دانشگاه ارومیه

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد(M.Sc.) در رشته زیست شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری

عنوان

اثر حفاظتی تستوسترون بر بهبود نقایص شناختی القا شده توسط اتیدیوم بروماید در مدل تجربی MS

اساتید راهنما:

دکتر شیوا خضری

دکتر صمد زارع

تنظیم و نگارش:

صلاح‌الدین فیض‌اله هاشم آباد

بهمن ۹۳

حق چاپ و نشر برای دانشگاه ارومیه محفوظ است

تقدیم به.....

پدرم و مادرم، آنها که باشانه های خود پلی

ساختند تا من از آن به سلامت عبور کنم.

آنها که از خود کاستند تا بر من بیافزایند. تقدیم به هر دویشان

که هم آغاز هم طریق و هم پایان عشق، شور و زندگی من هستند.

تقدیر و تشکر:

«من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق»

حمد و سپاس خداوندی را که انسان را آفرید تا قلم در دست گیرد و عهد و پیمان دیرینه ببندد و راه خدمت به همنوعان خود را در پیش گیرد.

بدون تردید هر تحقیقی به علت وسعت کار مستلزم کار گروهی خواهد بود طبیعی است اگر کمک و مساعدتها نباشد هر جستجوگر و محقق در پیچ خم و مشکلات تحقیق ناتوان بماند لذا وظیفه خود می دانیم که مراتب سپاس و قدردانی خودم را به محضر اساتید راهنمای گرامی سرکار خانم دکتر شیوا خضری و جناب آقای دکتر صمد زارع که با راهنمایی های علمی و اصولی خودشان مرا در این پژوهش یاری دادند، تقدیم داشته و از درگاه ایزد منان موفقیت را برای آنها مسئلت می نمایم.

هم چنین از جناب آقای دکتر مزدک رازی و سرکار خانم سپیده تربالی به پاس راهنمایی های بی دریغشان صمیمانه تشکر می کنم.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

چکیده ۱

فصل اول مقدمات و کلیات

مقدمه ۳
۱-۱.بیماری MS ۳
۱-۱-۱ شیوع MS ۳
۱-۱-۲ دلایل MS ۴
۱-۱-۳ انواع بیماری MS ۵
۱-۱-۴ مدل‌های مطالعه MS ۷
۱-۱-۵ تظاهرات بالینی MS ۸
۱-۱-۶. MS القا شده با اتیدیوم بروماید ۹
۱-۲. سلول‌های گلیال سیستم عصبی مرکزی ۱۰
۱-۲-۱. آستروسیت‌ها ۱۰
۱-۲-۲ میکروگلیا ۱۰
۱-۲-۳ الیگودندروسیت‌ها ۱۱
۱-۲-۳-۱. عملکرد الیگودندروسیت‌ها و میلین ۱۲
۱-۳ میلیناسیون ۱۲
۱-۳-۱. مواد ضروری برای میلین‌سازی ۱۲
۱-۳-۲ ترکیب میلین ۱۲
۱-۳-۱. مراحل میلین سازی ۱۳
۱-۴ دمیلیناسیون ۱۳
۱-۵. بازسازی میلین ۱۳
۱-۶. تستوسترون ۱۴
۱-۶-۱. بیوسنتز تستوسترون ۱۴
۱-۶-۲.متابولیسم تستوسترون ۱۵
۱-۶-۳. مکانیسم عمل تستوسترون ۱۶
۱-۷. هیپوکمپ ۱۷
۱-۷-۱.ساختمان هیپوکمپ ۱۷
۱-۷-۲ لایه‌های قشری هیپوکمپ ۱۷

۱-۷-۳. مدارهای نورنی هیپوکمپ ۲۰
۱-۷-۴. عملکرد هیپوکمپ ۲۰
۱-۷-۵. بیماری‌های مرتبط به هیپوکمپ در یادگیری ۲۱
۱-۷-۶. عملکرد تئوریک هیپوکمپ در یادگیری ۲۱
۱-۷-۷. حافظه فضایی و هیپوکمپ ۲۲
۱-۸ . تعریف حافظه و یادگیری ۲۲
۱-۹ . انواع حافظه و یادگیری ۲۲
۱-۹-۱. یادگیری فضایی ۲۳
۱-۱۰. اساس مولکولی حافظه ۲۳
۱-۱۱. مطالعه حافظه و یادگیری ۲۴
۱-۱۱-۱ ماز T ۲۴
۱-۱۱-۲. ماز Y ۲۴
۱-۱۱-۳. ماز Tکمپلکس ۲۵
۱-۱۱-۴. ماز کلاسیک ۲۵
۱-۱۱-۵. ماز آبی موریس ۲۵
۱-۱۱-۶. ماز شعاعی ۲۶
۱-۱۲. مهم‌ترین نوروترانسمیترهای موجود در نورون‌های هیپوکمپ ۲۷
۱-۱۳. عمل نوروپروتکتیو آندروژن‌ها ۲۷

فصل دوم : مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد آزمایشگاه ۲۹
۲-۱-۱ مواد و تجهیزات آزمایشگاه ۲۹
۲-۱-۲. وسایل لازم جهت مطالعه رفتاری ۳۰
۲-۱-۳. مواد و وسایل لازم برای مطالعه بافتی ۳۰
۲-۱-۴. مواد و وسایل لازم برای پرفیوژن ۳۱
۲-۱-۵. داروها ۳۱
۲-۲ حیوانات مورد استفاده و شرایط نگهداری ۳۱
۲-۳. گروه‌های تحت آزمایش ۳۱
۲-۴. جراحی استریوتاکسی ۳۲
۲-۴-۱. دستگاه استریوتاکسی ۳۲

