فصلنامه (علمی)

زیست شناسی تکوینی

سال پانزدهم، شماره ۲، بهار ۱۴۰۲ ص. ۲۲-۱۱

مقاله پژوهشی

تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشای آمنیوتیک به سلول‌های عضله‌ی قلبی روی داربستPGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin و بررسی اثر آن در درمان ایسکمی قلبی در رت‌های نر بالغ نژاد ویستار

نسترن بهرامی[۱]، مهسا آل ابراهیم[۲*]، نوشین باریک رو[۱]، یاسین اسدی[۳]، علی سلیمی[۴]، فاطمه روح الله[۱]

[۱]گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[۲]گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[۳]گروه فیزیولوژی، واحد بین المللی کیش، دانشگاه آزاد اسلامی، جزیره کیش، ایران.

[۴]گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران.

[*] (نویسنده مسئول مکاتبات): Mahsa.alebrahim@yahoo.com

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۱

https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008692.1402.15.2.1.1 DOI:10.30495/JDB.2022.1959843.1308

چکیده

مقدمه: بیماری ایسکمی قلبی و نارسایی‌های متعاقب آن شیوع بسیار بالایی دارند و درمان‌های موجود پر خطر، هزینه بر و نا کارآمد هستند. دانشمندان با انتقال سلول‌های بنیادی مزانشیمی امیدوارند بتوانند بافت‌های مرده را جایگزین کرده و سبب فعالیت دوباره قسمت‌های آسیب دیده قلب گردند. پس از تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشای آمنیوتیک به سلول‌های عضله‌ی قلب، با بستن شریان کرونر چپ(Left anterior descending coronary artery/LAD) به مدت ۴۵ دقیقه ایسکمی حاد قلبی، در رت‌های نر نژاد ویستارالقاءگردید و سپس ریپرفیوژن در رت‌های نر بر قرار شد. سپس گروه‌های درمانی، شامل: سلول‌های تمایز یافته، سلول+ داربست PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin و گروه داربست، به قلب آسیب دیده‌ی رت ایمپلنت شدند. بعد از ۲ و ۴ هفته اکوکاردیوگرافی انجام شد و با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمی آنژیوژنزیس، در بافت قلبی بررسی گردید. در گروه‌های درمانی با سلول‌های بنیادی و داربست+ سلول نسبت به کنترل، میزان کسرتخلیه قلب (EF)، کسر جهشی (FS) و حجم ضربه‌ای قلب (SV) افزایش داشتند. همچنین با بررسی پروتئینVEGF در گروه‌های مختلف و گروه شاهد افزایش معنادار بیان این فاکتور آنژیوژنیک در گروه دریافت کننده داربست به همراه سلول‌های مزانشیمی نسبت به سایر گروه‌ها بودیم به نظر می‌رسد که استفاده از داربست PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gel فضای کافی و مناسب را جهت رشد عروق در میوکارد ایجاد کرده است.

کلیدواژه‌ها: سلول‌های بنیادی مزانشیمی، غشای آمنیوتیک، داربستPGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin ، ایسکمی ریپرفیون.

مقدمه

بیماری ایسکمی قلبی و اختلالات ناشی از آن شیوع بسیار بالایی در جهان دارند [۱]. این بیماری که ناشی از کاهش خون‌رسانی به عضله میوکارد قلب و بروز ایسکمی در آن می‌باشد، اغلب به دلیل ایجاد انسداد در عروق کرونر ایجاد می‌شود. با وجود پیشرفت‌های زیادی که تاکنون در درمان بیماری‌های قلبی صورت

گرفته، همچنان تعداد زیادی از بیماران پس از بروز حملات قلبی، به نارسایی مزمن قلبی مبتلا می‌شوند. روش‌های درمانی متعددی از جمله دارودرمانی، پیوند قلب و استنت گذاری برای بهبود کیفیت زندگی این بیماران مورد استفاده قرار می‌گیرد که همواره هزینه‌های زیادی را به بیماران و سیستم‌های بهداشتی تحمیل می‌کنند [۲]. امروزه علم مهندسی بافت برای درمان آسیب‌های بافتی و انواعی از بیماری‌ها مورد توجه محققان قرار گرفته است. بدین منظور با استفاده از سلول‌های بنیادی، تحت تأثیر فاکتورهای مختلف رشد در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی، بدون وابستگی به بدن موجود زنده و به طور مستقل طراحی بافت انجام می‌شود. همچنین با استفاده از مدل‌های حیوانی، عوارض و خطرات احتمالی پیوند و واکنش‌های بدن در مقابل این سلول‌ها به طور دقیق مورد مطالعه و شناسایی قرار می‌گیرند [۳]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal stem cells/MSCs) توانایی تمایز به انواع سلول‌ها از جمله: سلول‌های عصبی، عضله اسکلتی و عضله قلبی را دارند (۴). این سلول‌ها به دلیل دارا بودن قابلیت تمایز و تکثیر، منبع مناسبی برای بازسازی سلول‌های عضله قلب می‌باشند. به نظر می‌رسد سلول‌های بنیادی پیوند شده به قلب می‌توانند با ترشح برخی فاکتورها از جمله سایتوکین ها، عوامل رشد از قبیل فاکتور رشد TGF- β و عامل مشتق شده از اندوتلیال عروق (Vascular endothelial growth factor/VEGF) سبب تحریک بازسازی سلول‌های عضله قلبی شوند [۵]. غشاء آمنیوتیک به عنوان یک ماده زیستی در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. سلول‌های مزانشیمی مشتق شده از غشاء آمنیوتیک در مقایسه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از منابع دیگر، قادر به بازسازی بافت در مدت زمان کوتاه تری می‌باشد [۶، ۷]. از سوی دیگر از آنجا که غشاء آمنیوتیک هیچ گونه عروق خونی و رشته‌های عصبی ندارد، بنابراین رد پیوند غشاء آمنیوتیک و سلول‌های مشتق شده از آن به ندرت دیده می‌شود و از این رو، یک منبع مفید بالقوه برای مصارف درمانی می‌باشد [۸، ۹]. در مهندسی بافت برای ترمیم و یا ایجاد بافت، علاوه بر سلول‌های کاشته شده، داربست‌هایی با ترکیبات و مولکول‌های فعال زیستی (Scaffold) مورد نیاز است [۱۰، ۱۱]. به طور کلی داربست‌هایی که در مهندسی بافت به کار می‌روند باید دارای ویژگی‌هایی از جمله استحکام، خواص مکانیکی مناسب برای الگوبرداری از شرایط محیطی بدن، سازگاری زیستی مناسب با بافت مورد نظر، قابلیت پیام دهی مناسب برای هدایت رشد بافت و جلوگیری از رد پیوند باشند [۱۲، ۱۳]. داربست‌های پلیمری مصنوعی متناسب با نیازهای خاص بافت طراحی و ساخته می‌شوند و می‌توانند کاندید خوبی برای درمان ایسکمی قلبی باشند [۱۴]. انتقال سلول‌های بنیادی به قلب آسیب دیده موش‌های آزمایشگاهی، با استفاده از داربست، می‌تواند به انتقال بهتر سلول‌های بنیادی کمک کرده و همچنین اثربخشی بهتری در درمان سلول‌های آسیب دیده‌ی قلبی از طریق کاهش آپوپتوز و افزایش تکثیر سلولی ایجاد کند [۱۵]. در مطالعه حاضر، از داربست PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin و از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از غشاء آمنیوتیک برای درمان ایسکمی قلبی رت، استفاده شد.مولکول‌های زیستی تخریب‌پذیر موجود در داربست شامل پلی‌گلیسرول سباکت (Poly-Glycerol sebacate)، پلی‌کاپرولاکتون (Poly-caprolactone)و پلی‌گلیسیرول سیت‌ریک اسید (Poly-Glycerol Citric acid) بود. از دو ماده PGS-co-PCL و PGC به صورت ترکیبی به عنوان ماده اصلی داربست به همراه پلی پیرول Poly-pyrole و ژلاتین استفاده گردید. هدف از انجام مطالعه حاضر شناسایی مکانیسم‌های دخیل در بهبود عملکرد قلب توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌همراه داربست PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin بود.

