# باز برنامه‌ریزی سلول سوماتیک در مسیر پیشرفت به سمت ایجاد سلول بنیادی پرتوان القایی به عنوان مدل بیماری اسکلرودرمی

**فاضله رنجبر نیاول:** کارشناسی ارشد زیست شناسی تکوینی، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و فناوری سلول های بنیادی جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه سلول‌های بنیادی و زیست شناسی تکوینی، تهران، ایران. ranjbar.f12@gmail.com

**حسین بهاروند:** استاد، دکتری زیست شناسی تکوینی، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه سلول‌های بنیادی و زیست شناسی تکوینی، تهران، ایران. baharvand@royaninstitute.org

* **ناصر اقدمی:** استادیار، پزشکی عمومی، دکتری ایمنی شناسی پزشکی، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و فناوری سلول های بنیادی جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه زیست پزشکی ترمیمی، تهران، ایران (*نویسنده مسئول). nasser.aghdami@royaninstitute.org

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۲۵

**چکیده**

اسکلرودرمی به عنوان یکی از بیماری‌های خودایمنی با اهمیت است که منجر به مرگ سلول‌های اندوتلیال به عنوان رویداد اولیه، در این بیماری می‌شود. ترمیم بعد از از دست رفتن سلول‌های اندوتلیال در این بیماران مشاهده نشده و علت ایجاد آن تاکنون نامشخص باقیمانده است. توسعه درمان‌های موثر برای بسیاری از بیماری‌های روماتیسمی، نیازمند درک بهتر از مکانیسم آسیب‌شناسی درگیر در بیماری است و به دلیل تفاوت‌های فیزیولوژی، آناتومی و تکوینی که بین انسان و سایر گونه‌ها وجود دارد، یک مدل اسکلرودرمای حقیقی که بتواند همه جنبه‌های بیماری را نشان بدهد، تاکنون ایجاد نشده است. به همین دلیل، توسعه سیستم مدلی که بتواند نقص‌های تکوینی و مولکولی را ارزیابی کند و مکانیسم ترمیم احتمالی را توضیح دهد، به عنوان یک نیاز در نظر گرفته می‌شود. استفاده از سلول‌های اختصاصی خود بیمار به عنوان یک منبع بی حد و حصر برای بررسی بیشتر نقص‌های مولکولی در شرایط آزمایشگاه، شاید بتواند امیدهای تازه‌ای را برای توسعه روش‌های نوین درمانی در بیماران اسکلرودرمی بدهد.

**کلیدواژه‌ها:** اسکلرودرمی، بیماری روماتیسمی، سیستم مبتنی بر بیمار، نقص مولکولی، توسعه داروهای جدید

## مقدمه

اسکلرودرما یک بیماری پیچیده است که از ویژگی‌های اصلی آن می‌توان به تغییرات عروقی و اتو آنتی‌بادی‌ها علیه آنتی‌ژن‌های مختلف سلولی و فیبروز شدید اشاره کرد (۱). دو زیرگروه اصلی به‌طور رایج در طبقه‌بندی اسکلرودرما پذیرفته شده است:

۱. اسکلرودرمی با گرفتاری محدود پوستی

۲. اسکلرودرمی با گرفتاری منتشر پوستی (Cutaneous scleroderma diffuse) (۲).

میزان بروز اسکلرودرمی ۰/۳–۲/۸ نفر در ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال و که میزان شیوع آن ۱–۱۵ نفر در ۱۰۰۰۰۰ نفر می‌باشد. غلبه این بیماری در زنان با نسبت ۵ به ۱ به مردان دیده می‌شود. درمان‌های رایج شامل سرکوب‌کننده‌های سیستم ایمنی، مهارکننده‌های فسفودی استراز و آنزیم تبدیل‌کننده‌ی آنژیوتانسین، می‌توانند تا حدودی نشانه‌های بیماری را بهتر می‌کند ولی باوجود بهبود نشانه‌های آن برگشت‌پذیری وجود دارد و ترمیم آسیب‌های عروقی مشکل است (۳).

## اسکلرودرمی بیماری اندوتلیالی عروق کوچک

بیماری اسکلرودرمی با گستردگی آسیب به عروق کوچک و از دست رفتن اندوتلیال، فعال شدن پاسخ‌های ایمنی و پیشروی روند فیبروز بافتی شناخته شده است که پوست و اندام‌های داخلی مختلف از جمله قلب، ریه، کلیه و مجرای گوارشی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۴، ۵). علت ایجاد بیماری نامشخص باقی مانده است و تاکنون هیچ درمانی قادر به بهبودی کامل بیماری نبوده است. مجموعه یافته‌های آسیب‌شناختی و بالینی، آسیب و به دنبال آن فعال شدن و تغییر در ساختارهای عروقی را به‌عنوان یک رویداد اولیه و با

