

Effect of SDF-1 α pretreatment on the homing rate of umbilical cord mesenchymal stem cells in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats

Mohammad Sadegh Gholami Farashah^{1,2}, Maryam Javadi^{1,3}, Leila Roshangar^{1,4*}

¹Stem Cell Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Department of Biology and Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

³Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

⁴Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 28/Aug/2024

Revised: 30/Dec/2024

Accepted: 04/Jan/2025

ePublished: 30/Jul/2025

Keywords:

- Type 1 diabetes
- Umbilical cord mesenchymal stem cells
- Stromal cells-derived factor 1 α
- Cell therapy
- Homing
- Cell tracking

Abstract

Background. Stem cell homing to damaged tissues is among the main barriers to stem cell therapy. The current study was conducted to investigate whether preconditioning umbilical cord mesenchymal stem cells (UCMSCs) with stromal cells-derived factor 1 α (SDF-1 α) could enhance their homing to the pancreas in type 1 diabetes or not.

Methods. A total of 12 male Wistar rats were used in this study. Type 1 diabetes was induced by intraperitoneal injection of 50 mg/kg of streptozotocin (STZ). The UCMSCs were extracted by mechanical method and their identification was performed by flow cytometry for CD73+, CD90+, CD34-, and CD45- factors. UCMSCs were pretreated with SDF-1, and cell viability was checked with MTT test. UCMSCs and UCMSCs + SDF1 α at a dose of 1×10^6 cells were injected intravenously 10 days after STZ injection. The samples were taken from their pancreas, liver, lung, and spleen tissue 48 hours after transplantation. Finally, the homing of UCMSCs was tested by flow cytometry and fluorescence microscope.

Results. Spindle morphology and high expression of CD73 and CD90 were observed while CD34 and CD45 expression did not happen. SDF-1 cell pretreatment increased the survival of UCMSCs ($P < 0.01$). UCMSCs+SDF-1 α had a higher ability of homing into the pancreas when compared to the UCMSCs group ($P < 0.001$). Moreover, homing in non-target tissues decreased by SDF-1 α preconditioning.

Conclusion. The findings of the present study showed that SDF-1 α preconditioning caused a significant increase in the survival and homing of UCMSCs into the pancreas.

Practical Implications. The survival, migration, and homing induced by SDF-1 α factor indicate positive and practical effects of cell therapy, which can be used in clinical studies by designing more extensive studies using SDF-1 α .

How to cite this article: Gholami Farashah M S, Javadi M, Roshangar L. Effect of SDF-1 α pretreatment on the homing rate of umbilical cord mesenchymal stem cells in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2025;47(3):. doi: 10.34172/mj.025.33437. Persian.

Extended Abstract

Background

The prevalence of diabetes is increasing globally, which has raised concerns in all countries. World Health Organization (WHO) predicts that the number of diabetic patients will increase from 177

million in 2000 to 370 million by 2030. Stem cell transplantation or stem cell therapy is one of the research and therapeutic approaches with high efficiency in combating different diseases, including diabetes. In stem cell therapy, there are a series of

*Corresponding author; Email: lroshangar@yahoo.com

© 2025 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

barriers, such as insufficient migration of transplanted stem cells to the target organ, as well as cell apoptosis. An approach to solve stem cell therapy problems is the use of the preconditioning method, which is defined as exposing cells to physical, chemical, medicinal, and even genetic manipulations that result in the preparation of cells in a way that they overcome the limitations after transplantation including homing deficiency and high rate of apoptosis.

Methods

The present study was conducted in the Stem Cell Research Center of Tabriz University of Medical Sciences (TUOMS). The animals were taken from the central animal house of the university. They were kept in the animal house of the Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine. They were kept in plastic cages in standard conditions (24°C, 12/12-hour light/dark cycle, and 40-50% humidity). Twelve male Wistar rats with an approximate weight of 200-250 g were studied in two cell injection groups: (1) umbilical cord mesenchymal stem cells (UCMSCs) and (2) SDF-1 + UCMSCs. Type 1 diabetes was induced by intraperitoneal injection of a single dose (50 mg/kg) of streptozotocin (STZ). After three days, the rats with fasting blood sugar > 250 mg/dl were included in the study. Briefly, UCMSCs were extracted from the umbilical cord (Wharton's Jelly) by sterilization and through physical (dissection) method and cultured in T25 flasks with DMEM culture medium. Through examining the morphology and flow cytometry, the surface markers CD73, CD90, CD45, and CD34 were characterized. UCMSCs were pretreated with 10 ng/μL of SDF1-α for 24 hours before injection, and then MTT was utilized to check cell proliferation and viability. On the 10th day post STZ injection, 1×10^6 cells labeled with CM-DiI were injected through the tail vein. The rats were sacrificed 48 hours after cell injection, and tissue samples including pancreas (target tissue), liver, lung, and spleen (bloody and non-target tissues) were taken. The homing of UCMSCs was evaluated through cell extraction from tissues for flow cytometry and fluorescent staining to be

observed by fluorescent microscope. Statistical analyses were performed using Graph Pad Prism software version 9. The values were reported as mean $\pm$ standard deviation. Finally, the data were analyzed using unpaired *t*-test. The significance level was $P < 0.05$.

Results

Characterization of umbilical cord mesenchymal stem cells showed that 24 hours after UCMSCs were cultured in the T25 flasks, the cells adhered to the walls of the T25 flasks and their morphology changed and became spindle-shaped. Flow cytometry analysis showed that CD73 expression was about 98.3%, CD90 expression was nearly 100%, CD45 expression was about 1.14%, and CD34 expression was approximately 3.59%. For survival and proliferation analysis of umbilical cord mesenchymal stem cells, the MTT method was used. MTT test indicated that SDF-1α preconditioning increased the survival of UCMSCs ($P < 0.01$). The homing of UCMSCs was investigated with and without pretreatment with SDF-1α and it was found that UCMSCs with or without SDF-1α preconditioning had the ability to home in pancreas tissue; however, this ability was significantly increased ($P < 0.001$) in the UCMSCs+SDF-1α group. By pretreating UCMSCs with SDF-1α, the rate of homing decreased in other tissues that were not damaged but were full of blood (lung, liver, and spleen). The fluorescent staining method and then the examination with a fluorescent microscope revealed that the homing in the UCMSCs+ SDF-1α group was significantly higher ($P < 0.001$) than the homing of umbilical cord mesenchymal stem cells without SDF-1α pretreatment in the pancreas tissue. Additionally, the significant decrease of homing in the UCMSCs+SDF-1α group compared to the UCMSCs group was noted in all other investigated tissues (lung, liver, and spleen), which were non-target tissues.

Conclusion

Pretreatment of umbilical cord mesenchymal stem cells with SDF-1α increased their survival and

proliferation. It also increased the rate of useful homing (homing of cells in the target tissue) and decreased the non-useful homing (homing in non-target tissues). The results of the present study were in line with other similar studies (in treating other diseases and with other cell sources) in which SDF-1 α was used as a pretreatment factor. These results indicate that by using SDF-1 α as preconditioning factor in future comprehensive studies on diabetes, it is possible to achieve promising results. It is suggested that studies with bigger sample sizes

should be conducted to evaluate the effect of the pretreatment of UCMSCs with SDF-1 α on type 1 diabetes so that the possible therapeutic effect of these pretreated cells would be investigated on blood sugar levels, weight, blood factors, and pancreas tissue.

