جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقایسه قابلیت ترمیم استخوان حاصل از سلول‌های بنیادی بافت چربی با استخوان اتوژن: یک مطالعه حیوانی

دکتر ناصر پورابراهیم*، دکتر بتول هاشمی بنی[۱]، دکتر نکیسا ترابی‌نیا[۲]، دکتر شیرین شاه ناصری[۳]

چکیده

مقدمه: هدف از این بررسی، مقایسه استخوان تولید شده از طریق مهندسی بافت و مشتق از سلول‌های بنیادی بافت چربی با پیوند استخوان اتوژن در ترمیم مدل شکاف آلوئول فک بالای سگ بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی مداخله‌ای، در ٤ سگ سلول‌های بنیادی مزانشیمال، پس از شناسایی مارکرها توسط تکنیک فلوسیتومتری، از بافت چربی زیر جلدی جدا و پس از کشت، تکثیر شد. این سلول‌ها در داربست‌های هیدروکسی آپاتیت- تری کلسیم فسفات کاشته شد و در محیط استئوژنیک قرار گرفت. صحت القای استئوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمال توسط تکنیک RT-PCR تأیید شد. ابتدا در ٤ سگ دو دندان از سه دندان انسیزور در هر طرف خارج و در دو طرف دیفکتی با عرض ۱۵ میلی‌متر از کرست آلوئول تا کف بینی ایجاد شد. مخاط بینی به مخاط دهان بخیه شد و جهت حفظ فضا، در هر طرف استنتی قرار گرفت. پس از ٦۰ روز، در یک سمت، شکاف توسط سلول‌های استئوژنیک حاصل از تمایز استئوژنز و در سمت دیگر توسط استخوان اتوژن به دست آمده از استخوان تیبیای سگ بازسازی شد. میزان استخوان سازی در هر سمت در زمان‌های ۱۵ و ٦۰ روز پس از جراحی با تکنیک هیستومورفومتری ارزیابی گردید. داده‌ها با شاخص‌های آماری توصیفی و آزمون t آنالیز شد ($\alpha = ۰/۰۵$).

یافته‌ها: میانگین تشکیل استخوان پس از ۱۵ و ٦۰ روز از جراحی مرحله دوم، در سمت اتوگرافت به ترتیب ٤۵ و ۹۵ درصد و در سمت سلول بنیادی به ترتیب ۵ و ۷۰ درصد بود. تفاوت استخوان‌سازی در ۲ گروه اتوگرافت و سلول بنیادی در هر دو زمان از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p value به ترتیب ۰/۰۰٤ و ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: تکنیک مهندسی بافت در مواردی که محدودیت دسترسی به استخوان اتوژن وجود دارد یا احتمال ایجاد موربیدیتی قابل توجه در محل دهنده وجود داشته باشد، می‌تواند به عنوان یک تکنیک جایگزین با موفقیت کلینیکی و درصد استخوان‌سازی مطلوب مد نظر قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: سلول بنیادی،استخوان،آلوئول، شکاف،HAP-TCP.

* استادیار، گروه جراحی دهان، فک و صورت،دانشکده دندان پزشکی و عضو مرکز تحقیقات پروفسور ترابی نژاد، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. (مؤلف مسؤول)
n.pourebrahim37@gmail.com

۱: استادیار، گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲: استادیار، گروه پاتولوژی دهان فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی و عضو مرکز تحقیقات پروفسور ترابی نژاد، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۳: متخصص جراحی دهان، فک و صورت، اصفهان، ایران.

