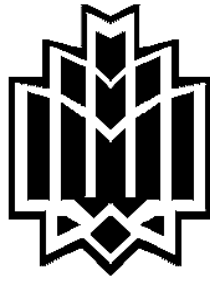


صلى الله عليه وسلم



دانشگاه تربیت معلم

دانشکده علوم زیستی

پایان نامه جهت اخذ کارشناسی ارشد

رشته ی فیزیولوژی جانوری

عنوان :

بررسی اثر نوروپروتکتیو تریازین بر یادگیری مدل آلزایمری موش های نر نژاد ویستار

اساتید راهنما :

سرکار خانم دکتر شهربانو عریان

جناب آقای دکتر غلامرضا حسن زاده

اساتید مشاور :

جناب آقای دکتر محمد شریف زاده

جناب آقای دکتر محسن امینی

دانشجو :

فاطمه علی پور

تیر ۱۳۹۱

تقدیم بہ پدر بزرگوارم بہ پاس زحمات بی دریغ و عاطفہ سرشار و کرمایا میدہ بخش و جودش کہ ہمیشہ
بہترین پشتیبان من است.

تقدیم بہ مادر دلسوز و مہربانم بہ پاس فداکاری و محبت ہائش کہ ہرگز فروکش نمی کند.

تقدیم بہ ہمسر عزیزم بہ پاس مہربانی بی پایان و محبت ہای بی دریغ کہ در این سردترین روزگار ان
بہترین ہمراہ من است.

تقدیم بہ برادران نازنینم بہ پاس قلب ہای بزرگشان کہ فریادرس ہمیشگی من ہستند.

پاس خدای راکه سخنوران، در ستودن او بماند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن
توانند. و سلام و دورد بر محمد و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان و امدار وجودشان است؛ و نفرین پیوسته
بر دشمنان ایشان تا روز رستاخیز...

به پاس تمامی آموخته هایم در مسیر انجام این پژوهش از اساتید عزیز و بزرگوارم:

سرکار خانم دکتر عریان و جناب آقای دکتر حسن زاده به خاطر تمامی رهنمودهای ارزنده و حمایت های بی دریغشان

جناب آقای دکتر شمیرنفرزاده و جناب آقای دکتر امینی که مشاوره این رساله را بر عهده داشتند

صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

و در آخر نهایت سپاسم را به همراهان، همیشگی زندگی ام خانواده عزیز و مهربانم تقدیم می دارم.

چکیده

بیماری آلزایمر رایج‌ترین نوع اختلال نورودژنراتیو می‌باشد که با تشکیل پلاک‌های آمیلوئید (A β)، گسترش تانگل‌های نوروفیبریلاری، دژنره شدن نورون‌های کولینرژیک و فقدان حافظه و ادراک شناخته می‌شود. دو ویژگی اصلی بیماری آلزایمر، تجمع پلاک‌های آمیلوئیدی خارج سلولی و کلاف‌های نوروفیبریلاری داخل سلولی در قشر مغز و سیستم لیمبیک می‌باشد.

فرضیه‌های گوناگونی برای شرح پاتوژنز بیماری آلزایمر وجود دارد که یکی از این فرضیه‌ها، فرضیه رادیکال آزاد می‌باشد. طبق این فرضیه، بسیاری از رویکردها به منظور استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان عوامل محافظت‌کننده نورونی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. A β از طریق القای استرس اکسیداتیو (ROS)، موجب مرگ سلولی می‌شود بنابراین آنتی‌اکسیدان‌ها قادر به کاهش سمیت سلولی ناشی از A β می‌باشند.

در مطالعه حاضر نقش نوروپروتکتیو تریازین در *in vitro* مورد بررسی قرار گرفته است. تریازین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی، به دلیل توانایی مهار رادیکال آزاد، نقش محافظتی در برابر ROS ایفا می‌کند. در نتیجه نقش محافظتی و اثر ضدآمیلوئیدوژنیک دارد.

این پژوهش به منظور بررسی اثرات نوروپروتکتیو مشتق تریازین (C₁₆H₁₂Cl₂N₃S) بر یادگیری مدل آلزایمری رت‌های نر نژاد ویستار می‌باشد. در این مطالعه، موش‌های صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن‌های ۲۲۰-۲۶۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. کانول‌گذاری به صورت دو

طرفه در ناحیه بطن جانبی رت ها صورت گرفت. از تست رفتاری Morris water maze به منظور ارزیابی یادگیری فضایی موش های صحرایی استفاده شد.