در این مطالعه ما به بررسی پروتئین VEGF نیز در قسمت بافت شناسی پرداختیم. VEGFخاصیت آنژیوژنیک و میتوژنیک دارد و به عنوان عامل رشد و تمایز سلول‌های استخوانی، هموستاز بعد از دوره نوزادی، بقای کندروسیت‌ها، رگ‌زایی و ترمیم بافتی عمل می‌کند و گلیکوپروتئین مؤثر در تمایز سلول‌های پایه مزانشیمال به سلول‌های اندوتلیال است که این ویژگی به عنوان نقطه عطف فعالیت VEGFدر پدیده رگ‌زایی منظور می‌شود [۵].

مواد و روش‌ها:

تهیه و تایید سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشاء آمنیوتیک

سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشاء آمنیوتیک از مرکز ملی ذخایر ژنتیک و زیستی ایران (Iranian Biological Resource Center) تهیه شد. سلول‌ها جهت انجام کار آزمایشگاهی به آزمایشگاه مرکز تحقیقات ژنومیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد

اسلامی تهران انتقال یافت. سلول‌ها در محیط آزمایشگاه تا پاساژ ۸ کشت داده شدند سپس مارکرهای سطحی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از جمله CD105،CD90 ، CD73، CD29توسط فلوسایتومری بررسی گردید [۱۶].

تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشاء آمنیوتیک به سلول‌های عضله ی قلب

سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشاء آمنیوتیک (haMSCs) با محیط تمایزی قلبی (محیط چانگ) که شامل بوتیریک اسید، هیالورونیک اسید و رتینوییک اسید بودند به مدت ۱۴ روز کشت داده شدند و به سلول‌های قلبی تمایز پیدا کردند.

آماده سازی داربست

به‌منظور تهیه داربست PGS-co-PCL، از منومرهای گلیسرین، سباسیک اسید و کاپرولاکتون استفاده گردید.این ترکیبات با نسبت‌های مولی یکسان درون راکتور شیمیایی تا در دمای ۱۲۰ درجه و تحت خلأ، قرار گرفتند و پلیمر PGS-co-PCL بدست آمد. سپس این ترکیب با استفاده از ان-هگزان خالص سازی گردید. به منظور تهیه PGC، مول‌های مساوی از گلیسیرین و سیتریک اسید درون ظرف واکنش و به مدت ۸ ساعت در دمای ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد در خلأ قرار گرفت. همچنین برای تهیه PPy در ابتدا مقدار مشخصی از منومر پیرول درون آب ریخته شد و سپس به آن شروع کننده کلرید آهن III اضافه گردید و واکنش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. سپس پلیمر بدست آمده با استفاده از کاغذ صافی جدا گردید و در ظرف جمع آوری شد. برای تهیه فیلم‌های مورد نظر ابتدا مقدار مشخصی از PGS-co-PCL و PGC در Hexafluoroisopropanol (HFIP) حل شده و به مدت ۱۲ ساعت در دمای محیط هم زده شد تا اختلاط مناسبی بدست آید. سپس مقدار مشخصی از PPy را در آن ریخته شد و به مدت ۶ ساعت هم زده شد و سپس مقدار مشخصی از ژلاتین را به آن اضافه گردید و به مدت ۱۲ ساعت هم‌زده شد. سپس مواد درون قالب ریخته شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت تا حلال از آن خارج شود. در نهایت نمونه در آون به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۲۰ درجه قرار گرفت [۱۸]. پس از ساخت داربست، خصوصیات آن توسط تکنیک های CONTACT ANGLE، FTIR و XRD بررسی شدند. در تحقیق حاضر به منظور بررسی و تعیین گروه‌های عاملی در نمونه‌های تهیه شده از آزمون(FTIR) Fourier transforms infrared spectroscopy و به منظور بررسی ساختارهای بلوری و نظم در نمونه‌های داربست تهیه شده از آزمون XRD و همچنین برای بررسی میزان آب‌دوستی در نمونه‌ها از آزمون زاویه تماس استفاده شد.

گروه‌بندی حیوانات مورد مطالعه

تعداد ۴۸ سر رت نر بالغ نژاد ویستار (Wistar) با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۳۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و به اتاق حیوانات بیمارستان شهید رجایی تهران منتقل شدند. حیوانات در قفس‌های فایبرگلاس به ابعاد ۳۵×۳۰×۱۵ سانتی متر و تحت شرایط استاندارد با درجه حرارت ۲ ±۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد نگه‌داری شدند. گروه بندی حیوانات به صورت زیر انجام گرفت:

۱- گروه کنترل: در این گروه نارسایی قلبی ایجاد شده و مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول بافر نمکی فسفات به عنوان حامل سلول (به تنهایی و بدون سلول) در محل ضایعه قلبی تزریق شد (n=۱۲).

۲- گروه ایسکمی قلبی تحت درمان با سلول‌های بنیادی تمایز یافته قلبی با داربست PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin به‌صورت Co-treatment (همزمان با ایجاد آسیب، دریافت سلول‌ها): در این گروه نارسایی قلبی ایجاد گردید و مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول بافر نمکی فسفات به عنوان حامل سلول به همراه سلول‌های بنیادی مزانشیمی (تعداد دو میلیون سلول در پاساژ [۶] همراه با داربست PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin به محل ضایعه قلبی ایمپلنت شدند (n=۱۲).

۳- گروه ایسکمی قلبی تحت درمان با سلول‌های تمایز یافته قلبی بدون داربست به صورت Co-treatment(همزمان با ایجاد آسیب، دریافت سلول‌ها): در این گروه نارسایی قلبی ایجاد گردید و مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول بافر

نمکی فسفات به عنوان حامل سلول به همراه سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از غشاء آمنیوتیک (تعداد دو میلیون سلول) در پاساژ ۶ بدون داربست به محل ضایعه قلبی تزریق شد (n=۱۲).

۴- گروه ایسکمی قلبی تحت درمان با داربست بدون سلول: در این گروه نارسایی قلبی ایجاد شده و داربست به محل ضایعه قلبی ایمپلنت شد (n=۱۲).