این مقاله حاصل پایان‌نامه دانشجویی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

این مقاله در تاریخ ۸۹/۵/۲۵ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۸۹/۷/۲۷ اصلاح شده و در تاریخ ۸۹/۹/۲۹ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۸۹؛ ۶(۴)؛ ۳۷۱ تا ۳۷۶

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

تاریخ جراحی فک و صورت شاهد تلاش‌های بی‌وقفه جراحان برای بهبود نتایج بازسازی نقایص کرانیوفاسیال که اثراتی مخرب روی زیبایی، عملکرد و روح و روان بیماران دارد، بوده است. هدف، بازسازی شکل، عملکرد و برگرداندن بیمار به جامعه می‌باشد. اتیولوژی نقایص کرانیوفاسیال که نیاز به پیوند استخوان دارند آسیب‌های تروماتیک یا علل مادرزادی می باشد. هر چند پیوند استخوان اتوگرافت که از خود بیمار به دست می‌آید، به علت دارا بودن سلول‌های استئوژنیک و ماتریکسی که سیستم ایمنی را تحریک نمی‌کند، بهترین انتخاب به نظر می‌رسد؛ اما معایبی مثل ایجاد نقص در ناحیه دهنده، اختلال در رشد، تحلیل و محدودیت در میزان دارد. تکنیک مهندسی بافت حیطه‌ای جدید اما به سرعت رو به گسترش با توانایی بالا جهت درمان بیماران می‌باشد. هدف نهایی مهندسی بافت، ترغیب توانایی بدن برای رژنراسیون بافت‌ها از طریق پاسخ‌دهی به مواد و محیط‌های خاصی می‌باشد که می‌تواند جایگزین روش‌های اتوگرافت، آلوگرافت و استفاده از مواد سنتتیک در بازسازی نقایص شود. استراتژی مطلوب برای شکل دهی استخوان شامل ترکیب داربستی مناسب با سلول‌هایی واجد صلاحیت یا با مولکول‌ها و محیط‌هایی ویژه می‌باشد و تلاش‌های اخیر در صدد بررسی هر کدام از این اجزاء و چگونگی درمان نقایص استخوانی توسط این روش‌ها بوده است.

شکاف دهانی- صورتی شایع‌ترین ناهنجاری مادرزادی در ناحیه کرانیوفاسیال و دومین ناهنجاری مادرزادی شایع پس از Club foot می‌باشد. بروز شکاف، ۴۷۵ مورد در هر ماه و ۱۵ مورد در هر روز می‌باشد و عوامل متعدد ژنتیکی و محیطی در ایجاد این ناهنجاری نقش دارند[۱]. شکاف لب و کام، مشکلات زیبایی و عملکردی برای بچه‌ها ایجاد می‌کند، صحبت کردن بیمار را با مشکل روبه‌رو می‌کند و احتمال عفونت گوش را نیز بالا می‌برد[۲].

گرافت استخوان شکاف آلوئول بخش جدایی ناپذیر در پروسه درمان بیماران با شکاف لب و کام یک‌طرفه یا دوطرفه می‌باشد. بهترین نتایج زمانی حاصل می‌شود که این جراحی قبل از رویش کانین دایمی انجام گیرد. استخوان اتوژن تازه، ماده پیوندی مطلوبی است و به عنوان Gold standard در درمان شکاف آلوئول زمانی که از مکان مناسب مثل کرست ایلیاک، مندیبل، استخوان تیبیا، دنده یا کالواریوم برداشته شود، محسوب می‌گردد؛ چرا که شامل سلول‌های استخوانی زنده زیادی است که برای استئوژنز ضروری می‌باشد[۴، ۳].

پیوند استخوان اتوژن معایبی نیز دارد که مقدار محدود گرافت قابل حصول، ایجاد آسیب در محل ناحیه دهنده گرافت و احتمال ایجاد عفونت یا هماتوم بعد از جراحی در ناحیه دهنده از آن دس است. جهت دستیابی به سلول‌های استخوان‌ساز راه حل مناسب استفاده از سلول‌های بنیادی است؛ سلول بنیادی، سلولی است که توانایی تجدید خودبه‌خود و توانایی تمایز به رده‌های مختلف سلولی تا حد ایجاد شکل تخصصی آن سلول را دارا می‌باشد.

