الفصل الثاني

تمايز الخلايا والخلايا الجذعية

Cell differentiation and stem cells

الاحالة والتمايز الخلوي

Commitment and cell differentiation

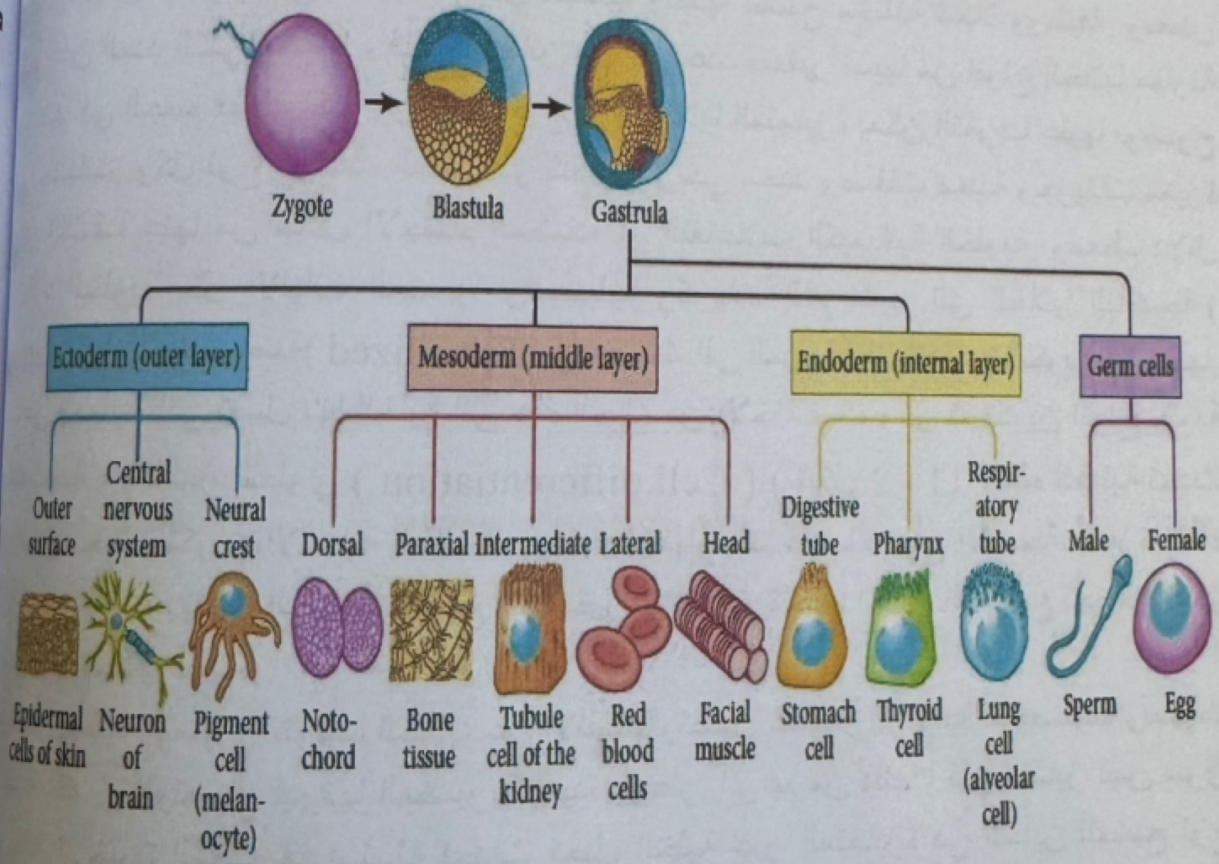
ينشأ الفرد من بيضة مخصبة تمر بعدة مراحل وصولا الى مرحلة البلوغ. وخلال ذلك يزداد عدد الخلايا الى درجة كبيرة حيث يتراوح عددها في الكائنات الحية متعددة الخلايا ما بين المئات الى عشرة ترليونات خلية في الفقريات الكبيرة.

تبدأ الخلايا الجنينية في الظهور بشكل متشابه ولكنها تصبح مختلفة شكلا ووظيفة. وبغض النظر عن العدد الكلي للخلايا ، فأن كل كائن حي ذو عدد صغير نسبيا من انواع الخلايا مقارنة بأعدادها في الجسم فهناك اكثر من 200 نوع من الخلايا المتمايزة يمكن التعرف عليها بوضوح في الحبليات. وكل نوع من هذه الخلايا ذو شكل خارجي محدد وصفات معينة وجزيئات مميزة يمكن الكشف عنها من خلال الاجسام المضادة او التفاعلات الكيميائية الخلوية. ومعظم دلائل الانواع الخلوية مثل الالياف العصبية والعضلية وكريات الدم تشير الى الخلايا الناضجة (Mature) او المتخصصة(Specilized) قد وصلت الى المرحلة النهائية من التكوين في نسلها. وتدعى العملية التي تصل بها الخلية الى هذه الحالة من الاختلاف ، ومن ثم تكوين انواع خلوية متخصصة ، بالتمايز الخلوي (Cell differentiation) (شكل 2 - 1). وهذه العملية تحدث في البداية خلال تكوين الانسجة (Histogenesis) وذلك عندما تصبح الانسجة جاهزة لاداء الوظيفة الخاصة بها في الجنين او البالغ ، وتستمر خلال فترة حياة الكائن الحي مع تحطم الخلايا واستبدالها بخلايا جديدة.

وخلال عملية التمايز ، تتوقف الخلايا عن الانقسام وتظهر عناصر تركيبية متخصصة وصفات وظيفية متميزة وتصبح قدرتها المصيرية مقيدة. وعلى الرغم من ذلك ، فان التمايز ليس سوى المرحلة الأخيرة المعلنة في سلسلة احداث تحيل الخلية غير المتمايزة في الجنين لتصبح نوع معين. فمن الواضح ان خلية الدم الحمراء تختلف جذريا في تركيبها البروتيني والخلوي عن الخلية العدسية (Lens cell) في العين، او الخلية العصبية في الدماغ ، لكن هذه الاختلافات في الكيميائية الحياتية للخلية والوظيفة ، تكون مسبوقة بعملية تحيل الخلية الى مصير معين. وخلال مسار الإحالة قد لا تبدو الخلية مختلفة عن اقرب مجاوراتها او ابعدها في الجنين . كما لا تظهر عليها أي علامات واضحة على التمايز وان كان مصيرها التكويني قد اصبح مقيدا.

تتم السيطرة على التمايز عن طريق التعبير الجيني لمجموعات معقدة من عوامل الاستنساخ والتي يتأثر تعبيرها ونشاطها باشارات خارجية من الممكن استخدامها عدة مرات بتأثيرات

مختلفة، حيث تتضمن ميكانيكية التشكل المتعاقب (Epigenetic) تحورات كيميائية للـ DNA والهستونات والتركيب ثلاثي الابعاد للكروماتين. وتكون بعض عوامل الاستنساخ شائعة في العديد من أنواع الخلايا ، لكن الأخرى مقيدة للغاية في نمط التعبير بمعنى ان عدد الخيارات التكوينية المتاحة لخلية في أي وقت محدد تكون محددة اذ لا يمكن لهذه الإشارات من تحويل خلية اندوديرم الى خلية عضلية او عصبية. اما التغيرات الواضحة في الكيميائية الحياتية والوظيفية لها فأنها تستمر بعملية تتضمن احالة (Commitment) الخلية وتوجيهها الى مصير معين. وعند هذه النقطة ، وحتى في حالة عدم ظهور الخلية او النسيج مختلفة في طرازها المظهري عن حالتها غير المحالة (Uncommited) فأن مصيرها التكويني قد اصبح محصورا.



شكل 2 - 1 التمايز الخلوي

يحدث التمايز تدريجيا عبر عدة أجيال من الخلايا وتكون الخطوة الأولى فيه هي الإحالة او تحديد ألخلية بمصير معين وهو ما يعكس اختيار مجموعة ثانوية خاصة من الجينات وكبح جينات أخرى .

يمكن تقسيم عملية الاحالة الى مرحلتين :

1.مرحلة عدم الاستقرار(Labile stage) وتدعى التخصص (Specification) : وهي المرحلة التي يكون بأستطاعة الخلية او النسيج فيها من التمايز تلقائيا عند وضعها في بيئة متعادلة

(Neutral environment) مثل اطباق بتري او انابيب الاختبار. وفي هذه المرحلة يمكن للاحالة ان تنعكس.

2.مرحلة التحديد (Determination stage) : تعتبر الخلية او النسيج محددا وذلك عندما يكون بأستطاعة أي منهما التمايز تلقائيا حتى عندما يوضع في منطقة اخرى من الجنين حيث تصبح الخلايا الجنينية الداخلة في عملية التحديد ذات قدرات محددة بمصيرها. وهذه العملية تبدأ بفقدان الخلية القدرة على التوجه بمسارات مختلفة بدرجة كبيرة تبعا لاستلامها اشارات محددة من المكونات السايتوبلازمية المتمركزة او من خلايا اخرى. وتختلف الخلايا في المرحلة التي تصبح فيها محددة ، فقد تصبح خلايا معينة في حالة تحديد بصورة مبكرة جدا مقارنة بخلايا اخرى. وعندما تصل الخلية الى هذه المرحلة من الاحالة فأن من غير الممكن عكسها.

