Reduction of Neuroinflammation in Epilepsy by Using Induced Pluripotent Stem (iPS) Cells-Derived Astrocytes

Azadeh Sajadian[1], Maryam Jafarian[1, 2], Babak Khodaie[1], Shahin Mohammad Sadeghi[3], Amir Ghaemi [4*]

[1]Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran.
[2]School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
[3]Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
[4]Department of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Article Info:
Received: **31 Dec 2013** ***Accepted:*** **19 Feb 2014**

ABSTRACT

Introduction: The ability to induce pluripotency in somatic cells by reprogramming factors offers new opportunities for drug discovery and cell therapy. Induced pluripotent stem cells have the potential to differentiate to various cell types, such as neural and glial cells. Astrocytes, the major glial cells of the central nervous system, play an important role in the function of the brain by regulating of extracellular ions and neurotransmitters, feeding and protection of neurons as well as modulating the activity of microglia. Microglia over-activation can be resulted in brain inflammation with subsequent susceptibility to epileptic seizures. ***Hypothesis:*** For many years, embryonic Stem cell transplantation has been examined to prevent seizure attacks in epilepsy. These studies have indicated that adult cells from patient have the ability to be transformed to embryonic stage and convert to a pluripotent stem cell by using some Transcription factors (such as Oct4, Sox2, Nanog, Rex1, Klf, c-Myc and LIN28). Accordingly, fibroblasts from an epileptic have also been reprogrammed to embryonic stage. The resulting iPS cells are isogenic to patient and are able to transform to neurons or glia in a suitable culture condition. Previous studies on ES cell therapy have focused more on neurons than astrocytes. Astrocytes, by secretion of glial cell-derived neurotrophic factor, not only regulate the different microglial activities, such as proliferation, migration and cell adhesion, but can also reduce destructive effects of microglia. ***Conclusion:*** In this hypothesis, we suggest a reprogramming system for generating functional astrocyte from human pluripotent stem cell in the presence of neural growth factors. We hypothesize that these cells might reduce neuroinflammation induced by microglia and subsequent susceptibility to seizure. The reprogrammed cells could be used in cell replacement therapy of epilepsy.

Key words:

1. Astrocytes
2.Seizures
3.Epilepsy
4. Microglia
5.Induced Pluripotent Stem Cells.

***Corresponding Author:** Amir Ghaemi

E-mail: *ghaem_amir@yahoo.com*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.2.2.56]

کاهش التهاب عصبی در صرع با استفاده از آستروسیت‌های مشتق شده از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی

آزاده سجادیان[۱]، مریم جعفریان[۲،۱]، بابک خدائی[۱]، شاهین محمدصادقی[۳]، امیر قائمی[۴*]

[۱]مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیاء، تهران، ایران.
[۲]دانشکده فن آوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران.
[۳]گروه جراحی پلاستیک و ترمیمی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
[۴]گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۰ دی ۱۳۹۲
تاریخ پذیرش: ۳۰ بهمن ۱۳۹۲

چـــــکیده

مقدمه: توانایی القای پرتوانی به سلول‌های سوماتیک با استفاده از فاکتورهای برنامه ریزی مجدد، فرصتی جهت اکتشاف دارویی و سلول درمانی است. سلول‌های بنیادی پرتوان القایی توانایی تمایز به انواع سلول‌ها نظیر سلول‌های عصبی و گلیال را دارند. آستروسیت‌ها، سلول‌های گلیال اصلی سیستم عصبی مرکزی هستند که با تنظیم یون‌های خارج سلولی و انتقال‌دهنده‌های عصبی، تغذیه و حمایت از نورون‌ها و تعدیل عملکرد سلول‌های میکروگلیای فعال شده در مغز نقش حیاتی ایفا می‌کنند. فعالیت بیش از حد سلول‌های میکروگلیا می‌تواند منجر به التهاب مغزی و پس از آن مستعد شدن به حملات تشنجی شود. **فرضیه:** سال‌هاست که پیوند سلول‌های بنیادی جنینی به منظور پیشگیری از حملهٔ تشنجی در صرع مورد آزمایش قرار گرفته است. این مطالعات نشان داد که سلول‌های بالغ گرفته شده از بیمار توانایی تبدیل به مرحلهٔ رویانی و تبدیل به سلول‌های بنیادی پرتوان، با استفاده از برخی فاکتورهای رونویسی مانند Oct4، Sox2، Nanog، Rex1، Klf، c-Myc و LIN28 را دارا می‌باشند. بر این اساس سلول‌های فیبروبلاست گرفته شده از بیمار مصروع می‌توانند مجدداً برنامه ریزی شده و به مرحلهٔ جنینی باز گردانده شوند. سلول‌های پرتوان حاصله که نسبت به خود بیمار ایزوژنیک هستند توانایی تمایز به نورون‌ها و سلول‌های گلیال را در شرایط مناسب کشت دارند. در مطالعات گذشته توجه بیشتری به نورون‌ها نسبت به آستروسیت‌ها در درمان با سلول‌های بنیادی جنینی صورت گرفته است. آستروسیت‌ها از طریق ترشح عوامل نوروتروفیک نظیر GDNF عملکردهای مختلف سلول‌های میکروگلیال نظیر تکثیر سلول، مهاجرت و چسبندگی سلولی را تنظیم می‌کنند و همچنین قادر به کاهش تأثیرات مخرب سلول‌های میکروگلیال نظیر التهاب عصبی هستند. **نتیجه‌گیری:** در این فرضیه، ما یک سیستم برنامه ریزی مجدد برای تولید آسترویت‌های عملکردی از سلول‌های بنیادی پرتوان انسانی در حضور فاکتورهای رشد نورونی را پیشنهاد می‌کنیم. فرضیه ما این است که این سلول‌ها ممکن است با کاهش التهاب عصبی ایجاد شده توسط سلول‌های میکروگلیا، وقوع تشنج را کاهش دهند. سلول‌های مجدد برنامه ریزی شده، می توانند جهت سلول درمانی در صرع استفاده شوند.

