لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹۷، دورهٔ ۱۵، شمارهٔ ۲، صفحات: ۷-۲ .

مقاله پژوهشی

ایجاد شـــرایط بهینهٔ کشت سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی به‌وسیلهٔ تیمار با غلظت سیپروفلوکساسین

مریم جهانشیری مقدم [۳،۱]
نکیسا ضرابی اهرابی [۱]
سید مهدی طبایی [۲]

۱. گروه زیســت شناســی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه پژوهشـــی ترمیم نوری مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکدهٔ یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران

۳. گروه پژوهشی لیزر پزشـــکی مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکدهٔ یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران

نویسندهٔ مسئول: نکیسا ضرابی اهرابی، تلفن: ۰۲۱۴۴۶۰۰۱۸۴
پســت الکترونیــک: na_zarrabi@yahoo.com

خلاصه

مقدمه: در ســال‌های اخیر مطالعات انجام شده در زمینهٔ ســلول‌های بنیادی باعث افزایش تقاضای درمان بیماری‌ها با اســتفاده از شیوهٔ ســلول‌درمانی شده است. بهبود در روش تکثیر ســلول‌های بنیادی باعث افزایش استفاده از این سلول‌ها در فرآیندهای سلول‌درمانی می‌شود. هدف این تحقیق بهبود شــرایط کشت سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی به‌وسیلهٔ تیمار این سلول‌ها با غلظت غیر سمی سیپروفلوکساسین است.

روش بررسی: سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی از بانک سلول‌های انسانی و جانوری، مرکــز ملی ذخایر ژنتیکی و زیســتی ایران تهیه گردید. این ســلول‌ها از لحاظ کنترل کیفی ویروســی و کنترل کیفی میکروبی شامل باکتری، قارچ، مخمر و همچنین اثبات بنیادی بودن به‌وسیلهٔ قابلیت تمایز به سلول‌های استخوانی، چربی و شاخص‌های سطحی CD29،CD45، CD90، CD34 وCD105 با روش فلوســایتومتری تأیید شده بودند. میزان فعالیت حیاتی ســلول‌ها نسبت به غلظت‌های مختلف سیپروفلوکساسین با استفاده از آزمون MTT سنجیده شد و با میکروسکوپ نوری عکس گرفته شد.

یافته‌هــا: نتایج تیمار ســلول‌های بنیادی مشــتق از بافــت چربی با غلظت‌هــای مختلف سیپروفلوکساسین نشان داد که این ماده در غلظت‌های ۱۲ تا ۱/۵ میلی‌گرم به‌ازای هر میلی‌لیتر، بر روی ســلول‌ها اثر سمی و کشنده دارد و از غلظت ۱۵۰ تا ۰/۵ میکروگرم به‌ازای هر میلی‌لیتر بر روی سلول‌ها اثر سمی ندارد. تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری نیز شکل ظاهری سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی تیمارشده با غلظت‌های مختلف سیپروفلوکساسین را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: مطالعهٔ حاضر به‌عنوان یک مدل، نشــان داد استفاده از سیپروفلوکساسین در طول دورهٔ کشــت با غلظــت ۱۰ میکروگرم به‌ازای هر میلی‌لیتر می‌تواند باعث ایجاد شــرایط مناســب کشت و حفظ قابلیت بنیادی ســلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی در طول دورهٔ کشت گردد.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های بنیادی بافت چربی، سیپروفلوکساسین، فلوسایتومتری

[Downloaded from icml.ir on 2024-04-25]

مقدمه

در سال‌های اخیر، مطالعات انجام شده در زمینهٔ سلول‌های بنیادی باعث افزایش تقاضای درمان بیماری‌ها با استفاده از شیوهٔ سلول درمانی گردیده است[۱]. یکی از سلول‌هایی که امروزه توجه محققان را به خود جلب کرده است و تحقیقات گسترده‌ای بر روی این سلول‌ها انجام شده است، سلول های بنیادی بزرگسالان می‌باشند که در بسیاری از بافت‌های تخصص‌یافتهٔ بدن ازجمله بافت چربی، مغز استخوان، پالپ دندان، کبد، بافت قرنیه، شبکیهٔ چشم و قسمت‌های مختلف بدن یافت می‌شوند[۲]. این تحقیقات نشان داده است که سلول‌های بنیادی بزرگسالان همانند سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی، مغزاستخوان و پالپ دندان توانایی قابل توجهی برای معالجهٔ بیماری‌ها و فرآیند سلول-درمانی را دارند[۳]. اهمیت و سرمایه‌گذاری بر روی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در پروسهٔ سلول‌درمانی و تحقیقات پزشکی باعث شده است دستاوردهای علمی ارزشمند در این حوزه به سرعت نشر یابند و هرروز بیش‌ازپیش بر ارزش و اهمیت این تحقیقات بیفزاید[۴].

