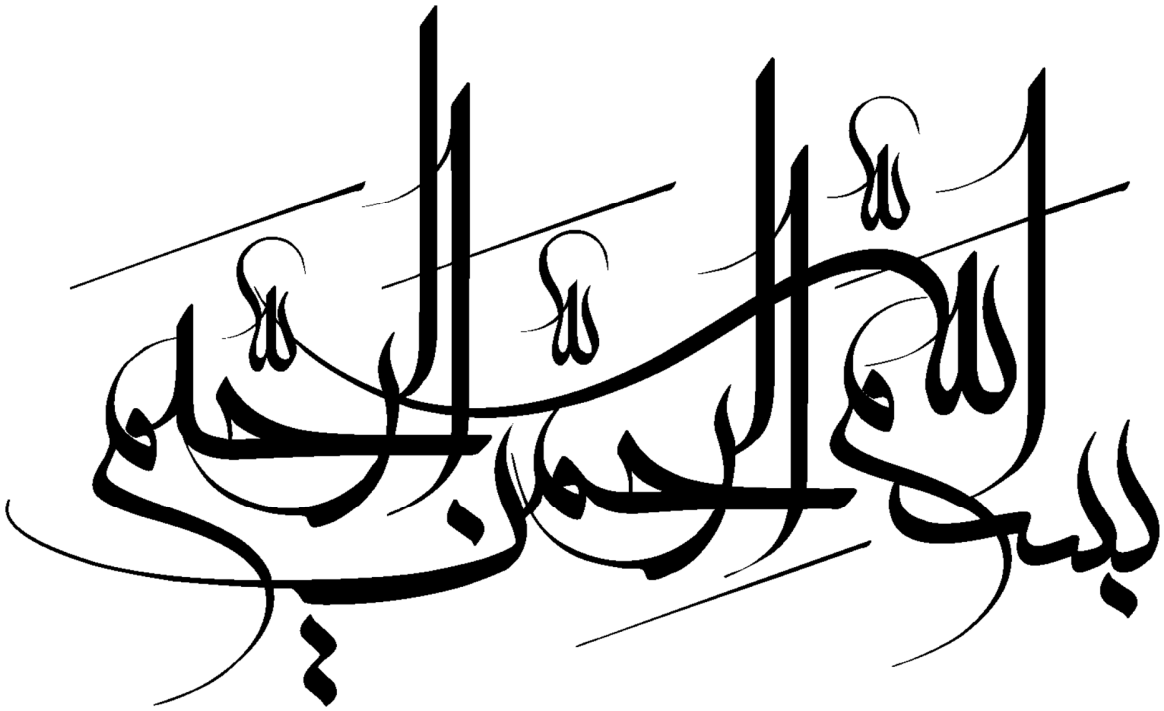
بسم الله الرحمن الرحيم

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم سمانه دهقان رشته **فیزیولوژی** رساله **دکتری** خود را با عنوان « **بررسی امکان افزایش ظرفیت ترمیم در سیستم عصبی مرکزی با کمک القاگرهای پرتوانی اثر آن بر ترمیم میلین در عصب و کیاسمای بینایی موش** » در تاریخ **۱۳۹۳/۱۰/۲۰** ارائه کردند.

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

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	امضاء
استاد راهنما	دکتر محمد جوان	
استاد مشاور	دکتر یعقوب فتح الهی	
استاد مشاور	دکتر مسعود سلیمانی	
استاد ناظر	دکتر سید جواد میر نجفی زاده	
استاد ناظر	دکتر حسین عزیزی	
استاد ناظر	دکتر محمد حسین صنعتی	
استاد ناظر	دکتر مهرداد بهمنش	
نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر محمد رضا رئوفی	

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 بوده 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 یا آثار 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 ۴- 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 تاریخ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **سمانه دهقان** دانشجوی رشته **فیزیولوژی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۸** مقطع **دکتری تخصصی** 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 اعتراض را از خود سلب نمودم ».