www.SID.ir

اهمیت در اسکلرودرمی نشان می‌دهند. شواهد حاکی از این است که آسیب به سلول‌های اندوتلیال عروق کوچک و مرگ برنامه‌ریزی‌شده (Apoptosis) آن در اوایل بیماری اتفاق می‌افتد و عدم ترمیم سلول‌های ازدست‌رفته منجر به افزایش نفوذپذیری عروق و ارتشاح سلول‌های تک‌هسته‌ای و پلاسمای خون محیطی به فضای اطراف عروق می‌گردد و باعث پیشبرد تکثیر سلول‌های عضله صاف و در نهایت باریک شدن مجرا و مسدود شدن عروق می‌گردد و کاهش جریان خون ناشی از آن منجر به پایداری کمبود اکسیژن بافتی می‌شود. فقدان مواد غذایی و کاهش اکسیژن در ادامه به نقص عملکردی اندام‌ها و آسیب آن‌ها کمک می‌کند (۶-۸). با پیشرفت بیماری، عروق خاصیت ارتجاعی خود را از دست داده و در ناحیه مدیا و آدوانتیس دچار فیبروز می‌شوند همراه با انسداد سرخرگ‌های کوچک و تجمع فعالیت پلاکت و رویدادهای تشکیل لخته، عوارض شدیدی را در اندام‌ها از جمله زخم انگشتان، قطع عضو، افزایش فشار سرخرگ‌های ریوی و عوارض کلیوی را به این بیماران تحمیل می‌کند (۶، ۹-۱۳). در شرایط فیزیولوژیک، کاهش اکسیژن بافتی (Hypoxia) روند رگ‌زایی (Angiogenesis) را تحریک می‌کند که به دنبال آن مویرگ‌های جدید از عروقی که از قبل وجود دارند، شکل می‌گیرند. هرچند علیرغم افزایش فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و سایر مولکول‌ها پیش رگ-زایی (Proangiogenic) در پوست و در سرم بیماران اسکلرودرمی، وضعیت به‌سوی از دست رفتن مویرگ‌های آسیب‌دیده سوق داده می‌شود (جدول ۱) (۷، ۱۴-۱۷). در

جدول ۱– فاکتور های پیش رگ زایی و ضد رگ زایی در اسکلرودرمی (۱۷)

| Type of mediator | Molecule |
|---|---|
| Pro-angiogenic | VEGF<br>FGF-2<br>PlGF<br>SDF-1/CXCL12<br>PDGF<br>TGF<br>ET-1<br>HGF<br>PAF<br>TNF<br>IGF<br>Angiopoietin-1<br>G-CSF<br>GM-CSF<br>Erythropoietin<br>MCP-1<br>Tissue kallikrein<br>Fractalkine/CX3CL1<br>IL-6<br>IL-8 |
| Anti-angiogenic | Angiostatin<br>Endostatin<br>Thrombospondin-1<br>FN-and<br>PTX3<br>L-12<br>Angiopoietin-2<br>Tissue inhibitors of metalloproteinases |

گذشته تصور بر این بود که آسیب دیدن روند رگ زایی و مرگ برنامه‌ریزی‌شده‌ی سلول‌های اندوتلیال بالغ مسئول غیرطبیعی بودن ساختارهای عروق کوچک در اسکلرودرمی است، هرچند سایر مطالعات در طی چندین سال اخیر معتقدند که آسیب روندترمیم و عروق‌زایی (Vasculogenesis) و تغییر در تعداد و نقص عملکردی سلول‌های پیش ساز اندوتلیال ( Endothelial Progenitor cells) گردش خون و متعهد نشدن سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal stem cells) مشتق از مغز استخوان به سمت رده اندوتلیالی ممکن است در از دست رفتن مویرگ و عروق کوچک دخیل باشند (۱۸، ۱۹).

## فیبروز در اسکلرودرمی

یکی از مهم‌ترین مشخصه‌های پاتولوژیکی و برجسته در شکل منتشر بیماری اسکلرودرمی فیبروز است (۲۷). روند فیبروز در پوست، ریه، سیستم گوارش، قلب تاندون‌ها، لیگامنت‌ها و به‌طور گسترده‌تری در اطراف عروق اتفاق می‌افتد و با مرگ‌ومیر در اسکلرودرمی مرتبط است (۲۸).

## سازوکارهای درگیر در اسکلرودرمی

آسیب عروقی اولین چیزی است که در اسکلرودرمی ظاهر می‌شود و یک نقش اساسی را در آسیب‌زایی اسکلرودرمی بازی می‌کند. واکنش‌های پیچیده‌ای میان سلول‌های اندوتلیال، پری سیت و سلول‌های عضله صاف در روند آسیب عروق سیستمیک درگیر می‌شوند (۲۰).

