مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره ششم، شماره بیست و سوم - تابستان ۱۳۹۵

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی بنیادینگی سلول های مزانشیمی ژله وارتون بند ناف در طی تمایز به سلول های مشابه جرم

زینب عبدالهی ، طوبا میرزاپور*، ابوالفضل بایرامی، صابر زهری، فریبا گودرزی

گروه زیست شناسی ، بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

چکیده:

سابقه و هدف: عوامل مختلفی مانند بیماری های مقاربتی، ضایعه های نخاعی و پرتودرمانی پس از ابتلا به سرطان های مختلف، که نتیجه ی آن ها تولید ناکافی یا عدم تولید اسپرماتوزوئید می باشد، منجر به ناباروری در مردان می شوند. امروزه با ایجاد فناوری سلول درمانی با سلول های بنیادی مزانشیمی، درمان بسیاری از بیماری ها امکان پذیر شده است. در این بین، سلول های بنیادی مزانشیمی ژله ی وارتون بند ناف انسان، به عنوان منبعی که به فراوانی در دسترس بوده و توسط سیستم ایمنی فرد پس زده نمی شوند، مورد توجه قرار گرفته اند. نخستین قدم در استفاده از این سلول ها، اثبات بنیادی بودن آن است. لذا در این مطالعه به لحاظ مولکولی بنیادینگی این سلول ها با بررسی بیان ژن های CD34, CD105 و CD44 بررسی شد.

مواد و روش ها: سلول های بنیادی از منطقه ژله وارتون بندناف جداسازی و کشت داده شدند، استخراج تمامی RNA از پاساژ سوم صورت گرفته و پس از سنتز cDNA، بیان ژن های بنیادی به روش RT-PCR بررسی شد. سپس سلول های مزانشیمی در معرض دوزهای مختلف BMP4 و نیز محیط کشت شرایطی شده به دست آمده از سلول های بیضه ای موش های نوزاد و نیز بستر نانوفایبر PLLA قرار گرفتند تا تمایز آن ها به سلول های مشابه جرم مورد بررسی قرار گیرد.

یافته ها: نتایج نشان داد که این سلول ها از پتانسیل تکثیری قابل توجهی برخوردارند و ژن های CD44 , CD105 را قبل از تمایز بیان می کنند ولی بیان ژن CD34 که مارکر سلول های هماتوپویتیک می باشد در آن مشاهده نمی شود. قرار دادن سلول ها در معرض محیط تمایزی پس از پاساژ سوم، آن ها را به سمت سلول های مشابه جرم سوق می دهد.

نتیجه گیری: کشت آزمایشگاهی و غنی سازی سلول های جرم مشتق از منابع دیگر سلول های بنیادی مانند سلول های مزانشیمی بند ناف یک روش عملی برای تحقیق های اولیه ی رشد و نمو سلول های جرم است. سلول های بنیادی بندناف با بیان ژن های بنیادی، به عنوان یک استراتژی، برای درمان ناباروری می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

کلمه های کلیدی: سلول های بنیادی مزانشیمی، ناباروری، سلول جرم

مقدمه:

ناباروری، به عنوان ناتوانی در حاملگی، بعد از یک سال، بدون استفاده از هرگونه روش پیش گیری از بارداری، تعریف می شود (۱۲).

عوامل مختلفی در ناباروری مردان موثر هستند که نتیجه ی آن ها تولید ناکافی یا عدم تولید اسپرم می باشد. بیماری های مقاربتی، مشکل های آناتومی، آسیب های عروقی و انسداد مسیر عبور اسپرم، آزواسپرمی، مجموعه عواملی هستند که می توانند منجر به ناباروری مردان شوند. با این وجود، علت اصلی ناباروری مردان در ۳۰ موارد هنوز ناشناخته مانده است (۱۴).

