بررسی توانمندی سلول های بنیادی مزانشیمی نامحدود خون بندناف (USSC) در ترمیم ضایعه استخوانی در کالواریای خرگوش

سعید حیدری کشل[3,2,1]، مصطفی رضایی طاویرانی[1*]، مریم ابراهیمی[1]، غلام رضا بهروزی[1]، عبدالعزیز رونقی[1]، جعفر دوست محمد[1]، رضا روزافزون[3]، اردشیر معیری[4]، شهرام محمدپور[4]

1) کمیته پژوهشی دانشجویی، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
2) واحد فراهم آوری سلول های بنیادی، مرکز تحقیقات چشم، بیمارستان فارابی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
3) گروه مهندسی بافت و سلول درمانی، دانشکده فن آوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
4) گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: **91/5/20** تاریخ پذیرش: **91/10/21**

چکیده

مقدمه: بیماری پریودنتال در انواع مزمن و پشرفته، کل ناحیه پریودنشیوم یا بخشی از آن را می توانند درگیر نمایند. در حالی که بیماری های پریودنتال با تخریب گسترده بافت پریودنشیوم(شامل سمنتوم، استخوان آلئول، لثه و لیگامان پریودنتال) همراهند، این بافت توانای محدودی در بازسازی خود دارد. به نظر می رسد با توجه به کندی فرایند ترمیم در این بیماری، باید از سلول های با قدرت بازسازی تخصصی بالا بهره جست که توانای تبدیل به سمنتوم، استئوبلاست و فیبروبلاست را داشته و بافت همبند را بین سمنتوم و استخوان جدید ایجاد نماید.

مواد و روش ها: سلول های تک هسته ای جدا شده از 30 نمونه خون بندناف را بر بستر پوشانده شده با فیبرونکتین و محیط کشت اختصاصی مورد جداسازی قرار داده شد. آنالیز فلوسیتومتری برای مارکرهای سطحی انجام پذیرفت. پس از آماده سازی غیر جراحی در حیوان خانه، مدل حیوانی ضایعه کالواریا با استفاده از فرز ترفان حفرهای با ابعاد 8 میلی متر، در کالواریای خرگوش ایجاد و سلول ها در محل ضایعه به همراه حامل کلاژنی پیوند شدند.

یافته های پژوهش: سلول های USSC برای مارکرهای CD105, CD73 مثبت و برای مارکرهای CD34 منفی بوده و دارای کاریوتایپ کرومزومی نورمال 44XX بودند. کیفیت استخوان سازی و ارتباط بافت استخوانی تازه و بافت استخوانی اطراف در گروه دریافت کننده USSC در قیاس با کنترل، بهتر برقرار شده بود.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که از نظر هیستومورفومتریک ترمیم ضایعه در گروه نمونه(USSC) بالاتر از 90 درصد بوده و بازسازی کامل پس از 8 هفته انجام گردیده بود.

واژه های کلیدی: استخوان، USSC، سلول بنیادی

* **نویسنده مسئول:** کمیته پژوهشی دانشجویی، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
Email: rezaei.tavirani@ibb.ut.ac.ir

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

مقدمه

تحلیل دندان و متعاقب آن لقی دندان یکی از بزرگترین مشکلات در بیماری های پریودنتال می باشد. در حال حاظر از هر سه نفر، یک نفر مشکل التهاب لثه و تحلیل در استخوان را دارا می باشد. بیماری پریودنتال در انواع مزمن و پشرفته بروز پیدا می کند که بر حسب نوع، کل ناحیه پریودنشیوم یا بخشی از آن را درگیر نماید،(1). در حالی که بیماری های پریودنتال با تخریب گسترده بافت پریودنشیوم(شامل سمنتوم، استخوان آلئول، لثه و لیگامان پریودنتال) همراهند، این بافت توانای محدودی در بازسازی خود دارد، به طوری که تحریک بازسازی مجدد در بافت آسیب دیده نیازمند مداخلات درمانی است،(2). بازسازی ایده آل، شامل بازسازی آناتومیکال و عملکردی بافت از دست رفته است که نیازمند ساخته شدن مجدد سمنتوم، استخوان آلئول و سلول های پریودنشیوم می باشد. علی رغم مطالعات بسیار،(1)، هنوز پیشرفت چشمگیری در درمان این بیماری صورت نگرفته است. یکی از روش های که حال حاظر به منظور بازسازی نواحی تخریب شده پریودنتال مورد استفاده قرار می گیرد، تکنیک های Guided tissue regeneration (GTR) و Guided bone regeneration (GBR) می باشد که با استفاده از پودر استخوان و غشاء انجام می گردد. تمام روش های حاظر برای بازسازی استخوان، نتوانسته آرزوی جراحان برای بهبود کامل استخوان برآورده سازد. به نظر می رسد با توجه به کندی فرایند ترمیم در این بیماری، باید از سلول های با قدرت بازسازی تخصصی بالا در درمان بیماری های پریودنتال بهره جست که توانای تبدیل به سمنتوم، استئوبلاست و فیبروبلاست را داشته باشد و بافت همبند را بین سمنتوم جدید و استخوان جدید ایجاد نماید. علی رغم این که اخیراً استفاده از سلول های مزانشیمی مغز استخوان به عنوان سلول های با توان بالا برای تبدیل به نسوج پریودنشیوم مورد توجه قرار گرفته است،(2)، تاکنونوگزارشی مبنی بر استفاده از سلول های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف(USSC) به منظور بازسازی ناحیه پریودنشیوم منتشر نشده است. در مقایسه با سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان، سلول های USSC بنیادی ترند(توانای تکثیر بیشتر و تمایز به طیف وسیع تری از سلول ها را دارند و با توجه به پایین تر بودن میزان بیان HLA(کمپلکس ناسازگاری بافتی) در آن، از احتمال رد پیوند کمتری برخوردار است. بدین ترتیب، این سلول ها می توانند کاندیدای مناسبی برای ترمیم بافتی ناحیه پریودنشیوم باشد. در تحقیق حاظر از سلول های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف به منظور بررسی قابلیت درمانی در مدل کالواریای خرگوش استفاده شد، در صورتی که سلول های USSC بتواند استئوبلاست و سلول های پریودنشیوم را به وجود آورد و این سلول ها بتوانند با کالواریوم خرگوش اتصال بیولوژیک مناسب برقرار نمایند، می توان گفت القاء بازسازی توسط USSC موفقیت آمیز بوده و تحقیقات بعدی جهت آزمایشات تکمیلی مجاز می گردد.

