بسم الله الرحمن الرحیم

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

پایان‌نامه کارشناسی ارشد بافت‌شناسی و جنین‌شناسی

اثرات ۱۷- بتا استرادیول بر نورون‌زایی هیپوکامپ موش کوچک آزمایشگاهی اوارکتومی شده

توسط:

مریم آذری

استاد راهنما:

دکتر محمدتقی قربانیان

استادان مشاور:

دکتر سعید زواره

دکتر محمود اله دادی سلمانی

بهمن ماه ۱۳۹۲

به نام خدا

اثرات ۱۷- بتا استرادیول بر نورون‌زایی هیپوکامپ موش کوچک آزمایشگاهی اوارکتومی شده

به وسیله‌ی:
مریم آذری

پایان‌نامه
ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به عنوان بخشی
از فعالیت‌های لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد زیست‌شناسی

در رشته
زیست‌شناسی (گرایش بافت‌شناسی و جنین‌شناسی)
از دانشگاه دامغان

ارزیابی و تأییدشده توسط کمیته داوران با درجه: **عالی**

دکتر محمدتقی قربانیان، استادیار رشته‌ی زیست علوم تشریح، دانشکده‌ی زیست دانشگاه دامغان (استاد راهنما)

دکتر سعید زواره، استادیار رشته‌ی بیولوژی تولیدمثل، دانشکده‌ی زیست دانشگاه دامغان (استاد مشاور)

دکتر محمود اله دادی سلمانی استادیار رشته‌ی فیزیولوژی، دانشکده‌ی زیست دانشگاه دامغان (استاد مشاور)

دکتر سید حسن پایلاخی استادیار رشته‌ی ژنتیک، دانشکده‌ی زیست دانشگاه دامغان (استاد داور)

دکتر مریم حاجی قاسم کاشانی استادیار رشته‌ی علوم تشریح، دانشکده‌ی زیست دانشگاه دامغان (استاد داور)

دکتر رضا نادری علمدار دهی استادیار رشته‌ی علوم گیاهی، دانشکده‌ی زیست دانشگاه دامغان (نماینده تحصیلات تکمیلی)

بهمن ماه ۱۳۹۲

سپاسگزاری

به نام او که وجودش در کنارم یعنی تمام خوشبختی. خدایی که با حس وجودش می توانم تک به تک حروف علم را معنا کنم؛ که در کنارش برای به نتیجه رسیدن این متون تمام تلاش خود را ارزانی این عرصه نمودم.

به پدر و مادر عزیزم به بهانه‌ی لشکری هر چند کوچک از وجود گران بهایشان که در موفقیت من نقش داشته اند، این برگ نوشته ها را به آن ها که دست های خدایی شان از آغاز، هدایت گر امواج مهربانی بوده تقدیم می کنم. پروردگارانه می توانم موهایشان را که در راه عزت من سفید شد، سیاه کنم و نه برای دست های پینه بسته شان که ثمره‌ی تلاش برای افتخار من است، مرهمی دارم. پس توفیقم ده که هر لحظه شکرگزارشان باشم و ثانیه های عمرم را در عصای دست بودنشان بگذرانم.

به امیرمحمد و شیما و محسن و امیرعلی عزیزم که عطر حضورشان تکرار خوشی های من است. امید نخش جانم که آسایش آن ها آرامش من است. به پاس عاطفه سرشار و گرمای وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبانم بوده و هستند.

به اساتید مهربانم دکتر محمدتقی قربانیان، دکتر محمود اله دادی سلمانی، دکتر سعید زواره برای کمک های سخاوتمندانه و بی دریغشان برای قدردانی از آن ها، برای لحظاتی بس سخت و گاهی بس آسان. برای تمام آن ثانیه های که گذشت تا رو سپید این میدان شوم. من این واژه های مقدس علم را به شما، با بوسه ای روی دستانتان، به پاس صبوری تان تقدیم می کنم تا شاید لشکری باشد برای زحمت هایتان.

اثرات ۱۷- بتا استرادیول بر نورون‌زایی هیپوکامپ موش کوچک آزمایشگاهی اوارکتومی شده

توسط: مریم آذری

سابقه و هدف: نورون‌زایی در بالغین در بسیاری از گونه‌های پستانداران در دو ناحیه‌ی عمده مغز رخ می‌دهد: ۱- منطقه‌ی تحت بطنی ۲- شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ. بسیاری از فاکتورها نظیر ۱۷-بتا استرادیول بر نورون‌زایی در هیپوکامپ تأثیر می‌گذارند. هدف از این مطالعه بررسی اثر استرادیول برون‌زاد بر نورون‌زایی در موش کوچک آزمایشگاهی اوارکتومی بود.

مواد و روش‌ها: موش‌های نژاد NMRI به ۵ گروه آزمایشی تقسیم شدند: ۱- گروه شم ۲- گروه کنترل ۳- گروه تیمار با یک دوز استرادیول دو هفته پس از اوارکتومی و نمونه برداری ۲۴ ساعت بعد ۴- گروه تیمار با یک دوز استرادیول دو هفته پس از اوارکتومی و نمونه برداری ۴۸ ساعت بعد ۵- گروه تیمار با یک دوز روغن کنجد دو هفته پس از اوارکتومی و نمونه برداری ۲۴ ساعت بعد. موش‌ها با پارافرمالدئید پرفیوژن شدند. مغز موش‌ها برداشته شد و مقاطع میکروسکوپی از آن برای رنگ‌آمیزی کریستال فاست ویوله و ایمونوهیستوشیمی آنتی GFAP و آنتی BrdU تهیه گردید. سلول‌ها توسط میکروسکوپ نوری و فلورسنت شمرده و بررسی شدند.

