مقاله تحقیقی

بررسی اثر تزریق داخل میوکاردی ترشحات سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان در انفارکتوس میوکارد در خرگوش های نر

نرگس کاکادزفولی[1]، مریم ناصرالاسلامی[2]، ناهید ابوطالب*[1]

۱. گروه فیزیولوژی پزشکی،دانشگاه علوم پزشکی ایران،تهران ایران
۲. گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، علوم پزشکی تهران،دانشگاه آزاد اسلامی ،تهران ،ایران

***مسئول مکاتبات:**dr_nabo40@yahoo.com

محل انجام تحقیق: گروه فیزیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران

تاریخ دریافت:۹۷/۸/۱۸ تاریخ پذیرش:۹۷/۹/۴

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۳ - شماره ۱ - بهار ۱۳۹۷

چکیده

با وجود مطالعات مختلف در زمینه سلول های بنیادی در درمان بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های قلبی ابهامات زیادی درباره چگونگی اثر سلول‌ها و ترشحات آن‌ها باقی‌مانده است. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثر ترشحات سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان در انفارکتوس میوکارد در خرگوش‌های نر می‌باشد. دراین مطالعه ۳۰ سر خرگوش نر بالغ به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند (n=10) و انفارکتوس میوکارد در دو گروه ایجاد شد و در یک گروه تزریق سوپ سلولی به میوکارد خرگوش‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد انجام گرفت. سپس در هفته‌های اول، چهارم و هشتم پارامترهای قلبی HF, EF توسط اکوکاردیوگرافی اندازه‌گیری شد. پس از سنجش فاکتور TNF-α در سرم، بافت قلب خارج شد و میزان رگزایی و فیبروز بررسی شد. در گروه تیمار شده با ترشحات سلول‌های بنیادی به طور معناداری پارامترهای قلبی (EF ،FS) و آنژیوژنزیس افزایش یافت و کاهش میزان TNF-α، بافت فیبروزه قلبی نسبت به گروه انفارکتوس میوکارد معنادار بود ($P<0.05$). با توجه به بهبود بافت قلب و پارامترهای قلبی در این مطالعه به نظر می‌رسد ترشح سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان، اثرات درمانی بر انفارکتوس میوکارد دارد.

واژه‌های کلیدی: انفارکتوس میوکارد، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان، سوپ سلولی

مقدمه

در انفارکتوس میوکارد جریان خون به اندازه‌ای کاهش می‌یابد که قادر به تامین اکسیژن مورد نیاز بافت قلبی نیست و در نتیجه باعث مرگ سلول‌های قلبی و ایجاد التهاب می‌گردد. در پروسه التهاب، سایتوکاین‌های زیادی از جمله فاکتور نکروز دهنده تومور(TNF-α)، اینترلوکین‌ها آزاد می‌شود که سبب القای بیشتر نکروز در سلول های مجاور و ایجاد فیبروز در بافت می‌گردد (۱). بنابراین، استفاده از روشی که پیامد آن جبران سلول های از دست رفته و کاهش التهاب است می‌تواند در درمان این بیماری مفید باشد. امروزه استفاده از سلول‌های بنیادی برای بازسازی مجدد ناحیه فیبروز شده و کاهش التهاب بافتی،

ایده‌ای نسبتا جدید در درمان انفارکتوس میوکارد است، زیرا این سلول‌ها با سه مکانیسم، عمل محافظتی خود را انجام می دهند. یکی از این مکانیسم‌ها، نوسازی و ترمیم میوکارد است که با تمایزیافتن به کاردیومیوسیت ها، این عمل را انجام می دهند (۲). ترشح فاکتورهای رشد و فاکتورهای ضد التهابی به صورت پاراکرین مکانیسم دیگری است که در درمان انفارکتوس میوکارد نقش دارد. در سال ۲۰۱۳، Arsalan و همکاران مشاهده کردند اثرات تزریق سلول های بنیادی مزانشیمال به میوکارد بطن چپ اثرات موضعی و محدود به محل تزریق، نداشته بلکه اثرات مثبت آن در بهبود وضعیت قلبی بر کل عضله قلب به صورت عمومی و به یک میزان بوده است که این پدیده تنها با در نظر گرفتن اثرات پاراکرینی توجیه می‌شود (۳). مکانیسم دیگر، آنژیوژنز است که رشد رگ‌های خونی جدید از رگ‌های موجود می باشد. ابتدا فاکتورهای رشد پیش‌برنده آنژیوژنز، رسپتورها را در سطح سلول‌های موجود در رگ‌های موجود قبلی فعال می‌کند، سپس پروتئازهایی از اندوتلیال آزاد می‌شوند که غشای پایه را تجزیه می‌کند تا سلول‌های اندوتلیال اجازه حرکت از محل اولیه شان را پیدا نمایند (۴). اگرچه استفاده از سلول درمانی موفقیت‌هایی چه در in vivo و چه در in vitro در درمان بیماری‌ها ی قلبی نشان داده است (۵، ۶)، اما از آنجایی که استفاده از این سلول ها با مشکلاتی از قبیل فیوژن، پس زدن و تمایز به بافتهای ناخواسته همراه است هدف از این مطالعه بررسی اثر ترشحات سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان بر پارامترهای قلبی، بافت قلبی و فاکتورهای التهابی در آنفارکتوس میوکارد است که در صورتی که اثر مفیدی بر بافت آسیب دیده داشته باشند تزریق ترشحات سلولی به عنوان جایگزین تزریق سلول‌های بنیادی در قلب پیشنهاد می شود.