با توجه به اهمیت موضوع و مشکل های تبعی این نقیصه، تلاش های زیادی جهت درمان این عارضه، صورت گرفته است که در این میان با پیشرفت دانش سلول های بنیادی در طول چند دهه اخیر، استفاده از پیوند سلول های بنیادی به عنوان یکی از روش های مطرح درمانی در جهت رفع این نارسایی مورد توجه قرار گرفته است (۱۷,۸,۹).

سلول های بنیادی، سلول های سوماتیکی تمایز نیافته ای هستند که، بر خلاف سلول های دیگر توانایی انجام هر دو فرآیند تکثیر و تمایز را دارند. به عبارت دیگر، سلول های بنیادی، سلول های غیر تخصصی در بدن انسان هستند که توانایی تبدیل شدن به

نویسنده مسئول:
گروه زیست شناسی ، بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

پست الکترونیکی: Dr.tooba72@gmail.com

تاریخ دریافت:۹۴/۰۲/۲۹
تاریخ پذیرش:۹۴/۱۱/۰۷

سلول های تخصصی با کارکرد ویژه را دارند (۳).

سلول های بنیادی را براساس منبعی که از آن استخراج می شوند و یا بر اساس توانایی در تمایز، تقسیم بندی و نامگذاری می کنند. سلول های بنیادی، بر اساس منشا، به دو رده، تقسیم می شوند: سلول های جنینی و سلول های بالغ (۱۳).

سلول های بنیادی بالغ، در پستانداران بالغ، از مکان های اختصاصی ، شامل مغز استخوان، خون، چربی، سینوویوم، پالپ دندانی، بیضه، اندومتریوم، بند ناف و... استخراج می شوند (۸,۱۱,۶).

جهت استفاده از سلول های بنیادی در زمینه های درمانی، سلول های مزانشیم، به دلیل قدرت تکثیر بالا، تشابه با بافت هدف و عدم دفع پیوند مولفه های خوبی به حساب می آیند. این سلول ها براساس تعریف انجمن بینالمللی سلول درمانی[1](ISCT) دارای سه ویژگی زیر می باشند:

۱.در شرایط کشت معمولی، در ظروف پلاستیکی، به کف ظرف می چسبند.

۲. شاخص های سطحی CD37, CD90, CD105,CD44[2] را بیان می کنند و نسبت به بیان شاخص های هماتوپوئیتیک، به ویژه CD45, CD34, CD54 و سایر شاخص ها از قبیل CD19, CD 79, CD11b, CD14 و HLA-DR[3] منفی می باشند.

۳. توانایی تمایز به سلول های چربی، غضروف و استخوان و انواع سلول های تخصص یافته را در شرایط آزمایشگاهی دارند (۵).

امروزه، بند ناف انسان به عنوان یک منبع مناسب در طب ترمیمی نظر بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. از آنجایی که هم فرکانس و هم پتانسیل تمایز سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان، با افزایش سن کاهش می یابد، بنابراین یافتن منبع دیگری از سلول های بنیادی مزانشیمی ضروری به نظر می رسد (۷).

سلول های بنیادی مزانشیمی انسان، اولین بار توسط McElreavey و همکارانش در سال ۱۹۹۱ توصیف شدند (۱۵). این سلول ها، در شرایط آزمایشگاهی برای بیش از ۱۰ پاساژ می توانند به صورت تمایز نیافته باقی بمانند، که این اشاره به ظرفیت تکثیر آن ها دارد. از طرف دیگر، دسترسی به این منبع آسان است و به صورت غیرتهاجمی هنگام زایمان جدا می شود، به طوری که هیچ آسیبی به مادر و نوزاد وارد نمی شود و هیچ بحث معنوی و اخلاقی ندارد. این سلول ها، با حجم زیاد جداسازی شده و نسبت به CD34 و CD45 منفی هستند. رشد سریعی دارند و می توان آن ها را منجمد و دوباره از انجماد خارج کرده و مورد استفاده قرار داد. این سلول ها، به صورت کلنی گسترش می یابند و به راحتی، پروتئین های میزبان را بیان می کنند. سلول های بنیادی جنینی به خاطر فعالیت آنزیم تلومراز پس از پیوند، به تومور تبدیل می شوند، اما سلول های بنیادی بندناف سرطانزا نمی باشند. خواص شبه جنینی دارند. این سلول ها، توسط لنفوسیت های HLA[4] تشخیص داده نمی شوند، بنابراین می توان آن ها را به عنوان وکتور در سلول درمانی مورد استفاده قرار داد (۱،۴).