مواد و روش ها

نمونه خون بندناف در شرایط کاملاً استریل توسط کارشناس مامایی از خانم هایی که از زایمان کاملاً طبیعی دارند گرفته شد و در لوله های فالکون 50 میلی لیتر که حاوی ضد انعقاد هپارین(500 IU) می باشند، جمع آوری و در دمای کمتر از 10°C به آزمایشگاه کشت سلولی منتقل گردید. برای جداسازی سلول های تک هسته ای نمونه خون بندناف از محلول فایکول با دانسیته 1/077 استفاده شد. سپس به مدت 40 دقیقه با دور 400G سانتریفوژ و با پردازش لایه سلول های تک هسته ای، سلول ها به حالت سوپانسیون در آورده و از نمونه خون بندناف جدا شدند. سلول های تک هسته ای جدا شده از نمونه خون بندناف به صورت سوسپانسیون به یک فلاسک 25 cm2 که با فیبرونکتین پوشیده شده است و حاوی محیط DMEM و 20 درصد سرم جنین گاوی (FBS) 10mm دگزامتازون و 1000u/ml پنی سیلین و 0/1 mg استرپتومیسین می باشد منتقل و در انکوباتور CO2 5 درصد و دمای 37°C و رطوبت 98 درصد قرار داده شدند. به منظور پاساژ سلولی، ابتدا بایستی محیط کشت را به طور کامل برداشته و با استفاده از محلول PBS حاوی EDTA آن را شستشو

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

داده، سپس آنزیم تریپسین حاوی EDTA به فلاسک اضافه نموده و به مدت 5 دقیقه در انکوباتور قرار داده شود بعد از آن محیط کشت DMEM حاوی FBS به آن افزوده و بعد از پی پتاژ نمودن، سوسپانسیون سلولی به یک لوله فالکون 15 میلی لیتری انتقال داده شد. سوسپانسیون سلولی به مدت 10 دقیقه در دور 400G سانتریفیوژ و مایع رویی دور ریخته و رسوب حاصل برای کشت مجدد به یک فلاسک 75cm2 منتقل می گردد.

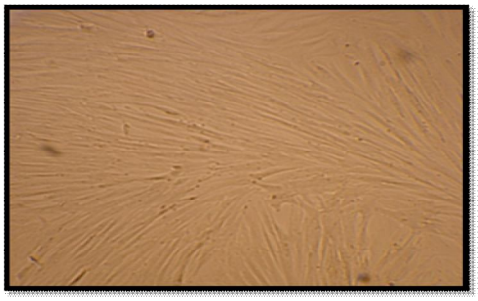
تعیین درصد زنده بودن سلول ها (Viability test) با استفاده از 50 میکرولیتر رنگ تریپان بلو(0/4 درصد) و لام نئوبار انجام گردید.

