مقاله پژوهشی

مقایسه‌ی تأثیر سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان و سلول‌های مزانشیمی تحریک‌شده با لیپوپلی ساکارید (LPS) در التیام زخم ناشی از سوختگی پوستی درجه سه در موش

لیلا سلیمانی [*۱]، صمد زارع [۲]، رحیم حب‌نقی [۳]، نوروز دلیرژ [٤]، کیاوش هوشمندی [٥]

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۷/۱۹ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰۹/۱۹

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سوختگی اثر جبران‌ناپذیری در افراد آسیب‌دیده ایجاد می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد سلول‌های مزانشیمی مغزاستخوان از طریق تولید فاکتورهای رشد و تمایز به سلول‌های رده مزودرمال می‌توانند در درمان آسیب‌های بافتی مورد استفاده قرار گیرند. همچنین تحریک سلول‌های مزانشیمی با لیپوپلی ساکارید قابلیت درمانی سلول‌ها را درترمیم آسیب‌های بافتی افزایش داده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر تزریق زیرجلدی سلول‌های مزانشیمی تحریک‌شده با لیپوپلی ساکارید در التیام جراحات سوختگی پوستی درجه سه در موش سوری و مقایسه‌ی آن با سلول‌های مزانشیمی تحریک نشده می‌باشد.

مواد و روش کار: تعداد ۲۷ سر موش سوری نر تحت القاء سوختگی درجه ۳ قرار گرفتند. متعاقب تقسیم‌بندی موش‌ها در سه گروه کنترل، مزانشیم وال پی اس، یک ساعت پس از اعمال سوختگی موش‌ها به ترتیب تحت تزریق زیرجلدی در ناحیه سوختگی با بافر فسفات سالین، سلول‌های مزانشیمی و سلول‌های مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید (۱ میلیون سلول در حداکثر حجم ۴۰۰ µl بافر فسفات سالین) قرار گرفتند. جهت بررسی سرعت روندترمیم آسیب در طی پروسه‌ی درمانی ۲۱ روزه، مقاطع بافتی در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از القاء سوختگی تهیه گردید و رنگ‌آمیزی‌های بافتی هماتوکسیلین ائوزین و ماسون تری کروم انجام پذیرفت.

یافته‌ها: اندازه‌گیری ضخامت بافت جوانه‌ای، رگ‌زایی، تکثیر فیبروبلاستی و رسوب کلاژن نتایج مثبت معنی‌داری در دو گروه مزانشیم و آل پی اس نسبت به گروه کنترل نشان دادند ($P<0.05$). همچنین گروه آل پی اس به لحاظ رسوب کلاژن و سرعت روند بهبود نسبت به گروه مزانشیم برتری داشت.

بحث و نتیجه‌گیری: تحریک سلول‌های مزانشیمی با لیپوپلی ساکارید پتانسیل ترمیمی سلول‌ها را در برخی فاکتورهای درمان آسیب سوختگی افزایش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: سوختگی، التیام، سلول مزانشیمی تحریک شده، لیپوپلی ساکارید

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره یازدهم، ص ۱۰۲۴-۱۰۱۲، بهمن ۱۳۹۵

آدرس مکاتبه: شهرکرد، دانشگاه آزاد شهرکرد، دانشکده علوم تلفن ۰۳۸-۳۳۳۶۱۰۴۶

Email: lsoleimany@yahoo.com

مقدمه

سوختگی یکی از شایع‌ترین آسیب‌هایی است که زندگی فردی و اجتماعی افراد را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳-۱). یکی از عوارض مشاهده شده در سوختگی‌های عمیق، طولانی شدن پروسه‌ی درمان آسیب به‌واسطه‌ی تولید ناقص سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های التهابی و فیبروبلاست ها و نیز کاهش روند آنژیوژنز در محل آسیب می‌باشد (۴، ۵). در حال حاضر، جهت تسریع روند بهبود سوختگی‌های شدید علاوه بر روش‌های معمول مانند پاک‌سازی بستر آسیب به روش‌های گوناگون، بانداژ مناسب و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توان به روش‌هایی ازجمله اتوگرافت (پیوند خودی پوست از ناحیه سالم به ناحیه‌ی آسیب‌دیده) و استفاده از پوست اتولوگ (کاشت قطعه‌ای از اپیدرم در شرایط آزمایشگاهی و ایجاد سطح وسیع و قابل پیوند به نقطه‌ی آسیب‌دیده) اشاره نمود (۸-۶). لازم به ذکر است کمبود ناحیه‌ی اهداکننده و ایجاد بافت اسکار محدودیت‌های استفاده از این

[۱] کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[۲] استاد بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[۳] دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[٤] دانشیار ایمنی شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران

[٥] دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

روش‌ها می‌باشد. بنابراین همچنان به یک شیوه‌ی درمانی جدید و کاربردی در تسریع روند بهبود آسیب‌های شدید سوختگی نیازمندیم. به‌تازگی روش‌های نوین مبنی بر سلول‌های بنیادی درترمیم آسیب‌های شدید بافتی گزارش شده است (۹-۱۲). سلول‌های بنیادی مزانشیمی سلول‌های چندتوانه ی به نسبت هتروژنی می‌باشند که قابلیت پیوند اتولوگ و آلوگرافت را بدون هیچ پاسخ ایمنی در بافت میزبان دارا می‌باشند (۱۳، ۱۴). این سلول‌ها علاوه بر قابلیت تمایز به سلول‌های مزانشیمال (غضروف، استخوان، فیبروبلاستو میوبلاست) و غیر مزانشیمال (سلول‌های عصبی و کبدی)، به‌واسطه‌ی ترشح فاکتورهای رشد و سایتوکاین ها در محل آسیب، روند بهبود آسیب را تسریع می‌نمایند (۱۵-۲۴). استفاده از این سلول‌ها با متودهای مختلف ازجمله تزریق موضعی در نقطه آسیب‌دیده، تزریق سیستمیک و استفاده از سلول‌های بنیادی به همراه اسکافولد (داربست‌های سه‌بعدی که به‌منظور جایگاهی برای رشد سلول‌های جایگزین به‌جای سلول‌هایی که عملکرد آن‌ها دچار اختلال شده است بکار می‌رود) در مطالعات متعددترمیم آسیب‌های بافتی گزارش شده است (۲۵-۲۸). همچنین سلول‌های مزانشیمی قابلیت درمانی خود را در درمان جراحت سوختگی مدل‌های حیوانی (موش و خوک) و انسانی نشان داده‌اند (۲۸-۳۷). لازم به ذکر است تعداد زیاد سلول‌های موردنیاز در مطالعات درمانی مبنی بر سلول‌های بنیادی، یکی از محدودیت‌های استفاده از این روش درمانی می‌باشد. در برخی مطالعات مشخص شده است که استفاده‌ی هم‌زمان از فاکتورهایی نظیر فاکتور رشد هپاتوسایتی و فاکتور رشد فیبروبلاستی همراه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی قابلیت ترمیم آسیب را افزایش می‌دهد (۳۸). با توجه به حساسیت بالا و هزینه‌بر بودن پروسه‌ی کشت سلول، رهیافتی جهت افزایش قدرت ترشح فاکتورهای ترمیمی توسط این سلول‌ها در ناحیه‌ی آسیب‌دیده می‌تواند راهکاری اساسی برای کسب نتایج مطلوب اما توسط تعداد کم‌تر از سلول‌های مزانشیمی در پروسه‌ی ترمیم آسیب‌های بافتی ایجاد کند. بر روی سطح سلول‌های مزانشیمی رسپتورهایی تحت عنوان TLR[1] وجود دارد که آگونیست های اختصاصی این رسپتورها، سلول‌های مزانشیمی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. اثر لیپوپلی ساکارید یا[2](LPS) به‌عنوان آگونیست اختصاصی TLR4 در کسب یک فنوتیپ پیش التهابی در سلول‌های مزانشیمی مشخص شده است (۴۱-۳۹). همچنین افزایش پتانسیل درمانی سلول‌های مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید به‌واسطه‌ی افزایش رسوب کلاژن در ماتریکس خارج سلولی بررسی شده است (۴۲، ۴۳). نقش مثبت لیپوپلی ساکارید به‌منظور تحریک سلول‌های بنیادی پوست در تحریک روند نئوآنژیوژنز به‌عنوان یک فاکتور مؤثر در پیشبرد بهبود روند آسیب نیز گزارش شده است (۴۴). بااین‌وجود تاکنون گزارش کاملی از اثر لیپوپلی ساکارید بر سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان و تغییر پتانسیل درمانی این سلول‌ها درترمیم آسیب سوختگی ارائه نشده است. لذا این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر سلول‌های مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید برترمیم آسیب سوختگی درجه ۳ و مقایسه آن با گروه‌های درمان با سلول‌های مزانشیمی تحریک نشده و کنترل در پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه صورت پذیرفت.

