پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هجدهم شماره ۶۴ خرداد و تیر سال ۱۳۸۷ (۷۰-۶۰)

بررسی ارتباط اتصالات میواندوتلیال، میان سلول های اندوتلیال و نظم مارپیچی سلولهای عضلانی صاف جدار شرایین توزیع کننده (عضلانی)

مجید ملک زاده شفارودی(Ph.D.) *+ جان بی مک گراس(Ph.D.) ** جوماریا گونزالس(Ph.D.) ***
سیلویاماریا آریباس(Ph.D.) **** کرگ دلی(Ph.D.) *****

چکیده

سابقه و هدف: نظم مهندسی‌جدار شرایین براساس ترتیب قرارگرفتن سلول‌های آندوتلیال، عضلانی صاف و آدوانتیس در طرفین تیغه ارتجاعی داخلی می‌باشد. پژوهش‌های اخیر بر نقش مهم سلول‌های آدوانتیس و آندوتلیال در رشد و ترمیم عروقی تاکید می‌نمایند. در دیدگاه جدید دینامیکی، عروق خونی همواره حالت پایداری را از نظر ساختار مهندسی و نظم به‌کارگیری سلول‌ها در جدار خود فراهم می‌نمایند که به مؤلفه‌های نظیر فشار خون، ضخامت لایه عضلانی، نظم موجود در انقباض عضلات صاف جدار عروقی و تعداد و وسعت سطح تماس سلول‌های آندوتلیال با خون در جریان بستگی دارد. تحقیقات اخیر ارائه شده در این مقاله سعی در پاسخگویی به سوالات بنیادی درباره تنوع و نظم انواع سلول‌های موجود در جدار شرایین (cellular heterogeneity) هنگام بازسازی (remodelling) در شرایط نرمال و پاتولوژیک را دارد.

مواد و روش‌ها : تعداد دوازده موش وحشی (Wild Type-WT) تحت آزمایشات قرارگرفتند. پس از بیهوش کردن حیوان با Co_2 قطعاتی زنده از جدار شرایین مزانتریک جدا و از بافت چربی پاکسازی گردیده و در دستگاه perfusion myograph تحت فشارطبیعی 70mmHg بامخلوطی از اکسیژن و دی اکسید کربن (95/5%) در محلول کربس، توسط LSCM با استفاده از رنگ‌آمیزی فلوئورسنت هسته‌ای (Syto13) / تحت موج لیزر آرگون یونیزه (488nm و DIO لیپوفیلیک/ تحت موج لیزر آرگون یونیزه 484nm/501nm برای کانال سبز و موج لیزر آرگون - هلیوم 543nm/580nm برای کانال قرمز مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها : تصاویرکامپیوتری سه بعدی تهیه شده از لایه‌های مختلف جدار شرایین باکمک لیزر، مؤید نظم مارپیچی (Helical) عضلات صاف در ارتباط با سلول‌های آندوتلیال بودند. تصاویر تهیه شده از سلول‌های آندوتلیال و عضلات صاف در طرفین تیغه ارتجایی داخلی (IEM) موید وجود اتصالات سلولی Myoenothelial Connections مابین این سلول‌ها بود که از نظم مارپیچی سلول‌های عضلانی صاف در رابطه با آندوتلیوم متابعت می‌کرد.

استنتاج : اهمیت حفظ اتصالات محکم بین سلولی نظیر اتصالات میوآندوتلیال هنگام انقباض و یا انبساط عروقی و شکل‌گیری دوباره آنها طی فرآیند بازسازی مخصوص درفشارخون بالا که ممکن است نسبت ایجاد گسستگی‌هایی در این نوع از اتصالات گردد؛ درک جدیدی از مدل فیزیولوژیکی و دینامیک طبیعی عروق خونی در یک مدل سه بعدی (3D) ارائه می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: اتصالات میوآندوتلیال، بازسازی عروقی، شریان مزانتریک، تیغه ارتجاعی داخلی، رنگ‌آمیزی فلوئورسنت

+ مولف مسئول :دکتر مجید ملک زاده شفارودی- ساری، کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، دانشکده پزشکی E-mail: Malek1344@gmail.com
* دکترای تخصصی بافت شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی مازندران
** پروفسور فیزیولوژی اتونومیک ، دانشگاه گلاسگو- انگلستان ****پروفسور فیزیولوژی، دانشگاه استکهلم سوئد
*** دکترای تخصصی، پژوهشگر دانشگاه گلاسگو- انگلستان *****دانشیار فیزیولوژی اتونومیک، دانشگاه گلاسگو- انگلستان

تاریخ دریافت : ۸۶/۵/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۷/۱/۱۹ تاریخ تصویب: ۸۷/۳/۲۲

