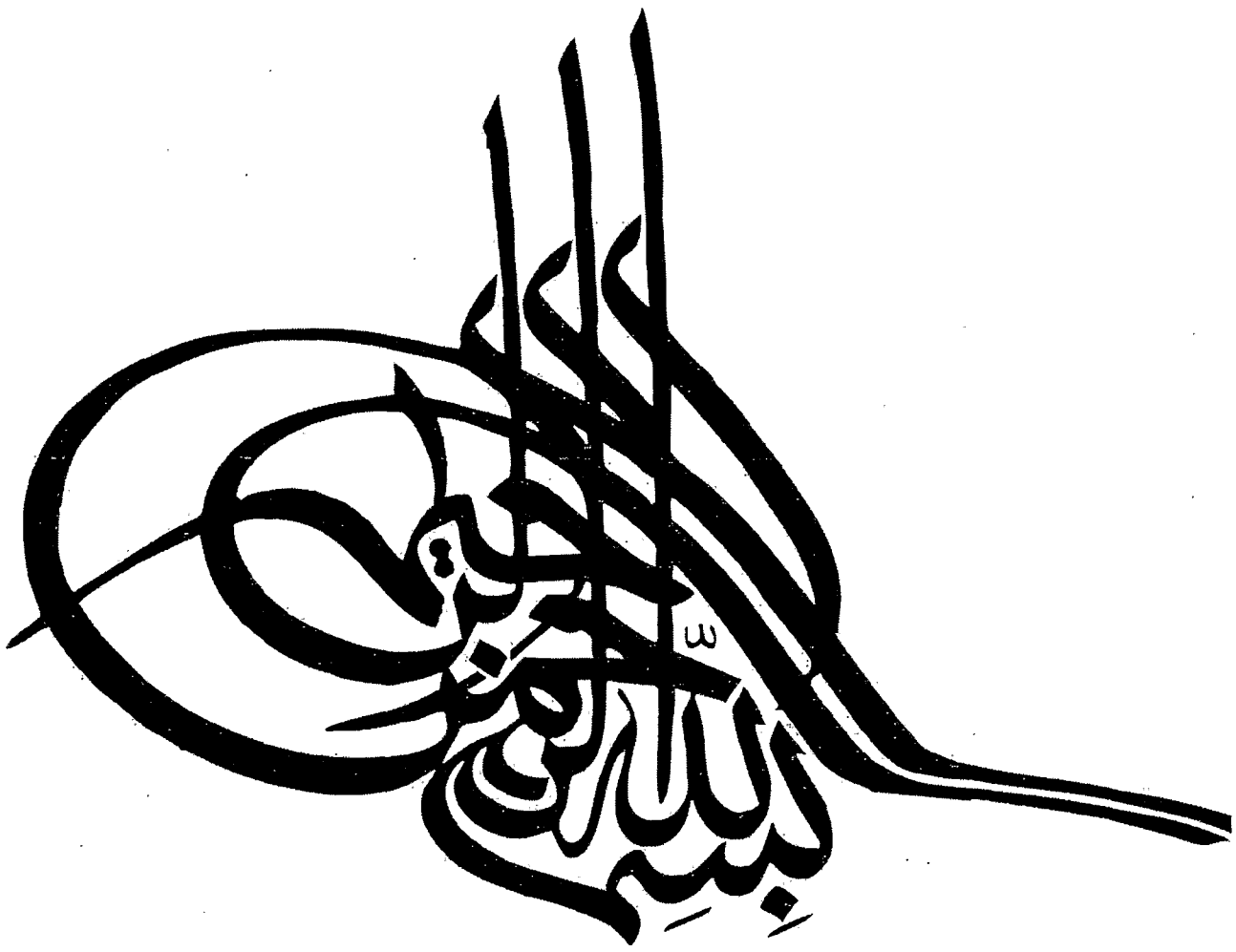


٩٩٤٩٩

سازمان انتقال خون ایران

مرکز تحقیقات

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد

خون شناسی و انتقال خون

عنوان:

بررسی تاثیر عوامل رشد حاصل از ژل پلاکتی برروی تکثیر و تمایز سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به سلول های استئوبلاست و استئوژنزیز

The effect of growth factors of platelet gel on proliferation and differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells to osteoblasts and osteogenesis

