

بررسی امکان تهیه و تولید بانک استاندارد فیبروبلاست انسانی

دکتر حمیده مروج^۱، دکتر مهناز محمودی راد^{۱*}، دکتر نریمان مصفا^۲، منصوره میرزائی^۳، دکتر پرویز طوسی^۴

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات پوست، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲. استاد، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳. کارشناس ارشد علوم تشریح، بیمارستان بوعلی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۴. استاد، مرکز تحقیقات پوست، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: فیبروبلاست‌ها سلول‌های مزانشیمی هستند که به آسانی در آزمایشگاه کشت داده می‌شوند و نقش مهمی در تقابلات مزانشیم و اپیدرم و ترشح فاکتورهای رشد و سایتوکاین‌ها مختلف دارند که اثر مستقیمی بر رشد و تمایز اپیدرم و تشکیل ماتریکس خارج سلولی دارند. تحقیق حاضر با هدف بررسی امکان تهیه و تولید استاندارد فیبروبلاست انسانی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش اکتشافی انجام گرفت. از ناحیهٔ درم پوست ختنه‌گاه نوزاد برای تهیهٔ فیبروبلاست استفاده شد. فیبروبلاست‌ها توسط آنزیم تریپسین جدا گشته و به منظور ایجاد بانک فیبروبلاست چندین بار در محیط DMEM کشت داده شدند. سلول‌ها از نظر آلودگیهای باکتریایی و ویروسی با روشهای مولکولی و از نظر کاهش عرضهٔ آنتی‌ژن‌های MHC تا پاساژ دهم مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین برای یافتن اختلالات ژنومی، کاریوتایپ سلول‌های پاساژهای اول، پنجم، دهم و بیست و دوم تعیین شد.

یافته‌ها: فیبروبلاست‌های به‌کاررفته برای تولید بانک سلول از نظر وجود برخی ویروس‌ها و باکتری‌ها به روشهای مولکولی مورد بررسی قرار گرفته که نتایج همگی منفی بود. بررسی سلول‌های پاساژ داده شده از لحاظ میزان عرضهٔ آنتی‌ژن‌های MHC در سطح آنها نشان داد که میزان این آنتی‌ژن‌ها به مرور در طی پاساژها کم شده است. نتیجهٔ کاریوتایپینگ سلول‌های فیبروبلاست پاساژ اول، پنجم و دهم طبیعی بود ولی کاریوتایپینگ فیبروبلاست‌های پاساژ بیست و دوم نشان‌دهندهٔ ناهنجاریهای زیادی در کروموزوم‌های این سلول‌ها بود. جداسازی کروموزوم‌ها از محل سانترومر در تعداد قابل توجهی از کروموزوم‌ها مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: بهترین زمان برای ایجاد یک بانک فیبروبلاست از نظر حداکثر میزان فعالیت فیبروبلاست‌ها، کمترین میزان آنتی‌ژنیسیته و نیز عدم وجود اختلالات ژنتیکی، سلول‌های پاساژ پنجم تا دهم است. برای ممانعت از بروز اختلالات ژنتیکی در فرایند کشت مجدد فیبروبلاست‌ها باید تمهیداتی از جمله انتخاب بهترین کلون‌ها از نظر عاری بودن از ناهنجاریهای کروموزومی در کاریوتایپینگ و نیز به حداقل رساندن زمان جداسازی سلول‌ها در روش آنزیماتیک مد نظر قرار گیرند.

واژگان کلیدی: فیبروبلاست، بانک سلولی، کاریوتایپینگ، ایمونوفلورسانسینگ.

مقدمه

فاز التهاب، هموستاز و ارتشاح سلولهای التهابی حاد رخ می‌دهد (۱).

در این میان فیبروبلاست‌ها نقش محوری در فرآیندهای رسوب ماده بین‌سلولی و تجدید ساختار بافت ترمیمی دارند. فیبروبلاست هم در نقش سلول سازنده ظاهر می‌شود که ماتریکس غنی از کلاژن را تولید می‌کند و هم به عنوان سلول پیام‌دهنده (signaling cell) عمل می‌نماید و فاکتورهای رشد را ترشح می‌کند که برای ارتباط بین دو سلول در طی فرآیند التیام مهم است. بروز وقفه در فرآیند التیام زخم یک

فیبروبلاست یک سلول مهم است که در همه مراحل ترمیم زخم دخالت دارد. بخش زیادی از فیبروبلاست‌های زخم میوفیبروبلاست‌ها هستند که در بسته شدن زخم ظاهر می‌شوند. التیام زخم، حاصل مجموعه وقایع بیولوژیکی است که منجر به احیا و پیوستگی بافت می‌شود. فازهای مختلف این فرآیند عبارتند از: التهاب، تکثیر، تجدید ساختار. در طی

*نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر مهناز محمودی راد؛ تهران، بیمارستان شهدای تجریش، مرکز تحقیقات پوست، صندوق پستی ۱۹۸۹۹۳۴۱۴۸.
پست الکترونیک: mahnazrad@gmail.com