مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و هشتم، شماره دوازده، اسفند ۱۳۹۹
تاریخ دریافت:۱۳۹۸/۰۵/۰۹
تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۰۶/۱۶

سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک انسانی، ویژگی‌های عمومی و کاربردهای درمانی بالقوه آن‌ها

سید مهدی حسینی[۱]، مریم مقدم متین[۲]، احمد رضا بهرامی[۳]، فاطمه منتظری[۴]، سید مهدی کلانتر[*۵]

مقاله مروری

مقدمه: مایع آمنیوتیک حاوی مخلوطی از انواع مختلف سلولی است که از پوست، دستگاه تنفسی، دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی جنین و همچنین غشای آمنیون اطراف آن منشا گرفته‌اند. با توجه به تشکیل مایع آمنیوتیک پیش از فرآیند گاستروﻻسیون، بسیاری از سلول‌های موجود در جمعیت ناهمگن آمنیوسیت‌ها سازوکارهای مربوط به تعیین دودمان را طی نکرده‌اند. بنابراین سلول‌های بنیادی مزانشیمی مایع آمنیوتیک یا AF-MSCs (amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells) ممکن است با دسته جدیدی از سلول‌های بنیادی با خواص پلاستیسیتی بینابین سلول‌های بنیادی پرتوان و بالغ مطابقت داشته باشند. در مقایسه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) از منابع دیگر، مانند مغز استخوان، AF-MSC ویژگی‌های بهتری جهت کاربردهای بالینی دارند، از قبیل تمایز به سلول‌های مشتق از هر سه لایه زایا، پتانسیل کلون‌زایی بالا، توانایی تشکیل اجسام جنینی، بیان نشانگرهای پرتوانی، ظرفیت خود نوزایی بالا (بیش از ۲۵۰ مضاعف شدگی جمعیت) همراه با حفظ کاریوتیپ طبیعی در پاساژهای متعدد، عدم کاهش طول تلومر به علت تداوم فعالیت تلومرازی و به‌ویژه عدم تومورزایی، ایمنی‌زایی اندک و همچنین خواص ضدالتهابی و تعدیل‌کننده ایمنی.

نتیجه‌گیری: چنین ویژگی‌هایی AF-MSC را جهت کاربردهای بالینی، از جمله پزشکی بازساختی، مورد توجه قرار داده است. در مطالعات متعددی از این سلول‌ها برای بازساخت بافت عصبی، بازساخت ریه و همچنین بازساخت قلب استفاده شده است. در مجموع، پیش‌بینی می‌شود AF-MSC یکی از منابع ایده‌آل سلول‌های بنیادی برای کاربردهای پزشکی بازساختی و ترمیم بافت در آینده باشند.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک انسانی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، مایع آمنیوتیک

ارجاع: حسینی سید مهدی، مقدم متین مریم، بهرامی احمد رضا، منتظری فاطمه، کلانتر سید مهدی. **سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک انسانی، ویژگی های عمومی و کاربردهای درمانی بالقوه آن‌ها**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۹؛ ۲۸ (۱۲): ۷۵-۳۲۵۲

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۲- استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۳- استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۴- مدیر مرکز تحقیقات سقط، پژوهشکده علوم تولید مثل، دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۵- استاد، مرکز تحقیقات ناباروری، پژوهشکده علوم تولید مثل، دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۳۱۵۱۸۹۱۸، پست الکترونیکی: smkyzd@gmail.com، صندوق پستی: ۸۹۱۶۸۷۷۳۹۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

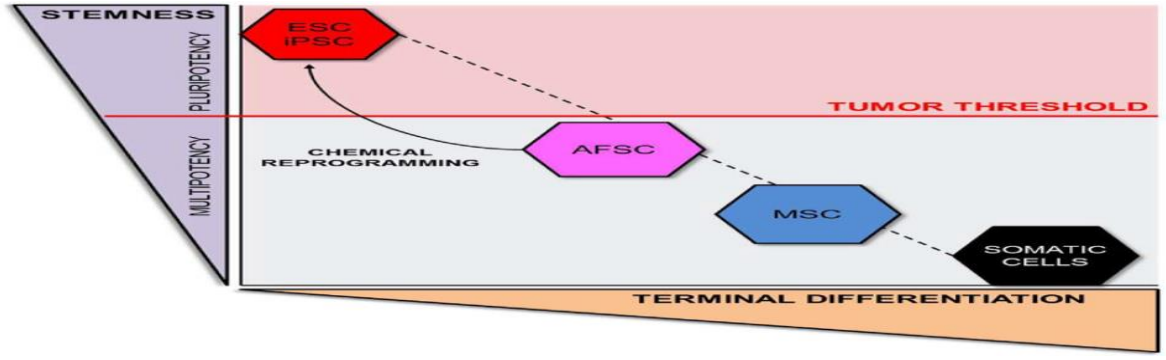
مقدمه

سلول‌های بنیادی بر مبنای ظرفیت منحصربه‌فردی که برای خودنوزایی و تمایز دارند تعریف می‌شوند. از نظر توان سلولی، سلول‌های بنیادی را به انواع تمام توان (Totipotent)، پرتوان (Pluripotent)، چند توان (Multipotent) و تک توان (Unipotent) طبقه‌بندی می‌کنند. هرچند تقسیم‌بندی این سلول‌ها با معیار و مرز مشخص کار دشواری می‌باشد، اما بر این اساس که این سلول‌ها در تمام مراحل رشد و نمو یک ارگانیسم پرسلولی مشاهده می‌شوند، می‌توان آن‌ها را به انواع رویانی (Embryonic)، جنینی و بالغ یا سوماتیک (Adult/Somatic) نیز تقسیم‌بندی کرد (۱،۲). ویژگی‌های منحصربه‌فرد انواع جنینی توجه زیادی را به پتانسیل درمانی آن‌ها جلب کرده است. این سلول‌ها یا به‌طور مستقیم از بافت‌های جنینی همانند خون، مغز استخوان و کبد، و یا از ساختارهای خارج جنینی با منشاء جنینی مانند خون بند ناف، جفت، غشاء آمنیوتیک و یا مایع آمنیوتیک به‌دست می‌آیند (۳-۵). معمولاً دستیابی به سلول‌های بنیادی جنینی با درصد کمی از خطر سقط جنین همراه می‌باشد (حداکثر ۱٪)، همانند تهیه آمنیوسیت‌ها هنگام آمنیوسنتز یا نمونه‌گیری از پرزهای کوریونی یا CVS (Chorionic villus sampling) (۶)، اما با این وجود مطالعه این سلول‌ها مشکلات کمتری دارد، زیرا بسیاری از بافت‌های مربوط به جنین در هنگام تولد از بدن مادر دفع شده و دور انداخته می‌شوند (۷). مراحل بارداری به سه دوره سه ماهه تقسیم می‌شود (شکل ۱) که در طی آن بسیاری از پارامترهای مایع آمنیوتیک از جمله حجم مایع، ترکیبات شیمیایی و سلول‌های آن دچار تحول می‌شود (۸، ۹). همان‌طور که اشاره شد در فرآیندی به نام آمنیوسنتز که برای تشخیص پیش از تولد یا PND (Prenatal diagnosis) ناهنجاری‌های ژنتیکی استفاده می‌شود می‌توان مایع آمنیوتیک را به‌دست آورد (۱۰). مایع آمنیوتیک علاوه‌بر این‌که منبعی جهت کسب سلول‌های جنینی در فرآیند PND است، ترکیبات مغذی لازم در طی فرآیند جنین‌زایی و حفاظت از جنین در حال رشد در برابر فشارهای مکانیکی را فراهم می‌کند (۱۲, ۱۱). حجم میانگین مایع آمنیوتیک تا هفته ۱۶ بارداری ۲۷۰ میلی‌لیتر است که این مقدار تا هفته ۲۰ بارداری به ۴۰۰ میلی‌لیتر نیز افزایش می‌یابد. مایع آمنیوتیک یک محلول ایزوتونیک است که جزء اصلی آن آب بوده و انواعی از پروتئین‌ها، آمینواسیدها، کربوهیدرت‌ها، لیپیدها، هورمون‌ها و الکترولیت‌های مختلف، حتی ادرار جنین، در آن یافت می‌شود، با این وجود ترکیب شیمیایی آن در طول بارداری ثابت نبوده و تغییر می‌کند (۱۳). هم‌چنین حجم و محتوای سلولی مایع آمنیوتیک بسیار متغیر است، به‌طوری‌که در بین افراد مختلف و نیز بسته به سن بارداری از ۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر متفاوت می‌باشد (۱۴). کشت سلول‌های مایع آمنیوتیک از اواخر دهه ۶۰ میلادی آغاز گردید، زمانی‌که Jacobson و همکارانش موفق شدند برای اولین بار سلول‌های مایع آمنیوتیک را توسط محیط F10 حاوی ۳۰٪ سرم جنین گوساله به مدت ۲۵-۱۸ روز کشت دهند (۱۶). در ادامه گروه‌های دیگری نیز با همین روش سلول‌های مایع آمنیوتیک را کشت دادند. به‌عنوان مثال Nelson و همکاران با کشت این سلول‌ها برخی از ویژگی‌های آن‌ها از جمله زیست‌پذیری را تعیین کردند (۱۷). با این وجود از اوایل دهه ۷۰ میلادی مطالعات مختلفی جهت مقایسه روش‌ها و محیط‌های کشت متفاوت بر روی سلول‌های مایع آمنیوتیک صورت گرفته است (جدول ۱). وجود سلول‌های بنیادی در مایع آمنیوتیک اولین بار در سال ۱۹۹۳ توسط Torricelli و همکاران تایید شد (۳۶)، به‌طوری‌که آن‌ها موفق به شناسایی سلول‌های اجدادی خون‌ساز (Hematopoietic progenitor cells) در مایع آمنیوتیک شدند. در این پژوهش سلول‌های هسته‌دار کوچکی با ظاهر کروی، مشابه پیش‌سازهای خون‌ساز، از مایع آمنیوتیک به‌دست آمده در هفته ۱۲ بارداری شناسایی گردید. سپس در سال ۱۹۹۶ گزارشی مبنی بر وجود سلول‌های اجدادی غیرخون‌ساز در مایع آمنیوتیک منتشر شد (۹۳). در سال ۲۰۰۳ مطالعه‌ای که توسط Prusa و همکاران با هدف بررسی بیان Oct-4 (به‌عنوان مارکر پرتوانی) در سلول‌های مایع آمنیوتیک آغاز شده بود به جداسازی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

سلول‌های بنیادی چندتوان توسط این گروه منتهی شد (۳۹). در همین سال گروه دیگری به سرپرستی In't Anker وجود سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal stem cells) یا MSCs را در مایع آمنیوتیک گزارش کرد، به‌علاوه پژوهش جدیدی توسط نویسندگان همین مقاله نیز این مسئله را به‌خوبی تایید کرده است (۹۴, ۴). مطالعات زیادی نشان داده بسیاری از ویژگی‌های مایع آمنیوتیک و سلول‌های آن، بسته به سن بارداری و وضعیت پاتولوژیک جنین بسیار متنوع است (۹۵).



شکل ۱: وضعیت سلولی "حدواسط" در سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک که فنوتیپی مابین سلول‌های اجدادی و چندتوان جدا شده از افراد بالغ مانند MSCs و سلول‌های پرتوان همچون hESCs و iPSCs دارند. پیشرفت در محور افقی شکل نشان‌دهنده افزایش تمایز نهایی و در محور عمودی حاکی از ارتقای وضعیت بنیادین می‌باشد (۱۵)

جدول ۱: برخی یافته‌ها و پیشرفت‌های مهم در رابطه با کشت و استفاده از سلول‌های مایع آمنیوتیک (اقتباس از منبع (۸)).

