Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ پسیدیوم گواوا همراه با سلول‌های بنیادی مشتق از بافت سینوویوم و پلاسمای غنی از پلاکت در استئوآرتریت ایجاد شده در زانوی رت

خلاصه

پیش‌زمینه: استئوآرتریت به‌عنوان بیماری دژنراتیو مفصلی شناخته می‌شود. داروهای سنتتیک در دسترس برای درمان استئوآرتریت، عوارض جانبی خطرناک و اثربخشی کم دارند. بنابراین، استفاده از داروهای گیاهی، جزء مهم طب مکمل و جایگزین است، سلول‌های بنیادی مزانشیمی از جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری‌ها برخوردار می‌باشند. برگ گواوا به‌عنوان آنتی اکسیدان، ضدالتهاب و ضد درد استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر تزریق داخل مفصلی عصاره هیدرو الکلی برگ گواوا همراه با سلول بنیادی در زانوی رت می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ابتدا ۹۰ سر رت نر انتخاب و برای ایجاد استئوآرتریت در مفصل زانو، کلاژناز نوع ۲ تزریق شد. سپس به ۹ گروه تقسیم شدند. که شامل: شم، کنترل، درمان با هایالگان، درمان با سلول‌های بنیادی، درمان با پلاسمای غنی از پلاکت، درمان با عصاره برگ گواوا، درمان با عصاره برگ گواوا و پلاسمای غنی از پلاکت، درمان با عصاره برگ گواوا و سلول بنیادی و درمان با عصاره برگ گواوا، سلول بنیادی و پلاسمای غنی از پلاکت می‌باشد. پس از ۵ ماه از درمان، نتایج توسط رادیولوژیست و پاتولوژیست مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: ارزیابی رادیوگرافی و هیستوپاتولوژیکی، پس از ۵ ماه از اولین تزریق کلاژناز، ترمیم غضروف مفصلی در گروه عصاره برگ گواوا همراه با سلول بنیادی و پلاسمای غنی از پلاکت را بهتر از گروه کنترل نشان داد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد عصاره هیدروالکلی برگ گواوا را به‌دلیل دارا بودن ترکیبات پلی فنولی زیاد، می‌توان به‌عنوان طب مکمل و جایگزین مناسب در استئوآرتریت پیشنهاد کرد.

واژه‌های کلیدی: استئوآرتریت زانو ، پسیدیوم گواوا، پلاسمای غنی از پلاکت، سلول‌های بنیادی سینوویوم، رت

دریافت مقاله: ۵ ماه قبل از چاپ ؛ **مراحل اصلاح و بازنگری:** ۲ بار ؛ **پذیرش مقاله:** ۲ ماه قبل از چاپ

*دکتر سیما سراوانی، ** دکتر نادر تنیده، *** دکتر مهدی فاضلی، **** دکتر نگار آذرپیرا، ***** الهام ندیمی، ** مریم مجاهد تقی، ****** دکتر مهرزاد لطفی، ******* دکتر آیدا ایرجی، ******* شاهرخ زارع

*بخش فارماکولوژی، دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی زابل، شیراز، زابل
** مرکز تحقیقات فن‌آوری سلولی، دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ، مرکز تحقیقات فناوری سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
*** بخش فارماکولوژی، واحد بین الملل دانشگاه شیراز، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
**** بخش پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
***** بخش آناتومی،دانشکده- دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
****** بخش رادیولوژی، دانشکده- دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
******* آزمایشگاه مرکزی، دانشکده- دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
******* مرکز تحقیقات فناوری سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

نشانی نویسنده رابط:
Email:
tanidehn@sums.ac.ir ,
tanidehn@gmail.com

مقدمه

استئوآرتریت شایع‌ترین فرم بیماری مفاصل بالغین در تمام دنیا است.حدود ۲۵ تا ۴۰ میلیون نفر در آمریکا از این بیماری رنج می‌برند[۱،۲]. استئوآرتریت یک اختلال دژنراتیو شایع غضروف مفصل، همراه با تغییرات هیپرتروفیک استخوانی است[۳،۴]. علاوه بر غضروف مفصلی، تغییرات در مایع سینوویال و نیز استخوان زیرین (ساب کندرال)، کپسول مفصلی و نیز سایر ساختارهای مفصلی رخ می‌دهند[۵،۶]. استئوآرتریت ابتدا در مفاصل تحمل‌کننده وزن نظیر زانو و لگن دیده می‌شود که شامل دژنراسیون غضروف مفصل و تغییرات در استخوان ساب کندرال است. در حال حاضر در کلینیک هیچ دارویی که به‌طور قطعی از پیشرفت این بیماری جلوگیری کند، در دسترس نیست. امروزه درمان بیماران شامل کاهش درد و التهاب با داروهای مسکن و ضدالتهاب مختلف یا داروهای گیاهی می‌باشد[۷،۸]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی، (Mesenchymal Stem Cells; MSCs) از قدرت تکثیر بالایی برخوردار بوده که واجد توانایی تمایز به رده‌های مشتق از نسوج مزانشیمی و حتی غیرمزانشیمی می‌باشد[۹،۱۰]. نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که قدرت تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت سینوویوم، نسبت به سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان، پریوستئوم، بافت چربی و عضله صد برابر بیشتر است. ضمن اینکه در این مطالعات ثابت شده، که از نظر قدرت تمایز به غضروف و بافت چربی، این رده از سلول‌ها از همه انواع مشابه خود قوی‌تر هستند[۱۱]. با توجه به مطالب فوق به نظر می‌رسد به زودی این سلول‌ها (سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت سینوویوم) در میان انواع دیگر سلول‌های بنیادی مزانشیمی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار خواهند شد و در پروتکل‌های سلول درمانی و نیزمهندسی بافت مورد استفاده قرار گیرند. PRP یک روش نسبتاً نوین و بنیادین سلول درمانی در علم پزشکی است،