تاریخ ۹۳/۱۰/۲۰

امضا

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 علمی پژوهشی 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 **رساله دکتری تخصصی** نگارنده در رشته **فیزیولوژی** است که در سال **۱۳۹۳** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **دکتر محمد جوان** ، مشاوره **دکتر یعقوب فتح اللهی و دکتر مسعود سلیمانی** 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 سمانه دهقان دانشجوی رشته **فیزیولوژی** مقطع **دکتری تخصصی** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی
تاریخ و امضا ۹۳/۱۰/۲۰

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

رساله

دوره دکتری تخصصی (Ph.D) در رشته فیزیولوژی

عنوان

بررسی امکان افزایش ظرفیت ترمیم در سیستم عصبی مرکزی با کمک القاگرهای پرتوانی اثر آن بر ترمیم میلین در عصب وکیاسمای بینایی موش

نگارش

سمانه دهقان

استاد راهنما

دکتر محمد جوان

اساتید مشاور

دکتر یعقوب فتح اللهی

دکتر مسعود سلیمانی

دی‌ماه ۱۳۹۳

سپاس از خداوندی که رقصاند مرا بر حول این مدار

موجود نبودم، وجودم بخشید و نفسش مرا دمید تا شعله ور شدم

صدایش را به من آموخت تا توانستم برای همه آوازِ دشت رستگار شده را بخوانم

و اکنون در این لحظه که بر فراز آسمانها رسیده ام و سر از اعماق دریاهایشان بالا کشیده ام

سپاس از نگاه هایی که دوستشان دارم

برای سپاس از اساتید مهربانم

دکتر جوان

دکتر میر نجفی زاده

دکتر مانی

دکتر فتح اللهی

دکتر سمنانیان

دکتر حاجی زاده

و خانواده ای گرم و روشن

و همه کسانی که دوستشان دارم

به وسعت آسمانها

و زمینی که می چرخد بر مدار

و برای آفرینشگر که حیات را دمید

و برای ریشه هایم در بطن شان

برای پدرم و مادرم

خواهرانم و برادرم

چکیده

مقدمه: محدودیت تعداد سلول‌های بنیادی درون‌زاد از جمله عوامل محدود کننده توان ترمیم در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. در این پژوهش سعی شده است تا محدودیت توان ترمیم در سیستم عصبی مرکزی را با کمک القاگرهای پرتوانی افزایش داده و اثر آن را بر ترمیم میلین در کیاسمای بینایی مشاهده نمود.

روش‌ها: به منظور القای پرتوانی، وکتور بیانی Oct4 و مولکول‌های شیمیایی کوچک BIX01294، Bay K8644، RG108 و القاگر Oct4 روزانه به درون بطن جانبی مغز موش‌های نر نژاد C57/BL6 تزریق شدند و مولکول شیمیایی والپرویک اسید نیز به صورت گاواژ به موش تجویز گردید. ۷ روز و ۱۴ روز پس از القای وکتور حامل ژن Oct4 در حیوانات دریافت کننده ترکیبات مختلف از مولکول‌های شیمیایی فوق، بیان مارکرهای پرتوانی و بنیادی عصبی با استفاده از تکنیک هایReal Time PCR و ایمنوفلورسنت بافتی مورد ارزیابی قرار گرفتند . پس از انتخاب بهترین ترکیب موثر بر القای مارکرهای پرتوانی، میزان ترمیم میلین درکیاسمای بینایی دمیلینه شده با لیزولسیتین با استفاده از VEP (Visual Evoked Potential) و ایمنوفلورسنت بافتی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: تنها ترکیب موثر بر القای فاکتورهای پرتوانی و بنیادی عصبی ترکیب Oct4 و والپرویک اسید بود. بیان فاکتورهای پرتوانی endogenousOct4، Klf4، C-Myc و Nanog و دو فاکتور بنیادی عصبی Sox1 و Pax6 در گروه آزمایشی که والپروییک اسید را به صورت پیش درمان قبل از القای Oct4 دریافت کرده بودند دارای افزایش معناداردر مقایسه با گروه کنترل بود. نتایج ایمنوفلورسنت بافتی بیان مارکر پرتوانی Oct4، Nanog و SSEA1 را در جدار بطن مغز موش نشان داد. نتایج ثبت VEP و ایمنوفلورسنت بافتی، افزایش ترمیم میلین را به دنبال القای دمیلیناسیون در گروه دریافت کننده پیش تیمار والپروییک اسید و القای Oct4 نشان داد.

نتیجه‌گیری: پیش‌تیمار با والپروییک اسید و بیان اگزوژن Oct4 در مغز موش احتمالا با افزایش بیان مارکرهای پرتوانی و بنیادی عصبی، می‌تواند ظرفیت ترمیم مغز را در موش تقویت کند.

