Feyz Medical Sciences Journal
2026, Volume 30, Issue 3
Pages: 266-280
Doi: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266
Original Article

Effect of Human Placental Extract on Osteogenic Differentiation of Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells

Fatemeh Parvini Far [1], Hanieh Jafary [1*], Ehsan SeyedJafari [2]

[1] Departement of Biology, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of Biotechnology, University of Tehran, Tehran, Iran

[*]**Corresponding author: Hanieh Jafary,** Departement of Biology, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran
Email: h-jafary@iau.ac.ir

Received: 12 June 2026 **Revised:** 22 July 2026 **Accepted:** 22 July 2026

Abstract

Background and Aim: Mesenchymal stem cells (MSCs) are characterized by self-renewal capacity and multilineage differentiation potential. Human placental extract, rich in growth factors and amino acids, has garnered increasing attention in regenerative medicine. This study aimed to evaluate the effect of human placental extract on the osteogenic differentiation of MSCs.

Methods: In this experimental study, the cytotoxicity and proliferative effects of placental extract on MSCs were assessed using the MTT assay. Osteogenic differentiation was evaluated through biochemical and molecular analyses, including alkaline phosphatase (ALP) activity, calcium deposition measurement, and real-time PCR-based gene expression analysis. All experiments were performed in triplicate. Data were expressed as mean ± standard deviation (SD) and analyzed using one-way ANOVA. Real-time PCR data were processed with LinRegPCR and REST-RGXL software, with statistical significance set at $P<0.05$.

Results: The MTT assay revealed that placental extract was non-toxic and significantly enhanced cell viability and proliferation. Moreover, osteogenic differentiation was markedly improved in treated groups. After 14 days of culture, ALP activity and calcium deposition progressively increased compared to the control group. Osteocalcin gene expression also showed a significant upregulation at higher concentrations of the extract ($P<0.05$), confirming the osteoinductive effect.

Conclusion: Findings of the present study demonstrate that human placental extract effectively enhances and accelerates the osteogenic differentiation of MSCs. The significant increases in ALP activity, calcium deposition, and osteocalcin expression support its potential as a promising biological supplement for bone tissue engineering and regenerative therapeutic strategies.

Keywords: Placenta extract, Mesenchymal stem cells, Differentiation, Umbilical cord, Bone

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

Copyright© 2026. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: http://feyz.kaums.ac.ir/

Extended Abstract

Background and Objective

Mesenchymal stem cells (MSCs) have attracted significant attention in regenerative medicine because of their ability to self-renew and differentiate into various cell types, including osteoblasts, chondrocytes, and adipocytes. Among these characteristics, osteogenic differentiation is particularly important for bone regeneration and tissue engineering applications. The development of safe and effective biological compounds that can enhance osteogenic differentiation remains an important objective in regenerative medicine. Human placental extract is a natural biological product rich in growth factors, cytokines, peptides, amino acids, vitamins, and antioxidants. Due to its regenerative properties, placental extract has been investigated in various therapeutic fields, including wound healing, tissue repair, and cellular regeneration. However, its effect on the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells has not been fully clarified. Therefore, this study was conducted to evaluate the influence of human placental extract on cell viability, proliferation, and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells under in vitro conditions.

Methods

This experimental study was performed using cultured mesenchymal stem cells. Cells were maintained under standard laboratory conditions and treated with different concentrations of human placental extract. The biological effects of the extract were evaluated through cellular, biochemical, and molecular analyses. To assess cytotoxicity and cell proliferation, the MTT assay was performed. This method is widely used to determine cell viability and metabolic activity. Osteogenic differentiation was investigated using several established markers. Alkaline phosphatase (ALP) activity was measured as an early indicator of osteoblast differentiation. Calcium deposition was evaluated as a marker of extracellular matrix mineralization and bone formation. In addition, osteocalcin gene expression was analyzed using real-time polymerase chain reaction (Real-Time PCR), since osteocalcin is considered a specific marker of mature osteoblasts. The collected data were analyzed statistically, and $P<0.05$ was considered statistically significant.

Results

The results of the MTT assay demonstrated that human placental extract did not exert any cytotoxic effects on mesenchymal stem cells. In contrast, treatment with placental extract improved cell viability and proliferation compared with untreated control cells. These findings indicate that the extract provides a favorable environment for cellular growth and survival. Evaluation of osteogenic differentiation revealed significant enhancement in treated groups. Alkaline phosphatase activity increased considerably following exposure to placental extract, suggesting stimulation of early osteogenic differentiation pathways. Furthermore, calcium deposition analysis showed progressive mineral accumulation in treated cultures. After 14 days of treatment, calcium content was significantly higher than that observed in the control group, indicating enhanced matrix mineralization and bone-forming potential. Gene expression analysis also supported these observations. Osteocalcin expression was significantly upregulated in cells treated with placental extract, particularly at higher concentrations. Since osteocalcin is a marker of mature osteoblast differentiation, its increased expression suggests that placental extract promotes not only early differentiation but also later stages of osteogenic maturation. Overall, all evaluated parameters demonstrated a positive effect of human placental extract on osteogenic differentiation, and statistically significant differences were observed between treated and control groups ($P<0.05$).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

Conclusion

The findings of the present study demonstrate that human placental extract can enhance both proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. These effects may be attributed to the complex composition of placental extract, which contains numerous bioactive molecules involved in cell signaling, growth regulation, and tissue regeneration.

The observed increase in ALP activity indicates activation of early osteogenic pathways, while enhanced calcium deposition reflects successful extracellular matrix mineralization. Furthermore, the upregulation of osteocalcin expression confirms progression toward mature osteoblast formation. Together, these findings suggest that placental extract influences multiple stages of the osteogenic differentiation process. Previous studies have reported beneficial effects of placental-derived products on tissue repair and regeneration. Growth factors present in placental extract may activate signaling pathways associated with bone formation and cellular differentiation. Therefore, the current results are consistent with existing evidence regarding the regenerative potential of placental-derived biological materials. The ability of placental extract to stimulate both cell proliferation and differentiation is particularly important in bone tissue engineering, where successful regeneration depends on sufficient cell expansion followed by efficient osteogenic maturation. Consequently, placental extract may represent a valuable supplement for stem cell-based therapeutic strategies. This study demonstrated that human placental extract promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and enhances their proliferative capacity. Increased alkaline phosphatase activity, calcium deposition, and osteocalcin gene expression confirmed the positive influence of placental extract on bone-forming processes. These findings suggest that human placental extract may serve as a promising biological agent for bone tissue engineering and regenerative medicine applications. Further in vivo and clinical studies are recommended to better understand its mechanisms of action and therapeutic potential.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

مجله علوم پزشکی فیض
دوره ۳۰، شماره ۳ مرداد و شهریور
صفحات: ۲۸۰-۲۶۶
Doi: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266
اصیل پژوهشی

اثر عصاره جفت انسان بر تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بندناف

فاطمه پروینی فر[۱]، هانیه جعفری[۱*]، احسان سیدجعفری[۲]

[۱] گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] دانشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۵/۰۳/۲۲ اصلاح مقاله: ۱۴۰۵/۰۴/۳۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۰۴/۳۱

چکیده

زمینه و هدف: سلول‌های بنیادی مزانشیمی با دارا بودن قابلیت خودنوسازی و تمایز به بافت‌های مختلف، نقشی کلیدی در پزشکی بازساختی ایفا می‌کنند. عصاره جفت انسانی نیز سرشار از فاکتورهای رشد، اسیدآمینه‌ها و سایر ترکیبات زیستی مهم است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره جفت بر تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌منظور دستیابی به روشی درمانی برای ترمیم ضایعات استخوانی طراحی و اجرا شد.

روش‌ها: سلول‌های بنیادی مزانشیمی پس از استخراج از بند ناف و کشت، با استفاده از عصاره جفت به سمت رده استخوانی تمایز داده شدند. سمیت و زنده‌مانی سلول‌ها با آزمون MTT، میزان پروتئین عصاره به روش بردفورد، و آلودگی‌های میکوپلاسما، باکتریایی، اندوتوکسین و فلزات سنگین به‌ترتیب با روش‌های PCR، Pour plate، LAL و ICP ارزیابی شد. هموگلوبین عصاره با روش درابکین اندازه‌گیری گردید. تمایز استخوانی با رنگ‌آمیزی الیزارین رد و بیان ژن‌های آلکالین فسفاتاز و استئوکلسین با روش Real-time PCR سنجیده شد. همه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و داده‌ها با استفاده از ANOVA و نرم‌افزارهای LinRegPCR و REST-RGXL تحلیل شدند ($P<۰/۰۵$).

یافته‌ها: عصاره جفت فاقد سمیت بوده و باعث تسریع روند استخوانیسازی سلول‌ها گردید. در روز ۱۴ کشت، میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز و رسوبات کلسیمی در گروه‌های تیمار شده با عصاره به‌طور معناداری افزایش یافت. بیان ژن استئوکلسین در بالاترین غلظت عصاره (۱ میلی‌لیتر) نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری نشان داد ($P<۰/۰۵$). آزمون‌های کیفی عصاره نیز عاری از هرگونه آلودگی و هموگلوبین را تأیید کردند.

