بسم الله الرحمن الرحيم

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از
پایان‌نامه کارشناسی ارشد

آقای سامان اسماعیل نژاد رشته **فیزیولوژی** پایان‌نامه **کارشناسی ارشد** خود را با عنوان « **استفاده از والپروییک اسید به عنوان یک ریزمولکول موثر در القای پرتوانی برای افـزایش ظرفیـت تـرمیم نورونی در مدل آسیب هیپوکمپ با کاینیک اسید** » در تاریخ **۱۳۹۱/۶/۲۹** ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر محمد جوان	(استاد راهنما)	
دکتر ناصر نقدی	(استاد مشاور)	
دکتر سعید سمنانیان	(استاد ناظر)	
دکتر سامان حسین خانی	(استاد ناظر)	
دکتر سید جواد میر نجفی زاده	(نماینده تحصیلات تکمیلی)	

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 ۱- 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 ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه برده 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 ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یاآثار ویژه(اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) 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 ٤- 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 ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **سامان اسماعیل نژاد** دانشجوی رشته **فیزیولوژی** ورودی سال تحصیلی۹۰-۸۹ مقطع کارشناسی ارشد دانشکده علوم پزشکی متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراضی را از خود سلب نمودم.»

سامان اسماعیل نژاد

۹۱/۶/۲۷

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 علمی‌پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور 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 **پایان‌نامه کارشناسی ارشد** نگارنده در رشته **فیزیولوژی** است که در سال **۱۳۹۱**در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **دکتر محمد جوان**، مشاوره **دکتر ناصر نقدی** از آن دفاع شده است.

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

ماده ۵ : 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 ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب **سامان اسماعیل نژاد** دانشجوی رشته **فیزیولوژی** مقطع **کارشناسی ارشد**تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

سامان اسماعیل نژاد

۹۱/۶/۲۷

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی

عنوان:

استفاده از والپروییک اسید به عنوان یک ریزمولکول موثر در القای پرتوانی برای افزایش ظرفیت ترمیم نورونی در مدل آسیب هیپوکمپ با کاینیک اسید

نگارش

سامان اسماعیل نژاد

استادراهنما

دکتر محمد جوان

استادمشاور

دکتر ناصر نقدی

تابستان ۱۳۹۱

تقدیم به

پدر، مادر، برادران و خواهرم

که

لحظات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن،

عظمت رسیدن و تمام تجربه های یکتا و زیبای زندگی ام، مدیون حضور سبز

آن هاست؛

تقدیر و تشکر

افتخار دارم از دکتر محمد جوان، استاد راهنمای پژوهش، به خاطر کمک‌های فراوانی که در انجام این پایان نامه به من نمودند، قدردانی نمایم. علم، تجربه و درک عمیق ایشان از موضوع مورد بررسی موجب شد همواره به آسانی به راه‌حل مشکلات موجود دست یابم. مراتب تشکر خود را از زحمات و مشاوره‌ی استاد عزیزم دکتر ناصر نقدی اعلام می‌دارم. از تمامی اساتید گروه فیزیولوژی که در این دو سال اندوخته-ی دانشم را صدچندان کردند، بسیار سپاسگزارم. از کمک‌ها و راهنمایی‌های همکارانم در آزمایشگاه نوروفیزیولوژی مولکولی آقای سعید پژوهان و خانم‌ها سمانه دهقان و نرگس پاچناری متشکرم. از دوستان خوبم در گروه فیزیولوژی به خاطر کمک‌های عملی، علمی و فکریشان قدردانی می‌نمایم. در نهایت از زحمات و الطاف سایر دوستانم آقایان هیرش محمدی‌پور، فرشاد منبری، امیر سوری، پیام امینی و اسماعیل رحیمی تشکر می‌کنم.

