

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده علوم طبیعی

گروه علوم جانوری

رساله برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (MS) در رشته زیست شناسی گرایش فیزیولوژی

جانوری

عنوان:

بررسی نقش سیستم نیتریک اکساید بر حافظه‌ی فضایی و استرس اکسیداتیو طی بیماری

مالتیپل اسکلروزیس در موش های صحرائی نر

استاد راهنما:

دکتر حمیرا حاتمی نعمتی

دکتر علی رضا علی همتی

پژوهشگر:

زاهده رحیملوی مرجانی

مهر ماه ۱۳۹۲

سپاس خدای را که سخنوران، دستوران او بمانند و شانندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را کزاردن نتوانند. و سلام و دور در محمد و

خندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان و لمدار وجودشان است؛

این پایان نامه را ضمن تشکر و سپاس بیکران و در کمال افتخار و اتقان تقدیم می نمایم به:

- محضر ارز شمنند:

پدر و مادر عزیزم به خاطر همه ی تلاشهای محبت آمیزی که در دوران مختلف زندگی ام انجام داده اند و بامهربانی چگونه زیستن را به من آموخته اند.

- به استادان فرزانه و فریخته ای که در راه کسب علم و معرفت مر یاری نمودند.

و به آنان که در راه کسب دانش را بنمایم بودند.

سپاس بی‌کران پروردگار یکبارگه هستی‌مان. نشید و به طریق علم و دانش را بنمونان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت.

بر حسب وظیفه و به مصداق «من لم یسکر المخلوق لم یسکر الخالق» بسی شایسته است از اساتید فرهیخته و فرزانه سرکار خانم حاتمی و آقای دکتر علیرضا

علی بهتی به عنوان استاد اینک که با کرامتی چون خورشید، سرزمین دل را روشنی بخشید و گلشن سرای علم و دانش را بار بار بهمانی‌های کار ساز و سازنده بارور

ساختند؛ تقدیر و تشکر نمایم.

و با تقدیر و تشکر شایسته از اساتید فاضل و دانشمند جناب آقای دکتر سید مهدی بانان نجبه و جناب آقای فرزام شیخ زاده که با نکته‌های دلاویز و گفته‌های بلند

، صحیفه‌های سخن را علم پرور نمودند و همواره راه‌نما و راه‌کنشای اینجانب در اتمام و تکمال پایان نامه بوده است.

و با تشکر خالصانه خدمت همه کسانی که به نوعی مراد به انجام رساندن این مهم یاری نمودند.

