

## مهندسی بافت عضله اسکلتی: حال و آینده

زهرا جمال پور<sup>۱</sup> MSc، علیرضا عسگری<sup>۲</sup> PhD، محمدرضا نورانی<sup>\*</sup> PhD

\* گروه مهندسی بافت، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه...<sup>(ع)</sup>، تهران، ایران

<sup>۱</sup> دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه...<sup>(ع)</sup>، تهران، ایران

### چکیده

**مقدمه:** ۴۰٪ حجم بدن انسان بالغ از عضله اسکلتی تشکیل شده است. دامنه بیماری‌های عضله اسکلتی از ضعف عضلانی تا فلج و حتی مرگ گسترش دارد. در نیروهای نظامی، شایع‌ترین صدمات، زخم‌های بازی هستند که در آن، تمام یا بخشی از یک یا چند عضله اسکلتی تخریب می‌شود. سلول‌های عضلانی در افراد بالغ آن‌گونه که بافت‌هایی همچون بافت خون‌ساز، پوست و سایر بافت‌ها به‌طور منظم تکثیر می‌یابند، امکان تکثیر ندارند. بنابراین، توانایی گرفتن تعداد کمی سلول از پستاندار بالغ و تولید حجم نسبتاً زیاد عضله اسکلتی، مزیت ارزشمندی برای بشر است.

**نتیجه‌گیری:** در حال حاضر به نظر می‌رسد که طراحی و ساخت جایگزین عضله اسکلتی به‌نحوی که از لحاظ عملکرد انقباضی قابل مقایسه با عضله طبیعی باشد اندکی دور از ذهن است؛ چراکه هنوز هیچ‌گونه روش موثر و قابل انجام برای ساخت جایگزین عضلانی که از لحاظ اندازه نسبتاً بزرگ باشد و در آن فیبرهای عضلانی بالغ و زنده با تراکم و نظم معین شبیه به عضله طبیعی کنار هم قرار گرفته باشند وجود ندارد.

**کلیدواژه‌ها:** مهندسی بافت عضله اسکلتی، سلول‌های ستاره‌ای، نیچه، داربست، فاکتورهای رشد

## Skeletal muscle tissue engineering: Present and future

Jamalpoor Z.<sup>1</sup> MSc, Asgari A. R.<sup>2</sup> PhD, Nourani M. R.\* PhD

\*Department of Tissue Engineering, Chemical Injuries Research Center,  
Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, Army University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Sport Physiology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### Abstract

**Introduction:** Approximately 40% of every adult human body mass is composed of skeletal muscle. Skeletal muscle diseases range from the debilitating to crippling and even to death. The residing satellite stem cells are few in numbers. The ability to take a few cells from an adult human and produce a large mass of functional skeletal muscle would be of invaluable benefit to humankind.

**Conclusion:** As of today it seems that designing and construction of a skeletal muscle substitute with similar functional properties is a little far out of mind; because no yet exists an effective and executable method for construction of a skeletal muscle substitute that be large enough and mature and live fibers aligned in it with proper concentration and regularity similar to natural muscle.

**Keywords:** Skeletal Muscle Tissue Engineering, Satellite Cells, Niche, Scaffold, Growth Factors

میوکارد بیمار معرفی کرد. بعد و دور از ذهن نخواهد بود اگر در دهه ۲۰۲۰، این فرآیند، به صورت روتین در کلینیک‌های روزانه مورد تمرین قرار گیرند.

متأسفانه تا یک دهه قبل، علاقه برای ساخت جایگزین عضله اسکلتی (Skeletal Muscle Substitute) یا SMS، چندان زیاد نبوده است. پیچیدگی ساختار عضله اسکلتی نیز به این فضا کمک کرده و بیش از پیش آن را عقب نگه داشته است. عضلات اسکلتی، مانند سایر بافت‌ها، خود دارای سلول‌های بنیادی هستند که ستاره‌ای نام دارند. این سلول‌ها در زمان آسیب‌های عضلانی، تقسیم‌شده و به سلول‌های بالغ تمایز می‌یابند. نکته اساسی درباره این سلول‌ها، تعداد کم آنهاست. بنابراین بیولوژیست‌ها سعی نموده‌اند که آنها را جداساخته و در محیط کشت تکثیر دهند. تکثیر این سلول‌ها در شرایط کشت استاتیک که عمدتاً سخت و غیرارتجاعی است، با شکست مواجه شده است. در چند سال اخیر، معرفی انواع بیوراکتورها به‌عنوان محیط‌های دینامیک به تکثیر بیشتر این سلول‌های بنیادی کمک نموده است. به نظر می‌رسد که عضلات اسکلتی، با کوتاه و بلند شدن به دنبال تحریک عصبی، خود به حفظ و بقای این سلول‌های ستاره‌ای کمک شایانی می‌کنند. به عبارت دیگر، بی‌حرکت ماندن عضلات به‌مدت طولانی، نه‌تنها به اتروپی فیبرهای عضله کمک می‌کند بلکه باعث کاهش تعداد سلول‌های بنیادی عضله هم می‌شود، به‌حدی که دیگر عضله قادر به بازسازی خود نبوده و متعاقباً اتروپی شدیدی رخ می‌دهد.

### نحوه تکامل فیبرهای عضلانی

عضله اسکلتی از صدها یا هزاران سلول عضلانی تشکیل شده که با یک نظم خاص در کنار هم قرار گرفته‌اند. هم‌محور بودن فیبرهای عضله اسکلتی در یک فضای سه‌بعدی، در تولید تانسیون و توان عضله بسیار مهم است. معمولاً فیبرهای عضله اسکلتی به دو سر عضله متصل‌اند تا نیروهای ایجادشده توسط آنها از طریق بافت‌های پیوندی (لیگامنت‌ها و تاندون‌ها) به استخوان‌ها (یا تکیه‌گاه‌های دیگر) منتقل شود و کار یا جابه‌جایی رخ دهد. عناصر مهم ساختمانی و عملکردی در عضلات اسکلتی عبارتند از فیبرهای عضلانی، مویرگ‌ها، اعصاب (وابران‌های) حرکتی، ماتریکس خارج سلولی و فاکتورهای رشد. علاوه بر آن، درون هر کدام از عوامل فوق نیز پارامترهای متعددی تعیین‌کننده هستند که باید مورد تحقیق و پژوهش قرار گیرند. با فرض این‌که همه عناصر فوق با موفقیت بهینه شوند، موازی قرار نگرفتن فیبرهای اسکلتی می‌تواند همه زحمات را تحت‌الشعاع قرار دهد.

