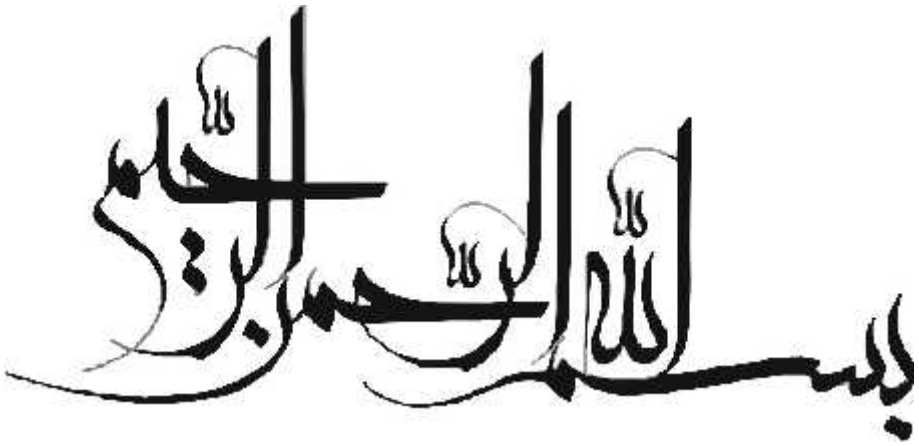

بسم الله الرحمن الرحيم

وزارت علوم ، تحقیقات و زیست فناوری

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته ی زیست شناسی سلولی و مولکولی

بررسی اثر ضد التهابی داروی میگری هیل® بر روی سلول های مخلوط گلیا

نگارش:

محمود حسنی

اساتید راهنما:

دکتر فرزانه صابونی

دکتر محمد انصاری

استاد مشاور:

دکتر محمد صادق فلاح

شهریور ۱۳۹۱

"حق استفاده از مفاد پایان نامه برای پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری محفوظ است"

وزارت علوم ، تحقیقات و زیست فناوری

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی سلولی و مولکولی

بررسی اثر ضد التهابی داروی میگری هیل® بر روی سلول های مخلوط گلیا

نگارش:

محمود حسنی

این پایان نامه توسط کمیته داوران در تاریخ ۹۱/۶/۱۸ مورد تایید قرار گرفته و با درجه عالی ارزیابی گردید.

استاد راهنمای اول: دکتر فرزانه صابونی

استاد راهنمای دوم: دکتر محمد انصاری

استاد مشاور: دکتر محمد صادق فلاح

داور داخلی : دکتر محمد حسین صنعتی

داور خارجی: دکتر معصومه فیروزی

سرپرست آموزش: دکتر فرید حیدری

با سپاس از پروردگار جهان و درود بر پیامبر گرامی اش (صلی الله علیه و آله)

و با تشکر از راهنمایی های دلسوزانه ی استادان

سرکار خانم دکتر صابونی، جناب آقای دکترانصاری، جناب آقای دکتر فلاح،

و کارشناسان محترم سرکار خانم عباسی، جناب آقای انصاری مجد

و با قدردانی از حمایتهای وصف ناپذیر خانوادهام

که در همه حال همراهم بودند

چکیده

سلول‌های میکروگلیا و آستروسیت سلول‌های کلیدی ایمنی ذاتی سیستم عصبی مرکزی، علاوه بر حفاظت عصبی، دارای نقش مهمی نیز در دگرگونی‌های عصبی می‌باشند. فعالیت مزمن این سلول ها، حیات نورونی را از طریق آزادسازی میانجی‌گرهای نوروتوکسیک متعدد از جمله سیتوکین‌ها، کموکین‌ها و نیتریک‌اکساید (NO) به‌خطر می‌اندازند. در نتیجه، تنظیم‌کننده‌های فعالیت گلیاها، به عنوان نماینده‌های درمانی، برای هدف قرار دادن تخریب عصبی از جمله بیماری آلزایمر و پارکینسون در نظر گرفته می‌شوند. میگری هیل®، دارویی است گیاهی که محصول تحقیق و پژوهش دانشمندان ایرانی می باشد. که با توجه به ترکیباتی مانند Thymol و 1,8-Cineole دارای اثرات ضدالتهابی می‌باشد. در این مطالعه، اثر ضدالتهابی میگری هیل® بر سلول‌های اولیه میکروگلیا و سلول های مخلوط گلیای رت ملتهب شده با LPS، بررسی شده است.(محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ از FBS) مورد بررسی قرار گرفتند.سلول‌های میکروگلیای اولیه نوزاد رت، توسط شیک‌کردن، از فلاسک کشت مخلوط گلیا، جدا گشته و در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ از FBS کشت داده شدند. خلوص کشت‌ها توسط ایمونوسیتوشیمی با استفاده از آنتی‌بادی OX-42، بررسی شد، و خلوص سلول ها بیش از ۹۵٪ برآورد گردید. سلول‌های میکروگلیا با میگری هیل® (۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰µg/ml) و سلول های مخلوط گلیا با میگری هیل® (۲۵، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۵۰µg/ml)در محیط جدید حاوی ۱٪ از FBS تیمار گردیده و پس از ۱ ساعت LPS به مدت ۴۸ ساعت ملتهب گردیدند.

