Archive of SID

پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
سال ۲۴، شماره ۴، صفحات ۳۳۹-۳۴۴ (زمستان ۱۳۷۹)

تاثیر محرومیت از خواب حرکت سریع چشم بر ماست‌سلهای تالاموس مغز موشهای نر صحرایی

دکتر محمدحسین نویان‌اشرف* و دکتر ژیلا بهزادی**

* دانشگاه علوم پزشکی گیلان- گروه آناتومی دانشکده پزشکی
** دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران - گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی

خلاصه

ماست‌سلها یاخته‌هایی هستند که از مغز استخوان مشتق می‌شوند و به علت داشتن طیف وسیعی از فرآورده‌های سلولی و حضور در بافتهای محیطی و دستگاه اعصاب مرکزی می‌توانند در پدیده‌های مهم زیست شناختی و پاتوفیزیولوژیکی شرکت کنند. از آنجا که آشکار شده است که تعداد آنها در مغز در پاسخ به عوامل هورمونی و استرس تغییر می‌کند، در این پژوهش با استفاده از روش Flower pot تاثیر ۹۶ و ۱۲۰ ساعت محرومیت از خواب حرکت سریع چشم (REM) بر تعداد ماست‌سلهای موجود در تالاموس- که یکی از مراکز مهم درگیر در پدیده خواب است- آزمایش شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که پیامد محرومیت از REM به میزان بسیار معنی‌داری از تعداد ماست‌سلها در کمپلکس تالاموس کاسته می‌شود. با توجه به سهم مهم ماست‌سلها در پدیده‌ها رفتاری و مرتبط با پاسخهای عصبی- آندوکرینی- ایمنی شناختی این کاهش می‌تواند با اهمیت باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

حضور ماست‌سلها (Mast cells) در دستگاه اعصاب مرکزی و نقش بالقوه آنها در مغز سالم و در پاتوفیزیولوژی آن از تاریخچه‌ای طولانی و بحث‌انگیز برخوردار است (۱ و ۲). برای نخستین بار در سال ۱۸۷۹ ارلیخ (Ehrlich) ماست‌سلها را معرفی نمود (۱ و ۲). گرچه در گذشته تصور می‌شد که این سلولها در بافت مغز وجود ندارند. اما برخی پژوهشگران به وجود آنها در مغز سالم بسیاری از گونه‌های پستانداران از جمله انسان اشاره کرده‌اند (۳ و ۴).

مطالعات نشان می‌دهد که ماست‌سلها را در بافت مغز، سخت شامه لپتومنژ و شبکه کورویید پستانداران و پرندگان یافت می‌شوند. این سلولها در پارانشیم مغز بخصوص در تالاموس مشاهده می‌شوند (۲ و ۱۱). تعداد ماست‌سلها با توجه به شرایط هورمونی، وضعیت فیزیولوژیکی و سنی و محیطی در دیانسفال مغز تغییر می‌کند (۱۱). شواهدی در دست است که دلالت بر نقش احتمالی ماست‌سلها در سازوکارهای وابسته به خواب دارد (۱۲). با توجه به اینکه تالاموس بعنوان یکی از مراکز مهم درگیر در پدیده خواب مطرح است (۱۲)؛ و با در نظر گرفتن حضور ماست‌سلها در این ناحیه از مغز به بررسی تاثیر ۹۶ و ۱۲۰ ساعت محرومیت از خواب حرکت سریع چشم بر مورفولوژی، نحوه انتشار و تعداد ماست‌سلها در مغز موشهای صحرایی پرداخته شد.