۲-۴-۲. اطلس پاکسینوس ۳۳
۲-۴-۳. جراحی استریوتاکسی..... ۳۵
۲-۴-۳-۱. کلیات جراحی استریوتاکسی ۳۵
۲-۴-۳-۲. صفر کردن دستگاه جراحی استریوتاکسی ۳۵
۲-۴-۳-۳. قرار دادن حیوان در دستگاه استریوتاکسی و شروع جراحی ۳۶
۲-۴-۳-۴. موقعیت ناحیه CA1 هیپوکمپ ۳۷
۲-۵. روش‌های مورد استفاده در پژوهش ۳۸
۲-۵-۱. جراحی حذف غدد جنسی یا گنادوکتومی ۳۸
۲-۵-۲. جراحی استریوتاکسی برای تزریق اتیدیوم بروماید..... ۴۰
۲-۶. بررسی‌های رفتاری ۴۱
۲-۶-۱. دستگاه ماز شعاعی ۸ بازویی ۴۱
۲-۶-۲. آموزش حیوانات ۴۲
۲-۷ پاساژ بافتی ۴۳
۲-۷-۱.پرفیوژن ۴۳
۲-۷-۲ مراحل پاساژ بافتی ۴۴
۲-۷-۲-۱ آب گیری ۴۴
۲-۷-۲-۲ قالب گیری ۴۵
۲-۷-۲-۳ برش‌گیری بافت مغز ۴۵
۲-۷-۳. رنگ آمیزی ۴۵
۲-۷-۴. قرار دادن لامل‌ها روی لام و مشاهده میکروسکوپی ۴۶
۲-۸. آنالیز آماری داده‌ها ۴۷

فصل سوم: نتایج

۳-۱ نتایج بافتی ۴۹
۳-۱-۱ مطالعه هیستوپاتولوژی ۴۹
۳-۱-۲ مطالعه هیستوپاتولوژی ۵۰
۳-۲ نتایج مطالعات رفتاری ۵۳
۳-۲-۱ بررسی توانایی یادگیری در گروه‌های مختلف ۵۳
۳-۲-۱-۱ بررسی توانایی یادگیری (۱۰-۷) ۵۳
۳-۲-۱-۲ بررسی توانایی یادگیری (۲۰-۱۷)..... ۵۴
۳-۲-۲ بررسی خطای حافظه کاری در گروه‌های مختلف ۵۵
۳-۲-۲-۱ بررسی خطای حافظه کاری (۱۰-۷) ۵۵
۳-۲-۲-۲ بررسی خطای حافظه کاری (۲۰-۱۷) ۵۶
۳-۲-۳ بررسی خطای حافظه مرجع در گروه‌های مختلف ۵۷

۳-۲-۳-۱. بررسی خطای حافظه مرجع(۱۰-۷) ۵۷
۳-۲-۳-۲ بررسی خطای حافظه مرجع(۲۰-۱۷) ۵۸

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴-۱ بحث کلی ۶۱
۴-۲ بحث مربوط به مطالعات رفتاری ۶۴
۴-۳ تستوسترون یک میانجی برای کاهش التهاب ۶۶
نتیجه‌گیری ۶۸
پیشنهادات ۶۹
منابع ۷۰

فهرست اشکال و نمودارها

عنوان | صفحه

اشکال:

شکل ۱-۱ مکانیسم دمیلیناسیون..... ۵
شکل ۱-۲ نوع عودکننده -فروکش کنندهMS ۶
شکل ۱-۳ نوع پیش‌رونده اولیه MS ۶
شکل ۱-۴ نوع پیش رونده ثانویه MS..... ۷
شکل ۱-۵ نوع پیش رونده-عودکننده MS ۷
شکل ۱-۶ طرح شماتیک سلول‌های نورگلیا در مغز..... ۱۱
شکل ۱-۷ ساختار تستوسترون ۱۴
شکل ۱-۸ سنتز تستوسترون..... ۱۵
شکل ۱-۹ مکانیسم عمل تستوسترون ۱۷
شکل ۱-۱۰ موقعیت قرار گیری هیپوکمپ در مغز ۱۷
شکل ۱-۱۱ مغز رت به همراه هیپوکمپ و نواحی مختلف آن ۱۸
شکل ۱-۱۲ موقعیت CA1 و CA3 در هیپوکمپ ۱۸
شکل ۱-۱۳ لایه‌های موجود در قشر هیپوکمپ ۱۹
شکل ۱-۱۴ نمایی از ساختار آناتومیکی مدارهای درونی هیپوکمپ ۲۰
شکل ۱-۱۵ طبقه بندی یادگیری ۲۲
شکل ۱-۱۶ ماز T ۲۴
شکل ۱-۱۷ ماز Y ۲۴
شکل ۱-۱۸ ماز T کمپلکس ۲۵
شکل ۱-۱۹ ماز کلاسیک ۲۵
شکل ۱-۲۰ ماز آبی موریس ۲۶
شکل ۱-۲۱ ماز شعاعی ۸بازویی ۲۶
شکل ۱-۲۲ مسیر مستقیم آندروژن‌ها برای عمل نوروپروتکتیو..... ۲۷
شکل ۲-۱ دستگاه استریوتاکسی ۳۳
شکل ۲-۲ مختصات براگما،لامبدا و خط اینتراورال روی جمجمه ۳۳
شکل ۲-۳ مقطع کرونال مغزی مورد استفاده برای جراحی ۳۴
شکل ۲-۴ وسایل مورد نیاز برای جراحی استریوتاکسی ۳۵
شکل ۲-۵ مراحل جراحی استریوتاکسی تا نمایان شدن سطح جمجمه ۳۷
شکل ۲-۶ موقعیت استریوتاکسیک ناحیه CA1 هیپوکمپ در اطلس پاکسینوس و واتسون ۳۸

