استخدام الخلايا الجذعية من الأنسجة الدهنية والنخاع العظمي في إعادة بناء الشفة المشقوقة والمشقوق السنخي في الكلاب

ريم محمد آزاد اللاركيا
(ماجستير طب أسنان أطفال)

بحث مقدم لنيل درجة الدكتوراه في طب أسنان أطفال

أ.د نجلاء العمودي
د. إيمان العشيري
أ.د عمرو بيومي

كلية طب الأسنان
جامعة الملك عبد العزيز
جدة-المملكة العربية السعودية

١٤٣٧/ ١٤٣٨هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

استخدام الخلايا الجذعية من الأنسجة الدهنية والنخاع العظمي في إعادة بناء الشفة المشقوقة والمشقوق السنخي في الكلاب

ريم محمد آزاد اللاركيا
(ماجستير طب أسنان أطفال)

بحث مقدم لنيل درجة الدكتوراه في طب أسنان أطفال

أ.د نجلاء العمودي
د. إيمان العشيري
أ.د عمرو بيومي

كلية طب الأسنان
جامعة الملك عبد العزيز
جدة-المملكة العربية السعودية

١٤٣٧/ ١٤٣٨هـ

استخدام الخلايا الجذعية من الأنسجة الدهنية والنخاع العظمي في إعادة بناء الشفة المشقوقة والمشقوق السنخي في الكلاب

إعداد
ريم محمد آزاد اللاركيا

المستخلص

الأهداف: تقييم إمكانية العلاج بواسطة الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة مقارنة مع الخلايا الجذعية من النخاع العظم في إعادة بناء الشفة المشقوقة والمشقوق السنخي في الكلاب.

المواد المنهجية: اثنا عشر من الكلاب صحية وملقحة، المدى المتوسط سنة ـ سنة ونصف من العمر والوزن ٢٠ كلغ. سيتم التعامل مع هذه الكلاب وفقا على الموافقة على المبادئ التوجيهية التي وافقت عليها لجنة الأخلاقيات في البحوث الحيوانية جامعة القاهرة، مصر. سيتم تقسيم الفم الى قسمين في كل قسم سيتم فيها جراحة مشابهة للشفة المشقوقة والمشقوق السنخي. وسيتم تقسيم الكلاب إلى مجموعتين: ـ في المجموعة أ، سيتم زرع الجانب التجريبي (الجانب الأيمن للفك العلوي) مع الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة بالإضافة الى زرع سقالة بينما، في الجانب التحكم (الجانب الأيسر من الفك العلوي) سيتم زرعها مع سقالة وحدها. وفي المجموعة الثانية ب، سيتم زرع الجانب التجريبي (الجانب الأيمن للفك العلوي) مع الخلايا نخاع العظام المشتقة بالإضافة الى زرع سقالة بينما، في الجانب التحكم (الجانب الأيسر من الفك العلوي) سيتم زرعها مع سقالة وحدها. سيتم خياطة مكان الجراحة بخيط جراحي قابل للذوبان. وسيتم إدراج عناية بعد الجراحة: سيتم تطبيق المضادات الحيوية والعلاجات المسكنة ٧ أيام على التوالي، واتباع نظام غذائي لينة لمدة ثلاثة أسابيع وكذلك التطبيق اليومي من ٢ ٪ من محلول الكلورهيكسيدين خلال فترة الشفاء. خلال الأسبوع الأول بعد العملية الجراحية، وسيتم فحص هذه

الحيوانات يوميا بحثا عن علامات العدوى. متابعة بعد شهر ونصف، ثم بعد ثلاثة أشهر بعد تضحية الكلاب.