جهت آنالیز فلوسیتومتری مارکرهای سطحی، ابتدا سلول های USSC را تریپسینه کرده و مورد شمارش قرار داده در هر لوله تعداد 106 سلول قرار داده و به مدت 1 ساعت درون آنکوباتور و روی شیکر قرار داده و سپس سلول ها در دور 300g به مدت 6 دقیقه سانتریفیوژ کرده و به رسوب سلولی حاصله، سرم انسانی 2 درصد اضافه نموده و مخلوط حاصل را 30 دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس در دور 300g و به مدت 6 دقیقه دوباره سلول ها را سانتریفیوژ نموده و به رسوب سلولی حاصل PBS اضافه گردید، مخلوط سلولی را از فیلتر (Nylon mesh) عبور داده، به هر لوله مقدار 100 میکرولیتر از آن اضافه شود. سلول ها را در 100 µL از PBS به همراه آنتی بادی های Anti- Anti-CD105 CD73, anti CD34, و به مدت 45 دقیقه در 4°C به دور از نور نگهداری، و پس از شستشو، سلول ها را در 100 µL محلول 1 درصد پارافرم آلدیئد قرار داده، سپس آنالیز فلوسایتومتری، روی آن انجام گردید. به منظور بررسی نظم کروموزومی سلول های USSC مورد آنالیز کاریوتایپ قرار گرفتند.

به منظور انجام مدل حیوانی، 10 عدد خرگوش سفید نیوزلندی با وزن تقریبی 2/5 کیلوگرم انتخاب شده و بر اساس پروتکل موجود و مقید به اصول اخلاقی مطالعات حیوانی خرگوش ها موصوب کمیته اخلاق، به مدت 1 ماه در قفس های مخصوص، تحت رژیم غذای یکسان و استاندارد نگهداری شدند. پس از آماده سازی غیر جراحی در حیوان خانه، خرگوش ها به صورت تزریق عمیق عضلانی زایلون و کتامین بی هوش شدند. با استفاده از موتور آنجل و فرز ترفان 8، حفرهای با ابعاد فرز، در کالواریای خرگوش ایجاد گردیدند. به منظور استاندارد کردن محل حفرات، از لند مارکر استفاده شد. پس از گذشت 8 هفته ناحیه پیوند با ترفان برداشت و درون فرمالدئید 10 درصد قرار داده شده و رنگ آمیزی H&E شدند.

یافته های پژوهش

سلول های تک هسته ای جدا شده از نمونه خون بندناف به صورت سوسپانسیون به یک فلاسک 25 cm2 که با فیبرونکتین پوشیده شده است و حاوی محیط DMEM و 10 درصد سرم جنین گاوی، دگزامتازون، پنی سیلین، استرپتومیسین می باشد منتقل و در انکوباتور 5 CO2 درصد و دمای 37°C و رطوبت 98 درصد قرار داده شدند. بعد از گذشت 3 روز محیط رویی را دور ریخته و محیط تازه اضافه شد. سلول های بنیادی USSC به کف فلاسک چسبیده و پس از تکثیر، خالص و جداسازی شدند.(تصویر شماره 1)

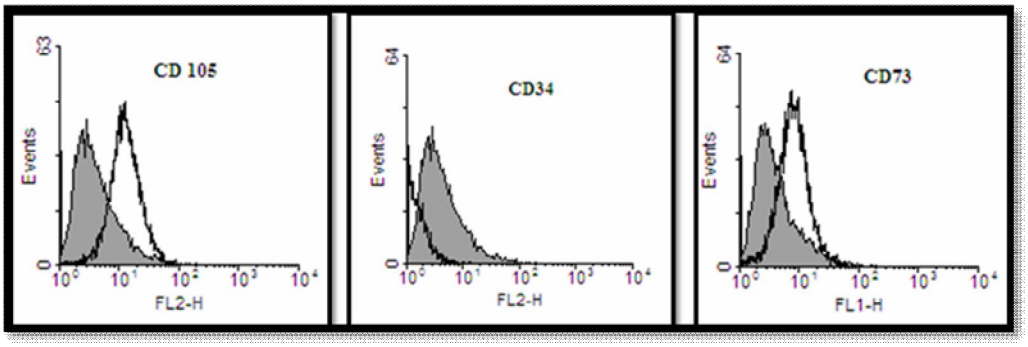


تصویر شماره 1. سلول های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف(USSC) با مورفولوژی تیپیک دوکی شکل را نشان می دهد.(بزرگ نمایی 20 میکروسکوپ اینورت)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

آنالیز فلوسایتومتری برای سلول های بنیادی USSC:

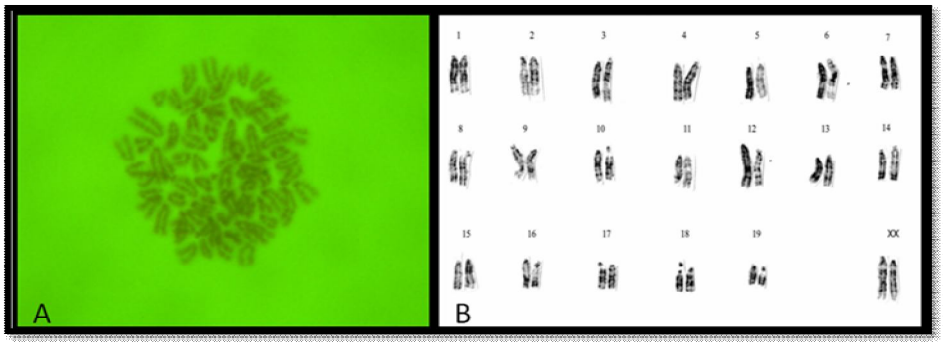
سلول های USSC برای مارکرهای CD73, CD105, مثبت و برای مارکر CD34 منفی بودند. این داده بیانگر بنیادی بودن سلول های جداسازی شده می باشد. نتایج این آنالیز در تصویر زیر مشخص می باشد.(تصویر شماره 2)



تصویر شماره 2. آنالیز فلوسیتومتری را برای سلول های بنیادی مزانشیمی(USSC) نشان می دهد، مارکر سطحی CD105: 87.56% و CD73:88.63% بیان مثبت داشتند و CD34:12.32% دارای بیان منفی بود.