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018

درمان با PRP که محیطی غنی و حاوی غلظت‌های بالا از فاکتورهای رشد مختلف است، می‌تواند به عنوان راه‌حلی برای تحریک این سلول‌ها به همانندسازی و بازسازی بافت‌های آسیب دیده مفصلی و استخوانی مطرح گردد[۱۲،۱۳]. باتوجه به استقبال گسترده از PRP در بهبود آسیب‌های ورزشی، پژوهشگران درصدد استفاده از PRP برای ترمیم صدمات لیگامنت‌ها و تاندون، استئوآرتریت زانو، فرسایش غضروف زانو، تاندونیت مزمن آرنج و کشیدگی و پارگی عضله هستند[۱۴]. مصرف داروهای گیاهی از زمان‌های قدیم، در تمدن‌های باستانی رایج بوده و امروزه نیز گیاه درمانی در نقاط مختلف دنیا رایج است و توجه خاصی به گیاه درمانی شده است. تاکنون گیاهانی نظیر: آووکادو، فلفل قرمز، زنجبیل، پنجه شیطان، برگ سپیدار، گزنه و تنه درخت بید در درمان استئوآرتریت مورد استفاده قرار گرفته است[۱۵]. عصاره و متابولیت‌های گیاه گواوا به‌خصوص برگ و میوه آن از لحاظ فعالیت فارماکولوژیکی مفید می‌باشد[۱۶]. عصاره برگ گیاه گواوا شامل: تانن‌ها، ترکیبات فنلی، فلاوونوئیدها، اسید گالیک، تری‌ترپن‌ها، گویاجاورین، کوئرستین، آلکالوئیدها و ساپونین می‌باشد[۱۶،۱۷]. ترکیبات پلی‌فنولیک و تری‌ترپنوئید در عصاره اتانولی برگ گیاه می‌تواند اثرات ضدالتهابی داشته باشند. باتوجه به این که، فاکتور نکروز کننده تومور و اینترلوکین ۱ سیتوکین‌های مهم در ایجاد التهاب و استئوآرتریت هستند که سنتز پروتئوگلیکان و کلاژن نوع ۲ را مهار می‌کنند و همچنین سیتوکین‌ها مهم‌ترین علت ایجاد گرانولوما هستند بنابراین، فلاوونوئیدهای موجود در برگ گواوا با مهار سیتوکین‌ها می‌توانند باعث کاهش گرانولوما شوند و اثر ضدالتهابی از خود نشان دهند[۱۸]. همچنین فلاوونوئیدها و کوئرستین موجود در برگ می‌تواند خواص اسپاسمولیتیک، اثر ضدمیکروبی و ضدالتهابی داشته باشند[۱۹،۲۰]. باتوجه به اینکه برای اولین بار تزریق داخل مفصلی عصاره گواوا استفاده می‌شود. لذا، هدف از این مطالعه، تعیین اثر ترمیمی عصاره هیدروالکلی برگ گواوا، سلول‌های بنیادی و PRP از طریق تزریق داخل مفصلی، بر غضروف‌سازی در مدل استئوآرتریت ایجاد شده توسط ارزیابی هیستوپاتولوژی و رادیولوژی در رت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

القاء استئوآرتریت

رت‌ها توسط کتامین با دوز 90mg/kg (GmbH، آلمان) و زایلازین با دوز 8mg/kg (آلفاسان، هلند) تحت بیهوشی عمومی قرار گرفتند. زانوی چپ تمام رت‌ها تراشیده و آماده جهت تزریق گردید. در زانوی چپ آنها، ۴ میلی‌گرم، کلاژناز تیپ ۲ (کلستریدیوم هیستولیتیکوم) که در PBS استریل (Phosphate Buffered Saline) حل شده بود، به‌صورت داخل مفصلی (intra articular) پس از عبور از فیلتر با غشاء 0.22µm تزریق گردید. تزریق دوم کلاژناز با همان دوز قبلی بعد از ۳ روز تکرار شد[۲۱،۲۲]. بعد از تزریق، رت‌ها، بدون هیچ محدودیت حرکتی و در شرایط استاندارد نگهداری شدند. پس از گذشت ۳ ماه، آسیب ایجاد شده مورد بررسی رادیوگرافی قرار گرفت.

تهیه عصاره هیدروالکلی برگ گواوا

برگ گواوا از منطقه چابهار در استان سیستان و بلوچستان، جمع آوری و توسط کارشناس گیاه شناسی دانشکده داروسازی (SFPH-771) شناسایی گردید. ابتدا برگ‌ها، تمیز شده و سپس جهت خشک شدن در سایه قرار داده شد، پس از خشک شدن توسط آسیاب برقی، پودر و جهت عصاره‌گیری استفاده شد. عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون با اتانول ۵۰ درجه انجام گرفت. عصاره‌ها توسط دسیکاتور در دمای ۴۰ درجه (روتاری) غلیظ شدند و پس از آن عصاره‌های غلیظ شده به دستگاه فریزدرایر منتقل شدند و نهایتاً عصاره برگ، به‌صورت پودر لیوفیلیز شده در آمد[۲۳].

روش ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی

ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی با رادیکال 1,1- (DPPH) diphenyl-2-picrylhydrazyl انجام شد[۲۴]. به‌منظور تعیین ۵۰ درصد مهار، غلظت‌های متفاوت ساخته شد.. جذب در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر، قرائت گردید. و در نهایت درصد مهار و IC_{50} محاسبه گردید[۲۵،۲۶].

روش Folin–Ciocalteu

این روش تعیین کننده ترکیبات کل فنولی می‌باشد. Folin–Ciocalteo یک ترکیب اکسنده است. فنول‌ها و پلی فنول‌ها با انتقال تک الکترون خود در محیط قلیایی به آن، این ترکیب را احیا کرده و ایجاد رنگ آبی در محیط می‌نمایند(۲۷).

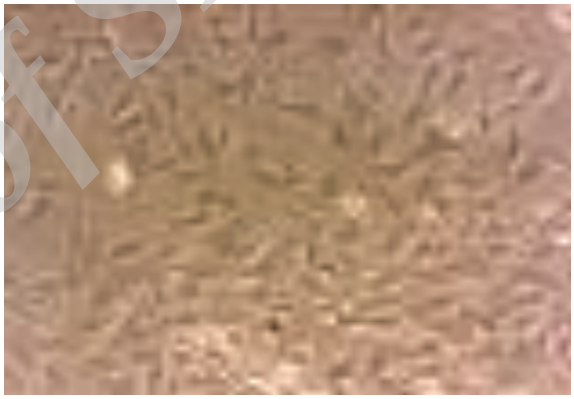
تهیه سلول‌های بنیادی مشتق از بافت سینوویوم

غشای سینوویوم را با روش جراحی آسپتیک از رت تهیه و به آزمایشگاه سلول‌های بنیادی منتقل و در زیر هود عمل هموژنیزاسیون بافت انجام و سپس با ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر کلاژناز نوع D محلول در محیط α-MEM و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲ ساعت جهت هضم، مورد تیمار قرار گرفت. سپس

www.SID.ir

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018

بافت هضم شده از فیلتر نایلونی با غشاء 0.22µm عبور داده شده و باقی مانده‌های بافت دور ریخته شدند. پس از این مرحله، سلول‌های حاصل با PBS شسته شده و سوسپانسیون حاصل سانتریفیوژ شده (به مدت ۴ دقیقه در دور ۱۳۰۰) و سلول‌های رسوب کرده با PBS شستشو داده شد. در این مرحله سلول‌های هسته‌دار به درون فلاسک‌های کشت سلولی حاوی محیط کشت DMEM و Pen/Strep ۱٪ و سرم جنین گاوی (FBS) با غلظت ۱۰٪ به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه با رطوبت ۹۵٪ و $5\%CO_2$ انکوبه شد[۲۸]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی که از بافت سینوویوم استخراج شدند از پاساژ ۴ جهت تزریق مورد استفاده قرار گرفتند. پس از کشت و پاساژ سلول‌های جدا شده، جهت تعیین هویت سلول‌ها، ازفلوسایتومتری، توسط آنتی‌بادی‌های اختصاصی CD73 و CD105 استفاده شد (شکل ۱).



