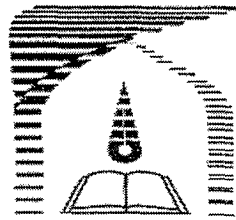


١٥٧

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

٩٩٢٤٧



دانشگاه تربیت مدرس  
دانشکده علوم پزشکی

رساله دوره دکتری (Ph.D) در رشته فیزیولوژی

عنوان

بررسی تغییر عملکردی کانال های پتاسیمی و اثر حفاظتی Riluzole و 4-AP  
در آتاکسی القاء شده به وسیله سم ۳- استیل پیریدین در موش صحرایی

نگارش:

ایران گودرزی

۱۳۸۷ / ۱۵ / ۲۲

استاد راهنما:

خانم دکتر مهیار جان احمدی

۱۳۸۷ / ۱۵ / ۲۲

اساتید مشاور:

دکتر یعقوب فتح الهی

دکتر سهراب حاجی زاده

زمستان ۱۳۸۶

کتابخانه تخصصی  
دانشگاه تربیت مدرس

۹۹۲۴۷

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم / آقای ایران گودرزی رساله دکتری واحدی خود را با عنوان: بررسی تغییر عملکردی کانالهای پتاسیمی و اثر حفاظتی (Riluzole (Neuroprotective و 4-AP در آتاکسی القا شده توسط سم ۳-استیل پیریدین در موش صحرائی در تاریخ ۱۱/۱۲/۸۶ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنمای اصلی	سرکار خانم دکتر مهیار جان احمدی	استاد	
۲- استاد راهنمای دوم			
۳- استاد مشاور اول	جناب آقای دکتر سهراب حاجی زاده	دانشیار	
۴- استاد مشاور دوم	جناب آقای دکتر یعقوب فتح اللهی	استاد	
۵- استاد ناظر	جناب آقای دکتر سید جواد میر نجفی زاده	دانشیار	
۶- استاد ناظر	جناب آقای دکتر سعید سمنانیان	استاد	
۷- استاد ناظر	جناب آقای دکتر ناصر نقدی	استاد	
۸- استاد ناظر	سرکار خانم دکتر افسانه الیاسی	دانشیار	
۹- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	جناب آقای دکتر محمد جوان	استادیار	

سید

### آیین نامه پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، منسب بخشی از فعالیتهای علمی- پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند.

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر دفتر نشر آثار علمی دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از بزرگی شناسنامه)، عبارات ذیل را حتماً کند.  
کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده در رشته پژوهش‌های علمی است که در سال ۱۳۸۸ در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی دکتر ... مشاوره دکتر ... و تصحیح دکتر ... از آن دفاع شده است.  
خان احمدی

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به دفتر نشر آثار علمی دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴، را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب دانشجوی رشته ... مقطع دکتری، تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا

۱۹ / ۱ / ۸۷  
نوروزی

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی  
دانشگاه تربیت مدرس

**مقدمه:** با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

**ماده ۱-** حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

**ماده ۲-** انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند. تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

**ماده ۳-** انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آیین نامه های مصوب انجام می شود.

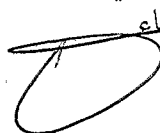
**ماده ۴-** ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی حاصل از نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

**ماده ۵-** این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

۱۳۸۷ / ۱۵ / ۲۲

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضاء

  
۱۷ - ۱۹  
مدرس

تقدیم به:

- پدر و مادر بزرگوارم
- همراه سالیان همسر مهربان و فرزندان خوبم
- برادران و خواهران عزیزم
- همه معلمان و اساتید محترم

## تشکر و قدردانی

لازم می دانم از اساتید ارجمند و دوستان عزیزی که در طول انجام این تحقیق مرا یاری نمودند تشکر و قدردانی نمایم:

تشکر و سپاس فراوان از سرکار خانم دکتر جان احمدی که راهنمایی اینجانب را در انجام پایان نامه به عهده داشتند و علاوه بر آموزشهای علمی و عملی، امکانات آزمایشگاه تحقیقاتی خویش را بدون هیچ دریغی در اختیار اینجانب قرار دادند.

از جناب آقای دکتر فتح الهی که مشاورت پایان نامه را بر عهده داشتند و در طی دوره تحصیل از محضر ایشان بهره مند بودم صمیمانه سپاسگذارم.

