



پایان نامه کارشناسی زیست شناسی
کاربردهای سلول های بنیادی پرتوان القایی

نام دانشجو :

مهنوش اتحادی

استاد راهنما :

دکتر ندا ناشری

بهار ۱۴۰۰

چکیده

در سال های اخیر محققان تحقیقات آزمایشگاهی بسیاری روی سلول های بنیادی انجام دادند. این تحقیقات به منظور کشف اطلاعات جدید در مورد ساختار و ویژگی های این سلول ها و همچنین روش های درمانی جدید و موثر برای بسیاری از بیماری های ژنتیکی و وراثتی صورت گرفته است. این مقاله در مورد سلول های بنیادی و تقسیم بندی این سلول ها بر اساس پتانسل شان است و سپس تمرکز آن روی یک نوع از سلول های بنیادی به نام سلول های بنیادی پرتوان القایی می باشد. کاربردهای سلول های بنیادی پرتوان القایی در زمینه ی ایجاد درمان و راهکار هایی برای بعضی بیماری ها مانند بیماری آلزایمر، پارکینسون و دیابت نوع یک است. همچنین مدل سازی بیماری و کشف دارو دو کاربرد دیگر این سلول ها هستند.

واژگان کلیدی: سلول های بنیادی پرتوان القایی، بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون، دیابت نوع یک، مدل سازی بیماری و کشف دارو

فهرست مطالب

چکیده	۲
فهرست مطالب	۳
فهرست شکل ها	۵
فهرست جداول	۶
تشکر و قدر دانی	۷
معرفی	۸
۱- فصل اول : سلول های بنیادی	۹
۱.۱- سلول های بنیادی جنینی و بالغ	۹
۱.۲- طبقه بندی سلول های بنیادی بر اساس پتانسیل آن ها	۱۱
۱.۳- کاربرد های درمانی سلول های بنیادی قدرت مطلق، سلول های بنیادی پر توان و سلول های بنیادی چند توانمند	۱۱
۱.۴- سلول های بنیادی پر توان القایی	۱۲
۱.۵- برنامه ریزی مجدد سلولی	۱۵
۱. ۵. ۱- انتقال پروتئین نو ترکیب	۱۵
۱. ۵. ۲- Transfection با mRNA	۱۷
۱. ۵. ۳- Transfection با miRNA	۱۹
۲- فصل دوم : کاربرد ها و چالش های سلول های بنیادی پر توان القایی در درمان و تحقیق بیماری های انسانی....	۲۱
۲.۱- اندام واره	۲۱
۲.۱.۱- اندام واره عصبی	۲۱
۲.۱.۲- اندام واره کلیه	۲۱
۲.۱.۳- اندام واره دستگاه گوارش	۲۱
۲.۲- درمان سلولی	۲۳
۲.۲.۱- بیماری آلزایمر	۲۳
۲.۲.۲- نقش سلول های بنیادی پر توان القایی در بیماری آلزایمر	۲۳
۲.۲.۳- بیماری پارکینسون	۲۵

۲۵.....	۲.۲.۴- نقش سلول های بنیادی پر توان القایی در بیماری پارکینسون
۲۷.....	۲.۲.۵- دیابت نوع یک
۲۷.....	۲.۲.۶- نقش سلول های بنیادی پر توان القایی در دیابت نوع یک
۳۰.....	۲.۳- مدل سازی بیماری
۳۲.....	۲.۴- کشف دارو
۳۴.....	۲.۵- چالش های سلول های بنیادی پر توان القایی در درمان بیماری های انسانی
۳۴.....	۲.۵.۱- وکتورهای ویروسی
۳۴.....	۲.۵.۲- تومور زایی
۳۵.....	۲.۵.۳- حافظه اپی ژنتیک
۳۵.....	۲.۵.۴- ایمنی زایی
۳۵.....	۲.۵.۵- قدرت تکثیر سلول های بنیادی پر توان القایی
۳۵.....	۲.۵.۶- سلول های تمایز نیافته از سلول های بنیادی پر توان القایی
۳۵.....	۳- فصل سوم :
۳۶.....	۳.۱- موضوعات اخلاقی و ایمنی در درمان با سلول های بنیادی پر توان القایی
۳۶.....	۳.۲- نتیجه گیری
۳۷.....	۳.۳- چشم انداز آینده
۳۸.....	۴- فصل چهارم : منابع

فهرست شکل ها

- شکل اول : مراحل اولیه رشد و نمو حیوانات از تخم تا گاسترولا ۱۰
- شکل دوم : تولید سلول های بنیادی پر توان القایی از سلول های سوماتیک با تکنولوژی برنامه ریزی مجدد سلولی ... ۱۴
- شکل سوم : ورود پروتئین های نو ترکیب به سلول های سوماتیک از طریق غشا سلولی ۱۶
- شکل چهارم : ورود mRNA به سلول های سوماتیک با الکتروپوریشن به جهت تغییر بیان ژن ۱۸
- شکل پنجم : miRNA های مختلف می توانند بعضی فرایند های سلولی را مهار یا فعال کنند ۲۰
- شکل ششم : کاربرد اندام واره ها در مدل سازی بیماری و کشف دارو ۲۲
- شکل هفتم : کلنی های حاصل از سلول های بنیادی پر توان القایی به دست آمده از یک سلول عصبی بیمار
آلزایمری..... ۲۴
- شکل هشتم : تمایز سلول های بنیادی پر توان القایی به دست آمده از سلول های عصبی بیمار به نورون های
دوپامینرژیک ۲۶
- شکل نهم : تمایز سلول های بنیادی پر توان القایی به سلول هایی شبیه بتا لوزالمعده در یک موش ۲۸

فهرست جداول

جدول ۱ : بعضی سرطان های مطالعه شده روی سلول های بنیادی پر توان القایی ۳۱

جدول ۲ : بعضی داروهای آزمایش شده روی سلول های بنیادی پر توان القایی..... ۳۳

تشکر و قدردانی

از استاد راهنمای عزیزم سرکار خانم دکتر ندا ناشری که با راهنمایی و همکاری ایشان توانستم پایان نامه را به اتمام برسانم بسیار سپاسگزارم. همچنین از سرکار خانم مهنوش رجبیان که از ابتدای تحصیل با بنده همراه بودند کمال تشکر را دارم. از تمام اساتید و اعضای خانواده ام که در این مدت با صبوری بنده را تشویق و همراهی کردند تشکر نموده و امیدوارم همگی موفق باشند.

معرفی

درمان سلولی امروزه به عنوان یک ابزار قدرت مند و شناخته شده ای برای درمان بیماری های مختلف مانند بیماری های قلبی و عروقی، ژنتیکی و انواع سرطان ها که با داروهای موجود درمان نمی شوند بسیار کاربرد دارد (Mirzaei et al., 2017). برای مثال سلول های بنیادی خون ساز برای درمان اختلالات مربوط به خون مناسب هستند (Mount et al., 2015).

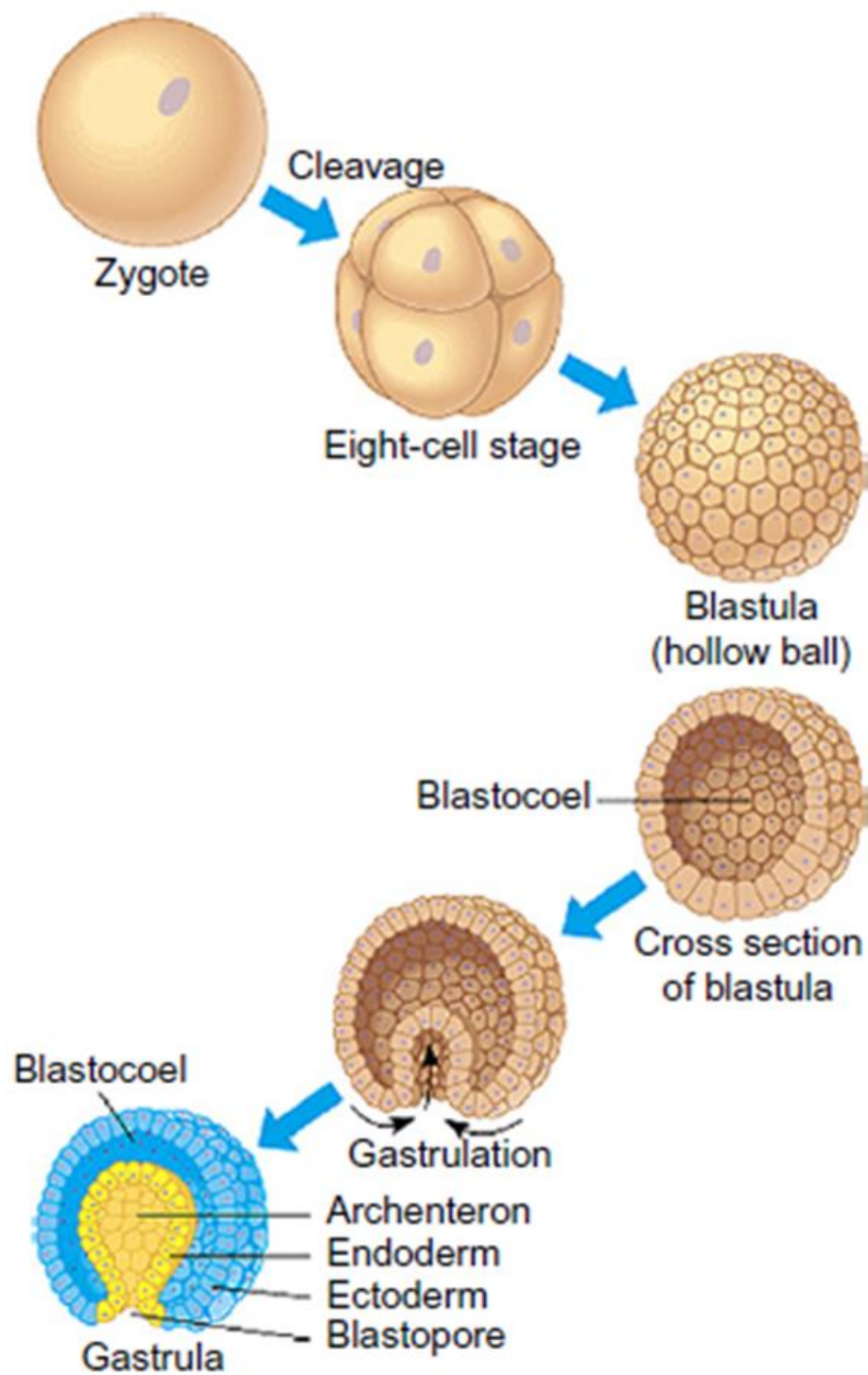
سلول های بنیادی در واقع سلول های غیر اختصاصی هستند که می توانند به انواع سلول های مختلف مانند سلول های ماهیچه ای یا سلول های عصبی تبدیل شوند. این سلول ها همچنین می توانند تقسیم شوند و جایگزین سلول های آسیب دیده یا فرسوده شوند و این ظرفیت برای کاربرد های داروسازی و پزشکی بسیار جذاب است (Passier et al., 2003). سلول های بنیادی دو ویژگی دارند: اول این که این سلول ها می توانند از طریق تقسیم سلولی به طور نامحدود تکثیر شوند. دوم تحت شرایط آزمایشگاهی یا فیزیولوژی می توانند به یک بافت یا اندام خاص متمایز شوند (National Institutes of Health (NIH), 2016).

سلول های بنیادی در دو گروه طبقه بندی شده اند: سلول های بنیادی جنینی و سلول های بنیادی بالغ (Larjani et al., 2012). سلول های بنیادی پرتوان القایی در واقع یک زیر مجموعه از سلول های بنیادی بالغ هستند که در ادامه در مورد این مهم توضیح خواهم داد.