با استفاده از تست گریس و تکنیک‌های RT-PCR و وسترن‌بلات نشان داده شد که غلظت ۱۵۰µg/ml میگری هیل® به‌طور قابل‌توجهی تولید NO را در سلول های مخلوط گلیای تحریک شده توسط LPS به صورت وابسته به غلظت کاهش داد.(البته در مورد میکروگلیا فقط توسط تست گریس و در غلظت ۵۰ µg/ml کاهش NO مشاهده گردید) همچنین میگری هیل® بیان iNOS و TNF-α را در سطح mRNA کاهش داد که مرتبط با مهار بیان فاکتور نسخه‌برداری NF-κB در سطح بیان پروتئین بوده است. به علاوه، با استفاده از تست MTT، نشان داده شد که میگری هیل® در هیچ یک از غلظت‌های مورد استفاده، سمیتی برای سلول‌ها نداشته است.

در نتیجه، نتایج این پژوهش اثبات کرد که میگری هیل® با کاهش عوامل التهابی می‌تواند نقش موثری در پیشگیری و درمان بیماری‌های التهاب عصبی داشته باشد.

کلمات کلیدی: سلول های مخلوط گلیا، میکروگلیا، التهاب، میگری هیل®، اثر ضد التهابی

فهرست مطالب

۱-۱ مقدمه ۱
۱-۲ انواع سلولهای گلیا ۱
۱-۲-۱ میکروگلیا: ۱
۱-۲-۲ آستروسیت: ۲
۱-۲-۳ اولیگودندروسیتها: ۲
۱-۲-٤ سلولهای اپاندیم: ۳
۱-۳ منشاء سلولی و جایگاه سلولهای گلیا: ٤
۱-٤ عملکردهای فیزیولوژیکی میکروگلیا: ۷
۱-۵ عملکرد نوروتروفیک میکروگلیاهای فعال شده: ۷
۱-٦ پاسخ ایمنی سلولهای میکروگلیا : ۸
۱-۷ نقش های آستروسیت ها در CNS: ۱۰
۱-۷-۱ تکوین CNS: ۱۰
۱-۷-۲ تنظیم جریان خون CNS: ۱۰
۱-۷-۳ همئوستازی مایعات، یون ها و PH: ۱۱
۱-۷-٤ سنتز و بازجذب نوروترانسمیترها: ۱۲
۱-۷-۵ سد خونی – مغزی (BBB): ۱۲
۱-۷-٦ عملکرد سیناپس ها: ۱۳
۱-۷-۷ سیستم ایمنی: ۱٤
۱-۸ خصوصیات مورفولوژیکی میکروگلیا: ۱۵
۱-۸-۱ میکروگلیای منشعب: ۱۵
۱-۹ التهاب: ۱۸
۱-۱۰ نقش No در فرآیندهای فیزیولوژیك: ۱۹
۱-۱۱ مکانیسم عمل NO : ۲۲
۱-۱۲ نقش میکروگلیا در التهاب عصبی: ۲۲
۱-۱۳ تولید NO در سلول های گلیا: ۲٤
۱-۱٤ . تنظیم ژن iNOS در سلول های گلیا: ۲٦
۱-۱٦ نقش بیانی پروتئینی Nurr1 در التهاب ۲۹
۱-۱۷ محرکهای فعالیت گلیا: ۳۰
۱-۱۷-۱ لیپو پلی ساکارید(LPS) ۳۰
۱-۱۷-۲ اینترفرون گاما(IFNγ) ۳۳