همان‌گونه که اشاره شد، قابلیت ترمیم فیبرهای عضلانی چندهسته‌ای در عضله اسکلتی پستانداران بالغ، بسیار محدود است. با این وجود سلول‌های ستاره‌ای در پاسخ به فاکتورهایی که از فیبرهای عضلانی آسیب‌دیده رها می‌شوند، فعال شده و پس از طی برنامه مشخص تکثیر و تمایز، جایگزین فیبرهای آسیب‌دیده می‌شوند. فعال شدن سلول‌های ستاره‌ای موجب هیپر تروفی آرگانیل‌های سلولی، وسیع شدن سیتوپلاسم

قابلیت خودترمیمی عضله اسکلتی بسیار محدود است و قادر نیست آسیب‌هایی همچون تروما، نقایص مادرزادی، تومور، قطع طولانی مدت ارتباط عصب و عضله و انواع میوپاتی را ترمیم نماید [۱]. قطع ارتباط عصب و عضله برای مدت طولانی، منجر به حذف تاثیر مثبت ایمپالس‌های عصبی و فاکتورهای نروتروفیک روی ساخت پروتئین در عضله اسکلتی‌شده و نهایتاً توده عضلانی وسیعی از بین می‌رود [۲]. علاوه بر این عوامل، آسیب‌های ایسکمیک که منجر به کاهش خون‌رسانی به بافت عضله می‌شوند نیز نهایتاً منجر به مرگ سلولی و از دست رفتن توده عضلانی می‌شوند [۳]. پیری نیز باعث از بین رفتن توده عضلانی و قدرت آن می‌شود. عوامل متعددی مثل کاهش سنتز پروتئین، افزایش سطح آپوپتوز و کاهش جایگزینی سلول مرده به‌وسیله سلول زنده (Cell Turnover)، در تخریب عضله اسکلتی در پیری نقش دارند [۴، ۵].

فعالیت دانشمندان علوم از مرز تخلیص، نگهداری و تکثیر سلول‌ها گذشته و به دنبال بازسازی و ترمیم ساختاری و عملکردی بافت‌های مختلف بدن با استفاده از اصول مهندسی بافت هستند. بسیاری، مهندسی بافت را با کاشت پروتزها و قطعات مهندسی‌شده در بدن انسان (یا حیوان در موارد تحقیقی)، به‌منظور بازگرداندن توانمندی به‌میزبان اشتباه می‌گیرند. مهندسی بافت، درحقیقت بهره‌بردن از قواعد و اصول مهندسی در تغییر رفتار بافت‌های زیستی آسیب دیده است؛ به‌نحوی که بافت بتواند توان از دست رفته خود را به‌دست آورد. اما ساخت جایگزین‌های عضله اسکلتی با استفاده از مهندسی بافت، به‌سادگی ساخت جایگزین‌های پوستی نیست. در جایگزین‌های پوستی که امروزه بسیاری از شرکت‌های تجاری آنها را تولید و عرضه می‌کنند، پیشرفت‌های علمی بسیار چشمگیر بوده است. شاید یکی از دلایل مهم آن، علاوه بر استقبال مردم در مسایل زیبایی، سادگی مهندسی بافت پوست در مقایسه با سایر بافت‌ها باشد.

امروزه ساخت جایگزین‌های عضلانی از هر نوع که باشند (جایگزین‌های عضلانی برای عضله قلبی، صاف و اسکلتی) مورد توجه مهندسی بافت قرار گرفته است. موفقیت‌هایی در زمینه معرفی انواع سلول‌های بنیادی به میوکاردی که دچار ایسکمی و نکروز شده و تبدیل آنها به سلول‌های عضلانی میوکارد در دنیای پزشکی رخ داده است، ولی امید بسیاری وجود دارد تا در آینده نزدیک، بیماران بتوانند از جایگزین قلب برای بازگرداندن فعالیت پمپ‌کنندگی قلب سکنه‌زده بهره ببرند. شاید ایده‌آل این باشد که با اسکن و بازسازی نرم‌افزاری، تصاویر ناحیه نکروز شده (و احیاناً نواحی همسایه) یک تصویر سه‌بعدی از منطقه مرده به‌دست آورد و سپس با الگو قراردادن این تصویر، اسکافولدی از جنس ECM میزبان با ابعادی برابر با ابعاد تصویر تهیه کرد و پس از کشت سلول‌های بنیادی اتولوگ به‌همراه فاکتورهای رشد روی این داربست، یک جایگزین عضلانی برای میوکارد قلب در محیط خارج از بدن مهیا نموده و با یک عمل جراحی، آن را به

### استراتژی برای ترمیم عضله اسکلتی

تعداد سلول‌های ستاره‌ای که قادر به ترمیم عضله هستند، در عضله اسکلتی پایین است (۱ الی ۵٪) و بستگی به سن و ترکیبات فیبر عضلانی دارد [۱۸]. بنابراین جمعیت اندوژن این سلول‌ها برای این که جایگزین تعداد زیادی فیبر عضلانی نکروتیک شده و عملکرد عضله آسیب‌دیده را به آن برگردانند، کافی نیست. در حال حاضر، اتوگرافت عضلانی و پیوند میوبلاست، دو استراتژی درمانی برای بازسازی بافت عضلانی آسیب‌دیده هستند. به دلیل برخی از محدودیت‌ها، تکنیک اتوگرافت بازده بالینی متوسطی داشته است، به نحوی که محیط نامطلوب منطقه آسیب‌دیده، عملکرد بافت سالم پیوندشده را تعدیل می‌کند و به صورت همزمان منطقه دهنده گرفتار نیز دچار مشکلاتی می‌شود که در نهایت می‌تواند منجر به از بین رفتن حجم عضله و عملکرد آن شود [۱]. درمان با پیوند میوبلاست (MTT) به عنوان یک استراتژی درمانی برای دیستروفی‌های عضلانی پیشنهاد می‌شود. تزریق داخل عضلانی میوبلاست‌های سالم به مدل موشی بیماری (DMD) باعث بازگشت بیان دیستروفین و افزایش قدرت عضلانی شده است [۱۹]. DMD، بیماری ژنتیکی است که به دلیل اختلال در ژن دیستروفین که روی کروموزوم X قرار دارد، ایجاد می‌شود. به هر حال، در مرحله کارآزمایی بالینی، MTT به دلیل مرگ فوری تعداد زیادی از سلول‌ها بلافاصله پس از تزریق، توزیع نامناسب سلول‌های تزریق‌شده و پاسخ‌های ایمنولوژیک مرتبط با میوبلاست‌های آلوژنیک، چندان موفقیت‌آمیز نبوده است [۲۰]. استفاده از میوبلاست‌های اتولوگ، پاسخ‌های ایمنولوژیکی نامطلوب را از بین می‌برد، اما مشکلات مربوط به ماندگاری پایین و توزیع نامناسب سلول‌های تزریق‌شده، هنوز حل نشده است.