روش القاء ایسکمی قلبی در حیوانات با جراحی

ابتدا هر حیوان با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین (۸۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ترتیب) بیهوش شده و به حالت خوابیده به پشت بر روی تخت مخصوص جراحی رت تثبیت شد. سپس موهای ناحیه سینه ای با تیغ اصلاح تراشیده شد. در مرحله بعد با استفاده از اتوسکوپ شماره ۳ و آنژیوکت سبز حیوان اینتوبه و به دستگاه ونتیلاتور متصل گردید. سپس قفسه سینه در فضای بین دنده‌ای سوم و چهارم با استفاده از قیچی به طول ۱۰ میلی‌متر برش داده شد. با این برش رگ، left anterior descending (LAD) به‌صورت یک spike ضربان‌دار قرمز روشن که در قسمت میانی دیواره قلب از زیر دهلیز چپ تا رأس قلب جریان دارد مشخص می‌شود. رگ LAD را به کمک نخ بخیه پلی پروپیلن ۰/۶ به اندازه ۲-۱ میلی‌متر پائین تراز نوک دهلیز چپ بسته شد و با زدن دو گره در این نقطه کاملا مسدود گردید. در نتیجه القاء ایسکمی با این روش، ایجاد ایسکمی در دیواره قدامی بطن چپ به صورت تغییر رنگ ناگهانی (بیرنگ شدن) میوکارد تایید شد. بلافاصله بعد از ایجاد ایسکمی، گروه‌های درمانی سلول، داربست و سلول همراه با داربست به ناحیه ی آسیب دیده ایمپلنت شدند. بعد از ۳۰ دقیقه گره باز شد (ایسکمی ریپرفیوژن). سپس لایه‌های عضلانی با استفاده از نخ بخیه پرولن ۰/۵ دوخته شد. و پوست حیوان با نخ بخیه نایلون ۰/۴ یا پرولن ۰/۳ بخیه زده شد.

اکوکاردیوگرافی

۲ هفته و ۴ هفته پس از تزریق سلول‌های بنیادی و پس از ایجاد ایسکمی در قلب رت‌ها، حیوانات اکوکاردیوگرافی شدند و پارامترهای مختلف در قلب آنها بررسی گردید. کسر تخلیه‌ی قلب،از اندازه گیری درصد خونی که با هر انقباض، ازقلب بیرون می‌آید، محاسبه می‌شود. به این ترتیب که از محاسبه حجم ضربه‌ای بطن چپ و کسر آن بر حجم بطن چپ در پایان دیاستول به دست می‌آید.

روش ایمنوهیستوشیمی به منظور بررسی پروتئین VEGF

۴ هفته پس از القاء ایسکمی قلبی، میزان بیان پروتئین VEGF با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور قلب حیوانات مورد آزمایش، با قطع عروق بزرگ متصل به آن، از بدن حیوان جدا شد و توسط نرمال سالین سرد شستشو داد شد. سپس در داخل قالب ماتریکس مخصوص قلب قرار داده شد و توسط تیغ جراحی به دو قسمت رأسی و قاعده‌ای برش خورده و در داخل محلول فرمالین ۱۰% قرار داده شد. بعد از گذشت یک ساعت، فرمالین مورد نظر تعویض گردید و پس از ۲۴ ساعت، برای تهیه بلوک پارافینی اقدام گردید.

نمونه‌های بافتی قبل از رنگ آمیزی با آنتی بادی اولیه، به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و رطوبت در مجاور مسدود کننده پروتئین قرار گرفتند.

آنتی‌بادی‌های اولیه با رقت ۱ در ۲۰۰ با محلول رقیق کننده، رقیق شده و نمونه‌ها به مدت یک شب در تاریکی و رطوبت و دمای ۴ درجه (در یخچال) در مجاور آنتی بادی قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها ۳ بار در بافر تریس بافر سالین (در سه ظرف، هر کدام بین ۴ تا ۵ دقیقه) شستشو شدند و به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی و رطوبت، در مجاورت آنتی بادی ثانویه (با رقت یک به ۲۰۰ در محلول رقیق کننده) قرار داده شدند. نمونه‌ها سه بار در بافر تریس بافر سالین (در سه ظرف، هر کدام بین ۴ تا ۵ دقیقه) شستشو شدند. سپس محلول DAPI بر روی لام‌ها اضافه شد و پس از چند دقیقه یک قطره گلیسرول بر روی لام‌ها اضافه گردید و در نهایت لامل بر روی لام قرار گرفت اسلایدها توسط میکروسکوپ فلورسانت مورد مطالعه قرار گرفتند.

تحلیل آماری

تمام آزمایشات حداقل با سه بار تکرار انجام شد و در این مطالعه برای توصیف داده هاداز نرم افزار SPSS استفاده شد. برای مقایسه میانگین دو گروه مستقل از آزمون T-test و برای مقایسه میانگین

بیش از دو گروه از آزمون One-way ANOVA استفاده گردید و نتایج به صورت $p\text{-value} < 0.05$ از نظر آماری معنا دار در نظر گرفته شدند.

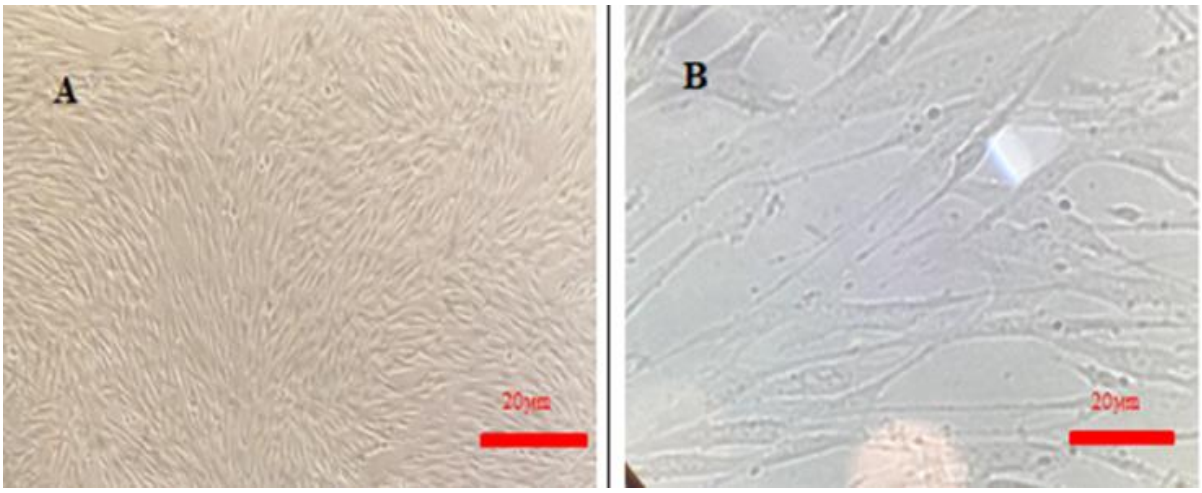
نتایج:

بررسی مورفولوژی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تمایز یافته به سلول‌های عضله‌ی قلب

سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشاء آمنیوتیک (haMSCs) به مدت ۱۴ روز با محیط تمایزی چانگ کشت داده شدند و به سلول‌های قلبی تمایز پیدا کردند (شکل ۱).

