ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of the Angiogenic Potential of Conditioned Media from Menstrual and Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells Compared with Tumor Cell- and Ovarian Cancer-Associated Fibroblast-Derived Conditioned Media

Marzieh Zamaniyan[1],
Seyedeh Taravat kalantari[2],
Hadi Hassannia[3],
Reyhaneh Nassiri Mansour[4],
Mobin Naderi[5],
Javad Amini Mahabadi[6],
Saeid Abediankenari[7],
Sepideh Peivandi[8],
Seyed Ehsan Enderami[9],

[1] Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Student**,** Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Amol Faculty of Allied Medical Sciences, Mazandaran University of Medical Sciences, Amol, Iran
[4]Post-doc Researcher, Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5]MSc Student in Medical Biotechnology, Student Research Committee, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[6] Assistant Professor, Gametogenesis Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[7] Professor, Immunogenetics Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[8] Professor, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[9] Assistant Professor, Diabetes Research Center, Institute of Herbal Medicines and Metabolic Disorders, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical

(Received January 23, 2025; Accepted October 4, 2025)

Abstract

Background and purpose: Regenerative medicine focuses on replacing dysfunctional cells with mesenchymal stem cells (MSCs) to repair damaged tissues. However, genomic instability and the potential risk of tumor formation remain significant challenges in the use of these cells. Cell-free therapies, such as those based on conditioned media (CM)**,** have emerged as promising alternatives due to their role in promoting angiogenesis. Since malignant solid tumors exhibit the most robust angiogenic activity, this study aimed to compare the angiogenic potential of CM derived from menstrual blood-derived MSCs (MenSCs), umbilical cord-derived MSCs (UC-MSCs), ovarian cancer cells (SKOV-3), and cancer-associated fibroblasts (CAFs).

Materials and methods: UC-MSCs were extracted and passaged, and their mesenchymal nature was confirmed by flow cytometry using CD markers. Isolation and culture of MenSCs, UC-MSCs, CAFs, and tumor cell lines were performed, and CM was subsequently prepared from each. The vascular endothelial growth factor (VEGF) concentration in the CMs was measured by ELISA. Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were treated with the CMs, and the effects on their proliferation were evaluated using the XTT assay. The angiogenic potential of the CMs was compared using the chicken embryo chorioallantoic membrane (CAM) model.

Results: The results showed that the VEGF concentration in the CMs derived from tumor cells and menstrual blood-derived stem cells was higher than in other CMs. Similarly, the proliferation and migration of HUVECs treated with these CMs were greater than those treated with CMs from other **cell** types**.** Overall, the findings indicate that different CMs can promote vascular endothelial cell proliferation and enhance angiogenesis.

Conclusion: The angiogenic potential of tumor cell-derived conditioned medium (CM) is considerably higher than that of menstrual blood-derived stem cell CM**.** These findings suggest that tumor cell-**derived** CM could serve as a potent and cost-effective alternative in regenerative medicine, particularly for paracrine-based therapeutic strategies**.**

Keywords: strual blood-derived mesenchymal stem cells, umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, conditioned medium, cancer-associated fibroblasts

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (250): 24-38 (Persian).

Corresponding Author: Seyed Ehsan Enderami - Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: ehsan.enderami@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و پنجم شماره ۲۵۰ آبان سال ۱۴۰۴ (۳۸-۲۴)

ارزیابی پتانسیل آنژیوژنزی محیط رویی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون قاعدگی و بند ناف در مقایسه با محیط رویی سلول‌های توموری و فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان تخمدان

مرضیه زمانیان[۱]
سیده طراوت کلانتری[۲]
هادی حسن‌نیا[۳]
ریحانه نصیری منصور[۴]
مبین نادری[۵]
جواد امینی مهابادی[۶]
سعید عابدیان کناری[۷]
سپیده پیوندی[۸]
سید احسان اندرامی[۹]

چکیده

سابقه و هدف: پزشکی باز ساختی بر جایگزینی سلول‌های غیر عملکردی جهت ترمیم بافت‌ها با سلول‌های بنیادی مزانشیمی متمرکز است. بی‌ثباتی ژنومی و احتمال تشکیل تومور، چالش استفاده از این سلول‌ها می‌باشد. درمان‌های بدون سلول مانند محیط کشت شرطی شده (Conditioned Medium-CM) یکی از راهکارهای حل این مشکل است که در آنژیوژنز نقش دارد. تومورهای جامد بدخیم دارای قوی‌ترین مدل‌های آنژیوژنزی می‌باشند. این مطالعه با هدف مقایسه، پتانسیل آنژیوژنزی CM مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون قاعدگی (MenSCs)، بند ناف (UC-MSCs)، سلول‌های توموری تخمدان (SKOV-3) و فیبروبلاست‌های همراه تومور (CAF)، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی– آزمایشگاهی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بندناف استخراج و پاساژ آن‌ها انجام شد. مزانشیمی بودن سلول‌های بنیادی به‌وسیله فلوسایتومتری با استفاده از CD مارکرها تایید شد. کشت سول‌های بنیادی مزانشیمی از خون قاعدگی و بند ناف انسان، فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان تخمدان و سلول‌های رده توموری انجام شد و سپس محیط CM از آن‌ها تهیه شد. میزان VEGFدر CM ها به روش الایزا اندازه‌گیری شد. سلول‌های اندوتلیال ورید بند ناف انسانی (HUVEC) با CM ها تیمار شدند و اثرات تیمارها بر تکثیر این سلول‌ها با تست XTT بررسی شد. میزان آنژیوژنز CM ها در مدل غشای کوریوالانتوییک جنین مرغ مقایسه گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد میزان VEGF ترشح شده در CM سلول‌های توموری (pg/ml ۸۵ ± ۱۵۰۰) و سلول‌های بنیادی خون قاعدگی(pg/ml ۴۸ ± ۱۲۲۰) بیش‌تر از سایر CM ها بوده است (P <۰/۰۱) و میزان تکثیر و تهاجم سلول‌های HUVEC در CM سلول‌های توموری به میزان ۱۱/۶± ۱۳۱/۲ درصد و سلول‌های بنیادی خون قاعدگی به میزان ۸/۶ ± ۱۲۶/۶ درصد به‌ترتیب بیش‌تر از سایر سلول‌ها بوده است (P <۰/۰۱).

استنتاج: براساس نتایج، CMهای مختلف می‌توانند باعث تکثیر سلول‌های اندوتلیالی عروق و آنژیوژنز شوند و همچنین پتانسیل آنژیوژنزی CM سلول‌های توموری به‌طور معناداری بیش‌تر از سایر گروه‌هاست. این یافته می‌تواند کاربرد CM سلول‌های توموری را به‌عنوان گزینه‌ای اقتصادی و اثر بخش در پزشکی بازساختی، به‌ویژه در درمان‌های مبتنی بر ترشحات پاراکرین، تقویت کند.