مواد و روش ها

تهیه و کشت سلول

بعد از اخذ رضایت نامه کتبی ۱۰ میلی لیتر نمونه آسپیره مغز استخوان از اهداکنندگان سالم از مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران تهیه شد. سپس سلول‌های تک هسته ای با استفاده از روش شیب غلظت روی فایکول جدا گردید و در محیط کشت DMEM حاوی FBS (Fetal Bovine Serum) 10%، ال گلوتامین (۲ mM)، پنی سیلین (۱۰۰U/ml)، استروپتومایسین (۱۰۰µg/ml)، اسیدهای آمینه غیر ضروری (1%Gibco) در۳۷ درجه سانتی گراد و ٪۵ دی اکسید کربن کشت شدند.

تهیه ترشحات سلول های مزانشیمال مغز استخوان

سلول‌های مزانشیمال کشت داده شده را از فلاسک ۷۵، پس از سومین پاساژ با PBS شستشو داده و سپس در سرم آزاد MEM-α(minimum essential medium α modification) انکوبه کردیم. پس از ۲ روز سوپرناتانت آن جمع آوری شد. پس از عبور از صافی به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰ rpm سانتریفیوژ و با فیلتر ۰/۲۲ um فیلتر شد. محلول حاصل که عاری از سلول شده، سوپ سلولی می‌باشد.

انتخاب حیوان

در این پژوهش ۳۰ سر خرگوش نر نیوزلندی بالغ به طور تصادفی به ۳ گروه ۱۰ تایی شامل گروه کنترل، انفارکتوس میوکارد، انفارکتوس میوکارد و تزریق سوپ سلولی تقسیم شدند.

جراحی

ابتدا وزن حیوان‌ها اندازه‌گیری شد و بر همین اساس میزان داروی بیهوشی، آنتی بیوتیک و سرمی تزریقی به حیوان محاسبه شد. در مرحله بعد حیوان با تزریق کتامین زایلوزین بیهوش و بعد از شیو شدن ناحیه جراحی، اینتوبه شده و به ونتیلاتور متصل گردید. آنگاه چهارمین فضای بین دنده ای چپ برش داده شده و قلب در معرض دید قرار گرفت. پریکارد به آرامی باز شد و شریان LAD را جدا کرده و شاخه های فرعیdiagonal را نیز مشخص نموده با استفاده از نخ بخیه ۶/ ۰ کرومیک بین شاخه دایگنال اول و دوم را گره زده که با قطع جریان خون کرونر چپ دیواره قدامی بطن چپ کم کم تغییر رنگ داده و ارغوانی می شود؛ با مشاهده تغییر رنگ اطمینان حاصل می‌شود که انفارکتوس ایجاد شده است. در یک گروه ۱۵۰ µl از سوپ سلولی در داخل، بالا و پایین شریان کرونری بسته شده تزریق شد و

پس از دوختن عضلات و پوست بعد از بهوش آمدن حیوان، برای کاهش درد ترامادول تزریق گردید و از سفازولین به عنوان آنتی بیوتیک استفاده شد.

بررسی عملکرد قلب توسط اکو کاردیوگرافی

هفته اول، چهارم و هشتم پس از جراحی، اکوکاردیوگرافی با دستگاه اکوکاردیوگرافی (VVIDE 3; General Electric) سنجیده شد. بدین منظور ابتدا خرگوش‌ها با تزریق IM زایلوزین و کتامین بیهوش شدند و سپس اکوکاردیوگرافی انجام شد و پارامترهای Ejection Fraction (EF %), Fraction Shortening (FS %) بررسی گردید.

بررسی فاکتورهای التهابی

هفته اول، چهارم و هشتم هر هفته ۱ سی سی خون از عروق گوش همه خرگوش‌ها گرفته شد و سایتوکاین TNF-α در سرم توسط الایزا در طول موج ۴۵۰ بررسی شد.

مطالعات بافتی

پس از اکوکاردیوگرافی، بافت قلب در تمامی گروه‌ها خارج شد. میزان فیبروز توسط رنگ آمیزی تری کروم ماسون و میزان آنژیوژنزیس توسط رنگ آمیزی آلکالین فسفاتاز انجام شد.