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

مقدمه

عروق خونی شامل شرایین و وریدها، از دیدگاه بافت‌شناسی ساختاری سه لایه دارند که از داخل به خارج لایه انتیما (Intima)، شامل ردیفی از سلول‌های آندوتلیوم که داخلی‌ترین سطح عروق را به صورت سنگفرشی پوشش داده وتوسط بافت‌همبند سست و نازکی پشتیبانی و از تیغه ارتجاعی داخلی که مرزمیان دو لایه انتیما و مدیا را تشکیل می‌دهد، فاصله می‌گیرند. انتیما به عنوان یک لایه پهن شده بر روی تیغه ارتجاعی داخلی (Internal Elastic Lamina-IEL) قرار دارد. در منظر سه بعدی این تیغه موج دار است و در شرایطی که تحت فشار فیزیولوژیکی خاص قرار بگیرد تیغه‌های طولی چین خورده با خاصیت ارتجاعی سبب افزایش طول شریان تا رسیدن به نهایت دامنه فیزیولوژیکی آن می‌شوند. لایه مدیا، شامل یک تا چندین طبقه سلول‌های عضلانی‌صاف همراه با طبقاتی از رشته‌های الاستیک که هرچه از قلب فاصله می‌گیرند، عضلات صاف بیشتر و از طبقات الاستیکی کاسته می‌گردد و آدوانتیس (Adventitia) خارجی ترین لایه رگ خونی محسوب می‌گردد که وظیفه پشتیبانی تغذیه‌ای و عصبی عروق خونی را بر عهده دارد. این لایه نقش مهمی در بیماری‌زایی سیستم عروقی در رابطه با بیماری‌های قلبی-عروقی ایفا می‌نماید. مشخص گردیده است که در عروق با فشارخون بالا به طور غیر منتظره‌ای با افزایش دانسیته سلول‌های آدوانتیسی و کاهش دانسیته سلول‌های عضلانی صاف در دیواره عروقی روبرو هستیم(۱تا۴). این اطلاعات نقش هدایت کنندگی سلول‌های آدوانتیسی رگ خونی را در بازسازی عروقی و دیگر تغییرات همراه آن آشکار می‌نماید(۶،۵).

در شرایین توزیع کننده عضلانی (resistance or distributing arteries) بیش از یک لایه سلول عضلانی به دور لومن وسیع‌تری (Lumen diameter ≥ 500μm) حلقه می‌زنند. در این حالت هرسلول عضلانی صاف زاویه‌ای معادل 10 deg± با محور جریان خون پدید می‌آورد که الگویی از سازماندهی مارپیچی را با استفاده از دستجات سلول‌های عضلانی به نمایش می‌گذارد(۷،۵). عملاً این سازماندهی مارپیچی (spring like organization) سبب فراهم آوردن امکان افزایش طول برای شرایین به هنگام افزایش فشار خون (systolic blood pressure) می‌گردد که مکانیسم جریان نبض را در طول شریان شکل می‌دهد و قلب را از برگشت موج القایی فشار خون حفاظت می‌نماید.

در آرتریول‌ها، طول یک‌صد و پنجاه میکرونی هر فیبر عضله صاف به همراه قطر کوچک آرتریول (Lumen diameter ≤300μm) امکان این را به سلول عضلانی می‌دهد که حلقه کاملی را به دور لومن ایجاد نماید. با این وجود، به منظور جلوگیری از روی هم افتادگی سلولی (over lapping) ، سلول‌های عضلانی صاف با اندکی چرخش زاویه ای یک مارپیچ جانبی (diagonal helix) را ایجاد می‌نمایند. هر سلول عضلانی صاف بخشی از مارپیچ را کامل می‌نماید و لذا یک سازماندهی مارپیچی با ظاهری حلقوی را پدید می‌آورد(۷،۵ تا۱۰).

دانش ما در زمینه شناخت ساختار عروقی به طور بنیادی بر تصاویر دو بعدی بافت شناسی از جدار عروق خونی و لنفی که به طور عمده شامل سلول‌های عضلانی صاف و ماتریکس خارج سلولی آنها است استوار می‌باشد. در این تکنیک‌های قدیمی، امکان مکان‌یابی سلولی (نظیر GPS در مکان یابی زمینی از طریق کاربرد ماهواره‌های فضایی) وجود نداشت. امروزه، پیشرفت فن‌آوری (technology) و بکارگیری روش‌های جدید تصویربرداری سه بعدی به کمک اسکن لیزری

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

کونفوکال میکروسکوپی و استفاده از نرم‌افزارهای پیشرفته پرورش تصاویر خام لیزری که از ۱۹۹۸ میلادی در تکامل تدریجی آنها پروژه‌های علمی بسیاری به انجام رسیده است بر نقش آفرینی‌های تازه برای سلول‌های آدوانتیسی (adventitial cells) و سلول‌های آندوتلیال (endothelial cells) در حفظ، رشد، ترمیم و بازسازی عروق تاکید دارد(۱۱,۹,۸,۱تا۱۳).

ارتباطات میان انواع سلول‌های شرکت کننده در جدار عروق خونی در تشکیل یک ساختار پایدار از دیواره عروقی نقش اساسی را بر عهده دارد. این تحقیق سعی دارد با استفاده از ابزار و روش‌های مدرن نگاهی دوباره به ساختمان شرایین و تنوع (cellular heterogeneity) و نظم انواع سلول‌های موجود انداخته و چگونگی ارتباط میان آنها در لایه‌های مختلف جدار شرایین را مورد بررسی دقیق قرار دهد.

مواد و روش ها

لیزر میکروسکوپی:

استفاده از نور پلاریزه (لیزر) با شدت‌های تابش متوسط و بالا از دهه ۱۹۶۰ میلادی جهت تصویربرداری ماکروسکوپی به خصوص در صنایع نظامی با اختراع کامپیوتر در دهه هفتاد میلادی و تکامل آن طی سه دهه، درکنار ابداع شیوه کونفوکال درمطالعات میکروسکوپی منجر به تلفیق تکنیک‌های تولید لیزرهای ویژه، کنترل اسکنینگ لیزری وکونفوکال همراه باتولید نرم افزارهای ویژه قابل انطباق با مایکروسافت ویندوز و یا لینوکس نظیر: Laser Sharp , Metamorph, Imaris, Amira امکان ابداع تکنیک لیزر اسکنینک کونفوکال میکروسکوپی (Laser Sccaning Confocal Microscopy- LSCM) را فراهم آورد.