سال	یافته	منبع
۱۹۵۵	استفاده از سلول‌های مایع آمنیوتیک جهت تشخیص جنسیت جنین پیش از تولد برای اولین بار	(۱۸)
۱۹۶۶	آنالیز کروموزومی سلول‌های مایع آمنیوتیک	(۱۹)
۱۹۶۷	کشت سلول‌های مایع آمنیوتیک برای اولین بار	(۱۶)
۱۹۶۹	استفاده از سلول‌های مایع آمنیوتیک جهت تشخیص ناهنجاری ژنتیکی پیش از تولد برای اولین بار	(۲۰)
۱۹۷۱	اولین مطالعات جهت مقایسه محیط‌های کشت مختلف بر روی سلول‌های مایع آمنیوتیک	(۲۱ ,۲۲)
۱۹۷۴	در کشت سلول‌های مایع آمنیوتیکF-type و AF-type شناسایی سلول‌های	(۲۳)
۱۹۷۷ تا ۲۰۱۲	گزارش‌های متعدد از وجود ناهمگونی در کشت سلول‌های مایع آمنیوتیک	(۲۴-۳۰)
۱۹۸۰ تا اکنون	مطالعه بر روی روش‌های مختلف سرمادارای جهت حفظ و ذخیره‌سازی سلول‌های مایع آمنیوتیک	(۳۱-۳۴)
۱۹۹۱	آغاز مطالعات مرتبط با مقایسه آمنیوسیت‌های جدا شده در سنین مختلف بارداری	(۳۵)
۱۹۹۳	شناسایی سلول‌های اجدادی خون‌ساز در مایع آمنیوتیک	(۳۶)
۱۹۹۹	اثبات ارتباط بین طول تلومر و فعالیت آنزیم تلومراز با طول عمر سلول‌های مایع آمنیوتیک	(۳۷)
۲۰۰۱	استفاده از سلول‌های مایع آمنیوتیک در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی برای اولین بار	(۳۸)
۲۰۰۳	در سلول‌های مایع آمنیوتیک انسانیOCT4 شناسایی مارکر پرتوانی	(۳۹)
۲۰۰۴	معرفی روش‌های اولیه برای جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مایع آمنیوتیک	(۴۰)
۲۰۰۴ تا اکنون	تولید بسیاری از ساختارهای مورد استفاده در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی توسط سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک، مانند استخوان، پوست، دریچه‌های قلبی، سلول‌های عصبی و فرآورده‌های آن مانند فاکتورهای نوروتروفیک، ماهیچه، نای، دیافراگم، مثانه و ...	(۳۸, ۴۱-۵۳)
۲۰۰۶ تا اکنون	تمایز سلول‌های اجدادی و بنیادی در مایع آمنیوتیک به انواع مشتقات سلولی تمایز به مشتقات اندودرمی — تمایز به مشتقات مزودرمی — تمایز به مشتقات اکتودرمی	

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]
[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

اپیتلیوم کیسه‌های هوایی (۵۴) اپیتلیوم مثانه (۵۵) اپیتلیوم ریه (۵۶) سلول‌های پانکراس (۵۷-۵۹) هپاتوسیت (۶۰)	سلول‌های چربی (۶۱) سلول‌های غضروفی (۶۲, ۶۳) سلول‌های استخوانی (۶۴,۶۵) سلول‌های قلبی (۶۶, ۶۷) سلول‌های ماهیچه‌ای صاف (۶۸) اندوتلیال عروقی (۶۹) سلول‌های کلیوی (۷۰)	سلول‌های عصبی (۷۱, ۷۲) سلول‌های رتینال چشم (۷۳)
۲۰۰۷	برای اولین بارCD117جداسازی سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک براساس روش انتخابی مارکر	(۷۴)
۲۰۰۷ تا اکنون	استفاده از سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک به‌عنوان ابزاری جدید جهت مدل‌سازی و مطالعه بیماری‌های ژنتیکی انسان	(۷۵-۷۸)
۲۰۰۷ تا اکنون	شناسایی پتانسیل سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک جهت استفاده در رویکردهای سلول درمانی	(۷۹-۸۶)
۲۰۰۸	معرفی یک روش تولید سه مرحله‌ای برای سلول‌های بنیادی مزانشیمی مایع آمنیوتیک مطابق با در ستورالعمل FDA جهت استفاده بالینی	(۸۷)
۲۰۰۸	پایه‌گذاری یک معاهده بین‌المللی غیرانتفاعی به‌منظور ایجاد مخزنی از سلول‌های بنیادی آمنیوتیک PND به‌جامانده از فرآیندهای	(۸۸)
۲۰۰۹	استفاده از ابزارهای میکروفلویدیک برای جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مایع آمنیوتیک	(۸۹ ,۹۰)
۲۰۱۲	گردآوری مارکرهای موجود در سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک	(۹۱)
۲۰۱۳	بررسی تفاوت‌های پروتئومی بین سلول‌های جنینی مونث و مذکر موجود در مایع آمنیوتیک	(۹۲)

۲- سلول‌های مایع آمنیوتیک

۲-۱- آمنیوسیت‌ها، سلول‌هایی با زیرجمعیت‌های مختلف

مایع آمنیوتیک با بخش‌های مختلف جنین در ارتباط است، از این رو حاوی جمعیتی هتروژن از سلول‌ها است که از هر سه لایه زاینده جنینی و سطح داخلی غشای آمنیوتیک (Amniotic Membrane) مشتق می‌شوند. این سلول‌ها احتمالاً از پوست، مجرای گوارشی و تنفسی، سیستم ادراری-تناسلی جنین و نیز از غشای آمنیوتیک به داخل مایع آمنیوتیک آزاد می‌شوند (۹۶). تعداد کل سلول‌های هسته‌دار در هر میلی‌لیتر از مایع آمنیوتیک بین 10^3 تا 10^6 متغیر می‌باشد (۹۷). به مجموعه سلول‌های مایع آمنیوتیک آمنیوسیت (Amniocyte) گفته می‌شود که شامل انواع سلول‌های کاملاً تمایز یافته، اجدادی و سلول‌های بنیادی با توان (Potency) متفاوت می‌باشند (۸). آمنیوسیت‌ها را از نظر ریخت‌شناسی به دو گروه عمده غیرچسبنده (Non-adherent) و چسبنده (Adherent) تقسیم می‌کنند (۹۸). مطالعات *in vitro* نشان داده است اکثریت این سلول‌ها را انواع غیرچسبنده تشکیل می‌دهند در حالی‌که تعداد سلول‌های چسبنده هر میلی‌لیتر از مایع آمنیوتیک تنها ۵۰۰ تا ۸۰۰ سلول می‌باشد (۹۷). در بین سلول‌های موجود در مایع آمنیوتیک انواع تشکیل‌دهنده کلونی (Colony-forming) کمیاب هستند. بر همین اساس مشخص شده به ازای هر میلی‌لیتر از مایع آمنیوتیک به‌دست آمده در هفته‌های ۱۶ تا ۱۸ بارداری، در طی ۱۲ روز کشت، حدود ۱/۸ ± ۳/۵ کلونی ایجاد می‌شود (۹۷). همان‌گونه که اشاره شد مایع آمنیوتیک حاوی جمعیت هتروژنی از سلول‌ها است که دارای ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی متفاوتی هستند. برخی منابع سلول‌های چسبنده مایع آمنیوتیک را از لحاظ ریخت‌شناسی به دو گروه دایره‌ای شکل (Round shape or RS) و دوکی شکل (Spindle shape or SS) تقسیم‌بندی می‌کنند که بر همین اساس مقدار انواع RS را ۹۴٪ و انواع SS را ۶٪ تخمین می‌زنند (۱۰۰, ۹۹, ۸). با این وجود تقریباً اغلب منابع آمنیوسیت‌های چسبنده را به سه دسته کلی تقسیم می‌کنند؛ انواع فیبروبلاستی (Fibroblast-like cells or F-type) که به‌علت چسبندگی زیاد در کشت‌هایی با پاساژ بالاتر دیده می‌شوند، انواع اپیتلیال (Epithelial-like cells or E-type) و سلول‌های ویژه مایع آمنیوتیک (Amniotic fluid-specific cells or AF-

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

type)، که هر دو معمولاً در کشت‌های اولیه مایع آمنیوتیک غالب هستند (۱۲, ۱۴, ۱۵, ۹۷). فراوانی هر یک از این سلول‌ها در مایع آمنیوتیک بسیار متفاوت است، به‌طوری‌که انواع F-type با حدود ۵٪ کمترین مقدار، سپس سلول‌های E-type با فراوانی تقریبی ۳۵٪ و در نهایت سلول‌های AF-type به میزان ۶۰٪ بیشترین نوع سلولی را تشکیل می‌دهند (۱۲). از بین این سه گروه، سلول‌های AF-type و F-type مورفولوژی فیبروبلاستی مشابهی دارند، درحالی‌که تنها سلول‌های AF-type به‌صورت توام ژن‌های کراتین و ویمنتین را بیان کرده و سرعت تکثیر بالایی دارند، از این رو به‌نظر می‌رسد سلول‌های AF نوع غالب در این جمعیت هتروژن سلولی باشند. مطالعات تجربی نشان داده است این سلول‌ها منشاء اپیتلیال داشته و ویژگی‌های تروفوبلاستی خود را حفظ می‌کنند، از این رو منشاء احتمالی آن‌ها غشاهای جنینی خارج رویانی (Fetal extra-embryonic membranes) مانند غشای آمنیون می‌باشد (۱۰۱). هم‌چنین منشاء سلول‌های E-type را پوست جنین و انواع F-type را بافت پیوندی فیبروزه (Fibrous connective tissue) می‌دانند (۱۰۲). چنین تنوعی در منشاء آمنیوسیت‌ها توجیه کننده تفاوت آن‌ها در نرخ بقاء، چسبندگی، ویژگی‌های رشد و پاسخ به شرایط محیطی می‌باشد.

۲-۲- آمنیوسیت‌ها، سلول‌هایی با وضعیت تکوینی و توان منحصربه‌فرد

در بسیاری از منابع به‌جای MSCs از اصطلاح AFSCs به معنی سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک (Amniotic fluid stem cells) استفاده می‌گردد زیرا این سلول‌ها نسبت به انواع MSCs که از سایر منابع سلول‌های بنیادی هم‌چون مغز استخوان یا بافت چربی مشتق می‌شوند، ویژگی‌های متمایزی دارند (۱۴, ۱۵, ۱۰۳). یکی از این ویژگی‌ها وجود فعالیت تلومرازی است که مارکر سلول‌های بنیادی پرتوان مانند سلول‌های بنیادی رویانی انسانی (Human embryonic stem cells or hESCs) و سلول‌های بنیادی زاینده (Human embryonic germ cells or hEGCs) محسوب می‌شود (۹۵). اولین بار در سال ۱۹۹۹ وجود فعالیت تلومرازی در سلول‌های مایع آمنیوتیک توسط Mosquera و همکارانش گزارش شد (۳۷). ویژگی جالب توجه دیگر سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک بیان ژن OCT-4 است که مارکر شناخته شده پرتوانی بوده و علاوه‌بر این سلول‌ها، در hEGCs، hESCs و سلول‌های کارسینومای رویانی (hECCs or Human embryonic carcinoma cells) نیز بیان می‌شود (۳۹). اغلب مطالعاتی که تاکنون در مورد AFSCs صورت گرفته نشان می‌دهد این سلول‌ها توان (Potency) بالاتری نسبت به سلول‌های بنیادی بالغ یا سوماتیک که از بافت‌های مختلف جدا می‌شوند (چند توان) دارند. هم‌چنین از نظر وضعیت تمایزی نیز تنوع بالایی در آمنیوسیت‌ها دیده می‌شود؛ از سلول‌های کاملاً تمایز یافته و اجدادی گرفته تا سلول‌های بنیادی چندتوان و حتی برخی با ویژگی‌های پرتوانی (۹۱). این سلول‌ها برخی از مارکرهای شاخص سلول‌های بنیادی پرتوان هم‌چون SSEA3، SSEA4، NANOG و TRA-1-60 را بروز می‌دهند (۱۴). مطالعه‌ای که توسط Maguire و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی ترانسکریپتوم آمنیوسیت‌ها انجام شد نشان داد این سلول‌ها تنظیم‌کننده‌های کانونی و نیز سرکوب‌کننده‌های رونویسی مرتبط با پرتوانی را بیان می‌کنند، به‌طوری‌که پروفایل این تنظیم‌کننده‌ها در آمنیوسیت‌ها با hESCs، iPSCs و فیبروبلاست‌های پوست ختنه نوزاد (Newborn foreskin fibroblasts) متفاوت است (۹). نتایج این مطالعه فراگیر حاکی از وجود یک ترکیب مولکولی پیچیده در آمنیوسیت‌ها بود به‌نحوی‌که تنظیم‌کننده‌های اختصاصی سلول‌های تروفوبلاستی، اکتودرمی، مزودرمی و اندودرمی در اغلب این سلول‌ها به‌طور همزمان بیان می‌شوند. منابع متعددی آمنیوسیت‌ها را از نظر توان و وضعیت تکوینی بسیار منحصربه‌فرد و مابین سلول‌های اجدادی و چندتوان جدا شده از افراد بالغ مانند MSCs و سلول‌های پرتوان همچون hESCs و EGCs در نظر می‌گیرند (۷،۹،۱۵،۱۰۴). مطالعات پیشین نشان داده است بسیاری از مارکرهای لایه زاینده‌رویانی در سطح پایه‌ای در آمنیوسیت‌های غیرتمایز یافته بیان می‌شوند. از طرف دیگر بررسی ترکیب ترانسکریپتومی آمنیوسیت‌ها توسط RNA-seq حاکی از تمایز

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]
[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

