

## مطالعه توزیع برخی گلیکوکانژوگیتها در نوتوکورد و عروق محوری

### در اوایل دوران مورفوژنز در جنینهای موش Balb/C

محمد مهدی حسن زاده طاهری<sup>۱</sup>، دکتر محمدرضا نیکروش<sup>۲</sup>، دکتر مهدی جلالی<sup>۳</sup>، دکتر علیرضا فاضل<sup>۳</sup>

#### چکیده

زمینه و هدف: لکتینها ترکیبات قندی باند شده به پروتئینها هستند که دارای منشاء گیاهی و یا جانوری می باشند. این ترکیبات با قندهای انتهایی گلیکوکانژوگیتها در سلولها و بافتها واکنش می نمایند. گلیکوکانژوگیتها در برخی فرایندهای بیولوژیکی از قبیل شناسایی، تکثیر، مهاجرت و تمایزات سلولی نقش اساسی ایفا می نمایند. هدف این مطالعه بررسی توزیع برخی گلیکوکانژوگیتها در نوتوکورد و عروق محوری در دوران مورفوژنز در جنینهای موش آزمایشگاهی می باشد.

مواد و روشها: برای این منظور جنینهای ۹ تا ۱۴ روزه موشهای Balb/C در فرمالین فیکس شدند و سپس مقاطع میکروسکوپی از آنها تهیه گردید. این مقاطع جهت مطالعات هیستوشیمیایی پردازش شدند و سپس در مجاورت چهار لکتین کنجوگه شده با Horseradish peroxidase (HRP) قرار داده شدند که عبارت بودند از: Glycin max (SBA)، Vicia villosa (VVA)، Maclura pomifera (MPA) که برای قند انتهایی ان استیل گالاکتوز آمین اختصاصی می باشند و همچنین Lotus tetragonolobus (LTA) که به قند انتهایی فوکوز باند می شود.

یافته ها: نتایج حاصله نشان دادند که لکتینهای اختصاصی ان استیل گالاکتوز آمین واکنشهای تقریباً مشابهی در نوتوکورد و آندوتلیوم عروق محوری در اثنای دوره مورفوژنز نشان می دهند. در حالی که لکتین حساس به فوکوز فقط با نوتوکورد واکنش نشان داد.

نتیجه گیری: براساس یافته های این تحقیق زمان ظهور و نحوه توزیع گلیکوکانژوگیتها با قند انتهایی ان استیل گالاکتوز آمین ممکن است نقش یا نقشهای کلیدی و مهمی در میان کنشهای بافتی و شکل گیری متعاقب آنها از قبیل تکامل عروق محوری در اثنای دوره مورفوژنز داشته باشند. به علاوه یافته های این پژوهش نشان دادند که گلیکوکانژوگیتها با قند انتهایی فوکوز ممکن است در تکامل عروق محوری و میان کنشهای نوتوکورد با این عروق در اثنای دوره مورفوژنز نقشی نداشته باشند.

واژه های کلیدی: نوتوکورد، عروق محوری، گلیکوکانژوگیت، لکتین

۱- دانشجوی دکترای علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، نشانی: مشهد، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، کدپستی ۹۱۳۷۵

گروه آناتومی، تلفن: ۰۵۱۱-۸۵۴۴۰۸۱ داخلی ۲۷۲، نمابر: ۸۵۹۱۹۲۲، E.mial: mmhtahery35@yahoo.com

۲- دانشیار گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- استاد جنین شناسی و بیولوژی سلولی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

## مقدمه

نوتوکورد ساختاری محوری با منشاء مزودرمی است که علاوه بر نقش ساختمانی و پشتیبانی برای تمایز بافتهای مجاور و شکل پذیری متعاقب آن ضروری است. مثلاً توانایی القاء و تمایز سلولها کفی لوله عصبی (۲ و ۱) و نورونهای حرکتی را دارد (۳). به علاوه در تمایز الیگودندروسیتها (۴)، اسکروتوماها (۶ و ۵) و سومایتها (۷ و ۵) ایفای نقش می نماید. تمایز ارگانهایی مانند جوانه پستی پانکراس (۹-۱۲) و بخش پیشین غده هیپوفیز نیز به القانات نوتوکورد وابسته است (۱۴-۱۲). مطالعات متعدد شواهدی را فراهم آورده است که سیگنالهای ناشی از نوتوکورد برای تکامل قلب و عروق ضروری می باشند (۱۵) و مطالعات صورت گرفته در Zebrafish نقش مهمی را برای تنظیم تکامل اولیه قلب (۱۶ و ۱۵) و شکل گیری قوس قلبی نامتقارن نشان داده است (۱۶). سیگنالهای نوتوکورد برای تشکیل آئورت پستی<sup>۱</sup> و وریدهای محوری<sup>۲</sup> نیز ضروری اند و مطالعات صورت گرفته بر روی دو دسته از موتانهای هوموزیگوت<sup>۳</sup> flh و ntl<sup>۴</sup> در Zebrafish که هر دو فاقد نوتوکورد تکامل یافته ای می باشند نشان داده است که دچار نواقصی در آئورت پستی و وریدهای محوری می باشند (۱۷ و ۱۸) و زمانی که سلولهای نوتوکوردی نوع نرمال این جانور در موتانهای flh پیوند زده شد، نوتوکورد تکامل پیدا نمود و آئورت اولیه ای شکل گرفت (۱۸ و ۱۲). با توجه به نقشهای القایی نوتوکورد بر روی بافتهای مجاور و مشاهده نواقص عروقی در موتانهای flh و ntl که فاقد نوتوکورد تکامل یافته می باشند، این نظریه قویاً تأیید گردیده است که نوتوکورد در تشکیل الگوی عروقی نقش

دارد (۱۷ و ۱۸).

