بسم الله الرحمن الرحیم

«فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در پایان‌نامه کارشناسی ارشد»

بدینوسیله پایان‌نامه کارشناسی ارشد آقای نجم الدین ساکی رشته: هماتولوژی گرایش: ----- تقدیم می‌شود. اینجانبان نسخهٔ نهائی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوی بررسی و تأیید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجهٔ کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنیم.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر سعید آبرون (استاد راهنما)

دکتر مسعود سلیمانی (استاد مشاور)

دکتر مهرداد نوروزی نیا (استاد ناظر)

دکتر روزبه چگنی (استاد ناظر)

دکتر سعید کاویانی (نماینده تحصیلات تکمیلی)

آیین نامه 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 هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

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

ماده ۲- انتشار مقالات مستخرج از پایان نامه/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 می‌باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/رساله منتشر می‌شود نیز نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان نامه / رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از حوزه پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه‌های مصوب انجام شود.

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

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

آیین نامهٔ چاپ پایان نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (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 پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحهٔ سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته **خون‌شناسی آزمایشگاهی و بانک خون** است که در سال **۱۳۸۸** در دانشکده **علوم پزشکی** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **آقای دکتر سعید آبرون** و مشاورهٔ **آقای دکتر مسعود سلیمانی** 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 اهدا 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 به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیهٔ کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت 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 مادهٔ ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶: اینجانب **نجم الدین ساکی** دانشجوی رشته **خون‌شناسی آزمایشگاهی و بانک خون** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی: **نجم الدین ساکی**

تاریخ و امضاء :

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته خونشناسی و بانک خون آزمایشگاهی

بررسی اثر سلول مایلومایی بر تمایز سلولهای بنیادی خونسازخون بند ناف به استئوکلاست در شرایط آزمایشگاهی

نگارنده:
نجم الدین ساکی

استاد راهنما:
دکتر سعید آبرون

استاد مشاور:
دکتر مسعود سلیمانی

مهر ۱۳۸۸

تقدیم به:

پدر و مادرم که دعای خیرشان همیشه بدرقه راهم،

و

همسر مهربانم که همواره در تمام مراحل زندگی فداکارانه کمک و همراهم است.

سپاسگزاری:

با حمد و سپاس خداوند رحمن که توفیق عنایت فرمود تا این مرحله علمی را با موفقیت سپری کنم. وظیفه خود می‌دانم از آقای دکتر سعید آبرون استاد مهربان و دلسوز و آقای دکتر مسعود سلیمانی استاد گرانقدر که در تمام مراحل تحقیق زحمت نظارت و هدایت آن را از اینجانب دریغ نفرموده اند،صمیمانه تشکر می‌نمایم. همچنین لازم می‌دانم از دیگر اساتید گروه خونشناسی جناب آقای دکتر سعید کاویانی و جناب آقای دکتر مهرداد نوروزی نیا نیز تشکر و قدردانی نمایم.

چکیده:

جمعیت کشورهای صنعتی رو به پیر شدن گرویده است و درصد ابتلا به بیماریهای مرتبط با سالخوردگی و پیری مثل مالتیپل مایلوما بدلیل افزایش سن نیز روبه افزایش می‌باشد.این بیماری هم علایم و عارضه‌های مشترک با سایر بیماریها و منحصر بفردی را نیز دارد. از عارضه‌های منحصر بفرد آن تخریب و تحلیل بافت استخوانی وسیع در این بیماران می‌باشد. ما با نگاهی نو به ساختار کنام (Niche) مغزاستخوان و اثرات تمایزی حاصل از همجواری سلولهای مایلومایی بر سلولهای بنیادی خونساز مستقر در آن، با انجام همکشتی سلولهای رده مایلومایی و سلولهای بنیادی خونساز حاصل از بند ناف اثر تمایزی هدفمند القا شده توسط سلولهای مایلومایی را بررسی نمودیم. علاوه بر این در این تحقیق سلولهای مایلومایی را با یک رده سلول منوبلاستی(U937) نیز کشت دادیم تا تاثیر سلولهای مایلومایی را بر تمایز سلولهای منوبلاستی ارزیابی نمائیم. نتایج حاصله افزایش بیان مارکرهای میلوئیدی و منوئیدی را در همکشتی سلول‌های مایلومایی و HSCها نشان داد. علاوه بر این بدنبال همکشتی سلول‌های مایلومایی و سلول‌های منوبلاستی شاهد حضور سلول‌های سه استنوکلاستی احتمالا TRAP مثبت بودیم. نتایج ما نشان می‌دهد که حضور سلول‌های مایلومایی در مغز استخوان احتمالاً در تمایز HSCها به رده منوسیتی (استنوکلاستی) نقش دارد.

