بسم الله الرحمن الرحيم

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از
پایان‌نامه کارشناسی ارشد

خانم اعظم حبیبی رشته **خون شناسی آزمایشگاهی و بانک خون** پایان‌نامه **کارشناسی ارشد** خود را با عنوان « **بررسی تکثیر سلولهای بنیادی خونساز بندناف و بیان ژن CXCR4 در حضور عصاره گیاهی گارسینول**» در تاریخ **۱۳۹۳/۱۱/۱۱** ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	امضاء
استاد راهنما	دکتر مسعود سلیمانی	
استاد مشاور	دکتر امیر آتشی	
استاد ناظر	دکتر سعید آبرون	
استاد ناظر	دکتر مهین نیکوگفتار	
نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر سعید کاویانی	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

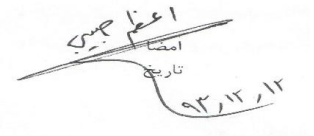
تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **اعظم حبیبی** دانشجوی رشته **خون شناسی آزمایشگاهی و بانک خون** ورودی سال تحصیلی**۱۳۹۱** مقطع **کارشناسی ارشد** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».



آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

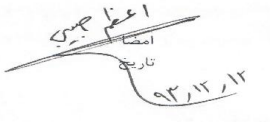
ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:
" کتاب حاضر، حاصل **پایان‌نامه کارشناسی ارشد** نگارنده در رشته **خون شناسی آزمایشگاهی و بانک خون** است که در سال **۱۳۹۳** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **دکتر مسعود سلیمانی** ، مشاوره **دکتر امیر آتشی** از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب **اعظم حبیبی** دانشجوی رشته **خون شناسی آزمایشگاهی و بانک خون** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.



دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته خون‌شناسی آزمایشگاهی و بانک خون

عنوان

بررسی تکثیر سلول های بنیادی خونساز بند ناف و بیان ژن CXCR4 در حضور عصاره گیاهی گارسینول

نگارش
اعظم حبیبی

استاد راهنما
دکتر مسعود سلیمانی

استاد مشاور
دکتر امیر آتشی

بهمن ۱۳۹۳

ما حصل آموخته هایم را ضمن تشکر و سپاس بیکران و در کمال افتخار و امتنان تقدیم می نمایم به

محضر ارزشمند پدر و مادر عزیزم به خاطر همه ی تلاشهای محبت آمیز ی که در دوران مختلف زندگی ام انجام داده اند و بامهربانی چگونه زیستن را به من آموخته اند...

به خواهر و برادران مهربانم که در تمام طول تحصیل همراه و همگام من بوده اند...

به استادان فرزانه و فرهیخته ای که در راه کسب علم و معرفت مرا یاری نمودند...

به آنان که در راه کسب دانش راهنمایم بودند...

به آنان که نفس خیرشان و دعای روح پرورشان بدرقه ی راهم بود...

الها به من کمک کن تا بتوانم ادای دین کنم و به خواسته ی آنان جامه ی عمل بپوشانم.

پروردگارا حسن عاقبت ، سلامت و سعادت را برای آنان مقدر بفرما.

خدایا توفیق خدمتی سرشار از شور و نشاط و همراه و همسو با علم و دانش و پژوهش جهت رشد و شکوفایی ایران عزیزمان عنایت بفرما .

تشکر و قدردانی

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت. به امید آنکه توفیق یابم جز خدمت به خلق او نکوشم...

و اینک که با کوشش مستمر و استعانت از الطاف الهی به مرحله دفاع از پایان نامه رسیدم بر خود لازم می دانم که از استاد راهنمای خوبم **جناب آقای دکتر مسعود سلیمانی** به پاس زحمات و حمایت های بی دریغ شان تشکر کنم و برایشان از خدواند مهربان سلامتی و موفقیت روز افزون را خواستارم.

از استاد مشاور خوبم **جناب آقای امیر آتشی** بسیار سپاس گزارم که در تمامی مراحل پایان نامه بنده را یاری فرموده و همواره از مشاوره های دلسوزانه ایشان بهره برده ام. برای اساتید محترم گروه هماتولوژی تربیت مدرس **جناب آقای دکتر سعید آبرون** و**جناب آقای دکتر سعید کاویانی** مراتب سپاس و احترام را تقدیمتان می کنم.

