مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و چهارم/شماره‌ی ٤١٢/هفته‌ی چهارم بهمن ماه ١٣٩٥

تاریخ دریافت: ١٣٩٥/٦/١٣
تاریخ پذیرش: ١٣٩٥/٩/٢٣

بررسی تأثیر هم‌کشتی سلول‌های بنیادی مشتق از چربی بر بقا و مهاجرت سلول‌های شبکیه در محیط آزمایشگاهی

لیلا ناصری[١]، نوشین امیرپور[٢]، حمید بهرامیان[٣]، حسین صالحی[٢]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسان (Human adipose-derived stromal/stem cells یا hADSCs) جمعیتی از سلول‌ها هستند که از بافت چربی استخراج می‌شوند. hADSCs توانایی تمایز به انواع سلول‌ها را دارند و می‌توانند عوامل رشد مختلف را ترشح کنند که بر سلول‌های مجاور اثرگذار باشند. مطالعات قبلی، تأثیر این سلول‌ها و محیط آن‌ها را بر روی عصب نشان داده‌اند. از آن جایی که مطالعه‌ای در مورد تأثیر hADSCs بر روی سلول‌های شبکیه انجام نشده بود، هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر این سلول‌ها و محیط ترشحی آن‌ها بر رشد و مهاجرت سلول‌های شبکیه در محیط آزمایشگاهی می‌باشد.

روش‌ها: در این مطالعه، پس از دریافت رضایت‌نامه، سلول‌های بنیادی از بافت چربی بیماران جداسازی، کشت و سپس پاساژ داده شد. شبکیه‌ی رت پس از جداسازی، در ظرف‌های کوت شده قرار گرفت و پس از تهیه‌ی محیط رویی از hADSCs، شبکیه با سلول‌ها و همچنین، محیط رویی آن‌ها هم‌کشتی داده شد و میزان بقا و مهاجرت سلول‌ها بررسی گردید.

یافته‌ها: گروه‌های هم‌کشتی شبکیه با hADSCs و محیط ترشحی آن‌ها دارای تفاوت معنی‌داری ($P < ٠/٠٥٠$) در بقا و مهاجرت سلول‌های شبکیه در روزهای ٧ و ١۴ نسبت به روز یک و گروه شبکیه (شاهد) بودند.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه مشخص شد که hADSCs و محیط رویی آن‌ها می‌توانند باعث افزایش میزان بقا و مهاجرت سلول‌های شبکیه به سمت اطراف شوند و امید است که در آینده بتوان از آن‌ها برای درمان بیماری‌های چشم استفاده کرد.

واژگان کلیدی: سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسان، شبکیه، محیط رویی، هم‌کشتی

ارجاع: ناصری لیلا، امیرپور نوشین، بهرامیان حمید، صالحی حسین. **بررسی تأثیر هم‌کشتی سلول‌های بنیادی مشتق از چربی بر بقا و مهاجرت سلول‌های شبکیه در محیط آزمایشگاهی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ١٣٩٥؛ ٣۴ (۴١٢): ١۵۴٩-١۵۴۴

مقدمه

سیستم بینایی برای انسان، یکی از سیستم‌های اصلی دریافت اطلاعات حسی خارجی می‌باشد. با وجود اهمیت عملکردی این سیستم و همچنین تحقیقات گسترده‌ی بالینی و آزمایشگاهی، متأسفانه برای بسیاری از بیماری‌های چشم درمان قطعی ارایه نشده است. سلول‌های عصبی در ضایعات شبکیه مانند سیستم عصبی مرکزی توانایی رژنراسیون محدودی دارند. این نقص در ترمیم و خودنوسازی، به طور معمول به عوامل بازدارنده‌ی مرتبط با ساختار میلین و اسکار گلیال نسبت داده می‌شود (١). پس از ضایعه‌ی عصبی، بیان ژن‌هایی مانند نوروتروفین‌ها و نوروترانسمیترها و گیرنده‌های مربوط به آن‌ها کاهش می‌یابد. راهبردهای مختلفی برای ترمیم شبکیه وجود دارد که می‌توان به ژن‌درمانی، لیزردرمانی و استفاده از سلول‌های بنیادی اشاره‌کرد (٢).