از جناب آقای دکتر حاجی زاده که مشاورت پایان نامه را بر عهده داشتند و در طی دوره تحصیل از محضر ایشان بهره مند بودم صمیمانه سپاسگذارم.

از سرکار خانم دکتر ژیللا بهزادی که مرا در انجام این تحقیق یاری نمودند، صمیمانه تشکر می نمایم.

از اساتید ارجمند گروه فیزیولوژی جناب آقای دکتر سمنانیان، جناب آقای دکتر میرنجفی زاده و همچنین مدیر محترم گروه، جناب آقای دکتر جوان که آموخته های فراوانی را به من ارزانی داشتند، صمیمانه سپاسگذارم.

همراهی و مساعدت اساتید و کارکنان محترم گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بویژه سرکار خانم دکتر معتمدی ریاست محترم مرکز تحقیقات علوم اعصاب آن دانشگاه، در انجام این پروژه تحقیقاتی را ارج نهاده و کمک های ارزشمندشان را سپاس می گویم.

از دوستان خوب دوره تحصیل آقایان دکتر فریدونی، دکتر محمدزاده، دکتر شمسی زاده، دکتر حیدریان، آقایان ارجمند، اله دادی، اژدری و سرکار خانم دکتر ابراری و همه کسانی که اینجانب را در انجام این پایان نامه یاری کردند، تشکر نموده و برایشان آرزوی موفقیت دارم. همچنین از دانشجویان گرامی آزمایشگاه ثبت داخل سلولی آقایان دکتر حق دوست، دکتر وطن پرست و کفایشان تشکر نموده و کمک های ارزشمندشان را سپاس می گویم.

## چکیده

آتاکسی منحه ای بیماری نورولوژیکی است که با عدم هماهنگی در حرکات، عدم ثبات در وضعیت و طرز ایستادن (Posture)، ناهنجاری در راه رفتن (gait) و لرزش ارادی (Intention tremor) همراه است. بدون توجه به علت بیماری آتاکسی، اغلب قشر منحه مورد هدف بیماری قرار می گیرد. بنابر این، اینکه چگونه اختلال در قشر منحه منجر به آتاکسی می گردد قابل توجه می باشد. سلول های پورکنز خروجی منحصر به فرد قشر منحه را تشکیل می دهند و هماهنگی در حرکت بوسیله سیگنال های زمان بندی شده ای صورت می گیرد که در فرکانس و الگوی فعالیت سلول های پورکنز کد می گردند. لذا ما تغییرات احتمالی در فرکانس و الگوی شلیک این سلول ها را با استفاده از ثبت داخل سلولی از برش های زنده ورمیس در مدل حیوانی آتاکسی منحه ای با استفاده سم ۳-استیل پیریدین (3-AP, 65 mg/kg, i.p.) مورد بررسی قرار دادیم و همچنین اثرات دو داروی نوروپروتکتیو Riluzole و 4-AP را در سطح رفتار، بافت و الکتروفیزیولوژی در آتاکسی مورد مطالعه قرار دادیم. برای بررسی هماهنگی و فعالیت های حرکتی از دستگاه روتارود و حرکت سنخ و برای بررسی بافتی قشر منحه از رنگ آمیزی کرزیل و یوله استفاده گردید. مطالعه الکتروفیزیولوژی با روش Sharp recording و Whole cell patch از سلول های پورکنز انجام گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند که:

- در مطالعه رفتاری، حیوانات آتاکسیک کاهش در فعالیت های حرکتی و نیز هماهنگی حرکتی نشان دادند که استفاده از Riluzole (2 mg/kg) و 4-AP (2 mg/kg) سبب بهبودی نسبی در فعالیت ها و هماهنگی حرکتی گردید.

- در شرایط آتاکسیک، تراکم ظاهری سلول های پورکنز در لایه سلول های پورکنز کاهش یافت و همچنین سلول ها در این لایه به صورت نامنظم و پراکنده تری در مقایسه با کنترل قرار داشتند. استفاده از نوروپروتکتیو های Riluzole (8 mg/kg) و 4-AP (2 mg/kg) سبب بهبود تراکم ظاهری و نظم سلول ها در لایه سلول های پورکنز شد.

