بسم الله الرحمن الرحیم

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه دامغان

دانشکده زیست شناسی

پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی (گرایش بافت و جنین شناسی)

بررسی اثر آلفا لیپوییک اسید بر میزان تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان و بافت چربی

توسط:

طاهره بشیری

استاد راهنما:

دکتر محمد تقی قربانیان

استاد مشاور:

دکتر سعید زواره

بهمن ماه ۹۳

تعهدنامه‌ی اصالت پایان نامه/رساله دانشگاه دامغان

اینجانب دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد/ دکتری رشته‌ی گرایش

دانشکده‌ی دانشگاه دامغان به شماره دانشجویی که در تاریخ از

پایان‌نامه/ رساله ی تحصیلی خود تحت عنوان.....

.....

.....دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که:

۱) این پایان‌نامه را قبلاً برای دریافت هیچ گونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.

۲) این پایان‌نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد و در موارد استفاده از نتایج دیگران به مرجع مورد استفاده استناد شده است.

۳) در کلیه مراحل انجام این پایان نامه/ رساله، در مواردی که از موجود زنده (یا بافت های آن ها) استفاده شده است، ضوابط و اصول اخلاق علمی رعایت شده است.

٤) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هر گونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فنّاوری دانشگاه دامغان، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.

۵) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه دامغان را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکر نمایم.

۶) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن (منجمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه دامغان را مجاز می‌دانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه رفتار نماید.

۷) مسئولیت صحت و سقم تمامی مندرجات پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.

نام ونام خانوادگی دانشجو:

امضاء:

تاریخ:

تمامی حقوق مادّی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات، کتاب و نرم افزار حاصل از انجام این پایان نامه/ رساله، متعلق به **دانشگاه دامغان** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقرّرات مربوطه و ذکر منبع بلامانع است.

به نام خدا

بررسی اثر آلفا لیپوییک اسید بر میزان تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان و بافت چربی

به وسیله ی:

طاهره بشیری

پایان نامه ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به عنوان بخشی

از فعالیتهای لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد زیست شناسی

در رشته

زیست شناسی (گرایش بافت شناسی و جنین شناسی)

از دانشگاه دامغان

ارزیابی و تأیید شده توسط کمیته داوران با درجه: عالی

دکتر محمدتقی قربانیان، استادیار رشته ی علوم تشریح، دانشکده زیست، دانشگاه دامغان (استاد راهنما)

دکتر سعید زواره، استادیار رشته تولید مثل، دانشکده زیست، دانشگاه دامغان (استاد مشاور)

دکتر مریم حاجی قاسم کاشانی،استادیار رشته علوم تشریح، دانشکده زیست، دانشگاه دامغان (استاد داور)

دکتر تقی لشکر بلوکی، استادیار رشته بیوشیمی، دانشکده زیست، دانشگاه دامغان (استاد داور)

دکتر ایران گودرزی، استادیار رشته فیزیولوژی، دانشکده زیست، دانشگاه دامغان (نماینده تحصیلات تکمیلی)

بهمن ماه ۱۳۹۳

تقدیم به

پدر، مادر و همسر عزیز و مهربانم

که در سختی‌ها و دشواری‌های زندگی همواره یاوری دلسوز و فداکار

و پشتیبانی محکم و مطمئن برایم بوده‌اند

سپاسگذاری

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. و سلام و دورد بر محمّد و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان وامدار وجودشان است.

ازپدر و مادر عزیزم که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت هایم گذشته اند و در تمام عرصه های زندگی یار و یاوری بی چشم داشت برای من بوده اند.

از همسرم به پاس قدر دانی از قلبی آکنده از عشق و معرفت که محیطی سرشار از سلامت و امنیت و آرامش و آسایش برای من فراهم آورده است. از استاد عزیزم جناب آقای دکتر محمد تقی قربانیان که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند؛ از استاد فرهیخته و گرامی، جناب آقای دکتر سعید زواره که زحمت مشاوره این رساله را متقبل شدند و برای این پایان نامه زحمت زیادی کشیدند. از کارشناس محترم و دلسوز آزمایشگاه جناب آقای ابوطالب کوشاکمال تشکر و قدردانی را دارم.

