

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری  
دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه  
گاوزنگ - زنجان



# غلظت هورمون لپتین در سرم خون محیطی بیماران آلزایمری در مقایسه با افراد سالم

پایان نامه کارشناسی ارشد

سمیه مسکینی

استاد راهنما: دکتر سعید عمادی

استاد مشاور: دکتر مهدی مقبولی

فروردین ۱۳۹۳

# تقدیم به پدر و مادر مهربانم

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایشار و از خودگذشتگی،

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است،

به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند،

بوسه بردستان پر مهرتان؛

و

همه آنهایی که دوستشان دارم.

## مشکر و قدردانی

شکر و سپاس خدایی را که بزرگترین امید و یاور در لحظه لحظه زندگیست و هر چه دارم از اوست.  
از خانواده عزیزم به خاطر همه‌ی تلاش‌های محبت‌آمیزشان که در تمام دوران زندگی انجام داده‌اند، بی‌نهایت  
مشکر می‌کنم.

از استاد عزیز و ارزشمندم آقای دکتر سعید عادی که افتخار شاگردی‌شان را داشتم و در این پروژه از راهنمایی‌های  
ایشان نهایت بهره‌ر ابردم، بسیار سپاسگزارم.  
از استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر مهدی مقبولی که زحمت مشاوره این پروژه را بر عهده گرفتند، کمال تشکر و  
قدردانی را دارم.

از اساتید محترم جناب آقای دکتر مهرداد پدرام، سرکار خانم دکتر سکونف زارعیان و سرکار خانم عطیه مهدوی که  
زحمت داورسی این پایان‌نامه را متقبل شدند کمال تشکر و قدردانی را دارم.  
همچنین از بخش اعصاب و انگشاه علوم پزشکی زنجان، از کارکنان محترم آزمایشگاه بهار و کلیه اعضای مرکز  
تحصیلات تکمیلی زنجان بابت همکاری در این پروژه، کمال تشکر و قدردانی را دارم.  
از همه‌ی دوستان خوبم که در این مدت کنارم بودند، سپاسگزارم.

## چکیده فارسی

بیماری آلزایمر یک اختلال نورونی پیچیده است که توسط پلاک‌های آمیلوئیدی بتای خارج سلولی و رشته‌های فیبریلی داخلی سلولی پروتئین تائو شناخته می‌شود. چاقی به طور قابل ملاحظه‌ای خطر پیشرفت بیماری آلزایمر را افزایش می‌دهد. در هر دو این بیماری مسیره‌های سلولی و مولکولی مشترکی وجود دارد و به این ترتیب قابل درک خواهد بود که وقوع یکی بر دیگری مؤثر خواهد بود. مطالعات اخیر شواهدی به دست داده است که سطح هورمون لپتین در بیماری آلزایمر دستخوش تغییراتی می‌شود و میزان آن در بیماران آلزایمری کاهش می‌یابد. لپتین هورمونی پپتیدی است که توسط بافت چربی سنتز می‌شود و در هیپوتالاموس مغز تعادل انرژی و سوخت و ساز را تنظیم می‌کند و در هیپوکمپ مغز بر یادگیری و حافظه تأثیر می‌گذارد. این مطالعه بر روی بیماران مبتلا به آلزایمر مراجعه کننده به بیمارستان ولیعصر (عج)، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، انجام شد. ۱۲ بیمار مبتلا به آلزایمر و ۱۲ فرد سالم وارد این مطالعه شدند و میزان هورمون لپتین در سرم خون آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از روش الایزا برای اندازه‌گیری سطح هورمون لپتین سرم خون استفاده شد. در این مطالعه سطح هورمون لپتین در گروه بیماران آلزایمری به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد سالم مشاهده شد. با در نظر گرفتن ارتباط بین سطح هورمون لپتین با سن در گروه بیماران آلزایمری، مشخص شد که سطح هورمون لپتین در مردان و زنان با افزایش سن کاهش می‌یابد. همچنین، داده‌های ما حاکی از کاهش سطح هورمون لپتین سرم را با شدت بیماری است. این یافته‌ها به ضرورت نشان دهنده یک رابطه علت و معلولی بین بروز و پیشرفت بیماری آلزایمر و کاهش سطح لپتین در خون بیماران نیست ولی اگر چنین رابطه‌ای در مطالعات آینده معلوم شود می‌توان امید داشت که به این ترتیب روزنه جدیدی در درمان آلزایمر گشوده شود.

کلمات کلیدی: بیماری آلزایمر، هورمون لپتین، سیستم عصبی و غدد درون‌ریز.

## فهرست

عنوان	شماره صفحه
فهرست شکل ها .....	ج
فهرست جدول ها .....	ح
فصل اول: مقدمه .....	۱
۱.۱ بیماری های تخریب کننده عصبی .....	۱
۱.۱.۱ زوال عقل پیری .....	۲
۱.۱.۱.۱ بیماری پارکینسون .....	۲
۲.۱.۱.۱ بیماری هانتینگتون .....	۳
۳.۱.۱.۱ بیماری آلزایمر .....	۳
۴.۱.۱.۱ همه گیرشناسی بیماری آلزایمر و زوال عقل .....	۵
۲.۱ فرضیه آبشار آمیلوئید .....	۶
۱.۲.۱ پروتئین بتا آمیلوئید به عنوان یکی از مهمترین پروتئین های مستعد تشکیل تجمع های آمیلوئیدی .....	۹
۱.۱.۲.۱ پروتئین بتا آمیلوئید .....	۹
۲.۱.۲.۱ پروتئین پیش ساز بتا آمیلوئید .....	۱۰
۳.۱.۲.۱ مکانیسم آنزیمی تولید پپتید بتا آمیلوئید .....	۱۱
۳.۱ تشخیص بیماری آلزایمر .....	۱۴
۴.۱ درمان بیماری آلزایمر .....	۱۷
۵.۱ مکانیسم های زدودن پپتید بتا آمیلوئید از مغز و استراتژی های فرض شده .....	۱۸