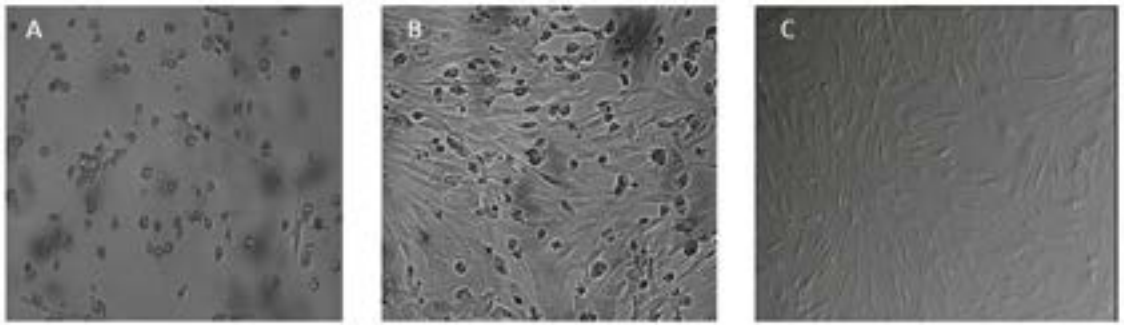
آنالیز آماری

برای انجام کارهای آماری، ابتدا پس از انتقال عکس‌های گرفته شده توسط دوربین دیجیتال و میکروسکوپ نوری متصل به رایانه، از نرم افزار IMAGE J برای محاسبه سطح فیبروز، تعداد عروق استفاده گردید و از نرم افزار SPSS 21. (0) جهت آنالیز آماری نتایج استفاده شد. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار (Mean±SD) بیان گردیده است. برای مقایسه گروه‌ها از t-test استفاده شد. اختلاف بین گروه‌ها در صورتی معنی‌دار تلقی شده است که (P<0. 05) باشد.

نتایج

کشت سلول

مان طور که در شکل ۱ دیده می‌شود ۳ روز پس از جداسازی سلول های شبیه فیبربلاست (سلول‌های دوکی شکل) و سلول‌های هماتوپوئتیک در محیط کشت دیده شدند و از حدود روز دهم تکثیر سلول های فیبروبلاست افزایش یافت و در روز چهاردهم پس از جداسازی تراکم سلول های مزانشیمی در کف فلاسک به حدود ۸۰ در صد رسید (شکل ۱).



شکل ۱ - مورفولوژی سلول‌های بنیادی در زمان های مختلف پس از جدا سازی از بافت استخوان.بزرگنمایی ۴۰، A. جداسازی سلول در روز ۳، B. جداسازی سلول در روز ۱۰، C. جداسازی سلول در روز ۱۴.

اکوکاردیو گرافی

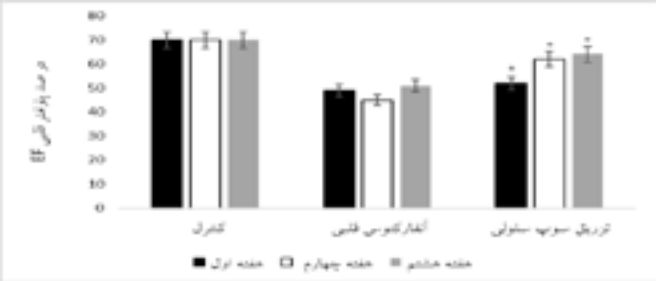
هفته اول و چهارم و هشتم مقایسه مقادیر EF نشان داد که تفاوت میزانEF بین گروه تزریق سوپ سلولی با گروه آنفارکتوس میوکارد معنی دار است (P<0.05). میانگین نتایج میزان EF در هفته اول گروه سوپ سلولی (۶۳/۵±۳) نسبت به گروه‌های کنترل (۱/۸۲ ± ۷۰) و انفارکتوس میوکارد (۵۶±۴/۲۰) بود. میانگین نتایج میزان EF در هفته چهارم گروه سوپ سلولی (۳/۸۶ ±۶۲/۷۵) نسبت به

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۳ - شماره ۱ - بهار ۱۳۹۷

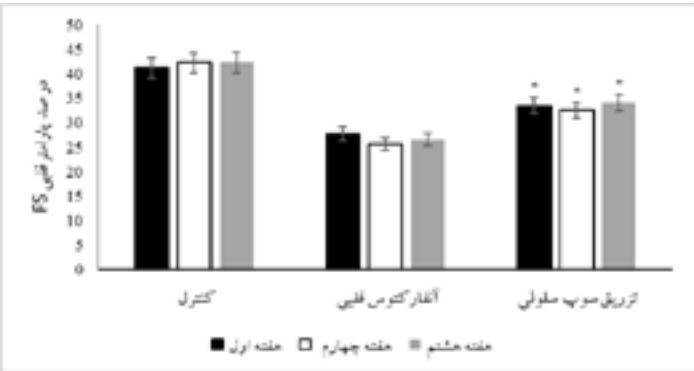
گروه‌های کنترل (۱/۵۱±۷۰) و انفارکتوس میوکارد (۵۷/۴۵±۵۴/۶) بود. میانگین نتایج میزان EF در هفته هشتم گروه سوپ سلولی (۳/۳۶±۶۴) نسبت به گروه‌های کنترل (۱/۷۲±۷۰) و انفارکتوس میوکارد (۴/۰۳±۵۱/۵۷) بود (نمودار ۱).

هفته اول، چهارم و هشتم مقایسه مقادیر FS نشان داد میزانFS بین گروه تزریق سوپ سلولی با گروه آنفارکتوس میوکارد تفاوت معنی دار وجود دارد ($p<0.05$).

