مخطوطة
٥١٩
بسم الله الرحمن الرحيم
١٩/١ ب
١١٤٥٨ - ٢٠٠٢٩٢

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی

عنوان:

بررسی امکان مشارکت توان فیزیولوژیک مغز (Endogenous Adult Neural Stem Cells) در ترمیم غلاف میلین عصب بینایی و کیاسمای دمیلینه شده با لیزولسیتین در موش صحرایی

نگارش:
صباح مظفری

استاد راهنما:
دکتر محمد جوان

استاد مشاور:
دکتر تقی طریحی

۱۳۸۸/۴/۱

مرکز اطلاعات مدارک علمی
تهیه مدارک

۱۳۸۷

۱۱۴۵۸۳

فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در پایان‌نامه کارشناسی ارشد»

بدینوسیله پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم صباح مظفری رشته: فیزیولوژی گرایش:
تقدیم می‌شود. اینجانبان نسخهٔ نهائی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوی بررسی و تأیید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجهٔ کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنیم.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر محمد جوان (استاد راهنما)

دکتر تقی الطریحی (استاد مشاور)

دکتر ابوالحسن احمدیانی (استاد ناظر)

دکتر سعید سمنانیان (استاد ناظر)

دکتر سید جواد میرنجفی زاده (نماینده تحصیلات تکمیلی)

آئین نامه پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیتهای علمی ـ پژوهشی دانشگاه است .بنابراین به منظورآگاهی و رعایت حقوق دانشگاه ، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود ،مراتب را قبلا به طور کتبی به دفتر " دفتر نشر آثار علمی " دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند :

" کتاب حاضر ، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده دررشته ..صبیر بولعوری.. است که در سال ..۱۳۸۷.. دردانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی ..دکتر محمد جوان.. ، مشاوره ..دکتر یحیی طالبی..... از آن دفاع شده است."

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه ،تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قراردهد .

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳ ، ۵۰ ٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس ،تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداختهای بهای خسارت ،دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه ووصول کند ،به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود ، ازطریق دادگاه ، معادل وجه مذکور در ماده ۴ رااز محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش ،تامین نماید .

ماده ۶: اینجانب ..صبیح نظری.. دانشجوی رشته ..صبیر بولعوری.. مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده ، به آن ملتزم می شوم.

نام ونام خانوادگی
تاریخ و امضا

۱۳۸۷/۷/۷

صبیح نظری

دستورالعمل حق مالکیت مادي و معنوي در مورد نتایج پژوهشهاي علمي
دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی 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 هیات علمی، دانشجویان ، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.
تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آئین نامه های مصوب انجام می شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی حاصل از نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸٤/٤/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگي . صباح نظری
تاریخ و امضاء
۱۳۸۷/۷/۱۷

همتم بدرقه راه کن ای طائر قدس که درازست ره مقصد و من نوسفرم

در اینجا وظیفه خود می دانم که مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را نثار سرورانی نمایم که در انجام این پژوهش مرا یاری نمودند.

استاد راهنمای محترم جناب آقای دکتر محمد جوان که راهنمایی های ایشان در طول انجام مراحل تحقیقاتی گره گشای بسیاری از مشکلات موجود در این پروژه بوده است.

استاد مشاور ارجمند جناب آقای دکتر تقی طریحی که اوقات گرانبهای خود را در اختیار اینجانب قرار داده و از تجارب ارزشمندشان مستفیض فرمودند.

استاد گرامی جناب آقای دکتر میرنجفی زاده که از هیچ کوششی در اجرای این پروژه دریغ نورزیدند.

تقدیر از کارشناس محترم جناب آقای پور بیرانوند و دانشجویان دکتری گروه آناتومی به ویژه آقایان نقدی و کاکا و خانمها آبسالان و ماکولاتی که در انجام تکنیکهای ایمونوهیستوشیمی و پیشبرد پروژه کمک بسیار شایانی نمودند.

تشکر فراوان از آقای محمد امین شرافت که در انجام مطالعات مولکولی کمک بسیار موثری نمودند.

قدردانی بی کران نثار خانواده ام و دوستانی که در تمامی مراحل مشوقم بودند و در انجام این پژوهش یاری نمودند.

چکیده:

هدف: دمیلیناسیون آکسونها در CNS بزرگسالان جوان، مشخصه برجسته MS می باشد. دستگاه بینایی در بیش از ۷۰ درصد بیماران متأثر می گردد. تا کنون درمان کاملی برای MS وجود نداشته است. رمیلیناسیون خودبخودی در MS روی می دهد، اگر چه ناکامل است. سلولهای بنیادی عصبی در مغز بزرگسالان ظرفیت فیزیولوژیک قابل توجهی را فراهم نموده اند. امکان مشارکت این ظرفیت بالقوه در پاسخ به القا آسیب دمیلینه کننده تجربی در ناحیه کیاسما و عصب بینایی هدف اصلی این تحقیق بوده است.