نتیجه‌گیری: عصاره جفت با دارا بودن فاکتورهای رشد، ویتامین‌ها و مواد معدنی، روند تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را به‌طور معناداری تسریع می‌کند و می‌تواند به‌عنوان یک عامل مؤثر در پزشکی بازساختی استخوان مطرح باشد.

کلیدواژه‌ها: عصاره جفت، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، تمایز، بند ناف، استخوان

*نویسنده مسئول: **هانیه جعفری** پست الکترونیک: h-jafary@iau.ac.ir
آدرس: دانشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

مقدمه

بند ناف انسان منبعی غنی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی است [۱]. این سلول‌ها، با قابلیت خودتجدیدی و تمایز به رده‌های مختلف سلولی، توانایی تکثیر نامحدود، روش غیرتهاجمی برداشت برای دهنده و خطر پایین آلودگی ویروسی، گزینه‌های مناسب در زمینه ترمیم بافت و پزشکی بازساختی به‌شمار می‌روند [۲]. سلول‌های مزانشیمی مشتق از بندناف، سلول‌هایی چندتوان هستند و قابلیت تمایز به رده‌های با منشأ مزانشیمی نظیر ماهیچه، غضروف، تاندون، چربی و مغز استخوان را دارند [۳]. این سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی از توان رشد سریعی برخوردارند [۴]. به دلیل مهاجرت به سوی ریزمحیط‌های ملتهب، سیتوکین‌های ضدالتهابی تولید کرده و خود را از سیستم ایمنی ذاتی پنهان می‌سازند؛ ویژگی‌ای که در دهه‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۵،۶]. پتانسیل تمایزی همراه با خواص پاراکرین این سلول‌ها، آن‌ها را به گزینه‌ای کلیدی برای ترمیم بافت تبدیل کرده است. عملکرد پاراکرین سلول‌های بنیادی مزانشیمی از طریق ترشح فاکتورهای محلول و آزادسازی وزیکول‌های خارج‌سلولی اعمال می‌شود. این وزیکول‌ها، ساختارهای غشایی مشتق‌شده از سلول هستند که پروتئین‌ها، لیپیدها، RNA، متابولیت‌ها و فاکتورهای رشد را در بر می‌گیرند [۷] از دیگر ویژگی‌های متمایز این سلول‌های بنیادی، توانایی خودبازسازی بسیار سریع، تعدیل سیستم ایمنی و خواص ضدسرطانی است که به ترمیم بافت آسیب‌دیده کمک می‌کند. به همین دلیل، این سلول‌ها منبع مهمی برای درمان‌های پیوندی در محیط آلوژنیک محسوب می‌شوند، بدون آنکه دچار پاسخ رد ایمنی گردند [۸]. جفت که از رشد و نمو جنین پشتیبانی می‌کند، اندامی دورریختنی اما سرشار از ترکیبات ارزشمند زیستی همچون اسیدهای آمینه، پپتیدها، هورمون‌ها، گلیکوزآمینوگلیکان‌ها، اسیدهای نوکلئیک، ویتامین‌ها، عناصر کمیاب، فاکتورهای رشد و سایر مواد مغذی است. این اجزای فعال موجود در جفت، به دلیل دارا بودن خواص درمانی چشمگیری مانند اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی، ضدالتهابی و کاهش‌دهنده درد، در بازسازی بافتی و بهبود طیف گستردهای از بیماری‌ها از جمله زخم‌های پس از جراحی، زخم‌های مزمن، درمان سوختگی‌ها، بیماری‌های استخوانی و آرتروز مورد استفاده قرار می‌گیرند [۹، ۱۰]. از سوی دیگر، عصاره جفت حاصل از روش عصارهگیری منحصربه فرد پژوهش حاضر – که فاقد کاربرد مواد شیمیایی متعدد بوده و در عین حال فرایندی ساده دارد – صرفاً با حذف هموگلوبین از طریق بافر و فیلتراسیون، و سپس حذف بافر اضافی با فیلتراسیون مجدد به دست می‌آید. در نتیجه، تنها عصاره جفت باقی می‌ماند که به میزان فراوان سرشار از فاکتورهای رشد نظیر EGF، FGF، VEGF و TGF-β، همچنین سایتوکاین‌هایی همچون اینترلوکین-۱ (IL-۱) Interleukin-1، عناصر کمیاب و مغذی، و ویتامین‌های گروه B است. این ترکیبات نقش بسزایی در تقسیم، تمایز، تکثیر و توسعه سلولی دارند. افزون بر این، عصاره مذکور شباهت زیادی به گلیکوپروتئین فیبرونکتین نوع ۳ انسانی داشته و در مهاجرت سلولی، تمایز، ریخت‌شناسی (مورفولوژی)، بهبود زخم و بازسازی بافت آسیبدیده بسیار مؤثر است؛ به همین دلیل، اساس استفاده از آن در تمایز سلولی قرار گرفته است [۱۰]. با این حال، اثر این عصاره جفتی بر همه‌ی انواع سلول‌های بنیادی به یکسان مشاهده نشده است و پاسخ سلول‌ها به عواملی چون نوع سلول، ترکیب و غلظت عصاره، محیط کشت و مدت زمان تیمار بستگی دارد؛ بنابراین نمی‌توان انتظار داشت که افزودن عصاره جفت به هر نوع سلول بنیادی، الزاماً به تمایز بینجامد.

با وجود پیشرفت‌های قابل‌توجه در حوزه مهندسی بافت استخوان، دستیابی به روش‌هایی که بتوانند تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را به‌طور مؤثرتری افزایش دهند، همچنان یکی از چالش‌های اساسی پزشکی بازساختی به شمار می‌رود. عصاره جفت انسان به دلیل دارا بودن مولکول‌های زیست‌فعال، به عنوان یک ماده زیستی امیدوارکننده مطرح شده است [۱۱]. از سوی دیگر، با توجه به شیوع بالای اختلالات استخوانی و ستون فقرات، از جمله دیسک کمر که در اغلب موارد نیاز به مداخله جراحی دارند، شناسایی و به‌کارگیری روش‌های استخوان‌سازی بدون نیاز به جراحی، جهت ترمیم دیسک کمر و گردن بسیار کاربردی به نظر می‌رسد [۱۲]. بنابراین، انجام این پژوهش برای بررسی اثر عصاره جفت بر تمایز استخوانی این سلول‌ها و ارزیابی ظرفیت آن به عنوان عامل تقویت‌کننده در مهندسی بافت، ضروری به نظر می‌رسد.

روش‌ها

جامعه و نمونه آماری

– نوع مطالعه و ملاحظات اخلاقی

نمونه جفت، با جلب رضایت آگاهانه مادر، بلافاصله پس از زایمان سزارین در بیمارستان اقبال دریافت و در شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل گردید. ابتدا از ژل وارتون بندناف به روش Explantبرای جداسازی سلول‌های بنیادی استفاده شد و بافت جفت نیز برای تهیه عصاره به کار رفت [۱۳]. برای جداسازی سلول‌های بنیادی، قطعات ژل وارتون به محلول آنزیمی حاوی ۵۰ میلی‌گرم آنزیم کلاژناز نوع I ساخت شرکت Gibco و ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM ساخت BioWest اضافه شد و در انکوباتور دارای CO_2 ساخت Memmert در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت، سوسپانسیون حاصل در سه فلاسک ۷۵ میلی‌لیتری ساخت SPL کشت داده شد و به هر فلاسک، محیط کشت کامل شامل DMEM ساخت BioWest، ۱۰٪ سرم جنین گاوی FBS ساختGibco، و ۱٪ آنتی‌بیوتیک جنتامایسین ساخت داروپخش افزوده گردید. طی چند

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

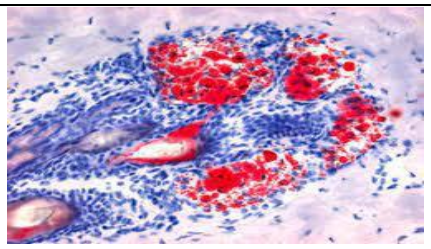
[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

مرحله، محیط کشت تعویض شد [۱۴]. برای شناسایی دقیق‌تر سلول‌ها، از روش فلوسایتومتری استفاده شد. بدین منظور، نمونه سلولی به‌صورت سوسپانسیون یکنواخت در مایع ۲ میلیون سلول در ۲ میلی‌لیتر PBS ساخت شرکت (BioWest) آماده شد و از مقابل پرتو نوری عبور داده شد [۱۵].

برای تشخیص اختلالات و ناهنجاری‌های کروموزومی و نیز شمارش کروموزوم‌ها، از روش کاریوتایپ استفاده گردید. در این روش، با افزودن ماده شیمیایی کلشیسین ساخت شرکت (Sigma) به محیط کشت، تقسیم سلولی متوقف شد. سپس با استفاده از محلول هیپرتونیک، غشای سلولی پاره گردید و کروموزوم‌ها آزاد شدند. در نهایت، کروموزوم‌ها روی لام با رنگ گیمسا (ساخت طب آزما) رنگ آمیزی و مشاهده شدند.

