



Use of Stem Cells in Cartilage Tissue Regeneration and Engineering: A Review

ARTICLE INFO

Article Type

Analytic Review

Authors

Jonidi Shariatzadeh F.¹ MA,
Gheydari K.¹ BSc,
Solouk A.* PhD,
Bonakdar Sh.² PhD

How to cite this article

Jonidi Shariatzadeh F, Gheydari K, Solouk A, Bonakdar Sh. Use of Stem Cells in Cartilage Tissue Regeneration and Engineering: A Review. Pathobiology Research. 2018;21(1):41-63.

*Biomaterials Department, Biomedical Engineering Faculty, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran

¹Biomaterials Department, Biomedical Engineering Faculty, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran

²National Cell Bank, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Correspondence

Address: Biomaterials Department, Biomedical Engineering Faculty, Amirkabir University of Technology, Hafez Street, Tehran, Iran. Postal Code: 1591634311
Phone: +98 (21) 64545567
Fax: +98 (21) 64545567
atefeh.solouk@aut.ac.ir

Article History

Received: July 29, 2017
Accepted: September 11, 2017
ePublished: April 10, 2018

ABSTRACT

Aims Cartilage is a tissue without vessel and lymph in body. If it has a massive defect, it cannot regenerate and reconstruct itself. In this society, cartilage diseases such as osteoarthritis and cartilage defects have increased. Its defects can disrupt the daily function of the patient and can be accompanied by pain due to bone wear. Common methods used to treat cartilage defects, which are considered invasive with low efficacy, include autologous chondrocytes, microfracture, bone marrow stimulation, and debridement. Current treatments are not definitive methods, which is why the use of stem cells and cartilage tissue engineering has been turned on. In the current review, the types of stem cells used in cartilage therapy and cartilage tissue engineering were investigated. Then, cellular signaling factors such as growth factors, mechanical and environmental factors were mentioned and referred to scaffolds based on the biomaterials used to engineer high-efficiency stem cells for the reconstruction of cartilage tissue. Therefore, the aim of this study was to review the use of stem cells in cartilage tissue regeneration and engineering.

Conclusion The role of stem cells in regeneration of cartilage has been properly proven, but the mechanism and method of creating this regeneration has not yet been determined. Mesenchymal cells have the highest safety in cell therapy in cartilage, and these types of cells have the most clinical usage. In Iran, cell therapy is performed clinically for patients, but cartilage tissue engineering has not yet reached the clinical stage.

Keywords Stem Cells; Cartilage Defect; Cartilage Tissue Engineering; Chondrogenesis

CITATION LINKS

[1] Articular cartilage ... [2] Repair and tissue ... [3] Stem cells ... [4] Stem cells ... [5] Current perspectives ... [6] Advances and ... [7] Cell therapy ... [8] Derivation of ... [9] Osteogenic and ... [10] Stem and ... [11] Stem cell ... [12] Differentiation of ... [13] Intra-articular ... [14] Human amniotic ... [15] Stem cell ... [16] Allogeneic mesenchymal ... [17] Induced pluripotent ... [18] Reprogramming ... [19] Induced pluripotent ... [20] Tissue engineering ... [21] Human pluripotent ... [22] BMP-2 and BMP-9 ... [23] Control of stem ... [24] Effects of hydrostatic ... [25] Effect of cartilaginous ... [26] Regulation of stem ... [27] Mesenchymal stem ... [28] Chondrogenic differentiation ... [29] Chondrogenic differentiation ... [30] Chondrogenic differentiation ... [31] New scaffolds ... [32] Chondrogenic differentiation ... [33] Chondrogenic differentiation ... [34] Enhanced chondrogenic ... [35] Higher ratios ... [36] Monomeric, porous ... [37] Fibroblast-derived ... [38] Incorporation of ... [39] Enhanced human ... [40] Modification ... [41] Regeneration of ... [42] Allogeneic ... [43] Hydrogels ... [44] Chondrogenic ... [45] Sodium ... [46] Gelatin ... [47] Development of ... [48] Marrow ... [49] Novel ... [50] Application ... [51] The support ... [52] Novel ... [53] Cartilage ... [54] Cartilage ... [55] Engineering ... [56] Photocrosslinkable ... [57] Apatite-coated ... [58] Articular ... [59] Click hydrogels ... [60] Formulation ... [61] Treatment of ... [62] Fibrin ... [63] Insulin-like ... [64] The influence ... [65] A cell-seeded ... [66] Effects of ... [67] Cartilage ... [68] Osteochondral ... [69] 3D braid ... [70] Cartilage ... [71] Repair of ... [72] Cell-imprinted ... [73] Cell-imprinted ... [74] The combined ... [75] Influencing ... [76] Preparation ... [77] Bioreactor ... [78] Evaluation ... [79] Effects of ... [80] Effect of ... [81] Differentiation ... [82] Cell-imprinted ... [83] Nanocarrier-mediated ... [84] Polyethylene ... [85] Compression ... [86] Chondrogenic ... [87] Stem Cells ... [88] Injectable ... [89] In situ ... [90] A new injectable ... [91] Stem cell ... [92] Cartilage tissue ... [93] Enhanced ... [94] Mesenchymal ... [95] Injectable ... [96] Autologous ... [97] In vitro ... [98] Engineering ... [99] Cell-laden ... [100] Regenerating ... [101] Enhanced ... [102] Dual growth ... [103] Bone: Formation ... [104] Bone morphogenetic ... [105] BMP-2 induces ... [106] Effects of ... [107] Effects of ... [108] Bioactive ... [109] A stem ... [110] Cartilage tissue ... [111] Tissue ... [112] Differentiation ... [113] Autologous ... [114] Treatment of ... [115] Bone and ... [116] Stem cells ... [117] Current state ...

مروری بر کاربرد سلول‌های بنیادی در ترمیم و مهندسی بافت غضروف

فریناز جنیدی شریعت‌زاده MA

گروه بیومتریال، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

کی‌میا قیدری BSc

گروه بیومتریال، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

عاطفه سلوک* PhD

گروه بیومتریال، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

شاهین بنکدار PhD

بانک سلولی ملی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: غضروف، بافتی بدون رگ و لاف در بدن است و اگر آسیب گسترده‌ای داشته باشد، توانایی ترمیم و بازسازی خود را ندارد. در جامعه امروز، بیماری‌های غضروف از جمله ورم مفاصل و آسیب‌های غضروف افزایش یافته است. آسیب‌های آن می‌تواند عملکرد روزانه بیمار را مختل کرده و به واسطه سایش استخوان‌ها روی هم با درد همراه باشد. روش‌های رایج مورد استفاده در درمان آسیب‌های غضروف تهاجمی با بازده کم تلقی می‌شوند که شامل ایمپلنت کردن کندروسیت‌های خود فرد، ریزش‌گست، تحریک مغز استخوان و حذف بخش آسیب‌دیده است. درمان‌های رایج موجود روش‌های قطعی نیستند، به همین دلیل به استفاده از سلول‌های بنیادی و مهندسی بافت غضروف روی آورده شده است. در پژوهش مروری حاضر، انواع سلول‌های بنیادی به‌کاررفته در سلول‌درمانی غضروف و مهندسی بافت غضروف بررسی شدند. در ادامه فاکتورهای پیام‌رسان سلولی مانند فاکتورهای رشد، عوامل مکانیکی و محیطی مطرح و به داربست‌هایی بر پایه زیست موادهایی که برای مهندسی سلول‌های بنیادی با بازده بالا به‌منظور بازسازی بافت غضروفی مورد استفاده قرار می‌گیرند، اشاره شد. بنابراین هدف پژوهش حاضر، مروری بر کاربرد سلول‌های بنیادی در ترمیم و مهندسی بافت غضروف بود.

نتیجه‌گیری: نقش سلول‌های بنیادی در ترمیم غضروف به‌درستی اثبات شده است، ولی مکانیزم و روش ایجاد این ترمیم تاکنون مشخص نشده است. سلول‌های مزانشیمی بالاترین امنیت در استفاده از سلول‌درمانی در غضروف را دارند و بیشترین استفاده بالینی از این نوع سلول‌ها است. در ایران، سلول‌درمانی برای بیماران به‌صورت بالینی صورت می‌پذیرد، ولی مهندسی بافت غضروف راه زیادی برای رسیدن به مرحله بالینی دارد.

کلیدواژه‌ها: سلول‌های بنیادی، آسیب غضروفی، مهندسی بافت غضروف، غضروف‌زایی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۲۰

*نویسنده مسئول: atefeh.solouk@aut.ac.ir

مقدمه

غضروف مفصلی، یکی از بافت‌های ویژه بدن به‌شمار می‌رود، زیرا فاقد هر گونه رگ، عصب و لاف است. طیف وسیعی از روش‌های درمانی برای آسیب غضروف وجود دارد و روش مورد نیاز، وابسته به محل، میزان، شکل، عمق آسیب و سن بیمار متفاوت است [1]. روش‌های متداول و قدیمی برای درمان آسیب‌های غضروفی شامل ریزش‌کاف، تکه‌برداری، دریل‌کردن، سایش، پیوند کندروسیت و استئوکندرال (آتوگرفت و آلوگرفت) است. این روش‌ها با بهبودی نسبی و کاهش علایم در بیماران همراه است، ولی تا به امروز بافت ایجادشده توسط این روش‌ها، بافت غضروفی فیبروبلاستی بوده است که از لحاظ مکانیکی ضعیف‌تر از بافت طبیعی غضروف است. استراتژی به‌روزر، استفاده از کندروسیت‌های خود فرد به‌صورت ایمپلنت (ACI) و ماتریکس‌های زیستی یا سنتزی است که

می‌توانند با سلول (سلول‌های بنیادی و کندروسیت) و عوامل شیمیایی مانند فاکتورهای رشد یا عوامل فیزیکی- مکانیکی همراه باشند [1]. غضروف، به‌صورت طبیعی از سلول‌های مزانشیمی متصل به یکدیگر و ماتریکس خارج‌سلولی ترشح‌شده از آنها تشکیل می‌شود. این سلول‌ها با گذشت زمان منظم می‌شوند و هنگامی که ماتریکس ایجادشده از سلول‌ها جدا شود، به‌عنوان غضروف شناخته می‌شود. سلول‌ها با گذشت زمان به‌شکل استوانه‌ای تغییر حالت می‌دهند. با بالغ‌شدن بافت غضروف، سلول‌ها توانایی چنددندمانی خود را از دست می‌دهند و سلول‌های کندروسیت جدید، توانایی مهاجرت، تکثیر و شرکت در ترمیم را ندارند. علاوه بر آن، کندروسیت‌های بالغ، توانایی کمی برای ترشح ماتریکس خارج‌سلولی دارند. این ویژگی‌های سلول‌های اختصاصی غضروف باعث می‌شود تا ترمیم و بازسازی خودبه‌خودی این بافت صورت نگیرد [1].

روش‌های درمانی رایج همراه با جراحی شامل کشت و ایمپلنت‌کردن سلول‌های کندروسیت خود فرد بیمار است که برای این کار سلول‌هایی از فرد گرفته می‌شود و سلول کندروسیت توسط آنزیم‌ها جدا و در محیط خارج از بدن کشت داده می‌شود تا به تعداد مورد نظر برسند. سپس روی یک داربست سنتزی قرار می‌گیرند و در بدن ایمپلنت می‌شوند یا از غضروف سالم خود فرد به‌عنوان داربست استفاده می‌شود. روش درمانی رایج دیگر، تحریک مغز استخوان با روش‌هایی همچون دریل‌کردن یا ایجاد شکاف است تا در نهایت، سلول‌های بنیادی را به محل آسیب برساند [1]. اغلب این روش‌ها پاسخ طولانی‌مدتی ندارند و بیمار بعد از مدتی دچار آسیب ثانویه غضروفی می‌شود و برای حل این مشکلات به مهندسی بافت و پزشکی بازساختی روی می‌آورند [2]. عدم حضور یک داربست حمایتی در محل آسیب باعث می‌شود تا بازده روش استفاده از کندروسیت‌های خود فرد کاهش یابد. همچنین به‌دلیل آنکه داربستی در محل حضور ندارد، تمایز سلول‌های بنیادی خود بافت با مشکل روبه‌رو است که امروزه روش درمانی برای حل این مشکل به سمت استفاده از داربست‌ها پیش می‌رود. مزیت‌های استفاده از داربست عبارت از پرکردن بهتر محل آسیب، آسیب کمتر به بافت‌های سالم فرد، چالش کمتر در پیوند با بافت سالم و زمان بازیابی سلامت کمتر است [2]. روش‌های بالینی متداول بر پایه سلول برای درمان آسیب‌های غضروفی و ساخت دوباره غضروف، تنها بر پایه سلول‌های کندروسیت است. با این حال، تلاش‌های بسیاری برای ساخت غضروف مفصلی به‌صورت طبیعی در محیط‌های درون‌تنی با کشت سه‌بعدی، راکتور زیستی و تحریک‌های مکانیکی و بیوشیمیایی انجام گرفته است. طی انجام آزمایش‌ها، به‌منظور کاهش معایب حاصل از کشت کندروسیت‌ها، تمایل به سمت استفاده از سلول‌های بنیادی رفته است که بسیاری از این روش‌ها در صف تاییدیه از سازمان غذا و داروی آمریکا هستند [2]. در مقاله مروری حاضر، سلول‌های بنیادی مورد استفاده در درمان آسیب‌های غضروفی، روش‌های تمایز بهتر آنها به کندروسیت، مطالعات بالینی صورت‌گرفته در این حوزه و مهندسی بافت غضروف معرفی شدند. بنابراین هدف پژوهش حاضر، مروری بر کاربرد سلول‌های بنیادی در ترمیم و مهندسی بافت غضروف بود.

سلول‌های بنیادی

این موضوع به‌صورت کلی پذیرفته شده است که غضروف ترمیم ندارد. علت عدم این ترمیم، نبود پاسخ التهابی و عدم توانایی مهاجرت سلول‌های بنیادی به محل، به‌دلیل نبود رگ‌های خونی و

استفاده می‌شود که از بین آنها می‌توان به روش‌های زیر اشاره کرد:
 ۱- تولید جسم جنینی که تقلیدی از مراحل اولیه رشد جنین است و سه لایه اکتودرم، مزودرم و اندودرم تولید می‌شود.
 ۲- تمایز به سلول‌های مزانشیمی که بازده بالاتر و تحریک سیستم ایمنی کمتری دارد.
 ۳- از فاکتورهای رشد و سایتوکین‌ها استفاده می‌شود [6].

تو و همکاران با استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی و فاکتورهای رشد در داربست هیدروژلی توانسته‌اند که به غضروف دست پیدا کنند. بدین منظور بعد از استخراج سلول‌ها، آنها را در محیطی از سلول‌های غیرفعال فیبروبلاست موشی قرار داده‌اند تا سلول‌های جنینی، پرتوانی خود را حفظ کنند و سپس ۵ روز به آنها زمان داده شد تا جسم جنینی را تشکیل دهند. جسم جنینی به دست آمده به تک‌سلول‌ها تبدیل شد و سپس در ظروف کشت با پوشش ۱٪ ژلاتین قرار گرفته شد که چگالی سلول در هر ظرف 3×10^5 سلول در 15 میکرولیتر بود. سپس سلول‌های پیش‌ساز کندروسیتی مشتق از سلول‌های جنینی استخراج شدند و در ظروف با پوشش کلاژن نوع ۲ قرار گرفتند. در نهایت سلول‌های به دست آمده در هیدروژل‌هایی از جنس اسیدهیالورونیک محبوس شدند تا غضروف را بازسازی کنند [8].

کاوگچی و همکاران از سلول‌های جنینی موش استفاده کرده‌اند و با استفاده از فاکتورهای رشد و هورمون‌های متفاوت، تمایز به رده‌های مختلف سلول مزانشیمی از جمله استئوژن، کندروژن و آدیپوژن را بررسی کرده‌اند و نشان داده‌اند که شرایط محیطی و فاکتورهای شیمیایی در تمایز سلول بنیادی جنینی به رده‌های مختلف سلولی تاثیرگذار بوده است [9]. فاکتورهای شیمیایی مورد نیاز برای تمایز سلول بنیادی مزانشیمی به سه رده سلولی غضروفی، استخوانی و چربی تقسیم شده‌اند [10] (جدول ۱).

سلول دلخواه	فاکتور شیمیایی
غضروف	اسیدآسکوربیک، پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ و ۷ (BMP-6,7)، فاکتور رشد انتقالی- بتا ۳ (TGF-β3)، دگرامتازون، انسولین، فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF-1) و فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF)
استخوان	اسیدآسکوربیک، پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۲ (BMP-2)، دگرامتازون و ویتامین D3
چربی	دگرامتازون، ایزوبوتیل‌متیلزانتین، انسولین و اندومتاسین

سلول‌های بنیادی مزانشیمی: سلول‌های مزانشیمی، سلول‌های پرتوانی هستند که طی اندام‌زایی، توانایی تولید بافت همبند مثل غضروف، استخوان، تاندون، لیگامان و مغز استروما را دارند [3]. با وجود چالش‌های فراوان در رابطه با سلول‌های مزانشیمی مانند توانایی تمایز خارج از لایه‌ای (Trans differentiation)، این سلول‌ها یکی از مهم‌ترین منابع سلولی برای استفاده در پزشکی بازساختی هستند. در پنج تا ده سال اخیر استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در درمان آسیب‌های غضروفی افزایش یافته است. اگر چه یک فنوتیپ مخصوص یا نشانگر سطحی ویژه برای این نوع سلول‌ها وجود ندارد، ولی طبق تعریف جامعه بین‌المللی سلول‌درمانی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی باید در شرایط کشت استاندارد، توانایی چسبندگی پلاستیک را داشته باشند، نشانگرهای تمایزی گروهی را بیان کنند (CD90 و CD73، CD105) و توانایی تمایز به رده غضروفی، استخوانی و چربی را داشته باشند [11]. در ابتدا استخراج سلول‌های مزانشیمی، تنها از مغز

لنف است. به‌علاوه سلول‌های بالغ کندروسیت غضروفی، توانایی بازتولید ماتریکس خارج از سلولی را ندارند. با این حال گزارش شده است که سلول‌های کندروسیت خارج شده از ماتریکس خارج سلولی طبیعی، توانایی تولید ماتریکس شبیه غضروف را دارند. منطقه سطحی غضروفی در پستانداران و انسان‌ها حاوی سلول‌های بنیادی پیش‌ساز مزانشیمی است که این منبع با ایجاد آسیب غضروفی از بین می‌رود [3]. در دو دهه اخیر، توانایی بازساختی سلول‌های بنیادی تحت مطالعات بسیاری قرار گرفته است. سلول‌های پیش‌ساز و سلول‌های بنیادی، توانایی تکثیر بدون پیری و تمایز به رده خاص را دارند [3]. سلول‌درمانی، روش رساندن مستقیم و موضعی سوسپانسیون سلولی به محل آسیب با روش تهاجمی کمتر و قیمت نسبی پایین‌تر است. تزریق مستقیم سلول به محل آسیب می‌تواند مانع ادامه تخریب بافت شود و در کنار آن ترمیم را تحریک کند. با این حال، نتیجه این روش به میزان آسیب، نوع سلول‌های درمانی، وسیله تزریق، دوز و روش رهایش وابسته است [3].

نقش سلول‌های بنیادی در پزشکی، بازساختی حیاتی است، زیرا که منجر به تولید سلول‌های مورد نظر و بافت قابل پیوند می‌شود. با این وجود برای هر رده سلولی، چالش‌های خاصی برای جدا کردن، گسترش، تمایز و کاربرد بالینی آنها وجود دارد [4]. سلول‌های پیش‌ساز مورد استفاده برای غضروف که پتانسیل غضروف‌زایی را دارند شامل سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان و بافت چربی، سنوویم، پری‌استنوم، خون بند ناف، ماهیچه و خون محیطی هستند. انتخاب منبع سلولی مناسب، بر پایه فرآیند آماده‌سازی راحت، دردسترس بودن سلول و پتانسیل غضروف‌سازی نوع سلول است. تحقیقات بسیاری در حوزه بررسی پتانسیل استفاده از سلول‌های جنین و سلول‌های پرتوان القایی انجام گرفته است، ولی برای استفاده بالینی از این منابع، هنوز موانعی مرتبط با ملزومات اخلاقی و ایمنی بافت (تحریک سیستم ایمنی، تولید تومور و تولید ترانژنوم) وجود دارد [5]. سلول‌های بنیادی جنینی از جسم داخل سلولی در مرحله بلاستوسیت گرفته می‌شوند. سلول‌های بنیادی پرتوان القایی از طریق برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های سوماتیک تولید می‌شوند و سلول‌های بالغ از بافت‌ها استخراج می‌شوند. سلول‌های جنینی و سلول‌های بنیادی پرتوان القایی از لحاظ پتانسیل تکثیر، پرتوان محسوب می‌شوند و توانایی تمایز به سه لایه اکتودرم، مزودرم و اندودرم را دارند. سلول‌های بالغ به دو دسته چندتوان و تک‌توان تقسیم می‌شوند. سلول‌های تک‌توان، تنها توانایی تمایز به یک رده سلولی مانند سلول‌های بنیادی ماهواره‌ای یا اپیدرمی و سلول‌های چندتوان، توانایی تمایز به چند رده را دارند. به‌عنوان مثال سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند به استئوبلاست، کندروسیت و سلول چربی تمایز یابند [6].