اثر تیماری فاکتور مشتق از سلول‌های استرومایی ۱ بر میزان لانه‌گزینی سلول‌های بنیادی مزانشیمی بند ناف در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ القایی با استریتوزوتوسین

محمد صادق غلامی فراشاه^{۱*}، مریم جوادی^{۱،۳}، لیلا روشنگر^{۱،۴}

^۱مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲گروه بیولوژی و علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
^۳گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
^۴گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

زمینه. لانه‌گزینی سلول‌های بنیادی، یکی از چالش‌های اصلی در سلول‌درمانی است. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر تیمار سلول‌های بنیادی مزانشیمی بند ناف (UCMSCs) با فاکتور مشتق از سلول‌های استرومایی ۱ (SDF-1 α) بر افزایش لانه‌گزینی سلول‌ها در پانکراس، در مدل حیوانی دیابت نوع ۱ انجام شد.
روش کار. در این مطالعه از ۱۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. دیابت نوع ۱ با تزریق درون صفاقی استریتوزوتوسین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) القا شد. سلول‌های UCMSCs با روش‌های مکانیکی استخراج و با فلوسیتومتری (CD۷۳، CD۳۴، CD۹۰، CD۴۵) شناسایی شدند. پس از تیمار UCMSCs با SDF-1 α ، میزان زنده‌مانی سلولی با آزمون MTT بررسی شد. در روز دهم پس از تزریق استریتوزوتوسین، UCMSCs و UCMSCs+ SDF-1 α با دوز ۱ $\times$ ۱۰^۶ به‌صورت وریدی تزریق شدند. ۴۸ ساعت پس از پیوند سلولی، نمونه‌هایی از بافت‌های پانکراس، کبد، ریه و طحال گرفته شد و در میزان لانه‌گزینی سلول‌ها با فلوسایتومتری و میکروسکوپ فلورسنت ارزیابی شد.
یافته‌ها. سلول‌ها شکل دوکی و بیان بالای CD۷۳ و CD۹۰ و بیان پایین CD۳۴ و CD۴۵ را نشان دادند. تیمار با SDF-1 α باعث افزایش زنده‌مانی UCMSCs شد ($P<0/01$) سلول‌های تیمار شده نسبت به سلول‌های بدون تیمار، توانایی بیشتری در لانه‌گزینی به بافت پانکراس داشتند ($P<0/001$) همچنین لانه‌گزینی به بافت‌های غیر هدف در گروه تیمار شده کاهش یافت.
نتیجه‌گیری. نتایج نشان داد تیمار با SDF-1 α سبب افزایش چشمگیر زنده‌مانی UCMSCs و لانه‌گزینی آنها در پانکراس می‌شود.
پیامدهای عملی. تأثیرات مثبت SDF-1 α بر زنده‌مانی، مهاجرت و لانه‌گزینی سلولی نشان‌دهنده پتانسیل کاربردی آن در سلول‌درمانی است. این یافته‌ها می‌تواند زمینه‌ساز مطالعات گسترده‌تر و استفاده بالینی از این فاکتور در آینده باشد.

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۷
اصلاح نهایی: ۱۴۰۳/۱۰/۱۰
پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۵
انتشار برخط: ۱۴۰۴/۰۵/۰۸

کلید واژه‌ها:

- دیابت نوع یک
- سلول‌های بنیادی
- مزانشیمی بندناف
- فاکتور مشتق از سلول‌های استرومایی ۱
- سلول درمانی
- لانه‌گزینی
- ردیابی سلولی

مقدمه

تبدیل شده است. سازمان بهداشت جهانی پیش‌بینی کرده است که شمار مبتلایان به دیابت از ۱۷۷ میلیون در سال ۲۰۰۰ به ۳۷۰ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰ خواهد رسید.^۱ در دیابت نوع ۱، تخریب سلول‌های بتای پانکراس توسط سیستم ایمنی بدن، منجر به کاهش یا فقدان تولید انسولین می‌شود. شیوع این نوع از دیابت در حدود ۲۵ نفر در هر ۱۰۰ هزار نفر گزارش شده و بیشترین شیوع

دیابت یک بیماری متابولیک است که با افزایش سطح گلوکز خون (هیپرگلیسمی) مشخص می‌شود و در نتیجه نقص در ترشح انسولین، عمل آن، یا هر دو به وجود می‌آید. این بیماری بر اساس علت به دو نوع ۱ و ۲ تقسیم می‌شود.^{۲،۱} با توجه به افزایش روزافزون شیوع دیابت در سراسر جهان، این بیماری به یکی از دغدغه‌های اصلی نظام‌های سلامت، درمان و اقتصاد کشورها

*نویسنده مسؤول: ایمیل: iroshangar@yahoo.com

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز 4.0 BY CC منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

بسیار راحت بوده و پیچیدگی‌های منابع سلولی دیگر را ندارند.^{۱۷، ۱۸} با توجه به مزایای ذکر شده و اینکه هنوز اطلاعات کافی درباره تأثیر تیمار سلول‌های بنیادی بندناف با فاکتور SDF-1 α در شرایط آزمایشگاهی و همچنین لانه‌گزینی و زنده‌مانی آنها در بدن در شرایط دیابت نوع ۱ وجود ندارد، این مطالعه برای بررسی این موضوع انجام شد.

روش کار

مطالعه حاضر از نوع بنیادی-کاربردی است که در آزمایشگاه مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام گرفت. جامعه آماری این پژوهش، تعداد ۱۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن ۲ ماهه بود. موش‌ها از حیوان‌خانه مرکزی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و پس از سپری کردن دوره ریکاوری (جهت عادت کردن به وضعیت دمای محیط جدید)، در قفس‌های پلاستیکی در شرایط استاندارد (دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد با چرخه ۱۲ ساعت نور/تاریکی و رطوبت ۵۰-۴۰ درصد) در حیوان‌خانه گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی نگهداری شدند. لازم به ذکر است که در طول مطالعه آب و غذا به میزان کافی در دسترس موش‌ها قرار داشت. ۱۲ سر موش صحرایی به صورت تصادفی بین دو گروه مطالعه تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: (۱) گروه دیابتی+UCMSCs: حیوانات دیابتی‌شده با پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی بند ناف (UCMSCs)، (۲) گروه دیابتی + SDF-UCMSCs: حیوانات دیابتی با پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی بندناف (UCMSCs) تیمار شده با SDF-1 α بودند. دیابت نوع ۱ توسط تزریق داخل صفاقی تک‌دوز (۵۰ mg/kg) استرپتوزوتوسین القا گردید و بعد از سه روز حیواناتی که قندخون ناشتای آنها بالای ۲۵۰ mg/dl بود وارد مطالعه شدند. ارزیابی قندخون موش‌های صحرایی، با استفاده از گرفتن یک قطره خون از ورید دمی صورت گرفت. قطره خون را بر روی نوار تست قرار داده و میزان قندخون توسط دستگاه (bionime glucometer, model GM110) استاندارد اندازه‌گیری و سطح قندخون سنجیده می‌شد.^{۱۹} به‌طور خلاصه، نمونه بندنافی تحت شرایط استریل و درون نرمال سالین به آزمایشگاه انتقال داده شد. جهت از بین بردن آلودگی‌های احتمالی، نمونه بندنافی با الکل ۷۰٪ و به مدت ۳۰ ثانیه شستشو داده شد. در ادامه، شستشو با PBS که حاوی آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، استرپتومایسین، جنتامایسین و آمفیتریسین بود، جهت از بین بردن آلودگی‌های باکتریایی محیطی انجام شد. با شستن چند باره

