

تأثیر محیط کشت سلول‌های بنیادی ماتریکس بند ناف انسان در مدل تجربی بیماری مولتیپل اسکلروزیس ایجادشده با کوپریزون در موش‌های C57BL/6

یوسف ترمه^۱ (M.D)، محسن مرزبان^{۲*} (Ph.D)

۱- کمیته تحقیقات دانشجویی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۲- گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

محسن مرزبان: yousefa_hero1@yahoo.com

چکیده

هدف: سلول‌های بنیادی ماتریکس بند ناف انسانی (h-UCMSCs) اثرات محافظت‌کننده عصبی را برمی‌انگیزند. پتانسیل ضد التهابی و توانایی بازسازی آن‌ها در مدل‌های تجربی مختلف ثابت شده است. در میان راهبردهای مختلف درمانی ام‌اس، سلول‌های بنیادی یک رویکرد درمانی جدید و امیدوارکننده در ام‌اس هستند، اما در حال حاضر پیوند مستقیم سلول‌های بنیادی با مشکلات مهمی مواجه است، بنابراین استفاده از محیط‌های رویی کشت و اگزوزوم‌ها پیشنهاد می‌شود. هدف ما بررسی اثر محیط رویی h-UCMSCs یا کاندیشن مدیا در مدل موش‌های کوپریزون اسکلروزیس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: موش‌های نر بالغ C57BL/6 (۴۰ عدد) با یک رژیم غذایی معمولی یا رژیم غذایی حاوی کوپریزون (۰/۲ درصد وزنی بر وزن) به مدت شش هفته تغذیه شدند. h-UCMSC کشت داده شد و مایع رویی جمع‌آوری شد. مایع رویی h-UCMSC به مدت دو هفته متوالی در پایان هفته چهارم تغذیه با کوپریزون به صورت داخل صفاقی تجویز شد. حیوانات (تعداد=۱۲) با ۱۰٪ پارافرمالدئید در پایان هفته ششم پرفیوژن شدند. مغزها به صورت کروئال در ضخامت ۶-۸ میکرومتر (۲/۳- تا ۱/۸ میلی‌متر از برگما) برش داده شدند. برش‌ها توسط لوکسول فست بلو-کرسیل وایولت رنگ آمیزی شدند و تصاویر با میکروسکوپ گرفته شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن پروتئین پایه میلین از یک ریل تایم PCR کمی استفاده شد. هم‌چنین از رنگ‌آمیزی تانل در جسم پینه‌ای برای شمارش سلول‌های آپوپتوز استفاده شد.

یافته‌ها: از نظر بافت‌شناسی، کوپریزون سبب القای دمیالیناسیون در جسم پینه‌ای شد. ناحیه دمیالینه‌شده در جسم پینه‌ای گروهی که تحت تجویز محیط رویی کشت سلول‌های بنیادی ماتریکس بندناف قرار گرفته بودند، کاهش یافت. نتیجه‌گیری: داده‌های ما نشان‌دهنده قدرت میلین‌سازی مجدد چندگانه‌ی محیط رویی کشت سلول‌های بنیادی ماتریکس بندناف در مدل تجربی بیماری ام‌اس ایجاد شده با کوپریزون در موش‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: محیط رویی کشت، سلول‌های بنیادی ماتریکس بند ناف، میلین‌سازی، کوپریزون



Effect of Human Umbilical Cord Matrix Stem Cell Conditioned Media in Cuprizone Mice Model of Multiple Sclerosis

Yousef Terme¹ (M.D), Mohsen Marzban^{2*} (Ph.D)

1- Student Research Committee, Iranshahr University of Medical Sciences, Iranshahr, Iran

2- Department of Anatomy, Iranshahr University of Medical Sciences, Iranshahr, Iran

Mohsen Marzban: yousefa_hero1@yahoo.com

Introduction: Human Umbilical Cord Matrix Stem Cells (h-UCMSCs) elicit neuroprotective effects. Their anti-inflammation potential and regenerative ability have been proven in different experimental models. Among different treatment strategies for MS, stem cells are a new and promising therapeutic approach in MS but currently, the direct transplantation of stem cells faces important problems, so the use of conditioned medium and exosomes is suggested. We aimed to investigate the effect of h-UCMSCs supernatant or conditioned media in the cuprizone mice model of multiple sclerosis.

Methods and Materials: Adult male C57BL/6 mice (n=40) were fed a regular diet or a diet containing cuprizone (0.2% w/w) for six weeks. h-UCMSC was cultured and supernatant was collected. h-UCMSC supernatant was administered intraperitoneally for two consecutive weeks at the end of fourth week of cuprizone feeding. Animals (n=12) were perfused with 10% paraformaldehyde at the end of sixth week. The brains were sectioned coronally in 6-8-µm thickness (-2.3 to 1.8 mm from bregma). Sections were stained by luxol fast blue-cresyl violet, and images were captured via a microscope. A quantitative real-time PCR was used to measure the myelin basic protein gene expression. Also, we used tunnel staining in corpus callosum to count apoptotic cells.

Results: Histologically, cuprizone induced demyelination in the corpus callosum. Demyelinated area and apoptosis were diminished in the corpus callosum of the h-UCMSCs supernatant-administered group.

Conclusion: Our data indicated a remyelination potency of multiple i.p. h-UCMSCs supernatant in the cuprizone model of multiple sclerosis in mice. And using condition medium could be considered in MS treatment.

Keywords: Conditioned media, Umbilical Cord Matrix stem cell, Myelination, Cuprizone