فصل اول : سلول های بنیادی

۱.۱- سلول های بنیادی جنینی و بالغ

یک تخم لقاح یافته می تواند هشت سلول جدید ایجاد کند که این مجموعه مورلا نام دارد (شکل ۱). سپس مورلا رشد می کند و به یک بلاستوسیت تبدیل می شود. بلاستوسیت حاصل از دو نوع سلول تشکیل شده است. گروه درونی از سلول ها که جنین را تشکیل می دهند و گروه بیرونی از سلول ها که وظیفه ی تغذیه و محافظت از جنین را بر عهده دارند (Putri-lubis et al., 2018). سلول های بنیادی جنینی پتانسیل تمایز به سلول های سوماتیک خاص را دارند (Gepstein ., 2002). این سلول ها می توانند به سلول های قلبی تبدیل شوند. محققان از سلول های بنیادی جنینی در تحقیقات زیست شناسی اولیه و مطالعه بسیاری از بیماری ها استفاده می کنند (Yu et al., 2014). مرحله ی بعدی در توسعه ی مهره داران گاسترولیشن است. گاسترولیشن در واقع فرآیند اولیه ی تشکیل Germ layers است. Germ layers شامل آندودرم، مزودرم و اکتودرم هستند. لایه ی درونی آندودرم نام دارد و به دستگاه گوارش، کبد، پانکراس و قسمتی از سیستم تنفسی مانند شش و تعدادی از غده های درون ریز مانند تیروئید رشد می کند. لایه ی دوم مزودرم نام دارد. این لایه سیستم اسکلتی عضلانی را تشکیل می دهد مانند بافت پیوندی و غضروف. مزودرم همچنین سیستم گردش خون، کلیه ها و اندام های جنسی داخلی را تشکیل می دهد. آخرین لایه اکتودرم نام دارد و وظیفه ی تشکیل اپیدرم، مو، ناخن ها، عدسی چشم، گوش درونی، سیستم عصبی و بافت های مربوط به سیستم عصبی که شامل تاج و نخاع هستند را بر عهده دارد (Muhre et al., 2020; Kiecker et al., 2016). بلاستوپور یک منفذی است که گاسترولا را به محیط بیرونی متصل می کند این منفذ می تواند مخرج یا دهان باشد (Nielsen., 2019). سلول های بنیادی بالغ به عنوان سلول های بنیادی سوماتیک نیز شناخته شده اند. این سلول ها سلول های تمایز نیافته هستند که می توانند به یک بافت خاص یا اندام تمایز پیدا کنند. سلول های بنیادی بالغ در بسیاری از بافت ها مانند: روده، پوست، ماهیچه، مغز و قلب شناسایی شده اند. نقش این سلول ها در واقع حفظ حالت هموستاز یا پایدار بافت است (Gurusamy et al., 2018). این سلول ها در رشد و تعمیر بافت های آسیب دیده و فرسوده بسیار موثر هستند (Loya ., 2014). استفاده کلینیکی این سلول ها رو به پیشرفت است (Prentice., 2019). محققان تلاش می کنند تا در محیط آزمایشگاه بتوانند بسیاری از بیماری ها مانند بیماری آلزایمر، پارکینسون و دیابت نوع یک را با کمک سلول های بنیادی بالغ درمان کنند (Mimeault et al., 2012).



شکل اول : مراحل اولیه رشد و نمو حیوانات از تخم تا گاسترولا (Cabej., 2013).

۱.۲- طبقه بندی سلول های بنیادی بر اساس پتانسیل آن ها

سلول های حاصل از تقسیم سلول های بنیادی می توانند سلول بنیادی باقی بمانند و یا به سلول های خاص مانند سلول های ماهیچه ای و یا سلول های عصبی متمایز شوند (National Institutes of Health (NIH), 2016). پتانسیل یک سلول بنیادی در هر مرحله از تقسیم کاهش پیدا می کند. برای مثال یک سلول بنیادی unipotent نمی تواند به اندازه ی یک سلول بنیادی پر توان به سلول های مختلف متمایز شود. سه نوع سلول بنیادی وجود دارد: سلول های بنیادی قدرت مطلق، سلول های بنیادی پر توان و سلول های بنیادی چند توانمند (Zakrzewski et al., 2019). سلول های بنیادی قدرت مطلق یا در واقع totipotent stem cells قادر به تولید همه نوع سلولی هستند. یک تخم لقاح یافته نمونه ای از یک سلول بنیادی قدرت مطلق است. این نوع از سلول های بنیادی در جنین اولیه هستند (Cheng et al., 2008). زمانی که یک سلول تخم رشد و نمو پیدا می کند تا یک بلاستوسیت را ایجاد کند در واقع به نوعی تلاش می کند تا سلول های بنیادی قدرت مطلق بیشتری تولید کند. سپس این سلول های بنیادی قدرت مطلق به سلول های دیگری مانند سلول های قلبی و سلول های عصبی تمایز پیدا می کنند. بنابراین این نوع از سلول های بنیادی نسبت به سایر سلول های بنیادی کاربرد بیشتری در علم پزشکی دارند (Murnaghan., 2019). سلول های بنیادی پر توان یا pluripotent stem cells می توانند به بعضی از سلول ها تمایز پیدا کنند. برای مثال آندودرم، مزودرم و اکتودرم سلول های بنیادی پر توان هستند (Singh et al., 2016). تفاوت سلول های بنیادی پر توان نسب به سلول های بنیادی قدرت مطلق این است که سلول های بنیادی پر توان نمی توانند به یک موجود کامل تمایز پیدا کنند در حالی که سلول های بنیادی قدرت مطلق این پتانسیل را دارند (Murnaghan., 2019). سلول های بنیادی چند توانمند یا multipotent stem cells به تعداد محدودی از سلول ها متمایز می شوند و نمی توانند همه ی سلول ها را تولید کنند (Singh et al., 2016). برای مثال مغز استخوان شامل سلول های بنیادی چند توانمند است که می توانند به همه نوع از سلول های خونی رشد کنند و نمی توانند به هیچ نوع سلول دیگری رشد کنند. این نوع از سلول ها در بافت پستانداران جوان مشاهده شدند (Murnaghan., 2019).

۱.۳- کاربرد های درمانی سلول های بنیادی قدرت مطلق، سلول های بنیادی پر توان و سلول های بنیادی چند توانمند

سلول تخم که در نتیجه ی همجوشی گامت ها ایجاد می شود در واقع یک سلول توانمندی است که قابلیت تقسیم شدن به تعداد زیادی سلول یکسان را دارد. بنابراین سلول های بنیادی قدرت مطلق منابع خوبی برای سلول و ژن درمانی هستند. این نوع از سلول های بنیادی می توانند به حدود ۲۰۰ نوع سلول در بدن انسان متمایز شوند و ارزش درمانی

بسیار بالایی دارند (Makhani et al., 2015).

سلول های بنیادی پر توان در درمان بعضی بیماری ها موثر هستند. برای مثال در درمان انحطاط ماکولا نقش دارند. این بیماری در واقع دید مرکزی را مختل می کند. ماکولا در مرکز شبکیه چشم قرار دارد و تخریب آن باعث از بین رفتن سلول های شبکیه می شود. در یک آزمایش کلینیکی سلول های شبکیه حاصل از تمایز سلول های بنیادی پر توان به یک بیمار پیوند زده شد این پیوند بدون اینکه عوارض جدی برای بیمار داشته باشد توانست دید مرکزی بیمار را برگرداند (Martin., 2017).

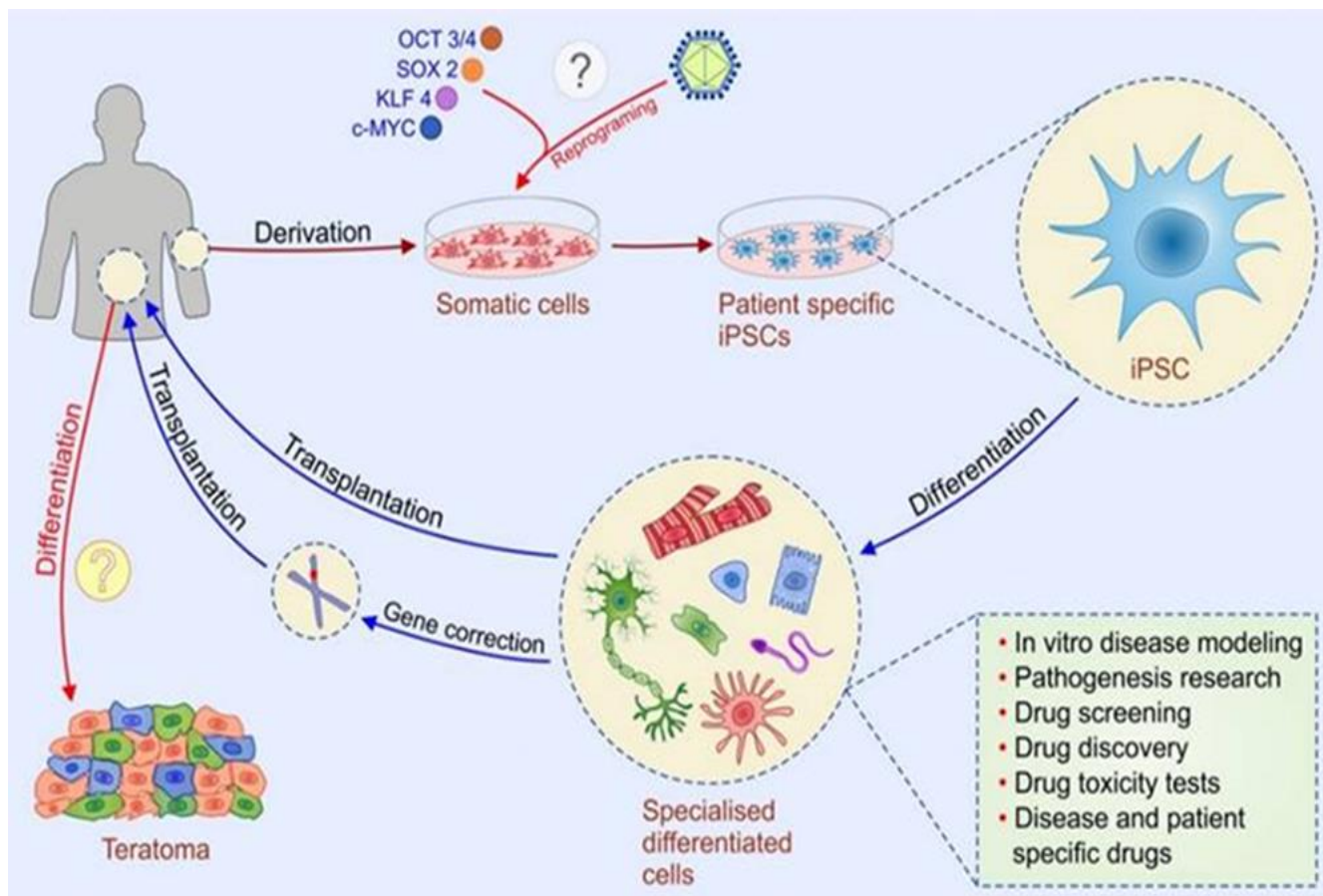
سلول های بنیادی پر توان در درمان اختلالات کبدی نیز می توانند نقش داشته باشند. این اختلالات شامل نارسایی حاد کبدی و یا نارسایی مزمن کبدی هستند. یکی از دلایل مرگ و میر در سراسر جهان اختلالات کبدی و بیماری های مربوط به آن است. پیوند کبد یکی از روش های درمانی موثر برای این بیماری می باشد اما این روش محدودیت هایی دارد برای مثال تقاضا برای کبد بیشتر از عرضه است و بیشتر اوقات اهدا کنندگان مسن هستند و سلول های کبدی به دست آمده از این کبد ها عملکرد ضعیفی را نشان می دهند. بنابراین سلول درمانی یک روش مفید و موثر است و می تواند عملکرد متابولیکی از دست رفته ی کبد را برگرداند و آن را تثبیت کند (Tolosa et al., 2016).

سلول های بنیادی چند توانمند در بازسازی ریه و بیماری های ریوی می توانند نقش داشته باشند. دو نوع سلول اصلی در سیستم تنفسی وجود دارد. این سلول ها شامل: سلول های اپیتلیال یا مخاطی و سلول های مژه دار هستند. سلول های اپیتلیال شش در تماس مستقیم با محیط بیرون هستند بنابراین به منظور حفظ ساختار و عملکرد شش سلول های اپیتلیال باید به طور مداوم و سریع با سلول های اپیتلیال دیگر جایگزین شوند. سلول های بنیادی چند توانمند این پتانسیل را دارند که به سلول های اپیتلیال شش متمایز شوند و در تعمیر و بازسازی ریه فعالیت کنند (Liu et al., 2019).

۱.۴- سلول های بنیادی پرتوان القایی

سلول های بنیادی پرتوان القایی (Induced Pluripotent Stem Cells) یک زیر مجموعه از سلول های بنیادی پر توان هستند. در واقع منشأ این سلول ها سلول های سوماتیک می باشد (Ye et al., 2013). سلول های بنیادی پر توان القایی سلول های بنیادی ساختگی هستند (Moradi et al., 2019). چندین آزمایش نشان داده است که منشأ سلول اولیه، برای تولید سلول های بنیادی پرتوان القایی و در نهایت تمایز سلول های بنیادی پرتوان القایی به سلول های هدف خیلی مهم است و در تسهیل کار کمک می کند. برای مثال اگر سلول هدف یک سلول عصبی باشد بهتر است در ابتدا از یک سلول عصبی برای تولید سلول های بنیادی پرتوان القایی استفاده شود. البته از سلول های دیگری هم

می توان برای این منظور استفاده کرد اما به علت حافظه سلولی این روند ممکن است با چالش هایی روبرو باشد. بعضی از کاربردهای سلول های بنیادی پر توان القایی شامل درمان سلولی ، مدل سازی بیماری و کشف دارو هستند (Singh et al., 2015) (شکل ۲) . در ادامه در مورد هر سه کاربرد به طور کامل توضیح خواهم داد.



