بسم الله الرحمن الرحيم

قَالَ رَبِّ اشْرَحْ لِي صَدْرِي (٢٥) وَيَسِّرْ لِي أَمْرِي (٢٦) وَاحْلُلْ عُقْدَةً مِنْ لِسَانِي (٢٧) يَفْقَهُوا قَوْلِي

صدق الله العظيم

MESENCHYMAL STEM CELLS

الخلايا الجذعية اللحمية

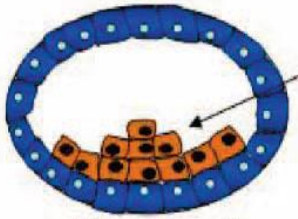
ماهي الخلايا الجذعية STEM CELLS

- اولى العديد من الباحثين اهتماما كبيرا بدراسة الخلايا الجذعية خلال العقدين الماضيين ، لعل احد الاسباب الحقيقة وراء اجتذاب الكثيرين لدراستها ، هو ماتتمتع به هذه الخلايا من خصائص فريدة يمكن ان تكون مفتاحا لدراسة بايلوجية الخلية بعمق ومن ثم التوصل الى وسيلة ناجعة لعلاج كثيرا من الامراض المستعصية (امراض السرطان، القلب والاوعية الدموية ،امراض المفاصل والعظام وحتى مرض السكري) .
- الخلايا الجذعية :- هي خلايا تتصف بقدرتها على الانقسام طيلة حياة الفرد ، وبقدرتها على التمايز في ظروف خاصة الى مختلف انواع الخلايا والتي تظهر في جسم الفرد (كالخلايا العضلية ، العصبية، خلايا كبدية ،والخلايا الولدة للانسولين)

انواع الخلايا الجذعية

- Embryonic stem cells الخلايا الجذعية الجنينية
- Adult stem cells الخلايا الجذعية في البالغ
  - ان الخلايا الجذعية الجنينية تعزل من كتلة الخلايا الداخلية inner cell masseللكيس الارومي ومن المعروف ان هذه الخلايا تكون المسؤولة عن تكوين الجنين كاملا خلال المراحل التالية .
  - تتصف الخلايا الجذعية الجنينية بانها كاملة القدرة على التمايز pluripotent .

DIFFERENTIATION PATHWAYS OF EMBRYONIC STEM CELLS



Inner cell masse cells (ESCs)

Blastocyst

Embryonic stem cells (ESCs)

Embryoid bodies (EBs)

Endoderm

- Lung
- Pancreas
  - Insulin-producing β cells
  - Somatostatin-producing α cells
  - Polypeptide-producing γ cells
- Liver
  - Hepatocytes
- Gastrointestinal tract
- Urogenital tract

Mesoderm

- Kidney
- Heart
  - Cardiomyocytes
- Bone
  - Leukocytes
  - Erythrocytes
  - Thrombocytes
  - Osteoblasts
  - Chondrocytes
  - Adipocytes
  - Myoblasts
  - Endothelial cells

Ectoderm

- Eye
- Skin
- Nervous system
  - Neurons
  - Astrocytes
  - Oligodentrocytes

ماهو المصدر البديل عن الخلايا الجذعية الجنينية؟

- Adult stem cells الخلايا الجذعية في البالغ
- Main sources of stem cells .
- Blood
- Skin
- Brain
- Liver
- Pancreas
- Eye
- Adipose tissue
- placenta

MAJOR SOURCES OF BLOOD STEM CELLS

- **Bone marrow** (Hematopoietic stem cells ,Mesenchymal stem cells
- **Peripheral blood**
- **Umbilical cord blood**

- Hematopoietic stem cells (HSCs)
- Mesenchymal stem cells (MSCs).

MESENCHYMAL STEM CELLS (MSCS)

- وهي خلايا جذعية تظهر في البالغ ، لهاقدرة على التمايز الى انواع مختلفة من الخلايا خارج الجسم الحي (*in vitro*)او في الجسم الحي (*in vivo*).
- من الاساليب المعتمدة في توجيه تمايز هذه الخلايا ، هي اعتماد عوامل النمو (growth factors) ومنها :-

- Epidermal growth factor (EGF).

عامل النمو البشروي

- Basic fibroblast – growth factor (BfGF)

عامل نمو الارومة الليفية القاعدي

- Insulin like growth factor-1(IGF-1).

عامل النمو شبيه الانسولين.

- Brain –derived neurotrophic factor (BDNGF)

عامل النمو العصبي المشتق من الدماغ

خصائص
الخلايا الجذعية اللحمية MSCS

- تميل وفي غضون الساعات الاولى بعد عزلها وزرعها الى ان تلتصق بسطح المزارع النسيجية وخاصة البلاستيكية منها (pastic adherent cells).
- تكون مستعمرات تهاجر منها خلايا شبيهة بالارومة الليفية ،لذلك تسمى ب colony forming fibroblast-like units او المستعمرات المكونة لوحدات شبيهة الارومة الليفية.
- اظهرت دراسات الكيمياء الخلوية المناعية ان هذه الخلايا تحمل على سطحها مستضدات منها CD11b, (Thy 1.1) CD 90، CD105, CD71