تزریق درون بطنی استروپتوزوتوسین (3 mg/kg) در مقایسه با گروه کنترل به صورت قابل ملاحظه ای موجب نقص در یادگیری فضایی رت ها می شود. اما روند یادگیری فضایی در رت هایی که علاوه بر دریافت استروپتوزوتوسین، تریازین با دوزهای ۲۰ و ۴۰ میکرومولار دریافت کردند، بهبود یافته است. نتایج حاصل بیان می کند تریازین به صورت وابسته به دوز در برابر نقص یادگیری فضایی ناشی از تزریق درون بطنی استروپتوزوتوسین محافظت می کند.

واژه های کلیدی: تریازین، یادگیری، آلزایمر، رت، ماز آبی موریس.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent type of neurodegenerative disorder characterized by formation of amyloid plaques or senile plaques in brain, the development of neurofibrillary tangles, degeneration of the cholinergic neurons, memory and cognitive loss. Deposition of extracellular amyloid plaques and intracellular neurofibrillary tangles are two pronounced pathological hallmarks in the cerebral cortex and limbic system including hippocampus.

There are various hypothesis for pathogenesis of Alzheimer's disease. One of them is the free radical hypothesis. According to the hypothesis, many approaches have been evaluated to the use of antioxidants as neuronal protective factors. Amyloid β cause cell death through induction of oxidative stress. So antioxidants can reduce Amyloid β -induced cytotoxicity.

The neuroprotective effect of Triazine have been evaluated invitro. Triazine as a potent antioxidant inhibit free radical and protect cells against ROS. So Triazine have protective role and anti-amyloidogenic effect.

The aim of this study was to investigate the neuroprotective effect of Triazine derivative ($C_{16}H_{12}Cl_2N_3S$) on learning and memory in male wistar Alzheimer model rat. In this research, male wistar rats, weighting 200-260 grams were used. The animals were bilaterally implanted with cannulae in the Lateral ventricle. To assess the neuroprotective effect of Triazine, we used Morris water maze test for measurement of memory and learning in Alzheimer model rats.

I.C.V. streptozotocin (3mg/kg) infused animals had deficits in spatial learning rather than control group in Morris water maze. But Triazine (20 and 40 μ M) treatment in streptozotocin infused rats improved spatial memory. The obtained data suggest that Triazine acts in a dose-dependent manner and protect against I.C.V. STZ induced spatial memory deficit.

Key words: Triazine, learning, Alzheimer, i.c.v., Rat, Morris water maze.

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

چکیده.....

فصل اول: مقدمه

۱-۱. یادگیری و حافظه..... ۱

۱-۲. انواع یادگیری..... ۱

۱-۲-۱. یادگیری غیر ارتباطی..... ۱

۱-۲-۲. یادگیری ارتباطی..... ۲

۱-۲-۳. یادگیری عملی..... ۴

۱-۲-۴. یادگیری شروع کننده..... ۴

۱-۳. انواع حافظه..... ۵

۱-۳-۱. حافظه بیانی..... ۵

۱-۳-۲. حافظه غیربیانی..... ۶

۱-۳-۳. طبقه بندی زمانی حافظه..... ۶

۱-۳-۴. مفهوم حافظه جاری..... ۷

- ۷-۳-۱ حافظه فضایی..... ۷
- ۸-۴-۱ مراحل تشکیل حافظه..... ۸
- ۹-۵-۱ آناتومی یادگیری و حافظه..... ۹
- ۱۱-۶-۱ هیپوکمپ..... ۱۱
- ۱۲-۶-۱-۱ نورواناتومی و لایه های هیپوکمپ..... ۱۲
- ۱۴-۶-۱-۲ ارتباط هیپوکمپ با یادگیری و حافظه..... ۱۴
- ۱۵-۶-۱-۳ هیپوکمپ و حافظه فضائی..... ۱۵
- ۱۷-۷-۱ دمانس..... ۱۷
- ۱۸-۸-۱ بیماری آلزایمر..... ۱۸
- ۲۱-۹-۱ عوامل خطر بیماری آلزایمر..... ۲۱
- ۲۱-۹-۱-۱ سن..... ۲۱
- ۲۱-۹-۱-۲ جنس..... ۲۱
- ۲۱-۹-۱-۳ بیماری های قلبی - عروقی..... ۲۱
- ۲۱-۹-۱-۴ ژنتیک..... ۲۱
- ۲۲-۹-۱-۱ موتاسیون ژن پروتئین پیش ساز آمیلوئید..... ۲۲
- ۲۲-۹-۱-۲ موتاسیون ژن Presenlin1..... ۲۲
- ۲۲-۹-۱-۳ موتاسیون ژن Presenlin2..... ۲۲