### لبه علم در آن سوی مرزها

مطابق با آنچه در منابع الکترونیک یافت می‌شود، هنوز هیچ آزمایشگاهی ادعای ساخت جایگزین عضله اسکلتی ننموده است. از آنجا که جزء مهم این جایگزینی، سلول‌های آن هستند، در این قسمت سعی می‌شود به آنها اشاره شود. سلول‌های بنیادی، ۲ عملکرد عمده را انجام می‌دهند؛ "خودنوزایی" و "تمایز به رده‌های سلولی مختلف". سلول‌های بنیادی مسئول توسعه و ترمیم بافت‌ها و اندام‌ها هستند و سیگنال‌های بیوشیمیایی و بیومکانیکی موجب تکثیر آنها می‌شوند. اولین بار شخصی به نام استودیسیکی نشان داد که عضله اسکلتی قابلیت ترمیم قابل ملاحظه‌ای دارد. مسئولیت ترمیم و بازسازی میوفیبرها برعهده سلول‌های ستاره‌ای است [۲۱]. این سلول‌ها، سلول‌های بنیادی عضله هستند و در سطح میوفیبرها بین پلاسما و غشای پایه قرار دارند و سلول‌های پیش‌آهنگ عضله (میوبلاست‌ها) را تولید می‌کنند [۲۲]. میوبلاست‌ها دو سرنوشت دارند، یا در میوفیبرهای موجود در عضله ادغام می‌شوند و تعداد هسته‌های آن را زیاد می‌کنند یا به یکدیگر متصل شده و میوفیبرهای جدید

و تغییر در شکل سلول می‌شود. سلول‌های ستاره‌ای پس از فعال شدن تکثیر می‌شوند و سلول‌های دختری که میوبلاست نامیده می‌شوند، فاکتورهای رونویسی میوژنیک و پروتئین‌های فیلامنت اختصاصی عضله (دسمین) را بیان می‌کنند [۶].

تمایز میوبلاست‌ها به میوفیبرهای چندهسته‌ای عمدتاً به بیان چهار فاکتور رونویسی به نام Myf5، myoD، میوژنین و Mrf4 بستگی دارد. طی فرآیند تمایز، سارکومرهای بالغ دارای صفحات Z موازی، فیلامنت‌های نازک و ضخیم و باند‌های A، H، I و M هستند. هسته‌ها پهن و کشیده می‌شوند و به کناره میوبلاسم مهاجرت می‌کنند. فیبرهای اولیه نازک‌تر به هم متصل می‌شوند تا فیبرهای ثانویه ضخیم‌تر را به وجود آورند [۷]. با پیشرفت تمایز، پتانسیل استراحت غشای سلول عضلانی هیپرپلاریزه می‌شود و به دنبال آن افزایش در دامنه و سرعت پتانسیل عمل و دامنه ورود کلسیم رخ می‌دهد. سارکوپلاسمیک رتیکولوم و لوله‌های عرضی به طور همزمان بالغ می‌شوند تا یک مجموعه مناسب و کارآمد برای جفت شدن تحریک و انقباض را ایجاد نمایند [۸، ۹]. گیرنده‌های استیل کولین به صفحه انتهایی در سارکولما می‌چسبند [۱۰، ۱۱]. این امر منجر به افزایش تحریک‌پذیری الکتریکی در فیبرهای عضلانی در حال بلوغ می‌شود [۲، ۱۲].

اگرین یک فاکتور رشد مشتق از عصب است که به دلیل نقش وسیعش در سازمان‌دهی و عملکرد ساختارهای سیناپسی موجود در سیستم عضلانی-اسکلتی و سیستم عصبی مرکزی و همچنین در سیستم ایمنی، بیش از دو دهه است که بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است [۱۳]. در عضله اسکلتی اگرین در تمایز پس‌سیناپسی، محل اتصال عصب-عضله و به خصوص در تشکیل و تثبیت گیرنده‌های استیل کولین نقش مهمی ایفا می‌کند [۱۳].

ظرفیت تولید نیرو توسط عضله اسکلتی نه تنها به ساخت و عملکرد اکتین، میوزین، تروپومیوزین و تروپونین بستگی دارد، بلکه به میزان بیان و سازمان‌دهی پروتئین‌های دخیل در انتقال نیرو از یک فیبر عضلانی واحد به کل بافت نیز بستگی دارد. عضلات از نظر انتقال نیرو به استخوان‌هایی که در نهایت منجر به حرکت آنها می‌شوند، به دو دسته تقسیم می‌شوند. عضلاتی که تاندون آنها در دو انتها قرار دارد و هر فیبر عضلانی تمام مسیر طول عضله را طی کرده و به تاندون وارد می‌شوند. دسته دیگر عضلاتی هستند که فیبرهای کوتاه‌تری دارند و دو یا چند فیبر عضلانی به صورت زنجیروار و سری در طول عضله قرار گرفته‌اند. در این عضلات ساختمان‌هایی مشابه تاندون، این فیبرهای کوتاه‌تر را به یکدیگر متصل و در نهایت ماموریت انتقال نیرو را برعهده دارند [۱۴، ۱۵، ۱۶]. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که نیروی فعال، از بین فیبرهای عضلانی موازی می‌تواند توسط کوستامرها (زیرواحد سارکولمایی که صفحات Z را به سارکولما متصل می‌کند) به صورت عرضی از سارکومرهای داخل سلولی به شبکه کلاژن-لامینین خارج سلولی منتقل شود [۱، ۱۴، ۱۷].

چندهسته‌ای را تولید می‌کند [۲۳]. مهم‌ترین نقش سلول‌های ستاره‌ای در دوران بعد از تولد، تولید میوفیبرهای چندهسته‌ای به منظور رشد عضله اسکلتی و افزایش تعداد فیبرهای عضلانی است. در عضله بالغ، نقش این سلول‌ها تغییر می‌کند و بدون افزایش در تعداد فیبرهای عضلانی تعداد هسته‌ها را زیاد کرده و موجب حفظ هموستاز و هیپرتروفی عضله می‌شود [۲۴].

در موش در دوران جنینی، ۳۰ تا ۳۵٪ هسته‌های ساب‌لامینال میوفیبرها متعلق به سلول‌های ستاره‌ای است، اما با گذشت زمان این نسبت کاهش پیدا می‌کند و در دوران بزرگسالی فقط ۱ تا ۴٪ این هسته‌ها متعلق به سلول‌های ستاره‌ای است [۲۵].

هتروژنیسیته میوبلاست‌های مشتق از سلول‌های ستاره‌ای کم است و مارکرهای میوژنیک آن در اغلب فازهای تکاملی یکسان است و تغییر نمی‌کند. اما هتروژنیسیته سلول‌های ستاره‌ای بین عضلات مختلف بیشتر و واضح‌تر است [۲۶]. به عنوان مثال، عضله جونده در مقایسه با عضله اندام، به صورت ضعیف‌تری ترمیم می‌شود، اما این مطلب که آیا این دستور به وسیله محیط عضله جونده به آن القا می‌شود یا نه، هنوز مشخص نیست. سلول‌های ستاره‌ای در عضلات خارج چشمی قابلیت تکثیر خود را حفظ می‌کنند و به میوفیبرهای سالم و آسیب‌نندیده، هسته اضافه می‌کنند [۲۷]. این پدیده ممکن است به دلیل شرایط محیطی عضلات باشد. شاید هم سلول‌های اجدادی عضلات مختلف با یکدیگر متفاوت باشند و این امر موجب تفاوت در ویژگی‌های سلول‌های ستاره‌ای در نقاط مختلف بدن شود. این مساله که آیا هتروژنیسیته سلول‌های ستاره‌ای به مولتی‌پوتنت بودن ربط دارد یا نه، هنوز مشخص نیست. سلول‌های جداشده از بافت عضله قادرند به رده‌های نوروژنیک و میوژنیک تمایز یابند [۲۸]. این سلول‌ها می‌توانند به سلول‌های اندوتلیال نیز تمایز پیدا کنند [۲۹]. اخیراً نشان داده شده که تحت شرایط کشت استاندارد، این سلول‌ها می‌توانند به رده‌های سلولی چربی و استخوان متمایز شوند.