## ژنتیک در اسکلرودرمی

ژنتیک اسکلرودرمی پیچیده است و باوجود وراثتی بودن آن به صورت مدل مندلی به ارث نمی‌رسد. روش‌های مناسب برای یافتن لوکوس‌های ژنی مستعد پذیر کننده به ما اجازه می‌دهد که مسیرها و مکانیسم‌های جدید درگیر در بیماری را شناسایی کنیم، اما سایز کوچک نمونه‌های به‌دست‌آمده از بیماران و عدم وجود یک منبع نامحدود برای دسترسی به سلول‌های فرد بیمار به‌عنوان یک مانع مهم برای طراحی و تکرار داده‌های آزمایشگاهی به‌حساب می‌آید (۲۱). مطالعات مرتبط با ژنتیک به دنبال تعیین نوع ژنتیک مرتبط با بیماری هستند. در بیماری‌هایی که ازلحاظ فنوتیپی هتروژن است مانند اسکلرودرمی، تفسیر مطالعات مرتبط با ژنتیک باید توسط دستورالعمل‌های دقیق انجام شود. مطالعات اغلب با فقدان قدرت آماری کافی برای تولید نتایج قابل اعتماد و قابل تجدید به دلیل اندازه کوچک نمونه، طبقه‌بندی جمعیت و تفاوت در فنوتیپ بیماری مواجه هستند و ناتوانی در تکرار داده‌ها در سرتاسر گروه‌های مورد مطالعه تفاوت‌های زیستی واقعی را در جمعیت‌ها با زمینه ژنتیکی مختلف نشان می‌دهد.

## اهداف درمانی جدید در اسکلرودرمی

مطالعات گسترده‌تری برای شناخت مسیرهای پیام‌رسانی داخل سلولی، بیان ژن‌های ماتریکس خارج سلولی، نقص عملکردی آن‌ها و نیز فاکتورهایی که مسئول تمایز مستقیم سایر سلول‌ها به سلول‌های میوفیبروبلاست و تجمع پیش سازهای مشتق از گردش خون در بافت آسیب‌دیده هستند، برای اهداف درمانی جدید موردنیاز است. آنالیز ژنتیکی به‌منظور شناخت تعیین‌کننده‌هایی که بیماری را تحت تأثیر قرار می‌دهند و فرد را مستعد بروز فنوتیپ‌های بالینی می‌سازند، همچنین نیاز خواهد شد. درک صحیح از اسکلرودرمی به‌طور مطمئنی به دسترسی آسان شاخص‌های زیستی معتبر برای ارزیابی شدت و پیشروی بیماری و پاسخ‌های درمانی مناسب وابسته خواهد بود (۲۱).

## مدل‌های حیوانی اسکلرودرمی

مدل‌های حیوانی در فراهم کردن سرنخ‌هایی برای درک بیماری‌های مختلف و کشف تیمارهای جدید کاربرد دارند (۴). هیچ‌کدام از مدل‌های حیوانی اسکلرودرمی -خودبه‌خودی یا القایی - هر سه جز درگیر در بیماری یعنی آسیب عروق کوچک، التهاب و خود ایمنی و فیبروز را بازسازی نمی‌کنند (جدول ۲) (۲۰).

Archive of SID

جدول ۲- آسیب زایی اسکلرودرمی در انواع مدل های موشی بیماری (۲۰)

| Model | Reproduce key of SSc | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Vasculopathy | Inflamation | autoimmunity | fibrosis |
| **Naturally occuring spontaneous** | | | | |
| Tsk1/+ | - | - | + | + |
| Tsk2 | - | + | + | + |
| **induced** | | | | |
| bleomycin | - | + | - | + |
| GVHD I | + | + | - | + |
| GVHDII | + | + | + | + |
| **Transgenic** | | | | |
| DNTGF βRII | - | + | - | + |
| Conditional TGFβ RI | + | + | - | + |