کلمات کلیدی : کنام، مالتیپل مایلوما، سلول بنیادی خونساز

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و مروری برمطالعات انجام شده

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۲- سلولهای مغز استخوان ۴

۱-۳- ماتریکس خارج سلولی(ECM) مغز استخوان ۱۰

۱-۴- نیچ (کنام) مغز استخوان ۱۰

۱-۵- تغییرات ژنتیکی در مالتیپل مایلوما ۱۳

۱-۶- پاتوژنز تخریب استخوان در مالتیپل مایلوما ۱۵

۱-۷- هایپر کلسمی در مالتیپل مایلوما ۱۶

۱-۸- برهمکنش سلول-سلول ۱۷

۱-۹- نقش استئوکلاست در بیماری استخوانی مایلوما ۱۹

۱-۱۰- استئوبلاست‌ها در مالتیپل مایلوما ۲۱

۱-۱۱- سلولهای دندریتیک(DCها) ۲۲

۱-۱۲- سیتوکاین‌ها،کموکاین‌ها و اینترلوکین‌های موثر در مالتیپل مایلوما ۲۲

۱-۱۳- مارکرهای سطحی سلولهای مایلومایی ۲۷

۱-۱۴- مسیرهای پیام رسانی و فاکتورهای رونویسی در مالتیپل مایلوما ۳۲

۱-۱۵- مروری بر مطالعات گذشته ۳۴

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه رده‌های سلول مایلومایی ۳۸

۲-۲- تهیه سلولهای +CD133 از خون بند ناف ۴۰

۲-۳- شمارش و بررسی تعدادسلولهای زنده ۴۱

۲-۴- نحوه همکشتی سلولی ۴۲

۲-۵- فلوسایتومتری..... ۴۲
۲-۶- رنگ آمیزی رایت، گیمسا و TRAP ۴۳

فصل سوم: نتایج و یافته‌ها

۳-۱- همکشتی سلولهای U266 (مایلومایی) و U937(غیر مایلومایی،منوبلاستی)..... ۴۷
۳-۲- همکشتی سلولهای بنیادی خونساز و سلولهای مایلومایی..... ۴۹
۳-۳- ارزیابی فلوسایتومتریک سلولهای موجود در همکشتی ۵۱

فصل چهارم : بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها

۴-۱- بحث و نتیجه‌گیری..... ۵۹
فهرست منابع و مآخذ..... ۶۵
چکیده انگلیسی ۷۰

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱: انواع سلولهای حاصل از سلولهای بنیادی خونساز و سلولهای بنیادی مزانشیمال.....۱۲
جدول ۱-۲: بیان برخی مارکرهای پلاسماسلهای بدخیم و طبیعیی [۱۴].....۳۱

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱: شکل شماتیک و تعدادی از آنزیمها و سیستم‌های تبادلی دخیل در عملکرد استئوکلاستی [۸]..... ۹