و در نهایت به آنان که در راه کسب دانش راهنمایم بودند. باشد که حاصل تلاشم نسیم گونه غبار خستگیشان را بزداید.

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

چکیده

بررسی اثر آلفا لیپوییک اسید بر میزان تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان و بافت چربی

توسط: طاهره بشیری

سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) در ترمیم بافت‌های بدن دخیل هستند و منبع سلولی جذابی را برای مهندسی بافت تشکیل می‌دهند. پتانسیل تجدیدی آن‌ها توسط پیری سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو مختل می شود. آلفا لیپوئیک اسید (ALA) به دلیل خواص آنتی اکسیدانتی به خوبی شناخته شده است. ALA هرگونه افزایش استرس اکسیداتیو همراه با سن را به طور موثری کاهش می‌دهد. از این رو هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ALA بر بقا و تکثیر MSCs در کشت آزمایشگاهی بود. سلول‌های بنیادی جدا شده از مغز استخوان و بافت چربی موش صحرایی پاساژ چهارم از طریق ۲۴ ساعت فقر سرم و هیدروکسی اوره ۲ µM همزمان شده، پس از آن به مدت ۴۸ ساعت در حضور ALA ۱ µM کشت داده شدند. MTT برای ارزیابی میزان بقا و تکثیر سلول‌ها استفاده شد. بیان نشانگر تکثیر Ki-67 ارزیابی شد. به منظور بررسی بیان ژن P53، RT-PCR انجام گرفت. نتایج MTT افزایش میزان تکثیر در گروه هایی که به مدت ۴۸ ساعت با ALA تیمار شده بودند را نشان داد. ایمنوسیتوشیمی Ki-67 تفاوت معنی دار را بین گروه‌های کنترل و تیمار نشان داد. هیچ گونه تفاوت معنی داری بین گروه ها در بیان P53 یافت نشد. در نتیجه ALA در افزایش میزان بقا و تکثیر سلول های بنیادی جدا شده از مغز استخوان و بافت چربی موش صحرایی موثر بود.

واژگان کلیدی: سلول های بنیادی مزانشیمی- تکثیر - آلفا لیپوییک اسید- Ki-67

فهرست

عنوان صفحه

فصل اول

۱-۱سلول‌های بنیادی: ۲
۱-۲ کاربرد سلول‌های بنیادی : ۲
۱-۳ مشخصه های سلول‌های بنیادی : ۳
۱-۴ انواع سلول‌های بنیادی: ۳
۱-۴-۱ سلول بنیادی جنینی: ۴
۱-۴-۲ سلول بنیادی بالغ ۵
۱-۴-۲-۱ سلول‌های بنیادی مزانشیمی ۶
۱-۴-۲-۳ سلول‌های بنیادی مغز استخوان ۸
۱-۴-۲-۴ سلول‌های بنیادی چربی ۸
۱-۴-۲-۵ تفاوت و شباهت‌های سلول‌های بنیادی مغز استخوان و چربی ۸
۱-۵ استرس اکسیداتیو ۹
۱-۶ پیری ۱۰
۱-۶-۱ ناپایداری ژنوم ۱۲
۱-۶-۲ فرسایش تلومر ۱۲
۱-۶-۳ تغییرات اپی ژنتیکی ۱۳
۱-۶-۴ از دست دادن پروتئوستازیس ۱۳
۱-۶-۵ از تنظیم خارج شدن مسیر احساس غذا ۱۴
۱-۶-۶ نقص در فعالیت میتوکندری ۱۵
۱-۶-۷ از دست رفتن سلول‌های بنیادی ۱۶
۱-۶-۸ تغییر در ارتباطات بین سلولی ۱۶
۱-۶-۹ سالخوردگی سلولی و آپوپتوز ۱۶
۱-۶-۹-۱ مارکرهای سالخوردگی در سلول‌های بنیادی مزانشیمی : ۱۷
۱-۶-۹-۱-۱ مورفولوژی: ۱۷