کلمات کلیدی: Oct4، پرتوانی، بازبرنامه‌ریزی، والپروییک اسید، ترمیم میلین.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. مقدمه ۲

۱-۲. ترمیم در سیستم عصبی مرکزی ۶

۱-۳. مولتیپل اسکلروزیس(ام.اس) ۷

۱-۳-۱. تشخیص بیماری ام. اس ۸

۱-۴. پتانسیل بر انگیخته بینایی ۸

۱-۵. میلین ۹

۱-۶. دمیلیناسیون و رمیلیناسیون درونزاد ۱۰

۱-۷. پزشکی ترمیمی ۱۳

۱-۸. سلولهای پرتوان القایی ۱۴

۱-۹. مولکولهای شیمیایی کوچک ۱۹

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱. حیوانات ۲۴

۲-۲. القای پرتوانی ۲۴

۲-۲-۱. تهیه وکتور لنتی ویروسی حامل ژن Oct4 ..... ۲۴

۲-۲-۲. مولکولهای شیمیایی کوچک ۲۵

فصل سوم: نتایج و یافته‌ها

۲-۳. القای پرتوانی در حیوانات ۲۶
۲-۳-۱. تزریق داخل بطنی..... ۲۶
۲-۳-۲. گاواژ والپروئیک اسید(VPA)..... ۲۷
۲-۴. مطالعه بیان ژن‌ها..... ۲۷
۲-۴-۱. استخراج بافت جدار بطنهای مغز ۲۷
۲-۴-۲. استخراج RNA و ساخت cDNA..... ۲۸
۲-۴-۳. انجام واکنش RT-PCR ۲۸
۲-۵. مطالعات ایمونوفلورسنت بافتی ۲۹
۲-۵-۱. خارج کردن و پردازش بافت مغز ۳۰
۲-۵-۲. برش‌گیری بافتی..... ۳۰
۲-۵-۳. رنگ آمیزی ایمونوفلورسنت بافتی ۳۰
۲-۶. مطالعات بافت شناسی..... ۳۲
۲-۷. القای دمیلیناسیون در کیاسمای بینایی ۳۳
۲-۶-۱ ثبت پتانسیل بر انگیخته بینایی (VEP)..... ۳۴
۲-۶-۲. رنگ آمیزی فلورومیلین..... ۳۵
۲-۸. گروه‌های آزمایشی ۳۶
۲-۹. روش تجزیه و تحلیل آماری ۴۰
۳-۱. القای فاکتور های پرتوانی با استفاده از لنتی‌ویروس حامل وکتور حامل ژن Oct4 و ریزمولکول‌ها ۴۲

۳-۱-۱. بررسی اثر تزریق لنتی ویروس حامل وکتور Oct4 و مولکولهای شیمیایی کوچک بر بیان ژن‌های پرتوانی و بنیادی عصبی ۴۲

۳-۱-۲. بررسی القای فاکتورهای پرتوانی در جدار بطن جانبی مغز با روش ایمنو فلورسنت ۵۹

۳-۱-۳. بررسی امکان تومورزایی در گروه پیش‌تیمار با VPA و بیان اگزوژن Oct4(V7O) در مغز موش ۶۵

۳-۲. بررسی اثر پیش درمانی والپرویک اسید و تزریق درون بطنی وکتور حامل Oct4 بر روند بازسازی میلین ۶۶

