مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و یکم / مرداد و شهریور ۱۳۹۵/۵۵-۴۵

بررسی اثر سلنیت سدیم بر فعالیت آنزیم تلومراز و طول تلومر در سلولهای مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر در محیط کشت

نجمه امینی زاده [۱] ، تقی طریحی [۲] ، سید علیرضا مصباح نمین [۳] ، طاهر طاهری [٤]

۱. دانشجوی دکترا، گروه علوم تشریحی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۲. استاد پاتولوژی، گروه علوم تشریحی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران (مولف مسئول) تلفن : ۸۲۸۸۳۸۹۵-۰۲۱، ttiraihi@gmail.com

۳. دانشیار بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۴. متخصص جراحی مغز و اعصاب، مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم االنبیا، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: با افزایش سن موجود زنده، تعداد سلول های مزانشیمی مغز استخوان و نیز قدرت تکثیر و تمایز این سلول ها کاهش می یابد. این تغییرات منجر به کاهش اثر بخشی این سلول ها در سلول درمانی اتولوگ افراد پیر می شود.هدف مطالعه حاضر بهبود بخشی سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر است.

روش بررسی: سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر به مدت ۷۲ ساعت در معرض غلظت های مختلف سلنیت سدیم قرار داده شدند. ارزیابی اثر سلنیت سدیم بر قدرت تکثیر این سلول ها با استفاده ازتست تریپان بلو انجام شد. سپس اثر غلظت موثر سلنیت سدیم بر فعالیت آنزیم تلومراز، بیان ژن های مرتبط با فعالیت این آنزیم و نیز طول تلومر بررسی شد. بررسی فعالیت آنزیم تلومراز به روش PCR- ELISA انجام گردید و برای اندازه گیری طول تلومر و بیان ژن ها از روش Real time PCR استفاده شد

یافته ها: سلنیت سدیم در غلظت ۱۰۰ نانو مولار بطور معنی دار تکثیر سلولی سلول های مزانشیمی رت های پیر را افزایش و طول تلومر این سلول ها را کاهش داد، البته کاهش طول تلومر این سلول ها در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود. فعالیت آنزیم تلومراز و بیان ژن های وابسته به آن نیز تغییر نیافت.

نتیجه گیری: سلنیت سدیم قدرت تکثیر سلول های مزانشیمی مشتق از رت های پیر را بهبود می بخشد.

کلید واژه ها : سلنیت سدیم، پیری ، سلول های مزانشیمی، تلومر، تلومراز

وصول مقاله:۹۴/۹/۲۲ اصلاحیه نهایی:۹۵/۱/۱۸ پذیرش:۹۵/۲/۵

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]

مقدمه

سلول های مزانشیمی یک منبع سلولی جذاب برای استفاده در سلول درمانی هستند و اخیرا در کارآزماییهای بالینی در درمان بیماری های نورودژنراتیو، بیماریهای ایسکمی قلب ، ترمیم استخوان و مفصل استفاده شده اند (۳-۱). سلول های افراد پیر در مقایسه با سلول های بدست آمده از افراد جوان قدرت تکثیر و تمایز کمتری دارند (۵و ۴) و در درمان آسیب های ایسکمی در مدل های حیوانی انفارکتوس قلبی کمتر موثر هستند (۶). تغییرات وابسته به سن در سلول های بنیادی با واسطه کاهش فعالیت آنزیم تلومراز، کوتاه شدن طول تلومر، کاهش ظرفیت سیستم آنتی اکسیدانی و وجود استرس اکسیداتیو رخ می دهد (۷) . سلنیوم یک ریز مغذی ضروری است که در تنظیم دفاع آنتی اکسیدانی بدن ظر فیت بالایی دارد (۸). سلنیوم قادر است اندکی فعالیت تلومرازرا در هپاتوسیت های رت افزایش دهد (۹). بعلاوه سلنیوم سبب افزایش تکثیر سلولی و افزایش فعالیت آنزیم تلومراز در سلول های مزانمشیمی مشتق از بافت چربی می شود (۱۰). بهرحال تا کنون مشخص نشده است که آیا سلنیت سدیم اثرات مشابهی در سلول های مزانشیمی پیرمشتق از مغز استخوان دارد؟ هدف از این مطالعه بررسی اثرات سلنیت سدیم بر فعالیت آنزیم تلومراز ، بیان ژنی پروتئین های درگیر در فعالیت این آنزیم، طول تلومر و تکثیر سلولی در طی کشت سلول های مزانشیمی مشتق از رت های پیر بوده است.

روش بررسی

این مطالعه یک مطالعه تجربی است. آزمایشهای مطالعه حاضر توسط کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس براساس معاهده هلسینکی تایید شده است. مطالعه در زمستان ۱۳۹۳ در مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا بیمارستان خاتم الانبیاء تهران انجام شد. . سلول های مزانشیمی از استخوان ران رت های نر پیر نژاد Sprague Dawley بدست آورده و کشت داده شدند (۱۱).