- فرکانس شلیک پتانسیل های عمل سدیمی سلول های پورکنز در شرایط آتاکسیک کاهش و الگوی شلیک از حالت منظم ( $C.V=0.13 \pm 0.03$ ) تبدیل به نامنظم ( $C.V=0.13 \pm 0.13$ ) گردید. همچنین فاصله بین برست ها نیز در سلول های پورکنز با فعالیت خودبخودی انفجاری در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری نشان دادند. بعلاوه، در شرایط آتاکسیک کاربرد خارج سلولی 4-AP موجب فعال نمودن سلولهای پورکنز خاموش گردید. دامنه هیپرپولاریزاسیون متعاقب (AHP) و دامنه و طول مدت هیپرپولاریزاسیون متعاقب تحریک (pAHP) پتانسیل های عمل سدیمی در سلول های پورکنز موش های آتاکسیک کاهش یافت. استفاده همزمان 3-AP و 4-AP (2 mg/kg) سبب افزایش فعالیت سلولهای پورکنز، افزایش فرکانس شلیک در داخل برست و نیز کاهش فاصله بین برست ها گردید. استفاده همزمان 3-AP و Riluzole (2 و 8 mg/kg) احتمالاً از طریق فعال نمودن کانال های پتاسیمی وابسته به کلسیم (BK, SK) کاهش دامنه AHP در شرایط آتاکسیک را جبران نموده و از این طریق سبب بهبود فرکانس پتانسیل های عمل سدیمی در سلول های پورکنز موش های آتاکسیک گردید. استفاده همزمان 3-AP و 4-AP (2 mg/kg) و یا 3-AP و Riluzole (2 و 8 mg/kg) نه تنها تا حدود زیادی مانع وقوع دژنراسیون سلول های پورکنز گردید بلکه بطور نسبی از ایجاد آتاکسی متعاقب تزریق 3-AP نیز جلوگیری نمود. این یافته ها پیشنهاد می کنند که افزایش فعالیت کانال های پتاسیمی وابسته به ولتاژ و یا کلسیمی ممکن است در حفاظت نورو ن ها در برابر سمیت 3-AP دخیل باشد.

واژه های کلیدی: Riluzole، ۴-آمینو پیریدین، دندروتوکسین، سلول های پورکنز، آتاکسی، ۳-استیل پیریدین، منحه، نوروپروتکشن، هیپرپولاریزاسیون متعاقب، فرکانس



## فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
	فصل اول: مقدمه
۱	مقدمه
	فصل دوم: کلیات و مروری بر مطالعات انجام شده
۴	۱-۲- مخچه
۵	۱-۱-۲- قشر مخچه
۶	۲-۱-۲- ورودیهای قشر مخچه
۸	۳-۱-۲- ایترنورون های مهاری قشر مخچه
۹	۴-۱-۲- فیبر های صعودی و خزه ای اطلاعات نزولی و محیطی را به طور متفاوتی کد می نمایند
۹	۵-۱-۲- الگوهای تونیک و پیچیده
۱۲	۲-۲- عملکرد مخچه
۱۲	۱-۲-۲- یادگیری حرکتی در سطح سلولی
۱۳	۳-۲- فعالیت الکتریکی خودبخودی سلولهای پورکنز
۱۹	۱-۳-۲- نقش کانالهای پتاسیمی در تحریک پذیری و فعالیت الکتریکی سلولهای پورکنز
۲۱	۲-۳-۲- کانالهای پتاسیمی وابسته به کلسیم
۲۳	۳-۳-۲- جریان $I_h$ در سلولهای پورکنز
۲۵	۴-۲- آتاکسی
۲۹	۵-۲- نقش کانال های یونی در بروز آتاکسی
۳۷	۶-۲- راه های درمان آتاکسی مخچه ای
	فصل سوم: روش کار
۴۳	۱-۳- نمونه حیوانی
۴۳	۲-۳- مدل حیوانی آتاکسی
۴۳	۱-۲-۳- ارزیابی شدت بروز آتاکسی

