PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده 1- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده 2- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده 3- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده 4- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده 5- این آیین‌نامه در 5 ماده و یک تبصره در تاریخ87/4/1 در شورای پژوهشی و در تاریخ 87/4/23 در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ 87/7/15 شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده 1 : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده 2 : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل **پایان‌نامه کارشناسی ارشد** نگارنده در رشته **فیزیولوژی** است که در سال 1388 در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **دکتر محمد جوان** ، مشاوره **دکتر سید جواد میر نجفی زاده** از آن دفاع شده است.

ماده 3 : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده 4 : در صورت عدم رعایت ماده 3، 50% بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده 5 : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده 4 را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده 6 : اینجانب **مهدیه آذین** دانشجوی رشته **فیزیولوژی** مقطع**کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی

عنوان

بررسی مولکولی و الکتروفیزیولوژیک روند رمیلیناسیون هیپوکمپ موش صحرایی پس از القای دمیلیناسیون با لیزولسیتین

نگارش

مهدیه آذین

استاد راهنما

دکتر محمد جوان

استاد مشاور

دکتر سید جواد میر نجفی زاده

تابستان 1388

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

تقدیم به :

پدر و مادرم

آنان که مهر وماه کهکشان عاطفه اند

و همسرم

او که ستاره سعادتش نامم

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

تشکر و قدردانی

در اینجا وظیفه خود می دانم که مراتب تشکر و سپاس خود را نثـار بزرگـوارانی نمایم که در انجام این پژوهش مرا یاری نمودند؛
استاد راهنمای محترم جناب آقای دکتر جوان که در طول انجـام ایـن پـروژه از راهنماییها و سعه صدر ایشان بهره جستم.
مدیر گروه محترم و استاد مشاور ارجمند جناب آقای دکتر میر نجفـی زاده کـه اوقات گرانبهـای خـود را در اختیـار اینجانـب قـرار داده و از هـیچ کوشـشی در اجرای این پژوهش فروگذار نکردند و راهنماییهای ایشان گره گشا بود.
قدردانی بیکران نثار همسر، پدر، مادر و تمامی دوستانم که در تمام مراحل کـار مشوق من بودند ودر انجام این پژوهش مرا یاری نمودند.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

چکیده:

مقدمه: دمیلینه شدن، رویدادی پاتولوژیک و غیر معمول در سیستم عصبی است. معمولاً پس از دمیلینه‌شدن، رمیلیناسیون (پاسخ رژنریتیو خود به خودی) رخ می‌دهد که نمونه‌ای از توان ترمیم سیستم عصبی آسیب‌دیده توسط مشارکت سلولهای پیش‌ساز چندظرفیتی است. MS یک بیماری التهابی مزمن دمیلینه‌کنندهٔ سیستم عصبی مرکزی است که در آن الیگودندروسیت‌های میلین‌ساز هدف حملات التهابی و ایمنی قرار می‌گیرند. هیپوکمپ به شدت نسبت به صدمات مختلف از جمله بیماری MS آسیب‌پذیر و حساس است. این مطالعه با هدف ارزیابی تغییرات بیان ژن‌های MBP (نشانگر الیگودندروسیت‌های بالغ)، Olig2 (نشانگر پیش‌سازهای الیگودندروسیتی)، GFAP (نشانگر فعالیت آستروسیت‌ها) و Nestin (نشانگر سلولهای بنیادی عصبی) و ارزیابی تغییرات ثبت پتانسیل‌های میدانی از سلولهای گرانولار شکنج دندانه‌دار به دنبال القای دمیلیناسیون در هیپوکمپ انجام شد.

روشها: این مطالعه بر روی موشهای نر بالغ نژاد اسپراگ-دالی با دامنهٔ وزنی 280 تا 330 گرم انجام شد. موشها تزریق استریوتاکسیک سالین یا لیزولسیتین داخل هیپوکمپی دریافت کردند. بیان ژنهای MBP، Olig2، GFAP و Nestin در روزهای 2، 7، 14 و 28 پس از تزریق ارزیابی شدند. با استفاده از دستگاه استریوتکس، الکترود تحریک دو قطبی و الکترود ثبت تک قطبی در هیپوکمپ راست قرار گرفت. ثبت پتانسیل‌های میدانی قبل از تزریق و در روزهای 2، 7، 14 و 28 پس از تزریق انجام شد.