در این پژوهش ابتدا با استفاده از روش کشت بافت، سلول های بنیادی از ماتریک بند ناف جداسازی شد و نشانگرهای سطحی آن با استفاده از تکنیک PCR مورد بررسی قرار گرفت. سپس این سلول ها برروی داربست PLLA و استفاده از عامل تمایز BMP4 در جهت دست یابی به هدف مورد نظر که همان تمایز سلول های بنیادی مزانشیمی بند ناف به سلول های جرم می باشد، کشت داده شدند.

مواد و روش ها:

نمونه های بند ناف، از نوزادان تازه متولد شده به روش سزارین متولد شده به روش سزارین (n=10) از بیمارستان قائم اردبیل، در محدوده سال های ۹۴-۹۳ تهیه و تحت شرایط استریل، درون نرمال سالین به آزمایشگاه، منتقل شد. برای از بین بردن آلودگی ها، بندناف با الکل ۷۰ درصد، به مدت ۳۰ ثانیه، شستشو داده شد. سپس، با PBS حاوی پنیسیلین و استرپتومایسین، آمفیتریسین و نیز جنتامایسین (۲۰ میکرولیتر پنی‌سیلین و استرپتومایسین، ۱۰ میکرولیتر آمفی‌تریسین، ۱۶ میکرولیتر جنتامایسین در۱۲ میلی لیتر PBS) به منظور از بین بردن آلودگی های باکتریایی اعم از گرم منفی و گرم مثبت که ممکن است ناشی از باکتری های فلور نرمال پوست باشد و نیز آلودگی ناشی از محیط بیمارستان، شستشو داده شدند. سپس با شستن مکرر با PBS باقیمانده های خون پاک و تکه های باقیمانده که فاقد خون هستند، با قیچی به قطعه های کوچکتر تقسیم شدند و رگ های خونی جدا سازی شد و تکه های ژله وارتون جدا شده و به قطعه هایی کمتر از ۰/۵ میلی متر، خرد گردید. سپس برای اطمینان از عدم وجود خون در نمونه ها، یکبار دیگر با PBS شستشو داده شدند و در ظرف کشت در حضور محیط کشت DMEM (Dubecco's Modified Eagle's, Gibco) با گلوکز بالا به همراه۲۰ درصد FBS (Fetal calf serum) کشت شدند.

پلیت ها در انکوباتور دارای رطوبت ۸۸ درصد و با ۵ درصد CO2 و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. محیط کشت سلول ها هر سه روز یک بار تعویض شد. پس از گذشت ۱۲ روز از کشت قطعه های بافتی ژله وارتون در محیط کشت DMEM، سلول های بنیادی مزانشیمی شروع به خروج از قطعه های بافتی و انتشار در کف پلیت کردند. در این زمان قطعه های بافتی برداشته

1-International society for celluar therapy
2-Cluster designation
3-Human leukocyte antigen
4-Human leukocyte antigen