روش ها: پس از ایجاد دمیلیناسیون تجربی به کمک تزریق موضعی لیزولسیتین در ناحیه کیاسما و عصب بینایی، مطالعه با ارزیابی هیستولوژیک وسعت و شدت دمیلیناسیون با استفاده از رنگ آمیزی اختصاصی میلین و اندازه گیری بیان ژنهای MBP، Olig2 و GFAP -که به ترتیب معرف فعالیت الیگودندروسیتهای بالغ، پیش سازهای الیگودندروسیتی فعال شده و آستروسیتها می باشند- در ناحیه آسیب انجام گرفت. ردیابی سلولهای بنیادی عصبی درونزاد با استفاده از BrdU و بررسی ایمونوهیستوشیمی آنتی ژنیسیته علیه نستین، یک مارکر سلولهای بنیادی عصبی، در نواحی زیربطنی بطنهای جانبی و سوم و ناحیه آسیب صورت گرفت.

یافته ها: ارزیابی هیستولوژیک کیاسما و عصب بینایی بیشترین وسعت و شدت دمیلیناسیون را در روز ۷ و ۱۴ پس از آسیب نشان داد. رمیلیناسیون قابل توجهی در روز ۲۸ پس از آسیب مشاهده شد. در روز ۷ پس از آسیب بیان ژن MBP کاهش شدید و بیان ژنهای Olig2 و GFAP افزایش شدید نشان دادند که در روز های بعد از این میزان به تدریج کاسته شد. مطالعات ردیابی سلولی نشان دادند که با گذشت زمان از تعداد سلولهای +BrdU در نواحی زیر بطنی کاسته و بر این تعداد در ناحیه آسیب افزوده می گردد. پاسخ دهی ایمونوهیستو شیمی علیه نستین نشان داد که بیان این پروتئین جنینی در روز های پس از آسیب در نواحی زیر بطنی و جایگاه آسیب دچار تنظیم افزایشی می شود که پس از روز ۷ از این میزان کاسته می گردد.

نتیجه گیری: مغز بزرگسالان در بازسازی عصب و کیاسمای دمیلینه شده تجربی توسط لیزولسیتین از پتانسیل فیزیولوژیک درونزاد، پیش ساز های عصبی، استفاده می کند و قادر است سلولهای بنیادی عصبی ساکن در نواحی زیر بطنی بطن جانبی و سوم را به سوی ناحیه آسیب بسیج نماید.

واژگان کلیدی: دمیلیناسیون، رمیلیناسیون، MS، عصب و کیاسمای بینایی، لیزولسیتین، نواحی زیر بطنی بطنهای جانبی و سوم، سلولهای بنیادی عصبی درونزاد بالغین، موش صحرایی

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مقدمه ۲

فصل دوم: مروری بر منابع

۲-۱- سلولهای گلیالی ۶

۲-۲- تکوین رده الیگودندروسیتی و میلیناسیون ۷

۲-۳- فقدان میلین ۱۴

۲-۴- مالتیپل اسکلروزیس(MS) ۱۴

۲-۴-۱- اتیولوژی ۱۵

۲-۴-۲- انواع بیماری MS ۱۸

۲-۴-۳- تشخیص ۱۸

۲-۴-۴- درمان MS ۱۹

۲-۵- رمیلیناسیون درونزاد ۲۰

۲-۶- منشا سلولهای رمیلینه کننده در مغز بزرگسالان ۲۵

۲-۷- مدلهای MS ۲۹

فصل سوم: مواد و روشها

۳-۱- حیوانات ۳۲

۳-۲- القا دمیلیناسیون توسط لیزولسیتین ۳۲

۳-۳- مطالعات بافت شناسی ۳۳

۳-۳-۱- خارج کردن و پردازس بافت ۳۳

۳-۳-۲- مراحل پردازش بافت ۳۳

۳-۳-۳- برشگیری وتهیه لام از بافت ۳۴

۳-۳-۴- رنگ آمیزی دو گانه اختصاصی میلین توسط لوگزول فست بلو و کریزیل فست ویوله ۳۵

۳-۳-۵- تهیه تصویر از لامها و آنالیز تصاویر ۳۶

۳-۴- مطالعات مولکولی ۳۷
۳-۴-۱- مواد مورد استفاده ۳۷
۳-۴-۲- روش اندازه گیری بیان ژنهای MBP، Olig2 و GFAP ۳۷
۳-۵- ردیابی سلولهای بنیادی عصبی درونزاد مغز بالغ توسط BrdU ۴۰
۳-۵-۱- مطالعات ایمونوهیستوشیمی ۴۰
۳-۶- گروههای آزمایشی ۴۳
۳-۷- تجزیه و تحلیل آماری داده ها ۴۴