از تمامی عزیزانی که در این امر مهم اینجانب را یاری نموده‌اند : کارشناس گروه هماتولوژی سرکار خانم شوکتی ، دوستان عزیزم منیره ومنصوره عجمی و همکلاسی های محترم خصوصا خانم ها بهلولی و انبارلو نهایت تقدیر و تشکر را دارم .

نهایتا از تمامی همکاران عزیزم که در طول دوران تحصیلم نهایت همدلی و همکاری را با بنده داشته اند بی نهایت سپاس گذارم.

توفیق رفیقشان باد

چکیده

سلول های بنیادی خون ساز برای درمان طیف گسترده ای از اختلالات خونی استفاده می شوند . خون بند ناف انسان یکی از منابع سلول های بنیادی خون ساز برای پیوند است و استفاده از این سلول ها در حال افزایش است به دلیل خطر کمتر بیماری پیوند علیه میزبان ،تهیه آسان وعدم نیاز به تطابق کامل HLA. با این حال ، به دلیل مقدار کم خون بند ناف بدست آمده از یک اهداکننده واینکه حاوی سلول های بنیادی خون ساز زیادی نیست ، استفاده از آن به طور عمده به کودکان محدود شده است .تلاش برای غلبه بر کمبود نسبی سلول های بنیادی خون ساز و پروژنیتور ها منجر به فن آوری های گسترش سلول های بنیادی خون ساز در شرایط آزمایشگاهی شده است .گارسینول ، اولین گزارش از یک مولکول کوچک مهار کننده هیستون استیل ترانسفراز تقویت کننده تکثیر برون تنی سلول های بنیادی خون ساز است. ابتدا شمارش سلولی :در این مطالعه کشت سلول های بنیادی خون ساز +CD133 همراه با گارسینول و فاکتور های رشد TPO, SCF و FL بررسی شد . سپس تعیین دوز: جهت بررسی دوز بهینه عصاره گیاهی گارسینول و فلوسیتومتری :برای تشخیص میزان بیان مارکر CD133 در روزهای صفر و۶ و ۱۱. همچنین تست سنجش کلنی :برای ارزیابی تعداد سلول های بنیادی خون ساز کاربردی در کشت با گارسینول تست سنجش کلنی انجام شد و RT.PCR: میزان بیان ژن CXCR4 با استفاده از تکنیک RT.PCR مورد مطالعه قرار گرفت .نتایج حاصل بیانگر آن است که گارسینول به طور قوی سلول های بنیادی خون ساز +CD133 را گسترش می دهد همچنین گارسینول به طور موثر تعداد کلنی های سلول های بنیادی خون ساز را افزایش می دهد و تیمار سلول های بنیادی خون ساز با گارسینول منجر به افزایش ۹.۶ برابری در میزان بیان CXCR4 شد. گارسینول به عنوان اولین محصول طبیعی عمل کننده بر روی سلول های بنیادی خون ساز و پروژنیتورها می باشد و نشان می دهد مهار هیستون استیل ترانسفراز ها می تواند یک روش جایگزین برای اعمال نفوذ بر سلول های بنیادی خون ساز و پروژنیتور ها باشد.

واژگان کلیدی: سلول های بنیادی خون ساز، تکثیر برون تنی، گارسینول

فهرست مطالب

عنـو ان

صفـحه

۱.فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته ۱

۱-۱ . مقدمه ۲

۱-۲. تاریخچه و اساس پیوند خون بند ناف..... ۳

۱-۲-۱. CXCR4 : ۷

۱-۳. سلول های بنیادی خون ساز(HSC)..... ۹

۱-۳-۱. تعریف HSC ۹

۱-۳-۲. Self-renewality..... ۹.