اولین گام در استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی برای بازسازی ضایعات استخوانی، تمایز آنها به استئوبلاست در شرایط آزمایشگاهی است. به‌منظور بررسی فعالیت استئوبلاست‌های تمایزیافته (میزان استخوانی شدن)، از رنگ‌آمیزی آلیزارین رد ساخت شرکت (Sigma) استفاده شد. شدت رنگپذیری بافت، ارتباط مستقیمی با میزان مواد معدنی موجود در ماتریکس آن دارد. بنابراین، به سلول‌های بنیادی با تراکم مناسب (۱۰۰۰ سلول)، محیط تمایزی استخوان اضافه شد. این محیط شامل DMEM ساخت (BioWest) حاوی ۵ میلی‌لیتر سرم (ساخت شهید قاضی) و فاکتورهای اصلی زیر بود: ۵۰ میکرولیتر دگزامتازون، ۵۰۰ میکرولیتر بتا-گلیسرول فسفات و ۵۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید. سپس سلول‌ها در انکوباتور) ساخت Memmert در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و با ٪۵ CO_2 انکوبه شدند و هر سه روز یک‌بار محیط آنها تعویض گردید [۱۶].

سلول‌های مزانشیمی، پس از تیمار با محیط تمایزی استخوان، برای رنگ‌آمیزی آماده شدند. در مرحله بعد، برای انجام رنگ‌آمیزی آلیزارین رد، ابتدا سلول‌های تمایزیافته روی لام، دو بار با) PBS ساخت BioWest شسته شدند. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر فرمالین ٪۱۰ به هر چاهک اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. پس از آن، فرمالین ساخت Merck خارج شد. یکی از معیارهای مزانشیمی بودن سلول‌های بنیادی استخراجشده، توانایی تمایز آنها به بافت استخوانی است. به همین دلیل، در این مرحله ۱/۵ میلی‌لیتر رنگ آلیزارین رد ساخت Sigmaبه چاهک‌های پلیت (ساخت طیف رویان) افزوده شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردید؛ سپس رنگ خارج شد. با گذشت زمان، سلول‌ها با) PBS ساخت BioWest شسته شدند و این عمل تا زمانی ادامه یافت که فقط هاله ارغوانیرنگ بر روی سلول‌ها قابل مشاهده بود. در نهایت، سلول‌ها زیر میکروسکوپ ساخت Labomed مشاهده شدند و تمایز سلول‌ها بر اساس رنگپذیری و تصاویر به دست آمده تأیید گردید (شکل-۱) [۱۷].



شکل-۱. سلول‌های رنگ‌آمیزی‌شده با آلیزارین رد
لکه‌های قرمز روی اسلاید، نشان‌دهنده استخوانی شدن سلول‌های بنیادی مزانشیمی است.

در این مطالعه، به‌منظور بررسی اثر عوامل زیست‌فعال موجود در بافت جفت بر تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف، از عصاره جفت استفاده شد. انتخاب عصاره جفت به دلیل دارا بودن مجموعه‌ای از فاکتورهای رشد، پروتئین‌ها و سیتوکاین‌هایی بود که می‌توانند بدون انتقال سلول، بر رفتار و تمایز سلول‌های بنیادی تأثیر بگذارند. بنابراین، استفاده از سلول‌های بنیادی مشتق از جفت در طراحی این مطالعه مدنظر قرار نگرفت.

برای تهیه عصاره جفت، ابتدا بافت جفت به قطعات کوچک تقسیم شد. سپس این قطعات با استفاده از دستگاه هموژنایزر همگن شدند. در ادامه، به بافت همگن‌شده نرمال سالین (شرکت شهید قاضی) اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت بدون حرکت انکوبه گردید. در مرحله بعد، عصاره با استفاده از فیلتر از بافت جدا شد و سپس با افزودن محلول بافری (Neutron)، فرآیند هموگلوبین‌زدایی انجام گرفت. در نهایت، عصاره جفت با استفاده از فیلتراسیون تحت خلأ تهیه شد.

عصاره به‌دست‌آمده از نظر آلودگی به مایکوپلاسما، باکتری، اندوتوکسین و فلزات سنگین مورد ارزیابی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان هموگلوبین، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۵ میلی‌لیتر محلول درابکین (شرکت بهارافشان) مخلوط و پس از پیپتاژ، جذب نوری نمونه در کووت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (SevenEasy) اندازه‌گیری شد. مقدار مجاز هموگلوبین در عصاره جفت باید صفر باشد.

همچنین، میزان پروتئین موجود در عصاره جفت با استفاده از کیت برادفورد (CIB Biotech) (Bradford) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، معرف برادفورد با نسبت ۱ به ۴ با آب مقطر رقیق شد تا به غلظت کاری ۱X برسد [۱۸].

معرف برادفورد در سه تکرار با نمونه‌ها مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری گردید. سپس جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (SevenEasy) اندازه‌گیری شد. میانگین جذب نوری سه تکرار محاسبه و با استفاده از منحنی استاندارد کیت برادفورد (CIB Biotech)، غلظت نهایی پروتئین موجود در عصاره تعیین شد.

به‌منظور بررسی آلودگی عصاره به مایکوپلاسما، که بر اساس شناسایی ماده ژنتیکی (DNA) انجام می‌شود، ژل حاوی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

محصولات تکثیر در دستگاه ژل‌داک قرار گرفت. پس از تابش نور فرابنفش(UV)، از ژل تصویربرداری انجام شد و وجود یا عدم وجود باندهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفت.

برای ارزیابی آلودگی میکروبی عصاره به باکتری‌ها و قارچ‌ها، آزمون پورپلیت (Pour Plate) انجام شد. به‌منظور شمارش باکتری‌ها از محیط کشت TSA و برای شمارش قارچ‌ها از محیط کشت SDA (Sigma) استفاده گردید. ابتدا محیط‌های کشت TSA و SDA پس از ذوب شدن، در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد داخل پلیت‌های استریل ریخته شدند. سپس ۱ میلی‌لیتر از عصاره به هر پلیت اضافه و به‌آرامی مخلوط شد. پلیت‌های حاوی محیط TSA در دمای ۳۲/۵ ± ۲/۵ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های حاوی محیط SDA در دمای ۲۲/۵ ± ۲/۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در پایان، محیط کشت باکتری پس از ۳ روز و محیط کشت قارچ پس از ۵ روز از نظر رشد میکروبی بررسی شدند.

برای سنجش میزان اندوتوکسین، از آزمون LAL بر پایه روش ژل‌کلات (Gel Clot) استفاده شد. ابتدا pH عصاره با استفاده از کاغذ تورنسل (Merck) اندازه‌گیری شد. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۳۰۰۰ میکرولیتر آب مخصوص آزمون LAL (LAL Reagent Water) مخلوط و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد. پس از آن، ۲۰۰ میکرولیتر از کنترل مثبت، ۲۰۰ میکرولیتر از کنترل منفی و ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه آماده‌شده در تیوب‌های جداگانه ریخته شد. تیوب‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در بن‌ماری (Memmert) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از پایان زمان انکوباسیون، تیوب‌ها به‌آرامی تا زاویه ۱۸۰ درجه چرخانده شدند و نتیجه آزمون بررسی گردید. این آزمایش دو بار تکرار شد.

برای بررسی آلودگی عصاره به فلزات سنگین، میزان فلزات بالقوه سمی موجود در عصاره با استفاده از دستگاه ICP-OES (Agilent)که بر پایه پلاسمای جفت‌شده القایی عمل می‌کند، اندازه‌گیری شد. این آزمون به‌صورت برون‌سپاری انجام گرفت.

پس از آنکه سلول‌ها در کف فلاسک به تراکم مناسب (Confluency)رسیدند، برای تیمار با عصاره جفت آماده شدند. ابتدا محیط کشت فلاسک (SPL) در زیر هود لامینار (Besat) تخلیه شد و سلول‌ها با محلول PBS (BioWest) شستشو داده شدند. سپس محلول تریپسین۰/۲۵ (BioSera) به فلاسک افزوده شد و سلول‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در انکوباتور انکوبه شدند. در ادامه، محیط کشت حاوی سرم جنین گاوی(FBS (Gibco به فلاسک اضافه شد تا فعالیت تریپسین متوقف گردد. سپس سوسپانسیون سلولی به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰ دور در دقیقه (rpm) در سانتریفیوژ (Hettich) سانتریفیوژ شد.

پس از خارج کردن محلول رویی، رسوب سلولی در محیط کشت تازه سوسپانسیون شد. سپس ۱۲ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی روی لام نئوبار (HBG) قرار داده شد و تعداد سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Leica) شمارش گردید. در نهایت، تعداد ۴/۸ × 10^5 سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه (SPL)کشت داده شد و پس از افزودن محیط کشت (BioWest)، مقادیر موردنظر از عصاره جفت به هر چاهک اضافه گردید. در ردیف کنترل سلولی، تنها سلول و محیط کشت در چاهک‌های میکروپلیت (SPL) ریخته شده و پلیت در انکوباتور قرار داده شد.