جدا کردن ،کشت و آزمایش ایمنوسیتوشیمی سلول ها:

رت های ۱۸ ماهه به عنوان رت پیر در نظر گرفته شدند (۱۲و۴). سلول های مزانشیمی مغز استخوان این رت های پیر پس از پاساژ سوم جهت آزمایش ایمنوسیتوشیمی روی لامل کشت داده شدند. آزمایش ایمنوسیتوشیمی با استفاده از آنتی بادی های اولیه(Abcam, UK) برعلیه فیبرونکتین ، CD90 و CD44 (نشان گر سلول های استرومایی)، CD106 (نشان گر سلول های استرومایی مزانشیمی مغز استخوان)، CD31(نشا نگر سلول های اندوتلیایی)، CD45 (نشانگر سلول های خونساز) طبق آنچه قبلا توصیف شده، انجام شد (۱۱). بررسی سلو ل ها زیر میکروسکوپ فلورسنت انجام شد (Olympus, Japan).

تکثیر سلولی:

سلول های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان که از پنج راس رت پیر بدست آورده شده بود، در ظروف کشت ۶ خانه کشت داده شدند. پس از اینکه سلول ها ۳۰ درصد از کف پلیت را پر کردند به مدت ۷۲ ساعت در معرض غلظتهای مختلف سلنیت سدیم(Sigma, USA) قرار داده شدند (۱۰). بدین منظور سلول های پیر به ده گروه تقسیم شدند. نه گروه به عنوان گروههای آزمایش تعیین شدند و در معرض غلظتهای مختلف سلنیت سدیم (۲۷، ۳۷، ۵۲، ۷۰، ۱۰۰، ۱۴۰، ۲۰۰، ۲۷۰ و ۳۸۰ نانومولار) قرار داده شدند. گروه دهم به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند و سلنیت سدیم به محیط کشت آنها افزوده نشد. تکثیر سلولی با استفاده از تست تریپان بلو در همه گروهها نسبت به سلول های گروه کنترل(غلظت صفر سلنیت سدیم) محاسبه شد(۱۳) . در همه مطالعات تکثیر سلولی ۳ چاهک استفاده شد و هر آزمایش ۳ بار تکرار شد.

بررسی فعالیت آنزیم تلومراز:

اندازه گیری فعالیت آنزیم تلومراز در سلول های مزانشیمی مغز استخوان که از سه رت پیر بدست آورده شده بود انجام

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]

شد. سلول هایی که در معرض غلظت ۱۰۰ نانو مولار سلنیت سدیم قرار داده شده بودند به عنوان گروه آزمایش و سلول هایی که سلنیت سدیم به محیط کشت آنها افزوده نشده بود ، به عنوان گروه کنترل تعیین شد. اندازه گیری فعالیت آنزیم هر دو گروه سلول با استفاده از کیت اندازه گیری فعالیت آنزیم تلومراز به روش PCR ELISA و طبق دستورالعمل کارخانه سازنده (Roche Life Science,Germany) انجام شد. بدین منظورپروتئین سلولهای مزانشیمی مغز استخوان توسط بافر لیز کننده موجود در کیت استخراج شد. غلظت پروتئین هر کدام از نمونه ها به روش Bradford اندازه گیری شد (۱۴). بافر لیز کننده و عصاره سلولی که به مدت ۱۰ دقیقه در معرض حرارت ۸۵ درجه سانتیگراد قرار داده شده بود به عنوان کنترل منفی استفاده شد. در مورد همه نمونه ها سه تکرار انجام شد.

اندازه گیری کمی طول تلومر:

اندازه گیری طول تلومر در سلول های مزانشیمی مغز استخوان که از سه رت پیر بدست آورده شده بود انجام شد. سلول هایی که در معرض غلظت ۱۰۰ نانو مولار سلنیت سدیم قرار داده شده بودند به عنوان گروه آزمایش و سلول هایی که سلنیت سدیم به محیط کشت آنها افزوده نشده بود ، به عنوان گروه کنترل تعیین شد. برای اندازه گیری طول تلومرهر دو گروه سلولی دو واکنش Real-time PCR متوالی، یکی به منظور تکثیر ژن 36B4 به عنوان ژن تک کپی (Single copy gene) و دیگری برای تکثیر تلومر انجام شد.برای انجام این واکنشها از دستگاه Real-time PCR مدل CFX96TM (Bio-Rad, Germany)استفاده شد. جهت محاسبه طول تلومر بصورت کمی نیاز به تهیه منحنی استاندارد است که در هر مورد با استفاده از رقت های سریالی توالی الیگونوکلئوتیدی سنتیک مربوطه توسط دستگاه Real-time PCR تهیه شد. (توالی پرایمر ها و الیگونوکلئوتیدهای سنتیک در جدول ۱ آورده شده است) . نرم افزار CFX – Manager برای هر واکنش بر اساس منحنی استاندارد تلومر یک مقدار برای طول تلومر و بر اساس منحنی استاندارد ژن تک کپی یک عدد هم برای تعداد کپی های ژنوم تخمین می زند . با استفاده از این مقادیر طبق دستورالعملی که قبلا توصیف شده است ، طول تلومر ژنوم دیپلوئید محاسبه می شود (۱۵).