شکل ۱. نمایی از سلول‌های جدا شده و کشت داده شده در پاساژ 1. این سلول‌ها دوکی شکل و فیبروبلاستی می‌باشند(بزرگنمایی.×100)

بررسی سمیت سلولی عصاره برگ گواوا

برای بررسی مهار رشد سلولی، از آزمون MTT (Methy Thiazol Tetrazolium) استفاده گردید. در این روش میزان ۱۰۰میکرولیتر محیط کشت حاوی ۳۰۰۰ سلول، در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه قرار داده شد. پس از انکوباسیون پلیتها، غلظت‌های مناسب از عصاره به چاهک‌های پلیت اضافه گردید و سلول‌ها در انکوباتور قرار داده شدند. سپس به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در تاریکی انکوبه شد.

در نهایت جذب نوری در ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (Awareness Technology Inc, Stat Fax 2100, USA) خوانده شد.

تهیه (PRP) پلاسمای غنی از پلاکت :

خون وریدی ازقلب با تکنیک آسپتیک گرفته شده، پس از انتقال به لوله‌های آزمایش، سانتریفیوژ شده و سپس (5810 R; Eppendorf AG, Hamburg, Germany) پلاسما را جدا کرده و مجدداً سانتریفیوژ می‌کنیم. ۲/۳بالایی، که شامل پلاسمای ضعیف پلاکتی (PPP) می‌باشد، را دور می‌ریزیم. لایه باقی‌مانده (۱/۳ انتهایی) به‌عنوان PRP در نظرگرفته می‌شود[۲۹]. PRP از طریق یک فیلتر با غشاء ۰/۲۲ میکرون عبور داده شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد.

شمارش پلاکت

تعداد پلاکت‌ها در خون کامل و PRP جداشده، شمارش گردید. برای ارزیابی تعداد پلاکت‌ها، سیستم Sysmex XT- (Sysmex, Kobe, Japan) مورد استفاده قرار گرفت[۳۰].

حیوانات

در این تحقیق تعداد ۹۰ سر رت بالغ نر از نژاد Sprague Dawley در محدوده وزنی ۲۰±۲۰۰ و سن ۱۰ تا ۱۲ هفته استفاده شد. حیوانات از لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و در دمای ۲۲±۲ °C، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۵۵±۵ درصد با آب و غذای استاندارد که به‌طور آزادانه در اختیارشان قرار داشت، نگه‌داری شدند.

گروه بندی

گروه‌بندی رت‌ها به‌صورت تصادفی در ۹گروه ۱۰تایی انجام شد.

۱.گروه آزمایش sham: با چهار بار تزریق سالین (۵۰ لاندا)، در طول دوره درمان، تنها استرس تزریق موضع زانو به آنها وارد شده و درمانی در آنها صورت نگرفت.

۲. گروه کنترل منفی: پس از القا استئوآرتریت، درمانی در آنها صورت نگرفت.

۳. گروه کنترل مثبت: (Hyalgan) پس از القا استئوآرتریت در طول مطالعه، ۵۰ لاندا هایالگان با غلظت ۱٪ ساخت شرکت فیدیا ایتالیا داخل مفصل، چهار بار تزریق گردید.

۴. گروه تست شماره ۱: (Leaf) پس از القا استئوآرتریت در طول مطالعه، عصاره هیدرالکلی برگ گیاه گواوا با دوز mg/kg ۵۰۰ داخل مفصل، چهار بار تزریق گردید.

۵. گروه تست شماره ۲: (leave+ PRP+ Stem Cell) پس از القا استئوآرتریت در طول مطالعه، عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گواوا با دوز 500 mg/kg و PRP با دوز ۵۰ لاندا چهار بار و

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018

سلول بنیادی با غلظت ۱×۱۰^{۶} سلول یک بار داخل مفصل، تزریق گردید.

۶. گروه تست شماره ۳ (Leave+ Stem Cell) پس از القا استئوآرتریت در طول مطالعه، عصاره هیدرالکلی برگ گیاه گواوا با دوز 500 mg/kg چهاربار و سلول بنیادی با غلظت ۱×۱۰^{۶}یک بار داخل مفصل، تزریق گردید.

۷. گروه تست شماره ۴: (leave+ PRP) پس از القا استئوآرتریت در طول مطالعه، عصاره هیدرالکلی برگ گیاه گواوا با دوز ۵۰۰ mg/kg و PRP با دوز ۵۰ لاندا داخل مفصل، چهار بار تزریق گردید.

۸. گروه تست شماره ۵: (Stem Cell) پس از القا استئوآرتریت در طول مطالعه، سلول بنیادی با غلظت ۱×۱۰^{۶} داخل مفصل، یک بار تزریق گردید.

۹. گروه تست شماره ۶: (PRP) پس از القا استئوآرتریت در طول مطالعه، PRP با دوز ۵۰ لاندا داخل مفصل، چهار بار تزریق گردید.

تهیه عکس رادیولوژی

۳ ماه پس از تزریق کلاژناز نوع ۲ و القاء استئوآرتریت و همچنین در پایان دوره مطالعه، حیوانات جهت انجام گرافی از زانوی چپ و بررسی‌های دقیق توسط رادیولوژیست، به بخش رادیولوژی بیمارستان فقیهی، در شرایط استاندارد منتقل شدند. در زمان عکسبرداری دستگاه رادیوگرافی روی ولتاژ ۴۵کیلووات (۴۵kv) و آمپراژ ۲۰ میلی‌آمپر بر ثانیه (۲۰mA/S) تنظیم شد و مطابق جدول ۱، ارزیابی انجام گردید[۳۱].

جدول ۱. درجه بندی استئوآرتریت

Table 1. The Classification of Osteoarthritis

Radiographic OA feature of the medial compartment		Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade3
	Joint space width	Normal	Reduced	Absent	NA
Osteophytes	Medial tibial condyle	Absent	Small	Moderate	Severe
	Medial femoral condyle	Absent	Small	Moderate	Severe
	Medial fabella	Absent	Present		NA
	Total osteophytes			0-7	

ارزیابی هیستوپاتولوژیکی

برای مطالعه هیستوپاتولوژی روند ترمیم، در گروه‌های درمان و کنترل بعد از تهیه عکس رادیوگرافی، رت‌ها به روش اخلاقی کشته شدند. بعد از کشته شدن، زانوی چپ را برش زده و عضلات و لیگامنت‌ها کنار زده شدند و مفصل زانو نمایان شد و کندیل‌های استخوان ران و انتهای بالایی استخوان درشتنی جدا گردیده و در محلول فرمالین بافر ده درصد قرار داده شدند. نمونه‌ها به مدت یک هفته در این محلول نگهداری شدند. پس از طی شدن مرحله تثبیت، نمونه‌ها در محلول اسید هدروکلریدریک ۴ درصد و اسید فرمیک ۵ درصد، دکلسیفاید شده و سپس بلوک‌های پارافینی از آنها تهیه شد. سپس مقاطع بافتی تحت رنگ‌آمیزی‌های هماتکسیلین و ائوزین (H&E) قرار گرفته و در زیر میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. از سیستم درجه‌بندی International Cartilage Repair Society (ICRS) برای ارزیابی و درجه‌بندی مقاطع بافتی استفاده شد (جدول ۲)[۳۲]. ارزیابی هیستوپاتولوژیکی توسط پاتولوژیست انجام گردید.