بهبود در روش تکثیر سلول‌های بنیادی بزرگسالان می‌تواند استفاده از این سلول‌ها را در فرآیندهای سلول‌درمانی افزایش دهد. در مطالعه‌ای که با استفاده از سلول‌های بنیادی پاپیلای درم انسان انجام گردیده، نتایج نشان داده است که تیمار سلول‌ها با سیپروفلوکساسین می‌تواند باعث جلوگیری از کاهش بنیادینگی سلول‌ها در طول کشت شود. در این تحقیق اینگونه بیان شده است که کلنی‌زایی و شاخص‌های بنیادی سلول‌های پاپیلای درمی در طول فرآیند کشت به‌تدریج و به‌صورت وابسته به زمان کاهش می یابد. با این حال تیمار سلول‌ها با غلظت غیر سمی سیپروفلوکساسین می تواند سبب حفظ مرفولوژی، کلنی‌زایی و مارکرهای سلول‌های بنیادی در آن ها شود. سیپروفلوکساسین اثر خود را از طریق مکانیسم وابسته به تیروزین کیناز وابسته به ATP/گلیکوژن‌سنتازکیناز 3β اعمال می‌کند که به‌نوبهٔ خود سبب افزایش β کاتنین می‌شود. علاوه براین، سیپروفلوکساسین سبب القاء تبدیل اپیتلیوم به مزانشیمی در سلول‌ها می‌شود به‌طوری‌که عوامل رونویسی ZEB1 و Snail به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابند.

یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در استفاده از سلول‌های بنیادی، ایجاد شرایط مناسب و ایدئال برای تکثیر این سلول‌ها بدون کاهش ویژگی‌های بنیادین آن‌ها در طول مراحل کشت است. همچنین جداسازی و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی از بافتی که در هنگام استحصال، کمترین آسیب را برای بیمار به‌همراه داشته باشد، از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. امروزه، بافت چربی به‌عنوان منبعی با دسترسی آسان و کم‌خطر برای اهداف سلول‌درمانی به‌صورت اتولوگ مطرح است[۵]. لذا، باتوجه به اهمیت سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی در فرآیند سلول‌درمانی، در این تحقیق تأثیر غلظت غیر سمی داروی سیپروفلوکساسین در سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی بررسی گردید.

روش بررسی

تهیهٔ سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی

در این تحقیق سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی از بانک سلول های انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (AD-MSC-02, IBRC C10889) تهیه گردید که در این بانک برای این نمونهٔ سلولی، کنترل کیفی ویروسی نظیر HBV، HIV-I HCV و EBV و میکروبی شامل باکتری، قارچ، مخمر و مایکوپلاسما انجام شده است. همچنین اثبات بنیادی بودن با بررسی قابلیت تمایز به سلول‌های استخوان، چربی و بررسی شاخص‌های سطحی خاص سلول‌های بنیادی مزانشیمی (CD45، CD29، CD90، CD34 وCD105) با روش فلوسایتومتری (شکل۱) انجام شده است[۶]. که اساس این روش بر خصوصیات پراکنده‌سازی نور لیزر توسط سلول‌ها و نیز نشر فلورسانس آن ها استوار است.