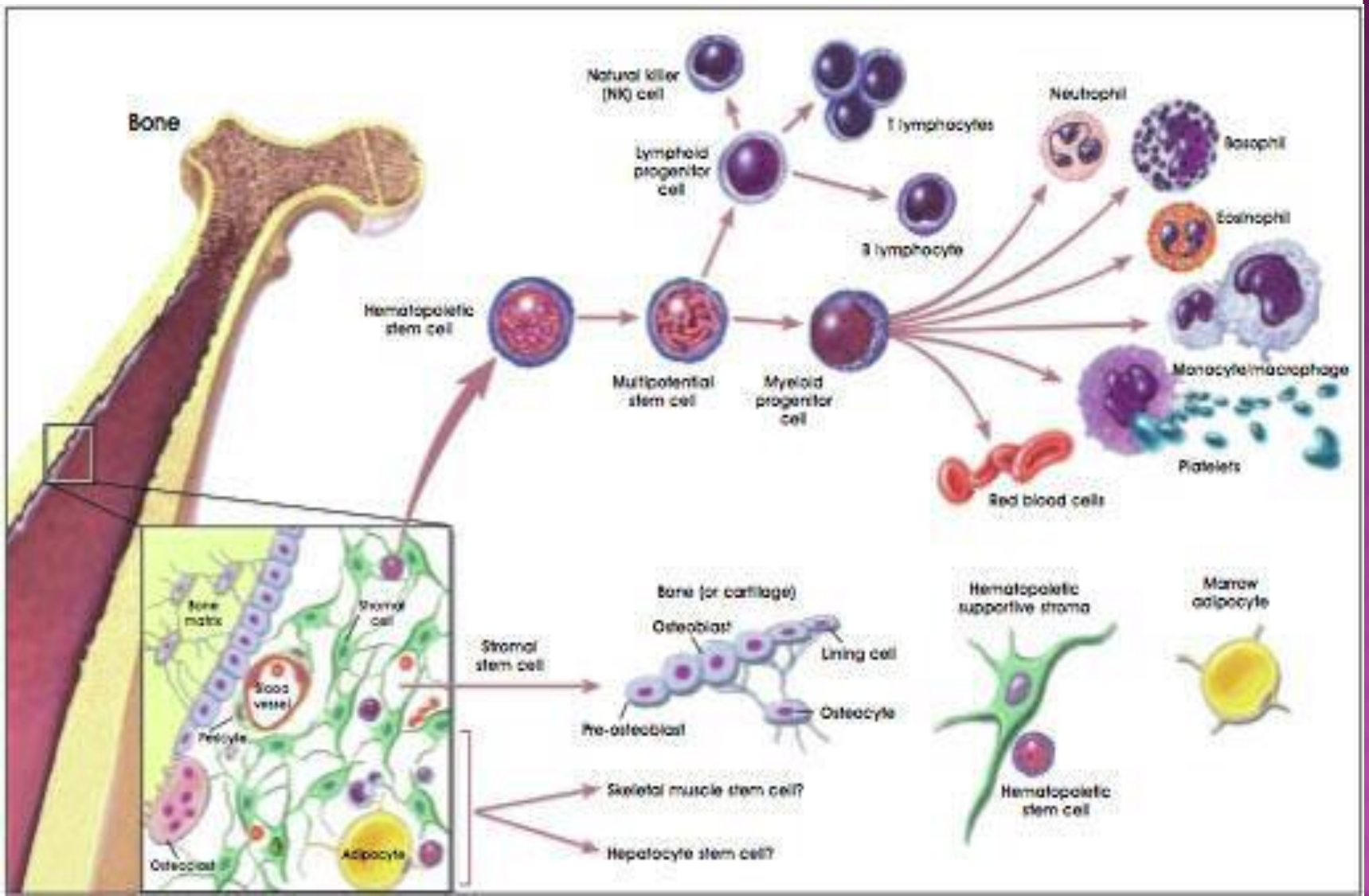
- تحافظ على هذه الخصائص ولفترة طويلة في المزارع النسجية .

- من اهم خصائص هذه الخلايا هو انها تميل غالبا الى ان تنغرس في المناطق المتضررة نسجيافي الجسم الحي وهي تؤدي دورا مهما في التقليل من الضرر وتاعد على شفائه وبعض الخلايا تتمايز الى خلايا النسيج الذي هاجرت اليه.

ISOLATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS (MSCS)

- Bone marrow
- Umbilical cord blood .
- Amniotic memebrane .
- Wartones jelly
- Adipose tissue .
- Different tissues or organs :-
  - Pancreas
  - Blood vessles .
  - Brain
  - Dental pulp