طرز الاحالة Modes of commitment

هناك ثلاث طرز اساسية في الاحالة وهي :

1 - التخصص الذاتي (Autonomous specification)

وهو احد الاستراتيجيات في إحالة الخلايا. وهذا الطراز من التخصص يتصف بما يأتي:

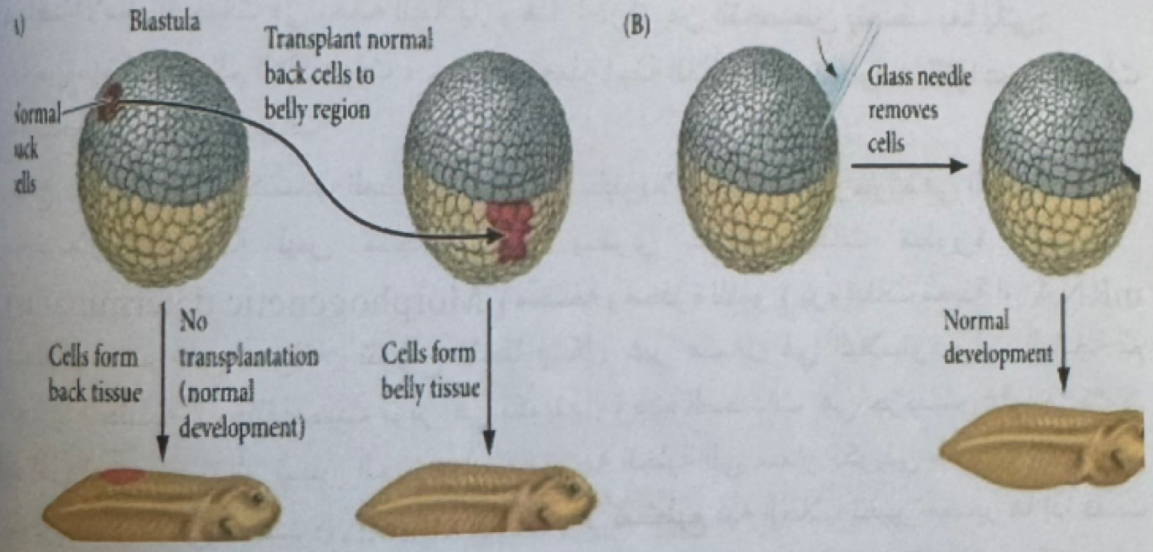
- انه من ميزات معظم اللافقريات ، حيث تستعمله اجنة اللافقريات خصوصا النواعم والحلقيات ، اضافة الى اجنة الجبيات.
- ينتج عن طريق الاكتساب المتباين لجزيئات سايتوبلازمية معينة موجودة في البيضة ، اذ ان سايتوبلازم البيضة ليس متجانسا فهو يحتوي على محددات مطورة للمظهر (Morphogenetic determinants) مختلفة ومحفزة للنمو (بروتينات معينة او mRNA مختلفة) تنتشر في اجزائه.وتتوزع لاحقا بشكل غير متماثل في البلاستوميرات الناتجة ثم الخلايا الجنينية المختلفة حيث تؤثر في تكوينها. وهذه المحددات هي جزيئات غالبا ما تكون عوامل استنساخ تنظّم تعبير الجين بطريقة توجه الخلية الى مسار تكويني معين. وبذلك ينتج تكوين موزائيكي (محدد Determinative) لا تستطيع فيه الخلايا تغيير مصيرها اذا فقدت البلاستوميرة الخاصة بها. وفي هذا النوع من التخصص فان الخلية " تعرف " في وقت مبكر جدا ما الذي ستصبح وبدون ان يكون هناك تفاعلا مع الخلايا الأخرى.
- تكون كل بلاستوميرة مسؤولة عن مجموعة معينة من الانسجة اليرقية. وفي حالة ازالة بلاستوميرة معينة ، فان الخلايا التي يفترض ان تنتج منها ستكون مفقودة. وقد وجد ان البلاستوميرة المزالة من جنين في المرحلة المبكرة من تكوينه تقوم بانتاج نفس الخلايا التي ستكونها اذا ما كانت جزء من الجنين ، وبالتالي فان هناك تخصصا بنوع خلوي معين.

2 - التخصص الشرطي (Conditional specification)

- وهذا النوع من التخصص من ميزات جميع الفقريات والقليل من اللافقريات.

- سمي بهذا الاسم وذلك لأن مصير كل خلية يعتمد على الظرف الذي تجد فيه تلك الخلايا نفسها. وبالتالي فأن لكل خلية في الاصل القدرة على تكوين انواعا مختلفة من الخلايا. ويتم التخصص بواسطة التفاعل بين الخلايا ، مما يؤدي الى اعادة تنظيم خلوي واسع مسبوق بعمليات هجرة او مرافقة لها. وتكون المواقع النسبية لها مهمة. وهنا فان ما الذي ستصبح عليه الخلية يحدد من خلال التفاعلات بينها وبين مجاوراتها والتي تشمل تماس الخلايا،عوامل قرب افرازية (Juxtacrine factors) ، عوامل جنب افرازية (Paracrine factors) او خصائص طبيعية لبيئتها الموضعية (شد ميكانيكي). وبالتالي فان مواقع الخلايا نسبة الى بعضها هي المفتاح.
- التفلجات غير الثابتة لا تنتج عنها مهام مصيرية ثابتة للخلايا ، كون القدرة على تكوين التنظيم (Regulative development) تسمح للخلايا باكتساب وظائف مختلفة نتيجة التفاعلات بين الخلايا المتجاورة (شكل 2 - 2).

and compensate for the missing



شكل 2 – 2 التخصص الشرطي

وتكون الخلايا الجنينية قادرة على تغيير مصائرها لتعويض الاجزاء المفقودة من خلال التنظيم (Regulation). وان البلاستوميرة المعزولة يمكن ان تعطي مدى واسع من الانواع الخلوية (تولد احيانا انواعا من الخلايا لا تولدها عندما تكون جزء من الجنين). وهذا النوع من التكوين مهم في تكوين الاجنة المتماثلة ، اذ تنقسم الخلايا في مرحلة التفلج لجنين واحد مكونة مجموعتين من الخلايا ، وكل مجموعة تكوّن فردا كاملا.

3 – التخصص المدمجي (Syncytial specification)

- تستعمل العديد من الحشرات هذا النوع من احالة الخلايا الى مصيرها.

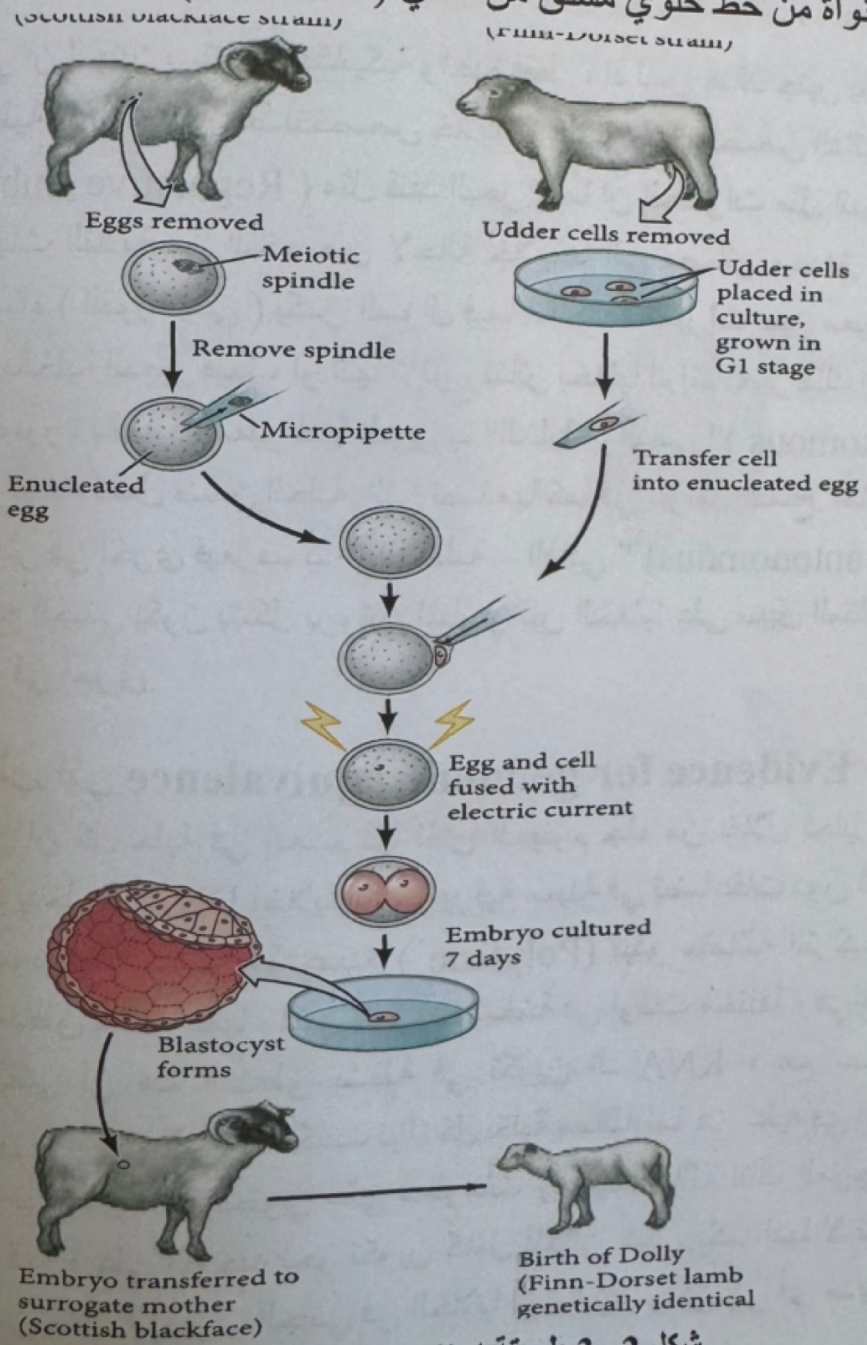
- وفي هذا النوع تستخدم العناصر من كلا النوعين السابقين من الاستراتيجيات اذ لا يحصل التفاعل في هذا النوع من التخصص بين الخلايا ، لكنه يحصل بين اجزاء الخلية الواحدة. ففي الاجنة المبكرة لهذه الحشرات لا يكون الانقسام تاما. وبدلا من ذلك تنقسم الانوية ضمن سايتوبلازم البيضة مولدة العديد من الانوية (يعرف السايتوبلازم الذي يحوي العديد من الانوية بالمدمج (Syncytium) في خلية البيضة الكبيرة.
- لا يكون سايتوبلازم البيضة متماثلا ، اذ تترسب فيه موضعيا بروتينات مختلفة من الام وmRNA ، وبالتالي يصبح السايتوبلازم الواقع في الجزء الامامي من البيضة مختلف بشكل ملحوظ عن الخلفي.