ارزیابی بیان ژنها:

بیان ژنها در سلول های مزانشیمی مغز استخوان که از سه رت پیر بدست آورده شده بود، ارزیابی شد. سلول هایی که در معرض غلظت ۱۰۰ نانو مولار سلنیت سدیم قرار داده شده بودند به عنوان گروه آزمایش و سلول هایی که سلنیت سدیم به محیط کشت آنها افزوده نشده بود ، به عنوان گروه کنترل تعیین گردید. میزان بیان ژن های هدف (ژنهای مرتبط با فعالیت آنزیم تلومراز) در نمونه های cDNA سلول های هر دو گروه با استفاده از معیار CT و روش $\Delta\Delta Ct$ نسبت به ژن بتا اکتین ارزیابی شد (۱۶). توالی پرایمرهای مورد نیاز برای Real-time PCR با استفاده از نرم افزار Gene runner ، Oligoanalyzer و Primer3 طراحی شده و با نرم افزار AlleleID - 7 ارزیابی شدند. توالی پرایمرها در جدول ۱ ذکر شده است.

آنالیز آماری:

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 16. انجام شد. نتایج به صورت میانگین و خطای استاندارد نشان داده شده است. نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون Kolmogorov–Smirnov بررسی شد. داده های تکثیر سلولی با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون Tukey انجام شد. داده های مربوط به بررسی فعالیت آنزیم تلومراز ، اندازه گیری طول تلومر و ارزیابی بیان ژنها در دو گروه آزمایش و کنترل با استفاده ازآزمون T انجام شد . سطح معنی داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]

نتایج

مشخصات سلول های مزانشیمی مغز استخوان در محیط کشت:

نتایج آزمایش ایمنوسیتوشیمی نشان داد که ۰/۵۵ ± ۹۵/۳۵ درصد سلول ها به آنتی بادی فیبرونکتین ، ۰/۱۴ ± ۹۴/۲۸ درصد به CD90، ۰/۳۴ ± ۹۳/۲۲ درصد به CD44 و ۰/۸۲ ± ۹۷/۱۶ درصد به CD106 واکنش مثبت داشتند. (شکل ۱ ، الف –ت). این سلول ها به آنتی بادی های CD31 و CD45 واکنش مثبت نداشتند. (شکل ۱ به ترتیب ث و ج).

تکثیر نسبی سلول های مزانشیمی مغز استخوان

سلنیت سدیم در غلظت ۱۰۰ نانومولار تکثیر سلولی را افزایش می دهد که در مقایسه با گروه کنترل دارای اختلاف معنی دار است ($p<۰/۰۰۱$) . غلظت ۳۸۰ نانومولار سلنیت سدیم بطور معنی دار رشد سلولها را کاهش می دهد ($p<۰/۰۳$) (نمودار ۱). بر اساس نتایج تکثیر سلولی غلظت ۱۰۰ نانومولار سلنیت سدیم برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

فعالیت آنزیم تلومراز در سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر:

فعالیت آنزیم تلومراز به روش PCR- ELISA که حساسیت بسیار بالایی دارد، اندازه گیری شد. نتایج بررسی فعالیت آنزیم در نمودار ۲ قسمت الف نمایش داده شده است ، سلنیت سدیم فعالیت آنزیم تلومراز را در سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت پیر تغییر نداد .

طول تلومر در سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر:

طول تلومر در سلول های مزانشیمی مغز استخوان که در معرض غلظت ۱۰۰ نانومولار سلنیت سدیم قرار داده شده بودند، کاهش پیدا کرد. اگرچه این کاهش در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نیست (نمودار ۲قسمت ب) ،($p=۰/۰۷$) . طول تلومرژنوم دیپلوئید سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر بطور میانگین برابر با Kb ۳۸۸/۵۵ است . (محدوده طول تلومر این سلول ها برابر با Kb ۵۰۳/۷۹ – ۲۵۸/۴۱ است) .

بیان ژنها در سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت پیر:

ژنهای مورد بررسی شامل کمپلکس Shelterin (*TERF1, TERF2, POT1, TPP1, TIN2(TINF2), RAP1*) ، کمپلکس CTS (*CTC1, OBFC1(STN1) , TEN1*) ، ژن *GAPDH* و اجزاء آنزیم تلومراز شامل ژنهای *TERT* و*TERC* هستند. نتایج مربوط به اثر سلنیت سدیم بربیان این ژنها در نمودار ۳ قسمت الف تا ج نشان داده شده است. سلنیت سدیم بیان این ژنها را بطور معنی دار تغییر نداد .

