

## **Effect of the adenosine A1 receptor agonist on demyelination and remyelination processes in lysolecithin induced demyelination in rat optic chiasm**

Asghari A<sup>1</sup>, Azarnia M<sup>1</sup>, Mirnajafi-Zadeh SJ<sup>2</sup>, Javan M<sup>2\*</sup>

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Tarbiat Moallem University, Tehran, I. R. Iran.

2- Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I. R. Iran.

Received May 1, 2011; Accepted August 27, 2011

### **Abstract:**

**Background:** Demyelination in central nervous system is usually followed by remyelination; however, chronic lesions with subsequent functional impairment result from the eventual failure of remyelination process, as seen in multiple sclerosis. Remyelination is the process through which oligodendrocyte-progenitor cells (OPCs) restore new myelin sheathes around demyelinated axons. This study aimed to investigate the effect of A1 receptor agonist, N6-cyclohexyladenosine (CHA), on the demyelination and remyelination processes in rat optic chiasm following lysophosphatidylcholine (LPC)-induced demyelination.

**Materials and Methods:** In this experimental study, LPC was injected into the optic chiasm of three groups of rats (n=6). Control group received aCSF on different days following LPC injection. Two groups of animals received CHA on days 0-14 or 14-28 post-lesion. Demyelination and remyelination levels were evaluated by recording visual evoked potential (VEP) from the scalp.

**Results:** The highest level of demyelination was occurred on day 7 post-lesion LPC injection and gradually reduced during the days 7-28. The P-wave latency was significantly increased on day 7 and then partially restored during the days 7-28 post-lesion. CHA administration during the days 0-14 attenuated demyelination process. In addition, CHA administration in remyelination phase (days 14-28) was able to potentiate the endogenous myelin repair.

**Conclusion:** Injection of CHA could prevent the lysolecithin-induced variations in VEP. The effects of CHA may be mediated through increment of OPCs proliferation and their differentiation into myelinating oligodendrocytes.

**Keywords:** Demyelination, Remyelination, Multiple sclerosis, N6-Cyclohexyladenosine, Visual evoked potential, Oligodendrocyte progenitor cells, Neural stem cells, Rat

**\* Corresponding Author.**

**Email:** mjavan@modares.ac.ir

**Tel:** 0098 21 828 84522

**Fax:** 0098 21 828 84555

**Conflict of Interests:** No

*Fez, Journal of Kashan University of Medical Sciences March, 2012; Vol. 16, No 1, Pages 1-8*

*Please cite this article as:* Asghari A, Azarnia M, Mirnajafi-Zadeh J, Javan M. Effect of the adenosine A1 receptor agonist on demyelination and remyelination processes in lysolecithin induced demyelination in rat optic chiasm. *Fez* 2012; 16(1): 1-8.

# اثر آگونست انتخابی گیرنده آدنوزینی A1 بر روند تخریب و ترمیم میلین القاء شده با لیزولستین در عصب و کیاسمای بینایی موش صحرایی

علی اکبر اصغری<sup>۱</sup>، مهناز آذرنیا<sup>۲</sup>، سید جواد میرنجفی زاده<sup>۳</sup>، محمد جوان<sup>۴\*</sup>

## خلاصه:

**سابقه و هدف:** به دنبال دمیلیناسیون CNS، رمیلیناسیون اتفاق می‌افتد. اگرچه این فرآیند در آسیب‌های مزمن مانند بیماری ام اس غالباً با شکست روبه‌رو می‌شود. در فرآیند رمیلیناسیون سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیتی غلاف جدیدی از میلین در اطراف آکسون دمیلینه ایجاد می‌کنند. این تحقیق سعی در بررسی اثر آگونست آدنوزین رسپتور A1 بر دمیلیناسیون و رمیلیناسیون عصب و کیاسمای بینایی پس از تزریق با لیزولستین در موش صحرایی دارد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی لیزولستین به ناحیه کیاسمای بینایی سه گروه ۶ تایی از موش‌های صحرایی تزریق شد. گروه کنترل در روزهای متفاوت پس از تزریق لیزولستین، ACSF دریافت کردند. دو گروه از حیوانات در روزهای ۰ تا ۱۴ و ۱۴ تا ۲۸ پس از آسیب، آگونست گیرنده آدنوزینی A1 (CHA) دریافت کردند. سطح رمیلیناسیون و دمیلیناسیون با استفاده از ثبت VEP (پتانسیل برانگیخته بینایی) از سطح مجمله ارزیابی شد.

**نتایج:** بیش‌ترین میزان دمیلیناسیون در روز ۷ پس از تزریق لیزولستین اتفاق افتاد و به تدریج تا روز ۲۸ کاهش معنی‌دار یافت. تاخیر موج P (اولین جزء پایین‌رو) نیز در روز ۷ افزایش معنی‌دار یافت و به تدریج طی روزهای ۷-۲۸ پس از آسیب به صورت معنی‌داری کاهش نشان داد. CHA در طول روزهای ۰ تا ۱۴ میزان دمیلیناسیون را کاهش داده و در فاز رمیلیناسیون روزهای ۱۴ تا ۲۸ CHA قادر بود سطح رمیلیناسیون را به صورت معنی‌دار افزایش دهد.

