بسم الله الرحمن الرحيم

ستایش می کنم خدایی راکه علی رغم تمام کاستی ها و نقایص

وجودم

نعمات بی شمار خود را در اختیار این حقیر قرار داد.

رساله حاضر کوشش اندکی جهت سپاسگزاری از عنایات

اوست.

اگر بپذیرد و استحقاق داشتن عنایت خود را عطا فرماید.

تقدیم به

پدر و مادرم

آنانکه وجودم برایشان همه رنج بوده و وجودشان برایم همه مهر

موهایشان سپیدی گرفت تا رویم سپید بماند.

آنانکه نگاهشان، گرمی کلامشان و روشنی رویشان سرمایه های جاودانی زندگانیم هستند.

آنانکه راستی قامتم در شکستگی قامتشان تجلی یافت.

در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می نهم و با دلی مملو از عشق و محبت بر دستانشان بوسه

می زنم.

بلندای وجودشان همیشه استوار باد.

دانشکده علوم پایه

کارشناسی ارشد زیست شناسی

(گرایش سلولی -تکوینی)

مطالعه اثرهمزمان بیسفنول A و کاتچین چای سبز بر تمایز آزمایشگاهی سلول های بنیادی مزانشیم مغز استخوان موش صحرایی به استئوبلاست

پژوهشگر

بیان لطفی

استاد راهنما

دکتر ملک سلیمانی مهرنجانی

استاد مشاور

دکتر مجید مهدیه

شهریور ۱۳۹۲

بسم الله الرحمن الرحیم

بررسی اثر همزمان کاتچین چای سبز و بیسفنول A بر تمایز آزمایشگاهی سلول های بنیادی مزانشیم مغز استخوان رت بالغ به استئوبلاست

توسط:

بیان لطفی

پایان نامه

ارائه شده به مدیریت تحصیلات تکمیلی به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

زیست شناسی- سلولی تکوینی

دانشگاه اراک

اراک – ایران

ارزیابی و تصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: .....

دکتر ملک سلیمانی مهرنجانی (استاد راهنما) .....دانشیار

دکتر مجید مهدیه (استاد مشاور) .....استادیار

سید محمد علی شریعت زاده (مدعو داخلی) .....استاد

1392

فهرست مطالب

فصل اول (مقدمه)

۱-۱. مقدمه‌ای بر سلولهای بنیادی ۱

۱-۲. خصوصیات سلولهای بنیادی ۳

۱-۲-۱. خود نوزایی ۳

۱-۲-۲. پتانسیل تمایز ۳

۱-۳. شناسائی سلولهای بنیادی..... ۴

۱-۴. دسته بندی سلولهای بنیادی بر مبنای توان تمایزی آن ها ۵

۱-۴-۱. همه توان ۵

۱-۴-۲. پرتوان..... ۵

۱-۴-۳. چند توان ۵

۱-۴-۴. تک توان ۵

۱-۵. دسته بندی سلولهای بنیادی بر اساس منشاء..... ۶

۱-۵-۱. سلولهای بنیادی جنینی ۷

۱-۵-۲. سلولهای بنیادی بند ناف ۸

۱-۵-۳. سلولهای بنیادی بالغ ۸
۱-۶. بافت مغز استخوان ۹
۱-۶-۱. سلولهای بنیادی مزانشیم ۹
۱-۶-۲. تاریخچه ۱۰
۱-۶-۳. کنام سلولهای بنیادی مزانشیم مغز استخوان ۱۱
۱-۶-۴. مورفولوژی سلولهای بنیادی مزانشیم ۱۲
۱-۷. استخوان ۱۴
۱-۷-۱. فرآیند استخوانسازی ۱۵
۱-۷-۱-۱. مرحله استخوانسازی جنینی یا اولیه ۱۶
۱-۷-۱-۲. مرحله استخوانسازی بعد از تولد یا ثانوی ۱۷
۱-۷-۲. اهمیت تمایز به استخوان ۱۸
۱-۷-۳. تغییر سیتواسکلتون اکتین در طی تمایز به استئوبلاستها ۱۹
۱-۷-۴. دوباره‌سازی استخوان ۱۹
۱-۸. تمایز استئوژنیک ۲۰
۱-۸-۲. نقش مواد تمایزی در شرایط آزمایشگاهی ۲۱
۱-۹. آپوپتوزیز(مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی) ۲۲
۱-۹-۱. تغییرات مورفولوژیکی در آپوپتوزیز ۲۲
۱-۱۰. بیسفنول A ۲۳
۱-۱۱. آنتی اکسیدانها ۲۸
۱ –۱۱-۱. کاتچین چای سبز ۲۹
۱-۱۱-۲. اپی‌گالوکاتچین گالات (EGCG) ۳۱

