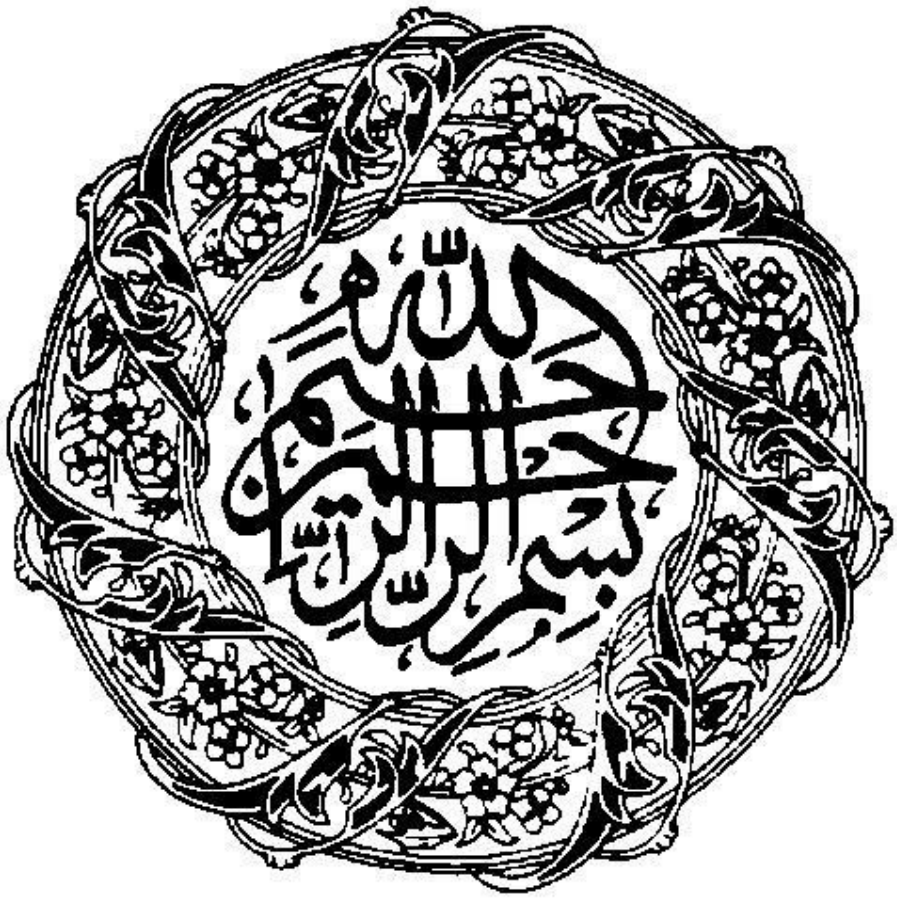

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تربیت معلم تهران

دانشکده علوم پایه-گروه زیست شناسی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

موضوع:

بررسی تداخل اثر نیتریک اکساید و استروژن بر حافظه و یادگیری در موش های صحرایی تخمدان برداری شده

استاد راهنما:

سرکار خانم دکتر شهربانو عریان

استاد مشاور:

جناب آقای دکتر سید محمود حسینی

مولف :

راحله حیدری

بهمن ۱۳۸۷

تقدیم به آفتابِ مهر

به درخششِ ستاره

به صلابتِ کوه

به زلالِ محبت

به جوششِ احساس

به نوازشِ نسیم

به پاکیِ شبنم

به آرامشِ دریا

به شکوهِ طبیعت

تقدیم به پیوند ازلیت و ابدیت

تقدیم به مادرم

دوست دارد یار این آشفتگی

کوشش بیهوده به از خفتگی

اندر این ره می تراش و می خراش

تا دم آخر دمی غافل مباش

کنون که به رسم ناپایداری روزگار، فصلی دیگر از زندگی تحصیلیم رو به پایان است بر خود دانسته ام تا با مرور روزها ی تلخ و شیرین این فصل ، قدردانِ بزرگانی باشم که از پیشگاهِ هر یک به قدر وسع خویش بهره جسته ام .