کلید واژه‌ها:
۱. آستروسیت
۲. تشنج
۳. صرع
۴. سلول‌های میکروگلیا
۵. سلول‌های بنیادی پرتوان القایی

* **نویسنده مسئول:** امیر قائمی
آدرس الکترونیکی: *ghaem_amir@yahoo.com*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.2.2.56]

مقدمه

صرع گیجگاهی

صرع[1] به گروهی از ناهنجاری‌های مزمن عصبی اطلاق می‌شود که با حملات مکرر و غیرقابل پیش‌بینی شناخته می‌شود. حملات بر اساس اینکه در منطقهٔ خاصی از مغز باشد یا به طور کامل تمامی نقاط مغز را شامل شود دسته بندی می‌شوند. صرع گیجگاهی[2]، شکلی از صرع منطقه‌ای با حملات مکرر است. صرع گیجگاهی همراه با نقایص شناختی است و ۳۵٪ از بیماران مبتلا به این نوع صرع به داروهای ضد تشنج مقاومت نشان داده‌اند. از طریق جراحی با برداشت هیپوکمپ[3]، می‌توان صرع گیجگاهی را کنترل کرد. هرچند این روش باعث نقایص شناختی ثانویه در فرد می‌شود (۱). به علاوه استفادهٔ طولانی مدت از داروهای ضد تشنج سبب عوارض جانبی در فرد می‌شوند؛ بنابراین لزوم به کارگیری روش‌های جدیدی که از بیماری جلوگیری کند و در کنترل حملات مؤثر باشد، احساس می‌شود (۲، ۳).

صرع و التهاب سلول‌های عصبی

التهاب عصبی[4] بیانگر پاسخ التهابی سلول‌های گلیال فعال شده‌ای[5] می‌باشد که از نورون‌ها در برابر آسیب‌های وارد شده به سیستم عصبی مرکزی محافظت می‌کنند (۴). تنظیم نامناسب عملکرد محافظتی سلول‌های گلیال می‌تواند منجر به پیشرفت بیماری عصبی نظیر صرع و تشنجات مکرر شود که خود نتیجهٔ فعال شدن شدید یا طولانی مدت سلول‌های میکروگلیال است (۳، ۵).

یکی از مشخصات صرع و تشنجات مکرر در حیوانات آزمایشگاهی، گلیوزیز دوباره فعال شده است که نتیجهٔ التهاب عصبی ایجاد شده با تغییرات متابولیک و ساختاری در میکروگلیال و آستروسیت‌ها است.

از نظر ساختاری تغییرات ایجاد شده در آستروسیت‌های مجدد فعال شده را می‌توان با افزایش بیان فیلامنت‌های واسطه‌ای[6]، کم آبی، تولید انبوه ترکیبات خارج سلولی شناسایی کرد (۶). فعالیت قابل توجه آستروسیت‌های مجدد فعال شده در تنظیم التهاب، ترمیم سد خونی- مغزی از طریق تولید ترکیبات ماتریکس خارج سلولی، ممانعت از پاسخ التهابی بیش از اندازه، محدودکردن تحلیل سلولی، کاهش ورم و تشکیل آسیب گلیال[7] نقش دارد. به طور خلاصه فعال شدن آستروسیت‌ها نقش مؤثری در ترمیم سیستم عصبی مرکزی پس از جراحت دارد (۷).

پس از جراحت مغز، تجمع دو نوع از فیلامنت‌های واسطه‌ای شامل پروتئین GFAP[8] و VIM[9] قابل مشاهده است (۸). مطالعات اخیر نشان داده است که برای فعال شدن پاسخ گلیال نیازی به بیان GFAP نیست ولی نبود بیان GFAP سبب افزایش حساسیت به ایسکمی مغزی می شود. نبود VIM از بیان GFAP در آستروسیت‌های مجدد فعال شده جلوگیری کرده و مسئول تشکیل ساختار غیرطبیعی GFAP است (۱۱-۹). فقدان این دو پروتئین منجر به عدم توانایی تشکیل فیلامنت‌های حد واسط در خلال گلیوزیز مجدد فعال شده می‌شود (۱۲، ۱۰).

سلول‌های میکروگلیال مجدد فعال شده می‌توانند مولکول‌های پیش التهابی و ضد التهابی نظیر TNFα و IL-1β را تولید کنند که منجر به نتایج مفید و یا حتی مخربی می‌شود که این نتایج بستگی به فعال شدن گیرنده‌ها و زمان بیان دارد که در تنظیم میزان حساسیت به صرع اهمیت دارند (۱۳، ۷).

سلول‌های میکروگلیال انواعی از سلول‌های گلیال هستند و به عنوان اولین و اصلی‌ترین شکل دفاع ایمنی در سیستم عصبی مرکزی در مقابل جراحات مغزی و بیماری‌های عصبی وارد عمل می‌شوند. اکثر سلول‌های میکروگلیال در حالت عادی در حال استراحت و به صورت منشعب هستند که به آن‌ها امکان دسترسی و پاسخ سریع به وضعیت جراحت سیستم عصبی مرکزی را می‌دهد و در طی التهاب، سلول‌های میکروگلیا فعال و تکثیر می‌شوند. هم عوامل آسیب زننده به نورون‌ها نظیر IL-1α و IL-1β و هم عوامل محافظت‌کننده نظیر TNFα و IL-6 از سلول‌های میکروگلیال آزاد می‌شوند (۱۴).

مطالعات اخیر نشان داده است که در بافت‌های مصروع، سلول‌های ایمنی مجدد فعال شده بیش از گروه‌های کنترل هستند و این سلول‌ها خصوصیات ساختاری میکروگلیالی فعال شده را دارند. سلول‌های میکروگلیال یکی از منابع اصلی شرکت کننده در التهاب در موضوعات مرتبط با صرع هستند (۱۲).