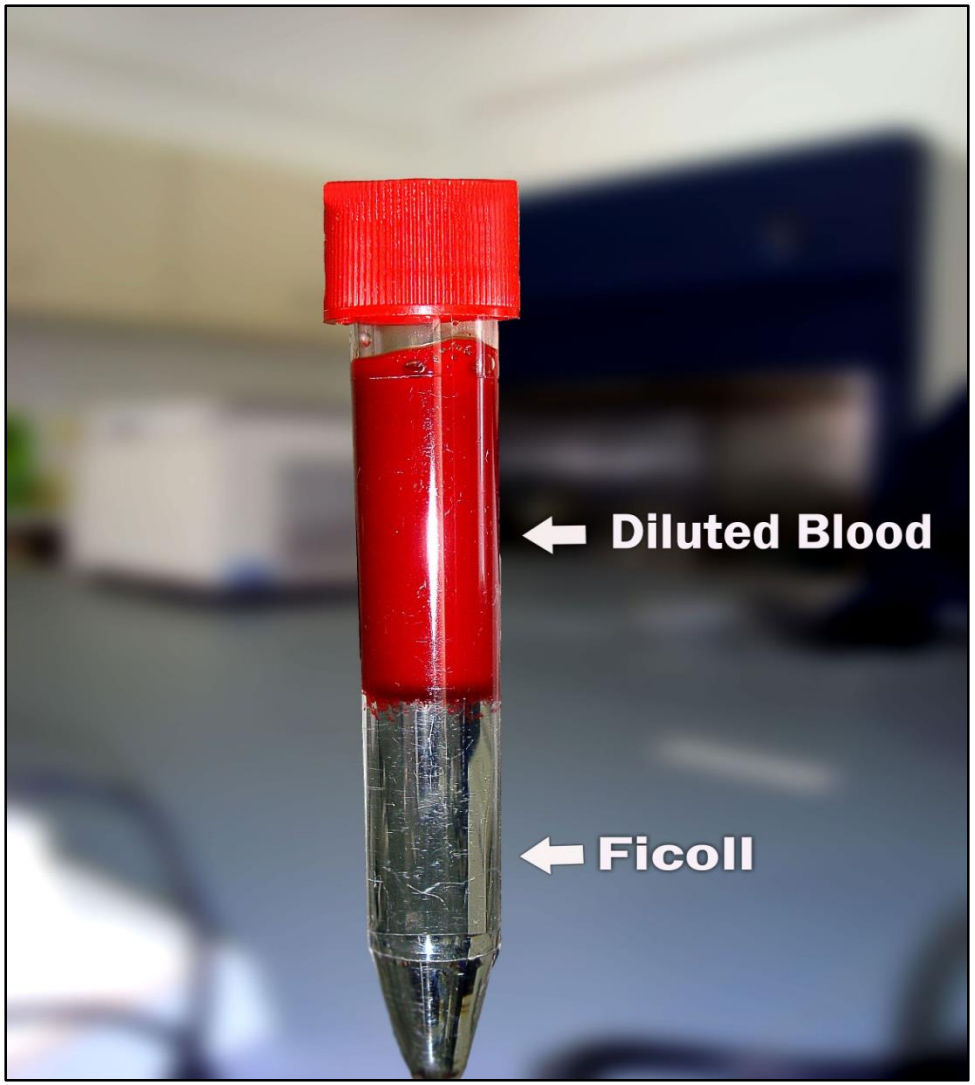
BONE MARROW -DERIVED MSCS



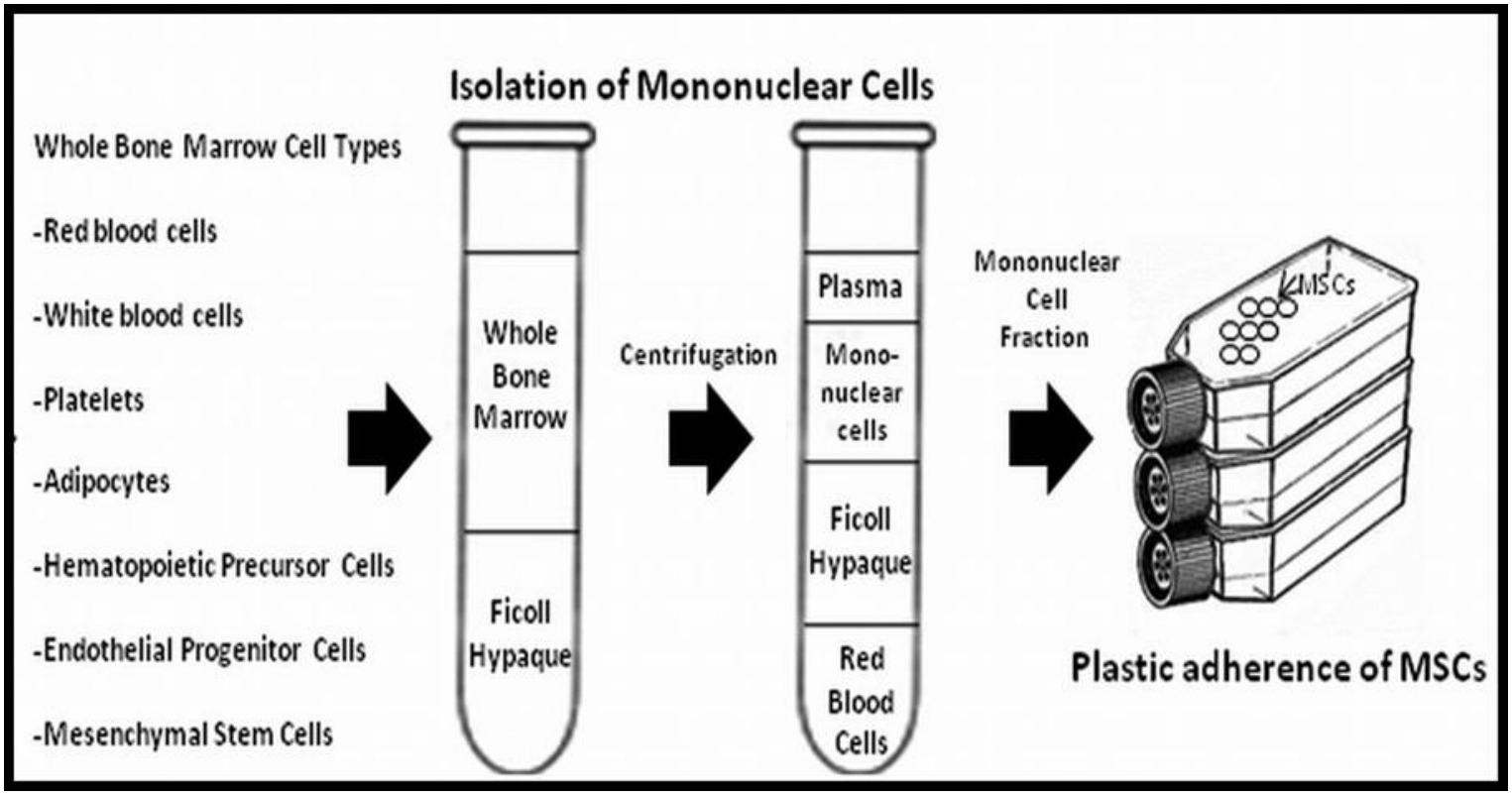
ISOLATION OF MSCS

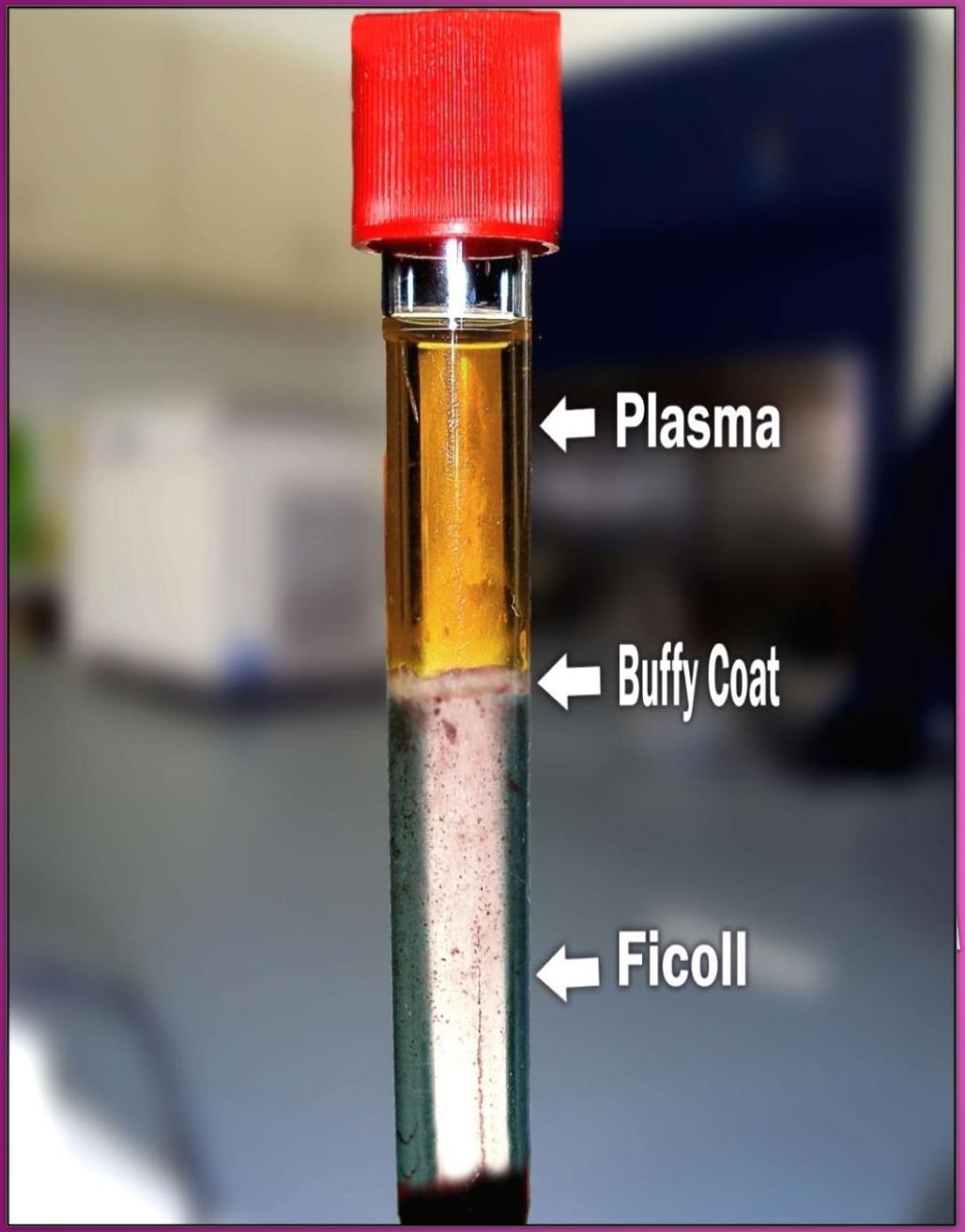
- Umbilical cord blood (UCB).
- Isolation of mononuclear cells (MNcs).
- Dilution by PBs
- Using percoll,ficoll.
- Centrifigution