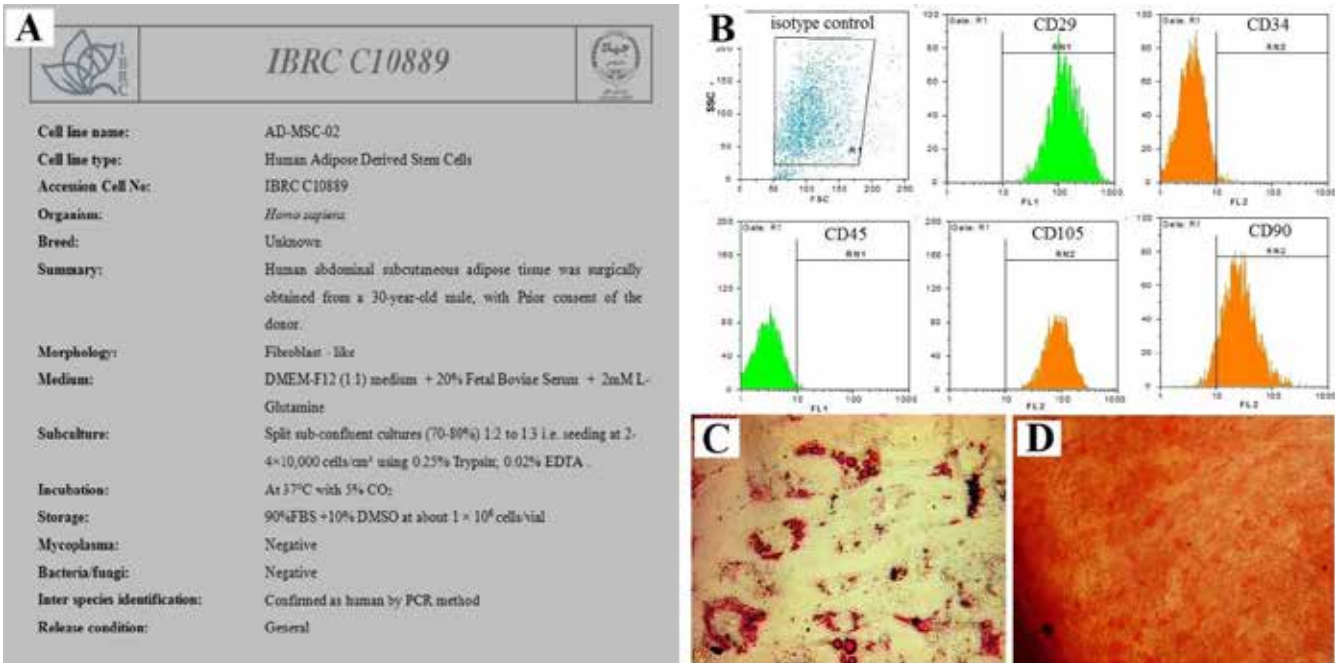
تعیین غلظت غیرسمی سیپروفلوکساسین به‌وسیلهٔ آزمایش MTT

آزمایش دی‌متیل‌تیازول،۲،۵، دی‌فنیل‌تترازولیوم برمید (MTT) به صورت تکرار سه‌تایی برای هرغلظت سیپروفلوکساسین از غلظت ۵ میلی گرم تا ۱۰ میکروگرم به‌ازای هرمیلی‌لیتر انجام شد. برای این منظور ابتدا تعداد هفت هزار سلول بنیادی مشتق از بافت چربی در حجم ۱۰۰ µl محیط کشت این سلول‌ها به هر چاهک ظرف ۹۶ خانه‌ای اضافه شد. سپس ظرف مورد نظر به‌مدت ۱۸ ساعت در شرایط انکوباتور CO۲ ۵ درصد، رطوبت ۱۰۰ درصد و دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از گذشت این زمان، غلظت‌های مورد نظر سیپروفلوکساسین به چاهک‌ها اضافه شد. سپس انکوباسیون با شرایط CO۲ ۵ درصد، رطوبت ۱۰۰ درصد و دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت. پس از گذشت زمان انکوباسیون به هر چاهک ۱۰µl از محلول MTT اضافه گردید و مجدداً ظرف مورد نظر به‌مدت ۳ ساعت درون انکوباتور CO2 انکوبه شد. پس از گذشت زمان انکوباسیون، محیط کشت چاهک‌ها کاملاً تخلیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از حلال دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) به هر چاهک اضافه گردید. سپس ظرف کشت مورد نظر به‌مدت یک ساعت در انکوباتور و شرایط تاریکی قرار گرفت و پس از پایان مدت انکوباسیون و جذب چاهک ها توسط دستگاه الایزاریدر در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر قرائت گردید.