نام خانوادگی دانشجوی: رحیملوی مرجانی	نام: زاهده
عنوان پایان نامه: بررسی نقش سیستم نیتریک اکساید بر حافظه‌ی فضایی و کاهش استرس اکسیداتیو طی بیماری مالتیپل اسکلروزیس در موش های صحرانی نر	
استاد راهنما: دکتر حمیرا حاتمی نعمتی، دکتر علی رضا علی همتی	
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: زیست شناسی گرایش: فیزیولوژی جانوری دانشگاه: تبریز	
دانشکده: علوم طبیعی تاریخ فارغ التحصیلی: مهر ماه ۹۲ تعداد صفحه ۱۲۳	
کلید واژه: مالتیپل اسکلروزیس، استرس اکسیداتیو، هیپوکامپ، حافظه فضایی، نیتریک اکساید	
<p>چکیده</p> <p>زمینه و اهداف: مالتیپل اسکلروزیس از دسته بیمار های خود ایمنی مزمن سیستم عصبی مرکزی با اتیولوژی ناشناخته است. در بیماری مالتیپل اسکلروزیس به دلایل نامشخصی سیستم ایمنی بر علیه برخی از اجزاء پروتئینی سلول های عصبی از جمله میلین تحریک شده و منجر به ضایعات بافتی می گردد. در بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) میلین رشته های عصبی تخریب می شوند. از لحاظ بافت شناسی مشخصه ی برجسته ی مالتیپل اسکلروزیس (MS) ایجاد پلاک های متعدد در سیستم اعصاب مرکزی (CNS) است. علائم و نشانه های مالتیپل اسکلروزیس (MS) بسته به اینکه پلاک ها کجا تشکیل شوند، بسیار متنوع است. مکانیسم های بروز بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) هنوز بطور کامل شناخته نشده است ولی تحقیقات انجام شده بیانگر این است که این بیماری اساس ایمونوپاتولوژیک دارد و عوامل ژنتیکی و محیطی نیز در بروز آن موثر می باشند. استرس اکسیداتیو و به دنبال آن آپوپتوز از دیگر عواملی هستند که در پاتوژنز بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) مطرح شده اند. استرس اکسیداتیو عامل اصلی دژنراسیون در تعدادی از بیماری های نورودژنراتیو مانند ایسکمی، پارکینسون، آلزایمر و مالتیپل اسکلروزیس می باشد. استرس اکسیداتیو ناشی از یک عدم تعادل بین تولید گونه های باز فعال اکسیژن (ROS) و توانایی سیستم زیستی برای سم زدایی این واسطه های فعال می باشد. استرس اکسیداتیو سبب القای آسیب اکسیداتیو در هیپوکامپ و آسیب سلول های هر می می شود. هیپوکامپ بالغین یک مرکز حیاتی برای فرآیندهای یادگیری و حافظه می باشد که به شدت نسبت به بیماری های نورولوژیک نظیر MS آسیب پذیر می باشد. قشر مغز، آمیگدال و بخصوص هیپوکامپ نقش اساسی در تشکیل و ذخیره سازی حافظه ی فضایی دارند. یادگیری و حافظه ی فضایی از رفتار های پیچیده ی مغزی محسوب می شوند. در مقیاس های مورفولوژیک رمیلیناسیون در بسیاری از مدل های حیوانی و نیز در سیستم عصبی انسان بخوبی نشان داده شده است. استرس اکسایشی یکی از گذرگاه های مهمی است که منجر به مرگ سلولی نوروئی القاء شده توسط NO می گردد. نیتریک اکسید رادیکالی آزاد با پیچیدگی بیوشیمیایی قابل توجه است که درگیریش در مالتیپل اسکلروزیس به اثبات رسیده است با این حال میزان مشارکت NO در MS هنوز مشخص نشده است. این وضعیت بخشی به علت نقش های مخالفی است که NO به مدت طولانی به عنوان عامل اصلی التهاب شدید در CNS در نظر گرفته می شد اما یافته ها نشان دادند که NO از یک طرف عمل پیش التهابی دارد و از طرفی دیگر به کنترل فرایند های پاسخ ایمنی کمک می کند و نقش ضد التهابی دارد. NO می تواند به عنوان فعال کننده مرگ سلولی یا بازدارنده مرگ سلولی عمل کند که این</p>	

وضعیت وابسته به محیط بیولوژیکی یعنی حضور یا عدم حضور سیگنالهای بازدارنده یا تحریکی است. با توجه به نقش های متضاد NO، هدف پژوهش حاضر بررسی اثرات تحریک یا مهار سیستم نیتریک اکساید در حافظه فضایی موش های صحرایی نر طی بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) با تکیه بر استرس اکسیداتیو می باشد.