شکل ۲-۷ وسایل ومواد مورد نیاز جراحی گنادکتومی..... ۳۹
شکل ۲-۸ مراحل جراحی گنادکتومی ۳۹
شکل ۲-۹ مراحل جراحی استریوتاکسی برای کانول گذاری ۴۱
شکل ۲-۱۰ دستگاه ماز شعاعی ۴۲
شکل ۲-۱۱ مراحل پرفیوژن ۴۳
شکل ۲-۱۲ مغز پرفیوژ شده ۴۳
شکل ۳-۱ برش‌های انتخابی از ناحیه cA1 هیپوکمپ ۴۹

نمودارها:

نمودار ۳-۱ نتایج مقایسه کل سلول‌ها در روز ۱۰ ..... ۵۰
نمودار ۳-۲ نتایج مقایسه کل سلول‌ها در روز ۲۰ ..... ۵۰
نمودار ۳-۳ مقایسه سلول‌های پیکنوتیک شده در روز ۱۰ ..... ۵۱
نمودار ۳-۴ مقایسه سلول‌های پیکنوتیک شده در روز ۲۰ ..... ۵۱
نمودار ۳-۵ مقایسه میانگین تغییرات زمان پیداکردن غذا در گروه(۱۰-۷) ۵۴
نمودار ۳-۶ مقایسه میانگین تغییرات زمان پیداکردن غذا در گروه(۲۰-۱۷) ۵۵
نمودار ۳-۷ مقایسه میانگین خطای حافظه کاری گروه(۱۰-۷) ۵۶
نمودار ۳-۸ مقایسه میانگین خطای حافظه کاری گروه(۲۰-۱۷) ۵۷
نمودار ۳-۹ مقایسه میانگین خطای حافظه مرجع گروه(۱۰-۷) ۵۸
نمودار ۳-۱۰ مقایسه میانگین خطای حافظه مرجع گروه(۲۰-۱۷) ۵۹

چکیده

مقدمه: مالتیپل اسکلروزیس(MS) یک بیماری خود ایمنی تحلیل برنده عصبی سیستم عصبی مرکزی با ضایعات التهابی ماده سفید بوده و یکی از علل ایجاد کننده ناتوانی در بیماران می‌باشد. هیپوکمپ مرکز اصلی یادگیری و حافظه در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد و در بیماری‌های نورودژنراتیو بسیار حساس و آسیب‌پذیر است. هورمون‌های جنسی مردانه می‌توانند خاصیت حفاظت عصبی داشته باشند. در این بررسی اثر تستوسترون بر روی حافظه فضایی و یادگیری در ناحیه هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر پس از القای دمیلیناسیون با اتیدیوم برماید مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: برای القای دمیلیناسیون در موش‌های صحرایی نر که قبلا مورد جراحی گنادکتومی قرار گرفته و بهبود یافته‌اند،۳ میکرولیتر اتیدیوم بروماید طی جراحی استریوتاکسیک در ناحیهCA1 هیپوکمپ تزریق شد. حیوانات تحت درمان، ۱ میکرولیتر تستوسترون(3µgr/0/5µl) هر روز از طریق کانول‌های گذاشته شده در هیپوکمپ به مدت ۱۰ و ۲۰ روز پس از القای دمیلیناسیون دریافت کردند. گروهای شاهد و کنترل سالم دریافت دارویی نداشتند. یادگیری و حافظه فضایی توسط دستگاه ماز شعاعی بررسی شد. میزان دمیلیناسیون با کمک رنگ آمیزی اختصاصی میلین (لوکسول فست بلو و کرزیل ویولت) بررسی شد.

نتایج: نتایج حاصل از مطالعات بافتی نشان داد تجویز تستوسترون، تخریب میلین در گروه‌های تیمار را کاهش داده و رمیلیناسیون را تسریع نموده است. مطالعات رفتاری نشان داد زمان یافتن غذا و میزان خطای حافظه‌ی کاری و خطای حافظه‌ی مرجع فضایی در گروه دریافت کننده اتیدیوم بروماید در مقایسه با گروه‌های کنترل افزایش معناداری داشت(P<۰/۰۵). تیمار با تستوسترون اختلالات یادگیری و حافظه‌ی القا شده توسط اتیدیوم بروماید را به طور معناداری بهبود بخشید.

نتیجه‌گیری: تستوسترون به عنوان یک عامل نوروپروتکتیو عمل کرده و می‌تواند وسعت دمیلیناسیون را کاهش داده و اختلالات یادگیری و حافظه‌ای القا شده توسط اتیدیوم بروماید را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: دمیلیناسیون، اتیدیوم برماید ، یادگیری ، مالتیپل اسکلروزیس، حافظه فضایی ، تستوسترون

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱- مقدمه:

۱-۱ بیماری مالتیپل اسکلروزیس[1](MS):

ام اس،یک عارضه التهابی خود ایمن دمیلینه‌کننده سیستم عصبی مرکزی[2] است که از طریق لنفوسیت‌ها ،ماکروفاژها و میکروگلیای فعال شده و دیگر اجزای مربوط به سیستم ایمنی ایجاد می‌شود. سلول‌های عصبی، از طریق ارسال پیام‌های الکتریکی در طول فیبر آکسونی که توسط غلاف میلین پوشیده شده است با یکدیگر ارتباط دارند. در بیماری ام اس، سیستم ایمنی بدن به غلاف میلینی حمله می‌کند و میلین در نواحی متعددی از بین می‌رود و به جای آن بافت اسکار (زخم) به جای می‌ماند که به این پدیده اسکروزیس گفته می‌شود . نواحی آسیب‌دیده نیز پلاک نام دارند. با تخریب غلاف میلین یا خود فیبر عصبی، توانایی هدایت ایمپالس های الکتریکی از سیستم عصبی مرکزی به اندام و بالعکس متوقف می‌شود (Keegan and Noseworthy . 2002) و این عامل نشانه های مختلف مربوط به بیماری را در فرد ایجاد می‌کند . دو کلمه Multiple Sclerosis ریشه در کشف پلاک‌ها دارد، Multiple متعدد و Sclerosis زخم و جراحت.