شکل ۱-۲: هماتوپوئزیس سلول‌های استخوان و سلول‌های استرومال مغز استخوان. در مغز استخوان HSCها در مجاورت استئوبلاستهای نیچ اندوستیل مستقر می‌شوند یا در مجاورت سلول‌های اندوتلیال رگهای سینوزوئیدال. بعد از هر تقسیم، سلول دختری استخوان را ترک می‌کند تا به رده‌های متعددی تکثیر و تمایز یابد. HSCها و دودمان آنها توسط سلولهای استرومال مشتق از سلولهای بنیادی مزانشیمال، احاطه شده‌اند. استئوبلاستها M-CSF، RANKL و OPG را بیان و IL7 را تولید می‌کنند. این سلولها رشد سلولهای لمفوئید و استئوکلاست را تنظیم می‌نمایند. ۱۱

شکل ۱-۳: سلولهای مایلومایی به سلولهای استرومال مغز استخوان (BMSCs) از طریق VLA-4(اینتگرین α4β1:که بروی سطح بسیاری از سلولهای مایلومایی حضور دارد) و VCAM-1 (که برسطح سلولهای استرومال بیان می‌شود) متصل می‌گردد.اتصال سلولهای مایلومایی به سلولهای استرومال یا استئوبلاست‌ها منجر به افزایش تولید M-CSF،RANKL و دیگر سیتوکین‌های فعال کننده استئوکلاست از قبیل IL-6،IL-11،IL-1β،TNFs و b-FGF می‌گردد، در صورتیکه این اتصال منجر به سرکوب تولید OPG می‌شود. سیتوکین‌های مذکور ریز محیط مغز استخوان را تغییر می‌دهند و منجر به تنظیم افزایشی تولید و بیان RANKL توسط استئوبلاست‌ها و سلولهای استرومال می‌گردد. علاوه بر این سلولهای مایلومایی MIP-1α، HGF و VEGF را ترشح می‌کنند که تکثیر و تمایز پیشسازهای استئوکلاستی را افزایش می‌دهد.MIP-1α می‌تواند اینتگرین را فعال سازد و منجر به چسبندگی بیشتر سلولها گردد و بصورت پاراکرین چسبندگی سلولهای مایلومایی را به سلولهای استرومال از طریق برهمکنش VLA-4/VCAM-1 القا سازد و بدین صورت فعالیت استئوکلاست را تحریک سازد.سلولهای مایلومایی RANKL را بیان می‌سازند.OPG می‌تواند به RANKL سطحی و محلول متصل گردد و بدین صورت رشد استئوکلاست و تحلیل استخوان را مهار سازد.CD138 هم بر سطح سلولهای مایلومایی بیان می‌شود و هم توسط آنها ترشح می‌شود و می‌تواند به OPG محلول متصل گردد و بدین صورت از اثر مهاری بروی عملکرد RANKL ممانعت کند.بنابراین نسبت RANKL به OPG افزایش می‌یابد و منجر به تمایز، تکثیر و فعال شدن استئوکلاست و افزایش تحلیل استخوان و مارکرهای تحلیل استخوان مثل TRACP-5b،

NTX، ICTP،CTX می‌گردد.IL-6 ممکن است نقش مهمی در مایلوما بدلیل فعـال کـردن MIP-1α داشته باشد[۱۷]..... ۱۵

شکل ۱-۴: برهمکنش سلول-سلول در بیماری استخوانی مایلومـا. بـرهمکنش مـستقیم سـلولهای مایلومایی و سلولهای استرومال مغز استخوان یا استئوکلاست‌ها نقش مهمی در پیـشرفت بیمـاری استخوانی مایلوما دارد[۱۹]..... ۱۸