نتایج: تعداد نورون‌ها در ناحیه‌ی CA1 و تکثیر سلول‌های اجدادی هیپوکامپ تا ۲۴ ساعت پس از درمان با استرادیول افزایش معنی‌داری داشت. تعداد سلول‌های گلیا و به طور ویژه آستروسیت‌ها در مناطق مختلف هیپوکامپ پس از درمان با استرادیول افزایش معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: شکل سلولی و تعداد نورون‌ها در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ تحت تأثیر استروژن قرار دارد. همچنین استروژن بر تعداد و مورفولوژی سلول‌های گلیا به طور ویژه آستروسیت‌ها در مناطق مختلف هیپوکامپ تأثیر دارد.

لغات کلیدی: ۱۷- بتا استرادیول، نورون‌زایی، هیپوکامپ، اوارکتومی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته ۱

۱-۱ نورون زایی ۲

۱-۲ انواع سلول‌های عصبی ۲

۱-۳ نورون‌زایی ۲

۱-۳-۱ مناطق نورون‌زا ۳

۱-۳-۱-۱ SVZ ۶

۱-۳-۱-۲ SGZ ۸

۱-۴ هیپوکامپ ۹

۱-۴-۱ بخش‌های هیپوکامپ ۱۲

۱-۴-۱-۱ شکنج دندانه‌ای ۱۲

۱-۴-۱-۲ شاخ آمون ۱۲

۱-۴-۲ مسیرهای هیپوکامپی ۱۴

۱-۴-۳ مدار سه سیناپسی ۱۴

۱-۴-۴ آوران‌های دیگر هیپوکامپی ۱۵

۱-۴-۵ اینترنورون‌های هیپوکامپی ۱۵

۱-۴-۶ مهار پس خور و مهار پیش‌گستر ۱۶

۱-۴-۷ نورون‌زایی در شکنج دندانه‌ای ۱۶

۱-۵ BrdU ۱۶

۱-۶ ترمیم سیستم عصبی ۱۷

۱-۷ عوامل موثر بر نورون‌زایی ۱۸

۱-۷-۱ عوامل موثر بر نورون‌زایی در SVZ ۱۸

۱-۷-۱-۱ LIF و CNTF ۱۹

۱-۷-۱-۲ Notch ۱۹

۱-۷-۱-۳ BMPs ۲۰

۱-۷-۲ عوامل موثر بر نورون‌زایی هیپوکامپ ۲۰

۱-۷-۲-۱ کنترل محیطی نورون‌زایی ناحیه‌ی هیپوکامپ بالغین..... ۲۰
۱-۷-۲-۲ نقش آستروسیت‌ها در نورون‌زایی..... ۲۱
۱-۷-۲-۳ نقش پیام‌رسانی Wntدر جایگاه ویژه نورون‌زای هیپوکامپ..... ۲۲
۱-۸ تأثیر هورمون بر نورون‌زایی بالغین..... ۲۳
۱-۸-۱ استروژن و تستوسترون..... ۲۳
۱-۸-۲ پرولاکتین..... ۲۴
۱-۸-۳ کورتیکواستروئید/استروئیدهای استرسی آدرنال..... ۲۴
۱-۸-۴ «۱۷ بتا استرادیول»..... ۲۵
۱-۹ عوامل موثر دیگر بر نورون‌زایی..... ۲۸
۱-۱۰ چرخه‌ی فحلی..... ۲۸
۱-۱۱ ضرورت و اهداف تحقیق..... ۲۹
۱-۱۲ سؤالاتی که در این تحقیق به آن‌ها پاسخ داده خواهد شد..... ۲۹
فصل دوم: مواد و روش‌ها..... ۳۲
۲-۱ تهیه و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی..... ۳۳
۲-۲ روش انجام تحقیق و مراحل اجرا..... ۳۳
۲-۲-۱ تعیین و انتخاب مراحل چرخه استروس..... ۳۴
۲-۲-۱-۱ مقید کردن حیوانات..... ۳۴
۲-۲-۱-۲ تهیه‌ی اسمیر..... ۳۴
۲-۲-۱-۳ رنگ‌آمیزی اسمیر..... ۳۵
۲-۳ آماده‌سازی موش‌های فاقد تخمدان..... ۳۶
۲-۴ تزریق ۱۷- بتا استرادیول و BrdU..... ۳۷
۲-۵ عملیات پرفیوژن..... ۳۸
۲-۶ مطالعه‌ی بافتی..... ۴۰
۲-۷ رنگ‌آمیزی نیسل..... ۴۲
۲-۸ روش شمارش سلولی..... ۴۳
۲-۹ مطالعه‌ی ایمنوهیستوشیمی..... ۴۴
۲-۹-۱ ایمنوهیستوشیمی BrdU..... ۴۵
۲-۹-۲ ایمنوهیستوشیمی GFAP..... ۴۸
فصل سوم: نتایج..... ۵۰
۳-۱ تعیین چرخه‌های تولیدمثلی بر اساس اسمیر واژن ۵۴

۳-۲ بررسی اثر جایگزینی ۱۷- بتا استرادیول به دنبال اوارکتومی بر سیتولوژی اسمیر واژن.....۵۴
۳-۳ رنگ‌آمیزی نیسل از مقاطع کرونال.....۶۳
۳-۳- ۱ بررسی اثر جایگزینی ۱۷- بتا استرادیول به دنبال اوارکتومی بر بافت‌شناسی هیپوکامپ.....۶۱
۳-۳-۲ بررسی اثر جایگزینی ۱۷- بتا استرادیول به دنبال اوارکتومی بر تعداد نورون‌ها در مناطق مختلف هیپوکامپ.....۶۲
۳-۴ بررسی وضعیت عروق خونی در گروه‌های مورد مطالعه.....۶۷
۳-۵ ایمنوهیستوشیمی آنتی GFAP.....۶۸
۳-۶ ایمنوهیستوشیمی آنتی BrdU.....۷۰
فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری.....۷۱
۴-۱ بررسی اثر جایگزینی ۱۷-بتا استرادیول به دنبال اوارکتومی بر بافت‌شناسی مناطق مختلف هیپو-کامپ.....۷۲
۴-۲ بررسی اثر جایگزینی ۱۷-بتا استرادیول به دنبال اوارکتومی بر تعداد نورون‌ها در مناطق مختلف هیپو-کامپ.....۷۳
۴-۳ بررسی وضعیت عروق خونی به دنبال جایگزینی ۱۷- بتا استرادیول در گروه‌های مورد مطالعه.....۷۴
۴-۴ بررسی اثر جایگزینی ۱۷-بتا استرادیول به دنبال اوارکتومی در مورفولوژی آستروسیت‌ها.....۷۴
۴-۵ بررسی اثر جایگزینی ۱۷-بتا استرادیول به دنبال اوارکتومی در تعداد آستروسیت‌ها.....۷۴
۴-۶ بررسی اثر جایگزینی ۱۷-بتا استرادیول به دنبال اوارکتومی در تعداد سلول‌های نشان‌دار شده با BrdU.....۷۴
۴-۷ نتیجه‌گیری.....۷۴
۸پیشنهادها.....۷۵

