مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره دوم، شماره هفتم، تابستان ۱۳۹۱

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی مولکولی ژن های (*Alpha-cardiac actin*) و (*FLK1 (Vegfr-2/KDR*) مشتق شده از کاردیومیست های سلول های بنیادی جنینی

اکرم سادات طباطبائی پناه [*۱]، رضا اکبرزاده نجار [۲]، سید محمد حسین قادریان [۲]

[۱] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، تهران، ایران
[۲] استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در طی جنین زایی ابتدائی، سیستم قلبی- عروقی یکی از اولین سیستم هایی است که تشکیل می شود. سلول های بنیادی جنینی انسان (hESC)[۱] مدلی را به وجود می آورد که می توان از طریق آن مراحل تکاملی این سیستم را بررسی نمود. زمانی که این سلول ها از لایه مغذی خود جدا می شوند، hESC ها اجسام جنینی [۲] (EB) را به وجود می آورند که پس از کشت، نواحی ای از سلول های ضربان دار در ۲۱/۵٪ از EB ایجاد می شوند.

مواد و روش ها: الگوی بیان ژن های اختصاصی کاردیومیوسیت ها به نام *Alpha-cardiac actin* و *FLK1 (Vegfr-2/KDR)* در EB انسانی [۳](hEB) از طریق واکنش زنجیره ای پلیمراز- رونویسی معکوس [۴] (RT-PCR) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج این مطالعه نشان داد که ژن *Alpha-cardiac actin* در EB ۱۰ روزه، بیشترین بیان را داشته است. همچنین بررسی های این تحقیق مشخص کرد که بیان ژن *FLK1 (Vegfr-2/KDR)* در EB ۱۰ و ۱۴ روزه، افزایش یافته است.

نتیجه گیری: سلول های بنیادی جنینی انسانی ابزاری مفید جهت بررسی جنین زایی به طور کلی و تکامل سیستم قلبی- عروقی به طور خاص هستند.

کلمات کلیدی: کاردیومیست ها، اجسام جنینی، بیان ژن، سلول های بنیادی جنینی

مقدمه

در طی جنین زایی، اولین سیستمی که تشکیل می گردد سیستم قلبی- عروقی است که این فرایند بوسیله میان کنش با سلول های هایپوبلاستیک اندودرم اولیه آغاز می گردد (۹). سلول های بنیادی جنینی (ES) جدا شده از توده سلولی داخلی[۵] بلاستوسیست ها، می توانند به عنوان لایه سلولی زایای مداوم مورد استفاده قرار بگیرند (۴، ۲۰). سلول های ES قابلیت ساخته شدن مجدد خود را به مدت طولانی حفظ می کنند و ظرفیت تشکیل بافت های مختلف را دارند (۴، ۲۰). سلول های ES موشی، مدلی را جهت بررسی مراحل اولیه تکامل قلب به وجود آورده اند (۵، ۸، ۱۶) و مطالعات اخیر این مطلب را در مورد سلول های ES های انسانی نیز نشان داده اند (۷، ۱۱، ۱۲، ۱۵، ۲۱). برداشت سلول های متمایز نشده از لایه مغذی و کشت آن ها در سوسپانسیون باعث تشکیل اجسامی جنین مانند می شوند که اجسام جنینی (EB) نامیده می شوند (۱۰) و ممکن است به طور خود به خودی به سلول هایی با

آدرس نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق ، تهران، ایران
Email: pardis_tab@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۰۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۴/۳۱

1- Human embryonic stem cell
2- Embryoid bodies
3-Human embryoid bodies
4- Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
5- Inner cell mass

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.7.4.1]