با استفاده از فناوری نوین می‌توان تصاویر سه بعدی (3-dimension) از جدار شرایین کوچک کامل (intact vessels) را در حالت زنده تهیه نمود. در این صورت با انتقال اطلاعات دیجیتالی فراهم شده به محیط یک نرم افزار کامپیوتری مخصوص آنالیز تصاویر سه بعدی (image analysis software) نظیر Imaris, Metamorph or Amira قادر به ایجاد تصاویر سه بعدی با کمک مشخصه‌های رسپتوری سلول‌های تشکیل دهنده ساختار رگ خونی هستیم که در آن موقعیت هر نوع سلول را به طور اتوماتیک می‌توان ردیابی و به صورت Isosarface نمایان کرد. اطلاعات بیشتری را نیز می‌توان با کمک مکان (position) ابعاد (dimensions) و مشخصات (characteristics) وابسته به شدت سیگنال‌های دریافتی نظیر دانسیته رسپتورهای سلولی کسب نمود. همچنین مقایسه‌های کمی (quantitative comparison) درمقایسه با عروق شاهد با احتساب تعداد و دانسیته سیگنال‌ها می‌تواندتحقق یابد. یک روش خوب و ساده برای تفکیک انواع سلول‌های جدار رگ خونی مطالعه هسته‌های سلولی است که به راحتی از یکدیگر قابل تفکیک بوده و ارتباط تنگاتنگی با شکل سلول‌ها دارند. لذا رنگ‌آمیزی هسته‌های سلولی به ما اجازه آنالیز جداگانه انواع سلول‌های حاضر درجدار رگ را می‌دهد. به طوری‌که تعداد، مکان و جهت‌گیری سلول‌ها به سادگی از طریق مشاهده هسته‌های آنها در جدار شرایین قابل محاسبه است. علاوه بر نظم ترتیب سلولی مقایسه میان عروق سالم و بیمار نیز امکان پذیر است(۱۹،۱۸،۶،۵).

تصویر برداری لیزری:

جهت تصویربرداری لایه لایه از کونفوکال میکروسکوپ Biorad 1024 & Radiance 2100 استفاده شد. بزرگنمایی X40 oil immersion objective lens همراه با NA= 1 و روزنه معادل 1.5 (Pinhole setting= 1.5) با Pixels = 512*512 که

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]
www.SID.ir

مربعی به ابعاد289µm * 289µm پوشش می‌داد، استفاده گردید.

به طور کلی دو روش بررسی اسکن‌های کونفوکال لیزری معمول است.

میکروسکوپی لیزری با دهانه باز مستطیل شکل (Slit LSCM) که برای اندازه‌گیری‌های کمی با کمک ترکیبات فلوئورسنت مناسب تر است. به طوری که قادر به جمع‌آوری تشعشعات بیشتری از نمونه مورد مطالعه همراه با دقت کمتری در وضوح ترکیب فلورسنت و بالطبع مکان‌یابی است. مسلماً این‌گونه تصاویر نیاز به دکانولوشن کامپیوتری (Computer Deconveloution) کمتر و پایین‌تری دارند.

میکروسکوپی لیزری با دهانه روزنه‌ای شکل (Pinhole LSCM): که تصاویری واضح‌تر با رزولوشن بالاتر و حدود مشخص‌تر پدید می‌آورد که نیاز به اصلاحات کامپیوتری کمتری دارد و در آن جزئیات مکانی ترکیبات فلوئورسنت مشخص‌تر می‌باشد(۱۶،۱۷،۱۹،۲۰).

میوگرافی (Myography) و میوگرافی تحت فشار (Perfusion Pressure Myography):

در این شیوه از مطالعه عروقی بااستقرار رگ خونی در حوضچه‌های ۵-۲۵ میلی لیتری مجهز به دمنده‌های اکسیژن و دی اکسید کربن به نسبت ۹۵ به ۵ درصد و ایجاد کشش اولیه منطبق با قطر لومن رگ خونی در حالی که یکی از محورهای کششی ثابت و دیگری به یک ترانسدیوسر (Transducer) متصل به‌کامپیوتر مجهز به نرم‌افزار مناسب اتصال یافته است می‌توان تغییرات ایزومتریک نیروی انقباضی رگ‌خونی زنده را نسبت به مداخله‌گرهای مختلف محاسبه و ثبت کرد(۱۴۱۳).

درمیوگرافی تحت فشارعلاوه برتمامی مشخصه‌های ذکر شده از کانول‌های شیشه‌ای متصل به ستون‌هایی از محلول کربس جت ایجاد فشار و تحت کشش قرار دادن رگ‌خونی منطبق بر شرایط نرمال در دامنه تغییرات طبیعی فشار خون می‌توان سود جست. از جدیدترین روش‌های مطالعه ساختار مورفولوژیکی عروق استفاده همزمان میوگرافی تحت فشار و میکروسکوپی لیزری لایه لایه موسوم به LSCM می‌باشد. در این روش حتی جزئیات سلولی (ممبران و اورگانل‌ها) در کنار مکان‌یابی نیز قابل رؤیت و مطالعه هستند.