۱-۳-۳. شناسایی سلول های بنیادی خون ساز ۱۱

۱-۳-۴. مارکرهای سطحی سلول های بنیادی خون ساز ۱۲

۱-۳-۴-۱. مارکر سطحی CD 34 ..... ۱۳

۱-۳-۴-۲. مارکر سطحی CD133..... ۱۵

۱-۳-۵. منابع مختلف سلول های بنیادی خون ساز..... ۱۶

۱-۳-۵-۱. تکثیر برون تنی (Ex vivo Expansion)..... ۱۷

۱-۴. متدهای مختلف تکثیر برون تنی سلول های بنیادی خونساز:..... ۱۸

۱-۴-۱. تکثیر سلول های بنیادی خونساز با استفاده از کوکتل های سایتوکاینی..... ۲۱

۱-۴-۱-۱. SCF(Stem cell factor):..... ۲۲

۱-۴-۱-۲. Thrombopoietin (TPO)..... ۲۲

۱-۴-۱-۳.Fms-related tyrosine kinase 3 ligand (Flt3L)..... ۲۳

۱-۴-۲. تکثیر سلول های بنیادی خونساز با استفاده از Small molecules ۲۴
۱-۵ . Garcinia indica : ۲۴
۱-۵-۱. توزیع جغرافیایی : ۲۵
۱-۵-۲. مرفولوژی Garcinia Indica : ۲۵
۱-۵-۳. مشخصات تغذیه ای Garcinia: ۲۶
۱-۵-۴. خواص شیمیایی گارسینول : ۲۷
۱-۵-۵. ساختار شیمیایی گارسینول ۲۸
۱-۵-۶. خواص دارویی-خوراکی گارسینول و مزایای آن: ۲۸
۱-۶. اهداف و فرضیه ها ۳۲

۲.فصل دوم-موادوروشها ۳۳
۲-۱. مواد ، تجهیزات و کیت های مورد استفاده ۳۴
۲-۱-۱. مواد مورد استفاده: ۳۴
۲-۱-۲. کیت های مورد استفاده : ۳۵
۲-۱-۳. تجهیزات مورد استفاده : ۳۶
۲-۲. آماده سازی مواد و بافرهای مورد نیاز ۳۸
۲-۲-۱. تهیه PBS بدون یون های کلسیم و منیزیم ۳۸
۲-۲-۲. آماده سازی PBS حاوی EDTA ۳۸
۲-۲-۳. تهیه و آماده سازی فاکتور های رشد ۳۹
۲-۲-۳-۱. تهیه Stock فاکتور رشد SCF ۳۹
۲-۲-۳-۲. تهیه Stock فاکتور رشد TPO ۳۹
۲-۲-۴. تهیه Stock عصاره گیاهی گارسینول ۳۹

۲-۲-۵. بافرTAE 50X مورد استفاده در الکتروفورز ۳۹
۲-۳. مراحل جداسازی سلول های+ CD133 ..... ۴۰
۲-۳-۱. جداسازی سلول های تک هسته ای از خون بند ناف ۴۰
۲-۳-۲. جداسازی سلول های +CD133 ..... ۴۲
۲-۳-۳. شمارش سلول های +CD133 ..... ۴۳
۲-۴. تائید مارکرCD133 سلول های جدا شده از خون بند ناف ۴۳
۲-۵. تعیین دوز مؤثر عصاره گیاهی گارسینول ۴۴
۲-۶. کشت سلول ۴۴
۲-۷. استخراجRNA ازخون بند ناف ۴۵
۲-۷-۱. مراحل کار استخراج RNA با RNXTM(plus) ۴۵
۲-۷-۲. کنترل کیفی RNA استخراج شده ۴۶
۲-۸. واکنش رونویسی معکوس (RT) ۴۷
۲-۸-۱. سنتز cDNA با کیت Cinna Gen ۴۸
۲-۹. اصول واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR) ۵۰
۲-۹-۱. مواد مورد نیاز برای PCR ۵۰
۲-۹-۲. انجام PCRجهت بهینه سازی شرایط ۵۲
۲-۱۰. الکتروفورز ژل ۵۴
۲-۱۱. Real Time PCR ۵۵
۲-۱۱-۱. انجام Real Time PCRCXCR4 با استفاده از کیت Ampilicon ۵۷
۲-۱۲. تست تائیدی سنجش کلنی ۵۹
۲-۱۳. روش انجام مطالعه ۶۰
۲ -۱۴. نرم افزار های مورد استفاده ۶۰

۳.فصل سوم-نتایج ویافته ها ۶۲
۳-۱ . نتایج حاصل از جداسازی سلول های + CD133 از خون بند ناف ۶۳
۳-۲. تعیین دوز مؤثر عصاره گیاهی گارسینول ۶۴
۳-۳. نتایج حاصل از کشت سلول های + CD133 در محیط دو بعدی ۶۶
۳-۴. بررسی میزان بیان مارکر CD133 در سلول‌های کشت شده ۶۸
۳-۵. نتایج حاصل سنجش کلنی ۷۲
۳-۶. نتایج حاصل از بررسی بیان CXCR4 به کمک روش RT-PCR ۷۵