به‌منظور تعیین درصد زنده‌مانی سلول‌ها تحت تأثیر مواد مختلف، آزمون MTT انجام گرفت. بدین منظور، ۵۰ میکرولیتر از محلول MTT (Sigma) به هر چاهک اضافه شد و پلیت به مدت ۳ تا ۴ ساعت در انکوباتورCO_2 دار (Memmert) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. طی این مدت، MTTتوسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز موجود در سلول‌های زنده احیا شد. سپس، پیش از انجام رنگ‌سنجی، ۲۰۰ میکرولیتر DMSO (LifeBioLab)به هر چاهک اضافه شد تا کریستال‌های فورمازان حل شوند. پس از آن، ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات هر چاهک با استفاده از سمپلر (Corning) به چاهک‌های میکروپلیت (SPL) منتقل شد و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (BioTek) اندازه‌گیری شد [۱۹].

به‌منظور بررسی میزان بیان ژن استئوکلسین، ابتدا RNA تام از سلول‌ها استخراج شد. با توجه به حساسیت بالایRNA ، پس از شست‌وشوی سلول‌ها، به ازای هر یک میلیون سلول، ۱ میلی‌لیتر محلول RNA-ZOL (Faziran) افزوده شد تا سلول‌ها لیز شوند. سپس نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

در ادامه، ۲۵۰ میکرولیتر کلروفرم (Merck) به هر نمونه اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm توسط سانتریفیوژ (Hettich) سانتریفیوژ شدند. در اثر افزودن کلروفرم، سه فاز مجزا تشکیل شد. پس از سانتریفیوژ، فاز آبی که حاوی RNA بود، با دقت جدا شده و به یک میکروتیوب (GUNSTER) جدید منتقل گردید. سپس به اندازه حجم فاز آبی، معادل ۶۰۰ تا ۸۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول سرد (Merck)افزوده شد تا RNA رسوب کند.

مخلوط به‌آرامی هم زده شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۵۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و مایع رویی دور ریخته شد. در ادامه، نمونه‌ها مجدداً به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند تا رسوب سفیدرنگ RNA مشاهده شود.

پس از آن، ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۵ درصد سرد به رسوب اضافه شد و نمونه به‌خوبی مخلوط گردید تا رسوب از کف میکروتیوب

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

جدا شده و به‌طور کامل شسته شود. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. میکروتیوب‌ها به‌آرامی وارونه شدند تا اتانول اضافی خارج شود و رسوب RNA به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه زیر هود (BEASAT) کاملاً خشک گردید. در نهایت، رسوب در ۲۰ میکرولیتر آب تزریقی استریل (شهید قاضی) حل شد.

غلظت RNA استخراج‌شده توسط دستگاه نانودراپ (Thermo Fisher Scientific)اندازه‌گیری شد. سپس به هر نمونه ۱ میکرولیتر آنزیم DNase افزوده شد تا DNA ژنومی احتمالی حذف شود. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند و پس از آن، آنزیم DNase غیرفعال یا از محیط حذف گردید.

برای سنتز cDNA، از ۲ میکروگرم RNA استخراج‌شده استفاده شد. حجم موردنیاز RNA با آب تزریقی استریل (شهید قاضی) به ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس مخلوط به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه (Memmert) و بلافاصله روی یخ قرار داده شد تا ساختارهای ثانویه RNA باز شده و از تشکیل مجدد آن‌ها جلوگیری شود.

پس از تهیه مخلوط واکنش سنتزcDNA در جدول-۱، آن به تیوب حاوی RNA اضافه شد. سپس نمونه‌ها در دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystems)به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و در ادامه به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا فرآیند سنتز cDNA تکمیل شود.

جدول-۱. مقادیر و غلظت مواد موردنیاز در واکنش سنتزcDNA

حجم(µL)	ماده
4	First-Strand Buffer (5×)
2	dNTPs Mix (10 mM)
1	RT Enzyme (200 U)
1	RiboLock RNase Inhibitor (40 U/µL)
1	Random Hexamer Primer (N6, 20 pmol)
1	DEPC-treated Water
10	جمع کل (RNA بدون)

به‌منظور تکثیر ژن‌های استئوکلسین (Osteocalcin) و آلکالن فسفاتاز (ALP)، واکنش PCR با استفاده از Taq DNA Polymerase Master Mixو غلظت ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$ در جدول-۲ انجام شد. شرایط دمایی واکنش متناسب با جفت‌پرایمرهای اختصاصی هر ژن تنظیم گردید. در پایان، محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد (Merck) الکتروفورز شدند. برای تهیه ژل، ۲ گرم پودر آگارز در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر TBE 1X حل شد. ژن-β اکتین (β-actin) نیز به‌عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت [۲۰].

جدول-۲. توالی پرایمرهای ژن‌های مورد استفاده در پژوهش

ژن(Gene)	توالی پرایمر(′3→′5)	حجم مصرفی در واکنش(20 µL)
H-β-actin-F	CTT CCT TCC TGG GCA T	1 µL
H-β-actin-R	GTC TTT GCG GAT GTC CA	1 µL
Osteocalcin (OSC)-F	GCAAAGGTGCAGCCTTTGTG	1 µL
Osteocalcin (OSC)-R	GGCTCCCAGCCATTGATACAG	1 µL
ALP-F	GCA CCT GCC TTA CTA ACT	1 µL
ALP-R	AGA CAC CCA TCC CAT CT	1 µL

سنجش فعالیت آلکالین فسفاتاز(ALP)

به‌منظور ارزیابی فعالیت آلکالین فسفاتاز (ALP) به‌عنوان یکی از شاخص‌های اولیه تمایز و معدنی شدن بافت استخوانی، ابتدا محیط رویی چاهک‌ها خارج شد و سلول‌ها با ۳ میلی‌لیتر محلول PBS (BioWest) شست‌وشو داده شدند. سپس ۲۰۰ میکرولیتر محلول RIPA حاوی ۰/۲ درصد Triton X-100 در بافر Tris-HCl به هر چاهک اضافه شد و سلول‌ها به‌آرامی خراش داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۲۰۰۰ rpm توسط سانتریفیوژ (Hettich) سانتریفیوژ شدند.

پس از سانتریفیوژ، ۲۰ میکرولیتر از نمونه به تیوب‌های (GUNSTER)منتقل و به هر تیوب ۱ میلی‌لیتر محلول معرف کیت تجاری پارس‌آزمون افزوده شد. سپس از هر نمونه، ۱۰۰ میکرولیتر به پلیت ۹۶ خانه‌ای (SPL) منتقل گردید و جذب نوری آن‌ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (BioTek)اندازه‌گیری شد. طبق دستورالعمل کیت، محلول معرف شماره ۱ به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر، محلول معرف شماره ۲ به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر و محلول استاندارد به حجم ۲۰ میلی‌لیتر تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش میزان کلسیم

اساس این آزمون بر تشکیل کمپلکس رنگی بنفش بین یون کلسیم و معرف o-Cresolphthalein Complexone (OCPC)است:

Calcium + OCPC → Purple Colored Complex

جدول-۳. مقادیر مورد استفاده در اندازه‌گیری کلسیم

نمونه استاندارد(µL)	بلانک(µL)	مواد
20	-	**نمونه استاندارد**
-	20	**آب مقطر**
1000	1000	**محلول معرف شماره ۱**
250	250	**محلول معرف شماره ۲**

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

در این روش، مطابق جدول-۳ ابتدا محیط کشت رویی از چاهک‌ها خارج شد و سلول‌ها با ۵۰۰ میکرولیتر محلول PBS (BioWest)شست‌وشو داده شدند. سپس به هر چاهک ۲۵۰ میکرولیتر محلول HCl (دکتر مجللی) اضافه شد و سلول‌ها به‌آرامی از سطح چاهک جدا شدند. پس از آن، ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه به تیوب‌های آزمایش منتقل و ۱ میلی‌لیتر معرف کیت به هر تیوب افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه ورتکس و سپس به مدت ۱۵ دقیقه روی شیکر قرار گرفتند. در ادامه، ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه به پلیت ۹۶ خانه‌ای (SPL) منتقل شد و جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (BioTek) اندازه‌گیری شد.

تیمار سلول‌ها با عصاره جفت

به‌منظور بررسی اثر وابسته به غلظت عصاره جفت، پس از تهیه عصاره، غلظت‌های مختلف آن شامل ۰۱/۰، ۱/۰، ۵/۰ و ۱ (بر اساس غلظت مورد نظر مطالعه) تهیه شد. گروه کنترل نیز شامل سلول‌ها در محیط کشت بدون افزودن عصاره بود. سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف عصاره تیمار شدند.

برای ارزیابی روند تمایز استئوژنیک، نمونه‌ها در دو بازه زمانی ۷ و ۱۴ روز مورد بررسی قرار گرفتند. انتخاب این بازه‌های زمانی بر اساس مطالعات پیشین و روند طبیعی تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی انجام شد. به‌گونه‌ای که در روز هفتم، فعالیت نشانگرهای اولیه استئوژنز، از جمله آلکالین فسفاتاز، به‌خوبی قابل ارزیابی است، در حالی که در روز چهاردهم، رسوب مواد معدنی و افزایش بیان نشانگرهای مراحل پیشرفته‌تر تمایز استخوانی، از جمله استئوکلسین، به‌طور واضح‌تری مشاهده می‌شود. ازاین‌رو، این دو بازه زمانی برای بررسی اثر عصاره جفت بر مراحل اولیه و میانی تمایز استئوژنیک انتخاب شدند.

