دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وچهارم–شماره ۱۳۰
شهریور ۱۳۹۶

دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۱۸
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۶/۰۵/۲۵
پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۰۱

بررسی پتانسیل درمانی سلول‌های بنیادی خون‌ساز مغزاستخوان در ترمیم زخم دیابتی

نویسندگان: فریبا ظفری[۱]، مرتضی صادقی[۲*]، احسان مغانلو[۳]، مهرداد بختیاری[٤]، شهرام تیموریان[٥]

۱. استادیار گروه آناتومی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی قزوین، قزوین، ایران.
۲. استادیار مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی بقیةا..، تهران، ایران.
۳. کارشناس‌ارشد میکروبیولوژی پزشکی، گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.
٤. دانشیار گروه ژنتیک پزشکی دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
۵. دانشیار گروه ژنتیک پزشکی دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: مرتضی صادقی **E-mail: ms.sadeghi@yahoo.com**

چکیده

مقدمه و هدف: سلول‌درمانی یکی از رویکردهای جذاب و نوین در درمان زخم‌های مزمن است. در این مطالعه، هدف بررسی عملکرد سلول‌های بنیادی خون‌ساز مشتق‌شده از مغزاستخوان (CD93) در درمان زخم‌های دیابتی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از پانزده موش نژاد BALB/c با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد که ده موش قبلاً توسط القاء استرپتوزوتوسین دیابتی شده بودند. زخم پوستی دایره‌ای به‌قطر شش میلی‌متر و عمق دو میلی‌متر در پوست پشت موش‌ها ایجاد شد. موش‌های موردمطالعه در سه گروه به‌صورت موش‌های نرمال فاقد دیابت (sham)، موش‌های دیابتی بدون پیوند سلول CD93 (Control) و موش‌های دیابتی که دو بار تحت پیوند سلول‌های CD93 (سلول1×10^7) قرار گرفتند، تقسیم شدند. پارامترهای سطح زخم، میزان ترمیم زخم و میزان تمایز و بقاء سلول‌های CD93 در محل زخم در روزهای۷ و ۱۴ و ۲۸ بعد از پیوند سلول میکروسکوپ فلورسانس و آنتی‌بادی نشان‌دار DiL و نرم‌افزارهای Image J و SPSS محاسبه و بررسی شد.

نتایج: در بررسی سطح زخم ودرصد بهبودی بیشترین تفاوت به‌ترتیب مربوط به گروه سلول و گروه کنترل بود ($P<0.05$ و $P<0.01$). بررسی ایمونوهیستوشیمی نشانگر زنده‌ماندن و فعالیت سلول‌های بنیادی CD93 در محل زخم تا روز ۲۸ بعد از پیوند بود.

نتیجه‌گیری: پیوند سلول‌های بنیادی CD93 باعث تسریع قابل‌توجه پروسهٔ ترمیم زخم دیابتی می‌شود و این سلول‌ها به‌عنوان گزینهٔ مناسبی برای سلول‌درمانی زخم‌های دیابتی معرفی می‌شوند.

واژگان کلیدی: سلول‌های بنیادی خون‌ساز CD93 ، مغزاستخوان، دیابت، ترمیم زخم.

مقدمه

دیابت شایع‌ترین بیماری غدد درون‌ریز و مهم‌ترین بیماری متابولیک در انسان است. در سال‌های اخیر این بیماری سیر شتابنده‌ای داشته به‌نحوی که اکنون در حدود ۳۵۰ میلیون نفر در جهان مبتلا به آن هستند. همچنین، این بیماری بیشترین میزان بستری در بیمارستان‌ها را به‌علت زخم‌های مزمن به‌خود اختصاص داده است (۱). بیش از ۷۵درصد افراد دیابتی، مبتلا به زخم‌های دیابتی هستند که بیش از ۸۰درصد این زخم‌ها منجر به قطع عضو در بیمار می‌شوند، چنانچه نرخ قطع عضو در بیماران دیابتی ۱۵ تا ۷۰ بار بیشتر از جمعیت عمومی است (۲، ۳).