از سوی دیگر اگرچه عوامل متعددی در فرایند تکامل ارگانسیم جنینی مداخله می نمایند اما نقش قندهای انتهایی زنجیره های قندی گلیکوکانژوگیتهای سطح سلولها و ماتریکس خارج سلولی در این رابطه از اهمیت به سزایی برخوردارند تا آنجا که تکامل طبیعی به ظهور و توزیع مناسب اینگونه قندها وابسته است (۲۱-۱۹).

لذا با توجه به نقش القایی نوتوکورد روی عروق محوری (DA و AV) و از طرفی دخالت احتمالی گلیکوکانژوگیتها در تمایزات بافتی این اعضا و نظر به این که تاکنون مطالعاتی در این زمینه صورت نگرفته است، بر آن شدیم تا توزیع برخی گلیکوکانژوگیتها و تغییرات آنها را در نوتوکورد و آندوتلیوم تشکیل دهنده عروق محوری و میان کنشهای احتمالی آنها را به کمک تکنیک هیستوشیمی لکتینها در اوایل دوران مورفوژنز در موش بررسی نماییم.

## مواد و روشها

**تهیه جنینهای موش:** برای انجام این مطالعه از ۴۰ سر موش دو ماهه باکره ماده نژاد Balb/C استفاده شد که از مرکز واکسن و سرم سازی رازی مشهد خریداری گردیده و با ۲۰ سر موش هم نژاد در قفسهای مخصوص جفتگیری آمیزش داده شدند. سپس با مشاهده پلاک واژینال روز صفر حاملگی برای هریک از آنها مشخص گردید و در شرایط استاندارد خانه حیوانات مورد مراقبت قرار گرفتند. در روزهای نهم تا چهاردهم حاملگی، برای هر مرحله تعداد شش موش حامله ابتدا به وسیله کلروفورم عمیقاً بیهوش و سپس سزارین شدند. آنگاه شاخه های رحم به دقت جدا گردیده و برای جداسازی پرده های جنینی به سرم فیزیولوژی انتقال داده شدند. پس از شستشو با سرم فیزیولوژی جنینهای جمع آوری شده به محلولهای فیکساتیو فرمالین ۱۰ درصد و B4G (کلرید جیوه

<sup>۱</sup> Dorsal Aorta  
<sup>۲</sup> Axial Veins  
<sup>۳</sup> floating head  
<sup>۴</sup> no tail

جدول ۱: انواع لکتینهای مورد استفاده و خصوصیات آنها

Lectins tested	Abbreviation	Carbohydrate-binding specificity
<i>Glycine max (Soybean)</i>	SBA	$\alpha, \beta$ -D-GalNac>D-Gal
<i>Maclura pomifera</i>	MPA	Gal Nac (Gal $\alpha$ 1-3) Gal Nac
<i>Vicia villosa (hairy winter vetch)</i>	VVA	GalNac
<i>Lotus tetragonolobus (asparagus pea)</i>	LTA	$\alpha$ -L-fucose

۱۰ میکرو گرم لکتین وجود داشته باشد (۲۳ و ۲۵). در مرحله بعد برشها برای مدت دو ساعت با هر کدام از لکتینهای رقیق شده فوق مجاورت داده شدند. پس از این مرحله نمونه‌ها با بافتی با بافر شستشو داده شدند و برای مدت ۵ دقیقه در محلول ۰/۰۳ درصد DAB<sup>۱</sup> در بافر فسفات قرار گرفتند و به ازای هر ۱۰ میلی لیتر محلول فوق، مقدار ۲۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه به محیط اضافه گردید (۲۳ و ۲۵). در مرحله بعد کلیه مقاطع پس از شستشو با آب جاری، برای ایجاد رنگ زمینه در محلول آلسین بلو با PH=۲-۵ برای مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. در این صورت واکنش لکتینها با قند انتهایی مربوطه به صورت رنگ قهوه‌ای در مشاهدات میکروسکوپی مشخص گردید. برای مشاهده واکنش‌های انجام شده، نمونه‌ها به کمک میکروسکوپ Olympus/AH-2 مورد مطالعه و تصویربرداری قرار گرفتند. متعاقب این موضوع نمونه‌ها به روش Gong و همکارانش (۲۶) به صورت سه نفره و جدای از یکدیگر، براساس شدت واکنش با لکتینهای استفاده شده مورد درجه‌بندی قرار گرفتند.