۱-۱۲. مروری بر مطالعات گذشته ۳۵

فصل دوم (مواد و روش‌ها)

۲-۱ .آماده‌سازی مواد لازم برای کشت سلول..... ۴۱
۲-۱-۱. آماده کردن محیط کشت ۴۱
۲-۱-۳. تهیه فسفات بافر سالین مثبت ۴۲
۲-۲. حیوان آزمایشگاهی در تحقیق حاضر ۴۲
۲-۳. کشت سلول ۴۲
۲-۳-۱. جداسازی و کشت سلولهای بنیادی مزانشیمی مغز استخوان رت ۴۲
۲-۳-۲. اجرای پاساژ ۴۳
۲-۴. اثبات مزانشیم بودن سلولهای استخراج شده..... ۴۵
۲-۴-۱. تمایز به استخوان ۴۵
۲-۴-۱-۱. مراحل رنگ آمیزی آلیزارین رد..... ۴۵
۲ . دوزیابی ۴۶
۲-۵-۱. بررسی حیات سلول بر پایه‌ی رنگ سنجی تترازولیوم (MTT) در مرحله دوزیابی... ۴۷
۲-۵-۱-۱. ترسیم منحنی استاندارد با استفاده از سنجش تترازولیوم..... ۴۹
۲-۵-۳. انتخاب دوز موثر ۵۱
۲-۵-۳-۱. اثر همزمان بیسفنولA و اپی‌گالوکاتچین‌گالات (EGCG) بر توانایی زیستی سلولهای بنیادی مزانشیم ۵۲
۲-۵-۳-۲. اثر همزمان بیسفنول A و اپی‌گالوکاتچین‌گالات بر میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی سلولهای بنیادی مزانشیم ۵۲
۲-۶. تعیین دوز موثر اپی‌گالوکاتچین‌گالات..... ۵۳

۲-۶-۱. سنجش میزان رسوب ماتریکس معدنی به کمک استخراج رنگ آلیزارین رد ۵۳
۲-۶-۲. سنجش میزان رسوب ماتریکس معدنی به کمک رنگ آمیزی Von Koss : ۵۴
۲-۶-۳. بررسی میزان رسوب کلسیم با استفاده از کیت کلسیم به روش رنگ سنجی ۵۵
۲-۶-۴. بررسی میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز ۵۷
۲-۶-۴-۱. بررسی میزان فعالیت آنزیم در سلولهای تیمار شده ۵۷
۲-۶-۴-۲. طرز تهیه منحنی استاندارد..... ۵۹
۲-۶-۵. بررسی سنتز پروتئینهای استئوکلسین و استئوپونتین به روش ایمنوهیستوشیمی ۶۰
۲-۶-۵-۱. مراحل انجام تست ایمنوهیستوشیمی ۶۲
۲-۷. بررسی آپوپتوزیس ۶۳
۲-۷-۱. بررسی تغییرات مورفولوژیکی با استفاده از رنگ آمیزی فلورسنس ۶۳
۲-۷-۲. آزمون کامت..... ۶۶
۲-۷-۲-۱. آماده‌سازی لامها..... ۶۶
۲-۷-۲-۲. لیز کردن سلولها..... ۶۷
۲-۷-۲-۳. تیمار قلیایی سلولها ۶۷
۲-۷-۲-۴. الکتروفورز سلولها..... ۶۷
۲-۷-۲-۵. خنثی سازی و تثبیت ۶۷
۲-۷-۲-۶. رنگ‌آمیزی ۶۸
۲-۸. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها ۶۹

فصل سوم (نتایج)

۳-۱. رشد و تکثیر سلولهای بنیادی مزانشیم..... ۷۱

۳-۲. اثر بیسفنول A بر توانایی زیستی و میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی سلولهای بنیادی مزانشیم مغز استخوان..... ۷۲