مواد و روش کار

سلول‌های مغز استخوان‌های تیبیا[3] (درشت نی) وفمور[4] (استخوان ران) موش‌های ۸-۶ هفته C57B1/6 نر که ازنظر فیزیولوژیک در شرایط تقریباً یکسان قرار داشتند، به روش فلاشینگ، مطابق روش محمدی و همکاران[5] جداسازی شده و متعاقب دو بار شستشو با سانتریفیوژ (۱۵۰۰ rpm برای مدت ۵ دقیقه) در PBS[6] به تعداد ۱×۱۰^{۶} سلول به فلاسک‌های کشت T25 حاوی محیط کشت DMEM-LG (Gibco- انگلستان) و ۱۰ درصد FBS[7] (Gibco- انگلستان) منتقل گردیدند. پس از ۱۲ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه و غلظت ۵ درصد گاز CO2، مایع رویی کشت سلول تعویض شده و با حذف سلول‌های غیر چسبنده، کشت سلول‌های چسبنده ادامه یافت. در ادامه تعویض محیط کشت هر سه روز یک‌بار انجام گرفته و در مرحله بارآمدگی بالای ۷۰درصد کشت سلولی، سلول‌های چسبنده با استفاده از محلول تریپسین ۲۵،۰ درصد (Sigma-Aldrich - آمریکا) جداسازی و جهت پاساژ بعدی به فلاسک های T25 منتقل گردیدند (۴۵). با توجه به پروسه‌ی حساس کشت سلول‌های مزانشیمال و نیاز به تعداد زیاد از این سلول‌ها جهت دستیابی به نتیجه‌ی مطلوب درمانی، کشت این سلول‌ها همواره یکی از دغدغه‌های مطالعه‌ی حاضر و سایر مطالعات مبنی بر سلول‌های بنیادی بوده است. به‌منظور بررسی تغییر پتانسیل درمانی این سلول‌ها توسط لیپوپلی ساکارید، در مرحله نهایی ۱۰ngr از لیپوپلی ساکارید (Sigma-Aldrich,USA) در محلول FBS-DMEM 10%، رقیق‌شده و میزان µ۳۰۱ از محلول رقیق‌شده به فلاسک کشت سلول اضافه گردید. فلاسک سلولی به مدت یک ساعت با لیپوپلی ساکارید مجاور سازی شده و پس از یک

[1] Toll Like receptor
[2] Lipopolysaccharide
[3] Tibia
[4] Femur
[5] Mohammadi etal
[6] Phosphate buffered saline
[7] Fetal Bovine Serum

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

ساعت مایع رویی فلاسک دور ریخته شده و مجدداً به مدت دوازده ساعت انکوبه شدند (۴۵).

حیوانات مورد آزمایش:

تعداد ۲۷ سر موش سوری نر سالم ۸-۷ هفته با میانگین وزنی ۳۰-۲۵ گرم به مدت یک هفته جهت گذراندن پروسه استرس زدایی و تطبیق با محیط جدید در خانه حیوانات پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه نگهداری شدند. متعاقباً موش‌ها با احتساب شرایط فیزیکی یکسان (وزن، اندازه و وضعیت ظاهری) به‌صورت کاملاً تصادفی در سه گروه تقسیم‌بندی شدند. انجام کلیه آزمایشات در پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۱ و با رعایت کامل ضوابط اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی انجام پذیرفت.

القاء سوختگی درجه سه:

القاء سوختگی درجه سه به روش استاندارد به کمک یک میله استوانه‌ای فلزی به وزن ۶۵ گرم و قطر ۱cm انجام پذیرفت. میله فلزی مزبور جهت هم دما شدن با آب جوش، به مدت چند دقیقه درون آب جوش قرارداده شد. متعاقب القاء بیهوشی با تزریق داخل صفاقی ترکیب کتامین (کتامین هیدروکلراید ۵٪ ,Alfasan) Netherland و زایلازین) زایلازین هیدروکلراید ۲٪ ,Alfasan) Netherland، ناحیه پشت موش‌ها به‌طور کامل تراشیده شده و سوختگی درجه سه به‌وسیله تماس میله فلزی با ناحیه مذکور به مدت ۹ ثانیه ایجاد گردید (۴۶). متعاقباً، cc ۱ محلول نرمال سالین به‌صورت درون صفاقی جهت جبران آب ازدست‌رفته طی سوختگی به موش‌ها تزریق شد. موش‌ها به‌صورت تصادفی و با احتساب شرایط فیزیکی یکسان در سه گروه کنترل، مزانشیم و آل پی اس تقسیم‌بندی شده و یک ساعت پس از القاء سوختگی به ترتیب به‌طور جداگانه تحت تزریق زیرجلدی در ناحیه اطراف سوختگی به ترتیب با بافر فسفات سالین به همراه دریافت روزانه‌ی پماد سیلورسولفادیازین تا پایان دوره، سلول‌های مزانشیمی (تعداد 10^6 سلول مزانشیمی در ۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین) و سلول‌های مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید) تعداد 10^6 سلول مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید در ۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین) قرار گرفتند. نگهداری موش‌ها در قفس‌های مجزا، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، سیکل ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی و با امکان دسترسی نامحدود به آب و غذا انجام پذیرفت.