میانگین نتایج میزان FS در هفته اول گروه سوپ سلولی (۵/۲۹±۳۳/۱) نسبت به گروه‌های کنترل (۲/۲۱±۴۱/۲۵) و انفارکتوس میوکارد(۴/۱۳±۲۷/۷۱) بود. میانگین نتایج میزان FS در هفته چهارم گروه سوپ سلولی (۲/۰۸±۳۲/۵) نسبت به گروه‌های کنترل (۲/۲۱±۴۲/۲۵) و انفارکتوس میوکارد (۵/۰۶±۲۵/۵۷) بود. میانگین نتایج میزان FS در هفته هشتم گروه سوپ سلولی (۲/۷۳±۳۴/۱) نسبت به گروه‌های کنترل (۱/۲۱±۴۲/۳۵) و انفارکتوس میوکارد (۵۷/۸۵±۲۶/۴) بود (نمودار ۲).



نمودار ۱ - نتایج مربوط به EF در گروه‌های مختلف. در هفته های اول و چهارم و هشتم. تفاوت معنی دار گروه سوپ سلولی در مقایسه با گروه انفارکتوس میوکارد $p<0.05$ *.



نمودار ۲ - نتایج مربوط به FS در گروه‌های مختلف. در هفته های اول، چهارم و هشتم. تفاوت معنا دار گروه سوپ سلولی در مقایسه با گروه انفارکتوس میوکارد $p<0.05$ *.

بررسی فاکتورهای التهابی

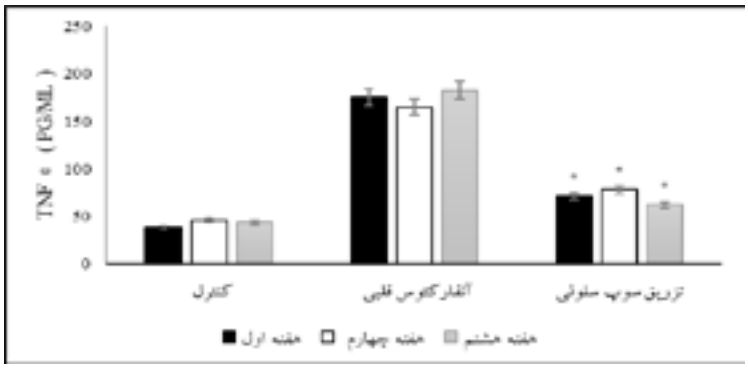
در هفته اول، چهارم و هشتم مقایسه مقادیرTNF-α نشان داد میزان TNF-α بین گروه تزریق سوپ سلولی با گروه آنفارکتوس میوکارد تفاوت معنی دار وجود دارد ($P<0.05$). میانگین نتایج میزان TNF-α در هفته اول گروه سوپ سلولی (۰/۲۵±۵/۹) نسبت به گروه‌های انفارکتوس میوکارد (۶۳/۲۰±۸/۰) و کنترل (۰/۰۵±۳/۸) بود. میانگین نتایج میزان TNF-α در هفته چهارم گروه سوپ سلولی (۵۳/۳۵±۵/۰) نسبت به گروه‌های انفارکتوس میوکارد (۵۱/۴۲±۸/۰) و کنترل (۰/۶۴±۳/۳۶) بود.

میانگین نتایج میزان TNF-α در هفته هشتم گروه سوپ سلولی (۶/۲۳±۰/۰۵) نسبت به گروه‌های انفارکتوس میوکارد (۸/۳۲±۰/۲۰) و کنترل (۳/۲۳±۰/۲۸) بود (نمودار ۳) ($p<0.05$).

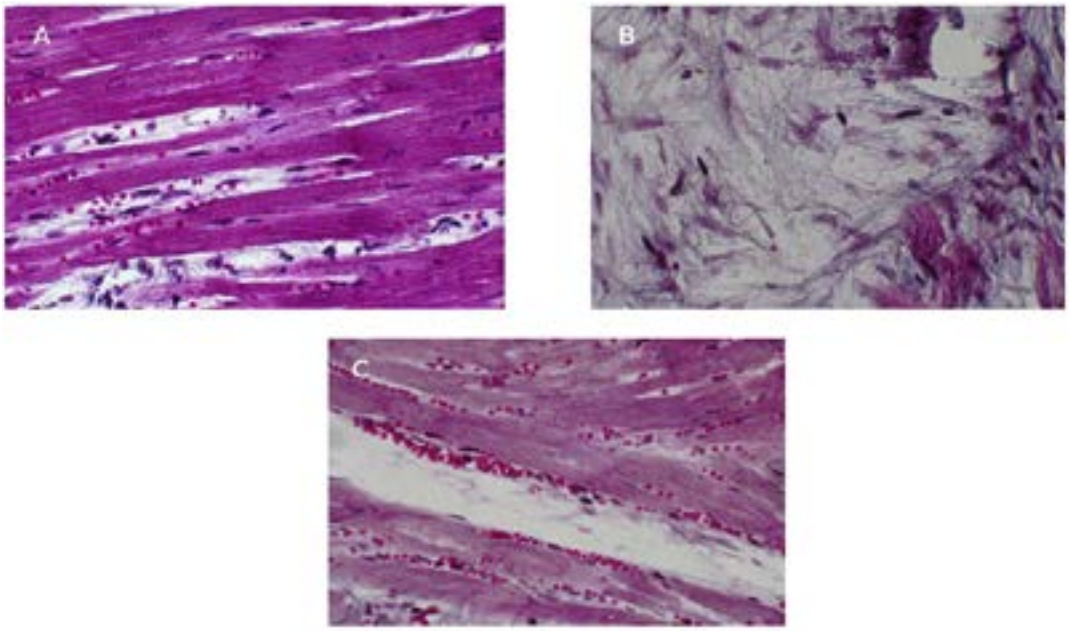
بررسی‌های بافتی

پس از هفته هشتم نتایج رنگ آمیزی تری کروم ماسون نشان داد سطح فیبروز در گروه تزریق سوپ سلولی نسبت به گروه انفارکتوس میوکارد کاهش یافته است و کاهش سطح فیبروز در گروه تزریق سوپ سلولی نسبت به گروه انفارکتوس میوکارد معنی دار بود ($p<0.05$) (شکل ۲) (جدول ۱) (نمودار ۴).