چکیده:

مقدمه: عوامل افزایش دهنده‌ی تکثیر سلول‌های پیش ساز عصبی (NPCs) می‌توانند برای افزایش نوروژنز استفاده شوند. والپروییک اسید یکی از ریزمولکول‌هایی است که از راه مکانیسم‌های اپی‌ژنتیک تکثیر NPCs ها را افزایش می‌دهند. والپروییک اسید یک داروی شناخته شده‌ی ضد تشنج و ایجاد کننده‌ی ثبات در خلق‌وخو است. شواهدی وجود دارد که والپروییک اسید در مدل‌های بیماری‌های نورودژنراتیو عملکرد مفید و مؤثری داشته است. این ماده باعث افزایش بازبرنامه‌ریزی سلول‌ها و تولید سلول‌های پرتوان القایی می‌شود که یکی از مشخصات اصلی آن‌ها تکثیر نامحدود است. در این مطالعه از والپروییک اسید برای افزایش ترمیم نورونی پس از ایجاد نورودژنراسیون توسط کاینیک اسید، استفاده شده است.

مواد و روش‌ها : برای ایجاد نورودژنراسیون در ناحیه‌ی CA3 هیپوکمپ محلول کاینیک اسید به داخل بینی موش‌های ماده‌ی نژاد C57bl/6 چکانده شد. والپروییک اسید، دو بار در روز و در طی ۷ روز قبل از تزریق کاینیک اسید به صورت خوراکی با دوز (300 mg/Kg) گاواژ شد. ۵ روز بعد از اعمال کاینیک اسید، نمونه‌برداری انجام شد. مطالعات ایمونوهیستوشیمیایی علیه آنتی‌ژن PSA-NCAM که یک مارکر نوروبلاستی است، استفاده شد. ارزیابی بافت‌شناسی نورودژنراسیون به وسیله‌ی شمارش سلول‌هایی که رنگ آمیزی نیسل شده بودند، در برش‌های بافتی انجام شد. بیان ژن‌های مارکر سلول بنیادی عصبی (Nestin) و سلول پیش ساز عصبی (Sox1 و Pax6) توسط تکنیک Realtime-PCR بررسی شد. برای بررسی علائم رفتاری تخریب و ترمیم هیپوکمپ از آزمون ماز Y استفاده شد.

نتایج : پیش درمان با والپروییک اسید فعالیت تناوب خودبخودی را در آزمون ماز Y افزایش داد. نوروژنز ناحیه‌ی CA3 هیپوکمپ موش‌های پیش درمان شده با والپروییک اسید، افزایش یافت. مطالعات ایمونوهیستوشیمیایی افزایش حضور سلول‌های $PSA\text{-}NCAM^{+}$ در ناحیه‌ی CA3 حیوانات پیش درمان شده با والپروییک اسید را نشان داد. علاوه بر این بیان Nestin به عنوان مارکر سلول بنیادی عصبی و سلول پیش ساز عصبی در موش‌های پیش درمان شده با والپروییک اسید که کاینیک اسید نیز به آن‌ها اعمال شده بود، افزایش یافت.

نتیجه‌گیری : استفاده از والپروییک اسید می‌تواند علایم اعمال کاینیک اسید را در مدل بیماری نورودژنراسیون بهبود بخشد. به نظر می‌رسد والپروییک اسید این اثر را از راه افزایش مقادیر سلول بنیادی عصبی و سلول پیش ساز عصبی و تمایز آن‌ها به نورون‌های بالغ، اعمال می‌نماید.

کلمات کلیدی : نوروژنز، نورودژنراسیون، کاینیک اسید، والپروییک اسید، هیستون داستیلاز، موش ، ماز Y.