نمونه‌برداری، برش گیری، رنگ‌آمیزی اختصاصی:

نمونه‌برداری در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از القاء سوختگی انجام پذیرفت. در زمان مقرر، موش‌ها در هر سه گروه کنترل، مزانشیم و آل پی اس با کلروفرم آسان‌کشی شده و بیوپسی گردیدند. نمونه‌برداری از بافت التیام‌یافته و بافت سالم اطرافی صورت پذیرفت. نمونه‌های بیوپسی شده، به مدت ۴۸ ساعت در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت‌شده و پس از آبگیری به کمک درجات مختلف الکل، با پارافین قالب‌گیری شدند. در مرحله بعد، برش‌های ۵ میکرونی از نمونه‌ها توسط میکروتوم روتاری تهیه گردید. متعاقباً مقاطع تهیه شده جهت مطالعات هیستوپاتولوژیک به کمک رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و ماسون‌تری‌کروم و با استفاده از عدسی چشمی مدرج [8] خط کش‌دار و عدسی چشمی [9]ازنظر ضخامت بافت جوانه‌ای، تعداد فیبروبلاست‌ها و عروق خونی بررسی شدند (۴۷). تراکم فیبرهای کلاژن، با استفاده از رنگ‌های هماتوکسیلین و ائورین و ماسون‌تری‌کروم رنگ‌آمیزی و در سه گروه کنترل، مزانشیم و آل پی اس مورد مقایسه کیفی قرار گرفت. نتایج کمی به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۸ به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) به همراه آزمون تعقیبی توکی و post hoc مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفتند، $p<0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌دار آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مورفولوژی سلول‌های مزانشیمی در پاساژ سوم:

هرچند که این سلول‌ها در کشت‌های ابتدایی حاوی برخی سلول‌های غیرچسبنده نیز بودند، اما پس از پاساژهای سلولی، سرانجام در پاساژ سوم (روز ~۲۴-۲۱) اکثر سلول‌های غیرچسبنده برطرف شده و سلول‌های چسبنده با ظاهر شبه فیبروبلاستی و دوکی شکل زمانی که ۸۰ درصد کف فلاسک را پر می‌کردند ویژگی سلول‌های مزانشیمی را نشان می‌دادند (شکل ۱).

تغییرات هیستوپاتولوژیک:

مطالعات میکروسکوپی بر روی پوست آسیب‌دیده در سه گروه کنترل، درمان با سلول‌های مزانشیمی (مزانشیم) و درمان با سلول‌های مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید (آل پی اس) انجام پذیرفت. پارامترهایی از قبیل ضخامت بافت جوانه‌ای، تعداد فیبروبلاست‌ها، تعداد عروق تازه تشکیل و میزان کلاژن جهت بررسی روند بهبود آسیب موردمطالعه و بررسی قرار گرفت. مطابق جدول شماره ۱، حداکثر ضخامت بافت جوانه‌ای ابتدا در گروه آل پی اس و سپس مزانشیم در روز ۷ و در گروه کنترل با ۷ روز تأخیر در روز ۱۴ تشکیل شده است و متعاقباً روند شروع کاهش ضخامت بافت جوانه‌ای در گروه مزانشیم و آل پی اس از روز ۷ و در گروه کنترل از روز ۱۴ مشاهده گردید. در ادامه‌ی روندترمیم آسیب، کم‌ترین

[8] eyepiece

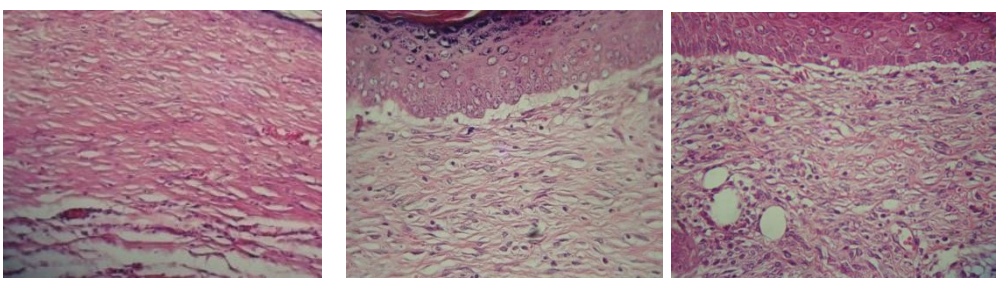
[9] Graticule

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

ضخامت بافت جوانه‌ای (جمع شدن زخم) در روز ۲۱ و در گروه آل پی اس مشاهده شد. طبق جدول شماره ۱، اختلاف در ضخامت بافت جوانه‌ای گروه کنترل و مزانشیم در هر ۳ مقطع زمانی ازلحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد که این مقادیر در روزهای ۷ (*P<0.007*)، ۱۴ (P<0.013) و ۲۱ ((P<0.001 می‌باشد. این اختلاف بین گروه کنترل و آل پی اس نیز در هر سه مقطع زمانی تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد که این مقادیر در روزهای ۷ (*P<0.001*)، ۱۴ (P<0.001) و ۲۱ (P<0.001) می‌باشد. باوجوداینکه بیشترین ضخامت بافت جوانه‌ای در روز هفت مربوط به گروه آل پی اس بود و متعاقباً کم‌ترین ضخامت بافت جوانه‌ای در روز ۲۱ نیز در همین گروه مشاهده شد اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه آل پی اس و مزانشیم در روزهای مختلف مشاهده نشد. با توجه به جدول شماره ۱ بیشترین تعداد عروق در روز ۷ مربوط به دو گروه مزانشیم و آل پی اس می‌باشد و متعاقباً در روز ۲۱ کم‌ترین تعداد عروق در دو گروه مزانشیم و آل پی اس مشاهده گردید. به لحاظ میزان هجوم عروق خونی تفاوت آماری معنی‌دار فقط در روز ۲۱ پس از شروع تیمار بین گروه کنترل با گروه‌های مزانشیم ($P < 0.002$) و آل پی اس ($P < 0.001$) مشاهده می‌شود و در تمام مقاطع زمانی هیچ تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مزانشیم و آل پی اس مشاهده نمی‌شود. نتایج حاصل از شمارش تعداد فیبروبلاست (طبق جدول شماره ۱) بیشترین تعداد فیبروبلاست در روز ۷ را در دو گروه مزانشیم و آل پی اس نشان می‌دهد. همچنین کم‌ترین تعداد فیبروبلاست در روز ۲۱ در گروه آل پی اس مشاهده می‌شود. اختلاف معنی‌داری به لحاظ تغییرات تعداد فیبروبلاست بین گروه کنترل و مزانشیم در سه مقطع زمانی مشاهده نمی‌شود. تنها اختلاف معنی‌دار ازلحاظ تعداد فیبروبلاست، تنها در روز ۲۱ و بین دو گروه کنترل و آل پی اس مشاهده می‌شود ($P< 0. 04$) که خود گویای برتری این گروه نسبت به گروه مزانشیم در سرعت بخشیدن به روند بهبود می‌باشد. بین گروه مزانشیم و آل پی اس در سه مقطع زمانی هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (جدول شماره ۱). همچنین نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی هماتوکسلین ائوزین در شکل ۲ نشان‌دهنده تفاوت نظم و آرایش بافتی در گروه کنترل، مزانشیم و آل پی اس می‌باشد که تصاویر گویای برتری گروه آل پی اس نسبت به دو گروه دیگر می‌باشد. علی‌رغم عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تعداد فیبروبلاست در سه گروه موردبررسی در روزهای نخست ترمیم آسیب (روزهای ۷ و ۱۴)، نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی ماسون‌تری‌کروم گویای حضور تراکم بیشتر رشته‌های کلاژن در گروه آل پی اس نسبت به گروه مزانشیم و کنترل می‌باشد که می‌تواند گویای اثر لیپوپلی ساکارید در تحریک ترشح کلاژن توسط سلول‌های فیبروبلاست باشد.