مواد و روش ها: ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی (250 ± 50) گرم به صورت تصادفی در ۸ گروه ۷ تایی شامل گروه کنترل، شاهد، L-Arginine ($15/1 \mu\text{g}/\text{rat}$)، L-NAME ($15/3 \mu\text{g}/\text{rat}$)، EB ($3 \mu\text{L}/\text{rat}$)، L-Arginine ($15/1 \mu\text{g}/\text{rat}$) + EB ($3 \mu\text{L}/\text{rat}$)، L-NAME ($15/3 \mu\text{g}/\text{rat}$) + EB ($3 \mu\text{L}/\text{rat}$) و گروه دریافت کننده توام L-Arginine ($15/1 \mu\text{g}/\text{rat}$) + L-NAME ($15/3 \mu\text{g}/\text{rat}$) + EB ($3 \mu\text{L}/\text{rat}$). القای مدل MS با تزریق مستقیم اتیدیوم بروماید $0/01\%$ به ناحیه CA1 هیپوکامپ انجام گرفت. گروه های تیمار شده یک هفته بعد از القای MS، اثرات تحریک یا مهار سیستم NO مورد بررسی قرار گرفت. بعد از دوره تیمار، از حیوانات تمامی گروه ها آزمون ماز آبی موریس به عمل آمد. در پایان، نمونه برداری از ناحیه هیپوکامپ انجام گردید و میزان پارامترهای استرس اکسیداتیو در این ناحیه شامل MDA و آنزیم های آنتی اکسیدانی شامل GPx, SOD, CAT سنجش گردید. تجزیه و تحلیل اطلاعات حاصله به روش آنالیز واریانس یک طرفه انجام گردید.

یافته ها: تجویز EB به عنوان القا کننده بیماری MS سبب تخریب حافظه فضایی شد. تجویز L-Arginine علاوه بر افزایش میزان یاد گیری و حافظه در رت های سالم باعث بهبود حافظه فضایی در رت های مبتلا به MS گردید ($p < 0/05$). تجویز L-NAME میزان یاد گیری و حافظه فضایی را در رت های سالم و مدل MS کاهش داد ($p < 0/05$).

بحث: NO به عنوان یک مولکول دوجهی زمانی که با مسیر هایی التهابی همراه نباشد به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل می کند. NO با کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو و عوامل آنتی اکسیدانی ناشی از تزریق اتیدیوم بروماید (به عنوان القا کننده مدل MS) باعث بهبود حافظه فضایی در رت های مدل MS می گردد. علاوه بر این NO با فعال سازی مسیر پیامبر های داخل سلول سبب تقویت حافظه در رت های سالم نیز می شود.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: بررسی منابع	
۱- مقدمه و بررسی منابع	۱
۱-۱- مالتیپل اسکروزیس	۱
۱-۱-۱- بروز و اپیدمیولوژیک بیماری مالتیپل اسکروزیس	۱
۱-۱-۲- اتیولوژی و پاتوژنی بیماری مالتیپل اسکروزیس	۲
۱-۱-۳- پاتوفیزیولوژی بیماری مالتیپل اسکروزیس	۶
۱-۱-۴- تظاهرات بالینی بیماری مالتیپل اسکروزیس	۷
۱-۱-۵- اختلال عملکرد شناختی در بیماران مبتلابه مالتیپل اسکروزیس	۸
۱-۲- سیستم نیتریک اکساید	۱۰
۱-۲-۱- نیتریک اکساید و بیماری مالتیپل اسکروزیس	۱۱
۱-۳- یادگیری و حافظه	۱۳
۱-۳-۱- انواع حافظه	۱۴
۱-۳-۲- تثبیت حافظه	۱۵
۱-۳-۳- حافظه فضایی	۱۶
۱-۳-۴- نقش هیپوکامپ در یادگیری	۱۸
۱-۳-۵- حافظه فضایی و سیستم نیتریک اکساید	۱۹
۱-۴-۱- استرس اکسیداتیو و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی	۲۰
۱-۴-۲- استرس اکسیداتیو در بیماری مالتیپل اسکروزیس	۲۵
۱-۴-۳- سیستم نیتریک اکساید و استرس اکسیداتیو	۲۷
۱-۴-۴- پروکسیداسیون لیپیدی و سیستم نیتریک اکساید	۲۸

۵-۱- سیستم نیتریک اکساید و بیماری MS و نقش آن در حافظه‌ی فضایی و استرس اکسیداتیو.

۲۹.....

