



Effect of Diacerin Drug Toxicity as a Candidate for the Treatment of Arthritis in Human Mesenchymal Stem Cells

Ali Honarpardaz¹ , Morteza Daliri Joupari^{1*} , Sajjad Tavakkoli²

1- Animal Biotechnology Department, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran.

2- Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Background and aim: Arthritis is one of the most common skeletal diseases and one of the acute social health factors. Diacerein is a drug used in the treatment of arthritis, and it reduces inflammation and pain in patients, by suppressing interleukins. The purpose of this study was to investigate the effect of diacerein toxicity on human mesenchymal stem cells (MSCs).

Methods: MSCs were extracted from human adipose tissue and confirmed by flow cytometry and differentiation induction. Then the effect of diacerein toxicity with different concentrations (10^{-4} , 10^{-5} , and 10^{-6} M) in DMSO solvent was investigated by MTT technique.

Results: MSCs were observed as large, spindle, and swollen in terms of morphology. These cells expressed stem cell markers (CD44, CD73, CD90, and CD105) and their differentiation into mesodermal lineages such as bone and adipose was confirmed. Diacerin with a concentration of 10^{-5} M was the highest non-toxic concentration for cells and was not significantly different from the control ($p=0.865$).

Conclusion: The results of the research showed that diacerein at a concentration of 10^{-5} M has no toxicity for mesenchymal stem cells.

Please cite as: Honarpardaz A, Daliri Joupari M, Tavakkoli S. "Effect of Diacerin Drug Toxicity as a Candidate for the Treatment of Arthritis in Human Mesenchymal Stem Cells". SOREN Journal 2023;4(1):10-15 [In Persian].

Article history:

Received

2023/01/21

Accepted

2023/03/17

Keywords:

- Adipose Tissue
- Mesenchymal Stem Cells
- Arthritis
- Diacerein

Corresponding Author

Name: Morteza Daliri Joupari

Email Address: daliri@nigeb.ac.ir

ORCID ID: 0000-0001-9465-7983

بررسی تاثیر سمیت داروی دیاسرین به عنوان کاندیدای درمان آرتروز در سلولهای بنیادی مزانشیمی انسانی

علی هنرپر داز^۱ , مرتضی دلیری جوپاری^{۱*} , سجاد توکلی^۲

۱- گروه زیست فناوری دامی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران.

۲- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

چکیده

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۱

پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۶

واژگان کلیدی

بافت چربی،

سلولهای بنیادی مزانشیمی،

آرتروز،

دیاسرین.

سابقه و هدف: آرتروز یکی از شایعترین بیماریهای اسکلتی و یکی از عوامل حاد سلامت اجتماعی است. دیاسرین دارویی است که در درمان آرتروز مورد استفاده می‌گردد و از طریق مهار اینترلوکینها باعث کاهش التهاب و در نتیجه کاهش درد در بیماران می‌گردد. هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر سمیت داروی دیاسرین در سلولهای بنیادی مزانشیمی انسانی بود.

روش کار: سلولهای بنیادی مزانشیمی از بافت چربی انسانی استخراج شدند و بنیادی بودن آنها توسط روش فلوسایتومتري و محیط تمایزی تایید گردید. سپس تاثیر سمیت دیاسرین با غلظتهای مختلف (10^{-4} ، 10^{-5} و 10^{-6} مولار) در حلال DMSO بر روی این سلولها با تکنیک MTT بررسی شد.

یافته‌ها: سلولهای بنیادی مزانشیمی از لحاظ مورفولوژی بصورت پهن، دوکی و چندوجهی مشاهده شدند. این سلولها مارکرهای سلولی بنیادی ($CD44$ ، $CD73$ ، $CD90$ و $CD105$) را بیان کردند و تمایز آنها به رده‌های مزودرمی از قبیل استخوان و چربی تایید شد. دیاسرین با غلظت 10^{-5} مولار بالاترین غلظت غیرسمی برای سلولها بود و تفاوت معنی‌داری با کنترل نداشت ($p=0/865$).

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق نشان داد که دیاسرین در غلظت 10^{-5} مولار سمیتی برای سلولهای بنیادی مزانشیمی ندارد.