بررسی و ارزیابی داربست ساخته‌شده با آزمون‌های مختلف:

۱- **بررسی داربست ساخته شده با آزمون FTIR:** برای بررسی و تعیین گروه‌های عاملی در نمونه‌های تهیه شده در این تحقیق از آزمون Fourier transforms infrared spectroscopy (FTIR) استفاده شد که نتایج آنها در شکل ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج بدست آمده، نمونه خالص PGS-co-PCL دارای گروه‌های عاملی است که می‌تواند در برهمکنش با سایر مواد برای تهیه یک نمونه ایده‌آل کمک کند. PGS از خانواده پلی‌استرها است و در ساختار آن گروه‌های استری دیده شود. در این نمونه پیک‌های مربوط به طول موج ۱۶۰۰ و ۱۲۰۰ برای گروه عاملی استری شناسایی شده است که گروه کربونیل در طول موج، ۱۶۰۰ دارای ارتعاش کششی است و گروه C-O در طول موج ۱۲۰۰ دارای خمش است. همچنین در اثر اضافه شدن PCL در بین زنجیرهای پلیمری PGS گروه‌ها در پیک ۲۸۰۰ به خوبی خود را نشان می‌دهند و از سوی دیگر گروه‌های OH و COOH نیز در طول موج ۳۲۰۰ پیک کاملا پهن و مناسبی را نشان داده است که به علت وجود این گروه‌های عاملی در انتهای زنجیرهای پلیمری PGS-co-PCL است. در نمونه PGS-co-PCL/PGC با اضافه شده پلیمر PGC که از خانواده پلی استرها است شدت پیک‌های گروه‌های عاملی کمی تغییر کرده است و در طول موج ۳۲۰۰ یک پیک اضافه مشاهده می‌شود که شاید به دلیل وجود داشتن برهمکنش و پیوندهای شیمیایی بین دو پلی استر باشد. در نمونه PGS-co-PCL/PGC/PPy تغییرات کمی در پیک‌های گروه‌های عاملی در این نمونه ایجاد شده است. از سوی دیگر در نمونه PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gel نیز وجود ژلاتین با گروه‌های عاملی آمینی و اسیدی بر شدت پیک‌های گروه‌های دیگر افزوده است.

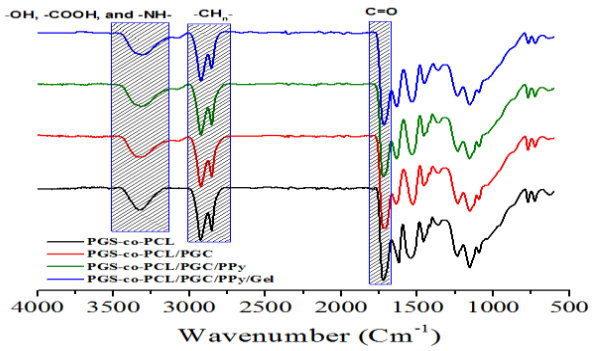


شکل ۱- A سلول‌های مزانشیمی غشاء آمنیوتیک شاهد، B سلول‌های مزانشیمی تمایز یافته به عضله قلب (کاردیومیوسیت‌ها) مورفولوژی سلول‌ها به حالت کشیده، دوکی شکل و منشعب در آمدند.

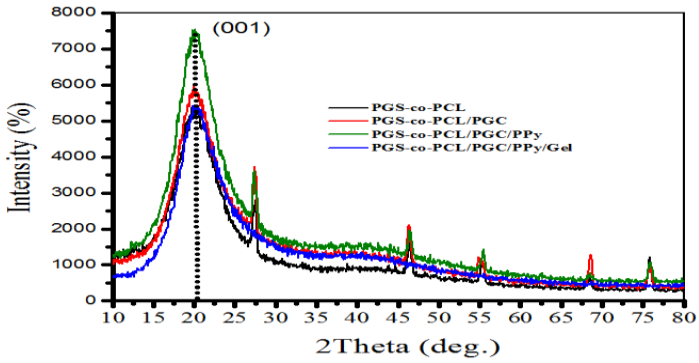
۲- بررسی داربست ساخته شده با آزمون XRD: برای بررسی ساختارهای بلوری و نظم در نمونه‌های داربست تهیه شده از XRD استفاده و نتایج آن در شکل ۳ نشان داده شده است. همه نمونه‌ها در زاویه ۲۰ درجه پیک مشخص و بارزی را نشان داده اند که به علت تشکیل یک ساختار بلوری در نمونه‌ها است. مشاهده می‌شود که تغییرات کامپوزیشن اثر بسیار مهمی را بر شدت این پیک دارد و پیک مربوط به صفحه بلوری (۰۰۱) است. حضور PGC در نمونه خالص توانسته است تا حدودی بر شدت پیک اضافه کند از سوی دیگر حضور پلیمر هادی PPy اثرات بسیار زیادی را بر شدت پیک بلوری ایجاد شده در نمونه نشان داده که شاید به دلیل برهمکنش‌های بسیار خوب بین PPy و پلیمر PGS-co-PCL باشد. با در کنار هم قرار دادن زنجیرهای پلیمری در اثر ایجاد پیوندهای هیدروژنی توانسته نظم خوبی را در ساختار پلیمری ایجاد کند اما حضور ژلاتین در نمونه بعدی سبب کاهش در میزان بلورینگی شده است که شاید به دلیل اثرات متضاد حضور ژلاتین و PPy در نمونه باشد.

۳- بررسی داربست ساخته شده با آزمون زاویه تماس: برای بررسی میزان آب‌دوستی در نمونه‌های تهیه شده از آزمون زاویه تماس استفاده شد. نتایج حاصل از برهمکنش آب با سطح داربست‌ها در شکل ۴ نشان داده شده است. در شکل مشخص است که همه نمونه‌ها رفتار تقریبا آب‌دوستی را نشان داده اند و بر اساس تغییرات کامپوزیشن در هر نمونه میزان زاویه قطره آب بر روی سطح داربست متفاوت است.

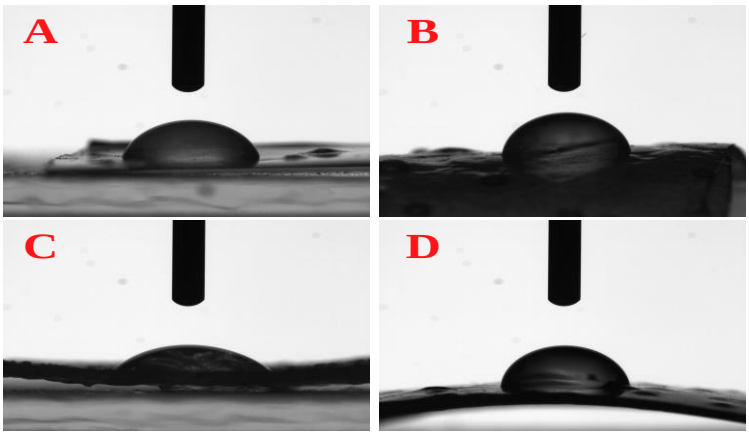
براساس مقایسه بین بیشترین برهمکنش آب با سطح نمونه‌ها، زاویه آب روی سطح PGS-co-PCL/PGC/PPY نسبت به بقیه نمونه‌ها کمتر بود که نشان از برهمکنش بهتر آب با سطح این نمونه دارد. در این نمونه به احتمال زیاد حضور PPY تا حدودی مانع از برهمکنش‌های زیاد گروه‌های OH وCOOH با یکدیگر شده است و سبب ایجاد گروه‌های عاملی بیشتر بر روی سطح این نمونه و برهمکنش بهتر شده است. همچنین در نمونه PGC-co-PCl/PGC/PPy/Gel نیز وجود ژلاتین احتمالا برهمکنش‌های بیشتری را با گروه‌های عاملی هدف داشته و سبب برهمکنش پایین تر این نمونه با مولکول‌های آب شده است (شکل ۵).