۵-۱- هدف تحقیق ۳۳

فصل دوم: مواد و روش ها

۲- مواد و روش ها ۳۶

۲-۲- حیوانات ۳۶

۲-۳- گروه بندی ۳۶

۲-۴- جراحی و کانون گذاری ۳۷

۲-۵- تهیه پروتکل القای مالتیپل اسکروزیس توسط اتیدیوم و تیمار با L-NAME-Arginine..... ۳۹

۲-۶- روش مطالعه یادگیری فضایی در ماز آبی موریس ۴۰

۲-۶- تأیید بافت شناسی ۴۲

۲-۷- نمونه برداری ۴۲

۲-۷-۱- تهیه هموزن از بافت هیپوکامپ ۴۳

۲-۷-۲- سنجش پروکسیداسیون لیپیدی ۴۳

۲-۷-۳- سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ۴۴

۲-۷-۳-۱- گلوتاتیون پروکسیداز ۴۴

۲-۷-۳-۲- سوپراکسید دیسموتاز ۴۴

۲-۷-۳-۳- آنزیم کاتالاز ۴۵

۲-۸- آنالیز آماری ۴۵

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج ۴۷

۳-۱- نتایج حافظه فضایی ۴۷

۵۹	۲-۳- نتایج سنجش پارامترهای استرس اکسیداتیو.....
۵۹	۱-۲-۳- نتایج سنجش پروکسیداسیون لیپیدی.....
۶۲	۲-۲-۳- نتایج سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی.....
۶۲	۱-۲-۲-۳- نتایج گلووتاتیون پروکسیداز.....
۶۴	۲-۲-۲-۳- نتایج سوپراکسید دیسموتاز.....
۶۶	۳-۲-۲-۳- نتایج آنزیم کاتالاز.....

فصل چهارم: بحث

۶۹	۴- بحث.....
۶۹	۱-۴- حافظه فضایی.....
۶۹	۱-۱-۴- اختلالات شناختی طی بیماری MS تحت القای EB.....
	۲-۱-۴- اثر ریز تزریق اگونیست (L-Arginine) و آنتاگونیست (L-NAME) سیستم نیتریک
۷۳	اکساید بر حافظه فضایی در رت های نرمال و رت های مدل MS.....
۷۳	۱-۲-۱-۴- ریز تزریق ال - آرژینین به عنوان تحریک کننده سیستم نیتریک اکساید.....
۷۵	۲-۲-۱-۴- ریز تزریق ال - نیم (مهار کننده سیستم نیتریک اکساید).....
۷۷	۳-۲-۱-۴- اثر ریز تزریق ال - نیم و ال - آرژینین بر حافظه فضایی رت های مدل بیماری MS.....
	۴-۲-۱-۴- اثر ریز تزریق توام ال - نیم و ال - آرژینین بر حافظه فضایی رت های مدل بیماری MS.
۷۸

۲-۴	سنجش پارامترهای استرس اکسیداتیو در طی القاء EB	۸۰
۳-۴	نیتربک اکساید- استرس اکسیداتیو و پروکسیداسیون لیپیدی	۸۵
۴-۴	نتیجه گیری	۹۳
۵-۴	پیشنهادات	۹۵
	منابع	۹۶
	فهرست اختصارات	۱۲۲

فهرست اشکال

صفحه	عنوان
۱۰	شکل ۱-۱- سیستم نیتروک اکساید.....
۱۵	شکل ۱-۲- انواع حافظه.....
۱۹	شکل ۱-۳- تصویری مرکب از هیپوکامپ و ژيروس دندانیه ای موش صحرائی.....
۲۵	شکل ۱-۴- استرس اکسیداتیو.....
۲۶	شکل ۱-۵- نقش استرس اکسیداتیو در پاتوژنز MS.....

فصل دوم

۳۸	شکل ۱-۲- ناحیه CA ₁ هیپوکامپ موش صحرائی.....
۳۹	شکل ۲-۲- جراحی وکانون گذاری دررت.....
۴۱	شکل ۲-۳- دستگاه ماز آبی موریس جهت سنجش حافظه فضایی دررت.....
۴۲	شکل ۲-۴- تأیید بافت شناسی.....