جزئی آن‌ها می‌باشد (۹). چنین حالت ناهمگونی را در hESCs و iPSCs نیز می‌توان مشاهده کرد زیرا برخلاف تصور قبلی مبنی بر وضعیت پایه‌ای کاملاً غیرتمایز یافته و غیرمتعهد (Unprimed) در hESCs و iPSCs مطالعات اخیر نشان داده است این سلول‌ها نیز مشابه آمنیوسیت‌ها، دارای ناهمگونی در سطح رونویسی و اپیژنتیکی هستند (۱۰۶, ۱۰۵). اگر چه وضعیت آمنیوسیت‌ها ناهمگونی و تنوع بسیار زیادی دارد که با سلول‌های پرتوان متفاوت است، ولی بسیاری از ژن‌هایی که بیان می‌کنند یکسان است. با این وجود ژن‌های حلقه مرکزی پرتوانی (SOX2، OCT4 و NANOG) به‌طور نامتناسبی در سطح پایین‌تری در آمنیوسیت‌ها بیان می‌شوند که همین ویژگی کلیدی در تمیز دادن آن‌ها از سلول‌های پرتوان محسوب می‌شود (۹). در واقع فنوتیپ سلولی "حدواسط" در AFSCs در نتیجه بیان همزمان مارکرها و عوامل رونویسی پرتوانی و چندتوانی (مزانشیمی متعهد) ناشی می‌شود. برخی از مطالعات تشابه ترانسکریپتومی آمنیوسیت‌های انسانی در سه ماهه اول بارداری با hESCs را بیش از ۸۲٪ برآورد کرده‌اند (۱۵). در این بین روش مورد استفاده در جداسازی یک کلون خاص از جمعیت ناهمگون آمنیوسیت‌ها نیز در فنوتیپ سلولی کلون جداشده موثر می‌باشد. در بیشتر مطالعات جداسازی AFSCs بر اساس کشت آمنیوسیت‌ها در ظروف کشت بافت تیمار شده (Tissue culture-treated dishes) و توسط محیط کشت غنی از سرم (معمولاً DMEM با ۱۰٪ تا ۲۰٪ سرم جنین گاوی یا FBS) انجام می‌شود. در برخی از موارد از فاکتور رشد فیبروبلاستی b-FGF نیز استفاده شده است. بررسی این مطالعات نشان می‌دهد که رده‌های سلولی جدا شده اغلب پتانسیل مزودرمی بالایی از خود بروز می‌دهند، بدین معنی که تمایز به سمت دودمان‌های استخوانی، چربی، غضروفی و ماهیچه‌ای در آن‌ها دیده می‌شود (۱۰۸, ۱۰۷). از نظر مارکرهای سطحی، فنوتیپ این سلول‌ها مشابه MSCs است، یعنی به‌روز مارکرهای CD90، CD105، CD73، CD44 و CD29، و هم‌چنین فقدان مارکرهای خون‌ساز (Hematopoietic markers)، از جمله CD34، CD45 و CD133. علاوه‌براین، در رابطه با فاکتورهای ایمونوژنیک نیز این سلول‌ها مشابه MSCs عمل کرده و MHC II را در سطح پایینی بروز می‌دهند (۱۵, ۱۰۳). با این وجود، برخی از منابع تمایز چنددودمانی (Multi- lineage) (از جمله تمایز به رده‌های عصبی) و هم‌چنین توانایی تولید جسم جنینی (Embryoid body) را در سلول‌های جدا شده با روش‌های مشابه گزارش کرده‌اند (۱۰۹-۱۱۲)، از این رو چنین یافته‌هایی نشان دهنده نزدیکی این سلول‌ها با انواع پرتوان می‌باشد. در برخی از موارد نیز از روش‌های ویژه و دقیقی برای کشت و جداسازی سلول‌های بنیادی از آمنیوسیت‌ها استفاده شده است، مانند استفاده Moschidou و همکاران از نوعی مهار کننده هیستون داستیلاز به نام والپروئیک اسید و کشت سلول‌ها در شرایط کشت hESCs که در نهایت موفق شدند بدون استفاده از روش‌های ترانسژنیک، از آمنیوسیت‌هایی با ویژگی‌ها و مارکرهای بیشتر مزانشیمی سلول‌های پرتوانی با قابلیت تشکیل EB (که مارکرهای هر سه رده زاینده را بیان می‌کنند) و تراتوما به‌دست آورند (۱۱۴, ۱۱۳). رویکرد دیگری که در دهه اخیر برای جداسازی AFSCs مورد توجه زیادی قرار گرفته استفاده از روش‌های انتخابی مبتنی بر جذب مارکرهای سطحی می‌باشد، مانند استفاده از مارکر c-KIT یا CD-117 در ستون‌های جذبی (Fluorescence-activated cell sorting or FACS). مطالعات نشان می‌دهد یک درصد از آمنیوسیت‌ها را انواعی تشکیل می‌دهند که دارای مارکر سطحی c-KIT می‌باشد. اولین بار De Coppi و همکارانش در سال ۲۰۰۷ موفق به جداسازی سلول‌های $CD\text{-}117^{+}$ از مایع آمنیوتیک شدند که بررسی‌های متعاقب آن‌ها نشان از پرتوانی و ظرفیت تمایزی این جمعیت سلولی به هر سه رده زاینده بود (۷۴). اغلب گزارش‌ها در این موارد حاکی از جداسازی AFSCs با وضعیت حدواسط می‌باشد که مارکرهای چندتوانی MSCs و پرتوانی hESCs و iPSCs را باهم بروز می‌دهند (۱۵،۱۰۳،۱۱۵). این سلول‌ها علاوه‌بر بروز ویژگی‌ها و مارکرهای مزانشیمی، برخی از آنتی‌ژن‌های مرتبط با مرحله رویانی مانند SSEA-4 را بیان می‌کنند در حالیکه مارکرهای دیگر همین

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

گروه، یعنی SSEA-3 و Tra-1-81 را بیان نمی‌کنند. چنین پروفایلی شباهت زیادی به پروفایل بیانی hESCs و iPSCs دارد، ولی به‌طور کامل آن را نمایندگی نمی‌کند (۱۱۶).

۳-۲- سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک، ویژگی‌های عمومی

فارغ از روش جداسازی و فنوتیپ سلول‌های حاصل، سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک یا AFSCs ویژگی‌های عمومی بسیار جالب توجهی دارند که سبب شده تا مورد توجه زیادی قرار گیرند. تا کنون بررسی‌های زیادی که در رابطه با ظرفیت تمایزی آن‌ها صورت گرفته نشان داده است این سلول‌ها توانایی تمایز چنددودمانی به سلول‌های مشتق از هر سه لایه زاینده را دارند، از جمله تمایز به سلول‌های کبدی (مشتق از اندودرم)، فیبروبلاستی، چربی، استخوانی، ماهیچه‌ای، اندوتلیال، غضروفی، قلبی (مشتق از مزودرم) و سلول‌های شبه عصبی (Neural-like Cells) (مشتق از اکتودرم) (۱۱۷, ۱۰۷, ۹۹). هم‌چنین این سلول‌ها ظرفیت کلونال بالایی دارند، به‌طوری‌که یک سلول منفرد می‌تواند جمعیتی از سلول‌ها را ایجاد کند که توانایی تمایز به سلول‌های هر سه رده زاینده را دارند (۱۱۸, ۸). یکی از ویژگی‌های شاخص سلول‌های بنیادی ظرفیت خودنوزایی (Self-renewal) است. مطالعه سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک نشان داده این سلول‌ها در طول بیش از ۲۵۰ مضاعف‌شدگی جمعیت (Population doublings) (۱۱۹) ظرفیت خودنوزایی خود را هم‌چنان حفظ می‌کنند، درحالی‌که بر اساس محدوده Hayflick این ویژگی در رابطه با اغلب سلول‌های پسا-رویانی (Post-embryonic) حدود ۵۰ مضاعف‌شدگی است. بسیاری از پژوهشگران ظرفیت خودنوزایی بالای این سلول‌ها را به فعالیت تلومرازی آن‌ها نسبت می‌دهند (۱۲۰, ۷۴). هم‌چنین مقایسه MSCs به‌دست آمده از مایع آمنیوتیک با انواع جدا شده از سایر منابع، مانند خون بند ناف و مغز استخوان، نشان دهنده سرعت رشد و تکثیر بالاتر این سلول‌ها می‌باشد (۸۷). نکته جالب توجه دیگر در مورد این سلول‌ها عدم تشکیل تراتوما توسط آن‌ها می‌باشد، به‌طوری‌که برخلاف ESCs، کاشت این سلول‌ها در موش‌های دچار نقص ایمنی (Immune-deficient mice) هیچ‌گونه توموری تولید نمی‌کند (۸). این ویژگی در رابطه با کاربرد بالینی این سلول‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد، زیرا یکی از موارد محدودکننده استفاده از hESCs در سلول درمانی تشکیل تراتوما در گیرنده پیوند توسط این سلول‌ها می‌باشد (۱۲۱). به عنوان مثال در مطالعه De Coppi و همکاران هیچ یک از ۴ رده سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک آزمایش شده، حتی در آخرین پاساژ، نتوانستند در موش‌های نقص ایمنی ترکیبی شدید (Severe combined immunodeficient (SCID) mice) توموری ایجاد کنند (۷۴). از طرفی علی‌رغم تمام شباهت‌هایی که سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک با سلول‌های بنیادی رویانی دارند، برخلاف انواع رویانی، رشد و حفظ حالت غیرتمایز یافته (Undifferentiated status) در این سلول‌ها نیازی به لایه تغذیه‌کننده (Feeder layer) ندارد. این ویژگی در رابطه با امنیت پیوند با این سلول‌ها اهمیت بالایی دارد زیرا وجود لایه تغذیه‌کننده احتمال آلودگی را افزایش می‌دهد (۱۱۸, ۸). علاوه‌بر ویژگی‌های اشاره شده، فعالیت ضد-التهابی (Anti-inflammatory) و سرکوب‌کننده- تعدیل‌کننده سیستم ایمنی (Immunosuppressive- immunomodulatory) در این سلول‌ها نیز توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این نوع فعالیت‌های ایمونولوژیک که به علت ترشح طیف گسترده‌ای از سیتوکین‌ها و کموکین‌های ضدالتهابی ایجاد می‌گردد در برخی از سلول‌های بنیادی همچون MSCs جدا شده از مغز استخوان و بافت چربی (به‌عنوان سلول‌های بنیادی بزرگسال) و نیز خون بند ناف و مایع آمنیوتیک (به‌عنوان سلول‌های بنیادی جنینی) مشاهده شده است (۱۲۳, ۱۲۲). در واقع ویژگی تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی در MSCs بر اساس منشاء بافتی که سلول‌های بنیادی از آن به‌دست آمده، هم‌چنین روش جداسازی و کشت سلول‌ها می‌تواند متفاوت باشد (۱۲۴). همین ویژگی سرکوب کننده- تعدیل‌کننده سیستم ایمنی در MSCs به‌ویژه در انواع جنینی آن هم‌چون AFSCs مزیت خاصی به این سلول‌ها جهت سلول درمانی و پیوند سلولی می‌بخشد، زیرا استفاده از آن‌ها خطر پس‌زدن پیوند را کاهش می‌دهد (۱۲۵, ۱). در فرآیندی به نام بازپیوند اتولوگ (Autologous reimplantation) می‌توان

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

از سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک یک جنین برای پیوند به همان جنین، قبل یا پس از تولد، و نیز اعضای خانواده او استفاده کرد، زیرا شانس تطابق آنتی‌ژن‌های HLA در آن‌ها بسیار بالا می‌باشد. از نظر تئوری بانکی با صد هزار نمونه سلول بنیادی مایع آمنیوتیک می‌تواند از نظر آنتی‌ژن‌های HLA با ۹۹ درصد جمعیت تطابق داشته باشد (۹۶). از طرفی مطالعات نشان داده است سلول‌های مزانشیمی مشتق از مایع آمنیوتیک را می‌توان بدون نیاز به همسانی آنتی‌ژن‌های HLA به گیرنده‌های غیرخویشاوند پیوند زد. این ویژگی را به فعالیت تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی این سلول‌ها نسبت می‌دهند که در اثر ترشح طیف گسترده‌ای از سیتوکین‌ها و کموکین‌های ضدالتهابی و مهار پاسخ التهابی توسط آن‌ها ایجاد می‌گردد (۱۲۶, ۱۲۳). مجموعه این ویژگی‌ها از جمله ظرفیت خودنوزایی بالا، فعالیت ضدالتهابی و سرکوب کننده- تعدیل کننده سیستم ایمنی و هم‌چنین ماهیت بینابینی این سلول‌ها (حالتی مابین سلول‌های بنیادی رویانی و سوماتیک) باعث شده AFSCs نامزد خوبی برای استفاده در فرآیندهای درمانی مانند پیوند سلولی و سلول درمانی باشند، زیرا علاوه‌بر فقدان برخی ویژگی‌های مضر سلول‌های بنیادی رویانی هم‌چون مشکلات اخلاقی و تومورزایی hESCs، دشواری‌های سلول‌های بنیادی سوماتیک (بالغ) را در نمونه‌گیری و جداسازی نیز ندارند (۷۴).