۱-۱-۱ شیوع مالتیپل اسکلروزیس (MS):

مالتیپل اسکلروزیس، یک بیماری غیرقابل پیش‌بینی است که در جوامع مدرن رو به افزایش می‌باشد. معمولا در افراد جوان با میانگین سنی ۲۰-۴۰ سال رخ می‌دهد و در زنان درصد آن ۲ تا ۳ برابر مردان است(Rosti,2001). اما بیماری می‌تواند در هر سنی بروز نماید. توزیع جغرافیایی بیماری ناهموار است. به طور کلی میزان شیوع بیماری با افزایش عرض جغرافیایی در هر دو نیمکره ی شمالی و جنوبی افزایش می‌یابد، هرچند این میزان در عرض‌های بالاتر از ۶۵ درجه‌ی شمالی و جنوبی تمایل به کاهش دارد(Murrell TG et al.,1991). بالاترین میزان شیوع شناخته شده بیماری MS (۲۵۰ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر) در جزایر Orkney در شمال اسکاتلند وجود دارد و میزان های بالای مشابهی در سراسر شمال اروپا، شمال ایالات متحده و کانادا یافت می-شود.در مقابل، میزان شیوع آن در ژاپن (۶ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر)، بخش های دیگر آسیا، بخش استوایی آفریقا و در خاورمیانه پایین است. آمارها نشان می دهد که حدود ۲/۵ میلیون نفر در دنیا و حدود ۲۰۰۰۰ نفر در ایران به این بیماری مبتلا هستند(Lublin and Reringold, 1996).

داده‌های اپیدمیولوژیک بر نقش قرار گرفتن در معرض محیط اشاره دارند. مطالعات مهاجرت و شناسایی نقاط احتمالی اپیدمی MS،براثرات محیط روی خطر بروز MS صحه گذاشته‌اند. مطالعات مهاجرت حکایت از آن دارند که برخی مواجهات مربوط به MS ، در کودکی و سال ها پیش از آن که MS از نظر بالینی آشکار گردد، روی می‌دهند.در برخی مطالعات روشن شده است که مهاجرت از مناطق کم خطر به پر خطر در اوایل کودکی، موجب افزایش خطر بروز MS گردیده، و در مقابل مهاجرت از مناطق پرخطر به مناطق کم خطر، ریسک MS را کاهش می‌دهد. همچنین ،خطر بروز MS ، با یا سطح بالای وضعیت اقتصادی –اجتماعی نیز در

[1] -Multiple Sclerosis
[2]- Central Nervus System

ارتباط است؛ این مسئله ممکن است به علت رعایت بهتر اصول بهداشتی و به تاخیر افتادن مواجهه‌ی اولیه با عوامل عفونی باشد. گاهی اوقات گزارشاتی مبنی بر دخالت یک عامل عفونی خاص ،نظیر ویروس هرپس انسانی ۶ یا کلامیدیاپنومونیه منتشر می‌شود، اما در کل گزارشات موجود با همدیگر هم خوانی ندارند(Murrell TG et al.,1991).

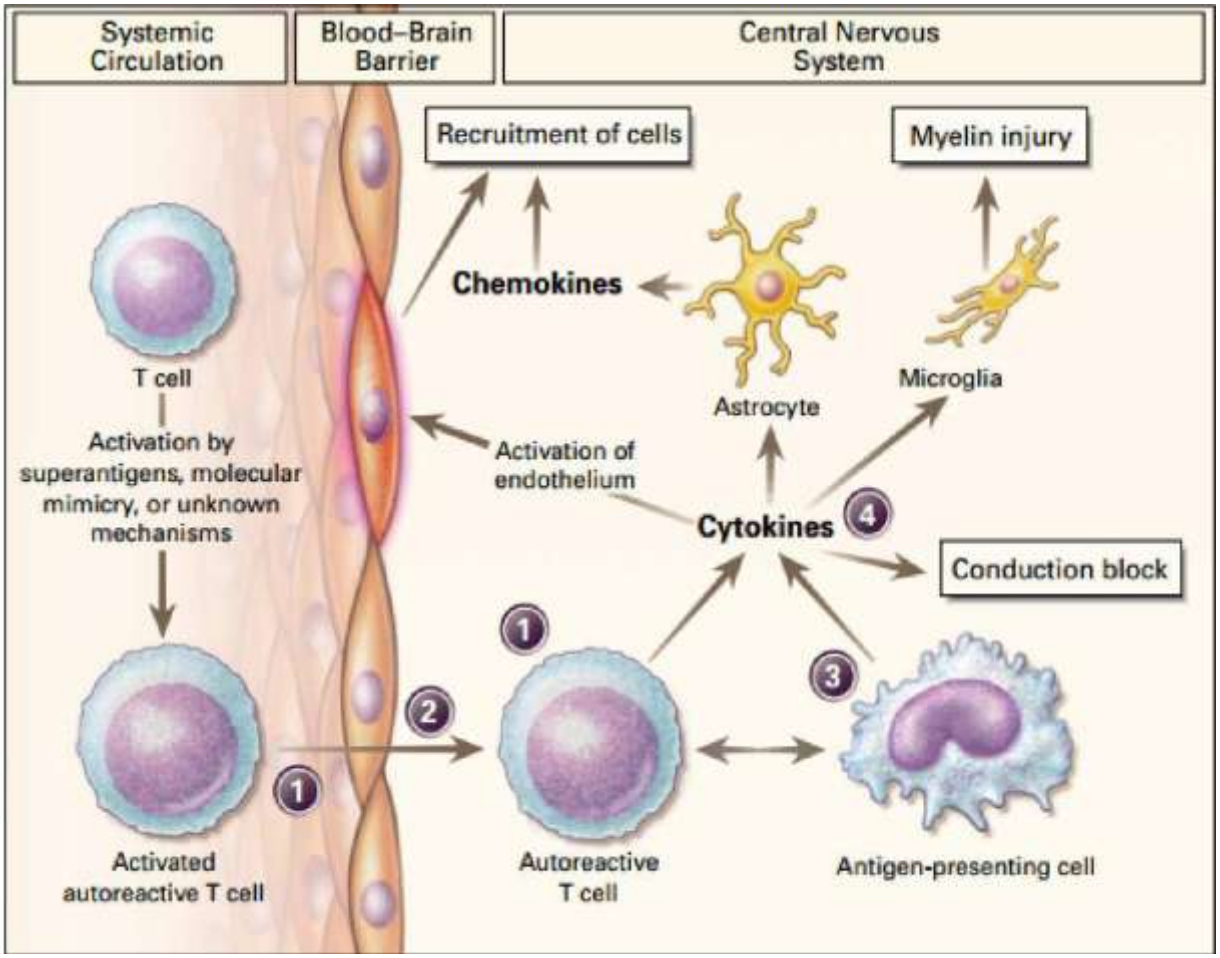
۱-۱-۲- دلایل بیماری MS:

عامل بیماری MS ناشناخته است. استعداد ژنتیکی، مکانیسم‌های خود ایمنی و عفونت های ویروسی ممکن است نقش آسیب زایی در دمیلیناسیون را ایفا بکنند. داده‌های قانع کننده نشان می‌دهند که استعداد ابتلا به MS ارثی می‌باشد. مطالعات انجام شده بر روی خانواده‌ها و دوقلوها از استعداد ژنتیکی پیشتیبانی می‌کند.خطر بروز MS در سفید پوستان به طور ارثی بالاتر از آفریقایی‌ها و آسیایی هاست(Kutzelnigg et al.,2007). همچنین MS در برخی خانواده‌ها شیوع بیشتری دارد؛ مطالعاتی که بر روی دوقلوها ، فرزندخوانده‌ها، زن و شوهرها، و برادران و خواهران ناتنی انجام گرفته است، حکایت از آن دارد که شیوع خانوادگی، ناشی از عوامل ژنتیکی (و نه محیطی) می‌باشد. داده‌های شجره نامه از خانواده‌هایی که بیش از یک عضو آنها تحت تاثیر قرار گرفته است، با این فرضیه که چند ژن غیر مرتبط زمینه ی MS را فراهم می سازد،سازگار می‌باشد. ناحیه‌ی کمپلکس سازگاری بافتی اصلی بر روی کروموزوم ۶ به عنوان یکی از تعیین کننده های ژنتیکی برای MS شناسایی شده است.احتمالا" نوعی ناهمگونی ژنتیکی در MS وجود دارد، به این معنا که در افراد مختلف ،ژن‌های متفاوتی موجب بروز MS می شوند(Brassington and Marsh,1998) .شواهد قابل توجهی از اختلالات خون محیطی، یافته های مایع مغزی – نخاعی(CSF[1]) و آسیب شناسی سیستم اعصاب مرکزی در MS و مدل‌های حیوانی دمیلیناسیون نشان می‌دهند که مکانیسم‌های خودایمنی درگیر می‌باشند. تجارب آزمایشگاهی و کلینیکی پیشنهاد می-کنند که غلاف میلین توسط سلول های T بازفعال خودی[2] مورد هجوم قرار می‌گیرد . معمولا" بیماری‌های خود ایمنی عوامل سلولی یا خونی دارند. اساس سلولی این بیماری‌های خود ایمنی وابسته به لنفوسیت های T کمکی نوع I(T_H1)[3] بوده و اساس خونی توسط لنفوسیت T کمکی نوع II(T_H2)[4]میانجی‌گری می‌شود.

فرایند ایمونولوژیکی در بیماری MS بیشتر اساس سلولی داشته و به لنفوسیت های T_H1 نسبت داده می شود.پروتئین پایه‌ی میلین(MBP)[5] یک آنتی ژن مهم سلول T در MS است. در واقع MS با واسطه‌ی سلول‌های T کمکی نوع ۱ که در پاسخ به MBP فعال می‌شوند، ایجاد می شود. لنفوسیت‌های T کمکی نوع ۱ هنگام فعال شدن، اینترفرون گاما، فاکتور نکروز کننده تومور و اینترلوکین-۲ را ترشح می‌کنند که اثر مخرب آنها در روند این بیماری مشخص شده است. در واقع سایتوکاین‌های التهاب آور T_H1 ، شامل اینترلوکین-۲ (IL-2)[6]، فاکتور نکروز توموری α(TNF-α)[7] واینترفرون γ(INF-γ)[8] ، در فعال سازی و حفظ پاسخ‌های خود

[1] -cerebrospinal fluid
[2]- Autoreactive T cells
[3] - T helper-1
[4] T helper-2
[5]Myelin basic protein (MBP)
[6] Interleukin-2 (IL-2)
[7] Tumor necrosis factor α (TNF-α)
[8] Interferon-γ (INF-γ)

ایمنی، نقش‌های کلیدی ایفا می‌نمایند.ممکن است TNF-α و INF-γ ، مستقیما به سلول‌های الیگودندروسیت یا غشاهای میلین آسیب بزنند. از سوس دیگر،پاسخ لنفوسیت های T کمکی نوعII با تولید اینترلوکین-۱۰[1] مشخص می شود.(Cannella ea al.,1995) (شکل ۱-۱).