فهرست شکل‌ها و نمودارها

عنوان صفحه

شکل ۱-۱ نورون‌زایی در SGZ ۵

شکل ۱-۲ نورون‌زایی در SVZ ۵

شکل ۱-۳ نحوه‌ی مهاجرت و بیان فاکتورها در نورون‌زایی SVZ ۷

شکل ۱-۴ نحوه‌ی مهاجرت و بیان فاکتورها در نورون‌زایی SGZ ۹

شکل ۱- ۵ ساختمان هیپوکامپ موش صحرایی ۱۰

شکل ۱-۶ ساختمان هیپوکامپ موش صحرایی ۱۱

شکل ۱-۷ تصویر شماتیک از هیپوکامپ ۱۳

شکل ۱-۸ نقش آستروسیت‌ها در CNS ۲۲

شکل ۱-۹ نحوه‌ی اثر استرادیول ۲۶

جدول ۱-۱ تأثیر استروژن درون‌زاد و برون‌زاد بر نورون‌زایی هیپوکامپ ۲۷

شکل ۳-۱ چرخه‌ی تولیدمثلی بر اساس اسمیر واژن ۵۱

شکل ۳-۲ سیتولوژی اسمیر واژن ۵۲

شکل ۳-۳-۱ تصاویر رنگ‌آمیزی نیسل با بزرگنمایی ۴۰ از برش‌های ناحیه شکنج دندانه‌ای ۵۴

شکل ۳-۳-۲ تصاویر رنگ‌آمیزی نیسل با بزرگنمایی ۴۰ از برش‌های ۵۵

شکل ۳-۳-۳ تصاویر رنگ‌آمیزی نیسل با بزرگنمایی ۴۰ از برش‌های ناحیه CA3CA1 ..... ۵۶

نمودار ۳-۳-۱ تعداد نورون‌ها در منطقه شکنج دندانه‌ای ۵۷

نمودار ۳-۳-۲ تعداد نورون‌ها در منطقه‌ی CA1 ..... ۵۸

نمودار ۳-۳-۳ تعداد نورون‌ها در منطقه CA3 ..... ۵۹

شکل ۳-۴ وضعیت عروق خونی ۶۰

شکل ۳-۵-۱ ایمنوهیستوشیمی سلول‌های GFAP مثبت در شکنج دندانه‌ای ۶۲

شکل ۳-۵-۲ ایمنوهیستوشیمی سلول‌های GFAP مثبت در CA1 ..... ۶۴

نمودار ۳-۵ تعداد نورون‌ها در شکنج دندانه‌ای ۶۵

شکل ۳-۶ سلول‌های نشان‌دار شده با BrdU در شکنج دندانه‌ای ۶۶

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱ نورون‌زایی[1]

از شروع علم اعصاب جدید در اواخر قرن ۱۹ به نظر می‌رسید که سیستم عصبی به لحاظ ساختمانی بعد از تولد تا آخر عمر به صورت ثابت باقی می‌ماند [۱]. فرض بر این بوده است که تولید سلول‌های عصبی در پستانداران عمدتاً محدود به مرحله‌ی تکوین قبل از تولد است. بدین معنی که مغز بالغ فاقد سلول‌های بنیادی[2] بوده و توانایی تولید سلول‌های عصبی جدید و احیای مجدد پس از صدمات را ندارد [۲]. در دهه‌های اخیر با روش‌های جدید و با استفاده از H3 تیمیدین این نظریه به چالش افتاد. با استفاده از این روش نورون‌های جدید را در پیاز بویایی[3]، هیپوکامپ و قشر مغز[4] گزارش دادند [۱]. مطالعات نشان دادند که نورون‌زایی در مناطق مشخص مغز جوندگان بالغ رخ می‌دهد [۲].

۱-۲ انواع سلول‌های عصبی

سیستم عصبی مرکزی[5](CNS) در پستانداران دارای ساختار پیچیده‌ای است و از تعداد زیادی نورون و تعداد بیشتری سلول گلیال تشکیل‌شده است [۳]. گلیاها شامل سلول‌های شوآن، الیگودندروسیت، آستروسیت‌ها و میکروگلیال می‌باشد. سلول‌های شوآن و الیگودندروسیت در تشکیل غلاف میلین دخالت دارند. آستروسیت‌ها به عنوان سلول‌های حمایت‌کننده‌ی عصبی می‌باشند. میکروگلیاها که از سلول‌های اجدادی میلوئیدی[6] مقیم در مغز استخوان منشأ می‌گیرند، جزء سلول‌های ایمنی می‌باشند [۴].