فصل سوم

۴۸	شکل ۱-۱-۳- نتایج آنالیز میانگین سرعت در طی پنج روز آموزش.....
۴۹	شکل ۱-۲-۳- نتایج آنالیز میانگین زمان در طی ۵ روز آموزش.....
۵۰	شکل ۲-۲-۳- نتایج آنالیز میانگین زمان در طی ۵ روز آموزش.....
۵۱	شکل ۳-۲-۳- نتایج آنالیز میانگین زمان در طی ۵ روز آموزش.....
۵۲	شکل ۴-۲-۳- نتایج آنالیز میانگین زمان در طی ۵ روز آموزش.....
۵۳	شکل ۵-۲-۳- نتایج آنالیز میانگین زمان در طی ۵ روز آموزش.....
۵۴	شکل ۱-۳-۳- نتایج آنالیز میانگین مسافت در طی ۵ روز آموزش.....

-
- شکل ۳-۳-۲- نتایج آنالیز میانگین مسافت در طی ۵ روز آموزش ۵۵
- شکل ۳-۳-۳- نتایج آنالیز میانگین مسافت در طی ۵ روز آموزش ۵۶
- شکل ۳-۳-۴- نتایج آنالیز میانگین مسافت در طی ۵ روز آموزش.. ۵۷
- شکل ۳-۳-۵- نتایج آنالیز میانگین مسافت ر طی ۵ روز آموزش..... ۵۸
- نمودار ۳-۲-۱- نتایج سنجش میزان TBARS در هیپوکمپ..... ۶۰
- نمودار ۳-۲-۲- نتایج سنجش میزان GPx در هیپوکمپ ۶۲
- نمودار ۳-۲-۳- نتایج سنجش قدرت مهارکنندگی SOD در هیپوکمپ..... ۶۴
- نمودار ۳-۲-۴- نتایج سنجش میزان CAT در هیپوکمپ..... ۶۶

فهرست جدول ها

صفحه	عنوان
۶۱.....	جدول ۱-۲-۳- نتایج سنجش میزان TBARS در هیپوکمپ.....
۶۳.....	جدول ۲-۲-۳- نتایج سنجش میزان GPx در هیپوکمپ.....
۶۵.....	جدول ۳-۲-۳- نتایج سنجش قدرت مهارکنندگی SOD در هیپوکمپ.....
۶۷.....	جدول ۴-۲-۳- نتایج سنجش میزان CAT در هیپوکمپ.....

مقدمه:

بیماری مالتیپل اسکلروزیس^۱ (MS) نوعی بیماری سیستم عصبی مرکزی (CNS) است که در آن میلین رشته عصبی تخریب می شود. این بیماری دمیلینه کننده مزمن عصبی با التهاب بافتی و مرگ سلولی یا آپوپتوز همراه است (۱). در ابتدا میلین تخریب شده و سپس سلول های تولید کننده میلین یا الیگودندروسیت ها در مراحل بعدی آسیب می بینند (۲). مکانیسم های بروز بیماری مالتیپل اسکلروزیس به طور کامل شناخته نشده است ولی تحقیقات انجام شده بیانگر این است که این بیماری اساس ایمنوپاتولوژیک دارد و عوامل ژنتیکی و محیطی نیز در آن موثر است (۳). بیماری مالتیپل اسکلروزیس با چندین فرآیند پاتوفیزیولوژیکی شامل التهاب، دمیلیناسیون، استرس اکسیداتیو، آسیب اکسونی و مکانیسم های ترمیمی همراه می باشد که در این بیماری مشارکت می کنند. این فرآیند ها به طور یکسان در جمعیت های بیماران نمایان نمی شوند اما می توانند به طور انتخابی در فرد فرد بیماران غالبیت پیدا کنند (۴). بیماری های نورودژنراتیو سیستم اعصاب مرکزی همراه با آسیب به حافظه و سایر اعمال شناختی است، این آسیب احتمالاً به دلیل مرگ انتخابی نورون ها در قشر مغز و هیپوکمپ و نواحی از مغز که مرتبط با یادگیری و حافظه هستند، می باشد (۵). هیپوکمپ بالغین یک مرکزی حیاتی برای فرآیند های یادگیری و حافظه می باشد که به شدت نسبت به بیماری های نورولوژیک آسیب پذیر می باشد. نقایص شناختی در ۲۵ الی ۶۰ درصد بیماران مبتلا به MS که از آسیب هیپوکمپ رنج می برند مشاهده شده است (۶). نقایص شناختی به طور معمول به عنوان یکی از ویژگی های قابل توجه بیماران MS شناسایی شده است. شایع ترین نقایص شناختی در میان بیماران مبتلا به MS شامل کاهش سرعت پردازش اطلاعات، کاهش حافظه و اختلال در درک فضایی می باشد (۷). همچنین اطلاعات به دست آمده از مطالعات تصویر برداری مغناطیسی رزونانس (MRI) در شرایط *in vivo* نشان می دهد که بخش های خاکستری مغز به ویژه هیپوکمپ در مراحل اولیه دچار آتروفی می گردند