#### یافته‌ها

پس از مجاور ساختن مقاطع میکروسکوپی تهیه شده با لکتینهای مختلف (جدول یک) محل واکنش لکتینها با بافتهای مجاور به صورت رنگ قهوه‌ای ظاهر گردید (واکنش لکتینهای مورد استفاده با نوتوکورد و آندوتلیوم عروق محوری در جدول ۲ به صورت خلاصه آورده شده است).

لکتین SBA: واکنش نوتوکورد با این لکتین در روز نهم

۶ درصد، استات سدیم یک درصد و گلو تار آلدئید یک درصد) در دمای آزمایشگاه منتقل گردیدند (۲۲). تعداد جینینهای به دست آمده برای هر مرحله به طور متوسط ۵۰ عدد بود.

#### تهیه برشهای بافتی

با کامل شدن مرحله فیکس جینینها که مطابق روشهای معمول بافت‌شناسی انجام گرفت، نمونه‌ها با عبور از الکل اتیلیک با غلظت افزایشی پاساژ داده شدند و پس از آبگیری در گزین شفاف‌سازی شدند. سپس از این نمونه‌ها اقدام به تهیه بلوکهای پارافینی شد و برشهای سریال به ضخامت ۶ میکرون در جهت‌های افقی و ساژیتال به وسیله میکروتوم روتاری موجود در آزمایشگاه هیستوتکنیک دانشکده پزشکی مشهد تهیه گردید.

#### مطالعات لکتین هیستوشیمیایی

برای انجام این مطالعات از هر مرحله جینی تعداد ۳۶ برش به طور تصادفی انتخاب شدند (برای هر لکتین ۶ برش) و به روش معمول در بافت‌شناسی پارافین‌زدایی و سپس آبدهی گردیدند. آنگاه نمونه‌های فیکس شده با B4G رسوب‌زدایی شدند (۲۳). برای حذف پراکسیدازهای آندوژن مقاطع برای مدت ۴۵ دقیقه در شرایط تاریکی در محلول یک درصد آب اکسیژنه در متانول قرار داده شدند (۲۴). سپس از لکتینهای جدول شماره یک که به صورت کنجوگه شده با HRP از شرکت سیگما خریداری شده بودند، استفاده گردید. برای این منظور ابتدا لکتینهای مذکور به کمک بافر فسفات (PBS) به نحوی رقیق گردیدند که در هر میلی لیتر از محلول حاصله

<sup>۱</sup> Diaminobenzidine

جدول ۲: نتایج حاصل از مجاور ساختن مقاطع میکروسکوپی با لکتینهایی که مورد مطالعه قرار گرفته‌اند

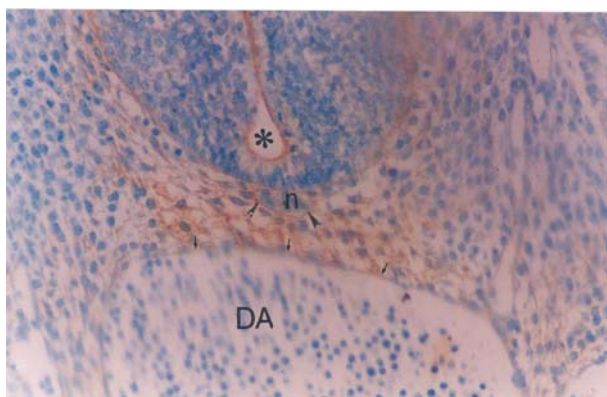
روزهای جنینی نام لکتین	تغییرات هیستوشیمیایی آندوتلیوم عروق محوری						تغییرات هیستوشیمیایی زایده نوتوکورد					
	E 9	E 10	E 11	E 12	E 13	E 14	E 9	E 10	E 11	E 12	E 13	E 14
SBA	+	++	+++	++++	++	+	-	+	++	++	++	-
VVA	-	+	+	++	-	-	-	++	++	-	-	-
MPA	+	++	++++	+	+	-	+	++	++	+	+	-
LTA	-	-	-	-	-	-	+	+	++	-	-	-

عدم واکنش (-)، واکنش خفیف (+)، واکنش متوسط (++)، واکنش نسبتاً شدید (+++)، واکنش شدید (++++)

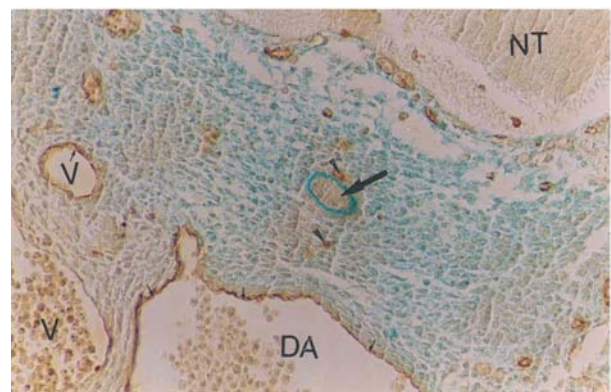
واکنش آندوتلیوم عروق با این لکتین در روز نهم در حد خفیف شروع شده و در روزهای بعد افزایش یافت چنانکه تا روز دوازدهم به حداکثر واکنش رسید (تصویر ۱) و از آن پس کاهش پیدا نمود.