ویژگی های کاردیومیوسیتی متمایز شوند. این سلول ها زمانی که در پلیت کشت قرار می گیرند، ممکن است به طور خود به خودی نواحی ضربان دار ایجاد کنند (۷، ۱۲، ۲۱) که این نواحی دارای سلول هایی هستند که ویژگی های ساختاری و عملکردی مراحل ابتدایی کاردیومیوسیت ها را دارند (۱۲). تمایز بیشتر کاردیومیوسیت ها از سلول های hES ممکن است از طریق کاهش حجم EB کشت شده (۲۱) یا بوسیله تیمار سلول ها با ترکیب ۵-آزا-دوکسی سایتیدین بوجود آید (۲۱). به علاوه، تمایز کاردیومیوسیت های مشتق شده از سلول های hES از طریق کشت همزمان با سلول های اندودرم نیز امکان پذیر است (۶، ۱۵). چنین سیستم کشت همزمانی نیازی به تشکیل EB جهت تولید کاردیومیوسیت ها ندارد. بیان ژن قلبی در EB تمایز یافته با استفاده از سلول های ES موشی به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. کاردیومیوسیت های مشتق شده از سلول های ES، mRNA ژن های اختصاصی قلب را به صورت یک فرایند تکاملی کنترل شده بیان می کنند. اطلاعات کمی در مورد ژن ها و پیام های مولکولی دخیل در تکامل قلب جنینی انسانی موجود است (۱۷). عدم توانایی قلب در پمپ کافی خون جهت حفظ عملکردهای فیزیولوژیکی باعث ایجاد نارسایی قلبی که یکی از معمول ترین بیماری های قلبی- عروقی در جهان است، می گردد. بیماری قلبی بوسیله کاهش عملکرد کاردیومیوسیت ها به وجود آمده که باعث نارسایی قلبی می گردد. از آنجا که کاردیومیوسیت های بالغ قابلیت بازتولید ندارند، تنها درمان موثر بیمارانی که دچار نارسایی قلبی شدید هستند پیوند عضو است. مطالعات حیوانی در دهه گذشته باعث به وجود آمدن شواهد زیادی در رابطه با پیوند کاردیومیوسیت های جدا سازی شده یا به عبارت دیگر کاردیومیوپلاستی[1] گردید که می تواند یک راه کار جایگزین برای درمان نارسایی شدید قلبی باشد. اگر چه بسیاری از مطالعات حیوانی پیوند موفق میوسیت های قلبی به قلب بالغ را نشان می دهند (۳، ۱۳، ۱۴، ۱۹)، فاکتور محدود کننده درمان بیماری های قلبی - عروقی، تعداد ناکافی سلول های منتقل شونده است. به علت وجود مسائل اخلاقی، درمان نارسایی قلبی در انسان ها بوسیله کاردیومیوپلاستی امکان پذیر نیست. بنابر این در سال های گذشته بسیاری از تلاش ها در جهت ایجاد راه کارهای تمایز کاردیومیوسیت های اولیه از سلول های بنیادی جنینی و انتخاب رده سلولی، متمرکز شده است. با توجه به اهمیت استفاده از سلول های بنیادی در درمان بیماری هایی مانند نارسائی های قلبی که درمان آن ها نا ممکن و یا بسیار مشکل می باشد، کاربرد این سلول ها می تواند کمک شایانی به دورنمای درمان این بیماری ها کند. این مطالعه یک مدل آزمایشگاهی (*in vitro*) جهت بررسی و مطالعه زمان بیان ژن های قلبی *Alpha-cardiac actin* و (*FLK1 (Vegfr-2/KDR* در طی یجاد قلب است. این دو ژن به عنوان مارکرهای سلولی برای سلول های اندوتلیال سیستم عروقی و پیش سازهای آن انتخاب شده است.

مواد و روش ها

کشت سلول

سلول های بنیادی شمارش و درصد حیات آن ها به روش tripan blue exclusion مشخص شد. سپس در محیط کشت DMEM حاوی ۲۰٪ FBS کشت داده شده و تکثیر یافتند. اجسام جنینی در سوسپانسیون، به مدت یک هفته رشد داده شدند و سپس به پلیت های ۲۴ خانه پوشیده شده با ژلاتین منتقل شدند، به طوری که هر جسم جنینی در یک خانه قرار گرفت. هر جسم جنینی به طور متوسط دارای ۱۰۰۰۰ سلول بود.

تعیین نواحی ضربان دار

تعیین نواحی ضربان دار خودبخودی EB، توسط مشاهدات میکروسکوپی روزانه انجام شد.

استخراج mRNA

جهت استخراج mRNA [2] کاردیومیوسیت های اولیه در اجسام جنینی رشد یافته در سوسپانسیون در زمان های مختلف (۲، ۴، ۷، ۸، ۱۰ و ۱۴ روز پس از تمایز) انتخاب شدند، استخراج mRNA با استفاده از کیت استخراج mRNA (Invitrogen ,California ,USA) انجام گرفت.

