مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجـان
دوره ۱۴، شماره ۵۸، بهار ۱۳۸۶، صفحات ۴۰ تا ۳۲

استفاده از سلول بنیادی مزانشیمی در درمان: کیفیت یا کمیت؟

ناصر احمدبیگی‌لاهیجانی*، دکتر یوسف مرتضوی، دکتر مسعود سلیمانی***، آزاده امیدخدا******

نویسنده‌ی مسئول: زنجان، دانشکده‌ی پزشکی، گروه آسیب‌شناسی ymort@yahoo.com

دریافت: ۸۶/۲/۳۱ پذیرش: ۸۶/۴/۲۱

چکیده

سابقه و هدف: *امروزه سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) از بافت‌های مختلف انسانی از جمله مغزاستخوان جدا می‌گردند. این سلول‌ها قدرت تکثیر نسبتا بالایی داشته و به رده‌های مختلف سلولی با منشأ مزودرمی و غیرمزودرمی تمایز پیدا می‌کنند و از این‌رو، امیدهایی را در درمان بیماری‌های مختلف به وجود آورده‌اند.*

خصوصیات منحصر به فرد این سلول‌ها همانند منبع قابل دسترس، جداسازی راحت، تکثیر سریع، توانایی مهاجرت به بافت‌های آسیب دیده سبب شده است تا از این سلول‌ها در درمان بیماری‌ها و مهندسی بافت استفاده گردد. فراوانی کم این سلول‌ها در بدن و نیاز به تعداد زیاد آن‌ها در مصارف بالینی، تکثیر آن‌ها را در محیط آزمایشگاه اجتناب‌ناپذیر می‌سازد، اما تکثیر بیش از حد سلول‌ها قبل از پیوند می‌تواند منجر به پیری آن‌ها شده و ممکن است عوارض نامطلوبی را پس از پیوند برای بیمار در پی داشته باشد.

روش بررسی: *سلول‌های بنیادی مزانشیمی از آسپیره‌ی مغزاستخوان انسانی جدا و کشت داده شدند پس از پاساژ اول، برخی مارکرهای سطحی سلولی و قدرت تمایز آن‌ها مورد ارزیابی قرارگرفت و پاساژ سلول‌ها تا نقطه‌ی توقف رشد ادامه یافت، سپس با تکنیک ساترن بلات پس از پاساژهای متعدد تغییرات طول تلومر، به عنوان نشان‌گر پیری در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.*

یافته‌ها: *نتایج نشان می‌دهد رابطه‌ی مستقیمی بین تکثیر سلول‌ها و کاهش طول تلومر وجود دارد؛ در اکثر نمونه‌ها طول تلومر پس از میانگین ۹ پاساژ به اندازه‌ی ۱کیلوباز (kb) کاهش پیدا کرد که این امر نشان‌دهنده‌ی پیری این سلول‌ها به دلیل تکثیر زیاد در محیط in vitro می‌باشد.*

نتیجه‌گیری: *توصیه می‌نماییم برای استفاده از MSCs در مصارف بالینی بهتر است از پاساژهای اولیه استفاده شود. اگرچه تعداد این سلول‌ها در پاساژهای اولیه خیلی زیاد نیست ولی توانایی تکثیر، تمایز و لانه‌گزینی آن‌ها حفظ شده و احتمال این‌که این تعداد کم، پتانسیل ترمیم بافت را داشته باشند بیشتر از سلول‌های زیاد در پاساژهای انتهایی می‌باشد.*

واژگان کلیدی: سلول‌های بنیادی مزانشیمی، طول تلومر، پیری سلولی

مقدمه

یکی از انواع سلول‌های بنیادی غیرخون‌ساز موجود در مغزاستخوان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌باشد. این سلول‌ها توانایی تمایز به رده‌های مختلف سلولی با منشا مزودرمی و غیرمزودرمی را دارا بوده و به همین دلیل گزینه‌ی

* کارشناس ارشد هماتولوژی، دانشگاه تربیت مدرس
** دکترای تخصصی هماتولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان
*** دکترای تخصصی هماتولوژی، استادیار دانشکده علوم پزشکی تربیت مدرس
**** کارشناس ارشد هماتولوژی، دانشگاه تربیت مدرس