۳- سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک؛ کاربردها

ظرفیت خودنوزایی بالا و تمایز چند- دودمانی در AFSCs، به‌ویژه انواع مزانشیمی آن (AF-MSCs)، نشان‌دهنده پتانسیل فراوان این سلول‌ها در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی می‌باشد. مطالعات زیادی در این زمینه انجام گرفته است که کاربرد این سلول‌ها را در درمان بیماری‌های مختلف نشان می‌دهند. مطالعات گسترده‌ای قابلیت این سلول‌ها را در ترمیم بافت‌های مختلف اثبات کرده‌اند، از جمله ترمیم دریچه‌های قلب، تاندون‌ها، استخوان، غضروف و غیره (۴۱،۴۳،۴۷،۵۰). هم‌چنین مطالعات متعددی حاکی از نقش مثبت این سلول‌ها در ترمیم زخم‌های داخلی از جمله زخم مثانه، ریه و کلیه (۵۶،۱۲۷،۱۲۸)، و نیز پتانسیل آن‌ها در درمان بیماری‌های عصبی تخریب شونده بوده است (۱۲۹). از این سلول‌ها می‌توان در درمان ناهنجاری‌های مادرزادی (Congenital anomalies) که ریشه ژنتیکی ندارند نیز استفاده کرد. در این فرآیند از سلول‌های جنین دچار ناهنجاری استفاده می‌شود، به‌طوری‌که با جداسازی، کشت و تمایز آن‌ها به‌صورت برون‌تنی (ex vivo) می‌توان مجدداً آن‌ها را، پیش یا پس از تولد، به جنین یا کودک پیوند زد (۱۳۰). از این رو، استفاده از این سلول‌ها می‌تواند راهی جایگزین جهت اصلاح بیماری‌های مادرزادی پیش از تولد باشد (۱۳۲, ۱۳۱).

مطالعه‌ای که توسط Ditadi و همکاران صورت گرفت برای اولین بار نشان داد با استفاده از AFSCs جدا شده از موش می‌توان توانایی خون‌سازی را در موش‌هایی که تحت تابش کشنده قرار گرفته بودند را مجدداً احیا کرد (۱۳۳). در مطالعه دیگری توسط Tatiana و همکاران، AFSCs نشاندار شده با نانوذره اکسید آهن به ورید دمی مدل حیوانی سکته مغزی تزریق شد. پیگیری این مطالعه حاکی از مهاجرت این سلول‌ها به کانون ایسکمی، کاهش میزان انفارکتوس و بهبود نقص‌های حرکتی بود که عمدتاً به‌دلیل توانایی آن‌ها در مکانیسم‌های بازساختی درونی بوده است (۱۳۵, ۱۳۴). مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۲ توسط Skardal و همکاران نشان داد AFSCs و MSCs جدا شده از مغز استخوان که در ژل فیبرین کلاژن حل شده بود نتایج مثبتی را برای درمان زخم‌های پوستی قطور در موش‌های Nu/Nu بروز داد. نتایج این پژوهش بسته شدن زخم، پوست‌زایی مجدد، افزایش تراکم مویرگ‌ها و قطر آن‌ها، مهاجرت موقت AFSCs به محل زخم، افزایش رگ‌زایی، القای مهاجرت سلول‌های اندوتلیال، ترشح فاکتورهای رشد و اثرات پاراکرین این سلول‌ها بر روی زخم و نهایتاً تسریع بهبود آن را نشان داد که حاکی از پتانسیل بالقوه این سلول‌ها جهت درمان زخم‌های سوختگی و آسیب‌های پوستی گسترده است (۱۳۶). در مطالعه Cheng و همکاران، با استفاده از فاکتور نروتروفیک مشتق از سلول‌های گلیا، AF-MSCs ترانسفکت شدند و سپس به موش‌های دارای آسیب عصب سیاتیک پیوند زده شدند. یافته‌های این پژوهش حاکی از آن است که این سلول‌ها را

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]
[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

می‌توان به‌طور بالقوه در سلول درمانی آسیب‌های نخاعی استفاده کرد (۱۳۷). هم‌چنین در مطالعه‌ای مشابه که توسط Shulin و همکاران انجام شد، اثر AF-MSCs بر فیبروز بینابینی کلیوی به‌صورت درون‌تنی در مدل‌های حیوانی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه بیانگر کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب، ترمیم مویرگ‌های کلیوی، کاهش هیپوکسی بافتی و آسیب‌های میتوکندریایی و در نهایت کاهش فیبروز بینابینی کلیوی، پس از پیوند این سلول‌ها بود (۱۳۹, ۱۳۸). از طرف دیگر، علاوه‌بر نقش این سلول‌ها در ترمیم و پزشکی بازساختی، کاربرد این سلول‌ها در مهندسی بافت نیز مشخص شده است. اولین بار Kaviani و همکاران در سال ۲۰۰۱ این پتاسیل را نشان دادند (۳۸). از آن پس تا به امروز، مطالعات مختلفی پتانسیل بالای این سلول‌ها در مهندسی بافت‌های مختلف را نشان داده‌اند. برای مثال استفاده از این سلول‌ها در داربست کلاژنی جهت بازسازی نقائص جمجمه و بافت استخوان در مدل‌های حیوانی، نتایج موفقیت آمیزی را در پی داشته است (۱۴۱, ۱۴۰). علاوه‌بر این، در پژوهشی که توسط Schmidt و همکاران انجام شد، پس از تخلیص، تمایز و آنالیز AFSCs، این سلول‌ها به مدت ۴ ماه فریز شده و سلول‌های دوباره کشت شده پس از بررسی مجدد در مهندسی بافت دریچه قلب به‌کار برده شدند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که بانک این سلول‌ها، می‌تواند منبعی از سلول‌های اتولوگ جهت مهندسی بافت قلب مورد استفاده قرار گیرند (۱۴۲-۱۴۶). علاوه‌بر پتانسیل این سلول‌ها در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی، مطالعات مختلفی در زمینه کاربرد این سلول‌ها در درمان سرطان‌ها نیز انجام شده است. به‌عنوان مثال، در مطالعه‌ای که توسط Kang و همکاران به انجام رسیده است، بیان شده که پیوند AFSCs انسانی بیان کننده تیمیدین کیناز و سیتوزین دآمیناز به موش‌های دارای تومور پستان، رشد تومور را مهار می‌کند (۱۴۷). این شواهد نشان می‌دهند که این سلول‌ها می‌توانند به عنوان درمانی ایمن و موثر، جهت مقابله با سرطان مورد توجه قرار گیرند و هم‌چنین از آن‌ها به‌عنوان ناقلی بالقوه در سیستم‌های هدایت‌کننده ژن مبتنی بر سلول ژن درمانی سرطان‌ها و هدف‌گیری اختصاصی بدخیمی‌ها استفاده کرد (۱۴۹, ۱۴۸).

۴- روش‌های جداسازی سلول از مایع آمنیوتیک

تاکنون روش‌های متنوع زیادی برای جداسازی سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک توسط پژوهشگران مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. در تمامی این پروتکل‌ها در ابتدا سلول‌ها توسط سانتریفیوژ از مایع آمنیوتیک جدا شده و رسوب سلولی حاصل را به محیط کشت انتقال می‌دهند (۱۴). به‌طور کلی فرآیند کشت در این پروتکل‌ها، فارغ از نوع و محتویات محیط کشت، به چند گروه مجزا تقسیم می‌شوند:

۱) کشت تک مرحله‌ای: در این پروتکل کشت اولیه به مدت ۷ روز دست نخورده باقی مانده و سپس به‌طور دوره‌ای محیط کشت آمنیوسیت‌ها تعویض می‌گردد، از این رو منبع سلول‌های بنیادی به‌دست آمده سلول‌هایی با چسبندگی بالا در مایع آمنیوتیک هستند. این پروتکل یک روش کلاسیک در کشت آمنیوسیت‌ها محسوب می‌شود و تا به امروز نیز هم‌چنان توسط پژوهشگران مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵۰, ۵).

۲) کشت دو مرحله‌ای: در این شیوه پس از گذشت ۵ روز از کشت اولیه سلول‌هایی که هم‌چنان به سطح متصل نیستند جمع‌آوری شده و سپس در یک کشت ثانویه تکثیر می‌شوند، بنابراین منبع سلول‌ها در این روش آمنیوسیت‌هایی با ویژگی چسبندگی کم هستند. این پروتکل اولین بار توسط Tsai و همکاران پیشنهاد گردید (۴۰) و پس از آن توسط پژوهشگران دیگر نیز استفاده شد (۱۵۲, ۱۵۱). در واقع اساس جداسازی سلول‌های بنیادی در این روش زمان مورد نیاز برای چسبندگی آن‌ها به سطح کشت می‌باشد که حداقل این زمان ۵ روز است.

۳) انتخاب سلول بر اساس مارکرهای سطحی: در این روش سلول‌ها براساس یک مارکر ویژه سلول‌های بنیادی از نمونه اولیه مایع آمنیوتیک جدا می‌شوند، سپس سلول‌های جدا شده کشت و تکثیر می‌شوند. از جمله مارکرهایی که در این روش مورد استفاده قرار می‌گیرند C-Kit (CD117) و CD133 می‌باشند. مارکر سطحی C-Kit یک رسپتور تیروزین‌کیناز است که در انواعی از سلول‌های بنیادی مانند hESCs، hECCs و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

سلول‌های بنیادی خون‌ساز (Hematopoietic stem cells or HSCs) وجود دارد. مارکر CD133 نیز آنتی‌ژن شناخته شده انواع مختلفی از سلول‌های بنیادی مانند سلول‌های بنیادی رویانی موشی (Mouse embryonic stem cells or mESCs)، و انواع سلول‌های انسانی hESCs، hECCs و HSCs می‌باشد (۱۵۳). بسیاری از گروه‌های تحقیقاتی برای جداسازی سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک از این روش استفاده کرده‌اند (۷۴،۱۳۳،۱۵۴،۱۵۵).

۴) کشت کوتاه مدت همراه با جداسازی فیزیکی سلول مورد نظر: در این روش ابتدا طی دوره کوتاهی آمنیوسیت‌ها کشت داده شده و سپس کلونی‌های فیبروبلاستی به‌صورت فیزیکی جدا می‌شوند. در نهایت سلول‌های به‌دست آمده از این کلونی‌ها کشت و تکثیر می‌شوند (۱۵۶). بر اساس همین پروتوکل، Phermthai و همکاران روش بهینه شده‌ای طراحی کردند که به‌روش سلول آغازگر (Starter-cell) موسوم است (۱۵۷). نکته قابل توجه در رابطه با این پروتکل‌ها فنوتیپ سلول‌های به‌دست آمده می‌باشد، به‌طوریکه در هر مورد سلول‌ها فنوتیپ متفاوتی دارند. این تنوع فنوتیپی حتی در مورد سلول‌هایی که با یک روش ولی با اجزای کشت متفاوت به‌دست آمده‌اند نیز دیده می‌شود که در حقیقت بازتابی از ناهمگونی موجود در سلول‌های مایع آمنیوتیک است. از طرفی فارغ از روش استفاده شده برای جداسازی، کلون‌های به‌دست آمده ویژگی‌های مشترکی نیز دارند. در تمامی پروتکل‌های اشاره شده سلول‌های به‌دست آمده فنوتیپ مزانشیمی داشته و همگی مارکرهای MSCs از جمله CD44، CD29، CD90 و CD105 را بروز می‌دهند. از طرفی اغلب این کلون‌ها برخی از ژن‌های مرتبط با پرتوانی را نیز بیان کرده (مانند Oct4، Nanog و SSEA-4) و پتانسیل تمایز چنددودمانی در محیط in vitro در برخی از آن‌ها مشخص شده است (۱۴).

۵- سرمادهی، حفظ و نگهداری و استفاده مجدد از آمنیوسیت‌ها : استفاده بالینی از AFSCs در فرآیندهای پیوند سلولی نیازمند حفظ و نگهداری از این سلول‌ها با استفاده از روش‌های سرمادهی و گاهی به‌صورت طولانی‌مدت، می‌باشد. نکته قابل توجه دیگر در استفاده بالینی از سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک در نظر گرفتن مرحله انجماد است، زیرا لازمه استفاده از این سلول‌ها حفظ آن‌ها می‌باشد. از طرفی به علت فاصله‌ای ۴ تا ۶ ماهه بین زمان آمنیوسنتز و تولد نوزاد، حتی استفاده از این سلول‌ها برای خود نوزاد نیز نیازمند انجماد آن‌ها می‌باشد (۱۵۸). تاکنون روش‌های مختلفی برای این منظور مطرح شده است که اساس تمام آن‌ها استفاده از یک منبع تغذیه‌ای به همراه یک ضدیخ (Cryoprotectant) (با درصدهای مختلف) می‌باشد. کارکرد ضدیخ به‌طور ساده افزایش غلظت کلی تمام ترکیبات موجود در سیستم و متعاقباً کاهش مقدار یخ تشکیل شده در حالت انجماد می‌باشد (۱۵۹). تاکنون مطالعات متعددی در رابطه با جداسازی و انجماد انواع سلول‌های بنیادی، از جمله AFSCs صورت گرفته است. مطالعه Steigman و همکاران برای اولین بار AF-MSCs را طبق استانداردهای سلول‌درمانی FDA جداسازی و آماده استفاده در روند درمانی کردند (۸۷). این گروه با ارائه یک پروتکل سه مرحله‌ای، سلول‌های بنیادی را برای استفاده بالینی از مایع آمنیوتیک جدا کردند. در مرحله اول که مرحله توسعه اولیه پیش از انجماد است، سلول‌ها تحت شرایط استریل جداسازی و تعیین فنوتیپ شدند؛ معیار خروج سلول‌ها از انجماد عدم رشد به‌مدت حداقل ۲ هفته می‌باشد. در مرحله دوم یا مرحله توسعه ثانویه پس از انجماد، سلول‌ها بعد از ۳ تا ۵ ماه حفاظت تحت سرمادهی وارد شرایط کشت شده و پس از تکثیر، ویژگی‌های آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. معیار خروج سلول‌ها از این مرحله مثبت بودن بیش از ۹۰٪ آن‌ها برای مارکرهای CD29، CD73و CD44 (مزانشیمی) و کمتر از ۵٪ برای مارکرهای CD34 و CD45 (خون‌ساز) می‌باشد. از دیگر معیارهای این مرحله که مطابق با استانداردهای FDA می‌باشد وجود بیش از ۶۰۰ میلیون سلول با زیست‌پذیری (Viability) بالاتر از ۷۰٪ است که آزمون PCR میکوپلاسما نیز در آن‌ها منفی باشد. در نهایت در مرحله سوم که آماده‌سازی پیش از جراحی می‌باشد وجود اندوتوکسین در سلول‌ها بررسی شده که معیار خروج از آن میزان کمتر از ۵ EU/ml بود. هم‌چنین آزمون رنگ‌آمیزی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