فصل چهارم: نتایج

۴-۱- بررسی بافت شناسی روند دمیلیناسیون و رمیلیناسیون القا شده با لیزولسیتین ۴۶
۴-۲- اندازه گیری وسعت و شدت دمیلیناسیون ۴۷
۴-۳- اندازه گیری بیان ژنهای MBP، Olig2 و GFAP به دنبال تزریق لیزولسیتین ۵۱
۴-۳-۱- بررسی کیفیت RNA ۵۱
۴-۳-۲- بهینه سازی تعداد واکنش PCR ۵۱
۴-۳-۳- بررسی بیان ژن MBP ۵۳
۴-۳-۴- بررسی بیان ژن Olig2 ..... ۵۴
۴-۳-۵- بررسی بیان ژن GFAP ۵۵
۴-۴- مشارکت سلولهای بنیادی درونزاد در ترمیم آسیب ۵۶
۴-۴-۱- کنترل آنتی بادی ها ۵۶
۴-۴-۲- کنترل BrdU ۵۸
۴-۴-۳- بررسی حضور سلولهای بنیادی در اپاندیمای بطن سوم ۵۹
۴-۴-۴- بررسی پاسخدهی سلولهای بنیادی عصبی در محل آسیب و جدار بطنها ۶۰
۴-۴-۵- نتایج حاصل از ارزیابی سلولهای بنیادی عصبی درونزاد با استفاده از BrdU ۶۳

فصل پنجم: بحث

۵-۱- بحث ۷۳
نتیجه گیری کلی ۸۴
پیشنهادها ۸۴
منابع ۸۵

فصل اول

مقدمه

۱-۱) مقدمه

میلیناسیون اکسونها در سیستم عصبی مرکزی مهره داران جهت هدایت پالسهای جهشی مورد نیاز است؛ در حالیکه دمیلیناسیون سبب ایجاد بیماریهای شدیدی نظیر مولتیپل اسکلروزیس (MS) می گردد[۱]. MS شایعترین بیماری دمیلینه کننده در انسان است که باالتهاب مزمن وتخریب انتخابی میلین در سیستم عصبی مرکزی شناخته می شود ولی به سیستم عصبی محیطی آسیبی نمی رساند[۱].

با آنکه درمان قطعی برای MS وجود ندارد، برخی داروها جهت بهبود علائم و سیر بیماری معرفی شده اند. آنچه مهم است اینکه درمانهای دارویی موجود اغلب جنبه علامتی، تسکینی و پروفیلاکتیک داشته[۲] و در بسیاری از موارد خود موانعی برای بهبود بشمار می آیند[۳-۶]. در دهه اخیر توجه محققان به طور عمده بر یافتن درمانهای ژنی، مولکولی و سلولی متمرکز گردیده است[۷]. در بیماری دمیلینه کننده‌ای نظیر MS ظرفیتهای تعمیری فیزیولوژیک وجود دارند اما باید دانست که به مقدار زیادی ناکافی هستند[۸]. جمعیت پیش‌سازهای الیگودندروسیتی (OPCs) موجود در محل Lesion های MS حتی اگر به دلیل آسیب به کام مرگ کشیده نشوند، در یک شکل غیر فعال باقی می مانند[۹, ۱۰] و به بازسازی میلین کمک مؤثری نمی کنند[۱۱, ۱۲]. OPCs که در نواحی سالم احاطه کنده ساکن اند، قادر به تکثیر آهسته و تولید الیگودندروسیتهای مولد میلین می باشند اما ظاهراً این نوع سلولها در CNS بزرگسالان به نواحی دور مهاجرت نمی کنند و به خدمت گیری آنها به درون ناحیه دمیلینه شده تنها محدود به بخش باریکی از اطراف Lesion است[۱۳, ۱۴]. ذخیره این قبیل سلولها نیز محدود بوده و به اتمام می رسند[۱۵]. در واقع عدم کفایت رمیلیناسیون در MS می تواند ناشی از تخلیه منبع سلولهای رمیلینه کننده، از دست رفتن اکسونها و فقدان یک محیط مناسب برای رمیلیناسیون باشد[۱۶].

در دهه اخیر شیوه هایی از پیوند اجداد سلولهای مولد میلین و بنیادی جنینی در مدلهایی از حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفته است[۱۷, ۱۸]. اما مشکلات متعدد از جمله تمایز به سلولهای ناخواسته، ایجاد تومور از این سلولها، بر انگیختن پاسخهای ایمنی و مشکلات اجرایی و اخلاقی استفاده از این روشها را با محدودیت مواجه کرده است[۱۹].