سلول‌های بنیادی جنینی: سلول‌های بنیادی جنینی که در تحقیقات درمانی استفاده می‌شوند را می‌توان از روش‌های متعددی مثل لقاح خارج رحمی (IVF)، جابه‌جایی هسته سلول‌های سوماتیک (SCNT)، دگرگونی جابه‌جایی هسته (ANT) و تشخیص ژنتیک پیش‌لانه‌گزینی (PGD) به دست آورد [7]. استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی برای درمان آسیب‌های غضروفی چالش‌هایی مانند خطر تومورزایی و تولید ترانژنوم را به‌همراه دارد. به‌همین دلیل الزامی است که از محیط کشت مناسبی استفاده شود تا باعث تمایز اختصاصی این سلول‌ها به غضروف شود. استراتژی‌های متفاوتی برای تمایز سلول‌های جنینی به غضروفی

سلول‌ها به‌همراه داربست‌هایی با ترکیب شیمیایی متفاوت، شرایط محیطی و فیزیکی مختلفی مانند اعمال بارهای مکانیکی یا شرایط شیمیایی مختلف مانند حضور زیست‌مولکول‌های فعال بررسی شده است. یکی از مهم‌ترین محیط‌های تمایزی این نوع سلول‌ها به غضروف، محیط کشت بدون سرم ولی همراه با دگزامتازون، اسیدآسکوربیک و گاهی فاکتور رشد است. مهم‌ترین مشخصه بررسی تمایز غضروفی، بیان ژن Sox2، کلاژن نوع دوم و آگریکان است که با تمایز سلول‌های بنیادی به کندروسیت، بیان این ژن‌ها به‌صورت چشم‌گیری افزایش می‌یابد [11]. مطالعات گسترده‌ای روی فاکتورهای تمایز غضروفی برای سلول‌های بنیادی مغز استخوان انجام گرفته است. به‌عنوان مثال کشت این سلول‌ها در حضور FGF-2، تمایز غضروف مفصلی را افزایش می‌دهد، در حالی که TGF-3، باعث تمایز به غضروف هایپرترافی می‌شود. همچنین نوع فاکتور رشد در محیط کشت، نوع داربست و جنس آن در تمایز تاثیرگذار است. به‌عنوان مثال کشت سلول‌های بنیادی مغز استخوان روی داربست از جنس پلی‌لاکتیک‌اسید- آژینات- آمالگام در مدل حیوانی، باعث ایجاد بافت فیبروزی شده است، در حالی که در مطالعه‌ای با کشت این نوع سلول بنیادی آتولوگوس روی داربست با جنس پلی‌لاکتیک‌اسید- کوگلیکولیک‌اسید (PLGA)، در مدل حیوانی گوسفند توانسته‌اند به بافت شبیه غضروف مفصلی دست پیدا کنند [11]. یکی از مهم‌ترین معایب کار با سلول‌های بنیادی مغز استخوان، توانایی حفظ پتانسیل تمایزی آنها در محیط آزمایشگاه است. همچنین در کار با این نوع سلول، پیدا کردن مدل حیوانی مناسب برای تولید غضروف مفصلی، دشوار است که نیازمند مطالعات بیشتر به‌منظور درک بهتر زیست‌شناسی رفتار این سلول‌ها است [11]. مطالعاتی که به‌عنوان اثباتی مثبت برای استفاده از سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان در نظر گرفته می‌شوند، نشان داده‌اند که ترمیم در مدل‌های حیوانی (موش، خرگوش، خوک، گوسفند و اسب) با حضور این نوع سلول‌ها نسبت به حالت کنترل بدون سلول، با سرعت و کیفیت بهتری انجام گرفته است [5].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی: چربی یکی از مهم‌ترین بافت‌ها برای استخراج سلول‌های بنیادی چربی است. اولین بار حضور سلول‌های بنیادی در بافت چربی توسط زوک و همکاران در سال ۲۰۰۱ در لیپوآسپیره کردن شناخته شده است [11]. سلول‌های بنیادی چربی، توانایی تمایز به رده مزانشیمی (غضروف، استخوان، چربی و ماهیچه)، اکتودرمال (عصبی و اپیدرمی) و اندودرمال (پانکراس و هیپاتوسیت) را دارند و استخراج این سلول‌ها می‌تواند از طریق لیپوکتومی یا لیپوآسپیریشن انجام گیرد که روش زیبایی محسوب می‌شود و یک محلول نمکی سوسپانسیون سلولی غیریکنواختی می‌دهد و برای جداسازی سلول‌ها نیاز به آنزیم کلاژناز و سانتریفوژ پشت سر هم است [3، 11]. در مقایسه با مغز استخوان، فرآیند استخراج سلول‌های بنیادی از چربی، تهاجم کمتری دارد و همچنین تعداد سلول‌های بیشتری می‌توان استخراج کرد. سلول‌های بنیادی چربی در مقایسه با سلول‌های بنیادی مغز استخوان، جسم سلولی کوچک‌تری دارند و بیان ژنی و گیرنده‌های سطح سلولی متفاوتی دارند و علاوه بر آن، تعداد پاساژ بیشتری را در آزمایشگاه می‌توانند تحمل کنند. همچنین سلول‌های بنیادی چربی در مقایسه با مغز استخوان، فاکتور رشد انتقالی- بتا (TGF-β) را کاهش می‌دهند و برای تمایز به غضروف نیاز به فاکتورهایی مانند پروتئین مورفوژنتیک استخوانی (BMP) دارند. زیست‌شناسی و ویژگی‌های سلول‌های بنیادی مشتق از چربی، به

استخوان بود، ولی با گذشت زمان و پیشرفت علم مشخص شده است که این نوع سلول بنیادی را می‌توان از بافت‌های مشتق شده از این سلول مانند چربی، استخوان، پالپ دندانی و خون بند ناف نیز استخراج کرد [3].

سلول‌های مزانشیمی مشتق از ژله وارتنون، سلول‌های بنیادی در دسترس و بالغ با زیست‌سازگاری بالا هستند که می‌توانند برای درمان‌های جایگزین سلولی در آینده استفاده شوند و یک منبع سلولی جدید محسوب می‌شوند [12]. این سلول‌ها به‌آسانی جدا می‌شوند، واکنش ایمنی کمی به‌همراه دارند، خطر تومورزایی ندارند، می‌توانند به‌راحتی به‌صورت آتولوگ استفاده شوند و نگرانی اخلاقی در مورد آنها وجود ندارد [7]. سلول‌های مزانشیمی استخراج شده از بافت‌های متفاوت، توانایی تکثیر بالا و همچنین تمایز به کندروسیت را از خود نشان داده‌اند. در ابتدا سلول‌های مزانشیمی به‌دلیل توانایی یکی‌شدن با بدن بیمار برای بازسازی غضروف استفاده می‌شدند، ولی اخیراً این سلول‌ها نشان داده‌اند که توانایی فراخوانی سلول‌های پیش‌ساز و تاثیر پاراکراین بر سائتوکین‌ها نیز دارند. وظیفه اصلی این سلول‌ها، رهایش مولکول‌های زیست‌فعال است که خاصیت ضدآپوپتوزی و عدم تولید اسکار، افزایش رگ‌زایی و تسریع فرآیند ترمیم را دارند. سلول‌های مزانشیمی را می‌توان از سه طریق سلول‌درمانی، مهندسی بافت و ژن‌درمانی در پزشکی بازساختی استفاده کرد [3]. موضوع مهم در استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در درمان آسیب غضروف، رسیدن به تعداد مناسب سلول در زمان محدود است و فاکتورهایی مانند قابل دسترس بودن محل استخراج، فراوانی بافت دهنده و دشواری‌های روش استخراج روی تعداد سلول‌ها و کیفیت آنها تاثیر می‌گذارند. استفاده از سلول‌های مزانشیمی برای بازسازی غضروف در مطالعات بالینی و پایه‌ای زیادی بررسی شده است [3].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان: تخمین زده شده است که از هر ۱۰۰۰۰ سلول مغز استخوان، یک سلول بنیادی در نوزاد تازه‌به‌دنیا آمده وجود دارد. در سال ۱۹۶۰ با انتقال مغز استخوان موش به درون کلیه موش و ایجاد استخوانچه هماتوپوئیتیک در آن محل، حضور سلول‌های بنیادی در مغز استخوان به اثبات رسیده است [11]. مغز استخوان معمولاً توسط سوزن از ستیغ ایلیاک، آسپیره می‌شود. اگر چه این بافت برای استخراج سلول بنیادی مزانشیمی متداول است، ولی غنی‌ترین بافت نیست و به‌طور کلی، تعداد سلول‌های بنیادی مغز استخوان با افزایش سن کاهش می‌یابد. بنابراین فرآیند سلول‌درمانی برای بیماران با سن بالا یک چالش محسوب می‌شود و همچنین فنوتیپ سلول‌های بنیادی مغز استخوان، وابسته به بیماری‌های سیستمی بیمار تغییر می‌کند. به‌عنوان مثال در فردی که دچار پوکی استخوان است، این سلول‌ها، فنوتیپ شبیه سلول‌های چربی پیدا می‌کنند که جزء چالش‌های استفاده از این منبع سلولی است. برای استخراج این سلول‌ها از محلول سلولی گرفته شده از بیمار، می‌توان از سانتریفوژ گرادینانی استفاده کرد و سپس آنها را برای افزایش تعداد سلولی در محیط کشت قرار داد. باید توجه شود که فرآیند استخراج سلول‌ها و کشت آنها می‌تواند باعث تغییر فنوتیپ سلول‌ها شود و همین موضوع اهمیت زمان در این فرآیند را افزایش می‌دهد [3]. همان طور که ذکر شد، تعداد سلول‌های استخراجی از مغز استخوان کم است و برای افزایش تعداد این سلول‌ها می‌توان از روش‌هایی مانند کشت درون آزمایشگاهی و تغییر فرآیند جداسازی استفاده کرد [10]. مطالعات گسترده‌ای روی پتانسیل تمایز به غضروف سلول‌های بنیادی مغز استخوان انجام گرفته است و در این مطالعات حضور

و تمایز راحت به غضروف است، ولی روش جراحی برای استخراج سلول‌های بنیادی و همچنین درک ناقص روند و مکانیزم تمایز آنها استفاده از این سلول‌ها را محدود ساخته است^[11]. همچنین یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در استفاده از این نوع سلول، ایجاد بافت فیبروزی و تمایز به سمت غضروف‌های پرتروفی به جای غضروف مفصلی است^[5].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون محیطی:

مونوسیت‌های نابالغ معمولاً به تعداد کم در خون محیطی حضور دارند و استخراج سلول‌ها از خون محیطی می‌تواند از طریق آفرزین انجام گیرد^[3]. روش متداول استخراج این سلول‌ها به این صورت است که خون سیاهرگی از بیمار گرفته و سانتریفوژ شده و سپس سلول‌ها جدا و تا زمان استفاده منجمد می‌شوند^[10]. سلول‌های استخراج‌شده، مخلوطی از پیش‌سازهای مزانشیمی و هماتوپوئیتیک هستند. سلول‌های بنیادی مشتق‌شده از خون محیطی از لحاظ فنوتیپ، شباهت بیشتری به سلول‌های جنینی دارد^[3].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از منابع دیگر: سلول‌های

بنیادی مزانشیمی از بافت‌های مزانشیمی یا غیرمزانشیمی زیادی از جمله پری‌استئوم، استخوان تراپیکولار، خون بند ناف، مایع آمنیونی و اسکلت ماهیچه‌ای به دست می‌آیند^[3]. سطح خارجی استخوان در طرف دیگر اتصال غضروفی، توسط لایه نازکی از بافت همبند به نام پری‌استئوم پوشیده شده است. لایه فیبروزی خارجی، از فیبروبلاست تشکیل شده است، در حالی که لایه داخلی، حاوی سلول‌های پیش‌ساز است. از سال ۱۹۹۰ حضور سلول‌های بنیادی در پری‌استئوم که توانایی تمایز به هر سه لایه جنین را دارند مشخص شده است. در مطالعه‌ای، سلول‌های پیش‌ساز از پری‌استئوم را استخراج کرده و روی آنها مطالعاتی انجام داده‌اند. طبق نتایج مشخص شده است که ویژگی‌های شبیه به سلول‌های بنیادی مزانشیمی دارند. مزیت مهم این نوع سلول‌ها در مقایسه با سلول‌های مشتق‌شده از مغز استخوان، توانایی بالای آنها در تکثیر است. اگر چه آزمایش‌های بسیاری برای غضروف‌سازی نیز انجام گرفته است، اما کاربرد بالینی این سلول‌ها بیشتر برای بازسازی استخوان است^[11]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از پری‌استئوم، توانایی غضروف‌سازی و تکثیر کندروسیتی در آزمایشگاه و در بدن حیوانات مختلف را از خود نشان داده‌اند^[3]. علی‌رغم مزیت‌های سلول‌های پیش‌ساز پری‌استئوم، مهم‌ترین عیب این سلول‌ها نیاز به جراحی برای استخراج آنها است. سلول‌های بنیادی ماهیچه، تمایز و تکثیر مشابه با دیگر منابع سلولی دارند، ولی دسترسی به این منبع نیاز به جراحی دارد و دشوار است، بنابراین استفاده بالینی از این منبع سلولی محدود است^[3].

در مقابل سلول‌های بنیادی مزانشیمی، خون بند ناف گزینه مناسبی به عنوان منبع آلوژنیک است که دسترسی خیلی آسانی دارد^[3]. وابسته به نوع استخراج، سلول‌های شبه مزانشیمی می‌توانند به رده متفاوتی از عصبی تا قلبی تمایز یابند^[11]. هنگامی که این سلول‌ها به همراه هیدروژل‌های مختلف در بدن قرار بگیرند، تمایز به غضروف بالایی را از خود نشان می‌دهند^[3]. سلول‌های بنیادی پالپ دندان، یکی از منابع دریافت سلول بنیادی برای آسیب‌های غضروفی است. این سلول‌ها از پالپ دندان گرفته می‌شوند و تا ۲۵ بار توانایی پاساژ دارند. تعدادی از مقالات بیان کرده‌اند که این منبع برای مهندسی بافت استخوان می‌تواند مناسب باشد، ولی تعداد محدودی از مقالات به پتانسیل استفاده از این سلول‌ها در مهندسی بافت

محل استخراج آنها وابسته است و تعداد، زنده‌مانی و توانایی تکثیر سلول‌های مشتق از چربی برخلاف سلول‌های بنیادی مغز استخوان، به سن بیمار وابسته نیست، اگر چه تغییرات دینامیک با افزایش سن می‌تواند تغییراتی بر پتانسیل این سلول‌ها داشته باشد. از لحاظ ترشح سینوویال، هر دو نوع سلول‌های مشتق از مغز استخوان و مشتق از چربی شبیه به هم عمل می‌کنند و همانند سلول‌های استخراجی از مغز استخوان، می‌توانند طی یک مرحله و بعد از استخراج تزریق یا طی دو مرحله و بعد از کشت و افزایش تعداد سلولی به بیمار تزریق شوند^[3].

کشت دوئیدی سلول‌های بنیادی مشتق از چربی، برای تمایز به فنوتیپ غضروفی مناسب نیست، ولی کشت این سلول‌ها روی پلی‌پپتیدهای شبیه الاستین باعث بهبود تمایز به غضروف شده است. استفاده از محیط‌های کشت تمایز غضروفی شامل TGF- β ، باعث بیان کلاژن نوع ۲ و آگریکان بوده است. در مطالعه‌ای به این موضوع پی برده‌اند که همراه کردن TGF- β و BMP-6، یک محیط مناسب برای تمایز سلول‌های بنیادی چربی به غضروف را فراهم می‌کند و همچنین مطالعات درون‌تنی نشان داده است که این نوع سلول می‌تواند فنوتیپ غضروفی خود را تا ۱۲ هفته حفظ کند. داربست از جنس چسب فیبرینی همراه با سلول‌های بنیادی چربی در محیط بدن، به مدت ۸ هفته بیان آگریکان و کلاژن نوع ۲ داشته است که حاکی از تمایز سلول‌های بنیادی به کندروسیت و تشکیل غضروف بوده است^[11]. استفاده از سلول‌های بنیادی چربی به همراه پلاسما غنی از پلاکت (PRP) می‌تواند بازده درمانی را افزایش دهد و بازسازی بافت آسیب‌دیده را تسریع بخشد^[3]. یکی از معایب سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی، بیان نشانگرهای جنینی مانند Oct-4، UTF-1 و Nodal در کشت کوتاه‌مدت است که ممکن است شانس ایجاد سلول‌های سرطانی را افزایش دهند^[11].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت سینوویال: سطح غیرغضروفی مفاصل با غشای نازکی به نام سینوویال پوشیده شده است. مهم‌ترین وظیفه این بافت، حفظ مایع سینوویال است که منبع تغذیه غضروف مفصلی است. در مطالعه‌ای موفق شده‌اند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی را از این بافت استخراج کنند. تحریک سیستم ایمنی توسط این سلول‌ها با سلول‌های مشتق از مغز استخوان یکی است. بیان نشانگرهای غضروفی مانند Sox9، آگریکان و پروتئین ماتریکس اولیگومریک غضروفی (COMP) در این سلول‌ها نسبت به سلول‌های بالغ غضروف مفصلی تا ۲۵٪ بیشتر است و همچنین سلول‌های مزانشیمی مشتق‌شده از سینوویال، پتانسیل بالاتری برای تمایز و تکثیر غضروفی دارند. در سلول‌های بنیادی مشتق از سینوویال، حضور فاکتورهای رشدی مانند TGF- β ، فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) و فاکتور رشد فیبروبلاست ۲، تمایز به غضروف را به صورت چشم‌گیری افزایش می‌دهند^[3, 11]. غشای سینوویال را می‌توان با روش کم‌تهاجمی، طی عمل آرتوسکوپی استخراج و سلول‌های بنیادی را از آن جدا کرد. چالش‌هایی در رابطه با فنوتیپ و بیان ژنی این سلول‌ها وجود دارد تا بتوانند غضروف مفصلی را بازسازی کنند. استفاده از این نوع سلول‌ها مستلزم روش دومرحله‌ای استخراج و کشت است^[3]. مک و همکاران، سلول‌های بنیادی سینوویال را از یک موش که توانایی بازسازی غضروف آسیب‌دیده را داشت، استخراج و به موش دیگر تزریق کرده‌اند. طی ۴ هفته غضروف آسیب‌دیده ترمیم شده بود و این آزمایش اثباتی بر این موضوع بوده است که تزریق سلول‌های بنیادی سینوویال می‌تواند ترمیم غضروفی را امکان‌پذیر سازد^[13]. اگر چه مهم‌ترین مزیت استفاده از این سلول‌ها، توانایی تکثیر بالا

علی‌رغم پیشرفت‌هایی که در استفاده از سلول‌های مزانشیمی بالغ در درمان بیماری‌ها حاصل شده است، مشکل این سلول‌ها دسترسی محدود به آنها، رشد و تغییر وابسته به پیرامون، تنوع در اهداکننده و نسل بافت نابالغ است. تحقیق در مورد سلول‌های بنیادی با توان بیشتر مانند سلول‌های پرتوان القایی می‌تواند بر بسیاری از این محدودیت‌ها فایده‌افزاینده، اما چالش‌های خاص مربوط به خودش را دارد [17].

سلول‌های بنیادی پرتوان القایی: سلول‌های پرتوان القایی، نوعی از سلول‌های بنیادی پرتوان هستند که توسط دانشمند ژاپنی برنده جایزه نوبل، *یاماناکا* گسترش یافته است. او در سال ۲۰۰۶ متوجه شده است که سلول‌های بالغ می‌توانند به سلول‌های بنیادی تبدیل شوند و مانند سلول‌های جنینی، توانایی تولید هر سه لایه جنینی را دارند، ولی مشکلات اخلاقی موجود در استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی را شامل نمی‌شوند، لذا گزینه مناسبی برای استفاده در سلول‌درمانی شماره‌ده می‌شوند [17, 18]. سلول‌های پرتوان القایی عمدتاً از بازبرنامه‌ریزی سلول‌های سوماتیک توسط ترنسکریپشن و پروسی ایجاد می‌شوند [19, 7]. سلول‌های پرتوان القایی می‌توانند با یک بیوپسی از پوست خود بیمار به دست بیایند. این سلول‌ها ریخت‌شناسی و خصوصیات رشدشان شبیه به سلول‌های بنیادی جنینی است و نشانگرهای ژنی سلول‌های بنیادی جنینی را بیان می‌کنند. *یاماناکا* و همکاران نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی پرتوان می‌توانند فقط با افزایش چند فاکتور مشخص به‌طور مستقیم از سلول‌های فیبروبلاست به دست بیایند [19]. اگر چه تاکنون سلول‌های مختلفی برای استفاده در القای بنیادینگی استفاده شده است، ولی بهترین گزینه که برنامه‌ریزی مجدد آن به‌صورت نسبی کامل انجام می‌گیرد، سلول‌های فیبروبلاست است. با این حال این سلول‌ها نیز با محدودیت‌هایی مانند نیاز به تعداد بالای پاساژ در آزمایشگاه روبه‌رو است. به همین دلیل تمایل به استفاده از سلول‌های دیگر قوت گرفت و سلول‌های خون محیطی که استخراج آنها نیز تا حدی ساده است، به‌عنوان یک جایگزین مناسب معرفی شدند [18]. فاکتورهای تبدیل‌کننده سلول‌های سوماتیک به سلول‌های پرتوان القایی عبارت از KLF4 (Oct3/4, SOX2, Kruppel-like factor 4) و Binding Transcription Factor 3/4 و c-Myc هستند [7].

با اینکه سلول‌های پرتوان القایی مشابه به سلول‌های بنیادی جنینی هستند، اما در امضای اپی‌ژنیک خود تفاوت نشان می‌دهند که این امر موجب وجود پیام‌رسان‌های متفاوت برای تمایز می‌شود. درک عمیق از پیام‌هایی که تمایز به سمت غضروف را موجب می‌شوند، مهم‌ترین مساله برای مهار قدرت سلول‌های پرتوان القایی است [17]. این سلول‌ها مختص هر بیمار هستند و می‌توانند به‌راحتی از سلول‌های سوماتیک فرد به دست بیایند و به همین دلیل، برای گذر از مشکلات اخلاقی استخراج سلول‌های جنینی مناسب هستند. با این حال سلول‌های پرتوان القایی هم مانند سلول‌های جنینی معایبی دارند. به‌عنوان مثال به‌علت معرفی ژن‌های خارجی به کروموزوم‌ها و امکان بازبرنامه‌ریزی ناقص، احتمال ایجاد تومور وجود دارد، هر چند این احتمال کمتر از سلول‌های بنیادی جنینی است [7]. مهم‌ترین چالش موجود برای سلول‌های القایی، علاوه بر روند بازگردانی و تمایز به سمت مورد نظر، حفظ پرتوانی آنها در زمان کشت قبل از تمایز است و این امر نیاز به محیط‌هایی است که ممکن است حیوانی باشند و احتمال انتقال عامل بیماری‌زا یا جهش را افزایش دهند [19]. سلول‌های کندروسیت مشتق از سلول‌های پرتوان القایی معمولاً در اجسام

غضروف اشاره کرده‌اند. در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که این نوع سلول‌های بنیادی، توانایی تمایز به رده مختلف را دارند و با اعمال شرایط تمایزی به غضروف، بیان آگریکان در آنها افزایش می‌یابد. مزیت مهم استفاده از این سلول‌ها، استخراج راحت و بدون نیاز به جراحی است. برای این کار حتی می‌توان دندان‌های شیری را ذخیره کرد، اگر چه هنوز تمایز آنها به غضروف نسبت به دیگر منابع نیازمند تحقیقات بیشتری است [11]. غشای آمیون نیز یکی از منابع سلول‌های بنیادی است که روش تهاجمی برای استخراج سلول‌ها ندارد و شامل دو رده سلول بنیادی مزانشیمی آمیونی و سلول‌های بنیادی اپی‌تلیالی آمیونی است. یک مزیت مهم این نوع منبع سلولی، مصونیت آنها از سیستم ایمنی بدن است که به دلیل حفاظت از جنین و مادر در حاملگی رخ می‌دهد. مؤتینوز-لویز و همکاران اثبات کرده‌اند که استفاده از پرده آمیون به‌عنوان داربست و سلول‌های بنیادی آن به‌عنوان سلول‌های پیش‌ساز غضروف باعث تحریک غضروف‌سازی و ترمیم غضروف شده است [14].