وهذا لا يعني ان الجنين يستعمل ميكانيكية واحدة فقط ، اذ ليس هناك جنين يستعمل الميكانيكية الذاتية او الشرطية او المدمجية فقط لتخصص خلاياه ، فقد يوجد التخصص الذاتي حتى في الاجنة المنظمة (Regulative embryo) مثل قنفذ البحر. كما ان الحشرات مثل الدروسوفلا تستعمل جميع الميكانيكيات الثلاثة من التخصص لاحالة خلاياها الى مصائر محددة. ان وراء ظاهرة التنظيم والفسيفساء (الموزائيكي) يكمن السؤال فيما اذا كانت تأثيرات جين معين يتم التعبير عنه مقيدة بشكل تام بالخلية المعبر فيها ، او انها تؤثر وتتأثر بخلايا لم يتم تعبير ذلك الجين فيها. تسمى التأثيرات المحصورة بالخلية المعبر فيها الجين بـ "الخلية – الذاتي "(Cell - autonomous) والتي تكوّن بروتينات تعمل ضمن الخلية التي تصنعها كما في عوامل النسخ. اما عند تعبير الجين في خلية لكنه يؤثر في أخرى فيعرف بـ " اللاخلية – الذاتي " (Non – cell autonomous). وعمل هذا المنتج الجيني يكون بشكل بروتين اشاري بين الخلايا على سبيل المثال حيث يفرز من قبل خلية ويؤثر في أخرى.

دليل التماثل الوراثي Evidence for genomic equivalence

ان الدليل على ان كل خلية في الجسم لها نفس الجينوم جاء من خلال تحليل كروموسومات الدروسوفلا ، اذ يدخل الـ DNA لخلايا انسجة يرقية معينة في تضاعفات دون انفصاله.
وهذه الكروموسومات ذات اشرطة عديدة (Polytene) تبدو متماثلة التركيب ، فيما يظهر الفحص وجود مناطق مختلفة فيها والتي تكون متضخمة في اوقات مختلفة وفي انواع مختلفة من الخلايا. وهذا يعني ان هذه المناطق نشطة في تكوين الـ RNA ، مع عدم فقدان مناطق كروموسومية في معظم الخلايا. فاذا كانت نواة كل خلية مماثلة لما هي عليه في البيضة المخصبة ، فهذا يعني ان نواة كل خلية تحتوي على معلومات وراثية مماثلة لتلك الموجودة في البيضة المخصبة وانها قادرة على التوجيه نحو تكوين كامل للكائن الحي. كما انها لا تفقد اثناء التمايز وهذا ما لوحظ من خلال التجارب الجيني في الخلايا المتمايزة. ولكن الى أي مدى يمكن ان يعود نمط النشاط الى النمط الموجود في البيضة المخصبة ؟

ان احدى الطرق لمعرفة ما اذا كان يمكن عكس التمايز يتم من خلال وضع نواة خلية متمايزة في بيئة سايتوبلازمية مختلفة تحتوي على مجموعة مختلفة من البروتينات المنظمة للجينات. قام الباحثان برجز وكنك (Briggs & King , 1952) بنقل نواة خلية في مرحلة البلاستولا لجنين ضفدع الى سايتوبلازم بيضة منشطة منزوعة النواة لضفدع بالغ. فوجدا انها قادرة على التوجيه نحو التكوين الكامل للخرشوف (Tadpole). وقد سميت هذه الطريقة بالنقل الجسدي النووي (Somatic nuclear transfer) او الكلونة (Cloning) . ومع ذلك فان معدل النجاح مع نوى من خلايا جسم البالغ تكون منخفضة جدا.لقد كان اول حيوان لبون يستنسل هو النعجة دللي حيث تم اخذ النواة من خط خلوي مشتق من الثدي (شكل 2 - 3).



شكل 2 - 3 طريقة استنسال النعجة دللي

وقد تم الحصول على لبائن عديدة بأستخدام الكلونة للبائن بالغة. ومن ثم فقد ظهر ان انوية الخلايا الجسمية للفقريات البالغة تحتوي جميع الجينات التي تكون هناك حاجة اليها لتكوين كائن بالغ ، وليس هناك فقدان او تطفير لجينات ضرورية للتكوين في الخلايا الجسمية. كما ان الجينات المطلوبة للتكوين لا تتغير بشكل لا رجعة فيه اثناء العملية.

وعادة ما تكون معظم التثدييات المستنسلة المشتقة من زرع نووي ، غير طبيعية بطريقة ما لاسباب مختلفة بعضها يرتبط بالجينات المعاد برمجتها ، وبالتالي فانه يعتقد بان جميع العيوب ناتجة عن تشوهات في التعبير الجيني. فقد أظهرت الدراسات ان حوالي 5 % من الجينات في الفئران المستنسلة لم يتم التعبير عنها بشكل صحيح.

قدرة الخلايا الجنينية Potency of embryonic cells

تتميز الخلايا الجنينية خلال التكوين المبكر بمدى اكبر من القدرات مقارنة بمصيرها الحقيقي خصوصا في الانواع ذات التفلج المتغير. وهذا المدى الواسع من الامكانية يغطى بمصطلح القدرة (Potenc)، ومن ثم فان قدرة خلية هي مجموع كل تراكيب خلية او اسلافها ، والتي يمكن ان تتكون اذا وضعت الخلية في محيط ملائم. ففي كبيرة القدرة (Pleuripotent) يكون بأمكان الخلايا او المناطق ان تكوّن تراكيب او خلايا اكثر من مصائرها. اما اذا كان بأمكانها اعطاء فرد بكامله فأنها تدعى كاملة القدرة (Totipotent) .

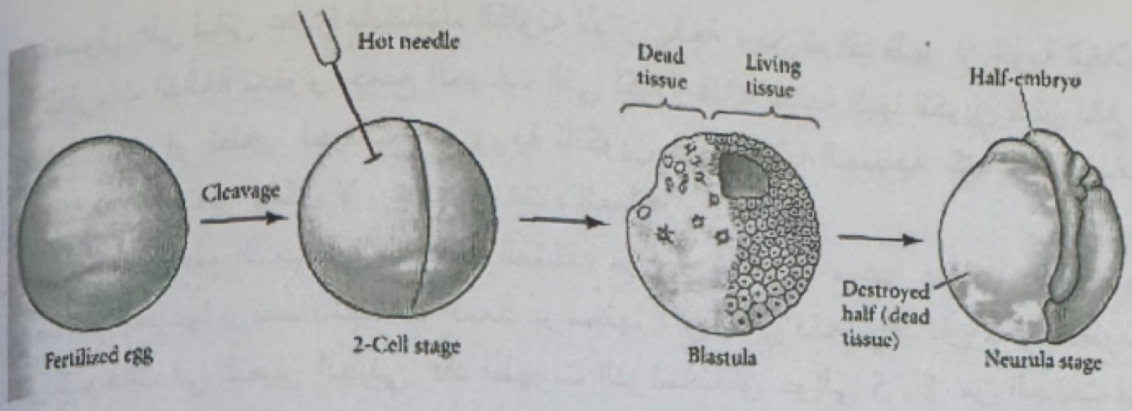
يستعمل اسلوبان لتحديد القدرة وهما :

1 – العزل (Isolation) : وفي هذا النوع من التجارب تختبر قدرة خلية او منطقة عندما يزال عنها تأثير الاجزاء الاخرى من الكائن ، حيث تستأصل الخلايا من جنين وتحفظ في وسط خارج الجسم لتغذيتها مع الافتراض بعدم حدوث تنشيط او تثبيط في تكوين اي تركيب معين.

2 - الغرس المتباين (Heterotopic transplantation) : وفيه يتم اختبار قدرة الخلية بالتأثير عليها من قبل خلايا من غير المجاورات لها طبيعيا حيث يعاد غرس الخلايا المأخوذة من واهب في مناطق مختلفة من مستلم او مضيف.