۲۱	..... ۶.۱ لپتین
۲۱	..... ۱.۶.۱ زیست‌شناسی لپتین
۲۵	..... ۲.۶.۱ مکانیزم مولکولی انتقال پیام لپتین
۲۵	..... ۱.۲.۶.۱ مسیر JAK/STAT
۲۷	..... ۳.۶.۱ مقاومت به لپتین
۳۱	..... ۴.۶.۱ سنتز لپتین و جذب به درون مغز
۳۲	..... ۵.۶.۱ لپتین، فسفریلاسیون تاو را در سلول‌های عصبی کاهش می‌دهد
۳۳	..... ۷.۱ روش‌های سنجش ایمنی
۳۳	..... ۱.۷.۱ روش الیزا
۳۳	..... ۱.۱.۷.۱ طبقه‌بندی الیزا
۳۶	..... فصل دوم: مواد و روش‌ها
۳۶	..... ۱.۲ دستگاه‌های مورد استفاده
۳۶	..... ۲.۲ کیت مورد استفاده
۳۶	..... ۳.۲ تهیه نمونه‌ها
۳۸	..... ۱.۳.۲ معیارهای ورود به مطالعه
۳۸	..... ۲.۳.۲ معیارهای خروج از مطالعه
۳۹	..... ۳.۳.۲ شرایط خون‌گیری و سرم‌گیری
۳۹	..... ۴.۲ روش‌های مورد استفاده در این مطالعه
۳۹	..... ۱.۴.۲ روش الیزا
۴۰	..... ۵.۲ سنجش هورمون لپتین
۴۱	..... ۱.۵.۲ محتویات کیت
۴۲	..... ۲.۵.۲ تهیه بافرها و محلول‌ها برای سنجش هورمون لپتین
۴۲	..... ۱.۵.۲.۲ بافر رقیق‌کننده
۴۲	..... ۲.۵.۲.۲ بافر شستشو

۴۲	.....	محلول استاندارد ۳.۵.۲.۲
۴۲	.....	محلول‌های کنترل ۴.۵.۲.۲
۴۲	.....	دستورالعمل سنجش هورمون لپتین ۶.۲
۴۵	.....	محاسبه نتایج ۷.۲
۴۶	.....	فصل سوم: نتایج و بحث ۴۶
۴۶	.....	هدف ۱.۳
۴۸	.....	اندازه‌گیری میزان هورمون لپتین ۲.۳
۴۸	.....	هورمون لپتین در نمونه‌های خونی ۱.۲.۳
۴۸	.....	نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان هورمون لپتین در نمونه‌های خونی سه گروه اصلی ۲.۲.۳
۵۱	.....	مقایسه سطح هورمون لپتین در خون زنان و مردان دو گروه اصلی GC, AD ۳.۲.۳
		دسته‌بندی بیماران آلزایمری در گروه‌های سنی مختلف و بررسی تغییر میزان هورمون لپتین در
۵۳	.....	خون آنها ۳.۳
۵۴	.....	بررسی میزان نوسان هورمون لپتین در گروه‌های سنی مختلف بیماران آلزایمری ۱.۳.۳
۵۷	.....	بررسی تغییر میزان هورمون لپتین در بیماران مبتلا به آلزایمر بر اساس شدت بیماری ۴.۳
۵۸	.....	بررسی میزان هورمون لپتین در خون بیماران مبتلا به آلزایمر بر اساس افزایش شدت بیمار.. ۱.۴.۳
۶۰	.....	نتیجه‌گیری نهایی ۵.۳
۶۰	.....	چشم انداز ۶.۳
۶۱	.....	مراجع
۶۷	.....	واژه‌نامه انگلیسی به فارسی
۷۳	.....	علائم اختصاری



## شکل‌ها

عنوان	شماره صفحه
شکل (۱-۱) فراوانی انواع زوال عقل.....	۲
شکل (۲-۱) پراکندگی زوال عقل در ۶ ناحیه دنیا بر اساس داده‌های فری و همکارانش .....	۶
شکل (۳-۱) چرخه‌ی رسوب بتا آمیلوئید و عوامل دخیل در آن .....	۷
شکل (۴-۱) فرضیه آبشار آمیلوئید .....	۷
شکل (۵-۱) ساختار APP: سازماندهی ناحیه‌های مختلف APP.....	۱۱
شکل (۶-۱) ساختار شماتیک APP درغشاء و پپتید $A\beta$ .....	۱۲
شکل (۷-۱) فرآیند هیدرولیز APP در بیماری آلزایمر.....	۱۹
شکل (۸-۱) فاکتورهای دخیل در مسیر آمیلوئید زایی .....	۲۰
شکل (۹-۱) ساختار کریستالی هورمون لپتین .....	۲۲
شکل (۱۰-۱) گیرنده‌های متفاوت هورمون لپتین.....	۲۵
شکل (۱۱-۱) اتصال لپتین به گیرنده بزرگ لپتین و مسیر پیام‌دهی.....	۲۸
شکل (۱۲-۱) همبستگی لپتین با چاقی و انتقال لپتین از سد خونی- مغزی.....	۲۸
شکل (۱۳-۱) گیرنده لپتین در هیپوتالاموس و تعدیل بتا آمیلوئید .....	۲۹
شکل (۱۴-۱) لپتین و مسیر علامت‌دهی مرتبط با تعدیل تشکیل بتا آمیلوئید.....	۳۰
شکل (۱۵-۱) حفاظت نورونی لپتین در مغز.....	۳۲
شکل (۱-۲) اساس روش الایزا .....	۴۰
شکل (۲-۲) نمودار استاندارد تهیه شده لپتین .....	۴۵
شکل (۱-۳) مقایسه میزان هورمون لپتین در خون محیطی دو گروه اصلی: AD، GC .....	۵۰
شکل (۲-۳) میزان هورمون لپتین در خون محیطی سه گروه AC، AD و YC .....	۵۰
شکل (۳-۳) مقایسه میزان هورمون لپتین بین زنان و مردان در گروه بیمار و سالم .....	۵۱
شکل (۴-۳) میزان هورمون لپتین در خون زنان و مردان به طور جداگانه .....	۵۳
شکل (۵-۳) میزان هورمون لپتین در مردان مبتلا به آلزایمر در گروه‌های سنی مختلف .....	۵۵