تاکنون روش‌های مختلفی برای استفاده از سلول‌های بنیادی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند و همه این روش‌ها بازده بالاتری از روش‌های متداول مانند ایمپلنت‌کردن سلول‌های کندروسیت خود فرد دارند. منابع مختلف سلول‌های بنیادی به‌صورت کامل شرح داده شده است، ولی هر کدام از این منابع می‌تواند به‌صورت آتولوگوس به‌معنی استفاده از سلول‌های خود فرد یا به‌صورت آلوژنیک به‌معنی استفاده از سلول‌های انسان دیگر باشد [15]. موفقیت استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی آتولوگوس، در مدل‌های حیوانی به اثبات رسیده است. اگر چه موفقیت این روش مسلم است، ولی نیازمند انجام دو جراحی روی بیمار است که شامل یک جراحی برای استخراج سلول‌ها و یک جراحی برای ایمپلنت‌کردن سلول‌ها در محل آسیب انجام می‌گیرد. به‌علاوه میلیون‌ها سلول برای بازسازی آسیب‌های گسترده نیاز است که استخراج آن از خود بیمار امکان‌پذیر نیست یا نیاز به مدت‌زمان زیادی برای افزایش تعداد سلول‌ها است. به همین دلیل استفاده از سلول‌های آلوژنیک، یک گزینه جایگزین است [16]. انواع سلول‌های مزانشیمی که برای آسیب غضروفی در مطالعات استفاده شده‌اند، از پایگاه Pubmed جمع‌آوری شدند (جدول ۲) [6].

جدول ۲) تعداد مقالات براساس انواع سلول‌های مزانشیمی مورد استفاده در آسیب غضروفی در پایگاه داده‌های Pubmed [6]

سال	سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان (BMSCs)	سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (ADSCs)	سلول‌های بنیادی مشتق از خون محیطی (PBSCs)	سلول‌های بنیادی مشتق از پیش‌ساز کندروسیت (CDPCs)	کل
۲۰۰۲	۱	۰	۰	۰	۱
۲۰۰۴	۱	۰	۰	۰	۱
۲۰۰۵	۱	۰	۰	۰	۱
۲۰۰۷	۲	۰	۰	۰	۲
۲۰۰۸	۱	۰	۰	۰	۱
۲۰۱۰	۲	۰	۰	۰	۲
۲۰۱۱	۲	۱	۱	۰	۴
۲۰۱۲	۲	۱	۱	۰	۴
۲۰۱۳	۲	۲	۲	۰	۶
۲۰۱۴	۲	۴	۱	۰	۷
۲۰۱۵	۱	۴	۰	۱	۶
۲۰۱۶	۱	۲	۰	۱	۴
کل	۱۸	۱۴	۵	۱	۳۹

فاکتورهای شیمیایی موثر در تمایز سلول‌های بنیادی

مزانشیمی به کندروسیت

تأثیر فاکتورهای رشد در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به کندروسیت:

اولین بار، تمایز به غضروف سلول‌های بنیادی مزانشیمی توسط آشتون و همکاران و اولین محیط کشت تعریف شده برای تمایز این سلول‌ها برای غضروف توسط جوهانستون و همکاران معرفی شده است. او برای این محیط کشت از TGF- β و دگزامتازون استفاده کرد. سکیا و همکاران بیان کرده‌اند که افزودن BMP به این محیط، بازده تمایز را افزایش می‌دهد. اگر چه محیط‌های ایجاد شده، محیط طبیعی غضروف را تقلید نمی‌کنند و بیان ژن کلاژن نوع ۲ که برای غضروف مفصلی و نوع ۵ که برای غضروف هایپرتروفی است را با هم افزایش می‌دهند [27-29]. فاکتورهای شیمیایی که غضروف سازی را در آزمایشگاه و درون تنی (In vivo) تسریع می‌بخشند عبارت از BMPها، TGF- β و IGFها هستند. BMPها، فاکتورهای رشد هستند و تمایزی را ترشح می‌کنند که در استخوان معدنی شده حضور دارند. در پستانداران، ۲۰ نوع BMP شناخته شده است، ولی تنها گیرنده سه نوع I و سه نوع II به BMPها اتصال پیدا می‌کنند و باعث فسفوریلاسیون می‌شوند. BMPها به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد استخوان و غضروف عمل می‌کنند و همچنین در ترمیم و بازسازی اسکلت بزرگسالان نقش دارند. اثبات شده است که BMP-2 می‌تواند تمایز به غضروف را افزایش دهد، ولی هنوز مکانیزم آن مشخص نیست [22]. یکی از مشکلات مرتبط با سلول‌های بنیادی مزانشیمی، کاهش پتانسیل تمایزی آنها با گذشت زمان است. گروهی از محققان، مطالعه‌ای انجام داده‌اند تا شرایط و محیط کشت برای سلول‌های مزانشیمی افراد مسن را بهینه سازند. این گروه محیط‌های کشت حاوی TGF- β 2 و FGF-2 به همراه سرم یا بدون سرم گاوی را در غلظت‌های متفاوت (صفر، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر) برای سلول‌های بنیادی مزانشیمی افراد مسن (بالتر از ۵۰ سال) مورد آزمایش قرار داده‌اند. برای تمایز غضروفی، سلول‌ها در محیط تمایزی مناسب قرار گرفتند و تعداد سلول‌ها بعد از گذشت صفر، یک، ۳ و ۷ روز شمارش شدند. غلظت ۰/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر FGF-2، بالاترین میزان تمایز سلولی را از خود نشان داده است [30]. پیشرفت‌های اخیر نشان‌دهنده این موضوع بوده است که استفاده از یک فاکتور رشد، به‌تنهایی نمی‌تواند بازده بالایی برای تمایز غضروف داشته باشد. کریست-کمپو و همکاران در سال ۲۰۱۶، داربستی طراحی کرده‌اند تا توانایی حمل و رهایش دو پروتئین موثر در غضروف‌زایی به نام‌های TGF- β 3 و BMP-7 را داشته باشد. داربست از جنس PLGA با بارگذاری نانو از این دو نوع پروتئین، توسط این گروه ساخته شده است و رهایش پایدار هر دو پروتئین طی ۴ هفته رخ داده است. سپس سلول‌های مزانشیمی همراه با داربست در بدن مورد آزمایش قرار گرفته‌اند و تمایز به غضروف با بازده بالایی گزارش شده است [31].

تأثیر ترکیب شیمیایی داربست در تمایز سلول‌های بنیادی

مزانشیمی به کندروسیت: یکی از روش‌های بهبود تمایز سلول‌های

مغز استخوان به غضروف، القای غضروف‌سازی به‌وسیله ماتریکس آتولوگوس است که با یک داربست فعال مانند کلاژن نوع ۱، ۳ یا کیتوسان در محل آسیب غضروفی بعد از درمان به‌وسیله مغز استخوان، غضروف‌زایی تحریک می‌شود. می‌توان بیان کرد که این نوع داربست باعث بهبود تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به غضروف می‌شود و ترمیم غضروف به سمت غضروف

سلولی چگال (شبهه به جسم جنینی) تشکیل می‌شوند که بعداً نیاز به انحلال دارند و در نتیجه بخش زیادی از زنده‌مانی و فنوتیپ سلول‌ها از بین می‌رود [19, 20]. سلول‌های کندروژنیک مشتق از سلول‌های پرتوان القایی، شبیه به سلول‌های کندروسیت جنین گوسفند هستند. به‌تازگی گروهی از دانشمندان بدون استفاده از سلول‌های تغذیه‌کننده و جسم جنینی موفق به تولید سلول‌های کندروسیت از سلول‌های پرتوان القایی شده‌اند، اما در پایان دستورالعمل آنها مشخص نیست که چرا سلول‌ها سوسپانسیون هستند [19, 21]. یکی از مشکلات عمده استفاده از سلول‌های پرتوان القایی چه در کاربرد درمانی و چه کاربردهای برون تن (In vitro)، رسیدن به یک نوع رده سلولی واحد مورد نیاز است [19] (جدول ۳).

جدول ۳) انواع سلول‌های بنیادی قابل استفاده در درمان آسیب‌های غضروفی

نوع سلول	منبع سلول	مزیت	عیب
پرتوان			
جنینی	پلاستوسیت	اکتودرم، مزودرم و خطر تومورزایی و تولید تراوما اندودرم	توانایی تمایز به سه لایه
پرتوان القایی	بیوپسی پوست	مختص به بیمار و روش به‌دست آوردن راحت	احتمال بازبرنامه‌ریزی ناقص و ایجاد تومور
چندتوان			
مزانشیمی	مغز استخوان	ترمیم نسبت به حالت آنها در محیط آزمایشگاه؛ کنترل	کاهش تعداد با افزایش سن؛ سرعت و کیفیت بهتر توانایی حفظ پتانسیل تمایزی
مزانشیمی	چربی	کم‌تهاجم، تحمل تعداد پاساژ بالا، غیروابسته به سن	پیدا کردن مدل حیوانی مناسب برای تولید غضروف مفصلی
مزانشیمی	بافت سینوویال	توانایی تکثیر بالا و تمایز راحت به غضروف	بیان نشانگرهای جنینی مانند Oct-4، Nodal و UTF-1 کشت کوتاه‌مدت؛ شانس ایجاد سلول‌های سرطانی
مزانشیمی	پری‌استئوم	توانایی بالای آنها در تکثیر	ایجاد بافت فیبروزی و تمایز به سمت غضروف؛ هایپرتروفی به‌جای غضروف مفصلی
مزانشیمی	پالپ دندان	استخراج راحت بدون نیاز به جراحی	نیاز به جراحی برای استخراج
مزانشیمی	غشای آمیون	نوع منبع سلولی و مصنوعیت از سیستم ایمنی بدن	نیاز به تحقیقات بیشتر برای استفاده در ترمیم غضروف

قابلیت تمایز سلول‌های بنیادی به بافت غضروف: مهم‌ترین مساله

در استفاده از سلول‌های بنیادی، توانایی کنترل تمایز آنها است، به این معنی که با تغییرات اعمالی به‌صورت شیمیایی، مکانیکی یا زیستی می‌توان سلول‌ها را به سمت تمایز کندروسیتی هدایت کرد. زیرا سلول‌های پرتوان و چندتوان، توانایی تمایز به رده‌های مختلف را دارند [22]. برای این منظور می‌توان از فاکتورهای شیمیایی مانند فاکتورهای رشد، فاکتورهای هندسی مانند توپوگرافی سطح و فاکتورهای فیزیکی- مکانیکی مانند اعمال بار مکانیکی استفاده نمود [23-25]. برای استفاده از هر کدام از فاکتورها برای رسیدن به تمایز مورد نظر، ابتدا باید کنام طبیعی سلول‌های بنیادی را دانست و متوجه شد که هر کدام از این فاکتورها تغییر در کدام دسته را ایجاد می‌کند. به‌علاوه، شناخت کنام سلول‌های بنیادی کمک می‌کند تا بتوان محیط‌های کشت مناسب برای سلول‌ها را متناسب با هدف نهایی از جمله حفظ پرتوانی یا تمایز به یک رده خاص طراحی و از زیست‌موادها به‌عنوان کنام سلولی استفاده کرد [26]. در ادامه عوامل کمکی برای تمایز سلول‌های بنیادی به غضروف بحث می‌شود.

همکاران در سال ۲۰۱۶، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی را روی داربست از ماتریکس خارج سلول فیبروبلاستی کشت داده و مشاهده کرده‌اند که این بستر، تغییراتی در ریخت‌شناسی سلول‌ها ایجاد نمی‌کند، ولی با گذشت زمان باعث کاهش پتانسیل تمایزی آنها می‌شود. با این حال این بستر، تمایز سلول‌های بنیادی چربی را به غضروف افزایش می‌دهد و می‌تواند گزینه قابل اعتمادی برای مهندسی بافت غضروف باشد^[37]. نعیمی و همکاران در سال ۲۰۱۵، داربستی متخلخل از سدیم آلژینات- کندراتین سولفات- فیبرین (SA-CHS-SF) حاوی نانوذرات کیتوسان را مورد آزمایش قرار داده‌اند. سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی روی این داربست کشت داده شد و نتایج نشان داده است که حضور نانوذرات کیتوسانی باعث تمایز بیشتر به کندروسیت و بیان بیشتر آگریکان شده است^[38].

هولمز و همکاران از سازه الکترورسی شده پلی‌کاپرولاکتون (PCL) همراه با نانومواد کربنی، برای بهبود تمایز غضروفی سلول‌های بنیادی استفاده کرده‌اند. این داربست، خواص مکانیکی مناسبی از خود نشان داده است که چسبندگی، تکثیر و تمایز غضروفی را بهبود می‌بخشد^[39]. PCL به دلیل زیست‌سازگاری، قیمت پایین، کنترل راحت اندازه تخلخل‌ها، شکل آنها و خواص مکانیکی مناسب، کاربردهای زیادی در مهندسی بافت دارد، اما یک پلی‌استر آب‌گریز و بدون تکه‌های فعال است که می‌تواند عملکرد آن را محدود سازد. حسین‌کاظمی و همکاران در سال ۲۰۱۵، PCL را به همراه عصاره گل همیشه‌بهار الکترورسی کردند و نتایج نشان‌دهنده این موضوع بوده است که این تلفیق در حد بهینه، باعث بهبود خواص نهایی داربست از جمله آب‌دوستی و چسبندگی سلول‌ها می‌شود^[40]. مرادی و همکاران در سال ۲۰۱۷، از ساختار پلی‌ونیل الکل شبکه‌ای شده به همراه پلی‌استر یورتان که عملکرد آنها به عنوان داربست غضروفی در کارهای قبلی این پژوهشگران با مدل حیوانی خرگوش و با سلول‌های کندروسیت به اثبات رسیده است، برای مهندسی بافت مینیسک استفاده کرده‌اند. نتایج حاکی از آن بوده است که سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی، توانایی بازسازی بافت غضروفی مینیسک را ندارند، در حالی که اگر این سلول‌ها با سلول‌های کندروسیت، کشت مشترک شوند، به طور معنی‌داری توانایی بازسازی بافت مینیسک را پیدا می‌کنند. لذا این مقاله اثباتی بر نیاز عوامل فیزیکی- شیمیایی به عنوان پیام‌رسان برای تمایز سلول‌های بنیادی بوده است. به علاوه نقش مثبت هم‌کشتی یا کشت مشترک دو نوع سلول بنیادی و اختصاصی بافت در بازسازی بافت آسیب‌دیده نیز اثبات شده است^[41].

بسیاری از آزمایش‌ها حاکی از آن بوده است که استفاده از سلول‌های مزانشیمی آلوگرفت، باعث تحریک سیستم ایمنی و پس‌زدگی روند درمان می‌شوند. یکی از ایده‌هایی که برای مقابله با این موضوع وجود دارد کاهش غلظت اکسیژن هنگام استخراج، نگهداری و تزریق سلول‌ها است و همچنین از روش‌های متداول برای ترمیم آسیب‌های جزئی غضروف، تزریق مستقیم هیالورونیک‌اسید است. چیانگ و همکاران از این دو نکته استفاده کرده‌اند و طی شرایطی با اکسیژن کم، سلول‌های مزانشیمی را به وسیله هیالورونیک‌اسید به محل آسیب رسانده و مقایسه‌ای با هیالورونیک‌اسید به‌تنهایی و سلول به‌تنهایی انجام داده‌اند. بعد از گذشت ۶ تا ۱۲ هفته، نمونه همراه با سلول و هیالورونیک‌اسید بالاترین سطح ترمیم و تمایز به غضروف را نشان داده است^[42]. ژرو و همکاران در سال ۲۰۱۶، هیدروژلی از مواد سازنده ماتریکس خارج سلولی غضروف مفصلی شامل هیالورونیک‌اسید متاکریلات،

مفصلی هدایت می‌شود. این نکته دارای اهمیت است که استفاده از داربست‌ها می‌تواند امکان عفونت، تحریک سیستم ایمنی و حساسیت‌زایی را افزایش دهند و به همین دلیل، مساله استفاده از داربست‌هایی از خود فرد بیان می‌شود. به عنوان مثال در مطالعه‌ای از PLGA به عنوان قالبی برای ساخت داربست آتولوگوس از سلول‌های بنیادی مغز استخوان استفاده کرده‌اند و تمایز به غضروف بدون حضور فاکتورهای رشد خارجی، به صورت چشمگیری افزایش یافته است. تانگ و همکاران بدون استفاده از قالب، داربستی از ماتریکس خارج سلولی سلول‌های بنیادی مغز استخوان خرگوش را به دست آورده‌اند و برای آسیب غضروفی از آن استفاده کرده‌اند که ترمیم به وسیله غضروف مفصلی انجام گرفته است. در آزمایشی دیگر سلول‌های بنیادی سینوویال را روی این ماتریکس کشت داده‌اند و پیام‌های تمایز غضروفی را مشاهده کرده‌اند^[32].

داربست‌ها که برای رساندن سلول‌ها به محل آسیب استفاده می‌شوند باید زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر و محرک رشد بافت باشند و از لحاظ بیوشیمیایی، خواص مناسبی داشته باشند. زیرا همان طور که ذکر شد، داربست و ویژگی‌های آن مانند جنس و شکل در تمایز سلول‌های بنیادی تاثیر بسزایی دارند. توانایی حفظ فنوتیپ کندروسیتی داربست‌های آلژیناتی و آگازری برای عیوب غضروفی، بسیار مطالعه شده است، ولی توانایی تحریک تمایز به غضروف برای این داربست‌های دریایی کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. آواد و همکاران در سال ۲۰۰۴، این موضوع را مطالعه و هیدروژل‌های ژلاتینی، آگازری و آلژیناتی را برای عیوب غضروفی انتخاب کرده و توانایی تمایز سلول‌های بنیادی چربی به کندروسیت را در آنها بررسی کرده‌اند. نتایج حاصل نشانگر این موضوع بوده است که هر سه ماده، تمایز به غضروف را ایجاد می‌کنند^[33]. میرزایی و همکاران اثبات کرده‌اند که حضور گلوکزآمین در داربست پلی‌لاکتیک‌اسید/پلی‌اتیلن‌گلیکول (PLA/PEG)، باعث افزایش تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سمت کندروسیت می‌شود، زیرا این ماده محلی برای اتصال سلول‌ها فراهم می‌سازد و همچنین استفاده از این پلیمرها، خواص مکانیکی و فیزیکی مناسبی برای جایگزینی غضروف فراهم می‌سازد^[34].

یکی از روش‌های بهبود تمایز به غضروف، تقلید از ماتریکس طبیعی سلول‌ها است، به همین علت پفی‌فر و همکاران از مواد موجود در ماتریکس طبیعی غضروف به عنوان داربست استفاده کرده‌اند. آنها سه نسبت متفاوت از کلاژن و هیالورونیک‌اسید برای ساخت داربست استفاده کرده‌اند و تحت خلا، سلول‌های بنیادی مزانشیمی را روی این داربست‌ها برای ۲۱ روز کشت داده‌اند. تمایز سلول‌ها به سمت غضروف در داربست با نسبت بیشتر هیالورونیک‌اسید بالاتر بوده است و همین موضوع اثباتی بر تاثیر کنام طبیعی سلول بر رفتار سلولی است^[35]. تمدن و همکاران در سال ۲۰۱۶، سلول‌های بنیادی مغز استخوان را روی داربست‌هایی از جنس کلاژن فیبری نوع ۱ و نوع ۲ کشت دادند و تمایز آنها به سمت غضروف را بررسی و همچنین برای گروهی از نمونه‌ها کندراتین سولفات را نیز بارگذاری کرده‌اند. در گروه بدون کندراتین سولفات برای داربست از جنس کلاژن نوع ۲، بیان کلاژن ۲ و تمایز غضروفی، بیشتر بوده و برای داربست کلاژن نوع ۱، بیان کلاژن ۱ بیشتر بوده است، ولی حضور کندراتین سولفات باعث شده است که حتی گروه داربست کلاژن نوع ۱، بیان کلاژن نوع ۲ داشته باشند. در نهایت این محققان بیان کرده‌اند که داربست کلاژن نوع ۲ به همراه رهایش کندراتین سولفات، دارای بالاترین درصد تمایز سلول‌های بنیادی مغز استخوان به غضروف هستند^[36]. دیزبو و

اجزای ماتریکس، عوامل فیزیکی مانند هندسه ماتریکس در مقیاس میکرو و نانو، الاستیسیته ماتریکس یا پیام‌های مکانیکی منتقل شده از ماتریکس به سلول‌ها در سرنوشت سلولی دخیل هستند.