۴۴	۳-۳- مطالعات رفتاری
۴۴	۳-۳-۱- دستگاه حرکت سنج Opto-varimex Auto track system
۴۶	۳-۳-۲- دستگاه ثبت فعالیت های تعادلی حیوان
۴۶	۳-۳-۳- گروههای آزمایش مطالعات رفتاری
۴۹	۳-۴- مطالعه بافتی
۴۹	۳-۴-۱- فیکسسیون مغز
۴۹	۳-۴-۲- مقطع گیری
۴۹	۳-۴-۳- رنگ آمیزی با کرزیل ویوله
۵۰	۳-۴-۴- گروههای آزمایشات بافتی
۵۱	۳-۵- مطالعه الکتروفیزیولوژی
۵۱	۳-۵-۱- تهیه مقاطع زنده منجحه
۵۱	۳-۵-۲- ثبت داخل سلولی با روش Sharp
۵۳	۳-۵-۳- ثبت داخل سلولی به روش Whole cell patch clamp
۵۸	۳-۵-۴- اکتساب و آنالیز داده ها
۶۰	۳-۵-۵- مواد و داروها
۶۰	۳-۶- گروههای مطالعه الکتروفیزیولوژی
	<b>فصل چهارم: نتایج</b>
۶۵	۴-۱- نتایج مطالعه رفتاری
۶۵	۴-۱-۱- تأثیر نوروتوکسین ۳- استیل پیریدین بر فعالیت های حرکتی و تعادلی
۶۹	۴-۱-۲- تأثیر تزریق همزمان 4-AP و 3-AP بر فعالیت های حرکتی و تعادلی
۷۲	۴-۱-۳- تأثیر تزریق 3-AP و Riluzole بر فعالیت های حرکتی و تعادلی موش ها
۷۵	۴-۲- نتایج مطالعه هیستولوژی
۷۸	۴-۳- نتایج مطالعه الکتروفیزیولوژی
۷۸	۴-۳-۱- ویژگیهای الکتروفیزیولوژیک سلول های پورکنز موش های کنترل
۸۰	۴-۳-۲- ویژگیهای الکتروفیزیولوژیک سلول های پورکنز موش های آتاکسیک

- ۸۳ ۱-۲-۳-۴- تغییرات نظم و ریتمیسته سلول های پورکنز در گروه آتاکسیک
- ۸۴ ۲-۲-۳-۴- مقایسه فعالیت شلیک انفجاری سلول های پورکنز گروه کنترل و آتاکسیک
- ۸۶ ۳-۳-۴- نقش کانال های پتاسیمی غیر فعال شونده سریع نوع A در الگوی شلیک سلول های پورکنز موش های آتاکسیک
- ۸۶ ۱-۳-۳-۴- اثر مهارکننده کانال های پتاسیمی سریع بر سلول های پورکنز خاموش
- ۸۹ ۲-۳-۳-۴- اثر مهارکننده کانال های پتاسیمی بر سلول های پورکنز با فعالیت خودبخودی انفجاری
- ۹۲ ۴-۳-۴- نقش کانال های پتاسیمی Kv1 حساس به دندروتوکسین (DTX) در الگوی شلیک سلول های پورکنز گروه کنترل و آتاکسیک
- ۹۷ ۳-۴-۵- نقش کانال های فعال شونده به وسیله هیپرپولاریزاسیون ( $I_h$ ) در الگوی شلیک سلول های پورکنز گروه کنترل و آتاکسیک
- ۹۹ ۱-۵-۳-۴- اثر مهار جریان  $I_h$  بر پاسخ های برانگیخته سلول های پورکنز در شرایط کنترل و آتاکسیک
- ۱۰۲ ۶-۳-۴- بررسی نقش پروتکتیو Riluzole بر نورو توکسیسیتی ناشی از 3-AP در سلول های پورکنز
- ۱۰۵ ۱-۶-۳-۴- فرکانس و فاصله بین اسپایک های سدیمی در الگوی شلیک تونیک گروه دریافت کننده 3-AP و Riluzole با دو دوز (۲ و ۴ mg/kg)
- ۱۰۸ ۲-۶-۳-۴- ویژگیهای پتانسیل های عمل سدیمی سلول های پورکنز گروه دریافت کننده 3-AP و داروی پیشگیری کننده Riluzole با دوز ۲ و ۴ mg/kg
- ۱۱۵ ۷-۳-۴- بررسی نقش نوروپروتکتیو 4-AP بر نورو توکسیسیتی ناشی از 3-AP در سلول های پورکنز
- ۱۱۶ ۱-۷-۳-۴- ویژگیهای فعالیت انفجاری سلول های پورکنز گروه دریافت کننده 3-AP و 4-AP
- فصل پنجم: بحث
- ۱۱۸ ۱-۵- مطالعه بافتی و رفتاری
- ۱۲۷ ۲-۵- تغییرات الکتروفیزیولوژیک سلول های پورکنز در آتاکسی القاء شده توسط 3-AP
- ۱۳۳ ۳-۵- نقش پروتکتیو Riluzole و 4-AP بر ویژگیهای الکتروفیزیولوژیک سلول های پورکنز
- ۱۳۶ ۴-۵- نقش کانال های پتاسیمی وابسته به ولتاژ غیر فعال شونده سریع حساس به 4-AP در الگوی شلیک سلول های پورکنز موش های آتاکسیک