آنالیز کاریوتایپ برای سلول های USSC:

سلول های USSC را قبل از شروع آزمایشات در پاساژ 2 مورد آنالیز کاریوتایپ قرار داده و مشخص گردید که دارای کاریوتایپ کرومزومی نورمال 44XX می باشد. پس از گذشت 48 پاساژ دیگر، این سلول ها دوباره مورد آنالیز کاریوتایپ قرار گرفتند. مشخص گردید که دارای کاریوتایپ کرومزومی نورمال 44XX هستند. تصویر زیر نمایی از کروموزوم ها را نشان می دهد.(تصویر شماره 3)



تصویر شماره 3. در بخش(A) نمایی از کروموزوم ها را نشان می دهد که هنوز مرتب نشده اند(بزرگ نمایی 100) و در بخش (B) کروموزوم های مرتب شده را ملاحظه می نمایید که دارای آرایش طبیعیXX 44 می باشند.

پیوند سلول های USSC در ضایعه استخوانی کالواریای خرگوش:

در ناحیه کالواریای هر خرگوش دو حفره ایجاد گردید و در شرایط یکسان در حفره سمت راست تعداد 10^6 سلول USSC را در حجم 10 ماکرولیتر سوسپانسیون نموده و به همراه حامل ژلاتینی در حفره ایجاد شده در استخوان کالواریای خرگوش قرار داده شد. قطر حفره ایجاد شده 8 میلی متر بود. در این تحقیق از ده خرگوش سفید نیوزلندی در دو گروه پنج تایی استفاده شد که در گروه 1: هر کالواریای خرگوش دو حفره داشت، یکی سلول USSC به همراه حامل کلاژنی را دریافت می کرد و حفره

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

دیگر کنترل بود و در گروه 2: یک حفره را حامل کلاژنی پر کرده و حفره دیگر، کنترل بود.(تصویر شماره 4) پس از گذشت 8 هفته ناحیه پیوند شده، ابتدا مورد آنالیز هیستومورفومتریک قرار داده شد که در آن عرض ناحیه ترمیم شده مورد اندازه گیری قرار گرفته (P>0.05) میزان ترمیم در آنالیز هیستومورفومتریک مشخص شد.(جداول شماره 1و 2) ترمیم کمتر از 25 درصد را ترمیم ناقص، ترمیم بین 25 درصد تا 75 درصد را ترمیم نسبی و ترمیم بالاتر از 75 درصد را ترمیم کامل در نظر گرفتیم. نتایج نشان داد که از نظر هیستومورفومتریک ترمیم ضایعه در گروه نمونه بالاتر از 75 درصد بوده و بررسی بازسازی پس از 8 هفته انجام گردیده بود. برای این منظور از اور دوز سدیم پنتوباربیتال(65mg/Kg) استفاده و حیوانات کشته شدند. جهت انجام آزمایشات پاتولوژیک ناحیه پیوند شده با یک فرز جراحی متصل به هند پیس الکتریکی کم سرعت از جمجمه برداشت گردید و در فرم الدهید 10 درصد به بخش پاتولوژی منتقل و پس از دکسیفیه شدن در محلول سدیم سیترات و اسید فومیک 10 درصد به مدت 50 روز از آن ها بلوک بافتی تهیه و مورد برش های تقریباً نازک 5 میکرونی قرار گرفتند، نهایتاً لام ها رنگ آمیزی H&E شدند. نتایج هیستومورفیک تفاوت قابل ملاحضه ای را در گروه نمونه شامل USSC/Collagen و حامل ژلاتنی نشان نداد ولی آنالیز هیستوپاتولوژیک نشان داد که میزان استخوان سازی در حفره حاوی USSC/Collagen در مقایسه با حفره حامل ژلاتنی و کنترل بیشتر بوده و کیفیت استخوان سازی و ارتباط بافت استخوانی تازه و بافت استخوانی اطراف بهتر برقرار شده بود. التهاب بافتی نیز در هیچ یک از گروه های مورد بررسی دیده نشد.