اساتیدِ برجسته و بزرگوارم « **سرکار خانم دکتر شهربانو عریان» که مدبرانه راهنمایی این پایان نامه را به عهده داشته اند** و«**سرکار خانم دکتر پروین رستمی** » که اصالت علمشان و شیرینی کلامشان ، تلخی غربت و دوری از خانواده را بر من آسان ساخت.

استاد تواضع و اخلاق « **جناب آقای دکتر سید محمود حسینی** » که زحمت مشاوره پایان نامه را بر عهده داشتند و در طی اجرای پایان نامه از راهنمائی های دلسوزانه ایشان بهره برده ام.

و

همگامانِ همیشگی لحظاتِ پر تب و تابِ زندگی ، « **خانواده عزیزم** » که صبورانه یاریم داده اند.

امید آنکه این تلاش کوچک اما صادقانه در پیشگاهِ **جانان** قبول افتد و نورِ خِرَد روشنگر راهِ فردایم باشد.

چکیده

یائسگی شروع دوره جدیدی در زندگی زنان است که با کاهش قابل توجه استروژن همراهست.

زنان بطور متوسط یک سوم عمر خود را در شرایط فیزیولوژیک با سطوح پایین استروژن بسر می برند.یکی از علائم کلینیکی و مشکلاتی است که توسط زنان یائسه گزارش می شود اختلالات شناختی و حافظه است. مشاهدات متعددی حاکی از آنست که گیرنده های استروژن در رفتارهای غیر تولید مثلی نیز وارد عمل می شوند مانند آن دسته از رفتارهایی که مستلزم شناخت و تشخیص فضایی هیپوکامپی هستند. در حالی که استروژن می تواند بعضی جنبه های یادگیری را تقویت کند ، بر برخی جنبه های دیگر آن اثر اختلالی دارد. شواهد نشان می دهد تیمار استروژن بر جوندگان OVX جوان موجب ارتقاء یادگیری و حافظه فضایی و غیرفضایی می شود . برخی محققان اثر خاصی در زمینه حافظه و یادگیری برای استروژن قائل نیستند در حالیکه برخی دیگر دریافته اند استروژن ها تاثیرات مثبت بر عملکرد حافظه فضایی دارند .

با توجه به برهمکنش سیستم های نوروترانسمیتری به ویژه نیتریک اکساید با استروژن ، تداخل اثر این دو مسیر در موش های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت .

در این مطالعه 60 سر موش صحرایی ماده، نژاد ویستار، با محدوده وزنی ۱۰±۱۶۰گرم و سن ۸ هفته بکار گرفته شد. از این تعداد بطور تصادفی نیمی تحت عمل تخمدان برداری قرار گرفته و سایر موش ها تحت عمل باز شکم بدون تخمدان برداری قرار گرفتند. گروه های شم و OVX تحت تیمار شش هفته ای با تزریق هفتگی استرادیول والرات بصورت عضلانی و تیمار روزانه با

L-Arginine و L-NAME بصورت تزریق داخل صفاقی قرار گرفتند. در پایان دوره تیمار، تست ماز آبی به منظور بررسی عملکرد حافظه فضایی صورت گرفت.نتایج نشان داد سه شاخصه اصلی طول مسافت ، زمان تاخیری و سرعت در گروه های تحت تیمار با استرادیول و L-Arginine نسبت به گروه های بدون تیمار با استرادیول اما برخوردار از L-Arginine دارای تفاوت معنی دار می باشند. تحلیل آماری داده ها شرح داد اگرچه افزایش سطح سرمی استروژن به موازات نیتریک اکساید بر فرایند بازیابی حافظه تاثیر مثبت دارد اما این تاثیر بیشتر وابسته به حضور دوزهای خاص استروژن است .

فهرست مطالب

مقدمه ۲

یادگیری ۶

انواع یادگیری ..... ۶.