ساخت cDNA از روی mRNA استخراج شده

1- Cardiomyoplasty
2- RNA Extraction1

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.7.4.1]

تولید cDNA با توجه به نحوه دستوالعمل کیت (Invitrogen, California, USA) با استفاده از پرایمرهای الگو- dT انجام شد. ابتدا با توجه به میزان جذب mRNA از هر نمونه، مقداری از mRNA برداشته می شود که حاوی ۱ میکروگرم از mRNA باشد. این حجم به یک میکروتیوب ۰/۲ میلی لیتری انتقال داده شد و سپس با آب مقطر به حجم ۱۰ میکرولیتر رسید. سپس میکروتیوب حاوی mRNA در دستگاه ترموسایکلر به مدت ۲/۵ تا ۳ دقیقه در حرارت ۹۰ °C قرار گرفت. این کار باعث می‌شود تا پیچ خوردگی‌های mRNA باز شود. پس از گذشت این زمان میکروتیوب بلافاصله در ظرف یخ قرار گرفت تا دوباره حالت پیچ خوردگی در mRNA برقرار نشود.

RT-PCR

بیان ژن *Alpha-cardiac actin* و *FLK1 (Vegfr-2/KDR)* و همچنین ژن گلیسر آلدئید۳- فسفات دهیدروژناز (GAPDH) ارزیابی گردید .نحوه انجام PCR با توجه به مطالعات قبلی در این مطالعه صورت گرفت (۶). پرایمرها از شرکت تکاپو زیست، تهیه شد و غلظت های مورد استفاده در این مطالعه عبارت بودند از:

(10 pmol/µl) *Alpha-cardiac actin*

Forward (5′-3′): GCCTTCCTCATTTAAAGCTC

Reverse (5′-3′): AACACCACTGCTCTAGCCACG

(10 pmol/µl) FLK1 (Vegfr-2/KD)

Forward (5′-3′): GGAATACCCCTTGAGTCC

Reverse (5′-3′): CCTCCAACTGCCAATACC

GAPDH (10 pmol/µl)

Forward (5′-3′):CATGACCACAGTCCATGCCATCACT

Reverse (5′-3′):TGAGGTCCACCACCCTGTTGCTGTA

بافر PCR (10 x)، Mgcl2(25 mM)، dNTP(10 mM)، آنزیم Taq polymerase (5 U/µl) (که همگی از شرکت Roche,Germany بودند). PCR دو مرحله ای به شکل زیر انجام شد: (a): ۹۵C° به مدت ۱۲ دقیقه (۱ چرخه) ، (b): ۹۵C° به مدت ۱۵ دقیقه و (c): 60C° به مدت ۱ دقیقه (۴۰ چرخه). همه نمونه ها با GAPDH، مقایسه گردیدند. پس از انجام PCR نمونه‌ها به روی ژل آگارز ۲٪ برده شدند و نتیجه مورد بررسی قرار گرفت. روش ارزیابی در این مطالعه به صورت نیمه کمی بود به این ترتیب که عکس های حاصل از این ژل ها را پس از اسکن در کامپیوتر با نرم افزار Lab works مورد ارزیابی قرار داده و بر اساس شدت باند حاصل از ژن ها عدد نسبی بدست آمد.