## سیستم کشت سلول و ارزیابی عملکرد ژن

کشت سلول‌های پستانداران یک سیستم غربالگری مناسبی را برای عملکرد ژن متصور ساخت. فعالیت‌های سلولی متعدد از قبیل آپوپتوز، پیری و تمایز اختصاصی بافت می‌تواند در سیستم کشت سلول مطالعه شود. اطلاعات در پروژه ژنوم انسان با فقدان چگونگی عملکرد ژن همراه است و به‌سادگی نمی‌توان عملکردی را به ژنی خاص اختصاص داد. غربالگری ژنتیکی در موجودات مدل، ابزاری برای درک عملکرد ژن است. بعد از ایجاد محیط مناسب و پایدار برای رشد سلول‌های پستانداران در شرایط آزمایشگاه، زیست‌شناسی سلولی توانست دستخوش همانندسازی مستقل قرار بگیرد و ابزاری برای ژنتیک دانان محسوب شود (۲۲). به دلیل فاصله فیلوژنیک بین سایر موجودات مدل و انسان اغلب تعمیم نتایج از این سیستم به انسان ممکن نیست. نتیجه‌ی یک تغییر ژنتیکی ساده در موجود مدل حتی گاهی کشنده است. اما استفاده از سلول‌های پستانداران در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند بر این مشکل غلبه کند. سلول‌های انسانی اولیه در شرایط کشت طول عمر محدودی دارند و این امر با تحقیق در زمینه تشکیل بافت و ترمیم مخالفت می‌کند. در واقع بسیاری از سلول‌های انسانی به‌طور کامل برای رشد در شرایط آزمایشگاهی سازگار نمی‌شوند و فقدان روش‌های قابل‌دسترس به بافت‌های طبیعی و پاتولوژیک بسیاری از سؤالات با اهمیت در زمینه تکوین انسان و پاتوژنز بیماری را خارج از دسترس نشان می‌دهد. راه غلبه بر این مشکل چیست؟ سلول‌های بنیادی جنینی انسانی که از جنین‌های اضافی در کلینیک (In Vitro Fertilization: IVF) جدا می‌شوند دارای قدرت تکثیر نامیرا از سلول پرتوانی هستند که می‌تواند به همه‌ی سلول‌های داخل بدن تمایز پیدا کنند (۲۳، ۲۴). سلول‌های بنیادی جنینی انسانی به محققین اجازه می‌دهد تا تکوین اولیه‌ی انسان را از طریق روش‌های تمایزی در شرایط آزمایشگاهی به‌پیش ببرند. که جنبه‌ی گاسترولاسیون و ترمیم بافت را بازسازی می‌کنند. و آنالیز ژنتیکی تک بلاستومر نشان داد که جنین‌ها بیماری‌های ژنتیکی را با خود حمل می‌کنند و نمونه‌برداری از جنین می‌تواند رده سلول‌های بنیادی را به دست بدهد که مدل بیماری‌های تک ژنی باشد (۲۵). اما اکثریت بیماری‌ها الگوی ژنتیکی پیچیده‌تری از توارث را نشان می‌دهند و در این مخزن گنجانده نمی‌شوند. یک روش قابل‌ردیابی برای ایجاد کشت نامیرا سلول‌های بنیادی پرتوان از افراد بیمار است که نه‌تنها تحقیقات در زمینه بیماری را تسهیل می‌کند بلکه همچنین یک اساسی را برای درمان‌های سلولی اتولوگ و غربالگری داروها و

Archive of SID

اجتناب از رد سیستم ایمنی و تصحیح نقص‌های ژنتیکی پیش از ترمیم بافت ایجاد می‌کند.

## باز برنامه‌ریزی هسته سلول سوماتیک

یک راهکار برای تولید سلول‌های بنیادی پرتوان حاصله از بیماران انتقال هسته سلول سوماتیک (Transfer(SCNT: Somatic Cell Nuclear است. در این تکنیک نشان داده شد که سیتوپلاسم اووسیت می‌تواند هسته سلول دهنده را به وضعیت پرتوانی باز برنامه‌ریزی کند. کشف اینکه حیوانات می‌توانند از هسته سلول سوماتیک شبیه‌سازی شوند جرقه‌ای را در ذهن‌ها ایجاد کرد که سرانجام منجر به شناخت تعیین‌کننده‌های سیتوپلاسمی باز برنامه‌ریزی گردید (۲۶). علاوه بر آن سلول‌های (ES: Embryonic Stem) از بلاستوسیست با انتقال هسته سلول سوماتیک تولید شدند (۲۷). سلول‌های ES حاصل از تکنیک انتقال هسته Embryonic (Nuclear Transfer (NTES: Stem در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که توانایی تبدیل‌شدن به دودمان‌های سلولی مختلف از جمله نورون، خون و عضله قلبی را دارند. به دلیل آن‌که تکنیک انتقال هسته اجازه ایجاد سلول‌های ES را می‌دهد که به‌طور ژنتیکی همسان با فرد بیمار باشند به این تکنیک شبیه‌سازی درمانی (Therapeutic cloning) نیز اطلاق می‌گردد (۲۸). روشی که یک امکان جالب‌توجه برای درمان انبوهی از مشکلات پزشکی از قبیل بیماری‌های قلبی و عروقی، خونی، پارکینسون، آلزایمر و دیابت می‌دهد (۲۹). مطالعات در جهت باز برنامه‌ریزی سلول سوماتیک انسان هیچ نتیجه‌ای را در موفقیت تولید بلاستوسیست انسانی نداشت و سلول‌ها عموماً در مرحله ۴ تا ۸ سلولی متوقف می‌شدند (۳۰).

