مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية ـ المجلد ٩ (العددان ٣و٤) ١٤٠٨هـ ـ ١٩٨٧م

خـــلايا الـدم الأصليـــــة

Stem cells

الدكتور محمد خير أبو تـــــراب
أستاذ مساعد في كلية الطب
جامعـة تشريـــن

أثبتت الأبحاث الحديثة وجود خلية أصلية متعددة القدرات ،لايمكن التعرف اليها شكليا منشئة لجميع عناصر الدم النقوية واللنفاوية ،وهي تتصف بصفتين أساسيتين :

١ ـ القدرة على التجدد الذاتي : لتؤمن كمية ثابتة من الخلايا الأصلية .

٢ ـ التمايز التدريجي الى خلايا أصلية محددة الاتجاه تتميز نحو احدى السلالات الدموية .

تحتاج الخلايا الأصلية لعوامل خلوية وعوامل خلطية Humoras توجه تمايزها .

يعتبر مفهوم الخلية الأصلية الدموية مفهوما حديثا نسبيا ،فهو لم يطرح بعد في العديد من الكتب الطبية المدرسية عندنا.

ان الاعتقاد السابق بأن خلايا الدم تنشأ جميعها من خلايا اللحمة المتوسطة الأولية Primary mesenchymal cells أو من الكلية الشبكية الأولية التي تعطي أرومة الخلايا الدموية Hemocytoblast وقد انقرض وبات خاطئا .

فاذا نظرنا الى خلايا النقي فاننا نلاحظ أنه لايمكن لأي من الخلايا الممكن التعرف اليها مورفولوجيا ،حتى الأقل تميزا منها ، أن تؤمن وحدها تكوّن الدم .

وهذه الخلايا بالفعل ليست لها القدرة على التجدد الذاتي ،كما أن مدة حياتها كقاعدة عامة ،محدودة جدا ،فهي ليست الا مراحل انتقالية . فهي اذن تشتق من خلايا لايمكن تمييزها من الناحية الشكلية وهذه الخلايا الأخيرة هي غير متجانسة بشكل كبير من حيث وظائفها وقدراتها على التكاثر .

وحسب الصفات المتعارف عليها ،تصنف هذه الخلايا ضمن النفاويات التي ليس لها بالتعريف صفات شكلية مميزة). وعلى الأخص ضمن الخلايا المحروقة من الواسمات للسلالات B و T ان عدد هذه الخلايا ضئيل ،ويقدر بـ ٥ر٠ ـ ١ ٪ من مجموع خلايا النقي ،ولكنه كاف لتأمين نتاج خلوي مستمر .

وضع العالم Till تقنية تسمح بالكشف عن وجود خلية أصلية تولد جميع سلالات الدم المعروفة . وذلك بأخذ خلايا النقي لفأر ،ثم تحقن لفأر آخر متماثل معه وراثيا تماما .

وبعد أن يشع بمقدار كبير: ١٠٠٠ راد بهدف أن نقضي على كل الخلايا المولدة للدم

وهذا المقدار الشعاعي كاف لاحداث الموت لدى الفأر اذ يصاب بنزف تال لنقص الصفيحات .

وبعد مرور سبعة أيام نضحي بالحيوان فنلاحظ بمستوى الطحال تشكل مستعمرات صغيرة تبدو عيانيا كنقط بيضاء صدفية تحوي كل منها على مليوني خلية ناضجة وتبين أن ٤٠ ٪ من هذه العقيدات مؤلف من مستعمرات اريتروبلاستية موجودة في كامل اللب الأحمر ،وأن ٢٠٪ منها حدللسلالة المحببة ومتوضعة في عمق اللب الطحالي، وأن ٢٠ ٪ هي مستعمرات للنواءات متوضعة تحت محفظة الطحال مباشرة ،وأخيرا نجد مستعمرات مختلطة : محببة ،نواءات مصورة الحمراء .

واذا تركنا الفأر يعيش لمدة أكثر من ذلك ثم ضحينا به نجد أن معظم المستعمرات من النوع المختلط .