۱-۳ نورون‌زایی

توانایی سلول‌های بنیادی عصبی برای جایگزینی سلول‌های عصبی از بین رفته یا آسیب‌دیده را نورون‌زایی می‌گویند [۵]. نورون‌زایی در تمام طول عمر پستانداران در مغز بالغین اتفاق می‌افتد. نورون‌زایی شامل فرآیندهای مختلفی است که عبارت‌اند از: تکثیر[7]، تعیین سرنوشت سلولی[8]،

[1] Neurogenesis
[2] Stem Cell
[3] Olfactory Bulb
[4] Cerebral Cortex
[5] Central Nervous System
[6] Myeloid Progenitor Cells
[7] Proliferation
[8] Cell Fate

تمایز[1]، مهاجرت[2] و ادغام[3] [۶, ۷]. نورون‌زایی فرآیندی است که هم تکثیر (تولید سلول‌های جدید) و هم بقاء سلولی (تعداد نورون‌های جدید که زنده مانده و بالغ شده‌اند) را شامل می‌شود. عوامل موثر بر تکثیر سلولی آن‌هایی هستند که میتوز را در سلول‌های پیش‌ساز مهار و یا تحریک می‌نمایند. عوامل موثر بر بقای سلولی، تمایز و یا بلوغ سلول به نورون‌های بالغ را تحریک کرده و یا آن را مهار می‌نمایند. افزایش تعداد نورن‌های جدید نه تنها با افزایش تکثیر سلولی بلکه با افزایش بقای نورون‌های جدید صورت می‌گیرد. بقای سلولی ممکن است مستقل و یا وابسته به تکثیر سلولی باشد. درک مکانیسم‌های تنظیمی تکثیر و بقای سلولی در نورون‌زایی مهم است [۸].

۱-۳-۱ مناطق نورون‌زا

توانایی تولید پیوسته نورون‌های جدید در مغز بالغ در برخی از مناطق خاص مغز کشف گردید که این مناطق دارای سلول‌های بنیادی عصبی[4] (NSCs) می‌باشند که به آن‌ها مناطق نورون‌زا[5] می‌گویند. سلول‌های بنیادی عصبی، سلول‌های چند توان[6] با قابلیت خود تکثیری[7] هستند و سلول‌های اصلی سیستم عصبی شامل نورون، آستروسیت و الیگودندروسیت را تولید می‌کنند [۷].

در طول تکوین سلول‌های بنیادی نورواپی‌تلیال[8] از محدوده‌ی بطن، نورون‌های اصلی و گلیا را در مغز نوزاد تازه متولد شده تولید می‌کنند. این فعالیت محصول نهایی دو عمل است: گلیوژنز[9] که در سرتاسر CNS اتفاق می‌افتد و نورون‌زایی که محدود به پیاز بویایی و هیپوکامپ می‌باشد [۹].

این عقیده که سلول‌های گلیا می‌توانند به عنوان سلول‌های پیش‌ساز عصبی عمل کنند به اواخر قرن ۱۹ برمی‌گردد. بافت‌شناسانی مثل گلژی، ماژینی و هیس برای اولین بار فعالیت میتوزی را در کورتکس در حال تکامل مشاهده کردند. اگرچه عقیده بر این بود که به لحاظ بافت‌شناسی محدوده‌ی بطنی جایگاه ترکیبات عصبی و سلول‌های پیش‌ساز گلیایی است، بافت-

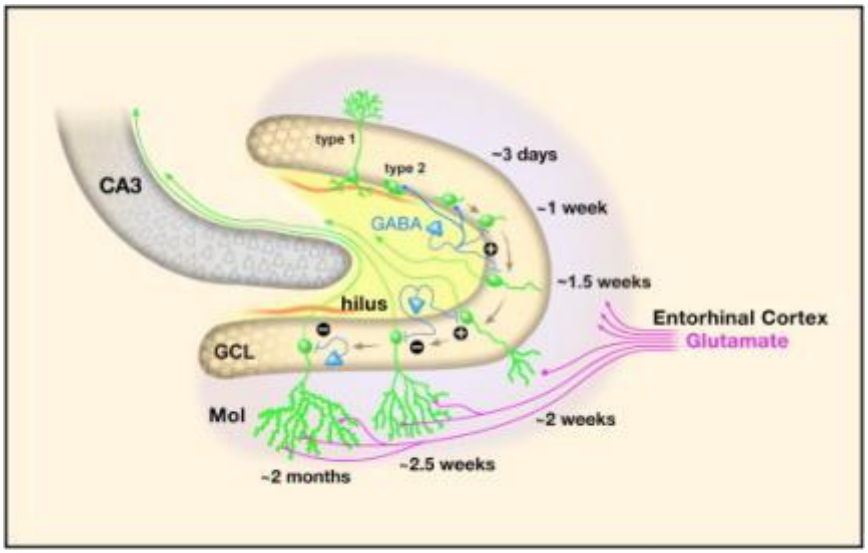
[1] Differentiation
[2] Migration
[3] Integration
[4] Neural Stem Cell
[5] Neurogenic Zone
[6] Multipotent
[7] Self renewal
[8] Neuroepitelial
[9] Gliogenesis

شناسان روبر[1] و مرک[2] برای اولین بار گزارش کردند که فعالیت میتوزی در خارج از محدوده‌ی بطنی اتفاق می‌افتد. نورون‌ها به طور معمول از طریق یک واسط به نام سلول پیش‌ساز[3] از سلول‌های بنیادی عصبی متمایز می‌شوند. انواع سلول‌ها از یک ذخیره‌ی سلول‌های بنیادی عصبی شامل سلول‌های گلیای شعاعی[4] و آستروسیتی منشأ می‌گیرند [۴].