درمان زخم‌ها در اغلب بیماران دیابتی بسیارکند صورت می‌گیرد و به‌کارگیری روش‌های درمان کمکی برای این بیماران نیز اغلب بی‌اثر و یا کم‌تأثیر است (٤، ٥). در دهۀ اخیر با پیشرفت تکنولوژی، چندین استراتژی درمان موضعی جدید در درمان زخم‌های ترمیم‌ناپذیر به‌صورت تجربی استفاده شده است (٦، ٧). با این حال، اگرچه روش‌های جدید درمانی توسعه یافته‌اند، بسیاری از زخم‌های مزمن، بدون درمانِ رضایت‌بخش باقی مانده‌اند و برای درمان آن‌ها بایدِ استراتژی‌های درمان مؤثرتر استفاده شود. ترمیم بهینۀ زخم پوستی نیاز به هماهنگی و ادغام بین حوادث پیچیدۀ بیولوژیکی و مولکولی نظیر مهاجرت سلولی، تکثیر، ماتریکس خارج سلولی (ECM)، رگ‌زایی و بازسازی سلولی دارد. این توالی منظم از حوادث سلولی و مولکولی در دیابت مختل می‌شود و سبب به‌خطرافتادن التیام زخم می‌شود (۸). فاکتورهای زیستی زیادی در عدم‌ترمیم زخم دخالت دارند که مهم‌ترین آن‌ها شامل تولید ناقص سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های التهابی محل زخم و فیبروبلاست‌ها و کاهش بازسازی بافتی و رگ‌زایی است (۹، ۱۰). سلول‌درمانی یکی از رویکردهای جدید و جذاب در درمان زخم‌های غیرترمیمی یا سخت‌ترمیم است (۱۱). این شاخه از پزشکی ترمیمی در درجۀ اول بر روی سلول‌های بنیادی تمرکز می‌کند. از ویژگی‌های این سلول‌ها قدرت خودترمیمی طولانی آن‌ها و قابل‌تبدیل‌شدن به انواع سلول‌های بافت‌های مختلف است (۱۲). امروزه، مشخص‌شده که سلول‌های بنیادی علیرغم حضور در بافت‌های جنینی (تودۀ سلولی داخلی) در اغلب بافت‌های افراد و حیوانات بالغ نیز وجود دارد که سبب حفظ بازسازی و هموستاز بافتی می‌گردد (۱۳). تحقیقات نشان داده است که سلول‌های بنیادی مشتق از مغزاستخوان، سبب بیان قابل‌توجهی در تعداد سلول‌های اپیتلیال می‌شود که این فرایند در حین ترمیم زخم به‌وقوع می‌پیوندد و حداکثر میزان آن در روزهای ۳ تا ۵ می‌باشد (١٤، ١٥). همچنین، روند تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های اپیتلیال آسیب‌دیده در محل زخم مزمن، مکانیسم دیگری است که در روند ترمیم زخم با استفاده از سلول‌های مزانشیمیی مشتق از مغزاستخوان مشاهده شده است (١٦). تحقیقات جدید نشان می‌دهد که سلول‌های بنیادی مغزاستخوان با افزایش قابل‌توجه در تولید ماتریکس کلاژنی محل زخم، سبب القاء روند رگ‌زایی و بهبود خون‌رسانی به محل زخم و ترمیم محل می‌شوند (۱۷). مطالعات بر روی زخم‌های بهبودنیافته و مزمن‌شده در انسان‌ها نشان داد که استفاده از سلول‌های بنیادی مغزاستخوان در محل زخم، سبب زودتر بسته‌شدن محل و بهبود روند درمان خواهد شد و حتی در زخم‌های حاد در انسان نیز استفاده از همین سلول‌ها با تولید فیبرهای الاستیک، به ترمیم زخم محل ضایعه کمک شایانی نموده است که این موضوع نشانگر ضرورت و اهمیت تحقیقات بیشتر در این رابطه است (۱۸). با توجه به شیوع بالای دیابت و همچنین آمار فزایندۀ قطع عضوهای ناشی از زخم‌های دیابتی در کشور و از طرفی اهمیت شناخت بیشتر پتانسیل درمانی سلول‌های بنیادی در ترمیم زخم‌های دیابتی، هدف این مطالعه بررسی امکان استفاده از سلول‌های بنیادی خون‌ساز CD93 در ترمیم زخم‌های دیابتی بود.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ حیوان آزمایشی

در این مطالعه از بیست موش سوری بالغ با وزن حدود ۲۵ تا ۳۰ گرم استفاده شد. یک هفته بعد از شروع کار، موش‌ها در چهار گروه ۵ تایی تقسیم‌بندی شدند. تمامی گروه‌ها تحت شرایط استاندارد یکسان و رژیم غذایی مناسب نگهداری شدند.