ISOLATION OF MSCS



ISOLATION OF MSCS





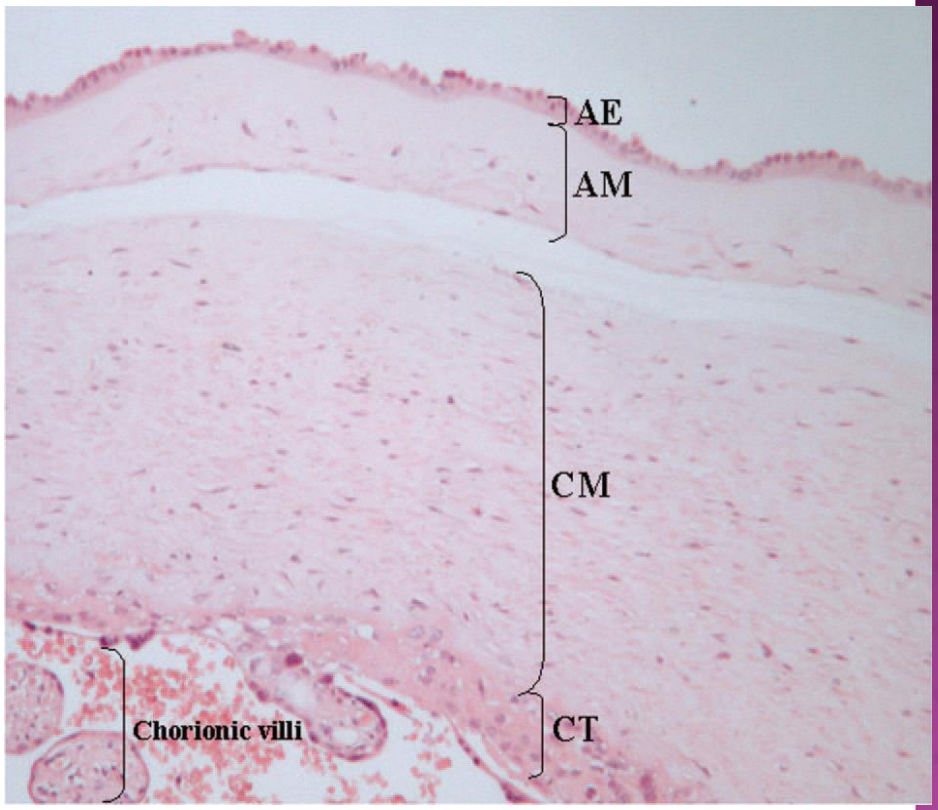
الطرد المركزي المتدرج الكثافة

Buffy coat

ينتج عن الطرد المركزي ثلاث طبقات تتوسطها الطبقة الرمادية (buffy coat) والتي تحتوي على كلمن الخلايا اللمفية والخلايا الجذعية فيما تترسب الى الاسفل كريات الدم الحمراء