مواد و روشها

در این پژوهش، ۱۵ سر موش صحرایی نر سفید بالغ از نژاد N-Meri به وزن ۲۰۰-۲۳۰ گرم استفاده شد. سه گروه حیوان: ۵ جانور به عنوان گروه شاهد در قفسهای معمولی، ۵ حیوان به عنوان گروه آزمایشی که ۹۶ ساعت از خواب محروم شده بودند (SD ۹۶) و ۵ حیوان به عنوان گروه آزمایشی ۱۲۰ ساعت محروم از خواب (SD ۱۲۰) مورد آزمایش قرار گرفتند. از روش فنجان وارونه یا Flower pot جهت حذف انتخاب مرحله محرومیت از خواب استفاده شد.

در روش مزبور حیوانات در قفسهای پلکسی گلاس در ابعاد ۴۰×۴۰×۴۰ سانتیمتر بر روی دیسک مدوری که پایه آن ۴ سانتیمتر از کف قفس ارتفاع داشت نگهداری می‌شدند. کف قفس تا حدود یک سانتیمتر مانده به لبه دیسک از آب پر می‌شد. جهت سازش موشها با محیط جدید ابتدا ۲ تا ۳ ساعت آنان را روی دیسکهای بزرگ به قطر ۱۵ سانتیمتر نگهداری و سپس به دیسکهای آزمایش به قطر ۶ سانتیمتر منتقل شدند. بدین طریق جانور نمی‌توانست بدن خود را در وضعیت خاصی که معمولا" در شرایط متعارف قرار می‌دهد، نگاه دارد. جانور تنها قادر به خوابیدن در مرحله‌ای است که به مرحله خواب موج آهسته (SWS) موسوم است؛ اما به مجرد ورود به مرحله خواب REM به دلیل شل شدگی عضلات محوری که از خصوصیات مرحله REM خواب است در اثر تماس پوزه‌اش با سطح آب از خواب بیدار می‌شود. پس از طی دوره آزمایش حیوانات بلافاصله توسط پنتوباربیتال سدیم (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) عمیقا" بیهوش شده، به روش پرفوزیون از راه قلب ابتدا ۱۵۰ میلی‌لیتر سالین هپارینه تزریق و آنگاه با فیکساتیو حاوی پارافرمالدئید ۴ درصد در بافر فسفات ۰/۱ مولار، pH معادل ۷/۴ و به حجم ۴۰۰ میلی‌لیتر تزریق شد. پس از پرفوزیون، مغزها از جمجمه خارج و به مدت یک شب در محلول فیکساتیو، در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و آنگاه مقاطع ۳۰ میکرونی توسط ویبراتوم از آنها تهیه شد. مقاطع روی لامهای آغشته به ژلاتین و کروم آلوم جمع‌آوری و پس از خشک شدن توسط محلول تیونین ۰/۵ درصد رنگ‌آمیزی شدند.

پس از لامل گذرای، به منظور مطالعه با میکروسکوپ نوری طول مشخصی از کمپلکس تالاموس - از قدامی‌ترین بخش تا ناحیه‌ای که در محاذات دمی‌ترین

www.SID.ir

Archive of SID

بخش هسته بازال ماینرت می‌باشد- با استفاده از اطلس پاکسینوس (۹) به عنوان ناحیه مورد بررسی جهت شمارش ماست‌سلها و مطالعه مورفولوژی آنها مورد مشاهده قرار گرفت. با توجه به ضخامت مقاطع و قطر متوسط ماست‌سلها، یاخته‌های مشاهده شده در هر مقطع شمارش شدند. جهت برآورد تعداد کل ماست‌سلها در ساختار تشریحی مورد بررسی، از فرمول زیر استفاده شد:

تعداد بر آورد شده کل سلولهای مورد نظر (ماست‌سل) در هسته = N_t

تعداد کل سلولهای شمارش شده در نمونه مورد مطالعه= N_s

تعداد کل مقاطع هسته مورد مطالعه= S_t

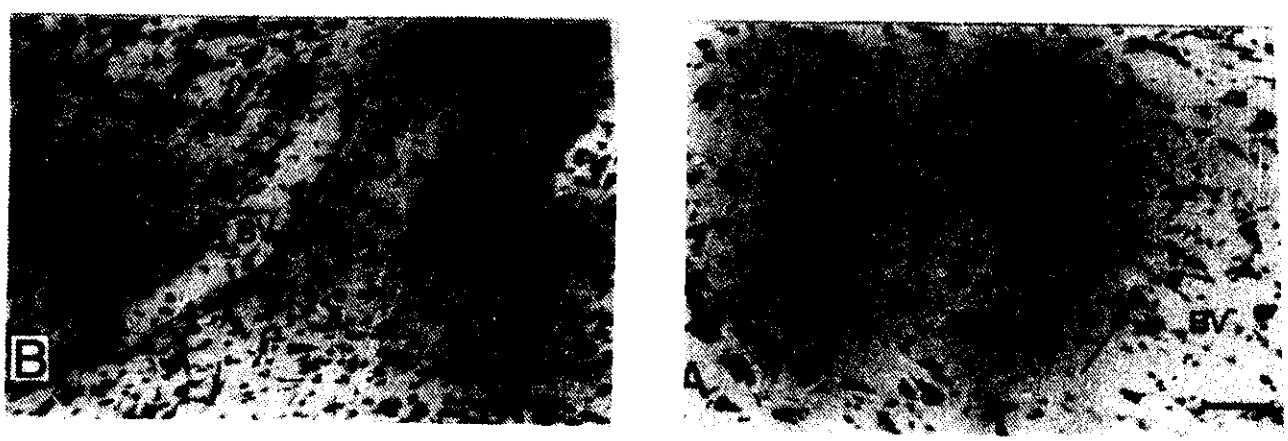
تعداد مقاطع نمونه‌برداری شده= S_s

بررسی آماری. جهت بررسی نتایج و ترمیم نمودار از آزمون آماری t با ارزش $P<0/0001$ با کمک نرم‌افزار کمپیوتری Excel روی PC استفاده شد.

نتایج

گرانولهای ماست‌سلها در رنگ‌آمیزی تیونین خاصیت متاکروماتیک را نشان می‌دهد. در بررسی بافت‌شناسی مغز موشهای صحرایی در گروه شاهد و آزمایش، ماست‌سلهای مملو از گرانول در هسته‌های مختلف کمپلکس تالاموسی - از قدامی‌ترین بخش این کمپلکس تا ناحیه خلفی- که محاذی بخش کودال هسته بازال ماینرت قرار دارد. در مقاطع مورد بررسی قرار گرفت. انتشار ماست‌سلها در کمپلکس تالاموس یکنواخت نمی‌باشد؛ به طوری که این سلولها در هسته‌های قدامی- داخلی بیشتر در بخش پیشین آن و در هسته پاراونتریکولر در مجاورت سقف و کف بطن III متمرکزند.

ماست‌سلها در هسته Parataenial و Reuniens، قدامی- شکمی، شکمی- داخلی و شکمی- خارجی و نواحی ذکر شده در بالا، اکثرا" در مجاورت دیواره عروق (عمدتا" از نوع آرتیول و ونول) و تعداد بسیار کمی نیز در پارانشیم بافت، به طور پراکنده مشاهده می‌شوند (شکل ۱).



شکل ۱) مقایسه انتشار ماست‌سلهای دور عروقی در هسته شکمی- داخلی تالاموس در گروه شاهد (A) و آزمایش (B). به موقعیت ماست‌سلها در اطراف رگها (پیکان) و نیز کاهش تعداد آنها در گروه آزمایش توجه شود. ماست‌سل= MC، رگ خونی=BV، خط مقیاس= A,B=۶۲/۵ µm

www.SID.ir

Archive of SID

با مراجعه به جدول ۱ و نمودار ۱ می‌توان دریافت که فراوانی ماست‌سلها در هسته‌های تالاموس در گروههای آزمایش- در مقایسه با گروه شاهد- کاهش بسیار معنی‌داری را نشان می‌دهد. با مراجعه به شکل ۱ مشخص می‌شود که در مقایسه با گروه شاهد (شکل ۱-الف) از تراکم ماست‌سلها در مجاورت رگهای کمپلکس تالاموس گروه‌های آزمایش (شکل ۱- ب) به شدت کاسته شده است.