حافظه بیانی ۸

حافظه غیربیانی ۹

حافظه کوتاه مدت ۱۰

حافظه بلندمدت ۱۱

اساس فیزیولوژیک حافظه ۱۲

اساس فیزیولوژیکی حافظه کوتاه مدت ۱۲

اساس فیزیولوژیکی حافظه بلند مدت ۱۴

تثبیت حافظه ۱۷

تقویت بلند مدت (LTP) ۱۷

میانجی های عصبی موثر در فرایند حافظه ۲۰

نیتریک اکساید ۲۳

سنتز و حذف نیتریک اکساید ۲۳

پیش ساز نیتریک اکساید ۲۵

نیتریک اکساید سنتاز ۲۶

مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز ۲۷

نیتریک اکساید و مراحل یادگیری و حافظه ۲۸

نیتریک اکساید و حافظه کوتاه مدت ۲۹

نیتریک اکساید و LTP هیپوکامپی ۲۹

حافظه و استروژن ۳۱
مواد و روش ها ۳۵
مواد ۳۶
وسایل ۳۶
دستگاه ها ۳۷
حیوانات ۳۷
شرایط نگهداری ۳۷
تخمدان برداری Ovariectomy ۳۹
Morris Water Maze ۴۴
روش اجرای طرح ۴۷
نتایج ۴۹
نمودار۱..... ۵۱
نمودار ۲..... ۵۲
نمودار ۳..... ۵۳
نمودار ۴..... ۵۴
نمودار ۵..... ۵۵
نمودار ۶..... ۵۶
نمودار ۷..... ۵۷
نمودار ۸..... ۵۸
نمودار۹..... ۵۹
نمودار۱۰. ..... ۶۰
نمودار۱۱..... ۶۱
نمودار ۱۲..... ۶۲

نمودار۱۳.....۶۳

نمودار۱۴.....۶۴

نمودار۱۵.....۶۵

نمودار۱۶.....۶۶

نمودار ۱۷.....۶۷

نمودار ۱۸. .....۶۸

نمودار سطح سرمی نیتریک اکساید.....۶۹

تغییرات وزنی.....۷۰

بحث ۷۲

تغییرات وزنی ۸۱

چشم اندازهای آینده.....۸۳

منابع ۸۴

چکیده انگلیسی.....۹۸

فصل اول :

مقدمه

مقدمه

یائسگی شروع دوره جدیدی در زندگی زنان است که با کاهش قابل توجه استروژن همراهست. آمارها نشان می دهد میانگین سن یائسگی ۵۰ سالگی می باشد بنابراین زنان بطور متوسط یک سوم عمر خود را در شرایط فیزیولوژیک با سطوح پایین استروژن بسر می برند.(Bhavnani,2003).

اگر چه یائسگی دوره ای طبیعی در زندگی زنان است اماهمراه با مشکلاتی از قبیل پوکی استخوان ،بیماری های قلبی – عروقی ، سرطان و انواع بیماری های عصبی می باشد (Tinkler et al. ,2005) .

مکانیسم های دقیقی که از طریق آن ها استروژن بر اعمال شناختی تاثیر می گذارد هنوز به خوبی درک نشده است . مشابه انسان ، جوندگان نیز همپای کاهش استروژن ، افت یادگیری و اعمال شناختی را از خود نشان می دهند (Markham et al.,2002) .

استروژن اثرات قابل توجهی بر اعمال سیناپسی هیپوکامپی دارد. استروژن تراکم خارهای دندریتی هیپوکامپی را افزایش داده و تعداد واریکوزیته هایی که می توانند سیناپس های چندگانه با سلول های مختلف ایجاد کنند را افزایش می دهد (Segal et al. 2001) .

یکی از علائم کلینیکی که توسط زنان یائسه گزارش می شود اختلالات شناختی و حافظه است. مشاهدات متعددی حاکی از آنست که گیرنده های استروژن در رفتارهای غیر تولید مثلی نیز نقش دارند مانند آن دسته از رفتارهایی که مستلزم شناخت و تشخیص فضایی هیپوکامپی هستند. بطور مثال در طی دوره پرواستروس و یا متعاقب تزریقات استرادیول ، موش های ماده عملکرد فضایی ضعیف تری از خود نشان می دهند . از طرفی آناتومی و فیزیولوژی هیپوکامپ نیز با سطوح متفاوت استرادیول و تیمار با استروژن تغییر می کند. این امر می تواند شواهد مورد نیاز برای توضیح مکانیسم نوروبیولوژیک تاثیر استروژن بر عملکرد فضایی و حافظه را فراهم آورد(Varga et al.,2001) .

استروژن بر سایر فرایند های ارسال سیگنال سیناپسی از جمله حفظ تعادل فعالیت فسفاتازها و کینازها تاثیر می گذارد (Sharrow et al.,2001) .