سلول‌های بنیادی، سلول‌های تمایز نیافته‌ای می‌باشند که توانایی تکثیر و خودنوسازی بالایی دارند و همچنین قادر به تمایز به سایر سلول‌ها می‌باشند. یکی از انواع سلول‌های بنیادی، سلول‌های بنیادی بالغ می‌باشند که می‌توان آن‌ها را از بافت چربی، مغز استخوان، بافت عصبی، درم و ... جداسازی کرد (٣). در این میان، سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسان به دلیل دسترسی آسان‌تر، فراوان بودن بافت چربی و تحمیل درد کمتر برای بیمار، از ارجحیت بیشتری برخوردار هستند (۴).

١- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
٢- استادیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
٣- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: حسین صالحی
Email: ho_salehi@med.mui.ac.ir

یکی از ویژگی های مهم سلول‌های بنیادی مشتق از چربی انسان (hADSCs یا Human adipose-derived stromal/stem cells)، ترشح انواع مختلفی از عوامل رشد می‌باشد. یک گروه از این عوامل رشد، گروه عوامل رشد نوروتروفیک (NTF یا Neurotrophic factor) می‌باشند. این عوامل، بر بقای نورون‌ها تأثیر دارند و همچنین، از رفتن سلول به سمت مرگ سلولی جلوگیری می‌کنند. نقش اساسی دیگر این عوامل در القای رشد، ترمیم و هدایت آکسون می‌باشد (۵). با توجه به هزینه‌ی بالای این عوامل رشد برای استفاده در محیط آزمایشگاهی و از طرفی، ترشح این عوامل مختلف توسط سلول‌های hADSC و آثار مهم آن‌ها بر روی سلول‌های عصبی، هدف از انجام این مطالعه، طراحی یک سیستم آزمایشگاهی برای بررسی هم‌کشتی hADSCs بر شبکیه‌ی رت و بررسی میزان زنده ماندن سلول‌های شبکیه و مهاجرت آن‌ها در محیط آزمایشگاهی بود.

روش‌ها

جداسازی سلول‌های hADSC: پس از اخذ رضایت‌نامه، از افراد جوان کاندیدای عمل جراحی، مقداری بافت چربی زیر جلدی دریافت و به آزمایشگاه انتقال داده شد. پس از شستشوی بافت چربی با Phosphate buffered saline (PBS)، جهت حذف دبریدهای سلولی و سلول‌های خونی، با استفاده از تیغ تیز، بافت به صورت مکانیکی خرد گردید. در مرحله‌ی بعد، به مدت ۳۰ دقیقه آنزیم کلاژناز I با غلظت ۰/۰۷۵ درصد اضافه و سپس کلاژناز با استفاده از محیط Fetl bovine serum (FBS) ۱۰ درصد + Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) خنثی شد. با انجام سانتریفیوژ و تخلیه‌ی محیط رویی، رسوب سلولی حاصل با استفاده از محیط کشت در فلاسک‌های T25 و در شرایط ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، CO_2 ۵ درصد کشت داده شد. پس از ۴۸ ساعت، محیط کشت تعویض گردید و بعد از آن که ۸۰ درصد از کف ظرف کشت با سلول‌ها پر شد، سلول‌ها پاساژ داده شدند. از سلول‌های پاساژ ۶-۳ برای هم‌کشتی استفاده گردید (۶).

تهیه‌ی محیط رویی (CM یا Conditioned medium): جهت تهیه‌ی محیط رویی، سلول‌های hADSC از پاساژهای ۶-۳ با تراکم 10^5 در میلی‌لیتر به شکل تک لایه با محیط DMEM حاوی Penicillin/Streptomycin برای ۷۲ ساعت کشت داده شدند. سپس، محیط رویی آن‌ها جمع‌آوری و پس از سانتریفیوژ، با دور ۱۶۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، محیط رویی آن‌ها جدا گردید. سپس، با فیلتر (Amicon Ultra-15) با دور ۳۶۰۰۰ به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ و محیط رویی ۳۰ برابر تغلیظ گردید و در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد (۷).