سؤال اساسی در این حیطه این است: آیا سلول بنیادی سلول‌های ستاره‌ای در بافت عضله مقیم است؟ شاید خودنوزایی سلول ستاره‌ای تنها مکانیسم حفظ یک جزء ترمیم‌کننده در عضله نباشد. وقتی در یک بافت عضلانی بالغ و سالم اغلب سلول‌های ستاره‌ای به سلول‌های میوژنیک متمایز می‌شوند، لازم است که یک سری سلول‌های پیش‌آهنگ که از سلول‌های ستاره‌ای مشتق نشده‌اند، جایگزین آنها شوند. در این سناریو ممکن است یک سلول پیش‌آهنگ در منطقه‌ای خارج از نیچه سلول ستاره‌ای وجود داشته باشد و جایگزین سلول ستاره‌ای شود. چنین سلولی می‌تواند یک سلول بنیادی مولتی‌پوتنت باشد که قادر است چندین رده سلول تمایز یافته را ایجاد کند. سلول‌های پیش‌آهنگ اندوتلیالی و سلول‌های بینابینی در عضله صاف عروق، کاندیداهایی برای این جایگزینی هستند [۳۰]. سلول‌های بنیادی مشتق از سیستم عروقی در حال تکامل، می‌توانند نیچه سلول‌های ستاره‌ای را بعد از پیوند اشغال کنند [۳۱]. اندوتلیوم موش

نوزاد، موش بالغ و سلول‌های مشتق از عضله صاف عروقی نیز می‌توانند به سلول‌های میوژنیک تبدیل شوند [۳۲، ۳۳]. بنابراین، این فرضیه وجود دارد که ممکن است در این ساختارها نیز سلول‌های ستاره‌ای وجود داشته باشند. علاوه بر این، سلول‌های ستاره‌ای و اندوتلیوم مارکرهای مولکولی خاصی (CD34) را به صورت مشترک بیان می‌کنند و شاید سلول‌های میوژنیک و اندوتلیال اجداد رویانی مشترکی داشته باشند [۳۴، ۳۵]. اگرچه در شرایط نرمال و طبیعی ممکن است منابع سلولی به غیر از سلول‌های ستاره‌ای اهمیت چندانی در ترمیم عضله نداشته باشند، اما تحت شرایط پیری و بیماری این سلول‌ها می‌توانند برای ارتقای عملکرد میوژنیک سلول بنیادی و حفظ میوفیبرها با یکدیگر بسیج شوند.

### نیچه سلول‌های ستاره‌ای

اجزای موجود در نیچه بر رفتار سلول بنیادی موثر هستند. تغییراتی که در اثر سن در نیچه رخ می‌دهد نیز عملکرد سلول بنیادی را در عضله پیر متأثر می‌کند. عوامل محیطی شامل فاکتورهای منتشر شده از عروق، سیستم عصبی و سلول‌های موجود در لایه بینابینی، اجزای نیچه سلول‌های بنیادی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. تغییرات مرتبط با سن مثل افزایش تعداد فیروبلاست‌ها در لایه بینابینی، افزایش میزان ماتریکس خارج سلولی در بافت و تغییرات در محل ارتباط عصب-عضله ممکن است مستقیماً یا از طریق اجزای موجود در نیچه، تاثیراتی روی فعالیت سلول بنیادی بگذارند. بنابراین، برای ارتقای عملکرد سلول بنیادی در عضله پیر به نحوی که قابلیت تکثیر و عملکرد سلول بنیادی در حد نرمال و طبیعی باشد، باید اجزای موجود در نیچه را هدف قرار داد [۳۶].

سابقاً تصور بر این بود که سلول‌های بنیادی مشتق از بافت‌های بالغ فقط به سلول‌های همان بافت تبدیل می‌شوند. اخیراً مطالعات نشان داده که سلول‌های بنیادی مشتق از بافت بالغ، این پتانسیل را دارند که به انواع مختلف سلول‌ها تمایز پیدا کنند. به عنوان مثال، نشان داده شده که سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک مشتق از مغز استخوان در ترمیم عضله اسکلتی، عضله قلبی، بافت کبد و بافت‌های اندوتلیالی مختلف شرکت می‌کنند [۳۷]. میوبلاست‌ها به یکدیگر متصل می‌شوند تا میوفیبرهای چندهسته‌ای جدید را تشکیل دهند. مارکرهای سطح سلولی سلول‌های ستاره‌ای (چه در حالت خاموش و چه در حالت فعال شده) شامل M-cadherin، c-met و CD34 هستند. بنابراین عقیده بر این است که سلول‌های ستاره‌ای یک منبع ثابت و خودتجدیدشونده از سلول‌های بنیادی را در عضله بالغ تشکیل می‌دهند که در رشد و ترمیم بافت شرکت می‌کنند [۳۸].

علاوه بر سلول‌های ستاره‌ای، عضله اسکلتی حداقل دو نوع سلول بنیادی دیگر نیز دارد:

۱- سلول‌های بنیادی مشتق از عضله (MDSC) علاوه بر این که یک پیش‌آهنگ میوژنیک است، چندین قابلیت تمایزی دیگر نیز دارد.

و پتانسیل کاردیومیوسیت‌های نوزادی در سلول‌درمانی انجام داده‌اند [۴۴]. در گروه آناتومی دانشگاه تربیت مدرس، مطالعاتی در زمینه نقش اکسی‌توسین و BMP-4 در تمایز سلول‌های بنیادی رویانی به کاردیومیوسیت انجام شده است. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که هر دو ماده قادر به القای تمایز در سلول‌های بنیادی رویانی هستند، اما BMP-4 برای انجام نقش خود نیاز به سرم دارد و در یک محیط بدون سرم قادر به انجام عملکرد خود نیست [۴۵، ۴۶]. در دانشگاه ایلام، حقانی و همکاران در مطالعه خود نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان قابلیت تمایز به کاردیومیوسیت‌ها را دارند [۴۷]. همچنین محققین انستیتوپاستور هم توانستند سلول‌های بنیادی مشتق از ورید بند ناف را به کاردیومیوسیت تمایز دهند [۴۸].