شد و به سلول ها اجازه رشد داده شد. پس از آنکه تراکم آن ها در محیط کشت به طور تقریبی ۸۰ درصد رسید پلیت با استفاده از تریپسین- EDTA تریپسینه شد. با استقاده از لام هموسیتومتر شمارش سلولی انجام شد. هم چنین برای کنترل سلامت و زنده بودن سلول ها، از تریپان بلو به نسبت ۱:۱ برای شمارش استفاده شد. بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی با ۱۰۰ میکرولیتر از محلول تریپان بلو مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در یخچال قرار گرفت. یک قطره از سوسپانسیون بر روی صفحه مشبک لام هموسایتومتر قرار داده شد. لام هموسایتومتر دارای ۴ مربع با ابعاد ۰/۱×۱×۱ میلی متر است. به عبارت دیگر، حجم هر مربع ۰/۱ میلی متر مکعب می باشد. برای به دست آوردن تعداد سلول ها در ۱ میلی لیتر، میانگین شمارش سلول ها در ۴ مربع در ۲×۱۰^{۴} ضرب گردید. عدد ۲ در این رابطه ضریب رقت سلول ها با رنگ تریپان بلو می باشد. پس از شمارش سلولی و تعیین درصد سلول های زنده سلول ها به طور یکنواخت در خانه های یک پلیت شش خانه توزیع شدند. پس از پاساژ سوم از نظر بنیادی بودن با تکنیک PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند.

استخراج RNA

برای هر $۱۰^{۵}$ سلول، یک میلی لیتر از کیت استخراج RNA به ظرف کشت اضافه گردید. سوسپانسیون سلولی، به مدت ۵- ۱۰ ثانیه ورتکس شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. ۲۰۰ میکرولیتر کلرفروم سرد، به سوسپانسیون اضافه و بعد به مدت ۱۵ ثانیه، به شدت مخلوط گردید. سپس سوسپانسیون به مدت ۱۵ دقیقه، در فریزر ۲۰- درجه قرار گرفت. پس از گذشت زمان مذکور در سانتریفوژ یخچال دار، در دمای ۴ درجه سانتی گراد و دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ گردید. فاز رویی به یک میکروتیوب استریل دیگر منتقل گردید و هم حجم آن ایزوپروپانول سرد اضافه شد و محتویات میکروتیوب به آرامی ضربه زده شد تا مخلوط یکنواخت گردد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در فریز ۲۰- درجه قرار داده شد. دوباره عمل سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ در دمای۴درجه انجام گرفت. در این مرحله ایزوپروپانول موجب رسوب RNA در کف میکروتیوب می شود. در این مرحله محیط رویی دور ریخته شده و یک میلی لیتر اتانول ۷۵ سرد به رسوب اضافه گردید. برای مدت کوتاهی ورتکس شده و به مدت ۸ دقیقه با دور ۷۵۰۰ سانتریفوژ انجام گرفت. فاز رویی را کاملا خالی کرده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده تا الکل آن تبخیر شود. سپس در ۳۵ میکرولیتر آب DEPC حل گردید و بعد از آن به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۵-۶۰ درجه سانتی گراد در Heater Block قرار گرفت. سپس آن را به فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد منتقل شد.

غلظت سنجی RNA

از محلول RNA استخراج شده رقت ۳ تهیه گردید. به عبارتی ۵ میکرولیتر از محلول کل RNA استخراج شده در ۱۴۹۵ میکرولیتر آب حل گردید تا در دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۲۸۰، ۲۶۰ نانومتر تعیین کمیت RNA انجام گیرد. هر واحد جذب نوری ماورا بنفش در طول موج ۲۶۰ نانومتر معادل ۴۰ میکروگرم RNA در هر میلی لیتر می باشد. بنابراین غلظت کل RNA به صورت زیر محاسبه می شود:

$$[RNA] = OD260nm \times 40 \times DR^{5}$$

نسبت جذب OD 260/OD 280 به عنوان شاخص کیفیت RNA محاسبه گردید. اگر این شاخص بزرگتر از ۲ باشد نشانه آلودگی با DNA و کمتر از ۱/۸ باشد نشانه ی آلودگی محلول کل RNA با پروتئین ها و سوبستراهای آروماتیک می باشد. نمونه های RNA استخراج شده بر روی ژل آگاروز بارگذاری شدند تا از درستی عملیات استخراج اطمینان حاصل گردد.