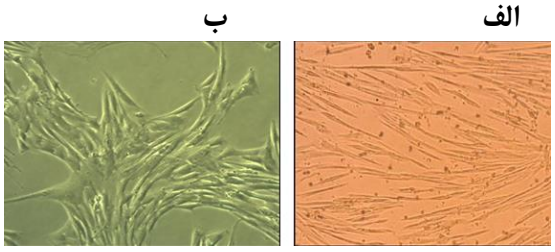
محاسبات آماری: تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار مجزا برای هر تیمار انجام شدند. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف‌معیار گزارش گردیدند. سطح ($P<۰/۰۵$) به‌عنوان آستانه معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد. تحلیل‌های آماری با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) انجام گرفت. جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌های حاصل از Real-time PCR، به‌ترتیب از نرم‌افزارهای LinRegPCR و REST-RG (ویرایش ۲۰۰۹) استفاده شد.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه در سامانه ملی اخلاق در پژوهش ها دانشگاه ازاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1401.266 مورد تصویب قرار گرفته است.

نتایج

مورفولوژی سلول‌های بنیادی مزانشیمی

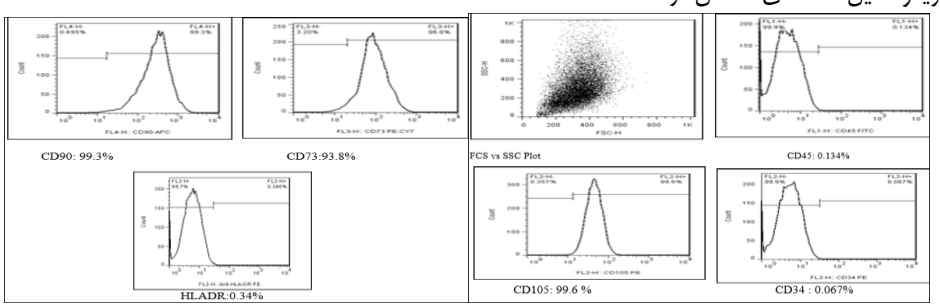
تصاویر مورفولوژیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی (شکل- ۲) پس از ۳ روز کشت نشان داد که سلول‌ها در پاساژهای اولیه دارای مورفولوژی دوکی‌شکل و مشابه فیبروبلاست هستند و با افزایش تعداد پاساژها، به‌تدریج پهن‌تر و بزرگ‌تر می‌شوند.



شکل-۲. سلول های بنیادی در محیط اولیه (شکل الف).
سلول های بنیادی بعد از ۳ روز که مورفولوژی دوکی شکل مشابه فیبروبلاست داشتند (شکل ب).
تصاویر با میکروسکوپ معکوس (Laica) و بزرگنمایی ۱۰۰ برابر تهیه شد. خط مقیاس Scale bar برابر ۵۰ میکرومتر است.

تعیین فنوتیپ سلول‌های بنیادی مزانشیمی

نتایج فلوسایتومتری (نمودار-۱) نشان داد که سلول‌های جداشده دارای ویژگی‌های فنوتیپی سلول‌های بنیادی مزانشیمی هستند. این سلول‌ها بیان بالایی از مارکرهای مزانشیمی CD90 (99.3%)، CD105 (99.6%) و CD73 (93.8%) داشته و در مقابل، بیان مارکرهای خونساز CD34 (0.067%)، CD45 (0.134%) و HLA-DR (0.34%) بسیار ناچیز بود. این نتایج، ماهیت مزانشیمی سلول‌های مورد مطالعه را تأیید می‌کند.



نمودار-۱. تعیین فنوتیپ سلول‌های بنیادی مزانشیمی به روش فلوسایتومتری

بررسی کاریوتایپ

نتایج بررسی کاریوتایپ نشان داد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف دارای کاریوتیپ طبیعی بوده و هیچ‌گونه ناهنجاری کروموزومی مشاهده نشد. همچنین کیفیت متافازهای تهیه‌شده مطلوب بود (شکل-۳).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]
[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]



شکل-۳. کاریوتایپ سلول‌های بنیادی مزانشیمی.
کروموزوم‌ها به‌صورت دو کروماتید متصل به یکدیگر از طریق سانترومر مشاهده می‌شوند.

بررسی کیفیت عصاره جفت

نتایج اندازه‌گیری هموگلوبین عصاره جفت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Seven Easy) مقدار صفر را نشان داد که بیانگر عدم وجود هموگلوبین در عصاره است.

نتایج آزمون مایکوپلاسما نیز مطابق شکل-۴ نشان داد که هیچ باند اختصاصی مربوط به آلودگی مشاهده نشد. در این آزمون، DNA Ladderبه‌عنوان نشانگر اندازه قطعات DNA و نمونه‌های کنترل مثبت (P.C) و کنترل منفی (N.C) برای اعتبارسنجی آزمایش استفاده شدند. نمونه با کد ۰۹۰۹ فاقد باند اختصاصی بوده و بنابراین عصاره عاری از آلودگی مایکوپلاسما بود.



شکل-٤. باند DNA Ladder و نمونه عصاره که N.C(negative control) و P.C (positive control) و نمونه عصاره با کد ۰۹۰۹.

در آزمون آلودگی میکروبی به روش Pour Plateنیز پس از ۷۲ و ۱۲۰ ساعت انکوباسیون، هیچ‌گونه رشد کلنی (No Growth)مشاهده نشد.

نتایج آزمون اندوتوکسین نشان داد که کنترل‌های منفی، پاسخ منفی و کنترل‌های مثبت، پاسخ مثبت داشتند. همچنین هر دو تیوب حاوی عصاره نیز نتیجه منفی نشان دادند و میزان اندوتوکسین نمونه کمتر از ۰/۲ EU/mL بود.

نتایج ارزیابی فلزات سنگین نیز مطابق جدول-۴ در محدوده قابل قبول قرار داشت.

جدول-٤. نتایج اندازه‌گیری فلزات سنگین در عصاره جفت

ردیف	نام عنصر	حد مجاز	مقدار شناسایی شده	نتیجه
۱	سرب	< 1 ppm	0.01 ppm	قابل قبول
۲	کادمیوم	< 0.4 ppm	0.01 ppm	قابل قبول
۳	آرسنیک	< 3 ppm	0.01 ppm	قابل قبول
۴	جیوه	< 0.6 ppm	0.01 ppm	قابل قبول
۵	زینک	< 164 ppm	0.004 ppm	قابل قبول

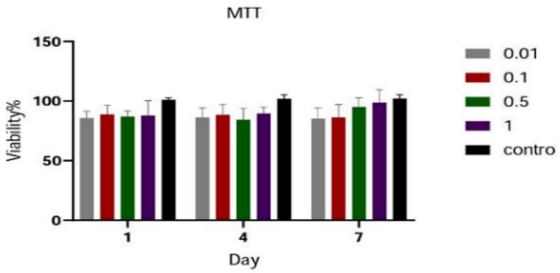
غلظت پروتئین کل (Total Protein) عصاره برابر با ۵۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد که در محدوده استاندارد (۳۰۰ تا ۷۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) قرار داشت.

نتایج تست MTT

اثر سمیت‌سلولی (سایتوتوکسیتی) عصاره جفت بر روی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در سه بازه زمانی روزهای ۱، ۴ و ۷ پس از کشت مورد بررسی قرار گرفت.

روز اول: برای ارزیابی سمیت حاد اولیه تماس عصاره با سلول‌ها، روز چهارم: هم‌زمان با اوج رشد سلولی، روز هفتم: برای بررسی بقای طولانی‌مدت سلول‌ها، که این زمان‌بندی بر اساس استانداردهای معتبر انتخاب و انجام شد.

نتایج حاکی از آن است که عصاره جفت نه‌تنها فاقد سمیت برای سلول‌های بنیادی مزانشیمی است، بلکه اثر تقویتی بر تیمار و زنده‌مانی این سلول‌ها داشته است (نمودار-۲).



نمودار-۲. تیمار سلول های بنیادی با عصاره جفت در طی ۷ روز . که هر رنگ نمودار و اعداد کنار نمودار نشان دهنده غلظت عصاره جفت بر حسب میکرولیتر می باشد.
* که نشان دهنده اختلاف معنی داری (P<۰/۰۵) بین گروه هاست وجودندارد که نشان می‌دهد بین گروه ها اختلاف معنی داری وجود ندارد.

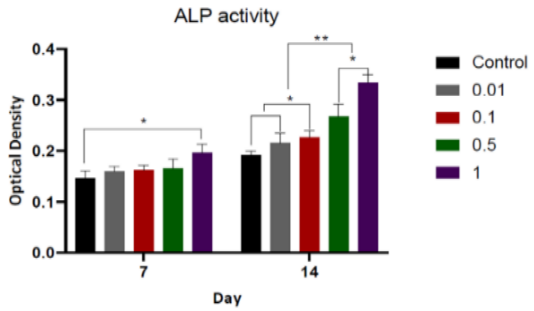
نتایج سنجش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)

افزایش فعالیت این آنزیم نشان‌دهنده تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سمت رده‌های استخوانی (یا سلولی مرتبط) است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده (نمودار-۳)، در روز هفتم، گروه تیمارشده با رقت ۱ عصاره جفت، افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۵). این روند افزایشی در روزهای بعدی نیز به‌وضوح مشاهده شد و فعالیت آنزیم در تمام گروه‌ها از روز هفتم تا چهاردهم به‌طور پیوسته افزایش یافت.