واژه های کلیدی: آنژیوژنز، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون قاعدگی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بندناف، محیط رویی، فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان

مولف مسئول: احسان اندرامی–ساری: مرکز تحقیقات دیابت، پژوهشکده داروهای گیاهی و اختلالات متابولیک، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران: **Email:** ehsan.enderami@gmail.com

۱. دانشیار زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشجو،کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. استادیارایمونولوژی، دانشکده پیراپزشکی آمل،دانشگاه علوم پزشکی مازندران، آمل، ایران
۴. پژوهشگر پسا دکتری، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک،دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵.کارشناسی ارشد زیست فناوری پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۶. استادیار، مرکز تحقیقات گامتوژنزیز، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۷. استاد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۸. استاد زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۹. استادیار زیست‌فناوری پزشکی، مرکز تحقیقات دیابت، پژوهشکده داروهای گیاهی و اختلالات متابولیک، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت : ۱۴۰۳/۱۱/۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۳/۱۲/۱۵ تاریخ تصویب : ۱۴۰۴/۷/۱۲

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

مقدمه

آنژیوژنز یا رگ‌زایی به معنی ایجاد عروق جدید از مویرگ‌های قبلی است(۱). آنژیوژنز در فرآیندهای فیزیولوژیک مانند ترمیم زخم، تخمک گذاری و رشد و نمو اندام‌ها نقش دارد. در مقابل وظیفه فیزیولوژیک این فرآیند، در برخی مواقع به حالت پاتولوژیک در آمده و بیماری‌هایی از قبیل تومور و آرتریت روماتوئید ایجاد می‌شود(۲). تومور برای رشد به ایجاد عروق جدید وابسته است و مهارکننده‌های آنژیوژنز قادرند در درمان سرطان موثر واقع شوند(۳). سلول‌های اندوتلیال عروق به صورت یک لایه منفرد در دیواره عروق وجود دارند و سبب نفوذپذیری عروق نسبت به مواد جذبی و دفعی می‌شوند(۴). اندوتلیوم در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژی بدن از جمله کنترل سختی عروق، مبادلات خونی، التهاب و رگ‌زایی دخالت می‌کند(۵). سلول‌های توموری هم‌زمان با رشد و تکثیر نیازمند تأمین تغذیه و اکسیژن رسانی بیش‌تری هستند. برای تامین این نیاز فزاینده، سلول‌های توموری شروع به ترشح فاکتورهایی می‌کنندکه باعث رشد و تکثیر سلول‌های اندوتلیال مجاور و ایجاد عروق جدید از آن‌ها می‌شود. در نبود منبع عروقی تومورها دچار نکروز و یا آپوپتوز می‌شوند(۶). در نتیجه این واقعیت وجود دارد که تومور محیطی را ایجاد می‌کند که به رگ‌زایی کمک می‌کند و از طرفی رگ‌زایی به صورت متقابل به رشد تومور کمک خواهد کرد(۷). فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF;Vascular EndothelialGrowth Factor) از مهم‌ترین فاکتورهای رگ‌زایی محسوب می‌شود(۸). سلول‌های بنیادی مزانشیمی که به اختصار MSCs نشان داده می‌شود، یک جمعیت سلول از سلول‌های بنیادی است که معمولاً به آن‌ها سلول‌های استرومال چند ظرفیتی و سلول‌های استرومال مزانشیمی گفته می‌شود(۹). مطالعات نشان داده‌اند که این سلول‌ها گزینه‌ای مناسب و جذاب برای سلول درمانی در درمان‌های مختلف محسوب می‌شوند، زیرا توانایی درمانی این سلول‌ها در ترمیم بافت و بهبود زخم عمدتاً بر پایه اثرات پاراکرین آن‌ها است(۱۰، ۱۲). منشاء MSCs، مزودرم است اما مطالعات نشان دادندکه MSCs می‌توانند به سلول‌های غیر مزودرمی نظیر سلول‌های گلیال مغز و نورون‌ها تمایز یابند(۱۳، ۱۴). سلول‌های بنیادی مزانشیمی را می‌توان از بافت‌های مختلف مانند بافت چربی، مغز استخوان، دندان، اندومتر رحم و بند ناف جنین به‌دست آورد(۹). سلول‌های بنیادی استرومایی خون قاعدگی (MenSCs; Menstrual blood derived stem cells) از لایه‌ی اندومتر رحم منشا می‌گیرد و دارای توانایی بازسازی دوباره‌ی خود و تمایز به سلول‌های هر سه لایه‌ی جنینی(اکتودرم، مزودرم و اندودرم) هستند. از آن‌جا که سلول‌های MenSCs مزیت‌هایی نیز مانند سهولت دسترسی و کشت، تجدید پذیری، قابلیت تکرار نمونه برداری در هر ماه، میزان تکثیر بالا و عدم ناهنجاری‌های کاریوتیپی را نسبت به سایر سلول‌های MSCدارا می‌باشند، می‌توان از این سلول‌ها به عنوان ابزاری جایگزین استفاده نمود(۱۲، ۱۵). علاوه بر این، سلول‌های بنیادی مزانشیمی بند ناف به راحتی از بند ناف جدا شده و در شرایط آزمایشگاهی تکثیر می‌شود. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف در مقایسه با MSCs مشتق از منابع دیگر، میزان تکثیر بالاتر، فراوانی و ایمنی بیش‌تری دارند و راحت‌تر قابل دستکاری هستند(۹). سوپ‌رویی یاConditioned Medium سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف همراه با سایر محرک‌ها توانایی تمایز دادن سلول‌های بنیادی به سلول‌های بافت‌های مختلف را دارد و با اثرات پاراکراین به جایگزینی سلول‌های آسیب دیده کمک می‌کند(۱۶). سلول‌های بنیادی مزانشیمی فعالانه در آنژیوژنز شرکت می‌کنند و این عمل را از طریق تمایز مستقیم، واکنش سلولی مستقیم با سلول‌های اندوتلیال و ترشح پاراکرینی فاکتورهای پرو- آنژیوژنیک انجام می‌دهند(۱۷). عامل اصلی درمان با سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌دلیل ترشح فاکتورهای رشد توسط آن‌ها است(۱۶). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که مکانیسم زیربنای مزایای پیوند سلول‌های

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

بنیادی ممکن است به یک اثر تعدیل‌کننده پاراکرین مربوط باشد تا جایگزینی سلول‌های آسیب دیده در محل آسیب، شود. این اثر تعدیل کننده پاراکرین، از CM مشتق می‌شود که شامل مجموعه متنوعی از فاکتورهای رشد مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و فاکتور رشد فیبروبلاستی-۲ (FGF-2)، سیتوکین‌ها،کموکاین‌ها، عوامل رگ‌زایی و اگزوزوم‌ها هستند. نقش این عوامل به طور فزاینده‌ای به عنوان کلید تنظیم بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله واسطه آپوپتوز، تکثیر و رگ زایی شناخته می‌شود(۱۸). استفاده از CM نسبت به درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی مزایای بیش‌تری دارد. استفاده از مولکول‌های ترشح شده می‌تواند به طور بالقوه از سازگاری سیستم ایمنی، تومور زایی و انتقال عفونت در درمان‌های سلول‌های بنیادی جلوگیری کند. CM همچنین می‌تواند تا حد زیادی هزینه و زمان مرتبط با گسترش و نگهداری رده‌های سلولی را کاهش دهد زیرا می‌تواند از قبل در مقادیر زیاد تهیه شود و در صورت نیاز به سرعت برای درمان در دسترس باشد(۱۹). سلول‌های فیبروبلاست با برقراری ارتباط با طیف وسیعی از سلول های مختلف در هموستاز، پاسخ‌های ایمنی و ترمیم بافت‌های آسیب دیده نقش ایفا می‌کنند(۲۰). فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان، پر جمعیت‌ترین سلول‌های استرومای Tumor Microenvironment می‌باشند. این سلول‌ها عموماً از فیبروبلاست‌های مقیم ناحیه، تحت تأثیر استرس اکسیداتیو، هیپوکسی، فاکتورهای رشدی که از سلول‌های توموری و سلول‌های ایمنی موجود در TME ترشح می‌شوند، نظیر: Transforming Growth Factor beta(TGF-β) و FGF-2 به محیط فراخوانده و فعال می‌شوند. پژوهش‌ها نشان می‌دهند سلول‌های CAF توانایی فعال سازی این مسیر را به‌صورت مستقیم، با ترشح VEGFو یا غیر مستقیم از طریق القای ترشح این سایتوکاین و رسپتور آن و یا مولکول‌های دخیل در فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ VEGF/VEGFR درTME دارند(۲۱). علاوه بر این، TGF-β یک فاکتور رشد است که توسط سلول‌های توموری و سلول‌های استرومای تومور ترشح می‌شود و منجر به پیشرفت تومور از طریق القای EMT، رگ‌زایی و تغییر ساختار استرومای تومور می‌شود. این سایتوکاین به‌صورت موازی همراه با هیپوکسی منجر به افزایش بیان VEGF می‌گردد(۲۲). در این مطالعه، برای نخستین بار، پتانسیل آنژیوژنزی محیط رویی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون قاعدگی و بند ناف در مقایسه با پتانسیل آنژیوژنزی محیط رویی سلول‌های توموری و فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان پرداخته شده است. امید است نتایج حاصل از این مطالعه بتواند افق‌های روشنی را در درمان بیماری‌های ایسکمیک قلبی، ترمیم زخم و کاهش رد پیوند ایجاد کند.