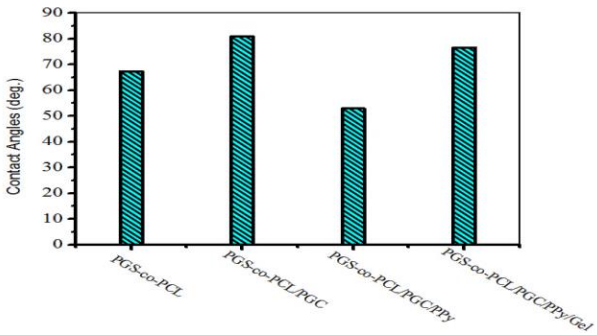
شکل ۲- نتایج بررسی FTIR برای داربست PGS-co-PCL / PGC / PPy / Gel.



شکل ۳- الگوی XRD برای داربست PGS-co-PCL / PGC / PPy/Gel. تمام نمونه‌ها در ۲۰ درجه یک پیک شفاف را نشان دادند که نشان دهنده تشکیل یک ساختار کریستالی است.

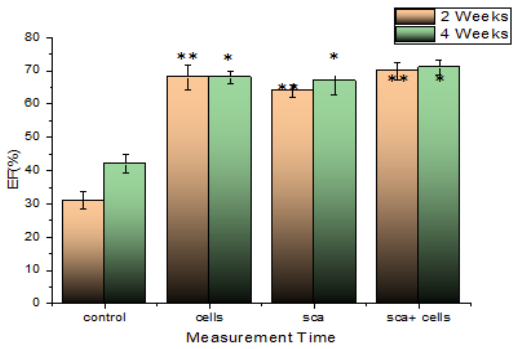


شکل ۴- نتایج آزمون زاویه تماس برای همه نمونه‌های تهیه شده (A) PGS-co-PCL، (B) PGS-co-PCL/PGC، (C) PGS-co-PCL/PGC/PPY و (D) PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gel



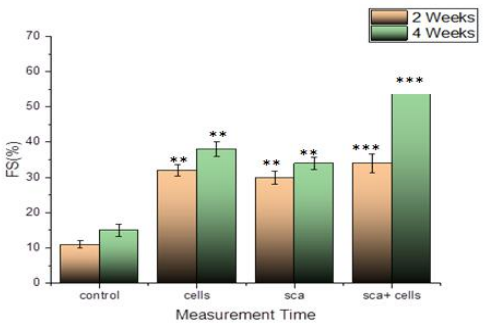
شکل ۵- نتایج آزمون زاویه تماس در نمونه‌های مختلف. نمونه‌ی PGS-co-PCL / PGC / PPY بیشترین برهمکنش را با آب دارد و زاویه آب روی سطح آن کمتر از سایر نمونه‌ها می‌باشد، با این وجود اختلاف معنا داری بین نمونه‌ها مشاهده نمی‌شود.

ارزیابی نتایج اکوکاردیوگرافی ۲و ۴ هفته پس از القاء ایسکمی ریپرفیوژن، با بررسی میزان کسر تخلیه/ Ejection (EF) fraction



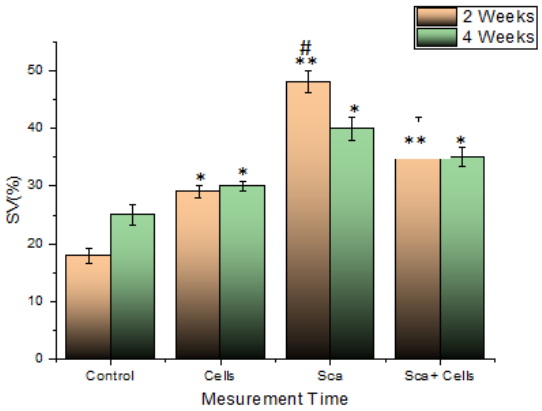
شکل ۶- میزان برون ده قلبی در گروه‌های مورد مطالعه در هفته‌های ۲ و ۴ پس از ایسکمی ریپرفیوژن. در گروه‌های درمانی نسبت به گروه کنترل، پارامتر کسر تخلیه EF افزایش معنا داری داشته است ($P<0.05$, $P<0.01$). در بین گروه‌های درمانی اختلاف معنا داری وجود ندارد. Ctr: کنترل، سلول: سلول‌های مزانشیمی، Sca: گروه داربست و Cell+Sca: سلول‌های مزانشیمی+ داربست

ارزیابی نتایج اکوکاردیوگرافی ۲و ۴ هفته پس از القاء ایسکمی ریپرفیوژن، با بررسی میزان کسر جهشی Fractional Shortening/ (FS)



شکل ۷- میزان کسر جهشی (FS) در گروه‌های مورد مطالعه در زمان ۲ و ۴ هفته، پس از ایسکمی ریپرفیوژن. در گروه‌های درمانی نسبت به گروه کنترل، پارامتر کسر تخلیه FS افزایش معنا داری داشته ($P<0.01$, $P<0.001$). در بین گروه‌های درمانی اختلاف معنا داری وجود ندارد. Ctr: کنترل، سلول: سلول‌های مزانشیمی، Sca: گروه داربست و Cell+Sca: سلول‌های مزانشیمی+ داربست.

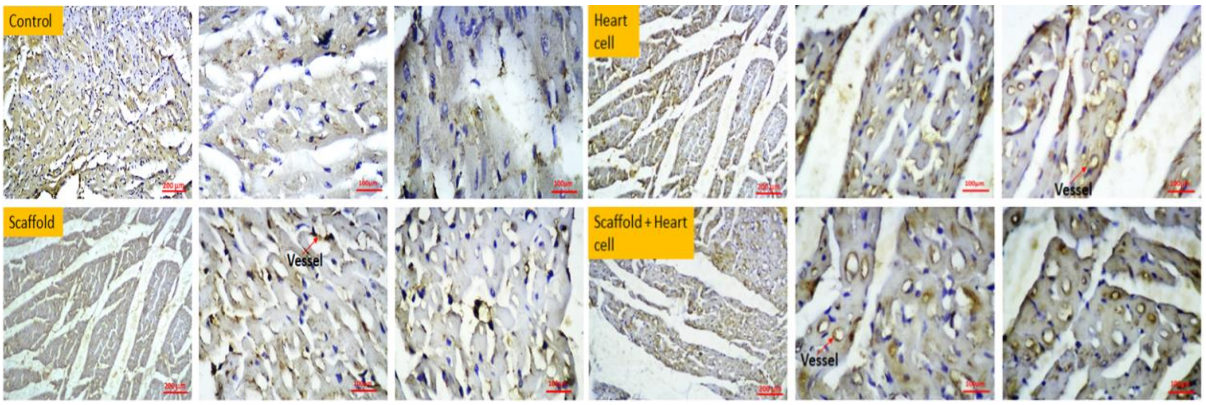
ارزیابی نتایج اکوکاردیوگرافی ۲و ۴ هفته پس از القاء ایسکمی ریپرفیوژن، با بررسی میزان حجم ضربه‌ای (SV) Stroke Volume/



شکل ۸- میزان حجم ضربه ای (SV) در گروه‌های مورد مطالعه در زمان ۲ و ۴ هفته، پس از ایسکمی ریپرفیوژن. در زمان ۲ و ۴ هفته پس از القاء ایسکمی ریپرفیوژن در تمامی گروه‌های درمان نسبت به گروه کنترل، پارامتر SVافزایش معنی‌داری داشته است($^{*}P<0.05, ^{**}P<0.01$). بین گروه‌های درمانی با یکدیگر تفاوت معنا دار مشاهده نمی شود. تنها در هفته ۲، SV در گروهی که فقط داربست دریافت کرده افزایش معنا داری نسبت به سایر گروه‌ها داشته است ($^{\#}P<0.05$). Ctr: کنترل، سلول: سلول‌های مزانشیمی، Sca: گروه داربست و Cell+Sca: سلول‌های مزانشیمی+ داربست.