۵۵	..... شکل (۳-۶) میزان هورمون لپتین در زنان مبتلا به آلزایمر در گروه‌های سنی مختلف
۵۶	..... شکل (۳-۷) میزان هورمون لپتین در بیماران آلزایمری در گروه‌های سنی مختلف
۵۷	..... شکل (۳-۸) مقایسه میزان هورمون لپتین در مردان و زنان مبتلا به آلزایمر در گروه‌های سنی مختلف
۵۸	..... شکل (۳-۹) میزان هورمون لپتین در سرم خون مردان مبتلا به آلزایمر بر اساس افزایش شدت بیماری
۵۹	..... شکل (۳-۱۰) میزان هورمون لپتین در سرم خون زنان مبتلا به آلزایمر بر اساس افزایش شدت بیماری
۵۹	..... شکل (۳-۱۱) مقایسه میزان هورمون لپتین در زنان و مردان مبتلا به آلزایمر بر اساس افزایش شدت بیماری

## جدول‌ها

شماره صفحه	عنوان
۹	جدول (۱-۱) ژن‌های درگیر در بیماری آلزایمر
۱۵	جدول (۱-۲) شاخص DSM-IV TR در بیماری آلزایمر
۱۷	جدول (۱-۳) شاخص‌های NINCDS-ADRDA در تشخیص بیماری آلزایمر
۱۸	جدول (۱-۴) تفاوت‌ها و شباهت‌ها بین ۳ شاخص برای بیماری آلزایمر
۱۹	جدول (۱-۵) داروهایی که در درمان بیماری آلزایمر به کار می‌روند
۲۴	جدول (۱-۶) عامل‌های تنظیم کننده میزان هورمون لپتین
۳۶	جدول (۲-۱) مشخصات دستگاه‌ها
۳۶	جدول (۲-۲) مشخصات کیت
۳۸	جدول (۲-۳) گروه‌بندی نمونه‌ها و اطلاعات مربوط به هر گروه
۴۱	جدول (۲-۴) لیستی از مواد تهیه شده در کیت
۴۴	جدول (۲-۵) دستورالعمل سنجش هورمون لپتین
۴۷	جدول (۳-۱) جدول متغیرها
۴۸	جدول (۳-۲) غلظت هورمون لپتین در سرم تهیه شده از نمونه‌های خونی
۵۱	جدول (۳-۳) میزان لپتین در خون زنان و مردان در سه گروه YC، AC و AD
۵۴	جدول (۳-۴) غلظت لپتین در سرم خون بیماران آلزایمری در گروه‌های سنی مختلف

# فصل اول

## مقدمه

### ۱.۱ بیماری‌های تخریب کننده عصبی<sup>۱</sup>

اختلال در عملکرد سلول‌های عصبی، موجب بروز بیماری‌های تخریب عصبی می‌شود که به ویژه با افزایش سن، شیوع بیشتری می‌یابند. این بیماری‌ها به دو گروه کلی تقسیم می‌شوند. گروه اول سندرم‌های متعددی را شامل می‌شوند که بیشتر در سنین جوانی و حتی کودکان دیده می‌شوند. در اکثر موارد، جهش‌های تک ژنی در ژنوم هسته یا میتوکندری مسئول بروز این گروه از اختلالات هستند و توارث آن‌ها به صورت مندلی<sup>۲</sup> یا مادری است. گروه دوم اغلب در افراد مسن دیده می‌شود و معمولاً همراه با دیابت ملیتوس<sup>۳</sup>، چاقی، سندرم متابولیک و انواع مختلف بدخیمی‌ها است. تاکنون، بیش از صد سندرم توارثی تخریب کننده‌ی عصبی، شناخته شده که از این میان بیش از بیست سندرم با دیابت، بخصوص دیابت نوع دو همراه هستند. از جمله این سندرم‌ها و بیماری‌ها: سندرم داون<sup>۴</sup>، آتاکسی فردریش<sup>۵</sup>، بیماری هانتینگتون<sup>۶</sup>، سندرم‌های کلینفلتر<sup>۷</sup>، ترنر<sup>۸</sup> و آلزایمر هستند. وجه مشترک بیماری‌های یاد شده، وجود اختلال در متابولیسم سلولی است، که طی آن پروتئینی دچار نقص در ساختار شده و به صورت نامحلول در سلول رسوب می‌کند [۱].