لازم به ذکر است که بازه زمانی ۱۴ روزه بر اساس پروتکل استاندارد سنجش فعالیت آلکالین فسفاتاز انتخاب گردید، چراکه اوج تغییرات آنزیمی در این دوره قابل‌تشخیص است [۲۱]. (نمودار-۳)

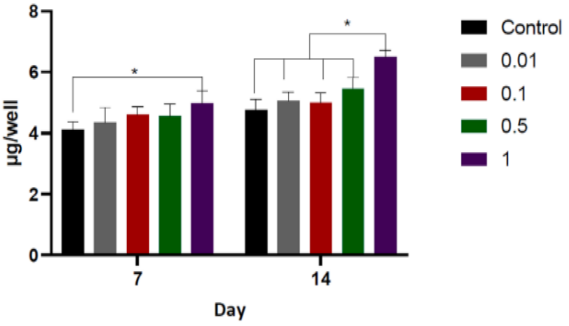
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]



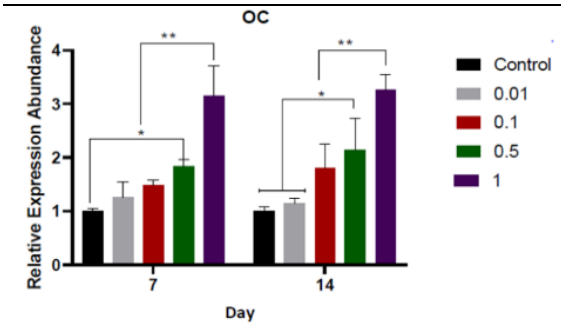
نمودار-۳. نتایج فعالیت آلکالین فسفاتاز مارکر تمایز استخوانی است. این تست طی ۱۴ روز انجام شده است و اعداد کنار نمودار نشان دهنده غلظت عصاره جفت مورد استفاده بوده و علامت ستاره نشان دهنده اختلاف معناداری اماری (P<۰/۰۵) بین گروه ها است.

به‌منظور تأیید نهایی تمایز به سمت سلول‌های استخوانی، میزان رسوب کلسیم در روزهای ۷ و ۱۴ اندازه‌گیری شد. در هر دو بازه زمانی، گروه‌های تیمارشده با رقت‌های مختلف عصاره جفت، تفاوت معنی‌داری از نظر آماری با گروه کنترل نشان دادند (P<۰/۰۵) همچنین، روند افزایش رسوب کلسیم در طول دوره تمایز به‌صورت تدریجی و صعودی مشاهده گردید (نمودار-۴).



نمودار-٤. نتایج رسوب کلسیم (مارکر تمایز استخوانی) این تست در ۱۴ روز انجام شده و اعداد کنار نمودار غلظت عصاره جفت است و علامت ستاره نشان دهنده اختلاف معناداری (P<۰/۰۵) بین گروه ها است.

نتایج بیان ژن استئوکلسین نشان داد که در روز ۷، رقت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ عصاره جفت تأثیر معنی‌داری بر تمایز استخوانی نداشتند و تفاوت آماری آن‌ها با گروه کنترل معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵). در مقابل، رقت ۰/۵ عصاره تفاوت معنی‌داری با کنترل نشان داد (P<۰/۰۵). رقت ۱ عصاره نیز باعث افزایش معنی‌دار تمایز استخوانی نسبت به گروه کنترل شد که احتمالاً به دلیل افزایش قابل‌توجه میزان میراسیون در این گروه است. در روز پایانی آزمایش، رقت‌های ۰/۰۱، ۰/۵ و ۱ عصاره همگی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشتند (P<۰/۰۵). (نمودار-۵)



نمودار-۵. بیان ژن استئوکلسین: این تست طی ۱۴ روز انجام شد و اعداد کنار نمودار غلظت عصاره جفت مورد استفاده می باشد و علامت ستاره نشان دهنده اختلاف معناداری (P<۰/۰۵) بین گروه ها است.

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره جفت، بیان نسبی ژن استئوکلسین به‌صورت صعودی افزایش یافت و بیشترین میزان بیان در گروه تیمارشده با غلظت ۱ میکرولیتر مشاهده شد که حاکی از تقویت تمایز استخوانی در این گروه است (جدول-۵).

جدول-۵. بیان نسبی ژن استئوکلسین

گروه	Mean± SD
Control	۰/۵۵ ± ۱/۰۰۱
۰/۰۱	۰/۲۹۲ ± ۱/۲۵۰
۰/۱	۰/۱۰۵ ± ۱/۴۷۷
۰/۵	۰/۱۲۷ ± ۱/۸۳۱
۱	۰/۵۷۴ ± ۳/۱۴۴

بیان نسبی ژن آلکالین فسفاتاز نیز با افزایش غلظت عصاره جفت روند صعودی داشت و بیشترین میزان آن در غلظت ۱ میکرولیتر مشاهده شد. این نتایج نشان‌دهنده تأثیر وابسته به غلظت عصاره جفت بر فرایند تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی است. (جدول-۶)

جدول-٦ . بیان نسبی ژن آلکالین فسفاتاز

گروه	Mean± SD
Control	۰/۲۵۵ ± ۱/۰۴۶
۰/۰۱	۰/۰۶۷ ± ۱/۰۷۶
۰/۱	۰/۲۵۸ ± ۱/۲۴۸
۰/۵	۰/۵۷۶ ± ۱/۶۸۹
۱	۰/۷۷۴ ± ۲/۶۸۵

بر اساس نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA)، اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه از لحاظ میزان بیان نسبی ژن استئوکلسین مشاهده گردید (P<۰/۰۵). این امر نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار غلظت‌های مختلف عصاره جفت انسانی بر بیان ژن استئوکلسین می‌باشد. بر اساس نتایج آزمون ANOVA، اختلاف معناداری بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده شد (P<۰/۰۵). (جدول-۷)

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

جدول-۷. تحلیل واریانس (One-wayANOVA)

مقدار	شاخص
۵	تعداد گروه ها
۶ در هر گروه	تعداد تکرار ها
۲۴/۰۹	F
۱۰× ۲/۹۰	P

بحث

در مطالعه حاضر، بررسی ریخت‌شناسی سلول‌های بنیادی با استفاده از میکروسکوپ نشان‌دهنده تکثیر چشمگیر این سلول‌ها پس از سه روز کشت بود. همچنین، نتایج حاکی از تأثیر مطلوب تیمار سلول‌های بنیادی تمایزیافته به سمت رده استخوانی با عصاره جفت در غلظت‌های مختلف بود که به افزایش شاخص های تمایز استخوانی از جمله فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز، رسوب کلسیم و میزان استئوکلسین انجامید. این یافته‌ها نشان داد که عصاره جفت میتواند فرایند استئوژنز (استخوانسازی) را تقویت کند. اثر مشاهدهشده احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات مؤثر فراوان در جفت است. جفت انسان منبع غنی از انواع آمینواسیدهای ضروری و غیرضروری از جمله آلانین، اسید آسپارتیک، آرژنین، هیستیدین، لوسین، لیزین، فنیلآلانین، پرولین، تیروزین، تریپتوفان و والین میباشد. این آمینواسیدها به تحریک تولید فیبروبلاست، افزایش ساخت کلاژن و کاهش رنگدانه‌های پوستی کمک می‌کنند [۲۲].

در ادامه، ویتامین‌ها نیز به‌عنوان مواد مغذی حیاتی مطرح هستند که در فرآیندهای متابولیک واسطه‌ای و تخصصی برای حفظ سلامت و رشد اندام‌ها نقش اساسی دارند. در عصاره جفت، تعداد زیادی ویتامین از جمله B1، B2، B5، B6، B7، B9 و B12 شناسایی شده است که در متابولیسم سلولی، تقسیم سلولی، توسعه سلولی و تولید انرژی ایفای نقش می‌کنند [۲۳].

همچنین، محققان با استفاده از روش طیف سنجی جرمی به بررسی عناصر معدنی و ریزمغذی‌های موجود در عصاره جفت پرداختند و دریافتند که عناصری نظیر کلسیم، مس، آهن، منیزیم، منگنز، فسفر، پتاسیم، سدیم و روی در این عصاره وجود دارند. این مواد اگرچه در مقادیر کم مورد نیاز هستند، اما برای رشد طبیعی و عملکرد بدن انسان ضروری به‌شمار می‌روند [۲۴].

از دیگر ترکیبات موجود در عصاره جفت می‌توان به سایتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد اشاره کرد که از جمله پروتئین‌های ترشحی محسوب می‌شوند. این مولکول‌ها با تحریک ارتباطات درون‌سلولی از طریق گیرنده‌های سطح سلولی اختصاصی، پاسخ سلولی را آغاز می‌کنند. آنها به‌عنوان پیام‌رسان عمل کرده و سیگنال‌های درون‌سلولی را از راه‌های اتوکرین، پاراکرین و غدد درون‌ریز منتقل می‌سازند [۲۵]. بسیاری از سایتوکاین‌ها نظیر فاکتور محرک کلنی گرانولوسیت (G-CSF) و فاکتور محرک کلنی گرانولوسیت-ماکروفاژ (GM-CSF) در القای رشد، تمایز و تکثیر سلول‌ها نقش دارند [۲۶، ۲۷].