شـکل ۱-۵ : بـرهمکنش پلاسماسـلهای مایلومـایی بـا استئوکلاسـت هـا(OCT)، پیشـسازهای استئوکلاستی(OCT pre)، BMSC، استئوبلاست هـا(OBL) و MSCهـا. سـلولهای مایلومـایی در جهت رشد استئوکلاستها و سرکوب استئوبلاست‌ها عمل می‌کنند. یکـی از مهمتـرین فاکتورهـای مسئول در افزایش استئوکلاستوژنزیس و افزایش عملکردهای لیتیـک استوکلاسـت‌هـا، RANKL می‌باشد که توسط سلولهای BMSCها، OBL و سلولهای مایلومایی بیان می‌شود. مالتیپل مایلومـا منجر به افزایش بیان RANKL در این سـلولها مـی‌شـود و منجـر بـه سـرکوب بیـان مهارکننـده RANKL یعنی استئوپروتگرین (OPN) می‌گردد. RANKL بـا پذیرنـده RANK بـروی OCT بـا مکانیسمی که نیازمند اتصال مستقیم است بـرهمکنش دارد. عـلاوه بـر ایـن سـلولهای مایلومـایی تشکیل استئوکلاست‌ها را از پیشسازهایشان و القا عملکرد استئولیتیک استئوکلاست‌هـا را بوسـیله ترشح سیتوکین‌هایی از قبیل MIP1α، IL3، OPN و VEGF اعمال می‌کنند. در عـوض سـلولهای استئوکلاستی فاکتورهای رشد سلولهای مایلومایی از قبیل IL6، APRIL، BAFF، OPN را فـراهم می‌سازند. سلولهای مایلومایی تشکیل استئوبلاست‌ها را از پیشسازهایشان با ترشح مهارکننـده‌هـای مسیر Wnt و همچنین TNFα، IL7، IL3 مهار مـی‌سـازند. بـه همـین نحـو سـلولهای مایلومـایی عملکرد استئوبلاستهای بالغ را با در معرض قرار دادن آنها با سیتوکین‌هـای التهـابی مثـل TNFα، INFγ، IL6 و IL-1β سرکوب می‌سازند.البته هم اکنون یافته‌های متناقضی بـا ایـن اثـر سـلولهای مایلومایی بر استئوبلاست‌ها مطرح شده است [۷]..... ۲۰

شکل ۱-۶: مسیرهای اتوکرین و پاراکرین واسطه گری شـده توسـط VEGF در مالتیپـل مایلومـا. هردو برای رگ زایی و رشد تومور مهم هـستند.رابطـه نزدیکـی بـین VEGF و IL6 در مـسیرهای پاراکرین مشاهده شده است [۲۴]..... ۲۵

شکل ۲-۱: تصویر شناسنامه رده سلولی U266..... ۳۸

شکل ۲-۲: تصویر شناسنامه رده سلولی RPMI8866..... ۳۸

شکل ۲-۳: ارزیابی سلولهای بنیادی خونساز بدست آمده از بند ناف با اسـتفاده از شـاخص CD34 بوسیله فلوسایتومتری..... ۴۱

شکل ۳-۱: سلول رده منوبلاستی (U937)..... ۴۸

شکل ۳-۲: رنگ آمیزی TRAP سلولهای حاصل از همکشتی U266 و U937. به حضور سلولهای واکئول دار شبه ماکروفاژی توجه کنید. ۴۸

شکل ۳-۳: سلولهای حاصل از همکشتی سلولهای مایلومایی U266 و HSC. به حضور سلولهای واکئول دار شبه ماکروفاژی توجه کنید، یک حالت شبه فاگوسیت نیز دیده می‌شود. ۵۰

شکل ۳-۴: سلولهای حاصل از همکشتی سلول غیر مایلومایی RPMI8866 (لنفوبلاستوئید) و HSC ۵۰