۴.فصل چهارم-بحث وپیشنهـادها ۷۸
۴-۱. بحث ونتیجه گیری ۷۹
۴-۲ . پیشنهاد ها ۹۰
فهرست منابع ۹۱
چکیده انگلیسی ۹۹

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱ . تقسیمات سلول های بنیادی خونساز ۱۰

شکل ۱-۲. مارکرهای سطحی وسایتوکاین های تنظیم کننده ۱۳

شکل ۱-۳. فاکتور های داخلی و خارجی دخیل در خاصیت خود تجدید شوندگی ۲۰

شکل ۱-۴. فعالیت های متفاوت گارسینول و مکانیسم های هدف آن ۳۱

شکل۲-۱. نمودارAmplificationدرنرم افزار StepOne ۵۵

شکل۲-۲. منحنی ذوب درنرم افزارStepOne ۵۶

شکل۲- ۳. آنالیز منحنی ذوب درنرم افزار StepOne ۵۷

شکل ۲-۴. مراحل مختلف انجام تست سنجش کلنی ۶۱

شکل ۳-۱ . ارزیابی هموژنسیتی سلول های بنیادیCD133 ..... ۶۳

شکل ۳-۲. سلول های +CD133 تکثیر یافته در محیط کشت دو بعدی ۶۶

شکل ۳-۳ .نتایج مربوط به درصد بیان مارکر CD133 ..... ۶۹

شکل ۳-۴. نتایج مربوط به درصد بیان مارکر CD133 ..... ۷۰

شکل ۳-۵. کلنی اریتروئیدی حاصل از کشت سلول CD133 ..... ۷۲

شکل ۳-۶ کلنی CFU.GEMM حاصل از کشت سلول CD133 ..... ۷۳

شکل۳-۷. کلنیGM CFU.حاصل از کشت سلول CD133 ..... ۷۳

شکل ۳-۸ . شکل ۳-۸. منحنی ذوب الف) CXCR4 و ب) GAPDH ۷۷

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول **۱-۱** ترکیب تقریبی Garcinia ۲۶

جدول **۲-۱**. آماده سازی PBS ۳۸

جدول**۲-۲**. مواد و مقادیر موردنیاز جهت تهیه بافر TAE 50 X ۴۰

جدول ۲ -۳. مقادیرمورداستفاده جهت مرحله اول cDNAسازی ۴۸

جدول ۲-۴. مقادیرمورد استفاده جهت مرحله دوم cDNA سازی ۴۹

جدول ۲- ۵. چرخه دماییcDNA سازی ۴۹

جدول۲-۶. مواد و مقادیر مورد استفاده واکنشPCR ۵۳

جدول ۲- ۷. توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ژن های CXCR4 و GAPDH ۵۳

جدول ۲-۸. برنامه دمایی واکنشPCR ۵۴

جدول ۲-۹. موادومقادیرلازم جهت واکنش Real Time PCR Mrna ۵۸

جدول۲-۱۰. برنامه دماییReal Time PCR M. RNA ۵۸

جدول۳-۱. میانگین تعداد سلول های +CD133 ..... ۶۴

جدول ۳-۲. میانگین تعداد سلول های$^{+}$ CD133 شمارش شده ۶۷

جدول ۳-۳ میانگین تعداد کل کلنی های شمارش شده در روز های مختلف ۷۴

جدول ۳-۴ . میزان CT مربوط به GAPDH و CXCR4 ..... ۷۶

جدول ۳-۵. میزان تغییرات در روز های مختلف در مقایسه با یکدیگر ۷۶

فهرست نمودار ها

عنوان **صفحه**

نمودار ۳-۱. آنالیز آماری مربوط به تعیین دوز بهینه عصاره گیاهی گارسینول.....۶۵

نمودار **۳-۲**. تفاوت تعداد سلول های تیمار شده با عصاره گیاهی گارسینول.....۶۸

نمودار **۳-۳**. نتایج حاصل از بررسی درصد بیان مارکر CD133 طی روزهای مختلف..... ۷۱

نمودار **۳-۴** . نتایج حاصل از شمارش تعدادکلنی های تشکیل شده تحت تیمار با گارسینول ۷۴