۳-۲-۱. توانایی زیستی سلولهای مزانشیم بر پایه روشMTT (رنگ سنجی) ۷۲

۳-۲-۲. میزان معدنی شدن ماتریکس با سنجش رنگ آلیزارین رد..... ۷۳

۳-۳. اثر اپی‌گالوکاتچین‌گالات (EGCG) بر توانایی زیستی و میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی سلول های بنیادی مزانشیم مغز استخوان ۷۵

Error! ۳-۳-۱. توانایی زیستی سلولهای مزانشیم بر پایه روشMTT (رنگ سنجی) **Bookmark not defined.**

Error! Bookmark ۳-۳-۲. میزان معدنی شدن ماتریکس با سنجش رنگ آلیزارین رد **not defined.**

۳-۴. اثر همزمان بیسفنول A و اپی‌گالوکاتچین‌گالات بر توانایی زیستی و میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی سلولهای بنیادی مزانشیم مغز استخوان **Error! Bookmark not defined.**

Error! ۳-۴-۱. توانایی زیستی سلولهای مزانشیم بر پایه روشMTT (رنگ سنجی) **Bookmark not defined.**

Error! Bookmark ۳-۴-۲. میزان معدنی شدن ماتریکس با سنجش رنگ آلیزارین رد **not defined.**

Error! Bookmark not ۳-۵. میزان معدنی شدن ماتریکس با سنجش رنگ آلیزارین رد **defined.**

Error! Bookmark not ۳-۶. سنجش توانایی زیستی سلولها توسط رنگ سنجی MTT **defined.**

Error! Bookmark ۳-۷. بررسی رسوب کلسیم به روش وان کوزا(VON KOSSA) **not defined.**

Error! Bookmark not defined.۳-۸. میزان کلسیم داخل سلولی.....

Error! Bookmark not defined.۳-۹. میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز .....

۳-۱۰. بررسی میزان سنتز پروتئینهای استئوکلسین و استئوپونتین به روش ایمونوهیستوشیمی **Error! Bookmark not defined.**.....

۳-۱۱. آزمون کامت **Error! Bookmark not defined.**.....

۳-۱۲. بررسی تغییرات مورفولوژیک با استفاده از رنگ آمیزی فلورسنس.....۹۳

فصل چهارم (بحث)

۴-۱.بررسی‌توانایی‌زیستی ۹۷

۴- ۲ . بررسی میزان شکستگی DNA در سلولها ۱۰۰

۴- ۳. تغییرات مورفولوژیکی..... ۱۰۲

۴- ۴. بررسی شاخص‌های تمایز استئوژنیک..... ۱۰۴

فصل پنجم (ضمیمه)

۵-۱. روش تهیه محیط کشت..... ۱۰۸

۵-۲. تهیه‌ی فسفات بافر سالین مثبت PBS^{+} ۱۰۸

۵-۳. تهیه‌ی فسفات بافر سالین PBS^{-} ۱۰۸

۵-۴. روش تهیه محیط تمایزی استئوژنیک ۱۰۹

۵-۵. آماده سازی آلیزارین رد ۱۱۰

۵-۶. روش تهیه محلول MTT ۱۲۹

۵-۷. روش تهیه محلول آگارز با نقطه ذوب معمولی..... ۱۲۹

۵-۸. روش تهیه محلول آگارز با نقطه ذوب پائین..... ۱۱۱

۵-۹. محلول لیز کننده ۱۱۱

۵-۱۰. بافر الکتروفورز ۱۱۲

۵-۱۱. بافر خنثی..... ۱۱۲

۵-۱۲. مواد لازم و روش تهیه بافر استخراج ۱۱۲

۵-۱۳. روش تهیه محلول BSA ۱۱۳
۵-۱۴. آماده سازی پارا فرمالدهید ۴٪ ۱۱۳
۵-۱۵. بافر استخراج آنزیم آلکالین فسفاتاز ۱۱۳
فصل ششم (منابع) ۱۱۶