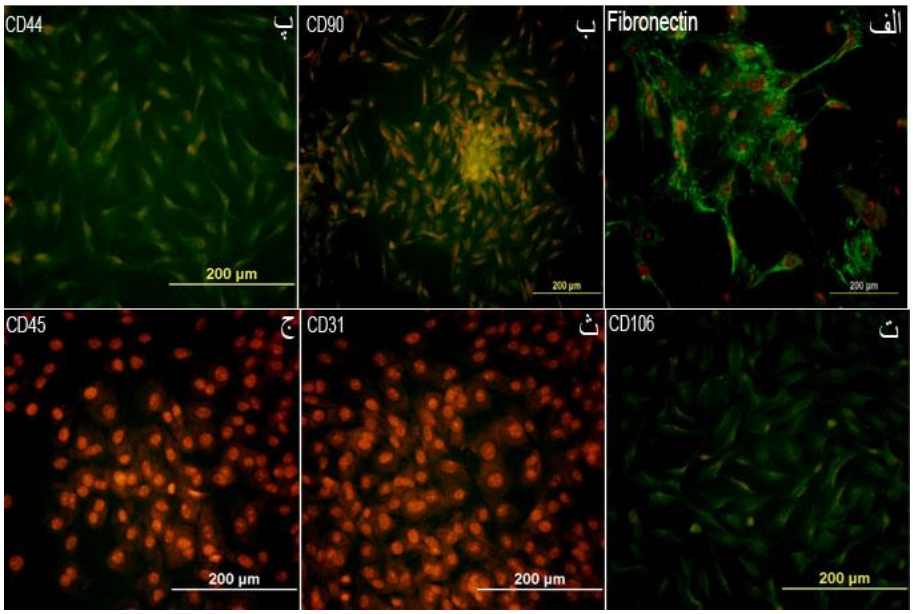
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]

جدول ۱- لیست الیگومرهای استفاده شده در اندازه گیری طول تلومر بصورت کمی و ارزیابی بیان ژنها

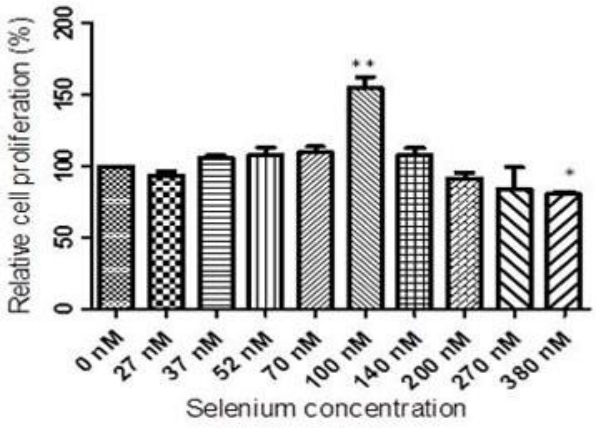
	oligomer Name	Sequence: 5'to 3'	Amplicon size (bp)	Refrences
Standards	Telomere standard	(TTAGGG) 14	84	(15)
	36B4 standard	CCTTGTCTCCAGTCTTTATCAGCTGCACATCGCTCTGAGGA AGAGAAGAGCAGTTACCACCCAGACACACAGAAG	75	*
Primers	Telo	F: CGGTTTGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT R: GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT	>76	(15)
	36B4(X15096)	F: CTTCTGTGTGTCTGGGTGGT R: CCTTGTCTCCAGTCTTTATCAG	75	*
	TERT(NM_053423)	F: CAAAAGCCTTTCTCAGCACC R: CTTAATTGAGGTCCGTCCGT	227	*
	TERC(NR_001567)	F: GTCTTAGAACTCCGCTGCCG′ R: CAGGAAAGCCACCGAACTCA	131	*
	POT1(NM_001024322)	F: AGCTCCTCGACATTTCAGCC R: CAGCATCTCTTTTGCCACGG	152	*
	TPP1(NM_001037193)	F: ′CGGTCATCTGCTCAAGGTACT R: TCCCAGTCAGAGGTGTCGAT	156	*
	TRF1(NM_001012464)	F: ACCCAGAATTTTACACGCCTT R: GCCTTTGCTTTATCCTCCGA	232	*
	TRF2(NM_001108448)	F: ACCTCCTCACGATGGCTAAA R: TTCACTGTCCTGAGTCCGAT	157	*
	RAP1 (NM_001013143)	F: ACAAGTACCTGCTCGGGAA R: TGTGTATTTCAAAGTCAGGG	249	*
	TIN2(NM_001006962)	F: ATGAACCAGAACCAGTCTGC R: GGATAGCACTGGTTTCTTGACT	182	*
	GAPDH(NM_017008)	F: CAACTCCCTCAAGATTGTCAGCAA R: GGCATGGACTGTGGTCATGA	118	(17)
	CTC1(NM_001107010)	F:CCGGGAGATAGTTCACGACC R:ACAACGCTGGTGTTGAGTCAG	238	*
	TEN1(NM_001108307)	F: CTGGAGCGTATAGAGGGTGG R:AGGCTGTCACTGGGAAGAGG	197	*
	STN1(NM_001011943)	F:GACGCCGCTTCTGACATACA ′ R:CACCACAGATTTGGTTTCTGACA	185	*
	β-Actin (J00691)	F: AAGTCCCTCACCCTCCCAAAAG R: AAGCAATGCTGTCACCTTCCC	98	(18)