¹Multiple sclerosis (MS)

که این آتروفی با اختلال عملکرد در آزمون های حافظه تصویر- فضایی همراه می شود (۸). دمیلیناسیون با افزایش سایتوکین های التهابی همچون فاکتور نکروز کننده توموری (α -TNF) موجب افزایش گونه های فعال اکسیژن (ROS)^۱ و نیتریک اکسید (NO) همراه بوده و شرایط ایجاد استرس اکسیداتیو را فراهم می کند (۹). استرس اکسیداتیو یک عدم تعادل بین اکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها است که در آن اکسیدان ها به آنتی اکسیدان ها غلبه می کند (۱۰).

مطالعات مختلفی بیان می کند که تولید ROS در محیط *in vivo* با اختلال تثبیت حافظه در MS و مدل های تجربی MS در ارتباط می باشد (۱۱). استرس اکسیداتیو سبب القای آسیب اکسیداتیو در هیپوکمپ و سلول های هرمی می گردد. از طرفی، سلول های فعال مغزی در ریسک مشخصی از خطر آسیب دیدگی توسط رادیکال های آزاد قرار دارند چرا که سلول های مغزی مصرف اکسیژن بالایی دارند و غشاهای نورونی سیستم اعصاب مرکزی غنی از پلیمر های اسید چرب غیر اشباع می باشد که هدف های بالقوی برای پراکسیداسیون لیپیدی می باشد. تجمع محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدی نیز می تواند در نقایص شناختی دخیل باشند (۱۲). اتیدیوم بروماید (EB) به عنوان یک داروی تخریب کننده DNA به طور گسترده به منظور القای دمیلیناسیون سمی در جوندگان مورد استفاده قرار می گیرد (۱۳). سلول های الیگودندروسیتی در مقایسه با سلول های آستروسیتی حساسیت بیشتری نسبت به استرس اکسیداتیو و شرایط نیتریداتیو دارند (۱۴). EB موجب مرگ سلول های الیگودندروسیت از طریق تولید رادیکال های آزاد می شود. اما این آسیب عصبی ممکن است به وسیله ظرفیت فیزیولوژیک CNS ترمیم گردد (۱۵،۱۶،۱۷). مطالعه چندین بیماری پیشنهاد می کند که نیتریک اکساید (NO) ممکن است در انواع بیماری های انحطاط عصبی و التهاب درگیر شود. افزایش غلظتی از NO در سیستم عصبی مرکزی (CNS) معمولاً منجر به افزایش در ایزوفرم هایی از NO سنتاز القایی (iNOS) (که معمولاً توسط التهاب سلولی تولید می گردد) می شود. NO تولید شده توسط iNOS در شرایط حاد و مزمن تولید می شود. iNOS اغلب اوقات با شرایط التهابی (که مقدار زیادی از آن به وسیله انواع