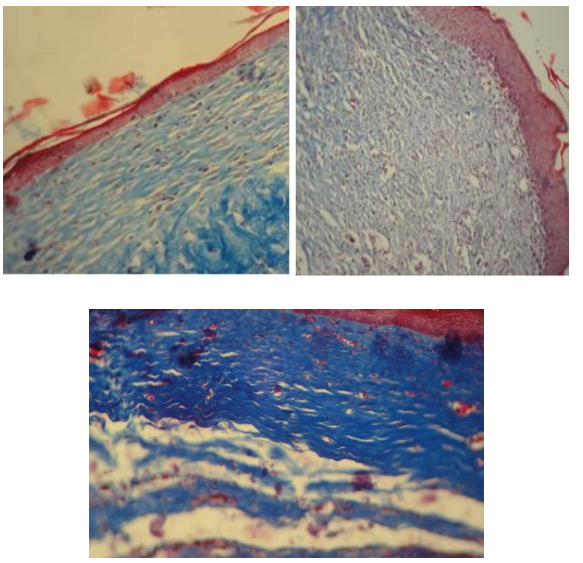


تصویر (۱): مورفولوژی سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان موش در پاساژ سوم کشت سلولی



تصویر (۲): مقایسه نظم و آرایش بافت التیامی (فیبروبلاست ها و کلاژن) در گروه کنترل (راست)، مزانشیم (وسط) و آل پی اس (چپ) روز ۲۱ بزرگنمایی (۲۰۰×)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]



تصویر (۳): مقایسه تراکم کلاژن در بافت التیامی سه گروه کنترل (بالا-راست)، مزانشیم (بالا چپ) و آل پی اس (پایین) در روز ۲۱ (رنگ‌آمیزی ماسون‌تری‌کروم، بزرگ‌نمایی (۱۰۰×)

جدول (۱): مقایسه نتایج حاصل از تغییرات پارامترهای مربوط به ضخامت بافت جوانه‌ای، تعداد عروق خونی و تعداد فیبروبلاست در سه گروه کنترل، مزانشیم و آل پی اس

متغیرها	گروه	گروه	P value*	Mean ± SD
بافت جوانه ای	کنترل۷	مزانشیم۷	/۰۰۷	کنترل۷=۱۳،۸ ± ۱،۳۰۳۸
		ال پی اس۷	/۰۰۱	مزانشیم۷=۲۴±۳،۸۰۷۸
	مزانشیم ۷	ال پی اس۷	/۹۹۹	ال پی اس۷=۲۸±۵،۳۳۸۵۴
	کنترل۱۴	مزانشیم ۱۴	/۰۱۳	کنترل ۱۴=۳۰/۸±۷،۱۹۰۲۷
		ال پی اس۱۴	/۰۰۱	مزانشیم۱۴=۲۱±۴،۴۱۵۸
	مزانشیم ۱۴	ال پی اس۱۴	/۹۹۹	ال پی اس۱۴=۱۸±۲،۵۴۹۵۱
	کنترل ۲۱	مزانشیم ۲۱	/۰۰۱	کنترل ۲۱=۲۴/۲±۳،۷۰۱۳
		ال پی اس ۲۱	/۰۰۱	مزانشیم۲۱=۱۲/۵±۲،۱۷۹۴
	مزانشیم ۲۱	ال پی اس ۲۱	/۹۹۹	ال پی اس۲۱=۹±۰/۷۰۷۱۱
تعداد عروق	کنترل ۷	مزانشیم ۷	/۹۸۹	کنترل۷=۱۳/۲±۲،۵۸۸۴
		ال پی اس ۷	/۹۴۰	مزانشیم۷=۱۸±۵،۸۳۰۹
	مزانشیم ۷	ال پی اس ۷	/۹۹۹	ال پی اس۷=۱۸/۶±۴،۰۳۷۳۳
	کنترل ۱۴	مزانشیم ۱۴	/۰۶۲	کنترل ۱۴=۱۵/۲±۱۳،۵۶۳۷
		ال پی اس ۱۴	/۳۳۰	مزانشیم۱۴=۶/۴±۰/۵۴۷۷۲
	مزانشیم ۱۴	ال پی اس ۱۴	/۹۹۹	ال پی اس۱۴=۷/۸±۲،۷۷۴۸

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

متغیرها	گروه	گروه	P value*	Mean ± SD
	کنترل ۲۱	مزانشیم ۲۱	/۰۰۲	۱۷/۴±۴،۸۱۶۶=کنترل ۲۱
		ال پی اس ۲۱	/۰۰۱	۳/۸±۱،۳۵۰۹=مزانشیم ۲۱
	مزانشیم ۲۱	ال پی اس ۲۱	/۹۹۹	۲/۶±۰/۵۴۷۷۲=ال پی اس۲۱
	کنترل ۷	مزانشیم ۷	/۹۹۹	۲۱/۲±۳،۲۷۱۰=کنترل۷
		ال پی اس ۷	/۹۹۹	۲۳/۸±۱،۴۸۳۲۴=مزانشیم۷
	مزانشیم ۷	ال پی اس ۷	/۹۹۹	۲۳±۴،۸۹۸۹۸=ال پی اس۷
	کنترل ۱۴	مزانشیم ۱۴	/۹۹۸	۱۹±۳،۵۳۵۵=کنترل۱۴
تعداد فیبروبلاست		ال پی اس ۱۴	/۹۹۹	۱۴/۶±۲،۷۹۲۸=مزانشیم۱۴
	مزانشیم ۱۴	ال پی اس ۱۴	/۹۹۹	۱۶±۱=ال پی اس۱۴
	کنترل ۲۱	مزانشیم ۲۱	/۹۰۸	۱۴/۳±۶،۳۵۰۲=کنترل۲۱
		ال پی اس ۲۱	/۰۴۰	۷/۸±۴،۷۱۱۶=مزانشیم۲۱
	مزانشیم ۲۱	ال پی اس ۲۱	/۹۹۹	۵/۲±۲،۱۶۷۹۵=ال پی اس۲۱

*داده‌ها در سطح p</05 معنی‌دار می‌باشند.