نتایج رنگ آمیزی آلکالن فسفاتاز نشان داد افزایش میزان رگ زایی در گروه تزریق سوپ سلولی نسبت به گروه انفارکتوس میوکارد معنی دار بود ($P<0.05$) (شکل۳)(جدول ۲).



نمودار ۳ - مقایسه میانگین غلظت TNF-α در زمان های مختلف نمونه گیری در سه گروه کنترل، تزریق سوپ سلولی و M . تفاوت معنی دار گروه سوپ سلولی در مقایسه با گروه انفارکتوس میوکارد $p<0.05$ *.

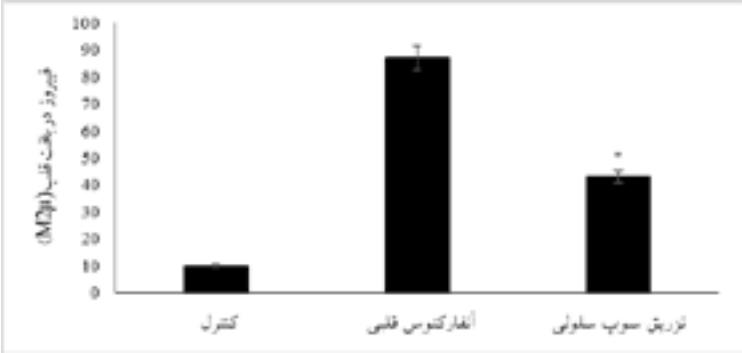


شکل ۲- مقایسه رنگ آمیزی تری کروم ماسون را در گروه های مختلف نشان می دهد (بزرگنمایی ۲۰۰). A. کنترل، B. انفارکتوس میوکارد، C. تزریق سوپ سلولی.

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۲ - شماره ۱ - بهار ۱۳۹۷

جدول ۱ - مقایسه میزان فیبروز در بافت قلب در گروه های مختلف.

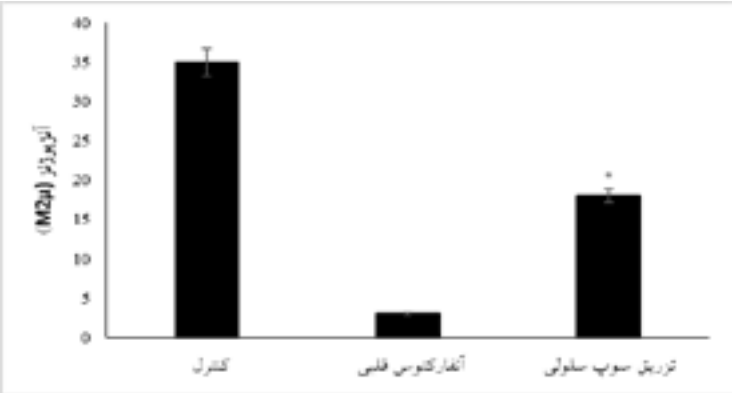
ردیف	گروه	میزان سطح فیبروز بافت قلب
۱	کنترل	۱۰٪
۲	MI	۸۷٪
۳	تست سوپ سلولی	۴۳٪



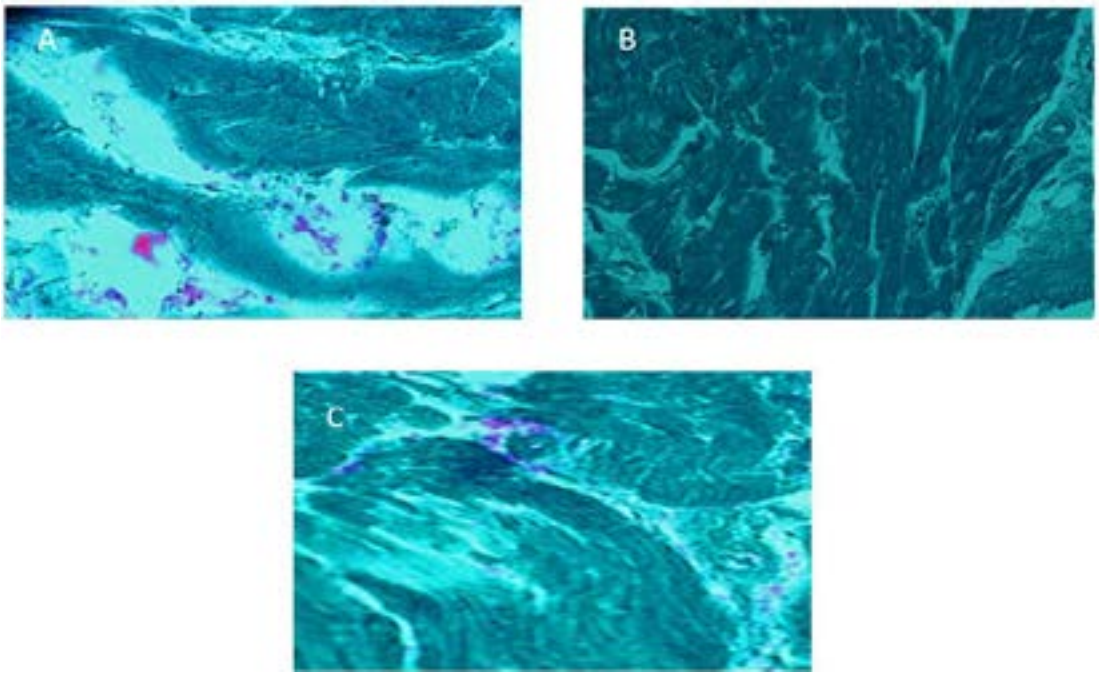
نمودار ۴ -مقایسه میانگین فیبروز در گروه‌های مختلف. تفاوت معنی دار گروه سوپ سلولی در مقایسه با گروه انفارکتوس میوکارد $p<0.05$ *.