گرم (Gram staining) نیز بخش دیگری از معیار این مرحله بود که در صورت عدم مشاهده میکروارگانیسم‌ها امکان استفاده سلول‌ها وجود دارد (۸۷). مطالعاتی که بر روی فیبروبلاست‌های انسانی و قرینه‌های منجمد شده آن‌ها انجام گرفته است نشان می‌دهد خروج سلول از انجماد آغازگر یک پاسخ مولکولی "شوک گرمایی" در برابر استرس بیوشیمیایی ناشی از بازگشت از انجماد است (۱۶۰). از این رو مرحله انجماد می‌تواند بسیاری از ویژگی‌های سلول را تغییر دهد، از جمله طول عمر و پیری (Senescence) سلول، زیست‌پذیری سلول‌ها، نوع و میزان مارکرها و گیرنده‌های سطحی و تولیدات سلولی (۱۶۱). به‌عنوان مثال Moll و همکاران نشان دادند که مرحله انجماد علاوه‌بر کاهش زیست‌پذیری، باعث نقص در فعالیت سرکوب ایمنی MSCs شده و حساسیت آن‌ها را به محرک‌های پیش‌التهابی کاهش می‌دهد (۱۶۲). با این وجود اثر انجماد بسته به منشاء یک سلول ممکن است متفاوت باشد به‌طوری‌که سلول‌های جنینی در مقایسه با سلول‌های بالغ پس از انجماد قابلیت بقای بیشتری دارند که احتمالاً به تحمل بهتر شرایط تنش اکسیژن توسط این سلول‌ها برمی‌گردد (۸۷). بسیاری از محققان تغییراتی که در اثر مرحله انجماد رخ می‌دهد را مسئول تفاوت در نتایج بالینی هنگام استفاده از MSCs پس از مرحله انجماد می‌دانند. به‌عنوان مثال در یک مقاله مروری که Galipeau در مورد شکست برخی از نتایج فاز بالینی منتشر کرد مرحله انجماد را به‌عنوان یکی از عوامل احتمالی در نظر گرفت (۱۶۱). بسیاری از منابع، شرایط کشت سلول‌ها را در پاسخ آن‌ها نسبت به مرحله انجماد تعیین‌کننده می‌دانند. از طرفی تعداد این سلول‌ها برای استفاده بالینی اهمیت دارد که بستگی به شرایط کشت و توسعه آن‌ها پس از جداسازی دارد. در مورد MSCs شرایط کشت در ویژگی‌های بیولوژیک سلول و محصولات آن به‌ویژه فعالیت تعدیل/سرکوب ایمنی نقش مهمی دارد (۱۶۳). علاوه‌بر کشت، شرایط انجماد سلول‌ها نیز در ویژگی‌های بیولوژیک آن‌ها اهمیت دارد. مطالعاتی که تاکنون بر روی انواع MSCs جدا شده از منابع جنینی و بزرگسالی انجام شده نشان می‌دهد مواردی هم‌چون میزان DMSO، سرم یا جایگزین‌های حیوانی سرم، و نحوه انجماد، می‌تواند بر روی ویژگی‌های سلول‌های منجمد شده تاثیرگذار باشد (۱۶۴).

نتیجه‌گیری

مایع آمنیوتیک حاوی مخلوطی از انواع مختلف سلولی است که از پوست، دستگاه تنفسی، دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی جنین و هم‌چنین غشای آمنیون اطراف آن منشا گرفته‌اند. نظر به اینکه مایع آمنیوتیک پیش از فرایند گاستروولاسیون تولید می‌شود، بسیاری از سلول‌های موجود در این جمعیت ناهمگن دستخوش اختصاصی شدن دودمان خود قرار نگرفته‌اند. بنابراین AF-MSCs ممکن است با دسته جدیدی از سلول‌های بنیادی با خواص پلاستیسیتی بینابین سلول‌های بنیادی پرتوان و بالغ مطابقت داشته باشند. ویژگی‌های منحصر به فرد این سلول‌ها از قبیل تمایز به سلول‌های مشتق از سه لایه زایا، پتانسیل کلون‌زایی بالا، توانایی تشکیل اجسام جنینی، بیان نشانگرهای پرتوانی، ظرفیت خودنوزایی بالا (بیش از ۲۵۰ مضاعف شدگی جمعیت) همراه با حفظ کاریوتیپ طبیعی در پاساژهای بالا، طول تلومر طولانی به علت تداوم فعالیت تلومرازی و به ویژه عدم تومورزایی، ایمنی‌زایی اندک و هم‌چنین خواص ضدالتهابی و تعدیل‌کننده ایمنی به منظور کاربردهای پزشکی بازساختی موجب شده تا آن‌ها بیش از پیش مورد توجه محققین قرار گیرند. در مقایسه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) از منابع دیگر مانند مغز استخوان، AF-MSCs ظرفیت تکثیر و تمایز بیشتری را نشان می‌دهند. از سال ۲۰۰۱، زمانی که برای نخستین بار از AF-MSCs در مهندسی بافت استفاده گردید (کشت شده روی داربست poly-4-hydroxyapatite polyglycolic acid)، بسیاری از محققان طیف گسترده ای از گزارش‌های مربوط به استفاده از AF-MSCs در پزشکی بازساختی و مهندسی بافت را منتشر کرده‌اند؛ برای مثال AF-MSCs در بازسازی بافت عصبی (ساخت سازه‌ای با AF-MSC و چسب فیبرینی برای بازسازی عصب سیاتیک) و بازسازی ریه (ادغام AF-MSC در میان سلول‌های مخاطی ریه و بیان نشانگرهای آلوئولار و برونشیولار از طریق پیوند آن‌ها به شش

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

آسیب دیده موش) با موفقیت به کار برده شده است. علاوه بر این، نشان داده شده که AF-MSCs دارای پتانسیل بالایی در بازسازی بافت قلبی هستند، همانند نتایج اامیدوارکننده‌ای که تزریق این سلول‌ها به‌طور مستقیم به اطراف نواحی نکروزه در مدل انفارکتوس میوکارد رت در برداشت. به‌طور خلاصه، پیش‌بینی می‌شود که این سلول‌ها یکی از منابع ایده‌آل سلول‌های بنیادی برای کاربردهای پزشکی بازساختی در آینده باشد.

حامی مالی: پژوهشکده بیولوژی تولید مثل

تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

1-Abdulrazzak H, Moschidou D, Jones G, Guillot PV. ***Biological Characteristics of Stem Cells from Foetal, Cord Blood and Extraembryonic Tissues.*** J R Soc Interface 2010; 7: S689-706.

2-Czyz J, Wiese C, Rolletschek A, Blyszczuk P, Cross M, Wobus AM. ***Potential of Embryonic and Adult Stem Cells in Vitro***. Biol Chem 2003; 384(10-11): 1391-409.

3-Hu Y, Liao L, Wang Q, Ma L, Ma G, Jiang X, et al. ***Isolation and Identification of Mesenchymal Stem Cells from Human Fetal Pancreas***. J Lab Clin Med 2003;141(5):342-9.

4-Noort WA, Scherjon SA, Kleijburg-Van Der Keur C, Kruisselbrink AB, Van Bezooijen RL, Beekhuizen W, et al. ***Mesenchymal Stem Cells in Human Second-Trimester Bone Marrow, Liver, Lung, And Spleen Exhibit a Similar Immunophenotype but a Heterogeneous Multilineage Differentiation Potential***. Haematologica 2003; 88(8): 845-52.

5-In 'T Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-Van Der Keur C, De Groot-Swings GM, Claas FH, Fibbe WE, et al. ***Isolation of Mesenchymal Stem Cells of Fetal or Maternal Origin from Human Placenta***. Stem Cells 2004; 22(7): 1338-45.

6-Beta J, Lesmes-Heredia C, Bedetti C, Akolekar R. ***Risk of Miscarriage Following Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling: A Systematic Review of the Literature***. Minerva Ginecol 2018; 70(2): 215-9.

7-Pappa KI, Anagnou NP. ***Novel Sources of Fetal Stem Cells: Where do they Fit on the Developmental Continuum?*** Regen Med 2009; 4(3): 423-33.

8-Fauza DO, Bani M. ***Fetal Stem Cells in Regenerative Medicine: Principles and Translational Strategies***. New York: Springer 2016; 181-202.

9-Maguire CT, Demarest BL, Hill JT, Palmer JD, Brothman AR, Yost HJ, et al***. Genome-Wide Analysis Reveals the Unique Stem Cell Identity of Human Amniocytes.*** Plos One 2013; 8(1): E53372.

10-Eiben B, Goebel R, Hansen S, Hammans W. ***Early Amniocentesis--A Cytogenetic Evaluation of Over 1500 Cases***. Prenat Diagn 1994; 14(6): 497-501.

11-Harman CR. ***Amniotic Fluid Abnormalities***. Semin Perinatol 2008; 32(4): 288-94.

12-Gholizadeh-Ghalehaziz S, Farahzadi R, Fathi E, Pashaiasl M. ***A Mini Overview of Isolation, Characterization and Application of Amniotic Fluid Stem Cells***. Int J Stem Cells 2015; 8(2): 115-20.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

13- Fauza D. ***Amniotic Fluid and Placental Stem Cells***. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2004; 18(6): 877-91.

14- Klemmt PA, Vafaizadeh V, Groner B. ***The Potential of Amniotic Fluid Stem Cells for Cellular Therapy and Tissue Engineering***. Expert Opin Biol Ther 2011; 11(10): 1297-314.

15- Loukogeorgakis SP, De Coppi P. ***Concise Review: Amniotic Fluid Stem Cells: The Known, The Unknown, And Potential Regenerative Medicine Applications***. Stem Cells 2017; 35(7): 1663-73.

16- Jacobson CB, Barter RH. ***Intrauterine Diagnosis and Management of Genetic Defects.*** American Journal of Obstetrics & Gynecology 1967; 99(6): 796-807.

17- Nelson MM, Emery AE. ***Amniotic Fluid Cells; Prenatal Sex Prediction and Culture***. Br Med J 1970; 1(5695):523-6.

18- Fuchs F, Riis P. ***Antenatal Sex Determination***. Nature 1956; 177(4503): 330.

19- Steele MW, Breg WR, Jr. ***Chromosome Analysis of Human Amniotic-Fluid Cells***. Lancet 1966; 1(7434): 383-5.

20- Demars R, Sarto G, Felix JS, Benke P. ***Lesch-Nyhan Mutation: Prenatal Detection With Amniotic Fluid Cells.*** Science 1969; 164(3885): 1303-5.

21- Gray C, Davidson RG, Cohen MM. ***A Simplified Technique for the Culture of Amniotic Fluid Cells***. J Pediatr 1971; 79(1): 119-22.

22- Marchant GS. ***Evaluation of Methods of Amniotic Fluid Cell Culture***. Am J Med Technol 1971; 37(10): 391-6.

23- Hoehn H, Bryant EM, Karp LE, Martin GM. ***Cultivated Cells from Diagnostic Amniocentesis in Second Trimester Pregnancies. I. Clonal Morphology and Growth Potential***. Pediatr Res 1974; 8(8): 746-54.

24- Priest RE, Priest JH, Moinuddin JF, Keyser AJ. ***Differentiation in Human Amniotic Fluid Cell Cultures: I: Collagen Production***. J Med Genet 1977; 14(3): 157-62.

25- Megaw JM, Priest JH, Priest RE, Johnson LD. ***Differentiation in Human Amniotic Fluid Cell Cultures: II: Secretion of an Epithelial Basement Membrane Glycoprotein***. J Med Genet. 1977; 14(3): 163-7.

26- Aula P, Von Koskull H, Teramo K, Karjalainen O, Virtanen I, Lehto VP, et al. ***Glial Origin of Rapidly Adhering Amniotic Fluid Cells***. Br Med J 1980; 281(6253): 1456-7.