آستروسیت‌ها نقش مهمی در تنظیم شکل سلول‌های میکروگلیال، تمایز و فعالیت آن‌ها به عهده دارند و ممکن است عامل پیشگیری کننده از فعالیت بیش از حد سلول‌های میکروگلیال باشند (۱۵).

سلول درمانی در صرع

بیماری‌های عصبی مختلفی از طریق آسیب عصبی و اختلال عملکرد سلولی شناخته شده‌اند. از طریق سلول درمانی با جایگزین کردن سلول‌های سالم به جای سلول‌های آسیب دیده می‌توان علایم بیماری را بهبود داد و یا حتی از پیشرفت بیماری جلوگیری کرد (۱۶).

هدف از سلول درمانی در بیماری صرع عبارت است از:

۱. جلوگیری از پیشرفت صرع حاد.
۲. جایگزینی سلولی برای درمان صرع مکرر.

با وجود اینکه سلول درمانی با استفاده از سلول‌های بنیادی برای انواعی از بیماری‌ها مناسب است، بعضی محدودیت‌های اخلاقی و تکنیکی در استفاده از این روش وجود دارد (۱۸، ۱۷). به علاوه شواهدی مبنی بر نقص سازگاری ایمنی بین میزبان و دهندهٔ سلول بنیادی

[1] Epilepsy
[2] Temporal Lobe Epilepsy
[3] Hippocamp
[4] Neuroinflammation
[5] Activated Glial Cells
[6] Intermediated filaments
[7] Glial scar
[8] Glial Fibrillary Acidic Protein
[9] Vimentin

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.2.2.56]

هست. هر چند سلول‌های جدا شده از بدن فرد خاص می‌توانند مجدداً به سلول‌های بنیادی اولیه[10] تبدیل شوند و به عنوان سلول‌های جایگزین انواع آسیب دیده و غیر معمول در همان شخص استفاده شوند (۱۹).

با خلق سلول‌های بنیادی پرتوان القایی[11] (iPS Cells) از طریق برنامه‌ریزی سلول‌های پیکری که دارای توانایی فوق‌العاده برای خود بازیابی[12] و تمایز به انواع سلول‌ها هستند، فرصتی برای توسعهٔ تکنولوژی سلول درمانی در درمان بیماری‌های مختلف به وجود آمد (۲۱، ۲۰). خصوصیت سلول‌های بالقوه با گستره‌ای از توانایی‌های عملکردی را پرتوانی سلولی[13] می‌گویند (۲۳، ۲۲). یک سلول پرتوان می‌تواند نظیر سلول بنیادی، ژن‌ها و پروتئین‌های سطحی را بیان کند و سلول‌هایی مشابه لایه‌های جنینی (اکتودرم، مزودرم و آندودرم) تولید کند (۲۳).

با انتقال عوامل رونویسی، مشتقات مختلفی از لایه‌های اکتودرمی متمایز می‌شوند. روش‌های مختلفی برای القای پرتوانی به سلول‌های پیکری ایجاد شده‌اند که شامل انتقال سلول پیکری[14]، برنامه‌ریزی مجدد از عصارهٔ سلولی[15] و برنامه‌ریزی مستقیم سلول می باشند (۲۵، ۲۴).

سلول‌های بنیادی پرتوان را می‌توان با برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های پیکری یا از طریق انتقال هستهٔ سلول عادی به داخل اووسیت، ترکیب کردن عواملی که در سلول پرتوان بیان می‌شوند از طریق ادغام، تجمع عوامل مختلف در کروماتین سلول پیکری و برنامه‌ریزی مستقیم سلولی تولید کرد (۲۷، ۲۶).

با اضافه‌کردن عوامل رونویسی انتخاب شده Oct4، c-Myc، Klf4، Fbx15 و Nanog سلول عادی بدن مجدداً برنامه‌ریزی می‌شود. این عوامل یا به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر توسط حامل ویروسی یا سیستم‌های دیگر به طور مستقیم به سلول وارد می‌شوند و سبب تبدیل سلول عادی به یک سلول پرتوان می‌شوند. تبدیل یک سلول عادی بالغ به یک سلول در مرحلهٔ جنینی نتیجهٔ یک برنامه‌ریزی موفق سلولی می‌باشد (۲۸).

البته باید توجه داشت که ممکن است عوامل جهش‌زای مختلفی بر روی ایجاد صرع مؤثر باشند از جمله می‌توان به جهش‌های نقطه‌ای و جهش‌های مؤثر بر کانال‌های یونی سدیم، پتاسیم و امواج کلسیم اشاره کرد. در این موارد برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های فیبروبلاست ممکن است به تنهایی موفقیت‌آمیز نباشد. در این موارد پیشنهاد می‌شود که پس از استخراج سلول‌های iPS، از طریق روش‌های مهندسی ژنتیک، ژن‌های آسیب‌دیده اصلاح شوند و سپس این سلول‌های سالم به منظور تولید آستروسیت در محیط کشت مناسب کشت داده شوند (۲۹).

آستروسیت: یک انتخاب ویژه برای سلول درمانی

آستروسیت‌ها سلول‌های ستاره‌ای شکلی هستند که در تغذیه و حفاظت نورون‌ها شرکت می‌کنند. آن‌ها بیشترین سلول‌های مغز انسان را تشکیل می‌دهند و عملکرد حیاتی در ریزه‌خواری و حمایت بیوشیمیایی از سلول‌های آندوتلیال تشکیل دهندهٔ سد خونی- مغزی[16] دارند. به عبارت دیگر به عنوان تنظیم‌کنندهٔ فیزیولوژی و ممانعت کنندهٔ فعالیت بیش از حد میکروگلیال عمل می‌کنند (۷).