*: بر اساس توالی ژن ها طراحی شدند.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]

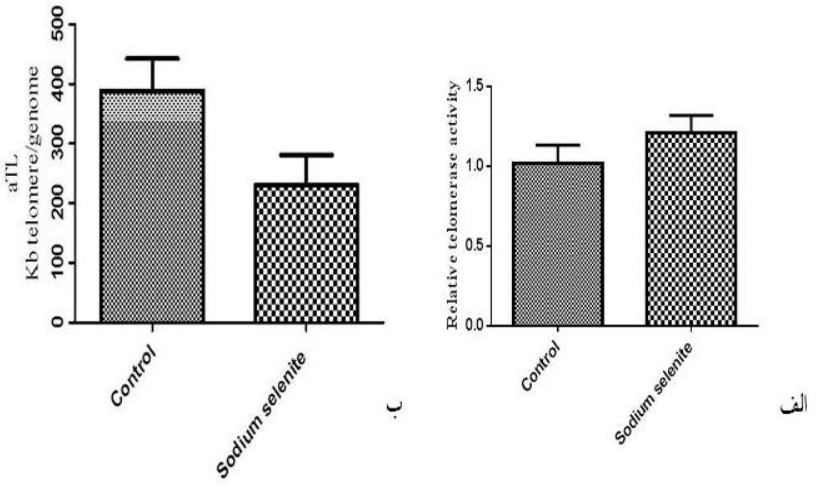


شکل ۱- واکنش سلول های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان رت پیر پاساژ سوم به آنتی بادیها بر علیه نشانگرهای سطحی سلول الف –نشانگر فیبرونکتین، ب-نشانگر CD90،پ-نشانگر CD44، ت-نشانگر CD106، ث –نشانگر CD31 ج-نشانگر CD45. هسته ها توسط پروپیدیوم یدید (Propidium iodide) رنگ آمیزی شده است. (خط مقیاس همه عکس ها ۲۰۰µm)

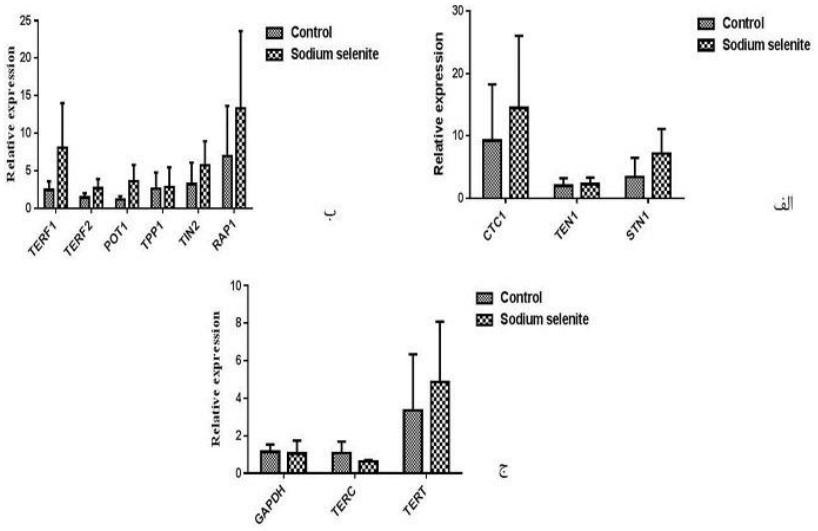


نمودار ۱-تکثیر نسبی سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر که به مدت ۷۲ ساعت در معرض غلظت های مختلف سلنیت سدیم قرار داده شده اند. **: نشاندهنده افزایش تکثیر سلولی در مقایسه با گروه کنترل (غلظت صفر سلنیت سدیم) * : نشاندهنده کاهش تکثیر در مقایسه با گروه کنترل

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]