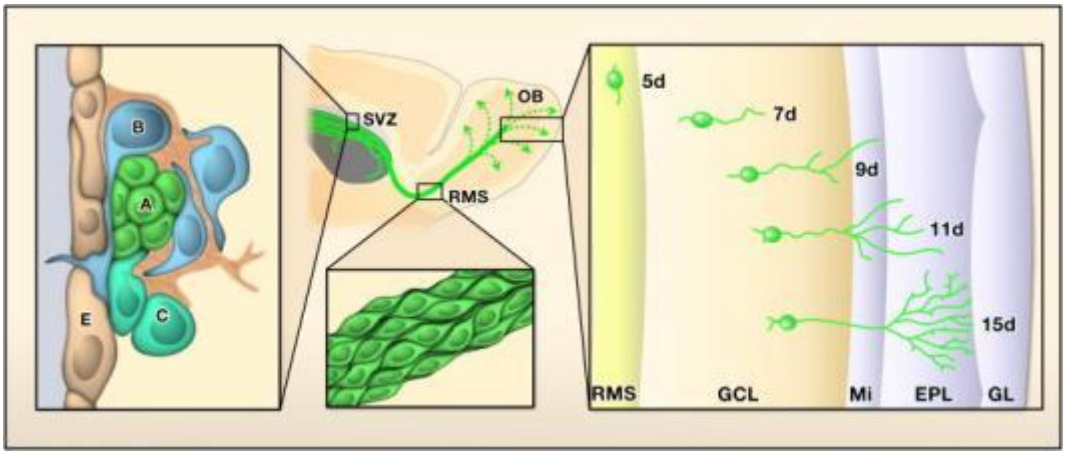
سلول گلیا در طول تکوین مغز پستانداران از یک لایه‌ی سلولی احاطه شده با مایع بطن[5]، شکل می‌گیرد. این محدوده دارای سلول‌ها با خاصیت تقسیم می‌باشد. محدوده‌ی بطنی[6] (V.Z) نورون‌هایی تولید می‌کنند که مهاجرت کرده و تمام ساختمان‌های مغزی را شکل می‌دهند. محدوده‌ی دوم زایا که در طول دوران جنینی دیرتر و پایین تر از محدوده‌ی بطنی شکل می-گیرد، منطقه‌ی زیر بطنی[7] (SVZ) نامیده می‌شود که هم نورون‌ها و هم گلیاها را تولید می‌کند. این روند تا یک هفته بعد از تولد ادامه می‌یابد و بعد از آن V.Z ناپدید می‌شود و یک لایه‌ی نازک از SVZدر مغز پیشین[8] باقی می‌ماند [۱۰].

در شرایط عادی نورون‌زایی در بالغین به طور واضح در دو منطقه اتفاق می‌افتد: ۱) منطقه‌ی زیر بطنی (SVZ) در قسمت قدامی بطن مغز پیشین، ۲) منطقه‌ی زیر گرانولی[9] (SGZ) در شکنج دندانه‌ای[10] در داخل هیپوکامپ (شکل‌های۱-۱و ۱-۲) [۶, ۱۰-۱۵].

[1] Rauber
[2] Merk
[3] Precursor
[4] Radial Glial
[5] Ventricle
[6] Ventricular Zone
[7] Sub Ventricular Zone
[8] Forebrain
[9] Sub Granular Zone
[10] Dentate Gyrus



شکل ۱-۱: نورون‌زایی در SGZ [۱۳]



شکل۱-۲: نورون‌زایی در SVZ [۱۳]

به طور جالبی، خیلی از پیشرفت‌ها در مورد نورون‌زایی در پستانداران از مطالعات بر روی سیستم آواز پرندگان است [۷, ۱۰]. نورون‌های جدید در تلانسفال[1] پرندگان آوازی نر بالغ گزارش شده است. این نورون‌ها آواز فصلی و تولیدمثل فصلی در این پرندگان را کنترل می‌کنند [۱۰].

در برخی گونه‌ها نورون‌زایی در فرم بالغ ممکن است در مناطق دیگری از مغز مانند منطقه‌ی CA1، نئوکورتکس، هسته‌ی بادامی شکل[2]، جسم مخطط[1]، بطن سوم[2]، جسم سیاه[3] و برخی

[1] Telencephalon
[2] Amygdala Nucleus

مناطق دیگر نیز رخ دهد [۲, ۸]. اولین شواهد که سلول‌های بنیادی عصبی درون‌زا می‌توانند نورون‌ها را در مناطق CNS بالغین در خارج از این مناطق نورون‌زا جایگزین کنند توسط مگاوی[۴] و همکاران در سال ۲۰۰۳ تهیه شد [۱۶].