## رده سلول‌های بنیادی جنینی

به‌عنوان یک شاهد اولیه دیده شد که تک‌سلول تنها از سلول‌های ترتوما پرتوان هستند و قادرند سه لایه زاینده‌ی اصلی را تولید کنند (۳۱). ایجاد سلول‌های ES موشی توسط کافمن (۳۲) و ES انسانی توسط تامپسون (۳۳) توانست پیشرفت مفهومی و ابزاری ارزان را برای کشف عوامل باز برنامه‌ریزی کننده و ایجاد سلول بنیادی پرتوان القایی فراهم کند. سلول‌های ES حاصل از بلاستوسیست پستانداران، توانایی رشد را با حفظ وضعیت پرتوانی و نیز تمایز به سه لایه زایا دارا هستند (۳۲). این ویژگی‌ها منجر به انتظاراتی شد که سلول‌های hES ممکن است برای درک مکانیسم بیماری، غربالگری داروها، و حتی درمان بیماری‌های مختلف از جمله دیابت، آسیب نخاعی و غیره ... مفید باشند اما کاربرد جنین‌های انسانی علاوه بر این‌که با بحث‌های اخلاقی مواجه شد مشکلات رد پیوند را نیز به همراه داشت (۲۹). یک راه برای غلبه بر این موضوع تولید سلول پرتوان به‌طور مستقیم از سلول‌های خود بیمار بود. اگرچه خیلی از مدل‌های بیماری ژنتیکی انسانی با کاربرد hES گزارش شده‌اند اما آن‌ها در غربالگری داروها یا برای درک مکانیسم پاتوفیزیولوژی و مولکولی تحت بیماری ژنتیکی بهره‌برداری می‌شدند اما مشکلات تکنیکی در به دست آوردن و حفظ رده سلول‌های hES متعاقب روش تشخیص ژنتیکی پیش از لانه گزینی (Preimplantation genetic diagnosis: PGD) یا هدف‌گیری ژن (Gene targeting) روش جایگزینی را پیشنهاد می‌کند (۳۴). و به ای ترتیب در مطالعات گذشته نشان داده شد که تخمک بارور نشده و فاکتورهای محتوای ES می‌توانند همه توانی یا پرتوانی را به سلول سوماتیک اعطا کنند (۳۵).

## سلول‌های بنیادی پرتوان القایی

در سال ۲۰۰۶، تاکاشی و یاماناکا با فرض اینکه فاکتورهای با اهمیت در حفظ هویت سلول ES می‌توانند نقش حیاتی را در القا پرتوانی در سلول سوماتیک ایفا کنند، با کاربرد ۴ فاکتور منتخب در حفظ عملکرد پرتوانی شامل *Oct 4*، *Sox2*، *Klf4* و *c-Myc* و به کمک وکتورهای رتروویروسی، توانستند سلول سوماتیک را به‌سوی پرتوانی، القا و باز برنامه‌ریزی کنند. این سلول‌های باز برنامه‌ریزی‌شده، سلول بنیادی پرتوان القایی (Pluripotent Stem Cell: iPSc Induced) نامیده

Archive of SID

جدول ۳- سلول های iPS بدست آمده از بیماران با بیماری های ژنتیکی مختلف (۳۸)

| Name | Disease | Molecular Defect | Donor Cell | Age | Sex |
|---|---|---|---|---|---|
| ADA | ADA-SCID | GGG >AGG, exon 7 and Del(GAAGA) exon 10, *ADA* gene | Fibroblast | 3 M | Male |
| GD | Gaucher disease type III | AAC > AGC, exon 9, G-insertion, nucleotide 84 of cDNA, *GBA* gene | Fibroblast | 20 Y | Male |
| DMD | Duchenne muscular dystrophy | Deletion of exon 45–52, *dystrophin* gene | Fibroblast | 6 Y | Male |
| BMD | Becker muscular dystrophy | Unidentified mutation in *dystrophin* | Fibroblast | 38 Y | Male |
| DS1, DS2 | Down syndrome | Trisomy 21 | Fibroblast | 1 Y, 1 M | Male |
| PD | Parkinson disease | Multifactorial | Fibroblast | 57 Y | Male |
| JDM | Juvenile diabetes mellitus | Multifactorial | Fibroblast | 42 Y | Female |
| SBDS | Swachman-Bodian-Diamond syndrome | IV2 + 2T > C and IV3 – 1G > A, *SBDS* gene | Bone marrow mesenchymal cells | 4 M | Male |
| HD | Huntington disease | 72 CAG repeats, *huntingtin* gene | Fibroblast | 20 Y | Female |
| LNSc | Lesch-Nyhan syndrome (carrier) | Heterozygosity of *HPRT1* | Fibroblast | 34 Y | Female |