حیوانات مورد مطالعه:

تعداد دوازده موش وحشی نر (Wild Type- WT) تحت آزمایشات قرار گرفتند. که از نظر وزن، تغذیه و شیوه‌کشتن حیوان براساس استانداردهای‌جهانی با کمک Co2 بدون صدمه رسیدن به بافت عروقی در کوتاه‌ترین زمان ممکن از بدن جانور خارج و در محلول کربس اکسیژنه بصورت بافت زنده مستقر گردیدند (۱۳تا۱۵).

آماده سازی بافتی:

پس از بیهوش کردن حیوان با Co_2 قطعات دو تا سه میلی‌متری از رگ خونی زنده (شرایین مزانتریک) در دمای آزمایشگاهی(۲۲ درجه سانتیگراد) از جدارشرایین جدا و از بافت چربی پاکسازی گردیده و در دستگاه perfusion myograph تحت فشار طبیعی 70mmHg با مخلوطی از اکسیژن و دی اکسید کربن (95/5%) در محلول کربس، توسط LSCM با استفاده از رنگ آمیزی فلوئورسنت هسته‌ای (Syto13-1µg/ml) و (DIO 1µM) لیپوفیلیک در مدت زمان معین آغشته می‌شوند و بر حسب نوع ترکیبات فلورسنت بدون شستشو و یا پس از شستشوی/ تحت موج لیزر ارگون یونیزه (488nm/515nm) برای کانال آبی/ تحت موج لیزر آرگون یونیزه 484nm/501nm برای کانال سبز و موج لیزر آرگون- هلیوم 543nm/580nm برای کانال قرمز مورد مطالعه قرارگرفتند. اسکن‌های با ضخامت 0.3µm از رگ‌های خونی مورد مطالعه به تعداد۶۴ برش از سه

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

لایه آدوانتیس، مدیا و انتیما بدقت اندازه‌گیری و مکان سلول‌های هر لایه و جهت‌گیری محور طولی سلول‌ها مشخص شد (۵تا۷،۱۸تا۲۰).

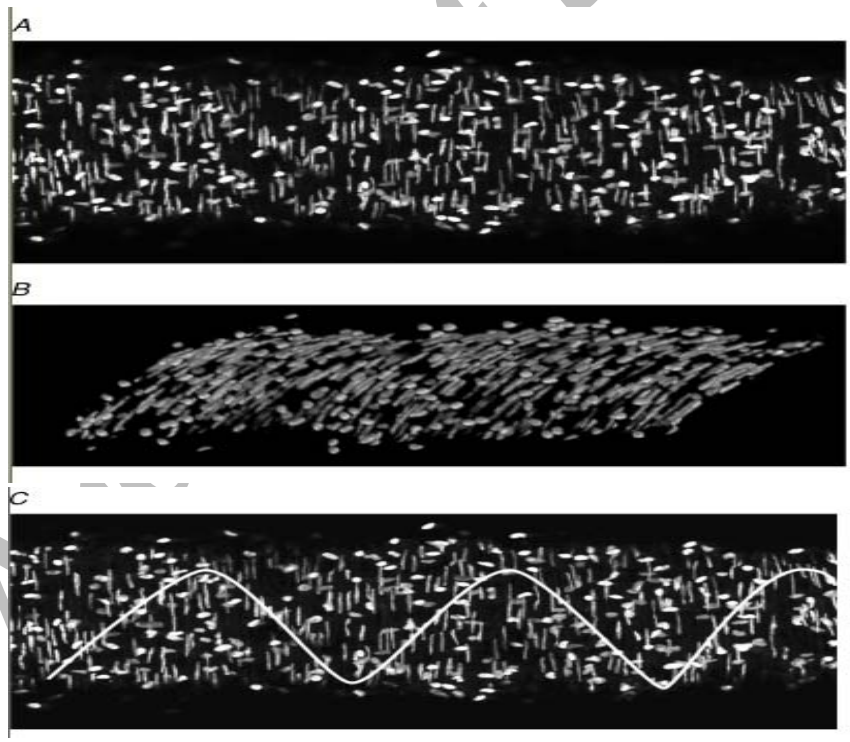
تحلیل و تفسیر تصاویر حاصل از LSCM:

حجم سه بعدی از تصاویر کسب شده در محیط نرم‌افزار Metamorph (version 4.2) به صورت فایل‌های Tiff به نرم‌افزارهای Imaris (version 3.2) و Amira (TGS,version 3.2) انتقال یافته و در محورهای XY, XZ & YZ مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها

با استفاده از متدهای تحلیل اطلاعات تصویری (Image Analysis Methods-IAM) در مطالعه بر روی شرایین مزانتریک می‌توان به اطلاعات زیر بر روی تصاویر حاصله دست یافت:

۱- هسته‌های سیگاری شکل سلول‌های عضلانی صاف عمود برمحورجریان خون بگونه‌ای دیده می‌شوند که سلول‌های هر لایه عضلانی با سلول‌های لایه مجاور در عین همپوشانی زاویه 10 درجه را نسبت به محور جریان خون پدید می‌آورند(تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: رنگ‌آمیزی هسته در شریان مزانتریک موش- تکه کاملی از رگ خونی در دستگاه میوگرافی تحت فشار 70mmHg تعبیه گردیده است. رنگ آمیزی فلوئورسنت هسته‌ای($Syto13; 1\mu g/ml^{-1}$) با لیزر آرگون درطول موج 488nm تهییج شده است. دراین حالت هسته‌های هرسه نوع سلول موجود درجدار عروق خونی قابل روئیت هستند. هسته دوکی شکل سلول‌های عضلانی صاف به طورعمودی و هسته سلول‌های آدوانتیسی کروی با حدود نامنظم و روشن و هسته آندوتلیال کمی درشت تر و روشن و عمدتا محور طولی آنها در جهت جریان خون و به موازات محور طولی رگ خونی دیده می‌شوند. A- هر سه نوع سلول در کنار یکدیگر. B- تصویر حجمی سه بعدی طبیعی از میکروسکوپی کونفوکال که انحنای شریان را نشان می‌دهد. C – تصویری که ماهیت مارپیچ طبیعی نظم سلول‌های عضلانی در رابطه با سلول‌های آندوتلیال را مجسم می‌نماید.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