Archive of SID
www.SID.ir

مناسبی جهت مصارف درمانی به شمار می‌آیند. این سلول‌ها مارکرهای سطحی CD120a, CD106, CD90, CD71, CD44, CD29, SH3, SH2 را بیان کرده و فاقد مارکرهای سلول‌های بنیادی هماتوپوتیک ازقبیل CD34، CD14 و D45 می‌باشند (۳-۱). خصوصیات منحصر به فرد این سلول‌ها همانند منبع قابل دسترس، جداسازی راحت، تکثیر سریع و توانایی مهاجرت به بافت‌های آسیب‌دیده سبب شده است تا از این سلول‌ها در درمان بیماری‌ها و مهندسی بافت استفاده گردد. فراوانی کم این سلول‌ها در بدن و نیاز به تعداد زیاد آن‌ها در مصارف بالینی، تکثیر آن‌ها را در محیط آزمایشگاه اجتناب‌ناپذیر ساخته است (۵-۴). از این رو به منظور استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در درمان، اولا تعداد آن‌ها باید نسبتا زیاد باشد و ثانیا پس از پیوند توانایی تکثیر، تمایز و لانه‌گزینی خود را حفظ نمایند تا بتوانند به عنوان جایگزین سلول‌های از دست‌رفته، بافت آسیب‌دیده را ترمیم نمایند.

مطالعات قبلی حکایت از آن دارد که با تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی در محیط آزمایشگاه توانایی تکثیر، تمایز و لانه‌گزینی آن‌ها به تدریج کاهش می‌یابد؛ بنابراین این امکان وجود دارد که تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی، کیفیت این سلول‌ها را جهت مصارف درمانی تحت تأثیر قراردهد (۷،۶). از طرف دیگر، توانایی تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی به حفظ عملکرد تلومر وابسته می‌باشد. تلومر توالی تکراری از نوکلئوتیدهای GTTAGGG می‌باشد که در انتهای کروموزوم انسانی وجود دارد و انتهای کروموزوم را از تجزیه شدن و نوترکیبی محافظت می‌کند.

در سلول‌های سوماتیک با هر تقسیم سلولی، تعدادی از این توالی‌ها کاهش می‌یابد و در نتیجه پتانسیل تکثیری این سلول‌ها به مرور زمان محدود می‌گردد (۸). از طرف دیگر برخی از سلول‌ها از قبیل سلول‌های سرطانی و سلول‌های جنینی قادر به حفظ طول تلومر به واسطه‌ی وجود آنزیم تلومراز می‌باشند، به این معنی که کاهش توالی‌های تلومر ناشی از تکثیر در این سلول‌ها توسط آنزیم تلومراز جبران می‌شود (۱۰، ۹). در ضمن برخی از سلول‌های بنیادی از قبیل سلول‌های بنیادی پوست، روده و سیستم خون‌ساز حاوی مقادیر کم تا متوسطی از آنزیم تلومراز می‌باشند. اما مطالعات انجام شده، حاکی از آن است که سلول‌های بنیادی مزانشیمی فاقد آنزیم تلومراز بوده و همین امر سبب کاهش در طول تلومر و فعالیت تکثیری این سلول‌ها پس از تکثیر زیاد می‌شود (۱۴-۱۱). از این رو ما در این مطالعه، تغییرات طول تلومر در سلول‌های بنیادی مزانشیمی را در پاساژهای متعدد، مورد ارزیابی قراردادهایم.

روش بررسی

کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal Stem Cells [MSCs]) تعداد ۱۰ نفر اهداکننده‌ی مغزاستخوان در طیف سنی ۲ تا ۴۰ سال (۲ ± ۱۵) انتخاب شدند و ۱۰ میلی‌لیتر نمونه‌ی مغزاستخوان از آن‌ها گرفته شد. سلول‌های تک‌هسته‌ای به کمک فایکول جدا گردیده و ۲ بار با PBS-EDTA شست‌وشو داده شدند. در مرحله‌ی بعد سلول‌های تک‌هسته‌ای جداشده، شمارش شده و به نسبت یک تا دو میلیون سلول به ازای هر سانتی‌متر از کف فلاسک کشت داده شدند. برای این منظور از محیط کشت DMEM به همراه ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) (Gibco، آمریکا) استفاده شد.

پس از ۳ روز سلول‌های غیرچسبنده به فلاسک، به کمک بافر PBS شسته و حذف شدند و از این پس هر سه روز یک‌بار با محیط فوق‌الذکر تعویض محیط انجام شد. بعد از ۱۰ تا ۱۴ روز که تراکم سلولی کف فلاسک به ۸۰ درصد رسید، سلول‌ها با آنزیم تریپسین ۰/۵ درصد به همراه EDTA ۵ میلی‌مولار، از کف فلاسک جدا گردیدند. ۶۵ درصد از سلول‌های جداشده، برای محاسبه‌ی طول تلومر فریز گردیده و باقی‌مانده جهت پاساژ بعدی به فلاسک جدید منتقل شدند

Archive of SID

www.SID.ir

و این عمل تا جایی که سلول‌ها قدرت تکثیر و پرکردن فلاسک را داشتند، تکرار گردید. به منظور تأیید هویت این سلول‌ها از مارکرهای CD105, CD166, Stro1 و تمایز به سلول‌های چربی و استخوان استفاده گردید.