### فعالیت‌های انجام‌شده در مورد عضله صاف

تحقیقات انجام شده در این زمینه اندکی فراتر رفته و علاوه بر سلول، در مورد داربست مناسب برای ترمیم عضله صاف هم کارهایی انجام شده است. در شیشه، محققین گروه مهندسی قلب و عروق دانشگاه امیرکبیر نشان دادند که استفاده از کشش می‌تواند قابلیت تکثیر، رشد و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان را به عضله صاف عروق افزایش دهد [۴۹]. در زیوه (*in vivo*)، عمده فعالیت‌ها توسط گروه تحقیقاتی کجباب‌زاده و همکاران در دانشگاه تهران انجام شده است. در یکی از این مطالعات، از پریکاردیوم به‌عنوان یک داربست طبیعی برای ترمیم عضله صاف مئانه استفاده شده است. وی پس از کاشت سلول‌های عضله صاف مئانه روی پریکاردیوم، این جایگزین را بین لایه مخاطی و عضلانی مئانه خرگوش قرار داد و پس از ۸ هفته مشاهده کرد که این جایگزین، به‌خوبی می‌تواند باعث ترمیم عضله صاف مئانه شود [۵۰]. در مطالعه‌ای دیگر وی نشان داد که ترکیب یک ماتریکس طبیعی مثل پریکاردیوم و یک پلی‌مر زیست‌تخریب‌پذیر مثل پلی‌گلی‌کولیک‌اسید به‌عنوان یک داربست بهینه‌شده می‌تواند فعالیت‌های سلول‌های عضله صاف مئانه شامل اتصال و رشد و تکثیر را ارتقا داده و اثرات مطلوب‌تری در ترمیم عضله صاف مئانه داشته باشد [۵۱].

شریفی/قاسم و همکاران به‌منظور مداخله در ترمیم مئانه و جلوگیری از خود ادراری، اقدام به تهیه سلول‌های بنیادی از عضله اسکلتی نمودند. آنها از عضله رکتوس بیمارانی که به هر دلیلی تحت عمل جراحی شکم قرار می‌گرفتند، باریکه‌ای تهیه کردند و طی فرآیند کشت و پاساژهای مختلف موفق شدند از سلول‌های بنیادی تک‌هسته‌ای به میوتوب‌های چندهسته‌ای برسند. آنها امیدوار هستند بتوانند در این فیبرهای عضلانی ساخته‌شده، در جایگزینی و ترمیم اشکلاتر مئانه استفاده کنند [۵۲]. آی و همکاران در یک ایده‌پردازی، پیشنهاد نموده‌اند که سلول‌های استرومایی اندومترיום، علاوه بر راحتی دسترسی و عوارض کمتر در پروسه تهیه بافت مورد نیاز، می‌توانند منشاء بسیار مناسبی در تولید سلول‌های میوزن باشند [۵۳]. آنها ادعا

۲- جمعیت جانبی (Side Population) یا SP که با رنگ Hoechst 33342 مشخص می‌شوند [۳۹]. سلول‌های SP عضله اسکلتی مارکر Sca-1 که مارکر سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک است را بیان می‌کنند. بنابراین، این سلول‌ها این توانایی را دارند که پس از پیوند یا به سلول‌های خون‌ساز تمایز پیدا کنند یا به سلول‌های ستاره‌ای. سلول‌های SP همچنین مارکر هماتوپوئیتیک CD45 را بیان می‌کنند و بنابراین می‌توانند به سلول‌های خون‌ساز و سلول عضلانی تمایز پیدا کنند. به‌نظر می‌رسد این سلول‌های بنیادی جدید، ویژگی‌هایی مشابه سلول‌های بنیادی خون‌ساز داشته باشند و بتوانند در ترمیم عضله شرکت کنند [۴۰]. در یک عضله در حال ترمیم، تعداد سلول‌های پیش‌آهنگ بیشتر از تعداد سلول‌های ستاره‌ای عضله است و این امر نشان می‌دهد که سلول‌های پیش‌آهنگ تمایز نیافته از منابع دیگر بسیج شده و به این منطقه مهاجرت کرده‌اند. علاوه بر این، توانایی سلول‌های خون‌ساز برای ورود به میوزن، موجب شده تا بررسی‌ها برای کشف مبدا رویانی سلول‌های ستاره‌ای بیشتر شود. مطالعات اخیر فرض می‌کنند که گروهی از سلول‌های ستاره‌ای از سیستم عروقی رویان مشتق شده‌اند. این مطالعات شواهدی را مبنی بر وجود سلول‌های بنیادی چندتوان (Pluripotent) در عضله اسکلتی بالغ بیان می‌کند [۴۱].

### تحقیقات در زمینه مهندسی بافت عضله اسکلتی در ایران

در ایران تحقیقات چندان در زمینه مهندسی بافت عضله اسکلتی و ساخت جایگزین عضلانی صورت نگرفته است. اغلب مطالعات انجام‌شده در مورد تمایز سلول‌های بنیادی به ۳ نوع عضله صاف، قلبی و اسکلتی بوده است. اما از آنجایی که جایگزین عضلانی ساخته‌شده به‌روش مهندسی بافت باید از ۳ جزء اصلی سلول، داربست و فاکتور رشد تشکیل شده باشد و سلول به‌عنوان یک جزء اصلی و لاینفک هر جایگزین عضلانی است، هرگونه پیشرفتی در زمینه تبدیل سلول‌های بنیادی به عضله (از هر سه نوع) می‌تواند به‌عنوان یک قدم اولیه و مهم در فرآیند ساخت جایگزین عضله اسکلتی به‌حساب آید. به‌نظر می‌رسد که تولید کاردیومیوسیت از سلول‌های بنیادی، دانشمندان را به تولید فیبرهای اسکلتی بسیار نزدیک کرده است، ولی خواننده باید بداند اختلاف در ساختمان و عملکرد عضلات، به اندازه تفاوت بین سلول‌های عضلانی و سایر سلول‌ها، عمیق و گسترده است.

### فعالیت‌های انجام‌شده در مورد عضله قلبی

در مرکز تحقیقات رویان، تمرکز اصلی روی تمایز سلول‌های بنیادی رویانی به کاردیومیوسیت‌ها است. بهاروند و همکاران، چندین مطالعه در زمینه قابلیت تمایز سلول‌های بنیادی رویان به کاردیومیوسیت‌های بالغ و عملکردی در شیشه (*in vitro*) [۴۲]. نقش فاکتور رشد فیبروبلاستی در تمایز سلول‌های بنیادی رویان به کاردیومیوسیت [۴۳]. شباهت ۹۵٪ پروتئین‌های کاردیومیوسیت‌های رویانی و نوزادی

افزایش عملکرد انقباضی شبکه‌های عضلانی مهندسی شده، لازم است. ساخت این بافت پیشرفته پتانسیل زیادی را در زمینه توسعه درمان‌های ترمیمی بافت قلب و عضله اسکلتی ایجاد می‌کند و فهم ما را در مورد عملکرد و ترمیم عضله عمیق‌تر می‌نماید. به علاوه رگ‌زایی و عصب‌دهی عضله اسکلتی مهندسی شده نیز مساله مهمی است. برای مثال، هم‌کشتی میوبلاست‌های C2C12 و فیبروبلاست‌های رویانی و سلول‌های اندوتلیال روی داربست‌های پلی‌مری زیست‌تخریب‌پذیر بسیار متخلخل در سئیشه منجر به تشکیل شبکه‌های اندوتلیالی در ساختار عضلانی مهندسی شده و در زریوه منجر به افزایش رگ‌زایی، پرفیوژن خون و بقای گرافت‌های بافتی می‌شود [۷۰]. روش‌های دیگر برای رگ‌زایی، شامل تشکیل بافت عضلانی مهندسی شده در اطراف سیستم‌های پرفیوژن در زریوه مثل لوپ شریانی- وریدی یا شریان فمورال است [۷۱، ۷۲]. به عبارت دیگر، هم‌کشتی ساختار عضلانی با سلول‌های عصبی [۱۶، ۱۷] یا القای عصب‌دهی ساختار با استفاده از اعصاب قطع شده [۷۳]، نه تنها تمایز و تولید نیرو توسط سلول‌های عضلانی را افزایش می‌دهد، بلکه منجر به تشکیل اتصالات عصبی-عضلانی حساس به استیل‌کولین می‌شود که ممکن است انتگره یا یکی شدن ساختار بافتی گرافت شده با سیستم عضلانی اسکلتی میزبان را پس از پیوند تسهیل نماید.