البته بین دو گروه ۹۶ SD و ۱۲۰ SD تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این کاهش، به خصوص در مورد هسته‌های رتیکولر، پاراونتریکولر، شکمی- داخلی و شکمی- خارجی بیشتر دیده شد ولی در مورفولوژی ماست‌سلها از نظر تعداد گرانولها، وضعیت دگرانولاسیون و شدت رنگ‌پذیری آنها در گروههای شاهد و آزمایش تغییری مشاهده نشد.

جدول ۱) اطلاعات آماری مربوط به گروههای شاهد و آزمایش

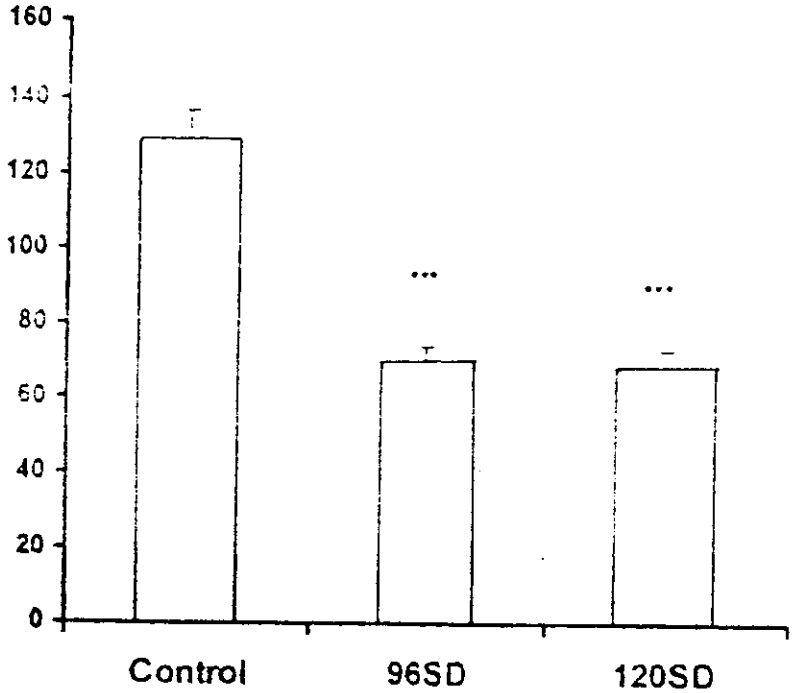
شماره	A Control* تعداد شمارش شده	B ۹۶ SD تعداد شمارش شده	C ۱۲۰ SD تعداد شمارش شده
۱	۱۲۵	۶۷	۷۰
۲	۱۳۶	۷۰	۸۵
۳	۱۵۴	۸۲	۶۳
۴	۱۰۹	۵۹	۵۶
۵	۱۲۱	۷۳	۶۸

	شاهد	۹۶ SD	۱۲۰ SD
Column ID	A	B	C
Column Label	Control	۹۶ SD	۱۲۰ SD
Mean	۱۲۹	۷۰/۲	۶۸
Sample Size	۵	۵	۵
SD	۱۶/۹۸۵	۸/۴۰۸	۱۰/۷۳۸
SEM	۷/۵۹۶	۳/۷۶۰	۴/۸۰۲
Median	۱۲۵/۰۰	۷۰/۰۰۰	۶۸/۰۰۰
Lower 95% CI	۱۰۷/۹۱	۵۹/۷۶۱	۵۵/۰۶۹
Upper 95% CI	۱۵۰/۰۹	۸۰/۶۳۹	۸۱/۷۳۱
Minimum	۱۰۹/۰۰	۵۹/۰۰۰	۵۶/۰۰۰
Maximum	۱۵۴/۰۰	۸۲/۰۰۰	۸۵/۰۰۰