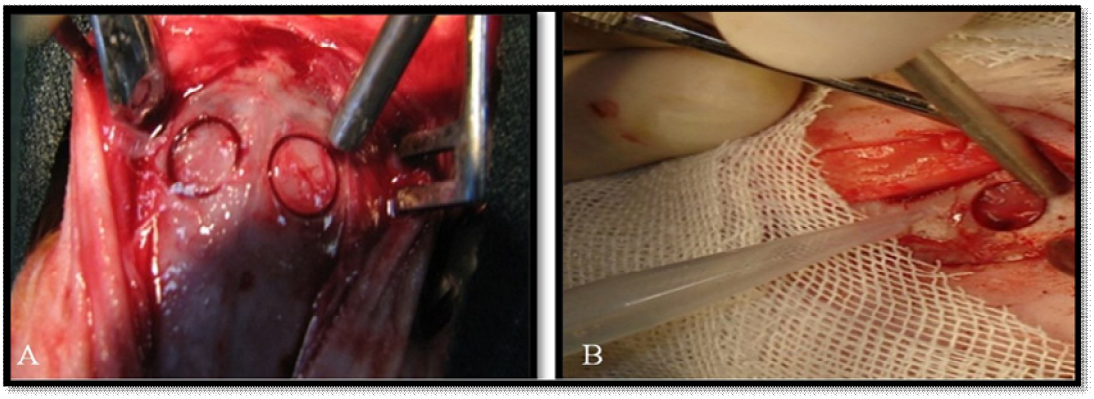
جدول شماره 1. میزان بازسازی ضایعه در گروه های مورد بررسی

آنالیز کیفی میزان بازسازی ضایعه استخوانی در کالواریا	
گروه های مورد بررسی	ضایعه باقی مانده mm^2
گروه 1: USSC/Collagen	1/2±0/4
گروه 2: Collagen	3/4±0/7
حفره خالی	6/3±0/9

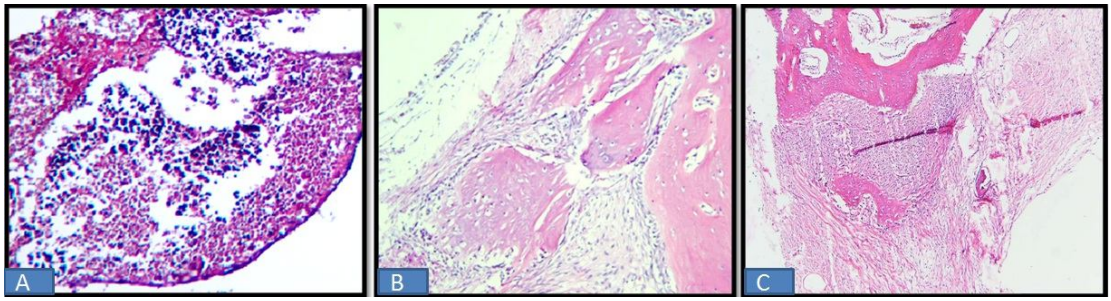
جدول شماره 2. میزان P را در نمونه های مورد آزمایش نشان می دهد

P			
گروه های مورد بررسی	USSC/Collagen	Collagen	حفره خالی
گروه1: USSC/Collagen	0/03	0/05	0/03
گروه2: Collagen	0/001	0/03	0/8
حفره خالی	0/03	0/04	0/02

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]



تصویر شماره 4. در بخش A نشان می دهد که نقایص در دو طرف سوچور ساژیتال میانی بدون رد کردن خط وسط با استفاده از هند پیس الکتریکی با سرعت 1000 دور در دقیقه و فرز ترفان و شستشو دادن فراوان با سالین فیزیولوژیک 0/9 درصد ایجاد شد. در بخش B تصویر به طور شماتیک نحوه قرار دادن سوسپانت سلولیUSSC بهمراه حامل ژلاتینی را نشان می دهد که با سمپلر در محل ضایعه قرار گرفته است.



تصویر شماره 5. در بخش A، شمایی از حفره کنترل که باز سازی در آن با سرعت پایین در حال انجام می باشد به طوری که مختصات حفره هم چنان قابل مشاهده بوده و ترمیم را می توان در مقایسه با گروه های دیگرضعیف ارزیابی نمود. در بخش B، مختصات بازسازی توسط حامل ژلاتینی فرآوری شده را نشان می دهد، استخوان سازی و تشکیل بافت همبند مابین استخوان جدید و قدیمی مشخص می باشد. بافت های کلاژنی نیز قابل تشخیص می باشند که از کیفیت پیوند می کاهد. بخش C، شمایی از سلول های USSC/Collagen که در حفره استخوانی پیوند شده بودند. استخوان سازی و تشکیل بافت همبند مابین استخوان جدید و قدیمی مشخص می باشد. بازسازی با کیفیت مطلوب انجام پذیرفته است. در مقایسه با گروه حامل کلاژنی و نمونه کنترل، استخوان سازی از کیفیت بالاتری برخوردار است.(بزرگ نمایی 100)