تأتي كل مستعمرة من خلية واحدة وذلك لأن عدد المستعمرات يزداد طردا مع زيادة عدد الخلايا المحقونة ،كما أن بعض المستعمرات النادرة نجد فيها تشوهات صبغية نموذجية ،وعندئذ فان أكثر من ٩٠ ٪ من هذه الخلايا المكونة للمستعمرة يحمل التشوه الصبغي نفسه .

يستدل من هذه التجربة على وجود خلية قادرة على اعادة تشكل الدم بصورة كاملة ولذلك سميت بالخلية المولدة للمستعمرات في الطحال : CFU- S

Colony Forming unit Spleen

الـ CFU-S هي أيضا طليعة للنفاويات :

يحقن الفأر المشبع بخلايا نقويه تحمل واسمات صبغية نفذت بواسطة الأشعة .فنلاحظ وجود خلايا موسومة مماثلة لها بمستوى خلايا التوتة أو العقد اللنفاوية . وكذلك في المستعمرات الطحالية المتكونة اعتبارا من الـ CFU - S النقوية .

البرهان لدى الانسان عن وجود خلية أصلية متعددة القدرات :

يعتمد ذلك على الحالات المرضية .

١ ـ فقد بينت الدراسات الصبغية (وجود الصبغي فيلادلفيا) والخمائر في الابيضاض النقوي المزمن ، ان المحببات البلعمية الكبرية ،والنواءة تشتق من نسيلة Clone واحدة وجزءفقط من اللنفاويات يشتف من النسيلة الابيضاضية (أي ماعدا الـ L.T) .

٢ ـ وفي فقر الدم بالأورمات الحديدية Sideroblastic anemia لدى المرأة متحالفة (الزيجوت) الالقاح بالنسبة لشكلين من خميرة G6PD فاننا نجد نوعا واحدا فقط من الـ G6PD في كل الخلايا النقوية واللنفاوية ،مما يبرهن على أصل هذا المرض في خلية قادرة على اعادة تعمير كل الجملة المكونة للدم

٣ ـ وفي المتلازمة التلازن المتعدد المكتسب (Th) :

Polyagglutinabilite acquis

أمكن البرهان على أن الشذوذ الذي يصيب مستفيدا لزمرة دموية يتم في مستوى خلية أصلية متعددة للقدرات مشتركة للسلالات النقوية واللنفاوية .

ان نسبة اللنفاويات T الحاملة للمستفيد (Th) أقل بكثير من نسبة السلالات النقوية واللنفاوية B الحاملة له ،مما يوصي بأن اللنفاويات T تملك طليعة خاصة بها قادرة على التجدد الذاتي

تنظيم الخلايا الأصلية : Regulation

١ـ التجدد الذاتي :

Autorenouvellement

تسمح هذه الخاصة ببقاء كمية الخلايا الأصلية ثابتة مهما كان مقدار توالد الخلايا التي تتجه نحو التميز .

وقد أظهرت تجارب التطعيم المتعاقبة لدى الحيوانات المشعة صناعيا تدريجيا لقدرات التجدد الذاتي .

وفي مستوى النقي ،نجد أن الـ CFU-S المتوضعة بتماس النظم هي ذات مقدرات عالية من التجدد الذاتي ،وبالعكس ،فان تلك الموجودة في الدم المحيطي هي ذات مقدرات تجدد ذاتي ضعيفة .

ان ضياع قدرات التجدد الذاتي هي المرحلة الاولى نحو تجدد اتجاه الخلية الأصلية . ان معظم الـ CFU-S (أكثر من ٩٠ ٪) في الشروط الفيزيولوجية ،هي بحالة راحة GO أي أنها ليست في الدورة الخلوية .

ان الهيستامين قادر على تعديل الدورة الخلوية لـ CFU - S وكذلك منشطات الـ AMP الدوري . كما أن الخلايا التوتية Thymocytes قادرة على تحريض التجدد الذاتي للخلايا الأصلية .

العوامل الخلوية :

ان توجه الخلية المتعددة القدرات نحو سلالة مايتم بآليات داخلية في الخلية . والدليل هو وجود مستعمرات مختلطة : مثلا حمر والنواة ،حمر وحمضات، معتدلات ،والنواة ،... وهكذا سمح ذلك بظهور مفهوم الخلايا المحددة الاتجاه نحو سلالة معينة ولكن من غير الممكن التعرف اليها شكليا ،وهي مراحل متوسطة بين الـ CFU - S والخلايا الممكن التعرف اليها بالشكل .