مقدمه

آرتروز یکی از شایعترین بیماریهای اسکلتی می‌باشد و براساس گزارشات سازمان سلامت جهانی عنوان شده است که بیش از ۱۰ درصد از جمعیت بالای ۶۰ سال و پیرتر نشانه‌های بیماری آرتروز را دارا می‌باشند (۱). آرتروز بیماری است که در اثر تخریب غضروف در مفاصل ایجاد می‌گردد و در پی از بین رفتن این غضروف، استخوانها به هم ساییده شده و باعث ایجاد درد و التهاب می‌شود (۲). با افزایش سن بروز بیماری آرتروز افزایش می‌یابد و در پی اثرات آن امید به زندگی در افراد کاهش می‌یابد که این امر این بیماری را به یکی از عوامل حاد سلامت اجتماعی تبدیل می‌کند (۳).

درمانهایی که برای درمان آرتروز و جایگزینی مفاصل زانو انجام می‌شود باعث شد تا حجم زیادی از بیمارانی که از این بیماری رنج می‌برند برای جراحی به بیمارستان مراجعه کنند که البته با هزینه‌های بسیار بالایی همراه است. درمانهای آرتروز شامل روشهایی همچون درمانهای دارویی، درمانهای غیردارویی و جراحی می‌باشد. از میان درمانها درمان دارویی

خود شامل انواع مختلفی است که از جمله آنها میتوان به داروهای موضعی، داروهای خوراکی و داروهای تکمیلی اشاره نمود.

دیاسرین داروی خوراکی است که از طریق مهار اینترلوکینها باعث کاهش التهاب و در نتیجه کاهش درد در بیماران می‌گردد. در میان داروهای مورد استفاده در بیماری آرتروز دیاسرین را میتوان به عنوان دارویی نام برد که در کنار اثرات درمانی و ضدالتهابی خود عوارض جانبی نیز دارد و به همین دلیل کاربرد آن در برخی کشورها محدود شده است. داروی دیاسرین از مسیرهای گوناگون بر کاهش تولید و عملکرد اینترلوکین-۱ بتا اثر می‌گذارد. اینترلوکین-۱ بتا در صورت اتصال به گیرنده‌ها باعث فعال شدن مسیرهای پایین‌دستی در سطح سیتوپلاسم سلول شده که برخی از Mitogen-Activator Protein (MAP) کینازها در آن دخیل هستند (۴). دیاسرین می‌تواند با اتصال به گیرنده‌های سطح سلولی که محل اتصال اینترلوکین-۱ بتا هستند از تشکیل کمپلکس هتروداایمر این گیرنده‌ها جلوگیری کند و این مسیر را مختل نماید. از

در این مرحله آنزیم کلاژناز A نوع I با غلظت ۰/۲٪ اضافه شد. پس از خنثی سازی کلاژناز، محیط کشت DMEM/F12 کامل شده با گلوکز بالا حاوی ۱۰٪ FBS اضافه و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و حاوی ۵٪ دی اکسید کربن و ۹۵٪ رطوبت انکوبه گشت. در تمامی مراحل کشت سلولی به طور روزانه وضعیت سلولها با استفاده از میکروسکوپ معکوس مشاهده و بررسی گردید.

تعیین هویت سلولهای بنیادی مزانشیمی با فلوسایتومتری: به منظور بررسی نشانگرهای سلولهای بنیادی مزانشیمی در سطح سلولهای جداسازی شده از بافت چربی، آنالیز فلوسایتومتری با به کارگیری FITC اتصال یافته به آنتی بادی های مونوکلونال CD34، CD44، CD45، CD105، CD90 و CD73 انجام گرفت و نتایج با استفاده از نرم افزار Flow Jo مورد بررسی قرار گرفت.

تمایز سلولهای بنیادی مزانشیمی به سلولهای چربی: به منظور تایید بنیادی بودن سلولهای استخراجی از بافت چربی، سلولهای پاساژ سوم در معرض محیطهای تمایز به سلولهای استخوان و چربی (خریداری شده از شرکت بن یاخته رویان) قرار گرفتند. در جهت تمایز به سمت سلولهای چربی سلولهای بنیادی مزانشیمی استخراجی پاساژ سوم به تراکم سلولی 3×10^3 در پلیتهای ۴ چاهکی با محیط کشت DMEM/F12 حاوی ۱۰٪ FBS کشت داده شدند و پس از گذشت ۲۴ ساعت محیط سلولها با محیط تمایز به چربی حاوی DMEM مکمل شده با ۱۰٪ FBS، ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر آسکوربیک اسید ۲-فسفات، ۱۰۰ نانومولار دگزامتازون و ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر ایندومتاسین جایگزین شد و کشت این سلولها در این محیط به مدت ۲۱ روز ادامه یافت. محیط کشت سلولها هر سه روز یکبار تعویض شد. تجمع چربی ها در واکنش ها با ارزیابی هیستولوژیکی Oil Red O بررسی شد و سپس عکسبرداری از سلولها تحت میکروسکوپ فاز معکوس انجام گرفت.