27- Priest RE, Priest JH, Moinuddin JF, Sgoutas DS. ***Differentiation in Human Amniotic Fluid Cell Cultures: Chorionic Gonadotropin Production***. In Vitro 1979; 15(2): 142-7.

28- Sarkar S, Chang HC, Porreco RP, Jones OW. ***Neural Origin of Cells in Amniotic Fluid***. Am J Obstet Gynecol 1980; 136(1): 67-72.

29- Hoehn H, Salk D. ***Morphological and Biochemical Heterogeneity of Amniotic Fluid Cells in Culture***. Methods Cell Biol 1982; 26: 11-34.

30- Wilson PG, Devkota L, Payne T, Crisp L, Winter A, Wang Z. ***Clonal Populations of Amniotic Cells by Dilution and Direct Plating: Evidence for Hidden Diversity.*** Stem Cells Int 2012; 2012: 485950.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

31-Pentz S, Horler H. ***A Cryopreservative Procedure for Storing Cultivated and Uncultivated Amniotic Fluid Cells in Liquid Nitrogen***. J Med Genet 1980; 17(6): 472-5.

32-Schmidt D, Achermann J, Odermatt B, Genoni M, Zund G, Hoerstrup SP. ***Cryopreserved Amniotic Fluid-Derived Cells: A Lifelong Autologous Fetal Stem Cell Source for Heart Valve Tissue Engineering.*** J Heart Valve Dis 2008;17(4): 446-55.

33-Cho HJ, Lee SH, Yoo JJ, Shon YH. ***Evaluation of Cell Viability and Apoptosis in Human Amniotic Fluid-Derived Stem Cells with Natural Cryoprotectants***. Cryobiology 2014; 68(2): 244-50.

34-Seo JM, Sohn MY, Suh JS, Atala A, Yoo JJ, Shon YH. ***Cryopreservation of Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Using Natural Cryoprotectants and Low Concentrations of Dimethylsulfoxide***. Cryobiology 2011; 62(3): 167-73.

35-Byrne D, Azar G, Nicolaides K. ***Why Cell Culture is Successful after Early Amniocentesis***. Fetal Diagn Ther 1991; 6(1-2): 84-6.

36-Torricelli F, Brizzi L, Bernabei PA, Gheri G, Di Lollo S, Nutini L, et al. ***Identification of Hematopoietic Progenitor Cells in Human Amniotic Fluid Before The 12th Week of Gestation***. Ital J Anat Embryol 1993; 98(2): 119-26.

37-Mosquera A, Fernandez JL, Campos A, Goyanes VJ, Ramiro-Diaz J, Gosalvez J. ***Simultaneous Decrease of Telomere Length and Telomerase Activity with Ageing of Human Amniotic Fluid Cells***. J Med Genet 1999; 36(6): 494-6.

38-Kaviani A, Perry TE, Dzakovic A, Jennings RW, Ziegler MM, Fauza DO. ***The Amniotic Fluid as a Source of Cells for Fetal Tissue Engineering***. J Pediatr Surg 2001; 36(11): 1662-5.

39-Prusa AR, Marton E, Rosner M, Bernaschek G, Hengstschlager M. ***Oct-4-Expressing Cells in Human Amniotic Fluid: A New Source for Stem Cell Research?*** Hum Reprod 2003; 18(7): 1489-93.

40-Tsai MS, Lee JL, Chang YJ, Hwang SM. ***Isolation of Human Multipotent Mesenchymal Stem Cells from Second-Trimester Amniotic Fluid Using a Novel Two-Stage Culture Protocol***. Hum Reprod 2004; 19(6): 1450-6.

41-Dai W, Kloner RA. ***Myocardial Regeneration by Human Amniotic Fluid Stem Cells: Challenges to be Overcome.*** J Mol Cell Cardiol 2007; 42(4): 730-2.

42-Donaldson AE, Cai J, Yang M, Iacovitti L. ***Human Amniotic Fluid Stem Cells Do Not Differentiate Into Dopamine Neurons in Vitro or after Transplantation in Vivo***. Stem Cells Dev 2009; 18(7): 1003-12.

43-Fuchs JR, Kaviani A, Oh JT, Lavan D, Udagawa T, Jennings RW, et al. ***Diaphragmatic Reconstruction with Autologous Tendon Engineered from Mesenchymal Amniocytes***. J Pediatr Surg 2004; 39(6): 834-8.

44-Hartmann-Fritsch F, Hosper N, Luginbuhl J, Biedermann T, Reichmann E, Meuli M. ***Human Amniotic Fluid Derived Cells Can Competently Substitute Dermal Fibroblasts in a Tissue-Engineered Dermo-Epidermal Skin Analog***. Pediatr Surg Int 2013; 29(1): 61-9.

45-Kim JA, Shon YH, Lim JO, Yoo JJ, Shin HI, Park EK. ***MYOD Mediates Skeletal Myogenic Differentiation of Human Amniotic Fluid Stem***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

Cells And Regeneration of Muscle Injury. Stem Cell Res Ther 2013; 4(6): 147.

46-Kunisaki SM, Freedman DA, Fauza DO. ***Fetal Tracheal Reconstruction with Cartilaginous Grafts Engineered from Mesenchymal Amniocytes.*** J Pediatr Surg 2006; 41(4): 675-82.

47-Kunisaki SM, Fuchs JR, Steigman SA, Fauza DO. ***A Comparative Analysis of Cartilage Engineered from Different Perinatal Mesenchymal Progenitor Cells***. Tissue Eng 2007; 13(11): 2633-44.

48-Pan HC, Chen CJ, Cheng FC, Ho SP, Liu MJ, Hwang SM, et al. ***Combination of G-CSF Administration and Human Amniotic Fluid Mesenchymal Stem Cell Transplantation Promotes Peripheral Nerve Regeneration***. Neurochem Res 2009; 34(3): 518-27.

49-Pan HC, Cheng FC, Chen CJ, Lai SZ, Lee CW, Yang DY, et al. ***Post-Injury Regeneration in Rat Sciatic Nerve Facilitated by Neurotrophic Factors Secreted by Amniotic Fluid Mesenchymal Stem Cells***. J Clin Neurosci 2007; 14(11): 1089-98.

50- Schmidt D, Achermann J, Odermatt B, Breymann C, Mol A, Genoni M, et al***. Prenatally Fabricated Autologous Human Living Heart Valves Based on Amniotic Fluid Derived Progenitor Cells as Single Cell Source***. Circulation 2007; 116(11 Suppl): I64-70.

51-Steigman SA, Ahmed A, Shanti RM, Tuan RS, Valim C, Fauza DO. ***Sternal Repair with Bone Grafts Engineered from Amniotic Mesenchymal Stem Cells***. J Pediatr Surg 2009; 44(6): 1120-6.

52-Yang CM, Gong XL, Qiu J, Tang HX, Gong ZJ, Huang SZ, et al. ***Engraftment of Genetically Modified Human Amniotic Fluid-Derived Progenitor Cells to Produce Coagulation Factor IX After in Utero Transplantation in Mice***. Cell Biol Int 2013; 37(5): 420-9.

53-Yang JD, Choi DS, Cho YK, Kim TK, Lee JW, Choi KY, et al. ***Effect of Amniotic Fluid Stem Cells and Amniotic Fluid Cells on the Wound Healing Process in a White Rat Model***. Arch Plast Surg. 2013; 40(5): 496-504.

54-Li Y, Xu W, Yan J, Xia Y, Gu C, Ma Y, et al. ***Differentiation of Human Amniotic Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells into Type II Alveolar Epithelial Cells in Vitro***. Int J Mol Med 2014; 33(6): 1507-13.

55-Kang HH, Kang JJ, Kang HG, Chung SS. ***Urothelial Differentiation of Human Amniotic Fluid Stem Cells by Urothelium Specific Conditioned Medium***. Cell Biol Int 2014; 38(4): 531-7.

56-Carraro G, Perin L, Sedrakyan S, Giuliani S, Tiozzo C, Lee J, et al. ***Human Amniotic Fluid Stem Cells Can Integrate and Differentiate into Epithelial Lung Lineages.*** Stem Cells 2008; 26(11): 2902-11.

57-Carnevale G, Riccio M, Pisciotta A, Beretti F, Maraldi T, Zavatti M, et al. ***In Vitro Differentiation into Insulin-Producing Beta-Cells of Stem Cells Isolated from Human Amniotic Fluid and Dental Pulp.*** Dig Liver Dis 2013; 45(8): 669-76.

58-Chun SY, Mack DL, Moorefield E, Oh SH, Kwon TG, Pettenati MJ, et al. ***Pdx1 and Controlled Culture Conditions Induced Differentiation of Human Amniotic Fluid-Derived Stem Cells to Insulin-Producing Clusters.*** J Tissue Eng Regen Med 2015; 9(5): 540-9.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

59-Trovato L, De Fazio R, Annunziata M, Sdei S, Favaro E, Ponti R, et al. ***Pluripotent Stem Cells Isolated from Human Amniotic Fluid and Differentiation Into Pancreatic Beta-Cells***. J Endocrinol Invest 2009; 32(11): 873-6.

60-Liu H, Liu DQ, Li BW, Guan LD, Yan ZF, Li YL, et al. ***Human Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Can Differentiate Into Hepatocyte-Like Cells in Vitro and in Vivo***. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2011; 47(9): 601-8.

61-De Gemmis P, Lapucci C, Bertelli M, Tognetto A, Fanin E, Vettor R, et al. ***A Real-Time PCR Approach to Evaluate Adipogenic Potential of Amniotic Fluid-Derived Human Mesenchymal Stem Cells.*** Stem Cells Dev 2006; 15(5): 719-28.

62-Kolambkar YM, Peister A, Soker S, Atala A, Guldberg RE. ***Chondrogenic Differentiation of Amniotic Fluid-Derived Stem Cells***. J Mol Histol 2007; 38(5): 405-13.

63-Preitschopf A, Zwickl H, Li K, Lubec G, Joo G, Rosner M, et al. ***Chondrogenic Differentiation of Amniotic Fluid Stem Cells and Their Potential for Regenerative Therapy***. Stem Cell Rev 2012; 8(4): 1267-74.

64-Peister A, Porter BD, Kolambkar YM, Hutmacher DW, Guldberg RE. ***Osteogenic Differentiation of Amniotic Fluid Stem Cells***. Biomed Mater Eng 2008; 18(4-5): 241-6.

65-Sun H, Feng K, Hu J, Soker S, Atala A, Ma PX. ***Osteogenic Differentiation of Human Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Induced by Bone Morphogenetic Protein-7 and Enhanced by Nanofibrous Scaffolds***. Biomaterials 2010; 31(6): 1133-9.

66-Bollini S, Pozzobon M, Nobles M, Riegler J, Dong X, Piccoli M, et al. ***In Vitro and in Vivo Cardiomyogenic Differentiation of Amniotic Fluid Stem Cells***. Stem Cell Rev 2011;7(2):364-80.

67-Gao Y, Connell JP, Wadhwa L, Ruano R, Jacot JG. ***Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Demonstrated Cardiogenic Potential in Indirect Co-Culture with Human Cardiac Cells***. Ann Biomed Eng 2014; 42(12): 2490-500.

68-Ghionzoli M, Repele A, Sartiani L, Costanzi G, Parenti A, Spinelli V, et al. ***Human Amniotic Fluid Stem Cell Differentiation Along Smooth Muscle Lineage***. FASEB J 2013; 27(12): 4853-65.

69-Zhang P, Baxter J, Vinod K, Tulenko TN, Di Muzio PJ. ***Endothelial Differentiation of Amniotic Fluid-Derived Stem Cells: Synergism of Biochemical and Shear Force Stimuli***. Stem Cells Dev 2009; 18(9): 1299-308.

70-Perin L, Giuliani S, Jin D, Sedrakyan S, Carraro G, Habibian R, et al. ***Renal Differentiation of Amniotic Fluid Stem Cells***. Cell Prolif 2007; 40(6): 936-48.

71-Mareschi K, Rustichelli D, Comunanza V, De Fazio R, Cravero C, Morterra G, et al***. Multipotent Mesenchymal Stem Cells from Amniotic Fluid Originate Neural Precursors with Functional Voltage-Gated Sodium Channels.*** Cytotherapy 2009; 11(5): 534-47.

72-Toselli M, Cerbai E, Rossi F, Cattaneo E. ***Do Amniotic Fluid–Derived Stem Cells Differentiate into Neurons in Vitro?*** Nature Biotechnology 2008; 26(3): 269-70.

73-Decembrini S, Cananzi M, Gualdoni S, Battersby A, Allen N, Pearson RA, et al. ***Comparative Analysis of***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

the Retinal Potential of Embryonic Stem Cells and Amniotic Fluid-Derived Stem Cells. Stem Cells Dev 2011; 20(5): 851-63.

74-De Coppi P, Bartsch G Jr, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, et al. ***Isolation of Amniotic Stem Cell Lines With Potential for Therapy***. Nat Biotechnol 2007; 25(1): 100-6.

75-Lu HE, Yang YC, Chen SM, Su HL, Huang PC, Tsai MS, et al. ***Modeling Neurogenesis Impairment in Down Syndrome with Induced Pluripotent Stem Cells from Trisomy 21 Amniotic Fluid Cells***. Exp Cell Res 2013; 319(4): 498-505.