ایمنوفنوتایپینگ: تعداد ۲۰۰۰۰۰ سلول در لوله‌های فالکون ریخته و به هر کدام ۱۰۰ میکرولیتر سرم رت ۳ درصد اضافه نموده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سلول‌ها با ۵۰۰ میکرولیتر بافر شست‌وشو حاوی یک میلی‌لیتر FBS درصد میلی‌لیتر PBS شسته شدند و پس از سانتریفوژ g ۴۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند، سپس با آنتی‌بادی‌های اولیه Stro1 ،CD166 ،CD73 ،CD34 و CD 45 کونژوگه با فلورسنس ایزوتیوسیانات (FITC) (Ebioscience) یا فیکواریترین (PE) انکوبه گردیدند. برای کنترل منفی، سلول‌ها با آنتی بادی‌های PE-IgG2a, IgG2b و FITC-IgG2a, IgG2b انکوبه شدند. در مرحله‌ی بعد سلول‌ها پس از شست‌وشو به مدت ۱۰ دقیقه با g ۴۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس به سلول‌ها بافر فیکس‌کننده (پارافرم‌آلدهید یک درصد و FBS یک درصد در PBS) اضافه شد و سلول‌ها با دستگاه فلوسایتومتری (Becton Dickenson) و نرم افزار WinMDI آنالیز گردیدند.

تمایز به سلول‌های استخوان و چربی: به منظور اثبات ماهیت مزانشیمی سلول‌های مورد بررسی در این مطالعه از خاصیت تمایز به استخوان و چربی استفاده شد. برای اثبات تمایز به سلول‌های استخوانی از رنگ‌آمیزی آلیزارین رد و برای سلول‌های چربی از رنگ‌آمیزی اویل‌رد استفاده شد.

محاسبه‌ی طول تلومر: به منظور تعیین طول تلومر از کیت، Telo TAGGG Telomere length assay (روش، آلمان) استفاده گردید. مراحل کار برطبق پروتکل موجود در کیت انجام شد که به طورخلاصه شامل جداسازی DNA ژنومی از سلول‌های پاساژهای مختلف، هضم DNA غیرتلومری با کمک آنزیم‌های محدودالاثر HinfI، RsaI الکتروفوز DNA برروی ژل ۰/۸ درصد آگارز و انتقال باندهای تشکیل‌شده از روی ژل آگارز به روی غشای نایلونی از طریق تکنیک ساترن بلات می‌باشد. سپس قطعات تلومری با پروب اختصاصی نواحی تلومری که با دیگوکسیجنین ([digoxigenin [DIG)متصل شده‌اند، هیبرید شدند و با آنتی‌بادی ضد DIG که متصل به آلکالن فسفاتاز می‌باشد، مجاور گردیدند. آلکالن فسفاتاز با تأثیر بر روی سوبسترا، سبب ایجاد لکه بر روی فیلم حساس به کمولومینسانس می‌شود. پس از تماس غشای نایلونی حاوی باندهای مربوطه با فیلم حساس به کمولومینسانس، لکه‌های تیره‌رنگی روی فیلم ایجاد می‌شود. سپس از این فیلم اسکن تهیه شده و به رایانه منتقل می‌گردید و به کمک نرم‌افزار Multianalizer(Biorad) طول تلومر هر باند به صورت کمی محاسبه شد.

یافته‌ها

تعداد ۱۰ نفر دهنده‌ی داوطلب مغزاستخوان انتخاب گردیده و از هر کدام ۱۰ میلی‌لیتر نمونه‌ی مغزاستخوان گرفته شد. سپس توسط سلول‌های سانتریفوژ تک‌هسته‌ای از این نمونه‌ها توسط فایکول جدا گردیده و کشت داده شدند. نتایج در سه بخش طبقه‌بندی گردید:

نتایج حاصل از تأیید سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs):