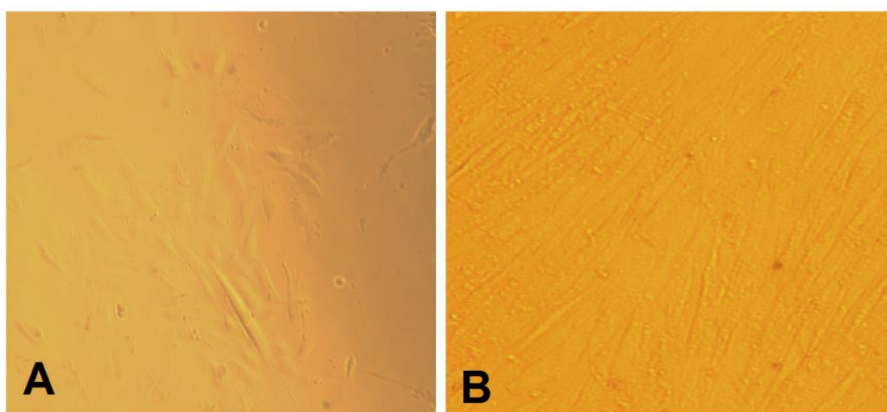
تمایز سلولهای بنیادی مزانشیمی به سلولهای استخوان: در جهت تمایز به سمت سلولهای استخوان سلولهای بنیادی مزانشیمی استخراجی پاساژ سوم به تراکم سلولی 3×10^3 در پلیتهای ۴ چاهکی با محیط کشت DMEM/F12 حاوی ۱۰٪ FBS کشت داده شدند و پس از گذشت ۲۴ ساعت محیط سلولها با محیط تمایز به استخوان حاوی DMEM مکمل شده با ۱۰٪ FBS، ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر آسکوربیک اسید ۲-فسفات، ۱۰ نانومولار دگزامتازون و ۱۰ میلی مولار بتا-گلیسرول فسفات جایگزین

سوی دیگر دیاسرین می تواند سطح بیان ژنهای دخیل در مسیر فعال شدن اینترلوکین-۱ بتا از جمله سیتوکاینها، نیتریک اکساید، متالوپروتئازها و غیره را از طریق مهار آبشار درون سلولی مسیر MEK/ERK غیرفعال نماید (۴). در نتیجه میتوان دیاسرین را یک کاندید مناسب برای استفاده در مهندسی بافت غضروف در نظر گرفت. هدف از مهندسی بافت غضروف القای غضروف سازی و همچنین تکامل شبکه خارج سلولی برای بهتر شدن نتایج طولانی مدت درمانی است. به طور معمول و براساس اهمیتی که وجود دارد در مهندسی بافت از سلولها به عنوان مهمترین بخش یاد می شود؛ زیرا اولین ساختار تشکیل دهنده بافت زنده سلول می باشد. سلولها بر روی بستری که برای آنها فراهم می گردد تکثیر می یابند و در اثر تماسهای فیزیولوژی سلول-سلول، سلول-سلول، شبکه خارج سلولی و سلول با مواد محلول موجود در اطراف که توسط سلولها تولید شده پیامهایی ایجاد می شود که سلول در اثر برهم کنش این پیامها دچار تحول شده و عملکردهای حیاتی سلولی بروز می کنند.

سلولهای بنیادی مزانشیمی سلولهایی با خصوصیتی همچون توانایی بالا در خودتجدیدپذیری و تکثیر بالا هستند. استفاده از این سلولها روشی جدید و امیدوار کننده برای ترمیم بافت های صدمه دیده است. در مهندسی بافت میتوان از این سلولها به عنوان راهکاری مناسب در درمان صدمات وارده به غضروف استفاده نمود. این سلولها با تخصصی شدن بیشتر به سلولهای بنیادی چندان توان تبدیل می شوند که توانایی تولید سلولهای مربوط به تنها یکی از سه لایه ی جنینی را دارند. برای مثال سلولهای بنیادی مزانشیمی قدرت تمایز به سلولهای استخوانی، غضروفی و چربی را دارند (۵). هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر سمیت داروی دیاسرین در سلولهای بنیادی مزانشیمی انسانی بود.