در میان ترکیبات زیستی فعال موجود در عصارهی جفت، فاکتورهای رشد نقشی محوری در فرآیندهای بازساختی و ترمیمی ایفا میکنند. از جملهی این عوامل، فاکتور رشد اپیدرمی (EGF) از طریق تحریک مهاجرت و تکثیر کراتینوسیتها و فیبروبلاستها، به عنوان یکی از محرک‌های کلیدی در ترمیم اپیدرم و بهبود زخم‌های پوستی شناخته می‌شود. به‌طور موازی، فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF) ضمن تقویت جمعیت فیبروبلاستی، با القای مهاجرت سلول‌های اندوتلیال، زمینه را برای آنژیوژنز و بازسازی استرومایی فراهم می‌آورد.

از سوی دیگر، فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF) به عنوان یک میانجی‌گر چندعملکرده، ضمن تسهیل تمایز، تکثیر و بقای سلولی در بافت‌های مختلف، روند بهبود زخم را از طریق جذب سلول‌های التهابی و فعالسازی فیبروبلاست‌ها تسریع میکند. همچنین فاکتور رشد ترانسفورمکننده (TGF) با تحریک تمایز سلولهای اپیتلیال و افزایش سنتز ماتریکس برونیاخت‌های، در بازسازی بافت همسو با ترمیم عملکردی نقش دارد. در این میان، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) با تنظیم رگزایی و محافظت عصبی، نه تنها به تأمین خونرسانی مؤثر در ناحیهی ترمیم کمک می‌کند، بلکه بقای نورونی را نیز در بافت‌های مجاور تضمین می‌نماید.

علاوه بر فاکتورهای رشد، سیتوکین‌های موجود در عصارهی جفت نیز سهم عمدهای در تعدیل پاسخ‌های ایمنی و التهابی دارند. به‌گونه‌ای که اینترلوکین-۱ (IL-1) با تحریک تمایز و تکثیر لنفوسیت‌هایT، B و سلول‌های کشندهی طبیعی(NK)، نقش کلیدی در راه‌اندازی پاسخ ایمنی ذاتی و اکتسابی ایفا می‌کند. در ادامه، اینترلوکین-۲(IL- ۲) به‌عنوان یک سیتوکین اصلی، رشد و فعالیت عملکردی سلول‌های T را تنظیم کرده و برای استقرار پاسخ ایمنی اختصاصی ضروری به نظر می‌رسد. در همین راستا، اینترلوکین-۴(IL-۴) ۴ (نیز با هدایت تمایز سلول‌های ۰Th به سمت زیرگروه‌هایTh ۱ وTh ۲، در کنار نقش خود در ریشه‌کنی پاتوژن‌های خارجسلولی و تنظیم تولید آنتی‌بادی، تعادل پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی را برقرار می‌سازد [۲۸، ۲۹].

نتایج این پژوهش با مطالعهی Anwen Shao و همکارانش همخوانی دارد. آنان نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی با تمایز ایمن و مؤثر به نورون‌ها، از طریق جایگزینی سلول‌های آسیب‌دیده، ترشح فاکتورهای نوروتروفیک و مهار پاسخ التهابی، اثر درمانی دارند. در آن تحقیق، مکانیسم‌های احتمالی درمان با سلول‌های بنیادی برای آسیب نخاعی بررسی شد تا مرجعی برای مطالعات بالینی در زمینه‌ی درمان بیماران مبتلا به آسیب نخاعی با سلول‌های بنیادی فراهم گردد [۳۰].

همچنین Park و همکارانش، به بررسی اثربخشی تزریق نقطه‌ای عصاره‌ی جفت بر کاهش درد در بیماران مبتلا به استئوآرتریت زانو پرداختند. این تحقیق روی ۵۲ بیمار مبتلا به استئوآرتریت زانو با میانگین سنی ۶۴ سال و طول مدت علائم ۳

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

ماه انجام شد. عصاره‌ی جفت به‌صورت هفتگی و طی ۵ هفته تزریق گردید و پس از این دوره، درد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت [۳۱]. همچنین نتایج این مطالعه با یافته‌های مطالعه‌ی Chen و همکارانش که بر وجود فاکتورهای رشد و استئوژنز متمرکز بود، مطابقت دارد و تمامی مواد ذکر شده در جفت را تأیید می‌کند.

در مجموع، نتایج این پژوهش و بررسی میزان بیان ژن استئوکلسین به‌عنوان ژن ارزیابی‌کننده‌ی پایان مسیر تمایز استخوانی و استئوژنز انجام شد. بررسی نتایج و نمودارهای به‌دست‌آمده نشان داد که در روزهای اول تمایز، در رقت‌های پایین عصاره‌ی جفت تفاوت معناداری (P<۰/۰۵) در بیان ژن استئوکلسین وجود نداشت ؛ اما در رقت‌های بیشتر، به‌عنوان مثال رقت ۱ میلی‌لیتر عصاره، افزایش تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد و در روز پایانی (روز ۱۴)، در سایر رقت‌های عصاره نیز تفاوت معناداری دیده شد (P<۰/۰۵). همچنین، مقایسه این پژوهش با مطالعات پیشین نشان داد که اکثر تحقیقات بر روی اثرگذاریِ منفردِ سلول‌های بنیادی در درمان بسیاری از بیماری‌ها و ترمیم بافت متمرکز بوده‌اند، و یا به بررسی اثرات عصاره جفت انسان در درمان بیماری‌های التهابی، بهبود زخم، تقویت مو و بیماری‌های قلبی پرداخته‌اند [۳۲]. اما یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از آن است که با توجه به تأثیر عصاره جفت انسان بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی و تمایز آن‌ها به رده استخوانی، نشانگرهای استخوانی‌سازی نظیر بیان ژن استئوکلسین، میزان کلسیم و فعالیت آلکالین فسفاتاز به‌وضوح قابل مشاهده بود و تفاوت معنادار در سطح P<۰/۰۵ با احتمال بیش از ۹۵ درصد در نظر گرفته شد. از سوی دیگر، نتایج آزمون MTT نشان داد که عصاره جفت در غلظت‌های مورد بررسی، باعث افزایش زنده‌مانی و تکثیر سلول‌های بنیادی مشتق از بندناف شده است. این یافته با مطالعاتی که نشان داده‌اند فرآورده‌های جفتی به دلیل دارا بودن مواد زیست‌فعال، سبب افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) می‌شوند، همخوانی دارد؛ هرچند تفاوت مشاهده‌شده در میزان پاسخ سلولی می‌تواند ناشی از اختلاف در غلظت‌های عصاره، روش تهیه عصاره و منبع سلول‌های بنیادی باشد [۳۳].

در رابطه با نتایج رنگ‌آمیزی آلیزارین رد، میزان کلسیم در روز چهاردهم نسبت به روز هفتم افزایش یافت که این امر با مطالعات متعدد همسو بوده و بیانگر تشکیل ندول‌های معدنی در مراحل بعدی تمایز استخوانی است و از روز چهاردهم به‌وضوح قابل مشاهده می‌باشد. همچنین، بیان استئوکلسین به‌عنوان نشانگر دیررس استئوژنز، در روز چهاردهم بیشتر از روز هفتم بود که نشان‌دهنده پیشرفت تمایز سلول‌ها به سمت فنوتیپ استئوبلاستی بوده و با نتایج گزارش‌شده توسط سایر پژوهشگران همخوانی دارد [۳۴].

نقطه عطف پژوهش حاضر، استفاده از عصاره جفت انسان به‌عنوان منبعی غنی از ترکیبات مؤثر در بهبود مشکلات استخوانی از جمله اختلالات مفصلی و استئوآرتریت زانوست. با توجه به اینکه این جفت متعلق به فرد دیگری است، به‌عنوان آلوگرافت تلقی می‌شود. آلوگرافت‌ها دارای ویژگی‌های بیولوژیکی و بیومکانیکی مهمی هستند که روند درمان را تسهیل کرده و به بهبود سریع‌تر و بهتر بیمار می‌انجامد. افزون بر این، اتوگرافت‌ها فقط در مقادیر محدود و از نواحی خاصی از بدن قابل دسترسی هستند، در حالی که آلوگرافت‌ها به‌راحتی در دسترس قرار دارند. بنابراین، عصاره جفت می‌تواند اثرگذاری سلول‌های بنیادی را در درمان بیماری‌های استخوانی به‌گونه‌ای چندبرابر افزایش دهد و احتمالاً در سال‌های آینده، این روش به‌عنوان رویکردی مؤثرتر از سایر روش‌ها مورد توجه قرار گرفته و کاهش درد و بهبودی سریع‌تر و کامل‌تر بیماران را به همراه خواهد داشت.