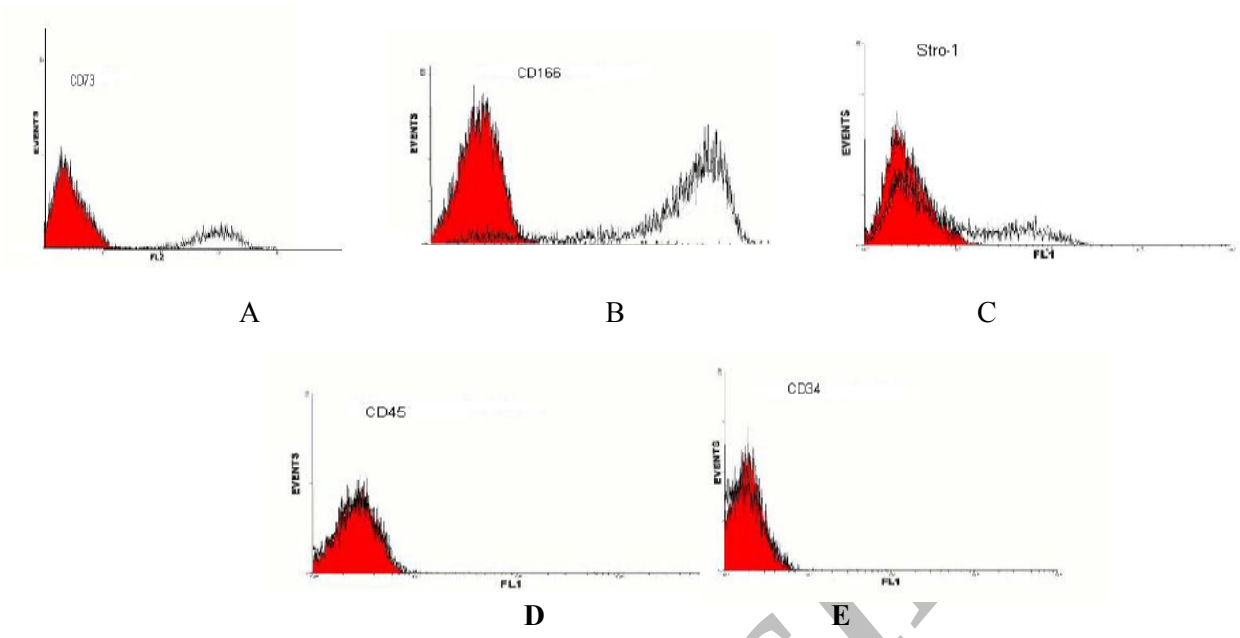
به منظور تأیید سلول‌های بنیادی مزانشیمی از ایمنوفنوتایپینگ و تمایز به رده‌های چربی و استخوان استفاده گردید.

الف. ایمنوفنوتایپینگ:

به منظور تأیید سلول‌های بنیادی مزانشیمی در پاساژ دوم، فلوسایتومتری انجام گرفت. نتایج نشان داد که این سلول‌ها (سلول‌های جداشده) MSCs می‌باشند زیرا مارکرهای CD73، CD166وStro1 آن‌ها مثبت و CD45 و CD34 آن‌ها منفی بود (شکل۱).

Archive of SID

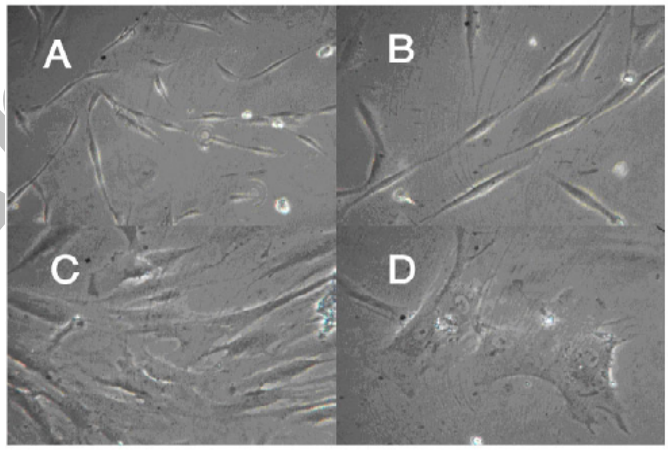
www.SID.ir



شکل۱: بررسی مارکرهای سطح سلول توسط روش فلوسایتومتری. A. نشان‌دهنده‌ی CD73 مثبت، B. نشان‌دهنده‌ی CD166 مثبت، C. نشان‌دهنده‌ی stro 1 مثبت، D. نشان‌دهنده‌ی CD45 منفی و E. نشان‌دهنده‌ی CD 34 منفی می‌باشد. منحنی تیره‌رنگ مربوط به سلول‌های کنترل منفی است.

ب. تمایز: در این مرحله سلول‌های مزانشیمی به سلول‌های چربی و استخوان تمایز داده شدند و توسط رنگ‌آمیزی اختصاصی وجود این سلول‌ها تأیید گردید.

نتایج حاصل از کشت MSCs: در تمامی نمونه‌ها شکل سلول‌ها در پاساژهای ابتدایی دوکی و در زمان پرکردن فلاسک کوتاه بود، اما با گذشت زمان و با افزایش تعداد پاساژها سلول‌ها از حالت دوکی خارج شده و به صورت پهن درآمدند و زمان پرکردن فلاسک نیز افزایش یافت (شکل۲) (جدول ۱).