مواد و روش ها

استخراج سلولهای بنیادی مزانشیمی از بافت چربی: نمونه چربی انسانی پس از عمل جراحی ابدومینوپلاستی (لیپوساکشن شکم و پهلوی) از بیمارستان عرفان نیایش با رضایت بیمار خانم ۳۲ ساله در شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل شد. در اولین مرحله به صورت استریل با وسایل جراحی اتوکلاو شده تکه های بافت چربی از بافت همبند و عروق خونی جدا شد و بافت با استفاده از تیغ استریل، کاملاً خرد شده و به وسیله ی بافر فسفات و آنتی بیوتیک های پنی سیلین و استرپتومایسین شستشو داده شد.



شکل ۱. (A) سلولهای بنیادی مزانشیمی استخراج شده از بافت چربی کشت اولیه، (B) سلولهای بنیادی مزانشیمی پاساژ ۳. بزرگنمایی ۲۰ X

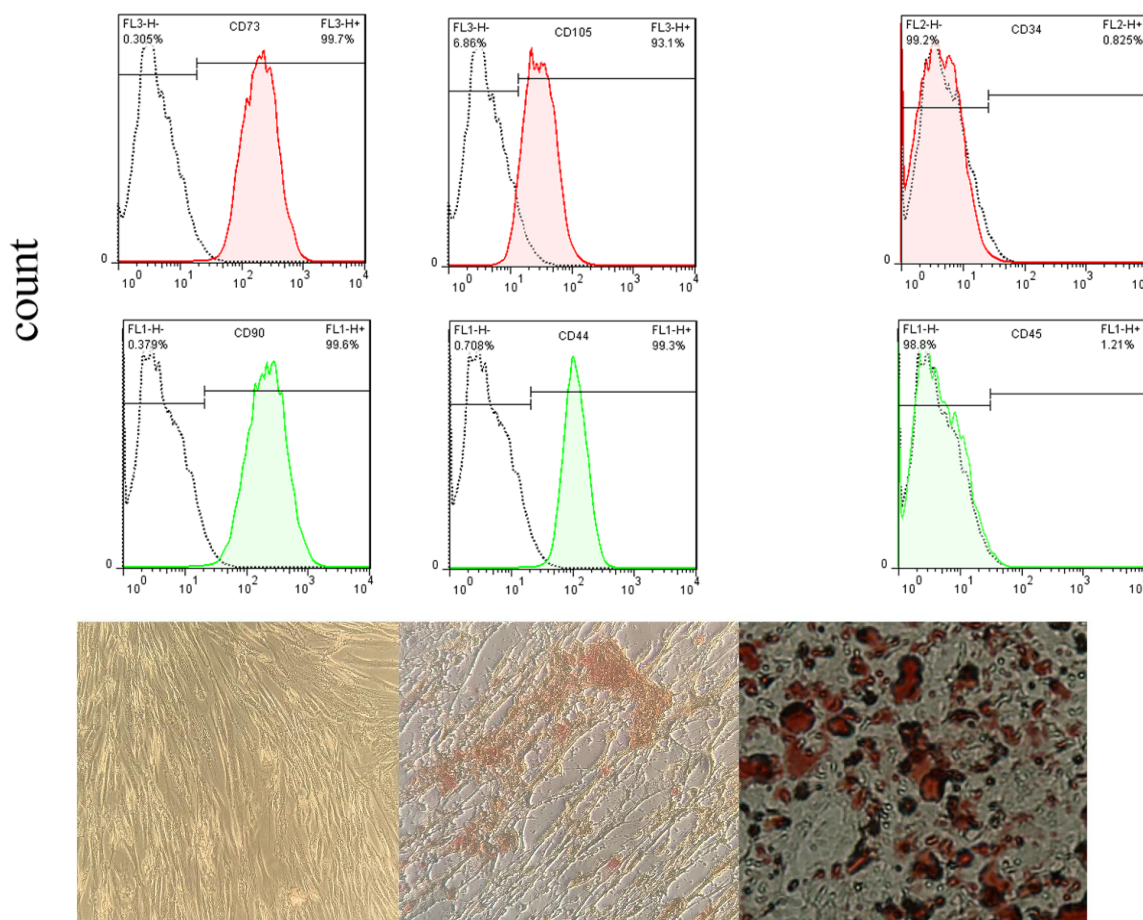
میتوکندری هاست احیا می شود. احیا و شکسته شدن این حلقه موجب تولید کریستالهای بنفش رنگ فورمازان می شود که در زیر میکروسکوپ به راحتی قابل تشخیص هستند. میزان رنگ تولید شده با تعداد سلولهایی که از نظر متابولیک فعال هستند رابطه مستقیم دارد. کریستالهای فورمازان در آب غیرمحلول بوده و بایستی قبل از رنگ سنجی توسط ماده حلالی نظیر DMSO به حالت محلول درآیند. به همین منظور پس از گذشت ۴ ساعت محلول MTT دور ریخته شد و محلول DMSO به هر یک از چاهک ها اضافه گشت. چگالی نوری فورمازان به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۷۰ نانومتر و با استفاده از الایزا قرائت شد.