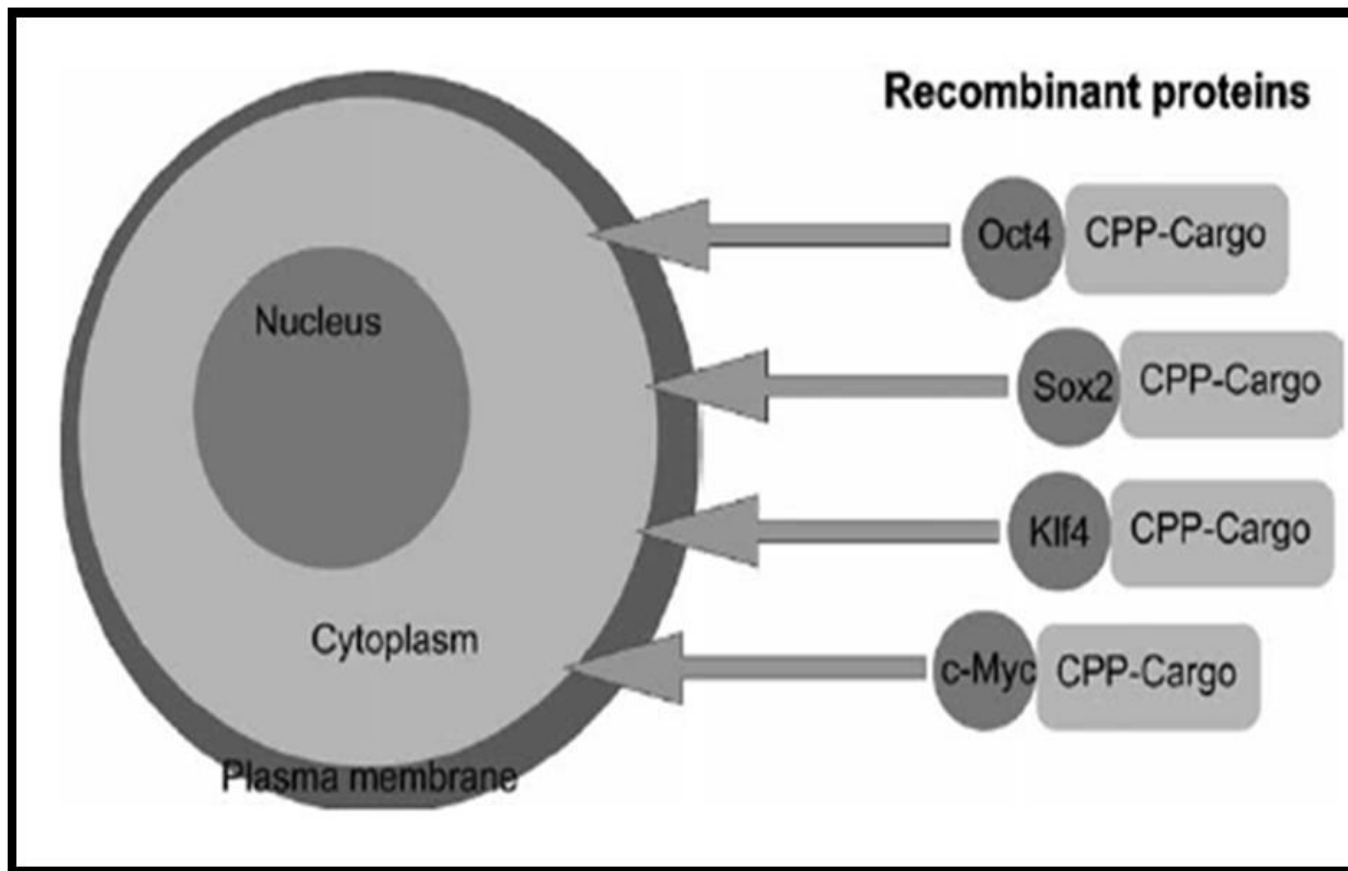
شکل دوم: تولید سلول های بنیادی پر توان القایی از سلول های سوماتیک با تکنولوژی برنامه ریزی مجدد سلولی (Volarevic et al., 2018).

۱.۵- برنامه ریزی مجدد سلولی

تکنولوژی برنامه ریزی مجدد سلولی در پنجاه سال گذشته پیشرفت زیادی داشته است. این تکنولوژی در واقع برای تولید سلول های بنیادی پر توان القایی ایجاد شده است. برنامه ریزی مجدد سلولی امکان دسترسی به درون سلول ها به منظور تغییر عملکرد سلول ها را فراهم کرده است. برای برنامه ریزی مجدد سلول به فکتورهای نیاز داریم که این فکتورها شامل: OCT4, SOX2, KLF4 و c-MYC هستند (Takahashi., 2014). فکتور یا ژن OCT4 در تکثیر سلولی و تمایز آن ها به سلول های هدف نقش دارند (Hyun Baek et al., 2020). فکتور SOX2 یک پروتئینی به نام SOX2 تولید می کند که این پروتئین دستور العمل های لازم در شکل گیری بسیاری از بافت ها و اندام های مختلف در طی دوران رشد جنینی را دارد. این پروتئین به مناطق خاصی از DNA متصل می شود و فعالیت سایر ژن ها را تنظیم می کند (Schaefer et al., 2019). فکتور KLF4 به همراه سه فکتور دیگر در تسهیل تغییر بیان ژن به منظور ایجاد سلول های بنیادی پر توان القایی نقش دارد (Ghaleb et al., 2017). فکتور c-MYC در رشد و تقسیم سلولی موثر است. روند رشد و تکثیر طبیعی سلول توسط مرحله ی G1 چرخه ی سلولی تنظیم می شود (Schmidt et al., 1999). فکتور های برنامه ریزی مجدد، سلول های سوماتیک را به سلول های پر توان القایی تبدیل می کنند. سلول های حاصل از سلول های پر توان القایی در مهندسی بافت، مدل سازی بیماری و کشف دارو استفاده می شوند (Grath., 2019). روش ها و تکنیک های زیادی برای برنامه ریزی مجدد وجود دارد که به سه مورد از آن ها اشاره شده است. انتقال پروتئین نو ترکیب، Transfection با mRNA و Transfection با miRNA (Augustyniak et al., 2014).

۱.۵.۱- انتقال پروتئین نو ترکیب

ماکرومولکول ها مانند پروتئین ها نمی توانند به راحتی وارد سلول شوند و برای عبور از غشای سلولی نیاز دارند تغییراتی در آن ها ایجاد شود. پپتید های خاصی مانند: cell - penetrating peptides (CPP), membrane translocating sequences (MTS) و protein transduction domains (PTDs) وجود دارند. در این پپتیدها آمینواسیدهایی مانند: آرژنین و لایزین هستند. این آمینواسیدها بار مثبت دارند و بار غشای سلولی منفی است. بنابراین جذب بار مثبت و منفی به پروتئین اجازه می دهد وارد سلول شود (Augustyniak et al., 2014) (شکل ۳).

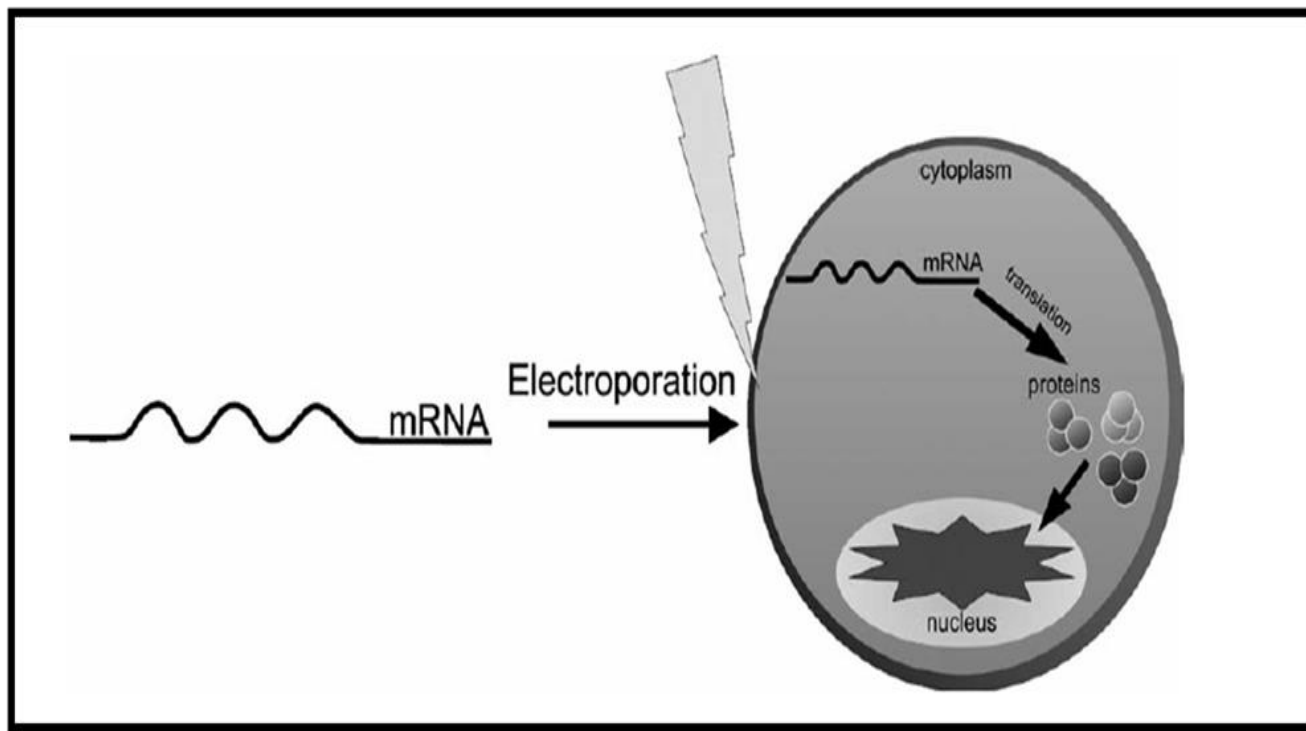


شکل سوم: ورود پروتئین های نوترکیب به سلول های سوماتیک از طریق غشا سلولی

(Augustyniak et al., 2014)

۱.۵.۲ - mRNA با Transfection

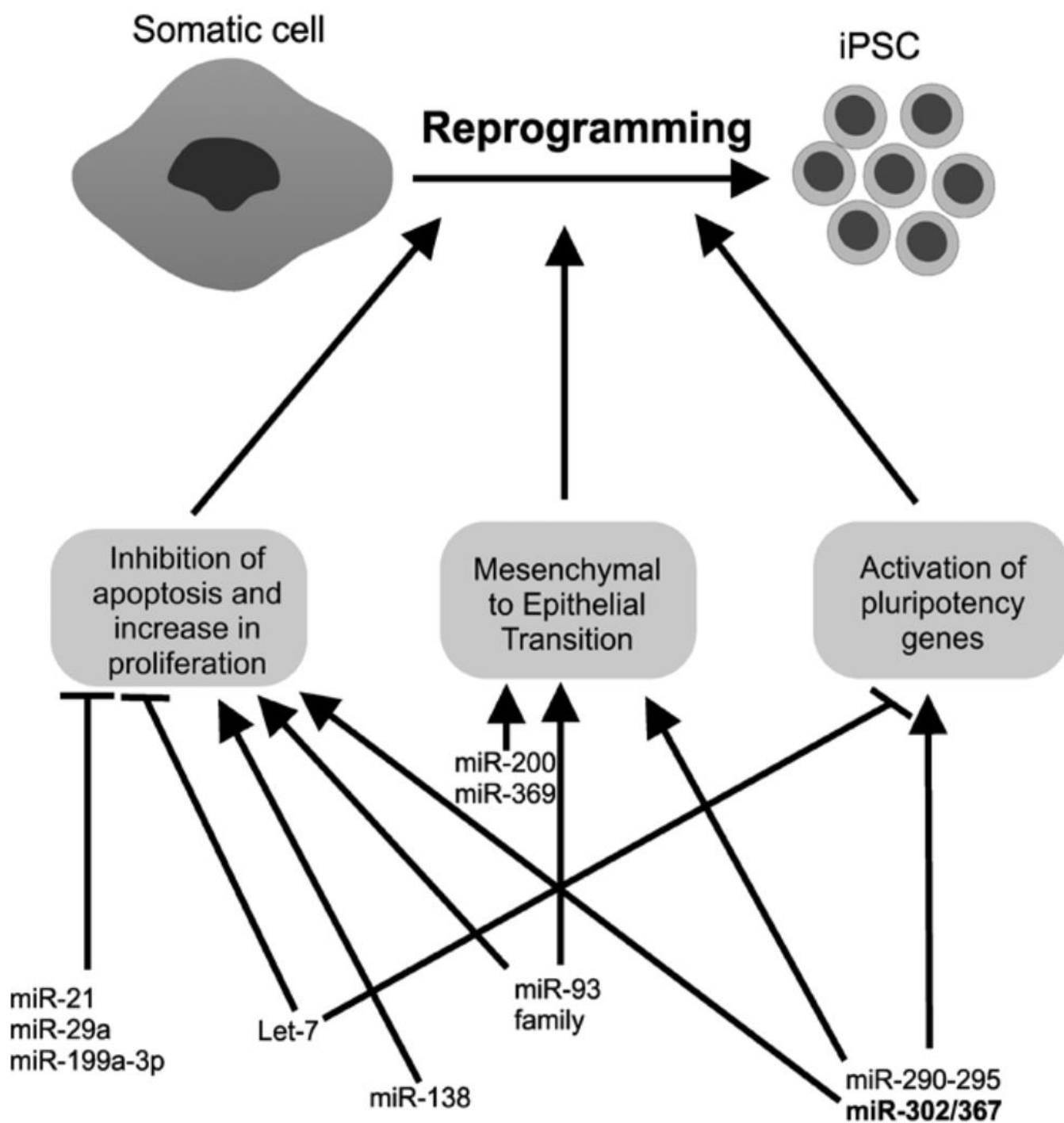
مولکول mRNA در محیط آزمایشگاه از نوکلئوتیدهای مورد نظر ساخته می‌شود. سپس مولکول mRNA حاصل از طریق فرآیند الکتروپوریشن وارد سلول می‌شود. الکتروپوریشن یک روش میکروبیولوژی است که یک میدان مغناطیسی در غشای سلولی ایجاد می‌کند. میدان مغناطیسی نفوذ پذیری غشای سلول به مولکول mRNA را افزایش می‌دهد. mRNA در سیتوپلاسم سلول به پروتئین‌های دلخواه ترجمه می‌شود. پروتئین‌ها به هسته‌ی سلول می‌روند تا روی بیان ژن تاثیر بگذارند (Augustyniak et al., 2014) (شکل ۴).