حذف آلودگی DNA از RNA

به منظور حذف احتمالی DNA در RNA استخراج شده که می تواند در روند تکثیر ایجاد اشتباه کند، یک مرحله ی حذف آنزیمی DNA استفاده گردید. بدین ترتیب که، به ازای هر ۱۰ میکرولیتر از محلول RNA، یک واحد DNaseI و یک میکرولیتر بافر DNaseI حاوی ۲۵میکرولیتر MgCL2 با هم مخلوط گردید و حجم نهایی به ۱۰ میکرولیتر رسید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. سپس برای غیر فعال نمودن آنزیم DNaseI یک میکرولیتر EDTA ۲۵ میلی مولار به آن اضافه گردیده و انکوباسیون به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه‌ی سانتی گراد انجام شد. EDTA، با شلاته نمودن یون منیزیوم، باعث غیرفعال شدن آنزیم می گردد تا در مراحل PCR، باعث تجزیه ی محصولات تکثیری نشود. یکی از مهم ترین معیارها در تشخیص سلول های بنیادی مزانشیمی حضور نشانگرهای مربوط به سلول های مزانشیمی و عدم حضور نشانگرهای سلول های بنیادی خون ساز می باشد. برای اثبات بنیادی بودن سلول های مزانشیمی جدا شده از ژله وارتون، از ژن های CD105 و CD44 به عنوان ژن های بیان شونده و CD34 به عنوان ژن غیر بیانی و از اکتین به عنوان ژن کنترل استفاده گردید.

5-Vortex

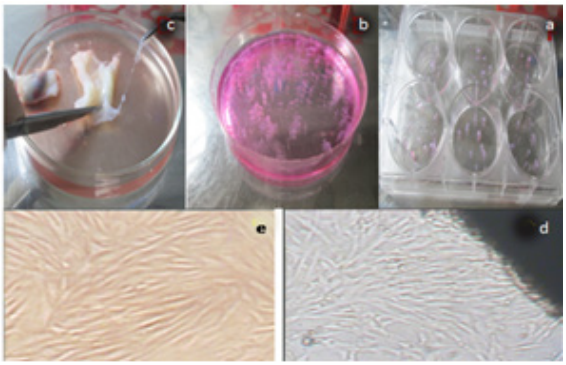
توالی پرایمرها مورد استفاده برای واکنش PCR در جدول ۱ خلاصه شده است:

	توالی پرایمر(′۵-′۳)	طول
β-actin	F:TGGAGAAATCTGGCACCACACC	250
	R:GTGGGCACAGTGTGGGTGACCC	
CD105	F: CAGCATTGTGGCATCCTTCGTG	395
	R:CCTTTTTCCGCTGTGGTGATGGAG	
CD34	F: GCCTGGAGCAAAATAAGACC	434
	R:TGTTTGCTCCACCTTCTTGACTC	

جدول ۱. توالی و خصوصیات پرایمرهای مورد استفاده

نتایج:

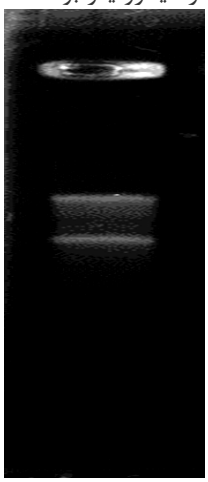
۱۲ روز پس از کشت جوانه های سلولی از قطعه بافتی ژله وارتون شروع به رشد کردند (شکل d۱). این سلول ها از قطعه بافتی جدا شده و در ظرف های جدید کشت شدند. ۱۵ روز پس از کشت یک لایه سلولی با تراکم ۸۰ درصد ایجاد کردند (شکل e۱). سلول ها پس از تریپسینه شدن شمارش شده و در خانه های پلیت ۶ خانه توزیع شدند. پس از پاساژ سوم درصد زنده ماندن (viability) سلول های بنیادی مزانشیمی که از کشت قطعه بافتی ژله وارتون بند ناف حاصل شده بود حدود ۹۵ درصد بود.



