

مطالعه تغییرات گلیکوکونژوگیتها در روند تکامل هسته تری جمینال در دوره جنینی موش Balb/C

سید سعید سید جعفری Ph.D.*، مریم سفیدگر تهرانی M.Sc.*، محمد جلالی Ph.D.**، علیرضا فاضل Ph.D.*

*گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی مهندس افضل پور و مرکز تحقیقات علوم و اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

**دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

وصول: مردادماه ۸۵، پذیرش: شهریورماه ۸۵

چکیده

هدف: تعیین میزان تغییرات گلیکوکونژوگیتهای دارای قند انتهایی خاص در روند تکامل ساقه مغز و هسته تری جمینال در دوره جنینی موش Balb/C

مواد و روشها: برای این منظور از جنینهای موش در فاصله روزهای دهم تا هفدهم استفاده شده پس از تثبیت و طی مراحل معمول آزمایشگاهی، از بلوکهای پارافینی به روش سریال برشهای ۵ میکرومتری تهیه شد و برای تعیین حضور قند انتهایی گلیکوکونژوگیتهای موجود در منطقه ساقه مغز از ۸ لکتین کونژوگه با پراکسیداز استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان دادند که قند انتهایی فوکوز در مراحل اولیه تکامل ساقه مغز، ولی در هسته تری جمینال و بافتهای اطراف در مراحل آخر تکامل دوران جنینی حضور دارد. مطالعه با لکتینهای (Glycine Max (Soyabean) Agglutinin) SBA، (Wistaria Floribanda) WFA و (Maclura Pamifera Agylutinin) MPA، (Arachis Hypogaea (Peanut) Agylutinin) PNA نشان داد که قندهای انتهایی ان استیل گالاکتوز آمین و دی ساکارید گالاکتوز ان استیل گالاکتوز آمین در مراحل مختلف تکامل هسته تری جمینال و ساختمانهای اطراف حضور دارند.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل حضور گلیکوکونژوگیتهای سطح سلولهای ساقه مغز و هسته تری جمینال با قندهای انتهایی ان استیل گالاکتوز آمین و دی ساکارید گالاکتوز- ان استیل گالاکتوز آمین و فوکوز، این احتمال وجود دارد که این قندها در تکامل پیش ساز نورونها در مراحل اولیه تکامل ساقه مغز و هسته تری جمینال دخالت داشته باشند و همچنین در مولکولهای FGF-8 (Fibroblast Growth Factor 8) و BMP (Bone Morphogenetic Proteins) حضور داشته و تمایز انواع سلولهای نورونهای پستی (حسی) را کنترل کنند.

کلیدواژه‌ها: گلیکوکونژوگیتها، لکتین هیستوشیمی، ساقه مغز، هسته تری جمینال، موش Balb/C

مقدمه

هسته عصب زوج پنج بزرگترین هسته مغزی است که عمده

آدرس مکاتبه: کرمان، انتهای بلوار ۲۲ بهمن، دانشکده پزشکی افضل پور،

E-mail: s_sayedjafari@kmu.ac.ir

گروه علوم تشریح

آن حسی بوده و در شاخ خلفی واقع شده است و از قسمت بالای طناب نخاع گردنی شروع شده و تا تکه‌های چهار قلوئی فوقانی واقع در مغز میانی امتداد می‌یابد. این هسته به سه قسمت ۱- هسته نخاعی ۲- هسته پلی ۳- هسته مزانسفالیک تقسیم می‌شود و همچنین دارای هسته حرکتی واقع در پل مغزی است. این هسته حس عمومی نواحی صورت، قسمت بزرگی از پوست سر، دندانها، دهان و بینی را تامین می‌کند. ضمناً عصب محرکه عضلات جونده است و حس عمقی دندانها عضلات به خصوص جویدن و عضلات چشم و صورت را تامین می‌کند [۱].

تشکیل لوله عصبی و تکامل آن به مغز و نخاع و ایجاد ارتباطات عصبی با سایر نقاط بدن یکی از موارد بسیار پیچیده دوران تکامل جنینی است و مطالعات نشان داده است که القای لوله عصبی و تداوم تمایزات آن توسط بافتهای مجاور انجام می‌پذیرد و خود متقابلاً بر بافتهای مجاور تأثیرات تکاملی موثر و تعیین کننده‌ای دارد [۲]. بنابراین برای شکل گیری سیستم عصبی مرکزی پدیده‌های اساسی تکاملی متعددی باید به وقوع بپیوندد تا زمینه شکل گیری این دستگاه را فراهم آورد. یکی از این پدیده‌های کلیدی میان کنشهای سلولی Cell interaction است [۳].

میان کنشهای سلولی در طی تکامل سیستم عصبی بسیار پیچیده است و در این میان مولکولهای متعددی در زمانهای حساس فعال شده موجبات بروز روند مورفوژنز لوله عصبی را فراهم می‌آورد [۲ و ۴].

پس از شکل گیری لوله عصبی و به وجود آمدن لایه‌های مختلف آن، تمایز سلولهای عصبی یکی از مراحل حساس و بحرانی در شکل گیری نخاع است که در نهایت منجر به ظهور هسته‌های متفاوت با عملکردهای مختلف حسی و حرکتی و خود مختار می‌شود [۵].