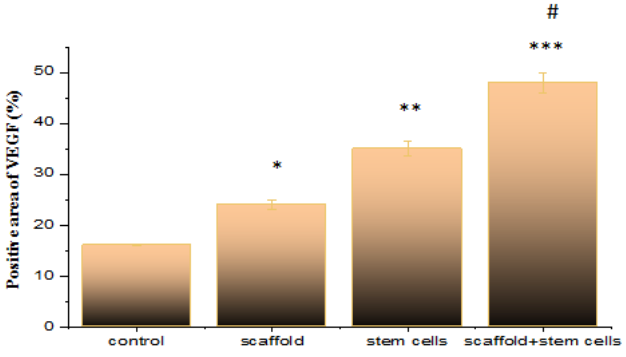
بررسی پروتئین VEGF با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی

نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری از نظر میزان تظاهر VEGF در بافت قلبی گروه‌های مختلف وجود دارد ($p<0.05$). این گلیکوپروتئین در تمایز سلول‌های پایه مزانشیمال به سلول‌های اندوتلیال نقش دارد که این ویژگی به عنوان نقطه عطف فعالیت این پروتئین در پدیده رگزایی منظور می‌شود و همان طور که در شکل ۹ مشخص است در گروه دریافت کننده داربست و سلول‌های بنیادی مزانشیمی میزان رگ زایی افزایش داشته است.



A

A



B

شکل ۹- A -بررسی بیان VEGF در گروه‌های کنترل، داربست، سلول‌ها، داربست و سلول‌ها. فلش‌ها نشانه رگ زایی (افزایش بیان پروتئین VEGF) هستند. Scale bar =200 μm .B- بیان پروتئین VEGF در گروه‌های کنترل، داربست، سلول‌های مزانشیمی، داربست همراه با سلول‌های مزانشیمی. بیان پروتئین VEGF در گروه‌های درمانی نسبت به گروه کنترل افزایش معنا داری را نشان داد ($^{*}P<0.05, ^{**}P<0.01, ^{***}P<0.001$). بیان پروتئین VEGF در گروه درمانی داربست+ سلول نسبت به گروه درمانی با داربست افزایش معنا را نشان داد ($^{\#}P<0.05$).

بحث

مطالعات زیادی توسط پژوهشگران با هدف بهبود روش‌های درمانی و ارتقای کیفیت زندگی افراد مبتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی، از جمله نارسایی قلبی در طول چند دهه اخیر انجام شده است [۱۵]. از جمله دستاوردهای این تحقیقات می‌توان به استفاده از سلول‌های بنیادی در ترمیم بافت‌های آسیب دیده اشاره کرد که نتایج امیدوار کننده‌ای را به دنبال داشته است [۲]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی سلول‌های چسبنده، شبه فیبروبلاست، چند توان و غیر خونساز هستند که از منابع مختلف از جمله غشاء آمنیوتیک بدست می‌آیند. در مطالعات مختلف،از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از غشاء آمنیوتیک (haMSCs) برای درمان مدل‌های ایسکمی قلبی استفاده شده است. در نتایج حاصل از مطالعات پیشین ما، که تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشاء آمنیوتیک به عضلهی قلبی با استفاده از محیط چانگ(بوتیریک اسید، رتینوئیک اسید و هیالورونیک اسید) بوده است، بیان سه ژن اختصاصی قلبی، C-TNT، NKX-2.5، GATA-4 و پروتئین CONNEXIN-43 افزایش یافت که نشان دهنده ی تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشاء آمنیوتیک به سلول‌های عضله ی قلب بوده و این سلول ها، منبع مناسبی برای تمایزات قلبی می‌باشند (۱۶). تحقیق حاضر، که ادامه ی مطالعه ی مذکور می‌باشد، از سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشاء آمنیوتیک، تمایز یافته به عضلهی قلب برای درمان ایسکمی قلبی در رت‌ها استفاده شد. از فرایندهای مهمی که سلول‌های بنیادی مزانشیمی از جمله سلول‌های مشتق از غشای آمنیوتیک از طریق آن عمل می‌کنند، تولید فاکتورهای رشد می‌باشد. انواع مهم این فاکتورها، فاکتورهای رشد VEGF و FGF هستند که از مهمترین مکانیسم‌های اثر هر دوی آن‌ها افزایش آنژیوژنز (رگ‌زایی) و در نتیجه بهبود خونرسانی در بافت می‌باشد [۱۹]. در تحقیق رضوی و همکاران نیز از سلول‌های بنیادی مزانشیمی غشای آمنیوتیک استفاده شد و نتایج نشان داد پیوند hAMSCs در موش‌های صحرایی مبتلا به نارسایی قلبی نه تنها سطح فیبروز را کاهش داده، بلکه باعث بهبود قابل توجهی در عملکرد قلب از نظر پارامترهای اکوکاردیوگرافی شده است (۲۰، ۲۱). از طرف دیگر در این مطالعه، از مولکول‌های زیستی تخریب پذیر و رسانا، به عنوان داربست برای درمان انفارکتوس میوکارد رت، همراه با سلول‌های بنیادی استفاده کردیم که شامل پلی گلیسرول سباکت (PGS) ، پلی‌کاپرولاکتون (PCL) و پلی گلیسیرول سیتریک اسید (PGC) بوده، این دو ماده PGS-co-PCL و PGC به صورت ترکیبی به عنوان ماده اصلی داربست انتخاب شد که زیست تخریب پذیر و زیست سازگار هستندو موجب افزایش کشسانی داربست شده و نیز از پلی پیرول (PPy) که موجب رشد بهتر سلول‌ها شده اند استفاده شد و مواد طبیعی مانند ژلاتین که موجب افزایش آب دوستی و زنده مانده سلول‌ها بر روی داربست بوده، استفاده شده است. مطالعات زیادی نشان داده انتقال سلول‌های بنیادی به قلب آسیب دیده‌ی رت، با استفاده از داربست، می‌تواند به انتقال بهتر سلول‌های بنیادی و نیز اثر بخشی بهتر در درمان سلول‌های آسیب دیده‌ی قلبی با مکانیسم‌هایی مانند کاهش آپوپتوز و افزایش تکثیر سلولی کمک کند [۲۲،۱۵]. در راستای این تحقیقات، Rashedi و همکارانش در سال ۲۰۱۷ بر روی بازسازی سلول‌های عضله ی قلب با استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر روی داربست کلاژن کار کردند و دریافتند بیان پروتئین‌های اختصاصی قلب و عروق توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر روی داربست کلاژن افزایش یافته است [۲۳]. Gao و همکارانش نیز با استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی روی داربست هیدروژل پلی گلوتامیک اسید و کیتوزان به درمان سکته‌ی قلبی در مدل رت پرداختند و شاهد کاهش آپوپتوز و بهبود عملکرد قلب بودند [۲۴]. بر اساس تحقیقاتی که تاکنون انجام شده است سلول‌های بنیادی، اصلاح عمکرد قلبی را از طریق سه مکانیسم انجام می‌دهند، میوژنز یا تشکیل بافت عضلانی، حمایت از رگ زایی و رها سازی فاکتورهای پاراکرین. سلول‌های بنیادی مزانشیمی تمام فاکتورهای پاراکرین را در وزیکول‌های غشایی به نام اگزوزوم‌ها رها می‌کنند. این فرآیندها چه دائمی باشند و چه موقت قادرند میوکاردقلب را با جلوگیری از مرگ کاردیومیوسیت‌های بافت قلب و یا ایجاد کاردیومیوسیت جدید ترمیم نمایند [۲۵]. در تحقیقی بر روی درمان رت‌های دچار ایسکمی ریپرفیوژن، با استفاده از تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی، یک ماه پس از سلول درمانی اکوکاردیوگرافی انجام شد که محققان شاهد بهبود عملکرد قلب و همچنین شاهد افزایش رگ زایی در بافت قلب بودند [۲۶]. در تحقیق حاضر نیز بررسی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی VEGF با روش رنگ آمیزی