۳-۲-۱. ردیابی سلول‌های دریافت کننده وکتور حامل Oct4 در جدار بطن سوم ۶۶

۳-۲-۲. بررسی القای فاکتورهای پرتوانی در جدار بطن سوم مغز با روش ایمنو فلورسنت ۶۷

۳-۲-۱. رنگ آمیزی فلورومیلین ۷۱

۳-۲-۲. بررسی میزان پیش سازهای الیگودندروسیت در محل آسیب ۷۳

۳-۲-۳. ارزیابی پتانسیل برانگیخته بینایی (VEP) ۷۶

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها

۴-۱ بحث ۸۱

۴-۲ نتیجه‌گیری کلی ۹۳

۴-۳پیشنهادها ۹۴

۴-۴ فهرست منابع ۹۵

چکیده انگلیسی ۱۰۱

فهرست اشکال

شکل ۱-۱. تصویر شماتیک از تولید و کاربرد سلول‌های iPS ۱۶

شکل۱-۲. روشهای مختلف برای تولید سلول‌های iPS ۱۷

شکل۱-۳. ساختار مولکولی BIX-01294 ..... ۲۰

شکل۱-۴. ساختار مولکولیBayK 8466 ..... ۲۰

شکل۱-۵. ساختار مولکولی RG108 ..... ۲۱

شکل۱-۶. ساختار مولکولی والپرویک اسید ۲۱

شکل ۲-۲. شماتیک محل قرار دادن الکترود ثبت و مرجع بر سطح جمجمه موش ۳۵

شکل ۲-۳. برنامه زمانی تزریق و گاواژ القاگرهای پرتوانی در فاز اول مطالعه. ۳۷

شکل ۲-۴. برنامه زمانی تیمار گروههای آزمایشی فاز ۲ مطالعه. ۳۹

شکل ۳-۱. بررسی بیان ژن Oct4 . ..... ۴۳

شکل ۳-۱. بیان ژن Oct4درون‌زاد ۷ یا ۱۴ روز پس از تیمار ۴۴

نمودار ۳-۲. بیان ژن Nanog ۷ یا ۱۴ روز پس از تیمار با وکتور حاوی ژن Oct4 و القاگرهای پرتوانی. ۴۵

شکل ۳-۳. بیان ژن Klf4 ۷ یا ۱۴ روز پس از تیمار با وکتور حاوی ژن Oct4 و القاگرهای پرتوانی. ۴۶

شکل ۳-۶. بیان ژن Pax6 ۷ یا ۱۴ روز پس از تیمار با وکتور حاوی ژن Oct4 و القاگرهای پرتوانی. ۴۸

شکل ۳-۱۶. ایمنوفلورسنت بافتی دوگانه برای GFP وGFAP. ۵۹

شکل ۳-۱۸. ایمنو فلورسنت بافتی برای فاکتور پرتوانی Oct4..... ۶۲

شکل ۳-۱۹. ایمنو فلورسنت بافتی برای فاکتور پرتوانی Nanog. ۶۳

شکل۳-۲۱. ایمنوفلورسنت بافتی دوگانه برای مارکر سلول‌های تکثیرشونده ۶۵

شکل ۳-۲۱. رنگ‌آمیزی H&E برای بررسی ساختار در بافت مغزی ۶۶

شکل ۳-۲۲ ردیابی وکتور حامل GFP در جدار بطن سوم. ۶۷

شکل ۳-۲۳. ایمنو فلورسنت بافتی علیه فاکتور پرتوانی Oct4در جدار بطن سوم. ۶۸

شکل ۳-۲۳. ایمنوفلورسنت بافتی علیه فاکتور پرتوانیSSEA1 در جدار بطن سوم. ۶۹

شکل ۳-۲۵. رنگ آمیزی فلورومیلین برای بررسی میزان دمیلیناسیون و ترمیم میلین..... ۷۲

شکل ۳-۲۶. وسعت ناحیه دمیلیناسیون در کیاسمای بینایی. ۷۳

شکل ۳-۲۷. رنگ آمیزی ایمنو فلورسنت برای PDGFRα، ۷۴

شکل ۳-۲۹. نمونهای از ثبت پتانسیل بر انگیخته بینایی در حیوان سالم با شرح جزئیات. ۷۶

شکل ۳-۳۰. ثبت VEP در گروه‌های مختلف آزمایشی ۷۸

فهرست جداول

جدول ۲-۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت مطالعات بیان ژنی ۲۸

جدول ۲-۲. لیست آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه ۳۲

جدول ۲-۳. نام و مشخصات گروه‌های آزمایشی مورد استفاده در فاز ۱ مطالعه ۳۶

جدول ۲-۴. نام و مشخصات گروه‌های آزمایشی مورد استفاده در فاز ۲ مطالعه ۳۸

فصل اول:

مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. مقدمه

مغز بزرگسالان دارای جمعیت هایی از سلول‌های بنیادی عصبی[1] می‌باشد که در نواحی خاصی از مغز مـانند نواحی زیر بطنی بطن‌های جانبی[2]، هیلوس هیپوکمپ، اپاندیم طناب نخاعی و لایه زاینده مخچه قرار دارند. این سـلول‌ها دارای ظرفیت خود تجدید شـوندگی[3] هسـتند و توانایی تمایز به انواع سـلول‌های بافت عصبی را دارند. این سلول‌ها پتانسیل فیزیولوژیک مغز در ترمیم سیستم عصبی مرکزی هستند [۱] اما به هنگام آسـیب عصبی دارای ظرفیت بازسازی محدودی می‌باشند [۲، ۳] از اصلی‌ترین عوامل محدود کننده توان ترمیمی سلول‌های بنیادی درونزاد می‌توان به محدود بودن تعداد این سلول ها اشاره کرد[۴]. هنگامی که آسـیب به طور پی در پی و گسـترده رخ دهد، سـلول‌های بنیادی عصبی نمی‌توانند آسیب به وجود آمده را جبران کنند و سـیسـتم عصـبی تحلیل می‌رود. این وضـعیت را می‌توان در بیماری‌های تحلیل‌برنده عصـبی یا نورودژنراتیو[4] از جمله مالتیپل اسـکلروزیس[5] (ام. اس)، صرع، پارکینسون، آلزایمر و مشاهده کرد [۲].

آسیب عصبی در هر ناحیه از مغز، سلول‌های بنیادی عصبی را تحریک نموده و موجب تکثیر و تمایز آنها به سـلول‌های پیش ساز عصبی[6] می‌شود [۴] و سپس این سلول‌ها بر حسب نیاز و فنوتیپ خاصی که

[1] Neural Stem Cells (NSCs)
[2] Sub Ventricular Zone (SVZ)
[3] Self-renewal
[4] Neurodegenerative
[5] Multiple sclerosis
[6] Neural Progenitor Cells (NPCs)

آن آسیب القا می‌کند به سلولهای پیش‌ساز الیگودندروسیتی[۷]، آستروسیت‌ها و یا نوروبلاست‌ها متمایز می شوند [۴-۶].

در طی بیماری‌های دمیلینه‌کننده‌ای مانند ام. اس، الیگودندروسیت‌ها در محل ضایعه از بین می‌روند و آن‌هایی هم که باقی می‌مانند اکثراً خاموش هستند و در فرآیند ترمیم میلین که رمیلیناسیون نامیده می‌شود، شرکت نمی‌کنند[۵]. رمیلیناسیون در بیماری ام.اس با شکست روبه‌رو می‌شود که از اصلی ترین علت‌های شکست رمیلیناسیون می‌توان به محدود بودن جمعیت سلول‌های پیش‌ساز درونزاد اشاره کرد. با وجود اینکه یکسری سلول‌های پیش‌ساز درون‌زاد وجود دارد اما حضور پلاک‌های متعدد و گسترده دمیلینه سبب تهی شدن منابع این سلول‌ها می‌گردد[۷-۹]. به منظور درمان بیماری‌های دمیلینه کننده مانند ام. اس استراتژی‌هایی که جلوی دمیلیناسیون را می‌گیرند و یا باعث پیشبرد روند رمیلیناسیون و کاهش از دست رفتن اکسون می‌شوند به عنوان ابزارهای درمانی مهم مورد توجه اند [۱۰]. در دهه اخیر توجه محققان به درمان‌های سلولی و ژنی چون پیوند سلول‌های بنیادی جنینی به منظور افزایش فرآیند ترمیم دربیماری‌های نورودژنراتیو متمرکز شده است. فناوری سلول‌های بنیادی و سلول درمانی امیدهای زیادی را برای درمان و جایگزینی سلول‌های از دست رفته ایجاد نموده است اما با وجود انجام مطالعات وسیع بر روی سلول‌های بنیادی جنینی و حصول اطلاعات انسانی در مورد پرتوانی آنها، محدودیت‌های اخلاقی و تکنیکی چون محدودیت پیوند به تمام نواحی آسیب دیده در بیماری چند کانونی مانند ام. اس، استفاده از آنها را در کلینیک با مشکل مواجه کرده است[۱۱-۱۴]. امروزه راهبردهای امیدوارکننده‌ای برای درمان بیماریهای ژنتیکی و تحلیل برنده[۸] انسانی با استفاده از مهندسی بافتی و تکنولوژی تولید سلول‌های پرتوان القایی [۹]و پزشکی ترمیمی[۱۰] تحت بررسی است [۱۱].