نتایج

پس از جداسازی سلولهای بنیادی مزانشیمی از بافت چربی، این سلولها در فلاسکهای حاوی محیط کشت کامل تکثیر داده شدند. کشت سلولی، روزانه با میکروسکوپ اینورت (معکوس) مشاهده و بررسی گردید. براساس این مشاهدات در کشت اولیه، کلونهای از سلولهای مزانشیمی ظاهر شدند و با گذشت زمان رشد کردند، به طوری که پس از چند روز لایه هایی از سلولهای دوکی شکل تشکیل گردید. سلولهای بنیادی مزانشیمی از لحاظ مورفولوژی بصورت پهن، دوکی و چندوجهی مشاهده شدند (شکل ۱).

شد و کشت این سلولها در این محیط به مدت ۲۱ روز ادامه یافت. برای ارزیابی ماتریکس مینرالیزه شده، سلولها با محلول Alizarin-red S 2% رنگ آمیزی و بررسی شدند.

تست سمیت سلولی دیاسرین به روش MTT: از روش MTT برای اندازه گیری سمیت سلولی دیاسرین در حلال DMSO استفاده شد. سلولهای بنیادی مزانشیمی در پلیت ۹۶ چاهکی با تراکم 10^4 سلول در هر چاهک کشت داده شدند. پلیتها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با رطوبت ۹۵ درصد و ۵ درصد CO_2 به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. غلظتهای مختلف دیاسرین در DMSO به عنوان حلال تهیه شد (10^{-4} ، 10^{-5} و 10^{-6} مولار). همچنین محیط کشت حاوی غلظتهای ۱٪، ۰/۱٪ و ۰/۰۱٪ از DMSO تهیه و جهت تیمار سلولها استفاده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، محیط کشت پلیتها با محیطهای جدید (محیط DMEM با ۱۰٪ FBS) حاوی غلظتهای مختلف دیاسرین تعویض شد. پلیت کنترل منفی فقط محیط کشت بدون دیاسرین و DMSO دریافت کرد. پس از ۷۲ ساعت تیمار، محیط کشت رویی دور ریخته شد و محیط با DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱۰ درصد MTT ریخته شد (۵ میلی گرم در میلی لیتر) در تمام چاهکها جایگزین شد و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. MTT توسط سیستم سوکسینات دهیدروناز که یکی از آنزیمهای چرخه تنفسی



شکل ۲. نتایج آنالیز فلوسایتومتری و تمایز سلولهای بنیادی مزانشیمی به چربی و استخوان. (شکل بالا) بیان مثبت مارکرهای اختصاصی سلولهای بنیادی مزانشیمی شامل $CD73$ (۹۹/۷ درصد)، $CD44$ (۹۹/۳ درصد)، $CD105$ (۹۳/۱ درصد) و $CD90$ (۹۹/۶ درصد) در سلولهای جدا شده از بافت چربی را نشان داد. در حالی که مارکرهای $CD34$ و $CD45$ بیان قابل توجهی را نشان ندادند (به ترتیب ۱/۲ و ۰/۸ درصد). (شکل پایین، چپ) سلولهای بنیادی مزانشیمی گروه کنترل، (وسط) سلولهای بنیادی مزانشیمی تمایز یافته در محیط تمایز به استخوان و رنگ آمیزی با آلیزارین رد، (راست) سلولهای بنیادی مزانشیمی تمایز یافته در محیط تمایز به چربی و رنگ آمیزی با اوایل رد، (بزرگنمایی $\times 20$)

نشان داد (شکل ۳) که غلظت 10^{-4} مولار برای سلولها در مقایسه با کنترل با اختلاف بسیار معنی داری سمی است ($p < 0.001$). بالاترین غلظت غیر سمی برای سلولها دیاسیرین با غلظت 10^{-5} مولار بود و تفاوت معنی داری با کنترل نداشت ($p = 0.865$). همچنین برای دیاسیرین با غلظت 10^{-6} مولار نیز بررسی سمیت سلولی غلظتهای مختلف DMSO نیز سمیتی نشان نداد. همچنین بین کنترل و غلظتهای مختلف DMSO نیز هیچگونه تفاوت معنی داری وجود نداشت ($p = 0.121$ DMSO 1%, $p = 0.145$ DMSO 0.1% و $p = 0.145$ DMSO 0.01%).