نمودار ۲- فعالیت تلومراز و طول تلومر در سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر که به مدت ۷۲ ساعت در معرض غلظت ۱۰۰ نانومولار سلنیت سدیم قرار داده شده اند و گروه کنترل که در معرض سلنیت سدیم قرار نگرفته اند.(حجم نمونه در هر گروه = ۳). الف –فعالیت آنزیم تلومراز ب-طول تلومر



نمودار ۳-بیان ژنهای وابسته به فعالیت تلومراز در سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت پیر که به مدت ۷۲ ساعت در معرض غلظت ۱۰۰ نانومولار سلنیت سدیم قرار داده شده اند و گروه کنترل که در معرض سلنیت سدیم قرار نگرفته اند.(حجم نمونه در هر گروه = ۳). الف . بیان ژنهای کمپلکس CTS ب - بیان ژنهای کمپلکس Shelterin

ج- بیان ژنهای *GAPDH* ، *TERT* و *TERC*

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد غلظت ۱۰۰ نانومولار سلنیت سدیم به مدت ۷۲ ساهت بطور معنی دارتکثیر سلول های مزانشیمی رت پیررا افزایش می دهد. در تایید این نتیجه سلنیوم تکثیر رده سلولی 3T3-L1 (۱۹) و نیز سلول های مزانشیمی مشتق از بافت چربی را بطور معنی دار افزایش داده است (۱۰) . علیرغم اینکه سلنیت سدیم تکثیر سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر را افزایش داد، اما

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]

فعالیت آنزیم تلومراز این سلول ها تغییر پیدا نکرد، که با نتایج مطالعات دیگر محققین متفاوت است (۲۰و ۱۰). در مطالعات ذکر شده سلنیوم فعالیت آنزیم تلومراز لنفوسیت های موش (۲۰) و سلول های مزانشیمی مشتق از بافت چربی (۱۰) را افزایش داد. این تفاوت ممکن است بدلیل استفاده از سلول های مزانشیمی مشتق از رت های پیر در مطالعه حاضر باشد. زیرا مطالعات قبلی نشان داده است که رفتار سلول های پیر در مورد تلومر متفاوت با سلول های جوان است(۲۱). بطوریکه مشاهده شد ماده ای بنام **Concanavalin A** با وجود اینکه طول تلومر سلول های بدست آمده از رت های جوان را افزایش می دهد، اما طول تلومر سلول های رت های پیر را تغییر نمی دهد (۲۱). در واقع ممکن است چون سلول های استفاده شده در مطالعه حاضر از رت های پیر بدست آمده بودند، سلنیت سدیم فعالیت تلومراز این سلول ها را افزایش ندادکه این نتیجه با تاثیر سلنیت سدیم بر سلول های جوان (۲۰و ۱۰) متفاوت است. بعلاوه، افزایش سن سبب تغییر در ترکیب مولکول های اسفنگولیپید غشاء سلول می شود (۲۲). لذا ممکن است متفاوت بودن ساختار غشاء سلول های پیردلیل پاسخ متفاوت این سلول ها به سلنیت سدیم باشد. همچنین Buchheiserو همکاران نشان دادند تغییر شرایط کشت، تکثیر سلول های مزانشیمی مشتق از بند ناف انسان را افزایش داد، بدون اینکه فعالیت آنزیم تلومرازاین سلول ها تغییر یابد (۲۳)، نتایج بدست آمده در مقاله حاضر هم نشاندهنده وضعیت مشابهی است. در واقع سلنیت سدیم تکثیر سلول های مزانشیمی مشتق از مغز استخوان رت های پیر را افزایش داد اما فعالیت آنزیم تلومراز این سلول ها تغییر نیافت. افزایش تکثیر سلولی توسط سلنیت سدیم ممکن است بدلیل خاصیت آنتی اکسیدانی این ماده باشد. با افزایش سن سطح بالاتری از گونه های فعال اکسیژن (ROS) در سلول تولید می شود که با تعداد زیادی از مولکول ها واکنش می دهند و اثرات متعددی دارند، اثرات این مولکول ها با واسطه ژن P53 اعمال می شود. این ژن سطح پروتئین P21 را افزایش می دهد و این پروتئین سبب مهار تکثیر سلولی می شود (۲۴). لذا افزایش سطح گونه های فعال اکسیژن در سلول های پیر ممکن است با واسطه محور P53-P21 تکثیر سلولی را کاهش دهد و ترکیبات آنتی اکسیدان از قبیل سلنیت سدیم نیز ممکن است با مهار محور فوق تکثیر سلولی را افزایش دهند. میانگین طول تلومر ژنوم دیپلوئید سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیردر این مطالعه ۳۸۸/۵۵kb بود. (محدوده طول تلومر ۵۰۳/۷۹ kb – ۲۵۸/۴۱). تنوع در طول تلومر جوندگان بوسیله Zijlmans و همکاران نیزگزارش شده است (۲۵). در این ارتباط Wagner و همکاران تایید کردند که افزایش سن، تنوع در طول تلومر را افزایش می دهد (۲۶). با تقسیم کردن طول تلومر ژنوم دیپلوئید سلول های رت بر ۸۴ می توان طول یک تلومر را تخمین زد. (تعداد کل تلومرهای موجود در ۲۱ زوج کروموزوم که در سلول های رت نرمال یافت می شود برابر با ۸۴ است). بر اساس این تخمین میانگین طول یک تلومر (در هر انتهای یک کروماتید) در مطالعه حاضر تقریبا برابر با ۴/۶۲ kb است (محدوده طول تلومر برابر با ۶-۳ kb). طول تلومر سلول های رت های جوان در محدوده ۱۰۰ -۲۰ kb گزارش شده است (۲۷)، که بیش از مقدار بدست آمده در این مطالعه است. طول تلومر سلول های یوکاریوت با افزایش سن کم می شود (۲۸). بطوریکه Jennings و همکاران گزارش کردند که میانگین طول تلومر سلولهای کبد رت در سن ۳ تا ۳۳ روز برابر با ۱۵/۳۴ kb و در سلول های کبد رت ۱۳ ماهه تقریبا ۴/۹۷ kb است (۲۹) که به طول تلومر سلول های رت پیر درتحقیق حاضر نزدیک است. یک نتیجه جالب توجه در مطالعه حاضر این بود که طول تلومر سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر که در معرض سلنیت سدیم قرار داده شدند، کاهش یافت. طول تلومر این سلول ها برابر با ۰/۵۹ ± ۲/۷۴ kb بود در