شکل چهارم: ورود mRNA به سلول های سوماتیک با الکتروپوریشن به جهت تغییر بیان ژن
(Augustyniak et al., 2014).

۱.۵.۳ - miRNA با Transfection

miRNA تک رشته ای و کوتاه است و بین ۱۸ تا ۲۴ نوکلئوتید دارد. این تک رشته کوتاه هیچ پروتئینی تولید نمی کند. زیرا از قسمت های غیر کد کننده ی ژن تشکیل شده است. miRNA ترجمه mRNA را مهار می کند و این کار را با کمک یک مجموعه پروتئینی به نام RNA-induced silencing complex (RISC) انجام می دهد. بعضی miRNA ها در تنظیمات چرخه ی سلولی نقش دارند. همان طور که در تصویر ملاحظه می کنید چندین miRNA در برنامه ریزی مجدد سلول های سوماتیک به سلول های پرتوان القایی موثر هستند (Augustyniak et al., 2014) (شکل ۵).



شکل پنجم : miRNA های مختلف می توانند بعضی فرایندهای سلولی را مهار یا فعال کنند

(Augustyniak et al., 2014).

فصل دوم : کاربرد ها و چالش های سلول های بنیادی پر توان القایی در درمان و تحقیق بیماری های انسانی

۲.۱- اندام واره

اندام واره در واقع یک ساختار سه بعدی و بسیار ساده از یک اندام انسان می باشد و این ساختار از سلول های بنیادی یا سلول های بنیادی پر توان القایی در محیط آزمایشگاه تولید شده است. این تکنولوژی ویژگی های ساختاری و ویژگی های کاربردی سلول ها را در بافت های مختلف نشان می دهد. در ادامه سه مثال از اندام واره بیان شده است. اندام واره عصبی، اندام واره کلیه و اندام واره دستگاه گوارش (Grant Rowe et al., 2019) (شکل ۶).

۲.۱.۱- اندام واره عصبی

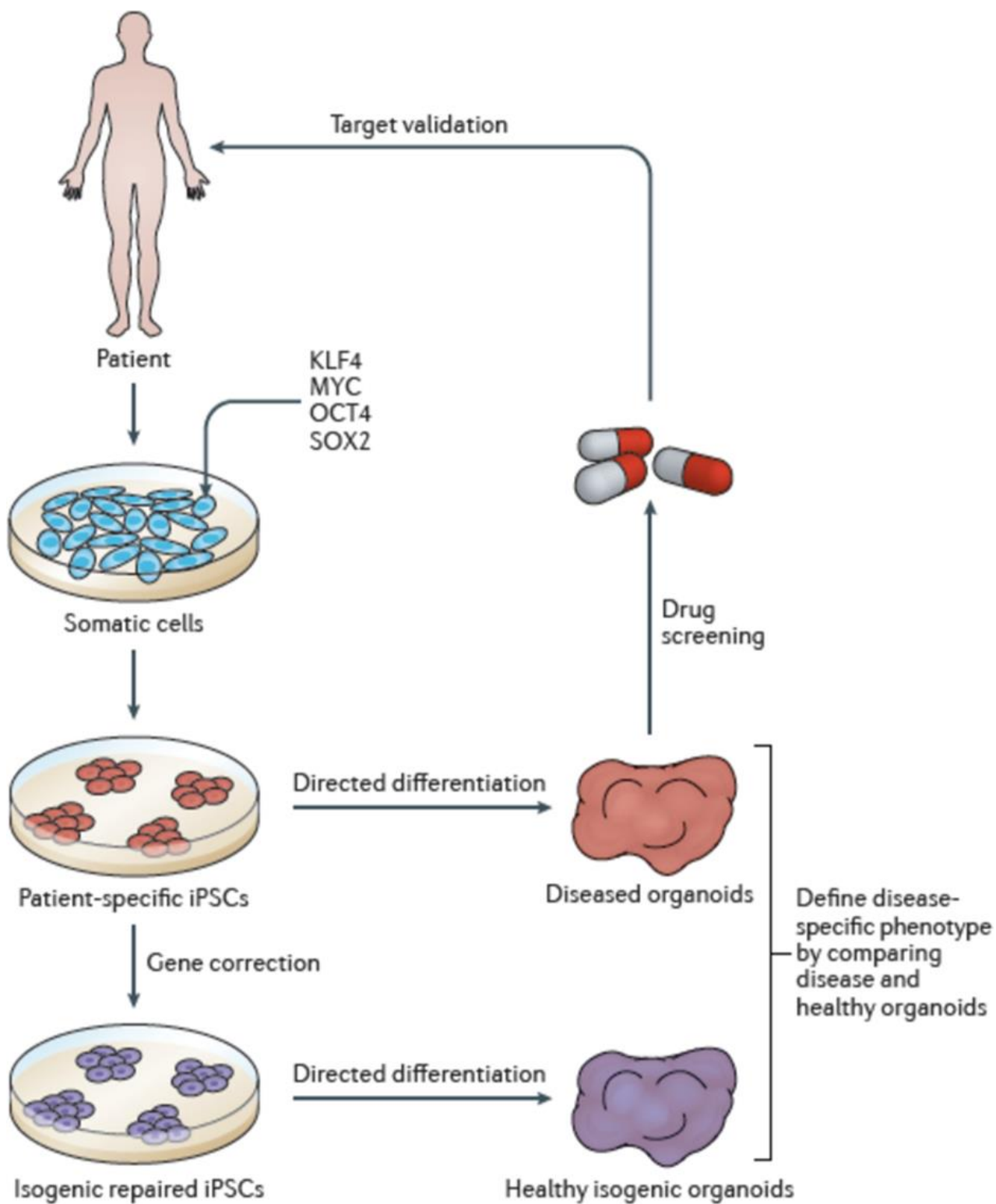
دسترسی به سلول های عصبی چالش ها و پیچیدگی های زیادی دارد. برای درک بیشتر اختلالات عصبی محققان از اندام واره های عصبی به دست آمده از سلول های بنیادی پر توان القایی کمک می گیرند (Grant Rowe et al., 2019). این اندام واره ها (neoplastic cerebral organoids (neoCOR نام دارند (Bian et al., 2018). اندام واره ها اطلاعات زیادی در مورد تومور های مغزی و جهش هایی که این تومور ها را می سازند به ما نشان می دهند. این نوآوری در زمینه ی کشف دارو نیز بسیار قابل اهمیت است (Grant Rowe et al., 2019).

۲.۱.۲- اندام واره کلیه

برای اولین بار در سال ۲۰۱۵ محققان توانستند با کمک سلول های بنیادی پر توان القایی اندام واره کلیه انسان را تولید کنند. این ساختار سه بعدی بعضی از اجزای کلیه مانند نفرون و گلومرول را شامل می شود. بعضی از اختلالات کلیه مانند پلی کیستیک کلیه دلایل ژنتیکی و وراثتی دارد که به کمک این اندام واره ها قابل تجزیه و تحلیل است. محققان و دانشمندان امیدوارند در آینده بتوانند برای همه ی اختلالات کلیه مدل های کاربردی و موثر تولید کنند (Grant Rowe et al., 2019).

۲.۱.۳- اندام واره دستگاه گوارش

محققان در ۱۰ سال گذشته بسیار تلاش کرده اند تا با سلول های بنیادی پر توان القایی همه ی اجزای دستگاه گوارش را تولید کنند. اما امروزه اندام واره روده بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است. نکته جالب در این سیستم این است که سلول های بنیادی پر توان القایی علاوه بر اینکه به اندام واره روده متمایز می شوند به سلول های پیش ساز عصبی نیز متمایز می شوند. زیرا تولید سلول های پیش ساز عصبی در واقع سیستم عصبی روده ای را فعال می کنند و نبود این سیستم عصبی باعث بیماری به نام هیرشپرونک می شود که تحرک و فعالیت روده را مختل می کند (Grant Rowe et al., 2019).



شکل ششم : کاربرد اندام واره ها در مدل سازی بیماری و کشف دارو (Grant Rowe et al., 2019).

۲.۲- درمان سلولی

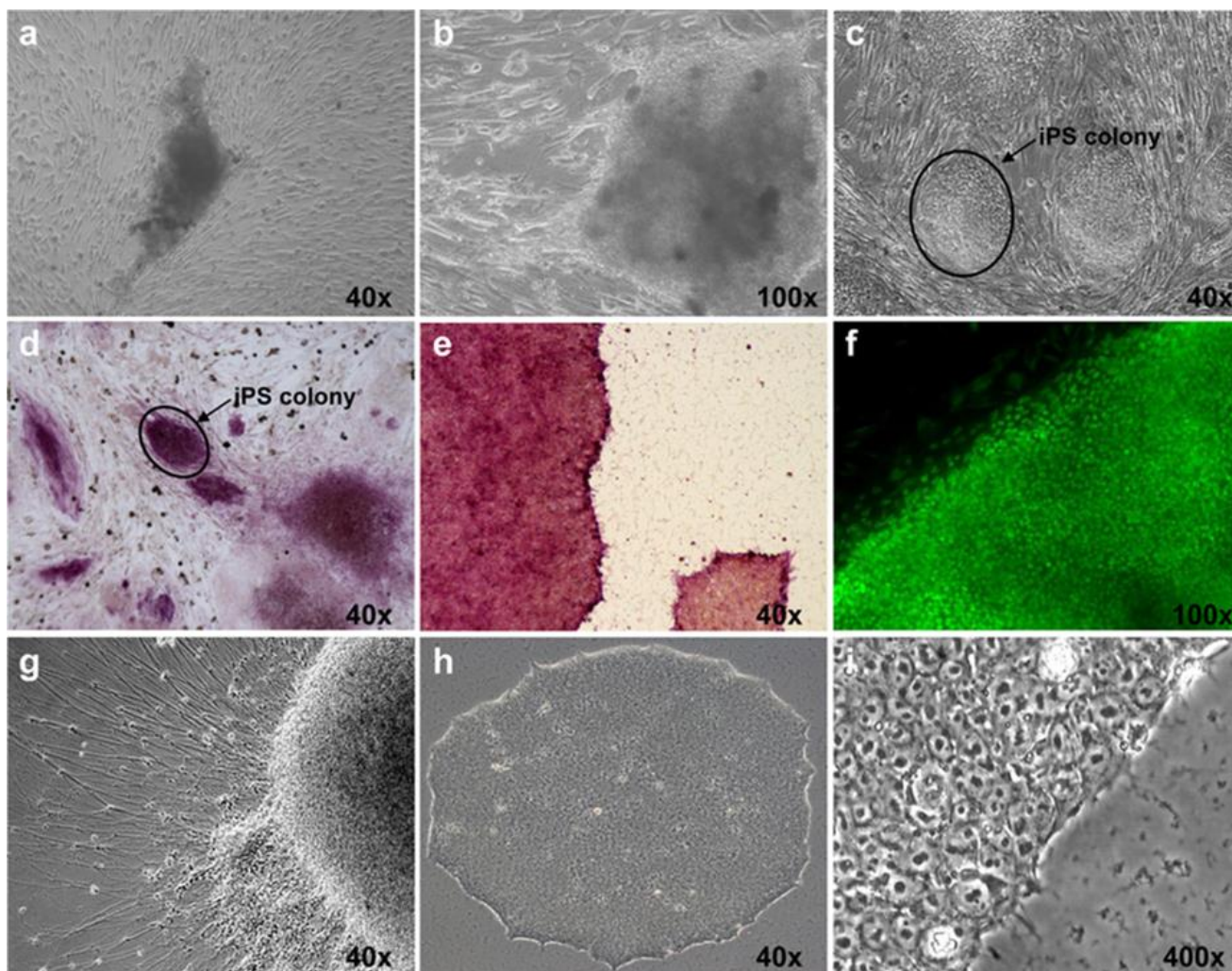
درمان سلولی، باعث یک انقلاب بزرگی در علم پزشکی و بیوتکنولوژی شده است. درمان سلولی مکانیسم های سلولی جدیدی برای درمان بیماری های ژنتیکی یا بیماری هایی که با داروهای موجود درمان نمی شوند ایجاد کرده است. مکانیسم های سلولی و روش های درمانی که در این تکنولوژی جدید وجود دارند در مراحل اولیه آزمایشگاهی هستند. بنابراین در این مسیر چالش ها و مشکلات زیادی وجود دارد که محققان تلاش می کنند این مشکلات را حل کنند تا این تکنولوژی کاربردی تر باشد (Mount et al., 2015). در ادامه در مورد سه بیماری که با درمان سلولی مطالعه شده اند توضیح خواهیم داد.