ایجاد مدل دیابتی

مدل دیابتی توسط تزریق داروی استرپتوزوتوسین (STZ) به‌مقدار ٦٥ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به‌شکل داخل صفاقی ایجاد شد (۱۹). در ٢٤ ساعت اول بعد از تزریق STZ همراه با غذای فشرده، به‌جای آب معمولی محلول ۵درصد گلوکز در آب برای حیوان استفاده و پس از ٢٤ ساعت اول، آب معمولی به حیوان داده شد. از زمان تزریق دارو، بعد از ۷۲ ساعت قند خون برای اثبات دیابت اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری قند خون به‌روش گلوکز اکسیداز و با استفاده کیت موردنظرانجام شد. در این روش قند خون بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم نشان‌دهندهٔ ابتلای حیوان به دیابت است.

ایجاد زخم و نحوهٔ بررسی درمان

بعد از بیهوش‌کردن حیوانات به‌وسیلهٔ کتامین (50mg/kg) و زیلازین (5mg/kg)، موهای ناحیه پشت حیوان تراشیده شد و بعد از شست‌وشو با بتادین، به‌کمک پانچ پوستی دایره‌ای به‌قطر شش میلی‌متر و عمق دو میلی‌متر از پوست با ضخامت کامل از لایهٔ زیرین جدا شد. حیوانات به ٤ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه I، گروه موش‌های سالم فاقد دیابت (sham)، گروه II موش‌های دیابتی (control) بدون دریافت سلول، گروه III موش‌های دیابتی با تزریق سلول‌های HSC در محل زخم (2×10^6 سلول). در مرحلهٔ بعد، محل زخم پانسمان شد و موش‌ها به محیط طبیعی قبلی بازگردانده شدند.

تهیه و کشت سلول‌های بنیادی CD93

سلول‌های CD93 قبلاً توسط همین گروه از مغز قرمز استخوان موش، جداسازی‌شده بودند و توسط دستگاهFACS SORTER و آنتی‌بادی‌های Mouse Hematopoietic Lineage eFluor® 450 Cocktail (affymetrix و AntiCD93 antibody(ab16285- 1/100- unconjugated) تأیید شده بودند. جهت کشت سلول‌ها از محیط کشت Stem span استفاده شد که FBS ۱۰درصد، ui/ml ۱۰۰ penicillin و ۱۰۰µg/ml Sterptomycin،SCF به میزان ۵۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر، IL-6 و TPO به میزان ۳۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر به آن افزوده شد. سلول‌ها پس از کشت در انکوباتور با ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد و CO2 ۵درصد، نگهداری شدند و تعویض محیط کشت در فواصل زمانی سه روز یک‌بار انجام شد.

بررسی‌های ماکروسکوپی اندازهٔ زخم

روند ترمیم زخم‌ها در روزهای ۷ و ١٤ و ۲۸ بعد از جراحی بررسی شد. عکس‌برداری از محل زخم با دوربین دیجیتال متصل به لوپ با فاصلهٔ یکسان ار زخم در تمام نمونه‌ها انجام شد و در مرحلهٔ بررسی با استفاده از نرم افزارImage J ابتدا سطح زخم محاسبه و سپس درصد بهبودی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد. در تمامی محاسبات $P<0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

درصد بهبود زخم= [(سطح زخم در روز اول–سطح زخم در روز n)/سطح زخم در روز اول] *۱۰۰

نشان‌دارکردن سلول‌ها با استفاده از DiI

جهت نشان‌دارکردن سلول‌ها از DiI استفاده شد. برای این منظور، پیش از جایگزینی سلول‌ها بروی سطح زخم، ابتدا محیط کشت سلولی خارج شد و به‌ازای هر سی‌سی از محیط کشت جدید، دو سی‌سی محلول رقیق‌شده DiI اضافه شد. (۵ میکرولیتر از محلول DiI با ۲٤۹۵ میکرولیتر از محلول HBSS رقیق شد) سپس فالکون‌ها در فویل پیچیده شد و پنج دقیقه انکوبه گردید و در نهایت پنج دقیقه در ٤ درجه قرار داده شد. به‌منظور جلوگیری از تابش نور به سلول‌ها در نمونه‌هایی که جهت انجام مطالعه ایمیونوهیستوشیمی با DiI نشان‌دار شده بودند، پلیت‌ها توسط فویل کامل پوشانده شد. پنج روز پس از کشت سلول‌های نشان‌دار، مراحل آماده‌سازی سلول‌ها انجام شد و نهایتا 2×10^6 سلول در هریک از محل‌های زخم تزریق شد.