در حالی که استروژن می تواند بعضی جنبه های یادگیری را تقویت کند ، بر برخی جنبه های دیگر آن اثر اختلالی دارد. نتایج مطالعات متعدد نشان داده ، استروژن تاثیر مثبت بر آن دسته از اموری دارد که بدوا" نیازمند حافظه کاری می باشند (Bimonte et al., 1999 , Fader et al.,1997).

شواهد نشان می دهد که تیمار جوندگان OVX جوان با استروژن موجب ارتقاء یادگیری و حافظه فضایی و غیرفضایی می شود (Heikkinen et al.,2004).

استروژن اثر تنظیمی بر گیرنده های NMDA دارد که این اثر خود از طریق گیرنده های استروژنی نوع آلفا و بتا صورت می گیرد. این گیرنده ها در هیپوکامپوس و نئوکورتکس بیان می شوند. احتمال می رود برهمکنش استروژن با سایر سیستم های میانجی های عصبی نظیر سیستم کولینرژیک بر سیستم گلوتاماتی و گیرنده های NMDA اثر گذاشته و نهایتا" تاثیرات رفتاری حافظه و یادگیری را تنظیم نماید.

توانایی استروژن در تغییر اتصالات گیرنده NMDA به CA1 به توانایی آن در تغییر سیستم کولینرژیک مرتبط می باشد.مطالعات قبلی نشان داده که استرادیول اثر دو گانه ای بر گیرنده های NMDA دارد. استرادیول با تقویت اعمال شناختی اثرات حفاظتی خود از بافت عصبی را نیز بروز می دهد. بنابراین گمان می رود ، استروژن مسئول تغییرات عملکرد حافظه در سیکل قاعدگی نیز باشد (Elbakri et al.,2004) .

از جمله مکانیسم های مطرح در زمینه نحوه اثر استروژن ها بر حافظه ، موارد زیر قابل ذکر می باشند:

توانایی استرادیول در تغییر حساسیت نورون های هیپوکامپی به گلوتامات

فعالسازی زیر گروهی از نورون های گاباارژیک هیپوکامپی

تاثیر بالقوه استرادیول بر کولین استیل ترانسفراز

توانایی استرادیول در افزایش سطوح آدنوزین مونوفسفات حلقوی در هیپوتالاموس

تاثیرات استروژن بر پلاستیسیتی سیناپسی

OVX : Ovariectomy

NMDA : N-Methyl-D-Aspartat

تاثیر استروژن بر رفتارهای غیر تولید مثلی امروزه به خوبی بررسی شده است اما تاثیر استروژن بر حافظه و یادگیری و چگونگی محل اثر آن مورد اختلاف است. برخی محققان اثر خاصی در زمینه حافظه و یادگیری برای استروژن قائل نیستند در حالیکه برخی دیگر دریافته اند استروژن ها تاثیرات مثبت بر عملکرد حافظه فضایی دارند (Varga et al.,2001).

بنابراین با توجه به برهمکنش سیستم های نوروترانسمیتری به ویژه نیتریک اکساید با استروژن ، تداخل اثر این دو مسیر در موش های ویستار مورد بررسی قرار می گیرد. ابتدا خلاصه ای از مفاهیم یادگیری و حافظه و سپس برهمکنش نیتریک اکساید و استروژن مرور شده و سپس به تحلیل نتایج پرداخته می شود.

فصل دوم :

مروری بر مطالعات پیشین

یادگیری

یادگیری اشاره به فرایندی است که بوسیله آن تجارب ، سیستم عصبی و به تبع آن رفتار ما را تغییر می دهد , (Graham1990)مفهوم یادگیری ساخته ذهن بشر است . یادگیری اشاره به توانایی مجزا و ویژه ای ندارد ، بلکه در ارتباط با گروهی از توانائی ها ست که همگی در یک امر مشترک می باشند . وقتی یک موجود زنده تجربه ای را به دست می آورد و این تجربه نحوهٔ پاسخ دهی او را نسبت به محیط تغییر می دهد ، گفته می شود یادگیری اتفاق افتاده است(Graham 1990). در یک تعریف ساده یادگیری را می توان دادن پاسخ مناسب به محرک ، بر حسب تجربه، توسط موجود زنده دانست (Vander et al. , 1978 ; Kapit et al.,1987) یا بطور ساده تری یادگیری ، قدرت تغییر رفتار بر اساس تجارب قبلی است (گانونگ ۱۳۷۲) .