مواد و روش‌ها

جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از ژل وارتون با روش Explant

در این مطالعه تجربی– آزمایشگاهی، با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1400.049 و مصوبه دانشگاه علوم پزشکی مازندران، نمونه‌ی بند ناف بلافاصله پس از زایمان نوزاد Full Term در بیمارستان امام خمینی(ره) شهرستان ساری و پس از کسب رضایت مادر جمع‌آوری شد. در این مطالعه استخراج سلول‌های بنیادی مزانشیمی از ژل وارتون با روش Explant انجام گرفت(۲۳، ۲۴).

تایید سلول‌های بنیادی مزانشیمی به کمک دستگاه فلوسایتومتری

سلول‌های مزانشیمی کشت داده شده در پاساژ ۳ را تریپسینه کرده و پس از شستشو تحت مجاورت با آنتی‌بادی‌های CD73، CD90، CD105، CD45 و CD34 قرار داده شد و سپس خوانش با دستگاه فلوسایتومتری از نظر بیان یا عدم بیان این CD مارکرها آنالیز گردید(۲۵، ۲۶).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون قاعدگی انسان

این سلول‌ها از بانک سلولی مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک دانشگاه علوم پزشکی مازندران تهیه شد. سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون قاعدگی داخل فلاسک T25 حاوی DMEM (Nitafanavaran-Iran) و FBS (fetal bovine serum) (SIGMA-Aldrich) ۱۵ درصد و ۱ درصد آنتی بیوتیک (پنی‌سیلین/ استرپتومایسین) کشت داده شد(۲۷).

کشت فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان CAF

این سلول‌ها از بانک سلولی مرکز تحقیقات بن یاخته تهران تهیه شد و منبع آن فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان تخمدان بوده است. سلول های فیبروبلاست داخل فلاسک T25 حاوی DMEM و FBS ۱۵ درصد و ۱ درصد آنتی بیوتیک (پنی‌سیلین/ استرپتومایسین) کشت داده شد.

کشت رده توموری سرطان تخمدان SKOV-3

از رده‌های سلولی سرطانی تخمدان انسانی بانک سلولی انیستیتو پاستور استفاده شد. سپس سلول‌های تک هسته‌ای داخل فلاسک T25 حاوی (Nitafanavaran-Iran) DMEM و (SIGMA-Aldrich) (fetal bovine serum) FBS ۱۵ درصد و ۱ درصد آنتی بیوتیک (پنی‌سیلین/ استرپتومایسین) کشت داده شد(۲۸).

تهیه محیط CM از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون قاعدگی و بند ناف و سلول‌های توموری و فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان

تعداد ۱×۱۰^{۶} سلول در پاساژهای ۳ تا ۵ در فلاسک‌های T75 کشت شدند. هنگامی‌که تراکم سلولی (confluency) به ۹۰ درصد رسید (در مرحله‌ی فاز لگاریتمی رشد سلولی)، محیط کشت با ۲۰ ml محیط پایه بدون سرم، فنول و مکمل‌ها (DMEM حاوی آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین) جایگزین شد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در $۳۷^{\circ}c$ و CO_2 ۵ درصد محیط کشت رویی این سلول‌ها جمع‌آوری شدند. برای حذف سلول‌ها و بقایای سلولی محیط کشت جمع‌آوری شده، سانتریفیوژ شدند (۲۰ دقیقه در ۳ هزار دور) و سپس از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شدند(۲۹).

اندازه‌گیری VEGF انسانی در CM های مختلف

پس از تهیه‌ی CM، به روش الایزا، VEGF در آن‌ها اندازه‌گیری شد. جهت این منظور ۱۰۰ میکرولیتر از استانداردها و نمونه‌ی CM به هر یک از چاهک‌های ۹۶ خانه‌ای اضافه شدند و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. پس از ۳ بار شستشو با محلول PBS-tween ۰/۰۵ درصد، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی شناسایی کننده VEGF متصل به بایوتین به آن اضافه می‌شود و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه می‌شود. سپس چاهک‌ها ۳ مرتبه با محلول PBS-tween ۰/۰۵ درصد شستشو داده می‌شوند. در مرحله‌ی بعدی به چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر Avidin-HRP اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس چاهک‌ها را با محلول PBS-tween ۳ مرتبه شستشو داده و ۱۰۰ میکرولیتر TMB به‌آن اضافه گردید. پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون در جای تاریک، ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده به چاهک‌ها اضافه شده و plate را در طول موج ۴۵۰ نانومتر و طول موج رفرنس ۶۲۰ نانومتر خوانده شد. در انتها پس از به دست آمدن جذب نوری با استفاده از غلظت‌های استاندارد، نمودار استاندارد را در نرم افزار اکسل رسم و با استفاده از فرمول شیب خط، غلظت VEGF را در CM های مختلف تعیین می گردد. جهت به دست آوردن نتیجه‌ی صحیح، این تست‌ها به صورت تکرار ۳ تایی انجام می‌شود(۳۰).

تیمار سلول‌های اندوتلیالی (Human Umbilical Vein Endothelial Cells)HUVEC با CM ها و بررسی اثرات تیمارها بر روی تکثیر سلول‌های HUVEC

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

جهت ارزیابی فعالیت بیولوژیک CM های تهیه شده از گروه‌های مختلف تست XTTانجام گرفت. جهت انجام این تست، تعداد ۴×۱۰^{۳} سلول HUVEC در پلیت ۹۶ خانه در محیط کشت استاندارد حاوی ۱۰ درصد FBS کشت شدند. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از هر CM به‌صورت تکرار ۳ تایی به چاهک‌ها اضافه شد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای $۳۷^{\circ}c$ و تحت ٪۵ CO_2 سلول‌ها در مجاورت محلول XTT قرار گرفتند و پس از ۲ ساعت انکوباسیون رنگ سنجی توسط دستگاه الایزا ریدر در دو طول موج ۴۵۰ و ۶۲۰ نانومتر صورت گرفت. درصد فعالیت سلول‌ها با فرمول زیر به دست آمد(۳۱).