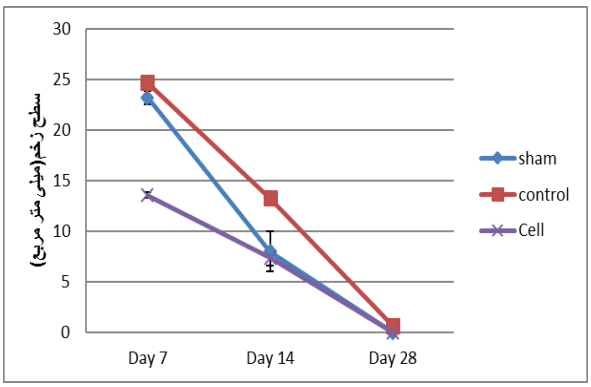
بررسی ایمیونوهیستوشیمی (IHC) حضور و حیات سلول‌های CD93 در محل زخم

برای بررسی میزان حضور سلول‌های HSC در محل زخم، پنج مقطع بافتی به ضخامت ۵ میکرون، جهت بررسی تعداد سلول‌ها ی لانه‌گزینی‌شده از دو حیوان تهیه شد. سلول‌های بنیادی خون‌ساز CD93 که توسط CM-DiI نشان‌دار شده بودند، بعد از آماده‌سازی بافت و تکنیک IHC مستقیماً توسط میکروسکوپ فلوروسنت و نرم‌افزارOLYSIA Bio Report Soft Imaging System مشاهده و حضور سلول‌های نشان‌دارشده توسط DiI در بافت محل ترمیم اثبات شد.

نتایج

بررسی میزان ترمیم زخم در روزهای ۷و ۱۴و ۲۸

پس از بررسی تصاویر تهیه‌شده از مراحل ترمیم زخم در روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۸ با استفاده از نرم‌افزار Image J تفاوت معنی‌داری در سطوح زخم گروه‌های موردمطالعه مشاهده شد، چنانچه بیشترین و کمترین سطح زخم به‌ترتیب، مربوط به گروه‌های کنترل و گروه دریافت‌کنندهٔ سلول‌های بنیادی HSC بود (P<0.01**) و گروه موش‌های فاقد دیابت (Shem) از لحاظ سطح زخم در بین این دو گروه قرار داشتند؛ بنابراین دریافت سلول‌های بنیادی HSC باعث افزایش سرعت بسته‌شدن زخم در موش‌های دیابتی و حتی زودتر بسته‌شدن سطح زخم نسبت به موش‌های سالم شده بود (نمودار و جدول ۱).



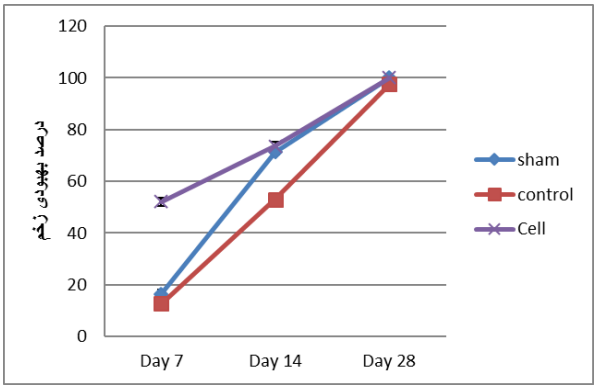
نمودار ۱. بررسی سطح زخم در ۳ گروه موردمطالعه در روزهای ۷و ۱۴ و ۲۸ پس از ایجاد زخم

جدول ۱. مقایسهٔ سطح زخم در گروه‌های موردمطالعه در روزهای ۷ و ۱۴

گروه‌های مورد مقایسه	P value
روز ۷	
Sham-Control	0.08
Sham-Cell	0.00**
Control-Cell	0.00**
روز ۱۴	
Sham-Control	0.00**
Sham-Cell	0.869
Control-Cell	0.00**

بررسی درصد بهبودی زخم در روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۸

در بررسی و محاسبهٔ درصد بهبودی و ترمیم زخم‌ها سه گروه، در روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۸ بعد از جراحی، یافته‌ها با یافته‌های سطح زخم همخوانی داشت و منحنی درصد بهبودی در این سه گروه از روز ۷ تا ۲۸ پیوسته در حال افزایش بود. در بین سه گروه، بیشترین اختلاف درصد بهبودی، بین گروه دریافت‌کنندهٔ سلول‌های HSC و گروه کنترل بود (P<0.01**) و این دو گروه به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین درصد ترمیم زخم بودند که این یافته‌ها نشانگر عملکرد مثبت و سازندهٔ سلول‌های HSC در ترمیم زخم می‌باشد (نمودار و جدول ۲)



