تأثير الحرارة على قدرة الخلايا الجذعية على الانقسام والتحول إلى خلايا غضروفية لمرضى تآكل الغضاريف

إعداد

رهام ناهض النونو

بحث علمي مقدم لنيل درجة الماجستير في كلية العلوم الطبية التطبيقية–علم أمراض الدم

كلية العلوم الطبية التطبيقية

جامعة الملك عبدالعزيز

جدة – المملكة العربية السعودية

٢١ شعبان ١٤٣٨– ١٧مايو٢٠١٧

تأثير الحرارة على قدرة الخلايا الجذعية على الانقسام والتحول إلى خلايا غضروفية لمرضى تآكل الغضاريف

إعداد

رهام ناهض النونو

بحث علمي مقدم لنيل درجة الماجستير في كلية العلوم الطبية التطبيقية–علم أمراض الدم

اشراف

بروفيسور ممدوح قاري

دكتور كلاميجام جوثامان

كلية العلوم الطبية التطبيقية

جامعة الملك عبدالعزيز

جدة – المملكة العربية السعودية

٢١ شعبان ١٤٣٨– ١٧مايو٢٠١٧

تأثير الحرارة على قدرة الخلايا الجذعية على الانقسام والتحول إلى خلايا غضروفية لمرضى تآكل الغضاريف

رهام ناهض النونو

المستخلص

تعرف الخلايا الغضروفية بقدراتها المحدودة على التجدد مما يجعلها من أهم أسباب مرض خشونة المفاصل. ومما جعل لعملية زرع الخلايا الجذعية من المريض لنفسة ذات مستقبل واعدا. وتتطلب عملية النقل استخدام المنظار وأيضا إلى تعريضها لدرجات حرارة مختلفة قد يؤثر سلبا أو إيجابا على الخلايا المزروعة. نهدف من خلال هذه الدراسة معرفة أثر الحرارة باستخدام المنظار أو التعريض الحراري المباشر على الخلايا الجذعية من حيث دراسة دورة حياة الخلية وقدرتها على التكاثر ونسبة موتها وقدرتها على التحول إلى خلايا غضروفية مكتملة النمو بعد تعرضها للحرارة في كلتا الحالتين باستخدام النقل المباشر أو عن طريق تغليفها بالكولاجين. حيث يقوم الطبيب المعالج بحقنها مباشرة أو بعد تغليفها بالكولاجين بالمنطقة المصابة بالخشونة باستخدام المنظار أو الليزر او غيرها من الطرق المستخدمة أثناء العمليات الجراحية . وبناء على النتائج نقترح أن الحرارة البسيطة (المنخفضة) ولفترات محدودة (قصيرة) لها أثر ايجابي على تنشيط الخلايا وزيادة قدرتها على الانقسام الخلوي و التحول إلى خلايا غضروفية وتقليل نسبة موتها واتضح أن الخلايا المغلفة بالكولاجين كانت هي الأفضل وذلك قد يعود لكون تغليفها بالكولاجين أدى الى خلق طبقة تحمي الخلايا المزروعة بداخلها.

Effect of heat shock on chondrogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells (hBM-MSCs): Implications in regenerative medicine

By

Reham Nahedh Al-Nono

A thesis submitted for the requirements of the degree of

Master of Applied Medical Science in Hematology

Supervised By

Professor Mamdooh Gari

Dr. Kalamegam Gauthaman

FACULTY OF APPLIED MEDICAL SCIENCE

KING ABDULAZIZ UNIVERSITY

JEDDAH – SAUDI ARABIA

Saban 1438H- May 2017G

Effect of heat shock on chondrogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells (hBM-MSCs): Implications in regenerative medicine

By

Reham Nahedh Al-Nono

Abstract

Autologous stem cells transplantation for articular cartilage repair appears promising. However, increase or decrease in temperatures as associated with the use of arthroscope or laser drilling during stem cell based cartilage repair procedures may have detrimental effects on the transplanted stem cells (Steadman JR et al, 2007). In the present study, we attempt to evaluate the effect of heat shock on human bone marrow mesenchymal stem cells (hBM-MSCs) in relation to its proliferation, survival and gene expression of chondrogenic differentiation.

Primary cultures of hBM-MSCs were established and characterized. Early passages of hBM-MSCs ($20x10^3$cells) were exposed independently to arthroscope generated heat and also direct heat at different temperatures (37˚C, 40˚C, 50˚C, 55˚C) and duration (30s, 60s, 90s, 120s) either as cell- pellet or as cell suspensions. Following heat shock the hBM-MSCs were cultured under standard culture conditions for 24h and changes in morphology (Phase-contrast imaging), cell proliferation (MTT assay), cell apoptosis (AnnexinV-FITC and PI) and cartilage related gene expression (qRT-PCR) were evaluated.

Exposure to heat shock affected the cellular functions which was more pronounced in the suspension cells than pelleted cells. Cell death were observed in both groups at elevated temperatures (55˚C) and longer durations (90s, 120s). There was an overall mild increase in cell proliferation in both cell-suspension and cell-pellet groups at 24h at lower temperatures and shorter duration. However, there was nearly 50% decrease in inhibition in the cell-suspension group compared to the cell-pellet group at higher temperatures and duration. Significant changes were observed in the cell proliferation and cartilage related genes in the cell-pellet group compared to the cell-suspension group.

The present study identified that cell-pellet have better proliferation, survival and chondrogenic differentiation compared to cell-suspension in response to heat shock and thus may be useful to transplant cells as pellet form for regenerative medicine applications.