یافته‌ها: تفاوتی بین گروه‌های دریافت‌کنندهٔ سالین و بدون تزریق در بیان چهار ژن مورد مطالعه نبود. در روزهای 2 و 7 پس از تزریق، کاهش بیان MBP و افزایش بیان Olig2، GFAP و Nestin مشاهده شد. در روز 28 بیان MBP تا سطوح کنترل افزایش و بیان Olig2، GFAP و Nestin کاهش یافت. تغییرات معناداری در شیب پتانسیل پس‌سیناپسی تحریکی تجمعی یا در دامنهٔ اسپایک تجمعی و نیز در روزهای یاد شده پس از تزریق سالین مشاهده نشد. در روز 2 پس از تزریق لیزولسیتین در پارامترهای مزبور کاهش معنادار مشاهده شد، اما پس از 28 روز این پارامترها افزایش یافته و تفاوت معناداری را با روز قبل از تزریق نشان ندادند.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما وجود روندهای دمیلیناسیون و رمیلیناسیون را به دنبال تزریق موضعی لیزولستین به داخل هیپوکمپ نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد سلولهای پیش‌ساز الیگودندروسیت و سلولهای بنیادی عصبی درونزاد در روند بازسازی میلین دخیل‌اند. همچنین یافته‌های به دست آمده حاکی از آن است که بین رخداد فرآیندهای دمیلیناسیون و رمیلیناسیون و تغییرات عملکردی در هدایت مسیر پرفورنت به سلولهای گرانولار شکنج دندانه‌دار همخوانی وجود دارد. تغییرات مشاهده شده در ثبت پتانسیل‌های میدانی، ممکن است شاخص عملکردی مناسبی برای فرآیندهای دمیلیناسیون و رمیلیناسیون محسوب شوند.

واژگان کلیدی: دمیلیناسیون، رمیلیناسیون، لیزولستین، هیپوکمپ، سلولهای پیش‌ساز الیگودندروسیت، سلولهای بنیادی عصبی درونزاد، ثبت پتانسیل میدانی، موش صحرایی.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Mollecular and electrophysiological study of the remyelination process in rat hippocampus following lysolecithin-induced demyelination

A Thesis
Presented for the
Master of Sciences Degree
In physiology

By: Mahdieh Azin

Supervisor: Dr. Mohammad Javan

Advisor: Dr. Javad Mirnajafi-Zadeh

Tarbiat Modarres University
School of Medical Sciences

2009

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول : مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

1-1 مقدمه 1

1-2 مروری بر مطالعات انجام شده 5

1-2-1 میلین 5

1-2-1-1 لیپیدهای میلین 6

1-2-2 پروتئینهای میلین 6

1-2-3 میلیناسیون و تکوین ردهٔ الیگودندروسیتی 7

1-2-3-1 الیگودندروسیت‌ها 7

1-2-3-2 میلیناسیون 10

1-2-4 دمیلیناسیون 11

1-2-5 رمیلیناسیون 12

1-2-5-1 منشأ سلولهای مشارکت‌کننده در رمیلیناسیون 13

1-2-5-2 نقش فاکتورهای رشد در رمیلیناسیون 15

1-2-6 مالتیپل اسکلروزیز (MS) 15

1-2-7 مدلهای تجربی MS 17

1-2-8 نقش آستروسیت‌ها در بیماریهای سیستم عصبی مرکزی 18

1-2-9 هیپوکمپ: درگیری در MS، و تأثیر فاکتورهای رشد 19

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فصل دوم: مواد و روشها

2-1 حیوانات 22

2-2 القای دمیلیناسیون توسط لیزولسیتین در هیپوکمپ 22

2-2-1 مواد و وسایل 22

2-2-2 جراحی حیوانات 23

2-3 تعیین حجم مناسب لیزولسیتین 23

2-4 مطالعات بافت‌شناسی 24

2-4-1 استخراج و آماده‌سازی بافت مغز 24

2-4-2 مراحل پاساژ بافت مغز 24

2-4-3 برش‌گیری و تهیهٔ لام از بافت 25

2-4-4 رنگ‌آمیزی دوگانهٔ اختصاصی میلین با استفاده از لوکسول فست بلو (LFB) و کرزیل فست‌ویوله (CFV) 25