ایمنوهیستوشیمی مشخص شد در گروه‌های درمانی دریافت کننده داربست و سلول‌های مزانشیمی میزان آنژیوژنز (رگ زایی) افزایش یافته که نشانه بهبود عملکرد قلب است. در بیماری‌های ایسکمیک قلب، تحریک فرایند رگ زایی و بهبود جریان خون در بافت مجاور منطقه ایسکمیک باعث بهبود شرایط بیمار شده و می‌تواند به عنوان یکی از اهداف درمانی در این بیماران مطرح باشد [۲۷]. گلیکوپروتئین VEGF از سلول‌های اندوتلیال ترشح شده و از طریق اتصال به گیرنده‌های تیروزین کینازی نوع یک VEGF-R1 و نوع دوم VEGF-R2 پیام دهی می‌کند [۲۸]. در شرایط طبیعی VEGF نفوذپذیری عروق را نیز تنظیم می‌کند که برای شروع رگ زایی ضروری است. همچنین در این تحقیق دو و چهار هفته پس از عمل جراحی بستن LAD به منظور تائید القاء نارسایی قلبی، از کلیه حیوانات مورد مطالعه، اکوکاردیوگرافی به عمل آمد و نتایج نشان داد که در گروه‌های نارسایی قلبی که درمان دریافت کردند نسبت به گروه کنترل، پارامتر کسر تخلیه (EF)، کسر جهشی (FS) و حجم ضربه‌ای (SV) افزایش داشته است ($p< 0.05$) که نشانه بهبود عملکرد قلب است. در مطالعه حاضر نقش داربست بیولوژیکی را در ارتقاء بقای سلولی و اثر درمانی در محیط *in vitro* و *in vivo* در مدل ایسکمی میوکارد گزارش می‌کنیم. هر دو روش درمانی، داربست و سلول‌های بنیادی مزانشیمی تأثیر قابل توجهی بر رگزایی و پیامد قلبی دارند. اما تفاوت جزئی بین درمان ترکیبی و سایر درمان‌ها به تنهایی در برون ده قلبی در ۲ و ۴ هفته پس از ایسکمی وجود دارد. به طور کلی با توجه به این که بیماری‌های قلبی و عروقی بسیار شایع هستند تحقیقات بسیاری نشان داده سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل خواص منحصر به فرد از جمله اثرات پاراکراین، تعدیل سیستم ایمنی، ایمنی‌زایی کم و توانایی تمایز می‌توانند طور گسترده‌ای برای درمان این بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرند. در تحقیق حاضر، نتایج نشان داده استفاده از سلول‌های مزانشیمی غشای آمنیوتیک به‌همراه داربست PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gel در بهبود عملکرد قلب بعد از ایجاد ایسکمی در مدل‌های موش موثر بود.

نتیجه‌گیری

از نتایج پژوهش حاصل به نظر می‌رسد که درمان با سلول‌های بنیادی مزانشیمی در نارسایی قلبی، درمان زودهنگام بسیار موثر است و قبل از اینکه بازآرایی کامل بافت قلبی اتفاق افتد درمان می‌تواند بسیار سودمندتر باشد. همچنین داربستی که طراحی شده که شامل: ترکیبات زیست سازگار، زیست تخریب‌پذیر، دارای چسبندگی و آب دوستی لازم برای سید شدن، مهاجرت و تمایز سلول‌ها و ویژگی‌های مکانیکی و استحکام لازم برای مهندسی بافت قلب بوده است، توانسته همراه با سلول درمانی در درمان قلب رت موثر واقع شود و شاهد افزایش برون ده قلب، کاهش میزان فیبروز ناشی از ایجاد ایسکمی، افزایش آنژیوژنز و بهبود قلب رت‌ها بوده‌ایم.

References

[1] Ou H, Teng H, Qin Y, Luo X, Yang P, Zhang W, et al. Extracellular vesicles derived from microRNA-150-5p-overexpressing mesenchymal stem cells protect rat hearts against ischemia/reperfusion. Aging (Albany NY). 2020;12(13):12669-83.

[2] Cho HM, Cho JY. Cardiomyocyte Death and Genome-Edited Stem Cell Therapy for Ischemic Heart Disease. Stem Cell Rev Rep. 2021;17(4):1264-79.

[3] Tabata Y. Tissue regeneration based on tissue engineering technology. Congenit Anom (Kyoto). 2004;44(3):111-24.

[4] Naji A, EitokuM, Favier B, Deschaseaux F, Rouas-Freiss N, Suganuma N. Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications. Cell Mol Life Sci. 2019;76(17):3323-48.

[5] Saeed H, Ahsan M, Saleem Z, Iqtedar M, Islam M, Danish Z, et al. Mesenchymal stemcells (MSCs) as skeletal therapeutics - an update. J Biomed Sci. 2016;23:41.

[6] Kim EY, Lee KB, Kim MK. The potential of mesenchymal stem cells derived from amniotic membrane and amniotic fluid for neuronal regenerative therapy. BMB Rep. 2014;47(3):135-40.

[7] Jiao H, Shi K, Zhang W, Yang L, Yang L, Guan F, et al. Therapeutic potential of human amniotic membrane-derived mesenchymal stem cells in APP transgenic mice. Oncol Lett. 2016;12(3):1877-83.

[8] Yusoff NH, Alshehadat SA, Azlina A, Kannan TP, Hamid SS. A Comparison of Culture Characteristics between Human Amniotic Mesenchymal Stem Cells and Dental Stem Cells. Trop Life Sci Res. 2015;26(1):21-9.