درصد فعالیت

$$\text{سلول‌ها} = \frac{\text{میانگین جذب نوری سلول تیمارهای شده با CMها}}{\text{میانگین جذب نوری سلول گروههای کنترل}} \times ۱۰۰$$

بررسی پتانسیل آنژیوژنز CM ها در مدل ex ovo غشای کوریوالانتوییک جنین مرغ (CAM)

روش CAM تکنیک بسیار مفیدی برای بررسی پتانسیل رگ‌زایی مواد مختلف از جمله CM می‌باشد. جهت این منظور تخم مرغ‌های نطفه‌دار به صورت افقی با چرخش متناوب و در دمای $۳۷,۵^{\circ}c$ و در رطوبت ۶۵ درصد به مدت ۳ روز در دستگاه انکوباتور نگهداری شدند. سپس پوسته‌ی تخم مرغ‌ها با استفاده از وسایل مناسب بریده شد و به داخل ظرف استریل منتقل شدند. جهت ایجاد دمای یکنواخت در تمام قسمت‌ها، به قسمت زیرین ظرف، آب استریل اضافه شد. جنین را در داخل یک حائل قرار داده و در طول فرایند انتقال، زنده ماندن جنین با مشاهده ضربان قلب جنین بررسی شد. جنین در حال رشد باید در قسمت بالایی کیسه زرده قرار بگیرد. سپس حلقه‌های سیلیکونی در روز هفتم روی CAMکاشته شدند. این حلقه‌ها بین ۲ شریان و در میانه‌ی ظرف قرار داده شدند. ۵۰ میکرولیتر از هر CM در درون هر حلقه‌ی سیلیکونی تحت شرایط استریل اضافه شدند. سپس ظرف حاوی جنین را به داخل انکوباتور در دمای $۳۷^{\circ}c$ برگردانده و تا روز نهم جهت عکس‌برداری با دستگاه Stereoscope باقی ماند. در روز نهم حلقه‌های سیلیکونی برداشته شد و از ناحیه تلقیح جهت آنالیز میزان رگ‌زایی عکس گرفته شد. جهت افزایش صحت در نتایج، آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شدند(۳۲).

از نرم‌افزارهای SPSS ۲۲/۰ و ۶/۰۱ GraphPadprism تحت سیستم عامل ویندوز برای آنالیز آماری نتایج استفاده گردید. همه داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است. سطح معنی‌داری با ضریب اطمینان ۹۵ درصد کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شده و مقدارP، $P<۰/۰۱$ **، $P<۰/۰۵$ * $P<۰/۰۰۰۱$ *** و $P<۰/۰۰۱$ *** از نظر آماری معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

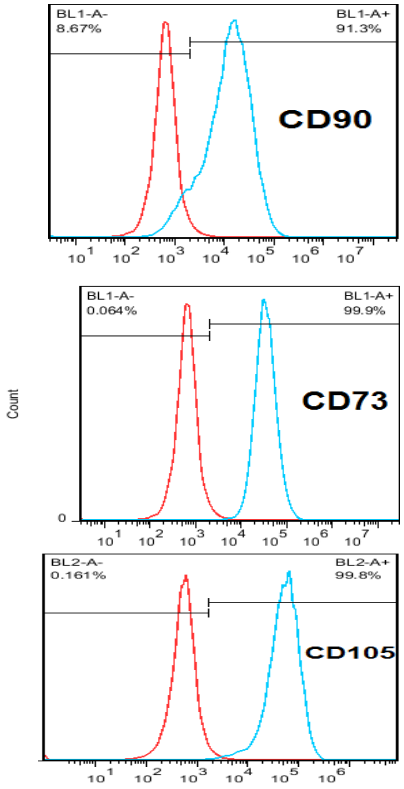
نتایج حاصل از استخراج سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از ژل وارتون و پاساژ آن‌ها تا مرحله P3

پس از استخراج سلول‌ها از ژل وارتون وپاساژ آن‌ها تا مرحله پاساژ سوم، یک جمعیت یکنواخت از سلول‌های دوکی شکل و چسبنده شبیه به موفولوژی فیبروبلاستی به دست آمد.

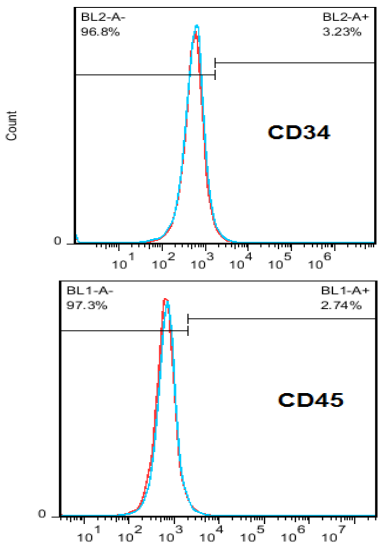
بررسی مزانشیمی بودن سلول‌های بنیادی جدا شده از ژل وارتون توسط دستگاه فلوسایتومتری

برای تایید کردن این سلول‌ها در مرحله مزانشیمی بیان مارکرهای اختصاصی این سلول‌ها با دستگاه فلوسایتومتری انجام شد. نتایج فلوسایتومتری نشان داد درصد بیان مارکرهای اختصاصی سلول‌های بنیادی مزانشیمی شامل CD73، CD90 و CD105 در سلول‌های جدا شده از ژل وارتون به ترتیب ۹۹,۹، ۹۱,۳ و۹۹,۸ درصد می‌باشد (تصویر شماره ۱). در حالی‌که مارکرهای ویژه هماتوپوئیتیک از جمله CD45 و CD34 در این سلول‌ها بیان قابل توجهی نداشتند. این نتایج نشان دهنده ماهیت سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از زل وارتون می باشد (تصویر شماره ۲).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]



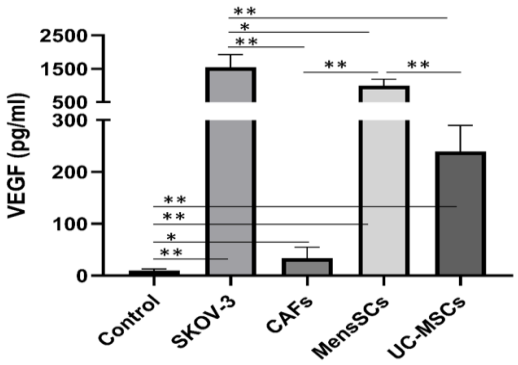
تصویر شماره ۱: مارکرهای سطحی مثبت جدا شده از ژل وارتون



تصویر شماره ۲: مارکرهای سطحی منفی جدا شده از ژل وارتون

سنجش VEGF در CM های تهیه شده و مقایسه آماری میزان ترشح آن در گروه‌های مختلف

در این مطالعه میزان VEGF ترشح شده در CM های جمع‌آوری شده به روش الایزا اندازه گیری شد. همان‌طور که در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است تمام گروه‌های مورد مطالعه، در مقایسه با گروه کنترل به میزان قابل توجهی VEGF تولید کردند. با این وجود میزان تولید VEGF در CM های جمع‌آوری شده از SKOV-3 و MenSCs بیش‌تر از سایر گروه‌ها بوده است. میزان تولید پروتیین VEGF در CM های SKOV-3 به طور معنی‌داری بیش‌تر از CAF، MenSCs و UC-MSCs می‌باشد و در عین حال میزان تولید پروتیین VEGF در MenSCs به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از UC-MSCs و CAF می‌باشد.