شکل۲: الگوی رشد MSCs پیر و جوان در محیط کشت: A و B سلول‌های مزانشیمی جوان، C و D نشان‌دهنده‌ی سلول‌های مزانشیمی پیر می‌باشند.

Archive of SID
www.SID.ir

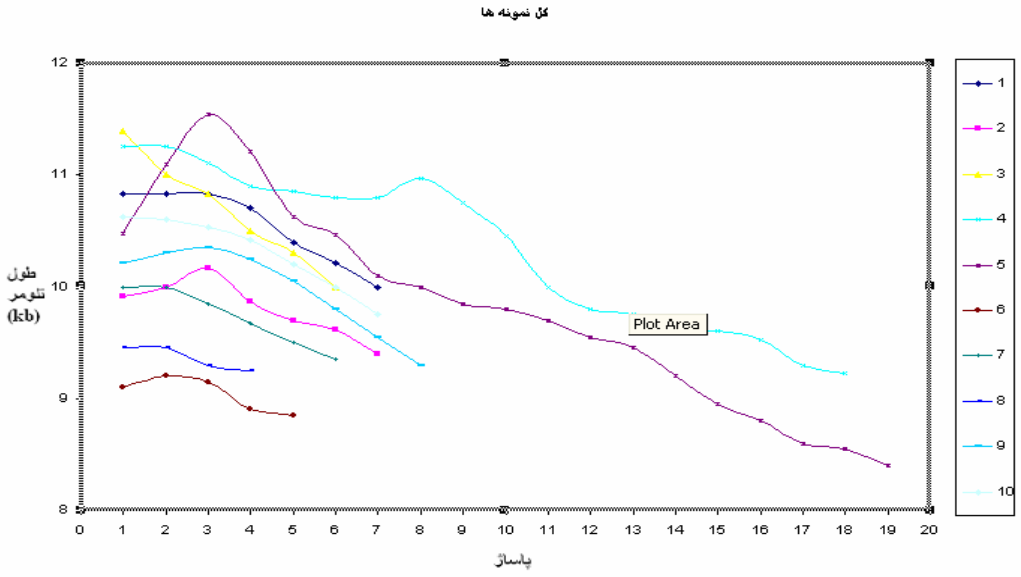
از نظرتعداد پاساژ انجام‌شده، نمونه‌ها در دو گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل ۸ نمونه با طیف سنی ۲ تا۴۰ سال که حداکثر تا ۹ پاساژ جلو رفتند و گروه دوم، دو نمونه که سلول‌های حاصل از آن‌ها تا بیش از ۱۶ پاساژ جلو رفتند (جدول ۱).

جدول ۱: خصوصیات کشت سلول‌های MSCs با تکثیر زیاد و کم

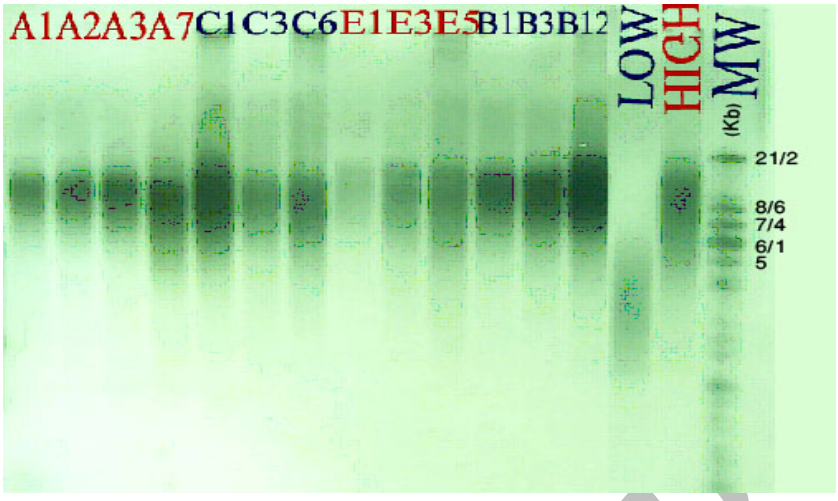
خصوصیات	MSCs با تکثیرزیاد تعداد (۲) نمونه	MSCs با تکثیرکم تعداد (۸) نمونه
میانگین طول تلومر در پاساژ اول (kb)	۱۰/۸۶±۰/۵۵	۱۰/۱۹±۰/۱۴
میانگین طول تلومر در پاساژ آخر (kb)	۸/۸۱ ±۰/۵۸	۹/۵۱ ±۰/۱۷
اختلاف طول تلومر پاساژ اول نسبت به پاساژ آخر (kb)	۲/۰۵	۰/۶۸
میانگین تعداد پاساژ در نقطه‌ی توقف رشد	۱۸/۵±۰/۷	۷ ±۰/۷
زمان جهت پرکردن فلاسک در پاساژ اول (روز)	۴ ± ۱/۴	۴ ± ۱/۴
زمان جهت پرکردن فلاسک در پاساژ آخر (روز)	۱۸ ± ۲/۵	۱۸ ± ۲/۵
مدت زمان تکثیرتا رسیدن به نقطه‌ی توقف رشد(روز)	۲۴۰	۱۱۰
طیف سنی (سال)	۲-۳	۲-۳۵