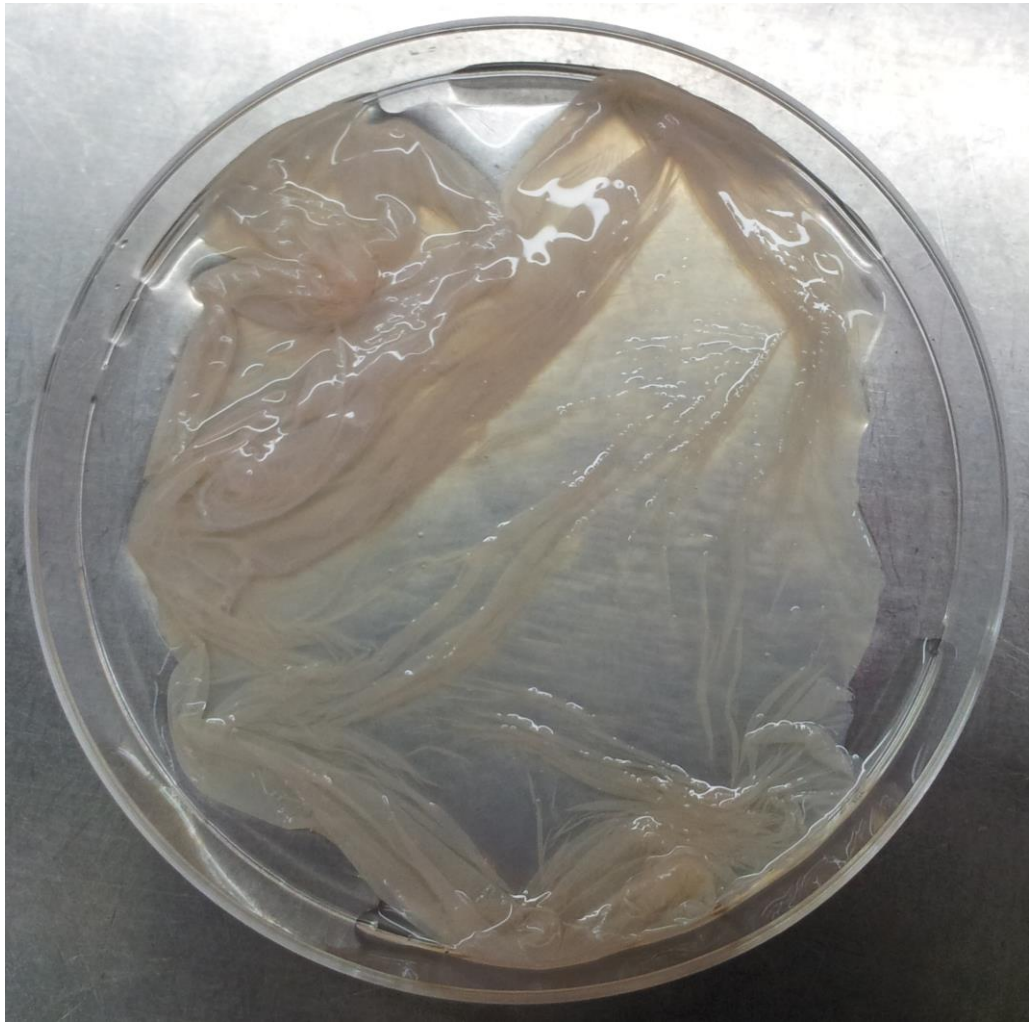
ISOLATION OF MSCS

- Placenta
  - Amnion
  - Chorion
  - Decidua (allantois)