بررسی تغییرات مورفولوژیک سلول‌ها

در طول مدت کشت، سلول‌ها روزانه از لحاظ مرفولوژیک و شاخص‌های کیفی مربوط به سلامت سلول‌ها ازجمله مشاهدهٔ گرانول در اطراف هستهٔ سلول، واکوئل در سیتوپلاسم سلول و تغییرات مربوط به خصوصیات اصلی سلول (چسبندگی و معلق شدن سلول‌ها) به‌وسیلهٔ میکروسکوپ اینورت مورد ارزیابی قرار گرفتند.

[Downloaded from icml.ir on 2024-04-25]



شکل ۱. شناسنامهٔ سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی که از بانک سلول‌های انسانی و جانوری مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شده است (A)، نتایج تأیید هویت این ردهٔ سلولی شامل بررسی مارکرهای سطحی به‌وسیلهٔ فلوسایتومتری (B)، پتانسیل تمایز به سلول‌های چربی و تأیید با رنگ آمیزی اویل قرمز (C)، پتانسیل تمایز به سلول -های استخوانی و تأیید با رنگ آمیزی آلزارین قرمز (D)

یافته‌ها

بررسی سلول‌ها از لحاظ ویژگی‌های رشد و مورفولوژی

پس از تهیهٔ سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی از بانک سلولی مرکز ملی زیستی ایران، روزانه سلول‌ها به‌وسیلهٔ میکروسکوپ اینورت مشاهده شد و تصاویر سلول‌ها ثبت گردید. این سلول‌ها از لحاظ مرفولوژی دوکی شکل و چسبنده به سطح بودند (شکل ۲) و از سرعت تکثیر و رشد بالایی برخوردار بودند. به‌صورتی‌که لازم بود هر سه‌روز یک‌مرتبه محیط کشت این سلول‌ها تعویض گردد و هنگامی‌که به تراکم ۸۰ درصد رسیدند، پاساژ سلولی به‌نسبت ۱:۳ برای آن‌ها انجام می‌گرفت همچنین در این مرحله ظرف‌های کشت به‌صورت روزانه از لحاظ آلودگی باکتری و قارچی با میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند و در طول مدت کشت هیچگونه آلودگی مشاهده نگردید و سلول‌ها از لحاظ شرایط کشت در حد مطلوبی بودند.

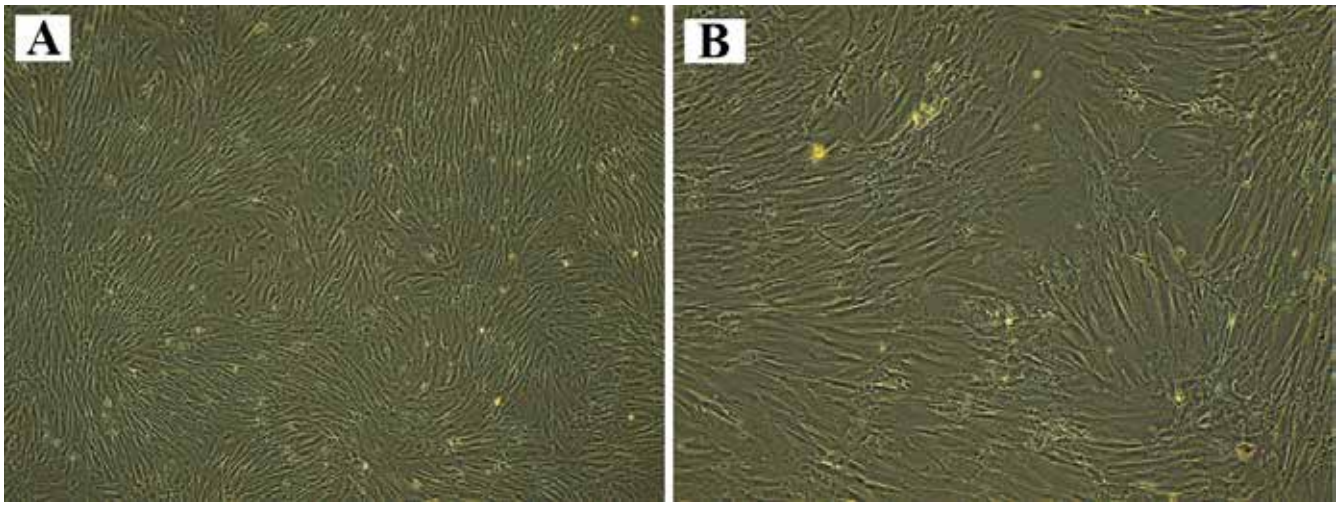
تعیین غلظت غیر سمی سیپروفلوکساسین به‌وسیلهٔ آزمایش MTT