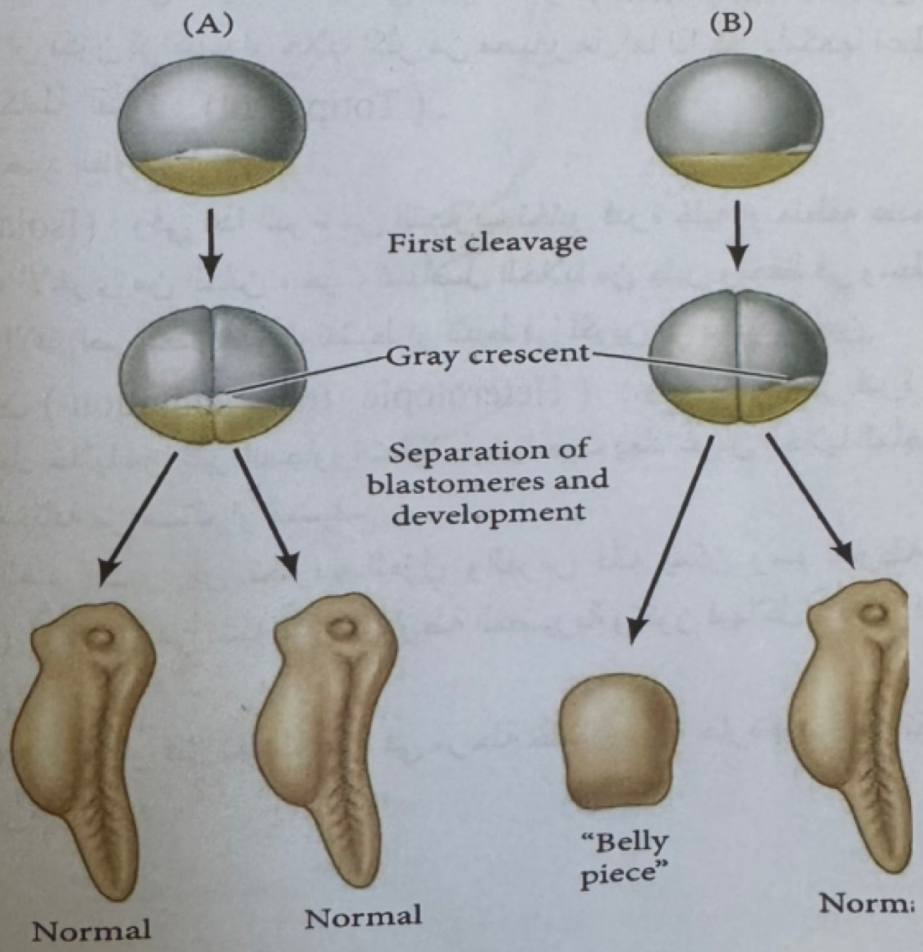
وعلى اساس العدد الكبير من تجارب العزل والغرس فأنه يمكن رسم خارطة القدرة (Potency map) لجنين. وهي تشبه فكرة الخارطة المصيرية وتكون فيها كل منطقة ذات اكثر من وسم.

لقد وجد رو (Roux) ان قتل بلاستوميرة في مرحلة خليتين بأبرة حارة يؤدي الى تكوين نصف جنين (شكل 2 - 4).



شكل 2 - 4 تجربة رو في قتل بلاستوميرة

وعندما قام باحثون بفصل البلاستوميرتين بشكل كامل عن طريق الربط وجدوا انهما كونتا جنينين بنصف الحجم ، ومن ثم فأن امكانية البلاستوميرة في مرحلة خليتين تعتمد بشكل كبير على طريقة الفصل مع الاعتماد على الاشارات الواصلة واتجاه مستوى التفلج (شكل 2 - 5).



شكل 2 - 5 عملية فصل البلاستوميرات ونواتجها

تغيير الخلايا لحالتها التمايزية
Cell change their differentiated state

تظهر الامكانية الكبيرة (Pluripotency) للخلايا الناضجة من خلال تحول التمايز (Transdifferentiation) ، وهي قدرة خلية للتحول الى نوع مختلف.

تكون الخلية المتمايزة ثابتة عادة ، اذ ان معظمها لا يتحول الى انواع خلوية اخرى كجزء من التكوين الطبيعي ، فخلايا العظم لا تكوّن خلايا عضلية ، والخلايا العضلية لا تكوّن خلايا طلائية. ولكن تحت ظروف معينة يمكن ملاحظة استثناءات عن هذه القاعدة ، فمثلا اذا ازيلت عدسة عين السلمندر (من البرمائيات المذنبة) جراحيا ، فان قزحية (Iris) العين تكّون عدسة جديدة (تجديد Regenerate) تختلف خلاياها مظهريا وبالكامل. وهذه العملية تشتمل على سلسلة من الاحداث في خلايا القزحية تتضمن تغيرا في الشكل يحصل فيه فقدان التمايز (Dedifferentiation) والذي يتمثل بفقدان الصبغة وتضاعف الـ DNA والانقسام الخيطي ، وبناءrRNA وتشكيل عدسة جديدة وبناء بروتينات عدسية معينة. وهذه الخطوات ليست باعادة لتلخيص الخطوات الطبيعية في تكوين عدسة ، كون العدسة الطبيعية يتم الحث على تكوينها من الخلايا الاكتوديرمية ، بينما تنشا القزحية من بروز جيبي خارجي من الدماغ الاولي.

مثال اخر على تحول التمايز هو استعادة السحلية للذيل بعد قطعه او طرف جديد في برمائي بعد بتره. لكنه وجد انه عند نقل جينات Mrf4 , Myf5 , Myog الى اورمات ليفية وبعض الخلايا غير العضلية والتي لا تعبّر فيها هذه الجينات او تصنع بروتينات تركيبية خاصة بالعضلات ، فانها يمكن ان تحث على التمايز الى خلايا عضلية.

الخلايا الجذعية Stem cells

تدخل البيضة المخصبة في عملية تفلج تقود الى تكوين جنين يتخذ عند بداية تكوينه في الانسان شكل كيس ارومي ذو خلايا غير متمايزة قادرة على الانقسام تعرف بالخلايا الجذعية الجنينية (Embryonic stem cells , ESCs) ، كما تحتوي الانسجة التي لا تنقسم فيها الخلايا المتمايزة على خلايا جذعية أيضا.

تقسم الخلايا الجذعية اعتمادا على مصادرها الى :

1- الخلايا الجذعية الجنينية Embryonic stem cells : وهذه الخلايا تشتق من كتلة الخلايا الداخلية في الكيس الارومي للحيوان اللبون، او من طلائعيات المشيج الانثوي (Female gamete progenitors) (الخلايا الجرثومية Germ cells) ، وتكون قادرة على تكوين جميع خلايا الكائن.

2- الخلايا الجذعية في البالغ Adult stem cells : وهذه الخلايا توجد في انسجة الاعضاء بعد نضجها وتعمل على استبدال واصلاح الانسجة لتلك الاعضاء. ويعتقد بانها محالة الى نوع نسيجي

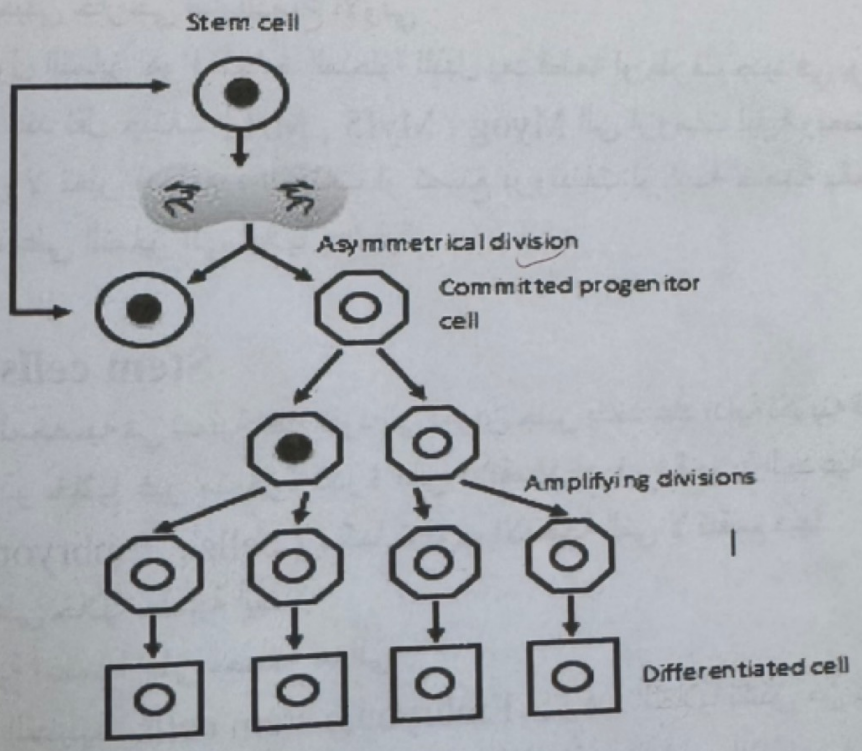
معين. ومثال هذا النوع هو الخلايا الجذعية للامعاء او البشرة. تسمى هذه الخلايا أيضا بالخلايا الجذعية النسيجية (Tissue stem cells). وهي تستقر في محيط دقيق يدعى عش (Niche) الخلية الجذعية. ومعظم الأعضاء والانسجة ذات اعشاش للخلية الجذعية كما هو في الخلايا المكونة للدم.