۱-۱۷-۳ پروتئین آمیلوئید بتا (Aβ) ۳٤
۱-۱۷-٤ پروتئین پریون ۳٤
۱-۱۷-۵ مولکولهای مربوط به HIV ۳٤
۱-۱۷-٦ سیتوکینها : ۳۵
۱-۱۷-۷ آدنوزین تری فسفات(ATP) ۳۵
۱-۱۷-۸ فاکتورهای سرمی : ۳٦
۱-۱۷-۹ دیگر مولکول های اندوژنوز: ۳٦
۱-۱۸ فعالیت میکروگلیا درانواع بیماریهای نورولوژیکی: ۳۷
۱-۱۸-۱ ارتباط میکروگلیا – میکروب: ۳۷
۱-۱۸-۲ بیماری آلزایمر: ۳۸
۱-۱۸-۳ بیماری AIDS: ۳۹
۱-۱۸-٤ مولتیپل اسکلروزیس(MS): ٤۱
۱-۱۸-۵ بیماری پارکینسون(PD): ٤۲
۱-۱۹ میگری هیل® گامي بزرگ براي درمان سردردهاي میگرني ٤٤
۱-۲۰ تحقیقات در مورد داروي میگری هیل® شامل دو بخش زیر بود: ٤۵
۱-۲۱ سه ویژگي مهم اثر میگری هیل® : ٤۵
۱-۲۲ تولید میگریهیل® ٤۷
۲ فصل دوم ٤۸
۲-۱ وسایل و تجهیزات مورد نیاز: ٤۹
۲-۲ مواد مورد استفاده: ۵۱
۲-۳ محلولها و بافرهای مورد استفاده: ۵٤
۲-۳-۱ محیط کشت ۵٤
۲-۳-۲آماده سازی دارو ۵٤
۲-۳-۳ بافر نمکی فسفات PBS ۵۵
۲-۳-۵ فیکساتیو پارافرمالدئید ٤%: ۵٦
۲-۳-٦ لیپویلی ساکارید: ۵٦
۲-۳-۷نیتریت سدیم : ۵۷
۲-۳-۸ گریس ۵۷
۲-۳-۹ محلول MTT: ۵۸
۲-۳-۱۰ بافر لیز سلولی NP-40: ۵۸
۲-۳-۱۱ رقت‌های استاندارد BSA : ۵۸

۲-۳-۱٤ ژل پلی‌اکریل‌آمید جدا کننده (۱۲/۵%) : ۵۹
۲-۳-۱۵ ژل پلی‌اکریل‌آمید جمع کننده (۵%) : ۵۹
۲-۳-۱۸ بافر نمونه (2X) : ٦۱
۲-۳-۱۹ بافر ترانسفر: ٦۱
۲-۳-۲۰بافر TBS(10X) : ٦۲
۲-۳-۲۱ محلول TBST : ٦۲
۲-۳-۲۲ محلول بلوک کننده: ٦۲
۲-۳-۲۳ استریپینگ بافر: ٦۳
۲-٤ مراحل کشت سلولی ٦۳
۲-٤-۱. کشت مخلوط اولیه سلول های عصبی موش صحرایی ٦۳
۲-٤-۲ خالص‌سازی میکروگلیا ٦۵
۲-۵ ایمونوسیتوشیمی ICC ٦٦
۲-۵-۱ روش کار: ٦٦
۲-٦ تریپسینه کردن سلولها ٦۷
۲-۷ شمارش سلولی و تعیین بقای سلولی ٦۷
۲-۸ تیمار سلولها: ٦۸
۲-۹ سنجش گریس: ٦۹
۲-۹-۱ اندازه گیری نیتریک اکساید: ٦۹
۲-۱۰ تست MTT ۷۰
۲-۱۱ RT-PCR ۷۱
۲-۱۱-۱ استخراج RNA کل سلول: ۷۱
۲-۱۱-۳ توالی پرایمرها ۷۳
۲-۱۲ روش وسترن بلات ۷٤
۲-۱۲-۱ استخراج پروتئین کل سلول ۷٤
۲-۱۲-۲ سنجش غلظت پروتئین با استفاده از روش برادفورد: ۷۵
۲-۱۲-۳ الکتروفورز پروتئین ها ۷٦
۲-۱۲-٤ انتقال پروتئینها بر روی کاغذ PVDF ۷۷
۲-۱۲-۵ ایمنوبلاتینگ ۷۸
۲-۱۲-٦ استریپینگ ۷۹
۲-۱۳ آنالیزهای آماری ۸۰
۳ نتایج ۸۱
۳-۱ روند رشد سلولها در کشت مخلوط گلیا: ۸۲
۳-۲-۱ مورفولوژی و خلوص میکروگلیا پس از جداسازی: ۸۳