۵-۵	نقش کانال های فعال شونده به وسیله هیپرپولاریزاسیون ( $I_h$ ) در الگوی فعالیت الکتریکی سلول های پورکنز	۱۴۱
۶-۵	کانال های پتاسیمی $Kv1$ حساس به آلفا دندروتوکسین ( $\alpha$ -DTX) در الگوی شلیک سلول های پورکنز در شرایط کنترل و آتاکسیک دخالت دارند	۱۴۴
	نتیجه گیری:	
۱۴۸	مطالعه بافتی	
۱۴۸	مطالعه رفتاری	
۱۴۸	مطالعه الکتروفیزیولوژی	
۱۵۲	دورنمای پژوهشی	
۱۵۳	فصل ششم: فهرست منابع	

## فهرست شکل ها

صفحه	عنوان
۶	شکل ۱-۲- سازمان دهی لایه ای قشر منچه
۷	شکل ۲-۲- مدار منچه
۸	شکل ۳-۲- اسپایک ساده و مرکب
۱۰	شکل ۴-۲- اسپایک های تونیک و پیچیده
۱۱	شکل ۵-۲- اسپایک پیچیده می تواند سبب جمع پتانسیل های پس سیناپسی تحریکی شود
۱۱	شکل ۶-۲- پاسخ سلول پورکنژ به تحریک توسط فیبر موازی و فیبر صعودی
۱۶	شکل ۷-۲- الگوی فعالیت خودبخودی سه گانه سلول های پورکنژ
۱۷	شکل ۸-۲- مکانیسم جریان های سدیمی Resurgent
۳۴	شکل ۹-۲- فعالیت خودبخودی نوسانی (Pacemaking) در سلول های پورکنژ
۳۶	شکل ۱۰-۲- در موش های ترانس ژنیک SK3-1B ارتباط مستقیمی بین فرکانس شلیک در نورون های هسته های عمقی منچه (DCN) و کنترل حرکتی مناسب وجود دارد.
۶۳	شکل ۱-۳- لوبول های منچه
۶۳	شکل ۲-۳- دستگاه حرکت سنج از نوع Opto-varimex Auto track system
۶۳	شکل ۳-۳- نمایی از محفظه ثبت زیر میکروسکوپ
۶۴	شکل ۴-۳- بساط ثبت داخل سلولی
۶۴	شکل ۵-۳- شکل سلول پورکنژ و الکتروود ثبت
۵۵	شکل ۶-۳- انواع و روش انجام patch clamp
۵۷	شکل ۷-۳- پاسخ های متفاوت test pulse current در هنگام انجام whole-cell patch
۵۹	شکل ۸-۳- نحوه اندازه گیری ویژگیهای پتانسیل عمل
۶۴	شکل ۹-۳- الگوی زمانی مراحل انجام ثبت داخل سلولی
۷۹	شکل ۵-۴- الگوی شلیک خودبخودی در سلول های پورکنژ موش های گروه کنترل
۸۱	شکل ۶-۴- الگوی شلیک خودبخودی در سلول های پورکنژ موش های گروه آتاکسیک
۸۳	شکل ۸-۴- کاهش ریتمیسیته (شلیک نامنظم) فعالیت نورونی در سلول های پورکنژ گروه های آتاکسیک