نتائج البحث: كان هناك فرق دلالة إحصائية في تكوين كبير من العظام والشفاء التام للشفاه في كل من المواقع التجريبية عن مواقع الضوابط. من الناحية النسيجية، أظهرت التجارب ان تكوين العظام والأوعية الدموية الجديدة في (الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة) مماثلة كما في (الخلايا نخاع العظام المشتقة) في مجال تجديد العظام والاوعية الدموية، فضلا عن سماكة الظهارية مماثلة وتشكيلات الأنسجة الجديدة في الشفة المشقوقة. إشعاعيا، أظهرت التجريبية (الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة) تكون العظام تغطي منطقة عيب مقارنة مع المواقع التجريبية (بالخلايا نخاع العظام المشتقة) في فترات ١,٥ و٣ أشهر، كما لم يكن هناك فرق دلالة إحصائية في علامات الشفاء بين كل من (الخلايا نخاع العظام المشتقة) و (الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة) المواقع المصنفة في المشقوق السنخي بينما في الشفة المشقوقة المحاكاة كان عامل نمو بطانة الأوعية الدموية أكثر في (الخلايا نخاع العظام المشتقة) في١,٥و٣ أشهر الفاصلة على حد سواء العيوب.

الخلاصة: الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة هي مصدر جذاب للخلايا الجذعية في التطبيق السريري نظرا لفعاليته والتي هي قابلة للمقارنة بخلايا نخاع العظام المشتقة في التطبيق السريري، بالإضافة إلى انخفاض كلفته، وسهولة الحصاد، وإجراء أكثر أمانا للحصول على الخلايا الجذعية وكذلك أقل خطر من العدوى.

الملخص

إن شقوق الشفة، المشقوق السنخي والحنك هي أكثر العيوب الخلقية انتشارا، ن معدل انتشار المواليد العالمي بشكل عام تقريبا هو الفرد المصاب في كل ٧٠٠ مولود جديد. وتختلف حالات الشقوق، الحويصلات والحنك بين الأجناس. ففي المملكة العربية السعودية، تباين معدل الانتشار بعشرة أضعاف من ٠,٣ الى ٢,١٩ لكل ١٠٠٠ ولادة حية. الذكور أكثر تأثرا من الإناث.

في المرضى الذين يعانون من الشفة المشقوقة والمشقوق السنخي والحنك، أصبح تطعيم العظام في الأسنان المختلطة في شق السنخي المتبقية إجراء مثبتة. بغض النظر عن فوائدها لديها عيوب كبيرة والتي تشمل كمية محدودة من العظام والاعراض المصاحبة مثل الألم بعد العملية، والتغيرات في الإحساس، والتهابات موقع المانحة، وكدمات.

هندسة الأنسجة يمكن أن يحول دون هذه المشاكل، وتطوير المزيد من العلاج الآمن والفعال لهذه العيوب. وقد وجه انتباه المحققين إلى تجديد العظام من خلال الخلايا الجذعية النخاع العظمي. وفي الآونة الأخيرة، قد أفيد أن الأنسجة الدهنية يمكن جمعها في كمية كبيرة مع كمية لا تذكر مقارنة لحصاد العظام. وكذلك، الأنسجة الدهنية تحتوي على عدد من الخلايا الجذعية الوسيطة التي يمكن عزلها ومتمايزة في خطوط الخلايا المختلفة بما في ذلك الخلايا العظمية وتسمى هذه الخلايا " الخلايا الجذعية المستمدة الدهنية". وقد أسفرت الإنجازات التي حققتها هندسة الأنسجة في السنوات القليلة الماضية عن علاجات جديدة مثل إنتاج الجلد لعلاج الحروق، ترقيع العظام لتحل محل عيوب العظام الكبيرة والغضاريف لعمليات التجميل والجراحة الترميمية.

هندسة الأنسجة أثارت عالم طب الأسنان من خلال التركيز على تطوير المواد والنهج لاستبدال الأنسجة التالفة أو المفقودة للمواد البيولوجية من خلال دمج المبادئ والأساليب ومعرفة الكيمياء والفيزياء والهندسة وعلم الأحياء. للوصول إلى نتائج جيدة ومثالية، نحن بحاجة إلى تزامن علمي من

العناصر الأساسية الثلاثة: ١- الخلايا الجذعية ٢-سقالة لدعم نمو العظام و٣- الإشارات الكيميائية الحيوية.