تهیه‌ی شبکیه‌ی چشم رت: به منظور جداسازی شبکیه‌ی چشم رت، از تعدادی موش رت نژاد Wistar با سن دو ماه استفاده شد. رت‌ها با استنشاق دز بالای کلروفرم کشته شدند و چشم‌های آن‌ها خارج گردید. سپس، چشم‌ها با الکل ۷۰ درصد و PBS شستشو داده شد و پس از جدا کردن سگمان قدامی چشم و جداسازی زجاجیه، سگمان خلفی روی کف ظرف به طوری که لایه‌ی گانگلیونی شبکیه (RGC یا Retinal ganglion cell) رو به بالا باشد، قرار داده شد. چهار برش طولی در سگمان خلفی ایجاد و در زیر استریو میکروسکوپ با قلم مو، شبکیه جدا شد. شبکیه (لایه‌ی گانگلیونی رو به بالا) روی سطح کوت شده با PDL/laminin در ظرف‌های ۲۴ خانه قرار گرفت و ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت شبکیه (DMEM/F12, B270, N2, Non-essential amino acid, Penicillin/Streptomycin, L-Glutamine) به آن اضافه گردید (۸).

هم‌کشتی مستقیم: قطعات مساوی شبکیه‌ی چشم در ظرف‌های ۲۴ خانه‌ی کوت (Coat) شده با PDL/laminin (Poly-D-Lysine/Laminin) برای ۲۴ ساعت کشت شد. سپس، ۲ میکرولیتر از سوسپانسیون سلول‌های hADSC با غلظت ۱۰۰۰ سلول در میکرولیتر به طور مستقیم روی سطح RGC شبکیه انتقال یافت.

هم‌کشتی غیر مستقیم: قطعات مساوی شبکیه‌ی چشم در ظرف‌های ۲۴ خانه‌ی کوت شده با PDL/laminin برای ۲۴ ساعت کشت شد. سپس، ۱۰ درصد محیط رویی تغلیظ شده به طور مستقیم روی RGC انتقال داده شد.

بررسی میزان بقای سلول‌ها: با استفاده از روش MTT assay [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] بررسی میزان بقای سلول‌ها، انجام گردید. برای انجام این روش، ابتدا محیط رویی سلول‌ها خارج گردید. سپس، ۴۰۰ میکرولیتر DMEM و ۴۰ میکرولیتر MTT اضافه و به مدت ۴ ساعت انکوبه شد. آن‌گاه، MTT خارج و ۴۰۰ میکرولیتر Dimethyl sulfoxide (DMSO) به مدت ۲۰ دقیقه اضافه گردید. میزان جذب در طول موج ۵۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

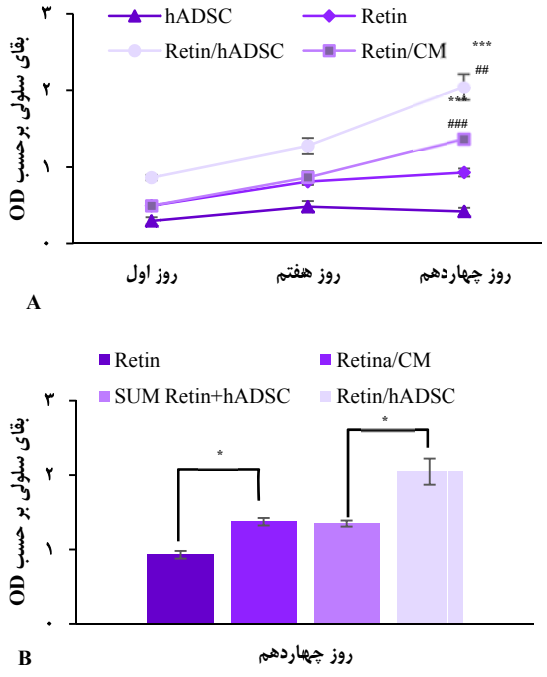
بررسی مهاجرت سلولی: برای بررسی مهاجرت سلول‌ها، ابتدا سلول‌ها با پارافرمالدئید تثبیت شدند. سپس، با 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) رنگ شدند. بعد از آن، از حاشیه‌های شبکیه عکس گرفته شد و عکس‌ها با استفاده از نرم‌افزار ImageJ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