نتایج حاصل از محاسبه‌ی طول تلومر: محاسبه‌ی طول تلومر در پاساژهای مختلف هر نمونه نشان از کاهش طول تلومر آخرین پاساژ نسبت به اولین پاساژ داشت و این کاهش بیشتر در پاساژهای انتهایی دیده شد (جدول ۱). نکته‌ی قابل توجه آن بود که در پاساژهای ابتدایی طول تلومر ثابت بوده یا حتی کمی افزایش را نشان داد و کاهش طول تلومر بیشتر در پاساژهای انتهایی دیده شد. آستانه‌ای از طول تلومر که توقف رشد در آن صورت گرفت در نمونه‌های مختلف متفاوت بوده و در طیف ۸/۴ kb تا ۱۰ kb قرار داشت (نمودار ۱) (شکل۳).

نمودار۱: مقایسه‌ی طول تلومر در پاساژهای متعدد سلول‌های بنیادی مزانشیمی از نمونه‌ی ۱ تا نمونه‌ی ۱۰



Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۳: بررسی الگوی طول تلومر توسط ساترن بلات

MW: نشانه‌ی سایز مارکر می‌باشد که باندهای مختلف با طول تلومر ۱ kb تا ۱۵ kb را شامل می‌شود.

LOW: کنترل طول تلومر کوتاه می‌باشد که مقدار کمی طول تلومر آن ۳kb می‌باشد.

HIGH: کنترل طول تلومر بالا می‌باشد که مقدار کمی طول تلومر آن ۱۰ kb می‌باشد.

A2, A3,A7 و A1 نشان‌دهنده‌ی طول تلومر در نمونه A و در پاساژهای اول، دوم، سوم و هفتم می‌باشد.

C3,C6 و C1 نشان‌دهنده‌ی طول تلومر در نمونه‌ی C و در پاساژهای اول، سوم و ششم می‌باشد.

E3, E5 و E1 نشان دهنده‌ی طول تلومر در نمونه‌ی E و در پاساژهای اول، سوم و پنجم می‌باشد.

B3, B12 و B1 نشان‌دهنده‌ی طول تلومر در نمونه‌ی B و در پاساژهای اول، سوم و دوازدهم می‌باشد.

بحث

در این مطالعه، طول تلومر در پاساژهای مختلف سلول‌های بنیادی مزانشیمی ۱۰ فرد نرمال، مورد ارزیابی قرار گرفت. در ابتدا جهت تأیید هویت سلول‌های مزانشیمی از تمایز این سلول‌ها به سمت سلول‌های استخوان و چربی استفاده شد. سپس برخی از مارکرهای سطح سلولی موجود بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی توسط روش فلوسایتومتری بررسی و وجود آن‌ها تأیید گردید. در مرحله‌ی بعد طول تلومر در پاساژهای مختلف برای هر نمونه محاسبه گردید. نتایج به دست‌آمده از این تحقیق حکایت از کاهش طول تلومر در تمامی نمونه‌ها دارد و نتیجه‌ی مطالعات قبلی را در این زمینه تأیید می‌نماید (۱۴-۱۱).

باکستر و همکارانش در سال ۲۰۰۴، مطالعه‌ای را در جهت بررسی تغییرات طول تلومر در سلول‌های MSCs انسانی تکثیر شده در *in vitro* انجام دادند. این محققان سلول‌های تک‌هسته‌ای نمونه‌ی مغزاستخوان ۱۵ نفر سالم با طیف سنی مختلف را جدا کرده و کشت دادند و تا آن‌جایی که این سلول‌ها قدرت تکثیر داشتند، پاساژ آن‌ها صورت گرفت. بررسی طول تلومر در این تحقیق نشان داد که ارتباط روشنی بین ظرفیت تکثیری MSCs و طول تلومر در محیط کشت