تكون الخلايا الجذعية في البالغين ذات ثلاث صفات رئيسية هي :

1- انها غير متمايزة.

2- لها القدرة على تجديد نفسها بشكل غير محدد خلال فترة حياتها في الكائن الحي.

3- لها القدرة على الانقسام غير المتناظر ، حيث تبقى احدى الخليتين البنويتين كخلية جذعية، فيما تصبح الاخرى خلية طلائعية متحولة (Committed progenitor cell). ويكون اتجاه تحول هذه الخلايا واحد. فالخلايا البنوية لا تصبح عادة جذعية مرة اخرى. يعقب ذلك دخول الخلايا الطلائعية المتحولة في انقسامات تضخمية (Amplifying divisions) قبل تمايزها (شكل 2 - 6)

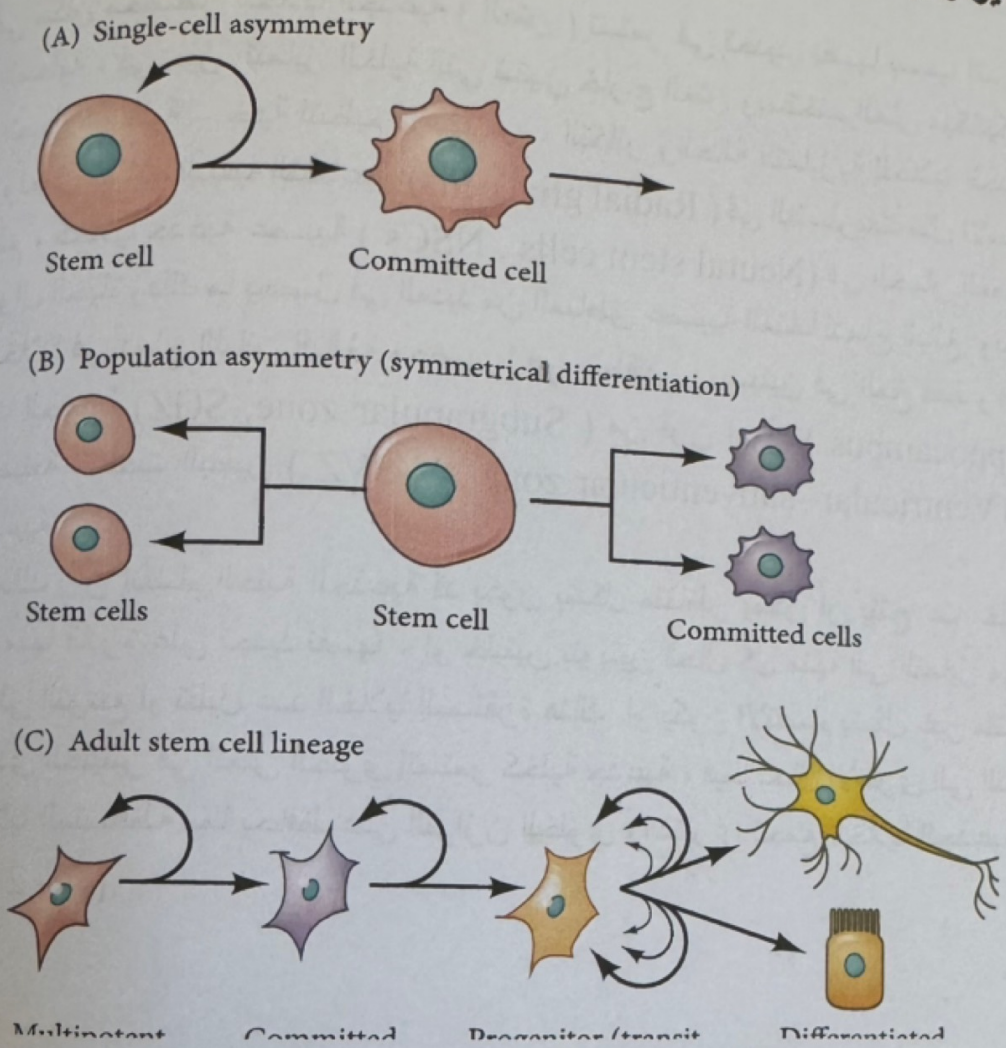


شكل 2 - 6 اتجاه انقسام الخلية الجذعية

وأحد أسس هذا السلوك هو وجود اختلاف جوهري بين الخليتين البنويتين كون انقسام الخلية الجذعية غير متماثل ، مما يؤدي الى حصول كل منهما على مكملات (Complement) مختلفة من البروتينات. والاحتمال الثاني هو ان الإشارات الخارجية تجعل الخلايا البنوية مختلفة ، فتلك

التي تبقى في مكان مخصص للخلايا الجذعية (العش) تستمر في تجديد نفسها بسبب إشارات من الخلايا المحلية ، في حين تتمايز الخلية التي تنتهي خارج العش ويستخدم العش ميكانيكيات مختلفة من اتصالات خلية – خلية لتنظيم الاستقرار ، التكاثر والحالة التمايزية للخلايا الجذعية المستقرة. وتعمل الخلايا الدبقية الشعاعية (Radial glial cells) في اللاسلويات مثل الأسماك طرفية التعظم ، كخلايا جذعية عصبية (Neural stem cells , NSCs) في الجهاز العصبي المركزي طوال الحياة وذلك ما يحصل في العديد من المناطق عصبية المنشأ لدماغ البالغ. ويكون تمايز هذه الخلايا في دماغ اللبائن البالغة محصورا في منطقتين رئيسيتين في المخ فقط وهما : المنطقة تحت الحبيبية (Subgranular zone, SGZ) من قرن امون (Hippocampus) والمنطقة البطينية – تحت البطين (Ventricular- subventicular zone , V-SVZ) من البطينات الجانبية .

يظهر من ذلك ان انقسام الخلية الجذعية قد يكون بشكل متناظر يمكن ان ينتج عنه خليتين جذعيتين كل منها قادرة على تجديد نفسها ، او خليتين بنويتين تحال كل منها الى التمايز مؤدية على التوالي الى التوسع او تقليل عدد الخلايا المستقرة هناك. او يكون الانقسام بشكل غير متناظر حيث تبقى احدى الخليتين في العش الخلوي لتستمر كخلية جذعية ، فيما تحال الأخرى الى التمايز لتعويض الخلايا المتساقطة مما يحافظ على التوازن الخلوي واستقرار تجمع الخلايا الجذعية في العش (شكل 2 - 7).

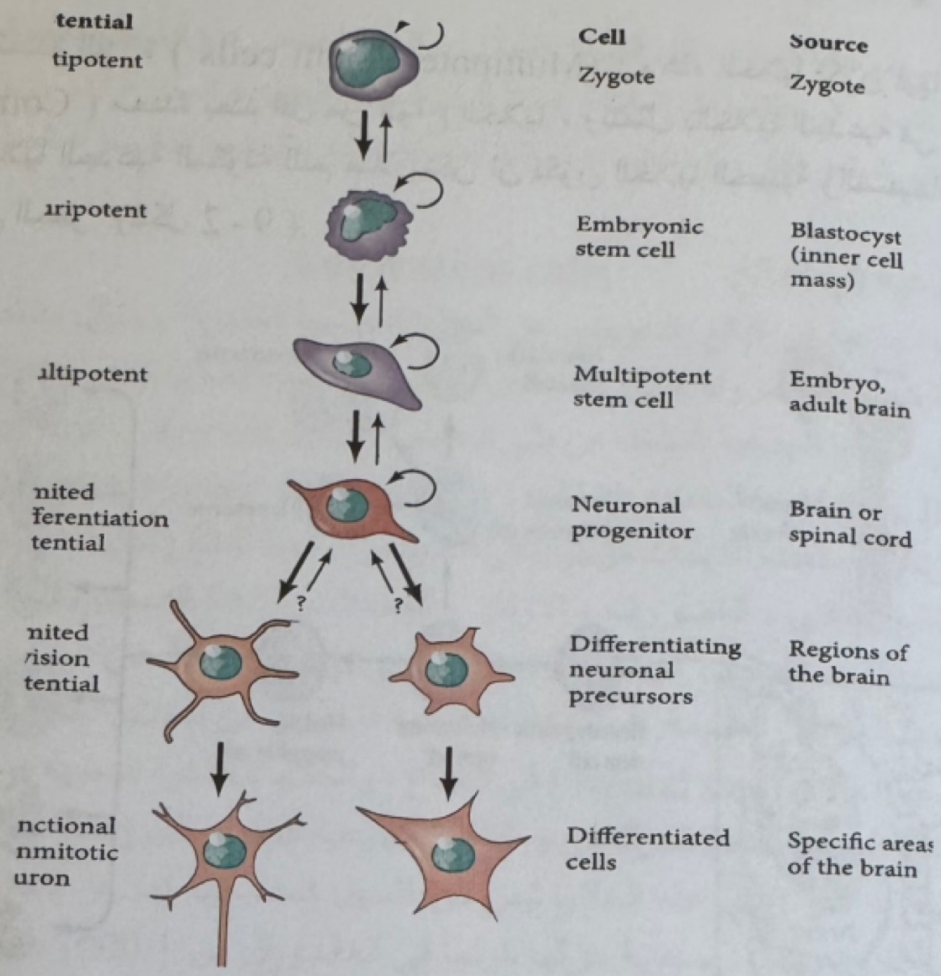


شكل 2 - 7 نتاجات انقسام الخلايا الجذعية

قدرة الخلايا الجذعية Stem cell potency

يطلق على امكانية خلايا جذعية معينة على توليد انواع مختلفة من الخلايا المتمايزة بالقدرة (Potency). وعلى اساس هذه القدرة فان الخلايا الجذعية (شكل 2 - 8) تنقسم الى :

1- خلايا كاملة القدرة (Totipotent stem cells): وهي الخلايا ذات القدرة على تكوين انواع مختلفة من الخلايا في الجنين ، بالاضافة الى خلايا الارومة الغاذية للمشيمة. والخلايا ذات القدرة الكاملة هي البيضة المخصبة وربما البلاستوميرات الاولى (4 - 8 خلايا) والتي بإمكانها تكوين فرد بأكمله.