شکل۱-۱(مکانیسم دمیلیناسیون):سلولهای T در برخورد با آنتی ژن ها فعال می شوند به محض فعال شدن از سد خونی –مغزی عبور کرده وارد سیستم اعصاب مرکزی می شوندسلول های ارائه کننده آنتی ژن با ایجاد سیگنال باعث ترشح سیتوکین های التهابی می شوند که شامل TNF-α و INF-γ هستند.سیتوکین های ذکرشده سبب القای ترشح کموکین ها توسط استروسیت ها و لوکوسیت ها می شوند.ماکروفاژها و میکروگلیای فعال شده با آسیب به میلین باعث اختلال در عملکرد نورون ها می شوند.(Correale.,1995).

تصور می‌شود که سایتوکاین-۱۰ در مدل آزمایشگاهی MS یعنی انسفالومیلیت خود ایمنی تجربی(EAE)[2] دارای نقش حفاظتی است چرا که مشاهدات نشان می‌دهد در فاز بهبودی EAE، اینترلوکین-۱۰ پاسخ سلول های T کمکی نوعI را کاهش و با افزایش فعالیت خود EAE را بهبود می‌بخشد.سلولهای B ترشح‌کننده‌ی آنتی‌بادی نیز در MS فعال می‌شوند. فعالیت سلول‌های B و پاسخ‌های آنتی-بادی نیز ظاهرا" برای بروز کامل ضایعات دمیلینه‌کننده ضروری است(Correale et al.,1995).

[1] - Interleukin-10 (IL-10)
[2]-Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)

۱-۱-۳ انواع بیماری MS

این بیماری شامل انواع زیر می‌باشد:

❖ عودکننده-فروکش‌شونده ام اس[1]

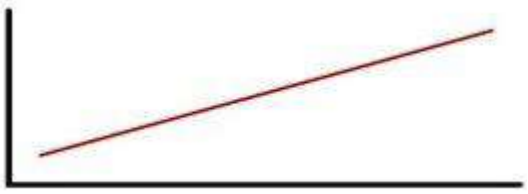
شایع‌ترین نوع بیماری می‌باشد که ۸۵٪ بیماران مبتلا به MS این نوع بیماری را نشان داده‌اند. شامل دو مرحله حمله(عودکننده)و تسکین(فروکش شونده) است(شکل۱-۲).بیماران در دوره آرامش مشکل چندانی ندارند.حمله‌ها معمولا" غیر قابل پیش‌بینی‌اند و در طی آن‌ها ممکن است مشکلات قبلی مجددا" تکرار شود.

در این نوع،بیمار به طور ناگهانی دچار حملاتی می‌شود که یک یا چند قسمت از بدنش را درگیر می‌کند و سپس بیمار به طور کامل یا نسبی بهبود می‌یابد و بیماری تا حمله بعدی که اتفاق بیفتد،پیشرفت نمی‌کند.

شکل۱-۲ نوع عودکننده-فروکش‌شونده بیماری MS(Miller and Leary , 2007)

❖ پیش‌رونده اولیه ام اس[2]

۱۰٪ درصد افراد به از بیماری پیش‌رونده اولیه ام اس دچار می‌شوند. در این نوع شروع علایم آهسته می‌باشد و بیماری به تدریج شدت می‌گیرد. در این حالت مرحله فروکش کردن کامل علائم وجود ندارد و ممکن است علائم برای مدتی ثابت مانده و سپس مجددا" به صورت تدریجی افزایش یابد(شکل ۱-۳).



شکل۱-۳ نوع پیش‌رونده اولیه بیماری MS(Miller and Leary , 2007)

❖ پیش‌رونده ثانویه ام اس[3]

[1] - Relapsing-remitting MS
[2] - Primary progressive MS
[3] - Secondary progressive MS

این نوع با عودکننده–فروکش‌کننده شروع می‌شود. با این وجود در بعضی از نقاط،سیر بالینی عودکننده–فروکش‌کننده به نحوی تغییر می‌کند که بیمار دچار زوال پایدار عملکرد می‌شود که با حملات حاد همراه نمی‌باشد. نوع پیش‌رونده ثانویه ناتوانی نورولوژیک ثابت بیشتری نسبت به نوع عودکننده–فروکش‌کننده ایجاد می کند.برای یک بیمار نوع عودکننده–فروکش‌کننده خطر بروز نوع پیش‌رونده ثانویه،به ازای هر سال حدودا" ۲/۵٪ است(Aminoff et al.,2009). اکثریت بالایی از موارد عودکننده–فروکش‌کننده در نهایت به MS نوع پیش‌رونده ثانویه تبدیل خواهند شد(شکل ۱–۴)

شکل۱–۴ نوع پیش‌رونده ثانویه بیماری MS(Miller and Leary , 2007)

❖ نوع پیش‌رونده–عودکننده ام اس[1]

نوع نادری از بیماری که در ۵٪ از بیماران رخ می‌دهد. در شروع روند بیماری پیشرفت بیماری مشاهده می‌شود و دوره‌هایی از عود بیماری به مسیر پیشرفت بیماری افزوده می‌شود(شکل۱–۵) (Miller and Leary , 2007).

شکل۱–۵ نوع پیش‌رونده–عودکننده بیماری MS(Miller and Leary , 2007)

۱–۱–۴ مدل‌های مطالعه بیماری MS:

۱– مدل ویروسی[2] : سودمندترین مدل‌های ویروسی مطالعه MS،عفونت‌های آزمایشگاهی جوندگان هستند که منجر به عارضه دمیلینه کننده التهابی در CNS می شوند.بیشترین مطالعات انجام گرفته روی ویروس Theiler، ویروس هپاتیتیس موش و ویروس Semliki Forest بوده است(Hemmer et al.,2007).