جدول ۲- مقایسه میزان رگ زایی در بافت قلب در گروه های مختلف.

ردیف	گروه	میزان آنژوژنز در بافت قلب
۱	کنترل	۳۵٪
۲	MI	۳٪
۳	تست سوپ سلولی	۱۸٪



نمودار ۵ - مقایسه میانگین میزان آنژیوژنز در گروه های مختلف. تفاوت معنی دار گروه سوپ سلولی در مقایسه با گروه انفارکتوس میوکارد $p<0.05$ *.



شکل ۳- مقایسه رنگ آمیزی تری کروم ماسون را در گروه های مختلف نشان می دهد (بزرگنمایی ۲۰۰). A. کنترل، B. انفارکتوس میوکارد، C. تزریق سوپ سلولی.

بحث

آنفاکتوس میوکارد به عنوان کشنده‌ترین بیماری در جهان شناخته شده است. پیشرفت این بیماری با مرگ سلول‌های قلبی و ترشح سایتوکاین‌های التهابی همراه است. TNF-α یک سایتوکین التهابی است که اساسا توسط ماکروفاژها تولید شده و در نکروز بیشتر سلول‌های قلبی نقش دارد. در مطالعاتی نشان داده شده است تزریق سلول‌های بنیادی در احیای سلول‌های قلبی و کاهش التهاب نقش دارند. بنابراین، درمان با سلول‌های بنیادی بعنوان ایده‌ای در درمان این بیماری مطرح شد (۱،۷،۸). اما بدلیل مشاهده مشکلاتی، استفاده از این روش همواره با چالش‌ها و نگرانی‌هایی همراه بوده است و تاکنون سوالات پاسخ نیافته فراوانی در زمینه استفاده از انواع سلول‌های بنیادی برای کارآیی بالاتر و مشکلات پایین‌تر وجود دارد. با وجودی که امروزه ازسلول های مزانشیمال مغز استخوان در کلینیک استفاده می‌شود محققان به دنبال روش‌های دیگری هستند که اثرات درمانی این سلول‌ها بیشتر شود. با توجه به اینکه یکی از مکانیسم-های دخیل در فرایند درمان توسط سلول‌های بنیادی مغز استخوان ترشحات پاراکرین این سلول ها است و ثابت شده که BMSCs یک محدوده وسیعی از سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها تولید می‌کنند، که تا به حال پتانسیل درمانی وسیعی نشان داده‌اند. این مکانیسم‌های پاراکرین متنوع بوده و شامل تحریک مسیرهای بقاء به واسطه رسپتور، القاء لانه گزینی و تمایز سلول های بنیادی یا تنظیم اثرات ضدالتهابی در نواحی آسیب دیده می باشد.

در این مطالعه اثر ترشحات سلول‌های بنیادی مغز استخوان بر پارامترهای قلبی، میزان فیبروز، رگزایی و التهاب در مدل آنفارکتوس قلبی بررسی شد. تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند MSCs مشتق شده از مغز استخوان انسان می توانند زنده بمانند و به سلو های شبه کاردیومیوسیت تغییر شکل دهند و ترمیم ساختارهای عروقی را القاء کنند، و عملکرد قلبی در ناحیه MI را بهبود ببخشند (۹،۱۰). در مطالعه ای در یک مدل خوک آنفارکتوس میوکارد، ۲ هفته بعد از MI تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مغز