در سنین ۱۳ تا ۱۵ سالگی مشاهده می‌شود. مبتلایان در این گروه سنی، به درمان مادام‌العمر با انسولین نیاز داشته و در معرض عوارض مزمن و افزایش مرگ‌ومیر قرار دارند.^{۴، ۵} از جمله عوارض مزمن ناشی از افزایش قندخون می‌توان به آسیب‌های ارگان‌های مختلف مانند چشم (Retinopathy)، کلیه (Nephropathy)، اعصاب (Neuropathy)، قلب و عروق خونی و حتی قطع عضو (Amputation) اشاره کرد. همچنین، آمارها نشان می‌دهند که نرخ مرگ‌ومیر در مبتلایان به دیابت نوع ۱، بین ۳ تا ۱۸ برابر بیشتر از افراد سالم است.^{۵، ۶} در درمان و کنترل دیابت نوع ۱، سه رویکرد اصلی وجود دارد. (۱) انسولین درمانی: که با کاهش سطح گلوکز خون عمل می‌کند، اما در کنترل بلندمدت مؤثر نیست و بیشتر نقش کنترلی دارد تا درمانی.^{۸، ۹} پیوند: شامل پیوند کامل پانکراس یا پیوند جزایر لانگرهانس است. گرچه نتایج مطلوبی داشته، اما به علت کمبود اهدا کننده و محدودیت‌های فنی، قابل تعمیم گسترده نیست.^{۹، ۳} سلول درمانی: استفاده از سلول‌های بنیادی برای جایگزینی سلول‌های بتا و تولید انسولین که روشی نوین و درمان‌محور محسوب می‌شود.^۹ سلول درمانی به معنای استفاده از سلول‌ها برای درمان یا پیشگیری از بیماری‌هاست و در صورت استفاده از سلول‌های بنیادی، "درمان با سلول‌های بنیادی" نامیده می‌شود. این روش پتانسیل بالایی برای درمان بیماری‌هایی نظیر سکته قلبی، زخم‌ها، نارسایی کلیه، دیابت و سایر بیماری‌های تحلیل‌برنده دارد.^{۱۰} اما چالش‌هایی نیز در این مسیر وجود دارد؛ از جمله: یافتن منبع بزرگ و مناسب سلولی برای استفاده، عدم مهاجرت سلول‌های پیوندی به بافت هدف، بروز آپوپتوز سلول‌های پیوندی و موارد دیگر. برای رفع این موانع، نیاز به راهکارهایی کارآمد وجود دارد.^{۱۱، ۱۲} یکی از راهکارهای مؤثر، تیمار سلولی (Preconditioning) پیش از پیوند است؛ به این معنا که سلول‌ها را پیش از پیوند در معرض عوامل فیزیکی، شیمیایی، یا ژنتیکی قرار می‌دهند تا برای بقا در شرایط سخت‌تر آماده شوند.^{۱۳، ۱۴} فاکتور مشتق از سلول‌های استرومایی ۱ (SDF-1 α یا CXCL12)، یک عضو از خانواده فاکتورهای CXC است که با گیرنده CXCR4 در مغز استخوان تعامل دارد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که این فاکتور باعث افزایش لانه‌گزینی، بقا و کاهش آپوپتوزی سلول‌ها می‌شود.^{۱۵، ۱۶} در این میان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی بندناف (UCMSCs) به‌عنوان یکی از منابع مناسب سلولی شناخته شده‌اند که دارای ویژگی‌هایی چون: قدرت تکثیر بالا، فعالیت ضد آپوپتوز، رد ایمنی بسیار پایین و پیوند موفق، فعالیت تنظیم پاسخ ایمنی و توان تمایز بالا هستند. به‌علاوه این سلول‌ها قدرت تبدیل به موارد سلولی گوناگون را دارند و در زمینه کاری و ذخیره‌سازی، کار با آنها

نشانگرهای سطحی تعیین هویت شدند و اطلاعات آنها با استفاده از نرم افزار Cell Quest آنالیز شد. سلول های بنیادی UCMSCs به مدت ۲۴ ساعت قبل از تزریق با $10 \text{ ng} / \mu\text{l}$ از SDF-1 α تیمار شدند. پس از تیمار سلول ها به مدت ۲۴ ساعت با SDF-1 α ، دو فلاسک کشت سلولی یکی بدون تیمار و دیگری با تیمار SDF-1 α را تریپسینه کرده و سلول های هر فلاسک به شکل جداگانه در حفره های دیش های ۹۶ چاهکی (۹۶ well) ریخته شد و دیش ها در انکوباتور با شرایط استاندارد (۵% CO₂ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد) قرار گرفت تا سلول ها به دیواره ظروف بچسبند. پس از ۲۴ ساعت، محیط رویی سلول ها کشیده و دور ریخته شد و به حفره ها رنگ مخصوص کیت MTT که در PBS حل شده، اضافه شد. در تمامی مراحل ذکر شده به جهت جلوگیری از وارد آمدن شوک و آسیب به سلول ها، محیط کشت و رنگ مخصوص همگی با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به سلول ها اضافه شدند. پس از دو ساعت محلول رنگ را از حفره ها خارج کرده و به جای آن الکل ۱۰۰ درصد به سلول ها اضافه شد. پس از گذشت مدت زمان ۳۰ دقیقه، دیش ها به شکل جداگانه به دستگاه ELISA Reader برای تعیین میزان شدت رنگ تولیدی که به عنوان میزان زنده ماندن سلول ها تفسیر می شود، انتقال داده شدند. برای آماده سازی سلول ها جهت تزریق، ابتدا سلول ها با استفاده از محلول Trypsin – EDTA از کف ظرف جدا شده، با محیط FBS خنثی و سپس به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. پس از آن، محیط رویی دور ریخته شد و یک سی سی محلول PBS به سلول ها اضافه و به خوبی پیتاژ گردید. سپس این سوسپانسیون سلولی به میکروتیوبی حاوی ۲ لاندان رنگ فلورسنت CM-Dil اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور قرار داده شد. در پایان این مرحله، دوباره سلول ها سانتریفیوژ شده و مایع رویی حذف گردید. سپس، یک سی سی PBS به سلول ها افزوده شد و سوسپانسیون نهایی برای تزریق آماده شد. تعداد سلول های تزریق شده 1×10^6 عدد بود. تزریق سلول ها در روز دهم پس از القای دیابت با استرپتوزوتوسین انجام شد. برای این کار، حیوان در محفظه restrainer قرار گرفته و تزریق از طریق ورید دمی با استفاده از سرنگ انسولین انجام گرفت. ۴۸ ساعت پس از تزریق سلول های UCMSCs (با و بدون تیمار با SDF-1 α) به موش ها، برای بررسی میزان لانه گزینی سلول ها، نمونه برداری از بافت های مختلف انجام شد. برای بیهوشی، مخلوط کتامین و زایلازین با سرنگ انسولین از طریق داخل صفاقی تزریق گردید. سپس حدود ۵۰ سی سی نرمال سالین برای پرفیوژن بافتی استفاده شد. در نهایت، قطعاتی از بافت پانکراس