۲.۲.۱- بیماری آلزایمر

از دست دادن تدریجی و غیر قابل برگشت پذیر سلول های عصبی آلزایمر نام دارد. یکی از دلایل عمده ی بیماری آلزایمر تجمع زنجیره های بتا آمیلوئید است که منجر به تشکیل پلاک و گره های عصبی در بافت مغز می شود. جهش در ژن های PSEN2, PSEN1 و APP باعث تجمع پلاک های آمیلوئید یا زنجیره های بتا آمیلوئید می شود. یک ژن شناسایی شده در بیماری آلزایمر آپولیپو پروتئین E نام دارد. این ژن پروتئینی به نام آپولیپو پروتئین E تولید می کند که این پروتئین در متابولیسم کلسترول سلول های عصبی کاربرد دارد. ژن مورد نظر سه ایزوفرم $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ و $\epsilon 4$ دارد. جهش در آپولیپو پروتئین $\epsilon 4$ باعث ایجاد پلاک های آمیلوئید می شود. سلول های عصبی آسیب دیده در آلزایمر قابل درمان نیستند. در این بیماری فرد به تدریج قدرت حافظه ی خود را از دست می دهد. عوامل محیطی و عوامل ژنتیکی در بروز این بیماری بسیار موثر هستند (Grontvedt et al., 2018).

۲.۲.۲- نقش سلول های بنیادی پر توان القایی در بیماری آلزایمر

بیماری آلزایمر به طور کلی در دو نوع پراکنده و خانوادگی وجود دارد. محققان در مورد مکانیسم های مولکولی اولیه اطلاعات کمی دارند. آن ها توانسته اند مکانیسم های سلولی و مولکولی اولیه که با پیشرفت بیماری مرتبط هستند و باعث تحلیل و از بین رفتن سلول های عصبی در بافت مغز می شوند را در محیط آزمایشگاه بازسازی کنند. در نهایت به این نتیجه رسیدند که سلول های پیش ساز عصبی تشکیل نمی شوند تا بتوانند نورو ن ها را ایجاد کنند. بنابراین یک سلول عصبی آسیب دیده به کمک فرآیند برنامه ریزی مجدد به یک سلول بنیادی پر توان القایی تبدیل می شود. این سلول بنیادی پر توان القایی باید به یک سلول پیش ساز عصبی تمایز پیدا کند و در نهایت سلول پیش ساز عصبی به یک سلول عصبی متمایز شود. در واقع سلول های بنیادی پر توان القایی می توانند روند بیماری را کند کنند و یک درمان قطعی برای بیماری آلزایمر نیستند (Perez et al., 2019; Yang et al., 2017) (شکل ۷).



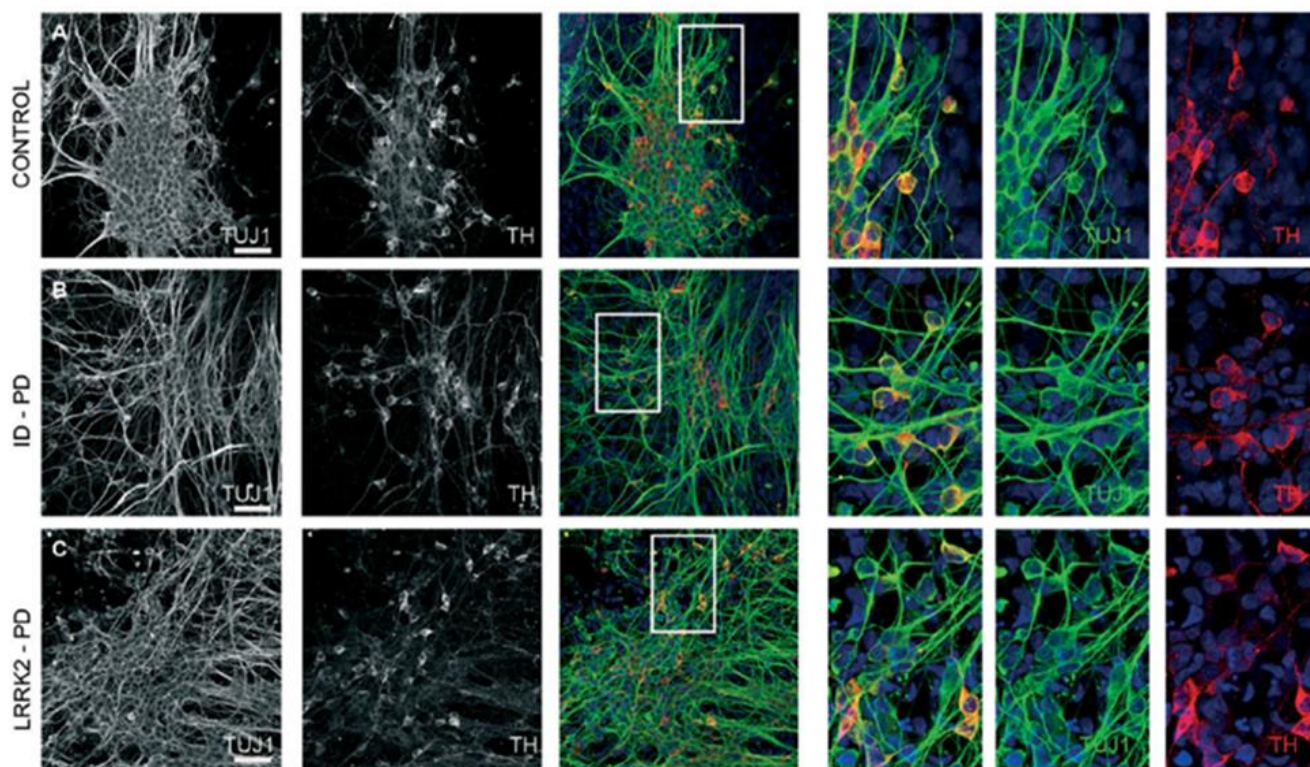
شکل هفتم: کلنی های حاصل از سلول های بنیادی پر توان القایی به دست آمده از یک سلول عصبی بیمار آلزایمری. قسمت a کلنی ها را یک هفته بعد از شروع کشت آن ها در محیط آزمایشگاه نشان می دهد. قسمت b کلنی ها را دو هفته بعد از شروع کشت آن ها در محیط آزمایشگاه نشان می دهد. قسمت c کلنی ها را چهار هفته بعد از شروع کشت آن ها در محیط آزمایشگاه نشان می دهد. قسمت d و e کلنی ها را دو سال بعد از یخ زدگی در نیتروژن مایع نشان می دهد. قسمت f کلنی ها را با بزرگ نمایی بالا نشان می دهد. قسمت g تمایز کلنی سلول های بنیادی پر توان القایی به سلول های عصبی را نشان می دهد. قسمت h و i در واقع تصاویر میکروسکوپی سلول های بنیادی پر توان القایی در بزرگ نمایی کم و زیاد هستند (Hossini et al., 2016).

۲.۲.۳- بیماری پارکینسون

علت بیماری پارکینسون از دست دادن نورون های دوپامینرژیک در جسم سیاه مغز می باشد. نورون های دوپامینرژیک در سیستم عصبی مرکزی دوپامین تولید می کنند (Chinta et al., 2005). دوپامین به عنوان یک انتقال دهنده ی عصبی مسئول جابجایی و انتقال پیام شیمیایی بین سلول های عصبی می باشد (Juarez olgun et al., 2016). نورون های دوپامینرژیک به صورت شاخه ای و گسترده هستند بنابراین به میزان زیادی انرژی نیاز دارند. یون کلسیم تولید انرژی (ATP) در سلول های عصبی را تحریک می کند. عوامل محیطی مانند استرس تولید انرژی به وسیله ی یون کلسیم را کاهش می دهند این باعث می شود نورون های دوپامینرژیک از دست بروند و نتوانند دوپامین تولید کنند (Mamelak., 2018).

۲.۲.۴- نقش سلول های بنیادی پر توان القایی در بیماری پارکینسون

سلول های بنیادی پر توان القایی حاصل از سلول های عصبی بیماران، به نورون های دوپامینرژیک در مغز میانی تمایز پیدا می کنند سپس نورون های دوپامینرژیک باید بتوانند دوپامین تولید کنند. این مکانیسم پیچیدگی های زیادی دارد و برای اولین بار در ژاپن روی سلول های انسانی انجام شده است. محققان همچنین توانسته اند علائم بیماری پارکینسون را در مدل های حیوانی مانند موش کاهش دهند (Stoddard- Bennett et al., 2020) (شکل ۸).



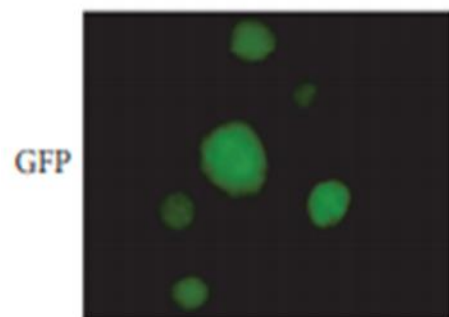
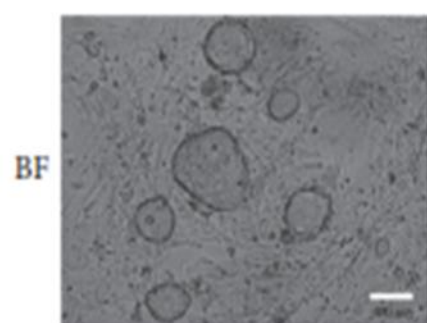
شکل هشتم: تمایز سلول های بنیادی پر توان القایی به دست آمده از سلول های عصبی بیمار به نورو ن های دوپامینرژیک. ID- PD و LRRK2-PD دو نوع از سلول های بنیادی پر توان القایی به دست آمده از سلول های عصبی دو بیمار هستند که در ۳۰ روز به نورو ن های دوپامینرژیک تمایز پیدا کردند. برای تجزیه و تحلیل این سلول ها محققان از ایمونوفلورسانس استفاده کردند. در واقع TUJ1 (سبز) مثبت نشان دهنده ی درصد تولید سلول های عصبی می باشد. برای اینکه متوجه شویم سلول های عصبی تولید شده همان سلول های مورد انتظار ما هستند از رنگ ایمونوفلورسانس TH (قرمز) استفاده می کنیم. زیرا این رنگ دوپامین حاصل از این سلول های عصبی را نشان می دهد. Scale bars ۵۰ میلی متر است (Sanchez-Danes et al., 2012).