شناسایی منبع سلولهای بنیادی عصبی درونزاد در CNS بالغین با ظرفیت بالای تکثیر، مهاجرت و تمایز به الیگودندروسیتهای مولد میلین[۲۰-۲۲] به توسعه استراتژی‌های جدید برای ترمیم کمک شایانی نموده است. شواهدی مبنی بر مشارکت این سلولهای بنیادی درونزاد در فرایند بازسازی میلین گزارش شده است[۱۵, ۲۲, ۲۳]. این جمعیت سلولی (Neural Stem Cells) تقریبا در اپاندیمای سراسر Ventricular Neuroaxis شامل اپاندیمای طناب نخاعی، Subventricular Zone (SVZ) بطنهای جانبی و سوم و نیز در هیلوس هیپوکمپ قرار دارند[۲۴-۲۶] و تحت تاثیر سیگنالهای محیطی، توانایی تکثیر و مهاجرت به سوی ناحیه آسیب و تمایز به الیگودندروسیتها، نورونها و آستروسیتها (بسته به فنوتیپ سلولی خاصی که هر بیماری دیکته می‌کند) را دارند [۲۴, ۲۷-۳۱]. این سیگنالها شامل انواعی از مولکولها و فاکتورهای رشد آزاد شده از نورونهای آسیب دیده، آسترسیتها، الیگودندروسیتها، میکروگلیاها و سایر سلولهای ایمنی هستند[۳۲-۳۷].

اگر چه پتانسیل الیگودندروژنزیس بزرگترین ناحیه زایای مغز یعنی ناحیه تحت بطنی بطنهای جانبی[۳۸] در پاسخ به آسیبهای دمیلینه کننده موضعی در منطقه ای نزدیک به این ناحیه (نظیر کورپوس کالوزوم) مورد ارزیابی قرار گرفته است[۱۵]، اما پاسخ به ایجاد لیژن های دمیلینه کننده در نواحی دورتری از بطنهای جانبی نظیر عصب و کیاسمای بینایی تاکنون مورد ارزیابی قرار نگرفته و همچنین اگر چه شواهدی پتانسیل نوروژنزیس در سلولهای بنیادی مفروش کننده بطن سوم را نشان داده اند[۲۶]، اما تاکنون گزارشی مبنی بر وجود ظرفیت ترمیمی سلولهای بنیادی این ناحیه در پاسخ به آسیبهای دمیلینه کننده مشاهده نشده است.

دستگاه بینایی در ۷۰٪ بیماران MS تحت تاثیر قرار می گیرد[۳۹]. با توجه به نزدیکی بطن سوم به کیاسما و عصب بینایی و بویژه، منشأ تکوینی الیگودندروسیتهای میلینه کننده عصب و کیاسمای بینایی که جایگاهی در کف بطن سوم می باشد[۴۰]، و با توجه به آمار بالای بیماری MS در جهان (بویژه افراد نسبتا جوان)، بی کفایتی درمانهای دارویی موجود، محدودیتهای پیوند سلولی، وجود ظرفیت قابل ملاحظه ای از NSCs درونزاد در CNS بزرگسالان با قابلیت بالا جهت تکثیر، مهاجرت و تمایز به

الیگودندروسیتها این سؤال مطرح می گردد که آیا سلولهای پیش ساز عصبی ساکن در مغز موشهای صحرایی بالغ، قادرند از نواحی زیر بطنی به عصب و کیاسمای بینایی دمیلینه شده با لیزولستین مهاجرت می کنند؟ با توجه به اینکه بر خلاف نواحی مجاور ناحیه زیر بطنی که قبلا مهاجرت سلول به آنها مورد بررسی قرار گرفته، روند ترمیم عصب وکیاسمای بینایی بطور الکتروفیزیولوژیک به خوبی قابل بررسی است، در صورت مشارکت سلولهای بنیادی درونزاد در ترمیم عصب بینایی، مدلی مناسب برای مطالعه عوامل موثر بر آن پیشنهاد خواهد شد.

این مطالعه نشان می دهد که رمیلیناسیون به دنبال آسیب دمیلینه کننده عصب و کیاسمای بینایی رخ می دهد و شواهد مبنی بر دخالت پیش سازهای موضعی و بطنی در پاسخ به این آسیب ارائه می نماید. در این مطالعه روند پیشرفت آسیب و سپس بازسازی میلین با کمک رنگ آمیزی اختصاصی میلین و اندازه گیری بیان ژن برخی شاخصهای مولکولی نظیر MBP، Olig2 و GFAP - به ترتیب معرف حضور یا فعالیت سلولهای الیگودندروسیتی بالغ، سلولهای پیشساز الیگودندروسیتی فعال شده و آستروسیتها- بررسی می گردد و با ردیابی سلولهای بنیادی عصبی اندرژن موجود در مغز موشهای صحرایی توسط BrdU و ارزیابی میزان حضور پروتئین نستین به عنوان شاخص سلولهای بنیادی عصبی، امکان مشارکت آنها در بازسازی ناحیه دمیلینه مورد ارزیابی قرار می گیرد.