^۱Reactive oxygen species (ROS)

سلول های اجدادی مونوسیت/ ماکروفاژ تولید می شود) همراه است (۱۸). در شرایط پاتولوژیکی تولید بیش از حد NO ممکن است منجر به تولید گونه هایی با واکنش بالا می شود که می تواند به پراکسی نیتريت و نیتروسوتیول^۱ مقاوم اشاره کرد که باعث آسیب سلولی غیر قابل برگشت می شوند (۱۹). گزارش شده است که مهار کننده های iNOS ممکن است موش های انسفالومیلیت تجربی (EAE) را بهبود بخشد (۲۰). نیتريك اکساید رادیکالی آزاد با پیچیدگی بیوشیمیایی قابل توجه است که در گیرش در مالتیپل اسکلروزیس (MS) به اثبات رسیده است. با این حال حدود مشارکت NO در MS هنوز مشخص نشده است. این وضعیت بخشی به علت نقش های مخالفی است که NO به مدت طولانی به عنوان عامل اصلی التهاب شدید در CNS در نظر گرفته می شد اما یافته ها نشان دادند که NO از یک طرف عمل پیش التهابی دارد و از طرف دیگر به کنترل فرآیندهای پاسخ ایمنی کمک می کند و نقش ضد التهابی دارد. NO می تواند به عنوان فعال کننده مرگ سلولی یا بازدارنده مرگ سلولی عمل کند که این وضعیت وابسته به محیط بیولوژیکی یعنی حضور یا عدم حضور سیگنال های باز دارنده یا تحریکی است. لذا هر عاملی که مانع آزاد شدن NO در شرایط التهابی شود مانع از مرگ سلولی نوروئی و دژنراسیون میلین در CNS می شود (۲۱). با توجه به نقش های متضاد NO در بیماری MS و تاثیر بر فرآیندهای شناختی هدف پایان نامه حاضر بررسی اثرات تحریک یا مهار سیستم نیتريك اکساید بر عملکرد حافظه فضایی و پارامترهای استرس اکسیداتیو طی بیماری MS در هیپوکامپ رت های نر می باشد.

این پایان نامه در پنج فصل تدوین شده است: فصل اول به معرفی مالتیپل اسکلروزیس، حافظه، استرس اکسیداتیو و اثرات تحریک و مهار سیستم نیتريك اکسید می پردازد. در فصل دوم چگونگی انجام مراحل عملی آزمایش توضیح داده شده است. در فصل سوم نتایج حاصل از پژوهش به همراه نمودارها و جداول مربوطه شرح داده شده است. در فصل چهارم نیز به مقایسه یافته های به دست آمده

¹Nitrosothiols

با مطالعات مشابه پرداخته شده است و نتیجه کلی حاصل از پایان نامه به همراه پیشنهاد ها مطرح گردیده است. در فصل پنجم منابع مورد استفاده، معرفی گردیده است.

فصل اول:

بررسی منابع

۱- مقدمه و بررسی منابع

۱-۱- مالتیپل اسکلروزیس

مالتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری خود ایمنی است که باعث اختلال در سیستم عصبی مرکزی (CNS) می شود. در این بیماری، سیستم ایمنی، میلین اطراف اکسون های عصبی محیطی و مرکزی را تخریب می کند (۲۲). این بیماری با ویژگی های سه گانه التهاب، میلین زدایی و گلیوز (اسکار گذاری) مشخص می شود. سیر این بیماری ممکن است به صورت عود و فروکش کردن^۱ و یا پیشرونده^۲ باشد (۲۳). نشانه های MS معمولا به عنوان یک نتیجه مستقیم از فعالیت دمیالینه شدن و اینکه پلاک ها کجا تشکیل می شوند بسیار متنوع است. مهمترین علائم این بیماری عبارتند از: مشکلات راه رفتن، بی حسی یا احساس سوزن سوزن شدن در اندام های فوقانی و تحتانی، از دست دادن تعادل، ضعف، خستگی، درد و از دست دادن بینایی است (۲۴-۲۵). مکانیسم بروز این بیماری هنوز به طور کامل شناخته نشده است ولی تحقیقات انجام شده بیانگر این است که این بیماری اساس ایمنوپاتولوژیک دارد و عوامل ژنتیکی و محیطی نیز در آن موثر است (۳).