نمودار **۳-۵** . نتایج مربوط به آنالیز میزان بیان CXCR4 طی روز های مختلف ۷۵

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱ . مقدمه

پیوند سلول های بنیادی خون ساز آلوژنیک (HSCT)[1] به عنوان یک روش درمانی برای بسیاری از بیماران با اختلالات مادرزادی و اکتسابی سیستم خون ساز مانند کم خونی های ارثی و برخی بدخیمی های خونی مانند لوکمیا ،لنفوما، لنفوم هوچکین ، لنفوم غیر هوچکین ، مالتیپل میلوما و سندرم های نارسایی مغز استخوان مورد استفاده قرار می گیرد . سلول های بنیادی خون ساز همچنین سلول های مفیدی برای ژن درمانی بیماریهای ژنتیکی ، عفونت HIV، گرانولوماتوزمزمن و تومور germ cell می باشند وحتی اخیرا" اثر بخشی سلول های بنیادی خون ساز در درمان سکته مغزی ، قلبی و تصلب شرایین انسدادی گزارش شده است .

استفاده از HSCT به خاطر قابلیت دسترسی به آنتی ژن لکوسیت انسانی یکسان (HLA)[2] بین اهداء کننده وگیرنده محدودیت دارد . علیرغم افزایش تعداد اهداء کنندگان غیرخویشاوند، شانس یافتن یک اهداء کننده با HLA سازگار برای بسیاری از بیماران پایین می باشد. علاوه بر این ، بیماری پیوند علیه میزبان (GVHD)[3] یک منبع مهم مرگ ومیر متعاقب HSCT به شمار می رود بنابراین بررسی های بالینی در دهه گذشته نشان می دهد که از خون بند ناف می توان به عنوان یک منبع

[1]- Hematopoietic Stem Cell Transplantation
[2]- Human Leukocyte Antigen
[3]- Graft Versus Host Disease
[4] - E.Donnall Thomas

جایگزین جهت سلول های بنیادی خونساز استفاده کرد[۱] .در دهه ۵۰ تا ۶۰ میلادی پیوند مغز استخوان به صورت تزریق داخل وریدی کل مغز استخوان انجام می گرفت، اما پس از شناسایی سلول های بنیادی خون ساز در سال ۱۹۹۰ که کسب جایزه ی نوبل را برای ای .دونال توماس [۱]به همراه داشت ، تنها از این سلول ها برای انجام پیوند استفاده شد .

تا به امروز، بیش از ۳۰،۰۰۰ پیوند سلول های بنیادی خون ساز انجام شده است .این پیوند به دو صورت انجام می گیرد:

۱. اتولوگ : در این روش سلول های بنیادی خون ساز از خود بیمار گرفته می شود .

۲. آلوژنیک : در روش آلوژنیک ، سلول های بنیادی خون ساز از فرد سالم اهداکننده دریافت دریافت شده وبه فرد پیوند زده می شود[۲] .

۱-۲. تاریخچه و اساس پیوند خون بند ناف

ناتزون[۲] ، در سال ۱۹۷۴ برای اولین بار خون بند ناف (UCB)[۳] را به عنوان منبع سلول های بنیادی خون ساز جهت بازسازی عملکرد مغز استخوان در انسان معرفی کرد .یافته های او نشان دادند تعداد سلول های تشکیل دهنده کلنی در کشت خون بند ناف در مقایسه با خون محیطی افزایش قابل توجهی دارد[۳]. مشاهدات ادوارد آبویز[۴] ، هال ابروکس میر[۵] و جودیت بارد[۶] در اوایل دهه ۱۹۸۰ نشان داد که خون بند ناف نوزادان ترم ونارس حاوی میزان قابل توجهی سلول های پروژنیتور اولیه ومتعهد در مقایسه با خون محیطی بالغین است . تعداد CFU-GMو CFU-GEMMو همچنین توانایی تکثیر آن ها در خون بند ناف نوزادان ترم نسبت به خون محیطی بالغین افزایش داشت .

---

[1]- Knutdzon
[2]- Umbilical Cord Blood
[3]- Edward A Boyse
[4] - Hal E Broxmeyer
[5]-Judith Bard

همچنین تعداد CFU-MEG نیز در مقایسه با خون محیطی بالغین بیشتر بود .آن ها مشاهده نمودند که تکثیر ۱۴ روزه سلول های $CD34^{+}$ خون بندناف که با IL-11 و G-CSF تحریک شده اند به میزان قابل توجهی بیشتر از تعداد سلول های$CD34+$ مغزاستخوان بود [۴]. در تحقیقی دیگر نشان داده شد که سلول های $CD34^{+}/CD38^{-}$ خون بندناف توانایی تشکیل کلنی بیشتری نسبت به همان فنوتیپ در مغز استخوان بالغین دارد . این سلول ها در خون بندناف نسبت به مغز استخوان در پاسخ به تحریک توسط سایتوکاین هایی مانند IL-3، IL-6 و SCF سریعتر تکثیر شده و ۷ برابر بیشتر سلول تولید می کند [۵].