**نتیجه‌گیری:** تزریق CHA اثرات لیزولستین بر موج VEP را معکوس می‌کند. کاهش دمیلیناسیون و افزایش فرایند رمیلیناسیون توسط CHA ممکن است از طریق افزایش تکثیر سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیت و تمایزشان به الیگودندروسیت‌های میلینه‌کننده میانجی-گری شود.

**واژگان کلیدی:** دمیلیناسیون، رمیلیناسیون، بیماری ام اس، CHA، VEP، سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیت، سلول‌های بنیادی عصبی، موش صحرایی

\_\_\_\_\_ دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱، صفحات ۸-۱

## مقدمه

دمیلیناسیون پدیده‌ای است که طی آن غلاف میلین تخریب شده و به دو شکل اولیه و ثانویه در بافت عصبی مشاهده می‌گردد. در دمیلیناسیون اولیه، آسیب به علت حذف میلین ایجاد می‌شود و با عدم آسیب یا با آسیب کم آکسون همراه است [۲]، اما در دمیلیناسیون ثانویه غلاف میلین پس آسیب مستقیم آکسون و قطع آن از بین می‌رود [۳]. در بیماری ام اس (MS) غلاف میلین تخریب شده و سلول‌های تولید کننده آن، یعنی الیگودندروسیت‌ها آسیب می‌بینند که حاصل آن اختلال در هدایت پیام‌های عصبی در سیستم عصبی مرکزی (CNS) است [۴]. در این بیماری دمیلیناسیون از نوع اولیه بوده و آسیب آکسون پدیده‌ای ثانویه است که در مراحل پیشرفته بیماری دیده می‌شود [۵]. رمیلینه شدن فرایندی است که طی آن صفحات میلین دور آکسون‌های دمیلینه شده بازسازی می‌شوند. رمیلیناسیون که ناشی از عملکرد OPCها می‌باشد، غالباً به صورت ناقص روی می‌دهد. میزان رمیلینه شدن به وسیله پیش‌سازهای الیگودندروسیت بستگی به توانایی آنها در

میلین‌سازی یک فرایند ضروری و لازم در تکامل مهره-داران محسوب می‌شود. اکسون‌های میلین‌دار پیام‌های عصبی را سریع‌تر انتقال می‌دهند. میلین باعث محافظت از آکسون و حمایت از عملکرد صحیح آن نیز می‌گردد. در اکثر پستانداران میلین‌سازی در اواخر دوران جنینی و اوایل دوران پس از تولد رخ می‌دهد و شامل تشکیل غشایی از ترکیبات لیپیدی و پروتئینی دورآکسون می‌باشد [۱].

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم

<sup>۳</sup> استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۴</sup> دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

## \*نشانی نویسنده مسئول:

تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی

تلفن: ۰۲۱ ۸۲۸۸۴۵۲۲ | دورنویس: ۰۲۱ ۸۲۸۸۴۵۵۵

پست الکترونیک: mjavan@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۱۱ | تاریخ پذیرش نهایی: ۹۰/۶/۵

و کیاسمای بینایی بر اساس گزارش قبلی این آزمایشگاه [۱۱] انجام شد. به طور خلاصه دمیلیناسیون با تزریق ۲ میکرولیتر محلول ۱ درصد لیزولستین (Sigma-Aldrich, USA) حل شده در سالین استریل ۰/۹ درصد، القا شد. بعد از جراحی حیوانات به کمک دستگاه استریوتاکس (Stoelting, USA) و قرار دادن یک کانول در محل بطن جانبی، لیزولستین با کمک سرنگ همیلتون با سرعت نیم میکرولیتر در دقیقه در کیاسمای بینایی تزریق می شد. مشخصات محل تزریق در کیاسما ۳/۹ mm جلوی لامبدا با موقعیت جانبی صفر نسبت به لامبدا و با عمق ۷/۲ mm از دورا بود [۱۴]. تزریق درون بطنی (Sigma-Aldrich, USA) CHA از محل کانول داخل بطنی صورت می گرفت. موقعیت کانول تزریق کانول ۳/۶ mm جلوی لامبدا، ۱/۱ mm جانبی نسبت به لامبدا و با عمق ۴/۲ mm نسبت به سطح دورا بود. جهت اطمینان از فراهم نمودن زمان لازم برای انتشار داروها، سوزن قبل از خروج، به مدت ۳ دقیقه در محل نگه داشته می شد.

