



دانشگاه علوم پزشکی

و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده پزشکی مهندس علیرضا فضلی پور

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد علوم تشریحی

عنوان

بررسی اثر نور سبز و قرمز بر تمایز سلولهای مزانشیمی ژله وارتون بند ناف انسانی به سلولهای

عصبی در حضور القاء کننده شیمیایی

توسط: سامره دهقانی سلطانی

استاد راهنما: دکتر سید نورالدین نعمت اللهی ماهانی

استاد مشاور: دکتر پروین صالحی نژاد

سال تحصیلی 1393

**The Effect of Red and Green Light on The Differentiation of Human  
Umbilical cord Mesenchymal cells into Neural lineage in the  
Presence of Chemical Inducer**

A Thesis Presented to The Post Graduated Studies

By

**SAMEREH DEHGHANI SOLTANI**

In Partial Fulfillment of the Requirements for the degree of Master of sciences in:  
**Human Anatomy**

**Supervisor**

**Dr. Seyed Noralddin nemetollahi mahani**

**Consultant Advisor**

**Dr.Parvin Salehi Nezhad**

**Kerman University of Medical Sciences**

**March 2015**



چکیده:

زمینه و هدف: سلول های مزانشیمی بند ناف علاوه بر توانایی تجدید و نوسازی خود، قادرند به چندین رده سلولی دیگر نیز تمایز یابند. دستیابی به این سلول ها نسبت به سایر سلول های مزانشیمی آسان تر می باشد. مطالعات پیشین اثرات مواد شیمیایی از قبیل فاکتور های رشد و هورمون ها را بر تمایز و تکثیر سلول ها نشان داده اند. اخیراً فاکتور های فیزیکی از جمله تابش نور کم توان ساطع شده از دیود های گسیلنده نور (LED) به عنوان یک فاکتور مؤثر در تکثیر و تمایز سلول های مختلف مطرح شده است. بنابراین هدف ما از این مطالعه بررسی اثر نور سبز و قرمز ساطع شده از LED بر تمایز سلول های مزانشیمی بند ناف انسانی به سلول های رده عصبی می باشد.

روش ها: در این مطالعه از بندناف های انسانی تازه (تعداد= 5) نوزادان سالم و رسیده متولد شده به روش سزارین با کسب اجازه از مادران مراجعه کننده به بخش زنان و زایمان بیمارستان افضلی پور دانشگاه علوم پزشکی کرمان استفاده شد. سلول های HUCMs استخراج شده به روش اکسپلانت از نظر بیان چندین نشانگر سطحی سلول با استفاده از روش فلوسیتومتری بررسی گردید. رنگ آمیزی های Oil Red O و Alizarin Red S جهت ارزیابی پتانسیل تمایزی استئوژنیک و آدیپوژنیک این سلول به کار گرفته شد. به منظور تمایز hUCMs به سلول های عصبی، سلول ها در محیط کشت کامل حاوی رتینوئیک اسید و تحت تابش با نور سبز و قرمز القا شدند. به منظور ارزیابی میزان تمایز سلول ها به رده عصبی از روش های real time pcr و ایمونوسیتوشیمی استفاده شد.

یافته ها: توانایی تمایز به چربی و استخوان در سلول های مزانشیمی بند ناف اثبات شد. همچنین سلولها آنتی ژن های CD90، CD105، و CD74 را به طور قابل توجهی نشان دادند در صورتی که برای آنتی ژن CD34 منفی بودند. نتایج نشان داد که تابش نور سبز و قرمز باعث افزایش تکثیر سلول های مزانشیمی بند ناف می شود. بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی ایمونوسیتوشیمی، تجویز همزمان رتینوئیک اسید و LED باعث افزایش درصد بیان nestin،  $\beta$ -tubulin III، O4 و GFAP می شود. علاوه بر این نتایج نشان داد که بیان ژن های nestin،  $\beta$ -tubulin III و Olig2 در گروه تابش نور سبز نسبت به گروه کنترل افزایش داشت... و همچنین بیان ژن و بیان پروتئینی نشانگرهای خاص سلول عصبی مانند nestin،  $\beta$ -tubulin، olig2، O4 و GFAP در سلول های مذکور نشان داده شد.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که نور سبز و قرمز باعث بهبود تکثیر سلول های مزانشیمی بند ناف میشود، همچنین تابش نور LED باعث پیشبرد تمایز سلول های مذکور به نورون، الیگودندروسیت و آستروسیت می شود.

کلمات کلیدی: دیود گسیلنده نور؛ سلول های مزانشیمی بند ناف انسانی؛ نور سبز و قرمز؛ تمایز عصبی؛ رتینوئیک اسید.

## Abstract:

**Background:** Human umbilical cord matrix-derived mesenchymal cells (hUCMs) have self-renewal potential and competence of multilineage differentiation. They can be more easily obtained and processed than other mesenchymal stem cells. Previous studies have reported that chemical agents including growth factors and hormones regulate cell proliferation and differentiation. Physical factors such as low level light irradiation provided by light emitting diodes (LED) have recently been introduced as a potential factor for proliferation and differentiation of various cell types. Thus, we aimed at this study to evaluate the effect of red and green lights produced by LED on the differentiation of human umbilical cord matrix-derived mesenchymal cells into neural cells.

**Materials and Methods:** Fresh human umbilical cords (n= 5) were obtained during cesarean section after receiving informed consent from mothers who referred to gynecology ward in the Afzalipour hospital, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. Derived hUCM cells by explant method were used for induction of neural differentiation. The expression of several markers was evaluated using flow cytometry. Alizarin Red S and Oil Red O were performed to detect the osteogenic and adipogenic differentiation to in these cells. To differentiate hUCMs into neural cells, these cells were induced by retinoic acid and LED's irradiation. To analyze induced hUCM cells toward neural cells, we applied immunocytochemistry and real time PCR.

**Results:** The hUCMs differentiate into osteoblasts and adipocytes, also these cells were positive for mesenchymal markers (CD73, CD90 and CD105), while they were negative for hematopoietic marker (CD34). The results demonstrated that red and green light can enhance proliferation of hUCMs. Based on immunocytochemistry evaluation, our data revealed that coadministration of retinoic acid and LED irradiation induced hUCM cells to express the highest percentage of nestin,  $\beta$ -tubulin III, GFAP and O<sub>4</sub>. In addition to the results show that the gene expression of nestin,  $\beta$ -tubulin III and olig<sub>2</sub> increased in the green LED irradiation group in compare to control group.

**Conclusions:** results show that the red and green light that provided by LED can enhanced proliferation of hUCMs and induce these cells to differentiate into neuron, oligodendrocyte and astrocyte in the presence of retinoic acid.

Keywords: LED irradiation; human umbilical cord mesenchymal cells; red and green lights; neural differentiation; retinoic acid.