آنالیز آماری: آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام گرفت. داده‌های حاصل از بقا و مهاجرت سلولی با روش آماری One-way ANOVA مورد ارزیابی قرارگرفت. همه‌ی آزمایش‌ها سه

بار تکرار شدند. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از MTT برای بررسی میزان بقای سلول‌های شبکیه در هر گروه در شکل ۱- A آمده است. در این شکل، میزان بقای سلول‌های شبکیه در هر گروه در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ بررسی گردید. در گروه هم‌کشتی مستقیم شبکیه با hADSC (hADSC + Retin)، تفاوت معنی‌داری در بقای سلول‌های شبکیه در روز ۱۴ نسبت به روزهای ۷ ($P < ۰/۰۱۰$) و ۱ ($P < ۰/۰۰۱$) وجود داشت. در گروه هم‌کشتی (غیر مستقیم) شبکیه با محیط رویی ترشح شده توسط سلول‌های بنیادی (CM + Retin) تفاوت معنی‌داری ($P < ۰/۰۰۱$) در بقای سلول‌های شبکیه در روز ۱۴ نسبت به روزهای ۷ و ۱ مشاهده شد. در گروه‌هایی که از hADSCs و سلول‌های شبکیه (Retin) به تنهایی استفاده شده بود، تفاوت معنی‌داری در میزان بقای سلول‌ها مشاهده نشد. سلول‌های شبکیه در تمام گروه‌های مورد بررسی نسبت به گروه سلول‌های شبکیه به تنهایی، از بقای بیشتری برخوردار بودند.



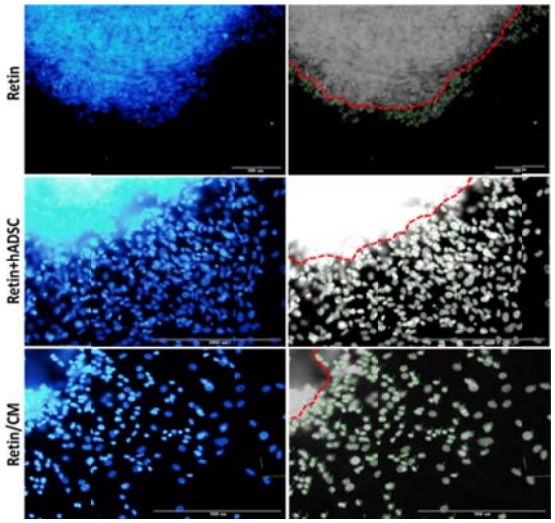
شکل ۱. بررسی بقای سلول‌ها: مقایسه‌ی نتایج 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) در هرگروه در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ (A). مقایسه‌ی نتایج MTT در بین گروه‌های مختلف در روز ۱۴ (B)

A: °: روز ۱۴ در مقایسه با روز ۱، #: روز ۱۴ در مقایسه با روز ۷، ***: $P < ۰/۰۰۱$، ###: $P < ۰/۰۰۱$، ##: $P < ۰/۰۱۰$؛ B: °: $P < ۰/۰۵۰$، ***: $P < ۰/۰۰۱$

OD: Optical density

شکل ۱- B، نتایج حاصل از MTT را در روز ۱۴ در بین گروه‌های مختلف نمایش می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۱- B دیده می‌شود، در گروه هم‌کشتی غیر مستقیم، میزان بقای سلول‌ها در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری دیده شد ($P < ۰/۰۵۰$). همچنین، میزان بقای سلول‌های شبکیه در گروه هم‌کشتی مستقیم در مقایسه با جمع داده‌های حاصل از گروه‌های Retin و hADSC بیشتر بود و این تفاوت معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۱$).

بررسی مهاجرت سلولی با استفاده از نرم‌افزار ImageJ انجام شد.(شکل ۲) بررسی تصاویر با ImageJ نشان داد که میزان مهاجرت سلول‌ها از حاشیه‌ی شبکیه، در گروه‌های هم‌کشتی در مقایسه با گروه شاهد از تفاوت معناداری برخوردار بودند ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۳).