---

<sup>1</sup> Neurodegenerative diseases

<sup>2</sup> Mendelian inheritance

<sup>3</sup> Diabetes mellitus

<sup>4</sup> Down syndrome

<sup>5</sup> Friedreich's ataxia

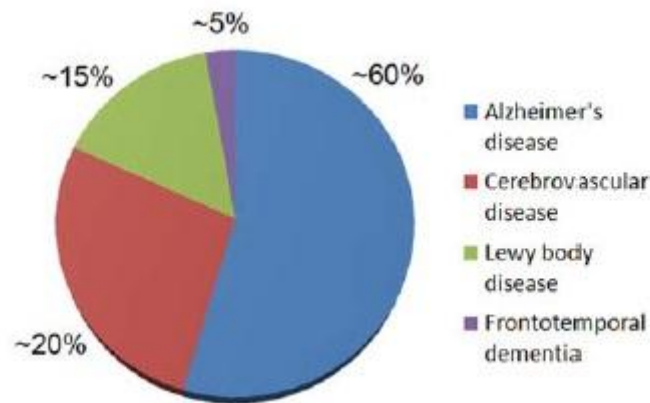
<sup>6</sup> Huntington's disease

<sup>7</sup> Klinefelter syndrome

<sup>8</sup> Turner syndrome

### ۱.۱.۱ زوال عقل پیری<sup>۱</sup>

زوال عقل واژه‌ای است که از دست دادن ظرفیت ذهنی را در تنوعی از حوزه‌های شناختی شامل: حافظه، زبان (قدرت تکلم)، فعالیت‌های اجرائی و مهارت‌های حرکتی و غیره... شرح می‌دهد. این بیماری به صورت یک سندرم، معمولاً در سنین بالای ۵۰ سال پدیدار می‌شود. بیماری آلزایمر یکی از متداول‌ترین موارد زوال عقل می‌باشد که معمولاً در سنین بالای ۶۵ سال بروز کرده و حدود ۶۰٪ از انواع زوال عقل را شامل می‌شود. شکل (۱-۱) فراوانی انواع زوال عقل را نشان می‌دهد. [۲،۳]



شکل (۱-۱) فراوانی انواع زوال عقلی [۴].

### ۱.۱.۱.۱ بیماری پارکینسون

پارکینسون یک بیماری تخریب کننده عصبی مرکزی است که توسط جیمز پارکینسون در سال ۱۸۱۷ توصیف شد. این بیماری بعد از آلزایمر، شایع‌ترین بیماری مخرب اعصاب در سنین بالای ۶۰ سال به حساب می‌آید که در آن سلول‌های ترشح‌کننده دوپامین<sup>۲</sup> در جسم سیاه<sup>۳</sup> (مغز میانی) می‌میرند. در فقدان دوپامین، حرکات بدن نامنظم می‌شود و سفتی عضلانی پیشرونده تدریجی، لرزش و از دست دادن مهارت‌های حرکتی را به دنبال دارد. مشخصه این بیماری، رسوب‌های داخل سیتوپلاسمی است که اجسام لوی<sup>۴</sup> نام دارند. این بیماری به هر دو شکل وراثتی و اکتسابی وجود دارد. نوع آتوزومی

<sup>1</sup> Senile dementia

<sup>2</sup> Dopamine

<sup>3</sup> Substantia nigra

<sup>4</sup> Lewy bodies

غالب بیماری پارکینسون به خاطر جهش در ژن آلفاسینوکلئین<sup>۱</sup> و نوع اتوزومی مغلوب بر اثر جهش در ژن پارکین<sup>۲</sup> رخ می‌دهد [۵].

### ۲.۱.۱.۱ بیماری هانتینگتون

بیماری هانتینگتون یک بیماری مخرب عصبی پیشرونده با توارث اتوزومال غالب است که در سنین بزرگسالی بروز می‌نماید و زوال پیشرونده عقل با از دست رفتن شدید نورون‌ها را به دنبال دارد. این بیماری در اثر افزایش توالی تکراری سه نوکلئوتیدی، بر اثر جهش در ژن هانتینگتون که پروتئینی به نام هانتینگتین را بیان می‌کند، ایجاد می‌شود [۵].

### ۳.۱.۱.۱ بیماری آلزایمر

بیماری آلزایمر یک مورد بسیار متداول از زوال عقل<sup>۳</sup> در پیری است. یک بیماری تحلیل‌برنده اعصاب و پیشرونده با طیفی از ویژگی‌ها و یافته‌های نوروپاتولوژیک که حدود یک‌صد سال پیش ماهیت آسیب‌شناختی آن توسط یک پزشک آلمانی به اسم آلوئیس آلزایمر<sup>۴</sup> (۱۸۶۴-۱۹۱۵) در سال ۱۹۰۷ میلادی شرح داده شد. او پس از مرگ یک بیمار زن ۵۱ ساله که از اختلال حافظه شدیدی رنج می‌برد، محتویات مغز او را آنالیز کرد و لکه‌های غیرمعمولی را درون سلول‌های عصبی که بعدها کلافه‌های نوروفیبریلی<sup>۵</sup> نامیده شدند و هم‌چنین تعدادی لکه‌های موضعی درون کورتکس مغز که بعدها توسط سیمکوویچ<sup>۶</sup>، پلاک‌های پیری<sup>۷</sup> نامیده شدند، مشاهده کرد. اینگونه تصور می‌شد که این ته‌نشست‌های آمیلوئیدی خصوصیات نشاسته‌مانند داشته باشند ولی در حال حاضر ثابت شده است که از تنوعی از پپتیدها و پروتئین‌ها با پیکره‌بندی صفحات پلیسه‌دار ناهم‌سوی بتا<sup>۸</sup> تشکیل شده‌اند [۶]. تحقیقات نشان دادند که ترکیب اصلی و سازنده کلافه‌های نوروفیبریلی، پروتئین تاو<sup>۹</sup> و ترکیب اصلی سازنده پلاک‌های پیری، پپتید بتای آمیلوئید<sup>۱۰</sup> است [۳،۷].

<sup>1</sup>  $\alpha$ -Synuclein

<sup>2</sup> Parkin

<sup>3</sup> Dementia

<sup>4</sup> Alois Alzheimer

<sup>5</sup> Neurofibrillary tangles

<sup>6</sup> Simchowicz

<sup>7</sup> Senile plaques

<sup>8</sup> Antiparallel beta sheets

<sup>9</sup> Tau protein

<sup>10</sup> Amyloid -beta peptide (A $\beta$ )