طلائع المعتدلات والبلعمية الكبرية :
CFU-C , CFU - GM

امكن الحصول على مستعمرات محببة والبلعمية الكبرية اعتبارا من خلايا نقي أو دم محيطي ،تتألف المستعمرات من عدة مئات من الخلايا ،وهي تحتاج الى محرّض نوعي يدعى Colony stimulating factor

ان الأصل النسيلي Clonale لهذه المستعمرات قد تم البرهان عليه . اذ يمكن الحصول على مستعمرة اعتبارا من خلية واحدة . وان المستعمرات تحوي على خميرة مثلية واحدة فقط لل G6PD لدى نساء متحالفة الزيجوت .

يقدر عدد خلايا الـ CFU - GM في النقي بمئة مليون خلية ،وفي الدم بمئة ألف خلية . ان خمسين بالمئة من CFU-GM هي في الدورة الخلوية بينما هي أقل من ١٠ ٪ بالنسبة لل CFU- S كما أن القدرة على التجدد الذاتي غير متماثلة بينهما .

تملك الـ CFU- GM المستضدات التالية والموجودة أيضا على السلالة المحببة D5D6, My7, 8OH5 كما أنها تملك مستضدات خاصة بها لاتملكها السلالة المحببة وهي : HLA-DR,HLA- ABC

وقد تم اكتشاف طليعة لل CFU-GM هي الـ Pre CFU- GM تتميز طليعة المعتدلات والبلعمية الكبرية لتعطي الـ CFU - G بالنسبة للمحببات المعتدلة والـ CFU -maco (بالنسبة لوحيدات النوى والبلعمية الكبرية) ومرحلة التميز التالية توافق خلية تعطي الـ Clusters (مستعمرات عدد خلايا أقل من ٥٠ خلية) ،وهي خلية قريبة من النقية أو الخلية الوحيدة .

طلائع الحمضات CFU - EO والأسسات والماستوسيت :

يتم الحصول عليها بأوساط زرع ملائمة فتظهر مستعمراتها متأخرة قليلا عن

مستعمرات المعتدلات ووحيدات النوى . وهي تحوي اما حمضات فقط ، أو حمضات مختلطة مع معتدلات ووحيدات نوى .

وقد أمكن أيضا الحصول على الأسسات والبدينة بطرق الزرع ،وهي ذات أصل نسيلي. ان البدينة هي ذات أصل نقوي كبقية السلالات .

طلائع المصورة الحمراء : BFU-E, CFU-E

أمكن تحديد نوعين من المستعمرات :

١ - الـ BFU - E
Burst forming unit erythroid

وهي مستعمرات كبيرة الحجم يمكن أن تصل الى عشرات الآلاف من الخلايا ،متجمعة عادة في عدة وحدات . تنمو خلال ١٠ - ١٨ يوما عند الانسان .

وقد تبين وجود نوعين من الـ BFU-E

آ - BFU - E البدئية : وهي غير محددة الاتجاه بعد نمو السلالة الحمراء والمستعمرات تحوي غالبا النواة أو خلايا سلالات أخرى ،وهي تملك القدرة على التجدد الذاتي . ويمكن أن تعطي مستعمرات طحالية لذلك فهي تتقاطع جزئيا مع الـ CFU-S وهي قليلة أو عديمة الحاسية للاريتروبويتين

ب - الـ BFU - E الناضجة : المؤلفة لمستعمرات أصغر ،غير محتوية الا على المصورة الحمراء .

وهذا النوع الناضج هو حساس للاريتروبويتين .

٢- الـ CFU - E
Colony forming unit erythroid

وهي مستعمرات صغيرة مؤلفة من ٨ - ١٠٠ المصورة الحمراء متجمعة عادة في كتلة واحدة متراصة ،وأحيانا في كتلتين تنمو خلال ٥ - ٨ أيام .

ان الـ CFU - E هي طليعة متأخرة ،قريبة من طلائع المصورة الحمراء وقدرتها على التكاثر ضعيفة (٦ - ٨ انقسامات). ان حياتها وتميزها معتمدان كثيرا ،على وجود الأريثردبويتين .