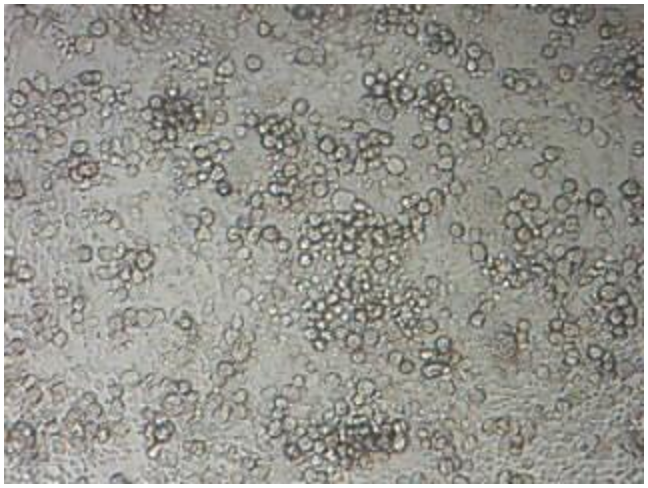


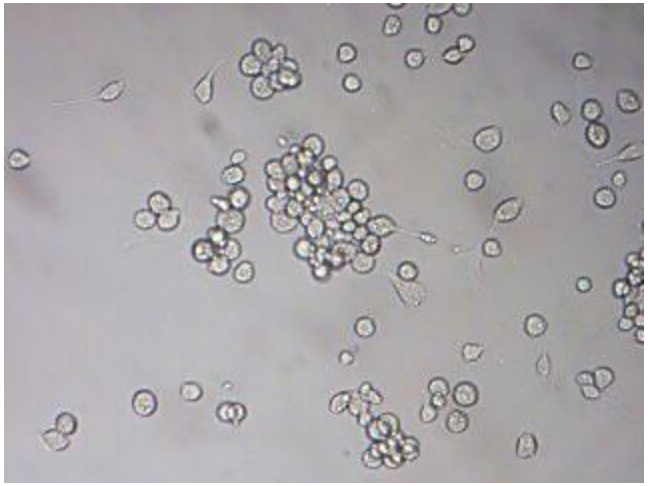
ISOLATION OF MSCS

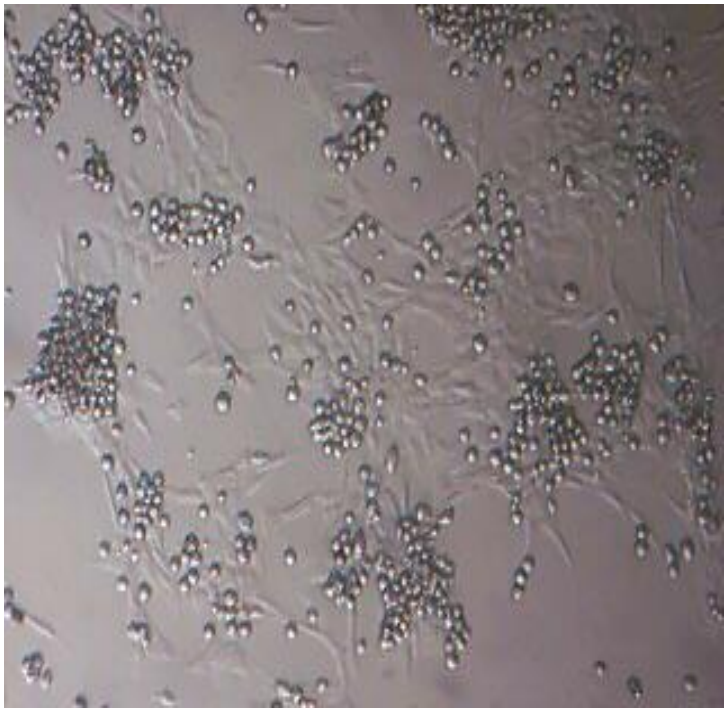
ISOLATION OF MSCS

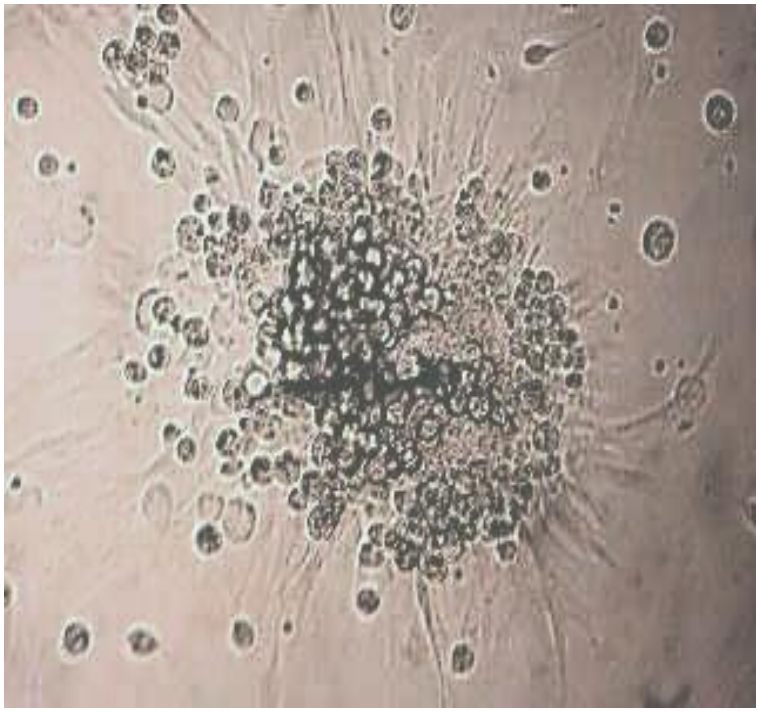


PRIMARY CULTURE OF MSCS









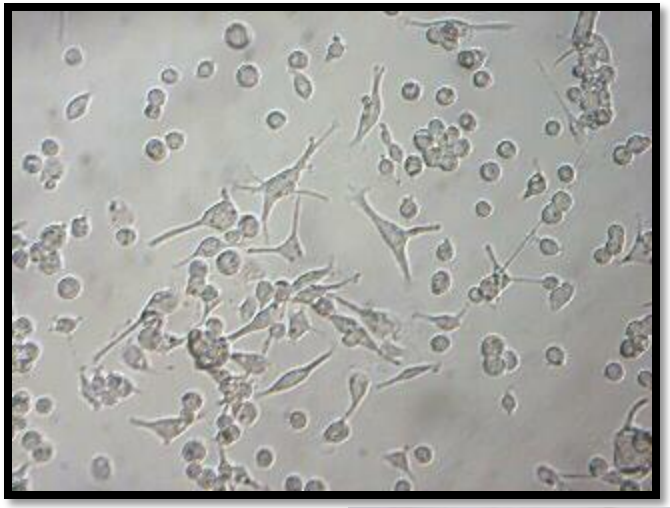
The formation of MSCs Colony forming unit –derived fibroblast (CFU-F) after one week from initial culture

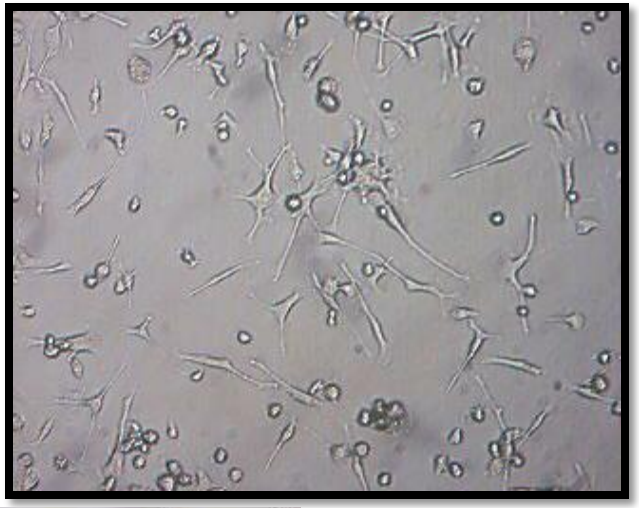
Third week of MNCs-derived MSCs showing the formation of homogonous layer of fibroblast-like cells and few of a small round cells can also be seen

DIFFERENTIATION OF MSCS

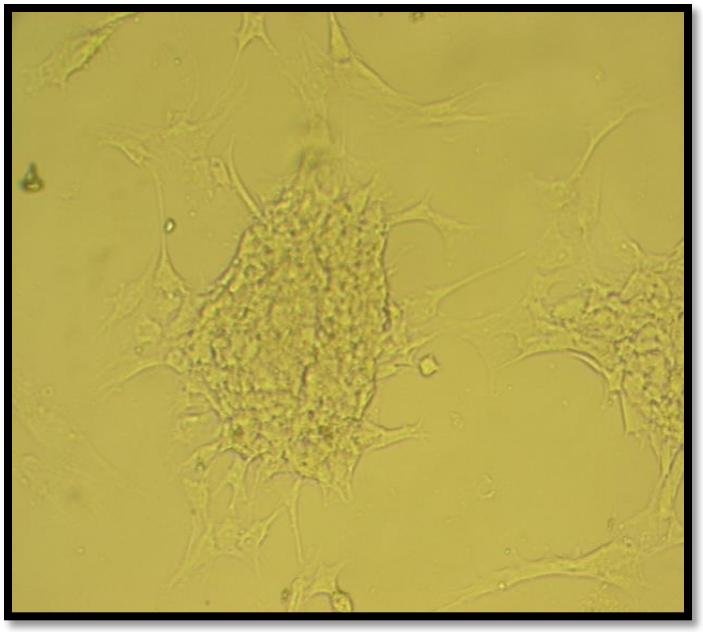
- لتوجيه تمايز الخلايا الجذعية اللحمية تستخدم عوامل نمو مختلفة ، لتمايز الخلايا الى خلايا شبيهة بالخلايا العصبية تستخدم bFGF وEGF بتركيز معين ،و بعد فحص الخلايا بمرور ٧٢ ساعة تشخص تغييرات بصورة تدريجية
- الخطوة الثانية من معاملة الخلايا RA وBDNF تكتسب الخلايا شكلا يشبه الخلايا العصبية .