- شکل ۴-۱۱- پاسخ سلول پورکنز خاموش در موش های آتاکسیک به پالس های دپولاریزه و هیپرپولاریزه کننده ۸۷
- شکل ۴-۱۲- الگوی شلیک سلول های پورکنز خاموش پس از کاربرد 4-AP ۸۸
- شکل ۴-۱۳- الگوی شلیک سلول های پورکنز موش های آتاکسیک قبل و بعد از کاربرد 4-AP ۹۰
- شکل ۴-۱۵- تأثیر DTX بر الگوی شلیک و مدت، دامنه و فرکانس اسپایک ها در سلول پورکنز کنترل ۹۳
- شکل ۴-۱۶- تأثیر DTX بر الگوی شلیک و مدت، دامنه و فرکانس اسپایک ها در سلول پورکنز آتاکسیک ۹۴
- شکل ۴-۱۸- تغییر الگوی شلیک سلول های پورکنز گروه کنترل و آتاکسیک در حضور ZD مهارکننده کانال های پتاسیمی فعال شونده به وسیله هیپرپولاریزاسیون ۹۸
- شکل ۴-۱۹- تأثیر ZD مهار کننده جریان  $I_h$  بر Sag (خمش پاسخ ولتاژی سلول) ۱۰۰
- شکل ۴-۲۱- الگوی شلیک در سلول های پورکنز موش های دریافت کننده 3-AP و داروی پیشگیری کننده Riluzole (۴ mg/kg) ۱۰۳
- شکل ۴-۲۲- الگوی شلیک در سلول های پورکنز موش های دریافت کننده 3-AP و داروی پیشگیری کننده Riluzole با دوز (۲ mg/kg) ۱۰۴
- شکل ۴-۲۳- افزایش ریتمیسته فعالیت نورونی در سلول های پورکنز گروه های دریافت کننده 3-AP و Riluzole با دوز ۲ mg/kg و ۴ ۱۰۶
- شکل ۴-۲۷- پاسخ سلول پورکنز موش های دریافت کننده 3-AP و Riluzole در دوز ۲ و ۴ mg/kg به تزریق جریانات هیپرپولاریزه کننده ۱۱۴
- شکل ۴-۲۸- الگوی شلیک سلول های پورکنز موش های دریافت کننده 3-AP و 4-AP ۱۱۵
- شکل ۴-۳۰- افزایش مدت زمان فاصله بین برست ها در گروه آتاکسیک ۱۱۷

## فهرست نمودار ها و جداول

صفحه	عنوان
۲۶	جدول ۱-۲- طبقه بندی علل آتاکسی های مخچه ای
۲۷	جدول ۲-۲- مشخصات ژنتیکی آتاکسی های ارثی
۴۳	جدول ۱-۳- جدول درجه بندی تغییرات راه رفتن
۶۷	شکل ۱-۴- تأثیر نوروتوکسین ۳ - استیل پیریدین بر فعالیت های حرکتی و تعادلی
۷۰	شکل ۲-۴- تأثیر تزریق همزمان 3-AP و 4-AP بر فعالیت های حرکتی و تعادلی
۷۳	شکل ۳-۴- تأثیر تزریق داخل صفاقی 3-AP و Riluzole بر فعالیت های حرکتی و تعادلی
۷۶-۷۷	شکل ۴-۴- تغییرات بافتی قشر مخچه
۸۲	شکل ۷-۴- نمودار ستونی فاصله بین اسپایک ها و فرکانس سلول های پورکنز گروه کنترل و آتاکسیک
۸۵	شکل ۹-۴- نمودار ستونی مقایسه پارامترهای الگوی شلیک انفجاری سلول های پورکنز گروه کنترل و آتاکسیک
۸۷	شکل ۱۰-۴- نمودار پتانسیل استراحت غشا سلول های پورکنز فاقد فعالیت الکتریکی خودبخودی (خاموش) موش های آتاکسیک و سالم
۹۱	شکل ۱۴-۴- نمودار اثر مهاز کننده کانال های پتاسیمی بر مدت زمان دوره فعال، غیر فعال، برست و شمار پتانسیل عمل های سدیمی
۹۵	شکل ۱۷-۴- تأثیر DTX بر ویژگیهای اسپایک گروه های کنترل و آتاکسیک
۱۰۱	شکل ۲۰-۴- تأثیر ZD مهار کننده جریان $I_{H}$ بر تغییر ولتاژ پس از تزریق جریانات هیپرپولاریزه کننده
۱۰۷	شکل ۲۴-۴- فرکانس و فاصله بین اسپایک های سدیمی در الگوی شلیک تونیک گروه کنترل، آتاکسیک و گروه دریافت کننده 3-AP و Riluzole با دو دوز (۲ و ۴ mg/kg)
۱۱۰	شکل ۲۵-۴- ویژگیهای پتانسیل های عمل سدیمی گروه کنترل، آتاکسیک و گروه دریافت کننده 3-AP و Riluzole با دو دوز (۲ و ۴ mg/kg)
۱۱۳	شکل ۲۶-۴- دامنه هیپرپولاریزاسیون متعاقب و دامنه و طول مدت هیپرپولاریزاسیون متعاقب تحریک با پالس های دپولاریزه کننده در گروه کنترل، آتاکسیک و گروه دریافت کننده 3-AP و Riluzole با دو دوز (۲ و ۴ mg/kg)