گلیکوکونژوگیتهای سطح سلول ترکیباتی از دسته گلیکوپروتئین و پروتئوگلیکان هستند که بخش پروتئین آنها در غشای سلول قرار می‌گیرد در حالی که بخش قندی آنها

خارج از سلول تشکیل گلیکوکالیکس یا Cell coat را می‌دهد که به عنوان Antenna (گیرنده) عمل می‌کند [۶ و ۷] و در تشخیص سلولها از هم Cell-cell recognition و میان کنشهای سلول و میان کنشهای سلول و ماتریکس دخالت دارند. میزان پیچیدگی بخش قندی این ترکیبات در قسمت‌های مختلف سلول و در سلولهای مختلف متفاوت است و انعکاسی از فیزیولوژی سلول است [۸ و ۹] گلیکوپروتئینهای متعددی تاکنون شناخته شده که نقش مهمی در ارتباط متقابل بین سلولهای رویانی و بالغ مجاور هم دارا هستند.

مطالعات در مورد تغییرات گلیکوکونژوگیتها در زمان رشد و تکامل CNS (Central Nervous System) انجام شده و حضور گلیکوکونژوگیتهای فراوان را زیر بنای تکامل CNS در روند تکامل قشر مغز و ساختمانهای زیر قشری از جمله تالاموس و تنه مغزی است، می‌دانند [۲]. با توجه به نقش حساس ترکیبات قندی، در تکامل بافتها و نقشی که این ترکیبات میان کنشهای سلولی دارند، مطالعه زمان پیدایش این ترکیبات و تغییرات آنها در طی تکامل مهم به نظر می‌رسد [۱۱ و ۱۲] و مطالعه توزیع طبیعی ترکیبات قندی سطح سلول راه را برای درک تغییرات آنها در بیماریهای مختلف هموار می‌کند [۸ و ۹].

یکی از روشهای بسیار سودمند که برای ارزیابی و ردیابی گلیکوکونژوگیتها با قند انتهایی خاص مورد استفاده قرار می‌شود، لکتین هیستوشیمی است. لکتینها در سال ۱۹۸۰ به عنوان پروتئینهای متصل شونده به کربوهیدراتها شناخته شدند که آنزیم یا آنتی بادی نیستند، سلولها را آگلوتینه کرده و باعث جداسازی و ته نشین شدن پلی ساکاریدها یا گلیکوکونژوگیتها می‌شوند [۱۳]. این ترکیبات تمایلی متفاوت برای اتصال به کربوهیدراتهای ویژه و اختصاصی داشته و ابزاری سودمند برای بررسی سطح سلول، پیگیری تمایز و تغییر شکل سلولی هستند. لکتینها به صورت تجاری و خالص در دسترس هستند [۱۴].

مطالعات متعددی در مورد نقش گلیکوکونژوگیتها در تکامل

رحم خارج شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژی پرده‌های جنینی آنها برداشته شد و بلافاصله به محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰ درصد دردمای اتاق منتقل شد. به طور متوسط از هر موش ۸-۱۰ جنین جمع آوری شد که از ۲۰۰ جنین موش برای مراحل این تحقیق استفاده شد. پس از تثبیت شدن جنینها، مطابق روشهای معمول آماده سازی بافت، آماده و قالب گیری نمونه‌ها در پارافین انجام شد و برشهای سریال با ضخامت ۵ میکرون در جهت‌های عرضی و سائیتال تهیه شد [۱۹].

سپس به روش معمول در بافت شناسی آبدهی شدند و برای حذف پراکسیدازهای داخلی، مقاطع برای مدت ۴۵ دقیقه در شرایط تاریکی در محلول ۱ درصد پراکسید هیدروژن درمتانول قرار داده شدند [۲۰].

پس از آن به مدت نیم ساعت در محلول بافر فسفات سالین قرار گرفتند [۵] سپس از لکتینهایی که به صورت کنجوگه با HRP (Horse Radish Peroxidase) از شرکت سیگما خریداری شده بودند (جدول ۱) استفاده شد؛ برای این منظور ابتدا لکتینهای مذکور با کمک بافر فسفات سالین به نسبت ۱:۱۰۰ رقیق شده و روی هر لام چند قطره از لکتینهای رقیق شده ریخته شده و برای مدت ۲ ساعت در اتاقک مرطوب در مجاورت لکتین قرار گرفتند. پس از آن کلیه لامها با بافر فسفات سالین شسته و به مدت ۱۰ دقیقه در مجاورت DAB (Diaminobenzidine) با غلظت ۰/۰۳ گرم درصد سی در بافر فسفات که به آن ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه افزوده شده قرار گرفتند. پس از شستشو با آب جاری کلیه لامها به مدت ۵ دقیقه در محلول آلسین بلو با $\text{pH} = ۲/۵$ به منظور ایجاد رنگ زمینه قرار گرفتند [۱۲ و ۲۱]. پس از آن مراحل معمول آزمایشگاهی برای آماده سازی لامها صورت گرفته و لامهای آماده شده با میکروسکوپ معمولی نوری بررسی شدند [۲۱ و ۲۲]. واکنش به لکتینها که به صورت رنگ قهوه ای ظاهر می‌شود در سلولها و ساختمانهای نخاع گردنی و ساقه مغز بررسی شد. محل قرار گیری هسته تری جمینال به وسیله اطلس پاکزینوس که نقشه