فهرست اشکال

شکل۱-۱. توانائی خودنوزائی و پتانسیل تمایز در سلولهای بنیادی ۴
شکل۱-۲. توانایی سلولهای همه توان و پرتوان درتمایز به طیف وسیع سلولی ۶
شکل۱-۳. بخش‌های مختلف بلاستوسیست ۷
شکل ۱-۴. چند توانی سلولهای بنیادی مزانشیم.....۲۴
شکل۱-۵. کنام سلول‌های بنیادی مغز استخوان ۱۲
شکل ۱-۶. اشکال سلولهای بنیادی مزانشیم ۱۳
شکل ۱-۷. تشکیل استئوبلاست‌ها از سلولهای بنیادی مزانشیم ۲۹
شکل ۱-۸. فرآیند استخوانی شدن درون غشائی که با تمایز استئوبلاست‌ها از فشردگی مزانشیم‌ها آغاز می‌شود ۳۰
شکل ۱-۹. فرآیند استخوانی شدن درون غضروفی که با تشکیل فشردگی‌های مزانشیم آغاز می گردد ۳۱
شکل ۱-۱۰. تشکیلات سیتواسکلتون در سلولهای تمایز نیافته hMSCs.....۱۹
شکل ۱-۱۱. سیکل دوباره سازی استخوان ۲۰
شکل ۱-۱۲. تغییرات مورفولوژیکی که در طی آپوپتوزیز رخ می دهد ۲۳
شکل ۱-۱۳. ساختار انواع کاتچین‌ها ۴۵

شکل ۱-۱۴. ساختار اپی‌گالوکاتچین‌گالات ۳۵

شکل ۲-۱) نمایی از لام نئوبار ۴۵

شکل ۲-۲) ساختار آلیزارین رد ۴۶

شکل ۲-۳) تغییر رنگ MTT بر اثر آنزیم‌های میتوکندریایی ۴۸

شکل ۲-۴) مراحل انجام تست MTT ۴۹

شکل ۲-۵) نمودار استاندارد MTT ۵۰

شکل ۲-۶) نمودار گراف استاندارد آلکالین فسفاتاز ۶۰

شکل ۲-۷) ساختار رنگ فلورسنس هوخست ۶۴

شکل ۲-۸) ساختار رنگ فلورسنت پروپیدیوم آیوداید ۶۵

شکل ۲-۹) ساختار رنگ فلورسنت آکریدین اورانژ ۶۶

شکل ۲-۱۰) شاختار مولکولی اتیدیوم بروماید ۶۸

شکل ۲-۱۱) نواحی مختلف دنباله در تکنیک کامت ۶۹

شکل۳-۱) مراحل رشد سلولهای مزانشیمی طی پاساژهای مختلف ۷۲

شکل ۳-۲) ماتریکس سلولهای بنیادی مزانشیم مغز استخوان رت رنگ‌آمیزی شده با آلیزارین رد در نمونه‌های سلولهای مزانشیم مغز استخوان رت در محیط استئوژنیک پس از ۲۱ روز ۸۳

شکل۳-۳) رنگ آمیزی فلورسنس پروپودیوم آیوداید در سلولهای بنیادی مزانشیم تمایز یافته به استئوبلاست ۲۱ روز پس از تیمار با اپی‌گالوکاتچین‌گالات و بیسفنول A ۸۶

شکل۳-۴) رنگ‌آمیزی Von kossa با نیترات نقره در سلولهای بنیادی مزانشیم تمایز یافته به استئوبلاست،۲۱ روز پس از تیمار با بیسفنول A و اپی‌گالوکاتچین‌گالات ۸۷

شکل۳-۵) بررسی سنتز استئوکلسین به کمک تکنیک ایمونوهیستوشیمی در سلولهای بنیادی مزانشیم تمایز یافته به استئوبلاست، ۲۱ روز پس از تیمار با بیسفنولA و اپی‌گالوکاتچین‌گالات ۹۰

شکل۳-۶) بررسی سنتز استئوپونتین به کمک تکنیک ایمونوهیستوشیمی در سلولهای بنیادی مزانشیم تمایز یافته به استئوبلاست، ۲۱ روز پس از تیمار با بیسفنول A و اپی‌گالوکاتچین‌گالات ۹۱

شکل۳-۷) تست کامت در سلولهای بنیادی مزانشیم تمایز یافته به استئوبلاست ۲۱ روز پس از تیمار با بیسفنولA و اپی‌گالوکاتچین‌گالات. ۹۳

شکل۳-۸) درجه بندی سلولها بر اساس طول واندازه‌ی کامت ۹۳

شکل۳-۹) رنگ‌آمیزی فلورسنس هوخست در سلولهای بنیادی مزانشیم تمایز یافته به استئوبلاست ۲۱ روز پس از تیمار با بیسفنولA و اپی‌گالوکاتچین‌گالات ۹۵