فصل دوم

مروري بر

منابع

۲-۱) سلولهای گلیالی:

سلولهای گلیایی در انسان ۹۰٪ سلولهای سیستم عصبی را تشکیل می دهند[۱۹]. Virchow در سال ۱۸۴۶ برای اولین بار شرح داد که سلولهای دیگری غیر از نورون در مغز وجود دارند[۱۹]. او تصور کرد که آنها بافت همبند مغزی هستند و آنها را nervenkitt (چسب عصبی) یعنی نوروگلیا نامید[۱۹]. سپس Cajal آستروسیتها را شناسایی کرد و سالها بعد در ۱۹۲۸، Hortage با استفاده از تکنیکهای غوطه‌ور سازی در کربنات نقره الیگودندروسیتها را شناسایی کرد، هر چند در ابتدا آن را Interfascicular glia نامید. وی بعدها میکروگلیاها را نیز معرفی نمود[۱۹].

امروزه علاوه بر آستروسیت ها والیگودندروسیت ها چندین سلول گلیالی دیگر شامل رادیال گلیا، سلولهای اپاندیما و تانی سیت ها، برگمن گلیا، مولرگلیا، گلیالهای هیپوفیزی و سلولهای غلاف کننده بویایی و ... شناسایی شده اند. این سلولها از نواحی مختلفی از مغز منشأ می گیرند و روی هم رفته «آلدینوگلیا» Aldynoglia نامیده می شوند که ویژگیهای مشترکی با آستروسیت ها و الیگودندروسیت ها و شوان سل ها دارند[۴۱].

در دهه ۱۹۸۰، Stallcup و همکارانش جمعیت جدیدی از سلولها را در CNS بزرگسالان شناسایی کردند که با استفاده از آنتی بادی علیه یک پروتئوگلیکان کندروئیتین سولفات؛ NG_2، قابل ردیابی بود[۴۲]. سلولهای NG_2^+ یا پلی دندروسیت ها بسیاری از مارکرهای سلولهای پیش ساز الیگودندروسیتی را بیان می کنند و به طور عموم به عنوان سلولهای رده الیگودندروگلیایی در نظر گرفته می شوند[۴۳]، گر چه تمامی سلولهای NG2+ پیشساز الیگودندروسیتی نیستند[۴۴]. این سلولها جمعیتهای تقریبا خاموش زیادی را در سراسر ماده سفید و خاکستری CNS بالغین تشکیل می دهند و قادرند که متعاقب بروز دمیلیناسیون، فعال شده و الیگودندروسیت ها را تولید کنند[۴۵]. همچنین این سلولها می توانند به نورون یا آستروسیت تبدیل شوند[۴۵]. از اینرو گلیاهای NG_2^+، که بسیاری آنها را دسته پنجم از سلولهای عمده تشکیل دهنده CNS پس از نورونها، آستروسیت ها، الیگودندروسیت ها و میکروگلیاها می نامند[۴۶]، می توانند به عنوان سلولهای بنیادی عصبی چند کاره در نظر گرفته شوند[۴۵]. اغلب این

سلولها در CNS بالغین شبیه آستروسیت ها به نظر می رسد و عملکردشان را به عنوان سلول بنیادی در سراسر دوران بلوغ و بزرگسالی حفظ می کنند[۴۷]. این سلولها نقشهای زیادی در CNS بازی می کنند و در پاسخ به هر نوع آسیب از خود واکنش نشان می دهند، از نورون ها ورودی می گیرند و در تعدیل سیناپسها نقش دارند و از اینرو در ابتدا به آنها، «سینانتوسیت» Synantocyte گفته شد[۴۶, ۴۷]. شماری دیگر از پیش سازهای گلیالی نیز معرفی شده اند[۴۱].

در واقع در سیستم عصبی مشاهده شده که نورونها در یک شبکه گلیالی پیچیده شده اند؛ وجود gap junction های متعدد در جسم سلولی و زوائد آستروسیتی و ارتباط آستروسیتها با هم از این طریق، از یک سو، وجود چنین gap junction ها یی روی غشا الیگودندروسیتها و به این طریق ارتباط آنها با هم از سوی دیگر و مهمتر از همه وجود gap junction هایی بین الیگودندروسیتها و میلین با آستروسیتها حکایت از یک شبکه گلیالی گسترده در مغز دارد که از کانال نخاعی و بطنهای مغزی شروع شده و با عبور از نواحی سفید و خاکستری به زوائد گلیالی و اپیتلیوم عروقی در سد خونی مغزی ختم می شود. این شبکه عمومی که panglial system نامیده می شود علاوه بر نقش در تعدیل الکترولیتی حکایت از وجود یک شبکه اطلاع رسانی گسترده در مغز دارد. اختلال در یک ناحیه، بزودی در سراسر مغز و نخاع مخابره می شود[۱۹].