[1] Oligodendrocyte Progenitor Cells (OPCs)
[2] Degenerative
[3] Induced Pluripotent stem cells (ipsc)
[4] Regenerative medicine

تحقیقات نشـان داده است که می‌توان سلولهای سوماتیک پستانداران را طی پدیده‌ای بنام باز برنامه ریزی هسته‌ای[11] با استفاده از بیان اگزوژن فاکتورهای نسخه برداری به حالت پرتوانی بازبرنامه‌ریزی کرد و سـلول‌های iPS را تولید کرد که این سـلول‌ها توانایی تبدیل شدن به هر نوع سلول را در بدن دارا هستند [۱۱، ۱۲، ۱۵].

اسـتفاده از سـلولهای iPS به منظور ترمیم بافتی، امیدی بزرگ برای درمان بیماری‌هایی اسـت که درمان‌های کنونی برای آنها با شکست روبه رو شده است [۱۶]. گزارش‌های متعددی مبنی بر بازبرنامه‌ریزی سـلول‌های سـوماتیک به سـلول‌های ips در *in vitro* از بافت‌هایی به جز سـیستم عصبی ارائه شده است. اخیراً با پیشـرفت‌هایی که در این حوزه اتفاق افتاده اسـت تلاش می‌شود که سلول‌های تخصص یافته فرد بیمار را مسـتقیماً به سـلول‌های مورد نیاز تبدیل کنند و iPSC حدواسـط را حذف کنند. این روش را بازبرنامه‌ریزی مسـتقیم[12]می‌گویند[۱۷]. یکسـری گزارش مبنی بر باز برنامه‌ریزی مسـتقیم سـلول‌های سوماتیک به نوع دیگر بدون گذر از مرحله ips ارائه شده است[۱۷-۲۱]. در این مورد گزارش‌های متعددی در سال ۲۰۱۳ و ۲۰۱۴ ارایه گردید. Corti و همکارانش گزارش کردند که می‌توان سلول‌های آستروسیت انسـانی را با اسـتفاده از بیان مجزای سـه فاکتور Oct4، Sox2 و Nanog به NSC تبدیل کرد، این سلول‌ها می‌توانند به نورون تبدیل شوند[۲۲]. در دو تحقیق دیگر از لنتی ویروس حامل فاکتور نسخه برداری Sox2 به منظور تبدیل سـلول‌های آستروسیت را به سلول‌های نوروبلاست در مغز و نخاع استفاده شد [23 و20]. توان تبدیل سلول‌های آستروسیتی به نورون در تحقیق دیگری با استفاده از فاکتور های رشد و Neurog2 در ناحیه اسـتریاتوم نشـان داده شـد[۲۴]. اخیراً هم گزارشـی مبنی بر تبدیل سـلول‌های کبدی موشی و لنفوسیت‌های B به سلول‌های NSC توسط Jaeinish و همکاران ارایه گردید[۲۵].

کمی پیشتر در سال ۲۰۰۹، Kim و همکارانش تبدیل موفقیت آمیز سلول‌های NSC انسانی و موشی به سـلول های iPS را گزارش کردند[۲۶-۲۸]. همچنین در سـال ۲۰۱۳ یک مجموعه‌ای از مولکول‌های

[1] Nuclear reprogramming
[2] Trans Differentiation or Direct reprogramming

شـیمیایی کوچک پیشـنهاد شـد که قادر بودند به همراه فاکتور نسـخه برداری Oct4 در محیط کشـت سلول‌های سوماتیک انسانی را به NSC تبدیل کنند[۲۹].

همانطورکه در گزارش های بالا ارایه شد، به منظور القای پرتوانی از فاکتورهای نسخه برداری استفاده شده است. اما معمولاً کارایی باز برنامه‌ریزی با فاکتورهای نسخه‌برداری به تنهایی پایین است. به منظور کاربرد تکنولوژی تولید سلول‌های پرتوان و Transdifferentiation برای مقاصد درمانی، لازم است به محدودیت‌های ایجاد آن مانند کارایی پایین بازبرنامه‌ریزی و یا تغییرات ژنومی که در نتیجه الحاق ساختارهای ویروسی حامل فاکتورهای نسخه‌برداری به ساختار ژنوم ایجاد می‌شود، غلبه کرد[۳۰]. به منظور افزایش کارایی بازبرنامه‌ریزی از یکسری مولکول‌های شیمیایی کوچک[۱۳] استفاده می‌شود که می‌توانند ساختار کروماتین سلول را تغییر داده به نحوی که سلول بتواند الگوی بیان ژن خود را تغییر داده و به حالت بنیادی خود باز گردد وبه موجب آن بتوان کارایی باز برنامه‌ریزی را بهبود بخشید[۳۱].