- شکل ۴-۲۷- پاسخ سلول پورکنژ موش های دریافت کننده 3-AP و Riluzole در دوز ۲ و ۴ mg/kg به تزریق جریانات هیپرپولاریزه کننده  
۱۱۴
- شکل ۴-۲۹- نمودار ستونی مقایسه پارامترهای الگوی شلیک انفجاری گروه کنترل، آتاکسیک و گروه دریافت کننده 3-AP و 4-AP  
۱۱۶



فصل اول

مقدمه

## مقدمه

منخچه درحالیکه فقط ۱۰٪ از مغز را تشکیل می دهد حاوی نیمی از کل نورون های موجود در مغز است [۱]. این نورون ها به طور کاملاً منظم و بصورت واحدهای تکراری سازمان دهی شده اند. علیرغم نظم ساختمانی، منخچه به چندین ناحیه مجزا تقسیم می شود که هرناحیه انشعاباتی ازقسمتهای مختلف مغز و نخاع دریافت نموده و به سیستم های حرکتی انشعاباتی می فرستد [۲].

منخچه در طی تکامل مهره داران ساختمان خود را به میزان زیادی حفظ نموده است و برای اجرای مطلوب رفتارهایی چون حرکات رسیدن به هدف، حرکاتی که نیازمند زمان بندی دقیق هستند، کنترل تعادل و وضعیت، اشکال خاص یادگیری حرکتی، تطابق رفلکس و نیز وظایف شناختی که در برنامه ریزی و اجرای توالی عمل خاص دخالت می کنند، نیاز می باشد [۳ و ۴]. جزء اصلی مدار منخچه ای لایه نورون های پورکنژ در قشر منخچه می باشد. اطلاعات ورودی از طریق دو سیستم آوران اصلی یعنی مسیر فایبر خزه ای - فایبر موازی و مسیر فایبر صعودی در درخت دندردیتی وسیع نورون های پورکنژ همگرا می شوند و انشعاب گابائترژیک ازسلول های پورکنژ به هسته های عمقی منخچه تنها خروجی از قشر منخچه می باشد [۴]. علاوه بر موقعیت مرکزی نورون های پورکنژ درمدار منخچه، مواردی که تکامل یا بقاء این نورون ها را تحت تأثیر قرار می دهند سبب علائم کلاسیک منخچه ای مثل آتاکسی تنه و اعضاء، اختلالات گفتاری، عدم تعادل، عدم ثبات در وضعیت و نیستاگموس می شوند [۵ و ۶].

نورون های پورکنژ دارای فعالیت الکتریکی خودبخودی بوده و با فرکانس ۱۰-۱۵۰ Hz شلیک می نمایند [۷]. این سلولها به فعالیت خودبخودی خود در برشهای مغزی [۸، ۹ و ۱۰] و نمونه های کاهش یافته ای مانند اجسام سلولی جدا شده<sup>۱</sup> [۱۱، ۱۲ و ۱۳] که در آنها بیشتر درخت دندردیتی برداشته شده است ادامه می دهند. همچنین در برش های مغزی، مهار ورودیهای سیناپسی با بلوک کننده های جریانات گلوتاماترژیک و گابائترژیک منجر به حذف فعالیت خودبخودی در این سلول ها نمی گردد [۱۴ و ۱۵].

### 1. Dissociated cell bodies

این موضوع نشان می دهد که فعالیت خودبخودی در سلول های پورکنژ از خصایص ذاتی غشاء منشأ گرفته و ورودیهای سیناپسی صرفاً نقش تعدیل کننده را ایفا می نمایند.

مخچه از طریق تولید سیگنال های زمان بندی شده دقیق برای تقویت و مهار عضلات آگونیست و آنتاگونیست وظیفه هماهنگی حرکتی و کنترل اعمال حرکتی را انجام می دهد، این سیگنال های زمان بندی شده به شکل تغییرات گذرا در فرکانس و الگوی شلیک این نورون ها کد می گردد. درخت دندریتی وسیع به آنها اجازه می دهد ورودیهای تحریکی و مهاری گسترده ای را منسجم و نتیجه را به سلول های هدف در هسته های عمقی رله نمایند [۴، ۷ و ۱۴].