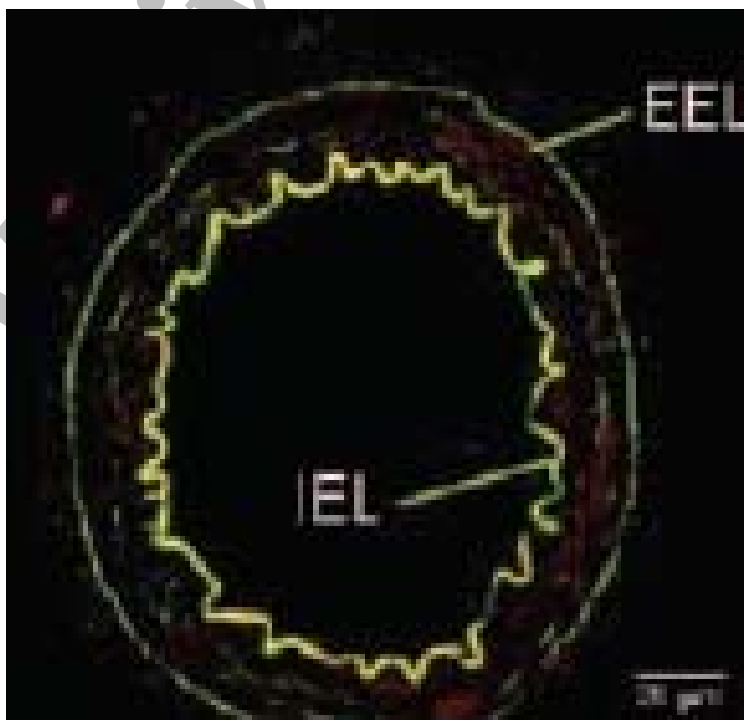
www.SID.ir

۲- هسته‌های بیضوی روشن سلول‌های آندوتلیال کمی درشت‌تر و عمدتا در جهت محورطولی رگ خونی و هم جهت با جریان خون نظم یافته‌اند(تصویرشماره۱).

۳- هم‌مکانی هسته‌های سلول‌های‌آندوتلیال و هسته‌های سلول‌های عضلانی صاف (Co-location or Over lapping) نشان داده شده است که ماهیت مارپیچ طبیعی نظم سلول‌های عضلانی در رابطه با سلول‌های آندوتلیال را مجسم می‌نماید(تصویر شماره ۱- C).

۴- وجود تیغه ارتجاعی داخلی (IEL) چین خورده در جدار شریان مزانتریک موش که بسیار ضخیم‌تر از تیغه ارتجاعی‌خارجی(EEL) است و لایه‌مدیای عضلانی را از انتیمای آندوتلیالی جدامی‌نماید باکمک رنگ‌آمیزی فلوئورسنت مشخص شده است(تصویر شماره ۲).

۵- همچنین وجود ارتباط میان سلول‌های آندوتلیال تشکیل‌دهنده رگ‌های خونی نرمال وسلول‌های عضلانی بنام اتصالات میوآندوتلیال درطرفین تیغه ارتجاعی داخلی (IEM) در تصاویر کونفوکال میکروسکوپی با استفاده از ترکیبات فلوئورسنت بر روی خط فرضی ترسیمی انطباقی از تصویر شماره ۱ به وضوح مشاهده می‌گردد (فلش‌ها). اتصالات میوآندوتلیال از طریق منافذ تیغه ارتجاعی داخلی میان سلول‌های آندوتلیال و سلول‌های عضلانی صاف زیرین در شریان مزانتریک پل زده‌اند (فلش‌ها- تصاویر چهارگانه شماره ۳). این ارتباطات میوآندوتلیال ازنظم مارپیچی قرار سلول‌های‌آندوتلیال که در تصویر شماره یک (پایین-C) نشان داده شده است تبعیت می‌نمایند. تصاویر لیزری ضخیم‌شدگی غشایی را درمحل اتصالات به‌خوبی نشان می‌دهدکه حاکی از آن است که این اتصالات از نوع محکم Tight Junction می‌باشند.