76- Pipino C, Mukherjee S, David AL, Blundell MP, Shaw SW, Sung P, et al. ***Trisomy 21 Mid-Trimester Amniotic Fluid Induced Pluripotent Stem Cells Maintain Genetic Signatures During Reprogramming: Implications for Disease Modeling and Cryobanking***. Cell Reprogram 2014; 16(5): 331-44.

77-Rosner M, Dolznig H, Schipany K, Mikula M, Brandau O, Hengstschlager M. ***Human Amniotic Fluid Stem Cells as a Model for Functional Studies of Genes Involved in Human Genetic Diseases or Oncogenesis.*** Oncotarget 2011; 2(9): 705-12.

78-Siegel N, Rosner M, Hanneder M, Valli A, Hengstschlager M. ***Stem Cells in Amniotic Fluid as New Tools to Study Human Genetic Diseases.*** Stem Cell Rev 2007; 3(4): 256-64.

79-Chun SY, Cho DH, Chae SY, Choi KH, Lim HJ, Yoon GS, et al. ***Human Amniotic Fluid Stem Cell-Derived Muscle Progenitor Cell Therapy For Stress Urinary Incontinence.*** J Korean Med Sci 2012; 27(11): 1300-7.

80-Jiang G, Di Bernardo J, Maiden MM, Villa-Diaz LG, Mabrouk OS, Krebsbach PH, et al. ***Human Transgene-Free Amniotic-Fluid-Derived Induced Pluripotent Stem Cells for Autologous Cell Therapy.*** Stem Cells Dev 2014; 23(21): 2613-25.

81-Morigi M, De Coppi P. ***Cell Therapy for Kidney Injury: Different Options and Mechanisms--Mesenchymal and Amniotic Fluid Stem Cells***. Nephron Exp Nephrol 2014;126(2):59.

82-Peng SY, Chou CJ, Cheng PJ, Ko IC, Kao YJ, Chen YH, et al. ***Therapeutic Potential of Amniotic-Fluid-Derived Stem Cells on Liver Fibrosis Model in Mice.*** Taiwan J Obstet Gynecol 2014; 53(2): 151-7.

83-Rehni AK, Singh N, Jaggi AS, Singh M. ***Amniotic Fluid Derived Stem Cells Ameliorate Focal Cerebral Ischaemia-Reperfusion Injury Induced Behavioural Deficits in Mice***. Behav Brain Res 2007; 183(1): 95-100.

84-Sedrakyan S, Da Sacco S, Milanesi A, Shiri L, Petrosyan A, Varimezova R, et al. ***Injection of Amniotic Fluid Stem Cells Delays Progression of Renal Fibrosis.*** J Am Soc Nephrol 2012; 23(4): 661-73.

85-Zagoura DS, Roubelakis MG, Bitsika V, Trohatou O, Pappa KI, Kapelouzou A, et al. ***Therapeutic Potential of a Distinct Population of Human Amniotic Fluid Mesenchymal Stem Cells and their Secreted Molecules in Mice with Acute Hepatic Failure***. Gut 2012; 61(6): 894-906.

86-Zheng YB, Zhang XH, Huang ZL, Lin CS, Lai J, Gu YR, et al. ***Amniotic-Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells Overexpressing Interleukin-1 Receptor Antagonist Improve Fulminant Hepatic Failure***. Plos One 2012; 7(7): E41392.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

87- Steigman SA, Armant M, Bayer-Zwirello L, Kao GS, Silberstein L, Ritz J, et al. ***Preclinical Regulatory Validation of a 3-Stage Amniotic Mesenchymal Stem Cell Manufacturing Protocol***. J Pediatr Surg 2008; 43(6): 1164-9.

88- Simantov R. ***Amniotic Stem Cell International.*** Reprod Biomed Online 2008; 16(4): 597-8.

89- Wu HW, Lin XZ, Hwang SM, Lee GB. ***The Culture and Differentiation of Amniotic Stem Cells Using a Microfluidic System.*** Biomed Microdevices 2009; 11(4): 869-81.

90- Wu HW, Lin XZ, Hwang SM, Lee GB. ***A Microfluidic Device for Separation of Amniotic Fluid Mesenchymal Stem Cells Utilizing Louver-Array Structures***. Biomed Microdevices 2009; 11(6): 1297-307.

91- Roubelakis MG, Trohatou O, Anagnou NP. ***Amniotic Fluid and Amniotic Membrane Stem Cells: Marker Discovery.*** Stem Cells Int 2012; 2012: 107836.

92- Chen CP, Lai TC, Chern SR, Li SH, Chou HC, Chen YW, et al. ***Proteome Differences Between Male and Female Fetal Cells in Amniotic Fluid***. Omics 2013;17(1):16-26.

93- Streubel B, Martucci-Ivessa G, Fleck T, Bittner RE. ***[In Vitro Transformation of Amniotic Cells to Muscle Cells--Background and Outlook].*** Wien Med Wochenschr 1996; 146(9-10): 216-7.

94- Hoseini SM, Montazeri F, Bahrami AR, Kalantar SM, Rahmani S, Zarein F, et al. ***Investigating the Expression of Pluripotency-Related Genes in Human Amniotic Fluid Cells: A Semi-Quantitative Comparison Between Different Subpopulations, From Primary to Cultured Amniocytes***. Reprod Biol 2020; 20(3): 338-47

95- Kim J, Lee Y, Kim H, Hwang KJ, Kwon HC, Kim SK, et al. ***Human Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Have Characteristics of Multipotent Stem Cells***. Cell Prolif 2007; 40(1): 75-90.

96- Cetrulo KJ. ***Perinatal Stem Cells***. 2nd Ed. Hoboken NJ: Wiley-Blackwell 2013; 1-13.

97- Baghaban Eslaminejad M, Jahangir S. ***Amniotic Fluid Stem Cells and their Application in Cell-Based Tissue Regeneration.*** Int J Fertil Steril 2012; 6(3): 147-56.

98- Prusa AR, Hengstschlager M. ***Amniotic Fluid Cells and Human Stem Cell Research: A New Connection.*** Med Sci Monit 2002; 8(11): RA253-RA7.

99- Roubelakis MG, Bitsika V, Zagoura D, Trohatou O, Pappa KI, Makridakis M, et al. ***In Vitro and in Vivo Properties of Distinct Populations of Amniotic Fluid Mesenchymal Progenitor Cells***. J Cell Mol Med 2011; 15(9): 1896-913.

100- Hoseini SM, Kalantar SM, Bahrami AR, Matin M. ***Human Amniocytes: A Comprehensive Study on Morphology, Frequency and Growth Properties of Subpopulations from a Single Clone to the Senescence.*** Cell and Tissue Biology 2020; 14(2): 102-12.

101- Chen WW. ***Studies on the Origin of Human Amniotic Fluid Cells by Immunofluorescent Staining of Keratin Filaments***. J Med Genet 1982; 19(6): 433-6.

102- Virtanen I, Von Koskull H, Lehto VP, Vartio T, Aula P. ***Cultured Human Amniotic Fluid Cells Characterized with Antibodies Against Intermediate***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

Filaments in Indirect Immunofluorescence Microscopy. J Clin Invest 1981; 68(5): 1348-55.

103- Cananzi M, De Coppi P**.** ***CD117(+) Amniotic Fluid Stem Cells: State of the Art and Future Perspectives.*** Organogenesis 2012; 8(3): 77-88.

104- Parolini O, Soncini M, Evangelista M, Schmidt D**.** ***Amniotic Membrane and Amniotic Fluid-Derived Cells: Potential Tools for Regenerative Medicine?*** Regen Med 2009; 4(2): 275-91.

105- Narsinh KH, Sun N, Sanchez-Freire V, Lee AS, Almeida P, Hu S, et al. ***Single Cell Transcriptional Profiling Reveals Heterogeneity of Human Induced Pluripotent Stem Cells***. J Clin Invest 2011; 121(3): 1217-21.

106- Toyooka Y, Shimosato D, Murakami K, Takahashi K, Niwa H. ***Identification and Characterization of Subpopulations in Undifferentiated ES Cell Culture***. Development 2008; 135(5): 909-18.

107- Roubelakis MG, Pappa KI, Bitsika V, Zagoura D, Vlahou A, Papadaki HA, et al. ***Molecular and Proteomic Characterization of Human Mesenchymal Stem Cells Derived From Amniotic Fluid: Comparison to Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells***. Stem Cells Dev 2007; 16(6): 931-52.

108- Tsai MS, Hwang SM, Chen KD, Lee YS, Hsu LW, Chang YJ, et al. ***Functional Network Analysis of the Transcriptomes of Mesenchymal Stem Cells Derived from Amniotic Fluid, Amniotic Membrane, Cord Blood, And Bone Marrow***. Stem Cells 2007; 25(10): 2511-23.

109- Tsai MS, Hwang SM, Tsai YL, Cheng FC, Lee JL, Chang YJ. ***Clonal Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Express Characteristics of both Mesenchymal and Neural Stem Cells***. Biol Reprod 2006; 74(3): 545-51.

110- Zagoura DS, Trohatou O, Bitsika V, Makridakis M, Pappa KI, Vlahou A, et al. ***AF-Mscs Fate Can be Regulated by Culture Conditions.*** Cell Death Dis 2013;4(4): E571.

111- Antonucci I, Di Pietro R, Alfonsi M, Centurione MA, Centurione L, Sancilio S, et al**.** ***Human Second Trimester Amniotic Fluid Cells are Able to Create Embryoid Body-Like Structures in Vitro and to Show Typical Expression Profiles of Embryonic and Primordial Germ Cells***. Cell Transplant 2014; 23(12): 1501-15.

112- Savickiene J, Treigyte G, Baronaite S, Valiuliene G, Kaupinis A, Valius M, et al**.** ***Human Amniotic Fluid Mesenchymal Stem Cells from Second- And Third-Trimester Amniocentesis: Differentiation Potential, Molecular Signature, And Proteome Analysis***. Stem Cells Int 2015; 2015: 319238.

113- Moschidou D, Mukherjee S, Blundell MP, Jones GN, Atala AJ, Thrasher AJ, et al. ***Human Mid-Trimester Amniotic Fluid Stem Cells Cultured Under Embryonic Stem Cell Conditions with Valproic Acid Acquire Pluripotent Characteristics***. Stem Cells Dev 2013; 22(3): 444-58.

114- Moschidou D, Mukherjee S, Blundell MP, Drews K, Jones GN, Abdulrazzak H, et al. ***Valproic Acid Confers Functional Pluripotency To Human Amniotic Fluid Stem Cells in a Transgene-Free Approach***. Mol Ther 2012; 20(10): 1953-67.

115- Arnhold S, Gluer S, Hartmann K, Raabe O, Addicks K, Wenisch S, et al. ***Amniotic-Fluid Stem Cells: Growth Dynamics and Differentiation***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

Potential after a CD-117-Based Selection Procedure. Stem Cells Int 2011; 2011: 715341.

116- Kim EY, Lee KB, Kim MK. ***The Potential of Mesenchymal Stem Cells Derived from Amniotic Membrane and Amniotic Fluid for Neuronal Regenerative Therapy***. BMB Rep 2014; 47(3): 135-40.

117- Manuelpillai U, Moodley Y, Borlongan CV, Parolini O. ***Amniotic Membrane and Amniotic Cells: Potential Therapeutic Tools to Combat Tissue Inflammation and Fibrosis***? Placenta 2011; 32 Suppl 4: S320-5.

118- Murphy SV, Atala A. ***Amniotic Fluid and Placental Membranes: Unexpected Sources of Highly Multipotent Cells.*** Semin Reprod Med 2013; 31(1): 62-8.

119- Skamel C, Aller SG, Bopda Waffo A. ***Correction: In Vitro Evolution and Affinity-Maturation with Coliphage Qbeta Display.*** Plos One 2018; 13(6): E0199953.

120- Shay JW, Wright WE. ***Hayflick, His Limit, And Cellular Ageing***. Nat Rev Mol Cell Biol 2000; 1(1): 72-6.

121- Blum B, Benvenisty N. ***The Tumorigenicity of Human Embryonic Stem Cells***. Adv Cancer Res 2008; 100: 133-58.

122- Le Blanc K, Ringden O. ***Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells and Clinical Experience***. J Int Med 2007; 262(5): 509-25.

123- Moorefield EC, Mckee EE, Solchaga L, Orlando G, Yoo JJ, Walker S, et al***. Cloned, CD117 Selected Human Amniotic Fluid Stem Cells are Capable of Modulating the Immune Response***. Plos One 2011; 6(10): E26535.

124- Kuçi Z, Seiberth J, Latifi-Pupovci H, Wehner S, Stein S, Grez M, et al. ***Clonal Analysis of Multipotent Stromal Cells Derived From CD271+ Bone Marrow Mononuclear Cells: Functional Heterogeneity and Different Mechanisms of Allosuppression***. Haematologica 2013; 98(10): 1609-16.

125- Hoseini S, Montazeri F, Kalantar S, Bahrami A, Zarein F, Moghadam Matin M. ***Mesenchymal Stem Cells: Interactions with Immune Cells and Immunosuppressive-Immunomodulatory Properties***. Sci J Iranian Blood Transfus Organ 2020; 17(2): 147-69.