[9] Prieto P, Fernandez-Velasco M, Fernandez-Santos ME, Sanchez PL, Terron V, Martin-Sanz P, et al. Cell Expansion-Dependent Inflammatory and Metabolic Profile of Human

[10] Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. Front Physiol. 2016;7:548.
[11] Frohlich M, Grayson WL, Wan LQ, Marolt D, Drobnic M, Vunjak-Novakovic G. Tissue engineered bone grafts: biological requirements, tissue culture and clinical relevance. Curr Stem Cell Res Ther. 2008;3(4):254-64.
[12] Moutos FT, Guilak F. Functional properties of cell-seeded three-dimensionally woven poly(epsilon-caprolactone) scaffolds for cartilage tissue engineering. Tissue Eng Part A. 2010;16(4):1291-301.
[13] Polak JM, Bishop AE. Stem cells and tissue engineering: past, present, and future. Ann N Y Acad Sci. 2006;1068:352-66.
[14] Chen Y, Li C, Li C, Chen J, Li Y, Xie H, et al. Tailorable Hydrogel Improves Retention and Cardioprotection of Intramyocardial Transplanted Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Acute Myocardial Infarction in Mice. J Am Heart Assoc. 2020;9(2):e013784.
[15] 14-McMahan S, Taylor A, Copeland KM, Pan Z, Liao J, Hong Y. Current advances in biodegradable synthetic polymer based cardiac patches. J Biomed Mater Res A. 2020;108(4):972-83.
[16] Gao L, Kupfer ME, Jung JP, Yang L, Zhang P, Da Sie Y, et al. Myocardial Tissue Engineering With Cells Derived From Human-Induced Pluripotent Stem Cells and a Native-Like, High-Resolution, 3-Dimensionally Printed Scaffold. Circ Res. 2017;120(8):1318-25.
[17] Bahrami, N., Barikrow, N., Ale Ebrahim M, et al . Differentiation of Amniotic Membrane Mesenchymal Stem Cells to Cardiomyocytes and the expression of NKX2.5 and C-TNT genes. journal of biological studies,2022, 5(1):128-139.
[18] Ghaneialvar H, Soltani L, Rahmani HR, Lotfi AS, Soleimani M. Characterization and Classification of Mesenchymal Stem Cells in Several Species Using Surface Markers for Cell Therapy Purposes. Indian J Clin Biochem. 2018;33(1):46-52.
[19] Zanjanizadeh Ezazi N, Ajdary R, Correia A, Makila E, Salonen J, Kemell M, et al. Fabrication and Characterization of Drug-Loaded Conductive Poly(glycerol sebacate)/Nanoparticle-Based Composite Patch for Myocardial Infarction Applications. ACS Appl Mater Interfaces. 2020;12(6):6899-909.
[20] Dabrowski FA, Burdzinska A, Kulesza A, Sladowska A, Zolocinska A, Gala K, et al. Comparison of the paracrine activity of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord, amniotic membrane and adipose tissue. J Obstet Gynaecol Res. 2017;43(11):1758-68.
[21] Razavi Tousi SM, Faghihi M, Nobakht M, et al. Improvement of Heart Failure by Human Amniotic Mesenchymal Stromal Cell Transplantation in Rats. J Tehran Heart Cent. 2016;11(3):123-138.
[22] Gorjipour F, Hosseini-Gohari L, Alizadeh Ghavidel A, Hajimiresmaiel SJ, Naderi N, Darbandi Azar A, et al. Mesenchymal stem cells from human amniotic membrane differentiate into cardiomyocytes and endothelial-like cells without improving cardiac function after surgical administration in rat model of chronic heart failure. J Cardiovasc Thorac Res. 2019;11(1):35-42.
[23] Granados-Riveron JT, Pope M, Bu'lock FA, Thornborough C, Eason J, Setchfield K, Ketley A, Kirk EP, Fatkin D, Feneley MP, Harvey RP, Brook JD. Combined mutation screening of NKX2-5, GATA4, and TBX5 in congenital heart disease: multiple heterozygosity and novel mutations. Congenit Heart Dis. 2012 Mar-Apr;7(2):151-9. doi: 10.1111/j.1747-0803.2011.00573.x. Epub 2011 Oct 20. PMID: 22011241; PMCID: PMC3370385.
[24] Rashedi I, Talele N, Wang XH, Hinz B, Radisic M, Keating A. Collagen scaffold enhances the regenerative properties of mesenchymal stromal cells. PLoS One. 2017;12(10):e0187348.
[25] Gao L, Yi M, Xing M, Li H, Zhou Y, Xu Q, et al. In situ activated mesenchymal stem cells (MSCs) by bioactive hydrogels for myocardial infarction treatment. J Mater Chem B. 2020.
[26] Wang Y, Qi Z, Yan Z, Ji N, Yang X, Gao D, Hu L, Lv H, Zhang J, Li M. Mesenchymal Stem Cell Immunomodulation: A Novel Intervention Mechanism in Cardiovascular Disease. Front Cell Dev Biol. 2022 Jan 12;9:742088. doi: 10.3389/fcell.2021.742088. PMID: 35096808; PMCID: PMC8790228.
[27] Thavapalachandran S, Le TYL, Romanazzo S, Rashid FN, Ogawa M, Kilian KA, et al. Pluripotent stem cell-derived mesenchymal stromal cells improve cardiac function and

vascularity after myocardial infarction. Cytotherapy. 2021. 84:1074.

[28] Mihai MC, Popa MA, Suica VI, Antohe F, Jackson EK, Simionescu M, et al. Mechanism of 17beta-estradiol stimulated integration of human mesenchymal stem cells in heart tissue. J Mol Cell Cardiol. 2019;133:115-24.

[29] Khan K, Makhoul G, Yu B, Jalani G, Derish I, Rutman AK, et al. Amniotic stromal stem cell-loaded hydrogel repairs cardiac tissue in infarcted rat hearts via paracrine mediators. J Tissue Eng Regen Med. 2022;16(2):110-27.

Journal of Developmental Biology
Vol. 15, No.2, Spring 2023

Differentiation of amniotic membrane mesenchymal stem cell to cardiomyocyte on PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin scaffold and its effect on the treatment of cardiac ischemia in adult male Wistar rats

Bahrami N.[1], Ale-Ebrahim M.[2*], Barikrow N. [1], Asadi Y.[3], Salami A.[4], Roholah F.[1]

[1] Department of Molecular and Cellular Sciences, Faculty of Advanced Sciences & Technology, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2] Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3] Department of Physiology, Kish International Branch, Islamic Azad University, Kish Island, Iran.
[4] Nanobiotechnology research center, Baqiyatallah University of medical sciences, Tehran, Iran.

* (Corresponding author): Mahsa.alebrahim@yahoo.com

DOI:10.30495/JDB.2022.1959843.1308 https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008692.1402.15.2.1.1

Received: June 2022 Accepted: September 2022

Abstract

The cardiac ischemia and its subsequent failures have a high prevalence and its treatment is dangerous, expensive and ineffective. With the implant of mesenchymal stem cells, researchers hope to replace the dead tissues and reactivate the damaged parts of the heart. Materials and methods: After the differentiation of mesenchymal stem cells of the amniotic membrane into heart muscle cells, by closing the left anterior descending coronary artery (LAD) for 45 minutes, acute ischemia was induced in male Wistar rats. Then reperfusion was performed in male rats. Then treatment groups, including: differentiated stem cells, stem cells with PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin scaffold and scaffold group, were implanted into the damaged heart. After 2 and 4 weeks, echocardiography was performed and angiogenesis was examined in the heart tissue using the immunohistochemical technique.

Results and discussion: In treatment groups with mesenchymal cells and scaffolds + mesenchymal cells compared to the control, the amount of cardiac ejection fraction (EF), ejection fraction (FS) and cardiac stroke volume (SV) increases. Also, by examining the growth of VEGF in different groups and the control group, there was a significant increase in the expression of this angiogenic factor in the group receiving the scaffold + mesenchymal cells compared to other groups, which seems to use the PGS-co-PCL/PGC/PPy./Gel scaffold has created enough and suitable space for growth of vessels in the myocardium.

Keywords: Mesenchymal stem cells, Amniotic membrane, PGS-co-PCL/PGC/PPy/Gelatin scaffold, Reperfusion ischemia.