۳-۲-۲ بررسی اثر محلول عصاره خشک میگریهیل® بر مورفولوژی میکروگلیا:..... ۸٤
۳-۲-۳ تاثیر محلول عصاره خشک میگریهیل® بر تولید NO در میکروگلیا ملتهب شده با LPS: ۸٦
۳-۲-٤ اندازه‌گیری سمیت محلول عصاره خشک میگری هیل® در غلظتهای مختلف: ۸۸
۳-۳ بررسی اثر محلول عصاره خشک میگریهیل® بر مورفولوژی کشت مخلوط گلیا:..... ۹۰
۳-۳-۱ تاثیر محلول عصاره خشک میگریهیل® بر تولید NO در سلولهای گلیای ملتهب شده با LPS : ۹۳
۳-۳-۲ اندازه‌گیری سمیت محلول عصاره خشک میگریهیل® در غلظت های مختلف:..... ۹٤
۳-٤ واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) ۹۵
۳-۵ بررسی تغییرات بیان پروتئینی NF-κB به روش وسترن بلات:..... ۱۰۰
۳-٦ بررسی تغییرات بیان پروتئینی Nurr1 به روش وسترن بلات ۱۰٤
٤ بحث و نتیجه گیری ۱۰٦
منابع ۱۲۳
چکیده انگلیسی ۱۳۱

فهرست جداول

۱-۱: مارکر های سلول های میکروگلیا ---------- ۵
۲-۱: مواد مورد استفاده ---------- ۵۱
۲-۲: مواد مورد نیاز بافر نمکی فسفات ---------- ۵۵
۲-۳: لیپو پلی ساکارید ---------- ۵۶
۲-٤: مواد مورد نیاز نیتریت سدیم ---------- ۵۷
۲-۵: گریس ---------- ۵۷
۲-٦: برادفورد ۵× ---------- ۵۸
۲-۷: ژل پلی اکریل آمید جداکننده(۱۲/۵%) ---------- ۵۹
۲-۸: ژل پلی اکری آمید (۵%) ---------- ۵۹
۲-۹: بافر مهاجرت بالا ---------- ٦۰
۲-۱۰: بافر مهاجرت پایین ---------- ٦۰
۲-۱۱: بافر نمونه ۲× ---------- ٦۱
۲-۱۲: بافر ترانسفر ---------- ٦۱
۲-۱۳: بافر TBS(10X) ---------- ٦۲
۲-۱٤: بافرTBST ---------- ٦۲
۲-۱۵: محلول بلوکه کننده ---------- ٦۲
۲-۱٦: استریپینگ بافر ---------- ٦۳
۲-۱۷: موادسنتز cDNA ---------- ۷۲
۲-۱۸: پرایمرهای RT-PCR ---------- ۷۳
۲-۱۹: مواد مورد نیاز RT-PCR ---------- ۷۳
۲-۲۰: برنامه RT-PCR ---------- ۷٤
۲-۲۱: مراحل روش برادفورد برای تعیین غلظت پروتئین ---------- ۷۵

فهرست تصاویر

۱-۱: سلول های نوروگلیا در CNS و PNS ---------- ٤
۱-۲: اجزای تشکیل دهنده سیناپس ۳ جزئی در آستروسیت ---------- ١٤
۱-۳: میکروگلیای رنگ شده با نیترات نقره ---------- ١٦
۱-٤:طرحی شماتیک از فعال شدن میکروگلیا ---------- ١٨
۱-٥: مکانیسم فعال شدن NF-Kb ---------- ٢٧
۱-٦: اتصال LPS به TLR4 ---------- ٣٢
۱-۷: پاسخ سلول های گلیا به LPS از طریق LPS ---------- ٣٣
۲-۱: دستگاه الایزا ریدر ---------- ٥٠
۲-۲: لوپ تشریح ---------- ٥١
۲-۳: کشت مخلوط سلول های مخلوط گلیا ---------- ٦٥
۲-٤:سلول های میکروگلیای جدا شد ---------- ٦٦
۲-٥: واکنش مربوط به معرف گریس ---------- ٧٠
۲-٦: مارکر پروتئینی ---------- ٧٦
۲-۷: تانک انتقال از ژل به کاغذ PVDF ---------- ٧٧
۲-۸: مراحل انتقال پروتئین ها به کاغذ PVDF ---------- ٧٨
۳-۱: مرفولوژی سلول های مخلوط گلیا در مراحل مختلف رشد ---------- ٨٢
۳-۲: مورفولوژی سلول های میکروگلیا پس از جداسازی ---------- ٨٣
۳-۳: مورفولوژی سلول های میکروگلیا پس از جداسازی ---------- ٨٣
۳-٤: رنگ آمیزی میکروگلیا با OX42 ---------- ٨٤
۳-٥: مورفولوژی سلول های میکروگلیا پس از جداسازی ---------- ٨٥
۳-٦: مورفولوژی سلول های میکروگلیا پس از تحریک با LPS ---------- ٨٥
۳-۷: مورفولوژی سلول های میکروگلیا پس از تیمار با 50µg/ml میگری هیل® ---------- ٨٦
۳-۸: اثر مهاری میگری هیل® بر تولید NO در میکروگلیا ---------- ٨٨
۳-۹: بررسی سمیت میگری هیل® بر روی سلول های میکروگلیا ---------- ٨٩
۳-۱۰: مورفولوژی سلول های مخلوط گلیا در حالت کنترل ---------- ٩٠
۳-۱۱: مورفولوژی سلول های مخلوط گلیا پس از تحریک با LPS ---------- ٩١
۳-۱۲: مورفولوژی سلول های مخلوط گلیا پس از تحریک با LPS ---------- ٩١
۳-۱۳: سلول های مخلوط گلیا پس از تیمار با مقدار ۷۵µg/ml میگری هیل® ---------- ٩٢
۳-١٤: سلول های مخلوط گلیا پس از تیمار با مقدار ۱۵۰µg/ml میگری هیل® ---------- ٩٢
۳-۱٥: سلول های مخلوط گلیا پس از تیمار با مقدار ۱۵۰µg/ml میگری هیل® ---------- ٩٣
۳-١٦: اثر ضد التهابی با پیش تیمار های مختلف میگری هیل® در سلول های مخلوط ---------- ٩٤