تحلیل آماری

داده‌های به‌دست آمده با روش One Way ANOVA ارزیابی شد، همچنین جهت مقایسه اختلاف بین گروه‌ها از آزمون Kruskal-wallis و Mann-whitney استفاده گردید. این آزمون‌ها توسط نرم‌افزار SPSS 18 انجام شد و اختلاف میانگین‌ها در سطح $p<۰/۰۵$ معنی‌دار درنظر گرفته شد.

Table 2. The Modified ICRS* Visual Histological Assessment Scale (33)

Feature	Score
Surface	Smooth/continuous 3 Irregularities discontinuous 0
Matrix	Hyaline 3 Mixture: hyaline/fibrocartilage 2 Fibrocartilage 1 Fibrous tissue 0
Cell distribution	Columnar zs Mixed/columnar-clusters 2 Clusters 1 Individual cells/disorganized 0
Cell population viability	Predominantly viable 3 Partially viable 1 < 10 % viable 0
Subchondral bone	Normal 3 Increased remodelling 2 Bone necrosis/granulation tissue 1 Detached/fracture/callus at base 0
Cartilage mineralization (calcified cartilage)	Normal 3 Abnormal/inappropriate location 0
Type I collagen staining of the matrix	Normal or nearly normal 3 Slight 2 Moderate 1 Abundant 0
Type II collagen staining of the matrix	Normal or nearly normal 3 Moderate 2 Slight 1 None 0

* ICRS, International Cartilage Repair Society

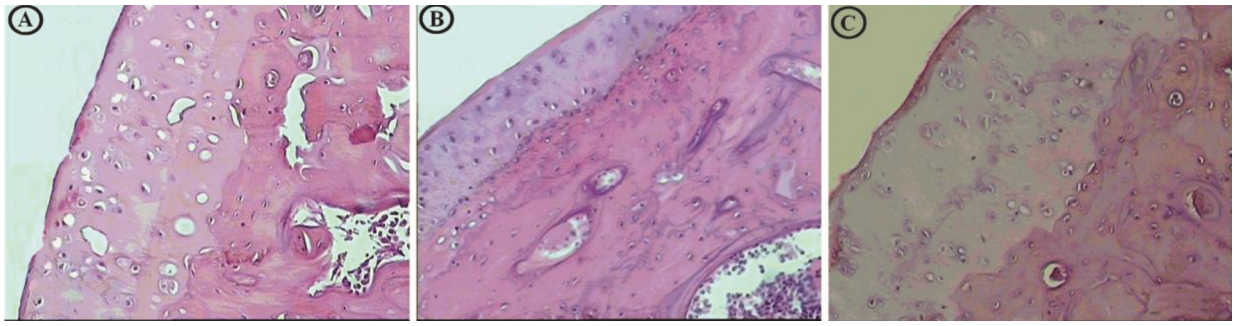
یافته‌ها

مشاهدات هیستوپاتولوژیکی

در مطالعه هیستوپاتولوژیک از مقطع غضروف مفصلی زانو (شکل۲)، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های درمان نسبت به گروه کنترل و گروه PRP وجود داشت و دارای سطح غضروف منظم

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018



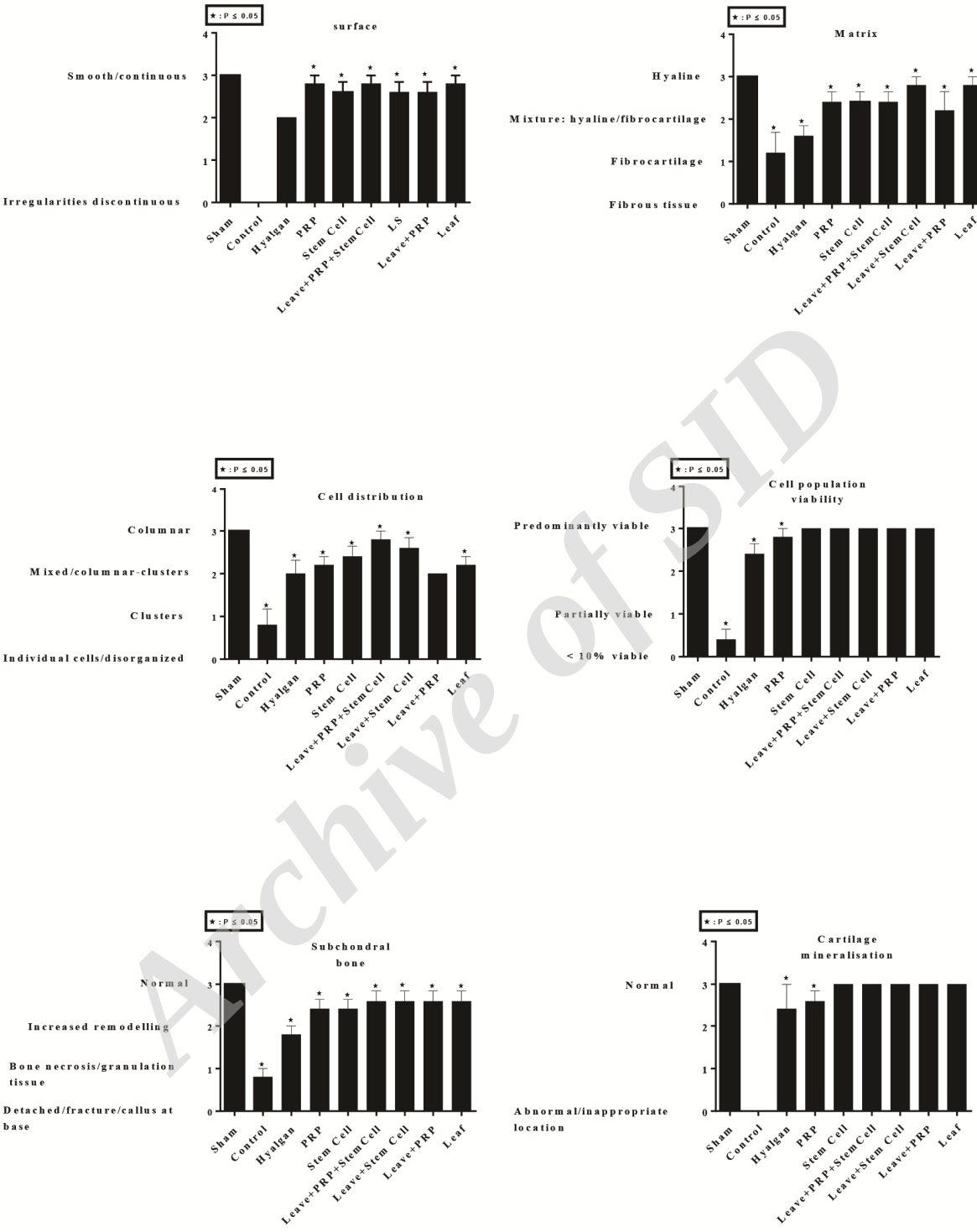
شکل ۲. مشاهدات هیستوپاتولوژیک در A.گروه کنترل B.گروه شم و C:گروه درمان با عصاره هیدروالکلی برگ گواوا همراه با پلاسمای غنی از پلاکت و سلول بنیادی(بزرگنمایی) × 10