۱-۶-۹-۱-۲ تکثیر: ۱۸
۱-۶-۹-۱-۳ تلومرها ۱۸
۱-۶-۹-۱-۴ مارکر پیری سلولی در شرایط *in vitro* ۱۸
۱-۶-۹-۱-۵ انتشارمواد / سیگنالها ۱۹
۱-۷ ارتباط بین مشخصه های پیری ۱۹
۱-۸ آنتی اکسیدانت ۲۱
۱-۹ آلفالیپوییک اسید ۲۲
۱-۹-۱ قابلیت ALA در شلات شدن با فلزات ۲۶
۱-۹-۲ قابلیت پاک کردن ROS در شرایط *in vitro* ۲۶
۱-۹-۳ تولید مجدد آنتی اکسیدانت های داخلی ۲۷
۱-۹-۴ ترمیم آسیب های اکسیداتیو ۲۷
۱-۱۰ ژن P53 ..... ۲۹
۱-۱۰-۱ ساختار ۳۰
۱-۱۰-۲ بررسی بیان و جهش در ژن P53 ..... ۳۰
۱-۱۰-۳ برهم کنش ها ۳۱
۱-۱۱ چرخه سلولی و همزمان کردن سلول‌ها ۳۳
۱-۱۲ فقر سرم ۳۴
۱-۱۳ هیدروکسی اوره ۳۵
۱-۱۴ پروتئین‌های هسته‌ای همراه با تکثی ۳۵
۱-۱۵ کشف پروتئین Ki-67 ..... ۳۶
۱-۱۵-۱ Ki-67 به عنوان مارکری برای سلول‌های تکثیر شونده ۳۶
۱-۱۵-۲ ساختار پروتئین Ki-67 ..... ۳۷
۱-۱۵-۳ بیان پروتئین Ki-67 در طی چرخه سلولی ۳۷
۱-۱۵-۴ محل قرارگیری Ki-67 در طی چرخه سلولی ۳۷
۱-۱۵-۵ نقش بیولوژیکی پروتئین .Ki-67 ..... ۳۸
۱-۱۶ هدف ۶۰

۱-۱۶ طرح مسئله..... ۶۰

فصل دوم

مواد و روش‌ها..... ۴۰

۲-۱ طراحی آزمایش:..... ۴۱

۲-۲ گروه های مورد مطالعه..... ۴۱

۲-۲-۱ گروه های مورد مطالعه در روش MTT..... ۴۱

۲-۲-۲ گروه های مورد بررسی در بخش دوم ۴۲

۲-۲-۳ گروه های مورد بررسی در بخش سوم ۴۳

۲-۳ حیوان و شرایط نگهداری..... ۴۳

۲-۴ مطالعات سلولی..... ۴۳

۲-۴-۱ کشت سلول (جداسازی وکشت BMSCs و ADSCs)..... ۴۳

۲-۴-۲ کشت متوالی (پاساژ سلولی یا تهیه سابکالچر) ۴۸

۲-۵ ارزیابی تکثیر سلولی با نشانگر MTT ۴۸

۲-۶ شمارش سلولی بوسیله لام نئوبار ۴۹

۲-۷ ارزیابی میزان بیان ژن P53..... ۵۰

۲-۷-۱ نحوه استخراج RNA از سلول ۵۰

۲-۷-۲ سنتز cDNA ۵۳

۲-۷-۳ واکنش PCR ۵۴

۲-۸ ارزیابی تکثیر سلولی به روش نشاندار کردن سلول با نشانگر آنتی Ki-67 ..... ۵۶

۲-۸-۱ شمارش سلولی ۵۸

۲-۸-۲ آنالیز آماری ۵۹

فصل سوم

۳-۱ بررسی های مورفولوژیکی..... ۶۱

۳-۱-۱ نتایج بررسی مورفولوژیکی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در شرایط کشت..... ۶۱