شد (۳۶، ۳۷) و تاکنون نیز بیماری‌های مختلفی با استفاده از سلول‌های iPS اختصاصی فرد بیمار مدل‌سازی شده‌اند (جدول ۳) (۳۸)؛ اما خطر ایجاد موتاسیون و تشکیل تومور به کاربرد وکتورهای رتروویروسی و الحاق ترانس ژن‌ها (مثل ژن‌های به رمز در آورنده‌ی فاکتورهای باز برنامه‌ریزی) به ژنوم میزبان در طی تولید iPS نسبت داده شده است (۳۹). هرچند بسیاری از شواهد امروزه وجود دارند که توانسته‌اند با استفاده از وکتورهای بی‌خطر بدون الحاق عوامل ژنتیکی بیگانه به داخل ژنوم میزبان سلول‌های iPS را تولید نمایند و از این طریق می‌توانند خطر جهش‌زایی و تومورزایی را به حداقل رساند. برای مثال کاربرد آدنوویروس‌های غیر الحاق شونده و وکتورهای پلاسمیدی ناپایدار (Transient plasmid vector) (۴۰، ۴۱)، پلاسمید اپی زومی (۴۲) و ترانسپوزون (۴۳، ۴۴) در تولید iPS بررسی شده است و چندین شواهد متقاعدکننده نیز برای کاربرد پروتئین‌های نوترکیب (۴۵) یا عوامل دارویی مشخص (۴۶) که می‌توانند روند باز برنامه‌ریزی را القا کنند، در دسترس است. سؤال مهم این است که آیا به مدل‌های بیماری‌های ژنتیکی بر پایه سلول‌های بنیادی پرتوان انسانی نیاز داریم؟ آیا مدل‌های بیماری‌های ژنتیکی انسانی نمی‌توانند با سلول‌های اولیه از بیماران یا توسط انتقال ژن در رده سلولی انسانی نامیرا تغییر شکل یافته ایجاد شوند؟ آیا مدل‌های حیوانی با جهش به صورت هدف‌گیری ژنی یا نژاد موشی خودبه‌خود جهش‌یافته نمی‌توانند به‌عنوان مدل بیماری اسکلرودرمی در نظر گرفته شوند؟ با توجه به اینکه تظاهرات بالینی برای آسیب ژنتیکی یکسان بین انسان و حیوانات مدل ممکن است متفاوت باشد و محدودیت دسترسی به سلول‌های موردنظر از فرد بیمار و کافی نبودن مقدار سلول به‌دست‌آمده برای مطالعات بالینی، سلول‌های بنیادی پرتوان انسانی نه‌تنها مزیت داشتن ژن‌های اختصاصی خود بیمار را پیشنهاد می‌کنند بلکه همچنین می‌توانند هویت خود نوزایی نیز داشته باشند که این امر به‌منظور دسترسی به منبع نامحدود (Limitless) از سلول‌های فرد بیمار مناسب است و در هر زمان می‌توانند به هر نوع سلول حقیقی تمایز یابند (۴۷). اگرچه از مدل‌های حیوانی، موش‌ها به دلیل توالی یابی کامل ژنوم و ایجاد تکنیک‌های دستکاری ژنتیکی، موجودات مدل منتخب برای مطالعه بیماری‌های ژنتیکی انسانی هستند، اما ازلحاظ آناتومی، فیزیولوژی و تکوین با انسان متفاوتند. در حقیقت بسیاری از ژن‌های انسان ارتولوگ حقیقی در موش ندارند. بنابراین یک ارتباط روشن بین ژنوتیپ و فنوتیپ حتی باوجود پیچیده‌ترین ابزارها مثل ناک اوت کردن ژن و تولید موش‌های ترانس ژن غیرمحتمل به نظر می‌رسد. اما در دسترس بودن تکنولوژی برای به دست آوردن و کشت سلول‌های بنیادی پرتوان انسانی یک ابزاری را برای مطالعه بیماری‌های ژنتیکی در انسان پیشنهاد می‌کند.از زمانی که سلول hES و همچنین سلول hiPS می‌توانند

Archive of SID

به‌سوی مسیرهای تکوینی القا شوند، در حقیقت هر مرحله از تمایز می‌تواند بررسی شود (۴۸).

## بحث و نتیجه‌گیری

مدل‌های حیوانی به‌عنوان ابزاری برای درک بیولوژی بیماری‌های انسانی استفاده می‌شدند، اما به علت تفاوت‌های گونه‌ای از جمله تفاوت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تعمیم نتایج به انسان و ارزیابی صحیح آن را با محدودیت مواجهه می‌سازند بنابراین نیاز به داشتن سیستم‌های مدل جدید جهت مطالعه بیماری‌های پیچیده انسانی از جمله سیستمیک اسکلروزیس امری اجتناب‌ناپذیر است (۳۸، ۴۹، ۵۰). سلول‌های بنیادی پرتوان القایی حاصله از بیماران، به علت دارا بودن ویژگی‌های آسیب‌زایی و ژنتیک بیماری و همچنین تکثیر زیاد در شرایط آزمایشگاهی در سال‌های اخیر به‌عنوان مدلی مناسب و در دسترس در نظر گرفته می‌شود، هرچند که کاربرد این سلول‌ها در مدل‌سازی بیماری‌ها و توسعه داروها در مراحل ابتدایی است اما امید است مدل‌سازی‌های آینده با استفاده از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی در بیماری‌ها، بتواند به درک بیشتری از ارتباط سلولی متقابل بین بافت‌ها و اندام‌ها در شرایط آزمایشگاهی و توسعه روش‌های نوین درمانی منجر شود.