شکل۳-۱۰) رنگ‌آمیزی فلورسنس آکریدین اورانژ در سلولهای بنیادی مزانشیم تمایز یافته به استئوبلاست ، ۲۱ روز پس از تیمار با بیسفنولA و اپی‌گالوکاتچین‌گالات ۹۷

فهرست جدول

جدول ۲-۱) طرز تهیه محلولهای استاندارد در تست سنجش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۶۰

جدول۳-۱) مقایسه میانگین توانایی زیستی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان موش صحرایی پس از تیمار ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۱ روزه با دوزهای مختلف بیسفنول A با گروه کنترل..... ۷۲

جدول ۳-۲) مقایسه میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان موش صحرایی پس از تیمار ۵، ۱۰، ۱۵و ۲۱ روزه با دوزهای مختلف بیسفنول A با گروه کنترل ۷۴

جدول۳-۳) مقایسه میانگین توانایی زیستی و میزان معدنی ماتریکس استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان موش صحرایی پس از تیمار ۲۱ روزه با دوزهای مختلف اپی‌گالوکاتچین گالات با گروه کنترل ۷۷

جدول۳-۴) مقایسه میانگین توانایی زیستی و میزان معدنی ماتریکس استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیم پس از تیمار ۲۱ روزه با (۲۵۰نانومولار و ۱میکرومولار) بیسفنولA و دوزهای مختلف اپی‌گالوکاتچین‌گالات(۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ میکرومولار) با گروه کنترل ۸۰

جدول ۳-۵) مقایسه میانگین توانایی زیستی و میزان معدنی ماتریکس استخوانی سلول‌های بنیادی مزانشیم مغز استخوان موش صحرایی پس از تیمار ۲۱ روزه با بیسفنولA(۲۵۰ نانومولار) و اپی-گالوکاتچین‌گالات (۳۰ میکرومولار)، بیسفنولA + اپی‌گالوکاتچین‌گالات با کنترل ۸۴

جدول۳-۶) مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (U/L) و میزان کلسیم (میلی گرم بر دسی لیتر) در نمونه‌های استئوژنیک تیمار شده با بیسفنولA (۲۵۰ نانومولار) ، اپی-گالوکاتچین‌گالات (۳۰ میکرومولار) و اپی‌گالوکاتچین‌گالات (۳۰ میکرومولار)+ بیسفنولA (۲۵۰ نانومولار) با گروه کنترل در۲۱ روز. ۸۸

جدول ۳-۷) مقایسه میانگین درصد درجه آسیب وارد به DNA در سلولهای مزانشیم مغز استخوان رت در گروه‌های تیمار با بیسفنولA واپی‌گالوکاتچین‌گالات با گروه کنترل ۹۲

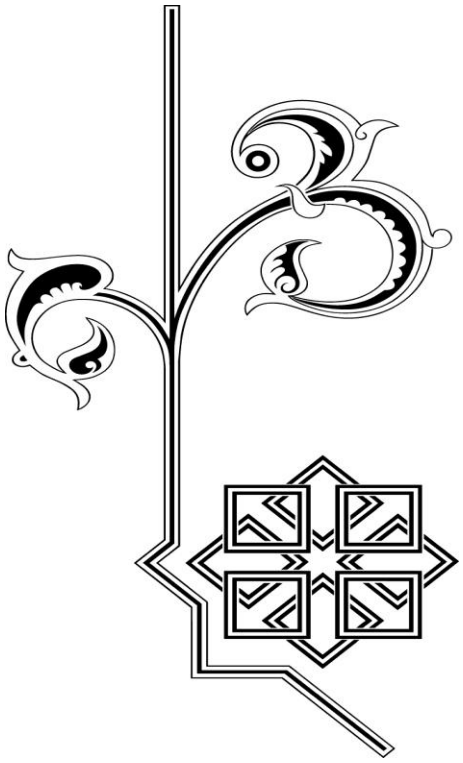
جدول۳-۸) مقایسه میانگین قطر هسته در سلولهای بنیادی مزانشیم مغز استخوان موش صحرایی در گروههای تیمار با گروه کنترل، گره تیمار با بیسفنولA (۲۵۰ نانومولار) ، گروه تیمار با اپی-گالوکاتچین‌گالات (۳۰میکرومولار) و بیسفنولA +اپی‌گالوکاتچین‌گالات ۹۴