از محدودیت‌های این مطالعه، محدود بودن نمونه‌های قابل استفاده بود؛ به‌گونه‌ای که تنها جفت و بندناف حاصل از زایمان سزارین، پس از اخذ رضایت‌نامه آگاهانه از مادران، وارد مطالعه شدند. همچنین نمونه‌ها صرفاً از مادران سالم و فاقد بیماری عفونی یا زمینه‌ای جمع‌آوری گردیدند و در شرایط استریل و با استفاده از جفت‌های فاقد آلودگی مکونیومی، جداسازی و عصاره‌گیری انجام شد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بندناف، ضمن دارا بودن قابلیت خودنوزایی و پتانسیل تمایز به رده استخوانی، در مواجهه با غلظت‌های مختلف عصاره جفت، به‌ویژه در دوزهای بالاتر (۰/۵ و ۱ میکرولیتر)، نه‌تنها فاقد هرگونه اثر سیتوتوکسیک بودند، بلکه روند تمایز استخوانی آن‌ها به‌طور چشمگیری بهبود یافت. این یافته با نتایج حاصل از سنجش‌های تکمیلی از جمله افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز، تقویت رسوب کلسیم و به‌ویژه افزایش بیان ژن استئوکلسین به‌عنوان اختصاصی‌ترین نشانگر دیررس استئوژنز، به‌ویژه در بالاترین غلظت مورد بررسی، تأیید گردید. این مشاهدات همگی حاکی از اثر مثبت و وابسته به غلظت عصاره جفت بر القای تمایز استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی است.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از تمامی افرادی که در انجام این پژوهش همکاری و راهنمایی ارزشمند ارائه نمودند، صمیمانه قدردانی می کنند. همچنین از شرکت سیناسل تشکر و قدردانی می نمایند.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Ding DC, Chang YH, Shyu WC, Lin SZ, Yang PC. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy. Cell Transplant. 2015. doi:10.3727/096368915X686841 PMid:25622293
2. Fu X, Liu G, Halim A, Ju Y, Luo Q, Song G. Mesenchymal stem cell migration and tissue repair. Cells. 2019. doi:10.3390/cells8080784 PMid:31357692 PMCid:PMC6721499
3. Patel JC, Shukla M, Shukla R, Singh SK, Gupta A, Sharma P. From bench to bedside: translating mesenchymal stem cell therapies through preclinical and clinical evidence. Front Bioeng Biotechnol. 2025;13:1639439. doi:10.3389/fbioe.2025.1639439 PMid:40809065 PMCid:PMC12344367
4. Vasanthan J, Gurusamy N, Rajasingh S, Sigamani V, Kirankumar S, Rajasingh J. Role of human mesenchymal stem cells in regenerative therapy. Cells. 2020. doi:10.3390/cells10010054 PMid:33396426 PMCid:PMC7823630
5. Yamanaka S, Takahashi K, Okita K, Nakagawa M, Woltjen K, Hockemeyer D. Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy-Promise and Challenges. Cell Stem Cell. 2020;27(4):523-531. doi:10.1016/j.stem.2020.09.014 PMid:33007237
6. Lee JO, Jang Y, Park AY, Lee JM, Jeong K, Jeon SH. Human Placenta Extract (HPH) Suppresses Inflammatory Responses in TNF-α/IFN-γ-Stimulated HaCaT Cells and a DNCB Atopic Dermatitis (AD)-Like Mouse Model. J Microbiol Biotechnol. 2024;34(10):1969-1980. doi:10.4014/jmb.2406.06045 PMid:39252632 PMCid:PMC11540608
7. Keshtkar S, Azarpira N, Ghahremani MH. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. Stem Cell Res Ther. 2018. doi:10.1186/s13287-018-0791-7 PMid:29523213 PMCid:PMC5845209
8. Yang G, Fan X, Liu Y, Jie P, Mazhar M, Liu Y. Immunomodulatory mechanisms and therapeutic potential of mesenchymal stem cells. Stem Cell Rev Rep. 2023;19(5):1214-1231. doi:10.1007/s12015-023-10539-9 PMid:37058201 PMCid:PMC10103048
9. Assinck P, Duncan GJ, Hilton BJ, Plemel JR, Tetzlaff W. Cell transplantation therapy for spinal cord injury. Nat Neurosci. 2017;20(5):637-47. doi:10.1038/nn.4541 PMid:28440805 PMCid:PMC10755575
10. Morsy SM. The effectiveness of placental extract gel in the treatment of recurrent aphthous stomatitis: randomized clinical study. Dent J. 2022. doi:10.21608/edj.2022.127998.2029
11. Alimu Y, Yamamoto T, Nakahata Y. Biological effects of human placental extracts: variations in manufacturing methods and compositions. Front Pharmacol. 2025;16:1707890. doi:10.3389/fphar.2025.1707890 PMid:41451368 PMCid:PMC12727924
12. Freeman BJ. Allogeneic mesenchymal precursor cells promote healing in postero-lateral annular lesions and improve indices of lumbar intervertebral disc degeneration in an ovine model. Spine. 2016. doi:10.1097/BRS.0000000000001528 PMid:26913464
13. Lee AY, Jang KH, Jo CH. Minimal Cube Explant Provides Optimal Isolation Condition of Mesenchymal Stem Cells from Umbilical Cord. Cell Biochemistry and Function. 2022. DOI: 10.1007/s13770-022-00440-w.
14. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-317. doi:10.1080/14653240600855905 PMid:16923606
15. Cossarizza A, Chang HD, Radbruch A, Acs A, Adam D, Adam-Klages S. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (third edition). Eur J Immunol. 2019;49(10):1457-973. doi:10.1002/eji.201970107 PMid:31633216 PMCid:PMC7350392
16. Jaiswal N, Haynesworth SE, Caplan AI, Bruder SP. Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells in vitro. J Cell Biochem. 1997;64(2):295-312. doi:10.1002/(SICI)1097-4644(199702)64:2<295::AID-JCB12>3.0.CO;2-I PMID: 9027589
17. Gregory CA, Gunn WG, Peister A, Prockop DJ. An Alizarin Red-based assay of mineralization by adherent cells in culture. Anal Biochem. 2004;329(1):77-84. doi:10.1016/j.ab.2004.02.002 PMid:15136169
18. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3 PMid:942051
19. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods. 1983;65(1-2):55-63. doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4 PMid:6606682
20. Price PA. Osteocalcin: an overview. Methods Enzymol. 1988;157:391-396.
21. Bispo DSC, Graça ICR, Jesus CSH, Rodrigues JE, Correia MC, Atella S, et al. Metabolic markers detect early osteodifferentiation of mesenchymal stem cells from multiple donors. Stem Cell Res Ther. 2025; 16:294. doi:10.1186/s13287-025-04419-x.
22. Lager S, Powell TL. Regulation of nutrient transport in the placenta. J Physiol. 2018;596(23):5575-86.
23. Marraccini ME, Gorman KS. Exploring Placentophagy in Humans: Problems and Recommendations. Ecol Food Nutr. 2015. doi:10.1111/jmwh.12309 PMid:26255799

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]

24. Farr A, Chervenak FA, McCullough LB, Baergen RN, Grünebaum A. Human placentophagy: a review. Am J Obstet Gynecol. 2018; 218(4): 401.e1-401.e11. doi:10.1016/j.ajog.2017.08.016 PMid:28859955
25. Wilson RL, Grieger JA, Bianco-Miotto T, Roberts CT. Association between maternal micronutrient status and pregnancy outcomes: a systematic review. J Pregnancy. 2017; 2017: 7696541.
26. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound healing: a cellular perspective. Int J Mol Sci. 2019;20(11):2699. doi:10.1152/physrev.00067.2017 PMid:30475656 PMCid:PMC6442927
27. O'Shea JJ, Gadina M, Siegel RM. Cytokine signaling in immune system. Immunity. 2015;42(4):591-603.
28. Cha J, Sun X, Dey SK. Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. Nat Rev Endocrinol. 2018;14(7):417-35.
29. Robertson SA, Chin PY, Glynn DJ, Thompson JG. Peri-conception cytokines and embryo development: a review. Nat Rev Endocrinol. 2016; 12(7): 423-35.
30. Shao A, Tu S, Lu J, Zhang J. Crosstalk between stem cell and spinal cord injury: pathophysiology and treatment strategies. Stem Cell Res Ther. 2019. doi:10.1186/s13287-019-1357-z PMid:31387621 PMCid:PMC6683526
31. Park KM, Cho DP, Cho TH. Placenta Therapy: Its Biological Role of Anti-Inflammation and Regeneration. Placenta. 2018.
32. Silini AR, Di Pietro R, Lang-Olip I, Alviano F, Bancalari F, Cargnoni A. Perinatal derivatives: where do we stand? Stem Cell Res Ther. 2020; 11(1):72.
33. Yang XB, Tong A, Zhou L, Fang F, Guo G. Osteogenic differentiation of human placenta-derived mesenchymal stem cells on electrospun nanofiber meshes. J Mater Sci Mater Med. 2012; 23(8):1933-1943. doi: 10.1007/s10616-012-9450-5.
34. Cheng CC, Chung CA, Su LC, Chien CC, Cheng YC. Osteogenic differentiation of placenta-derived multipotent cells in vitro. Taiwan J Obstet Gynecol. 2014;53(2):187-192. doi:10.1016/j.tjog.2014.04.011 PMid:25017264

How to Cite this Article:
Parvinifar F, Jafary H, Seyed jafari E. Effect of Human Placental Extract on Osteogenic Differentiation of Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells. Feyz Med Sci J 2026; 30(3):266-280. doi: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-17]

[DOI: 10.48307/FMSJ.2026.30.3.266]