بحث و نتیجه‌گیری

سوختگی یکی از مهم‌ترین علل مرگ‌ومیر در جوامع مختلف می‌باشد که می‌تواند آسیب‌های روحی و اجتماعی زیادی به دنبال داشته باشد (۴۸). لذا تحقیقات زیادی در رابطه با اثر عوامل مختلف درترمیم این آسیب در مدل‌های حیوانی مناسب ازجمله موش، خرگوش و ... صورت پذیرفته است. دراین‌بین سلول‌های بنیادی مزانشیمی با توانایی خود نوسازی و تمایز به انواع سلول‌های رده‌ی مزانشیمال و غیر مزانشیمال که در سال ۱۹۷۰ کشف شدند افق تازه‌ای در درمان انواع بیماری‌ها و به‌ویژه در برنامه‌های بازسازی بافتی گشودند (۴۹). ضمن آنکه توانایی این سلول‌ها در تمایز به سلول‌های مختلف و نیز قدرت این سلول‌ها در ترشح فاکتورهای رشد مختلف مشخص شده بود (۱۵-۲۵)، در مطالعات متعدد اثر سلول‌های مزانشیمی درترمیم آسیب‌های بافتی بررسی شده که نتایجی مثبت و همسو از قابلیت درمانی این سلول‌ها به‌واسطه‌ی تمایز به سلول‌های مختلف و نیز ترشح پاراکراین فاکتورهای رشد و سایتوکاین های درگیر درترمیم آسیب‌های بافتی گزارش شده است (۵۰-۵۵). بااین‌وجود همچنان نیاز به تعداد زیاد سلول‌های بنیادی مزانشیمی جهت بهبود آسیب‌های بافتی مختلف (با توجه به حساسیت بالای کشت این سلول‌ها) محدودیتی در استفاده از این سلول‌ها ایجاد کرده است. به همین دلیل استفاده هم‌زمان از سلول‌های مزانشیمی به همراه فاکتورهایی نظیر فاکتور رشد هپاتوسیتی، فاکتور رشد فیبروبلاستی و ... جهت افزایش قدرت‌ترمیم آسیب در برخی مطالعات استفاده شده است (۳۸). همچنین افزایش قابلیت‌های درمانی سلول‌های مزانشیمی در آسیب‌های بافتی به‌واسطه‌ی تحریک این سلول‌ها با آگونیست های اختصاصی رسپتورهای سطحی آن‌ها یا TLR موردتوجه محققان قرار گرفته است. تحریک گیرنده‌های TLR3 و TLR4 در سلول‌های مزانشیمال موشی و انسانی منجر به افزایش تولید و ترشح واسطه‌های پیش التهابی توسط این سلول‌ها شده است (۵۶ و ۵۷). طبق مطالعات واترمن و همکاران[1] نیز مشخص شد لیپوپلی ساکارید به‌عنوان آگونیست اختصاصی TLR4 می‌تواند یک فنوتیپ پیش التهابی در سلول‌های مزانشیمی ایجاد کند که باعث تسریع روند بهبود آسیب‌های بافتی می‌شود (۴۲). فنوتیپ پیش التهابی در فاز اولیه‌ی ترمیم با ایجاد یک محیط جاذب برای نوتروفیل ها به

[1] Waterman etal

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

روند پاک‌سازی زخم از عفونت کمک می‌کند که موجبات تسریع روند بهبود زخم را فراهم می‌کند (۵۸). در این مطالعه سعی گردید از دیدگاه هیستوپاتولوژی، اثرات ترمیمی سلول‌های مزانشیمال تحریک شده با لیپوپلی ساکارید بر شکل‌گیری بافت جوانه‌ای، تعداد عروق تازه تشکیل شده، تعداد فیبروبلاست ها و میزان رسوب بافت کلاژن در نقطه‌ی آسیب موردبررسی قرار گیرد و با اثرات درمانی سلول‌های مزانشیمی تحریک نشده مقایسه شود. ازآنجایی‌که تشکیل بافت جوانه‌ای در روزهای نخست ترمیم یکی از فاکتورهای مهم در تسریع روند بهبود آسیب می‌باشد، مطالعات صورت گرفته در این زمینه نشان می‌دهد یکی از عملکردهای ترمیمی سلول‌های مزانشیمی مغزاستخوان القای تشکیل اولیه‌ی بافت جوانه‌ای در روزهای نخست ترمیم آسیب می‌باشد (۴۹). در مطالعه واترمن و همکاران، سلول‌های مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید با کسب یک فنوتیپ پیش التهابی، بیان بالاتری از فاکتور TGFβ[2] را نشان دادند. این فاکتور در مهاجرت سلول‌ها، آنژیوژنزیس و رسوب ماتریکس خارج سلولی نقش اساسی دارد که خود این عوامل دلیلی بر ایجاد بافت جوانه‌ای وسیع در نقطه‌ی آسیب می‌باشد. در این مطالعه نیز بیشترین ضخامت بافت جوانه‌ای در روز ۷ ابتدا در گروه آل پی اس و سپس در گروه مزانشیم مشاهده شد. این تفاوت در هر دو گروه مزانشیم و آل پی اس با گروه کنترل معنی‌دار بود. باوجود عدم اختلاف معنی‌دار بین دو گروه مزانشیم و آل پی اس، روند انقباض زخم در روز ۱۴ نسبت به روز ۷ و همچنین در روز ۲۱ نسبت به روز ۱۴ در گروه آل پی اس با شدت بیشتری نسبت به گروه مزانشیم و کنترل انجام شد. بنابراین، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در گروه مزانشیم، حضور سلول‌های مزانشیمی، با تحریک تولید بافت جوانه‌ای و تسریع روند بلوغ زخم، موجبات جمع شدگی و انقباض زخم در روزهای نخست ترمیم آسیب را فراهم آورده است و تحریک سلول‌های مزانشیمال با لیپوپلی ساکارید احتمالاً با فراهم آوردن شرایط بهتر به‌واسطه‌ی افزایش ترشح فاکتورهای پیش التهابی ازجمله TGFβ روند بهبود را سرعت بخشیده است. واترمن و همکاران در مطالعه خود همچنین اثر سلول‌های مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید را بر روی ماتریکس خارج سلولی موردمطالعه قرار دادند و نشان دادند سلول‌های مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید اثر قابل‌ملاحظه‌ای در رسوب بافت کلاژن در ماتریکس خارج سلولی ایجاد می‌کند. در مطالعه‌ی حاضر تفاوت آشکار میزان بافت کلاژن در گروه آل پی اس با دو گروه دیگر در رنگ‌آمیزی ماسون تری کروم مؤید این حقیقت است که لیپوپلی ساکارید باعث تحریک سلول‌های مزانشیمی شده و قابلیت این سلول‌ها را در تحریک هر چه بیشتر فیبروبلاست های موجود در نقطه آسیب جهت ترشح بافت کلاژن افزایش داده است. می‌توان احتمال داد افزایش ترشح فاکتور TGFβ عامل تحریک فیبروبلاست ها در ترشح بیشتر کلاژن بوده است. به‌طورکلی فرایند ترمیم زخم سوختگی شامل مجموعه‌ای از فرایندهای سلولی، مولکولی و بافتی می‌باشد که دراین‌بین عروق‌زایی و تشکیل یک شبکه‌ی عروقی وسیع، نقش مهمی در گسترش یک محیط التهابی موضعی جهت پاک‌سازی این محیط از عوامل بیگانه و پاتوژن‌ها را دارا می‌باشد (۵۹ و ۶۰). باوجوداینکه نقش مثبت سلول‌های مزانشیمی در روند آنژیوژنز مشخص شده بود طی مطالعه‌ای که کیسچ و همکاران[3] داشتند سلول‌های بنیادی مشتق از پوست را توسط لیپوپلی ساکارید تحریک نمودند و اثر این سلول‌ها را نسبت به تحریک روند آنژیوژنز در اسکافولدها بررسی نمودند (۴۴). نتایج حاصل از مطالعه این محققان تفاوت معنی‌داری از میزان عروقزایی بین دو گروه تحت درمان با سلول‌های تحریک شده با لیپوپلی ساکارید و گروه تحریک نشده نشان داد. در مطالعه حاضر حضور سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید در گروه آل پی اس نسبت به گروه کنترل در تعداد عروق تازه تشکیل شده اختلاف معنی‌داری ایجاد نمود اما این تفاوت با گروه مزانشیم ازنظر آماری معنی‌دار نبود. ازآنجایی‌که غلظت لیپوپلی ساکارید بکار رفته و زمان انکوباسیون آگونیست مذبور می‌تواند در تحریک سلول‌ها به ترشح فاکتورهای پروآنژیوژنیک مؤثر باشد (۴۱ و ۴۴) و با توجه به عدم عروقزایی معنی‌دار در گروه آل پی اس نسبت به مزانشیم در مطالعه حاضر، می‌توان علت را در غلظت لیپوپلی ساکارید مورد استفاده در این مطالعه (۱۰ ng/lit) برای تحریک سلول‌ها و یا زمان انکوباسیون (یک ساعت) سلول‌های مزانشیمی با لیپوپلی ساکارید جستجو کرد و احتمالاً بتوان با تغییر غلظت و یا تغییر مدت‌زمان انکوباسون سلول‌های مزانشیمی و لیپوپلی ساکارید نتایج قابل‌قبول‌تری مشاهده نمود. شمارش فیبروبلاست‌ها از دیرباز به‌عنوان یک شاخص مهم در ارزیابی کیفیت‌ترمیم همبندی مورد استفاده قرار گرفته است. در سال ۲۰۰۴ تتامانتی و همکاران[4] از شمارش فیبروبلاست‌ها در تعیین کیفیت‌ترمیم زخم و شکل‌گیری بافت همبند درترمیم زخم ناشی از زالو استفاده نمودند (۶۱). همچنین ایارف و آمید[5] در سال ۲۰۱۰، شمارش فیبروبلاست‌های را به‌عنوان شاخصی برای ترمیم زخم در محل بخیه‌ی جراحی معرفی کردند (۶۲). همگام با مطالعات فوق در مطالعه حاضر، از شمارش