فهرست مطالب

فصل ۱ : مقدمه و مروری بر منابع ۱

۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- بافت شناسی دستگاه عصبی مرکزی ۳
۱-۲-۱- نورون‌ها ۵
۱-۲-۲- سلول‌های گلیالی ۵
۱-۳- بیماری‌های دستگاه عصبی مرکزی ۶
۱-۳-۱- بیماری‌های نورودژنراتیو ۶
۱-۴- ترمیم در دستگاه عصبی مرکزی ۷
۱-۴-۱- نورورژنراسیون ۸
۱-۴-۲- نوروژنز ۸
۱-۴-۳- گلیوژنز ۹
۱-۵- سمیت تحریکی ۱۰
۱-۶- هیپوکمپ ۱۱
۱-۶-۱- آناتومی تشکیلات هیپوکمپ ۱۲
۱-۷- مدل‌های بیماری‌های نورودژنراتیو ۱۳
۱-۸- اپی‌ژنتیک ۱۴
۱-۹- والپرویک اسید ۱۵
۱-۱۰- ماز Y ۱۶

فصل ۲ : مواد و روش‌ها ۱۸

۲-۱- حیوانات ۱۹
۲-۲- وسایل ۲۰
۲-۳- ایجاد نورودژنراسیون در هیپوکمپ با تزریق داخل بینی کاینیک اسید ۲۰
۲-۴- گروه های آزمایشی ۲۱

۲-۵- بررسی میزان بهبود حافظه با استفاده از آزمون ماز Y ۲۲
۲-۶- مطالعات بافت شناسی ۲۴
۲-۶-۱- نمونه گیری و پردازش بافت مغز ۲۴
۲-۶-۲- قالب گیری و برش گیری ۲۴
۲-۶-۳- رنگ آمیزی کریزل ویوله ۲۴
۲-۶-۳-۱- تهیه تصویر از لام ها و آنالیز تصاویر ۲۶
۲-۶-۴- مطالعات ایمنوهیستوشیمیایی ۲۷
۲-۷- بررسی بیان ژن به روش REAL-TIME PCR ۲۸
۲-۷- استخراج RNA ۲۸
۲-۷-۱-۱- سنتز cDNA ۳۰
۲-۷-۲- انجام فرایند REAL-TIME PCR ۳۰
۲-۸- روش تجزیه و تحلیل آماری ۳۲

فصل ۳ : نتایج ۳۳

۳-۱- ارزیابی رفتاری ۳۴
۳-۱-۱- اثر کاینیک اسید بر حافظه ۳۴
۳-۱-۲- بررسی اثر VPA بر حافظه‌ی فعال ۳۵
۳-۲- ارزیابی بافت شناسی ۳۷
۳-۲-۱- رنگ آمیزی نیسل و شمارش سلولی ۳۷
۳-۲-۲- بررسی‌های ایمونوهیستوشیمیایی ۳۹
۳-۲-۳- بررسی اثر پیش درمان والپروییک اسید بر بیانِ ژن‌ها ۴۰

فصل ۴ : بحث و نتیجه گیری و پیشنهادها ۴۲

۴-۱- بحث ۴۳
۴-۲- نتیجه گیری کلی ۴۸
۴-۳- پیشنهادها ۴۸

فهرست منابع..... ۵۰

چکیده‌ی انگلیسی..... ۵۸

فهرست جدول‌ها

جدول ۲-۱: گروه های آزمایشی ۲۲
جدول ۲-۲: آنتی بادی‌های مصرفی و رقت آن‌ها..... ۲۷
جدول ۲-۳: توالی پرایمرها، دمای بهینه‌ی اتصال و طول قطعات حاصل از آن‌ها ۳۱

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱: فرایند ایجاد سمیت تحریکی ۱۱

شکل ۱-۲: ساختارهای هیپوکمپ ۱۲

شکل ۲-۱ : موش نژاد C57BL/6 ..... ۱۹

شکل ۲-۲ : ایجاد نورودژنراسیون در هیپوکمپ با تزریق داخل بینی کاینیک اسید ۲۱

شکل۲-۳ : طرح ترسیمی از ماز Y مورد استفاده در بررسی حافظه فعال ۲۳

شکل ۲-۴ : انتخاب مقطع و شمارش آن توسط نرم افزار ImageJ ۲۶

شکل ۲-۵: باندهای RNAهای ریبوزومی ۲۹

شکل ۲-۶: تنظیم دمای بهینه‌ی اتصال پرایمر ۳۲

شکل ۳-۱: مقایسه نقص حافظه‌ی پس از اعمال داخل بینی کاینیک اسید گروه Vehicle + KA .. ۳۵