استاد راهنما: دکتر ناصر امیری زاده

اساتید مشاور: دکتر مسعود سلیمانی

دکتر حسین ملکان

نگارنده:

مریم امانی

۱۳۸۷/۸/۱۸

مرداد ۱۳۸۷

۹۹۴۹۹

تقدیم به او که نبود، ولی حس بودنش بر من شوق زیستن داد

تقدیم به مادر عزیزم که تا هست من نیز هستم

تقدیم به استاد ارجمندم جناب آقای دکتر امیری زاده

چیزی ندارم جز ممنون و متشکرم بخاطر ندیده گرفتن همه بدیهایم و بخاطر همه لطف و محبتی که در این مدت داشته اید

با تشکر و قدردانی از:

اساتید محترم مشاور، جناب آقای دکتر مسعود سلیمانی و دکتر حسین ملکان که از هدایت های علمی ایشان برای انجام هرچه بهتر این پایان نامه بهرمند شدم

معاون محترم آموزشی و پژوهشی جناب آقای دکتر قره باغیان

همکاران محترم بخش آموزش سرکار خانم ها: دکتر خدیر، داننده و فقیه

همکاران محترم مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون جناب آقای دکتر حبیبی رودکنار، سرکار خانم ها دکتر نیکوگفتار، اودی و سایر دوستان عزیزم که نهایت همکاری را در این مدت با بنده داشتند

دوستان عزیزم درکتابخانه خانم ها: دهقان و مختاری

کلیه اساتیدی که در طی دوره تحصیلی خود در سازمان انتقال خون به نوعی از محضر آنها بهره مند شدم

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده پژوهش	
۱- دلایل انتخاب موضوع	۱
۲- بیان مسئله	۳
۳- تاریخچه کلمات کلیدی	۶
۳-۱- سلول بنیادی	۶
۳-۱-۱- طبقه بندی سلول های بنیادی بر حسب توانائی تمایز	۶
۳-۱-۲- طبقه بندی سلول های بنیادی بر حسب منشاء جداسازی	۷
۳-۱-۲-۱- سلول های بنیادی جنینی	۷
۳-۱-۲-۲- سلول های بنیادی بالغ	۸
۳-۲- سلول های بنیادی مزانشیمی	۹
۳-۲-۱- منابع سلول های بنیادی مزانشیمی	۹
۳-۲-۲- شاخص های سطحی سلول های بنیادی مزانشیمی	۱۰
۳-۲-۳- بیولوژی سلول های بنیادی مزانشیمی	۱۱
۳-۲-۴- توانائی خود سازی سلول های بنیادی مزانشیمی	۱۳
۳-۲-۵- توانائی تمایز سلول های بنیادی مزانشیمی	۱۳
۳-۲-۵-۱- توانائی استئوژنیک سلول های مزانشیمی	۱۵
۳-۲-۵-۲- توانائی کندروژنیک سلول های مزانشیمی	۱۶
۳-۲-۵-۳- توانائی ادیپوژنیک سلول های مزانشیمی	۱۶
۳-۲-۵-۴- توانائی عصبی سلول های مزانشیمی	۱۶
۳-۲-۶- خصوصیات ایمنی سلول های مزانشیمی	۱۷
۳-۲-۷- کاربرد سلول های بنیادی مزانشیمی	۱۸
۳-۲-۷-۱- کاربرد در ارتوپدی	۱۸
۳-۲-۷-۲- پیوند همزمان با سلول های خونساز	۱۹
۳-۲-۷-۳- کاربرد در ژن درمانی	۲۰
۳-۳- پلاکت	۲۱
۳-۳-۱- عوامل رشد پلاکتی	۲۱
۳-۳-۱-۱- فاکتور رشد مشتق از پلاکت	۲۱
۳-۳-۱-۲- فاکتور رشد شبه انسولین	۲۳
۳-۳-۱-۳- فاکتور رشد اپی درمال	۲۳