جدول ۱-۵) ترکیبات محیط تمایزی استئوژنیک..... ۱۱۰

چکیده:

سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) سلول‌های چند توان هستند که توانایی تمایز به رده‌های مختلف سلولی را دارند. بیسفنول A که به عنوان یک شبه استروژن شناخته شده در صنعت و دندان پزشکی استفاده وسیعی دارد که علاوه بر مشکلات زیست محیطی، برای سلامتی انسان نیز مضر می باشند. چای سبز دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، آنتی توموری، ویژگی‌های ضد باکتری می-باشد که باعث تنظیم غدد درون ریز نیز می‌شود. چای سبز منبع غنی از اپی‌گالوکاتچین گالات بوده که باعث افزایش ماده معدنی استخوان می‌شود. با توجه به وجود بیسفنولA به عنوان یک آلاینده زیست محیطی بخصوص در جوامع صنعتی و همچنین وجود اپی‌گالوکاتچین گالات به عنوان اولین خط دفاعی سلول‌ها برای جلوگیری از پراکسیداسیون، اثر همزمان این دو ماده بر تمایز MSCs به استئوبلاست بررسی شد. پس از استخراج و کشت MSCs، سلول‌های پاساژ ۳ طی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۱ روز در معرض دوزهای مختلف بیسفنولA و طی ۲۱ روز در معرض دوزهای مختلف بیسفنولA بعلاوه اپی‌گالوکاتچین گالات قرار گرفتند. سپس توانایی زیستی و میزان معدنی شدن ماتریکس استخوانی ارزیابی شد. برای ادامه مطالعه دوز ۲۵۰ نانومولار بیسفنولA و ۳۰ میکرومولار اپی-گالوکاتچین گالات انتخاب شد. تأثیر همزمان بیسفنولA و اپی‌گالوکاتچین گالات بر میزان تمایز استئوبلاستی MSCs از طریق تست‌های MTT، آلیزارین رد، سنجش میزان رسوب کلسیم داخل سلولی و خارج سلولی، میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز، مورفولوژی سلول‌های تمایز یافته توسط رنگ‌های فلورسنس و میزان شکستگی DNA توسط تست کامت و میزان سنتز پروتئین‌های استئوکلسین و استئوپونتین توسط تکنیک ایمنوهیستوشیمی ارزیابی شد. نتایج نشان داد که بیسفنولA طی ۲۱ روز موجب کاهش میزان تمایز MSCs به استئوبلاست و اپی‌گالوکاتچین گالات باعث جبران اثر تخریبی بیسفنولA شد و همچنین در گروه تیمار شده با اپی‌گالوکاتچین گالات افزایش میزان تمایز MSCs به استئوبلاست مشاهده گردید.

فصل اول



مقدمه

۱-۱. مقدمه‌ای بر سلول‌های بنیادی

سلول‌های بنیادی به عنوان یکی از زیربناهای اساسی زیست‌شناسی بافت‌ها معرفی می‌شوند. این سلول‌ها امکان نوسازی و جایگزینی سلول‌های خونی، سلول‌های استخوانی، سلول‌های جنسی، سلول‌های بافت پوششی، سلول‌های بافت عصبی، سلول‌های بافت عضلانی و بافت‌های متنوع دیگر را با سلول‌های تازه در تمام طول حیات فراهم می‌کنند. سلول‌های بنیادی در حالت خاموش[۱] قرار دارند ولی در مراحل ویژه‌ای از چرخه حیاتی یا در پی آسیب می‌توانند فعال شوند. این سلول‌ها توسط ریز محیط[۲] کنترل شده‌ای در بافت که نیچ[۳] نام دارد کنترل می‌شوند. تا سال ۲۰۰۸ نیچ یک مفهوم تئوریک بود که توسط مدارکی نشان می‌داد سلول‌های بنیادی پیوند زده شده فقط در جایگاه ویژه‌ای از بافت که قادر به رشد و بقا هستند حمایت می‌شوند. با این وجود در سال‌های اخیر امکان اینکه سلول‌های بنیادی و نیچ‌های آنها با دقت بیشتری تعریف شوند بوجود آمده است (۱).