شکل ۳-۲: مقایسه نقص حافظه‌ی پس از اعمال داخل بینی کاینیک اسید ۳۶

شکل ۳-۳: مقایسه تعداد سلول‌های ناحیه‌ی CA3 هیپوکمپ ۳۷

شکل ۳-۴: بررسی بافت شناسی با رنگ آمیزی نیسل. ۳۸

شکل ۳-۵: رنگ آمیزی ایمنوفلورسنت PSA-NCAM ۳۹

شکل ۳-۶ : مقایسه‌ی بیان ژن Nestin در روز پنجم پس از تزریق کاینیک اسید ۴۰

شکل ۳-۷ : مقایسه‌ی بیان ژن Sox1 در روز پنجم پس از تزریق کاینیک اسید ۴۱

شکل ۳-۸ : مقایسه‌ی بیان ژن Pax6 در روز پنجم پس از تزریق کاینیک اسید ۴۱

فصل اول

مقدمه و مروری بر منابع

۱-۱- مقدمه

نورودژنراسیون[1] تخریب پیش‌رونده‌ی ساختار و به تبع آن عملکرد سلول‌های عصبی می‌باشد. بیماری-های ناشی از نورودژنراسیون را بیماری‌های نورودژنراتیو[2] می‌گویند. شمار مبتلایان به بیماری‌های نورودژنراتیو از جمله بیماری آلزایمر (AD)[3] ،بیماری پارکینسون (PD)[4] ،مالتیپل اسکلروسیس (MS)[5] و غیره در کشور ما و جهان رو به فزونی است و پیامد های ناگوار و جبرانی را برای بیماران و اطرافیان آن‌ها دارد. از این رو یافتن راه‌هایی برای پیشگیری و درمان چنین بیماری‌هایی ضروری است. کاربرد سلول‌های بنیادی[6] امروزه توجه دانشمندان و عامه‌ی مردم را به خود جلب کرده است و پژوهش‌های این حوزه به دلیل پتانسیل‌های بالای درمانی از رشد قابل توجهی برخوردار است. استفاده از سلول‌های بنیادی برای درمان برخی بیماری‌ها به مراحل بالینی رسیده است. این حوزه‌ی تحقیقاتی در تلاش است از سلول‌های بنیادی برای جایگزینی سلول‌های آسیب دیده در بیماری‌های نورودژنراتیو استفاده کند یا با تقویت عملکرد سلول‌های بنیادی درونزاد باعث افزایش ترمیم شوند [۱].

یکی از مدل‌های رایج برای از دست رفتن نورون‌ها، آسیب عصبی ناشی از کاینیک اسید[7](KA) است. KA که آنالوگ گلوتامات است باعث ایجاد تشنج در حیوان و مرگ سلول‌های نواحی CA1، CA3 و

[1] Neurodegeneration
[2] Neurodegenerative diseases
[3] Alzheimer disease
[4] Parkinson disease
[5] Multiple sclerosis
[6] Stem cells
[7] Kainic acid

شکنج دندانه‌ای[1] هیپوکمپ می‌گردد. آسیبی که این ماده در هیپوکمپ ایجاد می‌کند، بر حافظه و توان یادگیری موجود نیز تأثیر می‌گذارد [۲]. رویکردهای درمانی بیماری‌های نورودژنراتیو بر محافظت از سلول‌های عصبی[2] و جایگزینی سلول‌های از دست رفته به وسیله سلول‌های بنیادی، متمرکزند.