۳-۱۷: بررسی سمیت میگری هیل® بر سلول های مخلوط گلیا ---------- ۹۵
۳-۱۸: تصویر الکتروفورز RT-PCR برای ژن iNOS ---------- ۹۷
۳-۱۹: تبدیل باندهای ژن iNOS بوسیله نرم افزار Totallab ---------- ۹۸
۳-۲۰: تصویر الکتروفورز RT-PCR برای ژن TNF-α ---------- ۹۹
۳-۲۱: تبدیل باندهای ژن TNF-α بوسیله نرم افزار Totallab ---------- ۱۰۰
۳-۲۲: کاهش NF-κB القاءشده با LPS، توسط میگری هیل® درسلول‌های مخلوط گلیا ---------- ۱۰۲
۳-۲۳: تبدیل باندهای NF-κB بلات به صورت کمی بوسیله برنامه Quantity one ---------- ۱۰۳
۳-۲٤: کاهش بیان Nurr1 القاءشده با LPS، توسط میگری هیل® درسلول‌های مخلوط گلیا ---------- ۱۰٤
۳-۲۵: تبدیل باندهای Nurr1 بلات به صورت کمی بوسیله برنامه Quantity one ---------- ۱۰۵
٤-۱: مسیر شماتیک االتهاب با شروع کنندگی LPS ---------- ۱۱۸
٤-۲: عملکرد Nurr1 به منظور سرکوب بیان ژن های توکسیک عصبی در میکروگلیا وآستروسیت ---------- ۱۲۰

فهرست منحنی ها

۲-۱: نمودار استاندارد NaNO2 ---------- ٦٩
۳-۱: نمودار استاندارد NaNO2 ---------- ۸۷
۳-۲: منحنی استاندارد تعیین غلظت پروتئینی ---------- ۱۰۱

APC	Antigen presenting cells
ATP	Adenosin three phosphate
Aβ	β-Amyloid
BB	Blood Brain Barrier
CD14	Cluster of differentiated14
CNS	Central nervous system
COX-2	Cyclooxygenase2
CTL	Cytotoxic T cell
DA	Dopaminergic-nigro strial
EAAT	Excitatory amino acid transporter
EET	Epoxyeicosatrienoic acid
eNOS	endothelial nitric oxide syntase
ERK	Extracellular signal- regulated Kinase
FITC	Fluorescein Isothiocyanate conjugated antibody
GABA	Gama amiono botiric acid
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
HAD	Human immunodeficiency virus acquired dementia
HSV-1	Herpes Simplex Virus 1
HIV	Human immunodeficiency virus
ICC	immunocytochemistry
IFN-γ	Interfron gama
IL-1β	Interloukin 1 β
iNOS	inducible nitric oxide synthase
IP3	Inositol 3 phosphate