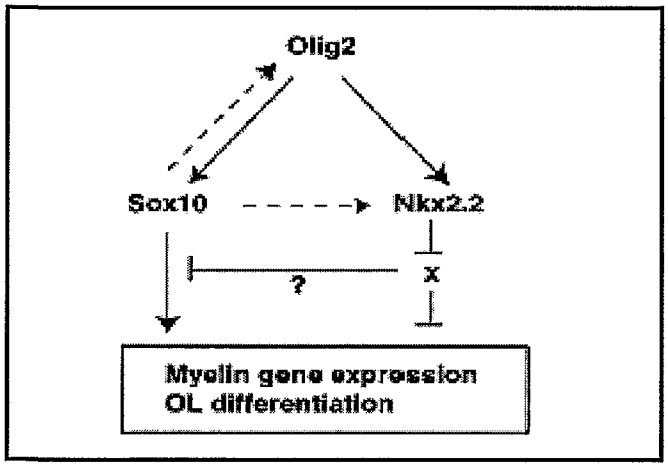
۲-۲) تکوین رده الیگورندروسیتی و میلیناسیون :

شناسایی منشأ، تکوین و تنظیم رده الیگودندروسیتی طی پروسه میلیناسیون جهت فهم فرایندهای حاکم بر دملیناسیون و رمیلیناسین بسیار ضروری و مهم هستند[۱۶]، چرا که طبق فرضیه Recapitulation، پاسخ ترمیمی عمدتاً شامل بکارگیری مجدد برنامه های مشابهی است که در طی پروسه تکوین رخ می دهند[۴۸].

نورونها، آستروسیت ها، الیگودندروسیت ها و پیش سازهایشان از سلولهای نورواپیتلیال لوله عصبی در تکوین بوجود می آیند[۴۹]. به طور کلی در مغز ابتدا نورژنزیس، سپس الیگودندروژنزیس و آستروژنزیس انجام می گیرد[۵۰]. این پروسه توسط فاکتورهای نسخه برداری خاص هدایت می شود[۵۰].

شمار زیادی از فاکتورها در تنظیم عملکرد میلیناسیون دخیل هستند، از جمله فاکتورهای رشد FGF2 و PDGF، ستیوکین ها، هورمونها و نوروترانسمتیرها[۱۹]، از این رو تنظیم تکوینی الیگودندروسیت ها یک فرایند بسیار پیچیده است[۱۹].

فاکتورهای نسخه برداری متعددی در تکوین رده الیگودندروسیتی نقش بازی می کنند. از جمله این فاکتورها، خانواده Olig مخصوصاً Olig2 و Olig1 همچنین، Sox10، Notch، Nkx2.2، Shh و BMPs هستند. ژنهای Olig2 و Nkx2.2 توسط سلولهای +NG2 بیان می شوند و در تولید الیگودندروسیت ها در سراسر زندگی نقش دارند[۵۱]. Olig2، عضوی از خانواده فاکتورهای نسخه برداری است که یک نقش تنظیمی مهم در تعیین سرنوشت سلولهای رده الیگودندروسیتی بازی می کند[۵۲] (شکل۲-۱).