انواع یادگیری

ساده ترین اشکال یادگیری عبارتند از : خوگیری ، حساس شدن ،شرطی سازی کلاسیک ، شرطی سازی ابزاری ، یادگیری ادراکی ، یادگیری حرکتی و یادگیری کلامی و شناختی .

تا حدودی انواع یادگیری با یکدیگر همپوشانی دارند که به تنهایی نمی توانند تمام موقعیت های یادگیری را در بر گیرند (Graham 1990) .

حافظه

"یادگیری" فرایند کسب اطلاعات و آگاهی است و" حافظه" مجموعه روندهایی را در بر می گیرد که منجر به فراخوانی یا ذخیره اطلاعات می شود.

انتهای یادگیری به عنوان « حافظه » تعریف می شود (Alaei 2007) . حافظه توانایی به خاطر آوردن تجربیات گذشته در سطح خود آگاه یا ناخود آگاه است . به عبارت بهتر حافظه عبارتست از : تغییر و تحول دائمی سیستم عصبی که تحت تاثیر اطلاعات ورودی محیطی و فعالیت ذاتی خود سیستم عصبی اتفاق می افتد. در واقع یکی از برجسته ترین ویژگی های قشر مغز ، توانایی آن در نگهداری ، اصلاح و بازیابی اطلاعاتی است که از برهمکنش حس ها بدست آمده و اساس حافظه ارتباطی (تداعی) و پایه فراگیری علوم می باشد (Chaffee and Goldman-Rakic, 1980) . عمل حافظه توسط مناطق مختلف مغز انجام می پذیرد و ظاهراً در قسمت های مشخصی از مغز متمرکز نشده است . اگر چه تحقیقات نشان داده است که هیپوکامپ نقش مهمی در فرایند حافظه ایفا می کند (Jacob et al, 1982) . تشکیل حافظه و فراخوانی آن حداقل شامل ۴ مرحله است :

۱)دریافت اطلاعات ۲) تشکیل یک مسیر حافظه ۳) تحکیم یا تثبیت مسیر حافظه ۴) فراخوانی مسیر حافظه (Alaei 2007) .

طبقه بندی حافظه بر اساس نوع یادگیری

" اسکور" و " زولامورگان " (۱۹۸۸) ، حافظه را به دو بخش تقسیم بندی کردند : حافظه بیانی (اظهاری) ، حافظه غیر بیانی (غیر اظهاری) .

حافظه بیانی (اظهاری *)

حافظه بیانی همان نوعی است که عموم مردم آنرا به عنوان حافظه می شناسند . حافظه بیانی خودآگاه است و شامل : وقایع ، حقایق و اطلاعات عمومی پیرامون تجربیات کسب شده می باشد . تقریباً تمام تحصیلات ما جزء این نوع حافظه به حساب می آید(Graham 1990). این نوع حافظه به شدت انعطاف پذیر است و در ارتباط دهی تکه پاره های متعدد اطلاعات دخالت دارد .

Endel Tulving روانشناس اولین بار این عقیده را که می توان حافظهٔ بیانی را بصورت " ضمنی " (یک حافظه برای وقایع و تجارب شخصی) یا « معنایی » (یک حافظه برای حقایق) طبقه بندی کرد، توسعه داد . برای مثال ما حافظه ضمنی را زمانیکه اولین گلی را که در بهار سال قبل دیده ایم یا صدای آهنگ بتهون را که چندین ماه قبل شنیده ایم به خاطر می آوریم ، مورد استفاده قرار می دهیم . در حالیکه حافظه معنایی را زمانیکه به ذخیره یا فراخوانی دانش عینی ، نوعی از دانش که ما در مدرسه وازکتاب آموخته ایم می پردازیم،بکار می گیریم(Kandel et al,2000) .

این حافظه به دو نوع : حافظه کار و مرجع نیز قابل تقسیم است .