2-5 مطالعات مولکولی 26

2-5-1 مواد و وسایل مورد استفاده در مطالعات مولکولی 26

2-5-2. روش اندازه‌گیری بیان ژنهای MBP، OLIG2، NESTIN،GFAP 26

2-5-2-1 خارج کردن هیپوکمپ 27

2-5-2-2 استخراج mRNA 27

2-5-2-3 ساخت cDNA 28

2-5-2-4 واکنش PCR 29

2-5-2-5 الکتروفورز نمونه‌ها 30

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

2-6-2 مطالعات الکتروفیزیولوژی 30
2-6-2-1وسایل و مواد لازم 30
2-6-2-2 تهیه الکترودها و کانول 31
2-6-2-3 جراحی حیوانات برای ثبت پتانسیل میدانی 32
2-6-2-4 کمیتهای ثبت پتانسیلهای میدانی 34
2-7 گروههای آزمایشی 35
2-8 روش تجزیه و تحلیل آماری 36

فصل سوم: نتایج

3-1بهینه‌سازی حجم تزریق لیزولسیتین 37
3-2 بررسی تغییرات بیان ژن MBP 39
3-2-1 بهینه سازی شرایط واکنش PCR 39
3-2-2 بیان ژن‌ها در گروه سالین و سالم 41
3-2-3 بیان ژن‌ها به دنبال تزریق لیزولسیتین 42
3-2-3-1 تغییرات بیان ژن MBP 42
3-2-3-2 تغییرات بیان ژن Oligo2 43
3-2-3-3 بررسی تغییرات بیان ژن GFAP 44
3-2-3-4 بررسی تغییرات بیان ژن Nestin 45
3-2-4 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن‌ها 46
3-2-4-1 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن MBP 46
3-2-4-2 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن Oligo2 47

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

3-4-2-3 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن GFAP.....48
3-4-2-4 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن Nestin.....49
3-3 بررسی تغییرات الکتروفیزیولوژی (پتانسیلهای میدانی).....50
3-3-1بررسی تغییرات PS.....50
3-3-1-1بررسی تغییرات دامنهٔ PS روزهای مختلف در یک گروه.....50
3-3-1-2 مقایسهٔ تغییرات دامنهٔ PS بین گروههای مختلف.....51
3-3-2 بررسی تغییرات شیب pEPSP.....52
3-3-2-1بررسی تغییرات شیب pEPSP روزهای مختلف در هر گروه.....52
3-3-2-2 بررسی تغییرات شیب pEPSP بین گروههای مختلف.....53

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها

4-1 بحث.....54
4-1-1 تغییرات بیان ژن‌های MBP، Nestin، Olig2 و GFAP پس از تزریق لیزولسیتین.....54
4-1-1-1 ژن MBP.....54
4-1-1-2 ژن Olig2.....56
4-1-1-3 ژن GFAP.....58
4-1-1-4 ژن Nestin.....60
4-1-2 تغییرات پتانسیل‌های میدانی پس از تزریق لیزولسیتین.....61
4-1-3 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن‌های Nestin، Olig2، GFAP و تغییرات پتانسیل‌های میدانی.....62
4-1-3-1 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن Nestin.....63
4-1-3-2 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن Olig2.....63

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

4-1-3-3 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن GFAP.....65
4-1-3-4 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن MBP.....65
4-1-3-5 اثر FGF2 بر تغییرات پتانسیل‌های میدانی.....66
4-2 نتایج کلی.....67
4-3پیشنهادها.....67
فهرست منابع.....69
چکیدهٔ انگلیسی.....82