IRAK	Interleukine-1 receptor-associated kinase
JNK	C-Jun N terminal kinase
LBP	LPS binding protein
LPS	Lypopolysaccharide
MHC	Major histocompatibility complex
MS	Multiple sclerosis
MYD88	Myeloid differentiation primary response gene 88
NF-kβ	Nuclear factor kappa β
NMDA	N-methyle D-aspartate
NOS	Nitric oxide synthase
nNOS	Neuronal nitric oxide synthase
NO	Nitric oxide
NSAID	Non Steroidal anti inflammatory drugs
PAF	Plaket activated factor
PG-2	Prostaglandin-2
PKC	Protein kinase C
PNS	Peripheral nervous system
TLR	Toll like receptor
TNF-α	Tumor necrosis factor α
TGF-β	Transforming growth factor
TH2	T-helper2
20-HETE	20-hydroxyeicosatetraenoic acid

۱-۱ مقدمه

سیستم عصبی مجموعه عناصری می‌باشد که می‌توانند هماهنگی موجود زنده را با محیط برقرار نموده و نیز سیستم‌های داخل بدن موجود زنده را با همدیگر هماهنگ نمایند. به این ترتیب سیستم عصبی، با ساختار و کار ویژه‌ای که دارد، در جهت ایجاد هماهنگی بین اعمال سلول‌ها و اندام‌های مختلف بدن تمایز و تکامل یافته است. خواص ویژه‌ی آن شامل تأثیرپذیری نسبت به محرک‌های خارجی، ایجاد یک جریان عصبی که نمایانگر تأثیر محرک است، هدایت جریان عصبی از یک نقطه‌ی دستگاه به نقطه‌ی دیگر و سرانجام انتقال آن از یک واحد عصبی به یک واحد دیگر می‌باشد. سیستم عصبی دارای دو نوع سلول اصلی است، که شامل سلول‌های نورون و سلول‌های گلیا[1] می‌باشد. سلول‌های گلیا بطور چشمگیری ۹۰٪ از سلول‌های موجو در مغز انسان را تشکیل می‌دهند. نام گلیا از کلمه یونانی چسب گرفته شده است. سلول‌های گلیا تنها وظیفه کنار هم نگه داشتن سلول‌های عصبی را ندارند بنابراین نبایستی تنها به عنوان سلول‌های حمایت کننده، در سیستم عصبی مطرح باشند. مطالعات نشان داده است که سلول‌های گلیا نقش بسیار ضروری و فعالی در تکامل و عملکرد مغز بازی می‌کنند. در سیستم عصبی مرکزی چهار نوع سلول گلیا وجود دارد: آستروسیت‌ها، الیگودندروسیت‌ها، سلول‌های اپاندیمال و میکروگلیاها(Akbari M, 2010). گلیاها به طور گسترده با نورون‌ها اندرکنش دارند و وظیفه حمایت متابولیکی و ساختمانی این سلول‌ها را بر عهده دارند. سلول‌های عصبی، توسط سلول‌های گلیا که دارای عملکردهایی متنوع می-باشند، پشتیبانی و نگهداری می‌شود. سلول‌های گلیا عملکردهایی همچون: ۱- میلینه کردن، ۲- ترشح عوامل نوروتروفیک، ۳- نگهداری و حذف اضافات مولکولی و سلولی از محیط برون سلولی، ۴- تشکیل و نگهداری سد خونی مغزی[2] نقش ایفا می‌کنند (Squire, 2009).

۱-۲ انواع سلول‌های گلیا

۱-۲-۱ میکروگلیا:

این سلول‌ها کوچکترین سلول‌های گلیا هستند که به عنوان سلول‌های فاگوسیته کننده و سلول‌های ایمنی سیستم عصبی مرکزی به شمار می‌آیند، که وظیفه پاک کردن[3] زایده ها باقیمانده‌های سلولی را بر عهده

[1] Glia cells
[2] Blood Brain Barrier
[3] Scavenger

دارند (Allen and Barres, 2005a). این سلول‌ها کوچک و نامنظم بوده و در حالت طبیعی دارای زوائد منشعب و غیرفعال می‌باشند، و شبیه ماکروفاژهای بافت همبند هستند. با تشکیل ۲۰- ۱۰ درصد از سلول‌های گلیال، یک سیستم ایمنی برای CNS[1] فراهم می آورند. این سلول‌ها در هنگام فعالیت زوائد خود را جمع کرده و مدور می‌شوند. میکروگلیاها باقیمانده لوکوسیت‌های دستگاه عصبی مرکزی اند (Kreutzberg, 1996)که در تنظیم ایمنی ذاتی و نیز در پاسخ‌های ایمنی سازگار در بافت شرکت می‌کنند. سلول‌های میکروگلیا برای اولین بار به عنوان سومین عنصر دستگاه عصبی مرکزی و توسط Cajal در سال ۱۹۱۳ مطرح شد. این تعریف به تمام سلول‌هایی که از لحاظ مورفولوژیکی متفاوت از نورون‌ها (اولین عنصر) و آستروسیت‌ها (دومین عنصر) هستند، اطلاق می‌شود (Hanisch, 2002).