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۳ - شماره ۱ - بهار ۱۳۹۷

استخوان داخل ضایعه انجام شد. دو هفته بعد از پیوند، در همه حیوانات درمان شده بهبود عملکرد انقباضی و کاهش مشخص نازک شدن دیواره میوکارد مشاهده شد (۱۱). Li و همکارانش گزارش کردند مشاهده بهبود عملکرد قلبی رت‌های مبتلا به MI پس از پیوند سلول‌های بنیادی MSC رابطه نزدیکی با افزایش بیان VEGF و افزایش آنژیوژنز وجود دارد (۱۲). Abdel-Latif و همکارانش نیز گزارش نموده اند که انتقال سلول‌های بنیادی مغز استخوان در انسان برای ترمیم قلبی در مقایسه با گروه کنترل موجب بهبود EF در بطن چپ می‌شود (۱۳). Leo Timmers و همکارانش نشان دادند که تزریق وریدیMSC-CM در خوک‌هایی که با جراحی در آن‌ها MI ایجاد شده بود، پس از ۳ هفته، دانسیته مویرگی میوکارد قلبی آن‌ها نسبت به خوک‌هایی که دچار MI شده بودند اما MSC-CM دریافت نکرده بودند، افزایش یافته بود و به دنبال آن سایز ناحیه انفارکته کاهش و عملکرد قلب آن‌ها بهبود یافته و EF آن افزایش یافته است (۱۴). Wei Wange و همکارانش نشان دادند با پیوند ASC به داخل میوکارد پس از MI به طور معنی داری EF و FS افزایش یافته و عملکرد قلب بهبود پیدا کرد. با بررسی مکانیسم ایجاد کننده این بهبودی، او گزارش کرد که این اثرات به طور قابل ملاحظه‌ای به دلیل اثرات پاراکرینی ترشحات ASC بوده است و دلیل آن تمایز سلول‌های بنیادی پیوند یافته به سلول‌های میوکارد جدیدنبوده است (۱۵). Serena Rubina Baglio و همکارانش طی مطالعات اخیر گزارش کرده اند که میکروویزیکول‌ها و نانووزیکول‌های دارای غشا از MSC ترشح می‌شود که به نظر می‌رسد مسئول بسیاری از اثرات مثبت درمانی استفاده از سلول بنیادی است و استفاده از این ترشحات سلول‌های بنیادی می‌تواند جهت درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار بگیرد بدون اینکه موانع و خطرات احتمالی استفاده از سلول‌های بنیادی را داشته باشد (۱۶). Wangde Dai و همکارانش نشان دادند که وقتی پس از گذشت یک هفته از انفارکتوس میوکارد رت‌های نژاد ficher در ۴ گروه مختلف به آن‌ها saline ، CM، Fresh Medium، MSC تزریق کرده و پس از ۴ هفته به کمک آنژیوگرام عملکرد آن‌ها را بررسی کردند، هر دو گروه CM,MSC افزایش معنی داری در EF نشان دادند اگرچه افزایش MSC ٪ ۱/۴بیش از CM بود (۱۷). در سال ۲۰۱۵، Yuelin Zhang و همکارانش نشان دادند سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان به دلیل اثرات بالقوه پاراکرینی‌اش سبب کاهش ۲۲٪ سطح فیبروز شده است (۱۸). Ruen Chai Lai و همکارانش (۲۰۱۰) نشان دادند از MSC-CM نانو پارتیکل‌های 50-100nm ترشح می‌شود که این ترشحات اگزوزوم‌هایی هستند که اثرات حمایتی داشته و در کاهش سطح فیبروز نقش موثری دارند (۱۹). Leo Timmers و همکارانش نشان دادند که MSC-CM در انفارکتوس میوکارد اثرات مثبتی در کاهش سطح فیبروز دارد. این نتیجه نیز بنابر گزارش آن‌ها احتمالاً حاصل افزایش تراکم مویرگی بوده است (۲۰). Angoulvant و همکارانش گزارش کردند به دلیل فاکتورهای واسطه‌گر MSC-CM به طور قابل ملاحظه‌ای سطح جراحات حاصل از ریپرفیوژن و سطح انفارکته قلب کاهش یافته است (۲۱). همچنین مطالعات مختلفی نشان داده اند تزریق ترشحات MSC به طور مستقیم در قلب آنفارکتوس شده عملکرد و ترمیم قلبی را بهبود می بخشد (۲۲). در مطالعه حاضر نیز اثر بهبودی در پارامترهای قلبی FS و EF در هفته اول، چهارم و هشتم در گروه دریافت کننده سوپ سلولی وجود داشت به طوری که روند افزایشی پارامترهای قلبی FS و EF در گروه دریافت کننده سوپ سلولی نسبت به گروه MI معنی دار بود. همچنین درمان با سوپ سلولی باعث کاهش سایتوکاین التهابی TNF- α در زمان های مختلف گردید که در مقایسه با گروه MI معنی دار بود و پس از هفته هشتم نیز در گروه درمان با سوپ سلولی، بهبود آنژیوژنز مشاهده شد. همچنین نتایج بافتی و آماری حاکی از کاهش ناحیه فیبروزه در گروه درمانی با سوپ سلولی بود. با توجه به بهبود در پارامترهای عملکردی و بافتی قلب در گروه تیمار شده با سوپ سلولی در این مطالعه و با توجه به اینکه نتایج حاصل از مطالعات گذشته در استفاده از ترشحات سلول های بنیادی در درمان بیماری های قلبی با مطالعه ما در یک راستا بود به نظر می‌رسد که ترشحات سلولهای بنیادی مغز استخوان اثرات مفید روی پارامترهای قلبی و بافتی میوکارد دارند و استفاده

از ترشحات این سلول‌ها می‌تواند در درمان آنفارکتوس قلبی موثر باشد.