ثبت الکتروفیزیولوژیک پتانسیل های برانگیخته بینایی  
پتانسیل برانگیخته بینایی (VEP) یک پتانسیل الکتروفیزیولوژیک است که می تواند با استفاده از میانگین گیری سیگنال های حاصل از ثبت فعالیت الکتروانسفالوگرافیک از جمجمه به دست آید. VEP می تواند اطلاعات مهم تشخیصی در مورد یکپارچگی عملکرد بینایی ارائه کند. مراحل جراحی، الکتروود گذاری و ثبت مشابه روشی است که قبلاً توصیف شده است [۱۱]. به طور خلاصه، برای ثبت VEP، یک الکتروود تک قطبی از جنس فولاد ضد زنگ در ناحیه پس سری جمجمه کاشته شد (A: 0 A:  $L: \pm 3\text{mm}$  نسبت به لامبدا) [۱۴]. در بخش قدامی جمجمه (۱ میلی متر پشت برگما) الکتروود مرجع گذاشته شد و الکتروودها توسط سیمان دندان پزشکی در جمجمه ثابت شدند. قبل از کاشتن الکتروود در سطح جمجمه میزان مقاومت آنها توسط دستگاه اهم متر اندازه گیری می شد تا الکتروودهای انتخاب شوند که دارای مقاومت یکسانی باشند. برای ثبت، ابتدا حیوان بی حرکت شده را در یک جعبه تاریک به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده تا با تاریکی سازش پیدا کند. برای ایجاد محرک نورانی از یک دیود نوری (LED) سفید رنگ با شدت نور ۱۵ Candel/deg استفاده شد. این واحد نورانی به یک دستگاه استیمولاتور (SMP-3100, Nihon Kohden) و ایزولاتور متصل بود که آن را با موج مربعی تک فازی به مدت ۲۰ میلی ثانیه با ولتاژ خروجی ۱۲ ولت و فرکانس یک بار در ثانیه روشن می کرد. طول دوره تحریک ۳۰۰ ثانیه بود (در مجموع ۳۰۰ ثبت). پاسخ های ثبت شده ده هزار برابر تقویت شد (AVB-10

تکثیر و تمایز به الیگودندروسیت های میلینه کننده دارد [۶]. سلول های بنیادی عصبی (NSCs) خاصیت خود تجدیدکنندگی (Self-renewal) دارند و می توانند به نورون، آستروسیت و یا الیگودندروسیت تمایز می یابند [۷] NSCs در طی تکوین سیستم عصبی مرکزی ظاهر می شوند و نقش اساسی در تکوین آن بازی می کنند. پس از این دوره نیز در بقای عملکرد CNS بالغین و هم چنین در بهبود آسیب ها نقش اساسی دارند [۸]. آدنوزین یک نوکلئوزید پورینی درون زاد است که به دنبال فعالیت متابولیکی سلول ها تولید شده و بخشی از آن وارد محیط خارج سلولی می شود [۹]. هم چنین، بخشی از آدنوزین خارج سلولی به صورت مستقیم از ATP خارج سلولی ساخته می شود. چهار گیرنده آدنوزینی در پستانداران شناسایی شده است که گیرنده های A1, A2A, A2B, A3 نام دارند. گیرنده های A2A و A2B با پروتئین های Gs و گیرنده های A1, A3 با پروتئین های Gi مرتبط هستند [۹]. فعال شدن گیرنده A1 سبب مهار تولید cAMP و افزایش فعالیت پروتئین کیناز C (PKC) می شود [۷] و هر دو مسیر MEK/ERK و Akt را تحریک می کند. مسیر های MEK/ERK و Akt به طور مستقیم در تکثیر NSCs درگیر هستند [۱۰]. با توجه به گزارشات متعدد از دخالت سلول های بنیادی عصبی درون زاد در ترمیم میلین [۱۱-۱۳] و گزارشات موجود از اثر آگونیزت های گیرنده آدنوزینی A1 بر تکثیر سلول های مذکور در ترمیم CNS در انواع دیگر آسیب های مغزی [۱۰]. در این مطالعه اثر آگونیزت گیرنده A1 (CHA) بر میزان دمیلیناسیون و رمیلیناسیون عصب و کیاسمای بینایی موش صحرایی پس از تزریق موضعی لیزولستین با کمک ثبت الکترو- فیزیولوژیک پتانسیل برانگیخته بینایی (VEP) بررسی شده است.

## مواد و روش ها

### حیوانات

در این مطالعه تجربی از ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۳۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی و بدون محدودیت دسترسی به آب و غذا نگهداری شدند. پروتکل آزمایش ها به تایید کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس رسیده بود. حیوانات به صورت تصادفی در سه گروه شش تایی قرار گرفتند.

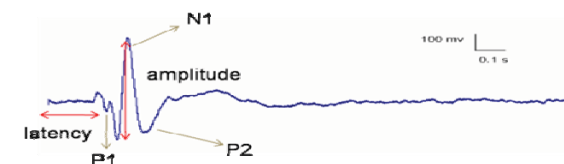
جراحی حیوانات و القای دمیلیناسیون  
حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (۸۰ mg/kg) و زایلازین (۲۰ mg/kg) بیهوش شدند. القای دمیلیناسیون در عصب

رمیلیناسیون رخ داده است (شکل شماره ۱). نتایج نشان داد بیش-ترین میزان دمیلیناسیون در روز ۷ پس از تزریق لیزولستین اتفاق افتاد و مقدار آن به تدریج تا روز ۲۸ کاهش یافت.