بر پایه‌ی این پژوهش‌ها در مطالعه حاضر این فرضیه را مطرح نمودیم که با کمک فاکتور نسخه-برداری Oct4 به عنوان یک القاگر پرتوانی و مولکول‌های شیمیاییBIX01294، BayK8644، RG108 و والپروییک اسید به عنوان عوامل موثر بر وضعیت اپی‌ژنتیکی که در مطالعات In Vitro استفاده شده‌اند، احتمال افزایش جمعیت سلول‌های پیش‌ساز عصبی و یا بنیادی عصبی را بررسی نماییم و ترمیم در سیستم عصبی را بهبود بخشیم. پس از بررسی ترکیبات مختلف این نتیجه حاصل شد که اگر ابتدا شرایط اپی‌ژنتیکی سلول توسط عاملی مانند والپرویک اسید[۱۴] که یک مهارکننده هیستون داستیلاز است، برای تغییر برنامه‌ی بیان ژنی سلول مساعد شود، Oct4 می‌تواند به صورت *In Vivo* باعث افزایش بیان فاکتورهای پرتوانی در مغز شود.

[1] Small molecule
[2]Valproic acid

۱-۲. ترمیم در سیستم عصبی مرکزی

تعداد زیادی از بافت‌ها و اندام‌ها دارای توانایی بازسازی پس از آسیب می‌باشند، به این معنا که امکان بازگشت عملکرد از دست رفته وجود دارد. اما در سیستم عصبی مرکزی به دلیل پیچیدگی سیستم و ارتباطات ظریف و دقیق که بین مغز و نخاع وجود دارد ترمیم مشکل است و همین موضوع چالشی عظیم را پیش‌روی دانشمندان علوم اعصاب به منظور یافتن راهکاری که بتوانند سیستم عصبی مرکزی را پس از آسیب، ترمیم کنند ایجاد کرده است. آسیب‌هایی که به سیستم عصبی وارد می‌شود نه تنها باعث از دست رفتن ارتباط بین نورون‌ها می‌شود بلکه آبشاری از وقایع را که باعث مرگ سلولی و از دست‌رفتن سلول‌های عصبی می‌شود رقم می‌زند. به این ترتیب فرد دچار نقصانی می‌شود که به راحتی قابل بهبود نیست[۳۲].

در سیستم عصبی مرکزی به دنبال آسیب ایجاد شده دو مسیر مختلف می تواند پی‌گیری شود، در یکی از وقایع رخ داده به دنبال آسیب واکنش گلیالی است که زخم گلیالی[1] ایجاد می کند. در ناحیه زخم زخم گلیالی تجمع سلول‌های آستروسیتی، میکروگلیا و سلول‌های مننژ وجود دارد. تشکیل زخم گلیالی همانند تیغ دو لبه عمل می‌کند به این معنی که از یک سو با ترشح مولکول‌های مهاری توسط سلول‌های تجمع یافته در ناحیه آسیب مانع بازسازی کامل فیزیکی و عملکردی ناحیه آسیب دیده می‌شود و سلول‌های از دست‌رفته در ناحیه آسیب جایگزین نمی‌شوند. از طرف دیگر عدم حضور زخم گلیالی نیز می‌تواند نشانه نقص عملکرد سد خونی‌مغزی در ترمیم باشد. به دنبال ایجاد زخم گلیالی، ناحیه آسیب دیده ترمیم می‌شود اما در این واقعه عملکرد از دست رفته بازیافت نمی‌شود. مسیر پیش روی دیگر پس از ایجاد آسیب ، رژنراسیون عصبی[2] می باشد. نورورژنراسیون به معنای رشد مجدد و یا ترمیم بافت عصبی می‌باشد. این مکانسیم ممکن است با تولید نورون، سلول گلیالی، آکسون ، میلین و یا ساختار سیناپس همراه باشد. دراین رویکرد سعی در بازگشت عملکرد از دست رفته می‌باشد. متاسفانه توانایی رژنراسیون در سیستم عصبی مرکزی پستانداران بسیار محدود می‌باشد. در صورتی که بافت عصبی مرکزی در انسان به

[1] Glial Scar
[2] Neuroregeneration