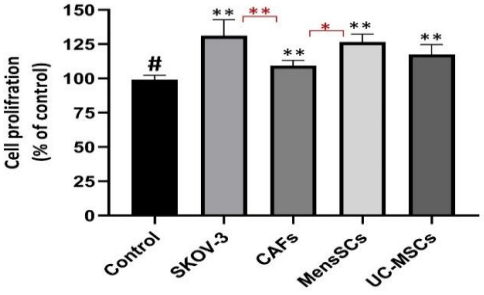
نمودار شماره ۱: مقایسه میزان ترشح VEGF در CM های تهیه شده از گروه‌های مختلف

بررسی اثر CM ها بر روی تکثیر سلول‌های اندوتلیالی عروق رده سلولی HUVEC

در این مطالعه اثر CM های مختلف بر روی تکثیر سلول HUVEC با روش XTT بررسی گردید. همان‌طور که در نمودار شماره ۲، نشان داده شده است، تمام گروه‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری باعث افزایش تکثیر سلول‌های HUVEC شدند (SKOV3-CM به میزان ۱۱/۶ ±۱۳۱/۲ درصد، CAF-CM به میزان ۴/۱ ± ۱۰۹ /۴ درصد، MenSCs-CM به میزان ۸/۶ ± ۱۲۶/۶ درصد و UC-MSCs-CM به میزان ۷/۱ ±۱۱۷/۶ درصد). این نتایج نشان می‌دهد که CM های مختلف می‌توانند باعث تکثیر سلول‌های

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

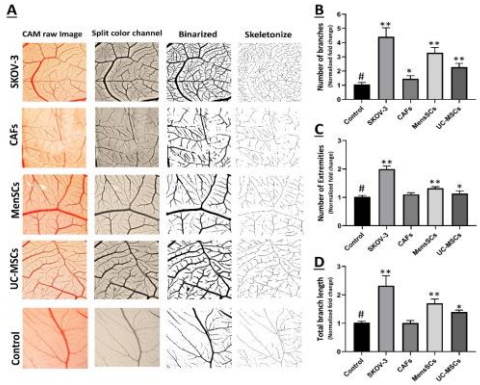
اندوتلیالی عروق و به دنبال‌آن آنژیوژنز شوند. علاوه بر این همان طور که در نمودار شماره ۲، نشان داده شده است میزان تکثیر HUVEC در CM های حاصل از SKOV3 و MenSCs بیش‌تر از سایر گروه‌ها بوده است.



نمودار شماره ۲: مقایسه میزان تکثیر سلول‌های HUVEC در CM های تهیه شده از گروه‌های مختلف

بررسی اثر CM ها بر روی میزان آنژیوژنز در شرایط ex-vivo

برای تایید داده‌های آزمایشگاهی، تست CAM با استفاده از مدل ex-vivo انجام شد. جهت این منظور ۵۰ میکرولیتر از CM های گروه‌های مختلف درون حلقه‌ی سیلیکونی استریل که برروی غشای کوریوالانتوییک قرار گرفته بود، اضافه شد. پس از ۴۸ ساعت مواجهه، با استفاده از استریوسکوپ از درون حلقه‌ی سیلیکونی عکس‌برداری شد. میزان آنژیوژنز عکس‌های گرفته شده با استفاده از نرم افزار image j و پلاگین Angiogenesis Analyzer آنالیز شدند (تصویر شماره ۳، A). جهت همسان سازی نتایج و بهتر نشان دادن تغییرات در بین گروه‌های مختلف، میزان آنژیوژنز در هر گروه بر نمونه کنترل (DMEM medium) تقسیم شد و نتایج به صورت تغییر چند برابری (Fold change) گزارش شد. همان طور که در تصویر شماره ۳، B نشان داده شده است، تعداد شاخه‌ها در همه‌ی گروه‌ها بیش از گروه کنترل و در گروه‌های SKOV-3 و MenSCs بیش‌تر از سایر CM ها می‌باشد. در تصویر شماره ۳، C نشان داده شده است که تعداد جوانه‌های عروق در گروه‌های SKOV-3 و MenSCs بیش‌تر از سایر گروه‌ها بوده است. همچنین در تصویر شماره ۳، D نشان داده شده است که طول کل شاخه‌های عروقی به ترتیب در ۲ گروه SKOV-3 و MenSCs بیش از سایر گروه‌ها بوده است. نتایج به دست آمده هم راستا با نتایج in vitro است، به‌طوری که میزان رگ‌زایی در CM های گروه‌های SKOV-3 و MenSCs بسیار قوی‌تر از سایر گروه‌ها بوده است. تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای در هر گروه نشان داد که تعداد شاخه‌ها و جوانه‌های عروقی و طول کل رگ‌ها در گروه‌های SKOV-3 و MenSCs به‌طور معنی داری بیش‌تر از سایر گروه‌ها بوده است.



تصویر شماره ۳: مورفومتری تصاویر گرفته شده و تعیین میزان آنژیوژنز با استفاده از نرم افزار image j، A، از چپ به راست، تصویر خام از میزان آنژیوژنز، تبدیل تصاویر خام به تصویر ۸ بیتی (Split color channel)، حذف تصویر پس زمینه با استفاده از باینری کردن و حذف نویز قبل از اعمال کمیت مورفومتری با استفاده از آیتم skeletonized چند برابری تعداد شاخه‌ها نسبت به گروه کنترل، C، جوانه‌های رگ نسبت به گروه کنترل و D، طول کل شاخه نسبت به گروه کنترل

بحث

قدرت آنژیوژنزی CM های مختلف سلول توموری تخمدان (SKOV-3)، فیبروبلاست‌های همراه تومور، سلول‌های بنیادی مشتق از خون قاعدگی و سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف مقایسه گردید. جهت این منظور فاکتور تروفیک VEGF در CM ها اندازه‌گیری و هم‌چنین اثر CM های مختلف بر تکثیر و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

تهاجم سلول اندوتلیال عروق (HUVEC) به روش XTT بررسی شد. علاوه بر این، قدرت آنژیوژنزی در مدل ex-vivo در تست CAM بررسی گردید.