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]

حالیکه این مقدار در سلول های گروه کنترل برابر با kb ۰/۶۴ ± ۴/۶۲ بود. بهرحال این اختلاف معنی دار نیست و ممکن است بدلیل افزایش تکثیر سلولی در این سلول ها باشد.چنانکه افزایش تکثیر سلولی در سلول های مزانشیمی مغز استخوان انسانی سبب کاهش طول تلومر در این سلول ها شد (۳۰). همچنین در این مطالعه سلنیت سدیم بیان ژنهای کمپلکس Shelterin ، کمپلکس *CTS* ، *TERT* ، *TERC* و *GAPDH* را تغییر نداد. در این ارتباط Yu و همکاران نشان دادند که سلنیت سدیم بیان ژن *TERT* را بطور معنی دار تغییر نمی دهد (۹)، که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. البته ما هیچ گزارشی درباره اثر سلنیت سدیم بر بیان کمپلکس Shelterin و کمپلکس CTS مشاهده نکردیم و تا آنجا که ما اطلاع داریم این ژنها برای اولین بار در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفتند.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد سلنیت سدیم تکثیر سلول های مزانشیمی مغز استخوان رت های پیر را افزایش می دهد و یک موضوع جذاب برای تهیه تعداد سلول مورد نیاز در افراد پیر که نیاز به سلول درمانی و ژن درمانی دارند فراهم می کند. پیشنهاد می شود این موضوع در سلول های افراد پیر هم بررسی شود.

تشکر و قدر دانی

تامین هزینه این پروژه توسط مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا در بیمارستان خاتم الانبیاء تهران انجام شده است که بدینوسیله تقدیر می شود (طرح شماره ۱۰۵-N-۸۶). ما همچنین از حمایت دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تشکر می کنیم.

References

1. Hare JM, Fishman JE, Gerstenblith G, DiFede Velazquez DL, Zambrano JP, Suncion VY, et al. Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: the POSEIDON randomized trial. JAMA 2012;308:2369-79.
2. Diekman BO, Wu CL, Louer CR, Furman BD, Huebner JL, Kraus VB, et al. Intra-articular delivery of purified mesenchymal stem cells from C57BL/6 or MRL/MpJ superhealer mice prevents posttraumatic arthritis. Cell Transplant 2013;22:1395-408.
3. Otsuru S, Gordon PL, Shimono K, Jethva R, Marino R, Phillips CL, et al. Transplanted bone marrow mononuclear cells and MSCs impart clinical benefit to children with osteogenesis imperfecta through different mechanisms. Blood 2012;120:1933-41.
4. Asumda FZ, Chase PB. Age-related changes in rat bone-marrow mesenchymal stem cell plasticity. BMC Cell Biol 2011;12:44.
5. Alt EU, Senst C, Murthy SN, Slakey DP, Dupin CL, Chaffin AE, et al. Aging alters tissue resident mesenchymal stem cell properties. Stem Cell Res 2012;8:215-25.
6. Fan M, Chen W, Liu W, Du GQ, Jiang SL, Tian WC, et al. The effect of age on the efficacy of human mesenchymal stem cell transplantation after a myocardial infarction. Rejuvenation Res 2010;13:429-38.
7. Efimenko AY, Kochegura TN, Akopyan ZA, Parfyonova YV. Autologous stem cell therapy: how aging and chronic diseases affect stem and progenitor cells. Biores Open Access 2015;4:26-38.
8. Zhang Q, Chen L, Guo K, Zheng L, Liu B, Yu W, et al. Effects of different selenium levels on gene expression of a subset of selenoproteins and antioxidative capacity in mice. Biol Trace Elem Res 2013;154:255-61.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]