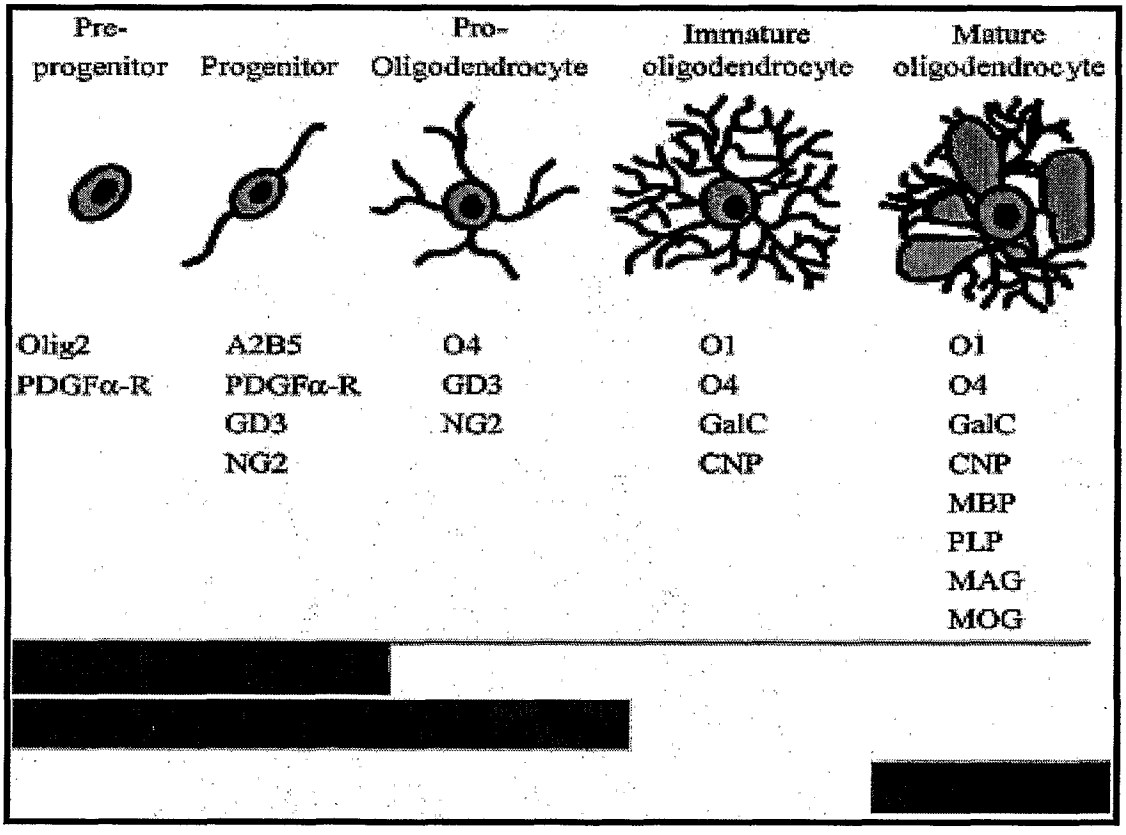


شکل۲-۱) نقش Olig2 در میلیناسیون. اقتباس از رفرنس[۵۳]. OL: الیگودندروسیت.

در واقع بیش از ۹۰٪ سلولهای +NG2 ، +Olig2 هستند[۵۴]. در طی تکوین، سلولهای +Olig2 پیش سازهای مشترکی برای تولید موتونورونها و پیش ساز الیگودندروسیتی هستند و حذف Olig2 در mice کشنده است[۵۵]. ممانعت از عملکرد Olig2 سبب افزایش تولید نورونی می گردد[۵۶]. این ژن در سلولهای بنیادی عصبی نیز بیان می شود[۵۷]. فاکتور نسخه برداری Sox10 در تمایز نهایی

الیگودندروسیتهای میلین ساز نقش دارد[۵۸]. تعداد OPCs تولید شده از مقدار مورد نیاز جهت میلیناسیون نرمال پیشی می گیرد و حدود نیمی از سلولها توسط آپوپتوز حین تکوین حذف می شوند[۱۹].

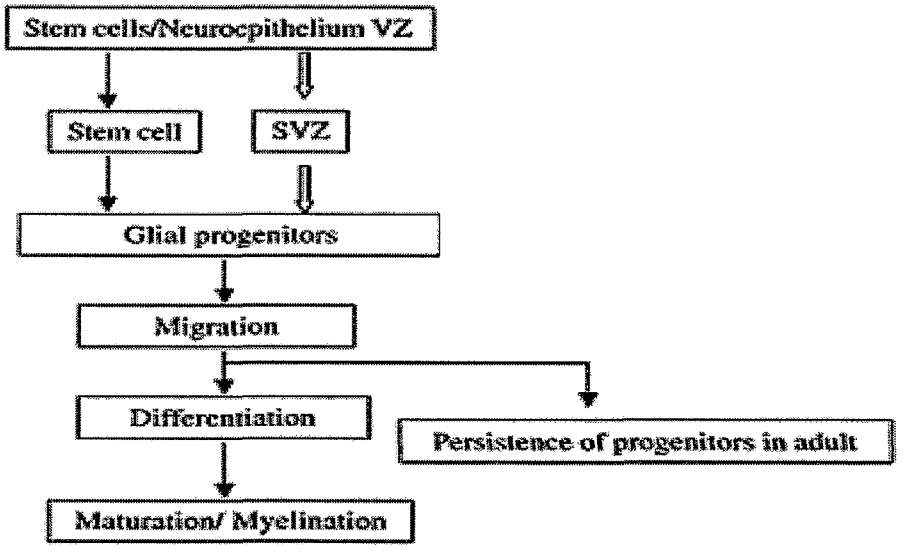
در CNS پستانداران ابتدایی ترین مارکرها برای شناسایی پیش سازهای الیگودندروسیتی مولکولهایی نظیر Olig2 و رسپتورPDGF هستند[۱۶] که در سالهای ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۱ شناسایی شدند[۵۹]. این مولکولها چندین روز قبل در سلولهایی که می خواهند به رده الیگودندروسیتی وارد شوند، و توانایی مهاجرتی بسیار زیادی دارند، بیان می شوند و به محض ظهور آنتی ژن O4 این سلولها متعهد به ورود به رده الیگودندروسیتی می شوند[۱۶]، بعد از آن بیان مارکرهای Galc و CNP، مشخصه الیگودندروسیتهای نابالغ می باشد. این الیگودندروسیتها جهت زنده ماندن در in vivo مجبور به تماس با اکسونها هستند[۱۶]. الیگودندروسیت بالغ پروتئینهای اختصاصی میلین به ترتیب شامل MBP، PLP، MAG و در نهایت MOG را سنتز می کنند[۱۶] (شکل۲-۲).