به‌وسیلهٔ آزمایش MTT می‌توان سرعت تکثیر، کاهش سرعت تکثیر سلول‌ها و یا میزان مرگ و میر سلول‌ها را اندازه گرفت. یکی از نقاط قوت آزمایش MTT این است که در این روش تعداد مراحل کار برای افزایش سرعت آزمایش به حداقل رسیده است و به‌دلیل ارتباط خطی بین تعداد سلول‌ها و سیگنال‌های ایجادشده، اندازه‌گیری دقیق سرعت تکثیر سلولی امکان‌پذیر است. نتایج تیمار سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی با غلظت‌های مختلف سیپروفلوکساسین نشان داد که این ماده در غلظت های ۱/۵ تا ۱۲ میلی‌گرم به‌ازای هر میلی‌لیتر، بر روی این سلول‌ها اثر سمی دارد و باعث مرگ سلولی می‌گردد. همچنین این ماده از غلظت ۰/۵ تا ۱۵۰ میکروگرم به‌ازای هر میلی‌لیتر بر روی این سلول‌ها اثر سمی و کشنده ندارد (نمودار ۱ و شکل ۳). بااین‌حال برای انجام این تحقیق، با توجه به تحقیقاتی که بر روی سلول‌های بنیادی پالپ دندان صورت گرفته بود و همچنین بررسی مرفولوژی سلول‌ها در غلظت‌های غیر سمی، غلظت ۱۰ µg/mL سیپروفلوکساسین انتخاب گردید.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه، کشت و تکثیر سلول‌های بنیادی مشتق از بافت‌های مختلف یکی از موضوعات جالب توجه در زمینهٔ سلول‌درمانی و تحقیقات پزشکی است. این مسئله باعث گردیده است که محققان نگاه ویژه‌ای در ارتباط با جداسازی، کشت، تخلیص و به‌کارگیری این سلول‌ها در فرآیند درمان بیماری‌های خاص داشته باشند. ازنظر منبع سلول‌های بنیادی مزانشیمی، بافت مغز استخوان به‌عنوان گسترده‌ترین بافت مورد مطالعه در شرایط آزمایشگاهی و مطالعات بالینی است، درحالی‌که بافت چربی به‌عنوان منبعی سهل‌الوصول و کم‌تهاجمی است که به‌سیلهٔ روش‌هایی همچون

[Downloaded from icml.ir on 2024-04-25]

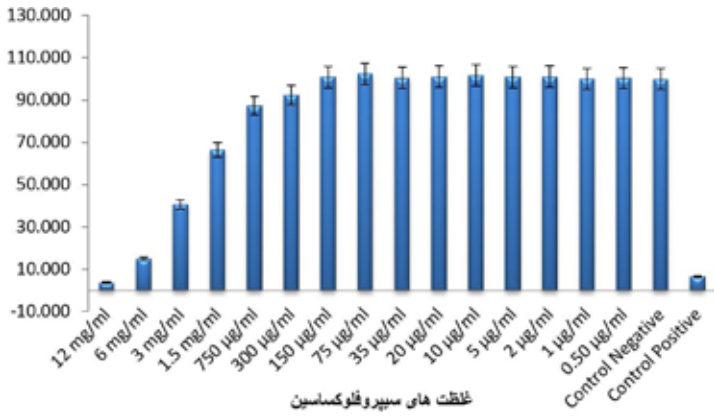


شکل۲. تصویر سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ x (A) و ۲۰۰ x (B)

جراحی و لیپوساکشـــن می‌توان آن را به‌دســـت آورد. همچنین مطالعات انجام‌شده نشان‌داده‌است که مقدار سلول‌های بنیادی به‌دست‌آمده از بافت چربی در مقایســـه با بافت مغز اســـتخوان در حجم یکسان، بسیار بیشتر است. بنابراین می‌توان این‌گونه استنباط کرد که در آینده‌ای نزدیک حجم استفاده و به‌کارگیری سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی در تحقیقات زیستی و پزشکی افزایشی چشمگیر خواهد داشت[۷].