النماذج الحيوانية الكبيرة استخدمت في البحوث التي لا يمكن القيام بها على البشر. وبالمقارنة مع النماذج الحيوانية الأخرى، الكلاب هي أشبه بكثير من الإنسان في عرض المرض وكذلك في علم وظائف الأعضاء. نموذج الكلب هو واحد من الحيوانات الكبيرة الأكثر استخداما في أبحاث العضلات والعظام والأسنان. هناك الكثير من الدراسات البيطرية التي أجريت باستخدام هندسة الأنسجة على الكلاب، خلصوا جميعا إلى أن هندسة الأنسجة شكلت أفضل تجديد للعظام
من بديل العظام التقليدية.

الهدف من هذه الدراسة هو ١- تقييم الإمكانات العلاجية لكل من الخلايا الجذعية الوسيطة المشتقة الدهنية ونخاع العظام الخلايا الجذعية المشتقة في تجديد المشقوق السنخي في الكلاب إشعاعيا ونسيجيا. ٢- لتقييم الإمكانات العلاجية لكل من الخلايا الجذعية الوسيطة المشتقة الدهنية ونخاع العظم الخلايا الجذعية المشتقة في تجديد الشفة المشقوقة في الكلاب إشعاعيا، نسيجيا. ٣- لمقارنة الإمكانات العلاجية بين الخلايا الجذعية الوسيطة المشتق الدهنية ونخاع العظم الخلايا الجذعية المشتقة في تجديد كل من الشفة المشقوقة الشفة المشقوقة والمشقوق السنخي في الكلاب. ٤- لمقارنة الإمكانات العلاجية لكل من الخلايا الجذعية الوسيطة المشتقة الدهنية ونخاع العظم الخلايا الجذعية المشتقة في تجديد الشفة المشقوقة الشفة المشقوقة والمشقوق السنخي في الكلاب في فترتين زمنيتين مختلفتين (١,٥-٣ أشهر).

في هذا البحث قمنا بجمع اثنا عشر من الكلاب الصحية والملقحة، المدى المتوسط سنة ـ سنة ونصف من العمر والوزن ٢٠ كلغ. تم التعامل مع هذه الكلاب وفقا على الموافقة على المبادئ التوجيهية التي وافقت عليها لجنة الأخلاقيات في البحوث الحيوانية جامعة القاهرة، مصر. تم تقسيم الفم الى قسمين في كل قسم قمنا فيها بجراحة مشابهة للشفة المشقوقة والمشقوق السنخي. ثم قسمت الكلاب إلى مجموعتين: ـ في المجموعة أ، زرعنا الجانب التجريبي (الجانب الأيمن للفك العلوي) مع

الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة بالإضافة الى زرع سقالة. بينما، في الجانب التحكم (الجانب الأيسر من الفك العلوي) تم زرعها مع سقالة وحدها. وفي المجموعة الثانية ب، زرعنا الجانب التجريبي (الجانب الأيمن للفك العلوي) مع
الخلايا نخاع العظام المشتقة بالإضافة الى زرع سقالة. بينما، في الجانب التحكم (الجانب الأيسر من الفك العلوي) تم زرعها مع سقالة وحدها. ومن ثم قمنا بخياطة مكان الجراحة بخيط جراحي قابل للذوبان.

ثم إدراج عناية بعد الجراحة: وتطبيق المضادات الحيوية والعلاجات المسكنة ٧ أيام على التوالي، وتم اتباع نظام غذائي لينة لمدة ثلاثة أسابيع وكذلك التطبيق اليومي من ٢ ٪ من محلول الكلورهيكسيدين خلال فترة الشفاء. خلال الأسبوع الأول بعد العملية الجراحية، قمنا بفحص هذه الحيوانات يوميا بحثا عن علامات العدوى. متابعة بعد شهر ونصف، ثم بعد ثلاثة أشهر بعد تضحية الكلاب.