لکتین VVA: واکنش نوتوکورد در روز نهم به این لکتین منفی بود و در روز دهم در حالی که نوتوکورد در قسمت پشتی خود به لوله عصبی متصل است واکنش متوسطی مخصوصاً در محل غشاء پایه اطراف خود نشان داد (تصویر ۲).

منفی و در روز دهم به صورت خفیف ظاهر گردید و در روزهای یازدهم و دوازدهم در حد متوسط ادامه پیدا کرد. در روز دوازدهم (تصویر ۱) در اطراف نوتوکورد حلقه آبی رنگی مشاهده شد که حاصل واکنش غلاف نوتوکوردی با رنگ زمینه آلسین بلو می‌باشد. در پارانشیم اطراف نوتوکورد واکنشهای خفیف تا متوسط پراکنده‌ای مخصوصاً در بخش وینترال نوتوکورد در روز دوازدهم مشاهده شد که تا روز سیزدهم ادامه پیدا کرد و سپس منفی گردید.



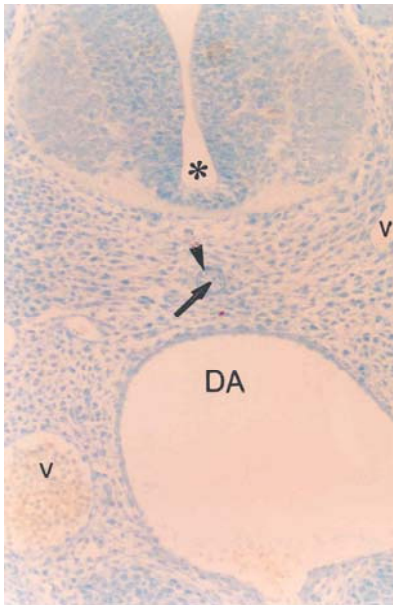
تصویر ۲: فتومیکروگراف مقطع عرضی جنین ده روزه که در مجاورت لکتین VVA قرار گرفته است. در این تصویر نوتوکورد (n) در قسمت پشتی خود به لوله عصبی (ستاره) متصل بوده و واکنش متوسطی به خصوص در ناحیه غشاء پایه (سرهای پیکان) با این لکتین نشان داده است. واکنشهای متوسطی در سطوح لومینال و خارجی لوله عصبی و همچنین در مزانشیم اطراف نوتوکورد از جمله در قسمت خلفی آنورت پشتی (DA) مشاهده می‌گردد (پیکانهای ظریف).



تصویر ۱: فتومیکروگراف مقطع عرضی جنین دوازده روزه که در مجاورت لکتین SBA قرار داده شده است. در این تصویر نوتوکورد (پیکان ضخیم) واکنش متوسطی با این لکتین نشان داده است و در اطراف آن حلقه آبی رنگی مشاهده می‌شود. آندوتلیوم آنورت پشتی (DA) و وریدها (V) واکنش شدیدی با این لکتین نشان داده‌اند (پیکانهای ظریف کوچک) واکنشهای پراکنده و خفیفی با این لکتین در مزانشیم اطراف نوتوکورد (نوکهای پیکان) به ویژه در بخش وینترال نوتوکورد دیده می‌شود. NT بیانگر لوله عصبی می‌باشد.

به علاوه لوله عصبی در روز یازدهم در سطوح لومینال و خارجی و همچنین در ناحیه گلژی سلولهای نوروپیتلیوم واکنش شدیدی به این لکتین نشان داد (تصویر ۳) (ناحیه گلژی شامل دستگاه گلژی سیتوپلاسم راسی و غشای پلاسمایی مجاور می‌باشد).

لکتین LTA: واکنش نوتوکورد به این لکتین در روزهای نهم و دهم جنینی خفیف و در روز یازدهم در حد متوسط ارزیابی گردید و تا روز دوازدهم از میان رفت (تصویر ۴). واکنش آندوتلیوم عروق نیز در تمام روزهای جنینی مورد مطالعه به این لکتین منفی بود.

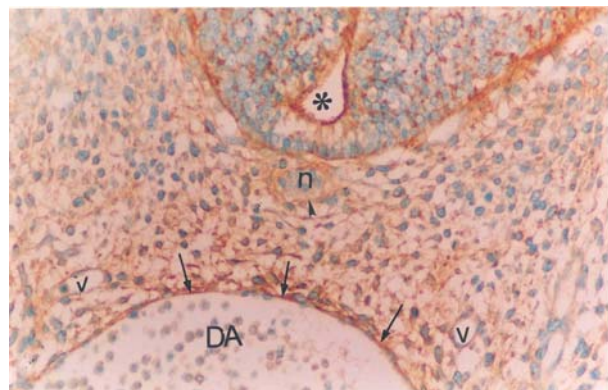


تصویر ۴: فتومیکروگراف مقطع عرضی جنین یازده روزه که در مجاورت لکتین LTA قرار داده شده است. در این تصویر نوتوکورد (پیکان ضخیم) هیچ واکنشی با این لکتین نشان نداده است. غشاء پایه اطراف نوتوکورد با رنگ زمینه آلسین بلو واکنش نشان داده است (نوک پیکان) لوله عصبی (ستاره) نیز با این لکتین واکنشی نشان نداده است. آئورت پشتی (DA) و وریدها (V) نیز هیچ واکنشی نشان نداده‌اند.

