

بررسی تمایز سلول‌های بنیادی هیپوکامپ به سلول‌های استوانه‌ای شبکه در موش بزرگ آزمایشگاهی

منوچهر صفری^{۱*} (Ph.D)، ملیحه نوبخت^۲ (Ph.D)، ناهید رهبر^۳ (Ph.D)، فریده قاضی^۴ (Ph.D)، محمدتقی جغتائی^۵ (Ph.D)،
معصومه بخشایش^۵ (M.Sc)

۱- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی

۲- دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه علوم تشریحی

۳- دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه فارماکولوژی

۴- دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه بیولوژی سلولی و مولکولی

۵- دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

چکیده

سابقه و هدف: چشم یکی از مهم‌ترین ارگان‌های بدن می‌باشد. در بیماری‌های فراوانی، آسیب به سلول‌های حساسه فتورسپتور وارد می‌شود. در حال حاضر بیش از یک‌صد جهش ژنتیکی وجود دارد که می‌تواند موجب آسیب به فتورسپتورها گردد. با استفاده از کشت و تمایز سلول‌های پرتوان بنیادی می‌توان در درمان این بیماری‌ها نقش مهمی داشت. هدف این تحقیق تمایز سلول‌های پرتوان بنیادی هیپوکامپ به سلول‌های فتورسپتور استوانه‌ای می‌باشد تا در آینده بتوان آن‌ها را در افراد نابینا جایگزین نمود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از جنین ۱۸ روزه موش نژاد اسپراگوداولی استفاده شد. در روز ۱۸، مادر سزارین گردید و مغز جنین‌ها خارج و سپس مغزها بلافاصله داخل محلول Hanks balance salt solution (HBSS) قرار داده شد. با استفاده از روش Banker هیپوکامپ‌ها جدا و با استفاده از روش Fishbach سلول‌های آن مجزا گردید و در داخل فلاسک 25cm^2 کشت داده شد. بعد از ۳ روز سلول‌ها با استفاده از تریپسین از کف فلاسک‌ها کنده و در دو مقدار با دانسیته بالا 2×10^5 و دانسیته پائین 2×10^4 سلول، در داخل پلیت ۶ خانه قرار داده شد. قبل از انتقال سلول‌ها به داخل پلیت، کف یک ردیف از ول‌های پلیت با Poly L-lysine و ردیف دیگر با آستروسیت‌های غیرفعال کت گردید. به مدت ۴ روز سلول‌ها در محیط کامل DMEM/F12 و ۱۰٪ FBS نگهداری و سپس به مدت ۶ روز دوزهای متفاوت All trans retinoic acid (ATRA) و 9cis-RA به هر ول اضافه گردید. در پایان با استفاده از منوکلونال آنتی‌بادی آنتی‌اِپسین و آزمون آماری ANOVA سلول‌ها بررسی شدند.

یافته‌ها: بعد از ۶ روز در محیط کشت بودن دوز 100nm از 9cis-RA و 500nm از ATRA بیش‌ترین سلول‌های تمایز یافته مشاهده شد. اما تعداد سلول‌های تمایز یافته در دوز 100nm از 9cis-RA بیش‌تر از دوزهای دیگر بوده است. در پلیت‌هایی که از دانسیته کم سلولی استفاده شد، تمایز سلولی کم‌تر بود. در پلیت‌های با پوشش پلی‌لیزین تمایزی مشاهده نگردید و تمایز فقط در بسترهای آستروسیتی وجود داشت.

نتیجه‌گیری: یافته‌های فوق نشان می‌دهد که بستر آستروسیت و فاکتورهای خارجی مانند ایزومرهای اسید رتینوئیک، قابلیت تمایز سلول‌های بنیادی هیپوکامپ به سلول‌های مشابه فتورسپتور را خواهند داشت.

واژه‌های کلیدی: اسید رتینوئیک، هیپوکامپ، فتورسپتور، رات، سلول‌های بنیادی

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۳۱-۳۳۳۲۰۸۰، ۰۲۳۱-۳۳۳۱۵۵۱، شماره: ۰۲۳۱، E-mail: kh_safari@yahoo.com