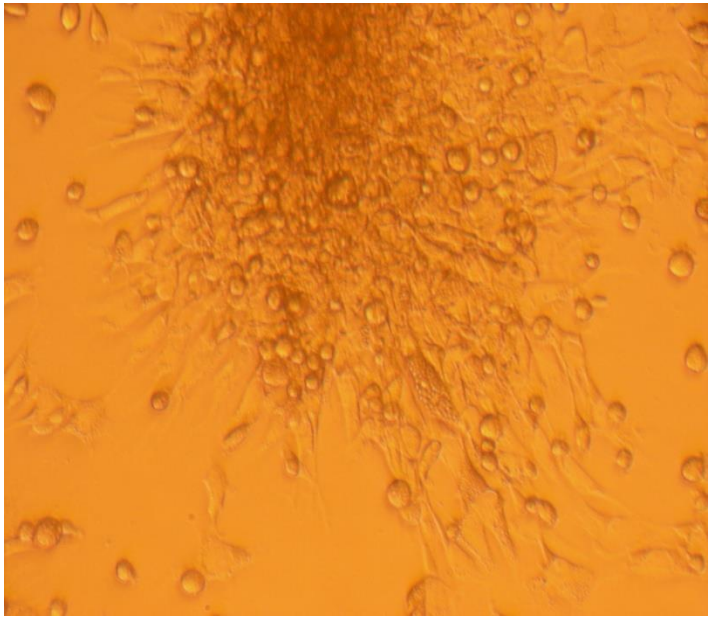
التغييرات المظهرية على الخلايا المعاملة



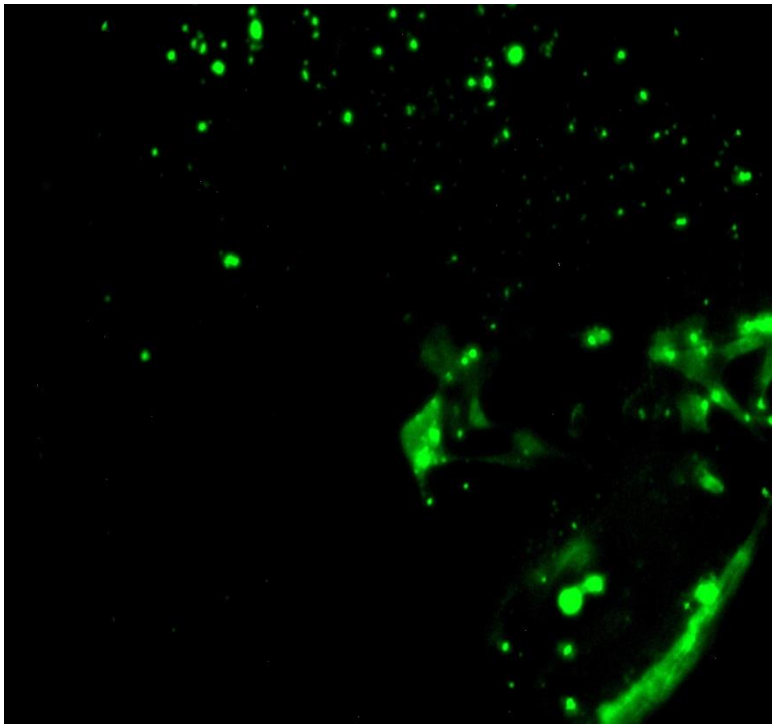


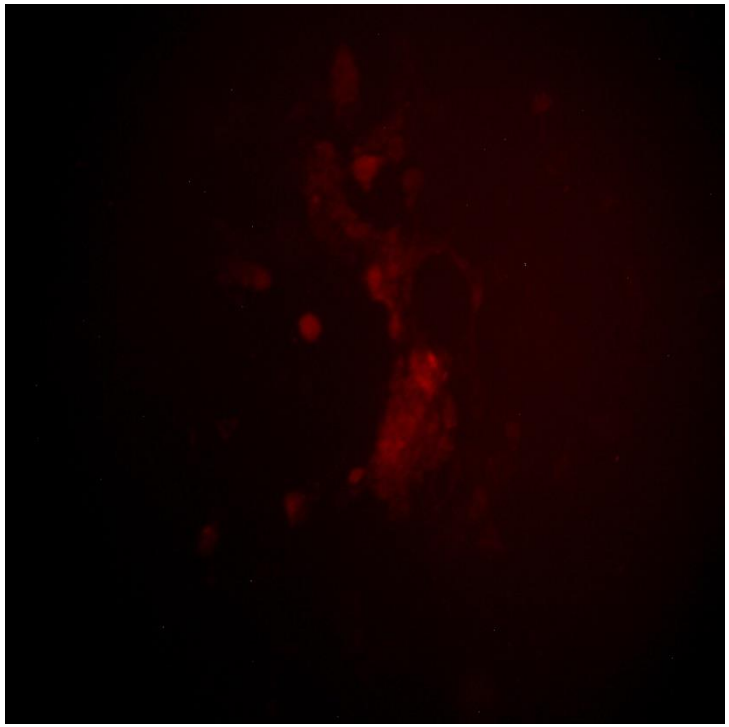
DIFFERENTIATION INTO NERVE - LIKE CELLS





التحليل المظهري المناعي





BEHAVIOUR OF *MSCS IN VIVO*

- Labelling of cells by markers (ex. Bromodeoxyuridin, Brdu).