نمونه بندنافی با PBS، باقیمانده های خونی تمیز شده و سپس با قیچی بندناف به قطعه های کوچکتری تقسیم شد. همچنین رگ های خونی جداسازی و تکه های بافتی ژله وارتون جدا و به قطعه هایی در حدود ۰/۵ میلی متر خرد شدند. همچنین جهت اطمینان از نبودن خون در نمونه ها، یکبار دیگر شستشو با PBS انجام شد و سپس قطعات ژله وارتون در پلیت های کشت حاوی محیط DMEM (Dubecco's Modifed Eagle's, Gibco) به همراه ۲۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) کشت داده شدند.^{۲۱،۲۰} پلیت ها در انکوباتور با شرایط استاندارد شامل ۵% CO₂ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. محیط کشت پلیت ها هر سه روز یکبار با محیط کشت تازه تعویض شد. پس از گذشت حدوداً ۱۰ روز از کشت قطعات ژله وارتون در محیط کشت DMEM، سلول های بنیادی مزانشیمی بندناف (ژله وارتون) شروع به خروج از بافت ها و تکثیر و انتشار در کف پلیت ها کردند. در نهایت در این زمان قطعه های بافتی برداشته شده، سلول ها به فلاسک های T25 انتقال داده یافتند و سلول های بنیادی بدون حضور قطعات بافتی شروع به تکثیر در فلاسک ها کردند.^{۲۱،۲۰} پس از آنکه تراکم سلول های بنیادی مزانشیمی در محیط کشت به طور تقریبی به ۸۰ درصد رسید، فلاسک ها با استفاده از Trypsin-EDTA، تریپسینه شدند و پاساژ سلولی انجام شد. پاساژ سلولی ۴ بار صورت گرفت و در نهایت سلول های مزانشیمی پس از رسیدن به تراکم ۸۰ درصد پس از پاساژ ۴، در مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. مورفولوژی سلول ها با استفاده از میکروسکوپ اینورت مورد بررسی قرار گرفت. همچنین در این مطالعه سلول های UCMSCs تریپسینه شدند و پس از جداسدن از کف ظرف در PBS معلق شده و ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی به لوله های فالتکون پلی ستیرن FACS منتقل شدند. سپس هر لوله FACS در ابتدا با آنتی بادی های اولیه به مدت یک ساعت آنکوبه شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و در شرایط تاریک با آنتی بادی های منوکلونال کنژوگه شده با FITC (isothiocyanate fluorescein (eBioscience, CA, USA) برای نشانگرهای سطحی سلول های بنیادی مزانشیمی بندناف، آنکوبه شد. مارکرهای CD۳۴، CD۴۵، CD۷۳، CD۹۰ مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت لوله های فالتکون FACS حاوی سلول به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. سپس سوپرناتانت دور ریخته شد و سلول ها دوبار با ۱ میلی لیتر PBS شسته شدند. سلول ها با هدف تعیین هویت، با دستگاه فلوسیتومتر (FACSCalibur; BD Biosciences, USA) برای ارزیابی

ریختن سلول‌های UCMSCs در فلاسک‌ها، سلول‌ها به کف فلاسک‌ها چسبیدند که در این مرحله مورفولوژی سلول‌ها به حالت شبه فیبروبلاستی (دوکی شکل) بود (شکل ۱. a). نتایج تعیین هویتی روش فلوسیتومتری نشان داد که بیان CD۷۳ حدود ۹۸/۳ درصد، CD۹۰ حدود ۱۰۰ درصد، بیان CD۴۵ در حدود ۱/۱۴ درصد و بیان مارکر CD۳۴ حدوداً ۳/۵۹ درصد بود (شکل ۱. b-e).

تاثیر SDF-1 α روی میزان زنده‌مانی سلول‌های UCMSCs (In Vitro)

تست MTT و استفاده از دستگاه ELISA Reader جهت بررسی میزان تکثیر و زنده‌مانی سلول‌ها به کار برده شد. تأثیر SDF-1 α (۲۴ ساعت پس از اضافه کردن به محیط کشت) بر میزان زنده‌مانی سلول‌ها، با اندازه‌گیری میزان زنده‌مانی و تکثیر تست MTT (در حالت با و بدون تیمار SDF-1 α) نشان داد که تیمار سلولی SDF-1 α ، سبب افزایش ($P < 0.001$) زنده‌مانی و تکثیر UCMSCs در حدود ۹۴ درصد نسبت به حالت بدون تیمار (در حدود ۸۱ درصد) شد (شکل ۲).

لانه‌گزینی سلول‌های تزریق شده نشاندار با استفاده از آنالیز فلوسیتومتری

لانه‌گزینی UCMSCs (با یا بدون تیمار SDF-1 α) مورد بررسی کامل قرار گرفت. نتایج نشان داد که اگرچه UCMSCs (با یا بدون تیمار SDF-1 α) دارای توانایی لانه‌گزینی در بافت پانکراس می‌باشد، چنین قابلیت در سلول‌های UCMSCs تیمار شده با اختلاف معنی‌داری ($P < 0.001$) بیشتر است (شکل ۳. a-h). میزان مورد نظر برای سلول‌های تیمار شده حدوداً ۶ برابر نسبت به سلول‌های UCMSCs تیمار نشده در بافت پانکراس بیشتر بود. با تیمار UCMSCs با SDF-1 α میزان لانه‌گزینی در بافت‌های دیگر (بافت‌های غیرهدف) بررسی شده که دچار آسیب نشده بودند اما پر عروق (ریه، کبد و طحال) بودند، کاهش داشت (شکل ۳. i).

بررسی با میکروسکوپ فلورسنت جهت لانه‌گزینی سلول‌های تزریق شده

بررسی لانه‌گزینی UCMSCs (با و بدون تیمار SDF-1 α) به صورت نشاندار شده با CM-DiI و ۴۸ ساعت پس از تزریق انجام شد. نتایج لانه‌گزینی UCMSCs در بافت‌های پانکراس (بافت هدف)، ریه، کبد و طحال (غیرهدف) را نشان داد (شکل