۳-۳-۱-۴- فاکتور رشد ترانسفورمینگ ۲۳
۳-۳-۱-۵- فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۴
۳-۳-۳- ژل پلاکتی ۲۵
۳-۳-۴- فواید کاربرد ژل پلاکتی ۲۷
۳-۳-۵- موارد کاربرد ژل پلاکتی ۲۷
۳-۴- بافت استخوانی ۳۱
۴- نقد متون ۳۵
۵- اهداف کلی، اهداف اختصاصی، فرضیات
۵-۱- هدف کلی ۴۲
۵-۲- هدف اختصاصی ۴۲
۵-۳- فرضیات ۴۲
۶- متغیرهای تحقیق، ابزار و نحوه سنجش آنها ۴۳
۷- نوع مطالعه ۴۴
۸- جامعه مورد مطالعه، حجم نونه، روش نمونه گیری و آزمون آماری
۸-۱- جامعه مورد مطالعه ۴۴
۸-۲- حجم نمونه ۴۴
۸-۳- روش نمونه گیری ۴۴
۸-۴- آزمون آماری ۴۴
۹- نحوه اجرای تحقیق
۹-۱- فهرست مواد مورد نیاز ۴۵
۹-۲- فهرست تجهیزات مورد نیاز ۴۷
۹-۳- آماده سازی محلول ها ۴۹
۱۰- روش و مراحل انجام پژوهش
۱۰- ۱- جداسازی سلول های تک هسته ای از مغز استخوان ۵۲
۱۰-۲- کشت سلول های تک هسته ای به منظور جداسازی سلول های بنیادی مزانشیمی ۵۳
۱۰-۳- پاساژ و تکثیر سلول های بنیادی مزانشیمی ۵۴
۱۰-۴- شمارش سلولی ۵۵
۱۰-۵- تعیین درصد زنده بودن سلول ها ۵۵
۱۰-۶- انجام فلوسایتومتری برای تایید سلول های مزانشیمی ۵۶
۱۰-۷- بررسی میزان فعالیت ترومبین ۵۷
۱۰-۸- تهیه ترومبین از پلاسمای انسانی ۵۸
۱۰-۹- تهیه پلاسمای غنی از پلاکت ۵۹

۱۰-۱۰- تهیه ژل پلاکتی ۶۰
۱۰-۱۱- اندازه گیری عوامل رشد آزاد شده از پلاکت ۶۱
۱۰-۱۲- بررسی اثر عوامل رشد آزاد شده از پلاکت برروی تکثیر سلول های مزانشیمی ۶۲
۱۰-۱۳- ارزیابی میزان تکثیر سلول های مزانشیمی تحت تاثیر فاکتورهای آزاد شده از پلاکت ۶۲
۱۰-۱۴- کشت و تمایز سلول های مزانشیمی در حضور عوامل تمایز دهنده ۶۳
۱۰-۱۵- رنگ آمیزی آلیزارین رد ۶۴
۱۰-۱۶- رنگ آمیزی آلکالین فسفاتاز ۶۵
۱۰-۱۷- کشت و تمایز سلول های مزانشیمی در داربست سه بعدی ۶۶
۱۰-۱۸- استخراج RNA ۶۷
۱۰-۱۹- الکتروفورز RNA استخراج شده برروی ژل آگارز ۶۸
۱۰-۲۰- تعیین غلظت RNA استخراج شده با روش اسپکتروفتومتری ۶۸
۱۰-۲۱- واکنش RT-PCR ۶۸
۱۰-۲۲- واکنش PCR ۷۰
۱۰- ۲۳- الکتروفورز محصول PCR ۷۱
۱۱- یافته ها ۷۲
۱۲- بحث ۹۲
۱۳- پیشنهادات ۹۷
۱۴- فهرست منابع ۹۸

چکیده پژوهش

مقدمه:

سلول های بنیادی مزانشیمی(MSCs)، جمعیت سلولی موجود در مغز استخوان هستند که توانائی تکثیر و تمایز بالقوه ای دارند. سلول های مزانشیمی می توانند به سلول های استئوسیت، چربی و کندروسیت تمایز یابند. منبع اصلی این سلول ها مغز استخوان است با این وجود این سلول ها تنها درصد کمی ازجمعیت سلول های مغز استخوان را تشکیل می دهند. به منظور تکثیر و تمایز سلول های مزانشیمی از FBS بعنوان یک مکمل در محیط کشت استفاده می شود که با خطرانتقال انواع عفونت ها و ایجاد واکنش های ایمنی همراه است. ژل پلاکتی اتولوگ از اجزاء طبیعی خون خود فرد تهیه می شود. پلاکت های فعال شده عوامل رشدی را آزاد می سازند که خاصیت میتوژنیک برای سلول های مزانشیمی دارند. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده اند که میزان عوامل رشد پلاکتی به تعداد پلاکت ها، نحوه تهیه آنها و مکانیسم آزاد سازی عوامل رشد بستگی دارد.