#### اثر کاربرد CHA در فاز دمیلیناسیون

در طی فاز دمیلیناسیون در گروهی از حیوانات که فقط لیزولستین دریافت کرده بودند زمان تاخیر موج P افزایش و هم-چنین دامنه موج آن نسبت به ثبت پایه کاهش یافت. تاخیر موج از (ms) ۳۳/۳۹ در روز صفر به (ms) ۶۵/۶۹ در روز ۷ ( $P=0/001$ ) و سپس در روز ۱۴ به (ms) ۵۶/۱۷ کاهش یافت. هم-چنین، دامنه موج از مقدار عددی (um) ۱۲۵/۶ میکروولت در روز صفر به (um) ۸۹/۶۷ در روز ۷ ( $P=0/01$ ) و سپس در روز ۱۴ به (um) ۱۰۴/۳۳ کاهش یافت. در گروه حیواناتی که علاوه بر لیزولستین، CHA دریافت کرده بودند، از افزایش تاخیر موج P1-N1 ( $P=0/01$ ،  $P=0/05$  و  $P=0/05$  به ترتیب در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۸) و هم-چنین کاهش دامنه موج P1-N1 ( $P=0/01$ ،  $P=0/01$  و  $P=0/05$  به ترتیب در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۸) تا حد معنی‌داری جلوگیری شد. مقدار تاخیر موج از (ms) ۳۸/۵۰ در روز صفر به (ms) ۶۵/۱۷ در روز ۷ و سپس در روز ۱۴ به (ms) ۴۹/۳۳ کاهش یافت و دامنه موج از مقدار (uv) ۱۲۷/۶۶ میلی ولت در روز صفر به (uv) ۱۰۰/۱۶ در روز ۷ و سپس در روز ۱۴ به (uv) ۱۰۸/۵ کاهش یافت (نمودارهای شماره ۱ و ۲).

(Nihon Kohden) و از امواج تقویت شده میانگین‌گیری می‌شد (DAT-1100, Nihon Kohden). در هر ثبت، تاخیر بین زمان اعمال محرک نوری و اولین موج مثبت و یا منفی ثبت شده و هم-چنین دامنه موج ثبت شد با کمک نرم افزار Biochart اندازه‌گیری می‌شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش در روزهای مختلف در هر گروه از آنالیز واریانس برای سنجش‌های مکرر و جهت مقایسه داده‌های دو گروه در هر روز از آزمون t با حداقل سطح معنی‌داری  $P<0/05$  استفاده گردید.

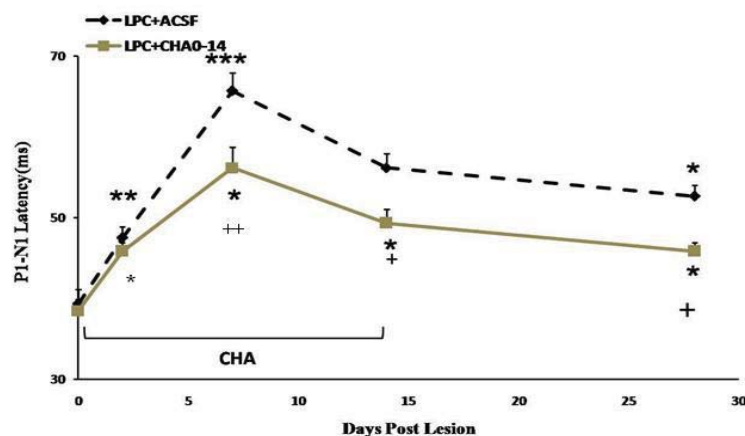


شکل شماره ۱- نمونه موج ثبت شده پتانسیل برانگیختگی بینایی VEP و اجزای آن

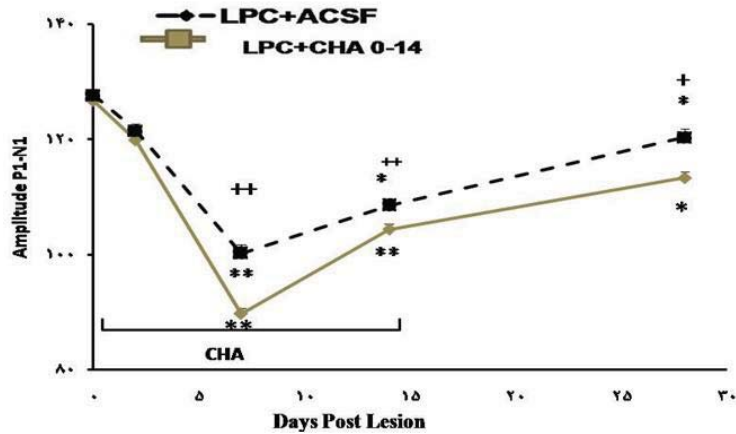
#### نتایج

##### مطالعات الکتروفیزیولوژی

از آنجا که زمان تاخیر و دامنه موج‌های N و P، به‌عنوان شاخص دمیلیناسیون و رمیلیناسیون در نظر گرفته می‌شود، هرگاه زمان تاخیر موج P افزایش یافته، و یا دامنه موج آن کاهش یابد دمیلیناسیون صورت گرفته است و هرگاه این میزان تاخیر کم شود و دامنه افزایش یابد و به مقدار آن در گروه کنترل نزدیک شود،



نمودار شماره ۱- مقایسه زمان تاخیر موج P1-N1 ثبت‌های VEP حیوانات گروه‌های مختلف در طی روند آزمایش. گروه‌های مختلف آزمایشی در روزهای صفر و ۲ اختلاف معناداری باهم نداشتند. در روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۸ پس از تزریق LPC، اختلاف معناداری میان گروه LPC+ACSF و گروه LPC+CHA 0-14 وجود داشت، \* تفاوت آماری در مقایسه با روز ۰ همان گروه + تفاوت آماری در مقایسه با زمان مشابه در گروه LPC + ACSF را نشان می‌دهد. تعداد نمونه‌های هر گروه آزمایشی برابر ۶ بود و CHA طول دوره تزریق روزانه درون بطنی CHA را نشان می‌دهد.