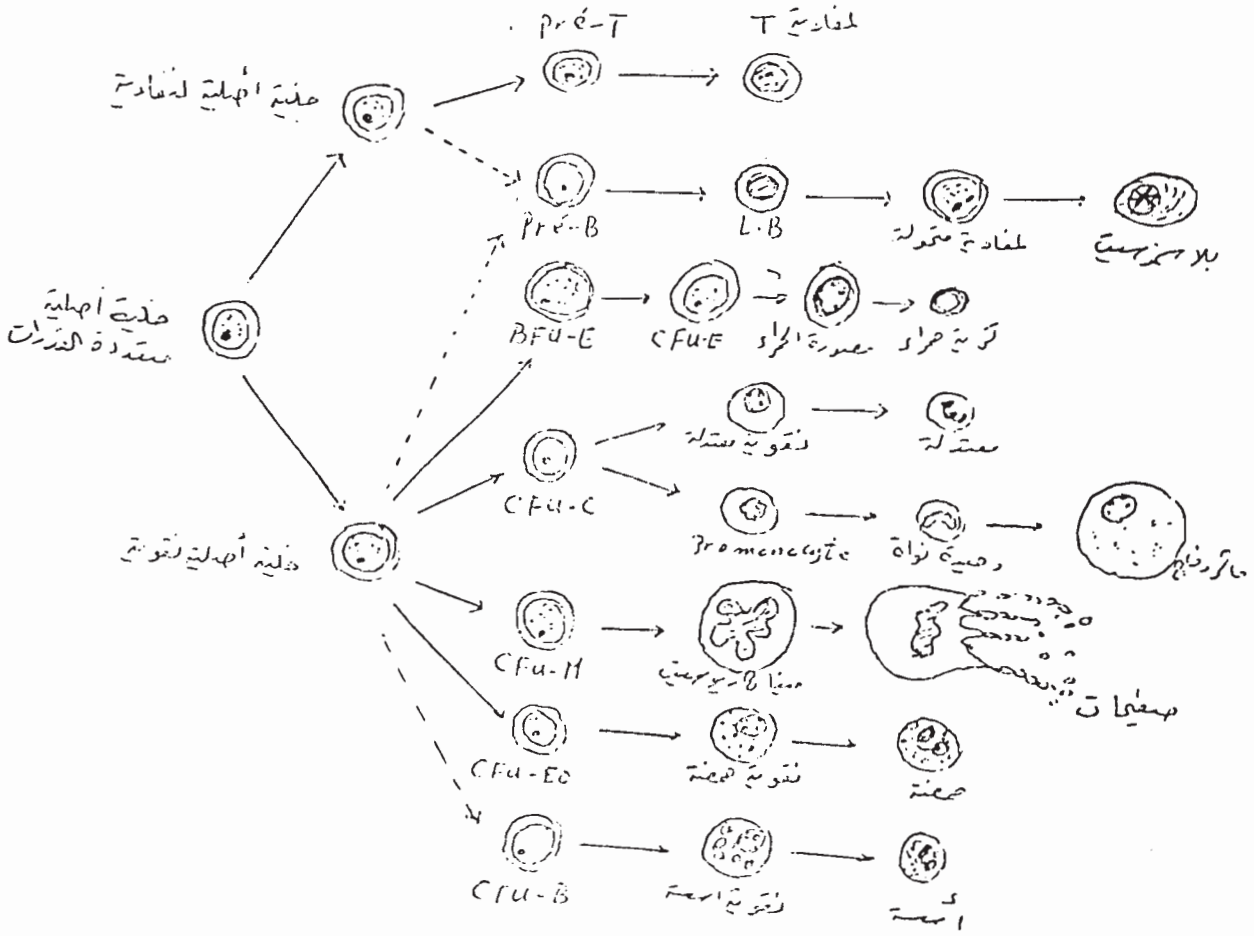
طلائع النواة : CFU - MK

تتألف مستعمرة من عدة مئات من النواءات متجمعة بصورة متراصة في وسط سللوز. بينما في أوساط زراعية أخرى نجد المستعمرة مؤلفة من بضع نواءات متباعدة عن بعضها نسبيا .