هدف ما از این مطالعه بررسی تاثیر عوامل رشد پلاکتی برروی تکثیر و تمایز سلول های بنیادی مزانشیمی است.

مواد و روش ها:

سلول های مزانشیمی در محیط حاوی سرم ۱۰٪ و محیط حاوی فاکتورهای رشد پلاکتی ۱۰٪ کشت و تکثیر داده شدند. سلول های تکثیر یافته با استفاده از تکنیک فلوسایتومتری تایید شدند. شاخص های CD34, CD45, CD44, CD105, CD90, CD166 بررسی شدند. با افزودن ترومبین و کلسیم به پلاسمای غنی از پلاکت، ژل پلاکتی تهیه شد. ژل پلاکتی به مدت ۳۰ دقیقه، ۶،۲۴،۴۸،۷۲ ساعت درگرماخانه ۳۷ درجه نگهداری شد. بعداز این مدت نمونه ها سانتریفوژ و مایع روئی جمع آوری شد. میزان عوامل رشد پلاکتی در این مایع با استفاده از تکنیک الایزا اندازه گیری شد. سلول های مزانشیمی در محیط کشت حاوی عوامل رشد پلاکتی ۱۰٪ به مدت ۸ روز کشت داده شدند. میزان تکثیر سلول ها با استفاده از تکنیک MTT بررسی شد. سلول های تکثیر یافته در حضور عوامل تمایز دهنده کشت داده شدند. بعد از دو هفته، تمایز سلولی با رنگ آمیزی Alizarin red و آلکالین فسفاتاز بررسی شد. سلول های مزانشیمی برروی داربست سه بعدی تری کلسیم فسفات کشت داده شدند و در نهایت میزان رشد و مورفولوژی سلول ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بررسی شد.

یافته ها:

سلول های مزانشیمی با موفقیت جدا شده و در محیط حاوی فاکتورهای رشد پلاکتی تکثیر یافتند. از نظر مورفولوژی، سلول های مزانشیمی کشت داده شده مشابه سلول ها در محیط حاوی سرم بودند. سلول ها دارای شاخص های CD44,CD90,CD105,CD166 و فاقد شاخص های سلول های خونساز نظیر CD45,CD34 بودند. تفاوت قابل توجهی از نظر بیان شاخص ها بروی سلول ها در دو محیط مشاهده نشد. در این مطالعه نشان داده شد که عوامل رشد پلاکتی نسبت به سرم، سبب افزایش بیشتر تعداد سلول ها می شود. بعلاوه سلول های مزانشیمی کشت داده شده در حضور فاکتورهای رشد پلاکتی خاصیت استئوژنیک خود را حفظ کردند. تمایز استئوژنیک سلول های مزانشیمی با رنگ آمیزی رسوبات معدنی با Alizarin red و افزایش بیان آلکالین فسفاتاز تائید شد.

نتیجه گیری:

عوامل رشد پلاکتی را می توان جایگزین سرم در محیط کشت سه بعدی نمود. این عوامل محیط مناسبی را برای رشد سلول های مزانشیمی فراهم می سازند. توانائی تمایز استئوژنیک سلول های مزانشیمی در این محیط حفظ می شود.

کلمات کلیدی:

سلول های بنیادی مزانشیمی، ژل پلاکتی، داربست سه بعدی، استئوژنزیس

۱- دلایل انتخاب موضوع

سلول های بنیادی مزانشیمی، از جمله سلول هائی هستند کـه دارای پتانـسیل تکثیـر خودبخـودی، خاصـیت پلاستی سیتی و تمایز بین بافتی می باشند. در طی دو دهه گذشته، مطالعات مختلفی در مورد نقش این سلول ها در خون سازی، تنظیم پاسخ ایمنی، تجدید و ترمیم بافت انجام شده است. سلول های بنیـادی مزانـشیمی مغز استخوان انسان (hBMSCs) جهت کاربرد در مهندسی بافت، از جمله مهندسی بافت استخوان مفید مـی باشند. این سلول ها را می توان از مغز استخوان بیمار جدا کرد و بعد از تکثیر در محـیط کـشت و تمـایز بـه بافت های مختلف از جمله استخوان، بصورت اتولوگ به بیمار پیوند زد. بـدلیل توانـائی ایـن سـلول هـا در ترمیم بافت بر آن شدیم تا به مطالعه تمایز این سلول ها در محیط کشت بپردازیم.

