تعداد سلول‌های فیروبلاست:** بعد از سلول‌زدایی کردن پرده آمینون مطابق پروتکل گفته شده (شکل ۱) برش‌هایی از آن تهیه شد و بعد از رنگ آمیزی، مرگ سلول‌ها در نمونه مورد بررسی تایید شد (شکل ۲). برای مشاهده ی تصویر سه بعدی شیت آسلولار تهیه شده، و به دست آوردن اطلاعاتی از مورفولوژی سه بعدی آن، از

## بحث

تسکین دهنده درد دارد. همچنین منبعی از فاکتورهای رشد و سیتوکین‌ها با خواص سلول‌های بنیادی است. این منبع مهم به عنوان داربستی مناسب به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته و در زمینه‌های مختلف ترمیم بافت مانند ترمیم قرنیه، درمان زخم مزمن، بازسازی دستگاه تناسلی، ترمیم تاندون، بازسازی میکروواسکولار، ترمیم عصب و بازسازی آسیب داخل دهان مورد استفاده قرار گرفته است. غشای آمینون بسته به کاربرد مورد نظر، به عنوان یک داربست ساده یا دانه بندی شده با انواع مختلفی از سلول‌ها که قادر به رشد و تمایز هستند استفاده شده است. بنابراین، این بیوماده طبیعی را به عنوان یک داربست زیست سازگار و تجزیه پذیر استفاده می‌کنند (Fénelon *et al.*, 2021). در سال ۱۹۸۶، غشای آمینوتیک به عنوان یک جایگزین عالی برای پیوند پوست تقسیم شده برای بازسازی واژن در ولوواژینوپلاستی ارائه شد (Davis and Augenstein, 2019). در تلاش برای حفظ خواص بیولوژیکی و فیزیکی غشای آمینون، در پژوهشی انجماد پرده آمینون را در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد پیشنهاد کردند (Kim and Tseng, 1995). استفاده از غشای آمینون منجمد شده برای بازسازی زخم قرنیه آسیب دیده در ۱۱ بیمار، به بیش از ۹۰ درصد موفقیت دست یافت (Lee and Tseng, 1997). در سال ۱۹۹۷، گولر و ارکان اولین کسانی بودند که آمینوم لیوفیلیزه (خشک شده در انجماد و استریل) را در وستیبولوپلاستی فک پایین آزمایش کردند که در آن اثر رگ‌زایی قوی را گزارش کردند (Lee and Tseng, 1997). همچنین شیت آسولار پرده آمینون با ارائه بستری بهینه برای کشت سلولی به درک بهتر زیست‌شناسی سلول‌های بنیادی کمک کرده است که می‌تواند داربست‌های مکانیکی سه بعدی غنی شده بیولوژیکی را به خوبی بهینه‌سازی کرده و توپوگرافیکی را برای کشت سلول‌های بنیادی با هزینه کم در مقایسه با داربست‌های تجاری موجود فراهم کند (Davis and Augenstein, 2019).

مطالعه حاضر در محدوده بررسی تهیه و مشخصه‌یابی شیت آسولار مشتق از پرده آمینون انسان صورت گرفته است، اما از نظر بررسی اثرات آن در ترمیم بافت دارای محدودیت می‌باشد. محققین این پژوهش امیدوارند در آینده امکان بررسی شیت آسولار در مطالعات ترمیم بافت فراهم شود.

## نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که شیت آسولار تهیه شده از پرده آمینون انسانی دارای کیفیت مناسبی به عنوان داربست می‌باشد. یافته‌های این پژوهش می‌توانند دارای کاربرد در حوزه مهندسی بافت باشند.