### بحث

مطالعات صورت گرفته در Zebrafish نشان داده است که آندوتلیوم عروق اصلی از سلولهای ICM که از حاشیه خلفی میانی مزودرم صفحه جانبی در جنین مرحله دوازده سوماتی

به علاوه واکنش متوسطی در مزانشیم اطراف نوتوکورد در حد متوسط ادامه پیدا کرد و از آن پس در روزهای بعد ناپدید گردید. واکنش آندوتلیوم عروق به این لکتین در روز نهم منفی و در روزهای دهم و یازدهم در حد خفیف، در روز دوازدهم در حد متوسط و در روزهای بعد کاهش پیدا کرد تا آنجا که از روز سیزدهم به بعد هیچ واکنشی مشاهده نگردید. لکتین MPA: واکنش نوتوکورد به این لکتین در روز نهم به صورت خفیف ظاهر گردید و در روزهای بعد افزایش پیدا نمود. در روز یازدهم واکنش متوسطی در سلولهای نوتوکوردی و واکنش متوسط تا نسبتاً شدیدی در مزانشیم اطراف آن (مخصوصاً در نزدیکی آئورت پشتی) مشاهده گردید (تصویر ۳). واکنش آندوتلیوم عروق محدوده نوتوکورد به این لکتین در روز نهم خفیف، در روز دهم متوسط و در روز یازدهم شدت یافت (تصویر ۳).



تصویر ۳: فتومیکروگراف مقطع عرضی جنین یازده روزه که در مجاورت لکتین MPA قرار گرفته است. در این تصویر نوتوکورد (n) در حالی که از لوله عصبی جدا گردیده است واکنش متوسطی به خصوص در محل غشاء پایه اطراف خود (نوکهای پیکان) نشان داده است. لوله عصبی (ستاره) در سطح لومینال، سطح خارجی و ناحیه گلژی سلولهای نوروپیتلیال واکنش شدیدی با این لکتین نشان داده است. آندوتلیوم آئورت پشتی (DA) واکنش شدیدی با این لکتین نشان داده است (پیکانها) مزانشیم اطراف نوتوکورد نیز به این لکتین واکنش متوسطی نشان داده است و این واکنش در نزدیکی آئورت پشتی شدید می‌باشد. حرف V مشخص کننده ورید می‌باشد.

جدا می‌شوند، تشکیل می‌شود. این سلولها در طول قسمت پشتی مجرای پرونفریک پخش شده و پیش‌سازهای سلولهای خون‌ساز و آندوتلیال را تشکیل می‌دهند (۲۷). سپس به طرف خط وسط مهاجرت نموده و در مرحله هیجده سومیتی بین نوتوکورد و آندودرم قرار می‌گیرند (۲۷).

از طرفی، مشخص گردیده است که نوتوکورد یکی از مهمترین عوامل هماهنگ کننده مزانشیم محوری است که فرایندهای مورفوژنتیک اسکروتوم، تمایزات لوله عصبی، عروق محوری و مشتقات آندودرمی مانند جوانه پشتی پانکراس را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۸ و ۱۰ و ۱۱ و ۳).

در مورد این موضوع که نوتوکورد چگونه تشکیل عروق اصلی را القاء می‌نماید، چند توضیح احتمالی قابل ذکر است. اول این که اثرات القایی می‌توانند مستقیماً به وسیله میان‌کنش بین ملکولهای ساخته شده در نوتوکورد و آنژیوبلاستهای در حال مهاجرت صورت گیرند. در صورت صحت این نظر ملکولهای قابل نفوذ از نوتوکورد ترشح شده و با رسپتورهای سلولهای ICM میان‌کنش می‌نمایند (۱۸). این سلولها می‌توانند در اثنای مهاجرت به طرف داخل، به میزان کافی به نوتوکورد نزدیک شوند تا مستقیماً تحت اثرات القایی آن قرار بگیرند (۱۸). ثانیاً این اثرات القایی می‌توانند به طور غیرمستقیم به وسیله تغییرات القایی نوتوکورد بر روی بافتهای مجاور که به نوبه خود بر روی سلولهای پیش‌ساز آندوتلیال اعمال اثر می‌نمایند، صورت گیرد. طریقه اخیر به وسیله ترشح مواد ویژه و یا از طریق ماتریکس خارج سلولی از قبیل فیبرونکتین قابل انجام است (۲۹ و ۳۰). در هر صورت مولکولهای مخابراتی در این پدیده نقش اساسی برعهده دارند.