یافته ها

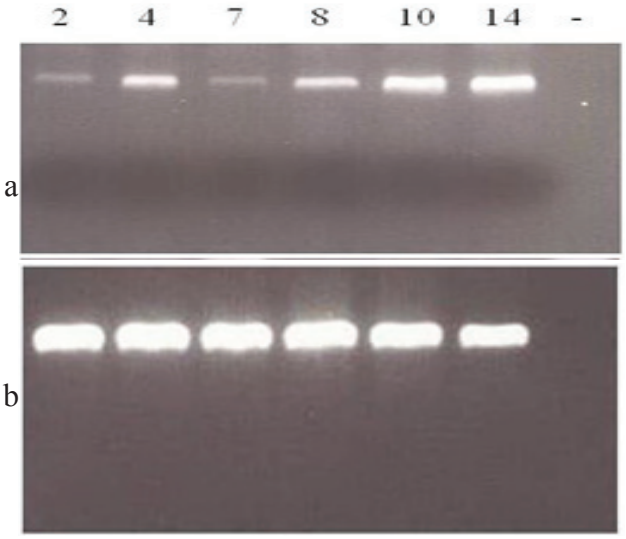
مشاهده روزانه وجود ضربان در اجسام جنینی نشان داد که یک روز پس از کشت، ۴٪ از آن ها دارای ضربان خود به خودی بودند. بیشتر اجسام جنینی پس از گذشت ۱۷ روز ضربان دار شدند. ضربان در برخی از اجسام جنینی از روز ۲۸ آغاز گردید. نواحی ضرباندار در ۵۰-۲۵٪ از اجسام جنینی مشاهده گردید. درصد نواحی ضرباندار در اجسام جنینی مشتق شده از سلول های بنیادی جنینی انسانی که پس از ذوب شدن بیشتر از ۱۰ بار پاساژ داده شده بودند نسبت به حدود ۱۰٪ در چند پاساژ اولیه افزایش نشان داد. نواحی ضرباندار حدود mm ۱/۱-۰/۱ قطر داشته و در حاشیه ها قرار گرفته بودند. نواحی ضرباندار در محیط کشت به شدت تا ۴ ماه و به میزان ۱۰±۱۰۰ ضربان در دقیقه ادامه یافت اما این نواحی رشد بیشتری نداشتند. گاهی اوقات رشد بیش از حد سلول های دیگر که از جسم جنینی متمایز شده اند با ضربان این نواحی تداخل می کنند. به دلیل ایجاد شدن توانایی در تشخیص نواحی ضرباندار با گذشت زمان، این نواحی به طور مکانیکی هر ۱۴-۷ روز جداسازی شده و دوباره در پلیت ها قرار داده شدند. بیان مارکر *Alpha-cardiac actin* و *FLK1 (Vegfr-2/KDR)* در کاردیومیوسیت های اولیه در اجسام جنینی رشد یافته در سوسپانسیون در زمان های مختلف (۲، ۴، ۷، ۸، ۱۰ و ۱۴ روز پس از تمایز) مورد بررسی قرار گرفت. mRNA از هر جسم جنینی جداسازی گردید و به دنبال آن RT-PCR انجام گرفت و با ژن GAPDH از همان نمونه کنترل گردید.بیان اولیه (*FLK1 (Vegfr-2/KD* در اجسام جنینی ۴ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۱۰ و ۱۴ افزایش یافت. تعداد ۱۰ جسم جنینی در سوسپانسیون در زمان های مختلف (۱، ۶، ۱۰، ۱۵ و ۲۰) جمع آوری گردید. به طور کلی نتایج ما نشان داد که (*FLK1 (Vegfr-2/KDR* مارکری است که در EB،

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.7.4.1]

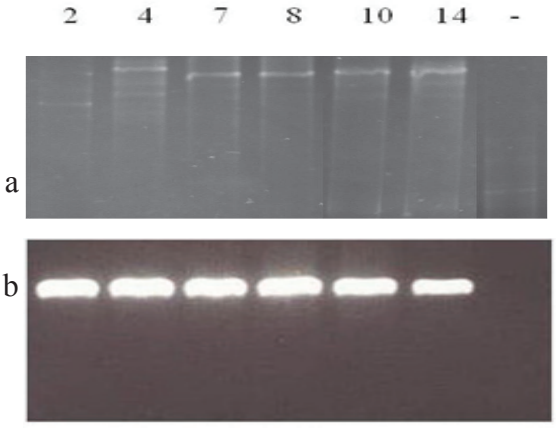
۱۰ و ۱۴ روزه، بیشترین افزایش بیان را نشان می دهد (شکل ۱)

.



شکل ۱- بیان ژن (a) *FLK1 (Vegfr-۲/KDR)* و b) GAPDH در روزهای ۲، ۴، ۷، ۸ و۱۴ و کنترل

بیان اولیه *Alpha-cardiac actin* در اجسام جنینی ۲ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۱۰ افزایش یافت. تعداد ۱۰ جسم جنینی در سوسپانسیون در زمان های مختلف (۱، ۶، ۱۰، ۱۵ و ۲۰) جمع آوری گردید. به طور کلی نتایج ما نشان داد که، *Alpha-cardiac actin* مارکری است که در EB ۱۰ روزه، بیشترین افزایش بیان را نشان می دهد (شکل ۲).