امروزه نشان داده شده است که سلول‌های بنیادی توانایی تمایز به انواع سلول‌ها شامل مزودرمال، اندودرمال و اکتودرمال را دارا می‌باشند. با شناخت سلول‌های بنیادی مزانشیمال Pluripotent، مطالعات زیادی در این زمینه انجام شده است. انعطاف پذیری زیاد سلول‌های بنیادی مزانشیمال به توانایی ذاتی این سلول‌ها برای عبور از موانع و تطابق با خصوصیات فنوتیپی، بیوشیمیایی و عملکردی بافت‌های مختلف مربوط می‌شود که این سلول‌ها را به استانداردی در حیطه طب بازسازی توسط سلول‌های بنیادی تبدیل کرده است[۵].

با این حال بحث زیادی روی منبعی که برای دست یافتن به سلول‌های استئوپروژنیتور و کاربرد در مهندسی بافت استخوان مطلوب باشد، وجود دارد. با تمام ویژگی‌های مطلوب سلول‌های بنیادی مزانشیمال با منشأ مغز استخوان برای کابرد در مهندسی بافت، محدودیت‌هایی نیز وجود دارد که مهم‌ترین آن تعداد کم این سلول‌ها در مغز استخوان و دردناک بودن برداشت نمونه از مغز استخوان است که نیاز به بیهوشی عمومی یا نخاعی دارد. یکی از انواع سلول‌های بنیادی مزانشیمی، سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (Adipose-derived stem cells یا ASCs) است که سلول‌های Lipoaspirate processed نیز نامیده می‌شود. این سلول‌ها به راحتی از چربی زیر پوست به دست می‌آید. نشان داده شده است که سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان، هنگامی که با بیومتریال‌های خاص به کار رود، توانایی تولید استخوان در مقادیر زیاد را در استخوان‌های دراز دارد[۶].

به خاطر فراوانی، سهولت در تهیه و تکثیر وسیع in vitro،

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

سلول‌های بنیادی مشتق از چربی کاندید مطلوبی برای کاربرد در مهندسی بافت جهت تولید استخوان است. دانشمندان سراسر جهان به دنبال حامل و منشأ مناسب برای این سلول‌ها جهت بازسازی استخوان هستند. داربست یک چارچوب موقتی برای رشد و تمایز سلول‌ها، چسبندگی و مهاجرت سلول‌ها فراهم می‌آورد. در مطالعات حیوانی در حوزه مهندسی بافت، داربست‌های استفاده شده از سرامیک‌های هیدروکسی آپاتیت تا ترکیب HA/TCP برای بازسازی نقایص استخوانی در سگ‌ها، گوسفند، و خرگوش متغیر بوده است[۷].

با توجه به این که تا کنون مطالعه‌ای در زمینه درمان شکاف آلوئول ایجاد شده در سگ‌ها از طریق تکنیک مهندسی بافت و به کمک سلول‌های مزانشیمی مشتق از چربی در ایران انجام نشده بود، برآن شدیم تا طی تحقیقی به بررسی کمی تفاوت‌های استخوان تولید شده از طریق تکنیک مهندسی بافت با منشأ سلول‌های بنیادی بافت چربی نسبت به استخوان اتوژن در درمان شکاف آلوئول بپردازیم. ب نتایج این مطالعه، زمینه را برای اتخاذ بهترین تدابیر درمانی در بیماران با شکاف آلوئول فراهم می‌آورد.

مواد و روش‌ها

این کارآزمایی بالینی در سال ۱۳۸۸با روش نمونه گیری آسان روی ۴ سگ با وزن ۲۰-۱۵ کیلوگرم با سن ۲۴-۱۲ ماه در مرکز تحقیقات ترابی نژاد دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد.

دوره واکسیناسیون کامل در سگ‌ها انجام و داروهای ضد انگل به آن‌ها داده شد. قبل از جراحی سگ‌ها در مرحله اول به مدت ۱۵ روز قرنطینه شدند و ۲۴ ساعت قبل از تا ۲۴ ساعت بعد از هر جراحی، ناشتا (NPO) ماندند که در این مدت تحت سرم تراپی با رینگر لاکتات قرار گرفتند.