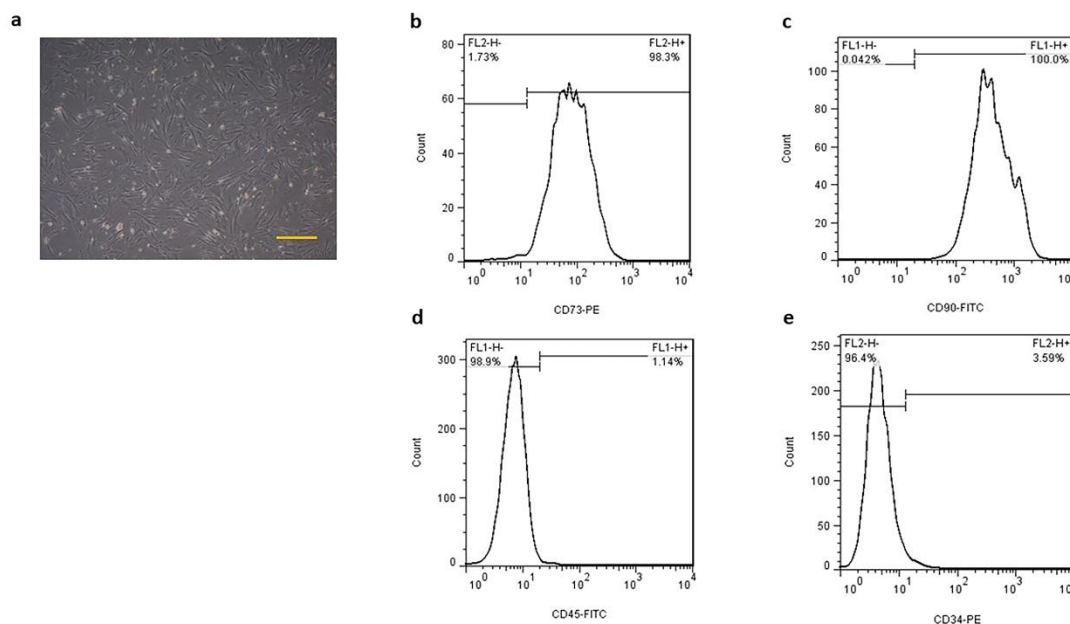
و از بافت‌های پر خون مانند کبد، طحال و ریه جدا و در داخل دیش قرار داده شد. برای بررسی لانه‌گزینی، دیش‌های حاوی نمونه‌های بافتی به زیر هود لامینار منتقل شده، قطعات بافتی با اسکالپل خرد و به فالكون‌های ۱۵ سی‌سی منتقل شدند. به هر فالكون، ۲ سی‌سی محیط کشت بدون FBS اضافه شد. سپس به هر نمونه، ۱ سی‌سی کلاژناز نوع ۱ (ساخت Sigma, USA) افزوده و در داخل انکوباتور قرار گرفتند. هر ۵ دقیقه یک‌بار و به مدت ۳۰ دقیقه نمونه‌ها از انکوباتور خارج شدند و در زیر هود به آرامی پیپتاژ شدند. سپس محلول میکس شده از مش استریل ۷۰ میکرومتری عبور داده شد. زیر مش، دیش گذاشته شد تا محلول عبوری وارد آن شود. پس از اینکه نمونه از مش عبور کرد از دیش به فالكون منتقل شده و سانتریفیوژ (۱۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه) شد. مایعروبی حذف شده و ۱ سی‌سی محلول لایزین بافر (برای حذف سلول‌های خونی) به نمونه اضافه و پیپتاژ گردید و نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در زیر هود باقی ماندند. سپس ۱ سی‌سی PBS به آن افزوده، سانتریفیوژ مجدد انجام و در نهایت، سوسپانسیون سلولی به لوله FACS برای آنالیز فلوسیتومتری منتقل شد. برای بررسی لانه‌گزینی با روش فلورسنت، بافت‌ها در ابتدا در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. پس از طی مراحل آماده‌سازی و پاساژ بافتی، اسلایدهای بافتی تهیه شدند. برای رنگ‌آمیزی فلورسنت، مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی، قالب‌گیری، مقطع‌گیری و دیپارافینه کردن انجام شد. سپس لام‌ها با PBS شسته شده و با محلول تریپتون ۰/۲ درصد در یک جعبه مرطوب به مدت یک ساعت تیمار شدند. پس از سه بار شستشو با PBS، رنگ‌آمیزی با DAPI (حل شده در PBS با غلظت ۵ میلی‌گرم در ۱۰ سی‌سی) به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی انجام شد. در پایان، لام‌ها با PBS شسته شده و با افزودن یک قطره PBS آماده مشاهده با میکروسکوپ فلورسنت (Olympus, Tokyo, Japan) شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۹ انجام گرفت. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند. برای مقایسه گروه‌ها از آزمون آماری t-Test unpaired (آزمون t غیروابسته) استفاده گردید و سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

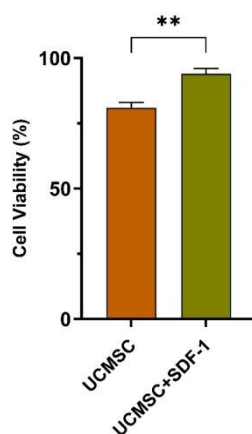
بررسی مورفولوژی و روش فلوسیتومتری جهت تعیین هویت UCMSCs

بعد از قرار دادن سلول‌های UCMSCs در فلاسک کشت سلولی، UCMSCs‌ها شروع به چسبیدن به کف فلاسک‌ها کردند و این چسبندگی با گذشت زمان افزایش یافت. ۲۴ ساعت پس از

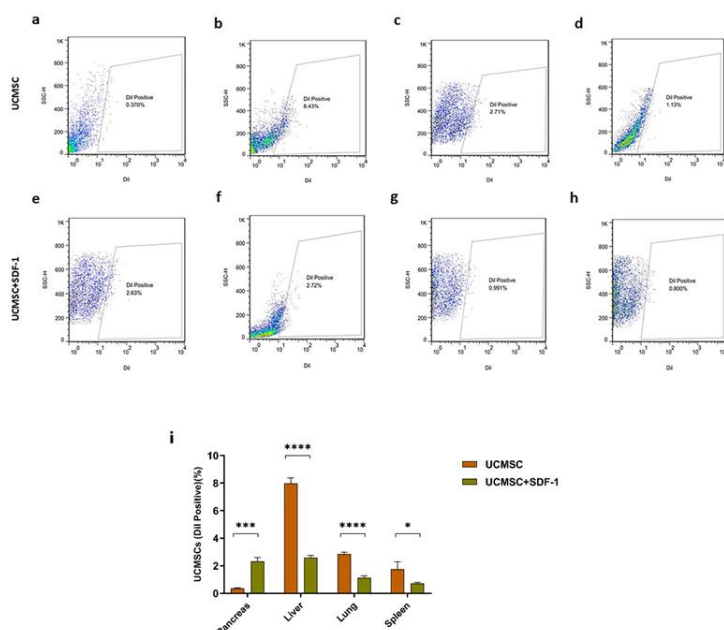
۴. (a-b). لانه‌گزینی در گروه تیماری SDF-1 α با اختلاف در پانکراس است (شکل ۴ c). معنی‌داری ($P < 0.001$) بیشتر از لانه‌گزینی UCMSCs بدون تیمار



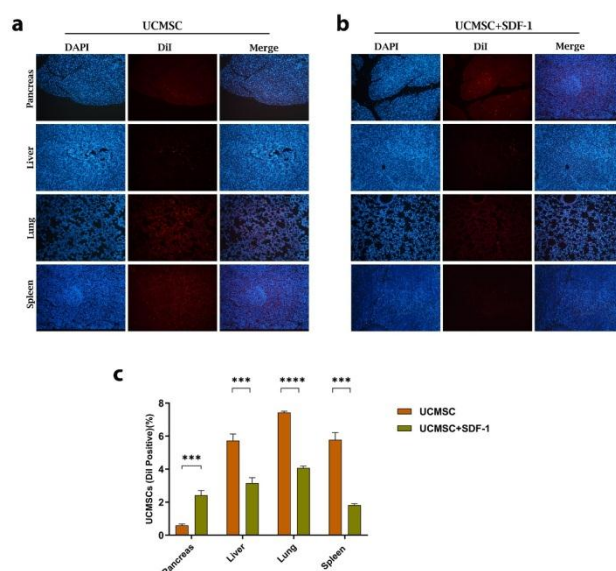
شکل ۱. مورفولوژی و آنالیز فلوسیتومتری جهت تشخیص مارکرهای سطحی UCMSCs. مورفولوژی دوکی شکل سلول‌ها. (a) سلول‌ها با آنتی‌بادی‌های CD۹۰، CD۳۴، CD۴۵، CD۷۳ و سپس فلوسیتومتری صورت گرفت. Scale bar = 100 μ m (b-e).



شکل ۲. اندازه‌گیری میزان زنده‌مانی سلول‌های UCMSCs با تست MTT در حالت با تیمار و بدون تیمار با SDF-1. $(P < 0.001) = **$.