شکل۱- تصاویر حاصل از سلول های مزانشیمی استخراج شده (با بزرگنمایی ×۲۰۰) (d) رشد جوانه های سلولی از کناره بافت در روز ۱۲ کشت (e) انتشار در کف پلیت و تراکم تقریباً۸۰ سلول ها در روز ۱۵ کشت

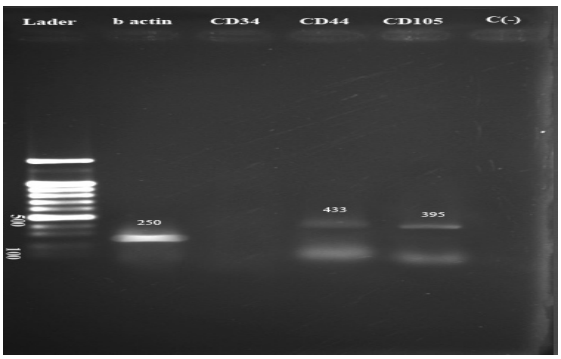
در این زمان کل RNA سلول های بنیادی مزانشیمی استخراج و مورد بررسی قرار گرفت. نشانه ی صحت استخراج RNA، وجود دو باند قابل تشخیص بود. باند سبک تر، معرف حساس ترین نوع RNA، یعنی RNA ریبوزومی (rRNA) می باشد که هدف اصلی برای استخراج و تهیه ی الگوی اولیه برای واکنش RT-PCR بود. حضور باندهای S۱۸، S ۲۸ rRNA که بسته به اندازه در طول ژل به طور پیوسته قرار گرفته بودند اثبات شد.

برای اطمینان از عدم آلودگی RNA حاصل با DNA سلولی، RNA به عنوان الگوی PCR، با استفاده از پرایمرهای اکتین مورد استفاده قرار گرفت. عدم تولید باند اختصاصی با شاهد مثبت در PCR، نشانگر عدم آلودگی آن با DNA ژنومی است. کیفیت RNA استخراج شده با محاسبه ۲۶۰/۲۸۰ مورد ارزیابی قرار گرفت. کیفیت RNA استخراج شده بیش تر از ۱/۸بود. نتیجه ی غلظت سنجی در محدوده ی ۲۶۰ nm نشانگر وجود ۵-۴ میکروگرم RNA در هر میکرولیتر بود.



شکل۲- باند RNA حاصل

برای اثبات بنیادی بودن سلول های مزانشیمی جدا شده از ژله وارتون، از ژن های CD105 و CD44 به عنوان ژن های بیان شونده و CD34 به عنوان ژن غیر بیانی و از اکتین به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. مطابق شکل ۳ باند ۲۵۰ جفت بازی مربوط به ژن اکتین، باند ۳۹۵ جفت بازی مربوط به ژن CD105، باند ۴۳۳ جفت بازی مربوط به CD44 می باشد. هیچ باندی مربوط به ژن CD34 در ژل مشاهده نشد.



شکل۳-. باند تایید بنیادینگی مزانشیم با بررسی بیان ژن های اکتین،CD105، CD34، CD44

بحث:

سلول های زاینده سلول های نادری هستند که در پستانداران در همان مراحل اولیه ی تکوین جنینی از سلول های رویشی جدا شده و تحت شرایط خاصی تکوین می یابند. این سلول ها هر چند در حیات فرد نقش چندانی ندارند، ولی برای ادامه ی نسل فرد دارای اهمیت فوق العاده ای هستند. سلول های زایا تنها سلول هایی هستند که می توانند علاوه بر تقسیم میتوز تقسیم

میوز نیز انجام دهند.

منبع سلولی مورد استفاده در این تحقیق سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف می باشد که از قسمت ژله وارتون جداسازی شده است. این سلول ها جزو سلول های بنیادی مزانشیمی چند توان می باشند و به دلیل دسترسی آسان و کم هزینه بودن و عدم وجود روش های تهاجمی در جدا کردن بافت از شخص دهنده منبع بسیار مناسبی برای جداسازی سلول های بنیادی در مقایسه با سایر منابع می باشد. در مطالعه ی حاضر سلول ها پس از ۱۱ روز شروع به خروج از بافت کردند و پس از ۱۵ روز به تراکم ۸۰ رسیدند. مشابه با این Michell و همکارانش در سال ۲۰۰۶ نشان داده بودند که بعد از گذشت ۱۰-۷ روز سلول ها از قطعه های بافتی شروع به جدا شدن می کنند.