شکل ۳-۵: ارزیابی فلوسایتومتریک سلولها،نوبت اول،از نظر مارکرهای CD45 و CD14 ۵۲

شکل ۳-۶: ارزیابی مارکر CD64، مرحله اول ۵۳

شکل ۳-۷: ارزیابی مارکر CD33 مرحله اول ۵۴

شکل ۳-۸: ارزیابی مارکر CD14 بعد از یک ماه ۵۵

شکل ۳-۹: ارزیابی مارکر CD64 بعد از یک ماه ۵۶

شکل ۳-۱۰: ارزیابی مارکر CD33 بعد از یک ماه ۵۷

فصل اول

مقدمه و مروری
برمطالعات انجام شده

۱-۱- مقدمه

اولین بیمار مبتلا به مالتیپل مایلوما[1] توسط Solly در سال ۱۸۴۴ شرح داده شد. این بیمار مونث ۳۹ ساله Sarah Newbury نام داشت و علائم خستگی شدید و درد استخوانی ناشی از شکستگی‌های متعدد استخوانی را نشان می‌داد.Solly در ابتدا فکر کرد که این علایم یک فرایند التهابی شدید باشد[۱].

بهترین مورد از بیماری مالتیپل مایلوما بیماری به نام Alexander McBean نام داشت. دکتر William Macintyre ادرار بیمار را آزمایش کرد و مشاهده نمود ادرار بیمار وزن مخصوص بسیار بالایی دارد و بدنبال جوشاندن کمی مات می‌شود. هنگام اضافه کردن اسید نیتریک از نمونه گاز خارج می‌شود و رنگ قرمزی می‌گیرد و کاملاً شفاف می‌شود و این موارد را طی نامه‌ای به آقای دکتر هنری بنز جونز[2] منعکس کرد. هنری بنز جونز نمونه ادرار فرستاده شده را با دقت بسیاری آزمایش کرد و صحت موارد گفته شده را تایید نمود. اصطلاح پروتئین بنز جونز را برای اولین بار Fleischer در سال ۱۸۸۰ مطرح کرد. Bayne-Jones و Wilson دو گروه پروتئین بنز جونز را در سال ۱۹۲۲ شرح دادند. با استفاده از آزمایش Ouchterlony در سال ۱۹۵۶، Korngold و Lipari کلاسهای مختلفی از پروتئین‌های بنز جونز را شناسایی کردند. آنها متوجه شدند که آنتی سرم پروتئین بنز جونز با پروتئین موجود در خون میلوما واکنش می‌دهد. به احترام Korngold و Lipari دو کلاس پروتئین بنز جونز را کاپا[3] و لامبدا[4] نامیدند. Ramony Cajal یک نوروآناتومیست اولین فردی بود که پلاسماسل را بدقت شرح داد. Marschalko در سال ۱۸۹۵ جزئیات پلاسماسل را منتشر ساخت و عنوان کرد که این

1- Multiple Myeloma
2- Henry Bence Jones
3- kappa
4- lambda

سلولها کروماتین بلوکه، هسته غیر مرکزی، یک هاله بی رنگ حاشیه هسته‌ای و یک سیتوپلاسم کروی یا نامنظم دارند. Wright عنوان کرد که سلولهای توموری مایلوما از پلاسما سل یا پیشسازهای آنها تشکیل شده است. در سال ۱۹۲۹ توصیفی که Arinkin از مغز استخوان شرح داد شناخت از مالتیپل مایلوما را افزایش داد. برای مثال Rosenthal و Vogel گزارش دادند که تنها سه مورد مالتیپل مایلوما در بیمارستان Mount Sinai در نیویورک از ۱۹۱۶ تا ۱۹۳۵ شناسایی شدند اما طی دو سال بعدی ۱۳ مورد گزارش شدند. در سال ۱۹۲۸، Gesschickter و Copeland ۴۱۲ مورد مالتیپل مایلوما از سال ۱۸۴۸ تا ۱۹۲۸ را طی مقاله‌ای ارائه دادند. آنها به حضور شکستگیهای پاتولوژیک، پروتئین اوری بنز جونز، آنمی و بیماری مزمن کلیوی اشاره کردند. اگرچه این افراد ناهنجاریهای سرعت سدیمنتاسیون[1] یا پروتئین‌های خون را شناسایی نکرده بودند [۱].. اولین بار هایپرپروتئینمیا در مالتیپل مایلوما در سال ۱۹۲۸ توسط Perlzweig و همکارانش نشان داده شد.Tiselius طی رساله دکتری خود با روش الکتروفروزیس moving-boundary در سال ۱۹۳۰ هموژنی گلوبولین‌های سرم مورد نظر را نشان داد. هفت سال بعد Tiselius گلوبولین‌های سرم را به سه جزء جدا ساخت:آلفا،بتا و گاما[۱] .