بحث و نتیجه گیری

پیدا نمودن منبع مناسبی از سلول های بنیادی که امکان استفاده از آن در کلینیک وجود داشته باشد، چالش بزرگی به شمار می آید. سلول های بنیادی بالغ مشتق از مغز استخوان، پالپ دندان، سلول های بنیادی جنینی و... هر چند که پتانسیل رژنراتیو بالایی دارند، اما دارای مشکلاتی نیز هستند که: عدم دسترسی آسان در کلینیک، تهاجمی بودن جداسازی این سلول ها که در مغز استخوان همراه با بی هوشی و بسیار دردناک بوده و نیز محدودیت های اخلاقی از جمله این مشکلات می باشد. آن چه که در حال حاضر ضروری به نظر می رسد، لزوم دستیابی به منبعی از سلول های بنیادی است که بر این نقایص فائق گردیده و نیز خطر آنرمالی های کاریوتیپیک در طول کشت را نداشته و با توجه به اهمیت خون رسانی در بافت ها، امکان رگزایی را داشته باشد. سلول های بنیادی مزانشیمی خون بندناف(USSC) نشان داده اند که توانایی رگزایی دارند،(۶،۷،۲۳). هم چنین، تحقیق برروی توانایی تمایز این سلول ها نشان داده است که این سلول ها، قادر به

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

تمایز به سلول های هر سه لایه اندودرم(هپاتوسیت)، مزودرم(استئوسیت، آدیپوسیت، کاردیومیوسیت) و اکتودرم(نورون) هستند و بنا بر این جایگزین مناسبی برای سلول درمانی به شمار می آیند،(۶،۷). هم چنین تحقیقات نشان داده است که این سلول ها پس از 50 پاساژ متوالی هنوز هم کاریو تیپ نرمالی دارند، سرعت تکثیر این سلول ها از سلول های بنیادی مغز استخوان و پالپ دندان بالاتر می باشد و بزرگترین مزیت این سلول ها نسبت به سلول های بنیادی دیگر دستیابی آسان به این سلول ها می باشد،(23). در روش های جراحی متعددی، برای بازسازی استخوان شکسته و لیگمانت های پاره شده، به پیچ های فلزی نخ بخیه و صفحات فلزی نیاز است. در بعضی موارد اثرات دراز مدت این قطعات فلزی برای بدن می تواند زیان بار باشد و برای خارج کردن قطعه نیاز به جراحی دوم می باشد از جمله عوارض قابل ذکر، درد،(۲۴،۲۵)، ساییدگی،(26)، تجمع فلزات دربافت،(۲۷،۲۸)، ازدیاد حساسیت به تیتانیوم،(۲۹،۳۰)، تداخل با رادیوتراپی و عکسبرداری،(۳۱،۳۲،۳۳) (stress shielding)، محدودیت رشد در بچه ها،(۳۴،۳۵)، و عفونت و حرکت قطعه،(36)، و ایجاد فشار ناگهانی در ناحیه هنگام برداشتن قطعه(ایمپلنت) می باشد. برای کاهش این اثرات جانبی ساخت ایمپلنت های زیست تخریب پذیر که در طول زمان تخریب می شوند مورد توجه قرار گرفته اند. این ایمپلنت ها می توانند شامل پیچ، بست و صفحات باشند که به آهستگی در بدن حل می شوند و نیازی به خارج کردن آن ها نیست،(37). در گزارش های متعدد تسریع التیام به وسیله سلول های بنیادی بالغ مغز استخوان گزارش شده است. با استفاده از تکنیک های مختلف مهندسی بافت سعی می گردد تا با به کار بردن انواع داربست ها و ایمپلنت های مختلف به همراه سلول های بنیادی بتوان شکستگی های وسیع را هر چه زودتر التیام داد،(23). در تحقیق حاضر از سلول های بنیادی مزانشیمی خون بندناف به عنوان منبع جدید از سلول های بنیادی استفاده شد. اکثر آسیب های استخوانی ایجاد شده در بدن به طور خود به خودی و با حداقل درمان بهبود می یابند، با این حال در برخی موارد به دلایل متعدد از قبیل جوش خوردن نا به جای استخوان در اثر تومور و عفونت درمحل ضایعه التیام خود به خودی انجام نمی شود و مداوای بیشتر ضرورت پیدا می کند. در چنین مواردی ارتوپدها از روش های مختلف از قبیل پیوند استخوان و یا ایمپلنت های فلزی جهت ترمیم کامل استخوان بهره می گیرند. عمل برداشتن استخوان از فرد بسیار دردناک بوده و پس از برداشتن ضایعه ای در محل ایجاد می شود که این آسیب نیز نیاز به ترمیم دارد، به علاوه روش های برداشتن استخوان از فرد بیمار با خطر آلودگی همراه است. از عوارض بسیار مهم ایمپلنت های فلزی رها شدن یون های مضر و تجمع آن ها در اعضای مختلف بدن و در نتیجه افزایش احتمال سرطان است،(۳۶،۳۷). توانایی سلول های بنیادی مزانشیمی در تمایز به رده سلول های استخوانی نویدبخش این است که، در آینده نزدیک بتوان از این سلول ها در سلول درمانی ضایعات وسیع استخوانی استفاده کرد. برخی از محققان معتقدند که در ضایعات استخوانی چنانچه از استراتژی سلول درمانی استفاده می شود بهتر است سلول های مورد استفاده کاملا تمایز یافته باشند و اگر غیر از این باشد ممکن است در محل پیوند سلول های ناخواسته غیر استخوانی به وجود آید و در نتیجه کارآیی پیوند را کاهش دهد. با در نظر گرفتن این مطلب اهمیت مطالعات مربوط به تمایز به سلول های استخوانی سلول های بنیادی مزانشیمی از بافت های مختلف از جمله خون بندناف در محیط آزمایشگاهی آشکار می گردد. در تحقیق حاضر کلاژن فرآوری شده می تواند به عنوان یک حامل زیست تخریب پذیر و سازگار با سلول های بنیادی آندومتریال در درمان شکستگی های استخوانی استفاده شود. با ارزیابی های انجام شده در تحقیق حاظر، و تایید به دست آمده از مدل ضایعه کالواریا، آزمایشات بعدی برای مدل هایی با ضایعات وسیع تر و مدل های حیوانی بزرگ تر جهت ارزیابی های تکمیلی، مجاز می باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله نهایت تشکر و قدر دانی خود