۳-۱-۲ نتایج بررسی سرعت رشد سلول های بنیادی مزانشیمی در شرایط کشت با میکروسکوپ فاز کنتراست ... ۶۱

۳-۱-۳ بررسی مورفولوژیکی سلول‌های BMSC وADSC پس از حذف سرم..... ۶۲

۳-۲ بررسی تکثیر سلولی با نشانگر MTT..... ۶۶

۳-۲-۱ بررسی تکثیر سلولی در BMSC ۶۶
۳-۲-۲ بررسی تکثیر سلولی در ADSC ۶۶
۳-۳ نتایج حاصل از ایمنوسیتوشیمی با نشانگر Ki-67 ..... ۶۷
۳-۳-۱ بررسی میکروسکوپی سلول ها رنگ شده به روش ایمنوفلورسانس برای نشانگر Ki-67 ..... ۶۷
۳-۳-۲ ارزیابی تکثیر سلولی با بررسی تعداد سلول های Ki-67 مثبت ۶۸
۳-۳-۳ نتایج حاصل از رنگ آمیزی با DAPI ۷۶
۳-۴ بررسی نتایج حاصل از RT-PCR ۷۹
فصل چهارم
۴-۱ بررسی های مورفولوژیکی ۸۳
۴-۱-۱ مورفولوژی سلول ها پس از همزمان شدن ۸۴
۴-۱-۲ مورفولوژی سلول ها پس از رنگ آمیزی با نشانگر Ki-67 ..... ۸۴
۴-۲ نتایج حاصل از دست یابی غلظت مطلوب و بهینه ALA ۸۵
۴-۳MTT ۸۵
۴-۴ ایمنوسیتوشیمی ۸۶
۴-۴-۱ نتایج حاصل از رنگ آمیزی با نشانگر Ki-67 ..... ۸۶
۴-۵P53 ..... ۸۷
۴-۶ نتیجه گیری: ۸۹
۴-۷ پیشنهادها: ۸۹
فصل پنجم
منابع ۱۱۶

فهرست شکل ها و جدول ها

عنوان صفحه

شکل۱-۱ : منشا سلول‌های بنیادی. ۴
شکل۲-۱: تصویر شماتیک از ۹ عامل بوجود آورنده پیری.. ..... ۱۳
شکل۳-۱: پیری سلول ۲۰
شکل۴-۱: ۹ عامل فرض شده برای پیری در ۳ گروه قرار می گیرند. ۲۱
شکل۵-۱: ساختار شیمیایی آلفا لیپوییک اسید و فرم کاهش یافته آن دی هیدرولیپوییک اسید. ۲۴
جدول۱-۱: برخی از اثرات سودمند ماده ALA ۲۵
شکل۶-۱ : یک مثال ویژه برای تنظیم اکسیداتیو فعالیت ممانعت گرهای پروتئیناز مثلAP -α. ۲۸
جدول۲-۱: لیست فعالیت آنتی اکسیدانتی ALA و DHLA در شرایط *in vitro*. ۲۸
شکل۷-۱: طراحی شکل روبان مانند از یک واحد نامتقارن. ۲۹
شکل۸-۱ : بخش های تشکیل دهنده پروتئین p53 [۷۷]. ۳۰
شکل ۹-۱:چرخه ارتباطات سیگنالی MDM2 همراه با تنظیم طول عمر و متابولیسم ۳۲
شکل۱۰-۱: فازهای چرخه سلولی در یوکاریوت ها. ۳۴
شکل ۲-۱: گروه های مورد مطالعه در روش MTT ۴۲
جدول ۱-۲: توالی پرایمر ژن های P53 و GAPDH ۵۶
شکل ۳-۱: نمای میکروسکوپ اینورت از سلول‌های BMSCs و ADSCs در پاساژهای مختلف. ۶۳
شکل ۳-۲: نمای میکروسکوپ اینورت از سلول‌های BMSCs و ADSCs. ۶۴
شکل ۳-۳: نمای میکروسکوپ اینورت از سلول‌های ADSCs و BMSCs پس از حذف سرم ۶۵
شکل۳-۴ : نمای میکروسکوپ فلورسنت از مورفولوژی هسته سلول‌های نشاندار شده باKi-67. ..... ۶۸
شکل۳-۵ : نمای میکروسکوپ فلورسنت ADSCs گروه کنترل..... ۶۹
شکل۳-۶ : نمای میکروسکوپ فلورسنت ADSCs گروه تیمار اول. ۷۰
شکل۳-۷: نمای میکروسکوپ فلورسنت ADSCs گروه تیمار دوم..... ۷۱
شکل۳-۸: نمای میکروسکوپ فلورسنت BMSCs گروه کنترل. ۷۲
شکل۳-۹ : نمای میکروسکوپ فلورسنت BMSCs گروه تیمار اول. ۷۳
شکل۳-۱۰: نمای میکروسکوپ فلورسنت BMSCs گروه تیمار دوم. ۷۴
شکل۳-۱۱ : تصاویر ایمنوفلورسانس سلول های بنیادی مزانشیمی رنگ شده با DAPI، ۷۷