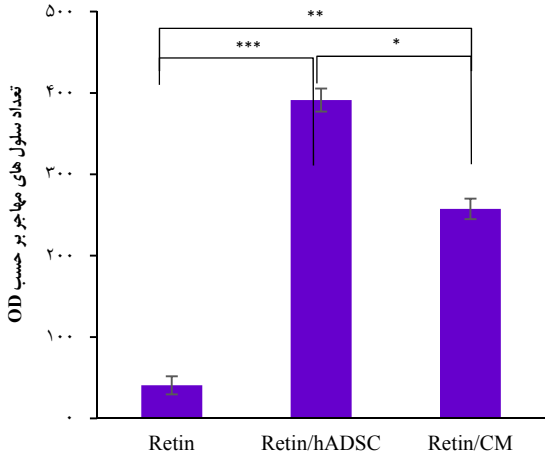


شکل ۲. بررسی مهاجرت سلولی: تصاویر مورد بررسی با ImageJ. خط نقطه‌چین قرمز، نشان دهنده‌ی مرز شبکیه می‌باشد.

بحث

بافت چربی شامل جمعیتی از سلول‌های مختلف شامل hADSCs، سلول‌های اندوتلیال، پری‌آدیپوسیت‌ها، پری‌سیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و ... می‌باشد که در اصطلاح به آن‌ها SVF (Stromal vascular fraction) گفته می‌شود. hADSCs می‌توانند به انواع مختلف سلول‌ها تبدیل شوند. مطالعات قبلی، نتایجی مبنی بر اثرات Neuroprotective این سلول‌ها و ترشحات آن‌ها را بیان کرده‌اند.

مطالعه‌ی حاضر بر روی سلول‌های شبکیه انجام و طی آن مشاهده شد که هم‌کشتی سلول‌های شبکیه با hADSCs و محیط رویی آن‌ها در محیط آزمایشگاهی باعث افزایش معنی‌داری در بقای سلول‌های شبکیه در مقایسه با گروه شاهد شده است. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، شاید مطالعه‌ی حاضر، اولین مطالعه‌ای باشد که تأثیر این سلول‌ها را بر شبکیه در محیط آزمایشگاهی بررسی نموده است.



شکل ۳. بررسی تعداد سلول‌های مهاجرت کرده در هر گروه و مقایسه‌ی آن‌ها (سمت چپ). ***: P < ۰/۰۰۱، **: P < ۰/۰۱۰
OD: Optical density

Mead و همکاران در مطالعه‌ی خود نشان دادند که hADSCs می‌توانند بسیاری از عوامل رشد مؤثر بر روی عصب را ترشح کنند (۹). Bikbova و همکاران، در تحقیقات خود بیان عوامل رشد مؤثر بر RGCs را توسط hADSCs گزارش کردند. این عوامل شامل Neurotrophin-4 (NT-3)، Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)، Glial cell-derived neurotrophic (GDNF)، Neurotrophin-4 (NT-4) و ... می‌باشند (۵).

Sippl و همکاران، تأثیر NT-3 را بر روی RGC بررسی و تأیید کردند که در محیط واجد NT-3، میزان بقای RGCs افزایش می‌یابد. آن‌ها بیان کردند که NT-3 باعث مهار مسیر آپوپتوز در RGCs می‌شود (۱۰).

Bikbova و همکاران، گزارش کردند که افزایش میزان بیان BDNF، تعداد RGCs زنده را افزایش می‌دهد و عملکرد آن‌ها را در موش‌های مبتلا به دیابت بهبود می‌بخشد. این عامل، از طریق گیرنده‌ی تیروزین کینازی خود (TrkB یا Tropomyosin receptor kinase B) باعث افزایش سطح Cyclic adenosine 3′,5′-monophosphate (cAMP) می‌شود که یکی از راه‌کارهای ترمیم آکسون، افزایش سطح درون سلولی cAMP است (۵).

نقش چشمگیر بقای نورونی در اثر GDNF توسط Koeberle و Ball گزارش شد. آن‌ها نشان دادند که اثرات محافظت عصبی GDNF، به آبشار مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی Mitogen-activated protein kinases (MAPK)، phosphoinositide 3-kinase (PI3K) و Src بستگی دارد (۱۱).