ان التعرف على النوّاءات المزروعة يتم باستخدام راسم خلوي كيميائي نوعي هو الأستيل كولنستراز لدى الفأر. أما عند الانسان فان العديد من الواسمات المناعية (أضداد عديدة أو وحيدة النسيلة) تتعرف الى بروتينات ضعيفة. ان معظم الـ CFU - MK هو خارج الدورة الخلوية ويكون ثنائي الصبغيات diploid التي تكون موجودة في النقي حيث يتراوح عددها بين ١ و ٢ مليون ،وحوالي ١٠٠ر٠٠٠ خلية في الدم المحيطي عند الانسان . بينما نراها عند الفأر موجودة أيضا في الطحال.

يمكن أن يصل نضج النواءة المزروعة حتى مراحل توليد الصفيحات .. وفي المستعمرة الواحدة نفسها يمكن العثور على نواءات ذات كمية صبغية مضاعفة مختلفة المقدار .

ان الأصل النسيلي Clonale لمستعمرات النواءات قد تم البرهان عليه والتأكد منه . وان البحث عن واسمات نوعية لسلالة النواءات (الكولينستراز لدى الفأر ،والبيروكسيداز الصفيحي والغليكوبروتينات الصفيحية ،والعامل VIII Ag والعامل الرابع الصفيحي) قد سمحت بتمييز طليعة النواءات وهي :
promega Karyoblastes


خلية أصلية لمفاوية
خلية أصلية متعددة القدرات
خلية أصلية لنقوية
Pré-T
لمفاوية T
Pré-B
L.B
لمفاوية متحولة
بلازموسيتية
BFU-E
CFU-E
مصورة الحراء
كريية حراء
CFU-C
لنقوية متعادلة
متعادلة
Promonocyte
وحيدة نواة
ماكروفاج
CFU-M
مبنا B حبيبية
صفيحات
CFU-Eo
لنقوية محمضة
محمضة
CFU-B
لنقوية اسمة
اسمة

المختلفة عن الـ MK CFU التي لاتملك أيا من هذه الواسمات النوعية .

ان بعض الأضداد قادرة على التعرف على مستفد (نوعي) للـ CFU - MK كما أنها تملك المستفد HLA - DR

العوامل الخلطية: Facteurs humorales

١- بالنسبة للسلالة المحببة ووحيدات النوى :

يتطلب نمو مستعمراتها CFU - C وجودا مستمرا لمحرض يدعى GM - CSF ان المصدر الرئيسي له عند الانسان هو البلعمية الكبرية بالذات ،وقد كشف عن وجوده أيضا في الدم والبول. ان اللنفاويات T الطبيعية المنشطة بمحرضات الانقسام Amitogene تفرز أيضا الـ CSF وكذلك الخلايا البطانية .

وقد امكن استخلاص ٤ نماذج لها الأوزان الجزيئية التالية : ١٥٠٠٠، ٣٥٠٠٠، ١٠٠٫٠٠٠، ١٣٠٠ .

وقد تم عزل نوعين للـ CSF : الأول يؤدي لتميز الـ C . CFU الثنائية القدرة نحو خلية محددة الاتجاه نحوالسلالة المحببة أو نحو وحيدات النوى .

والنوع الثاني يؤمن التميز نحو الخلية الناضجة .

تنظيم افراز الـ CSF :

يزداد افرازه بواسطة الذيفانات الجرثومية الداخلية ،مما يفسر زيادة البيض في حالات الانتان الجرثومي ،كما أن عديدات النوى تحتوي وتفرز عاملا يثبط افراز الـ CSF ،وهو اللاكتوفرين ،وان البلعمة الكبرية وعديد الخلايا يفرزان البروستاغلاندين E2 الذي يلعب دورا مهما في عرقلة تكاثر الـ CFU-GM وخاصة الـ CFU- Macvo وهذا التأثير مثبط بالمستفد HLA-DR الموجودة على هذه الطلائع .

ان الايزوفرتين الحامضة مثبطة أيضا للـ CSF . وهي من أصل وحيدات النوى ويكون تركيزها عاليا في نقي المرضى المصابين بالابيضاضات . فبينما تثبط الايزوفرنين الحامضة الـ CFU. GM الطبيعية في مرحلة S من الانقسام الخلوي ،فانها عديمة التأثر على الطلائع الابيضاضية .