شکل ۲- بیان ژن a) *Alpha-cardiac actin* و b) GAPDH در روزهای ۲، ۴، ۷، ۸ و۱۴ و کنترل

نتیجه گیری

درصد نواحی ضرباندار در اجسام جنینی مشتق شده از سلول های بنیادی جنینی انسانی که پس از ذوب شدن بیشتر از ۱۰ بار پاساژ داده شده بودند نسبت به حدود ۱۰٪ در چند پاساژ اولیه افزایش نشان داد. از آنجا که سلول های بنیادی جنینی انسانی نسبت به ترکیبات محیط کشت حساس بوده و نسبتا قدرت زیست خود را پس از انجماد از دست می دهند، آغاز دیر هنگام ضربان احتمالا به علت بازیابی آهسته ویژگی های فیزیولوژیکی سلول ها پس از ذوب شدن می باشد.*FLK1* (*Vegfr-2/KDR*) به عنوان یک مارکر سلولی برای سلول های اندوتلیال سیستم عروقی و پیش ساز آن ها مورد استفاده قرار می گیرد. بیان این ژن نقش مهمی در نمو عروقی جنین های موش بازی می کند. (*FLK1 (Vegfr-2/KDR* در سلول های hES تمایز نیافته بیان می شود و خیلی آهسته در طی تمایز، افزایش پیدا می کند. این ژن افزایش بیان را در روز ۱۰ و ۱۴ نشان داد. نتایج سایر محققین نشان می دهد که ژن (*FLK1 (Vegfr-2/KDR* در روز ۱، ۲۵ درصد، در روز ۷، ۸۰ درصد و در روز ۲۱، ۱۰۰ درصد افزایش بیان داشته است (۲۱) که به نتایج ما نزدیک است. نتایج نشان داد که *Alpha-cardiac actin* با گذشت زمان در EB تمایز یافته، افزایش پیدا می کند. این افزایش بیشتر در روزهای ۲۰-۱۰ مشاهده گردید. نتایج سایر محققین هم این مساله را تائید کرد. در بیشتر مطالعات، *Alpha-cardiac actin* در روز ۱۰ افزایش بیان داشته است و به عنوان یک مارکر زود هنگام و مفید برای کاردیومیست ها شناخته می شود (۶). مطالعات نشان می دهند که همانطور که کاردیومیست ها در این مرحله تمایز، تکثیر پیدا می کنند، *Alpha-cardiac actin*هم تکثیر شده و این تکثیر احتمالا ناشی از افزایش در سلول های عضله قلبی در EB بوده است (۱۹). در مجموع، دسترسی به رده های سلولی hES دریچه ای نو رو به امکان پذیر شدن مطالعه تکامل قلب انسانی و بیان ژن های جدید در طی تکامل جنینی گشوده است (۱۸، ۲۰). به طور خاص، تحقیقات در این رابطه باعث بیشتر شدن انگیزه بررسی پتانسیل سلول های hES جهت تولید بافت های قلبی جدید با

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.7.4.1]

اهداف درمانی گردیده است. این سلول ها می توانند به روشن شدن فرایندهای پیچیده دخیل در تکامل قلب انسان و ایجاد یک سیستم سلولی مناسب جهت مطالعه تکامل و تمایز بافت ها در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) کمک کرده و ممکن است سرانجام باعث ایجاد قابلیت تولید سلول های انسانی تمایز یافته با اهداف درمانی گردد. با توجه به اهمیت استفاده از سلول های بنیادی در درمان بیماری هایی مانند نارسائی های قلبی که درمان آن ها ناممکن و یا بسیار مشکل می باشد، کاربرد این سلول ها می تواند کمک شایانی به دور نمای درمان این بیماری ها کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق جهت حمایت مالی از این پروژه تقدیر و تشکر می نمایند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.7.4.1]