با توجه به چشم‌انداز ۱۴۰۴ و ماموریت‌های محوله، کسب دانش و مهارت ساخت جایگزین عضله اسکلتی در نیروهای نظامی از اهمیت زیادی برخوردار است. برای رسیدن به این هدف باید بدانیم که فعالیت سلول در جایگزین‌های بافتی و بدن به عنوان محیط سه‌بعدی متفاوت از فعالیت سلول در محیط دو‌بعدی کشت است. علاوه بر این، جایگزین بافتی پس از پیوند باید بتواند به خوبی به بدن میزبان ملحق شود تا در نهایت موجبات ترمیم بافت را فراهم کند. حیطه سلول‌های بنیادی و طراحی سه‌بعدی داربست آن با قابلیت بقا و تمایز در محیط در زریوه از پیچیدگی‌های قابل توجهی برخوردار است. همین نکته باعث شده است که هیچ آزمایشگاهی تا این زمان دستیابی به آن را ادعا نکرده است. شاید جدیدترین دستاورد توسط بی‌یان به عرصه علم معرفی شده که با شرایط ایده‌آل هنوز فاصله زیادی دارد [۷۴].

### نتیجه‌گیری

آنچه برای سازمان نظامی ارمان بزرگی محسوب می‌شود، دست‌یافتن به فناوری جایگزین عضله اسکلتی است تا بتوان با بهره‌مندی از آن، نه تنها ناتوانی‌های ناشی از جراحات را جبران کرد، بلکه با دست‌کاری در گروه‌های عضلات اولیه و ثانویه که در اجرای فعالیت‌های مختلف نظامی نقش مهمی دارند، توان آنها را از حد ماکزیمم فعلی نیز فراتر برد، به نحوی که سرباز بتواند قوی‌تر، پرتوان‌تر و با استقامت بیشتر در خدمت ماموریت‌ها باشد. فراموش نکنیم مفهوم "آمادگی برای ماموریت"، گستره بی‌نهایتی دارد.

نموده‌اند که به دلیل کلونونئیسیتی بالاتر این سلول‌ها، در مقایسه با سلول‌های بنیادی مغز استخوان، آینده مهندسی بافت عضله اسکلتی در این مسیر زودتر به محصول می‌نشیند. محی‌الدین بناب و همکاران توانستند از مغز استخوان ۸ بیمار، سلول‌های MSC را ایزوله و تکثیر نمایند و آنها را به صورت اتولوگ به کرونر (سه بیمار) و به داخل بافت اسکار قلب (۵ بیمار) در حین عمل جراحی بالاپس تزریق کنند [۵۴]. این بیماران شش ماه تحت نظر بودند، ولی مقاله راجع به نتیجه این پیوند و سرنوشت سلول‌های معرفی شده مطلبی را ارائه ندادند. حقیقی‌پور و بیاتی نیز در زمینه تبدیل سلول‌های بنیادی بافت چربی و مزانشیمی به سلول‌های میوژن و مشابه آن با استفاده از کشش‌های تک‌محوری و محرک‌های مکانیکی دیگر مقالاتی ارائه داده‌اند [۵۵].

### مشکلات و محدودیت‌های تحقیقات در زمینه جایگزین عضله اسکلتی

چالش‌های تکنیکی از قبیل اطلاعات محدود در مورد نقش فاکتورهای محیطی (از جمله ترکیب و سختی ماتریکس [۵۷، ۵۸، ۵۹] و فاکتورهای محلول [۶۰، ۶۱، ۶۲]) و انواع محرکات بیوفیزیکی (از قبیل کشش مکانیکی [۶۳، ۶۴، ۶۵، ۶۶]، تحریک الکتریکی [۶۷، ۶۸] و پالس حرکتی عصبی [۱۰، ۶۹]) در تکثیر، رشد، تمایز و بلوغ سلول‌های میوژنیک، مانع پیشرفت مهندسی بافت در زمینه ساخت عضله اسکلتی عملکردی شده است. تحقیقات زیادی در جهت شناخت انواع فاکتورهای رشد، سیتوکین‌ها و ژن‌های مختلف (یا ترکیبی از این مولکول‌ها) لازم است به نحوی که پس از ترکیب این فاکتورها در داربست‌های مهندسی بافت، این فاکتورها بتوانند به صورت منظم و کنترل شده در یک مدت معین و در مکانی مجاور سلول رها شوند و میوژن را در محیط سه‌بعدی کنترل کنند. کوچک‌تر بودن اندازه میوفیبرها و تراکم کمتر آنها در عضله مهندسی شده در مقایسه با عضله طبیعی اهمیت مساله تعامل متقابل سلول-ماتریکس در تولید نیرو و انتقال آن برجسته‌تر می‌کند [۱۴].

درحالی که مطالعات قبلی نشان داده که کشش مکانیکی روی رشد، تمایز و تولید نیرو توسط عضله ساخته شده به روش مهندسی بافت، اثرات مثبتی دارد [۶۵، ۶۶]، پتانسیل و توان تحریک الکتریکی عضله ساخته شده، نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. نشان داده شده است که تحریک الکتریکی میوبلاست‌ها در محیط کشت دو‌بعدی، باعث القای فعالیت الکتریکی در آنها شده و بلوغ میوفیبرها و آرایش سارکومر را از این طریق تسهیل می‌کند [۶۷، ۶۸]. این مساله که آیا تحریک الکتریکی می‌تواند در محیط سه‌بعدی، تمایز و بلوغ عضله اسکلتی مهندسی شده را ارتقا بخشد یا نه، هنوز ناشناخته است.