بودند، و سطح غضروف مفصلی گروه PRP نسبت به گروه دریافت کننده Stem Cell، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و PRP و گروه دریافت کننده عصاره گواوا به تنهایی، نامنظم بود و تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین گروه دریافت کننده سلول بنیادی، از نظر سطح غضروف مفصلی با گروه‌های دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و PRP وگروه دریافت کننده عصاره گواوا به‌تنهایی تفاوت معنی‌داری نداشت ($p<۰/۰۵$). ماتریکس غضروف مفصل زانو در گروه دریافت کننده هیالگان، گروه دریافت کننده PRP و گروه کنترل، نسبت به دیگر گروه‌های درمان کاهش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین ماتریکس غضروف مفصل زانو در گروه دریافت‌کننده سلول بنیادی نسبت به گروه‌های دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و PRP و گروه دریافت کننده عصاره گواوا به تنهایی تفاوت معنی‌داری نداشت ($p<۰/۰۵$). میانگین شاخص توزیع سلولی (cell distribution score) در گروه دریافت کننده هیالگان، گروه دریافت کننده PRP و گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود ($p<۰/۰۵$). که این میانگین در گروه دریافت کننده PRP نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده سلول بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و PRP، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و گروه دریافت کننده عصاره گواوا به تنهایی به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود ($p<۰/۰۵$). همچنین این میانگین در گروه دریافت کننده سلول بنیادی فقط با گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP به‌طور معنی‌داری افزایش داشت ($p<0.05$). میزان زنده ماندن جمعیت سلولی غضروف مفصلی زانو (Cell population viability) در گروه‌های درمانی دریافت کننده سلول بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و PRP، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و گروه دریافت کننده عصاره گواوا به تنهایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($p<۰/۰۵$). در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. استخوان زیر غضروف مفصلی (subchondral bone) در گروه هیالگان، گروه دریافت کننده PRP و گروه کنترل به‌طور واضح، در مقایسه با گروه‌های درمانی دیگر، کاهش بازسازی را نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین در گروه دریافت کننده PRP نسبت به گروه‌های دریافت کننده عصاره گواوا، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP و سلول بنیادی و گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی کاهش بازسازی استخوان زیر غضروف مفصلی را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$). در گروه دریافت کننده سلول بنیادی تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌های دریافت کننده عصاره گواوا، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP و سلول بنیادی و گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی وجود نداشت. میانگین معدنی شدن غضروف مفصلی (Cartilage mineralization) در مقایسه با گروه کنترل در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). این میانگین در گروه‌های دریافت کننده PRP و گروه دریافت‌کننده سلول بنیادی نسبت به سایر گروه‌ها تفاوت چندانی نداشت. در نهایت، یافته‌های پاتولوژیک در گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP و سلول بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و گروه دریافت‌کننده عصاره گواوا به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل متفاوت بود ($p<۰/۰۵$). (نمودار ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018



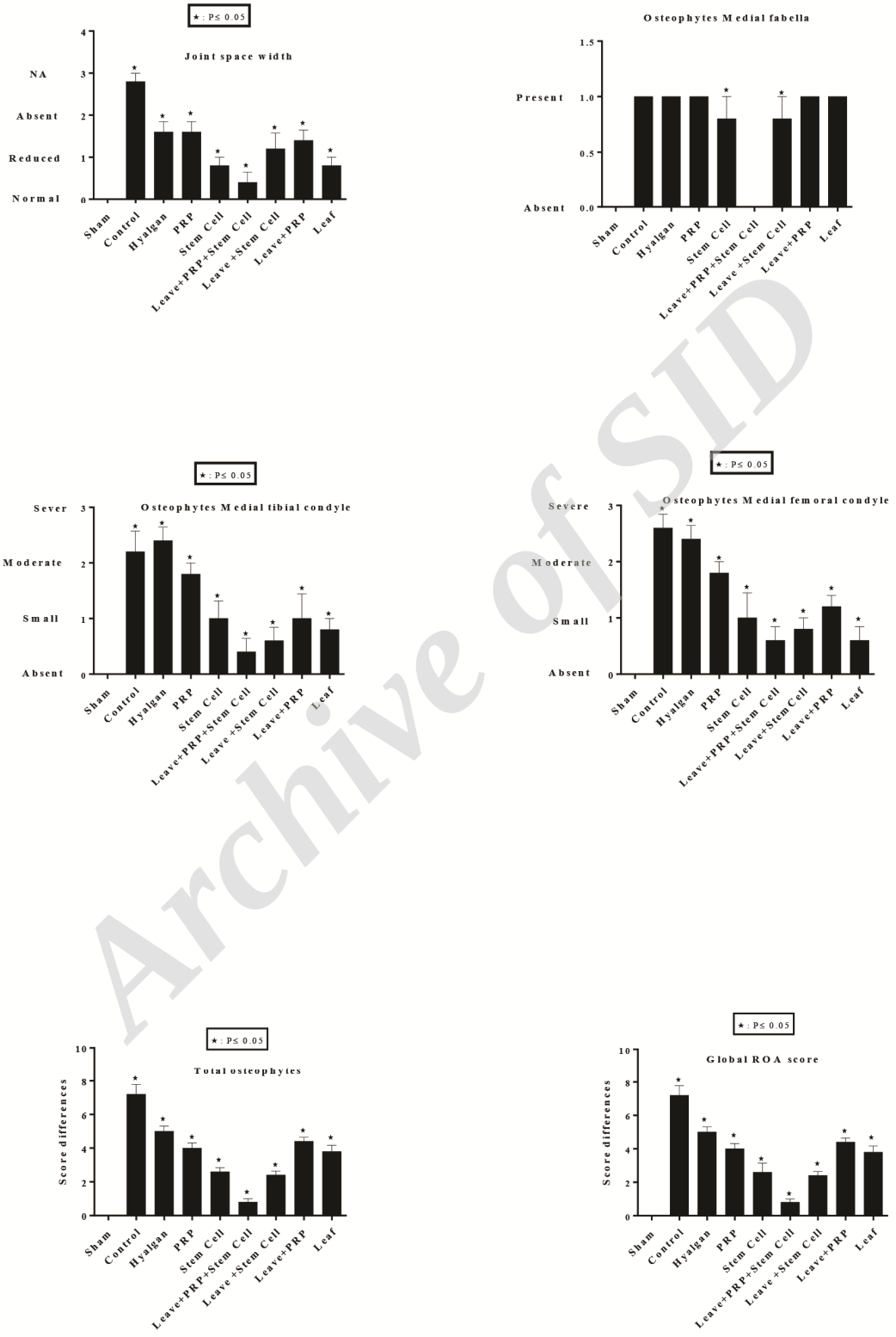
نمودار ۱. نتایج ارزیابی هیستوپاتولوژیکی، این نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار گروه دریافت کننده عصاره برگ گواوا همراه با PRP و سلول بنیادی و گروه دریافت کننده عصاره برگ گواوا، همراه با سلول بنیادی و گروه دریافت کننده سلول بنیادی با گروه کنترل می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