كان هناك فرق دلالة إحصائية في تكوين كبير من العظام والشفاء التام للشفاه في كل من المواقع التجريبية عن مواقع الضوابط. من الناحية النسيجية، أظهرت التجارب ان تكوين العظام والأوعية الدموية الجديدة في (الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة) مماثلة كما في (الخلايا نخاع العظام المشتقة) في مجال تجديد العظام والاوعية الدموية، فضلا عن سماكة الظهارية مماثلة وتشكيلات الأنسجة الجديدة في الشفة المشقوقة. إشعاعيا، أظهرت التجريبية (الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة) تكون العظام تغطي منطقة عيب مقارنة مع المواقع التجريبية (بالخلايا نخاع العظام المشتقة) في فترات ١,٥ و٣ أشهر، كما لم يكن هناك فرق دلالة إحصائية في علامات الشفاء بين كل من (الخلايا نخاع العظام المشتقة) و (الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة) المواقع المصنفة في المشقوق السنخي بينما في الشفة المشقوقة المحاكاة كان عامل نمو بطانة الأوعية الدموية أكثر في (الخلايا نخاع العظام المشتقة) في ١,٥ و٣ أشهر الفاصلة على حد سواء العيوب.

الخلايا الجذعية الدهنية المشتقة هي مصدر جذاب للخلايا الجذعية في التطبيق السريري نظرا لفعاليته والتي هي قابلة للمقارنة بخلايا نخاع العظام المشتقة في التطبيق السريري، بالإضافة إلى انخفاض كلفته، وسهولة الحصاد، وإجراء أكثر أمانا للحصول على الخلايا الجذعية وكذلك أقل خطر من العدوى.

The Use of Adipose Tissue and Bone Marrow Derived Stem Cells in Regeneration of Cleft lip and Alveolus in Dogs

By

Reem M. Azad Allarakia, BDS, MSc

A thesis submitted for the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Pediatric Dentistry

Supervised By

Prof. Najlaa Alamoudi
Dr. Eman Elashiry
Prof. Amr Bayoumi

Faculty of Dentistry
King Abdulaziz University
Jeddah-Saudi Arabia
2017G – 1438H

The Use of Adipose Tissue and Bone Marrow Derived Stem Cells in Regeneration of Cleft lip and Alveolus in Dogs

Reem M. Azad Allarakia

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the therapeutic potential of adipose tissue derived mesenchymal stem cells compared to bone marrow derived mesenchymal stem cells on healing of surgically created cleft lip and alveolus.

Materials and Methods: Split mouth experimental study was performed on twelve healthy and vaccinated mongrel dogs, 12-18 months and weight range of 20kgs. These dogs were treated in accordance with the Ethics of Animal Use in Research Committee (EAURC) authorized by the Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University. Proposal number: Cu-vet/F/SAR/8/2015, KAU Ethical Approval number: G-54-165-38. The dogs were divided into two groups: In -group A, the experimental side (right side of maxilla),

the surgically created cleft lip and alveolus, were transplanted with Adipose Tissue Derived Mesenchymal Stem Cells (AT-MSCs) and scaffold as well as growth factors. While, in the control side (left side of maxilla) the surgically created cleft lip and alveolus, were filled with scaffold and growth factors only. In-group B, the experimental side (right side of maxilla) the surgically created cleft lip and alveolus, were transplanted with Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells (BM-MSCs) and scaffold as well as growth factors. The

control side (left side of maxilla) the surgically created cleft lip and alveolus, were transplanted with scaffold and growth factors only. The flaps were replaced and sutured with resorbable sutures. Six dogs were scarified at one month and half, and the other six dogs at three months. The collected samples were submitted to radiographic examination and histopathology lab for further investigations.

Results: AT-MSCs as well as BM-MSCs are a valuable source for bone regeneration and soft tissue healing. They both secrete healing markers (VEGF, collagen, TGF, and ALP) that paly significant role in restoring the bone and soft tissue integrity. AT-MSCs and BM-MSCs effects were documented radiographically and histologically and immunohistochemically, as there were areas of bone formation, new vascularization, complete epithelization as well as radiopaque areas covering the defects that assure great potentiality toward healing. Stem cells whether AT-MSCs or BM-MSCs accelerate the healing and regeneration of the defected area by increasing the bone width and surface area; providing bone quantity and quality as early as 1.5 months allowing for early therapeutic involvement.

Conclusion: AT-MSCs and BM-MSCs are an attractive tool in bone regeneration and soft tissue healing. AT-MSCs in experimental studies showed that their effectiveness is comparable to BM-MSCs, in addition to its low cost, ease of harvesting and safer procedure to obtain stem cells as well as less risk of infection.