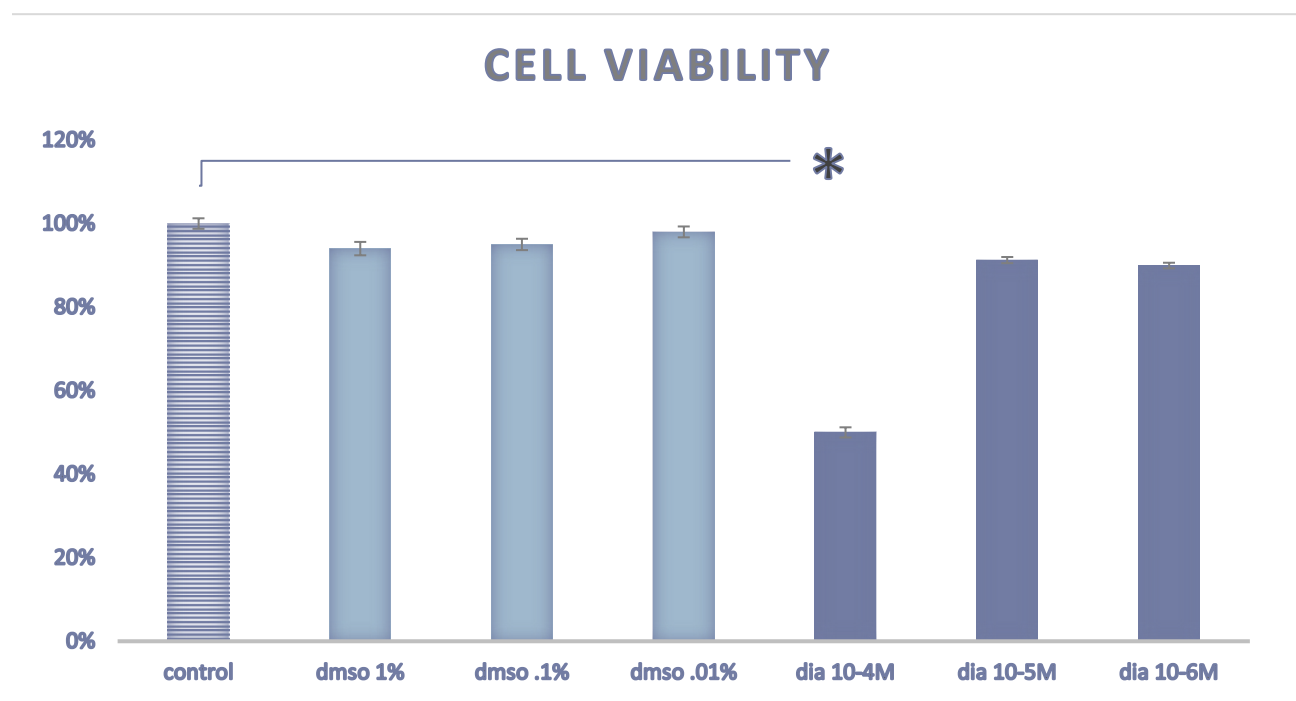
بحث

صدمات وارد شده به غضروف مانند آرتروز و روشهای درمانی مناسب برای این گونه صدمات از عمده چالشهای پزشکان و محققانی است که در این زمینه فعالیت می کنند (۱). از سوی دیگر درمان بیماریها و مشکلات ناشی از صدمات وارد شده به غضروف هزینه های سنگینی را به بیماران تحمیل می کند. اگر در هنگام فرسایش و یا پس از وارد آمدن صدمه به غضروف اقدامی صورت نگیرد مراحل تجزیه و نابودی غضروف ادامه یافته تا جایی که به جایگزینی آن نیاز خواهد شد. امروزه روشهای گوناگونی برای درمان این بیماری مورد استفاده قرار می گیرد مانند داروها، جراحی و مهندسی بافت (۱). در این میان محققان با پژوهشهای خود نشان دادند که مهندسی بافت قابلیت های زیادی در درمان بیماریهای مختلف دارا است و در خیلی از زمینه ها به صورت کاربردی مورد استفاده قرار می گیرد (۶)، اما در زمینه بیماری هایی مانند آرتروز همچنان نیاز به تحقیقات بیشتر می باشد. در این پژوهش سمیت سلولی داروی دیاسیرین که یک داروی ضد التهابی در درمان آرتروز می باشد را بر روی سلولهای بنیادی