به طور خلاصه عملکردهای ویژه آستروسیت‌ها در مغز انسان عبارتند از: شرکت در تغییرات پتاسیم[17]، انتشار امواج Ca^{2+} به فواصل طولانی در پاسخ به تحریک، کنترل حجم بینابینی، حفظ غلظت پایین گلوتامات، ایجاد یک فضای صفحه مانند که رگ‌های خونی و نورون‌ها را در کنار هم نگه می‌دارد (۳۰).

شواهدی مبنی بر افزایش علایم شیمیایی و از بین رفتن ارتباط بین توازن پتاسیم و آب توسط آستروسیت‌های مجدد فعال شده در بافت مصروع وجود دارد که همگی موجب افزایش انطباق ناحیه‌ای در محیط هیپوکمپ[18] می‌شوند (۵). به علاوه آستروسیت‌ها با دادن علایم وابسته به Ca^{2+} در تمامی مدل‌های تشنجی و عوامل ضد صرع نظیر والپروات[19]، گاباپنتین[20] و فنیتوئین[21] سبب کاهش علایم مربوط به Ca^{2+} می‌شوند.

این یافته‌ها آستروسیت‌ها را به عنوان درمانی احتمالی برای ناهنجاری‌های مربوط به صرع در نظر می‌گیرند (۳۰). GDNF[22]، عضوی از خانوادهٔ TGF[23] است که به بقای سلول عصبی کمک می‌کند، سبب القای رشد آکسونی و افزایش اثر سیناپسی می‌شود که یکی از عوامل نوروتروپیک[24] در آستروسلول‌های گلیالی استفاده شده در درمان TLE[25] است و نقش ضد تشنج و حمایت‌کننده دارد. GDNF در میان مولکول‌های ترشح شده از آستروسیت‌ها، در تنظیم فعالیت سلول‌های میکروگلیال دخالت می‌کند.

در مدل‌های آزمایشگاهی TLE، ممانعت از صرع با انتقال GDNF نوترکیب به داخل هیپوکمپ موش‌های بالغی که دچار صرع شده‌اند، گزارش شده است (۵). براساس مشاهدات صورت گرفته آستروسیت‌ها به عنوان منبعی

[10] Embryonic Stem Cells
[11] Induced Pluripotent Stem Cells
[12] Self- Renew
[13] Pluripotency
[14] Somatic cell transfer
[15] Reprogramming through cell extract
[16] Blood Brain Barrier
[17] Potassium buffering
[18] Hippocampal microcircuit
[19] Valproate
[20] Gabapentin
[21] Phenytoin
[22] Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)
[23] Transforming Growth Factor
[24] Neurotropic
[25] Temporal Lobe Epilepsy

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.2.2.56]

از میانجی‌های[26] محافظتی در مغز علیه بیماری‌های تحلیل برندهٔ عصبی به شمار می‌آیند.

فرضیه

در حدود ۳۰٪ از موارد صرع بررسی شده مربوط به ناهنجاری‌های ژنتیکی اولیه‌ای است که شامل جهش‌های ایجاد شده در کانال‌های یونی یا ناهنجاری‌های مربوط به مهاجرت نورون‌ها است (۳۱). به مدت دو دهه، پیوند سلول‌های جنینی در جلوگیری از تشنج مورد آزمایش قرار گرفت که نتایج مختلفی در پی داشت (۳۲). استفاده از سلول‌های بنیادی به خصوص در مورد بیماری‌هایی با الگوهای ژنتیکی پیچیدهٔ ارثی دشوارتر بود (۲۴). برتری سلول‌های iPS به سلول‌های مرحلهٔ جنینی انسان[27] (hESCs) به دلیل استفاده از سلول‌های پیکری[28] خود شخص در جهت مدل‌سازی بیماری‌های عصبی می‌باشد.

مطالعات انجام شده نشان داد که سلول‌های بالغ بدن توانایی تبدیل مجدد به سلول‌های بنیادی پرتوان را دارند. چندین گروه از ژن‌های رونویسی‌کننده شامل Oct4، Sox2، Nanog، Rex1، Klf4، c-Myc و LIN28 می‌توانند به منظور القای پرتوانی مورد استفاده قرار گیرند (۲۳). سپس این سلول‌های پرتوان به انواع رده‌های[29] سلولی تمایز پیدا می‌کنند (۲۱). سلول‌های پرتوان القایی دسترسی به منبع با ارزشی از سلول‌های سالم برای درمان بیماری‌های عصبی را آسان می‌کنند (۳۳). بر این اساس سلول‌های فیبروبلاست گرفته شده از بیمار مصروع می‌توانند مجدداً برنامه‌ریزی شده و به مرحلهٔ جنینی بازگردانده شوند و سلول‌های پرتوان حاصله که نسبت به خود بیمار ایزوژنیک[30] هستند توانایی تمایز به نورون‌ها و سلول‌های گلیال را در مراحل مختلف دارند. پیوند سلولی در مدل‌های مختلف صرع با توجه خاص به نورون‌ها و نه آستروسیت‌ها صورت گرفته است (۳۴، ۲۴).

سلول‌های بنیادی عصبی انسانی به عنوان سلول‌های بالقوهٔ پرتوان، در مدل حیوانی TLE ایجاد شده از طریق پیلوکارپین، به سلول‌های نشاندار شده‌ای با خصوصیات آستروسیتیک[31]، گابائرژیک[32] و گلوتاماترژیک[33] تمایز پیدا می‌کنند که با کاهش شدت و تکرار تشنج، که از طریق آزمون‌های رفتاری پیگیری می‌شود، همراه است (۳۵، ۳۲).