جدول ۴) انواع زیست‌مواد مورد استفاده در مهندسی بافت غضروف

نوع ماده	منبع
آلژینات	سنول و همکاران در سال ۲۰۱۵ [47]؛ دیتوچ و همکاران در سال ۲۰۰۰ [48]
کیتوسان	پارک و همکاران در سال ۲۰۰۸ [47]؛ چنیت و همکاران در سال ۲۰۰۰ [49]؛ سو و همکاران در سال ۲۰۰۰ [50]؛ هاو و همکاران در سال ۲۰۱۰ [51]؛ اولیوریا و همکاران در سال ۲۰۰۶ [52]
ژلاتین	تو و همکاران در سال ۲۰۱۰ [53]؛ تو و کلو در سال ۲۰۱۶ [8]؛ فن و همکاران در سال ۲۰۰۶ [54]؛ وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۶ [55]
هیالورونیک اسید	تو و همکاران در سال ۲۰۱۰ [53]؛ تو و کلو در سال ۲۰۱۶ [8]؛ نتلس و همکاران در سال ۲۰۰۴ [56]؛ کنگ و همکاران در سال ۲۰۰۸ [57]؛ مارکاسی و همکاران در سال ۲۰۰۵ [58]؛ جیانگ و همکاران در سال ۲۰۱۴ [59]؛ فن و همکاران در سال ۲۰۰۶ [54]؛ لی و همکاران در سال ۲۰۰۷ [60]؛ نهیر و همکاران در سال ۲۰۰۹ [61]
فیبرین	دار و همکاران در سال ۲۰۰۹ [62]؛ فورتمبر و همکاران در سال ۲۰۰۲ [63]؛ هو و همکاران در سال ۲۰۱۰ [64]
کلاژن نوع ۱	روسلس و همکاران در سال ۲۰۰۲ [65]
کلاژن نوع ۲	لی و همکاران در سال ۲۰۰۳ [66]
پلی‌لاکتیک اسید	دانچیس و همکاران در سال ۲۰۰۰ [67]
پلی‌لاکتیک‌کوگلیکولیک اسید	خو و همکاران در سال ۲۰۱۰ [68]؛ آهن و همکاران در سال ۲۰۱۴ [69]؛ یوماتسو و همکاران در سال ۲۰۰۵ [70]؛ فن و همکاران در سال ۲۰۰۶ [54]
پلی‌گلیکولیک اسید (PGA)	کویی و همکاران در سال ۲۰۰۹ [71]

تأثیر شکل سلولی و توپوگرافی سطح در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف: یکی از مهم‌ترین پیام‌های فیزیکی که سرنوشت سلول را تغییر می‌دهد، شکل سلولی است که می‌توان آن را به وسیله نیروهای مکانیکی یا هندسه ماتریکس کنترل کرد [23]. این امر واضح است که سلول‌ها بعد از استخراج، فنوتیپ طبیعی خود را از دست می‌دهند. غشای سلولی دارای پارامترهای شیمیایی و توپوگرافی است که توسط آنها سفتی و ساختار بستر را شناسایی می‌کنند. سلول‌ها در محیط طبیعی خود، ابعاد متفاوتی از توپوگرافی‌ها شامل ماکرو مانند شکل ماهیچه تا میکرو مانند ریخت‌شناسی سلول‌های همسایه و حتی نانو مانند شکل پروتئین‌ها را تجربه می‌کنند. بررسی‌های انجام شده نشان داده است که توپوگرافی بستر می‌تواند جهت‌گیری، قطبیت، افزایش طول، مهاجرت، تکثیر، بیان ژن و نهایتاً تمایز سلول‌های بنیادی را تحت تأثیر قرار دهد. اگر چه توپوگرافی سطح به‌عنوان حفره‌ها و استوانه‌هایی در سطح نانو و میکرو تعریف می‌شوند، ولی هندسه الگوهای ایجاد شده روی سطح مانند مثلث، مربع، شش ضلعی و دایره، نقش اساسی در کشش اسکلت سلولی سلول‌های بنیادی کشت شده دارند که باعث تغییر تمایز آنها می‌شود [72]. محمودی و

همراه با کندراتین سولفات و کلاژن نوع ۱ و همچنین بدون این مواد را برای تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف بررسی کرده‌اند. نتایج نشان‌دهنده این موضوع بوده است که هیدروژل هیبریدی، تمایز به غضروف مفصلی بیشتری داشته و میزان ترشح گلیکوزآمینوگلیکان را افزایش داده است [25]. بورتسد و همکاران در سال ۲۰۱۶، تأثیر ماتریکس خارج سلولی کوسه و خوک را روی تمایز سلول‌های مزانشیمی به سمت غضروف، بدون حضور فاکتورهای رشد خارجی بررسی کرده‌اند. این پژوهشگران تأثیر فاکتورهای ترشحی توسط این ماتریکس‌های خارج سلولی غضروف مفصلی خوک و غضروف جمجمه کوسه را ارزیابی کرده‌اند. داربست خوکی باعث افزایش بیان نشانگرهای غضروفی و همچنین کاهش ترشح فاکتور رشد اندوتلیال رگی (VEGF-F) و FGF-2 در مقایسه با بستر کشت پلی‌استایرنی شده و نمونه بستر کوسه نسبت به تمام نمونه‌ها کمترین بیان کلاژن نوع ۱ را داشته است. مواد حاصل از تخریب این بسترها و فاکتورهای شیمیایی ترشح شده توسط آنها باعث بهبود تمایز به غضروف می‌شود [43]. بولته و همکاران در سال ۲۰۰۴، تأثیر عامل نفوذی آهن برای بررسی مغناطیسی سلول‌ها را روی تمایز سلول‌های مزانشیمی به استخوان، غضروف و چربی بررسی کرده‌اند. اگر چه در مقالات قبلی زنده‌مانی و تکثیر سلولی تغییری نداشته است، ولی آنها نتوانستند تأثیر روی تمایز را نیز اثبات کنند، ولی بولته و همکاران با تغییر نوع نشانگر به پلی‌ال‌لازین (P-L lysine) برای سلول‌های مزانشیمی انسانی، مشاهده کرده‌اند که میزان تمایز به غضروف کاهش یافته است، در حالی که تکثیر، زنده‌مانی و تمایز به استخوان و چربی بدون تغییر باقی مانده است [44]. خادر و همکاران در سال ۲۰۱۶، تأثیر ماده سدیم‌تنگستات (Na₂WO₄) را که ماده‌ای شبیه به انسولین است، روی تمایز سلول‌های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان به غضروف آزمایش کرده‌اند. سلول‌های مزانشیمی روی داربست سه‌بعدی الکترواسپین شده در محیط تمایز غضروفی کشت داده شدند و سدیم‌تنگستات با غلظت‌های مختلف صفر، ۰/۰۱، ۰/۱ و یک میلی‌مولار به محیط کشت اضافه شد. کمترین غلظت اضافه شده بیشترین تمایز را نشان داده است که با بیان ژن و تحلیل‌های بیوشیمیایی بررسی شده است [45].

یکی از مهم‌ترین ماده‌های موجود در ماتریکس غضروف طبیعی، گلیکوزآمینوگلیکان است که سلولز سولفات، ماده سنتزی مقلد این ماده طبیعی هست. پورتوکاریرو- هوآنگ و همکاران از این ماده سنتزی به‌عنوان داربست غضروفی استفاده کرده‌اند. سلولز سولفات می‌تواند طوری طراحی و ساخته شود که توزیع گروه‌های سولفات آن مانند کندراتین سولفات باشد. این گروه، سازه فیبری ژلاتینی را با سلولز سولفات الکترواسپین کرده‌اند و بعد از کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی روی این داربست، مشاهده کرده‌اند که با افزایش میزان گروه‌های سولفات، ترشح TGF-β₃ افزایش می‌یابد و به همین ترتیب بیان کلاژن نوع ۲ افزایش می‌یابد که دلیلی بر افزایش تمایز سلول‌های بنیادی به غضروف است [46]. لیست انواع موادی که به‌عنوان داربست برای سلول‌های بنیادی و تمایز آنها به غضروف استفاده می‌شوند، تهیه شد [3] (جدول ۴).

فاکتورهای فیزیکی موثر در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به کندروسیت

ماتریکس خارج سلولی، همان طور که ذکر شد، تأثیر بسزایی روی سرنوشت سلول‌ها دارد. علاوه بر عوامل شیمیایی مانند جنس و

اندازه و تعداد سلول‌ها دارای گرادیان است. بنابراین ساخت داربستی با گرادیان ساختاری می‌تواند گزینه مناسبی برای تقلید زیستی از کنام سلول‌ها و افزایش تمایز سلول‌ها باشد. دی‌لوکا و همکاران در سال ۲۰۱۶، داربستی با گرادیان در اندازه تخلخل‌ها ساخته و سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسان را روی آن کشت داده و با داربست بدون گرادیان تخلخلی مقایسه کرده‌اند. در داربست با گرادیان تخلخل و داربست با تخلخل‌های بسیار کوچک، میزان ترشح کلیکوزآمینوگلیکان نسبت به داربست با تخلخل‌های بزرگ، بیشتر بوده است. در داربست متخلخل گرادینی، با کوچک شدن تخلخل‌ها بیان ژن‌های غضروفی و تراکم ماتریکس خارج‌سلولی تولیدشده افزایش یافته است. بنابراین می‌توان بیان کرد که داربست با ساختار گرادینی می‌تواند یک استراتژی قابل اعتماد برای تمایز سلول‌های بنیادی به سمت غضروف محسوب شود [75].

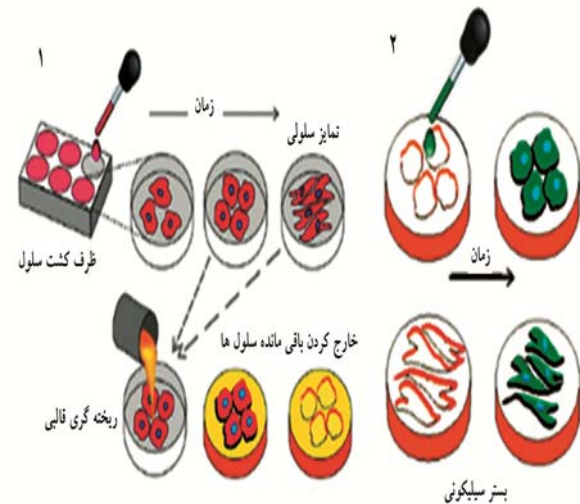
تأثیر غلظت اکسیژن در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف

یکی دیگر از عواملی که می‌تواند غضروف‌سازی را تحریک کند، تنش کاهش اکسیژن است. در واقع، این شرایط باید هنگام استخراج سلول‌های بنیادی اعمال شود. کشت سلول‌های مزانشیمی مشتق از سینوویال تحت شرایط کمبود اکسیژن، ظرفیت تکثیر آنها را افزایش و باعث افزایش تمایز به غضروف می‌شود. تمایز به غضروف در ۵٪ اکسیژن، بالاتر از تمایز در ۲۰٪ اکسیژن است [76].

تأثیر نیروهای مکانیکی در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف

علاوه بر انتخاب مناسب منبع سلولی، تحریک‌های مکانیکی نیز در تمایز سلول به غضروف و نوع غضروف ایجاد می‌شود. در واقع غضروف، طی فعالیت‌های گوناگون تحت بارهای مختلف مانند فشار هیدروستاتیک، کشش، برش و فشار قرار می‌گیرد. بنابراین برای تقلید از ریزمحیط طبیعی غضروف، راکتورهای زیستی مختلف طراحی و گسترش یافته‌اند تا شرایط بارگذاری فیزیولوژیک بدن را تقلید کنند. اثبات شده است زمانی که بارهای مکانیکی به درستی اعمال شوند می‌توانند سرنوشت سلول‌های مزانشیمی را به سمت تمایز کندروسیتی هدایت کنند. راکتورهای زیستی نه تنها به عنوان عاملی برای فراهم کردن شرایط قبل از ایمپلنت زیست‌مواد کاربرد دارند، بلکه برای بررسی رفتار سلول‌ها نسبت به تغییر شرایط مکانیکی نیز استفاده می‌شوند. علاوه بر ارتباط بین سلول‌ها و نیروی مکانیکی، مواد سازنده زیست‌مواد هم در انتقال نیروی مکانیکی تأثیرگذار هستند، به همین دلیل مواد مختلف و تأثیر آنها بر تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف تحت بار مکانیکی بررسی شده است. به عنوان مثال کشت سلول‌ها در داربست از جنس PGA و اعمال بار مکانیکی دینامیک به آنها و مقایسه با حالت استاتیک، تأثیری در تمایز بهتر به غضروف و افزایش بیان کلاژن نوع ۲ و آگریکان ایجاد نکرده است. اما وقتی توالی آرژنین-گلیسیل-آسپارتیک‌اسید به داربست متصل شد که محلی برای اتصال سلول‌های کندروسیت باشد، نمونه تحت بار مکانیکی، بیان کلاژن نوع ۲ و آگریکان خیلی بالاتری از خود نشان داده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر خواص مکانیکی بر سلول‌های بنیادی تا حد زیادی وابسته به اتصال سلول به بستر است [77].

همکاران در سال ۲۰۱۳، تأثیر فاکتور هندسه بستر بر تمایز سلول‌های بنیادی چربی را بررسی کرده‌اند. آنها ابتدا روی بستری از جنس پلی‌استایرن دو رده سلولی کندروسیت و کندروسیت تغییر فنوتیپ‌داده به فیبروبلاست را کشت داده‌اند و سپس با سیلیکون، شکل سلول‌های کشت‌داده شده را روی بستر ایجاد نموده‌اند. بعد از شست‌وشو و خارج کردن عامل شکل‌دهی و سلول‌ها، بستری دارای هندسه سلولی را برای کشت سلول‌های بنیادی چربی مورد استفاده قرار دادند. بعد از گذشت مدت‌زمانی، سلول‌هایی که روی هندسه کندروسیتی کشت داده شده بودند تمایز به غضروف یافتند و بیان کلاژن نوع ۲ در آنها بالاتر بوده است، در حالی که گروه دیگر به فیبروبلاست تمایز یافتند و بیان کلاژن ۱ در آن بیشتر بوده است [73] (شکل ۱).



شکل ۱) روند ایجاد شکل هندسی در بستر پلی‌استایرنی توسط سیلیکون و تأثیر فاکتور هندسی در تمایز سلول‌های بنیادی چربی

۱) ایجاد فاکتور هندسی روی بستر پلی‌استایرنی به وسیله سیلیکون و سلول‌های کندروسیت و کندروسیت تغییر فنوتیپ‌داده به فیبروبلاست؛
۲) بستری دارای شکل هندسی سلول کندروسیت و فیبروبلاست که با سلول بنیادی چربی پر می‌شوند [73].

تأثیر سفتی سطح در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف: علاوه بر تأثیر شکل ماتریکس، فاکتورهای فیزیکی دیگری نیز بر سرنوشت سلولی مانند سفتی سطح تأثیرگذار هستند که در اتصالات سلولی و تنش‌های بخش‌های اتصال مانند اسکلت سلولی تغییر ایجاد می‌کند و باعث فعال شدن خط سیر خاصی در سلول می‌شود و در نتیجه آن تمایز و رفتار سلول دچار تغییر می‌شود [23]. وو و همکاران در سال ۲۰۱۷، تأثیر سفتی ماتریکس، نیروی مکانیکی و توپوگرافی سطح را روی تمایز سلول‌های مزانشیمی به غضروف بررسی کرده‌اند. آنها سه پلی‌استر با سفتی‌های متفاوت، توپوگرافی استوانه‌ای و ابعاد یکسان را که توسط کندراتین سولفات پوشش داده شده بود، برای کشت سلولی انتخاب کردند. نتایج حاکی از آن بوده است که سفتی و توپوگرافی سطح در ریخت‌شناسی، تجمع سلول‌های مزانشیمی و در نتیجه فنوتیپ تمایزی به غضروف آنها تأثیرگذار است. غضروف مفصلی روی سطوح صاف‌تر ایجاد شده است، در حالی که بر سطوح سفت‌تر، غضروف مفصلی و فیبروزی تشکیل شده است [74].

تأثیر تخلخل داربست در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف: ماتریکس طبیعی غضروف مفصلی در ساختار ماتریکس،

اعمال فشار هیدروستاتیک ۵ مگاپاسکالی قرار گرفته و با نمونه‌های بدون اعمال بار مقایسه شده‌اند. بعد از گذشت ۱۴ روز، تغییر چشم‌گیری در میزان ترشح گلیکوزآمینوگلیکان گروه تحت بار و بدون بار مشاهده نشده است، ولی میزان بیان کلاژن نوع ۲ در حالت اعمال فشار هیدروستاتیک افزایش یافته است.

کارخانه و همکاران در سال ۲۰۱۳، تاثیر فشارهای هیدروستاتیکی بر تمایز سلول‌های مزانشیمی به غضروف در داربست درهم‌رونده (IPN) پلی‌کاپرولاکتون- پلی‌ونیل‌الکل- ژلاتین (PCL-PVA-Gel) را مورد ارزیابی قرار داده‌اند. سلول‌ها در دو گروه ۷ و ۲۱ روزه روی داربست‌ها کشت داده شده و هر روز به مدت ۲ ساعت تحت

جدول ۵) خلاصه‌ای از رژیم‌های بارگذاری مختلف روی انواع سلول‌های بنیادی به‌منظور تمایز به سمت سلول‌های غضروف

نوع سلول مورد استفاده	نوع بارگذاری	شرایط بارگذاری	خلاصه نتایج
سلول بنیادی چربی انسانی (hASC)	تنش هیدرواستاتیک متناوب	تنش هیدروستاتیک ۵ مگاپاسکال، فرکانس ۰/۵ هرتز، ۴ ساعت در روز و به مدت ۷ روز	افزایش بیان کلاژن نوع ۲، آگریکان و Sox-9
MSC خرگوشی ^۱	استفاده از امواج مافوق صوت با شدت کم	فرکانس امگاهرتز، شدت موج ۲۰۰ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع، هر ۱۲ ساعت یک‌بار به مدت ۱۰ دقیقه به مدت ۱ یا ۲ هفته	بیان نشانگرهای Sox-9، آگریکان، کلاژن نوع ۲ و مهارکننده بافتی متالوپروتیناز (TIMP-2)
BMSC خرگوشی ^۲	استفاده از امواج مافوق صوت با شدت کم	فرکانس ۰/۸ مگاهرتز شدت موج ۲۰۰ میلی‌وات بر سانتی‌متر مربع، ۱۰ دقیقه در روز و به مدت ۴ هفته	عدم تفاوت معنی‌دار در محتوای DNA؛ افزایش معنی‌دار کلاژن و گلیکوزآمینوگلیکان در گروه تحت تحریک؛ افزایش ترشح ماتریکس خارج سلولی و استحکام سلول‌های تحت تحریک
BMSC انسانی	استفاده از امواج مافوق صوت با شدت کم	۲۰ و ۴۰ دقیقه در روز، در مدت ۷ روز اول کشت	کلاژن چین تمایز؛ کاهش بیان نشانگرهای غضروفی گروه تحت تحریک ۴۰ دقیقه در روز؛ تفاوت معنی‌دار در بیان پروتئوگلیکان‌ها و کلاژن ۲۱ روز بعد از کشت؛ افزایش بیان نشانگرهای غضروفی
سلول‌های به‌دست‌آمده از ضریح استخوان	تنش فشاری دوره‌ای	تنش فشاری ۱۳ تا ۱۰۳ کیلوپاسکال یا به‌صورت مرحله‌ای ۱۳ به ۵۴ به ۱۰۳ کیلوپاسکال، ۳۰ دقیقه در روز، ۴ ساعت در روز و ۲۴ ساعت در روز، فرکانس ۰/۳ هرتز	گروه تحت تحریک ۱۰۳ کیلوپاسکال از تولید بافت غضروف ممانعت کرده است. افزایش بیان پروتئوگلیکان‌ها و کلاژن نوع ۲ در گروه تحت تنش ۱۳ کیلوپاسکال
MSC انسانی	تنش فشاری دوره‌ای	فرکانس ۰/۱ و ۱ هرتز، دامنه کرنش ۵٪، ۱۰٪ و ۲۰٪، ۱ ساعت در روز به مدت ۷ روز. رژیم‌های ۰/۱ هرتز و ۲۰٪، ۱ هرتز و ۱۰٪ و ۱ هرتز و ۲۰٪ بیشترین تاثیر را بر تمایز به سمت غضروف داشته است.	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲ و آگریکان و افزایش تولید گلیکوزآمینوگلیکان
BMSC انسانی	تنش برشی و فشاری دوره‌ای	۱ هرتز، جابه‌جایی عمودی ۰/۴ میلی‌متر و جابه‌جایی چرخشی ۲۵ درجه به‌صورت جداگانه و همزمان	در گروه تحت جابه‌جایی عمودی و چرخشی افزایش بیان کلاژن نوع ۲، آگریکان، پروتئین ماتریکس اولیگوامریک غضروفی (COMP) و Sox-9؛ عدم بیان کلاژن نوع ۱ و آلکانوئوسفاتاز
BMSC انسانی	تنش فشاری دوره‌ای	۷۹۹۴ پاسکال، ۰/۳۳ هرتز به مدت ۷ روز	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲ و آگریکان
BMSC خرگوشی	تنش فشاری دوره‌ای	کرنش ۱۰٪ به مدت ۱۴ روز	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲ و آگریکان
BMSC گاوی	تنش فشاری دوره‌ای	کرنش ۱۰٪ به مدت ۱۶ روز	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲ و آگریکان
BMSC خرگوشی	تنش فشاری دوره‌ای	کرنش ۱۵٪، فرکانس ۱ هرتز، ۴ ساعت در روز به مدت ۲ روز	افزایش بیان ژن و پروتئین TGF-β، Sox-9 و c-Jun
MSC انسانی	تنش فشاری متناوب	۰/۱ مگاپاسکال به مدت ۱۴ روز، ۱۰ مگاپاسکال به مدت ۱۴ روز	افزایش بیان ژن Sox-9 و آگریکان و افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲
MSC انسانی	تنش فشاری دوره‌ای	کرنش ۱۰٪، فرکانس ۰/۱ و ۰/۵ و ۱ هرتز، ۸ ساعت در روز به مدت ۲ روز	افزایش بیان ژن آگریکان در همه فرکانس‌ها؛ افزایش کلاژن نوع ۲ تنها در فرکانس ۱ هرتز
MSC انسانی	تنش هیدروستاتیک دوره‌ای	روز اول، امگاپاسکال و روزهای بعد هر روز ۰/۵ مگاپاسکال به آن اضافه شد و به‌میزان ۴ ساعت در روز، بعد از ۱۴ روز به دامنه ۷/۵ مگاپاسکال رسید و سپس به مدت ۱۴ روز با همین دامنه، فرکانس ۱ هرتز و ۴ ساعت در روز تحریک انجام شد.	افزایش گذرا در بیان ژن Sox-9 با هر دو نوع بارگذاری؛ عدم تغییر در بیان کلاژن نوع ۲ و آگریکان
MSC انسانی	تنش هیدروستاتیک متناوب	امگاپاسکال، فرکانس ۱ هرتز، ۴ ساعت در روز به مدت ۱۰ روز	افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲، آگریکان، Sox-9 و کلاژن نوع ۱؛ افزایش انباشتگی پروتئوگلیکان

۱: سلول بنیادی مزانشیمی؛ ۲: سلول بنیادی مغز استخوان

به داربست‌های به‌تنهایی این پلیمرها می‌شود [78] که مجموع این نتایج حاکی از آن بوده است که استفاده از داربست هیبریدی PCL-PVA-Gel با اعمال فشار هیدروستاتیک یک گزینه مناسب برای جایگزینی غضروف آسیب‌دیده است. علاوه بر تحت تاثیر بودن

محققان بیان کرده‌اند که اعمال فشار هیدروستاتیک می‌تواند به‌عنوان گزینه مناسبی برای بهبود تمایز غضروفی استفاده شود [24]. همچنین ترکیب این داربست هیبریدی باعث حمایت از چسبندگی، تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به کندروسیت، نسبت

تأثیر کوچک‌مولکول‌ها در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف

یکی دیگر از عواملی که می‌تواند تمایز به غضروف در سلول‌های بنیادی را تحریک کند، داروها یا کوچک‌مولکول‌ها هستند. در سال‌های اخیر از میان داروها، کارتوژنین توجه بسیاری را به خود جلب کرده است و محققان در تلاش هستند تا حامل مناسبی برای حمل و رهایش این دارو ایجاد کنند. خو و همکاران در سال ۲۰۱۶، نانوحامل‌هایی را بر پایه کوانتوم‌دات طراحی کرده‌اند که توانایی حمل داروهای آب‌گریز مانند کارتوژنین را داشته باشد. مزیت دیگر این حامل‌ها، پایداری نوری آنها و توانایی دنبال کردن سلول‌های مزانشیمی انسانی نشان‌دار شده به‌وسیله آنها تا ۱۴ روز است [83]. گروه دیگری از محققان در سال ۲۰۱۷، از نانوحامل دندریمری از جنس پلی‌امید و آمین جزئی پگیله‌شده (PAMAM)، برای رهایش کارتوژنین استفاده کرده‌اند تا تمایز سلول‌های مزانشیمی به غضروف را افزایش دهند [84].