شکل ۳. بررسی میزان لانه‌گزینی UCMSCs با روش فلوسیتومتری. تست فلوسیتومتری جهت بررسی میزان لانه‌گزینی UCMSCs، ۴۸ ساعت پس از تزریق UCMSCs (در دو حالت بدون و با تیمار SDF-1) در بافت‌های متفاوت. نمودارهای a (پانکراس)، b (کبد)، c (ریه) و d (طحال) مربوط به گروه بدون تیمار با SDF-1 و نمودارهای e (پانکراس)، f (کبد)، g (ریه) و h (طحال) مربوط به گروه با تیمار با SDF-1. آنالیز و مقایسه نتایج لانه‌گزینی مربوط به روش فلوسیتومتری. (i) $(*)=P<0/05$, $(**)=P<0/001$, $(***)=P<0/0001$



شکل ۴. بررسی میزان لانه‌گزینی UCMSCs با روش رنگ‌آمیزی فلورسنت. لانه‌گزینی UCMSCs بدون (a) و با (b) تیمار SDF-1، ۴۸ ساعت پس از پیوند سلول‌ها. تصاویر شکل به‌ترتیب مربوط به نمونه‌های پانکراس، کبد، ریه و طحال است. Scale bar=100 μ m. نمودار، آنالیز کمی اطلاعات مربوط به تصاویر فلورسنت گروه‌های متفاوت با استفاده از نرم‌افزار ImageJ را نشان می‌دهد. (c) $(***)=P<0/001$, $(****)=P<0/0001$

بحث

استفاده از روش‌های تیمار سلولی (Precondition یا Pretreatment) است. تیمار سلولی، روشی ساده و در عین حال کارآمد است که در آن از عوامل گوناگونی مانند داروهای شیمیایی، سیتوکین‌ها، تابش، هایپوکسی و موارد دیگر برای افزایش توانایی‌های سلول‌های بنیادی استفاده می‌شود. تیمار سلولی روشی است که به آسانی در آزمایشات و فرآیندهای پیش‌کلینیکی می‌توان از آن استفاده کرد. این روش نه تنها موانع کوتاه‌مدت سلول‌درمانی مانند کمبود لانه‌گزینی را از مسیر درمانی کاهش می‌دهد، بلکه در مطالعات گوناگون سبب اثرات بلندمدت مناسب در روند سلول‌درمانی به‌ویژه سلول‌های سیستمیک (مانند تزریق وریدی سلول‌ها) می‌شود. در مطالعه حاضر، سلول‌های UCMSCs با استفاده از فاکتور تیمارکننده SDF-1 α تیمار شدند.^{۲۳،۱۴،۱۱} در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۹ که توسط هایاکاوا و همکاران صورت گرفت، تیمار SDF-1 α روی سلول‌های بنیادی خونی موش (HSCs)، سبب لانه‌گزینی و پیوند بیشتر این سلول‌ها در مغز استخوان موش‌ها شد.^{۲۵} در مطالعه انجام شده حاضر نیز، این تیمار سلولی روی سلول‌های UCMSCs سبب افزایش میزان لانه‌گزینی و پیوند سلول‌ها شد. همچنین در مطالعه‌ای دیگر توسط زیشان پاشا و همکاران در سال ۲۰۰۷، تیمار سلول‌های بنیادی مزانشیمی با SDF-1 α نه تنها منجر به افزایش تکثیر سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی شد، بلکه پس از پیوند این سلول‌ها در مدل انفارکتوس قلبی، افزایش چشمگیری در میزان لانه‌گزینی در بافت آسیب‌دیده و کاهش اندازه انفارکتوس مشاهده شد.^{۲۶} در مطالعه حاضر نیز نتایج مشابه مشاهده شد؛ به‌گونه‌ای که تیمار سلول‌های UCMSCs با SDF-1 α موجب افزایش تکثیر *in vitro* و نیز افزایش لانه‌گزینی پس از پیوند گردید. در مطالعه‌ای دیگر، تیمار سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان (BMSCs) با SDF-1 α و به کارگیری آنها در مدل آسیب عضله اسکلتی، منجر به بهبود تکثیر و لانه‌گزینی این سلول‌ها شد.^{۱۶} نتایج مطالعه حاضر نیز حاکی از آن است که تیمار سلول‌های UCMSCs باعث لانه‌گزینی بیشتر در جزایر لانگرهانس و نیز افزایش تکثیر و زنده‌مانی سلول‌ها گردید. پیوند سلول‌های بنیادی با تیمارهای متفاوت از جمله هایپوکسی، داروهای شیمیایی و سیتوکین‌ها در سال‌های اخیر سبب افزایش پیوند، لانه‌گزینی و تأثیر مثبت بیشتر سلول‌ها در فرآیندهای ترمیمی شده‌اند.^{۲۳،۱۴،۱۱} در مطالعه حاضر، مشابه با مطالعات پیشین، نشان داده شد که فاکتور SDF-1 α و گیرنده آن یعنی CXCR4، که تحت عنوان محور CXCR4 – SDF-1 شناخته می‌شود، نقش بسیار مهمی در مهاجرت سلول‌های بنیادی به نواحی آسیب‌دیده

امروزه، بهره‌گیری از سلول‌های بنیادی به‌عنوان یک راهکار نوین و امیدبخش در درمان دیابت مطرح است. با توجه به پیشرفت‌های علمی اخیر، دستیابی به درمان‌های مؤثر برای بسیاری از بیماری‌ها از جمله دیابت، از طریق سلول‌درمانی، در آینده‌ای نه‌چندان دور محتمل به نظر می‌رسد. استفاده از سلول‌ها، به‌ویژه سلول‌های بنیادی در درمان دیابت، از سال ۲۰۰۰ میلادی آغاز شد؛ زمانی که پژوهشگران با استفاده از پروتکلی به نام «ادمونتون» موفق به پیوند جزایر پانکراسی (مجموعه‌ای از سلول‌های درون‌ریز پانکراس) از افراد اهداکننده به بیماران دیابتی شدند. این پیوند منجر به کنترل سطح قندخون بیماران بدون نیاز به تزریق انسولین شد. با توجه به محدودیت منابع اهدایی جزایر لانگرهانس یا حتی بافت کامل پانکراس، یکی از جایگزین‌های مناسب برای سلول‌های بتای قابل پیوند، سلول‌های بنیادی هستند.^{۲۲} یکی از رویکردهای تحقیقاتی - درمانی نوظهور در بیماری‌های دژنراتیو مانند دیابت، استفاده از سلول‌های بنیادی و پیوند آنها بدون نیاز به تمایز قبلی در شرایط آزمایشگاهی است. در میان انواع سلول‌های بنیادی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) از منابع مختلف، به طور گسترده در شرایط *in vivo* و *in vitro* مورد مطالعه قرار گرفته‌اند.^۹ در این میان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی استخراج شده از بند ناف یا ژله وارتون (UCMSCs)، به دلیل دسترسی آسان، مشکلات ایمنی پایین، توان تکثیر و تمایز مناسب، عدم ایجاد مشکلات اخلاقی در استخراج و کشت آنها در فرآیندهای پزشکی، به‌عنوان یک منبع سلولی مناسب در مطالعات و درمان‌های بازساختی مطرح شده‌اند.^{۱۸،۱۷} در مطالعه حاضر، سلول‌های UCMSCs استفاده شد. به‌منظور تأیید مزانشیمی بودن این سلول‌ها، از مارکرهای CD_{۳۴} و CD_{۴۵} (مارکرهای منفی) و CD_{۷۳} و CD_{۹۰} (مارکرهای مثبت) به روش فلوسیتومتری بهره گرفته شد. نتایج حاصل نشان‌دهنده بیان بالای مارکرهای CD_{۷۳} و CD_{۹۰} و عدم بیان فاکتورهای CD_{۳۴} و CD_{۴۵} بود. همچنین، مورفولوژی دوکی‌شکل این سلول‌ها نیز تأییدی بر ماهیت مزانشیمی آنها بود؛ یافته‌ای که کاملاً با مطالعات پیشین همخوانی دارد.^{۱۷} مطابق با مطالعات صورت پذیرفته، از مشکلات اصلی در زمینه سلول‌درمانی، زنده‌مانی پایین، تکثیر کم و همچنین مهاجرت و لانه‌گزینی ناکافی سلول‌های بنیادی به بافت هدف است.^{۲۳} متأسفانه در بسیاری از مطالعات پیش‌بالینی و حتی بالینی، این موانع نادیده گرفته شده‌اند و بدون رفع آنها، مراحل بعدی تحقیق دنبال شده که در نهایت منجر به نتایج ضعیف یا بازدهی پایین شده است.^{۲۴،۱۱} یکی از راهبردهای مؤثر برای رفع این مشکلات،