در مطالعاتی که ما برای بررسی حضور و تغییرات برخی گلیکوکانژوگیتها در نوتوکورد و آندوتلیوم عروق محوری انجام دادیم، مشاهده نمودیم که نوتوکورد در طی روزهای

جنینی مورد مطالعه، با تمام لکتینهای به کار رفته واکنش نشان داد و این واکنش علاوه بر سیتوپلاسم، در غشاء پلاسمایی و ماتریکس خارج سلولی نیز مشاهده گردید. به علاوه آندوتلیوم عروق محوری نیز با تمام لکتینهای مورد استفاده به جز LTA واکنش نشان داد. واکنش سلولهای نوتوکوردی و آندوتلیوم عروق محوری با سه لکتین SBA، VVA و MPA (جدول ۲) که قند انتهایی اناستیل گالاتوز آمین را شناسایی می‌نمایند، مؤید این واقعیت است که در سلولهای این اعضا، گلیکوکانژوگیتهایی با قند انتهایی GalNac حضور داشته و در طی روزهای جنینی مورد مطالعه تغییراتی را نشان می‌دهند. بدینصورت که همگام با پیشرفت تکامل جنینی ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابند. اختلافات اندکی که در واکنش به این سه لکتین مشاهده می‌گردد، احتمالاً مربوط به شکل فضایی مولکول GalNac برای اتصال به لکتینهای مختلف، نحوه اتصال به قند ماقبل آخر و یا نوع قند ماقبل آخر<sup>۱</sup> می‌باشد. لکتین LTA که با قند انتهایی  $\alpha$ -L-Fucose باند می‌شود، فقط در سلولهای نوتوکوردی در روز نهم جنینی ظاهر گردیده و در روز یازدهم قدری افزایش نشان می‌دهد در حالی که واکنش آندوتلیوم عروق محوری به این لکتین منفی بوده و نشان از عدم حضور قند فوکوز در این سلولها دارد. مشاهده واکنشهای مثبت نوتوکوردی بر حضور انواعی از ترکیبات کربوهیدراته که به احتمال فراوان مربوط به سنتز پروتئوگلیکانها به وسیله این سلولها می‌باشند، دلالت دارد. به عنوان مثال تحقیقات نشان داده‌اند که لکتین PNA با الیگوساکاریدهایی باند می‌شود که محتوی ان استیل گالاتوز آمین می‌باشند و این الیگوساکاریدها بخشهایی از مولکولهای کندروئیتین و درماتان سولفات می‌باشند (۳۱). کندروئیتین و یا کراتان سولفات غنی از پروتئوگلیکانها در نوتوکورد جنینهای

<sup>۱</sup> Penultimate sugar

جوجه و انسان یافت شده‌اند (۳۲ و ۳۳). همچنین حضور گلیکوژن در سلولهای نوتوکورد جنینی انسان گزارش گردیده است که به لکتین GSII واکنش نشان می‌دهند (۳۴). لکتین Con A به وزیکولهایی باند می‌شود که محتوی پروکلاژن نوع II در کندروسیتها می‌باشند و این نوع کلاژن در سلولهای نوتوکورد جنینی انسان نیز بیان می‌شوند (۳۵). در مطالعات دیگری که در همین راستا با لکتین WGA صورت گرفت، سلولهای نوتوکوردی در جنینهای موش با این لکتین واکنش نشان دادند که دلالت بر وجود اسیدسیالیک در این سلولها می‌باشد. مطالعات صورت گرفته در جنینهای انسان و پرندگان نیز وجود اسیدسیالیک در سلولهای نوتوکوردی را نشان داده‌اند (۳۶). گلیکوکانژوگیتهای موجود در سلولهای نوتوکوردی که به وسیله لکتینها شناسایی می‌شوند، ممکن است مربوط به گلیکوپروتئینهای ترشحی از نوتوکورد از قبیل Sonic hedgehog (Shh) باشند که به عنوان مولکول مخابراتی انجام وظیفه می‌نماید (۳۷ و ۶). براساس نظر Concordet و همکارانش مولکولهای مخابراتی hedgehog مشتق شده از نوتوکورد می‌توانند مستقیماً بر روی آنژیوبلاستها اثرات القایی داشته و باعث تمایز آنها شوند (۳۸). همچنین از سلولهای القایی دیگر از قبیل FGF<sup>۱</sup>، eFGF و FGF-4 می‌توان نام برد که در نوتوکورد بیان می‌شوند (۳۹ و ۴۰). در این رابطه مشخص گردیده است که FGF بر روی سلولهای آندوتلیال خاصیت میتوژنیک دارد (۴۱) و رسپتورهای مربوط به این فاکتور در سلولهای آندوتلیال بالغ بیان می‌گردند (۴۲) و امکان دارد در آنژیوبلاستهای جنینی نیز بیان شوند (۱۸).