فاکتورهای موثر در تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به کندروسیت

همان‌طور که در منابع سلولی ذکر شد، سلول‌های جنینی، یک منبع مناسب برای پزشکی بازساختی هستند. ولی اهمیت استفاده از آنها، در کنترل تمایز آنها به رده مناسب سلولی است. مک‌کی و همکاران در سال ۲۰۱۷، تأثیر نیروهای مکانیکی را روی سلول‌های جنینی کشت‌داده‌شده روی پلی‌دی‌متیل‌سیلوکسان (PDMS) بررسی کرده‌اند. این گروه با استفاده از بستری فوق الاستیک و اعمال بار فشاری بر داربست، شرایط فیزیولوژیک را برای سلول‌ها فراهم ساختند تا میزان تمایز به غضروف را بررسی کنند. بنا بر گزارش این گروه، اعمال بار فشاری استاتیک باعث افزایش بین ژن‌های غضروفی شده است، در حالی که بار دینامیک، تأثیر چشم‌گیری روی بیان ژن‌ها نداشته است [85]. یکی دیگر از روش‌های کنترل تمایز سلول‌های جنینی، بهینه‌کردن محیط کشت متناسب با رده سلولی مورد نظر است. *Tanaka* و همکاران در سال ۲۰۰۴، تأثیر انکپسوله‌کردن جسم جنین داخل آلژینات، کشت با چگالی بالای سلول‌های حاصل از جسم جنینی به‌صورت تک‌لایه و افزودن دگرامتازون به محیط کشت را بررسی کرده‌اند. نتایج نشانگر این موضوع بوده است که کشت تک‌لایه سلول‌ها همراه با دگرامتازون، تمایز به پیش‌سازهای غضروفی را افزایش می‌دهد [86]. سلول‌های بنیادی پرتوان جنینی که از توده سلولی داخلی استخراج می‌شوند، سلول‌های بنیادی پرتوان القایی که از طریق برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های سوماتیک مانند فیبروبلاست به دست می‌آیند و سلول‌های بنیادی چندتوان مزانشیمی که از بافت‌هایی مانند استخوان، مغز استخوان، پالپ دندان، بافت چربی، بافت سینوویال، خون محیطی و خون بند ناف استخراج می‌شوند، در مهندسی بافت غضروف کاربرد دارند. برای تمایز این سلول‌های بنیادی به کندروسیت و تولید بافت غضروفی، عوامل شیمیایی مانند حضور فاکتورهای رشد و جنس داربست، عوامل فیزیکی مانند توپوگرافی، هندسه و سفتی سطح، وجود تخلخل، تغییر غلظت اکسیژن، اعمال بار مکانیکی و موج فراصوت و همچنین حضور کوچک‌مولکول‌ها مانند دارو یا افزودنی‌ها تأثیرگذار هستند. در نهایت با انتخاب درست عامل تمایزی به‌میزان بهینه برای یک نوع سلول بنیادی می‌توان به تمایز کندروسیتی و بازسازی بافت غضروف دست پیدا کرد (جدول ۶؛ شکل ۲).

غضروف با نیروهای مکانیکی وارد شده به آن طی عملیات مختلف روزانه، حین شکل‌گیری جنین نیز نیروهای مکانیکی، نقش مهمی در شکل‌گیری غضروف داشته‌اند. از میان کرنش‌های مکانیکی، پالس‌های با شدت کم فراصوت، روی سلول‌های مزانشیمی و تمایز آنها به غضروف تأثیرگذار است. موج‌های فراصوت در بافت‌های بدن می‌توانند روی اتفاق‌های ریزمکانیکی در مقیاس سلولی تأثیرگذار باشند. از آنجایی که فراصوت در مقایسه با دیگر نیروهای مکانیکی، هزینه کمتر و امنیت بالاتری دارد و همچنین اعمال آن به سلول‌ها راحت‌تر است، شفعی و همکاران در سال ۲۰۱۶، از این فاکتور برای تمایز سلول‌های بنیادی مشتق‌شده از چربی به غضروف استفاده کرده‌اند. نتایج این تحقیق نشان داده است که تأثیر امواج فراصوت با شدت پایین‌تر روی تمایز به غضروف از تأثیر خانواده TGF بیشتر است [79]. رژیم‌های بارگذاری مختلف روی انواع سلول‌های بنیادی به‌منظور تمایز به سمت غضروف توسط *حلوایی* و همکاران جمع‌آوری شده است (جدول ۵) و برای اطلاعات بیشتر در حوزه تأثیر نیروهای مکانیکی بر تمایز سلول‌های بنیادی می‌توان به مقاله *حلوایی* و همکاران مراجعه نمود [80].

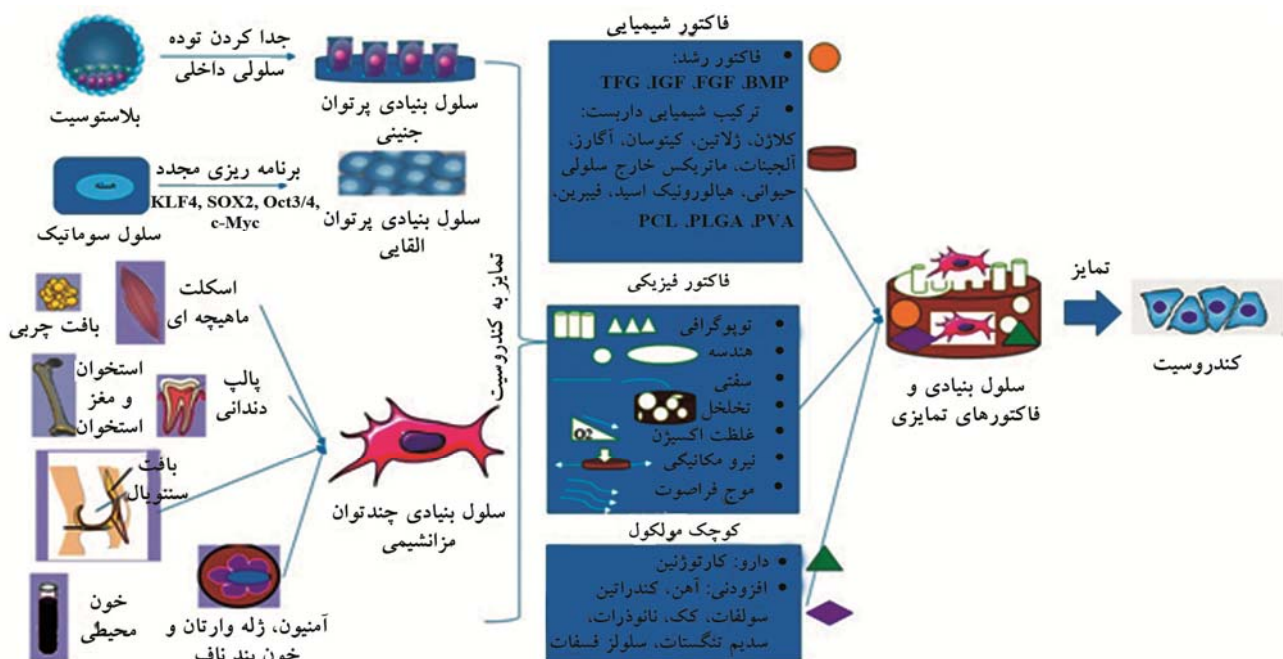
تأثیر همزمان چند فاکتور در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف

همان‌طور که ذکر شد سرنوشت سلول‌های بنیادی، وابسته به فاکتورهای شیمیایی ماتریکس خارج از سلولی و فاکتورهای مکانیکی است. اگر چه هر کدام از این فاکتورها به‌تنهایی مطالعات زیادی را برای تمایز به غضروف به خود اختصاص داده‌اند، ولی تأثیر همزمان این فاکتورها کمتر مورد بحث بوده است. داربست‌های سه‌بعدی، حضور فاکتورهای رشد، برهم‌کنش سلول و ماده، کمبود اکسیژن، تحریک‌های مکانیکی و کشت چندگانه به‌همراه سلول‌های بالغ برای تولید غضروف مفصلی، بسیار مورد توجه هستند. یکی از مشکلات موجود در مقالات این موضوع بوده است که تنها یکی از این پارامترها را بررسی کرده‌اند، در حالی که این پارامترها به هم مرتبط هستند. به‌عنوان مثال تحریک مکانیکی، وابسته به ماده مورد استفاده در داربست است، زیرا این ماده باید بتواند انتقال مکانیکی را به‌درستی انجام دهد. تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی در آزمایشگاه، نیازمند کشت در محیط سه‌بعدی است که می‌تواند براساس هندسه و ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی سلول‌ها اشکال مختلفی داشته باشد. به‌علاوه تحریک مکانیکی باعث تغییر اتصالات سلولی به داربست می‌شود و در نهایت، چسبندگی سلول و شکل سلول تغییر می‌کند که تمایز، تغییر می‌کند [81]. یکی دیگر از ارتباط‌ها بین فاکتورهای تحریک‌کننده، رابطه بین نانوتوپوگرافی و بررسی هدایت مکانیکی است. هدایت مکانیکی، مکانیزمی است که سلول‌ها فاکتورهای فیزیکی مانند نیروهای مکانیکی را به پاسخ‌های زیست‌شیمیایی تبدیل می‌کنند. این فرآیند در تمایز سلول‌های بنیادی اهمیت بالایی دارد. با توجه به توپوگرافی، هدایت مکانیکی از طریق تغییر چسبندگی و شبکه اسکلت سلولی که باعث تغییر در کانال‌های یونی و کشش درون‌سلولی می‌شود، صورت می‌گیرد. همچنین نشان داده شده است که استفاده از نانوتوپوگرافی‌هایی که توانایی ایجاد هدایت مکانیکی را دارند، در پیام‌های متابولیزم و متابولیک تأثیرگذار هستند که روی تمایز سلولی تأثیر می‌گذارد. کنترل سرنوشت سلول‌ها با تغییر نانوتوپوگرافی و در نتیجه آن تغییرات مکانیکی درون‌سلولی در مقایسه با استفاده از فاکتورهای شیمیایی مانند فاکتورهای رشد، گزینه کم‌هزینه‌تری است [82].

جدول ۶) انواع فاکتورهای تاثیرگذار در تمایز سلول بنیادی به غضروف

سال	محقق	نتیجه	عامل	سلول
۲۰۱۴	تو و همکاران ^[8]	سلول‌های پیش‌ساز کندروسیتی	ظروف کشت با پوشش ۱٪ ژلاتین - چگالی سلول در هر طرف ۳×۱۰ ^۵ در ۱۵ میکرولیتر	جنینی انسان
۲۰۰۴	کاواگوچی و همکاران ^[9]	سلول چربی	L/T3	جنینی موش
۲۰۰۴	کاواگوچی و همکاران ^[9]	سلول استئوبلاست	BMP-4	جنینی موش
۲۰۰۴	کاواگوچی و همکاران ^[9]	سلول کندروسیت	TGF-β3	جنینی موش
۲۰۰۴	کاواگوچی و همکاران ^[9]	کاردیومیوسیت	Brachyury PDGFRα VEGFR	جنینی موش
۲۰۱۱	سها و همکاران ^[11]	کندروسیت	محیط کشت بدون سرم ولی همراه با دگزامتازون، اسیدآسکوربیک	مزانشیمی مشتق از مغز استخوان
۲۰۱۱	سها و همکاران ^[11]	افزایش تمایز به غضروف مفصلی	FGF-2	مزانشیمی مشتق از مغز استخوان
۲۰۱۱	سها و همکاران ^[11]	تمایز به غضروف هایپرتروفی	TGF-β3	مزانشیمی مشتق از مغز استخوان
۲۰۱۱	سها و همکاران ^[11]	ایجاد بافت فیبروزی	کشت روی داربست از جنس پلی‌لاکتیک‌اسید- آلژینات- آمالگام	مزانشیمی مشتق از مغز استخوان
۲۰۱۶	تانگ و همکاران ^[32]	بافت شبیه غضروف دست	کشت روی داربست از جنس PLGA	مزانشیمی مشتق از مغز استخوان
۲۰۱۱	سها و همکاران ^[11]	بیان کلاژن نوع ۲ و آگریکان	محیط کشت شامل TGF-β	مزانشیمی مشتق از چربی
۲۰۰۷	هنینگ و همکاران ^[11]	تمایز به غضروف	BMP-6 و TGF-β	مزانشیمی مشتق از چربی
۲۰۱۱	سها و همکاران ^[11]	تمایز به غضروف	FGF-2, IGF-1, TGF-β	مزانشیمی مشتق از بافت سینوویال
۱۹۹۸	جوهانستون و همکاران ^[27]	تمایز به غضروف- افزایش بیان ژن کلاژن نوع ۲ و نوع ۵	TGF-β و دگزامتازون	مزانشیمی
۲۰۰۱	سکیا و همکاران ^[27]	افزایش بازده تمایز به غضروف	BMP	مزانشیمی
۲۰۰۶	آبیم و همکاران ^[30]	غلظت ۵/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر FGF-2 بالاترین میزان سلول تمایز یافته به کندروسیت	محیط‌های کشت حاوی TGF-β2 و FGF-2 به همراه یا بدون سرم گاوی در غلظت‌های متفاوت (۰، ۰/۵، ۱، ۵، ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر)	مزانشیمی افراد بالای ۵۰ سال
۲۰۱۶	کریست-کمپو و همکاران ^[31]	بازده بالای تمایز به غضروف	داربست حاوی TGF-β3 و BMP-7	مزانشیمی
۲۰۱۶	تانگ و همکاران ^[32]	بهبود تمایز به غضروف و هدایت بیشتر به سمت غضروف مفصلی	ماتریکس آتولوگوس به وسیله داربست فعال در محل ضایعه	مزانشیمی مشتق از مغز استخوان
۲۰۰۴	آواد و همکاران ^[33]	در هر سه مورد تمایز به غضروف	داربست هیدروژل‌های ژلاتینی، آگاروزی و آلژیناتی	سلول‌های بنیادی چربی
۲۰۱۷	میرزایی و همکاران ^[34]	افزایش تمایز به کندروسیت	گلوکزآمین در داربست PLA/PEG	مزانشیمی
۲۰۱۶	پفیفر و همکاران ^[35]	تمایز بیشتر سلول‌ها به سمت غضروف در داربست با نسبت بیشتر هیالورونیک‌اسید	استفاده از مواد موجود در ماتریکس طبیعی غضروف (کلاژن و هیالورونیک‌اسید) به عنوان داربست	مزانشیمی
۲۰۱۶	تمدن و همکاران ^[36]	داربست کلاژن نوع ۲ به همراه رهایش کندراتین‌سولفات بالاترین درصد تمایز به غضروف	داربست‌های از جنس کلاژن فیبری نوع ۱ و نوع ۲ با و بدون کندراتین‌سولفات	سلول‌های بنیادی مغز استخوان
۲۰۱۶	دیزابو ^[37]	افزایش تمایز سلول‌های بنیادی چربی به غضروف- کاهش پتانسیل تمایزی در طول زمان	داربست ماتریکس خارج سلول فیبروبلاستی	مزانشیمی مشتق از چربی
۲۰۰۴	هولمز و همکاران ^[39]	بهبود چسبندگی، تکثیر و تمایز غضروفی	از سازه الکتروپرسی شده PCL همراه با نانو مواد کربنی	سلول‌های بنیادی
۲۰۱۷	مرادی و همکاران ^[41]	بازسازی بافت مینیسک	کشت همراه با کندروسیت در داربست پلی‌ونیل الکل و پلی‌استرپورتان	سلول بنیادی مشتق از چربی
۲۰۱۶	چیائنگ و همکاران ^[42]	تمایز به غضروف	رساندن سلول به وسیله هیالورونیک‌اسید و با اکسیژن کم به محل آسیب	مزانشیمی
۲۰۱۶	ژرو و همکاران ^[25]	افزایش تمایز به غضروف	هیدروژلی از مواد سازنده ماتریکس خارج سلولی غضروف مفصلی شامل هیالورونیک‌اسید متاآکریلات، همراه با کندراتین‌سولفات و کلاژن نوع ۱	مزانشیمی
۲۰۱۶	بورنسن و همکاران ^[43]	داربست خونی باعث افزایش بیان نشانگرهای غضروفی، کاهش ترشح FGF-2 و VEGF-F در مقایسه با بستر کشت پلی‌استایرنی شد و بستر کوسه کمترین بیان کلاژن نوع ۱ نسبت به تمام نمونه‌ها داشت.	ماتریکس خارج سلولی کوسه و خوک بدون عوامل رشد	مزانشیمی
۲۰۰۴	بولته و همکاران ^[44]	کاهش تمایز به غضروف	عامل نفوذی آهن	مزانشیمی
۲۰۱۶	خادر و همکاران ^[45]	تمایز بهتر یا غلظت کم سدیم‌تنگستات	سدیم‌تنگستات (Na2WO4)	مزانشیمی مشتق از مغز استخوان
۲۰۱۷	پورتوکاریریو- هوانگ و همکاران ^[46]	افزایش میزان گروه‌های سولفات، ترشح TGF-β3 و بیان کلاژن نوع ۲	داربست سلول‌سولفات	مزانشیمی
۲۰۱۳	محمودی و همکاران ^[73]	تمایز به غضروف یافتند و بیان کلاژن نوع ۲ در سلول‌های کشت داده شده روی هندسه کندروسیتی، تمایز به فیبروبلاست و بیان کلاژن ۱ در سلول‌های دیگر داشتند.	هندسه سلولی، بستر سیلیکونی با شکل کندروسیت و کندروسیت تغییر فنوتیپ داده شده به فیبروبلاست	سلول‌های بنیادی چربی
۲۰۱۵	نعیمی و همکاران ^[38]	تمایز به غضروف یافتند و بیان کلاژن نوع ۲ در سلول‌های کشت داده شده داشتند.	نانوذرات کیتوسان	سلول‌های بنیادی چربی
۲۰۱۷	وو و همکاران ^[74]	سفتی و توپوگرافی سطح در ریخت‌شناسی، تجمع سلول‌های مزانشیمی و در نتیجه فنوتیپ تمایزی به غضروف آنها تاثیرگذار بوده است. روی سطوح صاف‌تر غضروف مفصلی و روی سطوح سفت‌تر غضروف مفصلی و فیبروزی تشکیل شد	سفتی ماتریکس، نیروی مکانیکی و توپوگرافی سطح	مزانشیمی

۲۰۱۶	دی‌لوکا و همکاران [75]	ترشح بیشتر گلیکوز‌آمینوگلیکان در داربست با گرادیان تخلخل و داربست با تخلخل‌های بسیار کوچک، نسبت به داربست با تخلخل‌های بزرگ؛ افزایش بیان ژن‌های غضروفی و تراکم ماتریکس خارج‌سلولی تولیدشده در داربست متخلخل گرادیبانی با کوچک شدن تخلخل‌ها	داربست با گرادیان در اندازه تخلخل‌ها	مزانشیمی انسانی
۲۰۱۶	یاسویی و همکاران [76]	افزایش ظرفیت تکثیر و تمایز به غضروف بسته به نوع و مقدار بار تمایز به غضروف متفاوت بود.	استخراج و کشت تحت تنش کاهش اکسیژن اعمال بار و تنش مکانیکی	مزانشیمی مشتق از سینوویال سلول‌های بنیادی
۲۰۱۶	کوچیسی و همکاران [77]			
۲۰۱۳	کارخانه و همکاران [24]	افزایش میزان بیان کلاژن نوع ۲ در حالت اعمال فشار هیدروستاتیک	فشارهای هیدروستاتیکی ۵مگاپاسکالی در داربست درهم‌رونده PCL-PVA-Gel	مزانشیمی
۲۰۱۶	شفعی و همکاران [79]	تاثیر امواج فراصوت با شدت پایین روی تمایز به غضروف از تاثیر خانواده TGF بیشتر بود.	امواج فراصوت	سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی
۲۰۱۴	هو و همکاران	افزایش تمایز به غضروف	کارتوژنین	مزانشیمی
۲۰۱۶	ژو و همکاران [58, 59]			
۲۰۱۷	مکی و همکاران [85]	اعمال بار فشاری استاتیک باعث افزایش بین ژن‌های غضروفی شده و اعمال بار دینامیک تقریباً بی‌تاثیر بوده است.	نیروهای مکانیکی روی سلول کشت‌داده شده روی PDMS	بنیادی جنینی
۲۰۰۴	تاناکا و همکاران [86]	افزایش تمایز به پیش‌سازهای غضروفی در کشت تک‌لایه سلول‌ها همراه با دکزامتازون	انکپسوله جسم جنین داخل آژینات، کشت با چگالی بالای سلول‌های حاصل از جسم جنینی به‌صورت تک‌لایه و افزودن دکزامتازون به محیط کشت	بنیادی جنین



شکل ۲) منابع سلول‌های بنیادی برای کاربرد غضروفی و عوامل موثر در تمایز به غضروف

جای خالی را پر کند و دیگری اینکه احتیاج به ساخت داربست با اشکال گوناگون نیست، ولی در عین حال تطابق مکانیکی با بافت همسایه را فراهم می‌سازد. با این حال گاهی خواص مکانیکی مورد نیاز را تامین نمی‌کند که لازم است با مواد دیگری برای بهبود خواص مکانیکی کامپوزیت شود. یک داربست تزریقی می‌تواند ساختاری را فراهم کند تا توزیع همگن سلول‌ها و مولکول‌های زیستی را انکپسوله کند که بازسازی استخوان‌ها و غضروف‌ها را به شکل زیست‌تقلیدی تحریک می‌کند [87-90]. اگر چه روش تزریق سلول‌های بنیادی به محل آسیب نیاز به داربستی ندارد، ولی مطالعات زیادی در این زمینه صورت گرفته است که استفاده از داربست‌هایی مانند هیالورونیک‌اسید، کلاژن نوع ۲ یا فیبرین، رهایش موضعی سلول را بهبود بخشیده‌اند و در نهایت بازده تمایز و ترمیم غضروف را افزایش داده‌اند. این مساله کاملاً اثبات شده است

رهایش سلول‌های مزانشیمی برای درمان آسیب غضروفی

در روش‌هایی که بر پایه سلول‌درمانی هستند، توانایی رساندن سلول به محل آسیب، یکی از مهم‌ترین ویژگی‌ها محسوب می‌شود. سلول‌های مزانشیمی را می‌توان از طریق تزریق مستقیم یا از طریق ایمپلنت کردن داربست، به محل آسیب رساند. غالباً تعیین‌کننده روش رساندن سلول، میزان آسیب یا بیماری است. تزریق مستقیم معمولاً در مراحل اولیه بیماری جوابگو است، یعنی زمانی که آسیب کوچک و محدود به لایه غضروفی باشد. اما روش داربست که علاوه بر رساندن محلی سلول، یک حمایت مکانیکی را نیز تامین می‌کند و هنگامی کاربرد دارد که آسیب گسترده باشد. داربست‌ها می‌توانند به صورت مش یا اسفنجی برای کشت سلول و ایمپلنت کردن یا به صورت هیدرورژل قابل تزریق حاوی سلول باشند که استفاده از آنها دو مزیت عمده دارد. یکی اینکه کم‌تهاجمی است و می‌تواند

غضروف تأثیرگذار است. در مطالعه‌ای ماتریکس هیدروژلی هیالورونیک‌اسید با اتصالات عرضی کم، تمایز به غضروف بهتری از خود نشان داده است. با افزایش اتصالات عرضی و سفتی، سطح تمایز به سمت فنوتیپ فیبروزی افزایش می‌یابد^[87] (جدول ۷).