استفاده از فاکتور تیماری بدهد.^{۱۸،۱۷} مطالعات دارای فازهای هم‌زمان In vitro و In vivo، اگرچه امکاناتی مانند مداخله‌های نوآورانه و طراحی مطالعات دقیق‌تر را فراهم می‌سازند، اما با چالش‌هایی همچون زمان‌بندی خاص، هزینه‌های بالا، و کنترل فاکتورهای مداخله‌گر نیز مواجه هستند. مطالعه حاضر در بازه زمانی کوتاه‌مدت، یعنی تا مرحله لانه‌گزینی سلول‌های پیوندی (دو روز پس از تزریق) انجام گرفت. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی، اثرات بلندمدت درمانی سلول‌های پیوندی در بازه یک تا سه ماه پس از تزریق با استفاده از تست‌های بافتی و مولکولی مناسب بررسی گردد. همچنین، اگرچه در بخش In vitro نشان داده شد که SDF-1 α باعث افزایش زنده‌مانی و تکثیر سلول‌ها می‌شود، اما مکانیزم‌های مولکولی این تأثیر هنوز به‌طور دقیق مشخص نیستند و می‌توانند موضوع مطالعات آینده باشند.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار سلول‌های UCMSCs با SDF-1 α منجر به افزایش زنده‌مانی، تکثیر و لانه‌گزینی آنها در پانکراس می‌شود و در عین حال لانه‌گزینی غیرهدف در بافت‌های دیگر مانند کبد، طحال و ریه می‌کاهد. این نتایج، نویدبخش امکان بهره‌برداری گسترده‌تر از این روش در مطالعات و کاربردهای بالینی آینده است.

قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری صمیمانه تمامی کارکنان و کارشناسان مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تبریز در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمایم.

مشارکت پدیدآوران

محمد صادق غلامی فرامشاه: اجرای مطالعه، جمع‌آوری داده‌ها، نگارش اولیه و تحلیل داده‌ها؛ مریم جوادی: تحلیل و تفسیر داده‌ها، تهیه تصاویر و مشارکت در نگارش نهایی و لیلا روشنگر: طراحی و نظارت بر مطالعه، مدیریت اجرایی، و نگارش نسخه نهایی مقاله را بر عهده داشتند. تمامی نویسندگان نسخه نهایی مقاله را مطالعه و تأیید کرده‌اند.

منابع مالی

این طرح تحقیقاتی با شماره گرنت: (۶۷۵۱۶)، مورد حمایت مالی مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تبریز قرار گرفت.

ایفا می‌کنند.^{۲۷} به علاوه، مشخص شده است که فعال‌سازی این محور باعث افزایش زنده‌مانی و تکثیر سلول‌ها می‌شود. در موارد تحقیقاتی گوناگون، SDF-1 α اثرات حفاظتی در آسیب‌های ایسکمی حاد، زخم‌های پوستی، ضایعات مغزی، نارسایی‌های قلبی ایسکمی مزمن و انفارکتوس قلبی نشان داده است. همچنین، در نواحی آسیب‌دیده، سطح بیان این فاکتور توسط سلول‌های آسیب‌دیده افزایش می‌یابد و موجب جذب سلول‌های بنیادی از سایر نواحی بدن به محل آسیب می‌شود. شواهد متعدد نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی کشت شده در محیط‌های In vitro به دلایل نامشخصی کاهش بیان گیرنده‌های مرتبط با لانه‌گزینی مانند CXCR4 را نشان می‌دهند. بنابراین پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی بدون هیچگونه دستکاری سبب کاهش گیرنده‌های CXCR4 در سطح و در نتیجه سبب لانه‌گزینی بسیار پایین آنها در بافت آسیب دیده می‌شود.^{۳۰،۲۸} نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر، این فرض را که استفاده از SDF-1 α می‌تواند با افزایش بیان گیرنده‌های لانه‌گزینی موجب افزایش مهاجرت سلولی شود، تأیید کرده و استفاده از این عامل را در مطالعات پیشرفته‌تر توجیه‌پذیر می‌سازد. عامل بسیار مهم دیگری که در این مطالعه علاوه بر فاکتور SDF-1 α ، به‌کار گرفته شده است، استفاده از سلول‌های UCMSCs است. این منبع سلولی در مطالعات مختلف اثرات مثبت و پتانسیل بالای خود را نشان داده است. این سلول‌ها در مطالعات درمانی بیماری‌های خودایمن، ناباروری‌ها، زخم‌های پوستی، بیماری‌های کبدی، مشکلات رد ایمنی پیوند (GVHD)، بیماری‌های تحلیل برنده اعصاب، ضایعات نخاعی، سرطان، مدل‌های سگته قلبی و ... بکار گرفته شده‌اند. در تمامی این مطالعات، این سلول‌ها اثرات تکثیری و تمایزی بالا و همچنین اثرات درمانی از خود نشان داده‌اند.^{۱۷، ۱۸} مزیت مهم UCMSCs نسبت به دیگر منابع مزانشیمی، سطح بسیار پایین یا حتی فقدان بیان آنتی‌ژن‌های HLA است که منجر به کاهش احتمال رد ایمنی در مطالعات می‌شود.^{۱۷، ۱۸} در مطالعات سلول درمانی خصوصاً پیوند سلول به شکل داخل وریدی (سیستمیک) که در مطالعه حاضر هم از این نوع است، عدم رد ایمنی سلول‌های پیوندی فاکتور بسیار مهمی در اینگونه مطالعات است.^{۱۹} به‌طور کلی این سلول‌ها قابلیت تکثیر و رسیدن به تراکم بالایی را هم در مطالعات In vivo و هم In vitro نشان داده‌اند. این سلول‌ها حاوی آلكالین فسفاتاز بالا (مارکری از سلول‌های با خاصیت جنینی)، هستند که این مورد از دلایل فعالیت تکثیری بالای این سلول‌ها نسبت به منابع مزانشیمی دیگر است که می‌تواند به تحقیقات درمانی امکان تکثیر و تمایز بالاتری را در کنار

دسترس‌پذیری داده‌ها

داده‌های ایجاد شده در مطالعه فعلی در صورت درخواست معقول از پدیدآور رابط ارائه می‌گردد.

تعارض منافع

مؤلفان اظهار می‌کنند که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند.

ملاحظات اخلاقی

در پژوهش حاضر، مراحل کار با حیوانات آزمایشگاهی و روش‌های کاری بر طبق پروتکل کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد اخلاق IR.TBZMED.VCR.REC.1400.152 صورت پذیرفت.