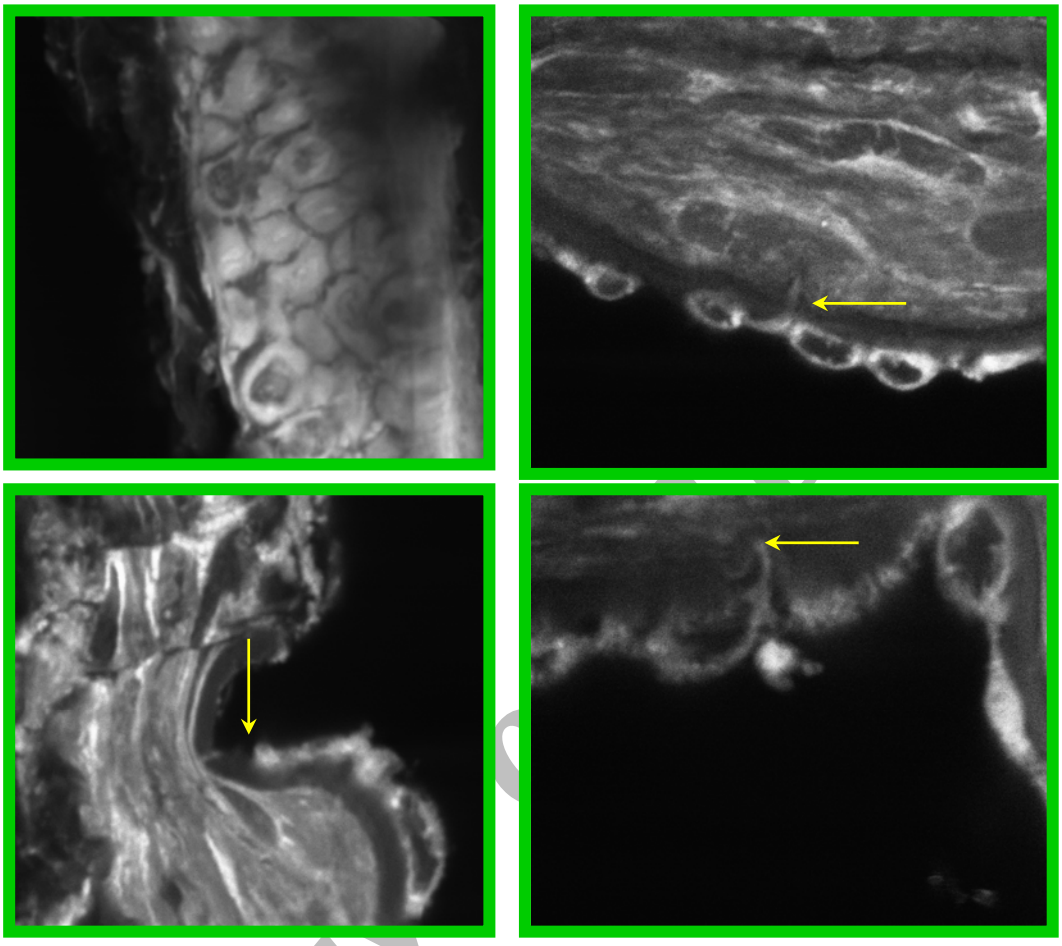


تصویر شماره ۲: جایگاه تیغه های ارتجایی داخلی و خارجی در شریان مزانتریک موش

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir



تصویر شماره۳: اتصالات میوآندوتلیال ازطریق منافذ تیغه ارتجاعی داخلی میان سلول‌های آندوتلیال و سلول‌های عضلانی صاف در شریان مزانتریک پل زده اند. نمونه های بافتی با $DIOC_{18}$ (1µM) Excitation/Emission 484nm/501nm برای مدت دوساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد رنگ آمیزی شده اند و سپس با عدسی ابجکتیو x40 Oil با دقت تصویری 0.02-0.04 µ / Pixel با کمک LSCM اسکن و عکس برداری شده اند.

بحث

انطباق تصاویر سه بعدی سلول‌های آندوتلیال استطاله‌دار انتیما، اتصال یافته به سلول‌های عضلانی صاف لایه مدیای زیرین از طریق عبور از تیغه ارتجاعی داخلی، تبعیت اتصالات میوآندوتلیال را از سازماندهی مارپیچی سلول‌های عضلانی صاف مدیا آشکار می‌نماید.

از مشاهدات سه بعدی این تحقیق اینچنین به نظر می‌رسد که ارتباطات میان سلول‌های آندوتلیال و سلول‌های عضلانی صاف ازطریق اتصالات میوآندوتلیال و الگوی قرارگرفتن سلول‌های آندوتلیال نوعی موزاییسم را در این لایه پوشاننده منعکس می‌نماید این اتصالات از نوع محکم Tight Junction می‌باشند با این حال، به دلیل احتمال قرارگیری Gap Junctions به همراه این اتصالات، مبادله فاکتورهای آندوتلیالی که نقش تغذیه‌ای و کنترل‌کننده بر روی فیبرهای عضلانی صاف لایه‌های زیرین دارند نیز از طریق این اتصالات اجتناب ناپذیر است. تیغه ارتجاعی داخلی نه تنها سلول‌های آندوتلیال را از سلول‌های عضلانی صاف جدا می‌نماید بلکه به عنوان یک ساختار متغیر (Changeable) و غیر ثابت

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

(Non-static) می‌تواند تغییرات بارزی را در ارتباطات متقابل میوآندوتلیال هدایت نموده و نهایتاً عمل رگ خونی را کنترل می‌نمایند.

در طی فرآینـد عـروق‌زایـی (angiogenesis or vasculogenesis) اجداد سلول‌های آندوتلیال موسوم به angioblast ابتدا مکان‌هایی را جهت پیدایش لوله‌های آندوتلیال (endothelial tubes) فراهم می‌نمایند. سپس اجداد سلول‌های صاف موسوم به میوبلاست‌ها myoblasts تمایل می‌یابند تا بدور این لوله‌های آندوتلیالی خویش را پهن نمایند. به همین جهت از مراحل ابتدایی شکل‌گیری رگ خونی، ارتبـاط فیزیکـی در جهت ایجـاد کنش متقابـل بین دو نوع سلـول (physical interactions) شکل می‌گیرد و موقعیت مکانی آنها به یکدیگر مرتبط (intimately link) می‌گـردد(۹،۵،۴). توسعـه فنـاوری و کاربـرد نـرم‌افزارهـای سه بعـدی در جهت مشاهـده سلول‌های تشکیل‌دهنده جـدار عروق، ارتبـاطات بین سلولی و به ویژه اتصالات میوآندوتلیال را به صورت موضـوعـی جـذاب در محـور مطالعـات دانشمنـــدان هیستوفیزیولوژیست قرار داده است.