مطالعات نشان می‌دهند که از پرده آمینون به واسطه داشتن سلول‌های بنیادی می‌توان شیت آسولار باکیفیت تهیه کرد، اما روش‌های متفاوتی از نحوه تهیه شیت آسولار از پرده آمینون وجود دارد و همینطور تکنیک‌ها و استراتژی‌های متفاوتی به عنوان راه‌هایی برای تنظیم خواص این داربست‌ها وجود دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که با این روش آزمایشگاهی می‌توان شیت آسولار مناسبی از پرده آمینون انسانی به عنوان داربست سلولی با کیفیت جداسازی کرد. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند شیت آسولار مشتق از پرده آمینون دارای اهمیت قابل توجهی در حوزه مهندسی بافت می‌باشد (Arrizabalaga and Nollert, 2018). نتایج این مطالعه نشان دادند که شیت آسولار پرده آمینون به دست آمده از کیفیت مطلوبی برخوردار است و می‌تواند در طیف وسیعی از زمینه‌های پزشکی استفاده شود. موافق با این یافته پژوهش‌های دیگری نیز نشان داده‌اند که می‌توان از پرده آمینون انسان شیت آسولار مناسب و کاربردی تهیه کرد. در این راستا نتایج حاصل از مطالعه انجام گرفته در خصوص شیت آسولار پرده آمینون در ترمیم سوختگی‌ها بیانگر آن است که موجب ارتقای بهبود زخم می‌شود و همچنین دارای اثرات ضد میکروبی، تسکین درد، کاهش مایعات و کاهش تشکیل اسکار می‌باشد (Kesting *et al.*, 2008). یکی از اهداف اصلی مهندسی بافت و پزشکی بازساختی، ایجاد جایگزین‌های پوستی برای درمان زخم‌های عمیق پوستی کامل است. در این راستا، هم داربست و هم منبع سلولی نقش اساسی در دستیابی به آنالوگ بافتی و فیزیولوژیکی پوست دارند. در مطالعه‌ای نشان داده شده که سلول‌های اپیتلیال و مزانشیمی آمینون دارای ویژگی‌های سلول‌های بنیادی پرتوان هستند که قابلیت تمایز به هر سه لایه زاینده را دارند و می‌توان بدون هیچ گونه نگرانی اخلاقی آن‌ها را به دست آورد. سلول‌های آمینوتیک همچنین فاکتورهای رشد مختلف، پپتیدهای ضد باکتری و طیف وسیعی از عوامل ضد التهابی تولید می‌کنند که در نهایت باعث تسریع در بهبود زخم می‌شوند. علاوه بر این، ماتریکس غشای آمینوتیک ویژگی‌های یک داربست ایده‌آل و جایگزین پوست را از طریق انواع مختلف پروتئین‌های خارج سلولی مانند کلاژن‌ها، لامینین‌ها و فیبرونکتین‌ها نشان می‌دهد که به عنوان لنگر برای اتصال و تکثیر سلولی، بستری برای تحویل سلول و مخزن داروها عمل می‌کنند. همچنین مطالعات اخیر تأیید می‌کند سلول‌ها و ماتریکس مشتق از آمینون، پتانسیل درگیر شدن در جایگزین‌های پوست را دارند (Naeem *et al.*, 2022). در مطالعه‌ی دیگری نشان داده شد که پرده آمینون دارای زیست‌سازگاری، ایمنی زایی کم، خواص مکانیکی کافی (نفوذپذیری، پایداری، الاستیسیته، انعطاف پذیری، قابلیت جذب) و چسبندگی سلولی خوب است. خواص ضد التهابی، ضد فیبروتیک و ضد جهش زایی و اثرات

## تقدیر و تشکر

پزشکی تهران با شناسه IR.TUMS.VCR.REC.1397.506 و نیز از طرف سازمان پزشکی قانونی کشور با شناسه IR.LMO.REC.1397.021 دریافت شد.

بدین وسیله از همکاران دانشگاه آزمایشگاه علوم پزشکی تهران که در اجرای این تحقیق یاریگر محققان این پژوهش بوده‌اند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

جهت اجرای این پژوهش مجوز کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی از طرف سازمان معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم

## مراجع

- Arrizabalaga, J.H. and Nollert, M.U. 2018. Human amniotic membrane: A versatile scaffold for tissue engineering. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 4(7): 2226-2236.
- Davis, A. and Augenstein, A. 2019. Amniotic allograft implantation for midface aging correction: A retrospective comparative study with platelet-rich plasma. *Aesthetic Plastic Surgery*, 43: 1345-1352.
- Doudi, S., Barzegar, M., Taghavi, E.A., Eini, M., Ehterami, A., Stokes, K., Alexander, J.S. and Salehi, M. 2022. Applications of acellular human amniotic membrane in regenerative medicine. *Life Sciences*: 121032.
- Faya, X., Qi, H., Xiyan, L., Jiao, T. and Yanbing, X. 2022. Research progress in application of human acellular amniotic membrane in biomedical field. *Journal of Clinical Medicine in Practice*, 26(22): 123-127.
- Fénelon, M., Catros, S., Meyer, C., Fricain, J.-C., Obert, L., Auber, F., Louvrier, A. and Gindraux, F. 2021. Applications of human amniotic membrane for tissue engineering. *Membranes*, 11(6): 387.
- Gupta, A., Kedige, S.D. and Jain, K. 2015. Amnion and chorion membranes: Potential stem cell reservoir with wide applications in periodontics. *International journal of biomaterials*, 2015.
- Hekmat, A., Bahar, K.F. and Hajebrahimi, Z. 2023. Antiproliferative effects of palm oil in the presence of photobiomodulation against k562 cancer cells. 6 *Persiaran Institusi, Bandar Baru Bangi 43000 Kajang, Selangor, Malaysia Tel: 603-8769 4400*, 35(3): 426-436.
- Kesting, M.R., Wolff, K.-D., Hohlweg-Majert, B. and Steinstraesser, L. 2008. The role of allogenic amniotic membrane in burn treatment. *Journal of burn care & research*, 29(6): 907-916.
- Kim, J.C. and Tseng, S.C. 1995. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea*, 14(5): 484-493.
- Leal-Marín, S., Kern, T., Hofmann, N., Pogozhykh, O., Framme, C., Börgel, M., Figueiredo, C., Glasmacher, B. and Gryshkov, O. 2021. Human amniotic membrane: A review on tissue engineering, application, and storage. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 109(8): 1198-1215.
- Lee, S.-H. and Tseng, S.C. 1997. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *American journal of ophthalmology*, 123(3): 303-312.
- Mandal, S.M., Khan, J., Mahata, D., Saha, S., Sengupta, J., Silva, O.N., Das, S., Mandal, M. and Franco, O.L. 2017. A self-assembled clavanin a-coated amniotic membrane scaffold for the prevention of biofilm formation by ocular surface fungal pathogens. *Biofouling*, 33(10): 881-891.
- Naeem, A., Gupta, N., Naeem, U., Khan, M.J., Elrayess, M.A., Cui, W. and Albanese, C. 2022. A comparison of isolation and culture protocols for human amniotic mesenchymal stem cells. *Cell Cycle*, 21(15): 1543-1556.
- Shakouri-Motlagh, A., Khanabdali, R., Heath, D.E. and Kalionis, B. 2017. The application of decellularized human term fetal membranes in tissue engineering and regenerative medicine (term). *Placenta*, 59: 124-130.
- Tang, K., Wu, J., Xiong, Z., Ji, Y., Sun, T. and Guo, X. 2018. Human acellular amniotic membrane: A potential osteoinductive biomaterial for bone regeneration. *Journal of biomaterials applications*, 32(6): 754-764.
- Varadaraj, S., Kandhasamy, S., Kandoi, S., Radhakrishnan, J., Subramaniam, P. and Verma, R.S. 2022. Multiple cues in acellular amniotic membrane incorporated embelin for tissue engineering. *Materials Today Communications*, 33: 104203.
- Wang, F., Liu, T., Yang, L., Zhang, G., Liu, H., Yi, X., Yang, X., Lin, T.-y., Qin, W. and Yuan, J. 2014. Urethral reconstruction with tissue-engineered human amniotic scaffold in rabbit urethral injury models. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 20: 2430.

Wilshaw, S.-P., Kearney, J.N., Fisher, J. and Ingham, E. 2006. Production of an acellular amniotic membrane matrix for use in tissue engineering. *Tissue engineering*, 12(8): 2117-2129.

Xiao, S., Xiao, C., Miao, Y., Wang, J., Chen, R., Fan, Z. and Hu, Z. 2021. Human acellular amniotic

membrane incorporating exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells promotes diabetic wound healing. *Stem Cell Research & Therapy*, 12(1): 255.

## Evaluation and characterization of acellular sheet derived from human amniotic membrane

Sona Zare<sup>1</sup>, Masoumeh Aalipour<sup>2\*</sup> , Hadis Motamed Rostami<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Cell and Molecular Biology, Ashrafi Isfahani University, Isfahan, Iran

<sup>3</sup> Department of Biology, Kazeroon Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\*Correspondence to Masoumeh Aalipour, MSc., aalipour.masoum90@gmail.com

Received 21<sup>st</sup> May 2021    Revised 4<sup>th</sup> July 2022    Accepted 19<sup>th</sup> September 2022

### Abstracts

**Introduction and aim:** Many studies have shown that the amniotic membrane can be used to prepare a suitable acellular sheet. At the same time, the quality of acellular sheets prepared by different methods is different. Based on this, the present study aims to obtain a suitable scaffold prepared from the amniotic membrane, investigate the characteristics, and evaluate the acellular sheet derived from the amniotic membrane.

**Methods:** During this experimental laboratory study, the complete sample of the placenta was isolated from mothers who underwent cesarean section. The amnion membrane was treated with PBS solution and 0.03% (w/v) sodium dodecyl sulfate and Tris-buffered saline (TBS) solution and decellularized.

**Results:** Results: The results of the examination with an electron microscope showed that there is no cell content in the prepared acellular sheet.

**Conclusion:** Conclusion: Overall, the results of this research showed that the acellular sheet prepared from the human amniotic membrane has good quality as a biological scaffold.

**Keywords:** Amnion membrane, Acellular sheet, Biological scaffold