برای ترمیم ضایعات و نقایص استخوانی می توان از امکانات مهندسی بافت بهره برد. در این ارتباط می توان از پیوند بافت استخوانی اتولوگ استفاده کرد یا با طراحـی داربـست مناسـب و گذاشـتن سـلول هـای دارای پتانسیل تولید استخوان برروی آنها و پیوند در محل ضایعه آن را ترمیم کرد. با توجـه بـه محـدودیت بافـت استخوانی اتولوگ و لزوم عمل جراحی و ایجاد ضایعه ای در ناحیه ای دیگر برای تهیه این بافت، اسـتفاده از داربست های سلولی برای ترمیم ضایعات استخوانی مورد توجه ویژه ای قرار گرفته است. در مطالعات اخیـر در زمینه مهندسی بافت نشان داده اند که استئوبلاست ها عملکرد خود را در محیط کشت سه بعـدی بهتـر از محیط کشت دو بعدی حفظ می کنند. همچنین داربست های سه بعـدی سـطوح بزرگتـر و بهتـری را بـرای اتصال سلولی نسبت به محیط کشت دو بعدی فراهم می کنند. از این رو، رشد و تمایز سـلول هـای بنیـادی مزانشیمی در داربست سازگار با بدن (biocompatible) می تواند جهت ایجاد یک بافت در حد نیـاز بـالینی موثر باشد.

در این مطالعه سرامیک های فسفات کلسیم بعلت اینکه ساختاری مشابه به بخش غیر آلی ترکیب استخوان دارند به عنوان داربست سلولی مورد استفاده قرار گرفته، زیرا مطالعات مختلف نشان داده اند که این داربست ها توانائی تحریک استخوان سازی را دارا بوده و با بافت های بدن سازگار می باشند.

۲- بیان مسئله

پلاکت های فعال شده توسط ترومبین و کلسیم، عوامل رشد متعددی از جمله PDGF, EGF, bFGF را آزاد می سازند. کلیه این عوامل به بهبود زخم و ترمیم بافت کمک می کنند. بنابراین با تهیه کنسانتره پلاکتی و فعال کردن آن توسط ترومبین و کلسیم می توان به غلظت قابل توجهی از عوامل رشد دست یافت. این عوامل همچنین در رشد و تکثیر سلول های استئوبلاستی نقش موثری دارند به طوریکه با کاربرد بالینی کنسانتره های پلاکتی، ترمیم شکستگی های استخوانی با سرعت بیشتری صورت می گیرد.

سلول های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal Stem Cells) از سلول های استرومائی مغز استخوان بوده و دارای پتانسیل بالائی برای تمایز به سلول های مختلف بافت های مزانشیمی از جمله استئوبلاست ها، کندروسیت ها، فیبروبلاست ها هستند. سلول های مزانشیمی را می توان با کشت مغز استخوان در محیط های ویژه مانند محیط DMEM با غلظت کم گلوکز جدا سازی و تکثیر کرد. یکی از پتانسیل های این سلول ها، توانائی تمایز آنها به سلول تولید کننده استخوان، یعنی استئوبلاست است. عوامل تمایز دهنده ای همچون دگزامتازون، بتا- گلیسروفسفات و اسید اسکوربیک، این سلول ها را به سمت سلول های استئوبلاستی تمایز می دهند. بنابراین با جدا سازی سلول های مزانشیمی و تمایز آنها به سلول های تولید کننده استخوان و کشت این سلول ها برروی داربست های سه بعدی (3DS)[1]، می توان از آنها برای ترمیم و درمان نقایص استخوانی استفاده کرد.