۱-۱-۱- بروز و اپیدمیولوژی:

بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری خود ایمنی بوده و بالغ بر ۳ میلیون نفر به این بیماری مبتلا می باشند. این بیماری در سنین ۲۰ تا ۵۰ سالگی شایع تر است و زنان حدود دو برابر مردان به این بیماری مبتلا می شوند (۲۶). البته ویژگی معمول این بیماری خود ایمنی همین تفاوت جنسی است (۲۷). علت MS می تواند هم فاکتور های ژنتیکی و هم فاکتور های محیطی باشند. این بیماری در بین سفید پوستان که در آب و هوای معتدل مثل اروپا، جنوب کانادا، شمال ایالات متحده و

^۱Relapsing-remitting

^۲Progressive

جنوب استرالیا زندگی می کنند، شایع تر است. فاکتور های محیطی مثل مواجهه با اپیشتاین - بار^۱ نوعی ویروس که سبب بروز سرطان های غدد لنفاوی می شود، ابتلا به سرخک، هرپیس، آبله مرغان و آنفلانزا به ویژه در سنین پایین می تواند در تسریع ابتلا به این بیماری موثر باشد (۲۸). تفاوت هایی که در سیر بالینی، انواع کلینیکی، پراکندگی جغرافیایی و پاسخ دهی به درمان دیده می شود، دال بر وجود نقش عوامل چندگانه در این بیماری می باشد. از طرفی یکی از فاکتورهای مهم در بیماری MS، شیوع جنسی آن می باشد. شیوع بیشتر بیماری در زنان، خصوصا در سال هایی که از نظر هورمونی فعال هستند و در سن باروری قرار دارند کاهش می یابد (۲۹). داده های اپیدمیولوژیک نیز به نقش عوامل محیطی اشاره می کند (۳۰). مطالعات در زمینه مهاجرت و شناسایی نقاط احتمالی اپیدمی MS، بر اثرات محیط روی خطر بروز MS تاکید می کنند. مطالعه مهاجرت ها حکایت از آن دارند که برخی از مواجهات مربوط به MS، در کودکی و سال ها پیش از آن که MS از نظر بالینی آشکار گردد، روی می دهند. در برخی مطالعات روشن شده است که مهاجرت از مناطق کم خطر به مناطق پر خطر در اوایل کودکی، موجب افزایش خطر بروز MS می گردد و در مقابل مهاجرت از مناطق پر خطر به کم خطر، ریسک ابتلا به MS را کاهش می دهد (۲۳). همچنین خطر بروز MS با سطح بالای وضعیت اقتصادی - اجتماعی نیز در ارتباط است. این مسئله ممکن است به علت رعایت بهتر اصول بهداشتی و به تاخیر افتادن مواجهه اولیه با عوامل عفونی باشد (۲۳).

۱-۱-۲- اتیولوژی و پاتولوژی بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS):

مالتیپل اسکلروزیس (MS) از دسته بیماری های پیچیده خود ایمنی سیستم عصبی مرکزی با اتیولوژی ناشناخته است که می توان آن را با شاخصه هایی از جمله التهاب مزمن، از دست رفتن پوشش میلین، تخریب اکسونی و نقص عملکردی پیشرونده عصبی از دیگر بیماری ها تمیز داد (۳۱). استعداد توارثی، فاکتورهای محیطی و نقوص ایمنی نقش کلیدی را در بیماری زایی آن ایفا می کنند (۳۲). این بیماری

^۱Epstein-Barr