References

- Njølstad PR, Sagen JV, Bjørkhaug L, Odili S, Shehadeh N, Bakry D, et al. Permanent neonatal diabetes caused by glucokinase deficiency: inborn error of the glucose-insulin signaling pathway. *Diabetes*. 2003;52(11):2854-60. doi: 10.2337/diabetes.52.11.2854
- Naghibi M, Tayefi Nasrabadi H, Soleimani Rad J, Gholami Farashah MS, Mohammadnejad D. The effects of metformin and forskolin on sperm quality parameters and sexual hormones in type II diabetic male rats. *Andrologia*. 2022;54(7):1605-17. doi: 10.1111/and.14426.
- Rowley WR, Bezold C. Creating public awareness: state 2025 diabetes forecasts. *Population health management*. 2012;15(4):194-200. doi: 10.1089/pop.2011.0053.
- Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte RO, Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. *Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. Diabetes care*. 2000;23(10):1516-26. doi: 10.2337/diacare.23.10.1516
- Balkau B, Eschwege E. The diagnosis and classification of diabetes mellitus and impaired glucose regulation. *Textbook of Diabetes*. Oxford: Blackwell Science. 2003;2:1-2.
- Naghibi M, Nasrabadi HT, Rad JS, Garjani A, Farashah MS, Mohammadnejad D. Forskolin improves male reproductive complications caused by hyperglycemia in type 2 diabetic rats. *International Journal of Fertility & Sterility*. 2023;17(4):268. doi: 10.22074/IJFS.2022.544368.1235
- Rathmann W, Giani G. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the Year 2000 and Projections for 2030: Response to Wild et al. *Diabetes care*. 2004;27(10):2568-9. doi: 10.2337/diacare.27.5.1047
- Bastaki S. Diabetes mellitus and its treatment. *International journal of Diabetes and Metabolism*. 2005;13(3):111-34. doi: 10.1159/000497580
- Weir GC, Cavelti-Weder C, Bonner-Weir S. Stem cell approaches for diabetes: towards beta cell replacement. *Genome medicine*. 2011;3:1-9. doi: 10.1186/gm277
- Deveau T, Yu SP, Wei L. Cellular therapy for ischemic stroke. In *Translational stroke research: from target selection to clinical trials 2012 Mar 2* (pp. 777-814). New York, NY: Springer New York. doi: 10.1007/978-1-4419-9530-8_38
- Gholami Farashah MS, Javadi M, Mohammadi A, Soleimani Rad J, Shakouri SK, Roshangar L. Bone marrow mesenchymal stem cell's exosomes as key nanoparticles in osteogenesis and bone regeneration: specific capacity based on cell type. *Molecular Biology Reports*. 2022;49(12):12203-18. doi: 10.1007/s11033-022-07807-1
- Doorn J, Moll G, Le Blanc K, Van Blitterswijk C, de Boer J. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells: paracrine effects and potential improvements. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2012;18(2):101-15. doi: 10.1089/ten.TEB.2011.0488
- Haider HK, Ashraf M. Preconditioning and stem cell survival. *Journal of cardiovascular translational research*. 2010;3:89-102. doi: 10.1007/s12265-009-9161-2
- Gholami Farashah MS, Mohammadi A, Javadi M, Soleimani Rad J, Shakouri SK, Meshgi S, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells' osteogenic potential: superiority or non-superiority to other sources of mesenchymal stem cells?. *Cell and Tissue Banking*. 2023;24(3):663-81. doi: 10.1007/s10561-022-10066-w
- Mohamad O, Chen D, Zhang L, Hofmann C, Wei L, Yu SP. Erythropoietin reduces neuronal cell death and hyperalgesia induced by peripheral inflammatory pain in neonatal rats. *Molecular pain*. 2011;7:1744-8069. doi: 10.1186/1744-8069-7-51
- Brzoska E, Kowalski K, Markowska-Zagrajek A, Kowalewska M, Archacki R, Plaskota I, et al. Sdf-1 (CXCL12) induces CD9 expression in stem cells

- engaged in muscle regeneration. *Stem cell research & therapy*. 2015;6:1-5. doi: 10.1186/s13287-015-0041-1
17. Nagamura-Inoue T, He H. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: their advantages and potential clinical utility. *World journal of stem cells*. 2014;6(2):195. doi: 10.4252/wjsc.v6.i2.195
18. Li T, Xia M, Gao Y, Chen Y, Xu Y. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: an overview of their potential in cell-based therapy. *Expert opinion on biological therapy*. 2015;15(9):1293-306. doi: 10.1517/14712598.2015.1051528
19. Shokoohi M, Farashah MS, Khaki A, Khaki AA, Ouladsahebmadarek E, Nezhad RA. Protective Effect of *Fumaria parviflora* Extract on Oxidative Stress and Testis Tissue Damage in Diabetic Rats. *Crescent Journal of Medical & Biological Sciences*. 2019;6(3):355-60.
20. Zahri S, Maleki M, Hamidi K, Khatami SM. Isolation and identification of stem cells from Wharton jelly source of human umbilical cord. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2013;13(1):43-46.
21. Abdollahi Z, Mirzapour T, Bayrami A, Zahri S, Goudarzi F. Assessment of Stemness in mesenchymal cells of human umbilical cord warton's-jelly during differentiation to germ-like cells. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 2016;6(23):25-32. doi: 20.1001.1.2228 5458 .1395.6.23.3.0
22. Shapiro AJ, Lakey JR, Ryan EA, Korbitt GS, Toth E, Warnock GL, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *New England Journal of Medicine*. 2000;343(4):230-8. doi: 10.1056/NEJM200007273 430401
23. Stubbs SL, Hsiao ST, Peshavariya HM, Lim SY, Dusting GJ, Dilley RJ. Hypoxic preconditioning enhances survival of human adipose-derived stem cells and conditions endothelial cells in vitro. *Stem cells and development*. 2012;21(11):1887-96. doi: 10.1089/scd.2011.0289.
24. Yu SP, Wei Z, Wei L. Preconditioning strategy in stem cell transplantation therapy. *Translational stroke research*. 2013;4:76-88. doi: 10.1007/s12975-012-0251-0
25. Hayakawa J, Migita M, Ueda T, Fukazawa R, Adachi K, Ooue Y, et al. Dextran sulfate and stromal cell derived factor-1 promote CXCR4 expression and improve bone marrow homing efficiency of infused hematopoietic stem cells. *Journal of Nippon Medical School*. 2009;76(4):198-208. doi: 10.1272/jnms.76.198
26. Pasha Z, Wang Y, Sheikh R, Zhang D, Zhao T, Ashraf M. Preconditioning enhances cell survival and differentiation of stem cells during transplantation in infarcted myocardium. *Cardiovascular research*. 2008;77(1):134-42. doi: 10.1093/cvr/cvm025
27. De Becker A, Van Riet I. Homing and migration of mesenchymal stromal cells: how to improve the efficacy of cell therapy?. *World journal of stem cells*. 2016;8(3):73. doi: 10.4252/wjsc.v8.i3.73
28. Naderi-Meshkin H, M Matin M, Heirani-Tabasi A, Hasanazadeh M, Shahryari M, Ahmadiankia N, et al. Pretreatment of Mesenchymal Stem Cells and Stromal-derived Factor-1 α Delivery from Chitosan-based Injectable Hydrogels for Better Cell Guidance and Retention. *Journal of Pediatric Perspectives*. 2014;2(2.3):19. doi: 10.22038/ijp.2014.2668
29. Takahashi M. Role of the SDF-1/CXCR4 system in myocardial infarction. *Circulation Journal*. 2010;74(3):418-23. doi: 10.1253/circj.cj-09-1021
30. Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, Lahav M, Peled A, Habler L, et al. G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nature immunology*. 2002;3(7):687-94. doi: 10.1038/ni813