که ویژگی‌های داربست از جمله ساختار، ترکیب، زیست‌تخریب‌پذیری، چسبندگی و الاستیسیته آن روی رفتار سلولی مانند تکثیر، تمایز مهاجرت و عملکرد سلولی تأثیرگذار است. بیان شده است که میزان اتصالات عرضی و سفتی سطح مرتبط با آن روی تمایز سلول‌های مزانشیمی و ساخت انواع مختلف

جدول ۷) انواع مدل‌های حیوانی و روش‌های رساندن سلول بنیادی مزانشیمی برای آسیب غضروفی

نویسنده	گونه حیوانی	مدل	منبع سلولی	حالت رسانش/واسطه	نتیجه
تقرایی و همکاران در سال ۲۰۱۱	خرگوش	انتقال رباط صلیبی قدامی (ACLT)	سلول‌های مزانشیمی مشتق از پد چربی زیرپاتلار گسترش یافته آلوژنیک	تزریق داخل مفصلی/محیط کشت	مهار پیشرفت استئوآرتریت، ظاهر رادیولوژیکی، بافت‌شناسی و مایکروسکوپی بهبود یافته
تره‌ورنه و همکاران در سال ۲۰۱۲	موش	استئوآرتریت القایی کلاژناز	سلول‌های مزانشیمی مشتق از چربی گسترش یافته آتولوگ	تزریق داخل مفصلی/اسرم آلبومین موش	مهار ضخیم شدن پوشش سینوویال و محافظت در برابر تخریب مفصل
دزنده و همکاران در سال ۲۰۱۳	خرگوش	ACLT	سلول‌های مزانشیمی مشتق از چربی گسترش یافته آتولوگ	تزریق داخل مفصلی/اسرم آلبومین خرگوش	ترمیم غضروف بهبود یافته، پیشرفت استئوآرتریت مهار شده
مورفی و همکاران در سال ۲۰۰۳	بز	ACLT+حذف مینیسک	سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان گسترش یافته آتولوگوس	تزریق داخل مفصلی/سديم هیالورونان	پیشرفت استئوآرتریت مهار شده
آل‌فاهه و همکاران در سال ۲۰۱۲	گوسفند	ACLT+حذف مینیسک	سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان گسترش یافته آتولوگ	تزریق داخل مفصلی/محیط کشت	پیشرفت استئوآرتریت مهار شده
جیانگ و همکاران در سال ۲۰۱۴	میمون	استئوآرتریت القایی کلاژناز	سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان گسترش یافته آتولوگ	ایمپلنت مستقیم/انرمال سالیان	بهبود امتیازات هیستولوژیک
سینگه و همکاران در سال ۲۰۱۴	خرگوش	ACLT	سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان گسترش یافته آتولوگ	تزریق داخل مفصلی/محیط کشت	بهبود امتیازات هیستولوژیک و تظاهرات مایکروسکوپی
کامینال و همکاران در سال ۲۰۱۴	گوسفند	القای آرتوسکوپی استئوآرتریت	سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان گسترش یافته آتولوگ	تزریق داخل مفصلی	نبود امتیازات هیستولوژیک و تظاهرات مایکروسکوپی
کیم و همکاران در سال ۲۰۱۴	موش صحرایی	جابه‌جایی صلیب قدامی و رباط‌های جانبی مفاصل+حذف مینیسک میانی	سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان گسترش یافته آلوژنیک	تزریق داخل مفصلی/پتید خود مونتاژ	کاهش التهاب و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (Apoptosis)، بهبود امتیازات هیستولوژیک
ساتو و همکاران در سال ۲۰۱۲	خوکچه هندی	خودبه‌خودی	زنوژنیک (سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان انسانی گسترش یافته در محیط کشت)	تزریق داخل مفصلی/هیالورونیک‌اسید	ترمیم جزئی غضروف
ساونیر و همکاران در سال ۲۰۱۵	خرگوش	حذف مینیسک میانی	زنوژنیک (سلول‌های مزانشیمی ژله وارثون بند ناف اسبی)	تزریق داخل مفصلی	مدولاسیون واکنش ایمنی و کاهش روند کاتابولیک

سالم نیست و در نتیجه آن آسیب ثانویه به بیمار وارد نمی‌شود. یکی از روش‌های سلول‌درمانی که به‌صورت بالینی انجام می‌پذیرد، همراه کردن سلول‌های مزانشیمی با پلاسمای غنی از پلاکت است که از خود بیمار گرفته می‌شود و احتمال تحریک سیستم ایمنی را کاهش می‌دهد. این سلول‌ها مختص به خود بدن بیمار هستند، ولی قبل از تزریق به محل نیاز است که تحت عملیاتی قرار گیرند. این فرآیند شامل جدا کردن سلول‌های مزانشیمی توسط سانتریفوژ و خالص‌سازی آنها با هدف افزایش تمایز به غضروف‌سازی و بیان کلاژن نوع ۲ و گلیکوز‌آمینوگلیکان است^[15]. برای کاربرد بالینی در مطالعه‌ای، از سلول‌های مغز استخوان یک ورزشکار برای بازسازی آسیب غضروفی فمورال وی استفاده کرده‌اند. سلول‌ها در داربست کلاژنی قرار گرفتند و همراه با تکه‌های پری‌استئوال در محل آسیب ایمپلنت شدند. ۷ ماه بعد از جراحی، نتایج به‌دست‌آمده از آرتوسکوپی و هیستولوژی، ایجاد بافت غضروف مفصلی را تأیید کرده است^[3]. نتایج جست‌وجوی تحقیقات قبل از بالینی در پایگاه داده‌های Pubmed و نتایج بالینی در پایگاه داده‌های clinicaltrial.gov ارایه شد^[91] (جدول‌های ۸ و ۹).

مهندسی بافت غضروف به‌وسیله سلول‌های بنیادی: مهندسی بافت، یک زمینه گسترده با پتانسیل بالا برای درمان دایمی آسیب‌های غضروفی است.

کاربرد بالینی سلول‌های بنیادی در درمان بیماری‌های غضروفی

در مقایسه با سلول‌های بنیادی جنینی و القایی، سلول‌های بنیادی بالغ امنیت بیشتری برای درمان دارند و به همین دلیل اولین کاربرد بالینی مختص به این سلول‌ها است^[6]. نتایج بالینی برای استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌منظور درمان آسیب غضروفی در انسان، در مقالات زیادی ذکر نشده، ولی با این حال رشد صعودی داشته است. با توجه به این موضوع که منبع سلولی، فرمول درمانی، روش رساندن سلول و شاخص‌های بالینی از مطالعه‌ای به مطالعه دیگر کاملاً متفاوت است، مقایسه میزان بازده هر مطالعه و رسیدن به یک نتیجه کلی، کار دشواری است. با توجه به روش‌های بالینی اخیر بر پایه سلول‌درمانی، بیشترین سلول‌های مورد استفاده، سلول مغز استخوان، سینوویال و بافت چربی است که می‌تواند از طریق تزریق یک‌مرحله‌ای یا ایمپلنت دومرحله‌ای در بدن قرار گیرند. آزمایش‌ها برای پیگیری روند درمانی شامل آزمایش‌های هیستولوژی، تصویربرداری مغناطیسی و ارزیابی آرتوسکوپی است^[3]. به‌طور کلی استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی، نسبت به روش‌های متداول درمان آسیب غضروفی مانند ایمپلنت کردن سلول‌های کندروسیت خود فرد، مزیت‌های فراوانی از جمله این موضوع دارد که نیازی به بیوپسی غضروف

بیوشیمیایی/بیوفیزیکی برای القای رشد و ساخت بافت تشکیل شده است [92] (شکل ۳).

استراتژی‌های مهندسی بافت غضروف از سه عنصر اصلی منبع سلولی، زیست‌مواد برای داربست و تحریک‌های

جدول ۸) مطالعات قبل از بالینی چاپ‌شده در Pubmed در رابطه با سلول‌های بنیادی در رابطه با آسیب غضروفی

نویسندگان و سال پژوهش	موسسه	تعداد بیماران	توضیح مختصر	روش تحویل سلول‌های بنیادی
نزدنیک و همکاران در سال ۲۰۱۰	دانشگاه ملی؛ سنگاپور	۷۲	مشاهدات پیرو مطالعه؛ ۳۶ بیمار تحت ایمپلنت کندروسیت آتولوگوس و ۳۶ بیمار تحت ایمپلنت سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان قرار گرفته‌اند. طبق نتایج، پیوند سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان به اندازه کندروسیت در نتایج بالینی موثر بوده است.	کاشت دومرحله‌ای؛ سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان استخراج شدند و سپس آرتروتمی برای کاشت انجام شد.
حلیم و همکاران در سال ۲۰۱۰	دانشگاه قاهره؛ مصر	۵	مجموعه موارد؛ تمام علایم بیماران در ۱۲ ماه بهبود یافته است. نمره آرتوسکوپی برای ۲ بیمار ۸ از ۱۲ و ۱۱ از ۱۲ بوده است. در ۱۲ ماه (تصویربرداری مغناطیسی (MRI) انطباق کامل در ۳ بیمار و انطباق ناقص در ۲ بیمار را نشان داده شده است.	کاشت دومرحله‌ای؛ سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان آتولوگ در محیط کشت گسترش یافته و به محل آسیب‌دیده پیوند زده شدند.
دوچی و همکاران در سال ۲۰۱۱	دانشگاه تهران؛ ایران	۴	مجموعه موارد؛ زمان راه‌رفتن تا درد در ۳ بیمار افزایش یافته است. بهبود مقیاس آنالوگ بصری و بالارفتن از پله برای همه وجود داشته است.	تزریق مستقیم با تاخیر؛ ۳۰ میلی‌لیتر از مغز استخوان گرفته شد و برای رشد ۴ تا ۵ هفته کشت داده شد.
کوه و همکاران در سال ۲۰۱۳	بیمارستان Yonsei Sarang؛ کره جنوبی	۱۸	مجموعه موارد؛ پد چربی مادون پاتلار پس از آرتوسکوپی تکه استخراج شده است. امتیازات بالینی و تصویربرداری مغناطیسی بهبود یافته‌اند. نتایج به‌طور مثبت به تعداد سلول‌های بنیادی تزریق شده مرتبط بوده‌اند.	تزریق مستقیم با تاخیر؛ بعد از جراحی آرتوسکوپی، سلول‌های بنیادی پد چربی و پلاسمای غنی از پلاکت به زانو‌ها تزریق شدند.

جدول ۹) مطالعات بالینی انجام‌شده برای درمان آسیب غضروفی

عنوان	موسسه	تعداد بیماران	توضیح مختصر
پیوند سلول‌های بنیادی مغز استخوان تحریک‌شده با داربست‌های پروتئینی برای ترمیم ضایعات غضروف مفصلی زانو	دانشگاه مارسلی؛ فرانسه	۵۰	سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان تازه آتولوگ گسترش‌یافته بدون محیط کشت تحریک‌شده با ماتریکس پروتئینی در داربست کلاژن هیدروکسی آپاتیت مخلوط شدند. این مخلوط به ضایعه آماده‌شده پیوند زده شد و تحت جراحی آرتوسکوپی، با تزریق پلاسمای غنی از پلاکت قرار گرفت.
درمان استئوآرتریت زانو با سلول‌های بنیادی مزانشیمی آتولوگ	IBGM و Fundacion Teknon، Valladolid، اسپانیا	۱۲	از ۴۰ میلیون سلول بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان برای استئوآرتریت درجه ۲ تا ۴ استفاده شد.
تأثیر تزریق داخل مفصلی سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر استئوآرتریت مفصل زانو	موسسه رویان؛ ایران	۴۰	مطالعه کنترل موردی؛ سلول‌های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان در ۱ ماه و ۴ ماه پس از استخراج مدیریت خواهند شد و پیگیری بالینی و تصویربرداری مغناطیسی تا ۶ ماه صورت خواهد گرفت.
سلول‌های بنیادی آتولوگ در استئوآرتریت	بیمارستان دانشگاه Dr Jose E. Gonzalez؛ مکزیک	۳۰	یک گروه، استامینوفن و گروه دیگر، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان دریافت می‌کنند.
سلول‌درمانی بالغ برای درمان غضروف در آرتروز	درمانگاه Teknon موسسه درمانی Tissular، CETIR، سنت‌جوردی؛ اسپانیا	۱۵	برای استئوآرتریت درجه ۲ و ۳؛ در ۳۱ روز، ۴۰ میلیون سلول بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان تزریق شدند و پیگیری بالینی تصویربرداری مغناطیسی تا ۱۲ ماه صورت گرفت.
سلول‌های مزانشیمی آلوژنیک در استئوآرتریت	موسسه دانش پزشکی Sanjay Gandhi Post Graduate؛ هند	۶۰	سلول‌های بنیادی مزانشیمی در دوزهای مختلف استفاده شدند.
سلول‌های بنیادی مزانشیمی آتولوگ در مقایسه با کندروسیت‌ها برای ترمیم ضایعات غضروفی زانو	بیمارستان دانشگاه La Paz؛ اسپانیا	۳۰	آزمایش تصادفی کنترلی بر سلول‌های بنیادی مشتق از چربی در مقایسه با کندروسیت‌ها انجام شده است.
سلول‌های مزانشیمی آلوژنیک برای استئوآرتریت	بیمارستان تخصصی KPJ Ampang Puteri؛ مالزی	۷۲	آزمایش تصادفی کنترلی بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان در مقایسه با پلاسمالیت و هیالورونان صورت گرفته است.
ارزیابی ایمنی و اثربخش اکتشافی، یک محصول سلول‌درمانی برای نقص غضروف مفصلی	دانشگاه Rush؛ ایالات متحده	۱۲	سلول‌های مزانشیمی مشتق از خون بند ناف انسانی برای استئوآرتریت درجه ۳ و ۴ بود.
پژوهش بالینی	بیمارستان دانشگاه Montpellier؛ فرانسه	۱۸	غلظت‌های مختلف سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (۲ میلیون در برابر ۱۰ میلیون در برابر ۵۰ میلیون) برای استئوآرتریت درجه ۳ و ۴ به زانو تزریق و مقایسه خواهند شد.
مطالعه برای مقایسه کارآمدی، ایمنی و ریزشکستگی در بیماران مبتلا به آسیب یا نقص غضروف مفصلی زانو	بیمارستان Guro دانشگاه کره؛ کره جنوبی	۱۰۴	مقایسه ریزشکستگی برای استئوآرتریت درجه ۴
پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی آتولوگ در بیمار مبتلا به آرتروز	بیمارستان SMG-SNU Boramae؛ کره جنوبی	۱۸	سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (۱۰ میلیون در برابر ۵۰ میلیون در برابر ۱۰۰ میلیون) برای استئوآرتریت تخریبی بود.

تقسیم شوند. داربست‌های طبیعی مانند کلاژن، فیبرین، آلژینات، کیتوسان، ابریشم و سلولز [93] یا هیالورونیک‌اسید حد بهینه

داربست مهندسی بافت غضروف: داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت غضروف می‌توانند به دسته سنتزی و طبیعی

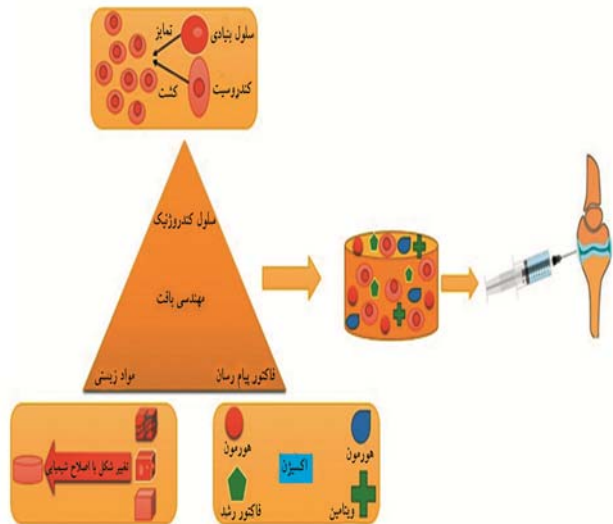
قابل ذکر است که داربست‌های پلیمری می‌توانند به‌صورت مش یا اسفنجی برای ایمپلنت‌کردن و هیدروژلی برای تزریق مستقیم با میزان تهاجم کمتر باشند. زیست‌موادهای داربستی همچنین به‌عنوان حامی برای ره‌ایش مولکول‌های فعال مانند فاکتورهای رشد استفاده می‌شوند. این مولکول‌های زیستی فعال می‌توانند داخل داربست به‌صورت فیزیکی محبوس شوند یا به‌صورت کووالانسی با داربست پیوند داشته باشند [88, 92, 94]. همان‌طور که در قسمت تمایز سلول‌های بنیادی به کندروسیت ذکر شد، ترکیب شیمیایی داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت غضروف نیز اهمیتی بالایی دارند و می‌توانند روی تمایز سلول‌های بنیادی تاثیرگذار باشند.

سلول مهندسی بافت غضروف: تا امروز سلول‌های کندروسیت، فیبروبلاست و بنیادی برای مهندسی بافت غضروف مورد استفاده قرار گرفته‌اند و کندروسیت‌ها و سلول‌های بنیادی مزانشیمی بالاترین مطالعات را به خود اختصاص داده‌اند (سلول‌های بنیادی به‌صورت کامل در مباحث بالا توضیح داده شده‌اند). برای استفاده از سلول‌های کندروسیت برای درمان آسیب‌های غضروفی، از داربست‌ها و حامل‌های مختلفی استفاده شده است، ولی یکی از قابل‌اعتمادترین گزینه‌ها به‌عنوان داربست، برای مهندسی بافت غضروف، هیدروژل‌ها هستند. مطالعات برون‌تنی ثابت کرده است که کندروسیت‌ها در ماتریکس‌های سه‌بعدی هیدروژلی به‌خوبی تکثیر و پخش می‌شوند و در نتیجه ژن مربوط به تولید پروتئین‌های غضروفی بیان می‌شود و فنوتیپ و ریخت‌شناسی اصلی کندروسیت سالم را حفظ می‌کنند. هیدروژل‌ها وابسته به پلیمرهای سازنده آنها، فرآیند غضروف‌زایی متفاوتی را فعال می‌سازند. به‌عنوان مثال هیدروژل کیتوسانی و آگاروزی هر دو در بلندمدت زنده‌مانی سلولی و حفظ ریخت‌شناسی خوبی برای سلول‌های کندروسیت دارند و در طول کشت سلولی و بلوغ سلول‌ها به‌صورت برون‌تنی، غضروف‌زایی و ایجاد ماتریکس خارج‌سلولی غضروفی حاوی کلاژن نوع ۲ و آگریکان در هیدروژل‌های ذکرشده رخ داده است [95].

اگر چه استفاده از کندروسیت‌ها یک گزینه مناسب در درمان عیوب غضروفی است ولی محدودیت‌های قابل‌ذکر نیز وجود دارند. اولین محدودیت این است که کندروسیت باید از بافت غضروفی سالم و بدون اعمال بار استخراج شود، در ادامه برای مدت‌زمان طولانی حدود دو تا سه هفته باید به‌صورت برون‌تنی کشت شود. به‌دلیل کم‌بودن تعداد سلول‌های کندروسیت در غضروف، غضروف آسیب‌دیده توانایی ترمیم خود را ندارد و محلی که سلول از آن استخراج می‌شود، یک بافت ناسالم تلقی می‌شود. دومین محدودیت این است که استخراج کندروسیت از خود فرد برای افراد مسن بازده پایینی دارد، زیرا کندروسیت‌های استخراج‌شده توانایی تکثیر زیادی ندارند [96].