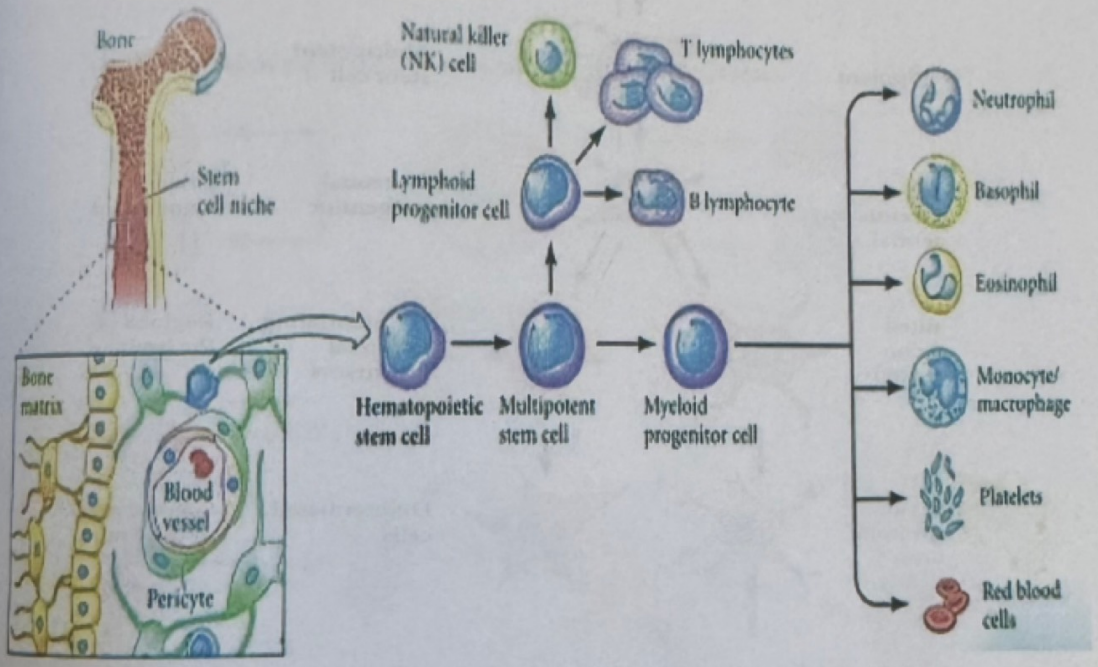


شكل 2 - 8 يوضح القدرات المتباينة للخلايا الجذعية

2- خلايا كبيرة القدرة (Pluripotent stem cells) : هي الخلايا ذات القدرة لتكوين اي نوع من انواع الخلايا في الجنين بضمنها الخلايا الجرثومية البدائية والمشتقة من الارومة العليا ، بينما يعطي الاكتوديرم الغاذي (Trophectoderm) والاندوديرم البدائي تراكيب خارج جنينية من الجانب الجنيني ، وهي المشيمة والكوريون والكيس المحي. ويمكن للخلايا الورمية الجرثومية (مثل الخلايا الورمية المسخية Teratocarcinoma) ان تكوّن خلايا جذعية من هذا النوع.

ان من الضروري لوجود القدرات الكبيرة المؤقتة في كتلة الخلايا الداخلية للجنين (Inner cell mass ,ICM) ان يكون هناك تعبير لعوامل الاستنساخ Oct4 و Nonog و Sox2. اذ ان هذه العوامل المنظمة الثلاثة ضرورية للحفاظ على الحالة غير المحالة الشبيهة بالخلايا الجذعية ، وبالتالي المحافظة على القدرات الوظيفية الكبيرة لكتلة الخلايا الداخلية ، ممكنّة هذه الخلايا من تكوين الارومة العليا وجميع أنواع الخلايا المشتقة المرافقة. لكن هذا التعبير يفقد من هذه الخلايا عندما تتمايز كتلة الخلايا الداخلية (ICM).

3- خلايا متعددة القدرة (Multipotent stem cells) : وهذه الخلايا تكون فيها الإحالة (Commitment) محددة بعدد اقل من انواع الخلايا ، وتتمثل بالخلايا الجذعية في الحيوانات البالغة. فالخلايا الجذعية المكونة للدم مثلا يمكن ان تكوّن الخلايا الحبيبية والصفيحات الدموية وكريات الدم الحمر (شكل 2 - 9).



شكل 2 - 9 تعدد القدرات للخلية الجذعية المكونة للدم

4– خلايا احادية القدرة (Unipotent stem cells) : وهذه الخلايا تكون موجودة في انسجة معينة. ويتضمن عملها التعويض عن نوع معين من الخلايا ، كما هو الحال في امهات الحيوانات المنوية (Spermatogonia).

5 – الخلايا الطلائعية (Progenitor cells)على الرغم من ان هذه الخلايا ذات علاقة بالخلايا الجذعية، فأن قدرتها على الانقسام تكون لمرات قليلة فقط قبل التمايز، وتهاجر مبتعدة عن الخلايا الجذعية حيث تدعى أحيانا بخلايا التضخم العابر(Transit- amplifying cells). وتدعى الخلايا الجذعية احادية القدرة والطلائعيات (Progenitors) بالخلايا المقيدة بنسل (Lineage restricted cells).

وفي الوقت الذي تكون فيه الخلايا الجذعية ذات قدرة على اعادة تجديد نفسها ، فأن الخلايا الطلائعية ليست لها هذه القدرة ، اذ انها تكون اكثر تمايزا من الخلايا الجذعية وتصبح محالة الى نوع معين من الخلايا. كما انها ليست قادرة على الانقسام والتجدد الذاتي اللامحدود حيث ان قدرتها على الانقسام قبل التمايز لا تتجاوز عدة مرات. وعلى الرغم من محدودية هذا التكاثر فانه يعمل

على تضخيم مجموعة الاسلاف قبل التمايز النهائي. والخلايا ضمن هذه المجموعة يمكن ان تنتج مسارات من التمايز المختلفة ذات العلاقة. فمثلا تولد الخلايا الجذعية المكونة للدم اسلاف خلايا الدم واللمف التي تستمر اكثر مكونة أنواع الخلايا المتمايزة للدم مثل الخلايا الحمر والعدلة والخلايا اللمفاوية .

الخلايا الجذعية في البالغ Adult stem cells

تقوم الخلايا الجذعية في البالغ بالتعويض عن الخلايا الجسمية المتمزقة وبشكل منتظم. ويظهر بعضها درجة كبيرة من المرونة فتكون ذات قدرات متعددة. وهذه الخلايا تدعى بالخلايا الجذعية الميزنكيمية او الخلايا الجذعية المشتقة من نقي العظام Bone marrow – derived stem (cells, BMDSCs) او خلايا سدى النخاع (Marrow stromal cells , MSCs). والخلايا الجذعية الميزنكيمية متعددة القابليات موجودة في العديد من انسجة البالغ (مثل ادمة الجلد والبشرة ، العظم ، النسيج الدهني ، الغضروف ، الاوتار ، العضلات ، الغدة الصعتيرية او الثايموس (Thymus gland)، القرنية ، الرئة ولب السن(Dental pulp) والاسنان الساقطة في الطفل إضافة الى الحبل السري والمشيمة. كما توجد هناك انواعا اخرى من الخلايا الجذعية مثل الخلايا الجذعية العصبية (Neural stem cells) في الدماغ ، والخلايا الجذعية المعوية (Gut stem cells) ، الخلايا الجذعية للخط الجرثومي و الخلايا الجذعية المكونة للدم والتي تعمل على توليد جميع أنواع خلايا الدم. ومثل هذه الخلايا ليس من السهل استعمالها كما هو الحال في الخلايا الجذعية كبيرة القدرة ، فمن الصعوبة عزلها كونها في الغالب اقل من 1000/1 خلية في العضو ، فضلا عن انها تظهر بمعدل انقسامي واطئ نسبيا ولا تتكاثر مباشرة.