یافته‌های رادیولوژی

یافته‌های رادیولوژی در مطالعه پیش رو حاکی از آسیب قابل‌توجه مفاصل در گروه رت‌های القاء شده استئوآرتریت می‌باشد، که خود را به‌صورت آسیب در قسمت داخلی کندیل درشت‌نی، قسمت داخلی کندیل ران، فضای مفصلی و Medial fabella (استخوان سزاموئید در پشت فضای مفصلی زانو مشاهده می‌شود) نشان می‌دهند (نمودار ۲).

www.SID.ir

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018



نمودار ۲. نتایج ارزیابی رادیولوژیکی، این نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار گروه دریافت‌کننده عصاره برگ گواوا همراه با PRP و سلول بنیادی و گروه دریافت کننده عصاره برگ گواوا، گروه دریافت کننده سلول بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره برگ گواوا همراه با سلول بنیادی و گروه دریافت کننده سلول بنیادی با گروه کنترل می باشد($p<۰/۰۵$)

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018

در این مطالعه، ۳ ماه پس از تزریق آنزیم کلاژناز، بررسی ایجاد استئوآرتریت انجام شد که آسیب سطح مفصلی، کاهش فضای مفصلی و تشکیل استئوفیت را نشان داد. در پایان دوره درمان، بر اساس نمودار ۱ استئوفیت ایجاد شده در Medial Tibial condyleو Medial Fabella condyle و Medial Femoral condyle در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد، میزان استئوفیت ایجاد شده در گروه کنترل بیمار نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بوده که بیانگر استئوآرتریت ایجاد شده به‌صورت حاد در طول مطالعه می‌باشد. همچنین میانگین استئوفیت ایجاد شده در گروه‌های دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP و سلول‌های بنیادی، و گروه دریافت کننده سلول بنیادی همراه با برگ و گروه دریافت کننده برگ نسبت به گروه کنترل بیمار از میانگین پایین‌تری برخوردار بود و تفاوت معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین فضای مفصلی (Joint space width) در گروه‌های دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP و سلول‌های بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و گروه دریافت کننده عصاره گواوا با گروه کنترل افزایش یافته بود و تفاوت معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$) همچنین فضای مفصلی در گروه دریافت کننده PRP نسبت به گروه‌های دریافت کننده سلول بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره همراه با سلول بنیادی؛ گروه دریافت کننده عصاره گواوا، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP و سلول بنیادی کاهش یافته بود و تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). و فضای مفصلی در گروه دریافت کننده سلول بنیادی نسبت گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP و گروه کنترل افزایش یافته بود ($p<۰/۰۵$) و همین‌طور در گروه دریافت کننده سلول بنیادی از جنبه score Global OA با گروه‌های کنترل و هایالگان و PRP تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$).

بحث

بیماری‌های روماتولوژیک مانند استئوآرتریت و آرتریت روماتوئید بسیار شایع هستند. داروهای سینتتیک موجود برای درمان این بیماری‌ها، اثربخشی کم و عوارض نامطلوب قابل‌توجهی دارند. روش‌های متعددی به‌عنوان مکمل و جایگزین داروهای صناعی برای درمان این بیماری‌ها به کار می‌روند. یکی از این روش‌ها، استفاده از داروهای گیاهی است. گواوا یک گیاه دارویی و یک محصول غذایی مهم در کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری است. مطالعات نشان داده است که ترکیبات پلی فنولیک، فلاوونوئید، تانن‌ها، اسید الاژیک و تری ترپنویید موجود در عصاره اتانولی برگ گیاه می‌تواند اثرات ضدالتهابی داشته باشند[۳۴]. همچنین عصاره برگ این گیاه قادر است فاکتور نکروز دهنده تومور و اینترلوکین ۱ که سیتوکین‌های مهم در ایجاد التهاب و استئوآرتریت هستند و سنتز پروتئوگلیکان و کلاژن نوع ۲ را مهار کند[۳۵]. برگ گیاه غنی از فلاونوئید به‌خصوص کوئرستین هستند و بیشتر فعالیت درمانی گواوا به فلاونوئید نسبت داده می‌شود[۳۶].

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ گواوا نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی فعالیت فوق‌العاده‌ای در به‌دام انداختن رادیکال‌های آزاد از خود بروز می‌دهد. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که غلظت مهار ۵۰ درصد (IC_{50}) عصاره برگ گواوا 172 ± 3.592 ng/ml می‌باشد. میزان کل ترکیبات فنولی در این عصاره نیز 252.67±2.71 mg GAE/g از عصاره خشک می‌باشد. به نظر میرسد که Psidium guajava نقش مهمی در جلوگیری از آسیب سلولی در برابر ROS دارد.

نتایج بررسی‌های رادیوگرافی حاصل از این تحقیق که توسط آزمون‌های آماری کروس کال والیس مورد ارزیابی قرار گرفته است، نشان داد که میانگین تعداد استئوفیت‌ها، فضای مفصلی و درجه استئوآرتریت در گروه‌های دریافت کننده سلول‌های بنیادی همرا با عصاره هیدروالکلی برگ گواوا و گروه دریافت کننده عصاره برگ گواوا همراه با سلول بنیادی و PRP و گروه دریافت کننده عصاره برگ گواوا همراه با سلول بنیادی با سایر گروه‌های درمانی و کنترل تفاوت معنی‌داری را در سطح $p<۰/۰۵$ نشان داد.

یافته‌های هیستوپاتولوژیک در گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با PRP و سلول بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی، گروه دریافت کننده سلول بنیادی و گروه دریافت کننده عصاره گواوا به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، گروه دریافت کننده PRP و گروه دریافت کننده هیالگان متفاوت بود و افزایش ترمیم و بازسازی غضروف را به‌طور معنی‌داری نشان دادند ($p<۰/۰۵$).

آلتمن در سال ۲۰۰۱ مطالعه‌ای بر روی ۶۱ بیمار استئوآرتریت با دردهای متوسط تا حاد انجام داد در ارزیابی‌های رادیوگرافی انجام شده، نشان داد که مصرف عصاره زنجبیل دو بار در روز در این بیماران، علائم استئوآرتریت زانو را در طول ۶ هفته به طور متوسط کاهش داد.[۳۷] که این مطالعه با ارزیابی

www.SID.ir

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018

رادیوگرافی انجام گرفته مطالعه ما در گروه‌های دریافت کننده عصاره گواوا، عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی، عصاره گواوا همراه با سلول بنیادی و PRP هم‌خوانی دارد.

«کاون»[1] و همکارانش در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ انجام دادند، ۹ هفته پس از اولین تزریق کلاژناز، تزریق PRP به مدت ۴ هفته به داخل زانو انجام شد، ارزیابی‌های ماکروسکوپیک و بافت شناسی، ترمیم و بازسازی غضروف را در زانوی خرگوش‌های مبتلا به استئوآرتریت نشان داد. اما این مطالعه با نتایج حاصل از ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی انجام شده در پژوهش ما در گروه دریافت کننده PRP مطابقت هیستوپاتولوژی ندارد[۳۸] که می‌تواند این تفاوت به دلیل میزان PRP، مرحله‌ای از بیماری استئوآرتریت و نوع حیوانی باشد که با مطالعه ما متفاوت است.