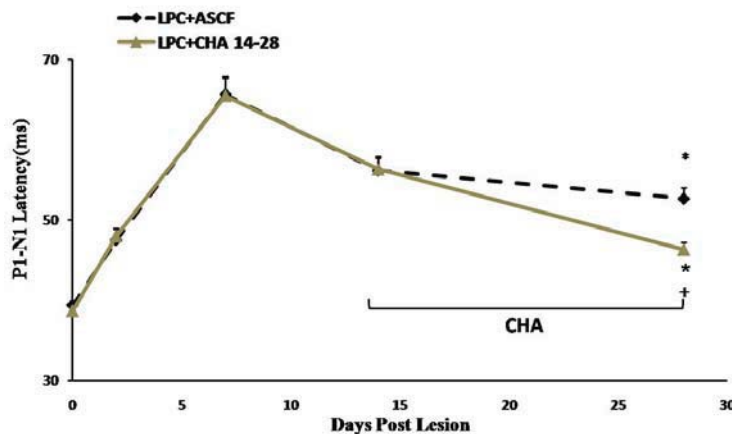


نمودار شماره ۲- مقایسه دامنه جز P1-N1 ثبت‌های VEP حیوانات گروه‌های مختلف در طی روند آزمایش. گروه‌های مختلف آزمایشی در روزهای صفر و ۲ اختلاف معناداری با هم نداشتند. در روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۸ پس از تزریق LPC، اختلاف معناداری میان گروه LPC+ACSF و گروه LPC+CHA 0-14 وجود داشت. \* تفاوت آماری در مقایسه با روز صفر همان گروه و + تفاوت آماری در مقایسه با زمان مشابه در گروه LPC + ACSF را نشان می‌دهد. تعداد نمونه‌های هر گروه آزمایشی برابر ۶ بود و CHA طول دوره تزریق روزانه درون بطنی CHA را نشان می‌دهد.

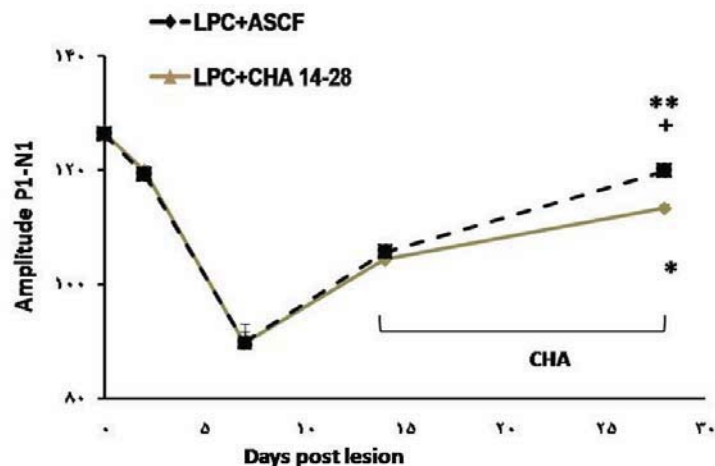
در روز ۲۸ کاهش یافت، هم‌چنین دامنه موج از مقدار عددی (uv) ۱۱۳/۳۳ در روز ۱۴ به مقدار عددی (uv) ۱۰۴/۳۳ میکروولت روز ۱۴ به مقدار عددی (uv) ۱۱۳/۳۳ در روز ۲۸ افزایش یافت و در گروهی که CHA دریافت کرده بودند زمان تاخیر از مقدار عددی (ms) ۵۶/۳۳ در روز ۱۴ به مقدار عددی (ms) ۴۶/۳۳ در روز ۲۸ کاهش و دامنه موج از مقدار عددی (uv) ۱۰۸/۵۳ در روز ۱۴ به مقدار عددی (uv) ۱۲۰/۳۳ در روز ۲۸ افزایش یافت (نمودارهای ۳ و ۴).

اثر کاربرد CHA در فاز رمیلیناسیون

در طی فاز رمیلیناسیون (از روز ۱۴ تا ۲۸) زمان تاخیر موج P کاهش ( $P < 0.05$ ) و هم‌چنین دامنه موج مذکور تا روز ۲۸ به تدریج افزایش ( $P = 0.01$ ) یافت و به میزان کنترل (روز صفر) نزدیک شد. هم‌چنین، CHA قادر بود میزان رمیلیناسیون را براساس هر دو شاخص زمان تاخیر و دامنه موج P افزایش دهد (هر دو  $P = 0.05$ ). در گروهی که فقط لیزولستین دریافت کرده بود زمان تاخیر از ۵۶/۱۷ (ms) میلی ثانیه در روز ۱۴ به ۵۲/۶۷ (ms)



نمودار شماره ۳- اثر کاربرد CHA در طی فاز ترمیم میلین بر زمان تاخیر جز P1-N1 ثبت‌های VEP. CHA در طی روزهای ۱۴ تا ۲۸ تزریق شد و مقایسه آماری فقط در روز ۲۸ انجام شد که اختلاف معنی‌داری را نشان داد. \* تفاوت آماری در مقایسه با روز صفر همان گروه و + تفاوت آماری در مقایسه با روز ۲۸ گروه LPC + ACSF را نشان می‌دهد. تعداد نمونه‌های هر گروه آزمایشی برابر ۶ بود و CHA طول دوره تزریق روزانه درون بطنی CHA را نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۴ - اثر کاربرد CHA در طی فاز ترمیم میلین بر دامنه جز P1-N1 ثبت‌های VEP. CHA در طی روزهای ۱۴ تا ۲۸ تزریق شد و مقایسه آماری فقط در روز ۲۸ انجام شد که اختلاف معنی‌داری را نشان داد. \* تفاوت آماری در مقایسه با روز صفر همان گروه و + تفاوت آماری در مقایسه با روز ۲۸ گروه LPC+ACSF را نشان می‌دهد. تعداد نمونه‌های هر گروه آزمایشی برابر ۶ بود و CHA طول دوره تزریق روزانه درون بطنی CHA را نشان می‌دهد.