از داربست های سه بعدی و قابل تجزیه مختلفی به عنوان ماتریکس خارج سلولی مصنوعی برای تکثیر سلول ها و تشکیل بافت سه بعدی در مهندسی بافت استفاده شده است. این داربست ها می توانند مولکول

[1] Three-dimentional-scaffold

های طبیعی یا فیبرهای مصنوعی باشند. برای ترمیم و بازسازی استخوان داربست سلولی باید دارای ویژگی های خاصی باشد تا بتواند به طور موثر باعث تکثیرو تمایز سلول های استخوان ساز گردد. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که ترکیبات غیر آلی همچون سرامیک های کلسیم فسفات می توانند این عمل را بخوبی انجام دهند. با مطالعه بیان ژن و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در این سلول ها شواهدی برای تولید استخوان در آنها بدست آمده که بیانگر مناسب بودن این داربست سه بعدی برای مطالعه و رشد سلول های استئوبلاستیک است. مطالعات آزمایشگاهی داربست کلسیم فسفات نشان داده است که این داربست بدون ایجاد هرگونه عارضه ای در بدن، می تواند در تولید و ترمیم بافت استخوانی نقش موثری داشته باشد.

سلول های بنیادی مزانشیمی به تعداد کمی در مغز استخوان موجود هستند و برای اینکه بتوان از آنها در مهندسی بافت استفاده کرد باید آنها را در محیط آزمایشگاه تکثیر کرد. به طور معمول، تکثیر سلول های بنیادی مزانشیمی و تمایز آنها به رده های مختلف سلولی از جمله سلول های استئوبلاست در خارج بدن (Ex vivo)، در محیط کشت حاوی سرم حیوانی انجام می شود که با خطر انتقال انواع پاتوژن های شناخته شده و ناشناخته همراه است. بهمین دلیل در هنگام کاربرد این سلول ها در موارد درمانی باید تماس سلول ها با سرم حیوانی را به حداقل رساند. بنابراین استراتژی مناسب، جایگزینی سرم حیوانی با منبع حمایتی مناسب می باشد.

مطالعات گذشته نشان داده اند که پلاسمای غنی از پلاکت و ژل پلاکتی حاوی عوامل رشد مختلفی می باشند که نقش آنها در تکثیر و تمایز سلول های مختلف به اثبات رسیده است. در این مطالعه ما به منظور حذف سرم از محیط کشت سلول ها، عوامل رشد پلاکتی را جایگزین سرم حیوانی کردیم و تاثیر آن را برروی تکثیر و تمایز سلول های مزانشیمی به سلول های استئوبلاست با استفاده از آزمایشات مولکولی و

سلولی بررسی نمودیم. علاوه بر آن چون تعداد پلاکت ها و زمان انکوباسیون آنها باعوامل فعال کننده ممکن است تاثیر بسزائی در آزاد سازی عوامل رشد پلاکتی داشته باشد، در این مطالعه این نکات نیز در نظر گرفته شد. با در نظر گرفتن مطالب فوق و با توجه به اینکه سازمان انتقال خون جایگاه مهمی در تهیه فراورده های خونی از جمله پلاکت ها دارد، در صورت کاربردی شدن این روش، سازمان می تواند نقش موثری در تهیه فراورده های مختلف پلاکتی از جمله پلاسمای غنی از پلاکت، ژل پلاکتی و حتی در زمینه سلول های بنیادی داشته باشد.

۳- تاریخچه کلمات کلیدی

۳-۱- سلول بنیادی

سلول بنیادی[1]، سلولی تمایز نیافته است که توانائی منحصر بفردی در تولید سلول های همسان خود داشته و می تواند به بسیاری از سلول های تخصص یافته تمایز یابد (۱).

سلول های بنیادی دارای ویژگی های زیر می باشند:

۱- توانائی خودسازی[2]

۲- توانائی تمایز به رده های مختلف سلولی

۳-۱-۱- طبقه بندی سلول های بنیادی بر حسب توانائی تمایز

۱- Unipotent stem cell: به سلول هائی در موجودات زنده اطلاق می شود که فقط قادرند به یک رده سلولی متمایز شوند (۲).

۲- Multipotent stem cell: سلول های بنیادی هستند که می توانند به تعداد محدودی از انواع سلول ها تمایز یابند.