تقدیر و تشکر

از همکاری دانشگاه علوم پزشکی ایران برای اجرای این پروژه سپاسگزاریم.

منابع مورد استفاده

1. Imholz, L., Meister-Langraf, R. E., Princip, M., Fux, M., Schnyder, U., Barth, J., Znoj, H., Schmid, J., -P, von Känel, R., 2017. Are Inflammatory Cytokines Associated with Pain during Acute Myocardial Infarction? Neuroimmunomodulation 24:154-161. doi: 10.1159/000481455
2. Singh, A., Singh, A., Sen, D., 2016.Mesenchymal stem cells in cardiac regeneration: a detailed progress report of the last 6 years (2010–2015). Stem cell research & therapy 7(1):82.
3. Ko, I-K., Kim ,B-S., 2008.Mesenchymal stem cells for treatment of myocardial infarction. International journal of stem cells 1(1):49.
4. Takahashi, M., Li ,T-S., Suzuki, R., Kobayashi, T., Ito ,H., Ikeda, Y., et al., 2006.Cytokines produced by bone marrow cells can contribute to functional improvement of the infarcted heart by protecting cardiomyocytes from ischemic injury. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 291(2):H886-H93.
5. Müller-Ehmsen, J., Whittaker, P., Kloner, RA., Dow ,JS., Sakoda, T., Long ,TI., et al., 2002. Survival and development of neonatal rat cardiomyocytes transplanted into adult myocardium. Journal of molecular and cellular cardiology 34(2):107-16.
6. Shah, V., Shalia, K., 2011.Stem cell therapy in acute myocardial infarction: a pot of gold or Pandora's box. Stem cells international.
7. Komici, K., Rengo, G., Leosco, D., Ferrara,N ., 2017.Cardiac fibrosis in heart failure," Journal of Gerontology and Geriatrics 65 :3: 177–183.
8. Yang, D., Wang ,W., Li, L., Peng, Y., Chen, P., Huang, H., et al., 2013. The relative contribution of paracine effect versus direct differentiation on adipose-derived stem cell transplantation mediated cardiac repair. PloS one 8(3):e59020.
9. Jiang, Y., Jahagirdar, BN., Reinhardt, RL., Schwartz, RE., Keene, CD., Ortiz-Gonzalez, XR., et al., 2002. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature 418(6893):41.
10. Makino, S., Fukuda, K., Miyoshi, S., Konishi, F., Kodama, H., Pan, J., et al., 1999.Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. The Journal of clinical investigation 103(5):697-705.
11. Shake, JG., Gruber, PJ., Baumgartner, WA., Senechal, G., Meyers, J., Redmond ,JM., et al., 2002.Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. The Annals of thoracic surgery 73(6):1919-26.
12. Li, Z., Guo, J., Chang, Q., Zhang, A., 2009. Paracrine role for mesenchymal stem cells in acute myocardial infarction. Biological and Pharmaceutical Bulletin 32(8):1343-6.
13. Abdel-Latif, A., Bolli, R., Tleyjeh, IM., Montori, VM., Perin, EC., Hornung, CA., et al., 2007. Adult bone marrow–derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis. Archives of internal medicine 167(10):989-97.
14. Timmers, L., Lim, SK., Arslan, F., Armstrong, JS., Hoefer, IE., Doevendans, PA., et al., 2008. Reduction of myocardial infarct size by human mesenchymal stem cell conditioned medium. Stem cell research 1(2):129-37.
15. Wang, W., Zeng, C., 2012.adipose derived mesenchymal stem cells enhance cardiac function after myocardiac infarction via paracrine effect. heart 98(suppl 2):e31-e.
16. Baglio,SR., Pegtel, DM., Baldini, N., 2012.Mesenchymal stem cell secreted vesicles provide novel opportunities in (stem) cell-free therapy. Frontiers in physiology 3:359.
17. Dai, W., Hale, SL., Kloner, RA., 2007.Role of a paracrine action of mesenchymal stem cells in the improvement of left ventricular function after coronary artery occlusion in rats.
18. Zhang, Y., Liang, X., Liao, S., Wang, W., Wang, J., Li, X., et al., 2015. Potent paracrine effects of human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells attenuate doxorubicin-induced cardiomyopathy. Scientific reports 5:11235.
19. Lai, RC., Chen, T., Lim, S., Arslan, F., Timmers, L., Pasterkamp, G., et al., 2010.Addendum to" Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury"[Stem Cell Research 4 : 214-222.
20. Timmers, L., Lim, SK., Hoefer, IE., Arslan, F., Lai, RC., van Oorschot, AA., et al., 2011.Human

mesenchymal stem cell-conditioned medium improves cardiac function following myocardial infarction. Stem cell research 6(3):206-14.

21. Angoulvant, D., Ivanes, F., Ferrera, R., Matthews, PG., Nataf, S., Ovize, M., 2011.Mesenchymal stem cell conditioned media attenuates in vitro and ex vivo myocardial reperfusion injury. The Journal of Heart and Lung Transplantation 30(1):95-102.
22. Burdon ,TJ., Paul, A., Noiseux, N.,Prakash, S., Shum-Tim, D., 2011. Bone marrow stem cell derived paracrine factors for regenerative medicine: current perspectives and therapeutic potential. Bone marrow research.