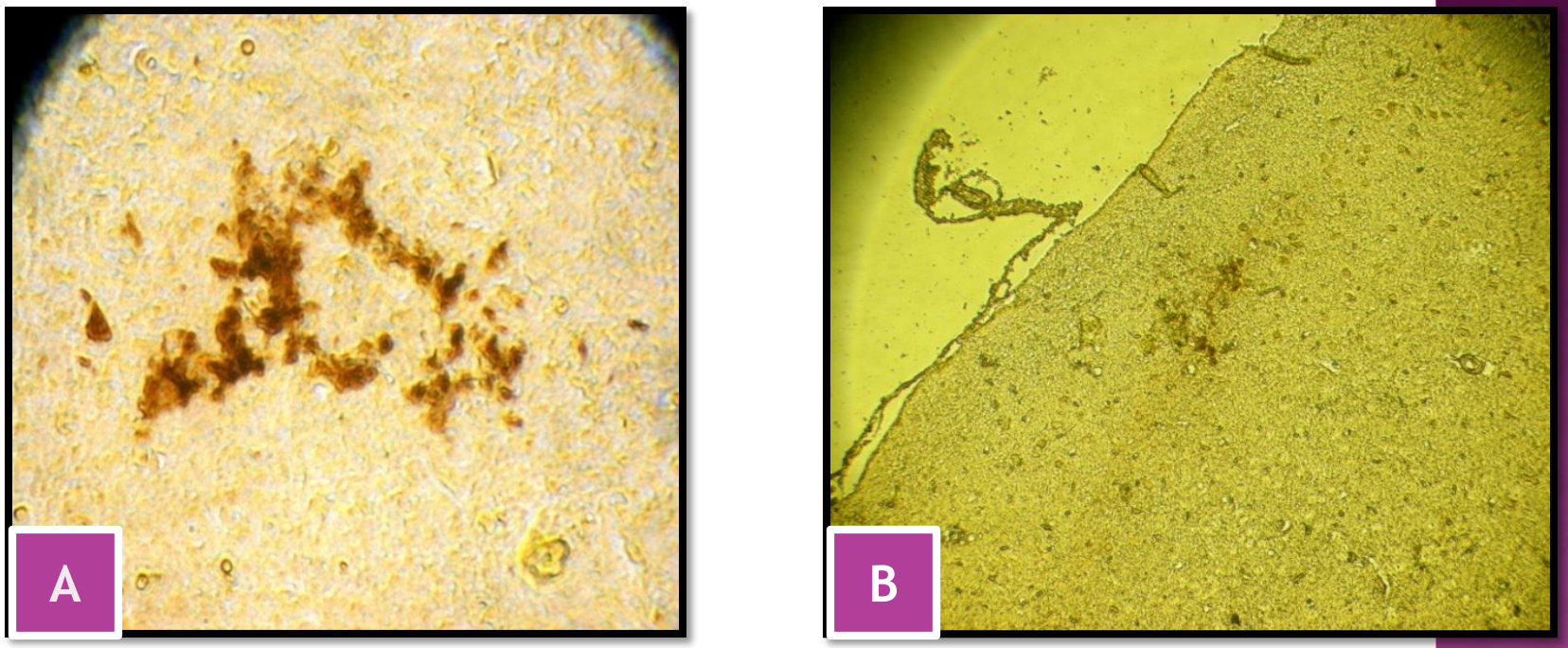


Figure 21: Photomicrographs of immunohistochemistry assay to determine the fate of Brdu-labeled BM-derived MSCs, after 30 day of cells infusion.

- **A.Brdu –labeled MSCs appear as a clusters of cells, show the intensity of staining after one step antigen retrieval.**
- **B.Survival cells in the cortex of cerebral hemisphere injected by passage eight MSCs.**

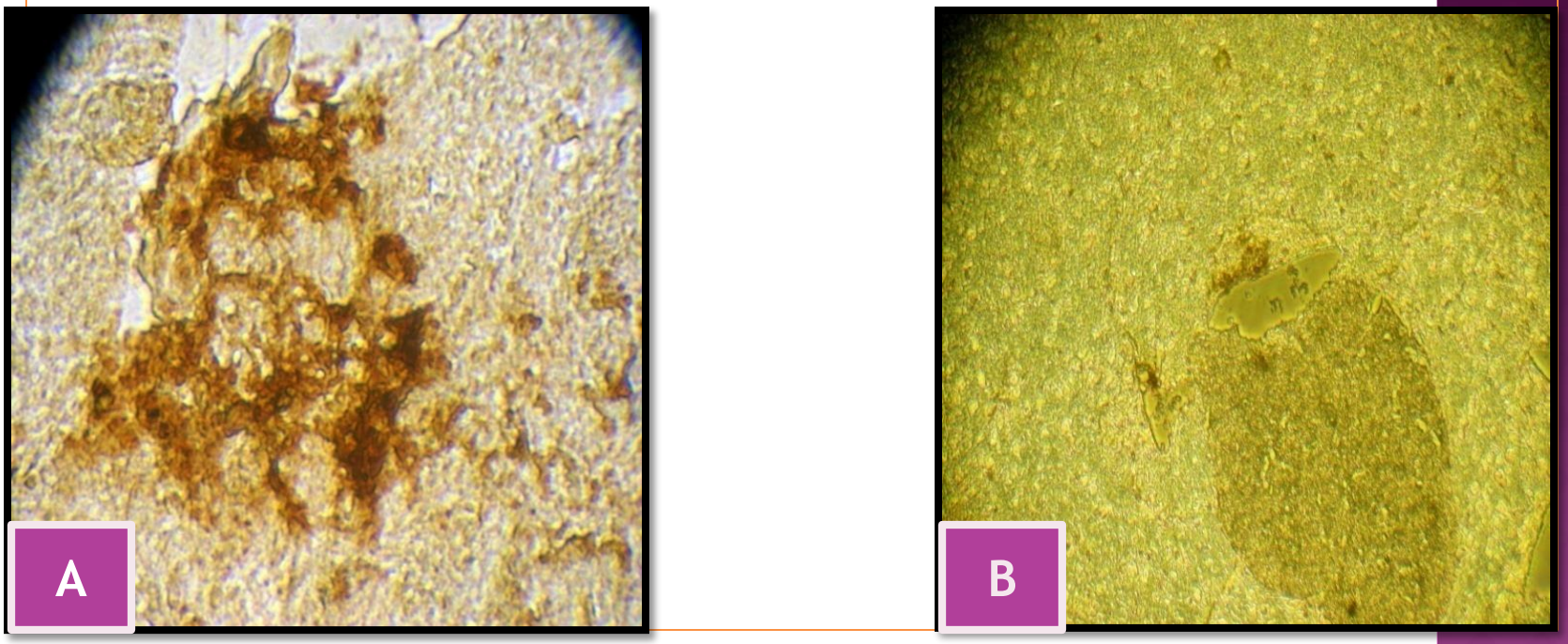


Figure22: A. The intensity of staining reduced in cells migrated from cluster ,may be this is attributed to clonal expansion .
B. Localization of Brdu -labeled cells in another region of the brain.

Thank you