در طول تکامل جنینی، سلول‌های پیش ساز سیستم عصبی مرکزی (NPCs)[3] که سلول‌های شعاعی[4] نیز نامیده می‌شوند، نورون‌ها و سلول‌های گلیال (الیگودندروسیت‌ها و آستروسیت‌ها) را به وجود می‌آورند [۳]. در مغز پستانداران بالغ نیز سلول‌های بنیادی عصبی وجود دارند و اکثراً در دو مکان اصلی یعنی ناحیه‌ی زیر بطنی (SVZ)[5] و شکنج دندانه ای هیپوکمپ متمرکز می‌باشند. هنگامی که آسیبی در مغز رخ رخ می‌دهد، این سلول‌ها توانایی مهاجرت به محل آسیب و تمایز به نورون و سلول‌های گلیال را دارند [۳]. اما این منابع محدودند و معمولاً قادر به ترمیم کامل ضایعه نیستند. از این رو باید به دنبال منابع دیگری از سلول‌های بنیادی برای ترمیم ضایعه بود. این منبع می‌تواند از تهیه‌ی سلول در محیط آزمایشگاهی و تزریق به محل آسیب و یا افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی درونزاد حاصل شود.

یکی از انواع سلول‌های بنیادی، سلول‌های بنیادی پرتوان القایی [6] (iPSCs) هستند که طی فرایندی با با نام بازبرنامه‌ریزی[7] از سلول‌های پیکری تمایز یافته[8] حاصل می‌شوند [۴]. Takahashi و Yamanaka ،بنیان گذاران این روش، در سال ۲۰۰۶ با وارد کردن وکتورهای ویروسی حامل چهار فاکتور رونویسی[9] Oct4، Sox2، Klf4 و c-Myc به ژنوم سلول‌های فیبروبلاست[10] موش بالغ توانستند این سلول‌ها را به صورت بنیادی پرتوان در آورند [۵]. از جمله از معایب تولید این سلول‌ها می‌توان به امکان تغییر و ایجاد جهش در ساختار ژنوم، غیر فعال نشدن فاکتورهای رونویسی و یا فعال شدن مجدد این فاکتور در سلول اشاره کرد. همچنین یکسری از این فاکتورهای رونویسی مانند C-Myc و یا Klf4 موتاژن هستند و

[1] Dentate gyrus
[2] Neuroprotection
[3] Neural progenitor cells
[4] Radial cells
[5] Subventricular zone
[6] Induced pluripotent stem cells
[7] Reprogramming
[8] Differentiated somatic cells
[9] Transcription factor
[10] Fibroblast

امکان پیشبرد این سلول‌ها به سمت سرطانی شدن وجود دارد. ازجمله معایب دیگر این روش می‌توان به آهسته بودن و کارایی پایین فرایند رونویسی اشاره کرد [۶]. تاکنون تلاش‌هایی در جهت رفع این مشکلات انجام شده است که یکی از آن‌ها استفاده از ریزمولکول‌ها[۱] است.

در حوزه علم استفاده از سلول‌های بنیادی با یکسری مولکول‌های کوچک روبه رو هستیم به نام ریزمولکول‌ها که مواد شیمیایی نسبتاً پایدار هستند و به منظور جایگزینی فاکتورهای رونویسی و افزایش کارایی بازبرنامه‌ریزی سلول‌های تمایز یافته و همچنین حفظ توانایی خودنوزایی[۲] سلول‌های بنیادی استفاده می‌شوند. این ریز مولکول‌ها بر آنزیم‌های مختلف مسیرهای پیام رسانی[۳] و عوامل تنظیم کننده‌ی بیان ژن‌ها موثرند [۴] شناخته شده ترین ریز مولکول‌ها عبارتند از: والپروییک اسید[۴](VA) (مهارکننده‌ی هیستون داستیلاز[۵])، BIX-01294 (مهارکننده‌ی G9a HMTase)، Bayk8644 (مهارکننده‌ی کانال‌های کلسیمی نوع L)، Pluripotin/SC1 (مهارکننده‌ی RasGAP و ERK1)، CHIR99021 (مهار کننده‌ی GSK3) و PD0325901 (مهارکننده‌ی MEK). اثرات ریزمولکول VA به تنهایی در القای پرتوانی مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده است که در محیط کشت می‌تواند تغییراتی در بیان ژن سلول‌های فیبروبلاست جنینی موش(MEF)[۶] ایجاد کند که می‌توان از آن به "میل به سمت الگوی شبه بنیادی جنینی[۷]" یاد کرد [۷]. همچنین مطالعات پیشین آزمایشگاه ما نشان داده است که تزریق مکرر VAبه مدت ۵ روز قبل از ایجاد آسیب دمیلینه کننده[۸] در مدل حیوانی، قادر است با افزایش ظرفیت تکثیر در سلول‌های بنیادی درونزاد (NSCs)[۹]و پیش سازهای الیگودندروسیتی (OPCs)[۱۰]، باعث تقویت مکانیسم‌های ترمیمی میلین در مدل بیماری‌ام اس شود [۸]. با توجه به مطالب فوق سؤالات زیر در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفته است:

[1] Small Molecules
[2] Self-renewal
[3] Signaling pathways
[4] Valproic acid
[5] Histone deacetylase
[6] Mouse embryonic fibroblast
[7] Embryonic stem cell like
[8] Demyelinating lesion
[9] Neural stem cells
[10] Oligodendrocyte progenitor cells

۱. آیا استفاده از ریزمولکول والپروییک اسید، باعث بهبود حافظه در موش‌های مدل نورودژنراسیون القایی توسط کاینیک اسید می‌شود؟
۲. آیا استفاده از ریزمولکول والپروییک اسید، باعث افزایش نورون زایی در هیپوکمپ دژنره شده با کاینیک اسید خواهد شد؟

۱-۲- بافت شناسی دستگاه عصبی مرکزی

از نظر بافت شناسی، دستگاه عصبی مرکزی از دو گروه عمده از سلول‌ها تشکیل شده است:

الف) نورون‌ها

ب) سلول‌های گلیال[۱]

۱-۲-۱- نورون‌ها

نورون‌ها سلول‌های تحریک پذیر دستگاه عصبی هستند. وظیفه‌ی این سلول‌ها انتقال داده‌های عصبی است. آن‌ها این کار را از راه هدایت تکانه های الکتریکی انجام می‌دهند.

۱-۲-۲- سلول‌های گلیالی

سلول‌های گلیال، سلول‌های غیر نورونی هستند که در دستگاه عصبی وظایفی از جمله حفظ هوموستاز[۲]، تولید میلین[۳] ، فراهم کردن نیازهای غذایی نورون‌ها و حفاظت فیزیکی از آن‌ها را بر عهده دارند[۹]. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که سلول‌های گلیال در تنظیم[۴] تبادل پیام بین نورون‌ها[۵] نیز

[1] Glial Cells
[2] Homeostasis
[3] Myelin
[4] Modulation
[5] Neurotransmission

نیز نقش دارند. سلول‌های میکروگلیا[1]، آستروسیت‌ها[2]، الیگودندروسیت‌ها[3]، سلول‌های اپاندیمال[4] و سلول-های شعاعی[5] انواع اصلی سلول‌های گلیال هستند.

۱-۳- بیماری‌های دستگاه عصبی مرکزی

بیماری‌هایی که مغز و نخاع را تحت تأثیر قرار می‌دهند را بیماری‌های دستگاه عصبی مرکزی می-گویند. مننژیت[6]، هانتینگتون[7]، بیماری آلزایمر[8]، بیماری پارکینسون[9]، مالتیپل اسکلروسیس[10] از شناخته شناخته شده ترین بیماری‌های دستگاه عصبی مرکزی هستند. این بیماری‌ها به علت‌های مختلفی ازجمله تروما[11]، عفونت، نورودژنراسیون[12]، واکنش‌های خود ایمنی[13]، نقایص ژنتیکی و غیره ایجاد می‌شوند.