فلوسایتومتری جهت تعیین بیان نشانگرهای سطحی: از معیارهای مهم تایید بنیادی بودن سلولهای بنیادی مزانشیمی، بیان مارکرهای سطحی مزانشیمی و عدم بیان مارکرهای هماتوپویتیک و اندوتلیال است. سلولهای جداسازی شده توانستند مارکرهای سلولی بنیادی از قبیل: $CD44$ ، $CD73$ ، $CD90$ و $CD105$ را بیان کنند. علاوه بر این در بیان مارکرهای هماتوپویتیک و اندوتلیال نظیر $CD34$ و $CD45$ منفی بودند (شکل ۲). تمایز سلولهای بنیادی مزانشیمی به سلولهای چربی و استخوان: یکی از مهمترین معیارها جهت تایید بنیادی بودن سلولهای جداسازی شده تمایز آنها به رده های مزودرمی از قبیل استخوان و چربی می باشد. نخستین نشانه های تمایز به سلولهای چربی ۲ هفته بعد از کشت با مشاهده وزیکولهای غنی از چربی پدیدار شد که این قطرات کم کم به یکدیگر پیوستند و سلول را پر کردند. نواحی که به سلولهای چربی تمایز پیدا کردند، شکل ظاهری سلولهای آدیپوسیت را به خود گرفتند و به علت واکنش تری گلیسیریدهای موجود در سلول های تمایز یافته با رنگ اوایل رد به رنگ قرمز درآمدند (شکل ۲).

پس از کشت سلولهای بنیادی مزانشیمی در محیط تمایزی به سمت استخوان، رنگ آمیزی سلولها با استفاده از آلفازین رد جهت تایید معدنی شدن و تمایز سلولهای بنیادی مزانشیمی به سلولهای استخوانی انجام شد. در محیط تمایزی استخوان، مورفولوژی سلولهای بنیادی مزانشیمی از حالت دوکی شکل به سمت مکعبی تغییر کرد و کانونهای مینراله شده به صورت نقاط خالدار قرمز پس از رنگ آمیزی با آلفازین رد در زیر میکروسکوپ مشاهده شدند (شکل ۲).

آزمون سمیت سلولی با MTT: سنجش MTT برای بررسی سمیت سلولی دیاسیرین انجام شد. نتایج تست MTT برای غلظتهای مختلف دیاسیرین



شکل ۳. نتایج حاصل از بررسی زنده مانی سلولی غلظتهای مختلف دیاسیرین و DMSO پس از ۷۲ ساعت از طریق آزمون MTT، (سطح معنی داری $P < 0.05$). غلظت 10^{-4} مولار دیاسیرین برای سلولها در مقایسه با کنترل با اختلاف بسیار معنی داری سمی است ($P < 0.001$). غلظت 10^{-5} مولار دیاسیرین بالاترین غلظت غیر سمی برای سلولها است ($P = 0.865$).

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند هیچ تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