[2] Transforming growth factor beta
[3] Kisch etal
[4] Tettamanti etal
[5] Eyarefe and Amid

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

فیبروبلاست‌ها به‌عنوان یک شاخص در ارزیابی بافت التیامی استفاده شد. با توجه به جدول شماره ۱ اختلاف معنی‌داری در تعداد فیبروبلاست های بین سه گروه در روز ۷ و ۱۴ مشاهده نمی‌شود. تنها تفاوت معنی‌دار بین تعداد فیبروبلاست ها در روز ۲۱ بین گروه آل پی اس و کنترل می‌باشد که خود گویای برتری سلول‌های مزانشیمی تحریک شده با لیپوپلی ساکارید نسبت به سلول‌های تحریک نشده در تسریع روند بهبود آسیب می‌باشد چراکه کاهش تعداد فیبروبلاست ها دلیلی بر بهبود روند آسیب در روزهای پایانی می‌باشد و این کاهش به‌طور معنی‌داری تنها در گروه آل پی اس و کنترل مشاهده گردید. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می‌دهد تحریک سلول‌های مزانشیمی با لیپوپلی ساکارید باعث تقویت پتانسیل درمانی این سلول‌ها در برخی پارامترهای ترمیم زخم به‌ویژه تحریک فیبروبلاست ها برای ترشح بیشتر کلاژن در نقطه‌ی آسیب و تسریع روند بهبود آسیب شده است، بااین‌وجود اثر مثبت معنی‌داری در روند آنژیوژنز مشاهده نگردید. بنابراین لازم است برای حصول بهترین شرایط جهت تحریک سلول‌های مزانشیمی، ازجمله مناسب‌ترین غلظت لیپوپلی ساکارید و یا زمان انکوباسیون لیپوپلی ساکارید با سلول‌های مزانشیمی مطالعات بیشتری صورت پذیرد. لازم به ذکر است گفته شود هرچند پژوهش حاضر در همراهی با بسیاری از مطالعات تجربی مرتبط دیگر تأثیر مثبت سلول‌های مذکور بر روی بعضی از پارامترهای مرتبط با ترمیم زخم در حیوانات آزمایشگاهی را نشان می‌دهد بااین‌حال امکان تعمیم این نتایج به مطالعات انسانی نیازمند مطالعات دقیق‌تر، کارآزمایی های بالینی بیشتر و مونیتورینگ‌های طولانی‌مدت می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان این مقاله کمال تشکر را از همکاران پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه اعلام می‌دارند.

References:

1. Oshima H, Inoue H, Mastuzaki K, Tanabe M, Kumagia N. Permanent restoration of human skin treated with cultured epithelium grafting Wound healing by stem cell based tissue engineering. Hum Cell 2002; 15(3): 118-28.
2. Chang FC, Herzog B. Burn morbidity: a followup study of physical and psychological disability. Annals Surgery 1976; 183(1): 34–7.
3. Andreasen NJ, Norris AS. Long-term adjustment and adaptation mechanisms in severely burned adults. J Nervous Mental Disease 1972; 154(5): 352–62.
4. Medina A, Scott PG, Ghahary A, Tredget EE. Pathophysiology of chronic nonhealing wounds. Burn Care Rehabil 2005; 26(4): 306–19.
5. Slavin J. The role of cytokines in wound healing. J Pathol 1996; 178(1): 5-10.
6. Hansbrough JF. Current status of skin replacements for coverage of extensive burn wounds. J Trauma 1990;30(12 Suppl):S155-160.
7. Robson MC, Phillips LG, Robson LE, Thomason A, Altrock BW, Pierce. Platelet-derived growth factor-BB for the treatment of chronic pressure ulcers. Lancet 1992; 339(8784): 23-5.
8. Robson MC, Phillips TJ, Falanga V, Odenheimer DJ, Parish LC, Jensen JL, Steed DL. Randomized trial of topically applied repifermin (recombinant human keratinocyte growth factor-2) to accelerate wound healing in venous ulcers. Wound Repair Regen 2001; 9(5): 347–52.
9. Oshima H, Inoue H, Mastuzaki K, Tanabe M, Kumagia N. Permanent restoration of human skin treated with cultured epithelium grafting Wound healing by stem cell based tissue engineering. Hum Cell 2002; 15(3): 118-28.
10. Maharlooei MK, Bagheri M, Solhjou Z, Jahromi BM, Akrami M, Rohani L, et al. Adipose tissue derived mesenchymal stem cell (AD-MSC) promotes skin wound healing in diabetic rats. Diabetes Res Clin Pract 2011; 93(2): 228-34.
11. Natesan S, Zamora DO, Wrice NL, Baer DG, Christy RJ. Bilayer hydrogel with autologous stem cells derived from debrided human burn skin for improved skin regeneration. J Burn Care Res 2013; 34(1): 18-30.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