در این مطالعه میزان VEGF ترشح شده در CM های جمع‌آوری شده به روش الایزا اندازه‌گیری شد. همان طور که در نمودار شماره ۱، نشان داده شده است، تمام گروه‌های مورد مطالعه، در مقایسه با گروه کنترل به میزان قابل توجهی VEGF تولید کردند. با این وجود میزان تولید VEGF در CM های جمع آوری شده از SKOV-3 و MenSCs بیش‌تر از سایر گروه‌ها بوده است. میزان تولید پروتئین VEGF در CM های SKOV-3 به‌طور معنی داری بیش‌تر از CAF، MenSCs و UC-MSCs می‌باشد و در عین حال، میزان تولید پروتئین VEGF در MenSCs به‌طور معنی داری بیش‌تر از UC-MSCs و CAF می‌باشد. Shang و همکاران در سال ۲۰۲۲ به بررسی تعیین فعالیت و تولید پایدار در محیط رویی فاقد سرم مشتق از سلول‌های اندوتلیال خون قاعدگی پرداختند. میزان ترشح فاکتورهای رگ زایی در MenSC-CM پس از ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت کشت فاکتورهایی شامل angiogenin، bFGF، VEGF، HGF و EGF بررسی شد. پس از ۳۶ ساعت زمان آماده سازی، میزان آنژیوژنین به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر از سایر فاکتورها بود و پس از آن VEGF از سایر فاکتورها به میزان بیش‌تری ترشح شده بود(۳۳). در مطالعه‌ی دیگری Meng و همکاران در مقایسه با ۲ سلول بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف و خون قاعدگی توضیح دادند که MenSC ها در شرایط آزمایشگاهی، متالوپروتئینازهای ماتریکس (MMP3 و MMP10)، فاکتورهای رشد سیتوکین، فاکتور رشد مشتق از پلاکت و عوامل رگ‌زا (آنژیوپویتین-۲، ANG-2) را به مقدار ۱۰-۲۰۰۰۰۰ برابر بیش‌تر از سلول‌های مشتق شده از بند ناف ترشح می‌کنند. با این حال، هیچ تفاوتی با سایر عوامل رگ‌زایی مانند VEGF، HGF و EGF، در ۲ سلول بنیادی مشاهده نشد(۳۴). در مطالعه‌ی Wang و همکاران، هم‌راستا با مطالعه‌ی حاضر به بررسی ویژگی‌های رشد سلول‌های بنیادی مزانشیمی بند ناف انسانی کشت شده با داربست‌های ژل آلژینات و بررسی امکان پذیر بودن مدل پانسمان زخم ترکیب hUCMSCs - آلژینات پرداختند. سلول‌های hUCMSC جدا، کشت و در شرایط آزمایشگاهی شناسایی شدند. سپس سلول‌ها در ژل آلژینات کلسیم ۱۰۰ میلی‌مولار کشت شدند و ظرفیت تکثیر و بیان فاکتورهای رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) به‌طور منظم بررسی شد. مدل پانسمان زخم ترکیب hUCMSCs - ژل آلژینات به نقایص پوست موش پیوند زده شد. میزان بهبود زخم و ایمونوهیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفت. در نتیجه این آزمایش hUCMSC ها به‌خوبی رشد کردند. در مقایسه با گروه کنترل، تعداد سلول به‌طور قابل توجهی بیش‌تر و بیان VEGF بیش‌تر در گروه ژل پس از کشت به مدت ۳-۶ روز نشان داده شد. علاوه بر این، سرعت بهبود زخم پوستی سریع‌تر با نئوواسکولاریزاسیون بیش‌تر در گروه hUCMSCs - ژل آلژینات نسبت به گروه‌های کنترل در روز پانزدهم پس از جراحی مشاهده شد. در نتیجه hUCMSC ها می‌توانند به خوبی تکثیر شوند و VEGF عظیم را در داربست‌های متخلخل ژل آلژینات کلسیم بیان کنند. مدل پانسمان زخم ترکیب hUCMSCs - ژل آلژینات می‌تواند از طریق سیگنال دهیپاراکرین باعث بهبود زخم شود(۳۵). همچنین Jang و همکاران در سال ۲۰۱۶رگ‌زایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های بافت توموری را بررسی کردند. CM، فاکتورهای رگ‌زایی داشته و اثر ویژه‌ای در درمان بیماری‌های ایسکمیک دارد. در این بررسی، CM حاصل از سلول‌های فیبروسارکوما انسانی با CM سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان انسان مقایسه شد. با وجود بالاتر بودن غلظت عوامل رگ‌زایی در CM فیبروسارکوما، نتایج درمانی هر دو یکسان بود. این بررسی با استفاده از موش‌های

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

دارای ایسکمی اندام حرکتی انتهایی انجام شد و مشخص شد که CM می‌تواند رگ‌زایی در ناحیه آسیب دیده را افزایش دهد(۳۶). Shiga و همکاران در مطالعه‌ای که در بررسی ویژگی‌های فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان و نقش آن ها در رشد تومور انجام شد، بیان کردند که فیبروبلاست‌های استرومایی جدا شده از سرطان روده بزرگ مقادیر قابل توجهی IL-6 تولید می‌کنند و سلول‌های سرطانی را برای افزایش تولید IL-6 نیز تحریک می‌کنند. علاوه بر این، IL-6 تولید VEGF توسط فیبروبلاست‌ها را افزایش داده و در نتیجه باعث ایجاد رگ‌زایی می‌شود. مطالعات اخیر همچنین نشان داد که CAF ها بر رگ‌زایی در تومور با مکانیسم‌های مختلفی مانند ترشح VEGF و سایرفاکتورهای رگ‌زایی تأثیر می‌گذارند. همچنین و همکاران گزارش کردند که سلول‌های سرطانی، ترشح این IL را از فیبروبلاست‌ها تحریک می‌کنند و باعث رگ‌زایی تومور می‌شوند(۳۷). علاوه بر این در مطالعه دیگری، PDGF مشتق شده از CAF به عنوان یک عامل اساسی در فعال کردن تولید VEGF نشان داده شده است(۳۸).

مشابه با نتایج مطالعه حاضر، در سال ۲۰۲۳، Zhang و همکاران در مطالعه‌ای تاثیر MenSCs در بهبود نارسایی زودرس تخمدان ناشی از شیمی درمانی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از افزایش بازسازی ساختار تخمدان، افزایش تعداد فولیکول‌ها، بهبود عملکرد هورمونی و افزایش بیان فاکتورهای رشد VEGF و IGF-1 بود. این پژوهش نشان می‌دهد که MenSCs توانایی زیادی در درمان نارسایی تخمدان ناشی از شیمی درمانی دارند و می‌توانند به عنوان گزینه‌ای ایمن، قابل دسترس و کارآمد در حوزه پزشکی باز ساختی مطرح شوند(۳۹).

در مطالعه‌ی He و همکاران در سال ۲۰۲۲، اثر MenSCs بر بازسازی آندومتر آسیب دیده و نقش آن‌ها در فرآیند آنژیوژنز مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج، MenSCs در مدل‌های آزمایشگاهی و حیوانی، باعث افزایش بیان فاکتورهای رگ‌زایی مانند VEGFA و VEGFR1، VEGFR2 در سلول‌های اندوتلیال (HUVEC) شده‌اند که به تحریک آنژیوژنز منجر می‌گردد. در نتیجه، توانایی بالای MenSCs در القای رشد عروق جدید و ترمیم ساختار اندومتر آسیب دیده نقش کلیدی آن‌ها را در بازسازی بافتی نشان داد که مشابه مطالعه حاضر، اهمیت MenSCs را در تحریک آنژیوژنز نمایان کرد(۴۰).

هم‌چنین Lin و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه‌ای به نتایجی برخلاف مطالعه‌ی حاضر دست پیدا کردند. در این مطالعه به بررسی اثر سلول های بنیادی ژلوارتون و CM آن بر سلول‌های لنفوم پرداختند. در روش سنجش MTT و BrDU بر سلول‌های لنفوم، کاهش مشخصی بر زنده مانی و تکثیر سلول‌ها پس از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در معرض سلول‌های بنیادی ژلوارتون و CM آن، نسبت به گروه کنترل نشان داده شد(۴۱). هم‌راستا با مطالعه‌ی حاضر Li و همکاران اثر CM سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر تکثیر کراتینوسیت‌ها را در ریز محیط شبه دیابتی بررسی کردند. تکثیر سلول‌ها به روش MTT بررسی شد. MSC-CM به مقدار کمی تکثیر کراتینوسیت‌ها را افزایش داد(۴۲). در مطالعه‌ی دیگری هم‌راستا با مطالعه‌ی حاضر، Chen و همکاران در سال ۲۰۱۸ به بررسی اثر CM مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان موش بر تکثیر تنوسیت‌ها پرداختند. پس از ۲۴ ساعت مواجهه تنوسیت‌ها با MSC-CM، میزان قابل توجهی تکثیر در تنوسیت‌ها در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد(۴۳). در مطالعه‌ی Litwin و همکاران به بررسی قدرت آنژیوژنز CM سلول‌های تک هسته‌ای کشت شده از مغز استخوان بیماران AML در مقایسه با سلول‌های تک هسته‌ای مغز استخوان سالم پرداختند. در این مطالعه از روش CAM و جوانه زدن اندوتلیال in vitro استفاده شد. با توجه به این که آنژیوژنز یک رویداد مهم در بقا و پیشرفت تومورهای جامد بدخیم می‌باشد، در مقایسه با گروه کنترل مغز استخوان سالم،