۳- Pluripotent stem cell: این سلول ها توانائی تمایز به کلیه سلول های مشتق شده از هر سه لایه جنینی (اکتودرم، مزودرم، اندودرم) را دارا بوده و بنابراین قادرند به هر سلول موجود در داخل بدن موجود زنده متمایز شوند.

---

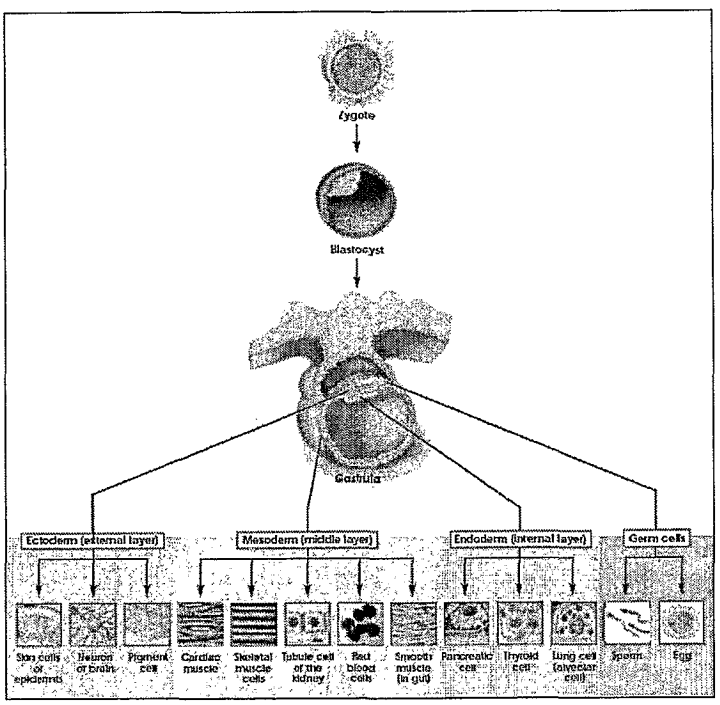
[1].stem cell
[2] .self-renewal

٤- Totipotent stem cell: سلول هائی هستند که از ترکیب تخمک و اسپرم به وجود می آیند و قادرند به انواع سلول های خارج جنینی و جنینی تبدیل شوند (۲).

۳-۱-۲- طبقه بندی سلول های بنیادی بر حسب منشاء جداسازی

۳-۱-۲-۱- سلول های بنیادی جنینی[1]

سلول های بنیادی جنینی از توده داخل سلولی جنین در مرحله بلاستوسیت به وجود می آیند. این سلول ها ویژگی چند قابلیتی بودن[2] خود را کاملا حفظ نموده و پتانسیل تبدیل به تمامی رده های سلولی مشتق از هر سه لایه جنینی را دارند (شکل ۳-۱). این سلول ها قادر به ایجاد پرده یا غشاهای خارج جنینی نمی باشند (۱).



شکل ۳-۱.توانائی تمایز سلول های بنیادی جنینی (۳)

[1] Embryonic stem cell
[2].pluripotency

۳-۱-۲-۲- سلول های بنیادی بالغ

سلول بنیادی بالغ، سلول غیر تمایز یافته ای می باشد که در یک بافت تمایز یافته وجود دارد. این سلول ها پس از تکثیر و تمایز به سلول های بالغ و تخصص یافته همان بافت تبدیل می گردند. این سلول ها شامل انواع مختلفی می باشند:

- **سلول های بنیادی عصبی:** سلول های بنیادی عصبی در سیستم عصبی مرکزی[1] و سیستم عصبی محیطی یافت می شوند. در فرد بالغ سلول های بنیادی عصبی در مغز پیشین[2]، زیر بطنی[3] و هیپو کامپوس[4] یافت می شوند (٤،٥).

- **سلول های بنیادی خونساز[5]:** این نوع سلول های بنیادی بطور عمده در مغز استخوان وجود دارند. سلول های بنیادی خونساز قادر به ساخت انواع سلول های خونی مانند گلبول های قرمز، لنفوسیت ها، نوتروفیل ها، ماکروفاژ ها و پلاکت ها هستند(۱).

- **سلول های بنیادی مزانشیمی[6]:** سلول های بنیادی چند قوه ای هستند که بطور عمد ه در مغز استخوان حضوردارند. علاوه بر مغز استخوان می توان این سلول ها را از بافت های دیگری نظیر بافت چربی، بند ناف، مایع آمنیوتیک و خون محیطی جدا نمود.