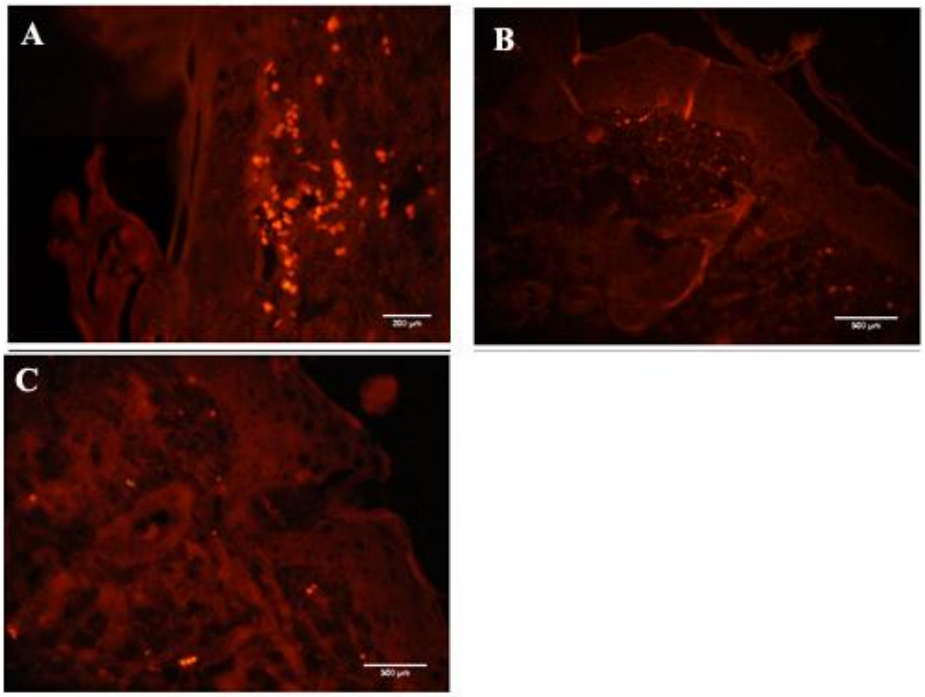
نمودار ۲. درصد بهبودی زخم در گروه‌های موردمطالعه در روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۸ پس از ایجاد زخم.

جدول۲. بررسی درصد بهبودی زخم در گروه‌های موردمطالعه در روزهای ۷ و ١٤ بعد از ایجاد زخم

گروه‌های موردمقایسه	P value
روز۷	
Sham-Control	0.8
Sham-Cell	0.00**
Control-Cell	0.00**
روز ۱۴	
Sham-Control	0.00**
Sham-Cell	0.47
Control-Cell	0.00**

بررسی میزان بقاء و تمایز سلول‌های بنیادی خون‌ساز CD93 در محل زخم

بررسی ایمونوهیستوشیمی درمورد حضور سلول‌های بنیادی CD93 که قبل از پیوند با رنگ DiI نشان‌دار شده بودند در روزهای ۷ و ١٤ و ۲۸ پس از پیوند سلول‌ها در محل زخم انجام شد؛ بررسی‌ها نشانگر حضور و زنده‌بودن سلول‌های CD93 تا روز ۲۸ بعد از پیوند در محل زخم بود. بر اساس این بررسی تعداد سلول‌های زنده CD93 از روز ۷ تا ١٤ و ۲۸ پس از پیوند به‌ترتیب کاهش پیدا کرده بود؛ ولی در روز ۲۸ نیز همچنان جمعیت مناسبی از سلول‌های زندهٔ CD93 در محل زخم وجود داشتند که این یافته نشانگر پایداری و سازگاری بالای این سلول‌ها در محل زخم می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ فلورسانس از سلول‌های CD93 نشان‌دارشده با DiI.