* تفاوت بین گروهها با $P<۰/۰۰۰۱$ معنی‌دار است.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱) مقایسه تعداد ماستوسیت‌های موجود در کمپلکس تالاموس در گروههای شاهد و بی‌خوابی

بحث

ماست‌سلها را با توجه به خاصیت متاکرومازی آنها شناخته‌اند. این خاصیت سبب می‌شود تا به واسطه داشتن گروههای سولفات در پروتئوگلیکانهایی چون هپارین در گرانولهای خود، رنگ آبی رنگهایی چون تیونین یا تولوئیدین بلو را به ارغوانی تغییر دهند (۲). بنابراین در پارانشیم بافت عصبی از نورونها و نوروگلی‌ها به خوبی متمایز می‌شوند.

بررسی حاضر نشان می‌دهد که تالاموس یکی از جایگاههای مهم حضور ماست‌سلها در مغز می‌باشد. ماست‌سلها در هسته‌های تالاموس مشاهده شدند و مشخص گردید که این سلولها در این کمپلکس انتشار یکسانی ندارند دیمیتریادو (Dimitriadou) و همکاران (۱۹۹۰) و لامبرشت- هال (Lambracht-Hall) و همکاران (۱۹۹۰) ماست‌سلها را به فراوانی در تالاموس و هیپوتالاموس (دو جایگاه مهم دیگر در سازوکارهای مربوط به خواب و بیداری) مشاهده کردند (۲و ۶). حضور بیشتر ماست‌سلها در مجاورت رگهای خونی و نیز به میزان بسیار کمتر در پارانشیم تالاموس، می‌تواند با توجه به تنوع مواد قابل ترشح توسط این سلولها از جمله انواع آمین‌ها و ترکیبات محرک رگ (۶ و ۷) در فیزیولوژی هر یک از هسته‌های تالاموس به نحوی موثر باشد. به همین دلیل ممکن است این سلولها توسط این ترکیبات متنوع در تعدیل وقایع سیناپسی در این بخش از مغز شرکت کنند (۲ و ۱۱) و احتمالا" تاثیری بر سد خونی - مغزی و همودینامیک مغز تاثیر داشته باشند (۲ و ۱۱).

در نتایج این مطالعه پس از ۹۶ و ۱۲۰ ساعت محرومیت از خواب کاهشی معنی‌دار در تعداد ماست‌سلها- در مقایسه با شاهد- مشاهده شد که نشاندهنده حساسیت این سلولها به استرس بی‌خوابی می‌باشد. باید دانست که ماست‌سلها (علاوه بر نورونها و یاخته‌های آندوتلیال) یکی از سه منبع حاوی هیستامین مغز می‌باشند (۸).

با در نظر گرفتن سهم تالاموس در پدیده‌های وابسته به خواب و بیداری، طبق یک نظریه به نظر می‌رسد که هیستامین ماست‌سلها در چرخه‌های بیوشیمیائی مربوط به تنظیم خواب و بیداری سهیم باشد (۱۲).

ماست‌سلها حاوی ۹۰ درصد از هیستامین تالاموس هستند (۱۱). شاید تغییر تعداد ماست‌سلها در شرایط مختلف، از جمله استرس بی‌خوابی ناشی از دگرانولاسیون با مهاجرت - مثلا" از طریق کموتاکسی-

www.SID.ir

Archive of SID

به نواحی دیگر باشد. در یک آزمایش مشاهده شد که پیامد استرس ناشی از جدایی اجتماعی در موش صحرایی در روز اول به میزان ۹۰ درصد و در روزهای بعد بین ۴۴ تا ۶۷ درصد از تعداد ماست‌سلهای تالاموس کاسته می‌شود (۱).