هر سگ با ۲۰ mg/kg کتامین و ۲ mg/kg رامپون بیهوش گردید و ادامه بیهوشی بعد از لوله گذاری با N_2O و هالوتان انجام شد. در هر سگ دو دندان از سه دندان انسیزور در هر طرف خارج و دیفکتی با طول ۱۵ mm، به پهنای ریج آلوئول فک بالا و ارتفاع تا مخاط کف بینی ایجاد شد و سپس مخاط بینی به مخاط دهان بخیه گردید. در جراحی مرحله اول، علاوه بر ایجاد دیفکت، از هر سگ حدود ۲۰ گرم چربی زیر جلدی از ناحیه کتف برداشته و جهت جداسازی سلول‌های بنیادی و القای آن‌ها به سلول‌های استئوژنیک به لابراتوار کشت سلول مرکز تحقیقات ترابی نژاد منتقل شد. سپس محل برش در ۳ لایه بخیه گردید و درن جهت جلوگیری از تشکیل هماتوم تا ۴۸ ساعت در محل برش قرار داده شد. بعد از گذشت ۶۰ روز از جراحی مرحله اول و القای سلول‌های بنیادی چربی به سلول‌های استخوان‌ساز، سگ‌ها برای جراحی مرحله دوم آماده شدند، مطابق روش قبل بیهوش شدند و فلپ در محل شکاف آلوئول بلند شد. پس از ترمیم کف بینی، فضای دیفکت یک سمت توسط ۱۰ cc استخوان اتوژن پیوندی که همان جلسه از استخوان تیبیای سگ به دست آمد، ترمیم شد. سمت دیگر، فلپ‌ها مطابق قبل آماده شد و محل دیفکت توسط سلول‌های بنیادی القا یافته به سلول استخوان‌ساز و کاشته شده در داربست HA/TCP بازسازی گردید؛ در هر دو طرف، مخاط روی گرافت توسط نخ پرولن ۴ صفر و به صورت Water tight بخیه شد. سپس سگ‌ها آمپول ضد درد و آنتی‌بیوتیک به مدت ۷ روز دریافت کردند و تحت مراقبت و نظارت کامل جهت جلوگیری از بازشدگی بافت در محل ترمیم قرار گرفتند.

در هر سگ دیفکت آلوئولار در ناحیه قدامی فک بالا که در ارتباط با بینی بود، یکی جهت درمان با سلول بنیادی و دیگری جهت درمان با استخوان اتوژن، ایجاد شد. بعد از هر جراحی، سگ‌ها تا ۷ روز بعد از جراحی، روزانه ۱ میلی‌گرم سفتریاکسون عضلانی دریافت کردند. همچنین از روز دوم بعد از جراحی مرحله اول و دوم تا ۳ هفته بعد، رژیم غذایی نرم داشتند.

استخوان‌سازی، کلاژن‌سازی، استئوبلاست فعال، زمان، روش درمان، بروز مارکر سلول‌های بنیادی و بروز مارکر سلول‌های استئوبلاست بررسی شد. ارزیابی ساختارهای حاصل پس از القای استئوژنیک با بررسی‌های هیستولوژیک، رنگ آمیزی با تری‌کروم ماسون و تکنیک فلوسیتومتری انجام شد؛ روش RT-PCR نیز برای ارزیابی بیان ژن‌های مربوط به ملکول‌های ماتریکس ویژه استخوان به کار رفت.

برای آنالیز تغییرات متغیرهای استخوان‌سازی و کلاژن سازی طی زمان پی‌گیری، علاوه بر استفاده از شاخص‌های آمار توصیفی از روش آنالیز Paired sample t-test استفاده شد. سطح معنی‌داری در این تحقیق ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در فلوسیتومتری جهت شناسایی مارکرهای سطحی سلول‌های بنیادی مشتق از چربی ۹۰/۷۵ درصد سلول‌ها حاوی مارکر CD90 و ۹۹ درصد سلول‌ها حاوی مارکر CD44 بود.