تصویر حضور سلول‌های CD93 را در روزهای هفتم (A)، چهاردهم (B) و بیست‌وهشتم (C) بعد از تزریق در محل زخم نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

ترمیم ناقص و ضعیف زخم‌ها یکی از معضلات اصلی بیماران دیابتی است که در موارد زیادی منجز به قطع عضو و حتی مرگ بیمار می‌شود. اگر چه مطالعات آزمایشگاهی یافته‌های نویدبخشی برای حل این معضل گزارش کرده‌اند؛ ولی برخی درمان‌های کیلینیکی تأثیرات متناقضی را نشان داده است (۳، ۲۰). بنابراین، تحقیق برای یافتن روش‌های درمانی جدید به‌شدت موردتوجه است. مطالعات قبلی دلالت بر این دارد که سلول‌های بنیادی مغزاستخوان می‌تواند در درمان زخم‌ها مورداستفاده قرار گیرد؛ زیرا این سلول‌ها پتانسیل بالایی در همانندسازی و توانایی تمایز به انواع سلول‌های دیگر و همچنین، تولید سایتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد را دارند که می‌تواند در روند ترمیم زخم بسیار کمک کننده باشد (۲۱). در این مطالعه ما به بررسی تأثیر سلول‌های بنیادی خون‌ساز CD93 در درمان زخم دیابتی و همچنین بررسی میزان پایداری این سلول‌ها در محل زخم پرداختیم. طبق یافته‌های این مطالعه، پیوند این سلول‌ها به‌طور چشمگیری روند بهبود زخم را در موش‌های دیابتی تسریع می‌بخشد و همچنین جمعیت مناسبی از سلول‌ها تا روز ۲۸ بعد از پیوند در محل زخم، فعال باقی می‌ماند.

در مطالعات هم‌راستا *بارسلوس*[1] و همکارانش نشان دادند که پیوند سلول‌های CD133 انسان به موش‌های دیابتی القاشده با ST2، سرعت جمع‌شدن و ترمیم زخم حیوان را بالابرده و تراکم موی‌رگ‌ها را در بافت گرانوله افزایش می‌دهد (۲۲). در یک مطالعهٔ انسانی بر روی زخم‌های مزمن، *چاو*[2] و همکارانش نشان دادند که استفاده مستقیم از سلول‌های مشتق‌شده از مغزاستخوان می‌تواند سبب بسته‌شدن زخم شده و امکان تجدید ساختار بافت ز طریق تمایز مستقیم و ترشح فاکتورهای رشد وجود دارد (۲۳). در مطالعه‌ای دیگر *شوماکوف*[3] و همکارانش در بررسی اثرات درمانی سلول‌های مزانشیمال مغزاستخوان در ترمیم پوست، نشان دادند که در موش‌های صحرایی درمان‌شده با سلول‌های بنیادی مغزاستخوان به‌واسطهٔ تحریک تشکیل بافت گرانوله وسیع تر، عروق‌زایی بیشتر و تحریک شکل‌گیری کلاژن با نظم و آرایش بافتی بهتر، سرعت و کیفیت بهبود به‌صورت چشمگیری افزایش می‌یابد (۲٤). چن و همکارانش در بررسی مسیرهای ملکولی فعال‌شونده توسط سلول‌های مزانشیمی مغزاستخوان در ترمیم زخم در دو مدل دیابتی و غیردیابتی موش دریافتند که این سلول‌ها قادر به آزادسازی فاکتورهایی چونVEGF و Angiopointin1، IGF، EGF، KGF، SD factor-1 هستند و این فاکتورها سبب رجوع مونوسیت‌های CD14، کراتینوسیت و اندوتلیال در بافت زخم‌شده گردیده که از این طریق، روند ترمیم تسریع می‌شود (۲۵). در این مطالعه همچنین، ما در بررسی میزان بقاء و پایداری سلول‌های بنیادی خون‌ساز CD93 در محل زخم دریافتیم که جمعیت مناسبی از این سلول‌ها تا روز ۲۸ بعد از پیوند در محل زخم باقی می‌مانند که این یافته نشانگر پایداری بالا و حفظ ماهیت بنیادی این سلول‌ها در عرض ۲۸ روز می‌باشد که می‌تواند تأثیر بسزایی در تقویت روند درمان داشته باشد. *بورو*[4] و همکارانش در مطالعه‌ای مشابه نشان دادند که فعالیت ترمیمی سلول‌های HSC در موش چند روز بعد از ایجاد زخم شروع شده و تا ۲۱ روز بعد از آن هم افزایش نشان دادند؛ اما بیشترین این میزان در روزهای ۳ تا ۵ گزارش شده است. این افزایش به‌دنبال یک افزایش فعالیت میتوزی در این سلول‌ها در مجاورت زخم اتفاق می‌افتد (۲٦). نتایج این مطالعه و مطالعات قبلی، پیشنهاد می‌کند که پیوند HSC می‌تواند با آزادسازی فاکتورهای رشد مناسب و همچنین فراخواندن سلول‌های خونی مؤثر در درمان، برای درمان زخم‌های پوستی دیابتی که خصوصاً با کاهش جریان خون محیطی همراه هستند و به ترمیم، پاسخ خوبی نمی‌دهند مؤثر باشد. همچنین، به‌نظر می‌رسد برقراری