اینکه تغییر در تعداد انتشار ماست‌سلها با انواع تغییرات رفتاری قابل مشاهده، متعاقب محرومیت از خواب ارتباطی داشته باشد، موضوعی در خور تعمق است. با توجه به اینکه حتی در شرایط بی‌خوابی دراز مدت نیز تغییری در تعداد نورونها و نوروگلی قسمتهای مختلف مغز گزارش نشده است (۵ و ۱۰) تغییر تعداد ماست‌سلها مسئله قابل توجهی می‌باشد. ممکن است ماست‌سلهای CNS همانند بافتهای محیطی پایانه‌های اعصاب را دریافت دارند (۷)؛ و نیز با برقراری تاثیر متقابل با نورونها و زواید آنها، گلیا و رگهای خونی پارانشیم مغز بر محیط ظریف درون‌بافتی (Neural Microenvironment) موثر باشند. با در نظر گرفتن مطالب بالا شاید کاهش تعداد ماست‌سلها در این آزمایش تا حدی در نتیجه تاثیر عوارض ناشی از استرس بی‌خوابی مانند هیجان‌زدگی، کاهش وزن و غیره (۵) و یا جدایی اجتماعی (۱) باشد که این عوامل می‌توانند نظم هورمونی و تعادل فیزیولوژیکی را تحت تاثیر قرار دهند.

با توجه به سهم مهم عملی ماست‌سلها به عنوان یک پل ارتباطی - جهت تاثیر پدیده‌های رفتاری بر پاسخهای عصبی- آندوکرینی- ایمنی‌شناختی کاهشی که در تعداد این یاخته‌ها پدیدار شده، نقش آنها را در پاسخ به عوامل استرس‌زا محتمل می‌سازد.

سپاسگزاری

نگارندگان به این وسیله از همکاری صمیمانه سرکار خانم دکتر جان‌احمدی استادیار محترم بخش فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تشکر می‌نمایند. این نوشتار نتیجه بخشی از یک طرح پژوهشی است که بودجه آن را معاونت پژوهشی دانشگاه یاد شده تامین کرده است.

مراجع

1. Bugajski AJ, et al. Agent Actions. 1994; 41:C 75-76, in Silver R, et al. Mast cells in the brain: evidence and functional significance, TINS 1996; 19: 25-31.
2. Dimitriadou V, Lambracht-Hall M, Reichler J & Theoharides TC. Histochemical and ultrastructural charachteristics of rat brain perivascular mast cells stimulated with compound 48/80 and carbachol. Neurosci 1990; 39:209-24.
3. Dropp JJ. Mast cells in mammalian brain. Acta Anat 1976; 94:1-21.
4. Dropp JJ. Mast cells in the human brain. Acta Anat 1979; 105:505-13.
5. Everson CA. Clinical manifestations of prolonged sleep deprivation. Monogr Clin Neurosci 1997; 15:34-59.
6. Lambracht-Hall M, Konstantinidiou AD and Theoharides TC. Serotonin release from rat brain mast cells in Vitro. Neurosci 1990; 39:199-207.
7. McKay DM and Bienenstock J. The interaction between mast cells and nerves in the gastrointestinal tract. Immunol Today 1994; 15:533-8.
8. Nowak JZ. Histamine in the central nervous system: its role in circadian rhythmicity. Acta Neurobiol Exp 1994; 54(Suppl): 65-82.
9. Paxinos G. Rat brain in streotaxic coordinates. 2nd edition. Academic Press, 1981.
10. Rechtschaffen A and Bergmann BM. Sleep deprivation in rat by disk-over-water method. Behav Brain Res 1995, 69:55-63.
11. Silver R, Silverman AJ, Vitkovic I and Lederhendler II. Mast cells in the brain: evidence and functional significance. TINS 1996; 19:25-31.
12. Sri Kantha S. Histamine-Interleukin-Prostaglandin pathway: a hypothesis for a biochemical cycle regulating sleep and wakefulness. Med Hypoth 1994; 42:335-9.

www.SID.ir