منابع

(1) Antin PB, Taylor RG, Yatskievych T. Precardiac Mesoderm is Specified During Gastrulation in Quail. Dev Dyn, 1994; 2:4-14.
(2) Boheler KR, Czyz J, Tweedie D, Yang HT, Anisimov SV, Wobus AM. Differentiation of Pluripotent Embryonic Stem Cells into Cardiomyocytes. Circ Res, 2002; 91:189-201.
(3) Delcarpio JB, Claycomb WC. Cardiomyocyte Transfer into the Mammalian Heart. Cell-to-cell Interactions *in vivo* and *in vitro*. Ann N Y Acad Sci, 2008; 752:267-85.
(4) Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in Culture of Pluripotential Cells from Mouse Embryos. Nature, 1981, 292:154-6.
(5) Grepin C, Nemer G, Nemer M. Enhanced Cardiogenesis in Embryonic Stem Cells Overexpressing the GATA-4 Transcription factor. Development, 1997; 124:2387-95.
(6) Hanna Segev, Dorit Kenyagin-Karsenti,1,2, Bettina Fishman,1,2, Sharon Gerecht-Nir,1,3 Anna Ziskind,1,2 Michal Amit,1,2 Raymond Coleman2 and Joseph Itskovitz-Eldor. Molecular Analysis of Cardiomyocytes Derived from Human Embryonic Stem cells. Develop. Growth Differ, 2005; 47:295-306.
(7) He JQ, Ma Y, Lee Y, Thomson JA, Kamp TJ. Human Embryonic Stem Cells Develop into Multiple Types of Cardiac Myocytes: Action Potential Characterization. Circulation, 2003; 93:9-3.
(8) Hescheler J, Fleischmann BK, Lentini S, Maltsev VA, Rohwedel J, Wobus AM, et al. Embryonic Stem Cells: a Model to Study Structural and Functional Properties in Cardiomyogenesis. Cardiovasc Res, 1997; 36:149-62.
(9) Icardo JM. Developmental Biology of the Vertebrate Heart. J Exp Zool, 1996; 275:144-61.
(10) Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, Eden A, Yanuka O, Amit M, et al. Differentiation of Human Embryonic Stem Cells into Embryoid Bodies Compromising the three Embryonic Germ Layers. Mol Med, 2000; 6:88-95.
(11) Kehat I, Gepstein A, Spira A, Itskovitz-Eldor J, Gepstein L. High-resolution Electrophysiological Assessment of Human Embryonic Stem Cell-Derived Cardiomyocytes: a Novel in Vitro Model for the Study of conduction. Circ Res, 2002; 91:659-6.
(12) Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, et al. Human Embryonic Stem Cells Can Differentiate into Myocytes with Structural and FunctionalProperties of Cardiomyocytes. J Clin Invest, 2001; 108:407-14.
(13) Koh GY, Soonpaa MH, Klug MG, Field LJ. Long-Term Survival of AT-1 Cardiomyocyte Grafts in Syngeneic Myocardium. Am J Physiol, 1993; 264:1727-33.
(14) Koh GY, Soonpaa MH, Klug MG, Pride HP, Cooper BJ, Zipes DP, et al. Stable Fetal Cardiomyocyte Grafts in the Hearts of Dystrophic Mice and Dogs. J Clin Invest, 1995; 96:2034-42.
(15) Mummery C, Ward-van Oostwaard D, Doevendans P, Spijker R, van den Brink S, Hassink R, et al. Differentiation of Human Embryonic Stem Cells to Cardiomyocytes: Role of Coculture with Visceral Endoderm-Like Cells. Circulatin, 2003; 33:27-40.
(16) Narita N, Bielinska M, Wilson DB. Cardiomyocyte Differentiation by GATA-4-Deficient Embryonic stem Cells. Development, 1997; 124:3755-64.
(17) Olson EN, Srivastava D. Molecular Pathways Controlling Heart Development. Science, 1996; 272:671-6.
(18) Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongso A. Embryonic Stem Cell Lines from Human Blastocysts: Somatic differentiation in Vitro. Nat Biotechnol, 2000; 18:399-404.
(19) Roell W, Lu ZJ, Bloch W, Siedner S, Tiemann K, Xia Y, et al. Cellular Cardiomyoplasty Improves Survival After Myocardial Injury. Circulation, 2002; 105:2435-41.
(20) 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; 282:1145-7.
(21) Xu C, Police S, Rao N, Carpenter MK. Characterization and enrichment of Cardiomyocytes Derived from Human Embryonic Stem Cells. Circ Res, 2002; 91:501-8.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.7.4.1]