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

از شـــــوراء پـــژوهـــشـــی مـــرکـــز تحـــقیـــقات پروتئومیـــکس بیان داشته و لازم به ذکر است، مقاله حاضر بخـــشی از پایان نامه مقطع دکتری سعید حیدری کشل می باشد.

References

1-Artold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthily and diseased periodontal tissue. Periodontalogy 2006;40: 29-49.

2-Bartod PM, Songato SH. Stem cell and periodontal regeneration. Periodontalogy 2006:40:164-72.

3-Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem and progenitorcells. Proc Natl Acad Sci USA 1989;86:3828-32.

4-Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD. Hematopoietic reconstitution in a recipient with Fanconi anemia by means of umbilical cord bloodfrom HLA identical sibling. N Engl J Med 1989;321:1174-89.

5-Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chammard A. Outcome of cord-blood transplantation from relatedand unrelated donors. N Engl J Med 1997;337:373-81.

6-Kogler G, Sensken S, Airey JA, Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chammard A. A new human somatic stemCell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential, J Exp Med 2004; 200:123-35.

7-Gesine K, Teja FR, Aure´lie L, Sandra S, Johannes F, Ru¨diger V, et al. Cytokine production and hematopoiesis supporting activity of cord blood–derived unrestricted somatic stem cells. Exper Hematol 2005; 33:573-83.

8-Erices A, Conget P, Minguell J. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. Br J Haematol 2000;109: 235-42.

9-Mareschi K, Biasin E, Piacibello W, Aglietta M, Madon E, Fagioli F. Isolation of human 109esenchymal stem cells: bone marrow versus umbilical cord blood. Haematologica 2001;86:1099-1100.

10-Goodwin H, Bicknese A, Chien S. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers. Biol Blood Marrow Transplant 2001;7:581-8.

11-Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC. Multilineage potential of adult human 109 esenchymal stem cells. Science 1999;284: 143-7.

12-Schwartz RE, Reyes M, Koodie L. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional heaptocyte-like cells. J Clin Invest 002;109: 1291-302.

13-Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differenttiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:10711-6.

14-Gao J, Dennis JE, Muzic RF, Lundberg M, Caplan AI. The dynamic in vivo distribution of bone marrow- derived 109 esenchymal stem cells after infusion. Cells Tissues Organs 2001;169:12-20.

15-Airey JA, Almeida-Porada G, Colletti EJ, Porada CD, Chamberlain J, Movsesian M, et al. Human 109esenchymal stem cells from purkinje fibers in fetal heart. Circulation 2004;109:1401-7.

16-Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human 109esenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. Stem Cells 2003;21:105-10.

17-Goodwin HS, Bicknese AR, Chien SN, Bogucki BD, Quinn CO, Wall DA. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers. Biol Blood Marrow Transplant 2001;22:123-9.

18-Grillner S. The motor infrastructure: from ionchannels to neuronal networks. Nat Rev Neurosci 2003;4:573-86.

19-De Bari C, Dell'Accio F, Tylzanowski P, Luyten FP. Multipotent 109esenchymal stem cells from adulthuman synovial membrane. Arthritis Rheum 2001;44:1928-42.