مطالعات انجام‌شده بر روی سلول‌های بنیادی مزانشیمی نشان‌داده‌است این ســـلول‌ها در طول روند کشت در شـــرایط آزمایشگاهی خصوصیات بنیادینگی ابتدایی خود را مانند توانایی تشـــکیل کلونی، ظرفیت تمایز و تکثیر خود از دســـت می‌دهند[۸]. بنابراین، حفظ خصوصیات بنیادینگی برای کاربردهای بالینی این سلول‌ها در شرایط کشت آزمایشگاهی بسیار ضـــروری و حیاتی اســـت. خصوصیات بنیادینگی ســـلول‌های بنیادی در داخل بدن به‌وســـیلهٔ عوامل مختلفی همچون فاکتورهای رشد، تعاملات سلول– ســـلول و تعاملات ماتریکس خارج سلولی حفظ می‌گردد. اما در شرایط آزمایشگاهی محققان بایستی درپی آن باشند که شرایطی را فراهم آورند تا به‌واســـطهٔ آن، تکثیر و حفظ خصوصیات اولیهٔ سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی در طول روند کشـــت با کیفیت مطلوب انجام گیرد[۹]. لذا، حفظ خصوصیات بنیادین این ســـلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی، یکی از دغدغه‌های مهم و حیاتی در حوزهٔ کشت سلول‌های بنیادی است[۱۰].

سیپروفلوکساسین[1] از مشتقات فلوروکینولون‌ها[2]، یک ترکیب باکتریسید است که از طریق مهار آنزیم **DNA** ژیراز، همانندسازی، ترجمه و ترمیم **DNA** باکتری را مهار می‌کند. همچنین سیپروفلوکساســـین در درمان عفونت‌های ناشـــی از باکتری‌های گرم منفی شـــامل ســـالمونلا، شیگلا، کمپیلوباکتر، نایسریا و پسودوموناس مصرف می‌شود. این دارو دارای اثرات متوسط بر علیه باکتری‌های گرم مثبت شامل استرپتوکوکوس پنومونیه و استرپتوکوکوس فکالیس است. کاربرد اصلی سیپروفلوکساسین در درمان عفونت‌های تنفســـی (به‌جز عفونت ناشـــی از استرپتوکوکوســـپنومونیه)، عفونت مجاری ادراری، عفونت‌های دســـتگاه گوارش ازجمله تب تیفوئید، سوزاک و سپتیسمی ناشی از میکروارگانیسم‌های حساس می‌باشد[۱۱]. همچنین سیپروفلوکساسین به‌عنوان یک آنتی‌بیوتیک پروفیلاکسی برای پیشـــگیری از عفونت باکتریایی در بیمارانی که در مراحل سلول‌درمانی با پیوند سلول بنیادی قرار می‌گیرند، استفاده می‌شود. علاوه‌برآن، این آنتی بیوتیک به‌طور گسترده‌ای در کشـــت سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی به منظور جلوگیری از آلودگی‌های باکتریایی ازجمله مایکوپلاســـما استفاده می‌شود[۱۲].