ان تأثير الايزوفرتين الحامضة مشابه تماما لتأثير البروستاغلاندين E_2 وتأثيراتهما المنظمة مرتبطة بالمستفيد الموجود على هذه الطلائع .

٢ - بالنسبة للسلالة الحمراء :

ان مصول الحيوانات المصابة بفقر الدم تحرض تشكل الكريات الحمر لديها حتى ولو أحدثنا عندها زيادة في الكريات الحمراء بواسطة نقل دم مسبق . يدعى هذا العامل المصلي بالاريثروبويتين Erythropoietine وقد استخلص نقيا من مصل أو بول أشخاص مصابين بفقر الدم . وهو عبارة عن غليكوبروتين وزنه الجزيئي ٣٣٠٠٠.مقداره الفيزيولوجي في الدم ٨ ميللي وحده / مل. ويمكن أن يصل في حالات فقر الدم الى مقدار عدة وحدات بالمل .

وقد تم في الأبحاث الحديثة الحصول على ضد وحيد النسيلة مضاد للأريتروبويتين. مما سيسهل المعايرات الشعاعية والمناعية ودراسة المستقبلات الخلوية له ،وأيضا تنقية مقادير عالية من الهرمون وتجانسها

استقلابه : يتم انتاجه أساسيا من قبل الكلية عند الكهل . وقد اقترح بعضهم وجود طليعة غير نشيطة من أصل كبدي موجودة في المصل ،تحولها الكلية الى اريثروبوتين نشيط . كما أن استقلابه يتم كاملا داخل الكلية .

ان مصدره الأساسي لدى الجنين هو الكبد

ويحتمل أن تكون خلايا كوبفر هي المسؤولة تقدر مدة حياة هذا الهرمون invivo ببضع ساعات ،وبعد زوال حمض السيالي من الجزيئة يفقد الهرمون نشاطه البيولوجي لأن تصفيته الكبدية تصبح سريعة جدا.

تأثيره الخلوي : يحرض بشكل سريع تركيب الخضاب . ويتطلب ذلك حدوث انقسام mitose كما أنه يقصر الدورة النقوية للمصورة الحمراء القادرة على التكاثر وينقص وقت العبور Transit لبقية المصورة الحمراء والشباكيات في النقي .

وهو ضروري بشكل مطلق لحدوث تميز الطلائع التي لاتكون الحضاب بعد . وهذه الطلائع كلما كانت أقرب الى المصورة الحمراء كانت أكثر حساسية لهذا الهرمون .

تأثيره الجزيئي Effet moleculaire

يتم بفضل التفاعلات النوعية لهذا الهرمون مع مستقبلات غشائية غير معروفة بعد ،ولكن ثبت تجريبيا وجودها ،فعلاج خلايا النقي بالتربسين يبطل تأثير الأريثروبويتين .

يؤثر الهرمون أساسا على عملية النسخ Transcription باحداثه لزيادة تركيب الـ RNA الرسول . ولا يتم ذلك مباشرة بل بوساطة بروتين هيولي يتم انتاجه بتحريض من الهرمون ،بمستوى الغشاء الخلوي ،وبتفاعلات مع الأريثوبويتين يحرض نشاط الـ RNA Polymerase

محرضات ومثبطات الافراز :

ان المحرض الفيزيولوجي لافراز الأريثروبويتين هو نقص الأكسجين الكلوي . ويعتقد وجود مستقبلات حساسة لنقص الأكجين بمستوى برانشيم الكبة (الجهاز قرب الكبي) والكبد . ويعتقد أن جزيرة مصورات الكريات الحمر Ilot erythroblastique (البلعمية الكبرية محاطة بعدد من مصورات الحمر) هي وحدة وطيفية لتنظيم تكون هذه المصورات . ويمكن البلعمية الكبرية المركزية للجزيرة أن تركب الأريثروبويتين .

ان هرمونات الدرق والـ B- كاتيكولامين تزيد فعل الأريثروبويتين وذلك بزيادة لتركيز الـ AMP Cyclique داخل الخلية .

كما أن الأندروجينات والايتيوكولانولون تحرض الحلايا الأصلية متعددة القدرات على الانقسام وتزيد عدد الطلائع المكونة للكريات الحمراء ،وافراز الأريثروبويتين الكلوي وخارج الكلوي .