در این بیماری رسوب غیرعادی برخی پروتئین‌ها در مغز، کاهش نقل و انتقال‌های عصبی و در نهایت تحلیل رفتن و کوچک شدن مغز اتفاق می‌افتد. آلزایمر در بخشی از قسمت گیجگاهی مغز که مسئول نگهداری اطلاعات، حافظه و یادگیری است، شروع می‌شود و با توجه به روند پیشرونده بیماری به تدریج سایر بخش‌های مغز را هم درگیر می‌کند. «فراموشی» شایع‌ترین علامتی است که در مراحل اولیه بیماری به صورت اختلال در حافظه کوتاه‌مدت، خود را نشان می‌دهد و سپس حافظه بلند مدت را هم درگیر می‌کند. آلزایمر با «فراموشی» آغاز می‌شود اما به مرور زمان و با پیشرفت بیماری، کارکردهای مغزی هم یکی پس از دیگری مختل می‌شوند یا از بین می‌روند. به دلیل مشکلات ذهنی و جسمی فراوانی که در فرد به وجود می‌آید بیشتر مردم آن را فقط بیماری حافظه و فراموشی می‌دانند. ویتسون<sup>۱</sup> و همکارانش اولین بار اثرات نوروتروفیک<sup>۲</sup> خفیف بتا‌آمیلوئید را در محیط بیرون از سلول<sup>۳</sup> گزارش دادند و دریافتند که اثرهای احتمالی فیزیولوژیکی بتا‌آمیلوئید به چگونگی تجمع آن بستگی دارد. آنها دریافتند که پپتیدهای محلول خاصیت سمی ندارند ولی وقتی که به شکل فیبریل و تجمع درآیند ویژگی‌های سمی<sup>۴</sup> از خود نشان می‌دهند [۲،۳،۸]. گفته می‌شود که علت سمیت، ناشی از برهم‌خوردن هموستازی<sup>۵</sup> یون کلسیم و القاء اثرات اکسیداتیو رادیکال آزاد می‌باشد. همچنین بسته به غلظت بتا‌آمیلوئید و نوع سلول آپوپتوزیس<sup>۶</sup> و نکروز<sup>۷</sup> نیز مشاهده شده است [۷].

ونکر<sup>۸</sup> در آزمایشات خود نشان داد که تزریق بتای آمیلوئید به داخل مغز پرماتهای<sup>۹</sup> پیر باعث القای القای ویژگی‌های سمی نرونی در محیط سلول زنده<sup>۱۰</sup> می‌شود، در صورتی که این ویژگی‌ها در حیوان‌های جوان‌تر پس از تزریق مشاهده نشد و از این رو پیشنهاد شد که سمیت ناشی از بتا آمیلوئید در شرایط داخل سلول به طور ویژه‌ای با سن مغز در ارتباط است [۳،۹].

بیماری آلزایمر، بر اثر نقص پیش‌رونده حافظه کوتاه مدت و به دنبال آن از بین رفتن عملکرد فرد و مرگ در کهنسالی مشخص می‌شود. از تغییرهای اولیه در بیماری آلزایمر تحلیل رفتن قشر مخ است. بیماری آلزایمر ۲ تا ۵ درصد اشخاص مسن را در بر می‌گیرد و گاهی هم به اشخاص جوانتر حمله

<sup>1</sup> Whitson

<sup>2</sup> Neurotrophic

<sup>3</sup> *In vitro*

<sup>4</sup> Neurotoxic

<sup>5</sup> Homeostasis

<sup>6</sup> Apoptosis

<sup>7</sup> Necrosis

<sup>8</sup> Vanker

<sup>9</sup> Primates

<sup>10</sup> *In vivo*

می‌کند. به نظر می‌رسد که بیماری آلزایمر در اثر مرگ سلول‌های منطقه هیپوکامپ که معمولاً مقدار زیادی استیل کولین تولید می‌کنند بوجود می‌آید. در نورون‌های آسیب‌دیده پلاک‌هایی جمع می‌شود و به تدریج می‌میرند. بر اثر کاهش نورون‌ها و در نتیجه‌ی کاهش انتقال‌دهنده عصبی استیل کولین، تشکیل خاطرات جدید دچار مشکل می‌شود و به همین دلیل یکی از نشانه‌های اصلی بیماری آلزایمر عدم توانایی در تحکیم یادگیری‌ها (مثل یادآوری نشانی جدید) و دشواری در جهت‌یابی است. اما به خاطر آوردن رویدادهای دور معمولاً دیرتر آسیب می‌بینند. مهمترین یافته‌های آسیب‌شناختی بیماری آلزایمر، رسوب پپتید بتا آمیلوئید و پروتئین تاو در مغز می‌باشند. پپتید بتای آمیلوئید که از پروتئین رمز گردانی شده توسط یکی از ژن‌های مستعد کننده به بیماری آلزایمر خانوادگی بوجود می‌آید، در پلاک‌های آمیلوئید یا پیری و در فضای خارج سلولی مبتلایان به آلزایمر یافت می‌شود. پلاک‌های آمیلوئید، حاوی پروتئین‌های دیگری علاوه بر بتا آمیلوئید نیز می‌باشند نظیر آپولیپو پروتئین ایی<sup>۱</sup> که توسط ژن APOE رمز گردانی می‌شود.

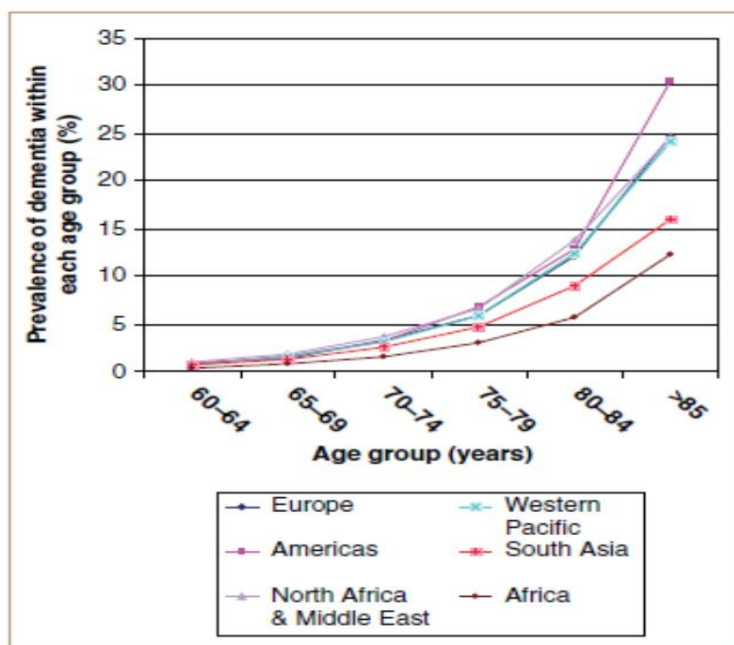
#### ۴.۱.۱.۱ همه‌گیرشناسی<sup>۲</sup> بیماری آلزایمر و زوال عقل