۱-۳-۱- بیماری‌های نورودژنراتیو

تخریب پیش‌رونده‌ی ساختار و عملکرد نورون‌ها که منجر به مرگ آن‌ها می‌شود را نورودژنراسیون می-گویند. بیماری‌های حاصل از تخریب نورونی را بیماری‌های نورودژنراتیو می‌گویند که از مهم‌ترین بیماری-های دستگاه عصبی مرکزی هستند. در سراسر جهان شمار زیادی از افراد به این بیماری‌ها مبتلا هستند و این تعداد با افزایش امید به زندگی در جوامع بشری رو به فزونی است. با مراجعه به آمار ابتلا به این بیماری‌ها در کشور آمریکا، به عنوان کشوری که آمار نسبتاً دقیقی در زمینه‌ی بهداشت ارائه می‌دهد، می-توان تقریبی از مبتلایان به این بیماری‌ها را در سراسر جهان بدست آورد. بر طبق آمارهای اعلام شده ۵.۴ میلیون نفر (۲۰۱۱) در آمریکا مبتلا به بیماری آلزایمر، نیم میلیون نفر (۲۰۰۶) مبتلا به پارکینسون و ۴۰۰۰۰۰نفر (۲۰۱۱) مبتلا به مالتیپل اسکلروسیس هستند [۱۰]. بزرگ‌ترین عامل خطر[14] در ابتلا به این بیماری‌ها افزایش سن است. با توجه به جوان بودن جمعیت کشورمان می‌توان انتظار داشت در آینده‌ی نه

[1] Microglia
[2] Astrocytes
[3] Oligodendrocytes
[4] Ependymal cells
[5] Radial
[6] Meningitis
[7] Huntington disease
[8] Alzheimer's disease
[9] Parkinson's disease
[10] Multiple sclerosis
[11] Trauma
[12] Neurodegeneration
[13] Autoimmune
[14] Risk factor

چندان دور شمار زیادی از افراد جامعه‌ی ما دچار این بیماری‌ها شوند، گرچه تعدادی از این بیماری‌ها ازجمله هانتینگتون و مالتیپل اسکلروسیس در جوانی نیز ظهور می‌یابند. بنابراین یافتن راه‌هایی برای پیشگیری از وقوع و درمان این بیماری‌ها ضروری است. امروزه تحقیقات متعددی توسط پژوهشگران علوم پزشکی در سراسر جهان در حال انجام است که با نگاه‌های متفاوت به دنبال راه‌حل‌هایی برای پیشگیری و درمان این بیماری‌ها هستند. رویکردهای درمانی بیماری‌های نورودژنراتیو بر محافظت از سلول‌های عصبی[1] و جایگزینی سلول‌های از دست رفته متمرکزند. کاربرد سلول‌های بنیادی امروزه توجه دانشمندان و عامه‌ی مردم را به خود جلب کرده است. پژوهش‌های این حوزه به دلیل پتانسیل‌های بالای درمانی از رشد قابل توجهی برخوردار است. استفاده از سلول‌های بنیادی برای درمان برخی بیماری‌ها به مراحل بالینی رسیده است. این حوزه‌ی تحقیقاتی در تلاش است با استفاده از سلول‌های بنیادی و یا با افزایش ترمیم درونزاد، امکان جایگزینی سلول‌های آسیب دیده و در نتیجه رفع عوارض بیماری‌های تحلیل برنده را فراهم آورد [۱].

۱-۴- ترمیم در دستگاه عصبی مرکزی

بحث ترمیم در دستگاه عصبی مرکزی به سرعت در حال رشد است. قبلاً تصور می‌شد که دستگاه عصبی مرکزی توان ترمیم ندارد اما با پژوهش‌های صورت گرفته بر روی حیوانات و انسان تفکر سابق تغییر یافته و امروزه اعتقاد بر این است که این امر امکان پذیر است. ترمیم در دستگاه عصبی به دو صورت دیده می‌شود :

الف) نورورژنراسیون[2]

ب) نوروژنز[3]

ج) گلیوژنز[4]

[1] Neuroprotection
[2] Neuroregeneration
[3] Neurogenesis
[4] Gliogenesis