---

[1] .central nervous system (CNS)
[2] .forebrain
[3] .subvetricular
[4] .hyppocampus
[5] .hematopoitic stem cell
[6] . mesenchymal stem cell

۳-۲- سلول های بنیادی مزانشیمی

سلول های بنیادی مزانشیمی مانند سایر سلول های بنیادی دارای توانائی خود سازی و تمایز هستند. این سلول ها اولین بار در سال ۱۹۷٤ توسط Friedenstein و همکارانش شناخته شدند (٦).

سلول های مزانشیمی سلول های بنیادی چند قوه ای هستند که می توانند به استئو بلاست ها، کندروسیت ها، سلول های چربی، تنوسیت ها و میلو بلاست ها تمایز یابند (۸،۹،۷). منشاء این سلول ها لایه مزودرم است با این وجود چون خاصیت تمایز بین بافتی[1] دارند می توانند به سلول هائی با منشاء اندودرمی و اکتودرمی نظیر سلول های عصبی، پوست و هپاتوسیت ها تمایز یابند (۱۲،۱۱،۱۰،۷،۸).

علاوه بر مغز استخوان این سلول ها به تعداد محدودی در مکان های دیگری نظیر بند ناف، خون محیطی، ماهیچه، چربی و سینوویوم نیز دیده می شوند (۱٦،۱٥،۱٤،۱۳).

۳-۲-۱- منابع سلول های بنیادی مزانشیمی

منبع اصلی سلول های مزانشیمی مغز استخوان است. با این وجود این سلول ها تنها در صد کمی از جمعیت سلول های مغز استخوان را تشکیل می دهند. pittenger و همکاران نشان دادند که تنها ۰/۰۱-۰/۰۰۱٪ از سلول های هسته دار جدا شده از مغز استخوان کلونی هایی شبیه سلول های فیبروبلاستی تشکیل می دهند(۷). Wexel و همکاران میزان این سلول ها را ۱ در 10^4 X ۳/۱ سلول تک هسته ای در مغز استخوان گزارش کردند(۱۷). این سلول ها در انسان معمولا از آسپیره مغز استخوان در ناحیه لگن و در رت از آسپیره استخوان فمور[2] و تیبیا[3] به دست می آیند.

---

[1]. trans differentiation
[2] femor
[3] tibia

علاوه بر مغز استخوان می توان این سلول ها را از بافت های دیگری نظیر بافت چربی، بند ناف، مایع آمنیوتیک، خون محیطی، کبد جنین، مایع سینوویال و بافت های جنینی جدا نمود (۱۸،۱۹،۲۰،۲۱).

بیشترین میزان این سلول ها در دوران جنینی مشاهده می شود و با افزایش سن جنین در طول بارداری، میزان این سلول ها بتدریج کاهش می یابد (۲۲).

۳-۲-۲- شاخص های سطحی سلول های بنیادی مزانشیمی

سلول های مزانشیمی جمعیت هتروژنی از نظرساختمانی، فیزیولوژی و آنتی ژنهای سطحی هستند. این سلول ها بسیاری از مولکو ل های چسبندگی[1]، پروتئین های ماتریکس خارج سلولی[2]، رسپتور عوامل رشد و سیتوکین ها را بیان می کنند که به واسطه این مولکول ها با سایر سلول های موجود در مغز استخوان وارد واکنش می گردند (۲۳). با استفاده از آنتی بادی های اختصاصی و فلوسایتومتری می توان آنتی ژن های سطحی این سلول ها را شناسائی نمود (۲٤).

سلول های مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان شاخص های CD73(SH3&SH4),CD29,CD44, CD106(VCAM-1),CD105(SH2;endoglin),CD90(Thy-1) را بیان می کنند (۲۵،۲٦،۲۷،۲۸،۲۹).

این سلول ها فاقد شاخص های ویژه سلول های خونساز از جمله CD45,CD34,CD14 هستند (۱۱). فقدان شاخص های CD34,CD45,CD14 برروی سلول های مزانشیمی اساس تشخیص آنها از سلول های خونساز است (۲۹).

---

[1] .adhesion molecules
[2] .extracellular matrix proteins