Oshitari و همکاران، بیان کردند که NT-4 دارای اثرات Neuroprotective است و این اثرات را با کاهش سطح کاسپاز ۳ و ۹ که از عوامل آپوپتوز هستند، اعمال می‌نماید (۱۲).

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که بقا و تکثیر سلول‌های شبکیه در گروه‌های هم‌کشتی و محیط رویی افزایش داشتند. احتمال می‌رود سلول‌های hADSC با ترشح عوامل پیش‌گفته به روش پاراکرین یا در محیط رویی، منجر به افزایش بقا و تکثیر سلول‌های شبکیه در گروه‌های هم‌کشتی شده باشند. عدم تکثیر در گروه hADSC نیز می‌تواند به علت قرارگیری این سلول‌های بنیادی در محیط کشت شبکیه (محیط نوروبیزال بدون سرم) باشد. همچنین، احتمال دارد این محیط، باعث تمایز این سلول‌ها شده باشد و شرط تمایز، توقف تکثیر سلول‌های بنیادی است (۱۳).

همچنین، در این مطالعه نتایج نشان داد هم‌کشتی سلول‌های شبکیه با hADSCs و محیط رویی آن‌ها در محیط آزمایشگاهی، باعث افزایش معنی‌دار مهاجرت سلول‌های شبکیه از بافت شبکیه در گروه‌های هم‌کشتی و محیط رویی شده است. Wang و همکاران، اثبات کردند Neuritin به عنوان عامل نوروتروفیک، باعث مهاجرت سلول‌های عصبی می‌شود (۱۴) و توسط hADSCs بیان می‌گردد (۱۵). Douglas-Escobar و همکاران، در مطالعه‌ی خود بررسی‌کردند که عوامل رشد GDNF، BDNF و NT-3 باعث افزایش میزان مهاجرت سلولی می‌گردند (۱۶). با توجه به نتایج این مطالعه، تأثیر معنی‌دار هم‌کشتی مستقیم و غیر مستقیم سلول‌های hADSC بر مهاجرت سلول‌های شبکیه به بیرون از بافت شبکیه، شاید به دلیل تأثیر عوامل Neuroprotective باشد. از طرفی، میزان مهاجرت سلولی در گروه هم‌کشتی مستقیم نسبت به گروه غیر مستقیم بیشتر است که می‌تواند در نتیجه‌ی مهاجرت hADSCs باشد.

با توجه به این که سلول‌های بنیادی مشتق از چربی تأثیر مثبتی بر میزان بقا و مهاجرت سلول‌های شبکیه داشتند، امید است که یافته‌های این مطالعه، بتواند به پیشرفت روش‌های پایه‌ی درمان بیماری‌های چشم در آینده کمک کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح پژوهشی به شماره‌ی ۳۹۵۰۶۰، مصوب شورای پژوهشی طرح‌های علوم پایه‌ی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. نویسندگان، از این معاونت جهت حمایت مالی پژوهش حاضر، سپاسگزاری می‌نمایند.