۲.۲.۵- دیابت نوع یک

دیابت نوع یک، یک بیماری خود ایمنی مزمن است که در اثر تخریب سلول های بتا لوزالمعده ایجاد می شود. سلول های بتا هورمون انسولین تولید می کنند. در غیاب هورمون انسولین میزان قند خون افزایش پیدا می کند. در واقع آنتی بادی اسید گلوتامیک دکربوکسیلاز با علامت دار کردن سلول های بتا تولید هورمون انسولین توسط سلول های بتا را متوقف می کند. زیرا وقتی این سلول ها علامت دار هستند توسط سیستم ایمنی تخریب می شوند (Dimeglio et al., 2018)

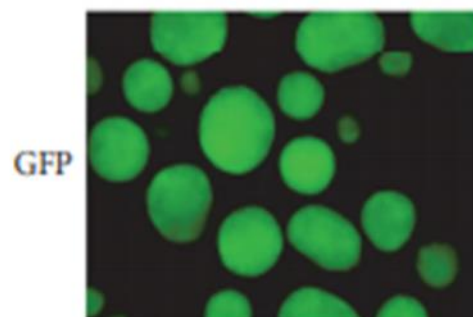
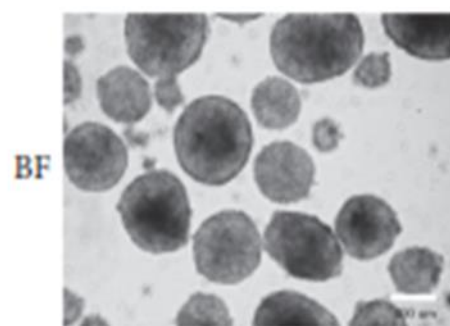
۲.۲.۶- نقش سلول های بنیادی پر توان القایی در دیابت نوع یک

سلول های بنیادی جنینی و سلول های بنیادی پر توان القایی منابع خوبی برای تمایز به سلول های بتا لوزالمعده هستند. مسائل اخلاقی سلول های بنیادی پر توان القایی نسبت به سلول های بنیادی جنینی کمتر است اما سلول های بنیادی جنینی برای تمایز به سلول های بتا لوزالمعده بهتر هستند زیرا این سلول ها حافظه ی سلول سوماتیک اصلی را ندارند (Shahjalal et al., 2018). اخیراً محققان توانسته اند سلول هایی شبیه بتا لوزالمعده را در محیط آزمایشگاه تولید کنند. در این مکانیسم سلول های بنیادی پر توان القایی چندین مرحله ی تمایز برای رشد طبیعی لوزالمعده مانند آندودرم لوزالمعده و پیش سازهای هورمون ها را سپری می کنند. پیش سازهای هورمون ها، هورمون انسولین را ترشح می کنند. ترشح هورمون انسولین توسط پیش سازهای هورمون ها نمی تواند سطح گلوکز خون را کنترل کند. به عبارتی سلول های بتا حاصل از لوزالمعده که مسئول تولید هورمون انسولین هستند بسیار شبیه سلول های بتا جنینی هستند و ویژگی های سلول های بتا بالغ را نشان نمی دهند. بنابراین با اینکه هورمون انسولین ساخته شده و ترشح می شود اما نمی تواند نیاز بدن را برطرف کند. تاکنون پیشرفت های بسیاری در این زمینه انجام شده است اما هنوز تحقیقات آزمایشگاهی بیشتری نیاز است تا این تکنولوژی در دیابت نوع یک موفق تر عمل کند (kondo et al., 2018) (شکل ۹).



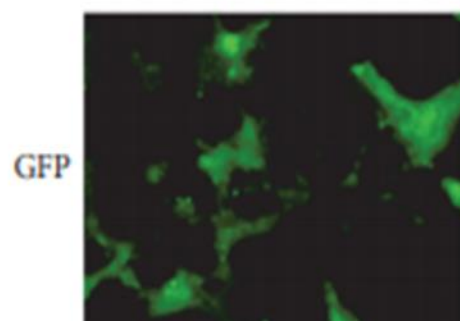
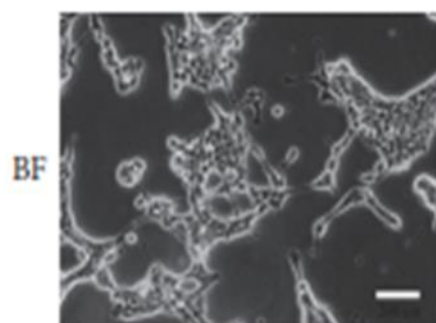
iPSCs

(a)



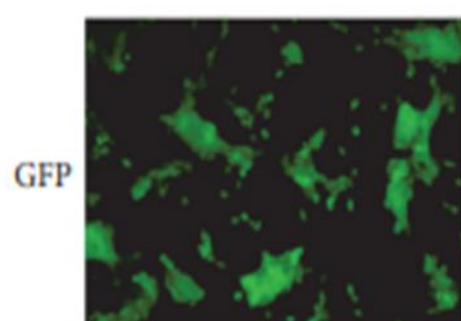
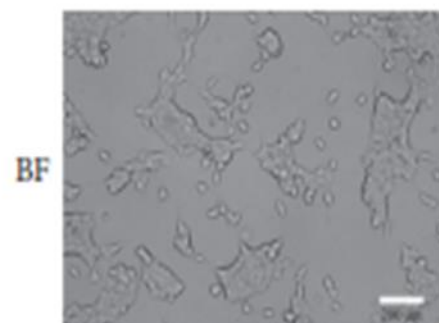
EBs

(b)



Stage 3: day 14

(c)



Stage 3: day 21

(d)

شکل نهم : تمایز سلول های بنیادی پر توان القایی به سلول هایی شبیه بتا لوزالمعده در یک موش. شکل اول یک سلول بنیادی پر توان القایی تمایز نیافته است. شکل دوم تمایز سلول های بنیادی پر توان القایی به اجسام جنینی بعد از ۳ روز. شکل سوم تمایز سلول های بنیادی پر توان القایی به سلول هایی شبیه بتا لوزالمعده و رشد آن ها بعد از ۱۴ روز. شکل چهارم تمایز کامل سلول های بنیادی پر توان القایی به سلول های هدف بعد از ۲۱ روز.

مخفف کلمات : BF : Body fluid; GFP: Green fluorescent protein; EBs : embryoid bodies

(Wan et al., 2017) .

۲.۳- مدل سازی بیماری

یکی از کاربردهای سلول های بنیادی پر توان القایی مدل سازی بیماری است. مدل سازی بیماری برای طیف وسیعی از بیماری های انسانی از جمله اختلالات ژنتیکی کاربرد دارد. هدف از مدل سازی بیماری با سلول های بنیادی پر توان القایی تجزیه و تحلیل جهش های مختلف در ژن های مختلف و بروز بیماری های گوناگون از جمله بیماری های تخریب سیستم عصبی است. دسترسی به بعضی از بافت های عصبی آسیب دیده و مکانیسم های مولکولی مرتبط با آن چالش های زیادی دارد و گاهی اوقات غیر ممکن است. بنابراین این تکنولوژی این امکان را به ما داده است که آن ها را بازسازی و آنالیز کنیم (Singh et al., 2015). مدل سازی بیماری فرصت مناسبی برای درک بعضی از سرطان ها مانند سرطان دستگاه گوارش و گلیوبلاستوما نیز ایجاد کرده است (Xavier Doss et al., 2019). یکی دیگر از اهداف مدل سازی بیماری فراهم کردن داروهای موثر و کاربردی برای کنترل و درمان بیماری های وارثی و اختلالات ژنتیکی است (Chun et al., 2010).

یک مثال از مدل سازی بیماری، مدل سازی سلول های سرطانی است. سلول های سرطانی با کمک سلول های بنیادی پر توان القایی مطالعه شدند (جدول ۱). البته تحقیقات محدودی در این زمینه انجام شده است. سلول های بنیادی پر توان القایی ویژگی های مشابهی با سلول های سرطانی دارند. برای مثال: هر دو فکتور c-MYC را بیان می کنند. توانایی تکثیر نامحدود در محیط آزمایشگاه یکی دیگر از ویژگی های این دو سلول است (Xavier Doss et al., 2019). تولید سلول های بنیادی پر توان القایی از سلول های سرطانی با چالش ها و مشکلاتی روبرو است. یکی از این چالش ها برنامه ریزی مجدد سلول های سرطانی است. برنامه ریزی مجدد سلول های سرطانی نسبت به سلول های نرمال پیچیده تر است زیرا جهش ها و تغییرات یا جابجایی های ژنتیکی در سلول های سرطانی زیاد است و این می تواند فرآیند برنامه ریزی مجدد را تغییر دهد. دومین چالش تمایز سلول های بنیادی پر توان القایی به سلول های هدف است. گاهی اوقات سلول های حاصل از سلول های بنیادی پر توان القایی یا در واقع سلول های هدف هیچ شباهتی با سلول های مورد نظر ما ندارند (Papapetrou et al., 2016).

نوع سرطان	سلول های اولیه	روش برنامه ریزی مجدد
سرطان پروستات	PC-3	رتروویروس
سرطان مری	TE-10	ترکیبی از رتروویروس یا لنتی ویروس
سرطان روده بزرگ	DLD-1, HT-29	ترکیبی از رتروویروس یا لنتی ویروس
سرطان معده	MKN45	ترکیبی از رتروویروس یا لنتی ویروس
سرطان لوزالمعده	MIAPaCa-2, PANC-1	ترکیبی از رتروویروس یا لنتی ویروس
سرطان ریه	A549	لنتی ویروس
سرطان پستان	MCF-7	رتروویروس

جدول ۱: بعضی سرطان های مطالعه شده روی سلول های بنیادی پر توان القایی. سرطان های بدخیم مانند: سرطان خون و سرطان لوزالمعده هم با کمک سلول های بنیادی پر توان القایی مطالعه شدند (Kim et al., 2015).

۲.۴- کشف دارو

در گذشته محققان از مدل های حیوانی مانند موش برای شناسایی بسیاری از جهش های ژنتیکی استفاده می کردند. امروزه آن ها متوجه شدند انسان ها و موش ها در بعضی از بیماری ها مانند بیماری های قلبی و عروقی فنوتیپ مشابه ای ندارند و بهتر است آزمایشات انسانی روی سلول های انسانی انجام شود و آزمایشات حیوانی روی سلول های حیوانی انجام شود. موش ها و انسان ها مکانیسم های ژنتیکی متفاوتی دارند. برای مثال: ضربان قلب یک موش بیشتر از یک انسان است و در هر دقیقه بیش از ۶۰۰ بار می زند. این موضوع نشان می دهد کانال های یونی قلبی بین موش و انسان متفاوت است و این تفاوت می تواند بین نوع و پراکندگی کانال ها باشد (Ebert et al., 2013).

مدل های حیوانی بزرگ و کوچک ابزار های خوبی برای مطالعه بسیاری از بیماری های انسانی هستند اما ابزارهای قابل اعتمادی نیستند. مدل های حیوانی کوچک نمی توانند به طور کامل و دقیق جزئیات یک بیماری انسانی یا داروی آزمایش شده روی آن بیماری را نشان دهند. مدل های حیوانی بزرگ هم زمان بر و پر هزینه هستند (Farkhondeh et al., 2019). شرایط فیزیولوژیکی یک انسان با حیوان کاملاً قابل مقایسه نیست. یک ماده ی شیمیایی ممکن است برای یک نوع حیوان سمی باشد اما برای یک حیوان دیگر از همان گونه سمی نباشد (Singh et al., 2015). بنابراین تولید سلول های بنیادی پر توان القایی از سلول های بیمار هم به مدل سازی بهتر بیماری و هم به فراهم کردن یک داروی جدید و موثر با اثرات جانبی کم کمک شایانی می کند (Farkhondeh et al., 2019). کشف یک داروی جدید نیاز به علوم مختلف مانند: پزشکی، داروسازی، بیوتکنولوژی و شیمی دارد (Shinde et al., 2016). محققان با سلول های بنیادی پر توان القایی داروهای زیادی برای اختلالات سیستم عصبی مرکزی تولید کردند. برای مثال در بیماری پارکینسون پیش ساز دوپامین به سلول های عصبی بیماران تزریق می شود زیرا آمینواسیدهای پیش ساز دوپامین با آمینواسیدهای دوپامین شبیه هستند و پیش ساز دوپامین در سلول های عصبی به دوپامین تبدیل می شود (Patel et al., 2017).

Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT) افزایش ضربان قلب راباعث می شود. در موقعیت های مختلف مانند: استرس و فعالیت فیزیکی زیاد این بیماری خود را نشان می دهد. داروهای تولید شده برای این بیماری دانترونل و ایزوپروترونل هستند. این داروها چندین سال پیش کشف شده اند و مورد استفاده ی عموم قرار می گیرند. محققان به منظور درک و مطالعه ی بیشتر سلول های بنیادی پر توان القایی توانسته اند داروها را روی سلول های بنیادی پر توان القایی به دست آمده از سلول های قلبی بیماران نیز آزمایش کنند (Ko et al., 2014) (جدول ۲).