شکل ۳-۱۲: بیان ژن P53 به روش RT-PCR. ۸۰
شکل ۴-۱: اثرات چند جانبه و وابسته به بیان P53 در سلول های بنیادی.. ..... ۸۹

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار ۳-۱: مقایسه تکثیر سلول‌های BMSC به روش MTT در گروه های تیمار و کنترل. ۶۶
نمودار ۳-۲: مقایسه تکثیر سلول‌های ADSCs به روش MTT در گروه های تیمار و کنترل. ۶۷
نمودار۳-۳ : مقایسه درصد سلول‌های Ki-67 مثبت یا تکثیر شده BMSCs گروه های کنترل و تیمار... ۷۵
نمودار۳-۴ : مقایسه درصد سلول‌های Ki-67 مثبت یا تکثیر شده ADSCs گروه های کنترل و تیمار.... ۷۵
نمودار۳-۵ : مقایسه درصد سلول‌های Ki-67 مثبت در دو گروه سلولی ADSCs و BMSCs..... ۷۶
نمودار ۳-۶ : مقایسه تکثیر سلول‌های BMSCs رنگ شده با DAPI در گروه های تیمار و کنترل. ۷۸
نمودار ۳-۷ : مقایسه گروه های تیمار و کنترل ADSCs رنگ شده با DAPI). ۷۸
نمودار ۳-۸: مقایسه الگوی بیان نسبی ژن P53 در سلول‌های BMSCs و ADSCs در گروه های کنترل و تیمار..... ۷۹

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱سلول‌های بنیادی[1]:

بسیاری از بافت ها و ارگان های بدن محتوی جمعیت کوچکی از سلول‌های بنیادی و سلول های پیش ساز هستند. سلول‌های بنیادی سلول‌های تخصص نیافته ای هستند که به طرز شگفت آوری توانایی خودتکثیری[2] و همچنین تمایز به یک یا چند نوع سلول تخصص یافته را دارند. این سلول ها نقش بسیار مهمی در هموستاز و ترمیم بافت ایفا می کنند. این سلول ها در دوران جنینی مسئول تولید و تکوین بافت و ارگان‌های جنین هستند و در بزرگسالان در نگهداری از بافت و تولید مجدد آن بعد از جراحت نقش دارند. وقتی بر اثر یک حادثه جراحتی ایجاد می شود، سلول‌های بنیادی خود تکثیری انجام داده و به یک سلول بنیادی دختری و یک سلول پیش ساز[3] تبدیل می شوند. سلول پیش ساز، در حالت حدواسط قبل از رسیدن به تمایز کامل است. این سلول متعهد شده تا در یک مسیر تکوینی به سلولی ویژه تمایز پیدا کند. تعداد سلول های بنیادی و فرآیند تمایزی آن‌ها به دقت تنظیم می شود تا مطابق با خواسته بافت در حال تکوین و بازخورد های پیچیده ای باشد که ذخایر سلولی را حفظ می کنند. سلول های بنیادی به راحتی وارد چرخه نمی شوند و در حالت خاموش به سر می برند. این موضوع کمک می کند تا ذخایر سلولی حفظ شود و در زمان مناسب مورد استفاده قرار گیرد[۱-۳].