20-Sottile V, Halleux C, Bassilana F, Keller H, Seuwen K. Stem cell characteristics of human trabecular bone-derived cells. Bone 2002;30:699-704.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

21-Zuk PA, Zhu M, Ashjian P. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell 2002;13:4279-95.
22-Sanchez-Ramos JR, Song S, Kamath SG. Expression of neural markers in human umbilical Cord blood. Exp Neurol 2001; 171:109-15.
23-Keshel SH, Soleimani M, Tavirani MR, Ebrahimi M, Raeisossadati R, Yasaei H, et al. Evaluation of unrestricted somatic stem cells as a feeder layer to support undifferentiated embryonic stem cells. Molecul Reproduc Develop 2012;79:709-18.
24-Schmidt BL, Perrott DH, Mahan D, Kearns G. The removal of plates and screws after Le Fort I osteotomy. Exp Neurol 1998;181:109-13.
25-Agins HJ, Alcock NW, Bansal M, Salvati EA, Wilson PD Jr, Pellicci PM, et al. Metallic wear in failed titanium-alloy total hip replacements. A histological and quantitative analysis. Exp Neurol 1988;191: 112-8.
26-Jorgenson DS, Mayer MH, Ellenbogen RG, Centeno JA, Johnson FB, Mullick FG, et al. Detection of titanium in human tissues after craniofacial surgery. Bone 1997;30: 799-804.
27-Katou F, Andoh N, Motegi K, Nagura H.Immuno-inflammatory responses in the tissue adjacent to titanium miniplates used in the treatment of mandibular fractures. Bone 2000;40:122-9.
28-Rosenberg A, Grätz KW, Sailer HF. Should titanium miniplates be removed after bone healing is complete? Bone 1993; 30:599-604.
29-Kim YK, Yeo HH, Lim SC.Tissue response to titanium plates: a transmitted electron microscopic study. Periodontology 2001;33:87-91.
30-Schliephake H, Reiss G, Urban R, Neukam FW, Guckel S. Metal release from titanium fixtures during placement in the mandible: an experimental study. Periodontology 1998;25:93-9.
31-Katou IF, Andoh N, Motegi K, Nagura H. Immuno-inflammatory responses in the tissue adjacent to titanium miniplates used in the treatment of mandibular fractures. Immunology 2004;45:21-9.
32- Hunt JA, Williams DF, Ungersböck A, Perrin S. The effect of titanium debris on soft tissue response. Periodontology 2008; 35:63-8.
33-Lalor PA, Revell PA, Gray AB, Wright S, Railton GT, Freeman MA. Source Sensitivity to titanium. A cause of implant failure? Periodontology 2009;47:73-8.
34-Manuel H. Castillo MD, Terry M, Button MS, Ralph Doerr MD, Maritza I, et al. Pearce MSc. Effects of radiotherapy on mandibular reconstruction plates. Bone 2007;43:66-70.
35-Sullivan PK, Smith JF, Rozzelle AA . Cranio-orbital reconstruction: safety and image quality of metallic implants on CT and MRI scanning. Periodontology 2009; 55:73-8.
36-Brodke DS, Gollogly S, Alexander MR, Nguyen BK, Dailey AT, Bachus aK. Dynamic cervical plates: biomechanical evaluation of load sharing and stiffness. Cells Tissues Organs 206;269:12-9.
37-Yaremchuk MJ. Experimental studies addressing rigid fixation in craniofacial surgery. Cells Tissues Organs 1998;82:94-8.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]

Potential Capacity of Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells in the Regeneration of Bone Defects in Rabbits

heidari keshel S[1,2,3], Rezaei Tavirani M[1], Ebrahimi M[1], Behrozi Gh.R[1], Ronaghi A[1], Dost mohamad J[1], Roozafzoon R[3], Moaieri A[4], Mohammadpor Sh[4]*

(Received: 10 Agu.2012 Accepted: 10 Jan. 2013)

Abstract

Introduction: Periodontal disease in its advanced chronic forms, can involve all or parts of periodontium. While periodontal diseases are accompanied with extensive destruction of periodontal tissues (includeing cementum, alveolar bone, gingival and periodontal ligament), the tissue has a limited ability to regenerate itself. Due to the limited regenerating capacity of the tissue, application of cells with high potency of regeneration may be for the treatment of periodontal disease.

Materials & Methods: Cord blood was collected from the umbilical cord vein of 30 mothers who gave informed consent. The isolated mononuclear cell layer was washed in PBS, and then re-suspended in growth medium. The cells were analyzed with flowcytometry for superficial markers. Critical-sized (8 mm) calvarial defects were created in the parietal bone of adult rabbit. Defects were either left empty, treated with a collagen alone, or a collagen with human cord blood-derived mesenchymal stem cells (USSCs). Histology and histomorphometry were performed.

Finding: USSCs were positive for the markers CD73 and CD105, negative for the marker CD34 and had the normal karyotype 44XX. Quality of the regenerated bone and its connection to surrounding bone tissue were significantly improved in the treated rabbits.

Discussion & Conclusions: Results of the study demonstrated that from the viewpoint of histomorphometric, the rate of lesion regeneration was about 90% higher in the treatment group and the complete reconstruction was accomplished after 8 weeks.

Keywords: bone, USSCs, stem cell

1. Student Research Committee, Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical sciences, Tehran Iran
2. Stem Cell preparation Unit, Eye Research Center, Farabi Eye Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran Iran
3. Dept of Tissue Engineering, Faculty of Advanced Medical Technologies, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Dept of Anatomy, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
**(corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-17]