



# دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پیراپزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد خون شناسی آزمایشگاهی و بانک خون

عنوان:

بررسی ویژگی ها و توان تمایزی سلول های بنیادی مزانشیمی استخراج شده از خون محیطی در مقایسه با سلول های بنیادی مزانشیمی استخراج شده از مغزاستخوان

توسط: نوشین پوریزدانیپناه

استاد راهنما: دکتر علیرضا فارسی نژاد

اساتید مشاور: دکتر علی درخشانی، دکتر مهین نیکوگفتار

سال تحصیلی: ۱۳۹۶-۱۳۹۷

کد پایان نامه: ۱۰۵



**Kerman University of Medical Sciences**

**Faculty of Medicine**

In Partial Fulfillment of Requirements for the Degree (MSc)

**Title:**

**The study of characteristics and differentiation ability of mesenchymal stem cells extracted from peripheral blood in comparison to mesenchymal stem cells extracted from bone marrow**

**By:**

**Noushin Pouryazdanpanah**

**Supervisor:**

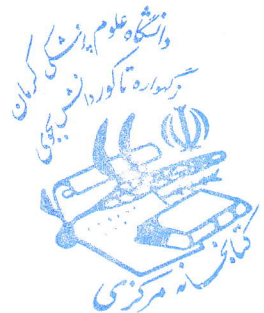
**Dr. Alireza Farsinejad**

**Advisors:**

**Dr. Ali Derakhshani**

**Dr. Mahin Nikougofar**

**Year: 2017**



**مقدمه و اهداف:** سلول های بنیادی مزانشیمی، سلول های چندتوانی هستند که توانایی تمایز به رده های مختلف بافت همبند را دارا می باشند. با توجه به ویژگی های اصلی این سلول ها، از آن ها در مهندسی بافت استفاده می شود. منبع اصلی جداسازی این سلول ها مغزاستخوان است. با توجه به معایب مغزاستخوان منابع دیگری نیز مورد توجه قرار گرفته است. که از جمله ی آن ها می توان به خون محیطی اشاره کرد. هدف از انجام این پژوهش تعیین ویژگی ها و توان تمایزی سلول های بنیادی مزانشیمی استخراج شده از خون محیطی در مقایسه با سلول های بنیادی مزانشیمی استخراج شده از مغزاستخوان است.

**روش تحقیق:** با کمک فایکول بافی کوت مغزاستخوان و خون محیطی گرفته شده، جدا گردید. سپس بافی کوت جدا شده تست داده شد. سپس در مرحله بعد برای تعیین ویژگی سلول ها از فلوسایتومتری و Real Time PCR استفاده شد. برای بررسی توان تمایزی سلول ها، آن ها را در محیط تمایزی مخصوص به سلول های چربی و استخوان تمایز داده و جهت اثبات تمایز از رنگ آمیزی های اختصاصی استفاده شد.

**یافته ها:** نتایج بدست آمده نشان می دهد که سلول های جدا شده از خون محیطی مشابه سلول های جدا شده از مغزاستخوان، از نظر مارکرهای مربوط به سلول های بنیادی یعنی CD90، CD73، CD105 مثبت و از نظر CD45 منفی می باشند. به علاوه این سلول ها ژن های مربوط به سلول های بنیادی مزانشیمی را بیان کرده و نیز قابلیت تمایز به سمت

سلول های استخوان و چربی را دارند. به علاوه در این مطالعه نشان داده شد که روش مورد استفاده جهت جداسازی سلول ها، یک روش مقرون به صرفه و مطمئن جهت جداسازی سلول های بنیادی مزانشیمی از خون محیطی می باشد.

**بحث و نتیجه گیری:** خون محیطی می تواند یک منبع مقرون به صرفه و روش پیشنهادی می تواند یک روش مطمئن جهت جداسازی سلول های بنیادی مزانشیمی باشد.

**کلمات کلیدی:** سلول های بنیادی مزانشیمی، خون محیطی، مغزاستخوان، تمایز، جداسازی

## **Abstract:**

**Background and Objectives:** The main route of isolation of the stem cells is bone marrow aspiration, which is an invasive and painful method. Recently, peripheral blood (PB) has been used as an alternative source for MSCs isolation. Normally, a stimulating factor (mainly Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF)) is used to increase bone marrow stem cell migration into the PB. Using G-CSF is expensive, time consuming and causes side effects. The aim of this study is to isolate MSCs from PB without using G-CSF.

**Methods:** Using ficoll, mononuclear cells have been isolated from 10 milliliter sample of fresh blood of a healthy and young female volunteer. These cells were cultured by cell concentration method. Flow cytometry and real-time PCR were used for immunophenotyping and evaluating gene expression on the studied cells, respectively. To investigate the differentiation potential of these cells into fat cells and the bone, culturing mediums specific to differentiation were applied.

**Results:** The PB derived MSCs positively expressed CD90, CD105 and CD73, but were negative for CD45. Also, the level of expression of the genes Nanog, OCT4, Nucleostemin and B-Actin were high and similar to that of bone marrow derived MSCs. The studied cells showed the differentiation potential to differentiate into bone or fat cells.

**Conclusion:** The cell concentration method can be used as a more convenient, affordable, and safer method with few if any side effects, to prepare PB stem cells for therapeutic purposes.

**Keywords:** Mesenchymal stem cells, Peripheral blood, Bone marrow, Differentiation, Isolation