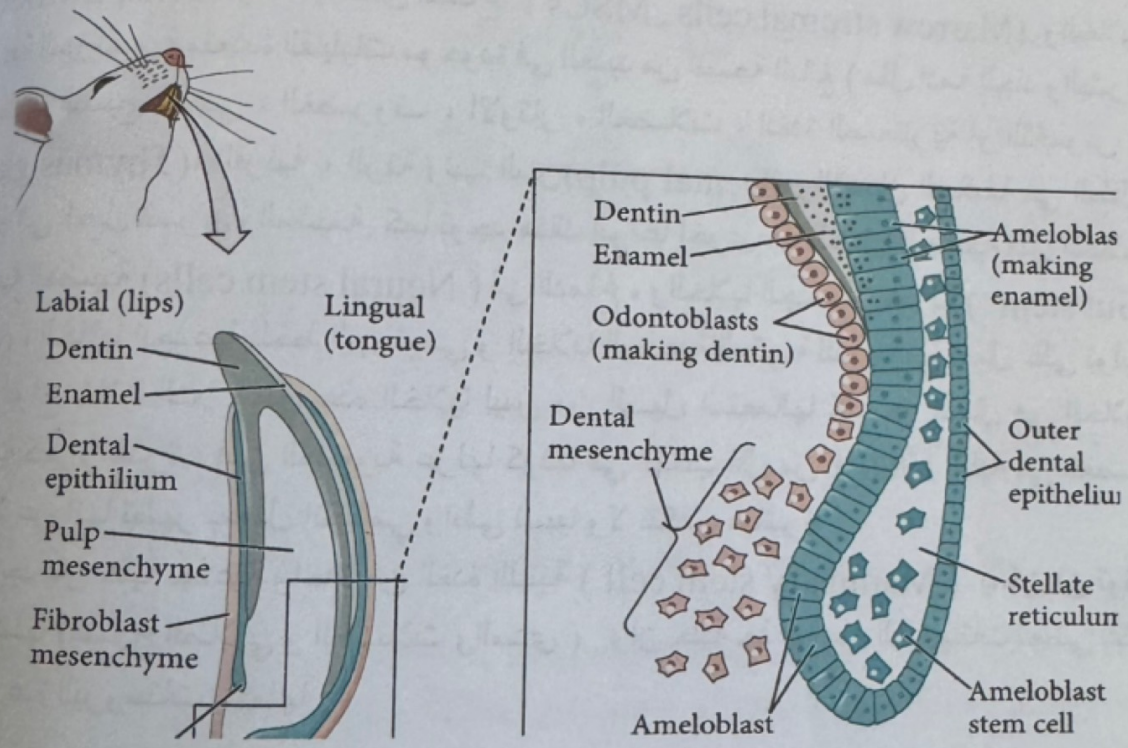
لقد وجد بأن خلية جذعية واحدة من الغدة اللبنية (Mammary stem cell) يمكن ان تولّد غدة بأكملها (النسيج الطلائي و العضلات والسدى) . وان خلية جذعية من البروستات تعطي عند زرعها غدة البروستات بأكملها.

عش الخلايا الجذعية Stem cell niche

يحتوي العديد من انسجة وأعضاء البالغ على خلايا جذعية تجعلها في عملية تجديد مستمر. وهذا ما يلاحظ في الكثير من انسجة ألحيوانات المختلفة اذ يجب ان تحافظ هذه الخلايا على القدرة طويلة الأمد في الانقسام لانتاج بعض الخلايا البنوية المتمايزة مما يستوجب وجودها في أماكن توفر لها ظروف البقاء وتنظيم إعادة تجديدها لنفسها والسيطرة عليها ، فضلا عن تمايز ذريتها التي تغادر العش. وهذه الاماكن يطلق عليها عش الخلية الجذعية (Stem cell niche) او البيئات الدقيقة المنظمة (Regulatory microenvironments).

تستطيع الخلية الجذعية الميزنكيمية من تكوين خطوط نسل للعظم والغضروف والدهن والتي يعزى تمايزها في هذه الاتجاهات الى عوامل جنب افرازية (Paracrine factors) وجزيئات

الوسط بين الخلايا (Cell matrix molecules). وهذه العوامل توجد في مكان وجود الخلية الجذعية ، فضلا عن مكونات بينية معينة تكون ضرورية للمحافظة على حالة الخلية الجذعية الميزنكيمية بشكلها غير المتمايز خصوصا الـ Laminin ومثال على ذلك الخلايا الجذعية للسن القاطع (Incisor) في الفار حيث يكون هناك عشين بدلا من عش واحد ، احدهما الى الجانب الداخلي في مواجهة الفم (لساني) والأخر الى الخارج في مواجهة الشفاه (شفوي) مما يجعلها في تجدد دائم وبامكانية كبيرة (شكل 2 - 10). ولان معظم اللبائن الأخرى لا يوجد فيها هذه الاعشاش ، فان اسنانها لا تتجدد.



شكل 2 - 10 عش الخلايا الجذعية الميزنكيمية في قاطع الفار

وتمثل منطقة البطين وتحت البطين في الدماغ ، بنية عش معقدة من خلايا جذعية من نوع B مرتبة في ما يشبه "ديلاب هواء " مع هدب اولي عند السطح القمي وبروزات شعاعية طويلة تنتهي بنهاية القدم القاعدية ، لكن هذه الخلايا تبقى في حالة سكون في عش منطقة البطين – تحت البطين بسبب نشاط عامل الـ Notch.

ولتحديد اتجاه التمايز يتم تزويد انواع من الخلايا الجذعية اضافة الى العوامل جنب الافرازية، بما تحتاجه عن طريق السطوح التي تستقر عليها هذه الخلايا. فالخلايا الجذعية الميزنكيمية في

البشر تتمايز تبعا لدرجة مرونة السطح الذي تتواجد عليه ، فأذا وضعت على مادة مرنة من الـ polyacrilamide المغطى بالكولاجين ، فأنها تتمايز الى خلايا عصبية.
بينما تؤدي المرونة المتوسطة الى ان تصبح عضلية. في حين تقود المادة البينية الصلبة الى انتاج خلايا عظمية. وهذه الحالات تدل على ان جميع الانسجة تمتلك عش فريد للخلايا الجذعية. فعلى الرغم من الاختلافات الكثيرة بين أسلوب بناء العش في الانسجة المختلفة ، الا ان هناك العديد من الأسس المشتركة لتنظيم الخلايا الجذعية يمكن ان تطبق في جميع البيئات والتي تتضمن ميكانيكيات خارج خلوية تقود الى تغيرات داخل خلوية تنظم سلوك الخلايا الجذعية.
وهذه الميكانيكيات تشمل ما يأتي :

- ميكانيكيات التأثير الفيزيائية وتتضمن عوامل تركيبية (Structural) والتصاقية (Adhesion) ضمن المادة خارج خلوية والتي تسند البناء الخلوي للعش. ويمكن للاختلافات في التصاق الخلية – الخلية او الخلية – المادة البينية إضافة الى كثافة الخلايا ضمن العش ، ان تغير القوى الميكانيكية التي تؤثر على سلوك الخلايا الجذعية.
- التنظيم الكيميائي للخلايا الجذعية حيث يأخذ شكل بروتينات مفرزة من الخلايا المحيطة والتي تؤثر على حالات الخلايا الجذعية وتمايز النسل من خلال ميكانيكيات افراز الصم (Endocrine) وجنب الافرازية (Paracrine) او قرب الافرازية (Jutacrine). وفي العديد من الحالات ، فان هذه العوامل الارشادية تحافظ على الخلايا الجذعية في حالة غير محالة (Uncommitted). وحالما تصبح الخلايا الجذعية في مكان ابعد من العش ، فان هذه العوامل لا يمكن ان تصل اليها ويبدأ التمايز.

وتشمل الميكانيكيات التنظيمية داخل الخلايا على :

التنظيم عن طريق المحددات السايتوبلازمية ، والتوزيع الذي يحدث عند تغيرات السايتوبلازم في الخلية اثناء انقسامها (حركية الخلية ,Cytokinesis) . فأثناء انقسام الخلايا الجذعية ، قد تتوزع العوامل المحددة لمصير الخلية انتقائيا باتجاه احدى الخلايا البنوية (انقسام تمايزي غير متماثل) او تشترك بالتساوي بين الخلايا البنوية (انقسام متماثل).

ويحدث تنظيم النسخ من خلال شبكة من عوامل النسخ التي تحافظ على الخلية الجذعية في حالتها الساكنة او التكاثرية ، فضلا عن تسريع النضج للخلايا البنوية نحو المصير المعين.

ويحدث تنظيم النسخ من خلال شبكة من عوامل النسخ التي تحافظ على الخلية الجذعية في حالتها الساكنة او التكاثرية ، فضلا عن تسريع النضج للخلايا البنوية نحو المصير المعين.

تنظيم تكوين الخلايا الجذعية الميزنكيمية

Development of mesenchymal stem cells , MSCs

يظهر ان عوامل جنب افرازية معينة توجه تكوين الخلايا الجذعية الميزنكيمية الى انسال محددة ، فعامل النمو المشتق من صفائح الدم (Platelet – derived growth factor , DGF) امر بالغ الأهمية لتكوين الدهون والغضاريف. كما ان إشارات عامل نمو المولدة للالياف (Fibroblast growth factor ,FGF) ضرورية للتمايز الى خلايا العظم. وقد تمكّن إشارات العوامل جنب الافرازية في تعديل (Modulation) الخلايا الجذعية المستقرة في العش وليس في تمايز الخلايا الجذعية الميزنكيمية (MSCs) فقط ، فقد أظهرت هذه الخلايا مثلا انها تلعب ادورا مهمة كخلايا سلفية متعددة القدرات وكمنظمّات لعش الخلايا الجذعية خلال تكوين حويصلات الشعر والعضلات الهيكلية والتجديد. وهناك نوع من الخلايا الميزنكيمية في النسيج العضلي الهيكلي يدعى اسلاف الخلايا الليفية الدهنية المنشأ (FAP , Fibroadipogenic) يعمل على توليد خلايا الدهن الأبيض. واستجابة للاذى في العضلة ، فان خلايا FAP تزيد من تمايز الخلايا السلفية عضلية المنشأ (Promyogenic) من الخلايا الجذعية العضلية القمرية (Myosatellite).