## بحث

مسیر بینایی موش یک مدل خوب جهت مطالعات عملکردی، بیوشیمیایی و سلولی فرایندهای دمیلیناسیون و رمیلیناسیون ایجاد می‌کند [۱۵]. مطالعات قبلی آزمایشگاه ما نیز کارایی ثبت VEP را در برآورد میزان دمیلیناسیون و ترمیم آن به‌خوبی نشان داد [۱۱]. لذا، در مطالعه حاضر از روش ثبت VEP برای ارزیابی اثر CHA استفاده شد. در این مطالعه کیاسمای بینایی موش صحرایی به دلیل اهمیت آن در انتقال اطلاعات بینایی و هم-چنین آسیب مکرر این ناحیه در بیماری ام اس، جهت القای مدل موضعی دمیلیناسیون با لیزولستین انتخاب شد. لیزولستین با توجه به حساسیت بیشتر اولیگودندروسیت‌ها، در غلظت به‌کار رفته، باعث مرگ سلول‌های میلینه کننده و حل شدن میلین در ناحیه تزریق می‌شود و در سایر سلول‌ها مثل آستروسیت‌ها و نورون‌ها آسیب قابل توجهی ایجاد نمی‌کند [۱۶]. این ماده در مطالعات گذشته نیز جهت القای دمیلیناسیون موضعی در نواحی مختلف CNS نظیر طناب نخاعی [۱۷]، پایک تحتانی مخچه [۱۸]، کورپوس کالوزوم [۱۳] و هم‌چنین عصب بینایی [۱۱] استفاده شده بود. استفاده کلینیکی از ثبت VEP برای تشخیص پاتولوژی‌های بینایی رایج است. به‌علاوه این تکنیک به‌عنوان یک روش حساس برای تعیین تغییرات اولیه در مسیر بینایی در مدل‌های دمیلیناسیون یا MS تایید شده است و روشی مناسب برای بررسی سیستم بینایی در انسان است [۱۹]. با استفاده از دو پارامتر زمان تاخیر و دامنه موج‌های P و N، می‌توان مرحله دمیلیناسیون عصب بینایی را از مراحل تخریب اکسونی و رمیلیناسیون آن تمایز داد. از آنجا که

زمان تاخیر و دامنه موج‌های P و N، به‌عنوان شاخص دمیلیناسیون و رمیلیناسیون در نظر گرفته می‌شود، هرگاه زمان تاخیر موج P افزایش یابد، یا دامنه موج آن کاهش یابد دمیلیناسیون صورت گرفته است و هرگاه این میزان تاخیر کم شود و دامنه افزایش یابد و به مقدار آن در گروه کنترل نزدیک شود، رمیلیناسیون رخ داده است. هم‌چنین، قطع آکسون‌های مسیر بینایی منجر به کاهش برگشت‌ناپذیر دامنه موج ثبت شده می‌گردد. در این مطالعه تغییراتی در تاخیر همه اجزای ثبت VEP مشاهده شد ولی به دلیل ثبات بیشتر موج P1-N1، زمان تاخیر و دامنه این موج به‌عنوان شاخص هدایت اندازه‌گیری در نظر گرفته شد [۲۰]. در این مطالعه پس از تزریق لیزولستین در ناحیه عصب و کیاسمای بینایی موش صحرایی با از بین رفتن غلاف میلین در اطراف آکسون سرعت هدایت پیام عصبی به قشر بینایی کاهش یافت و در نتیجه میزان تاخیر افزایش و دامنه موج P کاهش یافت که این تغییرات در روز هفتم بیش‌تر بود. در روز بیست و هشتم میزان تاخیر کاهش و دامنه افزایش یافت، اما هنوز نسبت به گروه کنترل دارای تغییر معنادار بود. به‌عبارت دیگر طی روزهای ۷ تا ۲۸ مقداری رمیلیناسیون رخ داده است که کامل نبود. برگشت دامنه موج ثبت شده تا نزدیکی حد کنترل در روز ۲۸ در موش‌های تیمار شده با LPC نشان‌دهنده عدم قطع قابل توجه آکسون‌ها بوده و اثر اختصاصی لیزولستین بر سلول‌های میلین‌ساز را در غلظت به‌کار رفته نشان می‌دهد که تناسب مدل مورد استفاده برای مطالعه دمیلیناسیون و رمیلیناسیون را نشان می‌دهد. گزارش‌های قبلی مویید این مسئله است که میلین جدید نسبت به قبل دارای غلاف نازک‌تر و کوتاه‌تر است [۲۱] و