12. Leonardi D, Oberdoerfer D, Fernandes MC, Meurer RT, Pereira- Filho GA, Cruz P, et al. Mesenchymal stem cells combined with an artificial dermal substitute improve repair in full-thickness skin wounds. Burns 2012; 38(8): 1143-50.
13. Phinney DG. Biochemical heterogeneity of mesenchymal stem cell populations: clues to their therapeutic efficacy. Cell Cycle 2007; 6(23): 2884-9.
14. Mishra PJ, Mishra PJ, Glod WJ., Banergie D.Mesenchyme stem cells: flip side of the coin. Cancer Res2009; 69(4): 1255–8.
15. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999; 284(5411): 143–7.
16. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. Science 1997; 276(5309): 71–74.
17. Piryaei A, Valojerdi MR, Shahsavani M, Baharvand H. The role of ultraweb nano-fibrillar substrates in the differentiation of in vitro mouse bone marrow mesenchymal stem cell-derived hepatocyte-like cells. Yakhteh Med J 2010; 12(2): 275-86.
18. Jazayeri M, Allameh A, Soleimani M, Jazayeri S.H, Piryaei A, Kazemnejad S. Molecular and ultrastructural characterization of endothelial cells differentiated from human bone marrow mesenchymal stem cells. Cell Biol Int 2008; 32(10): 1183-92.
19. Eslaminejad MB, Nikmahzar A, Eftekhari Yazdi P, Piryaei A. The structure of Human Mesenchymal Stem Cells Differentiated into Cartilage in Micromass Culture System. Yakhte Med J 2006; 8(3): 162-71.
20. Saheli M, Hosseini A, Piryaei A, Fadaei Fathabadi F, Bandehpour M, Salehi M, Norouzian M. Evaluation of the differentiation process of human bone marrow mesenchymal stem cells to cardiomyocyte-like cells: An in vitro study. J Iran Anat Sci 2011; 9(36): 179-90.
21. Chopp M, Li Y. Treatment of neural injury with marrow stromal cells. Lancet Neurol 2002; 1(2): 92-100.
22. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk L,Quaini F, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98(18): 10344-9.
23. Horowitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, Koo WWK, Gordon PL, Neel M, et al. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. Nat Med 1999; 5(3): 309-13.
24. Macfarin K, Gao X, Liu LB, Deborah S, Dulchavsky PA, Kwon D, Arbab AS, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells accelerate wound healing in the rats. Wound Repair Regen 2006; 14(4): 471-8.
25. Liu L, Yu Y, Hou Y, Chai j, Duan H, Chu W etal. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats. PLoS ONE 2014; 9(2): e88348.
26. Agay D, Scherthan H, Forcheron F, Grenier N, Herodin F, Meinneke V, et al. “Multipotent mesenchymal stem cell grafting to treat cutaneous radiation syndrome: development of a new minipig model. Exp Hematol 2010; 38(10): 945–56.
27. Rasulov MF, Vasilenko VT, Zaidenov VA, Onishchenko NA., “Cell transplantation inhibits inflammatory reaction and stimulates repair

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

processes in burn wound. Bull Exp Biol Med 2006, 142(1): 112–5.

28. Vassilia-ismini A, Desponia S, Marianna P, Olga R, Maria V, Ourania C et al. Adipose tissue-derived mesenchymal cells support skin re epithelialization through secretion of KGF-1 and PDGF-BB: comparison with dermal fibroblasts. Cell Transplantation 2012; 21(11): 2441–54.
29. Rasulov MF, Vasilchenkov AV, Onishchenko NA, Kerasheninniko VI, Gorshenin TL, Pidstan RE et al. First experience of the use bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns. Bull Exp Biol Med 2005; 139(1): 141–4.
30. Rasulov MF, Vasilenko VT, Zaidenov VA, Onishchenko NA. Cell transplantation inhibits inflammatory reaction and stimulates repair processes in burn wound. Bull Exp Biol Med 2006; 142(1): 112–5.
31. Liu P, Deng Z, Han S, Liu T, Wen N, Lie W etal. Tissue-engineered skin containing mesenchymal stem cells improves burn wounds. Artificial Organs 2008, 32(12): 925–31.
32. Lataillade JJ, Doucet C, Bey E, Carcin H, Huet C, Clairand I et al. New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery combined with autologous mesenchymal stem cell therapy. Regen Med 2007; 2(5): 785–94.
33. Bey E, Prat M, Duhamel P, Benderitter M, Brachet M, Trompier F etal. Emerging therapy for improving wound repair of severe radiation burns using local bone marrow-derived stem cell administrations. Wound Repair Regen 2010; 18(1): 50–58.
34. Hao L, Wang J, Zou Z, Yan G, Dong S, Deng j et al. Transplantation of BMSCs expressing hPDGF-A/hBD2 promotes wound healing in rats with combined radiation-wound injury. Gene Therapy 2009; 16(1): 34–42.
35. Ha XQ, Lu TD, Hui L, Fang. D. "Effects of mesenchymal stem cells transfected with human hepatocyte growth factor gene on healing of burn wounds. Chinese J Traumatol 2010; 13(6): 349–55.
36. Xue L, Xu Y.B, Xie JL, Tang JM, Shu B, Chen L, et al. Effects of human bone marrow mesenchymal stem cells on burn injury healing in a mouse model. Int J Clin Exp Pathol 2013; 6(7): 1327–36.
37. Mansilla E, Spretz R, Larsen G, Nunez L, Drago H, Sturla F etal. Outstanding survival and regeneration process by the use of intelligent acellular dermal matrices and mesenchymal stem cells in a burn pig model. Transplant Proc 2010; 42(10): 4275–8.
38. Kinoshita N, Tsuda M, Hamuy R, Nakashima M, Nakamura-Kurashge T, Mstuu-Mastuyama M et al. The usefulness of basic fibroblast growth factor for radiation-exposed tissue. Wound Repair Regen 2012; 20(1): 91–102.
39. Bunnell BA, Betancourt AM, Sullivan DE. New concept on the Immune modulation mediated by mesenchymal stem cells. Stem Cell Res Therapy 2010,1(34): 24-27.
40. Miggin SM, Oneill, LAJ. New insights into the regulation of TLR signaling. J Leukoc Biol 2006; 80(2): 220-6.
41. Rangappa S, Fen C, Lee EH, Bongso A, Sim EK. Transformation of adult bone Marrow-derived progenitor cell injections enhance new bone formation during distraction. J Orthop Res 2003; 17(6): 900-8.
42. Waterman RS, Tomchuk SL, Henkle SL, Betancourt AM. A new mesenchymal stem cell paradigm Polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an Immunosuppressive MSC2 phenotype. Plos one (2010); 5(4), e10088.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