126- Leuning DG, Beijer NRM, Du Fosse NA, Vermeulen S, Lievers E, Van Kooten C, et al. ***The Cytokine Secretion Profile of Mesenchymal Stromal Cells is Determined by Surface Structure of the Microenvironment***. Sci Rep 2018; 8(1): 7716.

127- De Coppi P, Callegari A, Chiavegato A, Gasparotto L, Piccoli M, Taiani J, et al. ***Amniotic Fluid and Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells Can be Converted to Smooth Muscle Cells in the Cryo-Injured Rat Bladder and Prevent Compensatory Hypertrophy of Surviving Smooth Muscle Cells***. J Urol 2007;177(1): 369-76.

128- Perin L, Sedrakyan S, Giuliani S, Da Sacco S, Carraro G, Shiri L, et al. ***Protective Effect Of Human Amniotic Fluid Stem Cells in an Immunodeficient Mouse Model of Acute Tubular Necrosis***. Plos One 2010; 5(2): E9357.

129- Kim EY, Lee K-B, Kim MK. ***The Potential of Mesenchymal Stem Cells Derived from Amniotic Membrane and Amniotic Fluid for Neuronal Regenerative Therapy***. BMB Reports 2014; 47(3): 135-40.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

130- Lanza RP, Langer RS, Vacanti J. ***Principles of Tissue Engineering.*** 4th ed. Amsterdam: Academic Press, An Imprint of Elsevier; 2014; 511-25.

131- Kunisaki SM. ***Amniotic Fluid Stem Cells for the Treatment of Surgical Disorders in the Fetus and Neonate.*** Stem Cells Trans Med 2018; 7(11): 767-73.

132- Shaw SWS, Bollini S, Nader KA, Gastadello A, Mehta V, Filppi E, et al. ***Autologous Transplantation of Amniotic Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells into Sheep Fetuses***. Cell Transplant 2011; 20(7): 1015-31.

133- Ditadi A, De Coppi P, Picone O, Gautreau L, Smati R, Six E, et al. ***Human and Murine Amniotic Fluid C-Kit+Lin- Cells Display Hematopoietic Activity***. Blood 2009; 113(17): 3953-60.

134- Sibov TT, Pavon LF, Cabral FR, Cunha IF, De Oliveira DM, De Souza JG, et al. ***Intravenous Grafts of Human Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Reduce Behavioral Deficits In Experimental Ischemic Stroke***. Cell Transplant 2019; 28(9-10): 1306-1320

135- Rehni AK, Singh N, Jaggi AS, Singh M. ***Amniotic Fluid Derived Stem Cells Ameliorate Focal Cerebral Ischaemia-Reperfusion Injury Induced Behavioural Deficits in Mice***. Behav Brain Res 2007; 183(1): 95-100.

136- Skardal A, Mack D, Kapetanovic E, Atala A, Jackson JD, Yoo J, et al. ***Bioprinted Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Accelerate Healing of Large Skin Wounds***. Stem Cells Translational Medicine 2012; 1(11): 792-802.

137- Dar-Yu Y, Meei-Ling S, Hong-Lin S, Fu-Chou C, Ying-Ju C, Chun-Jung C, et al. ***Dual Regeneration of Muscle and Nerve by Intravenous Administration of Human Amniotic Fluid–Derived Mesenchymal Stem Cells Regulated by Stromal Cell–Derived Factor-1α in a Sciatic Nerve Injury Model.*** J Neurosurg 2012; 116(6): 1357-67.

138- Baulier E, Favreau F, Le Corf A, Jayle C, Schneider F, Goujon J-M, et al. ***Amniotic Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells Prevent Fibrosis and Preserve Renal Function in a Preclinical Porcine Model of Kidney Transplantation***. Stem Cells Translat Med 2014; 3(7): 809-20.

139- Li S, Zhao Y, Wang Z, Wang J, Liu C, Sun D. ***Transplantation of Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Preconditioned with Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Gene Alleviates Renal Fibrosis***. Cell Transplant 2018; 28(1): 65-78.

140- Maraldi T, Riccio M, Pisciotta A, Zavatti M, Carnevale G, Beretti F, et al. ***Human Amniotic Fluid-Derived And Dental Pulp-Derived Stem Cells Seeded into Collagen Scaffold Repair Critical-Size Bone Defects Promoting Vascularization.*** Stem Cell Res Ther 2013; 4(3): 53.

141- Rodrigues MT, Lee SJ, Gomes ME, Reis RL, Atala A, Yoo JJ. ***Amniotic Fluid-Derived Stem Cells as a Cell Source for Bone Tissue Engineering. Tissue Engineering Part a*** 2012; 18(23-24): 2518-27.

142- Schmidt D, Achermann J, Odermatt B, Genoni M, Zund G, Hoerstrup SP. ***Cryopreserved Amniotic Fluid-Derived Cells: A Lifelong Autologous Fetal Stem Cell Source for Heart Valve Tissue Engineering.*** J Heart Valve Dis 2008; 17(4): 446-55.

143- Bollini S, Cheung KK, Riegler J, Dong X, Smart N, Ghionzoli M, et al. ***Amniotic Fluid Stem Cells are Cardioprotective Following Acute Myocardial***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

Infarction. Stem Cells and Development. 2011; 20(11):1985-94.

144- Connell JP, Camci-Unal G, Khademhosseini A, Jacot JG. ***Amniotic Fluid-Derived Stem Cells for Cardiovascular Tissue Engineering Applications.*** Tissue Engineering Part B: Reviews 2013; 19(4): 368-79.

145- Liu YW, Fang YH, Su CT, Hwang SM, Liu PY, Wu SN. ***The Biochemical and Electrophysiological Profiles of Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Following Wnt Signaling Modulation Cardiac Differentiation***. Cell Death Discovery 2019; 5(1): 59.

146- Petsche Connell J, Camci-Unal G, Khademhosseini A, Jacot JG. ***Amniotic Fluid-Derived Stem Cells for Cardiovascular Tissue Engineering Applications.*** Tissue Engineering Part B: Reviews 2013;19(4):368-79.

147- Kang NH, Hwang KA, Yi BR, Lee HJ, Jeung EB, Kim SU, et al. ***Human Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Expressing Cytosine Deaminase and Thymidine Kinase Inhibits the Growth of Breast Cancer Cells in Cellular and Xenograft Mouse Models***. Cancer Gene Therapy 2012; 19(6): 412-9.

148- Kang NH, Hwang KA, Kim SU, Kim YB, Hyun SH, Jeung EB, et al. ***Potential Antitumor Therapeutic Strategies of Human Amniotic Membrane and Amniotic Fluid-Derived Stem Cells***. Cancer Gene Therapy 2012; 19(8): 517-22.

149- Bitsika V, Roubelakis MG, Zagoura D, Trohatou O, Makridakis M, Pappa KI, et al. ***Human Amniotic Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells as Therapeutic Vehicles: A Novel Approach for the Treatment of Bladder Cancer.*** Stem Cells and Development 2011; 21(7): 1097-111.

150- Antonucci I, Iezzi I, Morizio E, Mastrangelo F, Pantalone A, Mattioli-Belmonte M, et al. ***Isolation of Osteogenic Progenitors from Human Amniotic Fluid Using a Single Step Culture Protocol***. BMC Biotechnol 2009; 9(1): 9.

151- Bossolasco P, Montemurro T, Cova L, Zangrossi S, Calzarossa C, Buiatiotis S, et al. ***Molecular and Phenotypic Characterization of Human Amniotic Fluid Cells and their Differentiation Potential***. Cell Res 2006; 16(4): 329-36.

152- Klemmt PA, Vafaizadeh V, Groner B. ***Murine Amniotic Fluid Stem Cells Contribute Mesenchymal but Not Epithelial Components to Reconstituted Mammary Ducts***. Stem Cell Res Ther 2010; 1(3): 20.

153- Zhao W, Ji X, Zhang F, Li L, Ma L. ***Embryonic Stem Cell Markers***. Molecules 2012; 17(6): 6196-236.

154- Chen WQ, Siegel N, Li L, Pollak A, Hengstschlager M, Lubec G. ***Variations of Protein Levels in Human Amniotic Fluid Stem Cells CD117/2 Over Passages 5-25***. J Proteome Res 2009; 8(11): 5285-95.

155- Ghionzoli M, Cananzi M, Zani A, Rossi CA, Leon FF, Pierro A, et al. ***Amniotic Fluid Stem Cell Migration after Intraperitoneal Injection in Pup Rats: Implication for Therapy***. Pediatr Surg Int 2010; 26(1): 79-84.

156- Sessarego N, Parodi A, Podesta M, Benvenuto F, Mogni M, Raviolo V, et al. ***Multipotent Mesenchymal Stromal Cells from Amniotic Fluid: Solid***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

Perspectives for Clinical Application. Haematologica 2008; 93(3): 339-46.

157- Phermthai T, Odglun Y, Julavijitphong S, Titapant V, Chuenwattana P, Vantanasiri C, et al. ***A Novel Method To Derive Amniotic Fluid Stem Cells for Therapeutic Purposes***. BMC Cell Biol 2010; 11: 79.

158- Aziz SG-G, Pashaei-Asl F, Fardyazar Z, Pashaiasl M***. Isolation, Characterization, Cryopreservation of Human Amniotic Stem Cells and Differentiation to Osteogenic and Adipogenic Cells***. Plos One 2016; 11(7): E0158281.

159- Pegg DE. ***Principles of Cryopreservation.*** Methods Mol Biol 2007; 368: 39-57.

160- Liu K, Yang Y, Mansbridge J. ***Comparison of the Stress Response to Cryopreservation in Monolayer and Three-Dimensional Human Fibroblast Cultures: Stress Proteins, MAP Kinases, And Growth Factor Gene Expression***. Tissue Eng 2000; 6(5): 539-54.

161- Galipeau J. ***The Mesenchymal Stromal Cells Dilemma--Does a Negative Phase III Trial of Random Donor Mesenchymal Stromal Cells in Steroid-Resistant Graft-Versus-Host Disease Represent a Death Knell or a Bump in The Road?*** Cytotherapy 2013; 15(1): 2-8.

162- Moll G, Alm JJ, Davies LC, Von Bahr L, Heldring N, Stenbeck-Funke L, et al. ***Do Cryopreserved Mesenchymal Stromal Cells Display Impaired Immunomodulatory and Therapeutic Properties***? Stem Cells 2014; 32(9): 2430-42.

163- Pollock K, Sumstad D, Kadidlo D, Mckenna DH, Hubel A. ***Clinical Mesenchymal Stromal Cell Products Undergo Functional Changes in Response to Freezing***. Cytotherapy 2015; 17(1): 38-45.

164- Hunt CJ. ***Cryopreservation of Human Stem Cells for Clinical Application: A Review***. Transfus Med Hemother 2011; 38(2): 107-23.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 28| NO 12 | Mar 2021
Received: 31 Jul 2019
Accepted: 7 Sep 2019

Human Amniotic Fluid Stem Cells: General Characteristics and Potential Therapeutic Applications

Seyed Mehdi Hoseini[1], Maryam Moghaddam-Matin[2], Ahmad Reza Bahrami[3], Fateme Montazeri[4], Seyed Mehdi Kalantar[*5]

Review Article

Introduction: Amniotic fluid contains a mixture of different cell types sloughed from the fetal skin, respiratory, alimentary and urogenital tracts, as well as the amnion membrane. As amniotic fluid develops prior to the process of gastrulation, many cells found in its heterogeneous population do not undergo lineage specialization. Therefore, amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells (AF-MSCs) may correspond to a new class of stem cells with properties of intermediate plasticity between pluripotent and adult stem cell types. Compared to mesenchymal stem cells (MSCs) from other sources, such as bone marrow, AF-MSCs have better properties for clinical applications, such as differentiation into the cells of three germ layers, high clonal capacity, ability to form embryoid bodies, expression of pluripotent markers, high self-renewal capacity (over 250 population doublings) with normal karyotype at late passages, long telomere length due to continued telomerase activity, specially non-tumorigenicity, low immunogenicity, anti-inflammatory and immunomodulatory properties.

Conclusion: Such features have nominated AF-MSC for a range of clinical applications, including in regenerative medicine. In several studies, these cells have been used to regenerate nerve, lung, and heart tissues. Overall, AF-MSCs are expected to be an ideal source of stem cells for future regenerative medicine and tissue engineering.

Keywords: Amniotic fluid-derived stem cells, Mesenchymal stem cells, Amniotic fluid.

Citation: Hoseini SM, Moghaddam-Matin M, Bahrami AR, Montazeri F, kalantar SM. **Human Amniotic Fluid Stem Cells: General Characteristics and Potential Therapeutic Applications.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2021; 28(12): 3252-75.

[1-3]Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
[4]Abortion Research Center, Yazd Reproductive Sciences Institute, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran.
[5]Research and Clinical Center for Infertility, Yazd Reproductive Sciences Institute, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 09131518918, **email:** smkyzd@gmail.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-02-06]

[DOI: 10.18502/ssu.v28i12.5774]