در آینده پیشرفت‌هایی در زمینه بهینه‌سازی تعاملات ماتریکس-سلول، ترکیب مولکول‌های بیواکتیو در یک ماتریکس فیبرینی یا استفاده از الگوهای ویژه تحریک الکتریکی و مکانیکی به منظور

- Ageing Dev. 1982;20(4):377-83.
- 24- Zammit PS, Relaix R, Nagata Y, Ruiz A, Collins CA, Partridge TA, et al. Pax7 and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells. *J Cell Sci*. 2006;119(9):1824-32.
- 25- Schultz E, Gibson MC, Champion T. Satellite cells are mitotically quiescent in mature mouse muscle: An EM and radioautographic study. *J Exp Zool*. 1978;206:451-6.
- 26- Pavlath GK, Thaloor D, Rando TA, Cheong M, English AW, Zheng B. Heterogeneity among muscle precursor cells in adult skeletal muscles with differing regenerative capacities. *Dev Dyn*. 1998;212(4):495-508.
- 27- McLoon LK, Rowe J, Wirtschafter J, McCormick KM. Continuous myofiber remodeling in uninjured extraocular myofibers: Myonuclear turnover and evidence for apoptosis. *Muscle Nerve*. 2004;29(5):707-15.
- 28- Alessandri G, Pagano S, Bez A, Benetti A, Pozzi S, Iannolo G, et al. Isolation and culture of human muscle-derived stem cells able to differentiate into myogenic and neurogenic cell lineages. *Lancet*. 2004;364(9448):1872-83.
- 29- Tamaki T, Akatsuka A, Ando K, Nakamura Y, Matsuzawa H, Hotta T, et al. Identification of myogenic-endothelial progenitor cells in the interstitial spaces of skeletal muscle. *J Cell Biol*. 2002;157(4):571-7.
- 30- Zammit PS, Partridge TA, Yablonka-Reuveni Z. The skeletal muscle satellite cell: The stem cell that came in from the cold. *J Histochem Cytochem*. 2006;54(11):1177-91.
- 31- Minasi MG, Riminucci M, De Angelis L, Borello U, Berarducci B, Innocenzi A, et al. The meso-angioblast: A multipotent, self-renewing cell that originates from the dorsal aorta and differentiates into most mesodermal tissues. *Development*. 2002;129(11):2773-83.
- 32- Graves DC, Yablonka-Reuveni Z. Vascular smooth muscle cells spontaneously adopt a skeletal muscle phenotype: A unique Myf5(-)/MyoD(1) myogenic program. *J Histochem Cytochem*. 2000;48(9):1173-93.
- 33- Cusella De Angelis MG, Balconi G, Bernasconi S, Zanetta L, Boratto R, Galli D, et al. Skeletal myogenic progenitors in the endothelium of lung and yolk sac. *Exp Cell Res*. 2003;290(2):207-16.
- 34- Beauchamp JR, Heslop L, Yu DS, Tajbakhsh S, Kelly RG, Wernig A, et al. Expression of CD34 and Myf5 defines the majority of quiescent adult skeletal muscle satellite cells. *J Cell Biol*. 2000;151(6):1221-34.
- 35- De Angelis L, Berghella L, Coletta M, Lattanzi L, Zanchi M, Cusella-De Angelis MG, et al. Skeletal myogenic progenitors originating from embryonic dorsal aorta coexpress endothelial and myogenic markers and contribute to postnatal muscle growth and regeneration. *J Cell Biol*. 1999;147(4):869-78.
- 36- Gopinath SD, Rando TA. Stem cell review series: Aging of the skeletal muscle stem cell niche. *Aging Cell*. 2008;7(4):590-8.
- 37- Fano G, Guglielmo Di T, Parabita M, Beltramin A, Addolorata Mariggio M. Stem cells in adult skeletal muscle tissue: More than a working hypothesis. *Basic Appl Myol*. 2004;14(1):13-5.
- 38- McKinney-Freeman SL, Jackson KA, Camargo FD, Ferrari G, Mavilio F, Goodell MA. Musclederived hematopoietic stem cells are hematopoietic in origin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(3):1341-6.
- 39- Jankowski RJ, Deasy BM, Huard J. Muscle derived stem cells. *Gene Therapy*. 2002;9(10):642-7.
- 40- Asakura A, Seale P, Girgis-Garbardo A, Rudnicki MA. Myogenic specification of side population cells in skeletal muscle. *J Cell Biol*. 2002;159(1):123-34.
- 41- Goodell MA, Jackson KA, Majka SM, Mi T, Wang H, Pocius J, et al. Stem cell plasticity in muscle and bone marrow. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;938:208-20.
- 1- Bach AD. Skeletal muscle tissue engineering. *J Cell Mol Med*. 2004;8(4):413-22.
- 2- Midrio M. The enervated muscle: Facts and hypotheses. A historical review. *Eur J Appl Physiol*. 2006;98(1):1-21.
- 3- Petrusek PF, Homer-Vanniasinkam S, Walker PM. Determinants of ischemic injury to skeletal muscle. *J Vasc Surg*. 1994;19(4):623-31.
- 4- Marzetti E, Leeuwenburgh C. Skeletal muscle apoptosis, sarcopenia and frailty at old age. *Exp Gerontol*. 2006;41(12):1234-8.
- 5- Welle S. Cellular and molecular basis of age-related sarcopenia. *Can J Appl Physiol*. 2002;27(1):19-41.
- 6- Wozniak AC. Signaling satellite-cell activation in skeletal muscle: Markers, models, stretch and potential alternate pathways. *Muscle Nerve*. 2005;31(3):283-300.
- 7- Cooper ST. C2C12 co-culture on a fibroblast substratum enables sustained survival of contractile, highly differentiated myotubes with peripheral nuclei and adult fast myosin expression. *Cell Motil Cytoskeleton*. 2004;58(3):200-11.
- 8- Franzini-Armstrong C. Simultaneous maturation of transverse tubules and sarcoplasmic reticulum during muscle differentiation in the mouse. *Dev Biol*. 1991;146(2):353-63.
- 9- Flucher BE, Andrews SB, Daniels MP. Molecular organization of transverse tubule/sarcoplasmic reticulum junctions during development of excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Mol Biol Cell*. 1994;5(10):1105-18.
- 10- Larkin LM. Functional evaluation of nerve-skeletal muscle constructs engineered in vitro. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2006;42(3-4):75-82.
- 11- Bevan S, Steinbach JH. The distribution of alpha-bungarotoxin binding sites of mammalian skeletal muscle developing in vivo. *J Physiol*. 1977;267(1):195-213.
- 12- Dennis RG, Dow DE. Excitability of skeletal muscle during development, denervation and tissue culture. *Tissue Eng*. 2007;13(10):2395-404.
- 13- Bezakova G, Ruegg MA. New insights into the roles of agrin. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003;4(4):295-308.
- 14- Monti RJ. Transmission of forces within mammalian skeletal muscles. *J Biomech*. 1999;32(4):371-80.
- 15- Huijting PA. Muscle as a collagen fiber reinforced composite: A review of force transmission in muscle and whole limb. *J Biomech*. 1999;32(4):329-45.
- 16- Young M. Examination of intra fascicular muscle fiber terminations: Implications for tension delivery in series-fibered muscles. *J Morphol*. 2000;245(2):130-45.
- 17- Bloch RJ, Gonzalez-Serratos H. Lateral force transmission across costameres in skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev*. 2003;31(2):73-8.
- 18- Allen RE. Skeletal muscle satellite cell cultures. *Method Cell Biol*. 1997;52:155-76.
- 19- Partridge TA. Conversion of mdx myofibres from dystrophin negative to positive by injection of normal myoblasts. *Nature*. 1989;337(6203):176-9.
- 20- Urish K, Kanda Y, Huard J. Initial failure in myoblast transplantation therapy has led the way toward the isolation of muscle stem cells: Potential for tissue regeneration. *Curr Top Dev Biol*. 2005;68:263-80.
- 21- Studitsky AN. Free auto- and homografts of muscle tissue in experiments on animals. *Ann NY Acad Sci*. 1964;120:789-801.
- 22- Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol*. 1961;9(2):493-5.
- 23- Schultz E, Lipton BH. Skeletal muscle satellite cells: Changes in proliferation potential as a function of age. *Mech*