از طرفی مشخص شد که آستروسیت‌ها از طریق ترشح عوامل نوروتروفیک نظیر GDNF می‌توانند عملکردهای مختلف سلول‌های میکروگلیال نظیر تکثیر سلول، مهاجرت و چسبندگی سلولی را تنظیم کنند. آن‌ها قادر به کاهش تأثیرات مخرب میکروگلیاها هستند. تولید لیپو پلی ساکارید[34] (LPS) توسط میکروگلیاها یا تولید IL-12[35] القاء شده با IFN-γ[36] توسط کشت همزمان با آستروسیت ممانعت می‌شود. آستروسیت‌ها همچنین سبب کاهش بیان نیتریک اکسید سنتتاز القاء شده با LPS و تولید نیتریک اکسید توسط میکروگلیاها می‌شوند (۳۷، ۳۶). بر این اساس القاء آستروسیت‌های طبیعی با عملکرد عادی توسط سلول‌های بنیادی پرتوان ایجاد شده از سلول‌های پیکری فرد مصروع با آستروسیت‌های ضعیف از نظر عملکرد، می‌توانند فعالیت سلول‌های میکروگلیال را تنظیم کند و التهاب عصبی را کاهش دهد و با تولید انواع مختلفی از عوامل حمایت‌کننده در زمان نیاز از نورون‌ها در مقابل آپوپتوز[37] محافظت می‌کنند.

آزمودن فرضیهٔ مورد نظر

مرحلهٔ اول تولید سلول‌های پرتوان از سلول‌های پیکری بیمار نظیر فیبروبلاست‌ها است که با استفاده از مجموعه عوامل رونویسی‌کننده از طریق حاملین رترو ویروسی یا لنتی ویروسی و یا با روش‌های اپیزومال[38] این عمل صورت می‌گیرد (۲۰). این سلول‌های پرتوان باید خصوصیات ویژهٔ hESCs شخص را داشته باشند که شامل شکل ظاهری و بیان نشانگرهای پرتوانی است (۳۸).

سپس سلول‌های پرتوان به صورت EBs[39] تجمع پیدا می‌کنند و در پلیت برای تمایز به سلول‌های نوروایپیتلیال[40] در حضور فاکتورهای رشد نظیر Ciliary neurotropic factor، Leukemia inhibitory factor و Basic fibroblast growth factor قرار داده می‌شوند (۲۴).

در نهایت لایه‌های سلولی نوروایپیتلیال ظاهر می‌شوند و روزت‌های عصبی[41] را تشکیل می‌دهند. در این زمان سلول‌های اجدادی باید نشانگرهایی را در سطح خود بروز دهند. از این نشانگرها می‌توان به نستین (به عنوان نشانگر سلول‌های اجدادی عصبی و سلول‌های گلیال مجدد فعال شده) و A2B5 (به عنوان نشانگر سلول‌های اجدادی آستروسیت) اشاره کرد (۲۴).

۵ هفته بعد از تمایز، سلول‌ها باید پروتئین‌های GFAP را به عنوان نشانگر اختصاصی آستروسیتی در سطح خود بروز دهند. به علاوه باید توجه داشت که این سلول‌های اجدادی وقتی به صورت خوشه‌ای کنار هم قرار می‌گیرند تمایل تبدیل به نورون‌ها را دارند. این در صورتی است که

[26] Mediators
[27] Human Embryonic Stem Cells
[28] Somatic cell
[29] Line
[30] Isogenic
[31] Astrocytic
[32] GABA ergic
[33] Glutamatergic
[34] Lipopolysaccharide
[35] Interleukin 12
[36] Interferon gamma
[37] Apoptosis
[38] Nonintegrating episomal
[39] Embryoid Bodies
[40] Neuro-Epithelial (NE)
[41] Typical neural rossete

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.2.2.56]

وقتـی بـه صـورت پراکنـده در محیـط کشـت قـرار بگیرنـد بـه آستروسـیت تبدیـل مـی شـوند (۳۳، ۳۲).

در ادامـه بایـد آستروسـیت‌های ایجـاد شـده را در خصـوص توانایـی کاهـش التهـاب از طریـق کاهـش فعالیـت سـلول‌های میکروگلیـال و متعاقبـاً کاهـش ترشـح سـایتوکاین‌ها (IL-1α و IL-1β) سـنجید.

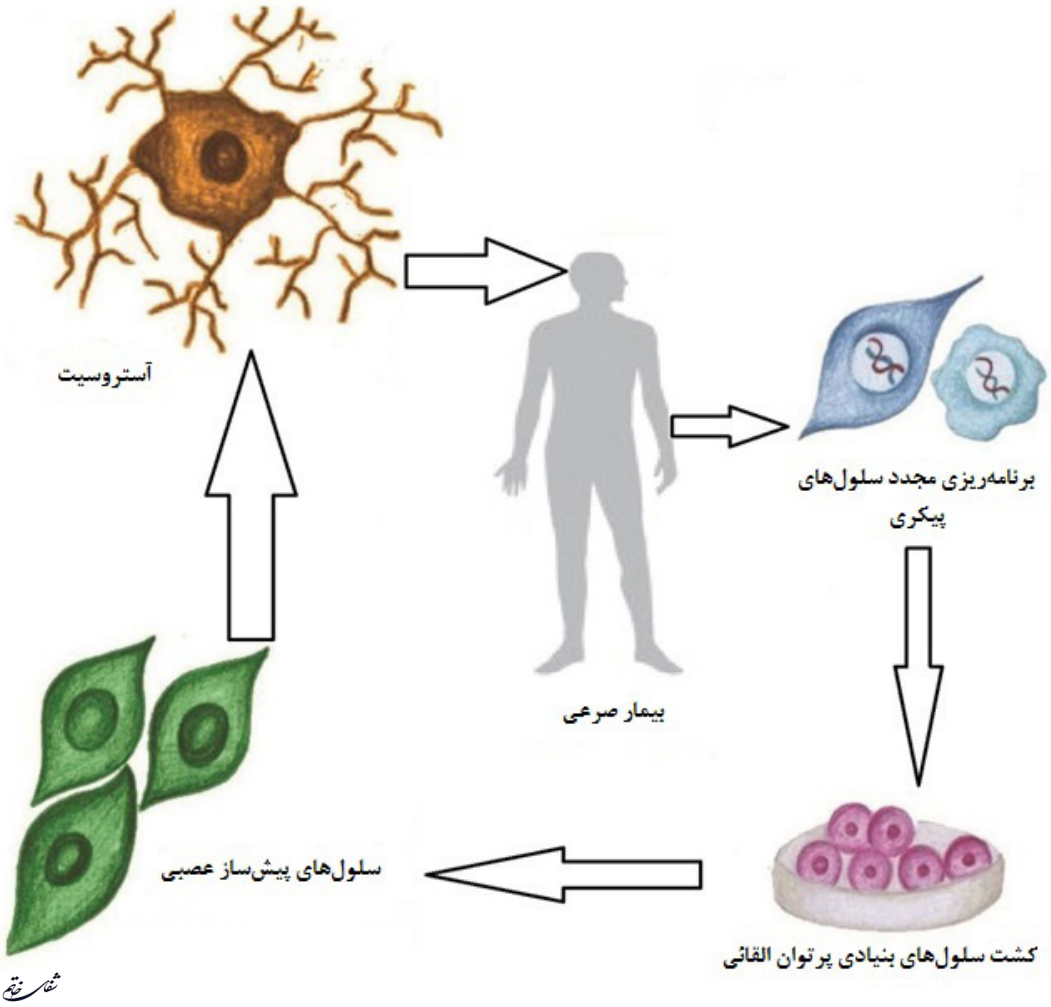
بـه منظـور بررسـی میـزان تمایـز سـلول‌ها بـه آستروسـیت از روش‌هایـی نظیر ایمونوسیتوشـیمی و وسـترن بلاتینگ اسـتفاده می‌شـود. بـرای ارزیابـی میـزان تکثیـر اجـداد آستروسـیت‌های بنیـادی پرتـوان از روش Brdu اسـتفاده می‌شـود (۳۹).