سیستم عصبی مرکزی با استفاده از لکتینها صورت گرفته است با کمک روش لکتین هیستوشیمی و فلوسیتومتری می‌تواند در شناسایی سلولهای ویژه ای از زیر مجموعه سلولهای پیش ساز نوروایی تلپال در طی تکامل مفید باشد [۱۵]. در مطالعاتی دیگر نشان داده است که جنبه‌های بسیاری از نمو بافت عصبی دستگاه بویایی وابسته به کربوهیدراتهای سطح سلول است و با استفاده از لکتین UEA-I مشخص شد که L فوکوز ممکن است در نورونهای بویایی رت حضور داشته باشد [۱۶]. از طریق لکتین هیستوشیمی باقی مانده کربوهیدراتها، را در نواحی از بافت همبند افراد مسن و بیماران مبتلا به آلزایمر (Alzheimer) و سندرم داون (Down's Syndrome) که در معرض دژنره سانس قرار گرفته بود، مشخص شد [۱۷].

مطالعاتی روی پروتئوگلیکانها در تکامل سیستم عصبی انجام شده و مشخص شد که دو پروتئوگلیکان هپاران سولفات و کندروتین سولفات در سیستم عصبی تشکیلات ساختمانی ماتریکس خارج سلولی را تنظیم کرده و فعالیتهای فاکتور رشد و وقایع چسبندگی و Motility سلولی نظیر مهاجرت سلول و رشد آکسون را تعدیل می‌کنند [۱۸].

با توجه به مطالعات گذشته در این پژوهش سعی شد که میزان تغییرات ترکیبات قندی گلیکو کونزوگیته‌ها در روند تکامل ساقه مغز و هسته تری جمینال در دوره جنینی موش Balb/C با روش لکتین هیستوشیمی مطالعه شود.

مواد و روشها

در این پژوهش از موش نژاد Balb/C استفاده شده برای این منظور تعداد ۲۰ سر موش ماده باکره از خانه حیوانات بیمارستان قائم مشهد تهیه شد. موشهای ماده بالغ با موش نر هم نژاد به نسبت دو به یک به مدت ۲۴ ساعت در قفسهای مخصوص جفت گیری قرار داده شدند. با مشاهده پلاک واژینال روز صفر بارداری منظور شد و سپس موشهای ماده جدا و در شرایط استاندارد خانه حیوانات مراقبت شدند و طی روزهای دهم تا هفدهم بارداری موشهای باردار با روش قطع نخاع (Cervical dislocation) قربانی شدند و جنینها از شاخهای

سیستم عصبی مرکزی رت را با کد نشان می‌دهد مشخص
شد [۲۳]

جدول ۱. انواع مختلف لکتین مورد استفاده در مطالعات هیستوشیمی

Lectin	Abbreviation	Bind carbohydrate specificity
Glycine max (soybean) agglutinin	SBA	β, α -D-GalNAC
Lotus tetragonolobus agglutinin	LTA	L-Fuc (α_{1-3}) GlcGalNAC
Ulex europeus agglutinin	UEA-I	L-Fuc (α_{1-2}) Gal (β_{1-4}) Glc
Arachis hypogaea (peanut) agglutinin	PNA	D-Gal (β_{1-3})-D-GalNAC
Maclura pamifera agglutinin	MPA	Gal-(β_{1-3})-D-GalNAC
Wistaria floribunda	WFA	D-C-Gal NAc
Griffonia simplicifolia agglutinin	GSA1-B ₄	α -D-Gal
Vicia villosa agglutinin	VVA	GalNAC

گلوکوز = Glc، ان-استیل گالاکتوز آمین = GalNAC، گالاکتوز = Gal، فوکوز = Fcu

و پانزدهم از شدت آن کاسته و واکنش تقریباً متوسط (++) مشاهده شد و در روزهای بعدی واکنش خفیف و منفی شد (جدول ۳) (آزمون Tukey از $p < 0.05$ تا $p < 0.001$).

نتایج با لکتینهای LTA و UEA-I که به ترتیب نسبت به کربوهیدراتهای L-Fuc (α_{1-3}) GlcGalNAC و L-Fuc (α_{1-2}) Gal (β_{1-4}) Glc اختصاصی هستند به این ترتیب بود در ناحیه ساقه مغز در روزهای دهم و یازدهم واکنش نسبتاً شدید (+++) مشاهده شد و در روزهای دوازده و سیزده و چهارده شدت واکنش متوسط (++) بود و در روزهای بعد واکنش خفیف و منفی شد (جدول ۲) (آزمون Tukey از $p < 0.05$ تا $p < 0.001$) و در منطقه هسته تری جمینال در روزهای اولیه تکامل واکنش مشاهده نشد (واکنش منفی بود) و در روزهای شانزدهم واکنش شدید (+++) و هفدهم واکنش متوسط (+) در مکان منطبق بر هسته زوج ۵ مشاهده شد (جدول ۳) (آزمون Tukey از $p < 0.05$ تا $p < 0.001$).

واکنش با لکتین PNA نسبت به کربوهیدرات D-Gal (β_{1-3})-D-GalNAC در ناحیه ساقه مغز در روز دهم واکنش شدید (+++) و در روزهای یازدهم و دوازدهم واکنش خفیف (+) و در روزهای بعدی واکنش متوسط (++) مشاهده شد (جدول ۲)

براساس شدت واکنش به لکتینهای مختلف نمرات منفی تا +۳ برای هر یک منظور شد. این روش درجه بندی واکنشها براساس مطالعات آکی یوشی نی شامارا (Akiyoshi Nishimara) به کار برده شد [۱۷].