همچنین نتایج RT-PCR نشان داد که سلول‌های حاصل از تمایز استئوژنیک، ژن‌های استئوکلسین و کلاژنI را به خوبی بیان کردند که این دو ژن از مارکرهای مهم استئوژنز محسوب می‌شود و بیان آن‌ها نشانگر القای موفق سلول‌های بنیادی مزانشیمال به سلول‌های استئوژنیک بود. ژن House-keeping انتخاب شده GAPDH بود.

تفاوت درصد استخوان سازی در سمت اتوگرافت در مقایسه با سلول بنیادی در ۱۵ و ۶۰ روز پس از جراحی، از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p value به ترتیب ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۱).

تفاوت درصد کلاژن سازی در سمت اتوگرافت نیز در مقایسه با سلول بنیادی در ۱۵ و ۶۰ روز پس از جراحی، از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p value به ترتیب ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۱).

شایان توجه است که سلول‌های استئوبلاست فعال پس از ۱۵ روز تنها در نمونه‌های اتوگرافت مشهود بود؛ حال آن که پس از ۶۰ روز در تمام نمونه‌ها شامل اتوگرافت و سلول بنیادی، سلول‌های استئوبلاست فعال دیده شد.

بحث

تاریخ جراحی فک و صورت شاهد تلاش‌های بی‌وقفه جراحان برای بهبود نتایج بازسازی نقایص کرانیوفاسیال است که اثراتی مخرب روی زیبایی، عملکرد و روح و روان بیماران دارد. شکاف دهانی- صورتی به عنوان شایع‌ترین ناهنجاری مادرزادی در ناحیه کرانیوفاسیال نیز از این امر مستثنی نیست و گرافت استخوان شکاف آلوئول بخش جدایی ناپذیر در پروسه درمان بیماران با شکاف لب و کام یک طرفه یا دو طرفه می‌باشد.

Swan و همکاران در مطالعه‌ای گذشته‌نگر به بررسی نتایج ۱۱ سال درمان بیماران با گرافت ثانویه شکاف آلوئول توسط استخوان ایلیاک پرداختند[۸]. آن‌ها عوارضی چون عفونت سطحی، درد مداوم، بی‌حسی، اختلال در راه رفتن و اسکار هیپرتروفیک در موضع گرافت را بررسی و چنین نتیجه‌گیری کردند که هر چند احتمال عوارض بعد از عمل به دنبال برداشت گرافت استخوان ایلیاک در مقایسه با گرافت تیبیا، دنده و کالواریوم بسیار کمتر است و توسط بیماران به خوبی تحمل می‌شود اما احتمال وقوع عوارض وجود دارد و این مورد به خصوص در کودکان، باید مورد توجه قرار گیرد. Tessier و همکاران[۹] ۲۰ هزار مورد از عوارض گرافت استخوان اتوژن طی ۵۰ سال جراحی را گزارش کرده‌اند؛ بر این اساس، عوارض برداشت استخوان کرانیال به عنوان گرافت بین ۱ تا ۶ درصد گزارش شده که شامل تشکیل هماتوم، عفونت، استئومیلیت، پارگی دورا و عوارض جدی نورولوژیکی بوده است. در حال حاضر، استخوان ایلیاک انتخاب اول برای درمان ثانویه شکاف آلوئول می‌باشد. در تلاش برای اجتناب از عوارض برداشت استخوان اتوژن به عنوان گرافت در درمان نقایص استخوانی کرانیوفاسیال، تکنیک مهندسی بافت طی سال‌های اخیر به عنوان یک روش جایگزین مورد مطالعه قرار گرفته است.