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

VEGF خارج سلولی بسیار بیش‌تری در آسپیره‌های مغز استخوان بیماران AML رویت شد. با این حال در هر ۲ روش مطالعه، هیچ تفاوتی در میزان آنژیوژنز CM های هر دو گروه در شرایط آزمایشگاهی وجود نداشت(۴۴). در مطالعه‌ی Cheung و همکاران که هم راستا با مطالعه حاضر می‌باشد، پس از استفاده از CM سلول‌های osteosarcoma در تست CAM، تعداد مویرگ‌ها، انشعابات و تراکم آن‌ها بسیار بیش‌تر از گروه کنترل بوده است. اما هنگامی که از CMفیبروبلاست‌های اولیه انسانی استفاده شد، عروق خونی بسیار صاف و بدون انشعاب و بسیار شبیه به گروه کنترل بود(۴۵). همچنین در مطالعات دیگر، استفاده از سلول‌های بنیادی ژل وارتون، میزان تشکیل عروق خونی عملکردی در تست CAM را در مقایسه با گروه کنترل DMEM به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد و CM مشتق از سلول‌های بنیادی مغز استخوان، تراکم عروق، تعداد رگ‌ها و جوانه‌های عروقی را نسبت به گروه کنترل افزایش داد(۴۶، ۴۷).

در نهایت، شباهت‌های فنوتیپی و عملکردی تکامل سلول های بنیادی و تومورزایی همواره مورد توجه محققین بوده است. تهاجم به بافت‌های پیرامونی، رگ‌زایی گسترده، تکثیر و فرار از سیستم ایمنی از جمله شباهت‌های این دو فرآیند است و فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان یکی از اصلی ترین سلول‌هایی هستند که در بافت‌های توموری وجود دارند. در این مطالعه برای اولین بار پتانسیل آنژیوژنزی محیط رویی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون قاعدگی و بند ناف را با پتانسیل آنژیوژنزی محیط رویی سلول‌های توموری و فیبروبلاست‌های همراه با سرطان را در شرایط in vitro و ex-vivo مقایسه گردید. نتایج مطالعه نشان داد که قدرت آنژیوژنزی محیط رویی سلول‌های MenSC بالا می‌باشد. با این حال قدرت آنژیوژنزی محیط رویی سلول‌های توموری به مراتب بیش‌تر از سلول‌های بنیادی MenSC است. مقایسه نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های قبلی حاکی از آن است که هر چند سلول‌های بنیادی مانند MenSCs و UC-MSCs دارای اثرات مثبت بر رگ‌زایی هستند، اما سلول‌های توموری مانند SKOV-3 از نظر ترشح فاکتورهای رگ‌زا و اثرات عملکردی قوی‌تر عمل می‌کنند. این مسأله اگر چه از نظر ایمنی‌زایی چالش برانگیز است، اما در کاربردهای مهندسی بافت و پزشکی بازساختی می‌تواند در قالب فاکتورهای ترشحی (بدون انتقال سلول) مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

از همکاری صمیمانه افرادی که در انجام این مطالعه یاری رساندند و همچنین معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه تشکر و قدردانی می‌شود. بین نویسندگان هیچ گونه تعارض منافع وجود ندارد. این مقاله مرتبط با طرح پژوهشی با عنوان «ارزیابی پتانسیل آنژیوژنزی محیط رویی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون قاعدگی و بندناف در مقایسه با پتانسیل آنژیوژنزی محیط رویی سلول‌های توموری و فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان» با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1400.049 و مصوبه دانشگاه علوم پزشکی مازندران با کد 8906 می‌باشد.

References

1. Lugano R, Ramachandran M, Dimberg A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. Cell Mol Life Sci 2020; 77(9): 1745-1770 PMID: 31690961.
2. Marrelli A, Cipriani P, Liakouli V, Carubbi F, Perricone C, Perricone R, et al. Angiogenesis in rheumatoid arthritis: a disease specific process or a common response to chronic inflammation?

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

Autoimmun Rev 2011; 10(10): 595-598 PMID: 21545851.

3. Al-Ostoot FH, Salah S, Khamees HA, Khanum SA. Tumor angiogenesis: Current challenges and therapeutic opportunities. Cancer Treat Res Commun 2021; 28: 100422 PMID: 34147821.
4. Ribatti D. The discovery of the fundamental role of VEGF in the development of the vascular system. Mechanisms of Development 2019; 160: 103579.
5. Indraccolo S. Interferon-α as angiogenesis inhibitor: learning from tumor models. Autoimmunity 2010; 43(3): 244-247 PMID: 20166871.
6. Saman H, Raza SS, Uddin S, Rasul K. Inducing angiogenesis, a key step in cancer vascularization, and treatment approaches. Cancers 2020; 12(5): 1172 PMID: 32384792.
7. Garcia J, HurwitzHI, Sandler AB, Miles D, Coleman RL, Deurloo R, et al. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. Cancer Treat Rev 2020; 86: 102017 PMID: 32335505.
8. Mathenge W. Age-related macular degeneration. Community Eye Health 2014; 27(87): 49-50.
9. Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, Phinney DG, Hare JM, Caplan AI. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. NPJ Regen Med 2019; 4(1): 22 PMID: 31815001.
10. Kaokaen P, Pangjantuk A, Kunhorm P, Promjantuek W, Chaicharoenaudomrung N, Noisa P. Conditioned medium of human umbilical cord-mesenchymal stem cells cultivated with human cord blood serum enhances stem cell stemness and secretome profiles. Toxicol in Vitro 2025; 103: 105973 PMID:39561911.
11. Dazzi F, Krampera M. Mesenchymal stem cells and autoimmune diseases. Best Pract Res Clin Haematol 2011; 24(1):49-57 PMID: 21396592.
12. Choi JR, Yong KW, Choi JY. Effects of mechanical loading on human mesenchymal stem cells for cartilage tissue engineering. J Cell Physiol 2018; 233(3): 1913-1928 PMID: 28542924.
13. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J Neurosci Res 2000; 61(4):364-370 PMID: 10931522.
14. Dezawa M, Kanno H ,Hoshino M, Cho H, Matsumoto N, Itokazu Y, et al. Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. J Clin Invest 2004; 113(12): 1701-1710 PMID: 15199405.
15. De Pedro MÁ, López E, González-Nuño FM, Pulido M, Álvarez V, Marchena AM, et al. Menstrual blood-derived mesenchymal stromal cells: impact of preconditioning on the cargo of extracellular vesicles as potential therapeutics. Stem Cell Research & Therapy 2023; 14(1):187.
16. Rezaie J, Heidarzadeh M, Hassanpour M, Amini H, Shokrollahi E, Ahmadi M, et al. The angiogenic paracrine potential of mesenchymal stem cells. Update on Mesenchymal and Induced Pluripotent Stem Cells 2019.
17. Watt SM, Gullo F, Van der Garde M, Markeson D, Camicia R, Khoo CP, et al. The angiogenic properties of mesenchymal stem/stromal cells and their therapeutic

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

potential. Br Med Bull 2013; 108(1): 25-53 PMID: 24152971.