43. Verreck FA, de Boer T, Langenberg DM, van der Zanden L, Ottenhoff TH. Phenotypic and functional profiling of human pro inflammatory type-1 and anti-inflammatory type-2 macrophages in response to microbial antigens and IFN-gamma- and CD40L-mediated co stimulation. J Leukoc Biol 2006; 79(2): 285–93.
44. Kisch T, Weber C, Rapoport DH, Kruse C, Svhumann S, Stang FH, et al. LPS-Stimulated Human Skin-Derived Stem cells Enhance Neo-Vascularization during Dermal Regeneration. PLoS ONE 2015; 10(11) e0142907.
45. Mohammadi R, Azizi S, Amini K. Effects of undifferentiated cultured omental adipose-derived stem cells on peripheral nerve regeneration. J Surg Res 2013;180(2):e91-97.
46. Bruen KJ, Campbell CA, Schooler WG, Deserres S, Cairns BA, Hultman CS, et al. Real-time monitoring of keratin 5 expression during burn re-epithelialization. J Surg Res 2004; 120(1): 12–20.
47. Fioretti F, Lebreton-DeCoster C, Gueniche F, Yousfi M, Humbert P, Godeau G, etal. Human bone marrow-derived cells: an attractive source to populate dermal substitutes. Wound Repair Regen 2008; 16: 87-94.
48. Mohammadi-Barzelighi H, Alaghehbandan R, Motevallian A, Alinejad F, Soleimanzadeh-Moghadam S, Sattari M, et al. Epidemiology of severe burn injuries in a Tertiary Burn Centre in Tehran, Iran. Annal Burn Fire Disaster 2011; 24(2): 59.
49. Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakowa SF, Luriá EA, et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. Exp Hematol 1974; 2(2): 83-92.
50. Shumakov VI, Onishchenko NA, Rasulov MF, Krasheninnikov ME, Zaidenov VA. Mesenchymal Bone Marrow Stem Cells More Effectively Stimulate Regeneration of Deep Burn Wounds than Embryonic Fibroblasts. Bull Exp Biol Med 2003; 136(8): 220-223.
51. Cha J, Falanga V. Stem cells in cutaneous wound healing. Clin Dermatol, 2007; 25(1): 73-78.
52. Liu P, Deng Z, Han S, Liu T, Wen N, Lu Wetal. Tissue-engineered skin containing mesenchymal stem cells improves burn wounds. Artif. Organs 2008; 32(12): 925–31.
53. Chen L, Tredget EE, Wu PY, Wu Y. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. PLoS One 2008; 3(4): e1886.
54. Postlethwaite AE, Keski-Oja J, Moses HL, Kang AH. Stimulation of the chemotactic migration of human fibroblasts by transforming growth factor beta. J Exp Med 1987; 165(1): 251-6.
55. Li Y, Fan J, Chen M, Li W, Woodley DT. Transforming growth factor-alpha: a major human serum factor that promotes human keratinocyte migration. J Invest Dermatol 2006; 126(9): 2096-105.
56. Liotta F, Angeli R, Cosmi L, Fili L, Mazzinghi B, Maggi L, Parronchi P, Krampera M, & Annuziato F. Toll-Like receptors 3 and 4 are expressed by human bone marrow derived mesenchymal stem cells and can inhibit their T cell modulatory activity by Impairing Notch signaling. Stem cell (2008); 26(1): 279-289.
57. wang Y, Abarbanell AM, Herrmann JL, Weil BR, Manukian MC, Poynter JA, Meldrum DR. TLR4 inhibits Mesenchymal stem cell STAT3 activation Thereby exerts deleterious effect on MSC mediated Cardioprotection. Plos One (2010); 5 (12): e 14206.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

58. Verreck FA, de Boer T, Langenberg DM, van der Zanden L, Ottenhoff TH (2006). Phenotypic and functional profiling of human pro inflammatory type-1 and anti-inflammatory type-2 macrophages in response to microbial antigens and IFN-gamma- and CD40L-mediated costimulation. J Leukoc Biol 79(2): 285-93.

59. Zhou FY, Bosch-Marche M, Okuyama H, Krishnamachary B, Kimura H, Zhang L etal. Spontaneous Transformation of Cultured Mouse Bone Marrow-Derived Stromal Cells. Cancer Res 2006; 66(22): 10849-54.

60. Fletcher JM, Lalor SJ, Sweeney CM, Tubridy N, Mills KHG. T cells in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. Clin Exp Immunol 2010; 162(1): 1-11.

61. Tettamanti G, Grimaldi A, Rinaldi L, Arnaboldi F, Congiu T, Valvassori R, et al. The multifunctional role of fibroblasts during wound healing in Hirudo medicinalis (Annelida, Hirudinea). Biology of the Cell 2004; 96(6): 443–55.

62. Eyarefe OD, Amid SA. Small Bowel Wall Respons to Enterotomy Closure with Polypropylen and Polyglactin 910 Using Simple Interrupted Suture Pattern Rats. Int J Anim Vet Adv 2010; 2(3): 72-5.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

Original Article

COMPARISON EFFECT OF BONE MARROW DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS AND STIMULATED BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELLS WITH LIPOPLYSACCHARIDE (LPS) ON HEALING OF INDUCED THIRD-DEGREE SKIN BURN IN MOUSE

Leyla Soleimani[1], Samad Zare[2], Rahim Hobbenaghi[3], Nowruz Delirezh[4], Kiavash Hushmandi[5]*

Received: 11 Oct, 2016; Accepted: 10 Dec, 2016

Abstract

Background & Aims: Burning provides irreparable effects on the affected patient. Several studies show that these cells may contribute to tissue regeneration whether through producing a variety of bioactive growth factors and/or by differentiation into mesoderm lineage. Several studies demonstrate that stimulated mesenchymal stem cells have more therapeutic potential than unstimulated cell in accelerate tissue wound healing. The aim of the present study was to investigate the effect of subcutaneous administration of stimulated bone marrow-derived mesenchymal stem cells with lipopolysaccharide in repairing or regeneration of skin wounds induced by third-degree burn and to compare it with unstimulated Mesenchymal stem cell in mouse model.

Materials & Methods: The third-degree skin burn was induced on male mice (N=27). After 1 hour, based on the equal physical condition mice were randomly divided into three separate groups which included control, mesenchyme and LPS groups and then respectively subcutaneously administered with phosphate buffered saline (PBS; 400 µl), mesenchymal stem cells and stimulated mesenchymal stem cells with LPS (106 cell in 400µl PBS) at the burn site. In order to check the speed of the process of 21-days wound repair, tissue section at days 7, 14, and 21 after induction of burn were prepared and stained with hematoxylin/eosin and Masson's trichrome.

Results: Considering investigated parameters including formation of granulation tissue, angiogenesis, fibroblast proliferation, collagen deposition and the rate and quality of healing of third-degree thermal burns were significantly accelerated in mesenchyme and LPS groups when compared to the control group ($P<0.05$). As well as LPS group in comparison to mesenchymal group was superior in collagen deposition and rate of wound healing.

Conclusion: The results demonstrate that stimulate cells whit LPS improve BMSc's therapeutic effect in some factors of burn wound healing.

Keywords: Burn, Healing, Stimulated mesenchymal stem cell, Lipopolysaccharide

Address: Department of Biology, Faculty of Science, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
Tel: +893833361046
Email: lsoleimany@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2017: 27(11): 1024 ISSN: 1027-3727

[1] Master in Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)
2 Professor of Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran
3Associate Professor of Pathology, Department of Pathobiology, Urmia University, Urmia, Iran
4 Associate Professor of Immunology, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
5 Student of Doctorate Veterinary Medicine, Department of Veterinary Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]