تغییر در زمان بندی دقیق<sup>۱</sup> سیگنال های الکتریکی سلول های پورکنژ سبب بروز آتاکسی مخچه ای می گردد [۱۶]. آتاکسی مخچه ای بیماری نورولوژیکی است که با عدم هماهنگی در حرکات، عدم ثبات در وضعیت و طرز ایستادن<sup>۲</sup>، ناهنجاری در راه رفتن<sup>۳</sup> و لرزش ارادی<sup>۴</sup> همراه است [۱۷] و بوسیله اختلالات در مخچه و مدارهایش بویژه آوران های نخاعی- مخچه ای ایجاد می شود. البته علل آتاکسی های مخچه ای ممکن است متفاوت باشد [موتاسیون های ژنتیکی، عوامل محیطی، سرطان و فاکتورهای نامشخص] اما مدارها و سلول های مخچه ای نیز قسمت های عمده ای هستند که دستخوش تغییر می شوند. سلول های پورکنژ در قشر مخچه، شایعترین نوع نورون های مخچه هستند که در بیماران آتاکسیک آسیب می بینند [۱۸].

دژنراسیون قشری مخچه نشانه اصلی این بیماری است و این دژنراسیون منجر به تغییر خروجی نورون های پورکنژ می شود. از آنجایی که نورون های پورکنژ تشکیل تنها خروجی قشر مخچه را می دهند و اساساً سیگنال های مهاری را به هسته های عمقی مخچه می فرستند، عدم عملکرد طبیعی این نورون ها به نظر می رسد منجر به افزایش تحریک پذیری هسته های عمقی مخچه می شود. نورون های هسته های عمقی دارای شلیک خودبخودی در عدم حضور ورودی سیناپسی از پورکنژ هستند. تعدیل شلیک

1. Precision timing
2. Posture
3. Gait
4. Intention tremor

این نورون ها توسط ورودی های پورکنز مسئول هماهنگی در اعمال حرکتی است [۱۷ و ۱۹]

همانطور که اشاره شد مخچه هماهنگی در حرکت را از طریق تولید سیگنال های زمان بندی شده دقیق برای تقویت و مهار عضلات اگونیست و آنتاگونیست انجام می دهد که این سیگنال های زمان بندی شده به شکل تغییرات گذرا در فرکانس و الگوی شلیک این نورون ها کد می گردد و از طرفی در آتاکسی خروجی های قشر مخچه یعنی نورون های پورکنز دچار آسیب می گردند لذا در این مطالعه تغییرات ویژگیهای ذاتی غشاء این سلول ها بویژه فرکانس و الگوی شلیک را با استفاده از ثبت داخل سلولی از برش های زنده ورمیس در مدل حیوانی آتاکسی مخچه ای مورد بررسی قرار می دهیم.

همچنین با توجه به نقش مهمی که کانال های پتاسیمی Kv1 حساس به سم عقرب (DTX)<sup>۱</sup> و نوع سریع (IA) حساس به 4-AP، در ریتمیسته و رفتار الکتریکی<sup>۲</sup> سلول های پورکنز در شرایط کنترل و آتاکسیک دارند [۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵ و ۲۶] لذا هدف دیگر در بررسی حاضر، مطالعه نقش کانال های یونی به ویژه پتاسیمی در ویژگی های الکتروفیزیولوژیک سلول های پورکنز مخچه در یک مدل آتاکسیک است و با توجه به اهمیت کانال های پتاسیمی در کنترل تحریک پذیری سلول های عصبی و در بروز برخی بیماریها همچون آتاکسی، یافتن نقش پیشگیری کننده<sup>۳</sup> بازکننده ها<sup>۴</sup> و یا مهار کننده های کانال های یونی بدلیل تأثیری که این مواد در تغییر عملکرد کانال ها یونی دارند کاربرد بالینی قابل توجهی را خواهد داشت. به همین منظور در پروژه حاضر پس از شناسایی نقش الکتروفیزیولوژیک کانال های پتاسیمی در آتاکسی ایجاد شده توسط 3-AP، تأثیر پیشگیری کننده 4-AP مهار کننده کانال های سریع پتاسیمی [۲۷ و ۲۸] و Riluzole، باز کننده کانال های SK<sup>۵</sup> [۲۹] در جلوگیری از آتاکسی مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

1. Dendrotoxin
2. Firing behaviour
3. Protective
4. Openers
5. Small-conductance calcium activated potassium channels