18. Bogatcheva N, Coleman M. Conditioned medium of mesenchymal stromal cells: a new class oftherapeutics. Biochemistry (Mosc) 2019; 84(11): 1375-1389 PMID: 31760924.
19. Jayaraman P, Nathan P, Vasanthan P, Musa S, Govindasamy V. Stem cells conditioned medium: a new approach to skin wound healing management. Cell Biol Int 2013;37(10):1122-1128 PMID: 23716460.
20. Franco OE, Shaw AK, Strand DW, Hayward SW. Cancer associated fibroblasts in cancer pathogenesis. Semin Cell Dev Biol 2010; 21(1): 33-39 PMID: 19896548.
21. Wang FT, Sun W, Zhang JT, Fan YZ. Cancer-associated fibroblast regulation of tumor neo-angiogenesis as a therapeutic target in cancer. Oncol Lett 2019; 17(3): 3055-3065 PMID: 30867734.
22. Sánchez-Elsner T, Botella LM, Velasco B, Corbı A, Attisano L, Bernabéu C. Synergistic cooperation between hypoxia and transforming growth factor-β pathways on human vascular endothelial growth factor gene expression. J Biol Chem 2001; 276(42): 38527-38535 PMID: 11486006.
23. Niknam B, Azizsoltani A, Heidari N, Tokhanbigli S, Alavifard H, Valili MH, et al. A simple high yield technique for isolation of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cell. Avicenna J Med Biotechnol 2024; 16(2):95-103 PMID: 38618506.
24. Varaa N, Azandeh S, Khodabandeh Z, Gharravi AM. Wharton's jelly mesenchymal stem cell: Various protocols for isolation and differentiation of hepatocyte-like cells; narrative review. Iran J Med Sci 2019; 44(6): 437-448 PMID: 31875078.
25. Pham H, Tonai R, Wu M, Birtolo C, Chen M. CD73, CD90, CD105 and Cadherin-11 RT-PCR screening for mesenchymal stem cells from cryopreserved human cord tissue. Int J Stem Cells 2018; 11(1):26-38 PMID: 29843192.
26. Sober SA, Darmani H, Alhattab D, Awidi A. Flow cytometric characterization of cell surface markers to differentiate between fibroblasts and mesenchymal stem cells of different origin. Arch Med Sci 2021; 19(5): 1487-1496 PMID: 37732070.
27. Sun Y, Ren Y, Yang F, He Y, Liang S, Guan L, et al. High-yield isolation of menstrual blood-derived endometrial stem cells by direct red blood cell lysis treatment. Biol Open 2019; 8(5): bio038885 PMID: 31036750.
28. Perna A, Lucariello A, Sellitto C ,Agliata I, Carleo MA, Sangiovanni V, et al. Different cell cycle modulation in SKOV-3 ovarian cancer cell line by anti-HIV drugs. Oncol Res 2017; 25(9):1617-1624.
29. Lee CY, Kang JY, Lim S, Ham O, Chang W, Jang DH. Hypoxic conditioned medium from mesenchymal stem cells promotes lymphangiogenesis by regulation of mitochondrial-related proteins. Stem Cell Research & Therapy 2016; 7(1):38.
30. Rodriguez CR, Fei DT, Keyt B, Baly DL. A sensitive fluorometric enzyme-linked immunosorbent assay that measures vascular endothelial growth factor165 in human plasma. J Immunol Methods 1998; 219(1-2): 45-55 PMID: 9831387.
31. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ,

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

etal. Cell viability assays. Assay guidance manual [Internet]. 2016 PMID: 23805433.

32. Kennedy DC, Coen B, Wheatley AM, McCullagh KJ. Microvascular experimentation in the chick chorioallantoic membrane as a model for screening angiogenic agents including from gene-modified cells. Int J Mol Sci 2021; 23(1): 452 PMID: 35008876.
33. Shang L, Zhang R, Yan J, Lu Y, Zhang S, Sun Y, et al. Sustainable production and activity determination of serum-free conditioned medium from menstrual blood-derived endometrial stem cells. Applied Biochemistry and Biotechnology 2023; 195(2):1109-1121.
34. Meng X, Ichim TE ,Zhong J, Rogers A, Yin Z, Jackson J, et al. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. J Transl Med 2007; 5: 57 PMID: 18005405.
35. Wang S, Yang H, Tang Z, Long G, Huang W. Wound Dressing Model of Human Umbilical Cord MesenchymalStem Cells- Alginates Complex Promotes Skin Wound Healing by Paracrine Signaling. Stem Cells Int 2016; 2016(1): 3269267 PMID: 26880953.
36. Jang HK, Kim BS, Han J, Yoon JK, Lee JR, Jeong GJ, et al. Therapeutic angiogenesis using tumor cell- conditioned medium. Biotechnol Prog 2016; 32(2): 456-464 PMID: 26749152.
37. Shiga K, Hara M, Nagasaki T, Sato T, Takahashi H, Takeyama H. Cancer-associated fibroblasts: their characteristics and their roles in tumor growth. Cancers 2015; 7(4): 2443-2458 PMID: 26690480.
38. Tao L, Huang G, Song H, ChenY, Chen L. Cancer associated fibroblasts: An essential role in the tumor microenvironment. Oncol Lett 2017; 14(3): 2611-2620 PMID: 28927027.
39. Zhang S, Yahaya BH, Pan Y, Liu Y, Lin J. Menstrual blood-derived endometrial stem cell, a unique and promising alternativein the stem cell-based therapy for chemotherapy-induced premature ovarian insufficiency. Stem Cell Res Ther 2023; 14(1):327 PMID: 37957675.
40. He Y, Han Y, Ye Y. Therapeutic potential of menstrual blood-derived stem cell transplantation for intrauterine adhesions. Front Surg 2022; 9: 847213.
41. Lin HD, Fong CY, Biswas A, Choolani M, Bongso A. Human Wharton's jelly stem cells, its conditioned medium and cell-free lysate inhibit the growth of human lymphoma cells. Stem Cell Rev Rep 2014 ;10(4): 573-586 PMID: 24789672.
42. Li M, Zhao Y, Hao H, Dai H, Han Q, Tong C, et al. Mesenchymal stem cell–conditioned medium improves the proliferation and migration of keratinocytes in a diabetes-like microenvironment. Int J Low Extrem Wounds 2015; 14(1): 73-86 PMID: 25759411.
43. Chen Q, Liang Q, Zhuang W, Zhou J, Zhang B, Xu P, et al. Tenocyte proliferation and migration promoted by rat bone marrow mesenchymal stem cell-derived conditioned medium. Biotechnol lett 2018; 40(1): 215-224 PMID: 29018992.
44. Litwin C, Leong KG ,Zapf R, Sutherland H, Naiman SC, Karsan A. Role of the microenvironment in promoting angiogenesis in acute myeloid leukemia.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

Am J Hematol 2002; 70(1): 22-30 PMID: 11994978.

45. Cheung WH, Lee KM, Fung KP, Leung KS. Growth plate chondrocytes inhibit neo-angiogenesis–a possible mechanism for tumor control. Cancer lett 2001; 163(1): 25-32 PMID: 11163105.
46. Prieto CP, Ortiz MC, Villanueva A, Villarroel C, Edwards SS, Elliott M, et al. Netrin-1 acts as a non-canonical angiogenic factor produced by human Wharton's jelly mesenchymal stem cells (WJ-MSC). Stem Cell Res Ther 2017; 8: 43.
47. Merckx G, Hosseinkhani B, Kuypers S, Deville S, Irobi J, Nelissen I, et al. Angiogenic effects of human dental pulp and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles. Cells 2020; 9(2): 312 PMID: 32012900.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]