1. Sen R, Hurley JA. Osteoarthritis. In StatPearls. 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29493951>.
2. Berry A, McCabe CS, Muir S, Walsh N. Systematic co-development and testing of a digital behaviour change intervention for osteoarthritis and physical activity: Theoretical mapping and acceptability study. *Digit Health* 2023;9:20552076231204425.
3. Liang J, Liu L, Feng H, Yue Y, Zhang Y, Wang Q, et al. Therapeutics of osteoarthritis and pharmacological mechanisms: a focus on RANK/RANKL signaling. *Biomed Pharmacother* 2023;167:115646.
4. Bharti R, Dey G, Ojha PK, Rajput S, Jaganathan SK, Sen R, et al. Diacerein-mediated inhibition of IL-6/IL-6R signaling induces apoptotic effects on breast cancer. *Oncogene* 2016;35:3965-3975.
5. Wuidart A, Ousset M, Rulands S, Simons BD, Van Keymeulen A, Blanpain C. Quantitative lineage tracing strategies to resolve multipotency in tissue-specific stem cells. *Genes Dev* 2016;30:1261-1277.
6. Liu Y, Shah KM, Luo J. Strategies for articular cartilage repair and regeneration. *Front Bioeng Biotechnol* 2021;9:770655.
7. Cheng NC, Estes BT, Awad HA, Guilak F. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells by a porous scaffold derived from native articular cartilage extracellular matrix. *Tissue Eng Part A* 2009;15:231-241.
8. Ghaneialvar H, Soltani L, Rahmani HR, Lotfi AS, Soleimani M. Characterization and classification of mesenchymal stem cells in several species using surface markers for cell therapy purposes. *Indian J Clin Biochem* 2018;33:46-52.
9. Eom YS, Park JH, Kim TH. Recent advances in stem cell differentiation control using drug delivery systems based on porous functional materials. *J Funct Biomater* 2023;14.
10. Danisovic L, Varga I, Polak S. Growth factors and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Tissue Cell* 2012;44:69-73.
11. Hebling J, Bianchi L, Basso FG, Scheffel DL, Soares DG, Carrilho MR, et al. Cytotoxicity of dimethyl sulfoxide (DMSO) in direct contact with odontoblast-like cells. *Dent Mater* 2015;31:399-405.

مزانشیمی استخراج شده از بافت چربی انسانی مورد بررسی قرار دادیم تا در کنار دیگر خصوصیات بتوان در مهندسی بافت از این دارو در زمینه تمایز سلولهای بنیادی مزانشیمی به سمت غضروفی شدن بهره برد. در مهندسی بافت به عوامل مختلفی از جمله سلول نیاز است. سلولهای بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی مورد استفاده در این پژوهش، مورفولوژی شبه فیبروبلاستی را نشان دادند و مارکهای سطحی، خانواده اینتگرینها و گیرندههای فاکتورهای رشد را بیان کردند. این درحالی است که این سلولها قادر به بیان مارکهای سلولهای خونی و هماتوپویتیک از قبیل $CD34$ و $CD45$ نبودند. این نتایج همراستا با مطالعات چنگ و همکاران و مطالعات قانعی الوار و همکاران بود (۸، ۷). اخیراً، مطالعات بسیاری ثابت کرده‌اند که سلولهای بنیادی مزانشیمی ظرفیت تمایز به انواع مختلفی از سلولهای هر سه لایه زایی رویانی را دارند (۱۰، ۹). نتایج آنها نشان داد که سلولهای بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی می‌توانند در شرایط آزمایشگاهی تکثیر شوند و در نهایت به رده‌های استخوانی و چربی تمایز پیدا کنند. در این پژوهش نیز سلولهای استخراج شده از بافت چربی به سمت سلولهای استخوانی و چربی تمایز داده شدند و نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی توانایی تمایز سلولهای استخراج شده را نشان داد. دارو ها در مقادیر متفاوت ممکن است تأثیرات متفاوتی را القا کنند که گاهی ممکن است موجب زیان به مسیرهای سلولی و در نتیجه باعث مرگ سلولی شوند. از سوی دیگر گاهی نیاز است که برای آماده‌سازی داروها از حلال‌هایی استفاده گردد که تأثیر این حلال‌ها را نیز باید بر سلولها مورد مطالعه قرار داد (۱۱). در این پژوهش نیز مقادیر متفاوتی از داروی دیاسرین در غلظتهای مختلف DMSO حل گردید و از لحاظ سمیت بر روی سلولهای استخراج شده مورد مطالعه قرار گرفت و بر اساس نتایج حاصل از تست سمیت سلولی میزان 10^{-5} مول دیاسرین به عنوان بالاترین میزان غیرسمی در پژوهش انتخاب شد. ضمناً سمیت سلولی از طرف حلال DMSO دیده نشد و در نتیجه سمیت غلظت 10^{-4} مول دیاسرین ناشی از خود دیاسرین می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش سعی بر آن شد تا نشان دهد همچنان نیاز است تا بر روی داروهای مورد استفاده تحقیقات انجام پذیرد تا بتوان قابلیت‌هایی که همچنان نامشخص هستند را نمایان نمود. شواهد و نتایج در این تحقیق نشان داد که دیاسرین در غلظت 10^{-5} مول سمیتی برای سلولها ندارد و می‌توان از این غلظت در هدایت سلولهای بنیادی به سمت غضروفی شدن استفاده نمود.