متعاقبـاً ارزیابـی عملکـرد صحیـح آستروسـیت‌ها از طریـق آزمون‌هـای Calcium wave،Glutamate clearance assay imaging و مطالعـۀ سـیناپتوژنز[42] از طریـق کشـت همزمـان آستروسـیت بـا نـورون انجـام می‌شـود.

نهایتـاً ارزیابـی تأثیـر پیونـد سـلولی بـر روی کاهـش تظاهـرات تشـنج توسـط آزمون‌هـای رفتـاری صـورت می‌گیـرد و اینکـه سـلول‌های پیونـد شـده در مغـز بیمـار چـه رفتـاری از خـود نشـان می‌دهنـد و نـوع تأثیـر آن‌هـا بـر روی محیـط مغـز و دیگـر سـلول‌های منطقـه، قابـل توجـه و پیگیـری اسـت. تأثیـر سـلول‌های پیونـد شـده بـر روی سـلول‌های عصبـی اطـراف از طریـق ثبـت طولانـی مـدت EEG[43] در حیوانـات مـدل پیونـد قابـل ردیابـی اسـت (تصویـر ۱). چنیـن اطلاعاتـی بـرای اصـلاح دسـتورالعمل مناسـب بـرای پیونـد سـلول، ممانعـت از تشـنج و همچنیـن مواجـه بـا مسـایل مربـوط بـه پیونـد در بیمـاران مصـروع بسـیار اهمیـت دارد (۴۰).

شرح فرضیۀ مورد نظر

تحقیقـات در زمینـۀ پیونـد بـه بررسـی تولیـد انـواع نورون‌هـا، گلیـال، سـپس هماهنـگ کـردن آن‌هـا بـا مدل‌هـای صـرع و اینکـه محیـط بـدن میزبـان چـه تأثیـری بـر روی مهاجـرت، تمایـز و تجمـع سـلول‌های پیونـد شـده دارد، نیـاز دارد (۱۷). نقـش کلیـدی آستروسـیت‌ها در تنظیـم فعالیـت سـلول‌های میکروگلیـا و متعاقبـاً التهـاب در سیسـتم عصبـی مرکـزی در مطالعـات اخیـر بررسـی شـده اسـت. بـر ایـن اسـاس قابـل مشـاهده اسـت کـه سـلول‌های میکروگلیـای فعـال شـده نقش مؤثـری در قابلیـت تحریـک جمعیـت نورونـی در صـرع دارنـد (۷). افزایـش تعـداد آستروسـیت‌ها بـا عملکـرد نامناسـب، در صـرع و بیماری‌هـای مرتبـط نظیـر TLE و هیپوکمپـال اسـکلروزیس[44] گـزارش شـده اسـت (۳۶).



تصویر ۱- برنامه‌ریزی مجدد سلول فیبروبلاست شخص بیمار برای تبدیل به سلوهای پرتوان و سپس تمایز آن‌ها به آستروسیت‌های عملکردی.

[42] Synaptogenesis
[43] Electroencephalography
[44] Hippocampal Sclerosis

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.2.2.56]

میکروگلیاها یکی از سلول‌های گلیال اصلی در مغز هستند و در بیماری‌زایی با تنظیم فعالیت نورون‌ها نقش دارند. فعال شدن سلول‌های میکروگلیال، از ویژگی‌های آسیب‌شناسی عصبی[45] بیشتر بیماری‌های مغزی نظیر صرع می‌باشد. این فعال شدن ممکن است با تولید طیف وسیعی از سایتوکاین‌های التهابی نظیر IL-1 و TNF-α منجر به التهاب عصبی شود (۱۲). در مطالعات اخیر، آستروسیت‌های نابالغ تولید شده از طریق In vitro عملکردهای برجسته‌ای از آستروسیت‌های اولیه را شامل؛ پاسخ به گلوتامات، پخش امواج کلسیم، پیشبرد سیناپتوژنز و شرکت در ایجاد سد خونی- مغزی نشان می‌دهند (۳۹, ۴۱).