طبق آمارها در آمریکای شمالی ۶ تا ۱۰ درصد افراد ۶۵ ساله و پیرتر، از یکی از انواع زوال عقلی رنج می‌برند [۱۰]. با کاهش میزان مرگ و میر و نرخ باروری در کشورهای توسعه‌یافته، افزایش سن جمعیت یک پدیده جهانی شده است. در واقع فرایند پیر شدن جمعیت اخیراً بیشترین حساسیت و اهمیت را در کشورهای توسعه‌یافته پیدا کرده است، چرا که با افزایش جمعیت افراد پیر و سالخورده درصد مبتلایان به یکی از انواع زوال عقلی و بالطبع آلزایمر افزایش می‌یابد [۱۱، ۱۲]. طبق گزارش فری<sup>۳</sup> و همکارانش تخمین زده شده که در سال ۲۰۰۱ حدود ۲۴/۳ میلیون نفر از یکی از انواع زوال عقل رنج می‌برده‌اند (شکل ۱-۲). طبق این گزارش هر سال حدود ۴/۶ میلیون نفر (هر ۷ ثانیه یک نفر) به این جمعیت اضافه خواهد شد، به طوری که در سال ۲۰۲۰ حدود ۴۲/۳ میلیون نفر از این بیماری رنج خواهند برد [۷، ۱۳]. شیوع این بیماری در کشورهای اروپای غربی، آمریکای شمالی و چین بیشتر از کشورهای آسیای جنوبی و آفریقا است [۱۴].

<sup>1</sup> Apo-lipoprotein E (ApoE)

<sup>2</sup> Epidemiology

<sup>3</sup> Ferri



شکل (۲-۱) پراکندگی زوال عقل در ۶ ناحیه دنیا بر اساس داده‌های فری و همکارانش [۱۳]

## ۲.۱ فرضیه آبشار آمیلوئید<sup>۱</sup>

در سال ۱۹۹۱ پیشنهاد شد که تجمع پپتید بتا آمیلوئید در مغز، عامل اصلی بیماریزائی در بیماری آلزایمر است. در واقع بیماری ناشی از یک عدم تعادل بین تولید پپتید بتای آمیلوئید و زدودن این پپتید در مغز می‌باشد. در فرضیه آبشاری پپتید بتای آمیلوئید، یک بی‌نظمی در فرایند پروتئین پیش‌ساز بتا آمیلوئید<sup>۲</sup>، آغازگر رویدادهای بیماریزائی در بیماری آلزایمر است که منجر به تجمع پپتید بتای آمیلوئید، بویژه پپتید بتای آمیلوئید ۴۲ می‌شود و شکل‌گیری پلاک‌های نوریتیک<sup>۳</sup> منجر به رویدادهای بیماریزائی بیشتری می‌شود که شامل شکل‌گیری کلاف‌های فیبریلی عصبی<sup>۴</sup>، قطع سیناپس-ها، کاهش انتقال دهنده‌های عصبی<sup>۵</sup>، مرگ نورون‌های حاوی کلاف<sup>۶</sup> و در نتیجه یک پاسخ التهابی<sup>۷</sup>،

<sup>1</sup> Amyloid cascade hypothesis (APP)

<sup>2</sup>  $\beta$ -Amyloid precursor protein

<sup>3</sup> Nurtic

<sup>4</sup> Neurofibrillary tangles (NFTs)