شکل۲-۲) مارکرهای بلوغ رده الیگودندروسیتی. اقتباس از رفرنس[۱۶].

طی بلوغ، سلولهای الیگودندروگلیایی مورفولوژی خاصی پیدا می کنند و ظرفیتشان جهت تکثیر و مهاجرت کاهش می یابد[۶۰]. این اتفاق همزمان است با کاهش بیان مولکولهای خاصی نظیر اینتگرین ها که برای مهاجرت ضروری هستند[۱۹]. مرحله نهایی تکوین الیگودندروسیتها شامل متراکم شدن غلاف میلین جهت بند و بست مناسب اکسون و بدین وسیله اعمال عملکرد عایق بندی می باشد. بیان ژنهای MBP و PLP برای رسیدن به این هدف ضروری است[۱۹].

سلولهای پیش ساز الیگودندروسیتی در تکوین از نواحی بطنی و زیر بطنی مشخصی منشأ می گیرند[۶۱] و برخلاف توزیع محدودشان در CNS جنینی، در بزرگسالان به طور وسیعی در سراسر سیستم عصبی مرکزی گسترش یافته اند[۴۵]. ناحیه زیر بطنی (SVZ) بطنهای جانبی، سوم و چهارم همگی در تولید الیگودندروسیتها نقش دارند[۴۱] (شکل۲-۳).



شکل۲-۳) تولید تکوینی الیگودندروسیتها از نواحی بطنی وزیر بطنی. اقتباس از رفرنس[۴۱].

فرایند میلیناسیون در مغز به صورت دمی- منقاری و در طناب نخاعی به صورت منقاری- دمی رخ می دهد[۱۶]. در انسان میلیناسیون در نیمه دوم بارداری شروع می شود و طی سال اول زندگی به حداکثر می رسد و می تواند در برخی فیبرهای قشری تا سن ۲۰ سالگی ادامه یابد[۱۶]. بسیاری از

فاکتورهای خارج سلولی و مشتق از اکسونی در روندهای مهاجرتی[۶۲] و تمایزی مورد نیاز این فرایند نقش دارند[۶۳, ۶۴].

سیگنالهای تعیین کننده اینکه کدام آکسونها باید میلینه شوند یا اینکه چگونه الیگودندروسیت ها بین اکسونها و دندریت ها تفاوت قائل شوند چندان مشخص نیست، هر چند شواهدی موجود است مبنی بر اینکه تمایز الیگودندروسیتی و بنابراین میلیناسیون توسط کاهش تکوینی و منظم بیان Jagged1 در اکسونها کنترل می شود[۱۶]. رسپتور آن (Notch1) برروی OPCs قرار داشته و فعالیت آن سبب مهار تمایز الیگودندروسیتی می گردد و بطور مشابهی کاهش بیان PSA-NCAM سبب شروع میلیناسیون می شود[۱۶]. علاوه بر این مشاهده شده که فعالیت نورونی با پروسه میلیناسیون مرتبط است. بلوک هدایتی توسط تترودوتوکسین و یا افزایش فعالیت نورونی به ترتیب میلیناسیون را مهار یا تقویت می کنند[۶۵]. این اثرات از طریق آدنوزین و ATP آزاد شده توسط فعالیت الکتریکی اکسونها صورت می گیرد. رسپتور A1 آدنوزینی در سلولهای پیش ساز الیگودندروسیتی به عنوان یک مهارگر قدرتمند تکثیر و تحریک کننده تمایز عمل می کند. نقشهایی نیز برای آستروسیت ها در این پروسه گزارش شده است[۱۶].

محققان نشان داده اند که منشأ OPCs مسؤل میلیناسیون کیاسما و عصب بینایی، یک ناحیه در کف بطن سوم می باشد و این OPCs ابتدا در نزدیکی کیاسما ظاهر می شوند و جهت تکمیل میلیناسیون اکسونهای سلولهای گانگلیونی به تدریج به سوی شبکیه حرکت می کنند[۴۰]. استخراج نمونه و کشت سلول از نواحی کیاسمایی عصب بینایی جنینی پتانسیل موجود جهت تبدیل شدن به الیگودندروسیتها را نشان داد[۴۰, ۶۶]. این پتانسیل در تکوین در چندین مرحله قبل از مشاهده چنین پتانسیلی در نواحی شبکیه ای عصب مشاهده شده است و ردیابی سلولهای بطنی با ماده فلورسنت DiI این روند را تائید کرده است[۴۰] (شکل۲-۴).