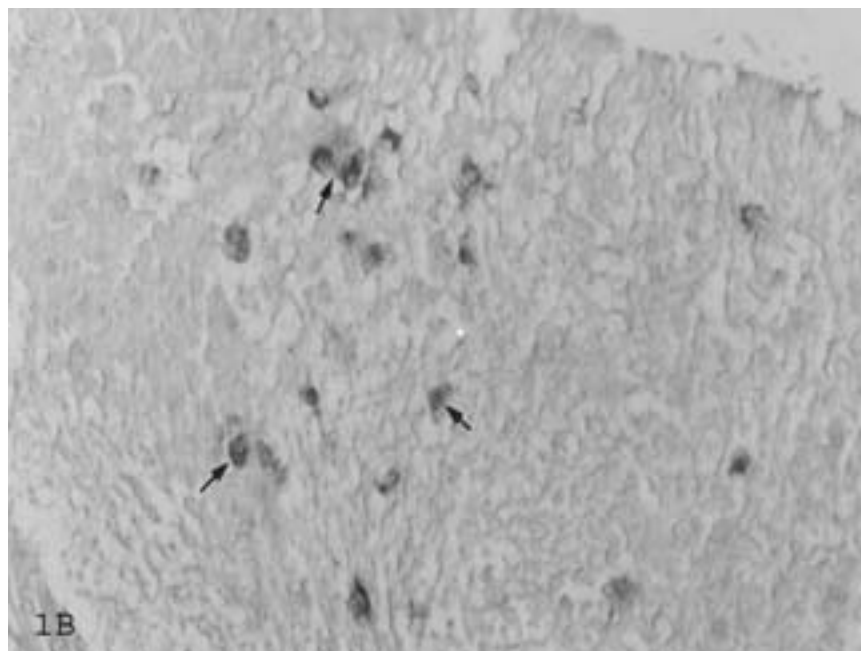
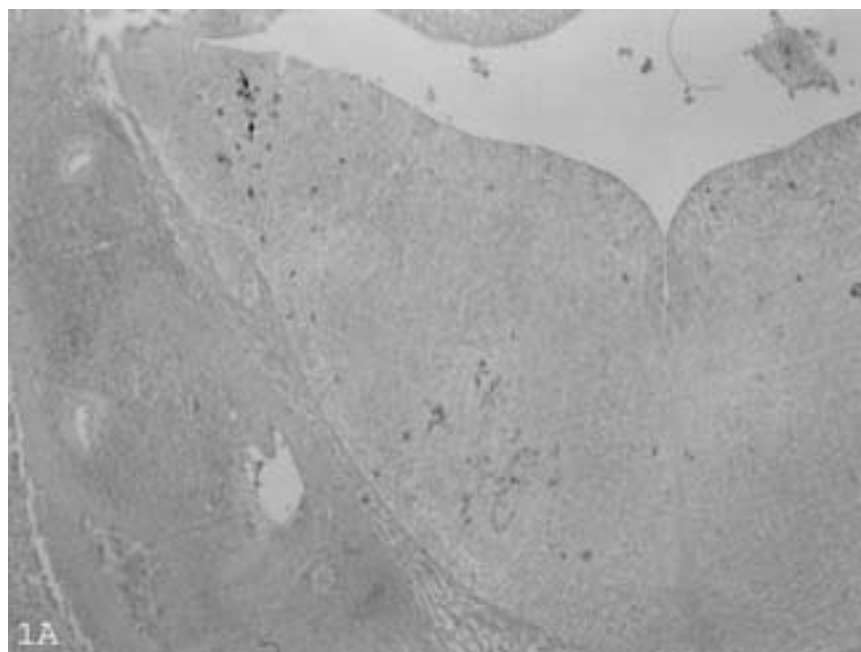
تجزیه و تحلیل واکنش هر یک از لکتینها در روزهای مختلف جنینی ابتدا توسط آزمون آماری ANOVA و سپس در صورت معنی دار بودن تفاوت مابین واکنشها ($P < 0.05$)، برای مقایسه آنها با هم در روزهای تکاملی، از آزمون Tukey به وسیله نرم افزار SPSS (Ver 11/5) استفاده شده است.