مطالعات کاملتر با تحلیل‌های تصویری پیشرفته (advance image analysis) و متدهای میکروسکوپی ما را قادر می‌سازند تا در آینده به تعداد سلول‌ها، سازماندهـی، مـکان‌ها و امـکانات تغییـرات (viability) دست یابیم. جزئیات مقایسه‌های سه بعدی میان شرایین طبیعی (Normotensive) و شرایین تحت فشارخون مزمن (Hypertensive) می‌تواند دیدگاه‌هایی در رابطه با تاثیر ساختار و عمل بر روی یکدیگر فراهم نماید. اطلاعات حاصل تصاویر LSCM می‌تواند برای بیـــان مـدل نویسی ساختار عروقی به کار رود. مسلماً هدف نهایی از پیدایش و استفاده از این مدل‌ها و فرمول‌های ریاضی، توصیف نحوه قرار گرفتن سلول‌های عضلانی صاف در ساختار عروقی می‌باشد. در حال حاضر ما نمی‌دانیم که چه تعداد از سلول‌های عضلانی صاف در جدار شرایین به طور تصادفی جهت‌گیری و چه تعداد از نظم مارپیچی ۱۰ درجه تبعیت می‌نمایند و چه تعداد از آنها مکانشان دقیقاً با دیگر انواع سلول‌های عروقی و ساختار آن هماهنگ و وابسته است. بدین جهت ما نیازمندیم تا دانش خویش را در رابطه با ساختارهای سه بعدی و مدل‌های سازماندهی سلولی قبل از هر نوع قضاوتی درباره بازسازی عروقی در شرایط مختلف فیزیولوژیکی افزایش دهیم. در این راستا کاربرد میکروسکوپ لیزری کونفوکال (LSCM) کمک بزرگی به ایجاد و درک مدل‌های سه بعدی می‌نماید.

باز سازی و تجدید آرایش سلولی (remodeling) در شـرایین با تـوجه به تغییـرات فیزیـولوژیکـی بـدن موجود زنده (فشار خون، سن، بیماری‌ها، نحوه تغذیه و استرس) نظیر دیگر بافت‌های بدن دائماً در جریان است. اتصالات محکم بین سلولی هنگام remodelling عروقی می‌بایست گسسته و از نو شکل بگیرند. این موضوع کنترل دقیق آرایش سلولی و ارتباطات میان این سلول‌ها را طی فشارهای حاد ناشی از استرس وفشارخون مزمن با شرایط بیوفیزیکی جدید را می‌رساند. با این حال به نظر می‌رسد فشار خون بالا یک مرحله پاتولوژیکی است که در آن ارگانیسم به مقدار کافی با شرایط تغییر یافته تطابق نمی‌یابد. در این حالت ممکن است گسستگی‌ها در انواع اتصالات بین سلولی و منجمله میوآندوتلیال رخ دهد که خود عواقبی را به دنبال دارد. این موضوعات در کنار یکدیگر مرحله جدیدی در درک مدل فیزیولوژیکی و دینامیک طبیعی دیواره عروق‌خونی ارائه می‌نماید.گرین اسمیت و دالینگ این حقیقت را نمایان ساختند که در شرایط افزایش فشارخون علاوه برسلول‌های عضلانی در سمت دیگر تیغه ارتجاعی داخلی سلول‌های آندوتلیـال نیز فشارهای جدی را تحمل می‌نمایند. ایـن موضـوع در شرایط افزایش مزمن فشار خون می‌تواند اختـلال در

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

عمل سلول‌های آندوتلیال (endothelial dysfunctions) را درپی‌داشته باشد(۱۲).

از مدت‌ها پیش مشخص شده است که سلول‌های آندوتلیال (انتیما) و سلول‌های عضلانی صاف به واسطه یک لوله مواج و محکم بنام تیغه ارتجاعی داخلی از یکدیگر جدا شده‌اند. سلول‌های دو لایه انتیما و مدیا در طرفین تیغه ارتجاعی داخلی چسبیده‌اند و تنها ارتباطات می‌تواند از طریق روزنه‌های کوچک تعبیه شده در این تیغه صورت پذیرد. با این وجود، اهمیت نقش ساختاری تیغه ارتجاعی داخلی تا زمانی که مشاهدات سه بعدی میکروسکوپ‌های کونفوکال، خصوصیات بیوفیزیکی این تیغه را نمایان ساخت پوشیده ماند. در این رابطه مقایسه موش‌های دستکاری ژنتیکی شده با فشارخون مزمن بالا با موش‌های نرمال، وسعت کمتر پنجره‌های تیغه ارتجاعی داخلی (حدود یک سوم حالت نرمال) را در عین طبیعی بودن تراکم و تعداد این دریچه‌ها آشکار ساخت(۳).

این مطالعه همچنین وجود دیواره‌های ضخیمتر با خاصیت ارتجاعی اندک را در موش‌های با فشارخون بالا در مقایسه با موش‌های نرمال نشان داد که در برابر فشارخون بسختی متسع گردیده و خود کاهش بارز رشته‌های الاستیک دیواره رگ‌خونی را با روش اثرتخریبی آنزیم الاستاز به‌خصوص درساختار تیغه ارتجاعی داخلی موش‌های با فشارخون بالا نمایان می‌سازد(۳).