هدف نهایی مهندسی بافت، ترغیب توانایی بدن برای رژنراسیون بافت‌ها از طریق پاسخ دهی به مواد متابولیک خاص می‌باشد و در واقع رژنراسیون بافت‌ها از طریق کاربرد مدیاتورها و ماتریکس‌های بیولوژیک مقدور می‌گردد. یکی از زیر گروه‌های مهندسی بافت، درمان بر پایه سلول است که شامل قرارگیری مستقیم سلول در ناحیه آناتومیک برای بازسازی می‌باشد. منشأ سلول (اتوژن یا آلوژن)، نوع سلول (بنیادی یا سلول بالغ تمایز یافته) و منشأ بافت (مغز استخوان، عضله، چربی و گردش خون) از فاکتورهای مهم در طرح ریزی درمان بر پایه سلول است[۱۰]. پس از اولین گزارش در سال ۱۹۸۷ مبنی بر استفاده از سلول‌های مزانشیمال برای تولید بافت‌های مزانشیمال مثل استخوان و غضروف[۱۱]، دانشمندان سراسر جهان مطالعات گسترده‌ای جهت دستیابی به بهترین حامل و مناسب‌ترین منشأ برای این سلول‌ها جهت بازسازی استخوان انجام داده‌اند. جعفریان و همکاران[۱۲] با استفاده از سلول‌های مزانشیمال مشتق از مغز استخوان و تمایز یافته به سلول استئوژنیک اقدام به بازسازی دیفکت‌های ایجاد شده در استخوان مندیبل ۴ سگ نمودند و پس از ۴۵ روز پی‌گیری نتایج رژنراسیون را با بررسی هیستومورفومتری در ۴ گروه درمان شده با داربست TCP-HA همراه با سلول بنیادی، داربست TCP-HA به تنهایی، داربست OSS-Bio همراه با سلول بنیادی و داربست OSS-Bio به

تنهایی گزارش کردند. آن‌ها بالاترین درصد استخوان سازی (۶۶ درصد) را در گروه TCP-HA همراه با سلول بنیادی و کمترین درصد آن را در گروه OSS-Bio بدون سلول (۲۴ درصد) گزارش کردند. جعفریان و همکاران[۱۲] همچنین داربست TCP-HA را به عنوان داربستی مناسب جهت حمل سلول‌های بنیادی عنوان کردند که نتایج مطلوب استخوان سازی مطالعه ما پس از ۶۰ روز این امر را تأیید می‌کند.

مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران و جهان، به بررسی کمی استخوان تولید شده توسط تکنیک مهندسی بافت با استخوان اتوژن پرداخت و نتایج مطالعه حاکی از آن بود که هر چند پیوند استخوان اتوژن هنوز استاندارد طلایی درمان نقایص استخوانی از جمله شکاف آلوئول می‌باشد اما تکنیک مهندسی بافت در مواردی که محدودیت دسترسی به استخوان اتوژن داریم یا احتمال ایجاد ناخوشی (Morbidity) قابل توجه در محل دهنده می‌رود، می‌تواند به عنوان یک تکنیک جایگزین با موفقیت کلینیکی و استخوان سازی مطلوب مورد استفاده قرار گیرد. با انجام این تحقیق مشخص گردید که تکنیک مهندسی بافت در درمان شکاف آلوئول با موفقیت کلینیکی همراه است و در بیمارانی که امکان دستیابی به اتوگرافت نمی‌باشد و یا ابعاد بزرگ دیفکت، میزان اتوگرافت قابل استحصال از بیمار را محدود می‌کند، تکنیک جایگزین مناسب و با روند استخوان‌سازی قابل پیش‌بینی می‌باشد.