یافته‌ها

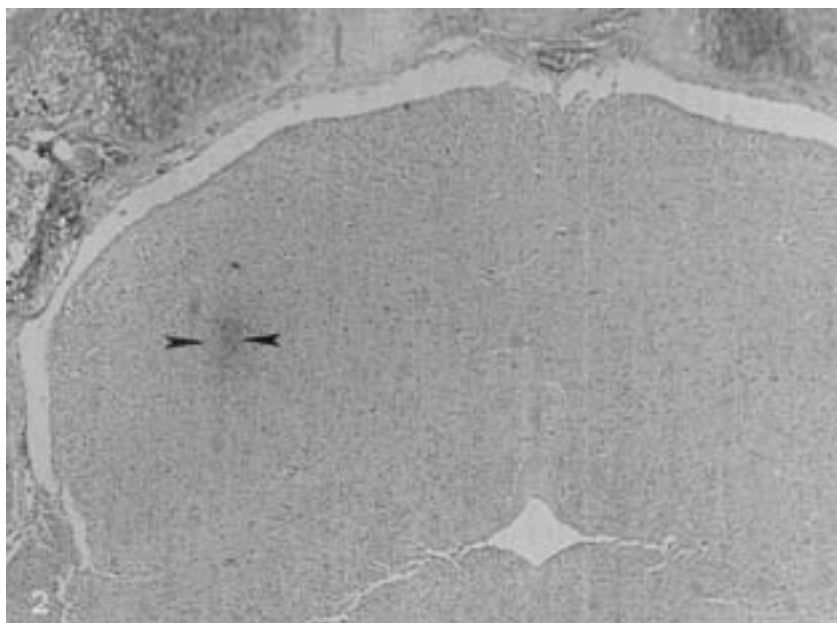
به دنبال بررسی لکتین هیستوشیمیایی روی مقاطع میکروسکوپی جنینهای موش نتایج زیر حاصل شد. در روزهای ۱۷-۱۰ جنینی سلولها در ناحیه ساقه مغز نسبت به لکتین SBA نسبت به کربوهیدرات β, α -D-GalNAC واکنش خفیف (+) مشاهده شد (جدول ۲) و در منطقه هسته تری جمینال واکنش متوسط (++) در روز یازدهم و واکنش نسبتاً شدیدی (+++) را در روزهای دوازدهم و سیزدهم جنینی مشاهده شد (شکل ۱ A و B) که در روزهای چهاردهم

شانزدهم و هفدهم واکنش شدید (+++) مشاهده شد (شکل ۲) (جدول ۳) (آزمون $P < 0.001$ Tukey).

(آزمون $P < 0.001$ Tukey) و در منطقه هسته تری جمینال واکنش در روزهای اولیه تکامل منفی بود و در روزهای



شکل ۱A. مقطع عرضی بصل النخاع و بطن چهارم جنین موش ۱۳ روزه رنگ آمیزی شده با لکتین SAB و آلیسون بلو. در این نما کلیه بخش بصل النخاع دارای عکس العمل متوسط نسبت به این لکتین است، در حالی که در منطقه‌ای مطابق بر هسته زوج ۵ برخی سلولها واکنش شدید را نشان می‌دهند (فلشها). (بزرگنمایی $\times 20$) **B-** این نما سلولهایی را که دارای عکس العمل شدید به این لکتین در محل استقرار محدوده هسته زوج ۵ که در شکل A مشاهده می‌شوند، با بزرگنمایی ۱۰۰ نشان می‌دهد (فلشها).



شکل ۲. مقطع عرضی بصل النخاع موش ۱۷ روزه رنگ آمیزی شده با لکتین PNA و آلیسان بلو. در این نما کلیه بخش بصل النخاع فاقد واکنش با این لکتین است در حالی که منطقه‌ای منطبق بر مکان هسته زوج ۵ دارای واکنش نسبتاً شدیدی با این لکتین است (سر فلشها). بزرگنمایی ۱۰×



شکل ۳. مقطع ساژیتال ساقه مغز جنین موش ۱۴ روزه رنگ آمیزی شده با لکتین MPA و آلیسون بلو. در این نما بصل النخاع (M)، پل دماغی (P) و مخچه (ce) نشان داده شده است. ساقه مغز دارای عکس العمل متوسط تا شدید به این لکتین است. (بزرگنمایی ۱۰×)

واکنش با لکتین MPA نسبت به کربوهیدرات Gal-(β 1-3)-D-GalNAc در ناحیه ساقه مغز در روز دهم و یازدهم و دوازدهم متوسط (+ +) و در روزهای سیزدهم و چهاردهم واکنش شدید (+ + +) مشاهده شد و در روزهای بعد از شدت آن کاسته و منفی شد (شکل ۳) (جدول ۲) (آزمون Tukey از $p < 0.05$ تا $p < 0.001$) و در منطقه هسته تری جمینال در روزهای دهم و یازدهم و دوازدهم واکنش منفی بود و در روزهای سیزدهم و چهاردهم واکنش شدید (+ + +) در منطقه استقرار هسته زوج ۵ مشاهده گردید و در روزهای بعد از شدت آن کاسته و در روزهای پانزدهم و شانزدهم و هفدهم واکنش منفی بود (جدول ۳) (آزمون Tukey $p < 0.05$ و $p < 0.001$). واکنش با لکتین WFA نسبت به D-C-GalNAc در ناحیه

ساقه مغز منفی بود. فقط در روزهای چهاردهم و پانزدهم واکنش خفیف (+) و پراکنده مشاهده شد (جدول ۲) و در منطقه هسته تری جمینال در روزهای اولیه تکامل واکنش منفی بود و در روز سیزدهم واکنش خفیف تا متوسط مشاهده شد که در روز چهاردهم شدت آن افزایش یافت و واکنش شدید مشاهده شد و در روز پانزدهم از شدت آن کاسته و واکنش خفیف تا متوسط مشاهده شد و در روزهای بعد واکنش منفی بود (شکل ۴) (جدول ۳) (آزمون Tukey $p < 0.001$).

واکنش با لکتینهای GSA1-B4 و VVA به ترتیب نسبت به کربوهیدراتهای α -D-Gal و GalNAc در ناحیه ساقه مغز و منطقه هسته تری جمینال منفی بود، در مورد لکتین GSA1-B4 فقط در عروق این ناحیه واکنش شدید (+ + +) مشاهده شد.