۱-۲ کاربرد سلول‌های بنیادی :

علت استفاده از سلول‌های بنیادی چیست؟

استفاده از سلول های بنیادی راه های زیادی برای درمان بوجود آورده است. فواید سلول‌های بنیادی:

- برای مطالعات عملکردی ژنتیکی مناسب هستند تا در بیان ژن‌های جنینی، جستجو در اطلاعات ژنتیکی و بیوانفورماتیک مورد استفاده قرار گیرند.

[1] Stem Cell
[2] Self Renewal
[3] Progenitor

- برای مطالعه فرآیند های زیستی مورد استفاده قرار می گیرند؛که کمک می کند تا علت بی نظمی‌های تکوینی انسان مثل نقص در هنگام تولد و یا سرطان و ... مشخص شود.
- این سلول‌ها معنی جدیدی از مدل بیماری‌های انسانی برای کشف داروها و تکوین هستند. این سلول‌ها می توانند به عنوان جایگزین برای حیوانات در مطالعات سم شناسی باشند که روند ورود دارو به بازار را تسریع می بخشند.
- مهم ترین توجه و استفاده قاطع از سلول‌های بنیادی در سلول درمانی است[۲].

۱-۳ مشخصه‌های سلول‌های بنیادی :

سلول‌های بنیادی بر اساس ویژگی‌های تمایزی به چند گروه تقسیم بندی می شوند:

توتی پوتنت:[۱]توانایی تمایز به انواع سلول‌های زاینده (سلول تخم) را دارد.

پلوری پوتنت:[۲] توانای تمایز تمام انواع سلول‌ها رادارد. به جز سلول‌های لایه ی جنینی (ICM[۳])

مولتی پوتنت:[۴] به بیش از یک نوع سلول بالغ تمایز می یابد.

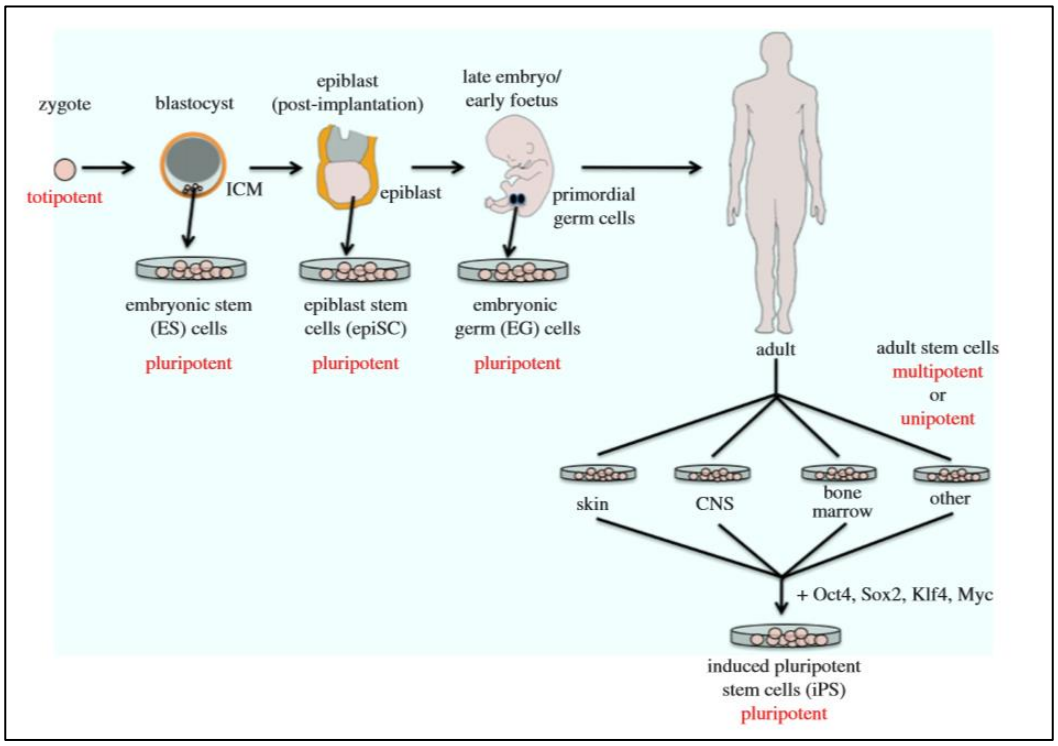
اولیگو پوتنت[۵]: توانایی تولید تعداد محدودی سلول را دارد.