«هوری»[2] و همکارانش نتیجه تزریق داخل مفصلی Luc / LacZ synovium-MSC + را به زانو موش اینگونه گزارش کردند، پس از ۱۲ هفته اثرات بازسازی منیسک و تولید کلاژن نوع II در زانوی رت مبتلا به استئوآرتریت مشاهده گردید[۳۹]. بنابراین، همانطور که در مطالعه ما دیده می‌شود، با نتایج گروه‌های درمان دریافت کننده سلول‌های بنیادی، گروه دریافت کننده عصاره برگ گواوا همراه با سلول‌های بنیادی و گروه دریافت‌کننده عصاره برگ گواوا همراه با سلول‌های بنیادی و PRP هم‌خوانی دارد و این تغییرات به لحاظ آماری معنی‌دار می باشد ($P<۰/۰۵$). به‌نظر می‌رسد MSCs synovium باتوجه به‌توان تکثیر بالایی که دارند، نقش مهمی را در بهبود مینیسک ایفا می‌کنند. همچنین عصاره هیدروالکلی برگ گواوا به‌دلیل دارا بودن تری‌ترپن‌ها می‌تواند شرایط مساعدی را برای رشد و تمایز سلول‌های بنیادی به کندروسیت‌ها و در نهایت ترمیم غضروف فراهم نماید.

«ایواتا»[3] و همکارانش گزارش دادند که تزریق هیالورونات در بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو و پری آرتریت شانه یک درمان ایمن و موثر است[۴۰]. اما در مطالعه ما، هیالینیزاسیون غضروف مفصلی زانو در گروه هیالگان به‌طور قابل توجهی پایین‌تر از گروه کنترل بود ($P<۰/۰۵$). که این مطالعه با نتایج گروه هیالگان همخوانی ندارد اما در مطالعه ما، هیالینیزاسیون غضروف مفصلی زانو در گروه هیالگان به طور قابل توجهی پایین تر از گروه های درمان با برگ و سلول بنیادی بود. گرچه هیالگان داروی مفیدی در کاهش علائم استئوآرتریت می‌باشد ولی درمان نهایی نمی‌باشد چون ما در مرحله حاد بیماری از هیالگان استفاده کردیم، نتیجه مثبت و مفیدی نگرفتیم و چنانچه در ابتدای بیماری یا به‌عنوان پیشگیری از استئوآرتریت استفاده می‌کردیم شاید نتیجه می‌گرفتیم. در این مطالعه در استئوآرتریت القاء شده در زانوی رت، در ارزیابی هیستوپاتولوژیک و رادیولوژیک، عصاره برگ گواوا به‌دلیل ترکیبات فنولی از طریق مهار آنزیم COX و لیپواکسیژناز قادر به کاهش التهاب در مفصل می‌باشد. و از این مسیر توانسته شرایط مناسبی را برای رشد و تمایز سلول‌های بنیادی بافت سینوویوم تزریق شده در فضای مفصلی به کندروسیت‌ها را فراهم آورد. به‌همین دلیل این سلول‌ها در حضور عصاره برگ گواوا قادر به ترمیم و درمان بافت آسیب دیده غضروف، شامل از بین‌رفتن استئوفیت‌های غضروف زانو، ترمیم فضای مفصلی و کاهش درجه استئوآرتریت در بافت مفصل زانو شده‌اند. همچنین احتمالاً ترمیم‌های بافتی به‌دلیل وجود تری‌ترپن‌ها در عصاره هیدروالکلی برگ گواوا می‌باشد که باعث کاهش التهاب در غضروف شده و می‌تواند شرایط مساعدی را برای رشد و تمایز سلول‌های بنیادی به کندروسیت‌ها و در نهایت ترمیم غضروف فراهم نماید. بنابراین براساس مطالعات گذشته و نتایج ضد التهاب حاصل ازاین تحقیق می‌توان پیشنهادکرد که اثرات پیشگری کننده عصاره برگ گواوا در بروز استئوآرتریت می‌تواند ناشی از فلاونوئیدها و تری‌ترپن‌های موجود در این گیاه باشد و به‌دلیل وجود این آنتی‌اکسیدان‌های قوی می‌تواند باعث جلوگیری از آسیب‌های رادیکال‌های آزاد که در روند استئوارتریت نقش دارند، شود.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره برگ گواوا را می‌توان به‌عنوان درمان مکمل و جایگزین برای استئوآرتریت در نظر گرفت. البته مطالعات بیشتری برای تایید این نتایج، مانند استفاده از سایر مدل‌های حیوانی و انجام آزمایشات استریولوژی مورد نیاز می‌باشد. همچنین پژوهش‌های بیشتری برای درک متابولیسم، مکانیسم عمل، اثربخشی، ایمنی و اجزای موثر عصاره هیدروالکلی گواوا مورد نیاز است. بنابراین، تجزیه و تحلیل دقیق فیتوشیمیایی عصاره هیدروالکلی Psidium Guajava برای بررسی مکانیسم عمل بازسازی و ترمیم غضروف مفصلی ضروری می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود که جهت تهیه فراورده‌های دارویی مورد بررسی‌های بیشتر قرار گیرد و از عصاره برگ گواوا به‌عنوان یک درمان مکمل، جایگزین و مفید برای بیماران مبتلا به استئوآرتریت استفاده شود.

تشکر و قدردانی

از پرسنل آزمایشگاه سلول های بنیادی و مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز که در این مطالعه ما را یاری نمودند، نهایت تشکر و قدردانی به عمل می آید.