جدول ۲. خلاصه نتایج حاصل از واکنش لکتینهای مورد مطالعه در ناحیه ساقه مغز

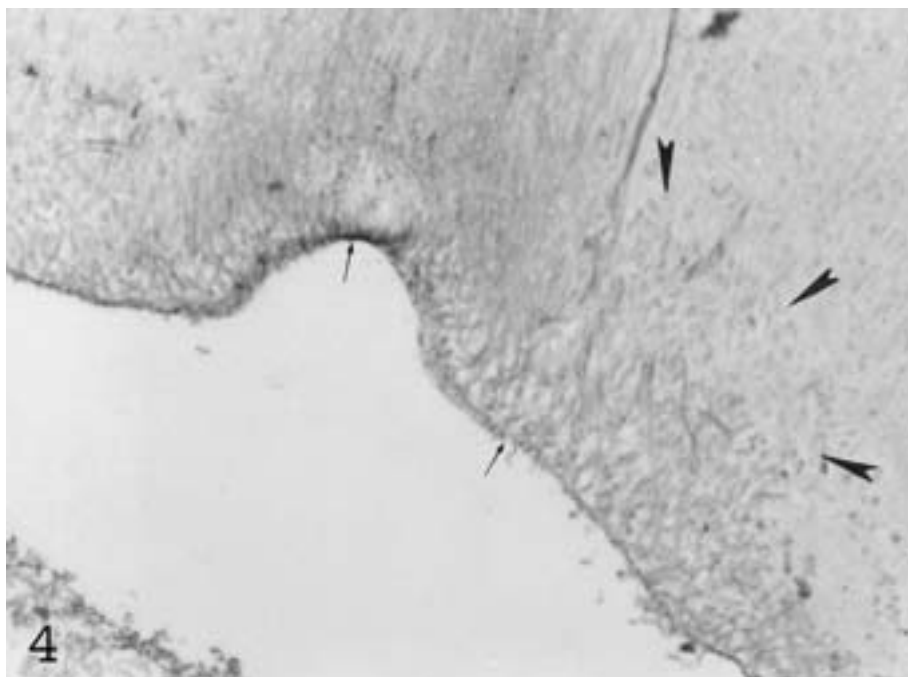
روزهای جنینی	۱۷	۱۶	۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰
انواع لکتین								
SBA	+	+	+	+	+	+	+	+
LTA,UEA-I	-	-	+	++	++	++	+++	+++
PNA	++	++	++	++	++	+	+	+++
MPA	-	-	++	+++	+++	++	++	++
WFA	-	-	+	+	-	-	-	-
GSA1-B ₄ ,VVA	-	-	-	-	-	-	-	-

عدم واکنش - واکنش خفیف + واکنش متوسط ++ واکنش شدید +++

جدول ۳. خلاصه نتایج حاصل از واکنش لکتینهای مورد مطالعه در ناحیه هسته تری جمینال

روزهای جنینی	۱۷	۱۶	۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰
انواع لکتین								
SBA	-	-	++	++	+++	+++	++	-
LTA,UEA-I	++	+++	-	-	-	-	-	-
PNA	+++	+++	-	-	-	-	-	-
MPA	-	-	-	+++	+++	++	-	-
WFA	-	-	++	+++	++	-	-	-
GSA1-B ₄ ,VVA	-	-	-	-	-	-	-	-

عدم واکنش - واکنش خفیف + واکنش متوسط ++ واکنش شدید +++



شکل ۴. مقطع پارامدین ساقه مغز جنین موش ۱۴ روزه رنگ آمیزی شده با لکتین WFA و آلیسون بلو. در این نما سلولهای لایه اپاندیمال دارای عکس العمل نسبتاً شدید با این لکتین هستند (فلشها)، علاوه بر این برخی از سلولهای زوج ۵ که با سر فلش مشخص شده اند دارای عکس العمل شدیدی نسبت به این لکتین هستند، در حالی که بخش عمده‌ای از سلولها فاقد عکس العمل هستند (بزرگنمایی $\times 40$)

بحث

گلیکوکونژوگیتها با قندهای انتهایی در پدیده‌های مختلف تکاملی از قبیل تکثیر و تمایز و مهاجرت سلولی و تبادلات سلولها و ماتریکس خارج سلولی نقش مهمی ایفا می‌نمایند [۲۲، ۲۴ و ۲۵] این مواد طی تکامل در سطح بعضی سلولها ظاهر شده یا از آن ترشح می‌شوند و پس از انجام وظیفه تکاملی خود توسط سایر مولکولها نظیر اسید سیالیک پوشیده شده یا به وسیله برخی مواد شیمیایی مانند آنزیمها تجزیه شده و کاملاً از بین می‌روند [۲۰، ۲۵ و ۲۶]. میان کنشهای سلولی یکی از مواردی است که در مراحل بسیار حساس و کلیدی برای تمایزات بعدی در سلولهای جنینی اعمال می‌شود و در همین زمینه نقش زایده نوتوکورد در القای سلولهای اکتودرمی و تبدیل آنها به بافت عصبی را می‌توان اشاره نمود از جمله شناخته شده ترین مولکول آنها که در این رابطه نقش اثبات شده ای دارد می‌توان به مولکول Sonic hedgehog (Shh)

اشاره کرد که نقش آن در تکامل اولیه صفحه کفی و نورونهای حرکتی تأیید گردیده و ماهیت گلیکوپروتئینی دارد [۲۷-۲۹]. از نتایج حاصل از این پژوهش چنین استنباط می‌شود که گلیکوکونژوگیتها متفاوتی در ناحیه ساقه مغز در مراحل تکامل پیش سازهای نورونها، از جمله گلیکوکونژوگیت با قند انتهایی L-فوکوز، حضور دارند.