[1] - Progressive-relapsing MS
[2] - Viral model

۲-مدل التهاب مغزی خود ایمنی تجربی[1] : این مدل،یک مدل حیوانی برای بررسی شاخص‌های التهابی و رفتاری بیماری MS است.این مدل بوسیله مواجه مستقیم حیوان با آنتی‌ژن‌ها و یا به طور فعال با انتقال سلول‌های T خاص میلینی القا می‌شود.در این مدل سلول‌های Tبر علیه آنتی‌ژن‌های میلینی فعال شده و دمیلیناسیون را القا می‌شود(Khezri et al, 2011).

۳-مدل دمیلیناسیون موضعی القا شده با مواد توکسیک مثل لیزولسیتین[2]،اتیدیوم بروماید[3] و کوپریزون:

درمیان مدل‌های توکسیک،اتیدیوم بروماید و کوپریزون، DNA میتوکندریایی را تغییر داده و منجر به تنفس غیرطبیعی و نکروزیس می‌شوند.در مدل لیزولسیتینی ،لیزولسیتین درون نواحی مغزی و یا طناب نخاعی کمری تزریق می‌شود و یک ناحیه کانونی از دمیلیناسیون اولیه را ایجاد می‌کند.

۴- دمیلیناسیون ناشی از پرتوX:

این روش ابزاری برای ایجاد زخم‌های دمیلیناسیون عاری از ظرفیت رمیلیناسیون داخلی می‌باشد.زخم‌های ایجاد شده توسط این روش برای مطالعه پتانسیل رمیلیناسیون سلول‌های گلیال پیوند زنده شده یا مطالعه دلایل شکست رمیلیناسیون در MS مفید می‌باشد.این روش با کاهش دادن میزان سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیتی[4] در محل آسیب از فرایند رمیلیناسیون جلوگیری می‌کند(Blakmore and Franklin, 2008).

۱-۱-۵ تظاهرات بالینیMS:

شروع MS ممکن است ناگهانی یا تدریجی باشد. علائم ممکن است شدید بوده و یا به قدری جزیی باشند که بیمار برای ماه‌ها یا سال‌ها برای گرفتن کمک پزشکی مراجعه نکند. در حقیقت اتوپسی[5] برخی از افرادی که در سراسر عمر خود بدون علامت بوده‌اند بطور غیرمنتظره‌ای مشخص می‌شود که مبتلا به MS بوده‌اند. در موارد دیگر ممکن است یک MRI که به علت دیگری گرفته شده است، شواهدی از MS بدون علامت را نشان بدهند. علائم MS متغییر هستند و به محل و شدت ضایعات در CNS بستگی دارند.

ضعف اندام‌ها: ممکن است به صورت کاهش قدرت یا مهارت،خستگی و یا اختلال در راه رافتن تظاهر نماید.

اسپاستیسیته[6] : اغلب با اسپاسم عضلانی خودبخودی یا القا شده توسط حرکت همراه است. بیش از ۳۰٪ از بیماران MS دچار اسپاستیسیته متوسط تا شدید بخصوص در پاها می‌باشند. این وضعیت اغلب با اسپاسم‌های دردناک همراه است و ممکن است با توانایی جابه‌جایی یا کار و یا مراقبت بیمار از خود تداخل نماید.

[1] - Experimental Autoimmune Encephalomyelitis
[2] - Lysolecithin
[3] - Ethidium bromide
[4] - Oligodendrocyte progenitor cells
[5] - Autopsy – examination of a cadaver to determine or confirm the cause of death
[6] - Spasticity

نوریت اپتیک[1] : عموما به صورت کاهش مقدار بینایی، تیرگی، یا کاهش درک رنگ[2] در مرکز میدان بینایی تظاهر می‌نماید. این علائم ممکن است خفیف بوده و یا به سمت کاهش دید شدید پیشرفت نماید. به ندرت، از دست رفتن کامل درک نور وجود دارد. علائم بینایی عموما در یک چشم بروز می‌کنند، اما ممکن است دوطرفه نیز باشد.

آتاکسی[3] : معمولا به صورت ترمورهای[4] مخچه‌ای عمل می‌کند. همچنین آتاکسی ممکن است سروتنه یا صدا را درگیر کند و دیس-آرتری[5] مخچه‌ای مشخصی را ایجاد کند(تکلم منقطع[6]).

افسردگی: در قریب به نیمی از بیماران روی می‌دهد، ممکن است واکنشی، درونزاد و یا بخشی از خود بیماری باشد و ممکن است در ایجاد خستگی دخیل باشد. خودکشی در بیماران MS به میزان ۷,۵ برابر شایع‌تر از افراد شاهد هم‌سن می‌باشد.

خستگی[7] : در ۹۰٪ از بیماران ایجاد می‌شود؛ خستگی شایع‌ترین علت ناتوانی مرتبط با کار در MS است. خستگی ممکن است با افزایش دمای بدن، افسردگی، اعمال تلاش فوق‌العاده برای انجام فعالیت‌های پایه زندگی روزمره و یا اختلالات خواب (مثلا ناشی از بیدار شدن‌های مکرر شبانه به منظور ادرار کردن) تشدید گردد.

علائم حمله‌ای[8] : حملات ناگهانی مجموعه‌ای از علائم است که با مدت کوتاه (۱۰ ثانیه تا ۲ دقیقه)، تناوب زیاد (۵ الی ۴۰ نوبت در روز)، عدم تغییر در هوشیاری یا الکتروانسفالوگرام زمینه‌ای در طی حملات، و سیر خود محدودشونده (عموما چند هفته تا چند ماه طول می‌کشند) مشخص می‌شوند. علائم حمله‌ای احتمالا در نتیجه تخلیه الکتریکی خودبخودی ایجاد می‌شوند که از لبه‌های پلاک-های دمیلینه منشا می‌گیرند و به صورت تماسی به مسیرهای ماده سفید مجاور انتشار می‌یابند(Martin,R. et al,.1995).