بای پوتنت[۶] و یونی پوتنت[۷]: برای شرح سلول‌های بنیادی است که یک یا دو کلاس از دودمان تمایز یافته را به ترتیب ایجاد می کند[۱-۵] (شکل۱-۱).

۱-۴ انواع سلول‌های بنیادی:

[1] Totipotency
[2] Pluripotent
[3] Inner Cell Mass
[4] Multipotent
[5] Oligopotent
[6] Bipotent
[7] Unipotent

بر اساس منشا، سلول‌های بنیادی به دسته های سلول‌های بنیادی جنینی[1] و سلول‌های بنیادی بزرگسال[2] تقسیم بندی می شوند[۲].



شکل۱-۱ : منشا سلول‌های بنیادی[۶].

۱-۴-۱ سلول بنیادی جنینی:

سلول بنیادی جنینی، از جنین ۱۱-۲ روزه که بلاستوسیت نامیده می شود گرفته شده و سلول‌هایی توتی پوتنت نامیده می شوند. این سلول‌ها توانایی تمایز به انواع سلول‌ها شامل سلول‌های زاینده را دارا می باشند، نامیرا هستند و می توانند به مدت نامحدودی در حالت تمایز نیافته باقی بمانند. سلول‌های بنیادی جنینی دارای پتانسیل بالایی برای تولید مجدد و ترمیم بافت‌های بیمار و ارگان‌ها در بدن هستند. فواید درمانی سلول‌های بنیادی جنینی مورد مناقشه است چون اعتقاد دارند که روند استخراج سلول‌های بنیادی از جنین به خود جنین آسیب می زند و بعضی آن را گرفتن یک زندگی می دانند. از این رو نگرانی های اخلاقی و معنوی به وجود می آید. همچنین کنترل رشد و تمایز سلول‌های بنیادی جنینی سخت است چون ریسک

[1] Embryonic Stem Cell (ESC)
[2] Adult Stem Cell (ADS)

تومورزایی و تشکیل تراتوما وجود دارد. از این رو استفاده از این سلول‌ها به زودی میسر نیست و این سلول‌ها در تحقیقات علمی تنها به عنوان خط مشی برای کارهای تحقیقاتی به شمار می روند[۲].

۱-۴-۲ سلول بنیادی بالغ

سلول‌های بنیادی بالغ در بیشتر بافت‌های بالغ دیده می شود. آن‌ها مولتی پوتنت هستند و می توانند به بیشتر از یک نوع سلول ولی نه همه ی آن‌ها تمایز پیدا کنند[۲].

سلول‌های بنیادی بالغ برای هموستاز طبیعی موجود زنده ضروری هستند. برای مثال سلول-های بنیادی خونساز[۱] تامین مداوم خون را بر عهده دارند که بسته به نوع سلول خونی این ساخت و ساز خیلی سریع (روزانه) و یا کند (ماهانه) است. پیش ساز سلول‌های کبدی در ساخت، تجدید و تولید سلول‌های کبدی نقش دارند. به طور مشابه در مغز بزرگسالان جمعیتی از سلول‌های بنیادی عصبی وجود دارد که در ناحیه زیر بطنی[۲] از پیاز بویایی[۳] و شکنج دندانه ای[۴] هیپوکمپ[۵] واقع شده اند و به نورون‌ها و آستروسیت‌ها تمایز می‌یابند. اهمیت سلول‌های بنیادی بالغ در هموستاز بافت و پیری مشخص شده است[۳]. همچنین سلول‌های بنیادی بالغ به علت خاصیت و پتانسیل سلول درمانی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها و مطالعات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می گیرند. مشخصه‌های این سلول‌ها، آن‌ها را کاندیدای مناسبی برای سلول درمانی می کند که شامل موارد زیر است:

- این پتانسیل که از خود بیمار گرفته شوند.
- ظرفیت بالایی که برای گسترش در محیط کشت دارند.
- سهولت جایگزینی و دست کاری ژن‌های غیر عملکردی موجود از طریق متدهای Gen esplicing
- توانایی مهاجرت به بافت هدف میزبان (لانه گروی[۶])
- توانایی یکپارچه شدن در بافت‌های میزبان و برهم‌کنش با بافت‌های اطراف[۲].

[1] Hematopoietic Stem Cells(HSC)
[2] Subventricular Zone
[3] Olfactory Bulb
[4] Dentate Gyrus
[5] Hypocampus
[6] Homing

۱-۴-۲-۱ سلول‌های بنیادی مزانشیمی[1]

اوج تحقیقات سلول‌های بنیادی زمانی بود که مشخص شد همه ی سلول‌های خونی از یک زیر مجموعه نادر از مغز استخوان[2] به نام سلول‌های بنیادی خونساز (HSC) بوجود می‌آیند. این سلول‌ها می توانند جدا شده و در شرایط *in vitro* و *in vivo* مورد آزمایش قرار گیرند. خیلی زود پس از کشف سلول های بنیادی خونساز مطالعات فردناستین[3][۷] نشان داد که استرومای مغز استخوان می‌تواند سلول چربی، استخوان، غضروف و رتیکولار را به دنبال انتقال هتروتوپیک در موش تولید کند. این نتایج نشان داد که در مغز استخوان سلول هایی با توانایی بیش از خونسازی وجود دارد که سلول‌های پیش ساز چند ظرفیتی با پتانسیل تولید اسکلت و چربی هستند. این موضوع بعدا نشان داده شد که این پیش‌سازها زیر مجموعه‌ی سلول‌های شبه فیبروبلاستی هستند که CFU-FS [4] نامیده می شوند. این سلول‌ها می توانند از طریق چسبیدن به سطح پلاستیک و گسترش در محیط شناخته شوند. مطالعات بیشتر، توانایی سلول‌های کشت داده شده بدست آمده از یک CFU-FS را در تکثیر و زیاد شدن به همراه حفظ توانایی تمایز به استخوان، چربی و غضروف در محیط *in vitro* نشان دادند. چند ظرفیتی بودن و تکثیر در شرایط *in vitro* در گذر زمان از نشانه‌های سلول‌های بنیادی شد. از این رو تعریف اصلی سلول-های استرومایی که آن‌ها را سلول‌های بنیادی مزانشیمی می نامیم بر اساس پتانسیل سه ظرفیتی بودن آن‌ها در شرایط *in vitro* است[۸].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) سلول‌های بنیادی بالغی هستند که به دودمان مزودرمی تعلق دارند و برای اولین بار به صورت سنتی در مغز استخوان یافت شده و سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان (BMSCs)[5] نامیده شوند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی از سایر بافت‌های مزانشیمی مثل بند ناف، خون بند ناف، درمیس، بافت چربی، خون محیطی، جفت و پالپ دندان، بافت همبند، تاندون، غشای سینوویال، مایع‌آمنیوتیک، خون قاعدگی و بافت لیمبال جدا شده اند. از ویژگی‌های سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسان، رشد چسبنده به پلاستیک، بیان آنتی‌ژن‌های سطحی و قابلیت تمایزی چند گانه است. متاسفانه آنتی‌ژن سطحی مورد قبولی برای جدا کردن سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مغز استخوان وجود ندارد اما به طور کلی این

[1] Mesenchymal Stem Cell (MSCs)
[2] Bone Marrow
[3] Friedenstein
[4] Colony Forming Unit Fibroblast (CFU-FB)
[5] Bone Marrow Stem Cells