## منابع


1. Ates Ö, Müsellim B, Öngen G, Topal-Sarıkaya A. Analysis of TNF Polymorphisms in Turkish Systemic Sclerosis Patients with Interstitial Lung Involvement. Biochemical Genetics. 2008;46(11-12):696-701.
2. LeRoy EC BC, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA Jr, Rowell N, Wollheim F. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. The Journal of rheumatology. 1988.
3. Kahaleh B. Vascular Disease in Scleroderma: Mechanisms of Vascular Injury. Rheumatic Disease Clinics of North America. 2008;34(1):57-71.
4. Varga J, Abraham D. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder. The Journal of Clinical Investigation. 2007;117(3):557-67.
5. Jimenez SA, Derk CT. Following the Molecular Pathways toward an Understanding of the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. Annals of Internal Medicine. 2004;140(1):37-50.
6. Guiducci S, Giacomelli R, Cerinic MM. Vascular complications of scleroderma. Autoimmunity Reviews. 2007;6(8):520-3.
7. MB K. Vascular involvement in systemic sclerosis (SSc). Clinical and experimental rheumatology. 2004.
8. LeRoy EC. SYSTEMIC SCLEROSIS: A Vascular Perspective. Rheumatic Disease Clinics of North America. 1996;22(4):675-94.
9. Rodnan GP, Myerowitz RL, Justh GO. Morphologic Changes in the Digital Arteries of Patients with Progressive Systemic Sclerosis (Scleroderma) and Raynaud Phenomenon. Medicine. 1980;59(6):393-408.
10. MR AS. Pulmonary arterial histology and morphometry in systemic sclerosis: a case-control autopsy study. The Journal of rheumatology. 1989.
11. Cool CD, Kennedy D, Voelkel NF, Tuder RM. Pathogenesis and evolution of plexiform lesions in pulmonary hypertension associated with scleroderma and human immunodeficiency virus infection. Human pathology. 1997;28(4):434-42.
12. Penn H, Howie AJ, Kingdon EJ, Bunn CC, Stratton RJ, Black CM, et al. Scleroderma renal crisis: patient characteristics and long-term outcomes. QJM. 2007;100(8):485-94.
13. Rhew E, Barr W. Scleroderma renal crisis: New insights and developments. Current Rheumatology Reports. 2004;6(2):129-36.
14. Koch A, Distler O. Vasculopathy and disordered angiogenesis in selected rheumatic diseases: rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. Arthritis Research & Therapy. 2007; 9(Suppl 2):S3.
15. Kahaleh B. Progress in research into systemic sclerosis. The Lancet. 2004;364(9434):561-2.
16. Distler O, Distler JHW, Scheid A, Acker T, Hirth A, Rethage J, et al. Uncontrolled Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptors Leads to Insufficient Skin Angiogenesis in Patients With Systemic Sclerosis. Circulation Research. 2004;95(1):109-16.
17. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. Nat Med. 1995;1(1):27-31. Epub 1995/01/01.
18. Distler JHW, Beyer C, Schett G, Lüscher TF, Gay S, Distler O. Endothelial progenitor cells: Novel players in the pathogenesis of rheumatic diseases. Arthritis & Rheumatism. 2009; 60(11): 3168-79.
19. Cipriani P, Guiducci S, Miniati I, Cinelli M, Urbani S, Marrelli A, et al. Impairment of endothelial cell differentiation from bone marrow–derived mesenchymal stem cells: New insight into the pathogenesis of systemic sclerosis. Arthritis & Rheumatism. 2007;56(6):1994-2004.