با توجه به یافته‌های حاصل از این پژوهش موارد ذیل را به

این صورت می‌توان نتیجه‌گیری نمود که اولاً نوتوکورد عضوی فوق‌العاده گلیکوزیله است زیرا با تمام لکتینهای مورد استفاده در این تحقیق و همچنین لکتین WGA که در مطالعات دیگر مورد استفاده قرار گرفت، واکنش نشان داده است که مؤید ظهور انواعی از قندهای انتهایی مختلف از قبیل ان استیل گالاکتوز آمین، فوکوز و اسید سیالیک در این عضو می‌باشد و این یافته بر گزارشات Gotz و همکارانش (۲۴) و Quondamatteo و همکارانش (۲۳ و ۲۴) منطبق می‌باشد. دوم این که به هر صورتی چه مستقیم و چه غیر مستقیم، نوتوکورد در القای آندوتلیوم عروق اصلی نقش داشته باشد، قند انتهایی GalNac که با هر سه لکتین اختصاصی مورد استفاده هم در سلولهای نوتوکوردی و هم آندوتلیوم عروق اصلی واکنش نشان داده است، ممکن است در پدیده القای آندوتلیوم عروق اصلی به وسیله نوتوکورد نقش کلیدی ایفا نماید. سوم این که هر نوع مولکول مخابراتی که در فرایند عروق نقش داشته باشد احتمالاً دارای ترکیبی گلیکوپروتئینی بوده و قند انتهایی آن ان استیل گالاکتوز آمین خواهد بود. چهارم این که گلیکوکانژوگیتهای دارای قند انتهایی فوکوز احتمالاً در پدیده القای عروق به وسیله نوتوکورد نقشی نخواهد داشت.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از نتایج حاصله مربوط به طرح پژوهشی مصوب شده از جانب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد است. لذا از آن معاونت محترم و زحمات سرکار خانم متجدد در جهت تهیه و آماده‌سازی برشهای بافتی مربوط به این پژوهش قدردانی می‌شود.

<sup>۱</sup> FGF: Fibroblast Growth Factor

## منابع

- 1) Placzek M, Dodd J, Jessel TM. The case for floor plate induction by the notochord. *Current Opinion in Neurobiology* 2000; 10: 15-22.
- 2) Placzek M, Tessier Lavigne M, Yamada T, Jessel T, Dodd J. Mesodermal control of neural cells identity: floor plate induction by the Notochord. *Science*. 1990; 250: 985-988.
- 3) Yamada T, Pfaff SL, Edlund T, Jessel TM. Control of cell pattern in the neural tube: motor neuron induction by diffusible factors from notochord and floor plate *Cell*. 1993;73: 673-686.
- 4) Trousse F, Giess MC, Soula C, Ghandour S, Dupart AM, Cochard P. Notochord and floor plate stimulate oligodendrocyte differentiation in cultures of the chick dorsal neural tube. *J. Neurosci. Res* 1995; 41: 552-560.
- 5) Fan CM, Tessier Lavigne M. Patterning of mamalian somites by surface ectoderm and notochord:evidence for sclerotome induction by a hedgehog homolog *Cell*. 1994; 79:1175-1186.
- 6) Dockter JL. Sclerotome induction and differentiation. *Current Top Biol* 2000; 48:77-127.
- 7) Kimelman D, Griffin K. Vertebrate mesoderm induction and patterning. *Curr Opi Gen Dev*. 2000; 10: 350-356.
- 8) Brand Saberi B, Ebensperger C, Wilting J, Balling R, Christ B. The ventralizing effect of the notochord on somite differentiation in chick embryos. *Anat. Embryol. (Berlin)* 1993; 188: 239-245.
- 9) Schwitzgebel VM. Programming of the pancreas. *Molecular and cellular Endocrinology*. 2001; 185: 99-108.
- 10) Edlund H. Pancreas: how to get there from the gut? *Current Opinion in Cell Biology*. 1999; 11: 663-668.
- 11) Dilorio PJ, Moss JB, Sbrogna JL, Karlstrom RO, Moss LG. Sonic hedgehog is required early in pancreatic islet development . *Developmental Biology*. 2002; 244: 75-84.
- 12) Cleaver O, Kerieg PA. Notochord patterning of the endoderm. *Developmental Biology*. 2001; 234: 1-12.
- 13) Gleiberman AS, Fedtsova NG, Rosenfeld MG. Tissue interaction in the induction of anterior pituitary: Role of the ventral diencephalon, mesenchyme and notochord. *Developmental Biology*. 1999; 213: 340-353.
- 14) Eyal-Giladi H. The notochord as inductor of the orohypophysis in urodeles (*Pleurodeles waltii*). *Proc K Med Wet (Amsterdam)*. 1958; 61: 224-234.
- 15) Goldstein AM, Fishman MC. Notochord regulates cardiac lineage in zebrafish embryos. *Developmental Biology*. 1998; 201: 247-252.
- 16) Danos MC, Yost HJ. Role of the notochord in specification of cardiac left-right orientation in zebrafish and xenopus. *Developmental Biology*. 1996; 177: 96-103.
- 17) Fouquet B Weistein BM Serluca FC, Fishman MC. Vessel patterning in the embryo of the zebrafish: Guidance by notochord. *Developmental Biology*. 1997; 183: 37-48.
- 18) Sumoy L, Keasey JB, Dittman TD, Kimelman D. A role for notochord in axial vasuclar development revealed by analysis of phenotype and the expression of VEGF-2 in zebrafish flh and nt1 mutant embryos. *Mechanism of development*. 1997; 63: 15-27.
- 19) Q asba PK. Involvement of sugars in protein – protein interactions. *Carbohydrate polymers*. 2000; 41: 293-309.
- 20) Spicer SS, Schulte BA. Diversity of cell glycoconjugates shown histochemically: a perspective. *J Histochem Cytochem*. 1992; 40: 1-38.
- 21) Damjanov I: *Biology of disease. Lectin cytochemistry and histochemistry*. Lab Invest. 1987; 57: 5-20.
- 22) Bancroft JD, Steven A. *Theory and practice of histological techniques*. Fifth edition. New York. Churchill Livingstone. 2002; PP: 20-82.
- 23) Fazel A, Schulte B, Thompson R. Lectin histochemistry of the embryonic heart :Fucose-specific lectin binding sites in developing rats and chicks. *Am J Anat*. 1989; 184: 76-84.
- 24) Gotz W, Quondumatteo F. Glycoconjugate distribution in early human notochord and axial