بیماری مالتیپیل مایلوما یک ناهنجاری پلاسماسل است که تقریباً ۱۰٪ درصد سرطانهای خونی را شامل می‌شود. معمولاً این بیماری از یک اختلال کلونال تکثیر پلاسماسل بنام MGUS[2] حاصل می‌شود. MGUS در بیش از ۳ درصد جمعیت بالای ۵۰ سال ایجاد می‌شود و به مایلوما یا بدخیمی‌های مربوطه،به میزان ۱٪ در سال،تبدیل می‌گردد [۱] سن متوسط بیماران در هنگام تشخیص ۶۸ سال است و ۹۹٪ بیماران سن بالای ۴۰ سال دارند [۲]. شایعترین علایم و عارضه‌های این بیماری عبارتند از خستگی،درد استخوانی و عفونت‌های مکرر.از دیگر علایم آن می‌توان به حضور پروتین بنزجونز و ایزوتایپ‌های زنجیره سبک ایمونوگلوبین در سرم و ادرار بیماران, هایپرپروتنمیا،آمیلوئیدوز (که حاصل رسوب زنجیره‌های سبک ایمونوگلوبین مونوکلونال در کلیه و قلب این بیماران است)، آنمی نرموکروم نرموسیت (به علت افزایش پلاسماسل‌ها در مغز استخوان و تشکیل کلونهای متعدد تکثیری در مناطق مختلف مغز استخوان، افزایش قابل ملاحضه سدیمان و

1- sedimentation rate
2- Monoclonal gammopathy of undetermined significance

مشاهده رولو در لام محیطی، هایپرکلسمی و افزایش فسفر در اثر تخریب استخوان اشاره کرد. در ۸۰ درصد بیماران مالتیپل مایلومایی عوارض استخوانی از قبیل درد استخوان،ضایعات لیتیک و شکستگیهای پاتولوژیک رخ میدهد [۳و۴]. بیماران با عارضه‌های استخوانی متعدد کاهش سطح سرمی مارکرهای سازنده استخوان از قبیل آلکالین فسفاتاز، استئوکلسین[1] و پروپپتیدهای پروکلاژن تایپ I و همچنین افزایش شدید مارکرهای حاکی از تحلیل استخوان از قبیل سطح کلسیم یونیزه را نشان می‌دهد [۵].

در این بیماران جابجایی لوکوس زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین 14q32 (شایعترین)، حذف کروموزوم ۱۳، متیلاسیون p16،11q13(Cyclin D1)، 4p16(FGFR3)،16q23(C-maf) مشاهده می‌گردد [۳و۶]. تغییرات دیگر جهشهای فعال کننده[2] ژنهای N-ras و K-ras می‌باشند که در نتیجه افزایش فعالیت MAPK خواهد بود. جهشهای ras در ۳۵ تا ۵۰ درصد بیماران مالتیپل مایلومایی گزارش شده اند اما به نظر می‌رسد در MGUS نادر باشد،که عنوان کننده تغیرات ژنتیکی ثانویه بودن یا به سبب تغییر از MGUS به MM است. در مقایسه با فعال شدن مسیرهای اونکوژنیک معمول،جهش سرکوب کننده‌های تومور از قبیل P53، در مالتیپل مایلوما نسبتاً نادر می‌باشد و غالباً با بیماری پیشرفته و نشانه‌های اکسترامدولاری همراه است. عمده ترین پیامد این تغییرات ژنتیکی در مالتیپل مایلوما ناهنجاری چرخه سلولی و مقاومت به آپوپتوزیس می‌باشد. جابجایی t(4;14) برای مثال منجر به افزایش بیان FGFR3 می‌گردد که مسیر Ras/MAPK را فعال می‌کند [۶].