باید توجه داشت که شرایط به صورتی فراهم شود که سلول‌های نورواپیتلیال در محیط کشت مورد نظر به سمت تولید نورون راهبری نشوند و زیر گروه‌های آستروسیت ایجاد شده از سلول‌های نورواپیتلیال اولیه از نظر شکل ظاهری و عملکردی مؤثر باشند. به علاوه مشخصات ویژهٔ آستروسیت‌ها بعد از زمان طولانی در شرایط In vitro و پیوند به مغز موش مدل ادامه یابد. بنابراین آستروسیت‌های نابالغ انسانی که در مقیاس بالا از منبع سلول‌های بنیادی تولید می‌شوند می‌توانند منبع مناسبی برای تحقیقات پایه‌ای، دارویی و زیستی باشند.

به علاوه بررسی تأثیرات سلول‌های پیوند شده بر روی تحریک مغز و اینکه چه تعداد از این سلول‌ها در مغز میزبان زنده می‌مانند و به آستروسیت‌های عملکردی تغییر شکل پیدا می‌کنند و تا چه مسافتی از منطقهٔ تزریق شده پیشروی می‌کنند در کنار بررسی تأثیرات پیوند بر تشنج خودبخودی از طریق آزمون‌های رفتاری و الکتروگرافی اهمیت به‌سزایی دارد. به منظور چنین بررسی‌هایی می‌توان از نشانگرهای فلورسنت در آزمون‌های ایمونوهیستوشیمی و ثبت الکتروفیزیولوژی استفاده کرد (۴۰).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه در یک سیکل نادرست، مرگ نورون‌ها منجر به فعالیت سلول‌های میکروگلیال شده که نتیجهٔ آن از بین رفتن نورون‌ها و التهاب عصبی است. التهاب عصبی پاسخ سلول‌های میکروگلیال به آسیب سیستم عصبی مرکزی است. تنظیم نامناسب نقش محافظتی سلول‌های گلیال می‌تواند به طور بالقوه با افزایش تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی نظیر IL-1β و TNF-α در پیشرفت سیر بیماری مؤثر باشد (۳۵، ۴۲).

یکی از شواهدی که از دخالت آستروسیت‌های مجدد فعال شده در ایجاد صرع دلالت می‌کند، شرکت این سلول‌ها در شرایط تحریک‌پذیری بیش از حد[46] مغز است (۵). مسیرهای هدایت کنندهٔ التهاب عصبی[47] با مناطق سلول‌های گلیال مجدد فعال شده درگیر است. بنابراین تنظیم معکوس فعالیت سلول‌های میکروگلیال از طریق آستروسیت‌ها توسط فاکتور محافظتی GDNF ممکن است اثر قابل توجهی بر روی بسیاری از نورون‌ها داشته باشد.

پیوند سلول‌های بنیادی در بیماری TLE هم گواه این فرضیه است که کاهش میزان تحریک می‌تواند سبب کاهش شدت و تکرار تشنج شود. در این فرضیه پیشنهاد می‌شود که ایجاد یک سیستم برنامه‌ریزی مجدد برای تولید آستروسیت‌های عملکردی از سلول‌های پرتوان القایی خود بیمار در حضور فاکتورهای رشد نورونی ممکن است قویاً تمایز گلیالی را پیش ببرد که این امر می‌تواند در جایگزینی‌های سلولی برای درمان صرع کاربرد مؤثری داشته باشد. تولید سلول‌های iPS از طریق تبدیل یک سلول عادی بالغ از یک فرد بیمار به یک سلول در مرحلهٔ جنینی توسط عوامل رونویسی (Oct4، c-Myc، Klf4، Fbx15 و Nanog) با یک برنامه‌ریزی موفق سلولی صورت می‌گیرد که این سلول قابلیت تبدیل به انواع مختلف سلول‌های خود فرد از جمله سلول‌های عصبی و آستروسیت‌ها را دارد.

در این مقاله پیشنهاد می‌شود که آستروسیت‌های مشتق شده از سلول‌های iPS با عملکرد کارا، قابلیت کاهش التهاب عصبی ناشی از فعالیت سلول‌های میکروگلیال را دارند که خود منجر به کاهش شدت و تکرار تشنج در فرد مصروع خواهد شد.

[45] Neuropathology
[46] Hyperexcitable Condition
[47] Neuroinflammatory Signaling Pathway

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.2.2.56]

منابع

1. Shetty AK. Progress in cell grafting therapy for temporal lobe epilepsy. Neurotherapeutics. 2011; 8(4): 721-35.

2. Gorji A, Straub H, Speckmann EJ. Epilepsy surgery: perioperative investigations of intractable epilepsy. Anat Embryol (Berl). 2005; 210(5-6): 525-37.

3. Seifert G, Carmignoto G, Steinhäuser C. Astrocyte dysfunction in epilepsy. Brain Res Rev. 2010; 63(1-2): 212-21.

4. McCarty MF. Down-regulation of microglial activation may represent a practical strategy for combating neurodegenerative disorders. Med Hypotheses. 2006; 67(2): 251-69.

5. Wetherington J, Serrano G, Dingledine R. Astrocytes in the epileptic brain. Neuron. 2008; 58(2): 168-78.

6. Mirrione MM, Tsirka SE. A functional role for microglia in epilepsy. Zaid Afawi. Clinical and Genetic Aspects of Epilepsy. 1th ed. Croatia. 2011; p. 3-22.

7. Binder DK, Steinhäuser C. Functional changes in astroglial cells in epilepsy. Glia. 2006; 54(5): 358-68.

8. Contreras-Sesvold C. Reactive Astrocytes: Phenotypic and Functional Characteristics and Astrocytes as Neural Stem Cells. Master's thesis. Maryland. Uniformed Service University of the Health Sciences. Faculty of Neuroscience. 2006.

9. Ridet J, Privat A, Malhotra S, Gage F. Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function. Trends Neurosci. 1997; 20(12): 570-7.