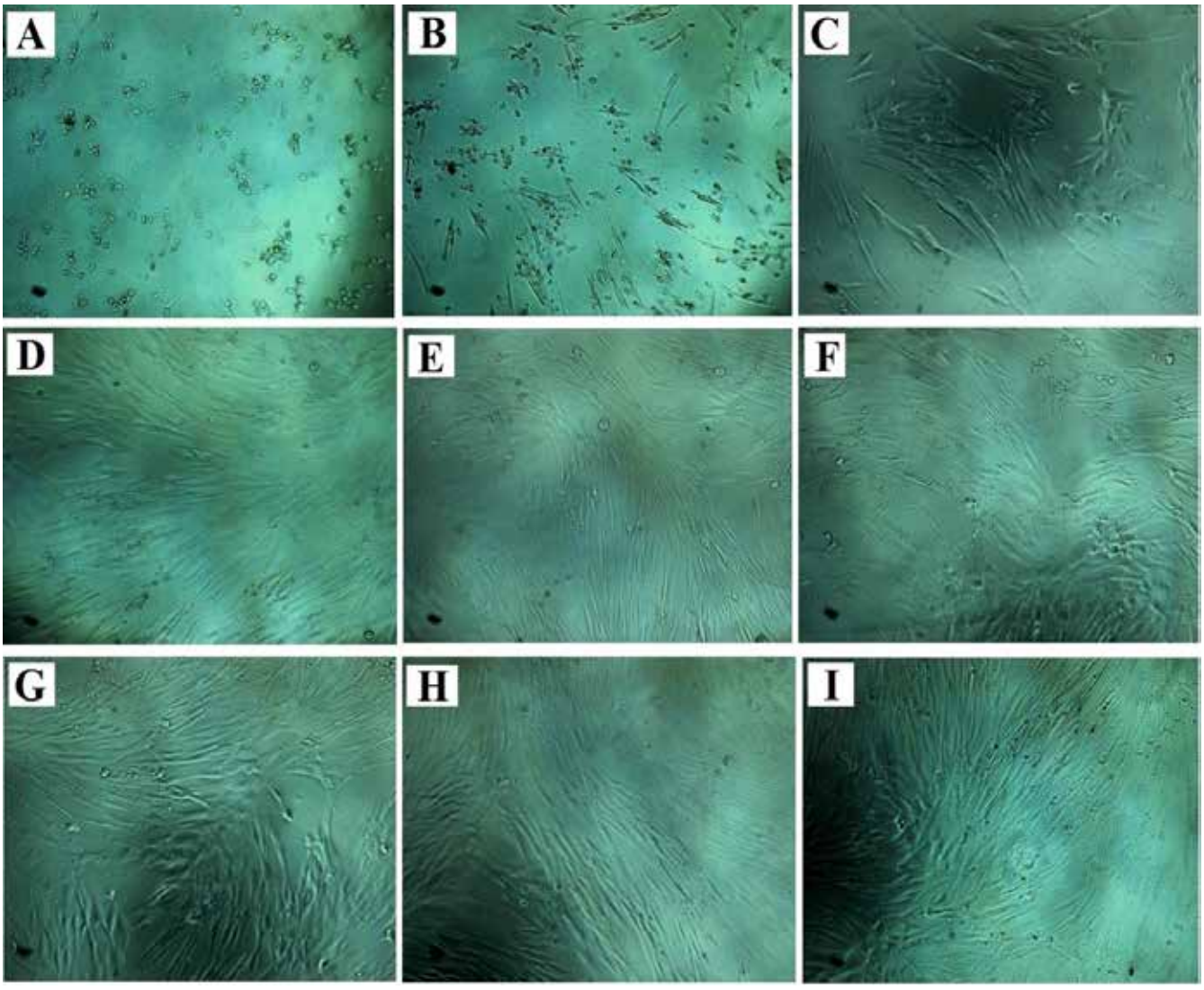


نمودار۱. نتایج بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف سیپروفلوکساسین بر روی بقاء سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی به‌وسیلهٔ آزمایش MTT

1. Ciprofloxacin

2. fluoroquinolones

[Downloaded from icml.ir on 2024-04-25]



شـــکل ۳. تیمار سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی تیمارشده با غلظت‌های مختلف سیپروفلوکساسین: (A) ۱۲ mg/ml، (B) ۶ mg/ml، (C) ۳ mg/ml، (D) ۱/۵ mg/ml، (E) ۷۰۰ µg/ml، (F) ۳۰۰ µg/ml، (G) ۱۵۰ µg/ml، (H) ۷۵ µg/ml و (I) ۱۰ µg/ml

کراتیپایبون و همکاران در ســال ۲۰۱۵ گزارش کردند که اســتفاده از سیپروفلوکساسین در محیط کشت سلول‌های بنیادی پاپیلای درم انسان می‌تواند باعث افزایش بنیادینگی ســلول‌ها در طول کشت گردد. در این تحقیق این‌گونه بیان‌شده‌است که کلنی‌زایی و شاخص‌های بنیادی سلول های پاپیلای درمی در طول فرآیند کشــت به‌تدریج و به‌صورت وابســته بــه زمان کاهش می‌یابد. بااین‌حال تیمار ســلول‌ها با غلظت غیر ســمی سیپروفلوکساسین می‌تواند سبب حفظ مرفولوژی، کلنی‌زایی و مارکرهای سلول‌های بنیادی در آن‌ها شود.