[1]. Barcelos
[2]. Cha
[3]. Shumakov
[4]. Borue

مجدد اتصالات سلولی در ناحیهٔ آسیب‌دیدهٔ پوستی روند ترمیم زخم را تسریع می‌کند، اگرچه نقش جمعیت هتروژن سلول‌های بنیادی خون‌ساز مشتق از مغزاستخوان در ترمیم زخم در تحقیقات اخیر استفاده شده است؛ ولی بررسی نقش تک‌تک جمعیت‌های سلولی خاص موجود در سلول‌های HSC هنوز انجام نشده است.

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، طبق یافته‌های این مطالعه استفاده از پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز CD93 در زخم‌های دیابتی تأثیر قابل‌توجهی در تسریع درمان زخم و بسته‌شدن محل زخم دارد. همچنین، با بررسی مارکرهای اختصاصی این سلول‌های بنیادی، تأیید شد که حتی با گذشت ۲۸ روز از درمان، تعدادی قابل‌توجهی از سلول‌ها به‌صورت بنیادی و تمایزنیافته در زخم باقی مانده بودند. به‌نظر می‌رسد شناخت مسیرهای مولکولی فعال‌شده توسط این سلول‌ها در محیط زخم در مطالعات بعدی در روشن‌شدن نحوهٔ تسریع درمان زخم توسط این سلول‌ها بسیار مؤثر باشد.

تقدیر و تشکر

در این قسمت، از دانشگاه علوم پزشکی ایران به‌خاطر فراهم‌کردن امکانات و فضای لازم برای انجام این مطالعه صمیمانه تشکر می‌شود.

منابع

1. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. RoglicGlobal prevalence of diabetes estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care 2004; 27(5): 1047-1053.
2. Fazeli FS, van der Aa MP, van der Vorst MM, Knibbe CA, de Boer A. Global trends in the incidence and prevalence of type 2 diabetes in children and adolescents: A systematic review and evaluation of methodological approaches. Diabetologia 2013; 56(7):1471–1488.
3. Holstein P, Ellitsgaard N, Olsen BB, Ellitsgaard V. Decreasing incidence of major amputations in people with diabetes. Diabetologia 2000; 43(7):844–847.
4. Jeffcoate WJ, Price PE, Phillips CJ, Game FL, Mudge E, Davies S, et al. Randomised controlled trial of the use of three dressing preparations in the management of chronic ulceration of the foot in diabetes. Health Technology Assessment 2009; 13(54):1-110.
5. Jude EB, Apelqvist, Spraul M, Martini J. Prospective randomized controlled study of Hydrofiber dressing containing ionic silver or calcium alginate dressings in non-ischaemic diabetic foot ulcers. Diabetic Medicine 2007; 24(3): 280-8.
6. Greaves NS, Iqbal SA, Baguneid M, Bayat A. The role of skin substitutes in the management of chronic cutaneous wounds. Wound Repair Regen 2013; 21(2): 194–210.
7. Moura LI, Dias AM, Carvalho E, de Sousa HC. Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment–A review. Acta Biomater 2013; 9(7): 7093–7114.
8. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. Lancet 2005; 366(9498): 1736–1743.
9. Brem H, Sheehan P, Rosenberg HJ, Schneider JS, Boulton AJ. Evidence-based protocol for diabetic foot ulcers. Plastic and Reconstructive Surgery 2006; 117(7): 193-209.
10. Nwomeh, B. C.; Yager, D. R.; Cohen, I. K. Physiology of the chronic wound. Clinics in Plastic Surgery 1998; 25(3): 341–356.
11. Yang, M.; Sheng, L.; Zhang, T. R.; Li, Q. Stem cell therapy for lower extremity diabetic ulcers: Where do we stand?. BioMed Research International 2013; 2013: 1-8.
12. Dimarino, A. M.; Caplan, A. I.; Bonfield, T. L. Mesenchymal stem cells in tissue repair. Front. Immunol 2013; 4: 1-9.
13. Weissman I L, Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. Cell 2000; 100(1): 157-168.
14. Borue X1, Lee S, Grove J, Herzog EL, Harris R, Diflo T. Bone marrow-derived cells contribute to epithelial engraftment during wound healing. The American Journal of Pathology 2004; 165(5): 1767-1772.
15. Cha J, Falanga V. Stem cells in cutaneous wound healing. Clinics in Dermatology 2007; 25(1): 73-78
16. Nakagawa H1, Akita S, Fukui M, Fujii T, Akino K. Human mesenchymal stem cells successfully improve skin substitute wound healing. The British Journal of Dermatology 2005; 153(1): 29-36.
17. Ichioka S1, Kouraba S, Sekiya N, Ohura N, Nakatsuka T. Bone marrow-impregnated collagen matrix for wound healing: experimental evaluation in a microcirculatory model of angiogenesis, and clinical experience. British Journal of Plastic Surgery 2005; 58(8): 1124-1130.
18. Wettstein R, Savic M, Pierer G, ScheufleR O, Haug M, HalteR J. Progenitor cell therapy for sacral pressure sore: a pilot study with a novel human chronic wound model. Stem Cell Research & Therapy 2014; 5(1): 5-18.
19. Maharlooei M, Bagheri M, Solhjou Z, Jahromi B, Akrami M, et al. Adipose tissue derived mesenchymal stem cell promotes skin wound