- wall. *J Med Eng Technol.* 2010;35(7-8):422-8.
- 57- Engler AJ. Myotubes differentiate optimally on substrates with tissue-like stiffness: Pathological implications for soft or stiff microenvironments. *J Cell Biol.* 2004;166(6):877-87.
- 58- Huebsch N. Harnessing traction-mediated manipulation of the cell/matrix interface to control stem-cell fate. *Nat Mater.* 2010;9(6):518-26.
- 59- Rowe SL, Stegemann JP. Interpenetrating collagen-fibrin composite matrices with varying protein contents and ratios. *Biomacromolecules.* 2006;7(11):2942-8.
- 60- Gawlitta D. The influence of serum-free culture conditions on skeletal muscle differentiation in a tissue-engineered model. *Tissue Eng Part A.* 2008;14(1):161-71.
- 61- Takano K. Nebulin and N-WASP cooperate to cause IGF-1-induced sarcomeric actin filament formation. *Science.* 2010;330(6010):1536-40.
- 62- Vandenburg H. Drug-screening platform based on the contractility of tissue engineered muscle. *Muscle Nerve.* 2008;37(4):438-47.
- 63- Kumar A. Cyclic mechanical strain inhibits skeletal myogenesis through activation of focal adhesion kinase, Rac-1 GTPase, and NF-kappaB transcription factor. *FASEB J.* 2004;18(13):1524-35.
- 64- Otis JS, Burkholder TJ, Pavlath GK. Stretch-induced myoblast proliferation is dependent on the COX2 pathway. *Exp Cell Res.* 2005;310(2):417-25.
- 65- Powell CA. Mechanical stimulation improves tissue-engineered human skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002;283(5):1557-65.
- 66- Tatsumi R. Mechanical stretch induces activation of skeletal muscle satellite cells in vitro. *Exp Cell Res.* 2001;267(1):107-14.
- 67- De Deyne PG. Formation of sarcomeres in developing myotubes: Role of mechanical stretch and contractile activation. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2000;279(6):1801-11.
- 68- Fujita H, Nedachi T, Kanzaki M. Accelerated de novo sarcomere assembly by electric pulse stimulation in C2C12 myotubes. *Exp Cell Res.* 2007;313(9):1853-65.
- 69- Bach AD, Beier JP, Stark GB. Expression of Trisk 51, agrin and nicotinicacetylcholine receptor epsilon-subunit during muscle development in a novel threedimensional muscle-neuronal co-culture system. *Cell Tissue Res.* 2003;314(2):263-74.
- 70- Levenberg S. Engineering vascularized skeletal muscle tissue. *Nat Biotechnol.* 2005;23(7):879-84.
- 71- Borschel GH. Tissue-engineered axially vascularized contractile skeletal muscle. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7):2235-42.
- 72- Messina A. Generation of a vascularized organoid using skeletal muscle as the inductive source. *Faseb J.* 2005;19(11):157-62.
- 73- Dhawan V. Neurotization improves contractile forces of tissue-engineered skeletal muscle. *Tissue Eng.* 2007;13(11):2813-21.
- 74- Weining B. Tissue engineering of a differentiated skeletal muscle construct with controllable structure and function [dissertation]. UK: Duke University; 2011.
- 42- Baharvand H, Piryaei A, Rohani R, Taei A, Heidari MH, Hosseini A. Ultrastructural comparison of developing mouse embryonic stem cell- and in vivo-derived cardiomyocytes. *Cell Biol Int.* 2006;30(10):800-7.
- 43- Khezri S, Valojerdi MR, Sepehri H, Baharvand H. Effect of basic fibroblast growth factor on cardiomyocyte differentiation from mouse embryonic stem cells. *Saudi Med J.* 2007;28(2):181-6.
- 44- Baharvand H, Hajheidari M, Zonouzi R, Ashtiani SK, Hosseinkhani S, Salekdeh GH. Comparative proteomic analysis of mouse embryonic stem cells and neonatal-derived cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;349(3):1041-9.
- 45- Taha MF, Valojerdi MR. Effect of bone morphogenetic protein-4 on cardiac differentiation from mouse embryonic stem cells in serum-free and low-serum media. *Int J Cardiol.* 2008;127(1):78-87.
- 46- Hatami L, Valojerdi MR, Mowla SJ. Effects of oxytocin on cardiomyocyte differentiation from mouse embryonic stem cells. *Int J Cardiol.* 2007;117(1):80-9.
- 47- Haghani K, Bakhtiyari S, Nouri AM. In vitro study of the differentiation of bone marrow stromal cells into cardiomyocyte-like cells. *Mol Cell Biochem.* 2012;361(1-2):315-20.
- 48- Kadivar M, Khatami S, Mortazavi Y, Shokrgozar MA, Taghikhani M, Soleimani M. In vitro cardiomyogenic potential of human umbilical vein-derived mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;340(2):639-47.
- 49- Ghazanfari S, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MA. Effects of cyclic stretch on proliferation of mesenchymal stem cells and their differentiation to smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;388(3):601-5.
- 50- Kajbafzadeh AM, Esfahani SA, Talab SS, Elmi A, Monajemzadeh M. In-vivo autologous bladder muscular wall regeneration: Application of tissue-engineered pericardium in a model of bladder as a bioreactor. *J Pediatr Urol.* 2011;7(3):317-23.
- 51- Kajbafzadeh AM, Esfahani SA, Sadeghi Z, Elmi A, Monajemzadeh M. Application of different scaffolds for bladder wall regeneration: The bladder as a natural bioreactor. *Tissue Eng Part A.* 2011;18(7-8):882-7.
- 52- Sharifiaghdas F, Taheri M, Moghadasali R. Isolation of human adult stem cells from muscle biopsy for future treatment of urinary incontinence. *Urol J.* 2011;8(1):54-9.
- 53- Ai J, Tabatabaei FS, Kajbafzadeh AM. Myogenic potential of human endometrial adult stem cells. *Iran J Med Hypotheses Ideas.* 2009;3:25-30.
- 54- Mohyeddin-Bonab M, Mohamad-Hassani MR, Alimoghaddam K. Autologous in vitro expanded mesenchymal stem cell therapy for human old myocardial infarction. *Arch Iran Med.* 2007;10(4):467-73.
- 55- Bayati V, Sadeghi Y, Shokrgozar MA, Haghhighipour N, Azadmanesh K, Amanzadeh A, et al. The evaluation of cyclic uniaxial strain on myogenic differentiation of adipose-derived stem cells. *Tissue Cell.* 2011;43(6):359-66.
- 56- Haghhighipour N, Tafazzoli Shadpour M, Avolio A. Residual stress distribution in a lamellar model of the arterial