اولین پیوند خون بند ناف انسان بر روی یک بیمار مبتلا به آنمی فانکونی در سال ۱۹۸۸ با مؤفقیت انجام شد[۶] .بعد از آن ، بانک های (Umbibical cord Blood) UCB در سراسر جهان برای پیوند UCB خویشاوند و غیر خویشاوند بوجود آمدند.تخمین زده می شود بیش از ۷۰۰۰۰ واحد UCB توسط این بانک ها جمع آوری ، آزمایش و منجمد شده اند وتاکنون بیش از ۲۰۰۰ بیمار تحت عمل پیوند UCB قرار گرفته اند. خون بندناف به عنوان منبع قابل قبولی از سلول های بنیادی خون ساز جهت پیوند به حساب می آید.خون بند ناف برای درمان بیش از ۱۴۰۰۰ بیمار با اختلالات بدخیم و غیر بدخیم مورد استفاده قرار می گیرد[۷] .سلول های بنیادی خون بند ناف قادر به تولید بافتهای خون ساز، اندوتلیال ، اپی تلیال وعصب در شرایط آزمایشگاه و بدن می باشد. بنابراین خون بند ناف قادر به درمان طیف وسیعی از بیماریهای قلبی _عروقی ، اندوکرین ، ارتوپدی و عصبی می باشد [۸].

طب ترمیمی به پروسه ای اطلاق می شود که طی آن بافت های عملکردی به کمک سلول های بنیادی ایجاد می شود که به منظور ترمیم از دست رفتن عملکرد ارگان به کار می رود. اهداف ممکن برای طب ترمیمی شامل کاربرد های ارتوپدی ، قلبی ، کبدی ، پانکرانس وسیستم اعصاب مرکزی[1] می باشد. این موضوع به توانایی سلول های بنیادی در تکامل به هریک از بافت های بدن بر می گردد.

[1] -Central Nervous System (CNS)

متاسفانه کاربرد سلول های بنیادی رویانی در حال حاضر به علت موانع اخلاق پزشکی [1]، سیاسی ، بیولوژیکی وتنظیم محدود است. هرچند ، سلول های غیر رویانی چند قوه ای به تعداد زیاد در خون بند ناف یافت می شود[۹].

خون بند ناف به صورت رو به افزایشی به عنوان منبع سلول های قابل پیوند استفاده می شود . یکی از مزایای استفاده از خون بندناف نسبت به مغز استخوان و خون محیطی کمتر بودن لنفوسیت های T می باشد که احتیاج به تطابق کامل HLA نداشته و کمتر موجب بیماری پیوند علیه میزبان (GVHD) یا عفونتهای ویروسی از جمله CMV و EBV می شود . ولی ازجمله محدودیت هایی که در استفاده از این سلول ها وجود دارد مقدار کم سلول های بنیادی خون ساز بدلیل حجم کم خون بند ناف ودرنتیجه تاخیر در پیوند می باشد و به همین دلیل استفاده آن به کودکان محدود شده است و احتمال بیشتر انتقال بیماری های ژنتیکی به علت نابالغ بودن سلول های بنیادی وجود دارد[۱۰]. روش های مطرح شده جهت غلبه بر تعداد کم سلول های بنیادی خون ساز ها در خون بند ناف عبارتند از :

۱) تزریق هم زمان بیش از یک واحد خون بند ناف .

۲) تزریق همزمان سلول های $CD34^+$ خون بند ناف با دوز کم همراه با سلول های استرومال مغز استخوان خود بیمار یا فرد اهدا کننده[۱۱] .

۳) تکثیر برون تنی سلو ل های $CD34^+$ خون بند ناف و سپس تزریق سلول های تکثیر شده.

در این زمینه کار های زیادی ارائه شده که عبارتند از :

۳-۱) روش های کشت معمولی دو بعدی ، با یا بدون سایتوکاین های اگزوژن .

۳-۲) روش های کشت به صورت هم کشتی با سلول های استرومال ، با یا بدون سایتوکاین اگزوژن که این روش خود شامل چهار سیستم می باشد[۱۲] :

[2] -Ethic