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

فهرست شکلها

عنوان **صفحه**

شکل 1-1 مراحل تکثیر و تمایز دودمان الیگودندروسیت..... 8

شکل 1-2 نشانگرهای ردۀ الیگودندروسیتی 9

شکل 1-3 ورودیها و خروجیهای شکنج دندانه‌دار 21

شکل 2-1 بررسی کیفیت RNA استخراج شده از هیپوکمپ با محلول+RNX بر روی ژل آگاروز 1%..... 28

شکل 2-2 نحوۀ اتصال دستگاههای تحریک و ثبت کننده به حیوان 33

شکل 2-3 نمونۀ ثبت پتاسیل میدانی 34

شکل 2-4 الگوی آزمایشی از آغاز جراحی تا روز 28 در گروهای مختلف الکتروفیزیولوژی 35

شکل 3-1 مقاطع مغزی رنگ‌آمیزی شده با استفاده از LFB و CFV..... 38

شکل 3-2 مراحل بهینه‌سازی سیکل PCR برای ژن‌های GFAP، GAPDH، Nestin، MBP و Olig2..... 40

شکل 3-3 تغییرات بیان ژن‌هایMBP، Olig2، GFAP و Nestin در گروه سالین و سالم 41

شکل 3-4 تغییرات بیان ژن MBP در گروههای کنترل و آزمایش پس از القای دمیلیناسیون هیپوکمپ با لیزولسیتین 42

شکل 3-5 تغییرات بیان ژن Olig2 در گروههای کنترل و آزمایش پس از القای دمیلیناسیون هیپوکمپ با لیزولسیتین 43

شکل 3-6 تغییرات بیان ژن GFAP در گروههای کنترل و آزمایش پس از القای دمیلیناسیون هیپوکمپ با لیزولسیتین 44

شکل 3-7 تغییرات بیان ژن Nestin در گروههای کنترل و آزمایش پس از القای دمیلیناسیون هیپوکمپ با لیزولسیتین 45

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

شکل 3-8 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژنMBP 46

شکل 3-9 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن Olig2.....47

شکل 3-10 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن GFAP.....48

شکل 3-11 اثر FGF2 بر الگوی بیان ژن Nestin.....49

شکل 3-12 تغییرات دامنهٔ PS در گروههای سالین، LPC و LPC+FGF2 طی روزهای مختلف پس از تزریق (روز صفر).....51

شکل 3-13 تغییرات دامنهٔ PS در گروههای سالین، LPC و LPC+FGF2 در روز 2 52

شکل 3-14 تغییرات شیب pEPSP در گروههای سالین، LPC و LPC+FGF2 طی روزهای مختلف پس از تزریق..... 53

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

1-1. مقدمه

دمیلینه شدن، رویدادی پاتولوژیک و غیر معمول در سیستم عصبی مرکزی[1] (CNS) است. معمولاً بعد از دمیلینه شدن، رمیلیناسیون (پاسخ رژنراتیو خودبه‌خودی) رخ می‌دهد که منجر به جایگزینی میلین آسیب دیده در فواصل گره‌های رانویه و بازگشت هدایت پتانسیل عمل و اعمال از دست رفته نورون می‌شود [1و2]. CNS افراد بالغ، ظرفیت میلین‌سازی مجدد را در پاسخ به رویدادهای دمیلینه‌کننده دارد، اما اغلب غلاف میلین جدید، نسبت به میلین قبل از دمیلیناسیون، کوتاهتر و نازکتر است [3]. بیماری مولتیپل اسکلروزیز[2] (MS) یک بیماری مزمن اتوایمیون CNS است که با پلاکهای دمیلینه-شدهٔ مادهٔ سفید و تخریب آکسونی‌شناخته می‌شود و شایعترین بیماری دمیلینه‌کننده سیستم عصبی در انسان است. در مطالعات سالهای اخیر، نشان داده شد که در این بیماری، دمیلیناسیون در مادهٔ خاکستری مانند هیپوکمپ نیز رخ می‌دهد [4، 5، 6 و 7]. مهمترین علائم این بیماری عبارتند از فلج، اختلالات حرکتی، اختلالات بینایی، فقدان حس، خستگی و اختلالات شناختی [8]. نقص عملکرد هیپوکمپ، می‌تواند منجر به اختلالات شناختی شود که در 25 تا 60 درصد بیماران مبتلا به MS گزارش شده است [9].