این موضوعات موید نقش محوری تیغه ارتجاعی داخلی در تهیه ساختار مهندسی شرایین مقاوم محیطی (Peripheral Resistance Arteries) و بالطبع آن اتصالات سلول‌های عضلانی صاف به یکدیگر و به سلول‌های آندوتلیال در طرفین این تیغه و مکان‌یابی (geometry) و در نهایت تعیین حجم لومن و میزان انقباض شریان در مقابله با شرایط استرس و افزایش فشارخون است.

References

1. Barker SGE, Tilling LC, Miller GC, Beesley JE, Fleetwood G, Stavri GT, Baskerville PA & Martin JF. The adventitia and atherogenesis: removal initiates intimal proliferation in the rabbit which regresses on generation of a 'neoadventitia'. ***Atherosclerosis*** 1994; 105: 131-144.
2. Arribas SM, Hillier C, Gonzalez C, McGrory S, Dominiczak AF & McGrath JC. Cellular aspects of vascular remodelling in hypertension revealed by confocal microscopy. ***Hypertension*** 1997; 30: 1455-1464.
3. Briones AM, Gonzales JM, Somoza B, Giraldo J, Daly CJ, Vila E, Gonzalez MC, McGrath JC & Arribas SM. Role of elastin in spontaneously hypertensive rat small mesenteric artery remodelling. ***J Physiol*** 2003; 552: 185-195.
4. Hungerford JE & Little CD. Developmental biology of the vascular smooth muscle cell; building the multi-layered vessel wall. ***J Vasc Res*** 1999; 36: 2-27.
5. McGrath JC & Daly CJ. Imaging adrenergic receptors and their function. the use of fluorescent ligands and receptors to visualize adrenergic receptors. In The Adrenergic Receptors in the 21st Century. ed. Perez DM, Humana Press, NJ. (2005)

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]
www.SID.ir

6. Miquel MR, Segura V, Ali Z, D'Ocon MP, McGrath JC & Daly CJ. 3D image analysis of fluorescent drug binding. ***Mol Imaging*** (in press) 2004.
7. Sartore S, Chiavegato A, Faggin E, Franch R, Puato M, Ausoni S & Pauletto P. Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodelling. From innocent bystander to active participant. ***Circ Res*** 2001; 89: 1111-1121.
8. Carmeliet P & Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. ***Nature*** 2000; 407: 249-257.
9. Daly CJ, McGee A, Vila E, Briones A, Arribas SM, Pagakis S, Adler J, Merle A, Maddison J, Pedersen J & McGrath JC. Analysing the 3D structure of blood vessels using confocal microscopy. ***Micros Anal*** (UK) 2002; 92: 5-8.
10. Daly CJ & McGrath JC. Fluorescent ligands, antibodies, and proteins for the study of receptors. ***Pharmacol Therapeut*** 2003; 100: 101-118.
11. Erami C, Zhang H, Ho JG, French DM & Faber JE. α_1-Adrenoceptor stimulation directly induces growth of the injured vascular wall in vivo. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 2002; 283: H1577–H1587.
12. Greensmith JE & Duling BR. Morphology of the constricted arteriolar wall: physiological implications. ***Am J Phys*** 1984; 247: H687–H698.
13. Mulvany MJ, Halpern W. "Mechanical properties of vascular smooth muscle in situ." ***J Hypertens*** 1976; 260: 617-619.
14. Mulvany MJ, Halpern W. "Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats." ***Circ Res*** 1977; 41: 19-25.
15. Daly CJ, Vila E, Arribas SM, Pagakis S, Thébault B, Maddison J, Pederson J & McGrath JC. 3-dimensional analysis of vascular structure, function & receptor distribution using confocal laser scanning microscopy. ***Pharmacol Toxicol*** 2000; 87 (suppl II): 10.
16. Gutterman DD. Adventitia-dependent influences on vascular function. ***Am J Phys*** 1999; 277, H1265-H1272.
17. Kantachuvesiri S, Fleming S, Peters J, Peters B, Brooker G, Lammie AG, McGrath JC, Kotelevtsev Y & Mullins JJ. Controlled hypertension, a transgenic toggle switch reveals (2001). Differential mechanisms underlying vascular disease. ***J Biol Chem*** 2001; 28(276)(39): 36727-36733.
18. Majid Malekzadeh Shafaroudi, Melissa McBride,Clare Deighan, Alexis Wokoma, Joyce Macmillan, Craig J. Daly, and Ian C McGrath; Two "knockout" mouse models demonstrate that aortic vasodilatation is mediated via a2A-adrenoceptors located on the endothelium. ***J Pharmacol Exp Ther*** 2005; 314: 804-810.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir

19. John C. McGrath, Clare Deighan, Ana M. Briones, Majid Malekzadeh Shafaroudi, Melissa McBride, Jeremy Adler, Silvia M. Arribas, Elisabet Vila and Craig J. Daly New aspects of vascular remodelling: the involvement of all vascular cell types. ***Exp Physiol*** 2005; 90(4): 469-475.

20. Pediani JD, Colston JF, Caldwell D, Milligan G, Daly CJ & McGrath JC. β-arrestin dependent spontaneous α_{1a}-adrenoceptor endocytosis causes intracellular transportation of α-blockers via recycling compartments. ***Mol Pharmacol*** 2005; 67: 992-1004.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

www.SID.ir