از زمان معرفی سلول های بنیادی ماتریکس بند ناف تاکنون، مطالعه های اندکی به بررسی ویژگی های این سلول ها در محیط کشت پرداختهاند. بر اساس مطالعه نعمت الهی و همکاران (۲۰۰۹) این سلول ها رسپتورهای سطحی CD44 و CD105 را بیان می کنند. به علاوه، این سلول ها مارکرهای هماتوپویتیک CD34, CD14, CD33 را بیان نمی کنند (۱۰). در مطالعه ی حاضر نیز بیان مارکرهای CD44 و CD105 در کشت سلول های مرانشیمی ژله وارتون بند ناف مشاهده شد و این سلول ها CD34 را بیان نکردند. این اثبات هم سو با مطالعه هایی است که توسط وانگ و همکاران در سال ۲۰۰۴ و ویس و همکارانش در سال ۲۰۰۶ انجام گردید و بنیادی بودن سلول های مزانشیمی ژله وارتون اثبات شد (۱۵،۱۶). در این مطالعه سرعت رشد سلولی با افزایش تعداد اولیه ی سلول کشت داده شده افزایش یافت. این حالت به طور احتمال به دلیل حضور فاکتورهای رشد مترشحه از سلول های ماتریکس بند ناف و اتصال این فاکتورها به گیرنده های کنترل کننده ی رشد سلولی است که با افزایش تراکم سلولی سلول ها تکثیر و فعالیت بیش تری نشان می دهند. این نظر با مشاهده های Jumora و همکاران (۲۰۰۷) که در آن سلول های مزانشیمی بند ناف را به مغز آسیب دیده موش ها تزریق کردند و مشاهده نمودند که در حضور این سلول ها به واسطه ترشح فاکتورهای رشد سلول های بنیادی موجود در مغز موش ها تکثیر و تمایز یافته و شدت ضایعه های مغزی را کاهش دادند، هم سو می باشد.

مطالعه های پیشین نشان می دهد سلول های زایای زنانه و مردانه می تواند از سلول های بنیادی جنینی، سلول های بنیادی مغز استخوان، سلول های بنیادی پانکراس، سلول های بنیادی که از برجستگی های جفت استخراج می شود و نیز از بند ناف به وجود آیند (۲). از این رو یافتن راهی جهت استخراج و تمایز سلول های زایا از منابع سلولی مختلف در محیط کشت، روشی با ارزش جهت انجام تحقیقات در زمینه درمان ناباروری می باشد. Lue و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که سلول های بنیادی مغز استخوان در یک ماتریکس ویژه مشتق از بیضه ممکن است به خطوط سلولی جرم و سوماتیک متمایز شوند. سلول های موجود در محیط بیضه می توانند تمایز سلول های بنیادی به سمت خطوط سلولی جرم را کنترل کنند. این مشاهده ها می تواند افق های جدیدی از تکوین سلول های جرم و در نهایت درمان ناباروری با استفاده از سلول های بنیادی را روشن کند. اما شناخت این مسیر نیاز به مطالعه های بیش تر دارد.

نتیجه گیری:

استفاده از سلول های بنیادی مزانشیمی بندناف در شرایط آزمایشگاهی تکنیکی برای کمک باروری (ART) و یک راهبرد درمانی برای درمان ناباروری مردان می باشد. از بین روش های موجود جهت استخراج سلول های بنیادی بند ناف روش قطعه قطعه کردن به جهت کم هزینه تر بودن روش مناسب تری است. هم چنین با توجه به اینکه طی پاساژهای بیش تری خاصیت بنیادی خود را حفظ می کند منبع مناسبی جهت تحقیقات می باشد.