وجود گلیکوکونژوگیت با قند انتهایی L-فوکوز در نورونهای نابالغ واقع در اپتلیوم بویائی موش بالغ، با توجه به اینکه نوروزن در این ناحیه در طول زندگی بعد از تولد انجام می‌شود، تشخیص داده شده است [۱۶]. در موش تازه به دنیا آمده فرآیند نوروزن فعال با نشاندار شدن تعداد زیادی از سلولهای حاوی قند L-فوکوز به وسیله لکتین UEA-I [۱۶].

احتمال داده شده که واقعه موقتی فوکوسیلایون پروتئین در نوروزن اپتلیوم بویایی مقدم بر رشد آکسون، دخالت داشته باشد [۱۶]. در تحقیق حاضر حضور این قند در مراحل اولیه

فیبروبلاست یک پروتئوگلیکان قوی است که از کلاژن و گلیکوزآمینوگلیکان ساخته شده و نقش مهمی در ماتریکس خارج سلولی ECM (Extra Cellular Matrix) دارد [۳۳]. همینطور BMP پروتئین مورفوژنیک استخوان یکی از اعضای خانواده TGF-B فاکتور رشد تبدیل کنند نوع بتا است که کنترل کننده جنبه‌های مهم تکامل و تمایزات جنینی است که به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته است [۳۴ و ۳۵].

با توجه به یافته‌های این پژوهش می‌توان احتمالاً حضور قندهای ان استیل گالاکتوز امین و دی ساکارید گالاکتوز-ان استیل گالاکتوز امین را در سلولهای پیش ساز نوروهای حسی و صفحه سقفی تأیید نمود و همچنین شاید بتوان گفت که این قند انتهایی با آرایشی خاص که با لکتهای مورد آزمایش واکنش داده اند در مولکولهای FGF-8 و BMP4-7 حضور دارد و احتمالاً مشخصات و تمایز نوروهای حسی را در تکامل لوله عصبی کنترل می‌کنند.

تقدیر و تشکر

این مقاله نتایج طرح تحقیقاتی شماره: ع/۸۳-۸ در مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان به صورت مشترک با دانشگاه علوم پزشکی مشهد است. نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین این مرکز به جهت پشتیبانی بی دریغ و تأمین قسمت عمده بودجه طرح و گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی مشهد جهت همکاری صمیمانه و تأمین قسمتی از هزینه‌های طرح اعلام می‌نمایند.

References

1. William PL, worwick R, Dyson M, Bannister LH. Gray's Anatomy 38th. ed. London, Churchill Livigstone 1995; pp 184-9, 1099.
2. Small DS, Mok SS, Williamson TG, Nurcombe V. Role of proteoglycan in

تکامل ساقه مغز و روزهای شانزدهم و هفدهم جنینی در محل استقرار هسته زوج پنج مشاهده می‌شود. بنابراین شاید بتوان گفت که این قند در مراحل اولیه تکامل ساقه مغز و مراحل بعدی هسته تری جمینال نقش دارد و با توجه به تغییرات مشاهده شده بوسیله لکتهای MPA, PNA, SBA و WFA نشان می‌دهد که احتمالاً قندهای انتهایی D-Gal NAC و دی ساکارید Gal-Gal NAC در تکامل این هسته، در مراحل مختلف دوران جنینی، نقش دارند. همچنین مطالعاتی در مورد صفحه سقفی و صفحات بالی انجام شده و مشخص شده است که صفحه سقفی یک مرکز سازمان دهنده جنینی است که در قسمت میانی پشتی لوله عصبی قرار دارد [۳۰] و در مراحل اولیه تکامل CNS فاکتورهای را ترشح می‌کند که مشخصات و تمایز انواع سلولهای نوروهای پشتی را کنترل می‌کند [۳۰ و ۳۱]. BMP پروتئین مورفوژنیک استخوان که از اکتودرم مجاور صفحه عصبی و صفحه سقفی ترشح می‌شود دارای عملکردی مشابه Shh است [۱۶ و ۳۲]. همچنین منطقه ایسم واقع در مرز میان مغز میانی و پسین الگوی محور قدامی خلفی لوله عصبی را توسط FGF-8 کنترل می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که تکامل هسته مزانسفالیک MTN (Measencephalic Trigermental Nucleus) تحت تاثیر FGF-8 فاکتور رشد فیبروبلاست است طوری که به کار بردن FGF-8 خارجی تکامل MTN را تسریع می‌کند، در حالی که جلوگیری از عمل FGF-8 در vivo In تاثیر شدید در تکامل MTN دارد [۲۸].

همچنین تحقیقات مشخص کرده است فاکتور رشد

neuronal development. regeneration and aging brain. J Neurochem 1996; 67: 889-90.

3. Poree LR, Schramm LP. Interraction between medullary and cervical regulation of renal Sympathetic activity. Brain Res 1992; 599: 297-301.