---

* حافظه بیانی : Explicit memory

حافظه غیر بیانی (غیر اظهاری *)

این نوع حافظه برای ذهن خود آگاه ما قابل دسترسی نیست . زمانیکه کاری انجام می دهیم ، حافظهٔ غیر بیانی ما فعال می شود . در اینجا کوشش آگاهانه برای به یاد آوردن انجام نمی دهیم . برای مثال ، حافظه ما در مورد فعالیت های تایپ کردن ، چرخاندن چوب گلف یا نفرت و علاقمندی به شخصی بخصوص ، غیر بیانی است . برای مثال به یاد آوردن چگونگی راندن یک دوچرخه ، حافظه غیر بیانی است . اما به یاد آوردن اینکه توانایی راندن یک دوچرخه را داریم ، حافظه بیانی است .

طبقه بندی حافظه بر اساس زمان فراخوانی اطلاعات :

دیر زمانی است که روانشناسان شناختی عنوان کرده اند که دو نوع حافظه مجزا وجود دارد : حافظه کوتاه مدت و حافظه بلند مدت .

---

* حافظه غیر بیانی : Implicit memory

حافظه کوتاه مدت (* STM)

در این نوع حافظه اطلاعات برای چند هزارم ثانیه تا چند دقیقه ذخیره می شود . بر طبق بازیابی اطلاعات این حافظه می تواند به دو گروه تقسیم بندی شود :

حافظه حسی

این نوع حافظه در واقع حفظ علائم حسی در مناطق حسی مغز برای مدت زمان بسیار کوتاهی پس از آن است که تجربه حسی به انجام می رسد . به طور معمول این علائم حسی برای مدت چند صد هزارم ثانیه باقی می مانند تا تجزیه و تحلیل گردند اما در کمتر از یک ثانیه جای خود را به علائم حسی می دهند . با این وجود در همین زمان اندک نیز علائم حسی برای تنظیم بیشتر و مهمتر از آن برای انتخاب نکات مهم مورد استفاده قرار می گیرد . حافظه حسی ، مرحله ابتدایی فرایند حافظه را تشکیل می دهد (طوری ۱۳۷۴ و Alaei 2007) .

حافظه اول (Primary Memory)

به خاطر سپردن چند کلمه ، عدد ، حروف الفبا و نظایر آن برای چند ثانیه تا چند دقیقه ، «حافظه اول» می باشد . نمونهٔ عینی این نوع حافظه توانایی شخص برای به خاطر سپردن یک شماره تلفن به مدت کوتاهی پس از پیدا کردن آن در دفتر راهنمای تلفن می باشد . از مشخصات این نوع حافظه ناپایداری آن است . یعنی با ورود اطلاعات جدید ، در اطلاعات قدیمی تزلزل ایجاد می شود . مشخصه دیگر آن این است که اطلاعات موجود در انبار این حافظه به طور آنی در دسترس است و شخص مجبور نیست بر خلاف اطلاعات ذخیره شده در انبارهای حافظه ثانویه ، در ذهن خود به دنبال آن بگردد . ضایعات هیپوکامپی این نوع حافظه را تحت تأثیر قرار نداده و در صورت تکرار نشدن ، در ظرف مدت کوتاهی اطلاعات از بین می رود (Gerrard et al,2006) .

STM: Short term memory

حافظه بلند مدت : (* LTM)

حافظه بلند مدت فوق العاده پایدار و بادوام است . حتی وقتی که آسیب شدید به مغز وارد شود این حافظه باقی می ماند .

این نوع حافظه نیز به دو نوع قابل تقسیم است :

حافظه دوم (حد واسط)

حافظهٔ دوم عبارتست از : ذخیره اطلاعات در مغز به صورتی که بتوان آنها را در زمانهای آینده (ساعت ها ، روزها ، ماهها یا حتی سالها بعد) به خاطر آورد . این نوع حافظه فرد را قادر می سازد یک آدرس را تا رسیدن به مقصد به خاطر آورد . یادگیری در این سطح حافظه معمولاً به چندین ساعت نیاز دارد تا کامل شود . اما همینکه اطلاعات ذخیره شد یا تثبیت گردید ، برای تمام عمر پایدار باقی می ماند . اطلاعات ذخیره شده در این نوع حافظه بطور آنی در دسترس نیست ، به استثنای مواردی که خاطره عمیقاً در ذهن نقش بسته باشد . حافظه می تواند بطور عمیقی بوسیله برخورد ناگهانی وقایع مهم یا بوسیله یادگیری مکرر در ذهن نقش ببندد (Alaei 2007) . به هر حال شخص برای فراخوانی اطلاعات ذخیره شده در این حافظه به چند ثانیه تا چند دقیقه زمان نیاز دارد.