(1) Central Nervous System
(2) Multiple Sclerosis

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

بیماری MS شامل فازهای التهابی و نورودژنریتیو است [10]. در بیماری MS، الیگودندروسیت‌های تشکیل‌دهندهٔ میلین، هدف حملات ایمنی و التهابی قرار می‌گیرند [11]. MBP[1] یکی از پروتیین‌های اصلی میلین CNS است و در تشکیل و متراکم شدن صفحات میلین نقش دارد. میزان بیان MBP شاخصی برای میزان میلیناسیون است [12و13]. الیگودندروسیت‌ها از حدود دو روز قبل از فرآیند میلین‌سازی و نیز طی این فرآیند، شروع به تولید پروتیین MBP می‌کنند [14].

سلولهای بنیادی عصبی[2] (NSCs) چند ظرفیتی، دارای خاصیت خود تجدید شوندگی نامحدود هستند و می‌توانند به نورون‌های جدید و گلیاهای جدید در CNS تمایز یابند. این سلولها در مکانهای خاصی در CNS پستانداران بالغ وجود دارند [15و16]. این مکانها شامل ناحیهٔ ساب گرانولار[3] هیپوکمپ، ناحیهٔ زیر بطنی[4] بطنهای جانبی و اپاندیم‌های طناب نخاعی هستند [17]. NSCs اندوژن، به عنوان ذخیره عملکردی برای پایداری بافت و ترمیم بعد از آسیب مورد توجه قرار دارد [18]. NSCs تحت تأثیر سیگنال‌های محیطی، توانایی تکثیر و مهاجرت به سوی ناحیه آسیب و تمایز به الیگودندروسیت‌ها، نورون‌ها و آستروسیت‌ها را - بسته به فنوتیپ خاصی که بیماری دیکته می‌کند- دارند [16و19]. این سیگنال‌های محیطی شامل انواعی از مولکولها و فاکتورهای رشد آزاد شده از نورون‌های آسیب دیده، آستروسیت‌ها، لیگودندروسیت‌ها، میکروگلیاها و سایر سلولهای ایمنی هستند[20]. در مطالعات متعددی، Nestin (پروتیین فیلامان حد واسط VI)، به عنوان یک شناساگر بیولوژیکی برای شناسایی NSCs به کار رفته است [21].

در مرحلهٔ رمیلیناسیون، تعداد الیگودندروسیت‌های ناحیهٔ رمیلینه شده افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد الیگودندروسیت‌های جدید از پیش‌سازهای الیگودندروسیت (OPCها) به وجود می‌آیند [22]. OPCها از ابتدای روند تمایزی Olig2 را بیان می‌کنند و به نظر می‌رسد که حتی پس از تمایز به

(1) Myelin Basic Protein
(2) Neural Stem Cells
(3) Subgranular Zone
(4) Subventricular Zone (SVZ)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الیگودندروسیت بالغ، تا حدی بیان Olig2 را حفظ می‌کنند. بر این اساس، بیان Olig2 به عنوان شاخصی از مشارکت OPCها وتولید سلولهای میلین‌ساز مورد توجه است [23].

آستروسیت‌ها در فرایند رمیلیناسیون، از آن جهت که با ایجاد زخم آستروسیتی مانع ترمیم آکسون می‌شوند، مضر و از آن جهت که فاکتورهای رشد گلیالی را تولید می‌کنند مفید محسوب می‌شوند. میزان بیان پروتیین GFAP شاخصی برای حضور آستروسیت‌هاست [24و25].