وقد وصف هرمون مضاد في الكريات الحمر يؤدي الى نقص تكاثر مستعمراتها في الطحال وتبين تجريبيا in vitro وجود غليكوبروتين آخر هو الـ BPA Burst promoting activity ينظم الطلائع الأقل تميزا . وزنه الجزيئي ٤٥٠٠٠. يتم افرازه من قبل اللنفاويات وربما وحيدات النوى البلعمية الكبرية .

٣- بالنسبة لسلالة النواءة :

آ- في الحياة in vivo بينت تجارب متعددة وجود تنظيم خلطي لانتاج الصفيحات فحقن مصورة حيوانات جعلت ناقصة الصفيحات اصطناعيا ،يؤدي الى تحريض انتاج الصفيحات لدى الحيوانات الطبيعية أو التي لديها زيادة في الصفيحات .

دعي هذا العامل بالترمبوبويتين Thrombopoietine ولم يمكن تنقيته تماما بعد .

يؤثر هذا العامل على تضاعف عدد الصبغيات ،وعلى حجم النواءات ،وسرعة نضجها . كما يؤثر على النواءات الآخذة بالنضج وعلى جزء من الطلائع التي مازالت قادرة على التكاثر .

يزداد مقداره عند وجود نقص في الصفيحات ،ويحدث العكس عند ازديادهما

ويعتمد ذلك على العدد الكلي للصفيحات في العضوية (طحال + دم) .

لم يعرف بعد مكان افرازه ،ولكن استئصال الكبد الجزئي يؤدي لنقص الصفيحات بسبب نقص انتاج الهرمون . وقد تم عزل نشاط مولد للصفيحات من مزروع كلية جنينية

ب – في الزجاج : in vitro ان مزارع الكريات البيض المحرّضة بالفيتهما غلوتنين تحرض نمو مزارع النواءات . وان الخلية الهدف لتأثير الترمبوبويتين هي طلائع النواءات وليس الـ CFU - MK فالمراحل الأولى لتشكل النواءات يتم تحريضها بعامل شبيه بالـ BPA أو الـ GM - CSF والمراحل النهائية تنظم بوساطة الترمبوبوتين وهو عامل نوعي لسلالة النواءات .

٤ – بالنسبة لبقية السلالات :

ما زالت الدراسات بالنسبة للسلالتين الحمضية والأسية قليلة حتى الآن . ففي التجارب المخبرية في الزجاج in vitro تبين أن الـ CSF الخاص بالحمضات EO - CSF مختلف عن نظيره بالنسبة للمعتدلات ووحيدات النوى GM . CSF

المراجع

1- Aglietta M. Detection of basophils growing in semisolid agay culture. exp. hacmatol.1981

2- Brouet JC.The origin of humain B and T cells from maltipotent stem cells Astudy of the Tn Syndrom . Eu.J. immunol . 1983

3- Bioxmeyer . He; Relation ship of cell-cycle expression of Ia-like antigenic determinants on normal and leukemic human granulocute-macrophage - progenitov cells to regulation in vitro by acidic isoferitins. J.clin . invest. 1982.

4- Burstein SA : Mega Karyo cyto poiesis in the mouse responsets Plateets demand . J.cell . physical 1981

5- Dreyfus.B. Hematologie . Flammarion. medecine-Sciences 1984.

6- Fagg. B Is erythropoietin the only factor which regulates Lake erythroid differentiation Nature. 1981 .

7- Fitchen.JH. the antigenic - of hematopoietic stem cells N. Engl.J Med. 1981

8- Hoffman R. Assay of an activity in the serum of patients with disorders of thrombopoiesis that stimulates formation of mejakaryo-cytic colonies . N. Engl.J.Med 1981.

9- Levih.J. J.The effects of hrombopoietin on megakaryocyte CEC . megakaryocystes and thrombopaiesis with studies of ploidy and plsteles size.Blood 1982

10 - Robinson J. Expression of cell surface HLA- ABC and - glycophorine duving erythroid differentiation Nature 1981.

11- Zuckermann KS . Human eryfhroid burst-forming unite . J.clin. invest 1981.