

تقييم تأثير عمر الامهات على اطوال تيلوميرات الخلايا الجذعية الوسيطة المعزولة من الأغشية الجنينية البشرية

الطالبة : غدير إبراهيم الرفاعي

الإشراف

أ.د صالح عبد العزيز الكريم

أ.د. حسان صلاح عبدالجبار

المستخلص

التغيرات الخلوية المرتبطة بالعمر ، والقدرة التمايزية المحدودة ، وشيخوخة الخلايا الجذعية الميزنكيميية المعزولة من أنسجة البالغين تعتبر من المعوقات التي يواجهها علماء الخلايا الجذعية . لذلك ، تعتبر الخلايا الجذعية الميزنكيميية المعزولة من الأغشية الجنينية للإنسان (المشيمة ، الحبل السري ، الغشاء الامنيوسي) بديلاً جيداً لها . وبالرغم من ذلك فإن تأثير عمر الأمهات على الخواص الخلوية للخلايا الجذعية الميزنكيميية المعزولة من الأغشية الجنينية لم يثبت بشكل واضح حتى الآن . لذلك تهدف الدراسة الحالية الى تقييم تأثير عمر الأمهات على طول تيلوميرات و نشاط أنزيم التيلوميراز والقدرة التكاثرية للخلايا الجذعية الميزنكيميية من الأغشية الجنينية للإنسان في ثلاث فئات عمرية بناء على عمر الأم كالتالي: أ (٢٠-٢٩ سنة) ، ب (٣٠-٣٩ سنة) ، ج (≥ 40 سنة). تم جمع ٤٨ عينة لمشيمة مواليد كاملي النمو (≤ 37 أسبوع) بعد الحصول على الموافقة الاخلاقية للبحث العلمي ، تم عزل الخلايا الجذعية الميزنكيميية وزراعتها لتقييم أطول تيلوميراتها و نشاط أنزيم التيلوميراز والقدرة التكاثرية لها باستخدام تقنيات التدفق الخلوي ، فحص الـ MTT ، تقنية مضاعفة الوقت، تفاعل البلمرة التسلسلي الكمي لتقييم طول التيلومير

وتعبير أنزيم التيلوميراز في هذه الخلايا بمختلف الفئات العمرية . ظهرت الخلايا المعزولة من جميع الاغشية الجنينية بكل الفئات العمرية بشكل مغزلي ذو قدرة تكاثرية عالية ، وتعبير قوية لدلائلها المناعية . كما أظهرت الخلايا تيلومرات طويلة في جميع الفئات العمرية إلا أن الخلايا المعزولة من الفئة (أ) تمتلك تيلوميرات أطول من الخلايا في الفئات العمرية (ب،ج) . وعلى النقيض ، أظهرت الخلايا المعزولة من الفئة (ج) معدلات أعلى لنشاط انزيم التيلوميراز. ومن النتائج الملفتة للنظر في هذه الدراسة إظهار الخلايا المعزولة من الفئتين (ب،ج) اطوال متقاربة لتيلوميرات مع احتفاظها بالصفات المورفولوجية والقدرات التكاثرية المميزة للخلايا الجذعية الوسيطة . على الرغم من أن الخلايا الجذعية الميزنكيمية المعزولة من أغشية الجنين المختلفة حافظت على خصائص الخلايا الميزنكيمية في جميع مجموعات الدراسة ، إلا أنه كان لدى الخلايا المعزولة من الأمهات الأكبر سناً تيلوميرات أقصر ، ونشاط عالي لإنزيم التيلوميراز ومعدلات الانتشار أكبر من تلك الخلايا المستمدة من الأمهات الأصغر سناً ؛ قد يعزى ذلك إلى انخفاض طول التيلومير لدى الأمهات الأكبر سناً أو الى عوامل النمو المستخدمة في برتوكولات الزراعة . وبالتالي ، فإن الخلايا الجذعية الميزنكيمية للأمهات الأكبر سناً يمكن أن تكون غير مناسبة للتوسع في المختبر أو العلاج بالخلايا الجذعية. أن تحديد طول التيلومير ومستوى تعبير التيلوميراز للخلايا الجذعية الميزنكيمية المعزولة من الاغشية الجنينية في فئات عمرية مختلفة ، قد يساعد في توصيف وفهم الاختلافات البيولوجية ، وبالتالي معرفة مدى امكانية الاستفادة منها في التطبيقات السريرية.

Evaluate of the effect of age of mothers on telomeres length of Mesenchymal Stem Cells isolated from human fetal Membranes

By

Ghadeer Ibrahim Feddi AL-Refaei

Supervised by:

Prof. Saleh Abdulaziz Alkarim

Prof. Hassan Salah Abduljabbar

Abstract

Age-related cellular changes and limited replicative capacity of adult mesenchymal stem cells (MSCs) are of the challenges confronting stem cell research. For that, the MSCs from human fetal membranes (hFM-MSCs), including placental, umbilical cord, and amniotic membrane, are considered a great alternative to adult MSCs. However, the effect of mothers' age on hFM-MSC cellular properties is still not clearly established. This study aimed to evaluate the effect of mothers' age on hFM-MSC telomere length, telomerase activity, and proliferation ability in three different age groups: GI (20–29 years): GII (30–39 years), and GIII (≥ 40 years). Human fetal membranes FM samples were collected from pregnant women age ≤ 37 weeks after obtaining consent. hFM-MSCs were isolated and cultured to characterise them by flow cytometry and assess proliferation by MTT assay and doubling time. Telomere length and expression levels of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) were assessed by qRT-PCR and MMq-PCR respectively. hFM-MSCs in the three age groups were spindle-shaped, plastic-adherent, and exhibited high proliferation rates and strong expression of hMSC markers. GI showed the longest telomere length in hMSCs in various FM areas, while GIII showed the highest level of telomerase expression. There was no difference in telomere length between GII and GIII, and both groups showed the same hMSC characteristics. In conclusion, although the hFM-MSCs derived from different fetal membranes maintained the MSC characteristics in all study groups,

the hFM-MSCs of older mothers had shorter telomeres but higher telomerase activity and proliferation rate than did those derived from younger mothers; this might be attributed to the decreased telomere length in older mothers or the growth factors (b-FGF) used in hMSCs culture. Thus, the hFM-MSCs of older mothers could be unsuitable for expansion in vitro or stem cell therapy. Determination of telomere length and telomerase expression level of hFM might help characterise and understanding the biological differences of hFM-MSCs in different age groups.