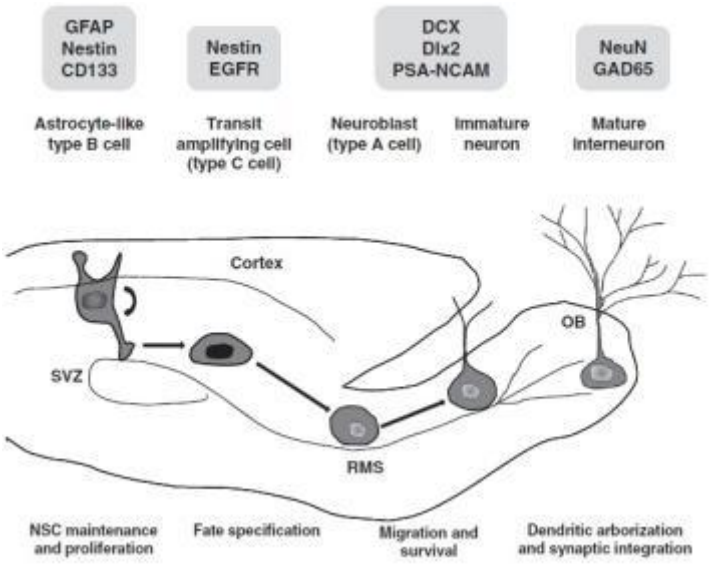
SVZ ۱-۱-۳-۱

میزان بالایی از مناطق زایا در مغز بالغین در SVZ (دیواره‌های جانبی بطن‌های جانبی) است. تصور بر این بود که اغلب سلول‌های تولید شده در SVZ در دوران جنینی، به نورون تمایز می‌یابند درحالی‌که تنها سلول‌های گلیا در SVZ بالغین تولید می‌شود [۱۰]. پیشرفت در تکنیک‌های ایمنوهیستوشیمی[۵] اطلاعاتی در مورد سلول‌های اجدادی SVZ در اختیار قرار داد. سلول‌های آپاندیمال و زیر آپاندیمال که به آهستگی در حال تقسیم می‌باشند، GFAP و Prominin-1/CD133 را بیان می‌کنند که به عنوان سلول‌های بنیادی عصبی اولیه (سلول‌های نوع B) در SVZ بالغین می‌باشند. اگرچه Prominin-1/CD13 توسط سایر سلول‌های بنیادی غیر عصبی مانند سلول‌های بنیادی خون‌ساز[۶] و میوژنیک نیز بیان می‌شود. سلول‌هایی که GFAP و Prominin-1/CD13 را بیان می‌کنند و خصوصیات سلول‌های بنیادی را دارند در دیواره‌ی بطن جانبی باقی می‌مانند و از طریق تقسیمات نامتقارن تبدیل به سلول‌های انتقالی تقویت کننده[۷] (TAC) (سلول‌های نوع C) می‌شوند. سلول‌های انتقالی تقویت‌کننده که گیرنده‌ی فاکتور رشد اپیدرمی (EGF)[۸] را بیان می‌کنند به نوروبلاست‌ها[۹] (سلول‌های نوع A) که مولکول چسبنده عصبی پلی‌سیالیک[۱۰] (PSA-NCAM) را بیان می‌کنند تبدیل می‌شوند [۱۷]. آنالیز ساختاری SVZ در بالغین با استفاده از میکروسکوپ الکترونی چهار نوع سلول اصلی در این ناحیه را نشان داد. یک تک لایه سلول‌های آپاندیمال مفروش کننده‌ی بطن وجود دارد. در مجاور لایه سلولی آپاندیمال[۱۱] تجمعی از نوروبلاست‌ها (سلول نوع A) می‌باشند که به صورت زنجیره‌ی محکمی از سلول‌ها در طول SVZ مهاجرت می‌کنند. سرانجام این سلول‌ها از طریق جریان مهاجرتی سری (RMS)[۱۲] به سمت پیاز بویایی (OB)[۱] هدایت می‌شوند. نورون‌های نابالغ

---

[1] Striatum
[2] Third Ventricle
[3] Substantia Nigra
[4] Magavi
[5] Immunohistochemistry
[6] Hematopoietic Stem Cell
[7] Transit Amplifying Cells
[8] Epidermal Growth Factor
[9] Neuroblast
[10] Polysialylated Neural Adhesion Molecule
[11] Ependymal Cells
[12] Rostal Migratory Stream

برای رسیدن به پیاز بویایی به شکل زنجیره‌ای مماسی[۲] در داخل داربست لوله‌ای شکل گلیا[۳] ایجاد شده توسط آستروسیت‌ها (سلول نوع B) و سلول‌های آپاندیم اقدام به مهاجرت می‌کنند [۱۰, ۱۸]. آستروسیت‌ها زنجیره‌های نوروبلاست را احاطه کرده و سلول‌های پیش ساز انتقالی تقویت‌کننده (TAC) (سلول نوع C) در میان زنجیره‌ها به طور پراکنده یافت می‌شوند. سلول TAC جزء سلول‌های فعال از نظر تقسیم در SVZ است، فنوتیپ نابالغ دارد و مشخصات و ویژگی‌های ایمنوهیستوشیمی و مورفولوژیکی کمی دارد (شکل ۱-۳) [۱۰].



شکل ۱-۳: نحوه‌ی مهاجرت و بیان فاکتورها در SVZ [۱۷]

با جدا کردن سلول‌های بنیادی از SVZ این سلول‌ها در محیط کشت و در حضور فاکتورهای میتوژن مانند فاکتور رشد اپیدرمی و فاکتور رشد فیبروبلاستی[۴](FGF) به صورت نوروسفری[۵] رشد می‌کنند. تعدادی از این گویچه‌های اولیه در محیط کشت گویچه‌های ثانویه را به وجود می‌آورند و قادر به خود بازسازی در خیلی از پاساژها می‌باشند. این جمعیت خود نوساز[۶] چند توان است و قادر به تولید نورون‌ها، الیگودندروسیت‌ها و آستروسیت‌ها می‌باشند. تعیین دقیق سلول‌های بنیادی عصبی در شرایط *in vivo* به علت کاهش حساسیت نشانگرهای[۷] ایمنولوژی

[1] Olfactory Bulb
[2] Tangentially
[3] Glial Tubes
[4] Fibroblastic Growth Factot
[5] Neurocpheres
[6] Self-renewing
[7] Markers

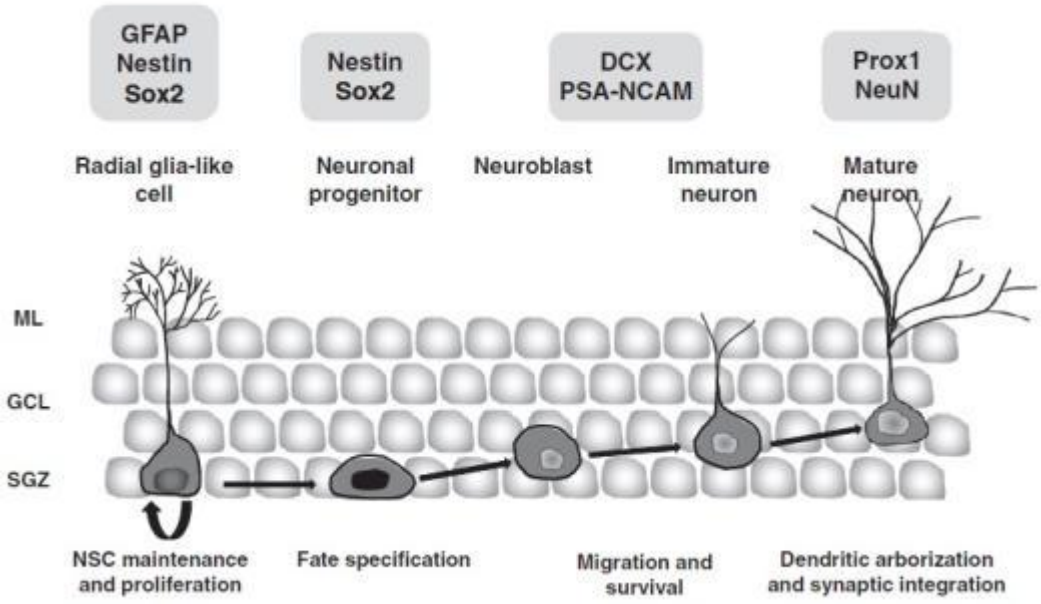
در تعیین انواع سلول در SVZ با مشکلاتی رو به رو است. مطالعات اخیر نشان داده است که با استفاده از یک عامل ضد میتوزی مانند Ara-C[1] آن سلول‌هایی که پروتئین اسیدی رشته‌ای گلیالی (GFAP)[2]مثبت می‌باشند و خصوصیات آستروسیتی را نشان می‌دهند بعد از حذف Ara-C دوباره ایجاد می‌شوند. علاوه بر این سلول‌های GFAP مثبت می‌توانند نوروسفرها را تولید کنند. خیلی از مطالعات نشان داده است که سلول‌های بنیادی عصبی برخی از خصوصیات آستروسیت‌ها را دارند [۱۷].