الخلايا الجذعية والعضلات Stem cells and muscles

لقد وجدت في عضلات اللبائن البالغة خلايا جذعية يمكن لها ان تنقسم وتتمايز الى خلايا عضلية جديدة اذا حصل تلف للخلايا العضلية.

تشتق الخلايا العضلية الهيكلية من القطعة العضلية (Myotome) للبدينات حيث تصبح الخلايا البدينية محالة لتكوين خلايا عضلية عن طريق نشاط عوامل Homeodomain Pax7,Pax3,. وتسمى هذه الخلايا ، بالخلايا السلفية للعضلات. وبالاستجابة للاشارات خارج خلوية ، فان هذه الخلايا تعبّر عن أعضاء في عائلة MyoD البروتينية وتصبح محالة ، رغم انها لا تزال غير متمايزة (بداءات Precursor الخلايا العضلية وتدعى اورمات عضلية (Myoblasts).تبدأ الخلية ببناء بروتينات خاصة بالعضلات مثل الاكتين والمايوسين والتروفومايوسين (Tropomyosin)، والتي هي جزء من الجهاز التقلصي، والانزيمات الخاصة بالعضلات مثل الـ Creatine phosphate kinase.

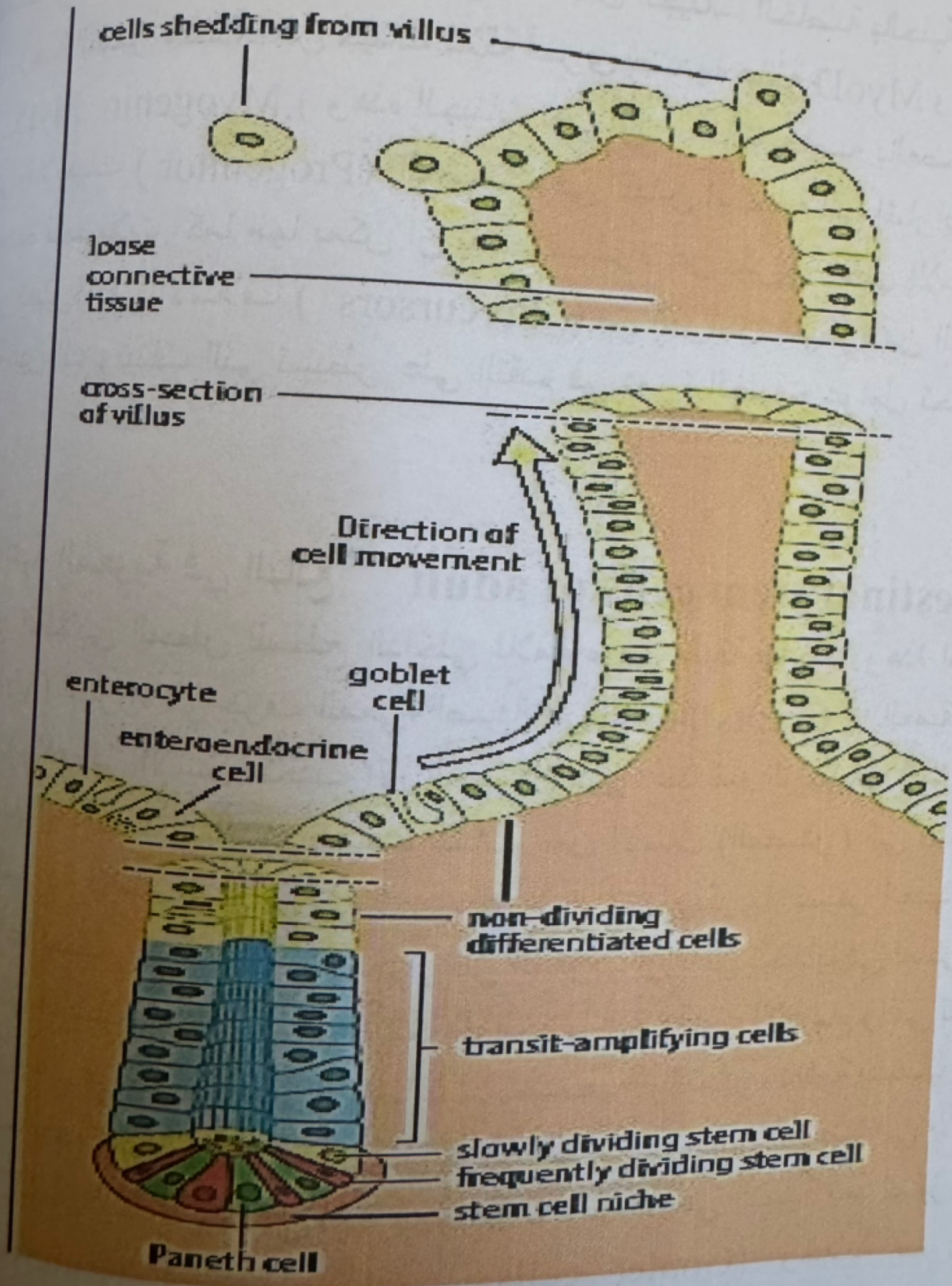
تخضع الاورمات العضلية لتغير تركيبي خلال التمايز حيث تصبح في البداية ذات شكل ثنائي القطب نتيجة إعادة تنظيم النبيبات الدقيقة للهيكل الخلوي ، ومن ثم تندمج لتكوين نبيبات عضلية متعددة الانوية. ويحتاج الاندماج داخل الجسم الى وجود Integrin B1 على غشاء الخلية . وخلال حوالي 20 ساعة من انسحاب عوامل النمو يصبح من الممكن رؤية الالياف العضلية المخططة النموذجية.

وتعد البروتينات في عائلة MyoD عوامل استنساخ حاسمة تحتاج اليها الخلية في الإحالة الى الخلية العضلية والتمايز فيها ، كونها تعمل على بدء عمل الجينات الخاصة بالخلية العضلية وتقدم النسل الى مرحلة التمايز ، فضلا عن جينات ثلاثة أخرى تضمها عائلة MyoD وهي (Myog Myogenin, Myf5 , Mrf4.) وهذه الجينات هي اول جينات خاصة بالعضلات والتي يتم تنشيطها في طلائعيات (Progenitor) العضلات في اللبائن استجابة الى إشارات اخرى تعمل كجينات محددة للعضلات. كما انها يمكن ان تنشّط مباشرة عن طريق عامل الاستنساخ Pax3 الذي يقتصر تعبيره على الاسلاف (Precursors) في المراحل المبكرة من التكوين. وهناك علاقة وثيقة بين البروتينات التي تسيطر على التقدم في دورة الخلية وعوامل تحديد العضلات والتمايز.

الخلية الجذعية المعوية في البالغ Intestinal stem cells of adult

يتالف النسيج الطلائي المبطن للسطح الداخلي للامعاء من طبقة واحدة. وهذا النسيج يغطي الزغابات (Villi) البارزة في جوف المعي، اضافة الى الخبايا(Crypts) العميقة النازلة في النسيج الرابط الواقع الى الأسفل. تحدث الازالة بشكل كبير عند قمم الزغابات فيما يحدث توليد الخلايا في الخبايا ، ويتطلب ذلك حركة هذه الخلايا من الأسفل (المصدر) الى الأعلى ، وهي دورة الخلايا المعوية الامتصاصية والتي تحدث كل 2 - 3 أيام تقريبا. تستقر العديد من الخلايا الجذعية في قواعد خبايا الأمعاء الدقيقة ، اذ ان من المالوف ان تبقى الخلايا في اماكن امنة نسبيا ومعزولة توفر لها الحماية المطلوبة ، بينما تتحرك الخلايا الناتجة من الانقسام والتي تصبح خلايا طلائعية متحولة وهي في طريقها نحو الانقسامات التضخمية والتمايز، دافعة بالخبايا نحو العمق . وفي ذات الوقت تدفع بالزغابات نحو الاعلى حيث تصبح هناك اكثر تعرضا الى الاحتكاك مع الغذاء ومهاجمة الكيميائيات من الانزيمات الهاضمة ، وتصبح في النهاية بعد تمايزها ، خلايا معوية (Enterocytes) ، خلايا كأسية (Goblet cells) وخلايا معوية صماء (Enteroendocrine). وعند وصولها الى القمة تدخل في موت خلوي مبرمج (Anoikis) يؤدي الى فقدان الاتصال مع الخلايا الطلائية الزغابية الأخرى والمادة البينية خارج خلوية حيث يتم طرحها. ويكون عش الخلايا الجذعية للامعاء (Intestinal stem cells , ISC) مكون من خلايا بانث (Panth) والخلايا الميزنكيمية المحيطة بالخبايا. اما موقع الخلايا الجذعية فهو على مقربة من قاعدة الخبايا ، والى الأعلى تقع خلايا بانث مع عدة طبقات من الخلايا العابرة المتضخمة (Amplifying) (شكل 2 - 11).

ووظيفة العش إضافة الى المحافظة على الخلايا الجذعية وتوفير الإشارات ، هي تقدير المعدل السريع لدورة الخلايا في الأمعاء. وتحافظ إشارات Wnt عند قاعدة الخبايا على تكاثر هذه الخلايا بينما تعمل التدرجات المقابلة من الـ BMP في الحث على التمايز للخلايا عند قمة الخبايا.



شكل 2 - 11عش الخلية الجذعية المعوية