Archive of SID

Science. 2005;309(5739):1369-73.
36. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. Cell. 2006;126(4):663-76.
37. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. Cell. 2007;131(5):861-72.
38. Park IH, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, et al. Disease-Specific Induced Pluripotent Stem Cells. Cell. 2008;134(5):877-86.
39. Soejitno A, Prayudi PKA. The prospect of induced pluripotent stem cells for diabetes mellitus treatment. Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism. 2011;2(5):197-210.
40. Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of Mouse Induced Pluripotent Stem Cells Without Viral Vectors. Science. 2008;322(5903):949-53.
41. Okita K, Hong H, Takahashi K, Yamanaka S. Generation of mouse-induced pluripotent stem cells with plasmid vectors. Nature protocols. 2010;5(3):418-28.
42. Yu J, Hu K, Smuga-Otto K, Tian S, Stewart R, Slukvin II, et al. Human Induced Pluripotent Stem Cells Free of Vector and Transgene Sequences. Science. 2009;324(5928):797-801.
43. Kaji K, Norrby K, Paca A, Mileikovsky M, Mohseni P, Woltjen K. Virus-free induction of pluripotency and subsequent excision of reprogramming factors. Nature. 2009;458(7239):771-5.
44. Woltjen K, Michael I, Mohseni P, Desai R, Mileikovsky M, Hamalainen R, et al. piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. Nature. 2009;458(7239):766-70.
45. Zhao XY, Li W, Lv Z, Liu L, Tong M, Hai T, et al. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. Nature. 2009; 461(7260):86-90.
46. Anastasia L, Pelissero G, Venerando B, Tettamanti G. Cell reprogramming: expectations and challenges for chemistry in stem cell biology and regenerative medicine. Cell death & differentiation. 2010;17(8):1230 - 7.
47. Mackay-Sim A, Silburn P. Stem cells and genetic disease. Cell Proliferation. 2008;41:85-93.
48. Ben-Nun IF, Benvenisty N. Human embryonic stem cells as a cellular model for human disorders. Molecular and Cellular Endocrinology. 2006;252(1–2):154-9.
49. Sothern R, Gruber S. Further Commentary: Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans. Pharmaceutical Research. 1994; 11(2):349-50.
20. Yamamoto T. Animal model of systemic sclerosis. The Journal of Dermatology. 2010; 37(1):26-41.
21. Agarwal SK, Tan FK, Arnett FC. Genetics and Genomic Studies in Scleroderma (Systemic Sclerosis). Rheumatic diseases clinics of North America. 2008;34(1):17-40.
22. Aravind L, Dixit VM, Koonin EV. Apoptotic Molecular Machinery: Vastly Increased Complexity in Vertebrates Revealed by Genome Comparisons. Science. 2001;291(5507):1279-84.
23. Murry CE. Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: lessons from embryonic development. Cell. 2008;132:661-80.
24. Lerou PH. Human embryonic stem cell derivation from poor-quality embryos. Nature Biotechnology. 2008.
25. Verlinsky Y, Strelchenko N, Kukharenko V, Rechitsky S, Verlinsky O, Galat V, et al. Human embryonic stem cell lines with genetic disorders. Reproductive BioMedicine Online. 2005;10(1):105-10.
26. Rideout WM, Hochedlinger K, Kyba M, Daley GQ, Jaenisch R. Correction of a Genetic Defect by Nuclear Transplantation and Combined Cell and Gene Therapy. Cell. 2002;109(1):17-27.
27. Kawase E, Yamazaki Y, Yagi T, Yanagimachi R, Pedersen RA. Mouse embryonic stem (ES) cell lines established from neuronal cell-derived cloned blastocysts. Genesis (New York, NY: 2000). 2000;28(3-4):156-63.
28. Vogelstein B, Alberts B, Shine K. Please Don't Call It Cloning! Science. 2002;295(5558): 1237.
29. Colman A, Kind A. Therapeutic cloning: concepts and practicalities. Trends in Biotechnology. 2000;18(5):192-6.
30. Egli D, Rosains J, Birkhoff G, Eggan K. Developmental reprogramming after chromosome transfer into mitotic mouse zygotes. Nature. 2007;447(7145):679-85.
31. Kleinsmith LJ, Pierce GB. Multipotentiality of Single Embryonal Carcinoma Cells. Cancer Research. 1964;24(9):1544-51.
32. Evans MJ. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature. 1981;292:154-6.
33. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. Science. 1998;282(5391):1145-7.
34. Raya A, Rodríguez-Pizà I, Guenechea G, Vassena R, Navarro S, Barrero MJ, et al. Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. Nature. 2009;460(7251):53-9.
35. Cowan CA, Atienza J, Melton DA, Eggan K. Nuclear Reprogramming of Somatic Cells After Fusion with Human Embryonic Stem Cells.

Archive of SID

50. Mattis VB, Ebert AD, Fosso MY, Chang C-W, Lorson CL. Delivery of a read-through inducing compound, TC007, lessens the severity of a spinal muscular atrophy animal model. Human Molecular Genetics. 2009;18(20):3906-13.

Archive of SID

# Somatic cell reprogramming on the progress road toward establishment of induced pluripotent stem cell as a scleroderma disease model

**Fazeleh Ranjbar Niavol**, MSc, Developmental Biology, Department of Stem Cells and Developmental Biology at Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran. ranjbar.f12@gmail.com
**Hossein Baharvand**, PhD, Professor of Developmental Biology, Head of Department of Stem Cells, Royan Institute, Department of Stem Cells and Developmental Biology at Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran. baharvand@royaninstitute.org
***Nasser Aghdami**, MD, PhD, Assistant Professor of Medical Immunology and Head of Department of Regenerative Medicine, Department of Regenerative Biomedicine at Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran (* Corresponding author). nasser.aghdami@royaninstitute.org

Archive of SID

## Abstract
Scleroderma as one of the important autoimmune diseases, leads to death of endothelial cells as of the early events of this disease. The lack of repair after the loss of endothelial cells is observed in these patients though its cause has remained unknown. The development of effective treatments for many rheumatoid diseases requires a better understanding of the pathophysiological mechanisms involved in the disease. Because of physiological and anatomical and developmental differences between human and other species, a proper scleroderma animal model which represents all aspects of the disease has not been generated yet. Thus, making a patient-based system to mimic a developmental defect and evaluating its probable repair mechanism is considered as a necessity. For this reason, development of a model system as an evaluation tool to show molecular and developmental defects and also to explain the possible repair mechanism is deemed necessary. Like other studies using patient-specific cell as a limitless source could provide new hope for development of novel therapeutic approaches for patients with scleroderma.

**Keywords**: Scleroderma, Autoimmune diseases, Patient-base system, Molecular and developmental defects, Novel therapeutics