References

1. Liedtke T, Schwamborn JC, Schroer U, Thanos S. Elongation of axons during regeneration involves retinal crystallin beta b2 (crybb2). Mol Cell Proteomics 2007; 6(5): 895-907.
2. Zhao X, Liu J, Ahmad I. Differentiation of embryonic stem cells into retinal neurons. Biochem Biophys Res Commun 2002; 297(2): 177-84.
3. Shih DT, Lee DC, Chen SC, Tsai RY, Huang CT, Tsai CC, et al. Isolation and characterization of neurogenic mesenchymal stem cells in human scalp tissue. Stem Cells 2005; 23(7): 1012-20.
4. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell 2002; 13(12): 4279-95.
5. Bikbova G, Oshitari T, Baba T, Yamamoto S. Neurotrophic factors for retinal ganglion cell neuropathy - with a special reference to diabetic neuropathy in the retina. Curr Diabetes Rev 2014; 10(3): 166-76.
6. Ahmadi N, Razavi S, Kazemi M, Oryan S. Stability of neural differentiation in human adipose derived stem cells by two induction protocols. Tissue Cell 2012; 44(2): 87-94.
7. Hao P, Liang Z, Piao H, Ji X, Wang Y, Liu Y, et al. Conditioned medium of human adipose-derived mesenchymal stem cells mediates protection in neurons following glutamate excitotoxicity by regulating energy metabolism and GAP-43 expression. Metab Brain Dis 2014; 29(1): 193-205.
8. Johnson TV, Martin KR. Development and characterization of an adult retinal explant organotypic tissue culture system as an in vitro intraocular stem cell transplantation model. Invest Ophthalmol Vis Sci 2008; 49(8): 3503-12.
9. Mead B, Berry M, Logan A, Scott RA, Leadbeater W, Scheven BA. Stem cell treatment of degenerative eye disease. Stem Cell Res 2015; 14(3): 243-57.
10. Sippl C, Bosserhoff AK, Fischer D, Tamm ER. Depletion of optineurin in RGC-5 cells derived from retinal neurons causes apoptosis and reduces the secretion of neurotrophins. Exp Eye Res 2011; 93(5): 669-80.
11. Koeberle PD, Ball AK. Effects of GDNF on retinal ganglion cell survival following axotomy. Vision Res 1998; 38(10): 1505-15.
12. Oshitari T, Yoshida-Hata N, Yamamoto S. Effect of neurotrophic factors on neuronal apoptosis and neurite regeneration in cultured rat retinas exposed to high glucose. Brain Res 2010; 1346: 43-51.
13. Salehi H, Amirpour N, Niapour A, Razavi S. An overview of neural differentiation potential of human adipose derived stem cells. Stem Cell Rev 2016; 12(1): 26-41.
14. Wang X, Liu C, Xu F, Cui L, Tan S, Chen R, et al. Effects of neuritin on the migration, senescence and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells. Cell Mol Biol Lett 2015; 20(3): 466-74.
15. Chan TM, Harn HJ, Lin HP, Chiu SC, Lin PC, Wang HI, et al. The use of ADSCs as a treatment for chronic stroke. Cell Transplant 2014; 23(4-5): 541-7.
16. Douglas-Escobar M, Rossignol C, Steindler D, Zheng T, Weiss MD. Neurotrophin-induced migration and neuronal differentiation of multipotent astrocytic stem cells in vitro. PLoS One 2012; 7(12): e51706.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 34, No. 412, 4th Week, February 2017

Received: 30.09.2016

Accepted: 13.12.2016

Investigating the Effect of Co-culturing Human Adipose-Derived Stem Cells on Retinal Cells Survival and Migration in Vitro Environment

Leila Naseri[1], Noushin Amirpour[2], Hamid Bahramian[3], Hossein Salehi[2]

Original Article

Abstract

Background: Human adipose-derived stem cells (hADSCs) are population of cells isolated from adipose tissue. hADSCs have ability to differentiate along multiple cell lineages and secret verity of growth factors, which affect the neighboring cells. Previous studies had assessed the effects of hADSCs and their conditioned medium on neural cells. To our knowledge, there were no studies done on the effects of hADSCs on retinal cells in vitro. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of hADSCs and their conditioned medium on retinal cell survival and migration in vitro.

Methods: The adipose tissue samples were obtained from a healthy donor after signing the consent. The stem cells were isolated and expanded through several subcultures. Rat retinal explants were isolated and cultured on coated wells. Retinal explants were co-cultured with hADSCs (direct) and their conditioned medium (indirect) for 1, 7 and 14 days.

Findings: There were significant differences ($P < 0.05$) in cell survival and migration between co-culture groups (Retina/hADSCs and Retina/Conditioned medium) and control group (Retina) at the day 14.

Conclusion: These data suggest that hADSCs and their conditioned medium improve retinal cell survival and migration in vitro culture environment. We hope that our study paves the way to use these cells for treatment of retinal degenerative diseases.

Keywords: Human adipose-derived stem cells (hADSCs), Retina, Conditioned medium, Co-culture

Citation: Naseri L, Amirpour N, Bahramian H, Salehi H. **Investigating the Effect of Co-culturing Human Adipose-Derived Stem Cells on Retinal Cells Survival and Migration in Vitro Environment.** J Isfahan Med Sch 2017; 34(412): 1544-9.

1- MSc Student, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hossein Salehi Email: ho_salehi@med.mui.ac.ir