۱-۲- سلولهای مغز استخوان[3]

بدلیل درگیری مغز استخوان در ابتدا به ارزیابی و شرح ساختار مغز استخوان و عوامل تشکیل دهنده آن می‌پردازیم.

سلول بنیادی خونساز : سلولهای بنیادی خونساز ظرفیت خودنوسازی[4] و توانایی تمایز به تمام رده‌های سلولی بالغ خون را دارند. در مورد خصوصیات HSCها بیان پذیرنده تیروزین کیناز C-kit (پذیرنده فاکتور سلول بنیادی SCF یا CD117)، آنتی ژن ۱ سلول بنیادی (Sca-1)، سطح پایینی از Thy.1 و

1- Osteocalcin
2- activating mutations
3- Bone Marrow Cells
4- Self-renewal

فقدان یا بیان پایین مارکرهای سطحی است که در رده‌های متمایزتر یافت می‌شوند که به اصطلاح رده منفی[1] گفته می‌شود. عنوان می‌شود CD133 نیز مارکر سطحی مهم دیگری برای HSCهای انسانی است. انتخاب پیشسازهای[2] خونساز +CD133 بیش از ۹۰٪ سلول‌های +CD14 را عاید می‌سازد که تمام فعالیت جمعیت سازی[3] هماتوپوئتیک را دارا می‌باشند. روش روتین غنی سازی HSCهای انسانی، مثبت بودن این سلول‌ها از نظر +CD34+/CD133 است و کاهش یا نبود مارکرهای نشان دهنده متعهد بودن سلول‌ها مثل(CD2، CD3،CD14، CD16، CD19، CD24، CD41، CD56، CD66b و CD235a) است. HSCها بدلیل عدم بیان CD38، CD45RA، CD71، HLA-DR و یا هرگونه آنتی ژن مختص رده را بصورت -lin یا lineage negative cell می‌نامند. در میان سیتوکین‌های مختلفی که منجر به حرکت[4] سلول‌های هماتوپوئتیک می‌شوند به نظر می‌رسد که G-CSF یا rh G-CSF مطلوب‌تر و کاربرد وسیع‌تری دارند.از سیتوکین‌های دیگری بصورت منفرد یا با هم جهت القا حرکت در سلول‌های هماتوپوئتیک استفاده می‌شودازقبیلSCF (لیگاند kit)،IL3،Tpo و MIP-1α[5].

سلول‌های اندوتلیال : سلول‌های اندوتلیال سلول‌های کاملاً مسطحی هستند که کاملا سطح داخلی سینوس‌ها را پوشانده اند. آنها یک سد اصلی برای کنترل ورود و خروج مواد شیمیایی و اجزاء به محیط خونساز را تشکیل می‌دهند. سلول‌های اندوتلیال $CD34^+$ و $CD14^+$ و $CD45^-$ هستند و SDF1 و IL8 را ترشح می‌کنند. گیرنده SDF1 مولکول CXCR4 است که بر روی سلولهای بنیادی قرار دارد و ترشح SDF1 منجر به لانه گزینی سلولهای بنیادی در چرخش می‌گردد.

سلول‌های رتیکولار پوششی: سلول‌های رتیکولار پوششی غلظت بالایی از آلکالین فسفاتاز در غشای خود دارند. CD10 و CD13 و آنتی‌ژنهای HLA کلاس I را بیان می‌کنند. اجسام سلول‌های رتیکولر و زوائد وسیع آنها و رشته‌های منشعب شده از آنها تشکیل شبکه و mesh توری مانندی را بنام بافت رتیکولر مغز استخوان می‌دهند. این شبکه رتیکولر محل استقرار سلول‌های خونساز می‌باشند.