۱-۱-۶ MS القاشده با اتیدیوم بروماید:

به منظور فهم بهتر تاثیرات بیماری MS بر عملکردهای فیزیولوژیک بدن از مدل‌های آزمایشگاهی استفاده می‌شود. الگوی آزمایشگاهی این بیماری، انسفالومیلیت خودایمنی تجربی است که می‌توان با تزریق اتیدیوم بروماید ایجاد نمود. EB یک رنگ با قدرت نفوذ بالا[9] می‌باشد که به طور گسترده برای القای دمیلیناسیون در سیستم اعصاب مرکزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. داروی گلیوتوکسیک EB زمانی که به سیستم اعصاب مرکزی تزریق می‌شود،در ابتدا از بین رفتن آستروسیت‌ها و الیگودندروسیت‌ها را القا کرده و به ترتیب منجر به تخریب سد خونی-مغزی و دمیلیناسیون ابتدایی می‌شود. بطور کلی دمیلیناسیون با واسطه اتیدیوم بروماید موجب فعال‌شدن سلول‌های T کمکی1(TH1) و افزایش سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF-α و اینترلوکین-۱۲ و نهایتا فعال شدن مسیرهای آپوپتوز می‌شود(Bondan et al., 2000).

---

[1] - Optic neuritis
[2] - Desaturation
[3] - Ataxia
[4] - termor
[5]- Dysarthria
[6] - scanning speech
[7] - Fatigue
[8] - Paroxysmal symptoms
[9] - Intercalating

۱-۲ سلول‌های گلیال[1] سیستم عصبی مرکزی:

مغز انسان شامل بیش از ۱۰[11] نورون و ۱۰[12] سلول گلیال است. سلول‌های نورواپیتلیالی لوله‌ی عصبی تبدیل به سه نوع سلول اصلی می‌شوند. اول،این سلول‌ها تبدیل به سلول‌های بطنی[2] می‌شوند که اجزای پوشاننده‌ی سطح داخلی لوله‌ی عصبی هستند و مایع مغزی-نخاعی را ترشح می‌کنند. دوم،پیش‌سازهای نورون‌هایی را ایجاد می‌کنند که در هدایت پتانسیل‌های الکتریکی و هماهنگ‌سازی اعمال بدنی‌مان، افکارمان و احساس‌مان از جهان نقش دارند. سوم، به پیش‌سازهای سلول‌های گلیالی که به ساختن سیستم عصبی، عایق‌بندی نورون‌ها و احتمالا ذخیره‌ی حافظه کمک می‌کنند، تبدیل می‌شوند (گیلبرت،۲۰۰۹). سلول‌های گلیالی از نظر تکاملی دو منشا متفاوت دارند که شامل ماکروگلیاها(آستروسیت‌ها،الیگودندریسیت‌ها و سلول‌های اپاندیمال) با منشا عصبی و میکروگلیاها که از پیش‌سازهای مونوسیت از بافت مزودرمی اطراف سیستم عصبی منشا گرفته و به داخل سیستم عصبی در حال تکامل هجوم می‌آورند(فریدونی و حسینی،۱۳۹۱).

۱-۲-۱ آستروسیت‌ها[3]:

آستروسیت‌های سلول‌های گلیال ویژه‌ای هستند که فراوانی آنها تقریبا ده برابر جمعیت نورون‌های سیستم عصبی مرکزی است به طوری که در حدود ۲۵ تا۵۰ درصد از حجم مغز را اشغال کرده‌اند. آنها از نظر ظاهری ستاره‌ای شکل بوده و دارای زوائد متعددی هستند که با سطح نورون‌ها اتصال غیرسیناپسی دارند. این سلول‌ها دارای پاهای دور عروقی[4] هستند که حدود ۸۵٪ از سطح مویرگ-های موجود در سیستم عصبی مرکزی(CNS) را می‌پوشانند. آستروسیت‌ها مانند آجرهای به هم پیوسته‌ای در سرتاسر CNS منظم شده‌اند و با اتصالات منفذدار به یکدیکر متصلند و یک سنسیتیوم الکتریکی را ایجاد کرده‌اند. دانش پزشکی گذشته،تنها میکروگلیاها را سلول‌های حساس و مهم CNS می‌دانستند و آستروسیت‌ها را سلول‌هایی کم‌اهمیت،نگهبان و پرکننده‌ی فضاهای خالی در CNS تلقی می‌کردند.اما مطالعات در ۲۰ سال اخیر نشان داد که آستروسیت‌ها نه تنها در حمایت فیزیکی و تغذیه نورون‌ها،بلکه در تکوین عصبی و شکل‌گیری سیناپس‌ها، تنظیم جریان خون بافت عصبی و انرژی، تنظیم میانجی‌های عصبی و حتی پاسخ‌های ایمنی در سیستم عصبی دارای اهمیت فراوانی هستند(فریدونی وحسینی،۱۳۹۱). آستروسیت‌ها نقش مهمی در شرایط پاتولوژیکی سیستم عصبی دارند. انبوه و تراکم سلول‌ها و فیبرهای گلیالی یک معیار بافت‌شناسی پاسخ این سلول‌ها به آسیب CNS است،که گلیوسیس فعال نامیده می‌شود. چنین پاسخی توسط تکثیر زیاد آستروسیتی و بیان GFAP [5] شناخته می‌شود. آستروسیت‌ها،گلیوترانسمیترهای متفاوتی را مثل سیتوکاین‌ها و کموکاین‌ها را آزاد می‌کنند(Halassa et al.,2010).

۱-۲-۲ میکروگلیا[6]:

---

[1] -Glial cell
[2] - Ependymal cell
[3] - Astrocytes
[4] - Perivascular feet
[5] - Glial fibrillary acidic protein
[6] -Microglia