نوع بیماری	سلول های اولیه	داروهای آزمایش شده	هدف
آلزایمر	سلول های عصبی	ترکیبات W, E	درمان
آلزایمر	سلول های عصبی	اسید دوکوزاهگزانوئیک دیینزوئیل متان ۱۴-۲۶	درمان
آلزایمر اولیه در سندرم داون	سلول های عصبی	درمان ضد پلاکت دوگانه	درمان
آتروفی عضلانی نخاع یا SMA	نورون های حرکتی	اسید والپروئیک و توپرامایسین	درمان
CPVT	سلول های قلبی	دانترولن	درمان
CPVT	سلول های قلبی	ایزوپروترونول	تعیین مشخصات

جدول ۲: بعضی داروهای آزمایش شده روی سلول های بنیادی پر توان القایی (Ko et al., 2014).

۲.۵- چالش های سلول های بنیادی پر توان القایی در درمان بیماری های انسانی

۲.۵.۱- وکتورهای ویروسی

برای تولید سلول های بنیادی پر توان القایی از وکتور های رتروویروسی استفاده می کنیم تا ژن های Oct4, Sox2, Klf4 و c-Myc را به سلول های سوماتیک وارد کنیم. DNA رتروویروسی به طور تصادفی با ژنوم میزبان ادغام می شود یعنی برای این ادغام توالی خاصی وجود ندارد. برای این مشکل می توانیم از پروموتور استفاده کنیم. در واقع بخشی از DNA که رونویسی ژنوم از آنجا آغاز می شود پروموتور نام دارد (Medvedev et al., 2010). ژن های Oct4, Sox2 پروتئین هایی تولید می کنند که این پروتئین ها برای مثال پروتئین های ویروسی که در سلول ساخته شده اند را می شناسند اما به پروتئین های ویروسی در سلول نیازی نیست و از ژن آن ها نباید رونویسی انجام شود. در این صورت پروتئین های حاصل از ژن های Oct4, Sox2 سکونس های خاصی از پروموتور DNA سلول های سوماتیک را می شناسند و به آن سکونس ها متصل می شوند و اجازه ی بیان ژن های غیر ضروری را نمی دهند و با این روش نقش تنظیم کنندگی در بیان ژن دارند. بنابراین اگرچه DNA های رتروویروسی به طور تصادفی وارد ژنوم میزبان می شوند اما فقط رونویسی ژن های لازم در سلول های سوماتیک انجام می شود (Boyer et al., 2005).

۲.۵.۲- تومور زایی

بیان بیش از حد این ژن ها یا فکتورهای بیان شده ممکن است باعث ایجاد تومور در سلول هدف شود. برای مثال بیان بیش از حد ژن Klf4 سرطان سینه را باعث می شود. همچنین بیان بیش از حد ژن c-Myc در بروز بسیاری از سرطان ها موثر است. یک استراتژی یا راهکار فراهم کردن مجموعه ژنی کمتر سرطان زا برای فرآیند برنامه ریزی مجدد است مثلاً ژن های Lin28 و Nanog می توانند به جای ژن های Klf4 و c-Myc فعالیت کنند (Medvedev et al., 2010). ژن Lin28 همولوگ A، یک پروتئینی را در انسان کد می کند که آن پروتئین Lin 28 نام دارد و به mRNA در سلول متصل می شود و در واقع در چگونگی ترجمه ی ژن ها به پروتئین نقش دارد و اجازه می دهد پروتئین هایی در سلول ساخته شوند که بتوانند به تکامل بسیاری از بافت ها یا اندام های مورد نظر کمک کنند (LIN28A lin-28 homolog A [*Homo sapiens* (human)]). ژن Nanog پروتئینی را کد می کند که این پروتئین به مولکول DNA متصل می شود و در تکثیر ژنوم نقش دارد و به نحوی در تولید پروتئین های لازم برای فرآیند برنامه ریزی مجدد سلولی موثر است (NANOG Nanog homeobox [*Homo sapiens* (human)]). راهکار دیگر استفاده از پروتئین های نو ترکیب به جای ژن های سرطان زا برای فرآیند برنامه ریزی مجدد سلول

های سوماتیک است (Medvedev et al., 2010).

۲.۵.۳- حافظه اپی ژنتیک

سلول های بنیادی پر توان القایی یک حافظه اپی ژنتیکی از سلول های اولیه خود دارند یعنی در واقع این حافظه ی اپی ژنتیکی را به ارث می برند. این حافظه ی اپی ژنتیکی در بیان ژن و توانایی تمایز سلول های بنیادی پر توان القایی به سلول های هدف موثر هستند. برای مثال سلول های بنیادی پر توان القایی حاصل از سلول های خونی راحت تر به سلول های خونی مانند : گلبول های قرمز و گلبول های سفید تمایز پیدا می کنند. در صورتی که تمایز این سلول ها مثلا به سلول های فیبروبلاست پوستی سخت تر است (Noguchi et al., 2018).

۲.۵.۴- ایمنی زایی

چندین مطالعه نشان داده است سلول های بنیادی پر توان القایی به خودی خود پاسخ ایمنی خاصی در بدن انسان ایجاد نمی کنند. پاسخ ایمنی ایجاد شده در بیشتر موارد به سلول های حاصل از سلول های بنیادی پر توان القایی مربوط می شود. پاسخ ایمنی سلول های حاصل از سلول های بنیادی پر توان القایی معمولا ایجاد تومور در سلول هدف است و این یک چالش بسیار مهم و اساسی می باشد که محققان در تلاش برای رفع این مشکل هستند (Ortuno- Costela et al., 2019).

۲.۵.۵- قدرت تکثیر سلول های بنیادی پر توان القایی

سلول های بنیادی پر توان القایی حاصل از سلول های سوماتیک از لحاظ تکثیر خیلی به سلول های سرطانی شباهت دارند و می توانند به طور نامحدود تکثیر شوند. بنابراین باید با مهار کننده هایی مانند : mitogen-activated protein kinase (MEK), glycogen synthase kinase 3 (GSK3) کنترل شوند (Ohnuki et al., 2015).

۲.۵.۶- سلول های تمایز نیافته از سلول های بنیادی پر توان القایی

سلول های بنیادی پر توان القایی چه در محیط آزمایشگاه و چه در بدن انسان باید بتوانند به طور کامل به سلول هدف تمایز پیدا کنند. همچنین فنوتیپ سلول های بنیادی پر توان القایی با سلول های حاصل از آن ها باید متفاوت باشد. در صورتی که سلول های حاصل تمایز نیافته باشند یا فنوتیپ مشابه ای داشته باشند باعث مشکلاتی مثلا رشد بیش از حد و ایجاد تومور می شوند. با انتخاب فکتورهای برنامه ریزی مجدد درست و موثر سلول های تمایز نیافته نخواهیم داشت (Xavier doss et al., 2019).

فصل سوم :

۳.۱- موضوعات ایمنی و اخلاقی در درمان با سلول های بنیادی پر توان القایی

دستور العمل هایی در زمینه تحقیق و درمان با سلول های بنیادی پر توان القایی وجود دارد. در ابتدا شرایط ساخت و ویژگی های سلول های بنیادی پر توان القایی باید شفاف باشد. در مرحله ی دوم، سلول های بنیادی پر توان القایی هم مانند سایر سلول ها مقدار زیادی ژنوم (DNA) دارند که این ژنوم (DNA) حاوی اطلاعات خصوصی افراد می باشد و این مشکل با پاک کردن اطلاعات هویتی اهدا کننده در زمان اهدای سلول حل نمی شود. بنابراین این اطلاعات خصوصی افراد باید به نحوی حفظ شود. در مرحله ی سوم افرادی که تحت تحقیق و درمان با این تکنولوژی قرار می گیرند باید آگاهی کامل نسبت به این موضوع داشته باشند. در مرحله ی چهارم نتایج آزمایشات کلینیکی بیماران باید حفظ شود. در مرحله ی پنجم حق ثبت اختراع و مالکیت معنوی نیز مهم است (Moradi et al., 2019).

مهم ترین مسائل اخلاقی کرامت، ماهیت و شروع شخصیت انسانی است. بنابراین در بعضی از کشورها مانند: ایرلند، ایتالیا، آلمان، لهستان و اتریش سیاستمداران و قانون گذاران استفاده از تکنولوژی سلول های بنیادی را محدود کردند. اما در بعضی دیگر از کشورها مانند: بلژیک، سوئد، سوئیس و کره استفاده از این تکنولوژی به منظور تحقیق و درمان مجاز است (Zacharias et al., 2011).

سلول های بنیادی پر توان القایی در کاریوتیپ، فنوتیپ، فعالیت تلومراز و ظرفیت برای تمایز بسیار شبیه به سلول های بنیادی جنینی هستند. برای استفاده از سلول های بنیادی پر توان القایی نیازی به تخریب یک سلول جنینی نیست اما برای استفاده از سلول های بنیادی جنینی یک سلول جنین حتما باید تخریب شود. بنابراین سلول های بنیادی پر توان القایی از لحاظ اخلاقی نسبت به سلول های بنیادی جنینی بهتر هستند (Volarevic et al., 2018).

۳.۲- نتیجه گیری

بعد از چندین دهه تحقیق و آزمایش، محققان و دانشمندان متوجه شدند سلول های بنیادی پتانسیل زیادی برای درمان بیماری های انسانی مانند: بیماری های ژنتیکی یا بعضی سرطان ها دارند. امروزه تحقیقات و آزمایشات کلینیکی روی سلول های بنیادی پر توان القایی همچنان ادامه دارد تا این سلول ها بتوانند روی بدن انسان به طور کامل اثربخشی مثبت داشته باشند. از آنجایی که سلول های بنیادی پر توان القایی خاص یک بیمار را می توان در محیط آزمایشگاه تهیه کرد بنابراین راهکارهای درمانی که از این سلول ها حاصل می شود برای بیمار بسیار مفید خواهد بود و علاوه بر آن این راهکارها می تواند یک موضوع کاملاً به روز برای اکثر علوم مختلف مانند: زیست شناسی و داروسازی باشد. امید چنان است در آینده به کمک محققان علوم مختلف و دانشمندان مشکلات و چالش هایی که در این مسیر وجود

دارد برطرف شود تا این تکنولوژی بتواند کاربردی تر عمل کند.

۳.۳- چشم انداز آینده

بنده امیدوارم در آینده سلول های بنیادی هیچ موانع و نگرانی برای استفاده در پزشکی نداشته باشند و بتوانیم داروهای جدید با هزینه ی مناسب و موثر برای بیماری های سخت فراهم کنیم.

- 1- Augustyniak J, Zychowicz M, Podobinska M, Barta T, Buzanska L, (2014). Reprogramming of somatic cells: possible methods to derive safe, clinical-grade human induced pluripotent stem cells. 74(4) 373–382. PMID: 25576968
- 2- Bian Sh, Repic M, Guo Z, Kavirayani A, Burkard T, Bagley J, Krauditsch Ch, Knoblich J, (2018). Genetically engineered cerebral organoids model brain tumour formation. 15(8) 631-639. Doi : 10.1038/s41592-018-0070-7
- 3- Boyer L, Lee T, Cole M, Johnstone S, Levine S, Zucker J, Guenther M, Kumar R, Murray H, Jenner R, Gifford D, Melton D, Jaenisch R, Young R, (2005). Core Transcriptional Regulatory Circuitry in Human Embryonic Stem Cells. 122(6) 947-956. Doi : 10.1016/j.cell.2005.08.020
- 4- Cabej N, (2013). Ch. 3. - Epigenetic Control of Animal Development (BUILDING THE MOST COMPLEX STRUCTURE ON EARTH, 2013). Doi : 10.1016/B978-0-12-401667-5.00003-1
- 5- Cheng N, Lei Yao H, Reid L. Hepatic Stem Cells: Lineage Biology and Pluripotency. In: Anthony atala, Robert Ianza, Robert Nerem, James Thomson. Principles of Regenerative Medicine. First edition. 2008.344-384
- 6- Chinta Sh, Andersen J, (2005). Dopaminergic neurons. 37(5) 942-946. Doi : 10.1016/j.biocel.2004.09.009
- 7- Chun Y, Chaudhari P, Young jang Y, (2010). Applications of Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells; Focused on Disease Modeling, Drug Screening and Therapeutic Potentials for Liver Disease. 6(7) 796-805. Doi : 10.7150/ijbs.6.796
- 8- Dimeglio L, Evans-Molina C, Oram R, (2018). Type 1 diabetes. 391(10138) 2449-2462. Doi : 10.1016/S0140-6736(18)31320-5
- 9- Ebert A, Liang P, Wu J, (2013). Induced Pluripotent Stem Cells as a Disease Modeling and Drug Screening Platform. 60(4) 408-416. Doi : 10.1097/FJC.0b013e318247f642
- 10- Farkhondeh A, Li R, Gorshkov K, Chen K, Might M, Rodems S, Lo D, Zheng W, (2019). Induced pluripotent stem cells for neural drug discovery. 24(4) 992-999. Doi : /10.1016/j.drudis.2019.01.007
- 11- Gepstein L, (2002). Derivation and Potential Applications of Human Embryonic Stem Cells. 866-876. Doi : 10.1161/01.RES.0000041435.95082.84
- 12- Ghaleb A, Yang V, (2017). Krüppel-like factor 4 (KLF4): What we currently know. 5(611)