آدیپوسیت ها(سلولهای چربی) :لپتین آدیپوسیت مغز استخوان ممکن است رشد پیشتازهای خونساز مجاور را تعدیل کند. اگر در محیط کشت سلول بنیادی را با لپتین و EPO تحریک کنیم پاسخ بهتری

1- lineage negative or Lin-
2- precursors
3- repopulating
4- mobilizing
5- macrophage inflammatory protein-1α

در تمایز به سمت رده اریتروئیدی دیده می‌شود تا اینکه از EPO به تنهایی استفاده کنیم. در مالتیپل مایلوما به این سلولهای موجود در حفرات مغز استخوان توجه کمی شده است. در صورتیکه مالتیپل مایلوما عمدتاً بیماری کهنسالی است، تعداد آدیپوسیت‌ها با بالا رفتن سن افزایش می‌یابد. این منجر به حضور آدیپوسیت‌های اشغال کننده ۷۰٪ حفرات مغزاستخوان افراد سالخورده می‌شود. بطور جالب توجه اخیراً عنوان شده که آدیپوسیت‌ها در ریزمحیط مغزاستخوان مالتیپل مایلوما دخیل هستند.خصوصاً در مراحل interstital بیماری می‌توان آدیپوسیت‌ها را در تماس نزدیک با سلولهای مایلومایی یافت [۷].

فیبروبلاست ها: بدنبال فعال شدن، فیبروبلاست‌ها موادی را ترشح می‌کنند که سازنده ماتریکس خارج سلولی هستند مثل کلاژن، فیبرونکتین، لامینین، پروتئوگلیکان، گلیکوپروتین، این مواد عامل اتصال سلولهای بنیادی خونساز به فیبروبلاست‌ها نیز هستند. فیبروبلاست‌ها فاکتورهایی از قبیل GM-CSF، M-CSF، IL6 و LIF(فاکتور مهار کننده لوکمیا) نیز ترشح می‌کنند.

استئوبلاست‌ها : استئوبلاست‌ها شکل دهنده استخوان بوده و $CD34^-$ و $STRO\text{-}1^+$ هستند که از پیشسازهای استئوبلاست مشتق می‌شوند و در ارتباط نزدیک با SC هستند. TGFβ و b-FGF و Bone morphogenetic protein2 رشد و تمایز این سلول‌ها را افزایش می‌دهند. استئوبلاست‌ها بقا پیشتازهای خونساز زودرس را در کشت‌های long-term افزایش می‌دهند و فاکتورهای رشد خونساز از قبیل M-CSF(فاکتور محرک کلونی ماکروفاژ)، G-CSF(فاکتور محرک کلونی گرانولوسیت) و GM-CSF، IL1 و IL6 را ترشح می‌کنند. استئوبلاست‌ها فاکتورهای مهار کننده چرخه سلول خونساز مثل TGF-β را ترشح می‌کنند. فاکتورهای دیگری که استئوبلاست‌ها ترشح می‌کنند عبارتند از ALP(آلکالین فسفاتاز)، ostepoietin و osteocalcin، کلاژن و فیبرونکتین که اینها در استخوان سازی نقش دارند. استئوبلاست‌ها تمایز و متعهد شدن لمفوسیت‌های B از سلولهای بنیادی خونساز را منجر می‌شوند. که این عمل را با ترشح IL7 و SDF1 و برهمکنش VCAM-1 انجام می‌دهند.

مسیر پیام رسانی wnt تکثیر، بقا و نیمه عمر عملکردی استئوبلاست را تنظیم می‌کند و تنظیم کاهشی wnt منجر به القا آپوپتوزیس(مرگ برنامه ریزی شده سلول) در این سلول‌ها می‌شود. در