GFAP پروتئینی است که از سایر نشانگرهای گلیایی بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است. این پروتئین نسبتاً محلول در آب است که ابتدا از پلاک‌های اسکلروز متعدد[3] (MS) و سپس از ماده‌ی سفید طبیعی جدا گردیده است. وزن مولکولی آن حدود ۵۰ کیلو دالتون و زیر گروهی از رشته‌های گلیالی[4] می‌باشد. بیان GFAP فقط در سلول‌های گلیال و نوروفیلامان در سلول-های نورونی می‌باشد. در سیستم عصبی مرکزی آنتی‌سرم‌ها و آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد GFAP به طور اختصاصی با آستروسیت‌های نرمال در ماده‌ی سفید و خاکستری و Bergmanns glia در انسان، پستانداران و دیگر مهره‌داران واکنش می‌دهد.

SGZ ۲-۱-۳-۱

دو نوع پروژنیتور عصبی بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و بیان نشانگرهای مولکولی ویژه در SGZ مشخص شده است. نوع I سلول‌های شبه شعاعی گلیایی[5] (RGLs) می‌باشند. پروژنیتور-هایی که دارای زوائد شعاعی بوده که از کل لایه‌ی سلولی گرانولی عبور کرده و در لایه‌ی سلولی مولکولی شاخه شاخه می‌شود. این سلول‌ها Nestin، GFAP و SOX2 را بیان می‌کنند. RGLs دارای ظرفیت خود بازسازی و چند توان می‌باشند و علاوه بر تولید RGLs، نورون‌ها و آستروسیت‌ها را نیز تولید می‌کنند. تقسیم نامتقارن RGLs سلول‌های دختری اجدادی (سلول نوع II) را که نستین و SOX2 را بیان می‌کنند و GFAP را بیان نمی‌کنند را ایجاد می‌کند (شکل ۱-۴) [۹, ۱۳, ۱۷].

[1] cytosin β-D-arabinofuranoside
[2] glial fibrillary acidic protein
[3] Multiple Sclerosis
[4] Glio Filamen
[5] Radial Glial Like Cells



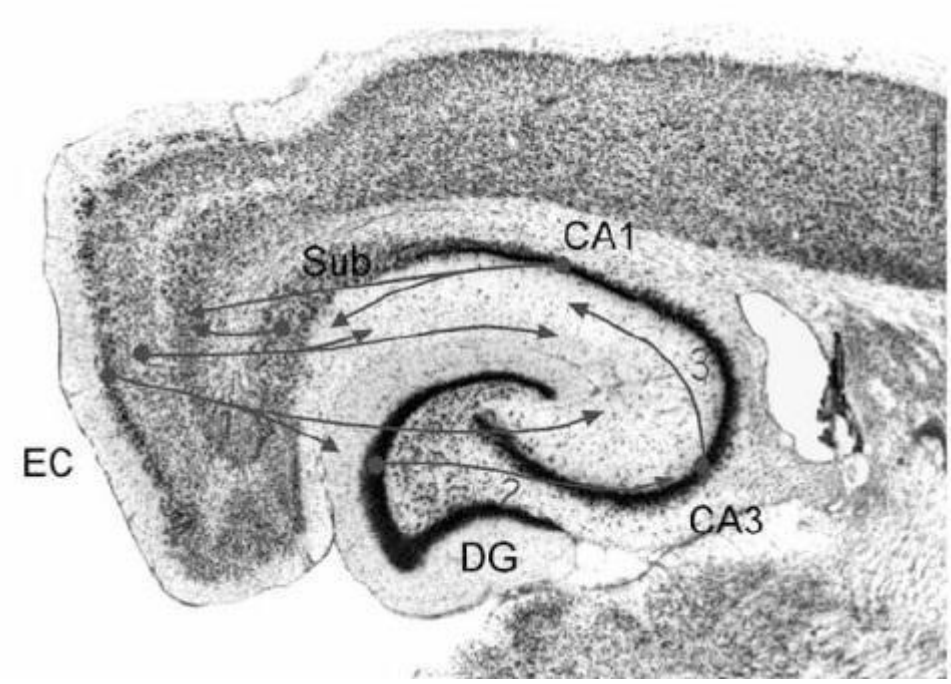
شکل۱-۴: نحوه‌ی مهاجرت و بیان فاکتورها در SGZ [۱۷]

سلول‌های GFAP مثبت خصوصیات آستروسیت‌ها را دارند: سیتوپلاسم شفاف حاوی تعدادی ریبوزوم، فیلامنت‌های حد واسط و نامنظم با غشای پلاسمایی و زوائدی که به سلول-های مجاور فرستاده می‌شود. سلول‌های آستروسیت به لحاظ ساختمانی با سلول‌های نوع B در SVZ شباهت دارند، بنابراین به آن‌ها سلول‌های B در SGL می‌گویند [۱۹].