تغییرات ناشی از تزریق LPC در پارامترهای VEP گردید [۲۵]. بنابراین، به نظر می‌رسد CHA از طریق فعال نمودن مکانیزم‌های نورپروتکتیو باعث کاهش میزان آسیب گردد. لذا، در این گروه همان‌طور که انتظار می‌رفت میزان آسیب در روزهای ۷ و ۱۴ پس از تزریق LPC کم‌تر بود و در نتیجه روز ۲۸ نیز شدت دمی‌لیناسیون کم‌تر از گروه کنترل بود. گزارشات قبلی و شواهد مکانیزمی نیز موید این مطلب است [۲۷]. کاربرد CHA در طی فاز رمی‌لیناسیون (روزهای ۱۴ تا ۲۸) باعث تسریع روند رمی‌لیناسیون گردید. این اثر می‌تواند با واسطه فراخوان بیشتر سلول‌های بنیادی عصبی و OPCs به محل آسیب و با تکثیر آنها صورت گرفته باشد یا ناشی از افزایش توان میلین‌سازی سلول‌های بنیادی و OPCs مهاجر باشد [۲۵]. طبق گزارشات قبلی نیز آدنوزین از طریق گیرنده A1 و با فسفریلاسیون مسیرهای MEK/ERK و Akt باعث القا تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی در محل آسیب شده که این خود باعث جلوگیری از گسترش دمی‌لیناسیون و افزایش رمی‌لیناسیون می‌شود [۱۰].

#### نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد استفاده از آگونست‌های گیرنده آدنوزینی A1 قادر باشد در شرایط القای دمی‌لیناسیون مانند بیماری ام اس با محافظت از الیگودندروسیت‌ها و همچنین افزایش کارایی NSCs و OPCs در ترمیم میلین به‌عنوان یک استراتژی درمانی در بیماری ام اس مورد توجه قرار گیرد.

#### تشکر و قدردانی

داده‌های این مقاله بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد آقای علی اکبر اصغری می‌باشد که در گروه فیزیولوژی دانشگاه تربیت مدرس به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از مسئولین محترم دانشگاه تربیت مدرس که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند، مراتب قدردانی و تشکر خود را اعلام می‌داریم.

#### References:

- [1] Baumann N, Pham-Dinh D. Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiol Rev* 2001; 81(2): 871-927.
- [2] Ralevic V, Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev* 1998 50(3): 413-92.
- [3] Zhang SC, Ge B, Duncan ID. Adult brain retains the potential to generate oligodendroglial progenitors

این مسئله در کنار عدم تکمیل رمی‌لیناسیون می‌تواند علت عدم برگشت کامل تاخیر به حد کنترل باشد. تحقیقات نیز نشان داده است که کارایی فرایند رمی‌لیناسیون در CNS کامل نیست [۲۲]. به نظر می‌رسد در موش‌های صحرایی مدل حاضر بیش‌ترین میزان دمی‌لیناسیون در روز هفتم و پس از آن رمی‌لیناسیون آغاز شده است. در ناحیه دمی‌لینه، سلول‌های الیگودندروسیتی از بین می‌روند و حتی اگر صفحات میلین را دوباره تولید نمایند، نمی‌توانند آرایش موثری را برای ایجاد غلاف میلین در اطراف آکسون ایجاد کنند [۲۳]. از سوی دیگر توان مهاجرت سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیتی در ناحیه اطراف آسیب محدود بوده و عملکرد رمی‌لیناسیون آنها محدود به بخش باریکی در اطراف ناحیه آسیب می‌باشند [۲۴]. در نتیجه فراخوان OPCها از محل آسیب ممکن نیست. در این حالت تعداد زیادی از پلاک‌های دمی‌لینه شده به‌طور مزمین دارای کمبود سلول‌های سوبه‌های الیگودندروسیتی هستند. همچنین رمی‌لیناسیون ناقص می‌تواند به‌علت کاهش و یا عدم تمایز OPCها به الیگودندروسیت‌های میلین ساز و یا به‌علت کاهش پاسخ دهی OPCها به فاکتورهای موثر بر تجمع و تمایز آنها و یا به‌دلیل کاهش موثر در بسیج و تمایز باشد [۲۵،۲۱]. علاوه بر OPCها، مغز بزرگسالان دارای یک ظرفیت درون‌زاد از سلول‌های پیش‌ساز عصبی (NSCs) است که دارای پتانسیل تبدیل شدن به سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیتی با ظرفیت میلیناسیون می‌باشند [۳] و این سلول‌ها که از جمله در نواحی زیر بطنی بطن‌های جانبی متمرکز می‌باشند، توانایی بالایی را جهت مهاجرت و تولید میلین پس از آسیب دارند [۲۵]. شکست در رمی‌لیناسیون ناحیه آسیب می‌تواند به‌علت نقص در سنتز فاکتورهای رشد برای پیشبرد رمی‌لیناسیون به‌وسیله NSCs نیز باشد. زنده ماندن، تکثیر و یا تجمع جمعیت درون‌زاد NSCها ممکن است نیازمند بیان بالای فاکتورهای رشد در ناحیه آسیب باشد [۲۶]. به‌منظور بررسی اثر (CHA) بر روی روند دمی‌لیناسیون و رمی‌لیناسیون، CHA به‌صورت داخل بطنی با دو الگوی مختلف گردید. در الگوی اول در طی فاز دمی‌لیناسیون مورد استفاده قرار گرفت و باعث کاهش

- with extensive myelination capacity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(7): 4089-94.
- [4] Brinar VV, Petelin Z, Brinar M, Djaković V, Zadro I, Vranjes D. CNS demyelination in autoimmune diseases. *Clin Neurol Neurosurg* 2006; 108(3): 318-26.
- [5] Hafler DA. Multiple sclerosis. *J Clin Invest* 2004; 113: 788-94.
- [6] Keirstead HS. Stem cells for the treatment of myelin loss. *Trends Neurosci* 2005; 28(12): 677-83.