- mesenchyme. *Acta Histochem.* 2001; 103: 21-35.
- 25) Ganji FC, Fazel AR. Lectin-binding pattern in the microenvironment of the mouse developing T-cell. *Iranian Biomedical Journal.* 2003; 7 (1) : 19-22.
- 26) Gong H, Wen YE, Freddo TF, Hernandez MR. Hyaluronic acid in the normal and glaucomatous optic nerve. *EXP Eye Res.* 1997; 64:587-595.
- 27) Al-Ahmadi MA, Kuns YW. Ontogenesis of haematopoietic sites in *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan) (teleostei). *Dev Growth Differ.* 1977; 19: 171-179.
- 28) Monsoro-Burq AH, Le Douarin N. Duality of molecular signaling involved in vertebral chondrogenesis. *Current Top Developmental Biology.* 2000; 48: 43-75.
- 29) Risau W, Lemmon V. Changes in the vascular extracellular matrix during embryonic vasculogenesis and angiogenesis. *Developmental Biology.* 1988; 125(4): 441-450.
- 30) Risau W, Lemmon V. Changes in the vascular extracellular matrix during embryonic vasculogenesis and angiogenesis. *Developmental Biology.* 1988; 125: 441-450.
- 31) Hoedt-Schmidt S, McClure J, Jasani MK, Kalbhen DA. Immunohistochemical localization of articular cartilage proteoglycan and link protein in situ monoclonal antibodies and lectin-binding methods. *Histochem J.* 1993; 99: 391-403.
- 32) Oettinger HF, Thal G, Sasse J, Holtzer H, Pacific M. Immunological analysis of chick notochord and cartilage matrix development with antisera to cartilage matrix macromolecules. *Developmental Biology.* 1985; 109: 63-71.
- 33) Gotz W, Osmers R, Herken. Localisation of extracellular matrix component in the embryonic human notochord and axial mesenchyme. *J Anat* 1995; 186: 111-121.
- 34) Hennigar RA, Schulte BA, Spicer SS. Histochemical detection of glycogen using *Griffonia simplicifolia* agglutinin II. *Histochem J.* 1989; 18: 589-596.
- 35) Krenzel S, Gotz W, Herken R. Expression pattern of type II collagen mRNA during early vertebral development in the human embryo. *Anat Embryol.* 1996; 193: 43-51.
- 36) Loveless W, Bellairs R, Thorpe SJ, Page M, Feizi T. Developmental patterning of the carbohydrate antigen FC 10.2 during early embryogenesis in the chick. *Development.* 1990; 108: 97-106.
- 37) Weed M, Mundlos S, Morell JJ. The role of sonic hedgehog in vertebrate development. *Matrix Biol.* 1997; 16: 53-58.
- 38) Concordet JP, Lewis KE, Moore JW, Goodrich LV, Johnson RL, Scott MP, Ingham PW. Spatial regulation of a zebrafish patched homologue reflects the roles of sonic hedgehog and protein kinase A in neural tube and somite patterning. *Development.* 1996; 122: 2835-2846.
- 39) Isaacs HV, Pownall ME, Slack JM. eFGF is expressed in the dorsal midline of *xenopus laevis*. *Int J Developmental Biology.* 1995; 39: 575-579.
- 40) Thisse B, Thisse C, Weston JA. Novel FGF receptor (Z-FGF-4) is dynamically expressed in mesoderm and neuroectoderm during early zebrafish embryogenesis. *Dev Dyn.* 1995; 203(3): 377-391.
- 41) Risau W. Embryonic angiogenesis factors. *Pharmacol Ther.* 1991; 51: 371-376.
- 42) Roghani M, Moscatelli D. Basic fibroblast growth factor is internalized through both receptor-mediated and heparan sulphate-mediated mechanisms. *J Biol Chem.* 1992; 267: 22156-22162.
- 43) Quondamatteo F, Zieger J, Gots W, Miosge N, Herken R. Extensive glycosylation changes revealed by lectin histochemistry in morphologically normal tissues of the mouse mutant undulated (un/un). *Anat-Rec.* 2000; 258(3): 243-51.