کشت مشترک کندروسیت‌ها و سلول بنیادی مزانشیمی در هیدروژل‌ها، برای غلبه بر محدودیت‌های استفاده به‌تنهایی از سلول‌ها نیز انجام می‌گیرد. کو و همکاران در سال ۲۰۱۶، کندروسیت‌ها و سلول‌های بنیادی مزانشیمی را با نسبت‌های مختلف جمعیتی (۰:۱؛ ۱:۱؛ ۲:۱؛ ۳:۱؛ ۴:۱) در هیدروژل کامپوزیتی PCL-PEG در حضور محیط کشت، کشت داده و در خرگوش با عیب غضروف مفصلی ایمپلنت‌کرده‌اند. نتایج برون‌تنی طی ۴ هفته حاکی از آن بوده است که کشت مشترک کندروسیت و سلول بنیادی مزانشیمی، بیان فنوتیپ غضروفی و تولید ماتریکس خارج‌سلولی را آسان می‌سازد. همچنین حضور کندروسیت‌ها باعث

زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری را دارند و می‌توانند فنوتیپ سلول‌ها را نزدیک به حالت طبیعی‌شان حفظ کنند، در حالی که پلیمرهای سنتزی مانند PEG، PLA و PGA حداقل تنوع گونه‌ای را دارند، ولی برای بهبود خواص زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری نیاز به اصلاحاتی دارند. یک داربست ایده‌آل باید علاوه بر خواص زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری، بتواند محیط سه‌بعدی مناسبی برای سلول‌ها فراهم سازد تا سلول‌ها بتوانند فنوتیپ کندروسیتی خود را حفظ کنند. علاوه بر آن باید نفوذپذیری نسبت به مولکول‌ها، مواد مغذی و فاکتورهای رشد را داشته باشد.



شکل ۳) تصویر شماتیک از ابزار مهندسی بافت (سلول، داربست و فاکتورهای پیام‌رسان)

هیدروژل‌ها که از شبکه پلیمری تشکیل شده‌اند، توانایی جذب آب به میزان بالا و حتی بیشتر از وزن خود را دارند و گزینه مناسبی برای داربست مهندسی بافت غضروف محسوب می‌شوند، چرا که می‌توانند مواد مغذی را به محل بدون رگ غضروف برسانند. انواع ماتریکس‌های مورد استفاده در مهندسی بافت غضروف تهیه شد [92] (جدول ۱۰).

جدول ۱۰) مواد مورد استفاده در مهندسی بافت غضروف به‌عنوان داربست

نوع	نام تجاری محصول
پروتئین	MACI®, Maix®, Atelocollagen®, MaioRegen®
	Tissucol kit®
	کلاژن فیبرین ایبریشم
پلی‌ساکارید	HYAFF-11®
	BST-CarGel®
	هیالورونیک‌اسید کیتوسان سلولز آلژینات
	سنتزی
پلی‌لاکتیک‌کوگلیکولیک‌اسید پلی‌لاکتیک‌اسید پلی‌اتیلن‌گلیکول	

در میان داربست‌های طبیعی، داربست‌هایی که بر پایه هیالورونیک‌اسید هستند، در دهه‌های اخیر مورد اعتمادترین داربست برای مهندسی بافت غضروف محسوب می‌شوند. این نکته

فاکتور رشد نقش اساسی در رشد جنین داشته باشد. IGF-1 به صورت گسترده برای درمان غضروف استفاده می‌شود، زیرا در هموستاز غضروف و معتدل کردن سنتز پرتئوگلیکان‌ها نقش اساسی دارد. در پژوهشی، افزایش بیان IGF-1 با پیوند زدن هیدروژل آلژیناتی به منظور ترمیم عیوب غضروفی در خرگوش انجام گرفته است. نتایج نشان داده است که طی ۱۴ هفته بازتولیدی غضروف مفصلی را بهبود می‌بخشد و تشکیل استخوان زیرغضروفی را تسریع می‌کند. به علاوه حضور IGF-1 در هیدروژل، خاصیت غضروف‌زایی درون‌تنی و برون‌تنی را بهبود می‌بخشد. IGF توانایی بازسازی غضروف با بازده بالا توسط کندروسیت‌ها را دارد [101, 102].

BMPها: در ابتدا فردی به نام یوریست متوجه شد که اجزای فعال مسئول بازسازی استخوان، خانواده‌ای از پروتئین‌ها، به نام BMPها هستند [103]. این نوع پروتئین‌ها توانایی تحریک تولید غضروف و استخوان را دارند، به صورتی که تولید استخوان شبیه به حالت جنینی رخ می‌دهد. تاکنون نزدیک به ۲۰ عضو از این خانواده شناسایی شده‌اند که ۱، ۵، ۹، ۱۳ و ۱۴ نقش اساسی در تولید غضروف و تمایز سلول بنیادی مزانشیمی به غضروف را دارند [104]. بعضی از مطالعات بیانگر این موضوع بوده‌اند که BMP-2 توانایی تولید غضروف از سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های کندروسیت را دارند و این امر برای درمان آسیب‌های غضروفی و استئوکندرال بسیار اهمیت دارد [105].

دگزامتازون: دگزامتازون نوعی هورمون فوق کلیه‌ای است که تمایز سلول بنیادی به غضروف را ترغیب می‌کند. دگزامتازون به محیط کشت اضافه می‌شود یا به صورت کووالانسی به هیدروژل متصل می‌شود تا بتواند تمایز سلول‌های بنیادی را ترغیب کند [86]. گزارش شده است که دگزامتازون علاوه بر تسهیل تمایز سلول بنیادی مزانشیمی و سلول بنیادی جنینی به سلول‌های غضروفی، توانایی تولید پروتئین‌های مرتبط با غضروف مانند TGF- β را نیز دارد [106]. با این حال مطالعه‌ای دیگر گزارش کرده است که افزایش غلظت دگزامتازون باعث سرکوب بیان آگریکان‌ها می‌شود [107]. معمولاً دگزامتازون همراه با TGF یا BMP استفاده می‌شود تا ترمیم غضروف به بالاترین مقدار برسد [99].

فاکتورهای رشد و گونه‌های زیست‌فعال تازه کشف‌شده: تلاش‌های چشم‌گیر و پیوسته‌ای برای شناخت فاکتورهای رشد جدید که در تمایز غضروفی و استخوانی تأثیر دارند، انجام گرفته است. به عنوان مثال گزارش شده است که مولکول کوچکی به نام کارتوژنین، تمایز کندروسیتی را توسط تنظیم رونویسی از ژن‌ها ترغیب می‌کند. به علاوه بعضی ذرات غیرارگانیک (میکرو و نانو) عملکردی شبیه فاکتورهای رشد در تمایز سلولی دارند [108, 109].

مهندسی بافت غضروف در ایران

در ایران از سال ۲۰۰۰، کار روی مهندسی بافت غضروف توسط میرزاده و همکاران با تمرکز بر استفاده از پلی‌پورتان آغاز شده است [110]. بعد از گذشت زمان و پیشرفت علم مهندسی سلول‌های بنیادی در ایران، پژوهشگران از سلول‌های بنیادی به جای کندروسیت استفاده کرده‌اند. سال ۲۰۱۱، سال اوج مهندسی بافت غضروف در ایران بوده است و اکثر کارهای درون‌تنی روی خرگوش در این سال به چاپ رسیده است [111]. بحرانی و همکاران در سال ۲۰۱۲، با استفاده از سلول‌های بنیادی مشتق از چربی توانسته‌اند که آسیب ایجادشده در غضروف لاله گوش موش را به صورت کامل و

ترغیب تمایز سلول بنیادی به کندروسیت می‌شود، در حالی که سلول بنیادی، تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد. نتایج درون‌تنی طی ۸ هفته حاکی از آن بود که کشت مشترک کندروسیت، سلول بنیادی مزانشیمی با نرخ ۱:۴، بهینه‌ترین تولید غضروف را داشته است [97]. شیپی و همکاران در سال ۲۰۱۳، کشت مشترک دولایه‌ای کندروسیت و سلول بنیادی مزانشیمی را در هیدروژل‌های آگاروزی به منظور ترمیم بافت استئوکندرال مورد مطالعه قرار داده‌اند. در این طراحی، در لایه اول هیدروژل آگاروزی، کندروسیت‌ها قرار می‌گیرند (به عنوان لایه غضروف. در حالی که در لایه پایینی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی (به عنوان لایه استخوانی) قرار می‌گیرند. این سازه دولایه‌ای، غضروف‌زایی را در لایه غضروفی ترغیب می‌کند، بیان فنوتیپ غضروفی را آسان می‌سازد و همچنین هاپپروتروفی و معدنی شدن در لایه استخوانی را به تعویق می‌اندازد. نتایج حاصل از ایمپلنت زیرجلدی این هیدروژل نشان‌دهنده ایجاد استخوان‌زایی در لایه استخوانی و تولید بافت استئوکندرال است [98]. هیدروژل‌های لایه‌ای حاوی انواع سلول‌ها (کندروسیت و سلول بنیادی)، توانایی ترغیب استخوان‌زایی، غضروف‌زایی و تولید بافت منطقه‌ای استئوکندرال را دارند. بنابراین چنین هیدروژل‌هایی، انتخاب‌های مناسبی برای درمان آسیب بافت‌های غضروفی و استئوکندرال هستند. اگر این سیستم‌ها با تحریک‌های بیوشیمیایی همراه شوند، تأثیرات بازتولیدی بیشتری خواهند داشت [99].

فاکتورهای پیام‌رسان در مهندسی بافت غضروف

همان طور که ذکر شد، فاکتورهای تحریک‌کننده می‌توانند عوامل شیمیایی، فیزیکی، مکانیکی و هندسی باشند [92]. ماتریکس خارج سلولی طبیعی غضروف از طریق فاکتورهای رشد باعث تکثیر، تمایز و رشد سلول‌ها می‌شود. این فاکتورهای رشد و هورمون‌های مورد استفاده در مهندسی بافت غضروف عبارت از فاکتور رشد انتقالی (TGF)، فاکتور رشد شبه انسولین (IGF)، پروتئین مورفوژنتیک استخوان (BMP) و دگزامتازون هستند که در ادامه هر کدام به اختصار توضیح داده می‌شوند [99].

TGFها: TGFها از خانواده پلی‌پپتیدها هستند که توانایی تأثیر روی رفتارهای سلولی شامل رشد، تکثیر و تمایز را دارند. دو نوع TGF به نام‌های α (آلفا) و β (بتا) وجود دارد که هر کدام توالی آمینواسیدی منحصر به فرد و برهم‌کنش متفاوتی با گیرنده دارند. خانواده β توانایی تمایز سلول‌های بنیادی به غضروف را دارند و $\beta 1$ و $\beta 3$ به صورت گسترده‌ای برای تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به کندروسیت و بازسازی بافت غضروف مورد استفاده قرار می‌گیرند، اگر چه تأثیرات آنها یکسان نیست. گزارش شده است که $\beta 1$ بیان ژن مرتبط با غضروف بیشتری نسبت به $\beta 3$ دارد. $\beta 1$ چسبندگی سلولی و تراکم سلولی را ترغیب می‌کند، در حالی که $\beta 3$ تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد. قابل ذکر است که $\beta 1$ و $\beta 3$ هر کدام در مراحل مختلفی از تمایز سلول بنیادی مزانشیمی به غضروف شرکت می‌کنند، بنابراین برای تأثیر بیشتر نیاز به ترکیبی از هر دو است [100].

IGFها: IGFها پلی‌پپتیدهای تک‌رشته‌ای هستند که توالی آمینواسیدی شبیه به انسولین دارند. دو نوع IGF شامل IGF-1 و IGF-2 وجود دارد. IGF-1 که توسط کبد ترشح می‌شود و رشد در بزرگسالان را کنترل می‌کند. IGF-2 که گمان می‌شود این نوع

است، ولی مکانیزم و روش ایجاد این ترمیم تاکنون مشخص نشده است. سلول‌های مزانشیمی بالاترین امنیت در استفاده از سلول‌درمانی در غضروف را دارند و این نوع سلول‌ها بیشترین استفاده بالینی را دارند. در ایران، سلول‌درمانی برای بیماران به‌صورت بالینی صورت می‌پذیرد، ولی مهندسی بافت غضروف راه زیادی برای رسیدن به مرحله بالینی دارد.

تشکر و قدردانی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

تأییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان بیان نشده است.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان بیان نشده است.

سهم نویسندگان: فریناز جنیدی شریعت‌زاده (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۸۵٪)؛ عاطفه سلوک (نویسنده دوم)، نگارنده بحث (۵٪)؛ کیمیا قیدری (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی/نگارنده بحث (۵٪)؛ شاهین بنکدار (نویسنده چهارم)، نگارنده بحث (۵٪).

منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان بیان نشده است.

منابع

- 1- Simon TM, Jackson DW. Articular cartilage: Injury pathways and treatment options. *Sports Med Arthrosc Rev.* 2006;14(3):146-54.
- 2- Makris EA, Gomoll AH, Malizos KN, Hu JC, Athanasiou KA. Repair and tissue engineering techniques for articular cartilage. *Nat Rev Rheumatol.* 2015;11(1):21-34.
- 3- Pham PV. Stem cells in clinical applications: Bone and cartilage regeneration. Switzerland: Springer; 2017.
- 4- Askari F, Solouk A, Shafieian M, Seifalian AM. Stem cells for tissue engineered vascular bypass grafts. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2017;45(5):999-1010.
- 5- Orth P, Rey-Rico A, Venkatesan JK, Madry H, Cucchiari M. Current perspectives in stem cell research for knee cartilage repair. *Stem Cells Cloning.* 2014;7:1-17.
- 6- Wang M, Yuan Z, Ma N, Hao C, Guo W, Zou G, et al. Advances and prospects in stem cells for cartilage regeneration. *Stem Cells Int.* 2017;2017:4130607.
- 7- Panahi-Joo Y, Solouk A. Cell therapy for the treatment of spinal cord injury with focus on stem cells: A review. *J Appl Tissue Eng.* 2015;2(1):1-22.
- 8- Toh WS, Cao T. Derivation of chondrogenic cells from human embryonic stem cells for cartilage tissue engineering. *Methods Mol Biol.* 2014; 1341:263-79.
- 9- Kawaguchi J, Mee PJ, Smith AG. Osteogenic and chondrogenic differentiation of embryonic stem cells in response to specific growth factors. *Bone.* 2005;36(5):758-69.
- 10- Rodriguez-Fontan F, Piuze NS, Chahla J, Payne KA, LaPrade RF, Muschler GF, et al. Stem and progenitor cells for cartilage repair: Source, safety, evidence, and efficacy. *Oper Tech Sport Med.* 2017;25(1):25-33.
- 11- Li S, L'Heureux N, Elisseeff JH. Stem cell and tissue engineering. Singapore: World Scientific; 2011. pp. 211-30.
- 12- Bagher Z, Azami M, Ebrahimi-Barough S, Mirzadeh H, Solouk A, Soleimani M, et al. Differentiation of wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells into motor neuron-like cells on three-dimensional collagen-grafted nanofibers. *Mol Neurobiol.* 2016;53(4):2397-408.
- 13- Mak J, Jablonski CL, Leonard CA, Dunn JF, Raharjo E, Matyas JR, et al. Intra-articular injection of synovial

کاربرد بالینی مهندسی بافت غضروف و سلول‌درمانی در ایران

در سال ۲۰۱۲، دانشگاه پزشکی تهران با همکاری بیمارستان شریعتی، فرآیند بالینی استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق‌شده از مغز استخوان را همراه با داربست کلاژنی در درمان ورم مفاصل آغاز کرده است که با نتایج امیدوارکننده‌ای به پایان رسیده است. بدین معنی که بعد از پیگیری درمان طی ۱۲ ماه و ۲۴ ماه میزان درد در بیماران به‌صورت چشم‌گیری کاهش یافته و ترمیم غضروف مشاهده شده است [113]. علاوه بر استفاده از کلاژن به‌عنوان داربست، چسب فیبرینی که از خون بند ناف گرفته می‌شود نیز به‌عنوان داربست استفاده شده است. مزیت‌های استفاده از چسب فیبرینی نسبت به کلاژن، عدم تحریک سلول بنیادی مزانشیمی به تمایز استخوانی، عدم نیاز به بافت پیوست برای اتصال به بافت‌های اطراف، عدم انتقال عوامل بیماری‌زا از منابع حیوانی و کمک به تمایز به غضروف به‌دلیل حضور فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت بوده است. بعد از آن تلاش‌هایی برای استفاده بالینی از سلول‌های بنیادی در دانشگاه اصفهان صورت گرفته است و برای ۱۱ بیمار با میانگین سنی ۳۱ سال که از آسیب غضروفی رنج می‌بردند عمل آرتوسکوپی انجام گرفته و از قسمت سالم سلول‌های کندروسیت استخراج شده است. سپس به‌مدت ۲ الی ۳ هفته کشت و به بیمار تزریق شده است. شرایط بیمار قبل از عمل، ۶ و ۱۲ ماه بعد از عمل ارزیابی شد و نتایج بالینی و رادیولوژی حاکی از آن بوده است که شاخص‌های بهبودی در بیماران به‌صورت چشم‌گیری افزایش داشته است [114]. نهایتاً در سال ۲۰۱۲ اولین سلول‌درمانی با سلول بنیادی برای آسیب‌های غضروفی برای ۳۰ بیمار در ایران طی دو مرحله انجام گرفته است، بدین معنی که تعداد تزریق به دو بار افزایش یافت. در این مطالعه، بعد از بررسی اولیه بیمار به‌لحاظ معیارهای ورود و خروج از مطالعه، بیوپسی مغز استخوان انجام و سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا و کشت شدند و سپس سلول‌ها در دو مرحله با فاصله زمانی ۴ ماه در مفصل زانو تزریق شدند. برای تزریق دوم، سلول‌های به‌دست‌آمده از مرحله اول برای حداقل ۴ ماه منجمد و ذخیره شدند. علاوه بر مفصل زانو، اثر یک‌بار تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان خود بیمار در آرتروز مفصل مچ و لگن نیز در حال مطالعه است. نتایج دو مرحله بالینی حاکی از آن بوده است که استفاده از سلول‌های بنیادی نه تنها باعث کاهش درد بیمارها می‌شود، بلکه عملکرد غضروف و مفصل را بهبود می‌بخشد که برای اثبات این نتیجه از رادیولوژی و MRI استفاده شده است [115-111]. همچنین به‌صورت بالینی در انستیتو رویان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان خود بیمار استخراج و کشت داده می‌شوند و سپس همراه با چسب فیبرینی مشتق از بند ناف به موضع آسیب‌دیده منتقل و پیوند زده می‌شوند [116]. اگر چه مهندسی بافت غضروف یک گزینه قابل اعتماد برای درمان آسیب‌های غضروفی است، ولی با این حال با چالش‌هایی از قبیل چگونگی ایمپلنت‌کردن یا کنترل تمایز سلول‌های بنیادی و جلوگیری از تشکیل غضروف فیبروزی روبه‌رو است [117].