Archive of SID
www.SID.ir

وجود دارد. به این ترتیب که MSCs با هر تقسیم مقداری از طول تلومر خود را از دست داد و زمانی که این کاهش به آستانه ۱۰kb رسید، سلول‌ها از تقسیم باز ایستاده و فنوتیپ پیری را نشان دادند (۱۱). در مطالعه‌ای دیگر دومینیک و همکارانش از سلول های غضروفی کشت داده شده در محیط آزمایشگاه، برای ترمیم ضایعات غضروفی استفاده نمودند (۱۴). به منظور جلوگیری از عوارض ناشی از کوتاهی طول تلومر در اثر کشت سلول های غضروفی پیشنهاد کردند که می‌توان پیش‌سازهای نابالغ همانند MSCs را از افراد جدا کرده و به غضروف تمایز داد. برای تأیید این نظریه دومینیک و همکارانش ۱۲ بیمار را انتخاب و کندروسیت‌ها را از غضروف و MSCs را از مغزاستخوان جدا نموده و جداگانه کشت دادند. سپس هر دوی این سلول‌ها را به غضروف تمایز داده و طول تلومر و فعالیت تلومراز را قبل و بعد از تکثیر و بعد از تمایز بر روی هر دو نوع سلول مورد بررسی قرار دادند. از آن‌جایی‌که تعداد MSCs در نمونه‌ی اولیه اندک بود، محاسبه‌ی طول تلومر، نیاز به تکثیر اولیه‌ی این سلول‌ها داشت. آنان متوجه شدند که تکثیر MSCs به دلیل عدم فعالیت کافی تلومراز، با کاهش طول تلومر به اندازه‌ی ۱/۵ Kb همراه بوده است. بر این اساس، این محققان نتیجه گرفتند که MSCs تکثیر نشده دارای طول تلومری در حدود سلول‌های غضروفی می‌باشد (۱۴).

اما نتایج به دست‌آمده در تحقیق ما با مطالعات قبلی تفاوت‌هایی نیز دارد:

۱- هرچند کاهش طول تلومر در تمامی نمونه‌ها وجود دارد ولی این کاهش در پاساژهای ابتدایی محسوس نمی‌باشد و حتی در بعضی نمونه‌ها، سلول‌های پاساژهای دوم و سوم نسبت به سلول‌های پاساژ اول طول تلومر بلندتری را نشان می‌دهند (نمودار۱). دلیل این امر می‌تواند میزان کم سلول‌های MSCs و فراوانی زیاد سلول‌های چسبنده‌ی غیرمزانشیمی در فلاسک اول باشد؛ زیرا در سلول‌های تک‌هسته‌ای جداشده از مغزاستخوان، علاوه بر MSCs، سلول‌های چسبنده‌ی دیگری ازجمله فیبروبلاست‌ها و سلول‌های مزانشیمی پیر که دارای طول تلومر نسبتا کوتاهی هستند، وجود دارد. این سلول‌ها نیز مانند MSCs قدرت چسبندگی به کف فلاسک را داشته ولی برخلاف آن‌ها توانایی تکثیر ناچیزی دارند و از آن‌جایی که این سلول‌ها در فلاسک اول فراوان بوده و نسبت به MSCs جمعیت غالب را تشکیل می‌دهند، در نتیجه در پاساژهای اولیه طول تلومر کوتاه‌تری را نشان می‌دهند، اما در پاساژهای دوم و سوم که MSCs به واسطه‌ی توانایی تکثیر بالا جمعیت غالب را به خود اختصاص می‌دهند، طول تلومر نسبت به پاساژ اول افزایش قابل توجهی می‌یابد.

۲- آستانه‌ای از طول تلومر که در آن توقف رشد صورت می‌گیرد، در نمونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد این امر می‌تواند بیان‌گر این نکته باشد که ممکن است زیر رده‌های مختلفی از MSCs وجود داشته باشند که حداقل آستانه‌ی طول تلومر برای توقف رشد در آن‌ها متفاوت می‌باشد. وجود زیر رده‌های مختلف با خصوصیات متفاوت در بین MSCs در مقالات دیگری نیز گزارش شده است (۱۶، ۱۵). هم چنین، مطالعات متعدد نشان داده است که طول تلومر تا حدودی ارثی بوده و یک الگوی ارثی تلومری در هر سلول وجود دارد(۱۸، ۱۷). پس ممکن است آستانه‌ای از طول تلومر که در آن توقف رشد صورت می‌گیرد نیز ارثی بوده و در سلول‌های MSCs افراد مختلف متفاوت باشد.

از طرفی ممکن است علاوه بر تلومر پارامترهای دیگری، در تکثیر MSCs دخیل باشند. مثلا نشان داده شده است که برای پایداری طول تلومر علاوه بر تلومراز، مکانیسمی غیروابسته به تلومراز به نام (Alternative Lengthening of telomere [ALT]) نیز وجود دارد (۱۵).