healing in diabetic rats. Diabetes Research and Clinical Practice 2011; 93: 228-234.

20. **Cavanagh P R, Lipsky BA, Bradbury AW, Botek G. Treatment for diabetic foot ulcers. Lancet 2005; 366(9498): 1725–1735.**
21. **Kim, J. Y. and W. Suh. Stem cell therapy for dermal wound healing. Journal of Stem Cells 2010; 3(1): 29**.
22. **Barcelos LS1, Duplaa C, Kränkel N, Graiani G, Invernici G, Katare R, et al. Human CD133+ progenitor cells promote the healing of diabetic ischemic ulcers by paracrine stimulation of angiogenesis and activation of Wnt signaling. Circulation Research 2009; 104(9): 1095-1102**.
23. **Cha J, Falanga V. Stem cells in cutaneous wound healing. Clinics in Dermatology 2007; 25(1): 73-78**.
24. **Shumakov VI1, Onishchenko NA, Rasulov MF, Krasheninnikov ME, Zaidenov VA. Mesenchymal bone marrow stem cells more effectively stimulate regeneration of deep burn wounds than embryonic fibroblasts. Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2003; 136(2): 192-195**.
25. **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**.
26. **Borue X1, Lee S, Grove J, Herzog EL, Harris R, Diflo T. Bone marrow-derived cells contribute to epithelial engraftment during wound healing. American Journal of Pathology 2004; 165(5): 1767-1772.**

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University
24th Year, No.130
August- September 2017

Received: 09/07/2017
Last revised: 16/08/2017
Accepted: 23/08/2017

Evaluation of therapeutic potential of bone marrow hematopoietic stem cells in diabetic wound healing

Fariba Zafari[1], Morteza Sadeghi*[2], Ehsan Moghanloo[3, 4], Mehrdad Bakhtiyari[1], Shahram Teimourian[3]

1. Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.
2. Human Genetic Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Department of Medical Genetics, Iran University of Medical Sciences. Tehran, Iran.
4. Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

*** Corresponding author e-mail: ms.sadeghi@yahoo.com**

Abstract

Background and Objective: Cell therapy is one of the attractive and novel approaches in the treatment of chronic wounds. The aim of this study was to evaluate the function of bone marrow derived hematopoietic stem cells (CD93) in the treatment of diabetic ulcers.

Materials and Methods: In this study, 15 BALB/c strain mice, weighing 25-30 g were used, of which 10 were made diabetic by streptozotocin (STZ). Circular skin lesions 6 mm in diameter and 2 mm depth were created in the skin of mice. Studied mice were divided into 3 groups including normal mice without diabetes (sham), diabetic mice without transplanted CD93 cells (Control) and diabetic mice that underwent CD93 cell transplantation twice (density of cells: 1 × 107). The parameters of wound area, wound healing, differentiation and survival of CD93 cells were calculated on days 7, 14 and 28 after cell transplantation using the fluorescent microscope and DiL labeling antibody with Image J and SPSS softwares.

Results: The most difference in the level and rate of healing was related to cell group and the control group, respectively ($p < 0.05$ and $p < 0.01$). Immunohistochemical study of CD93 marker showed viability and activity of stem cells at the wound site until 28 days after transplantation.

Conclusion: CD93 stem cell transplantation significantly accelerated diabetic wound healing process and these cells are introduced as an appropriate option for diabetic wounds cell therapy.

Keywords: CD93 hematopoietic stem cells, Bone marrow, Diabetes, Wound healing