- [7] Peart JN, Headrick JP. Adenosinergic cardioprotection: multiple receptors, multiple pathways. *Pharmacol Ther* 2007; 114(2): 208-21.
- [8] Gotz M, Huttner WB. The cell biology of neurogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(10): 777-88.
- [9] Fredholm BB, IJzerman AP, Jacobson KA, Klotz KN, Linden J. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol Rev* 2001; 53(4): 527-52.
- [10] Hideyuki M, Katsuya K, Mami H, Rumi M, Nobuko T, Fiona M. Activation of Adenosine A1 Receptor Induced Neural Stem Cell Proliferation via MEK/ERK and Akt Signaling Pathways. *J Neurosci Res* 2008; 86(13): 2820-8.
- [11] Mozafari S, Sherafat MA, Javan M, Mirnajafi-Zadeh J, Tiraihi T. Visual evoked potentials and MBP gene expression imply endogenous myelin repair in adult rat optic nerve and chiasm following local lysolecithin induced demyelination. *Brain Res* 2010; 1351: 50-6.
- [12] Picard-Riera N, Decker L, Delarasse C, Goude K, Nait-Oumesmar B, Liblau R, et al. Experimental autoimmune encephalomyelitis mobilizes neural progenitors from the subventricular zone to undergo oligodendrogenesis in adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(20): 13211-6.
- [13] Nait-Oumesmar B, Picard-Riera N, Kerninon C, Baron-Van Evercooren A. The role of SVZ-derived neural precursors in demyelinating diseases: From animal models to multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 265(1-2): 26-31.
- [14] Paxinos G, Franklin KBJ. The mouse brain in stereotaxic coordinates. 2<sup>nd</sup> ed. San Deigo: Academic press; 2004.
- [15] Skof RP, Price DL, Stocks A. Electron microscopic autoradiographic studies of gliogenesis in rat optic nerve. I. Cell proliferation. *J Comp Neurol* 1976; 169(3): 291-312.
- [16] Kotter MR, Setzu A, Sim FJ, Van Rooijen N, Franklin RJ. Macrophage depletion impairs oligodendrocyte remyelination following lysolecithin induced demyelination. *Glia* 2001; 35(3): 204-12.
- [17] Pavelko KD, van Engelen BG, Rodriguez M. Acceleration in the rate of CNS remyelination in lysolecithin-induced demyelination. *J Neurosci* 1998; 18(7): 2498-505.
- [18] Lachapelle F, Bechelin C, Moissonnier P, Nait-Oumesmar B, Fontaine D, Baron-Van Evercooren A. Failure of remyelination in the non human primate optic nerve. *Brain Pathol* 2005, 15(3): 198-207.
- [19] Hudnell HK, Boyes WK, Otto DA. Rat and human visual evoked potentials recorded under comparable conditions: a preliminary analysis to address the issue of predicting human neurotoxic effects from rat data. *Neurotoxicol Teratol* 1990; 12(4): 391-8.
- [20] Heckenlively JR, Arden GB. Principle and practice of clinical electrophysiology of vision. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge: The MIT press; 2006. p. 301-8.
- [21] Franklin RJ. Why does remyelination fail in multiple sclerosis? *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(9): 705-14.
- [22] Woodruff RH, Franklin RJ. The expression of myelin basic protein exon 1 and exon 2 containing transcripts during myelination of the neonatal rat spinal cord-an in situ hybridization study. *J Neurocytol* 1998, 27(9): 683-93.
- [23] Johansson B, Halldner L, Dunwiddie TV, Masino SA, Poelchen W, Gimenez-Llort L, et al. Hyperalgesia, anxiety, and decreased hypoxic neuroprotection in mice lacking the adenosine A1 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(16): 9407-12.
- [24] Levine JM, Reynolds R, Fawcett JW. The oligodendrocyte precursor cell in health and disease. *Trends Neurosci* 2001; 24(1): 39-47.
- [25] Decker L, Picard-Riera N, Lachapelle F, Baron-Van Evercooren A. Growth factor treatment promotes mobilization of young but not aged adult subventricular zone precursors in response to demyelination. *J Neurosci Res* 2002; 69(6): 763-71.
- [26] Murtie JC, Zhou YX, Le TQ, Vana AC, Armstrong RC. PDGF and FGF2 pathways regulate distinct oligodendrocyte lineage responses in experimental demyelination with spontaneous remyelination. *Neurobiol Dis* 2005; 9(1-2): 171-82.
- [27] Von Lubtize DK. Adenosine a cerebral ischemia: therapeutic future or death of a brave concept ? *Eru J Pharmacol* 1999; 371(1): 85-102.