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

هرچند استفاده از MSCs در درمان بیماری‌ها از اهمیت بسیاری برخوردار است، اما فراوانی کم این سلول‌ها در مغز استخوان، تکثیر آن‌ها را در محیط *in vitro* اجتناب‌ناپذیر می‌سازد. با توجه به نتایج این تحقیق و سایر مطالعات، تکثیر بیش از حد این سلول‌ها به منظور رسیدن به سلول بیشتر را، توصیه نمی‌نماییم. اعتقاد ما بر آن است که سلول‌های پاساژهای اول علی‌رغم تعداد کم، ظرفیت بیشتری برای ترمیم بافتی خواهند داشت. این درحالی است که سلول‌های پاساژهای آخر علی‌رغم تعداد فراوان، خصوصیات لازم جهت ترمیم بافت از جمله قدرت تکثیر، تمایز و لانه‌گزینی را دارا نخواهند بود. در نتیجه در استفاده از MSCs با اهداف درمانی کیفیت مهم‌تر از کمیت می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب شبکه‌ی پزشکی مولکولی کشور می‌باشد. به این وسیله از حمایت‌های مالی شبکه فوق‌الذکر تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

1- Croft AP, Przyborsk SA. Mesenchymal stem cells from bone marrow stroma: Basic Biology and Potential for cell therapy. ***Curr Anaesthesia & critcare.*** 2004; 5: 865-875.

2- Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical application and biological characterization. ***Int Biochem cell Biol.*** 2004; 36: 568-84.

3- Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. ***Stem Cells.*** 2003; 21: 105-110.

4- Roufosse CA, Direkze NC, Otto WR, Wright NA. Circulating mesenchymal stem cells. ***Int Biochem Cell Biol.*** 2004; 36: 585-597.

5- Pereboeva L, Komarova S, Mikheeva G. Approaches to utilize mesenchymal progenitor cells as cellular vehicle. ***Stem Cells.*** 2003; 21: 389-404.

6- Stenderup K, Justesen J, Kasem M. Aging associated with decreased maximal life span and accelerated senesenses of bone marrow stromal cells. ***Bone.*** 2003; 33: 919-26.

7- Rombouts WJ , Ploemacher RE. Primary murine MSC show highly efficient homing to the bone marrow but lose homing ability following culture. ***Lukemia.*** 2003; 17: 160-70.

8- Blackburn EH .Structure and function of telomeres. ***Nature.*** 1991; 350: 569-73.

9- Broccoli D, Lewis N, Grobelny J, Pagliei T. Structure and Function of Mammalian Telomeres. ***Med Sci Dev.*** 2005; 5: 144-148.

10- Hahn WC. Telomere and telomerase dynamics in human cells. ***Curr Mol Med.*** 2005; 5:227-31.

11- Baxter MA, Wynn RF, Jowitt SN. Study of telomere length reveals rapid aging of human marrow stromal cells following in vitro expansion. ***Stem Cells.*** 2004; 22: 675–82.

Archive of SID
www.SID.ir

12- Liu L, DiGirolamo, CM, Navarro PA, Blasco MA, Keefe DL. Telomerase deficiency impairs differentiation of mesenchymal stem cells. ***Exp Cell Res.*** 2004; 294:1–8.

13- Bonab MM, Alimoghadam K, Talebian F, et al. Aging of mesenchymal stem cells. ***BMC cell Biol Cen.*** 2006; 7: 14.

14- Parsch D, Fellenberg J, Brumendorf TH, Eschlebeek AM, Richter W. Telomere lengh and telomerase activity during expansion and differentiation of human mesenchymal stem cells and chondrocytes. ***J Mol Med.*** 2004; 82: 49-55.

15- Colter DC, Sekiya I, Prockop DJ. Identification of a subpopulation of rapidly self-renewing and multi-potential adult stem cells in clonies of human marrow stromal cells. ***Proc Natl Acad Sci USA.*** 2001; 98: 7841-7845.

16- Colter DC, Class R, Digoloroma CM. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic- adherent cells from human bone marrow. ***Proc Natl Acad Sci USA.*** 2000; 97: 3213-3218.

17- Lansdorp PM, Verwoerd NP, van de Rijke, FM. Heterogeneity in telomere length of human chromosomes. ***Hum Mol Genet.*** 1996; 5: 685-91.

18- Prowse KR, Greider CW. Developmental and tissue- specific regulation of mouse telomerase and telomere length. ***Proc Natl Acad Sci USA.*** 1995; 92: 4818-22.

Archive of SID

www.SID.ir