شیوه‌های مختلفی، از جمله مدل‌های *in vitro* و *in vivo*، برای مطالعه و بررسی مراحل مختلف بیماری MS به کار گرفته می‌شوند [26]. تزریق مستقیم مواد دمیلینه کنندهٔ گلیوتوکسین[1] به مادهٔ سفید، شیوهٔ مناسبی برای مطالعهٔ روند رمیلیناسیون است [1و27]. این مدل دمیلینه کننده، مدلی موضعی و حاد است و به دنبال آن پاسخ رژنراتیو مشخص و قابل پیش بینی رخ می‌دهد [2]. در این راستا انواعی از مواد گلیوتوکسین با هدف ایجاد تخریبهای موضعی دمیلینه شده در مادهٔ سفید مناطق مختلف مغزی از جمله کورپوس کالازوم [28]، ماده سفید تحت قشری [29]، پایک تحتانی مخچه [1]، عصب بینایی [30] و نخاع [31] به کار رفته‌اند. یکی از این مواد، لیزولسیتین است که تحلیل-برندهٔ غلاف میلین بوده و توکسین ویژهٔ الیگودندروسیت‌هاست [1].

فیبرهای هیپوکمپ به جز فیبرهای خزه‌ای به طور عمده میلین‌دار هستند و هیپوکمپ به شدت نسبت به صدمات مختلف، از جمله بیماری MS آسیب‌پذیر و حساس است. همچنین مدار نورونی در هیپوکمپ از مسیر پرفورنت[2] به شکنج دندانه‌دار، تک‌سیناپسی، یک طرفه و برای مطالعات الکتروفیزیولوژیک مناسب است [32و33]. ناحیهٔ ساب‌گرانولار در شکنج دندانه‌دار دارای سلولهای بنیادی است. این سلولها توانایی تمایز به نورون، آستروسیت و OPCها را دارند [16].

از آنجا که هنوز مکانیسم‌های پیچیدهٔ پاتولوژیک و پیامدهای دمیلیناسیون هیپوکمپ به خوبی شناخته نشده است، ارائه مدل‌های حیوانی در این زمینه، مطالعهٔ مکانیسم‌های درگیر در آن را تسهیل می‌کند [34]. اینکه آیا پس از رمیلیناسیون هیپوکمپ، سلولهای تازه تولید شده از سلولهای

(1) Gliotoxin
(2) Perforant Pathway

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

بنیادی عصبی قادر به تولید میلین کارکردی هستند و آیا این صفحات میلین به ارتقای هدایت الکتریکی در آکسون‌های رمیلینه کمک می‌کنند، موضوعی است که نیاز به مطالعه دارد [35].

با توجه به اختلالات شناختی گزارش شده در بیماران MS و احتمال درگیری هیپوکمپ در این بیماری، گزارشهای موجود از بروز دمیلیناسیون در هیپوکمپ و نیز حضور منابع سلولهای بنیادی در آن، مطالعهٔ روند دمیلیناسیون و رمیلیناسیون و همچنین امکان مشارکت سلولهای بنیادی در ترمیم میلین در هیپوکمپ، منطقی و کارگشا می‌نماید.

به منظور بررسی این مسأله، موارد زیر در مطالعهٔ حاضر بررسی شده‌اند:

الف) اندازه‌گیری بیان ژن برخی از شاخصهای مولکولی روندهای دمیلیناسیون و رمیلیناسیون، مانند MBP (شاخص میلیناسیون و الیگودندروسیت بالغ)، Olig2 (شاخص سلولهای پیش‌ساز الیگودندروسیتی)، GFAP (شاخص آستروسیت) و Nestin (شاخص سلولهای بنیادی عصبی) در هیپوکمپ، به دنبال القای دمیلیناسیون با لیزولسیتین؛

ب) بررسی تغییرات کمیتهای پتانسیل‌های میدانی از طریق ثبت گرفتن از سلولهای گرانولار، به دنبال دمیلیناسیون ایجاد شده با لیزولسیتین در مسیر پرفورنت در طی روند رمیلیناسیون.

شایان ذکر است، برای سنجش توان این مدل در نمایش اثر عوامل مؤثر در میلین‌سازی، از فاکتور رشد فیبروبلاستی 2 (عاملی بیولوژیک و مؤثر در فرآیند رمیلیناسیون) نیز استفاده شده است.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com