سپاسگزاری:

جا دارد از پرسنل محترم اتاق عمل بیمارستان قائم اردبیل که در تهیه ی بند ناف همکاری صمیمانه ای داشتند تشکر و قدردانی گردد.

منابع :

1) Cho, P. S., Messina, D. J., Hirsh, E. L., Chi, N., Goldman, S. N., Lo, D. P.,Huang, C. A. 2008. Immunogenicity of umbilical cord tissue–derived cells. Blood, 111: 430-438.

2) Choi K-M, Seo Y-K, Yoon H-H, Song K-Y, Kwon S-Y, Lee H-S, et al. 2008. Effect of ascorbic acid on bone marrow-derived mesenchymal stem cell proliferation and differentiation. J. bioscience and bioengineering. 105(6):586-94.

3) Hass, R., Kasper, C., Böhm, S., & Jacobs, R. 2011. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): a comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. Cell Communication and Signaling, 9: 12-19.

4) Huang, P., Lin, L. M., Wu, X. Y., Tang, Q. L., Feng, X. Y., Lin, G. Y., Ma, L. 2010. Differentiation of human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells into germ□like cells in vitro. J. cellular biochemistry, 109: 747-754.

5) Keating, A. 2006. Mesenchymal stromal cells. Current opinion in hematology, 13: 419-425.

6) Li, M., & Ikehara, S. 2013. Bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for organ repair. Stem cells international, 2013.

7) Lu, L.-L., Liu, Y.-j., Yang, S.-G., Zhao, Q.-J., Wang, X., Gong, W., Liu, D. 2006. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. haematologica, 91: 1017-1026.

8) Marques-Mari, A., Lacham-Kaplan, O., Medrano, J., Pellicer, A., & Simón, C. 2009. Differentiation of germ cells and gametes from stem cells. Human reproduction update.76: 87-94.

9) Mathews, D. J., Donovan, P. J., Harris, J., Lovell-Badge, R., Savulescu, J., & Faden, R. 2009. Pluripotent stem cell-derived gametes: truth and (potential) consequences. Cell Stem Cell, 5: 11-14.

10) Nematollahi S,N., Kermani M.R., Latifpour M.,Salehinezhad P.2009. Charecterization of mesenchymal stem cells from human umbilical cord. Iranian Journal Fertility and sterility . 209: 7-15.

11) Pontikoglou, C., Kastrinaki, M.-C., Klaus, M., Kalpadakis, C., Katonis, P., Alpantaki, K., .Papadaki, H. A. 2012. Study of the quantitative, functional, cytogenetic, and immunoregulatory properties of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. Stem cells and development, 22: 1329-1341.

12) Poppe, K., & Velkeniers, B. 2004. Female infertility and the thyroid. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 18: 153-165.

13) Salimi, A., Ghollasi, M., Saki, N., Rahim, F., Dehghanifard, A., Alizadeh, S., Soleimani, M. 2010. Application of Nanoscaffolds and Mesenchymal Stem Cells in Tissue Engineering. Iranian J. Blood & Cancer, 3: 10-17.

14) Seshagiri, Polani B. 2001. Molecular insights into the causes of male infertility. J. biosciences, 26(4), 429-435.

15) Wang, H. S., Hung, S. C., Peng, S. T., Huang, C. C., Wei, H. M., Guo, Y. J., Chen, C. C. 2004. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. Stem cells, 22: 1330-1337.

16) Weiss, M. L., Medicetty, S., Bledsoe, A. R., Rachakatla, R. S., Choi, M., Merchav, S., Troyer, D. 2006. Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of

transplantation in a rodent model of Parkinson’s disease. Stem cells, 24: 781-792.
17) Yao, L., Yu, X., Hui, N., & Liu, S. 2011. Application of iPS in assisted reproductive technology: sperm from somatic cells. Stem Cell Reviews and Reports, 7: 714-721.