۱-۴ هیپوکامپ

هیپوکامپ یک محدوده‌ی متمایز در مغز است. هیپوکامپ ساختمان فشرده، طویل و خمیده‌ای شبیه به اسب دریایی دارد. دو هیپوکامپ در دو طرف مغز قرار دارد. آن‌ها در زیر نئوکورتکس در سطح میانی قاعده‌ای لوب‌های تمپورال قرار گرفته‌اند. هیپوکامپ از نظر آناتومی ساده‌تر ازسایر مناطق سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. از دو منطقه تشکیل‌شده‌اند: شکنج دندانه‌ای (DG) و شاخ آمون (CA)[1]. محدوده‌ی CA به چهار بخش تقسیم می‌شود: CA1، CA2، CA3، CA4 (شکل۱-۵) [۲۰].

[1] Cornu Ammonis



شکل ۱- ۵: ساختمان هیپوکامپ موش صحرایی [۲۱]

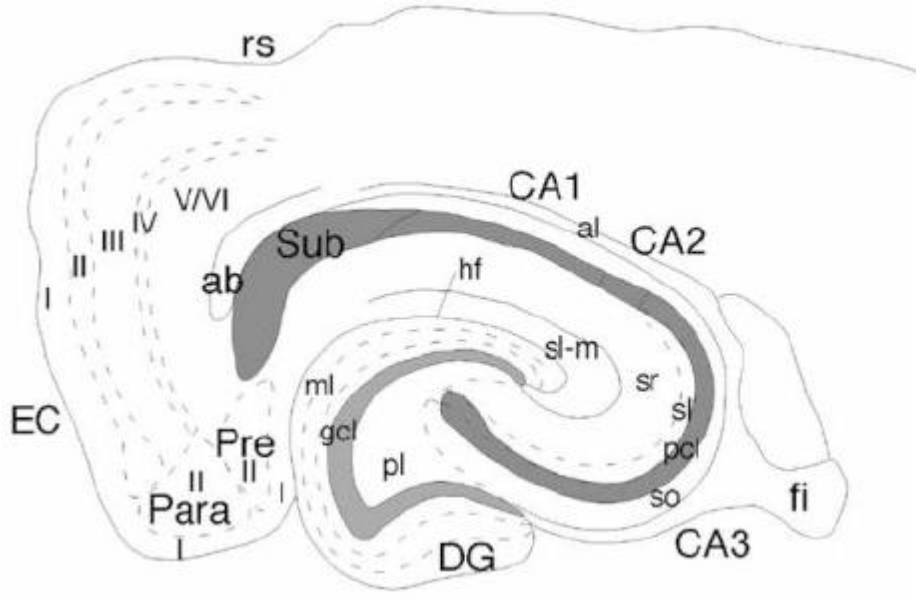
سلول اصلی در DG سلول گرانولی و در CA سلول هرمی[1] می‌باشد. ورودی اصلی به هیپو-کامپ از کورتکس انتورینال است. هیپوکامپ و کورتکس انتورینال مراکز اصلی حافظه در مغز می‌باشند. هیپوکامپ دارای الگوی ارتباطی بی‌نظیری است. یک حلقه‌ی سه تایی سیناپس در امتداد محور سپتوتمپورال (قطب آمیگدال به سمت سپتوم در امتداد لوپ تمپورال) خود دارند [۲۰].

کورتکس مغز با ساختار پیشرفته‌اش نقش‌های مهمی در عملکرد مغز مانند هوشیاری، پردازش اطلاعات، زبان، حافظه و ادراک دارد. نئوکورتکس محدوده‌ی بیرونی کورتکس مغز است؛ که دارای لوب‌ها (لوب‌های فرونتال، اکسی‌پیتال، تمپورال، پریتال) یا ساختارهای مغزی چین‌خورده است. هیپوکامپ از آمیگدال به سمت سپتوم در امتداد لوب‌های تمپورال گسترش یافته است. هیپوکامپ و سابی‌کولوم[2] (در قسمت تحتانی هیپوکامپ) به عنوان ساختارهای هیپوکامپی مشخص شده‌اند. هیپوکامپ به لحاظ تکاملی یکی از قدیمی‌ترین ساختارهای مغزی است. هیپوکامپ ورودی اصلی را از کورتکس انتورینال دریافت می‌کند و خروجی‌ها را به سایر

[1] Pyramidal
[2] Subiculum

مناطق لیمبیک و خارج لیمبیکی مانند فیمبریا/فورنیکس و نئوکورتکس تمپورال می‌فرستد. قسمت داخلی شکنج دندانه‌ای ناف[1] یا منطقه‌ی نافی نامیده می‌شود [۲۰].

DG و CA در لایه‌ها یا استراها[2] سازمان‌دهی شده‌اند. لایه‌های DG از داخل به خارج عبارت است از: لایه‌ی پلی مورفیک[3]، استراتوم گرانولوزوم[4]، استراتوم مولکولار[5]. لایه‌ی پلی‌مورفیک در داخل ناف قرار دارد. لایه‌های CA از داخل به خارج عبارت است از: استراتوم مولکولار، استراتوم لاکونوزوم[6] (لاکونوزوم-مولکولار)، استراتوم ردیاتوم[7]، استراتوم لوسیدم[8]، استراتوم پیرامیدال[9]، استراتوم اورینس[10] و آلویوس[11] (شکل ۱-۶) [۲۰].



شکل ۱-۶: ساختمان هیپوکامپ موش صحرایی [۲۱]

در لایه‌ی پلی مورفیک شکنج‌دندانه‌ای، استراتوم اورینس و استراتوم رادیاتوم در منطقه‌ی CA دارای انواع مختلف اینترنورون‌ها، سلول‌های خزنده، سلول‌های سبدی[12] و سلول‌های دو قطبی[1] می‌باشد [۲۰].

[1] Hilus
[2] Strata
[3] Polymorphic Layer
[4] Stratum Granulosum
[5] Stratum Moleculare
[6] Stratum Lacunosum
[7] Stratum Radiatum
[8] Stratum Lucidum
[9] Stratum Pyramidale
[10] Stratum Oriens
[11] Alveus
[12] Basket Cells