1. Kwon
2. Horie
3. Iwata

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018

منابع

1. **Andersen RE, Crespo CJ, Ling SM, Bathon JM, Bartlett SJ.** Prevalence of significant knee pain among older Americans: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. Journal of the American Geriatrics Society. 1999;47(12):1435-8.
2. **Mili F, Helmick CG, Zack MM.** Prevalence of arthritis: analysis of data from the US Behavioral Risk Factor Surveillance System, 1996-99. The Journal of rheumatology. 2002;29(9):1981-8.
3. **Videan EN, Lammey ML, Lee DR.** Diagnosis and treatment of degenerative joint disease in a captive male chimpanzee (Pan troglodytes). Journal of the American Association for Laboratory Animal Science. 2011;50(2):263-6.
4. **Sinusas K.** Osteoarthritis: diagnosis and treatment. American family physician. 2012;85(1).
5. **Mankin HJ.** The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis. New England Journal of Medicine. 1974;291(24):1285-92.
6. **Resnick D.** Degenerative disease of extraspinal locations. Bone and joint imaging. 1996:321-54.
7. **Carter DR, Beaupré GS, Wong M, Smith RL, Andriacchi TP, Schurman DJ.** The mechanobiology of articular cartilage development and degeneration. Clinical orthopaedics and related research. 2004;427:S69-S77.
8. **Calvo E, Palacios I, Delgado E, Sanchez-Pernaute O, Largo R, Egido J, et al.** Histopathological correlation of cartilage swelling detected by magnetic resonance imaging in early experimental osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage. 2004;12(11):878-86.
9. **Sukhikh G, Spivak N, Malaĭtsev V, Bogdanova I, Shevchuk V.** Mesenchymal progenitor cells. Biological characteristic and prospects for their use. Fiziolohichnyi zhurnal (Kiev, Ukraine: 1994). 2006;53(1):62-76.
10. **Bobis S, Jarocha D, Majka M.** Mesenchymal stem cells: characteristics and clinical applications. Folia histochemica et cytobiologica. 2006;44(4):215-30.
11. **Yoshimura H, Muneta T, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I.** Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle. Cell and tissue research. 2007;327(3):449-62.
12. Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. Current reviews in musculoskeletal medicine. 2008;1(3-4):165-74.
13. **Saito M, Takahashi K, Arai E, Inoue A, Sakao K, Tonomura H, et al.** Intra-articular administration of platelet-rich plasma with biodegradable gelatin hydrogel microspheres prevents osteoarthritis progression in the rabbit knee. Clinical & Experimental Rheumatology. 2009;27(2):201.
14. **Alderman D.** The new age of prolotherapy. Practical Pain Management. 2010;10(4).
15. **Long L, Soeken K, Ernst E.** Herbal medicines for the treatment of osteoarthritis: a systematic review. Rheumatology. 2001;40(7):779-93.
16. **Sekhar NC, Jayasree T, Ubedulla S, Dixit R, VS M.** Evaluation of antinociceptive activity of aqueous extract of bark of Psidium guajava in albino rats and albino mice. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. 2014;8(9):HF01.
17. **Obadoni B, Ochuko P.** Phytochemical studies and comparative efficacy of the crude extracts of some haemostatic plants in Edo and Delta States of Nigeria. Global Journal of pure and applied sciences. 2002;8(2):203-8.
18. **Dutta S, Das S.** A study of the anti-inflammatory effect of the leaves of Psidium guajava Linn. on experimental animal models. Pharmacognosy research. 2010;2(5):313.
19. **Joseph B, Priya R.** Phytochemical and biopharmaceutical aspects of Psidium guajava (L.) essential oil: a review. Res J Med Plant. 2011;5(4):432-42.
20. **Rishika D, Sharma R.** An update of pharmacological activity of Psidium guajava in the management of various disorders. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2012;3(10):3577.
21. **Kim SB, Kwon DR, Kwak H, Shin YB, Han H-j, Lee JH, et al.** Additive effects of intra-articular injection of growth hormone and hyaluronic acid in rabbit model of collagenase-induced osteoarthritis. Journal of Korean medical science. 2010;25(5):776-80.
22. **Kikuchi T, Sakuta T, Yamaguchi T.** Intra-articular injection of collagenase induces experimental osteoarthritis in mature rabbits. Osteoarthritis and cartilage. 1998;6(3):177-86.
23. **Clark W.** Extracta Liquida Pharmaceutical Formulations: The Chemist and Druggist Book. London. 1950;183.
24. **Akbari A, Nasiri K, Heydari M, Mosavat SH, Iraji A.** The Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of Zingiber officinale Roscoe (Ginger) on Ethanol-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine. 2017:2156587216687696.
25. **Koohi-Hosseinabadi O, Ranjbar Z, Sepehrimanesh M, AndisheTadbir A, Poorbaghi SL, Bahranifard H, et al.** Biochemical, hematological, and pathological related healing effects of Elaeagnus angustifolia hydroalcoholic extract in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in male golden hamster. Environmental Science and Pollution Research. 2017:1-7.

www.SID.ir

Downloaded from ijos.ir at 10:06 +0330 on Wednesday November 21st 2018

26. Tanideh N, Bahrani M, Khoshnood-Mansoorkhani MJ, Mehrabani D, Firoozi D, Koohi-Hosseinabadi O, et al. Evaluating the Effect of Melillotus officinalis L. Aqueous Extracts on Healing of Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Male Rats. Annals of Colorectal Research. 2016;4(4):e42856.

27. Dabbaghmanesh M, Noorafshan A, Talezadeh P, Tanideh N, Koohpeyma F, Iraji A, et al. Stereological investigation of the effect of Elaeagnus angustifolia fruit hydroalcoholic extract on osteoporosis in ovariectomized rats. Avicenna Journal of Phytomedicine. 2017;7(3):261-74.

28. Kadivar M, Darvishi M, Salehi Moghadam M. Isolation, culture and characterization of human synovium derived mesenchymal stem cells. Yakhteh. 2009;11(2):160-7.

29. Franco D, Franco T, Schettino AM, Tavares Filho JM, Vendramin FS. Protocol for obtaining platelet-rich plasma (PRP), platelet-poor plasma (PPP), and thrombin for autologous use. Aesthetic plastic surgery. 2012;36(5):1254-9.

30. Huh J-E, Baek Y-H, Lee J-D, Choi D-Y, Park D-S. Therapeutic effect of Siegesbeckia pubescens on cartilage protection in a rabbit collagenase-induced model of osteoarthritis. Journal of pharmacological sciences. 2008;107(3):317-28.

31. Boulocher CB, Viguier ER, Cararo RD, Fau DJ, Arnault F, Collard F, et al. Radiographic assessment of the femorotibial joint of the CCLT rabbit experimental model of osteoarthritis. BMC medical imaging. 2010;10(1):3.

32. Yanai T, Ishii T, Chang F, Ochiai N. Repair of large full-thickness articular cartilage defects in the rabbit the effects of joint distraction and autologous bone-marrow-derived mesenchymal cell transplantation. Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume. 2005;87(5):721-9.

33. Yuan X, Meng H, Wang Y, Peng J, Guo Q, Wang A, et al. Bone–cartilage interface crosstalk in osteoarthritis: potential pathways and future therapeutic strategies. Osteoarthritis and Cartilage. 2014;22(8):1077-89.

34. Ojewole J. Antiinflammatory and analgesic effects of Psidium guajava Linn.(Myrtaceae) leaf aqueous extract in rats and mice. Methods and findings in experimental and clinical pharmacology. 2006;28(7):441-6.

35. Roubenoff R, Freeman LM, Smith DE, Abad LW, Dinarello CA, Kehayias JJ. Adjuvant arthritis as a model of inflammatory cachexia. Arthritis & Rheumatism. 1997;40(3):534-9.

36. Koganov MM, Dueva OV, Tsorin BL. Activities of plant-derived phenols in a fibroblast cell culture model. Journal of natural products. 1999;62(3):481-3.

37. Altman R, Marcussen K. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. Arthritis & Rheumatism. 2001;44(11):2531-8.

38. Kwon DR, Park GY, Lee S-u. The effects of intra-articular platelet-rich plasma injection according to the severity of collagenase-induced knee osteoarthritis in a rabbit model. Annals of rehabilitation medicine. 2012;36(4):458-65.

39. Horie M, Sekiya I, Muneta T, Ichinose S, Matsumoto K, Saito H, et al. Intra-articular injected synovial stem cells differentiate into meniscal cells directly and promote meniscal regeneration without mobilization to distant organs in rat massive meniscal defect. Stem cells. 2009;27(4):878-87.

40. Iwata H. Pharmacologic and clinical aspects of intraarticular injection of hyaluronate. Clinical orthopaedics and related research. 1993;289:285-91.

Archive of SID

www.SID.ir