۱-۲-۲ آستروسیت:

فراوانترین انواع سلول‌های گلیا، آستروسیت‌ها هستند. این سلول‌ها به نسبت ۱۰ به ۱ بسیار بیشتر از نورون‌ها بوده و در حدود ۲۵ تا ۵۰ درصد از حجم مغز را اشغال کرده‌اند و از نظر ظاهری، ستاره‌ای شکل بوده (که همین نوع مورفولوژی دلیل نامگذاری این سلول هاست)، دارای زوائد متعددی هستند که با سطح نورون‌ها اتصال غیر سیناپسی دارند این سلول‌ها دارای پاهای دور عروقی[2] هستند که حدود ۸۵٪ از سطح مویرگ‌های موجود در CNS را می‌پوشانند (Sofroniew and Vinters, 2010). این سلول‌ها دارای دسته ای از فیلامنت‌های حد واسط ۹nm می‌باشند که از پروتئین اسیدی رشته ای گلیال GFAP[3] ساخته شده اند که باعث تقویت ساختمان آنها می‌شود. مارکر شناسایی آستروسیت‌ها می‌باشد (Agulhon et al., 2008).

۱-۲-۳ اولیگودندروسیت‌ها:

این دسته از سلول‌ها به طور نسبی مقدار کمی سیتوپلاسم در اطراف هسته خود دارند، اما این سلول‌ها دارای استطاله های فراوانی هستند، که توسط آنها در اطراف آکسون‌ها برای ساخت میلین تجمع می‌یابند (Allen and Barres, 2005b). این سلول‌ها هسته‌ای متراکم تر، اندازه‌ی کوچک تر، و زوائد کمتری

[1] Central nervous system
[2] Perivascular feet
[3] Glial fibrillary acidic protein

نسبت به آستروسیت‌ها دارند. الیگودندروسیت‌ها سلول‌هایی هستند که آکسون‌ها را در سیستم عصبی مرکزی می‌پوشانند و همراه غشائشان که تشکیل یک غشای میلین به نام غلاف میلین می‌دهند. غلاف میلین، جداسازی آکسون‌ها را فراهم می‌کند که به سیگنال‌های الکتریکی امکان می‌دهد تا کارآمدتر گسترش یابند (Baumann and Pham-Dinh, 2001).

الیگودندروسیت‌ها به دو گروه تقسیم می‌گردند :

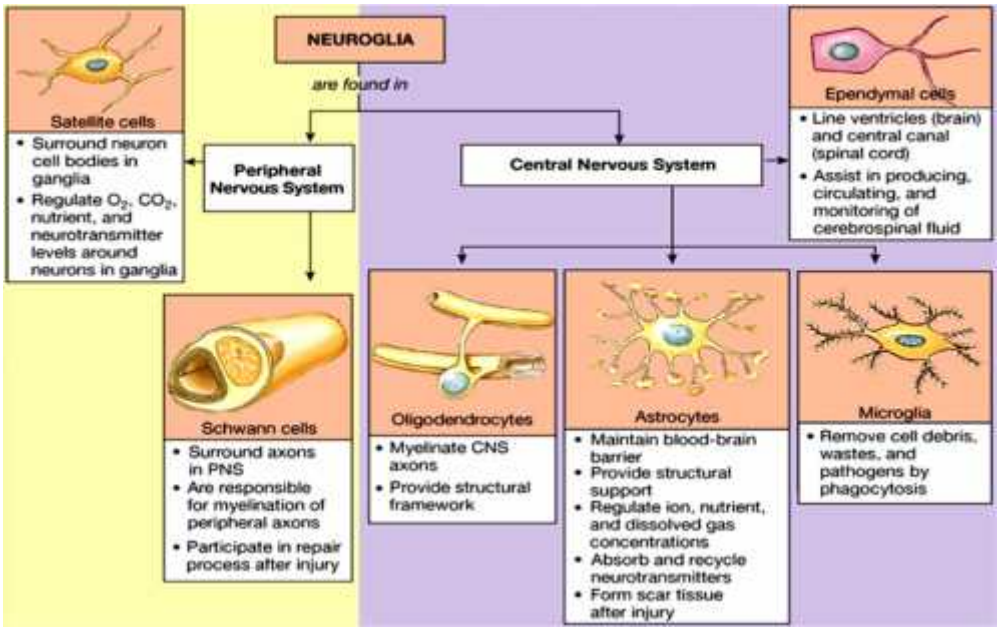
۱- اولیگودندروسیت‌های بین دسته ای[1] که در طول آکسون میلینه قرار گرفته و زوائد آنها میلین بین گره ای چندین آکسون مجاور هم را تشکیل می‌دهند. این روش بر خلاف میلینه شدن آکسون‌ها در اعصاب محیطی است چرا که در اعصاب محیطی در هر قطعه ی بین گره ای یک سلول شوان قرار دارد.