4. **Wilson D, Wyett D.** Patterns of, lectin binding mammalian neurogenesis. *J Anat* 1995; 186: 209-216.
5. **Altman J, Bayer SA.** Development of the Brain Stem in the rat IV thymidine radiographic study of the time of origin of neurons in the pontine region. *J Comp Neural* 1980; 194 (4): 905-29.
6. **Cormak DH.** Hams Histology 9th ed. J B Lippincott Company, 1987, pp 75-80.
7. **Iodish H, Baltimore A, Bercks, Zipursky.** Molecular cell biology 3rd ed. Scientific American, 1995, pp 1123-200.
8. **Albert B, Bray D, Lewis J, Raff M.** Molecular biology of cell 2nd ed. Gatland Pub, 1989, p 802.
9. **Kaufman M.H.** The atlas of mouse development. Academic Press, 1992, pp 1-15.
10. **Sporle R and Schughart K.** Neural Tube morphogenesis. *Curr Opin Genet Dev* 1997; (7): 507-12.
11. **Fazel A, Schulte B, Thompson R, Spicer S.** Presence of unique glycoconjugates on the surface of rat primordial germ cells during migration cell. *Differentiation* 1987; 21: 199-211.
12. **Fazel A, Schulte B.** Glycoconjugate unique to migrationprimordial germ cell differs with genera. *Anatomical Record* 1990; 228: 177-84.
13. **Montreuil J, Vliegenthart JFG, Schachter H.** Glycoproteins II, Elsevier Science Bv. Amsterdam 1997; pp 403-55.
14. **Griffith CM, wiley MJ.** Distribution of cell Surface glycoconjugates during secondary neurulation in the chick embryo *Anat Rec* 1990; 226 (1): 81-90.
15. **Flaris NA, Shindler KS, Kotzbauer PT, Chand P, Ludwing CP, Konstantinidon Ad,**
- Roth KA.** Develomentally regulated lectin binding in the embryonic mouse telecephalon. *Brain Reseach* 1995; 678: 99-109.
16. **Ducary A, Propper A, Kastner A.** Detection of all fucose containing carbohydrates in mouse immature olfactory neurons. *Neuroscience Letters* 1999; (274): 17-20.
17. **Nishimura A, Sawada S, Yamamoto Y, Nakagawa T, Tanegashima A, Nishi K.** Lectin histochemical detection of degenerative glycoconjugate deposits in human brain. *Forensic Science International* 2000; (113): 265-269.
18. **Bovolenta P, Fernaud-Espinosa I.** Nervous system proteoglycans as modulators of neurite outgrowth. *Progress in Neurobiology* 2000; (61): 113-132.
19. **Bancraft JD and Steven A.** Theory and practice of histological technigues 5th ed. Churchill Livingstone New York 1991; PP 20-82.
20. **Gotz W , Quondamatteo F.** Glycoconjugate distribution in early human notochord and axial mesenchyme. *Acta Histochem* 2001; 103 (1): 21-35.
21. **Fazel A, Sumida H, Schulte B,Thompson R.** Lectin histochemistry of the embryonic heart. Fucoss-Specific lectin binding sites in developing rat and chicks. *Amj Anta* 1989; (84): 76-84.
22. **Ganji F, Fazel A.** Lectin binding pattern in the microenvironment of mouse developing T-cell. *Irannian Biomedical Journal* 2003; 7 (1): 19-22.
23. **Paxinos G.** The rat nervous system. Academic Press Htarcourt Brace Jovanorich 2000; (41): 293-309.
24. **Quondamatteo F, Zieger J, Gotz W, Miosgen , Herken R.** Extensive glycosylation

- changes revealed by lectin histochemistry in morphologically normal prenatal tissues of the mouse mutant undulated (un/un) *Anat Rec* 2000; 258 (3): 243-51.
25. **Fazel A, Nikravesh M.R, Jalali M.** Developmental changes of glycoconjugate in early Mouse embryonic neuroepithelium notochordal and surrounding mesenchymal interaction. *Yakhteh* 2002; (15): 157-163.
 26. **Ericson J, Briscoe J, Rashbass P, Van Heyninges V and Jessel TM.** Graded Sonic hedgehog signaling and the specification of cell fate in the ventral neural tube. *Cold Spring , Harb Symp Quant Biol* 1997; (6): 451-466.
 27. **Hunter E, Begbie J, Mason I, Graham A.** Early development of the mesencephalic trigeminal nucleus. *Dev Dyn* 2001; 222 (3): 484-93.
 28. **Ruiz I, Altaba A, Palma, Dahmane N.** Hedgehog-Gli signaling and the growth of brain. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3 (1): 24-33.
 29. **Chizhikov V, Millen KJ.** Mechanisms of roof plate formation in the vertebrate C.N.S *Nat Rev Neurosci* 2004; 5 (10): 808-12.
 30. **Chizhikov V, Millen KJ.** Control of roof plate development and signaling LMx_{1b} in the caudal vertebrate CNS. *Neurosci* 2004; 24 (25): 5694-703.
 31. **Afnso ND.** Molecular control of ventro-dorsal polarization of the spinal neural tube in vertebrates. *Morphology* 2003; 87 (278-279): 56-74.
 32. **Wolanskam, Sobolewski K.** Basic fibroblast growth factor in leiomyoma. *Merkur Pol Lekarski K* 2004; (102): 590.
 33. **Chen D, Zhao M, Mundy GR.** Bone Morphogenetic proteins. *Growth Factors chur, switzerland* 2004; 22 (4): 233-41.
 34. **Samad TA, Rebbapragada A, Bell E, Zhang Y, Sidis Y, Jeong SJ, et al.** DRAGON a Bone Morphogenetic protein co-receptor. *Biol Chem* 2005; 280 (14): 14122-9.