9. Yu RA, Chen HJ, He LF, Chen B, Chen XM. Telomerase activity and telomerase reverse transcriptase expression induced by selenium in rat hepatocytes. Biomed Environ Sci 2009;22:311-7.
10.Kim JH, Lee MR, Kim JH, Jee MK, Kang SK. IFATS collection: Selenium induces improvement of stem cell behaviors in human adipose-tissue stromal cells via SAPK/JNK and stemness acting signals. Stem Cells 2008;26:2724-34.
11. Darabi S, Tiraihi T, Ruintan A, Abbaszadeh HA, Delshad A, Taheri T. Polarized neural stem cells derived from adult bone marrow stromal cells develop a rosette-like structure. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2013;49(8):638-52.
12.Wang W, Zhang H, Xue G, Zhang L, Zhang W, Wang L, et al. Exercise training preserves ischemic preconditioning in aged rat hearts by restoring the myocardial polyamine pool. Oxid Med Cell Longev 2014;2014:429-457.
13.Mamalis A, Jagdeo J. Light-emitting diode-generated red light inhibits keloid fibroblast proliferation. Dermatol Surg 2015;41:35-9.
14. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976;72:248-54.
15.O'Callaghan NJ, Fenech M. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. Biol Proced Online 2011;13:3-12.
16.Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods 2001;25:402-8.
17.Langnaese K, John R, Schweizer H, Ebmeyer U, Keilhoff G. Selection of reference genes for quantitative real-time PCR in a rat asphyxial cardiac arrest model. BMC Mol Biol 2008;9:53-67.
18. Peinnequin A, Mouret C, Birot O, Alonso A, Mathieu J, Clarencon D, et al. Rat pro-inflammatory cytokine and cytokine related mRNA quantification by real-time polymerase chain reaction using SYBR green. BMC Immunol 2004;5:3-12.
19. Park SH, Kim JH, Nam SW, Kim BW, Kim GY, Kim WJ, et al. Selenium improves stem cell potency by stimulating the proliferation and active migration of 3T3-L1 preadipocytes. Int J Oncol 2014;44:336-42.
20. He LY, Xu SQ, Zhu HJ. Effects of benzene and selenium on telomerase in mouse lymphocytes in vivo. Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi 2008;26:415-8.
21. Murillo-Ortiz B, Albarran-Tamayo F, Lopez-Briones S, Martinez-Garza S, Benitez-Bribiesca L, Arenas-Aranda D. Increased telomere length and proliferative potential in peripheral blood mononuclear cells of adults of different ages stimulated with concanavalin A. BMC Geriatr 2013;13:99-103.
22.Webb LM, Arnholt AT, Venable ME. Phospholipase D modulation by ceramide in senescence. Mol Cell Biochem 2010 ;337:153-8.
23. Buchheiser A, Houben AP, Bosch J, Marbach J, Liedtke S, Kogler G. Oxygen tension modifies the 'stemness' of human cord blood-derived stem cells. Cytotherapy 2012;14:967-82.
24.Yang SR, Park JR, Kang KS. Reactive oxygen species in mesenchymal stem cell aging: implication to lung diseases. Oxid Med Cell Longev 2015;2015: 263-486 .
25. Zijlmans JM, Martens UM, Poon SS, Raap AK, Tanke HJ, Ward RK, et al. Telomeres in the mouse have large inter-chromosomal variations in the number of T2AG3 repeats. Proc Natl Acad Sci U S A 1997;94:7423-8.
26. Wagner W, Bork S, Horn P, Krunic D, Walenda T, Diehlmann A, et al. Aging and replicative senescence have related effects on human stem and progenitor cells. Plos One 2009;4:e46 -58.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]

27. Makarov VL, Lejnine S, Bedoyan J, Langmore JP. Nucleosomal organization of telomere-specific chromatin in rat. Cell 1993;73:775-87.
28.Oeseburg H, de Boer RA, van Gilst WH, van der Harst P. Telomere biology in healthy aging and disease. Pflugers Arch 2010;459:259-68.
29. Jennings BJ, Ozanne SE, Dorling MW, Hales CN. Early growth determines longevity in male rats and may be related to telomere shortening in the kidney. Febs Lett 1999;448:4-8.
30. Dos Santos F, Andrade PZ, Boura JS, Abecasis MM, da Silva CL, Cabral JM. Ex vivo expansion of human mesenchymal stem cells: a more effective cell proliferation kinetics and metabolism under hypoxia. J Cell Physiol 2010;223:27-35.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-09]