References

1. Moreau JL, Caccamese JF, Coletti DP, Sauk JJ, Fisher JP. Tissue engineering solutions for cleft palates. J Oral Maxillofac Surg 2007; 65(12): 2503-11.
2. Ferguson WJ. Palate development. Development 1988; 103(Suppl): 41-60.
3. Freihofer HP, Borstlap WA, Kuijpers-Jagtman AM, Voorsmit RA, van Damme PA, Heidbuchel KL, et al. Timing and transplant materials for closure of alveolar clefts. a clinical comparison of 296 cases. J Craniomaxillofac Surg 1993; 21(4): 143-8.
4. LaRossa D, Buchman S, Rothkopf DM, Mayro R, Randall P. A comparison of iliac and cranial bone in secondary grafting of alveolar clefts. Plast Reconstr Surg 1995; 96(4): 789-97.
5. Bunnell BA, Flaat M, Gagliardi C, Patel B, Ripoll C. Adipose-derived stem cells: isolation, expansion and differentiation. Methods 2008; 45(2): 115-20.
6. Arinzeh TL, Peter SJ, Archambault MP, van den BC, Gordon S, Kraus K, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect. J Bone Joint Surg Am 2003; 85-A(10): 1927-35.
7. Bruder SP, Kraus KH, Goldberg VM, Kadiyala S. The effect of implants loaded with autologous mesenchymal stem cells on the healing of canine segmental bone defects. J Bone Joint Surg Am 1998; 80(7): 985-96.
8. Swan MC, Goodacre TE. Morbidity at the iliac crest donor site following bone grafting of the cleft alveolus. Br J Oral Maxillofac Surg 2006; 44(2): 129-33.
9. Tessier P, Kawamoto H, Posnick J, Raulo Y, Tulasne JF, Wolfe SA. Complications of harvesting autogenous bone grafts: a group experience of 20,000 cases. Plast Reconstr Surg 2005; 116(5 Suppl): 72S-73S; discussion 92S-94S.
10. Gafni Y, Turgeman G, Liebergal M, Pelled G, Gazit Z, Gazit D. Stem cells as vehicles for orthopedic gene therapy. Gene Ther 2004; 11(4): 417-26.
11. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. Cell Tissue Kinet 1987; 20(3): 263-72.
12. Jafarian M, Eslaminejad MB, Khojasteh A, Mashhadi Abbas F, Dehghan MM, Hassanizadeh R, et al. Marrow-derived mesenchymal stem cells-directed bone regeneration in the dog mandible: a comparison between biphasic calcium phosphate and natural bone mineral. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008; 105(5): e14-24.

Comparison of regeneration of bone produced from the adipose tissue stem cells with autogenous bone: an animal study

Naser Pourebrahim*, Batool Hashemi Bani, Nakisa Torabi Nia, Shirin Shah Naseri

Abstract

Introduction: *This study compared bone produced by tissue engineering from the adipose tissue stem cells with autogenous bone graft (ABG) in the repair of alveolar cleft model in the maxilla of dogs.*
Materials and Methods: *In this experimental-interventional study, mesenchymal stem cells were isolated from four dog's subcutaneous fat tissue after detecting the markers by flow cytometry; then the cells were proliferated after cultivation. These cells were cultured in hydroxyapatite tricalcium phosphate scaffolds and placed in a special osteogenic environment. Accuracy of mesenchymal stem cell osteogenic induction was confirmed by RT-PCR. At first in 4 dogs, two teeth of the three incisors were removed on each side and a 15-mm-wide defect was produced on both sides from the alveolar crest to the nasal cavity floor. Nasal mucosa was sutured to the oral mucosa. To preserve the space, a stent was placed on each side. After 60 days, on one side the cleft was regenerated with osteogenic cells produced from osteogenic differentiation and with the autogenous bone obtained from dog's tibia on the other. Bone regeneration was assessed at 15- and 60-day intervals post-operatively with biopsy by histomorphometry. Data was analyzed with descriptive statistical tests and t-test ($\alpha = 0.05$).*
Results: *Mean bone regeneration at 15- and 60-day intervals on the autograft and the stem cell sides were 45%, 95%, 5%, and 70%, respectively. Statistical analysis revealed significant differences in bone formation between the two autograft and stem cell groups at both intervals (p values of 0.004 and 0.001, respectively).*
Conclusion: *Tissue engineering can be used as an alternative technique with clinical success and optimal bone formation in cases with limited access to autogenous bone or with possibility of significant morbidity at the site.*

Key words: *Alveolus, Cleft, Stem cells, HAP-TCP.*

Received: 16 Aug, 2010 **Accepted:** 20 Dec, 2010

Address: Assistant Professor, Department of Oral & Maxillofacial Surgery, School of Dentistry & Torabinejad Dental Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Email: n.pourebrahim37@gmail.com

Journal of Isfahan Dental School 2011; 6(4): 371-376.