10. Galou M, Colucci-Guyon E, Ensergueix D, Ridet JL, Gimenez y, Ribotta M, et al. Disrupted glial fibrillary acidic protein network in astrocytes from vimentin knockout mice. J Cell Biol. 1996; 133(4): 853-63.

11. Rinaldi R, Eliasson E, Swedmark S, Morgenstern R. Reactive intermediates and the dynamics of glutathione transferases. Drug Metab Dispos. 2002; 30(10): 1053-8.

12. Pascual O, Achour SB, Rostaing P, Triller A, Bessis A. Microglia activation triggers astrocyte-mediated modulation of excitatory neurotransmission. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012; 109(4): E197-E205.

13. Vezzani A. Inflammation and epilepsy. Epilepsy Curr. 2005; 5(1): 1-6.

14. Block ML, Zecca L, Hong J-S. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. Nat Rev Neurosci. 2007; 8(1): 57-69.

15. Rocha SM, Cristovão AC, Campos FL, Fonseca CP, Baltazar G. Astrocyte-derived GDNF is a potent inhibitor of microglial activation. Neurobiol Dis. 2012; 47(3): 407-15.

16. Björklund A, Lindvall O. Cell replacement therapies for central nervous system disorders. Nat Neurosci. 2000; 3(6): 537-44.

17. Roper SN, Steindler DA. Stem cells as a potential therapy for epilepsy. Exp Neurol. 2013; 244: 59-66.

18. Muotri AR. Modeling epilepsy with pluripotent human cells. Epilepsy Behav. 2009; 14(1): 81-5.

19. Flake AW, Zanjani ED. In utero hematopoietic stem cell transplantation: ontogenic opportunities and biologic barriers. Blood. 1999; 94(7): 2179-91.

20. Strong M, Farrugia A, Rebulla P. Stem cell and cellular therapy developments. Biologicals. 2009; 37(2): 103-7.

21. Patel M, Yang S. Advances in reprogramming somatic cells to induced pluripotent stem cells. Stem Cell Rev. 2010; 6(3): 367-80.

22. Modarres Mousavi M, Ghaemi A, Ghadiri T, Mohammad Sadeghi S. Application of patient-specific induced Pluripotent Stem cells produced by somatic cells reprogramming for treatment of neurodegenerative diseases. Shefaye Khatam. 2013; 1(1): 19-23.

23. Robinton DA, Daley GQ. The promise of induced pluripotent stem cells in research and therapy. Nature. 2012; 481(7381): 295-305.

24. Park IH, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. Cell. 2008; 134(5): 877-86.

25. Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. Science. 2008; 322(5903): 949-53.

26. Shi Y, Desponts C, Do JT, Hahm HS, Schöler HR, Ding S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic fibroblasts by Oct4 and Klf4 with small-molecule compounds. Cell Stem Cell. 2008; 3(5): 568-74.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.2.2.56]

27. Fulka J, First NL, Loi P, Moor RM. Cloning by somatic cell nuclear transfer. Bioessays. 1998; 20(10): 847-51.

28. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell. 2007; 131(5): 861-72.

29. Naegele JR, Maisano X. Gene and stem cell therapies for treating epilepsy. Rho J, Sankar R, Stafstrom CE. Epilepsy: Mechanisms, Models, and Translational Perspectives (Neurological Disease and Therapy). 1th ed. 2010; p. 583-601.

30. Tian GF, Azmi H, Takano T, Xu Q, Peng W, Lin J, et al. An astrocytic basis of epilepsy. Nat Med. 2005; 11(9): 973-81.

31. Berkovic SF, Mulley JC, Scheffer IE, Petrou S. Human epilepsies: interaction of genetic and acquired factors. Trends Neurosci. 2006; 29(7): 391-7.

32. Pfurtscheller G. Event-related synchronization (ERS): an electrophysiological correlate of cortical areas at rest. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1992; 83(1): 62-9.

33. Sidhu KS. Induced pluripotent stem cells a slippery slope for neurodegenerative disease modeling. Open Stem Cell J. 2011; 3: 1-6.

34. Marchetto MC, Winner B, Gage FH. Pluripotent stem cells in neurodegenerative and neurodevelopmental diseases. Hum Mol Genet. 2010; 19(R1): R71-6.

35. Naegele JR, Maisano X, Yang J, Royston S, Ribeiro E. Recent advancements in stem cell and gene therapies for neurological disorders and intractable epilepsy. Neuropharmacol. 2010; 58(6): 855-64.

36. Buffo A, Rolando C, Ceruti S. Astrocytes in the damaged brain: molecular and cellular insights into their reactive response and healing potential. Biochem Pharmacol. 2010; 79(2): 77-89.

37. de Lanerolle NC, Lee TS, Spencer DD. Astrocytes and epilepsy. Neurotherapeutics. 2010; 7(4): 424-38.

38. Emdad L, D'Souza SL, Kothari HP, Qadeer ZA, Germano IM. Efficient differentiation of human embryonic and induced pluripotent stem cells into functionalastrocytes.StemCellsDev.2011;21(3):404-10.

39. Krencik R, Weick JP, Liu Y, Zhang ZJ, Zhang SC. Specification of transplantable astroglial subtypes from human pluripotent stem cells. Nat Biotechnol. 2011; 29(6): 528-34.

40. Sebe JY, Baraban SC. The promise of an interneuron-based cell therapy for epilepsy. Dev Neurobiol. 2011; 71(1): 107-17.

41. Krencik R, Zhang SC. Directed differentiation of functional astroglial subtypes from human pluripotent stem cells. Nat Protoc. 2011; 6(11): 1710-7.

42. Somera-Molina KC, Nair S, Van Eldik LJ, Watterson DM, Wainwright MS. Enhanced microglial activation and proinflammatory cytokine upregulation are linked to increased susceptibility to seizures and neurologic injury in a 'two-hit'seizure model. Brain Res. 2009; 1282: 162-72.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.2.2.56]