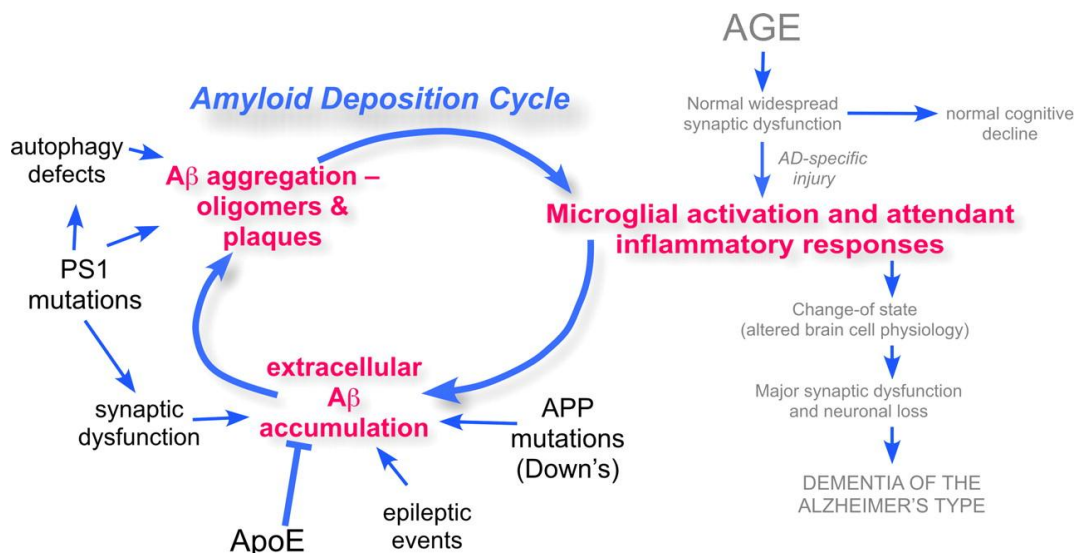
<sup>5</sup> Neurotransmitter

<sup>6</sup> Tangle

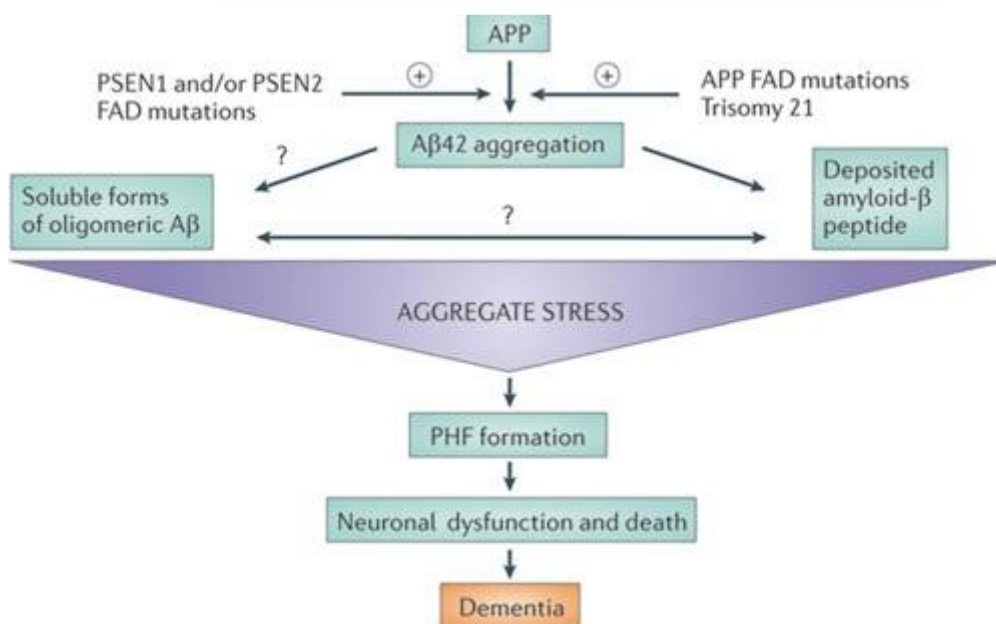
<sup>7</sup> Inflammatory response



می‌باشد. شکل (۳-۱) چرخه رسوب بتای آمیلوئید و شکل (۴-۱) فرضیه آبهشار بتای آمیلوئید را نشان می‌دهند [۱۵-۱۸].



شکل (۳-۱) چرخه رسوب بتا آمیلوئید و عوامل دخیل در آن [۱۹].



شکل (۴-۱) فرضیه آبهشار آمیلوئید [۲۰].

منشأ این فرضیه مشاهده همان جهش‌های عمده‌ای است که باعث بروز زودرس بیماری آلزایمر<sup>۱</sup> و افزایش نسبت فیبریل زائی بتا آمیلوئید<sup>۲</sup> می‌شود.

جهش‌ها در پروتئین پیش‌ساز بتا آمیلوئید، پرسنیلین<sup>۲</sup> و پرسنیلین<sup>۳</sup> که از زیرواحدهای کمپلکس گاماسکرتاز هستند، سطوح بتا آمیلوئید و پلاکهای آمیلوئیدی را افزایش می‌دهد. بعلاوه در افرادی با تریوزومی ۲۱ که حامل ۳ کپی از ژن پروتئین پیش‌ساز بتا آمیلوئید می‌باشند، نسبت بالاتری از شیوع بیماری آلزایمر، به‌ویژه در دهه چهارم زندگی‌شان دیده می‌شود [۲۱، ۲۲]. جدول (۱-۱) ژن‌های درگیر در بیماری آلزایمر را نشان می‌دهد.

جدول (۱-۱) ژن‌های درگیر در بیماری آلزایمر [۲].

Chromosome	Gene	Penetrance of mutated gene	Frequency in familial AD with known mutations	Mutation	Pathology
21q21	APP	High penetrance	About 18% of familial early onset AD	Missense mutations around A $\beta$ portion of APP	Increases A $\beta$ <sub>42</sub> production during APP processing
14q24.3	PS1	High penetrance	Represent up to 78% of familial early onset AD	Mostly missense mutations	Promotes cleavage at $\gamma$ -secretase site and increase A $\beta$ production and accumulation
1q31.42	PS2	Incomplete penetrance	Rare, ~4%	Missense mutations	Promotes cleavage at $\beta$ -secretase site leading to increased A $\beta$ production and accumulation

پپتید بتا آمیلوئید اثر نورو توکسیک خود را از راه‌های مختلفی اعمال می‌کند که شامل: اختلال فعالیت میتوکندری، القاء ژنهای آپوپتوزیس<sup>۴</sup>، از دست رفتن تحریک‌پذیری کانال‌های یونی که مسئول هوموستازی کلسیم هستند، تحریک مسیر JNK/SAPK، از دست رفتن فعالیت سلولهای میکروگلیا<sup>۵</sup> که در نهایت منجر به مسمومیت و مرگ نورو ن می‌شود [۶، ۵، ۲۳].

<sup>1</sup> Familial early-onset AD (EOAD)

<sup>2</sup> Presenilin1

<sup>3</sup> Presenilin2

<sup>4</sup> Apoptosis

<sup>5</sup> Microglia

## ۱.۲.۱ پروتئین بتا آمیلوئید به عنوان یکی از مهمترین پروتئین های مستعد تشکیل

### تجمع های آمیلوئیدی

#### ۱.۱.۲.۱ پروتئین بتا آمیلوئید

پروتئین بتا آمیلوئید<sup>۱</sup> یک پپتید تقریباً ۴ کیلو دالتونی و دارای ۳۶ تا ۴۳ اسید آمینه است که ترکیب اصلی پلاک های آمیلوئیدی<sup>۲</sup> یا پلاک های پیری<sup>۳</sup> در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر است. پلاک های آمیلوئیدی، تجمع های پروتئینی هستند که در درون و روی نورون ها رسوب کرده و باعث مرگ نورون می شوند. این پپتید یک محصول طبیعی است که در بافت های مختلف به خصوص مغز، در سراسر زندگی انسان تولید می شود. این پپتید بطور عمده بصورت بتا آمیلوئید ۴۰ در پلاسما، مایع مغزی - نخاعی<sup>۴</sup> و مایع درون شبکه ای مغز<sup>۵</sup> گردش می کند [۲۴].