یکی از دلایل انتخاب ردهٔ ســلولی بنیادی مشــتق از بافت چربی برای این تحقیــق، ویژگی منحصربه‌فرد ســلول‌های بنیادی مشــتق از بافت چربی اســت که منبعی با دسترسی آسان، کم خطر و قابلیت استفاده در فرآیند ســلول‌درمانی هستند[۱۳]. مطالعهٔ حاضر با استفاده از این سلول هــا که از لحاظ بیان مارکرهای ســطحی، قابلیت تمایز و عدم آلودگی به میکروارگانیسم‌ها تأیید شده بودند، به‌عنوان یک مدل، نشان داد استفاده از سیپروفلوکساســین در طول دورهٔ کشت با غلظت ۱۰ میکروگرم به‌ازای هر میلی‌لیتر، می‌تواند باعث ایجاد شــرایط مناسب کشت و حفظ قابلیت بنیادی این ســلول‌ها در طول کشــت گردد. لذا، باتوجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق پیشــنهاد می‌گردد، به‌منظور ایجاد شرایط بهینه در زمان کشت سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی، سیپروفلوکساسین با غلظت ذکرشده به محیط کشت سلول‌ها اضافه شود تا باعث ایجاد شرایط بهینه برای رشد این سلول‌ها گردد.

[Downloaded from icml.ir on 2024-04-25]

References:

1. Mardones R, Jofré CM, Tobar L, Minguell JJ. Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of hip osteoarthritis. Journal of Hip Preservation Surgery. 2017; 4(2): 159-63.

2. Ahmadbeigi N, Soleimani M, Vasei M, Gheisari Y, Mortazavi Y, Azadmanesh K, Omidkhoda A, Janzamin E, Nardi NB. Isolation, characterization, and transplantation of bone marrow-derived cell components with hematopoietic stem cell niche.2013; 22(23): 3052-61.

3. Davies OG, Cooper PR, Shelton RM, Smith AJ, Scheven BA. Isolation of adipose and bone marrow mesenchymal stem cells using CD29 and CD90 modifies their capacity for osteogenic and adipogenic differentiation. Journal of tissue engineerin. 2015; 6(1-10).

4. Buehring GC, Eby EA, Eby MJ. Cell line cross-contamination: how aware are Mammalian cell culturists of the problem and how to monitor it? In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal. 2004; 40(7): 211-5.

5. Aust L, Devlin B, Foster S, Halvorsen Y, Hicok K, Du Laney T, Sen A, Willingmyre G, Gimble J. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. Cytotherapy. 2004; 6(1): 7-14.

6. Ganji M, Fazeli A, Gohari N, Rahmati H, Elyasi Z, Izadpanah M, Mohammadi S, Asadi M, Ashori S, Farzane p. Isolation, characterization and standard storage of human mesenchymal stem cell derived from adipose and dental pulp tissue. 2017; 24(157), 35-50.

7. Assoni AF, Coatti GC, Gomes JPA, Pelatti MV, Zatz M. Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells, Working with Stem Cells. 2016; 37-55.

8. Bernardo ME, Zaffaroni N, Novara F, Cometa AM, Avanzini MA, Moretta A, Montagna D, Maccario R, Villa R, Daidone MG. Human bone marrow–derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms. Cancer research. 2007; 67(19): 9142-9.

9. Bara JJ, Richards RG, Alini M, Stoddart MJ. Concise review: Bone marrow-derived mesenchymal stem cells change phenotype following in vitro culture: implications for basic research and the clinic. Stem cells, 2014; 32(7): 1713-23.

10. Kolf CM, Cho E, Tuan RS. Mesenchymal stromal cells: biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. Arthritis research & therapy. 2007; 9(1): 204.

11. Gabanyi I, Lojudice F, Kossugue P, Rebelato E, Demasi M, Sogayar M. VP22 herpes simplex virus protein can transduce proteins into stem cells. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2013; 46(2): 121-7.

12. Mowles J. The use of ciprofloxacin for the elimination of mycoplasma from naturally infected cell lines. Cytotechnology.1988; 1(4): 355-8.

13. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, Redl H, Rubin JP, Yoshimura K, Gimble JM. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). Cytotherapy. 2013; 15(6): 641-8.

[Downloaded from icml.ir on 2024-04-25]