27-37. Doi : 10.1016/j.gene.2017.02.025

13- Grant Rowe R, Daley G, (2019). Induced pluripotent stem cells in disease modelling and drug discovery. 20(7) 377-388. Doi : 10.1038/s41576-019-0100-z

14- Grath A, Dai G, (2019). Direct cell reprogramming for tissue engineering and regenerative medicine. Doi : 10.1186/s13036-019-0144-9

15- Grontvedt G, Schroder T, Sando S, White L, Btathen G, Doeller Ch, (2018). Alzheimer's disease. 28(11) Doi : 10.1016/j.cub.2018.04.080

16- Gurusamy N, Alsayari A, Rajasingh Sh, Rajasingh J. Adult Stem Cells for Regenerative Therapy. In : David Teplow. Progress in Molecular Biology and Translational Science. First edition. 2018. 1-12. Doi : 10.1016/bs.pmbts.2018.07.009

17- Hossini A, Quast A, Plotz M, Grauel K, Exner T, Kuchler J, Stachelscheid H, Eberle J, Rabien A, Makrantonaki E, Zouboulis Ch, (2016). PI3K/AKT Signaling Pathway Is Essential for Survival of Induced Pluripotent Stem Cells. 11(5) e0154770. Doi : 10.1371/journal.pone.0154770

18- Hyun Baek K, Choi J, Zhu Pei Ch, (2020). Cellular Functions of OCT-3/4 Regulated by Ubiquitination in Proliferating Cells. 12(3) 663. Doi : 10.3390/cancers12030663

19- Juarez olgun H, Calderon guzman D, Hernandez garcia E, Barragan mejia G, (2016). The Role of Dopamine and Its Dysfunction as a Consequence of Oxidative Stress. Doi : 10.1155/2016/9730467

20- Kiecker C, Bates T, Bell E, (2016). Molecular specification of germ layers in vertebrate embryos. 923-947. Doi : 10.1007/s00018-015-2092-y

21- Kim J, (2015). Applications of iPSCs in Cancer Research. 10(1) 125–131. Doi : 10.4137/BMI.S20065

22- Kondo Y, Toyoda T, Inagaki N, Osafune K, (2018). iPSC technology-based regenerative therapy for diabetes. (9)2 234-243. Doi : 10.1111/jdi.12702

23- Ko H, Gelb B, (2014). Concise Review: Drug Discovery in the Age of the Induced Pluripotent Stem Cell. 3(4) 500-509. Doi : 10.5966/sctm.2013-0162

24- Larijani B, Esfahani EN, Amini P, Nikbin B, Alimoghaddam K, Amiri S, Malekzadeh R, Yazdi N, Ghodsi M, Dowlati Y, Sahraian M, (2012). Stem cell therapy in treatment of different disease. (50)2 79–96

- 25- LIN28A lin-28 homolog A [*Homo sapiens* (human)]. Gene ID: 79727
- 26- Liu Q, Liu K, Cui G, Huang X, Yao Sh, Guo W, Qin Z, Li Y, Yang R, Pu W, Zhang L, He L, Zhao H, Yu W, Tang M, Tian X, Cai D, Nie Y, Hu Sh, Ren T, Qiao Z, Huang H, Zeng Y, Jing N, Peng G, Ji H, Zhou B, (2019). Lung regeneration by multipotent stem cells residing at the bronchioalveolar-duct junction. 728-738. Doi : 10.1038/s41588-019-0346-6
- 27- Loya K. Stem Cells. In : Sandosh Padmanabhan. Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicin. First edition. 2014. 207-231. Doi : 10.1016/B978-0-12-386882-4.00011-6
- 28- Makhani K, Mehboob S, Yousuf S, Siddiqui Sh, (2015). Therapeutic potential of totipotent, pluripotent and multipotent stem cells. 2(5) 136-141. Doi : 10.15406/mojcsr.2015.02.00041
- 29- Mamelak M, (2018). Parkinson's Disease, the Dopaminergic Neuron and Gammahydroxybutyrate. 7(1) 5–11. Doi : 10.1007/s40120-018-0091-2
- 30- Martin U, (2017). Therapeutic Application of Pluripotent Stem Cells: Challenges and Risks. 4 229. Doi : 10.3389/fmed.2017.00229
- 31- Medvedev S, Shevchenko A, Zakian S, (2010). Induced Pluripotent Stem Cells: Problems and Advantages when Applying them in Regenerative Medicine. 2(2) 18-28. PMID: 22649638
- 32- Mimeault M, Batra S, (2012). Great Promise of Tissue-Resident Adult stem/progenitor Cells in Transplantation and Cancer Therapies. pp 171-186. Doi : 10.1007/978-1-4614-2098-9_12
- 33- Mirzaei H, Sahebkar A, Shiri Sichani L, Moridikia A, Nazari S, Sadri Nahand J, Salehi H, Stenvang J, Masoudifar A, Jaafari M, (2017). Therapeutic application of multipotent stem cells. Doi : 10.1002/jcp.25990
- 34- Moradi Sh, Mahdizadeh H, Saric T, Kim J, Harati J, Shahsavarani H, Greber B, (2019). Research and therapy with induced pluripotent stem cells (iPSCs): social, legal, and ethical considerations. Doi: 10.1186/s13287-019-1455-y
- 35- Mount N, Ward S, Kefalas P, Hyllner J, (2015). Cell-based therapy technology classifications and translational challenges. 370(1680). Doi : 10.1098/rstb.2015.0017
- 36- Muhr J, Ackerman K, (2020). Embryology, Gastrulation. PMID: 32119281
- 37- Murnaghan Ian, (2019). Totipotent Stem Cells
<http://www.explorestemcells.co.uk/TotipotentStemCells.html#Addcomment>
- 38- NANOG Nanog homeobox [*Homo sapiens* (human)]. Gene ID: 79923

- 39- National Institutes of Health (2016). Introduction: What are stem cells, and why are they important?. <https://stemcells.nih.gov/info/basics.htm>.
- 40- Nielsen C, (2019). Blastopore Fate: Amphistomy, Protostomy or Deuterostomy. Doi : 10.1002/9780470015902.a0027481
- 41- Noguchi H, Shiohira Ch, Nakashima Y, (2018). Induced Tissue-Specific Stem Cells and Epigenetic Memory in Induced Pluripotent Stem Cells. 19(4) 930. Doi : 10.3390/ijms19040930
- 42- Ohnuki M, Takahashi K, (2015). Present and future challenges of induced pluripotent stem cells. 370(1680). Doi : 10.1098/rstb.2014.0367
- 43- Ortuno-Costela M, Cerrada V, Garcia-Lopez M, Gallardo E, (2019). The Challenge of Bringing iPSCs to the Patient. 20(24) 6305. Doi : 10.3390/ijms20246305
- 44- Papapetrou E, (2016). Patient-derived induced pluripotent stem cells in cancer research and precision oncology. 22(12) 1392–1401. Doi : 10.1038/nm.4238
- 45- Passier R, Mummery Ch, (2003). Origin and use of embryonic and adult stem cells in differentiation and tissue repair. 58(2) 324–335. Doi: 10.1016/s0008-6363(02)00770-8
- 46- Patel M, Patel B, (2017). Crossing the Blood-Brain Barrier: Recent Advances in Drug Delivery to the Brain. 31(2) 109-133. Doi : 10.1007/s40263-016-0405-9
- 47- Perez M, Pardo C, Kosik K, Lopera F, Rio M, (2019). iPSCs-derived nerve-like cells from familial Alzheimer's disease PSEN 1 E280A reveal increased amyloid-beta levels and loss of the Y chromosome. 703(11) 111-118. Doi : 10.1016/j.neulet.2019.03.032
- 48- Prentice D, (2019). Adult Stem Cells. 124(6) 837–839. Doi : 10.1161/CIRCRESAHA.118.313664
- 49- Putri-lubis H, Halim B, (2018). Human Blastocyst Formation and Development. Doi : 10.5772/intechopen.82095
- 50- Sanchez-Danes A, Richaud-Patin Y, Carballo-Carbajal I, Jimenez-Delgado S, Caig C, Mora S, DiGuglielmo C, Ezquerro M, Patel B, Giralt A, Canals J, Memo M, Alberch J, Lopez-Barneo J, Vila M, Maria Cuervo A, Tolosa E, Consiglio A, Raya A, (2012). Disease-specific phenotypes in dopamine neurons from human iPS-based models of genetic and sporadic Parkinson's disease. Doi : 10.1002/emmm.201200215
- 51- Schaefer T, Lengerke C, (2020). SOX2 protein biochemistry in stemness, • reprogramming, and cancer: the PI3K/AKT/SOX2 axis and beyond. 278-292. Doi : 10.1038/s41388-019-0997-x

- 52- Schmidt E, (1999). The role of *c-myc* in cellular growth control.2988-2996. Doi : 10.1038/sj.onc.1202751
- 53- Shahjalal H, Abdal Dayem A, Min lim K, il Jeon T, Goo Cho S, (2018). Generation of pancreatic β cells for treatment of diabetes: advances and challenges. 9(355). Doi : 10.1186/s13287-018-1099-3
- 54- Shinde V, Sureshkumar P, Sotiriadou I, Hescheler J, Sachinidis A, (2016). Human Embryonic and Induced Pluripotent Stem Cell Based Toxicity Testing Models: Future Applications in New Drug Discovery. 23(30) 3495-3509. Doi : 10.2174/0929867323666160627113436
- 55- Singh V, Kalsan M, Kumar N, Saini A, Chandra R, (2015). Induced pluripotent stem cells: applications in regenerative medicine, disease modeling, and drug discovery. Doi : 10.3389/fcell.2015.00002
- 56- Singh V, Saini B, Kalsan M, Kumar N, Chandra R, (2016). Describing the Stem Cell Potency: The Various Methods of Functional Assessment and In silico Diagnostics. 4 134. Doi: 10.3389/fcell.2016.00134
- 57- Stoddard-Bennett T, Reijo Pera R, (2020). Stem cell therapy for Parkinson's disease: safety and modeling. 15(1) 36-40. Doi : 10.4103/1673-5374.264446
- 58- Takahashi K, (2014). Cellular Reprogramming. 6(2). Doi : 10.1101/cshperspect.a018606
- 59- Tolosa L, Pareja E, Gomez-Lechon MJ, (2016). Clinical Application of Pluripotent Stem Cells. 100(12) 2548-2557. Doi : 10.1097/TP.0000000000001426
- 60- Volarevic V, Markovic B, Gazdic M, Volarevic A, Jovicic N, Arsenijevic N, Armstrong L, Djonov V, Lako M, Stojkovic M, (2018). Ethical and Safety Issues of Stem Cell-Based Therapy. 15(1) 36-45. Doi : 10.7150/ijms.21666
- 61- Wan J, Huang Y, Zhou P, Guo Y, Wu C, Zhu Sh, Wang Y, Wang L, Lu Y, Wang Zh, (2017). Culture of iPSCs Derived Pancreatic β -Like Cells In Vitro Using Decellularized Pancreatic Scaffolds: A Preliminary Trial. Doi : 10.1155/2017/4276928
- 62- Xavier Doss M, Sachinidis A, (2019). Current Challenges of iPSC-Based Disease Modeling and Therapeutic Implications. 8(5) 403. Doi : 10.3390/cells8050403
- 63- Yang J, Zhao H, Ma y, Shi G, Song J, Tang Y, Li S, Li T, Liu N, Tang F, Gu J, Zhang L, Zhang Z, Zhang X, Jin Y, Le W, (2017). Early pathogenic event of Alzheimer's disease documented in iPSCs from patients with PSEN1 mutations. 7900-7913. Doi : 10.18632/oncotarget.13776

64- Ye L, Swingen C, Zhang J, (2013). Induced Pluripotent Stem Cells and Their Potential for Basic and Clinical Sciences. 9(1) 63-72. Doi : 10.2174/157340313805076278

65- Yu J, Thomson J, Embryonic Stem Cells: Derivation and Properties. In: Robert Lanza, Anthony Atala. Essentials of Stem Cell Biology. 3rd edition. 2014. 387-398. Doi : 10.1016/B978-0-12-409503-8.00027-5

66- Zacharias D, Nelson T, Mueller P, Hook Ch, (2011). The Science and Ethics of Induced Pluripotency: What Will Become of Embryonic Stem Cells?. 86(7) 634-640. Doi : 10.4065/mcp.2011.0054

67- Zakrzewski W, Dobrzynski M, Szymonowicz M, Rybak Z, (2019). Stem cells: past, present, and future. 10-68. Doi : 10.1186/s13287-019-1165-5