۲- اولیگودندروسیت های دور عروقی که اطراف جسم سلولی نورون‌ها را احاطه کرده‌اند. این دسته از اولیگودندروسیت‌ها که در ماده‌ی خاکستری دیده می‌شوند سلول‌های اقماری نیز نامیده می‌شوند و در تبادل یون ها با نورون‌ها نقش دارند.

۱-۲-۴ سلول‌های اپاندیم:

این سلول‌ها سطح داخلی بطن های مغزی و کانال مرکزی نخاع را می‌پوشانند. **سلول‌های اپاندیم** دارای ظاهری مکعبی و دارای میکروویلی و مژه می‌باشند. سلول‌های اپاندیمی دارای نوعی ویژه به نام تانی **سیت ها**[2] می باشند که محل قرارگیری آنها در کف بطن سوم مغزی می‌باشد و زوائد قاعده ای آنها به بافت عصبی نفوذ می‌کند تا از لابلای زوائد آستروسیت ها عبور کرده و به عروق خونی برسند(Akbari M, 2010).

[1] Inter fascicular
[2] Tanycytes



شکل ۱-۱سلول‌های نوروگلیا در CNS و PNS[1] (Bignami)

۱-۳ منشاء سلولی و جایگاه سلول‌های گلیا:

در مورد منشا سلول‌های گلیا مطالعه و تحقیقات زیادی صورت گرفته است، نظریه‌ها و تفسیرهای متعددی از زمان تشخیص این سلول‌ها مطرح می‌باشد که می‌توان به انواع منشاء ها مانند منشاء مزودرمی، منشاء نورواکتودرمی و منشاء مونوسیتی اشاره نمود. کورتکس مغز پستانداران از یک لایه منفرد سلول های نورواپیتلیال تکثیر شونده منشاء می‌گیرند. این سلول‌های اجدادی عصبی، در ناحیه بطنی قرار گرفته و بطن‌های مغز را تشکیل می‌دهند. سپس در همین ناحیه تکثیر یافته و به طور متوالی سه نوع مهم سلول‌های مغز را تشکیل می‌دهند: نورون‌ها، آستروسیت‌ها و الیگودندروسیت‌ها. در بعضی مطالعات آمده است که بر خلاف آستروسیت‌ها و الیگودندروسیت‌ها، میکروگلیاها از ماکروفاژهای خارج مغزی منشاء می‌گیرند و از لحاظ فیزیولوژیکی و نیز جنین‌شناختی، متفاوت از سلول‌های گلیا در CNS هستند (Dalmau et al., 2003).

سلول‌های میکروگلیا در پاره‌ای از خصوصیات با ماکروفاژهای بافتی سهیم هستند، برای مثال، دارای مارکرهای فنوتیپی و بسیاری از آنتی‌ژن های سطحی مونوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌باشند.

شایستگی مارکرهای مختلف و روش‌های مختلف با توانایی:

[1] Peripheral nervous system

۱) تبعیض قائل شدن میکروگلیا از دیگر سلول‌های موجود در CNS مانند نورون‌ها، آستروسیت، الیگودندروسیت یا سلول‌های اندوتلیال می‌باشد.

۲) به منظور تمایز میکروگلیای پارانشیمی از دیگر سلول‌ها مونوسیت‌ها و ماکروفاژها

۳) به منظور نشان دادن هر گونه جمعیتی از میکروگلیا با فعالیت‌های خاص(جدول ۱-۱).

جدول۱-۱: مارکرهای مختلف و روش های مختص آنها برای تشخیص سلول‌های میکروگلیا

تکنیک قابل شناسایی	مارکر اختصاصی
Antibodies against Iba1	Iba1(ionized calcium- bindingadaptor molecule 1)
Griffonia (Bandeiraea) simplicifolia isolectin B4	Surface carbohydrates oligosaccharides containing(-galactose residues)
Antibodies against CD11b/18 (MAC1,OX42)	CD11b/18
Antibodies against CD45	CD45