حافظه سوم (ثابت)

این نوع حافظه به خوبی در ذهن نقش می بندد بطوریکه حافظه معمولاً تا پایان عمر شخص باقی می ماند . به همین دلیل آنرا حافظهٔ ثابت یا دائمی نیز می نامند . اطلاعات و اسناد حافظه دوم که بطور منظم بکار گرفته شوند : مانند نام هر شخص یا اعضاء خانواده او ، به حافظهٔ سوم وارد شده و هرگز دچار فراموشی نمی شود (به جز تروما یا تداخل بیماری ها) (طوری ۱۳۷۴ و Alaei 2007)

LTM: Long term memory

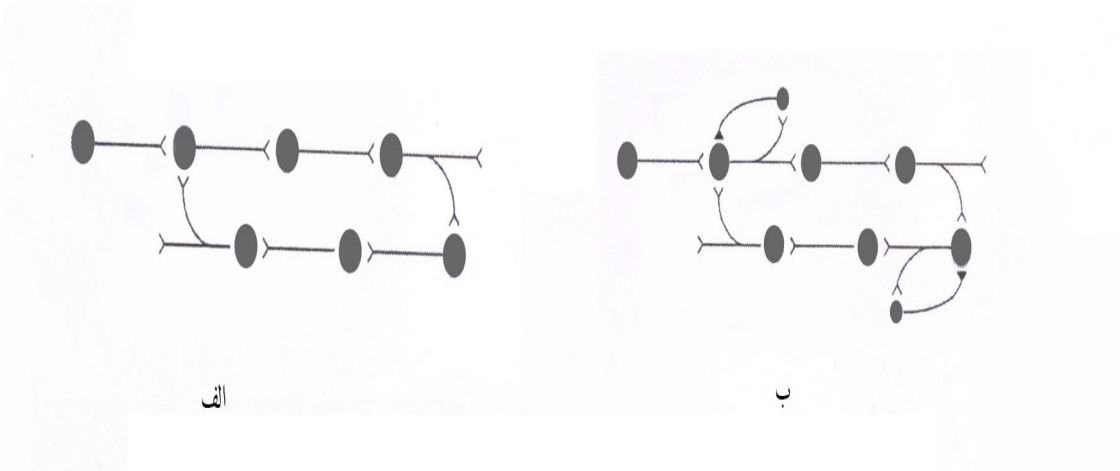
اساس فیزیولوژیکی حافظه

اساس فیزیولوژیکی حافظه کوتاه مدت

نظریه مدار باز ارتعاشی

رایج ترین اساس پیشنهادی اکثر محققان برای STM فعالیت یک « مدار باز ارتعاشی » است .

اگر هر سلول در مدار بتواند سلول پس سیناپسی خود را تحریک کند ، فعالیت در این حلقه بعد از اینکه نورون درون دادی به اندازه کافی فعال شد ، ادامه خواهد داشت . این ارتعاش پیوسته به این معناست که مدار برون دادی را برای قسمت های دیگر سیستم عصبی ، بعد از اینکه رویداد تحریک آمیز اولیه خاتمه یافت فراهم می آورد . کالبد شناسی عصبی نشان می دهد که مدارهای حلقوی در مغز وجود دارد . اغلب هسته های تالاموس نه تنها آکسون خود را به قسمت هایی از قشر می فرستند ، بلکه همچنین دریافت هایی نیز به صورت برگشتی از قشر دارند . گاهی این دریافت ها از هسته های دیگری است که در تالاموس وجود دارند (شکل ۱).



شکل ۱ الف – اگر فرض کنیم که هر نورون می تواند سلول پس سیناپسی خود را تحریک کند ، پس یک تکانه در آکسون سلول بالا سمت چپ می تواند فعالیتی را در حلقه ای راه اندازد که تا هنگامی که یکی از سلول ها خسته شود ، ادامه داشته باشد(Graham 1990).