در زمان شناسائی این پلاک ها توسط آلویس آلزایمر در سال ۱۹۰۷، ماهیت پروتئینی پلاک های آمیلوئیدی نا شناخته بودند و تصور بر این بود که این رسوب ها از جنس نشاسته بوده و بنابراین واژه آمیلوم<sup>۶</sup> به لاتین و آمیلام<sup>۷</sup> به زبان یونانی که به معنی نشاسته بود، برای نامیدن آن به کار رفت [۲۵]. پپتید بتای آمیلوئید توسط فعالیت آنزیم های بتاسکرتاز<sup>۸</sup> و گاماسکرتاز<sup>۹</sup> بر روی پروتئین پیش ساز بتای بتای آمیلوئید، تولید می شود. دو محصول اصلی این فعالیت آنزیمی، بتا آمیلوئید ۴۰ و بتا آمیلوئید ۴۲ است. تفاوت بتای آمیلوئید ۴۲ با بتای آمیلوئید ۴۰ در داشتن دو آمینواسید ایزولوسین<sup>۱۰</sup> (اسید آمینه شماره ۴۱) و آلانین<sup>۱۱</sup> (اسید آمینه شماره ۴۲) در انتهای کربوکسیلی این پپتید است. این پپتیدها دارای خاصیت دوگانه دوستی<sup>۱۲</sup> بوده، به طوریکه دارای یک سر قطبی ۱۶ اسید آمینه ای در انتهای آمینی و یک سر غیر قطبی در بخش مرکزی و انتهای کربوکسیلی هستند [۲۶-۲۸].

<sup>1</sup>  $\beta$ -Amyloid peptide

<sup>2</sup> Amyloid plaques

<sup>3</sup> Senile plaques

<sup>4</sup> Cerebrospinal fluid (CSF)

<sup>5</sup> Brain interstitial fluid (ISF)

<sup>6</sup> Amylum

<sup>7</sup> Amylom

<sup>8</sup>  $\beta$ -Secretase

<sup>9</sup>  $\gamma$ -Secretase

<sup>10</sup> Isoleucine

<sup>11</sup> Alanine

<sup>12</sup> Amphipathic

پپتید بتا آمیلوئید همچین دارای فعالیت‌هایی می‌باشد که همراه با بیماری نیست: فعالیت کینازی<sup>۱</sup>، حفاظت در برابر استرس‌های اکسیداتیو<sup>۲</sup>، تنظیم نقل و انتقال کلسترول، فعالیت به عنوان یک فاکتور رونویسی و فعالیت ضد میکروبی. پلاک‌های حاصل از این پپتید علاوه بر بیماری آلزایمر، در تنوعی از زوال‌های عقلی ناشی از اجسام لوی و اجسام اینکلوزن<sup>۳</sup> دیده می‌شود [۲۴].

### ۲.۱.۲.۱ پروتئین پیش‌ساز بتا آمیلوئید

پروتئین پیش‌ساز بتا آمیلوئید یک گلیکوپروتئین غشایی است که توالی بتای آمیلوئید درون آن قرار دارد. این پروتئین در تعدادی از بافت‌ها بیان می‌شود و تمرکز زیادی در غشای نورونها در محل سیناپس دارد. این پروتئین نقش‌های فیزیولوژیکی مهمی در چسبندگی سلول، رشد و نمو آکسون و دندریت نورونها، خروج آهن، تنظیم کنندگی شکل‌گیری و انعطاف‌پذیری نورونی و... دارد [۲۵، ۲۹، ۳۰].

ژن پروتئین پیش‌ساز بتا آمیلوئید روی بازوی بلند کروموزوم ۲۱ قرار دارد و حاوی حداقل ۱۸ اگزون در ۲۴۰ کیلوباز است. ناحیه‌ای از پپتید بتای آمیلوئید در این پروتئین، در منطقه درونی غشا قرار دارد که در میان گونه‌های مختلف به خوبی حفاظت نشده است و با فعالیت بیولوژیکی طبیعی پروتئین پیش‌ساز بتا آمیلوئید ارتباط آشکاری ندارد. جهش در نواحی از پروتئین پیش‌ساز بتای آمیلوئید که توالی پپتید بتای آمیلوئید در آن قرار دارد باعث افزایش تولید پپتید سمی تر پپتید بتای آمیلوئید ۴۲ نسبت به پپتید بتای آمیلوئید ۴۰ می‌شود که ابتلاء به بیماری آلزایمر خانوادگی را افزایش می‌دهد. این پروتئین دارای ۳ ناحیه خارج سلولی بلند، داخل سلولی کوتاه و درون غشایی می‌باشد که پپتید بتا آمیلوئید بخشی از ناحیه درون غشایی و خارج سلولی را اشغال کرده است [۳۱]. ناحیه خارج سلولی پروتئین پیش‌ساز بتا آمیلوئید به دو دومین<sup>۴</sup>  $E_1$  و  $E_2$  تقسیم می‌شود که توسط یک دومین اسیدی<sup>۵</sup> به هم متصل می‌شوند.  $E_1$  حاوی دو زیر دومین، شامل یک دومین فاکتور رشد مانند<sup>۶</sup> و یک دومین متصل شونده به مس<sup>۷</sup> است که میان‌کنش محکمی دارند. دومین مهارکننده سرین پروتئاز که بین

<sup>1</sup> Kinase activity

<sup>2</sup> Oxidative stress

<sup>3</sup> Inclusion body

<sup>4</sup> Domain

<sup>5</sup> Acidic domain (AcD)

<sup>6</sup> Growth factor-like domain (GFLD)

<sup>7</sup> Copper-binding domain (CuBD)