تعریف دقیق سلول‌های بنیادی در شرایط in vivo هنوز به عنوان بزرگترین مانع در پیشرفت زیست شناسی سلول‌های بنیادی باقی‌مانده است. سلول‌های بنیادی طبیعی و سلول‌های همسایه‌ی آنها در بافت‌ها به ندرت توسط روش‌های بافت شناسایی می‌شوند. بارها اثبات شده برخی روش‌ها

---

1. Quissence

۲. Microenvironment

3. Niche

که می‌توانند بصورت گسترده سلول‌های بنیادی را نشانه گذاری کنند مانند حفظ ترجیحی بروموی اکسی یوریدین[۴] مارکرهای قابل اعتمادی نیستند (۱).

مطالعات تعیین سرنوشت سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیال (۲)، سلول‌های بنیادی اپیدرمی (۳) و سلول‌های روده‌ای ارتباط بین سلول‌های بنیادی و سلول‌های دختری آنها و بعلاوه برخی مکانیسم‌های تنظیم کننده‌ی هوموستازی بافت را روشن ساخته است (۴). برای مثال سلول‌های بنیادی فولیکول مو تعیین سرنوشت شده است و نشان داده شده که این سلول‌ها در میان بالج[۵] به همه‌ی انواع سلول‌های پوششی در محدوده‌ی فولیکول مو تبدیل می‌شوند (۵) و حتی می‌توانند در ترمیم پوست آسیب دیده مشارکت کنند (۶). این مطالعات دیدگاه‌های جدید قابل توجهی را در زیست شناسی سلول‌های بنیادی فراهم ساخته است (۴).

سلول‌های بنیادی می‌توانند نقش اساسی در درمان بیماری‌ها و آسیب‌ها ایفا کنند. شاید جالب توجه‌ترین توانایی سلول‌های بنیادی قابلیت استفاده از آنها در پزشکی ترمیمی باشد. اشکالات فراوان پیوندهای بافتی به همراه محدودیت‌های استفاده از پروتزها، تحقیقات در زمینه‌ی درمان بر پایه‌ی استفاده از سلول و بافت (سلول درمانی و بافت درمانی) را دشوار کرده است. مزیت کلیدی سلول درمانی و بافت درمانی در برابر درمان‌های دارویی در درمان بیماری‌های ناتوان کننده و ناهنجاری‌ها این است که اولی "جایگزین‌های زیست شناختی زنده" را در مقابل درمان‌های دارویی که صرفاً یک محلول مسکن فراهم می‌آورند، ارائه می‌دهد. با این وجود پیش از آنکه درمان بر پایه

---

[4]. Bromo Dioxy Uridine; BrdU

[5]. Buldg

سلول‌های بنیادی از میز تحقیق به بستر درمان وارد شود باید بر بسیاری چالش‌های بیولوژیکی و مهندسی غلبه شود. کنترل خود تنظیمی سلول‌های بنیادی، هدایت تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های تمایز یافته، انتقال سلول‌های تمایز یافته به بافت زنده و هماهنگ شدن این سلول‌ها با محیط میزبان از جمله‌ی این چالش‌ها هستند (۶).

۱-۲. خصوصیات سلول‌های بنیادی

۱-۲-۱. خود نوزایی[۶]

از خصوصیات اصلی سلول‌های بنیادی خاصیت خودنوزایی آنهاست. تکثیر یا خودنوزایی در واقع توانایی سلول‌ها در تولید کپی‌های یکسان از خود از طریق تقسیم میتوز است، به صورتی که خصوصیات ژنتیکی و کاریوتایپی در سلول‌های دختری عینا شبیه سلول‌های مادری باقی می‌ماند(شکل ۱-۱).

۱-۲-۲. پتانسیل تمایز [۷]

سلول‌های بنیادی توانائی تبدیل شدن به سایر رده‌های سلولی، از جمله سلول‌های قلبی ، عصبی و ..... را دارند (شکل ۱-۱).

معمولا سلول‌های بنیادی ابتدا یک نوع سلول حدواسط را بوجود می‌آورند که به آن سلول پیش-ساز[۸] گفته می‌شود. این سلول‌ها نسبت به سلول‌های بنیادی اولیه تمایز یافته‌تر هستند که در نهایت تقسیم می‌شوند و به سلول‌های تمایز یافته تبدیل می‌گردند (۷).

۶- self renewing

۷-potency

۸-precursor=progenitor cell