نتیجه‌گیری

نقش سلول‌های بنیادی در ترمیم غضروف به‌درستی اثبات شده

- differentiation of cultured human mesenchymal stem cells from marrow. *Tissue Eng.* 1998;4(4):415-28
- 30- Im GI, Jung NH, Tae SK. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from patients in late adulthood: The optimal conditions of growth factors. *Tissue Eng.* 2006;12(3):527-36.
- 31- Crecente-Campo J, Borrajo E, Vidal A, Garcia-Fuentes M. New scaffolds encapsulating TGF- β 3/BMP-7 combinations driving strong chondrogenic differentiation. *Eur J Pharm Biopharm.* 2017;114:69-78.
- 32- Tang C, Jin C, Xu Y, Wei B, Wang L. Chondrogenic differentiation could be induced by autologous bone marrow mesenchymal stem cell-derived extracellular matrix scaffolds without exogenous growth factor. *Tissue Eng Part A.* 2016;22(3-4):222-32.
- 33- Awad HA, Wickham MQ, Leddy HA, Gimble JM, Guilak F. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds. *Biomaterials.* 2004;25(16):3211-22.
- 34- Mirzaei S, Karkhaneh A, Soleimani M, Ardeshirylajimi A, Seyyed Zonouzi H, Hanaee-Ahvaz H. Enhanced chondrogenic differentiation of stem cells using an optimized electrospun nanofibrous PLLA/PEG scaffolds loaded with glucosamine. *J Biomed Mater Res A.* 2017;105(9):2461-74.
- 35- Pfeifer CG, Berner A, Koch M, Krutsch W, Kujat R, Angele P, et al. Higher ratios of hyaluronic acid enhance chondrogenic differentiation of human MSCs in a hyaluronic acid-gelatin composite scaffold. *Materials (Basel).* 2016;9(5):381.
- 36- Tamaddon M, Burrows M, Ferreira SA, Dazzi F, Apperley JF, Bradshaw A, et al. Monomeric, porous type II collagen scaffolds promote chondrogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells in vitro. *Sci Rep.* 2017;7:43519.
- 37- Dzobo K, Turnley T, Wishart A, Rowe A, Kallmeyer K, van Vollenstee FA, et al. Fibroblast-derived extracellular matrix induces chondrogenic differentiation in human adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells in vitro. *Int J Mol Sci.* 2016;17(8):E1259.
- 38- Naeimi M, Rafienia M, Fathi M, Janmaleki M, Bonakdar S, Ebrahimian-Hosseinabadi M. Incorporation of chitosan nanoparticles into silk fibroin-based porous scaffolds: Chondrogenic differentiation of stem cells. *Int J Polym Mater Polym Biomater.* 2016;65(4):202-9.
- 39- Holmes B, Fang X, Zarate A, Keidar M, Zhang LG. Enhanced human bone marrow mesenchymal stem cell chondrogenic differentiation in electrospun constructs with carbon nanomaterials. *Carbon.* 2016;97:1-13.
- 40- Hosseinkazemi H, Biazar E, Bonakdar S, Ebadi MT, Shokrgozar MA, Rabiee M. Modification of PCL electrospun nanofibrous mat with *Calendula officinalis* extract for improved interaction with cells. *Int J Polym Mater Polym Biomater.* 2015;64(9):459-64.
- 41- Moradi L, Vasei M, Dehghan MM, Majidi M, Farzad Mohajeri S, Bonakdar S. Regeneration of meniscus tissue using adipose mesenchymal stem cells-chondrocytes coculture on a hybrid scaffold: In vivo study. *Biomaterials.* 2017;126:18-30.
- 42- Chiang ER, Ma HL, Wang JP, Liu CL, Chen TH, Hung SC. Allogeneic mesenchymal stem cells in combination with hyaluronic acid for the treatment of osteoarthritis in rabbits. *PLoS One.* 2016;11(2):e0149835.
- 43- Burnsed OA, Schwartz Z, Marchand KO, Hyzy SL, Olivares-Navarrete R, Boyan BD. Hydrogels derived from cartilage matrices promote induction of human mesenchymal stem cell chondrogenic differentiation. mesenchymal stem cells improves cartilage repair in a mouse injury model. *Sci Rep.* 2016;6(23076):1-12.
- 14- Muiños-López E, Hermida-Gómez T, Fuentes-Boquete I, de Toro-Santos J, Blanco FJ, Díaz-Prado SM. Human amniotic mesenchymal stromal cells as favorable source for cartilage repair. *Tissue Eng Part A.* 2017;23(17-18):901-12.
- 15- Uth K, Trifonov D. Stem cell application for osteoarthritis in the knee joint: A minireview. *World J Stem Cells.* 2014;6(5):629-36.
- 16- de Windt TS, Vonk LA, Slaper-Cortenbach IC, van den Broek MP, Nizak R, van Rijen MH, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells stimulate cartilage regeneration and are safe for single-stage cartilage repair in humans upon mixture with recycled autologous chondrons. *Stem Cells.* 2017;35(1):256-64.
- 17- Perdisa F, Marcacci M. Induced pluripotent stem cells in cartilage repair improved mr scoring system for outcome analysis of cartilage repair procedures. *Med Sci.* 2015;43(2016):53-73.
- 18- Li Y, Liu T, Van Halm-Lutterodt N, Chen J, Su Q, Hai Y. Reprogramming of blood cells into induced pluripotent stem cells as a new cell source for cartilage repair. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7:31.
- 19- Lietman SA. Induced pluripotent stem cells in cartilage repair. *World J Orthop.* 2016;7(3):149-55.
- 20- Harrison RH, St-Pierre JP, Stevens MM. Tissue engineering and regenerative medicine: A year in review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2014;20(1):1-16.
- 21- Guzzo RM, O'Sullivan MB. Human pluripotent stem cells: Advances in chondrogenic differentiation and articular cartilage regeneration. *Curr Mol Biol Rep.* 2016;2(3):113-22.
- 22- Majumdar MK, Wang E, Morris EA. BMP-2 and BMP-9 promotes chondrogenic differentiation of human multipotential mesenchymal cells and overcomes the inhibitory effect of IL-1. *J Cell Physiol.* 2001;189(3):275-84.
- 23- Guilak F, Cohen DM, Estes BT, Gimble JM, Liedtke W, Chen CS. Control of stem cell fate by physical interactions with the extracellular matrix. *Cell Stem Cell.* 2009;5(1):17-26.
- 24- Karkhaneh A, Naghizadeh Z, Shokrgozar MA, Bonakdar S, Solouk A, Haghighipour N. Effects of hydrostatic pressure on biosynthetic activity during chondrogenic differentiation of MSCs in hybrid scaffolds. *Int J Artif Organs.* 2014;37(2):142-8.
- 25- Zhu M, Feng Q, Sun Y, Li G, Bian L. Effect of cartilaginous matrix components on the chondrogenesis and hypertrophy of mesenchymal stem cells in hyaluronic acid hydrogels. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2017;105(8):2292-300.
- 26- Mashinchian O, Turner LA, Dalby MJ, Laurent S, Shokrgozar MA, Bonakdar S, et al. Regulation of stem cell fate by nanomaterial substrates. *Nanomedicine (Lond).* 2015;10(5):829-47.
- 27- Koga H, Engebretsen L, Brinchmann JE, Muneta T, Sekiya I. Mesenchymal stem cell-based therapy for cartilage repair: A review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2009;17(11):1289-97.
- 28- Barry F, Boynton RE, Liu B, Murphy JM. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow: Differentiation-dependent gene expression of matrix components. *Exp Cell Res.* 2001;268(2):189-200.
- 29- Mackay AM, Beck SC, Murphy JM, Barry FP, Chichester CO, Pittenger MF. Chondrogenic

- for drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*. 2014;35(18):4969-85.
- 60- Lee SY, Tae G. Formulation and in vitro characterization of an in situ gelable, photopolymerizable Pluronic hydrogel suitable for injection. *J Controll Release*. 2007;119(3):313-9.
- 61- Nehrer S, Dorotka R, Domayer S, Stelzeneder D, Kotz R. Treatment of full-thickness chondral defects with hyalograft C in the knee: A prospective clinical case series with 2 to 7 years' follow-up. *Am J Sports Med*. 2009;37(1):81S-7.
- 62- Dare EV, Griffith M, Poitras P, Wang T, Dervin GF, Giulivi A, et al. Fibrin sealants from fresh or fresh/frozen plasma as scaffolds for in vitro articular cartilage regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2009;15(8):2285-97.
- 63- Fortier LA, Mohammed HO, Lust G, Nixon AJ. Insulin-like growth factor-I enhances cell-based repair of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br*. 2002;84(2):276-88.
- 64- Ho ST, Cool SM, Hui JH, Huttmacher DW. The influence of fibrin based hydrogels on the chondrogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. *Biomaterials*. 2010;31(1):38-47.
- 65- Russlies M, Behrens P, Wunsch L, Gille J, Ehlers EM. A cell-seeded biocomposite for cartilage repair. *Ann Anat (Anatomischer Anzeiger)*. 2002;184(4):317-23.
- 66- Lee CR, Grodzinsky AJ, Hsu HP, Spector M. Effects of a cultured autologous chondrocyte-seeded type II collagen scaffold on the healing of a chondral defect in a canine model. *J Orthop Res*. 2003;21(2):272-81.
- 67- Douchis JS, Bae WC, Chen AC, Sah RL, Coutts RD, Amiel D. Cartilage repair with autogenic perichondrium cell and polylactic acid grafts. *Clin Orthop Relat Res*. 2000;(377):248-64.
- 68- Xue D, Zheng Q, Zong C, Li Q, Li H, Qian S, et al. Osteochondral repair using porous poly(lactide-co-glycolide)/nano-hydroxyapatite hybrid scaffolds with undifferentiated mesenchymal stem cells in a rat model. *J Biomed Mater Res A*. 2010;94(1):259-70.
- 69- Ahn H, Kim KJ, Park SY, Huh JE, Kim HJ, Yu WR. 3D braid scaffolds for regeneration of articular cartilage. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014;34:37-46.
- 70- Uematsu K, Hattori K, Ishimoto Y, Yamauchi J, Habata T, Takakura Y, et al. Cartilage regeneration using mesenchymal stem cells and a three-dimensional poly-lactic-glycolic acid (PLGA) scaffold. *Biomaterials*. 2005;26(20):4273-9.
- 71- Cui L, Wu Y, Cen L, Zhou H, Yin S, Liu G, et al. Repair of articular cartilage defect in non-weight bearing areas using adipose derived stem cells loaded polyglycolic acid mesh. *Biomaterials*. 2009;30(14):2683-93.
- 72- Bonakdar S, Mahmoudi M, Montazeri L, Taghipoor M, Bertsch A, Shokrgozar MA, et al. Cell-imprinted substrates modulate differentiation, redifferentiation, and transdifferentiation. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(22):13777-84.
- 73- Mahmoudi M, Bonakdar S, Shokrgozar MA, Aghaverdi H, Hartmann R, Pick A, et al. Cell-imprinted substrates direct the fate of stem cells. *ACS Nano*. 2013;7(10):8379-84.
- 74- Wu Y, Yang Z, Law JB, He AY, Abbas AA, Denslin V, et al. The combined effect of substrate stiffness and surface topography on chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A*. 2017;23(1-2):43-54.
- 75- Di Luca A, Szlazak K, Lorenzo-Moldero I, Ghebres CA, Lepedda A, Swieszkowski W, et al. Influencing *Acta Biomater*. 2016;43:139-49.
- 44- Bulte JW, Kraitchman DL, Mackay AM, Pittenger MF. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells is inhibited after magnetic labeling with ferumoxides. *Blood*. 2004;104(10):3410-2.
- 45- Khader A, Sherman LS, Rameshwar P, Arinze TL. Sodium tungstate for promoting mesenchymal stem cell chondrogenesis. *Stem Cells Dev*. 2016;25(24):1909-18.
- 46- Portocarrero Huang G, Menezes R, Vincent R, Hammond W, Rizio L, Collins G, et al. Gelatin scaffolds containing partially sulfated cellulose promote mesenchymal stem cell chondrogenesis. *Tissue Eng Part A*. 2017;23(17-18):1011-21.
- 47- Seol YJ, Park JY, Jeong W, Kim TH, Kim SY, Cho DW. Development of hybrid scaffolds using ceramic and hydrogel for articular cartilage tissue regeneration. *J Biomed Mater Res A*. 2015;103(4):1404-13.
- 48- Diduch DR, Jordan LC, Mierisch CM, Balian G. Marrow stromal cells embedded in alginate for repair of osteochondral defects. *Arthroscopy*. 2000;16(6):571-7.
- 49- Chenite A, Chaput C, Wang D, Combes C, Buschmann MD, Hoemann CD, et al. Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ. *Biomaterials*. 2000;21(21):2155-61.
- 50- Suh JK, Matthew HW. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review. *Biomaterials*. 2000;21(24):2589-98.
- 51- Hao T, Wen N, Cao JK, Wang HB, Lü SH, Liu T, et al. The support of matrix accumulation and the promotion of sheep articular cartilage defects repair in vivo by chitosan hydrogels. *Osteoarthr Cartil*. 2010;18(2):257-65.
- 52- Oliveira JM, Rodrigues MT, Silva SS, Malafaya PB, Gomes ME, Viegas CA, et al. Novel hydroxyapatite/chitosan bilayered scaffold for osteochondral tissue-engineering applications: Scaffold design and its performance when seeded with goat bone marrow stromal cells. *Biomaterials*. 2006;27(36):6123-37.
- 53- Toh WS, Lee EH, Guo XM, Chan JK, Yeow CH, Choo AB, et al. Cartilage repair using hyaluronan hydrogel-encapsulated human embryonic stem cell-derived chondrogenic cells. *Biomaterials*. 2010;31(27):6968-80.
- 54- Fan H, Hu Y, Zhang C, Li X, Lv R, Qin L, et al. Cartilage regeneration using mesenchymal stem cells and a PLGA-gelatin/chondroitin/hyaluronate hybrid scaffold. *Biomaterials*. 2006;27(26):4573-80.
- 55- Ren X, Wang F, Chen C, Gong X, Yin L, Yang L. Engineering zonal cartilage through bioprinting collagen type II hydrogel constructs with biomimetic chondrocyte density gradient. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016;17:301.
- 56- Nettles DL, Vail TP, Morgan MT, Grinstaff MW, Setton LA. Photocrosslinkable hyaluronan as a scaffold for articular cartilage repair. *Ann Biomed Eng*. 2004;32(3):391-7.
- 57- Kang SW, Yang HS, Seo SW, Han DK, Kim BS. Apatite-coated poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres as an injectable scaffold for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*. 2008;85(3):747-56.
- 58- Marcacci M, Berruto M, Brocchetta D, Delcogliano A, Ghinelli D, Gobbi A, et al. Articular cartilage engineering with Hyalograft C: 3-year clinical results. *Clin Orthop Relat Res*. 2005;(435): 96-105.
- 59- Jiang Y, Chen J, Deng C, Suuronen EJ, Zhong Z. Click hydrogels, microgels and nanogels: Emerging platforms

- based on chondroitin sulfate-hydroxyapatite for bone tissue engineering. *Int J Polym Mater Polym Biomater*. 2015;64(17):919-26.
- 90- Koushki N, Tavassoli H, Katbab AA, Katbab P, Bonakdar S. A new injectable biphasic hydrogel based on partially hydrolyzed polyacrylamide and nano hydroxyapatite, crosslinked with chromium acetate, as scaffold for cartilage regeneration. *AIP Conf Proc*. 2015;1664:070002-1-5.
- 91- Anderson JA, Little D, Toth AP, Moorman CT, Tucker BS, Ciccotti MG, et al. Stem cell therapies for knee cartilage repair: The current status of preclinical and clinical studies. *Am J Sports Med*. 2014;42(9):2253-61.
- 92- Vinatier C, Guicheux J. Cartilage tissue engineering: From biomaterials and stem cells to osteoarthritis treatments. *Ann Phys Rehabil Med*. 2016;59(3):139-44.
- 93- Mirahmadi F, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MA, Bonakdar S. Enhanced mechanical properties of thermosensitive chitosan hydrogel by silk fibers for cartilage tissue engineering. *Mater Sci Eng C*. 2013;33(8):4786-94.
- 94- Richardson SM, Kalamegam G, Pushparaj PN, Matta C, Memic A, Khademhosseini A, et al. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: Focus on articular cartilage and intervertebral disc regeneration. *Methods*. 2016;99:69-80.
- 95- Jin R, Moreira Teixeira LS, Dijkstra PJ, Karperien M, van Blitterswijk CA, Zhong ZY, et al. Injectable chitosan-based hydrogels for cartilage tissue engineering. *Biomaterials*. 2009;30(13):2544-51.
- 96- Giannoni P, Pagano A, Maggi E, Arbicò R, Randazzo N, Grandizio M, et al. Autologous chondrocyte implantation (ACI) for aged patients: Development of the proper cell expansion conditions for possible therapeutic applications. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005;13(7):589-600.
- 97- Ko CY, Ku KL, Yang SR, Lin TY, Peng S, Peng YS, et al. In vitro and in vivo co-culture of chondrocytes and bone marrow stem cells in photocrosslinked PCL-PEG-PCL hydrogels enhances cartilage formation. *J Tissue Eng Regen Med*. 2016;10(10):E485-96.
- 98- Sheehy EJ, Vinardell T, Buckley CT, Kelly DJ. Engineering osteochondral constructs through spatial regulation of endochondral ossification. *Acta Biomater*. 2013;9(3):5484-92.
- 99- Yang J, Zhang YS, Yue K, Khademhosseini A. Cell-laden hydrogels for osteochondral and cartilage tissue engineering. *Acta Biomater*. 2017;57:1-25.
- 100- Lu CH, Yeh TS, Yeh CL, Fang YH, Sung LY, Lin SY, et al. Regenerating cartilages by engineered ASCs: Prolonged TGF- β 3/BMP-6 expression improved articular cartilage formation and restored zonal structure. *Mol Ther*. 2014;22(1):186-95.
- 101- Madry H, Kaul G, Cucchiari M, Stein U, Zurakowski D, Remberger K, et al. Enhanced repair of articular cartilage defects in vivo by transplanted chondrocytes overexpressing insulin-like growth factor I (IGF-I). *Gene Ther*. 2005;12(15):1171-9.
- 102- Lu S, Lam J, Trachtenberg JE, Lee EJ, Seyednejad H, van den Beucken JJJ, et al. Dual growth factor delivery from bilayered, biodegradable hydrogel composites for spatially-guided osteochondral tissue repair. *Biomaterials*. 2014;35(31):8829-39.
- 103- Urist MR. Bone: Formation by autoinduction. *Science*. 1965;150(3698):893-9.
- 104- Xiao YT, Xiang LX, Shao JZ. Bone morphogenetic protein. *Biochem Biophys Res Commun*. chondrogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells in scaffolds displaying a structural gradient in pore size. *Acta Biomater*. 2016;36:210-9.
- 76- Yasui Y, Chijimatsu R, Hart DA, Koizumi K, Sugita N, Shimomura K, et al. Preparation of scaffold-free tissue-engineered constructs derived from human synovial mesenchymal stem cells under low oxygen tension enhances their chondrogenic differentiation capacity. *Tissue Eng Part A*. 2016;22(5-6):490-500.
- 77- Cochis A, Grad S, Stoddart MJ, Farè S, Altomare L, Azzimonti B, et al. Bioreactor mechanically guided 3D mesenchymal stem cell chondrogenesis using a biocompatible novel thermo-reversible methylcellulose-based hydrogel. *Sci Rep*. 2017;7:45018.
- 78- Karkhaneh A, Naghizadeh Z, Shokrgozar MA, Bonakdar S. Evaluation of the chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells on hybrid biomimetic scaffolds. *J Appl Polym Sci*. 2014;131(16):40635.
- 79- Shafaei H, Esmaeili A, Mardani M, Razavi S, Hashenibeni B, Nasr-Esfahani M, et al. Effects of low intensity ultrasound on the chondrogenic differentiation of adult stem cells from adipose tissue. *Zahedan J Res Med Sci*. 2016;18(5):e6663.
- 80- Halvaei M, Solouk A, Abolfathi N, Haghhighipour N, Eskandari M, Shokrgozar MA. Effect of mechanical stimulations on the fate of stem cells -a review. *Modares J Med Sci Pathobiol*. 2013;16(3):1-23. [Persian]
- 81- Panadero JA, Lanceros-Mendez S, Ribelles JL. Differentiation of mesenchymal stem cells for cartilage tissue engineering: Individual and synergetic effects of three-dimensional environment and mechanical loading. *Acta Biomater*. 2016;33:1-12.
- 82- Mashinchian O, Bonakdar S, Taghinejad H, Satarifard V, Heidari M, Majidi M, et al. Cell-imprinted substrates act as an artificial niche for skin regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2014;6(15):13280-92.
- 83- Xu J, Li J, Lin S, Wu T, Huang H, Zhang K, et al. Nanocarrier-mediated codelivery of small molecular drugs and sirna to enhance chondrogenic differentiation and suppress hypertrophy of human mesenchymal stem cells. *Adv Funct Mater*. 2016;26(15):2463-72.
- 84- Hu Q, Ding B, Yan X, Peng L, Duan J, Yang S, et al. Polyethylene glycol modified PAMAM dendrimer delivery of kartogenin to induce chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Nanomedicine*. 2017;13(7):2189-98.
- 85- McKee C, Hong Y, Yao D, Chaudhry GR. Compression induced chondrogenic differentiation of embryonic stem cells in three-dimensional polydimethylsiloxane scaffolds. *Tissue Eng Part A*. 2017;23(9-10):426-35.
- 86- Tanaka H, Murphy CL, Murphy C, Kimura M, Kawai S, Polak JM. Chondrogenic differentiation of murine embryonic stem cells: Effects of culture conditions and dexamethasone. *J Cell Biochem*. 2004;93(3):454-62.
- 87- Zhang S, Wong JS, Ustunkan F, Chu WC, Tan HH, Lee EH, et al. Stem Cells for treatment of articular cartilage defects and osteoarthritis. In: Rahman A, Anjum S, editors. *Frontiers in stem cell and regenerative medicine research*. Sharjah: Bentham Science Publishers; 2016. pp. 255-88.
- 88- Solouk A, Mirzadeh H, Amanpour S. Injectable scaffold as minimally invasive technique for cartilage tissue engineering: In vitro and in vivo preliminary study. *Prog Biomater*. 2014;3:143-51.
- 89- Derakhshan ZH, Shaghaghgi B, Padash Asl M, Majidi M, Ghazizadeh L, Chegini A, et al. In situ forming hydrogel

engineering and regenerative medicine in Iran: Current state of research and future outlook. *Mol Biotechnol.* 2015;57(7):589-605.

112- Bahrani H, Razmkhah M, Ashraf MJ, Tanideh N, Chenari N, Khademi B, et al. Differentiation of adipose-derived stem cells into ear auricle cartilage in rabbits. *J Laryngol Otol.* 2012;126(8):770-4.

113- Royan Institute. Autologous transplantation of mesenchymal stem cells (MSCs) and scaffold in full-thickness articular cartilage [Internet]. Tehran: Royan Institute; 2010 [Cited 2009 Feb]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT00850187>.

114- Nazem K, Safdarian A, Fesharaki M, Moulavi F, Motifard M, Zarezadeh A, et al. Treatment of full thickness cartilage defects in human knees with autologous chondrocyte transplantation. *J Res Med Sci.* 2011;16(7):855-61.

115- Royan Institute. Bone and joint disorders [Internet]. Tehran: Royan Institute; 2005 [Cited 2009 Feb]. Available from: http://www.royaninstitute.org/cmsen/index.php?option=com_content&task=view&id=536&Itemid=486.

116- Goldstein LSB, Schneider M. Stem cells for dummies. 1st Edition. Khologhly K, Shahbazy E, Sojodi M, Vosoghy M, Baharvand H, translators. Tehran: Khane Zistshenasi; 2010. [Persian]

117- Tuli R, Li WJ, Tuan RS. Current state of cartilage tissue engineering. *Arthritis Res Ther.* 2003;5(5):235-8.

2007;362(3):550-3.

105- Park Y, Sugimoto M, Watrin A, Chiquet M, Hunziker EB. BMP-2 induces the expression of chondrocyte-specific genes in bovine synovium-derived progenitor cells cultured in three-dimensional alginate hydrogel. *Osteoarthr Cartil.* 2005;13(6):527-36.

106- Florine EM, Miller RE, Porter RM, Evans CH, Kurz B, Grodzinsky AJ. Effects of dexamethasone on mesenchymal stromal cell chondrogenesis and aggrecanase activity: Comparison of agarose and self-assembling peptide scaffolds. *Cartilage.* 2013;4(1):63-74.

107- Awad HA, Halvorsen YD, Gimble JM, Guilak F. Effects of transforming growth factor beta1 and dexamethasone on the growth and chondrogenic differentiation of adipose-derived stromal cells. *Tissue Eng.* 2003;9(6):1301-12.

108- Xavier JR, Thakur T, Desai P, Jaiswal MK, Sears N, Cosgriff-Hernandez E, et al. Bioactive nanoengineered hydrogels for bone tissue engineering: A growth-factor-free approach. *ACS Nano.* 2015;9(3):3109-18.

109- Johnson K, Zhu S, Tremblay MS, Payette JN, Wang J, Bouchez LC, et al. A stem cell-based approach to cartilage repair. *Science.* 2012;336(6082):717-21.

110- Mirzadeh H, Mohagheghi SMA, Ahmadi H, Mirkhani H, Amanpour S, Salehian P. Cartilage tissue engineering for ear as in rabbit model with perforated polyurethane prosthesis: In vivo assay. *Iran Polym J.* 2000;9(2):73-9.

111- Mobini S, Khanmohammadi M, Heidari-Vala H, Samadikuchaksaraei A, Moshiri A, Kazemnejad S. *Tissue*