- ۱-۹-۴. ارتباط ژن آپولیپوپروتئین E و AD..... ۲۳
- ۱-۹-۵. سندرم داون..... ۲۳
- ۱-۹-۵. شیوه زندگی یا عوامل محیطی..... ۲۳
- ۱-۱۰. تظاهرات نوروپاتولوژیکی بیماری آلزایمر..... ۲۴
- ۱-۱۱. پاتوژنز..... ۲۶
- ۱-۱۲. راه های درمان بیماری آلزایمر..... ۳۰
- ۱-۱۲-۱. آلفا سكرتاز..... ۳۰
- ۱-۱۲-۱. بتا سكرتاز..... ۳۰
- ۱-۱۲-۳. گاما-سكرتاز..... ۳۰
- ۱-۱۲-۴. مهارکننده های تجمع آمیلوئید..... ۳۲
- ۱-۱۲-۵. افزایش سطح استیل کولین..... ۳۲
- ۱-۱۲-۶. استفاده از فاکتور رشد دهنده عصب..... ۳۳
- ۱-۱۲-۷. درمان با ترکیبات استروژنی..... ۳۳
- ۱-۱۲-۸. استفاده از آنتی اکسیدانها به عنوان عوامل حفاظت کننده نورونی..... ۳۳
- ۱-۱۳. تریازین..... ۳۴

۱۴-۱. ایجاد مدل آلزایمری بوسیله استرپتوزوتوسین..... ۳۶

۱۵-۱. روش های عملی یادگیری و حافظه ی فضایی..... ۴۰

۱۵-۱-۱. Y-maze و T-maze..... ۴۰

۱۵-۱-۲. ماز بازوی شعاعی..... ۴۲

۱۵-۱-۳. ماز آبی موریس..... ۴۳

۱۵-۱-۴. برتری های ماز آبی موریس نسبت به سایر مازها..... ۴۵

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱. حیوانات..... ۴۷

۲-۲. وسایل و دستگاه ها..... ۴۷

۲-۳. مواد..... ۵۰

۲-۴. روش ها..... ۵۱

۲-۴-۱. جراحی حیوانات..... ۵۱

۲-۴-۲. تزریق دارو..... ۵۶

۲-۴-۳. روش کار با ماز آبی موریس..... ۵۷

۴-۴-۲. گروه بندی حیوانات..... ۵۹

۴-۴-۵. روش تجزیه و تحلیل داده ها..... ۶۱

فصل سوم: نتایج

۳-۱. بررسی اثر آموزش بر زمان، مسافت طی شده و سرعت پیدا کردن سکوی پنهان در ماز آبی

موريس در گروه های دریافت کننده نرمالین سالیین، استرپتوزوتوسین و 10%DMSO..... ۶۲

۳-۲. بررسی اثر آموزش بر زمان، مسافت طی شده و سرعت پیدا کردن سکوی پنهان در ماز آبی

موريس در گروه های دریافت کننده تریازین در دوزهای مختلف..... ۶۷

فصل چهارم: بحث..... ۷۷

پیشنهادات..... ۸۳

منابع..... ۸۴

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱. نمایی از موقعیت هیپوکمپ در برش عرضی مغز.....	۱۳
شکل ۱-۲. مقایسه سلول عصبی طبیعی و سلول عصبی آلزایمری شده.....	۲۵
شکل ۱-۳. فرضیه بتا آمیلوئید در ایجاد بیماری.....	۲۷
شکل ۱-۴. نمایی از فعالیت ، و Y سكرتاز.....	۳۱
شکل ۱-۵. مسیر سنتز مشتقات تریازین.....	۳۵
شکل ۱-۶. ساختار ۳ تیومتیل-۵ و ۶-دی-(۴- کلروفنیل)-۱ و ۲ و ۴- تریازین.....	۳۶
شکل ۱-۷. ساختار استرپتوزوتوسین.....	۴۰
شکل ۱-۸. تصویر شماتیک یک T-Maze.....	۴۱
شکل ۱-۹. تصویر شماتیک یک Y-maze.....	۴۱
شکل ۱-۱۰. تصویر شماتیک یک ماز بازوی شعاعی.....	۴۲
شکل ۱-۱۱. ماز آبی موریس.....	۴۴
شکل ۱-۲. تهیه کانول راهنما.....	۴۸

شکل ۲-۲. نحوه قرارگیری موش در دستگاه استرئوتاکس..... ۵۱

شکل ۳-۲. نمایش محل برگما..... ۵۳

شکل ۴-۲. محل کانول گذاری..... ۵۴

شکل ۵-۲. نحوه کانول گذاری..... ۵۵

شکل ۶-۲. نحوه ریختن سیمان..... ۵۵

شکل ۷-۲. نحوه تزریق درون بطنی مغزی توسط سرنگ هامیلتون..... ۵۷

شکل ۸-۲. اجزای ماز آبی موریس..... ۵۹

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
۶۴	نمودار ۱-۳. بررسی روند یادگیری در روزهای آموزش در گروه کنترل و گروه های دریافت کننده نرمال سالین و 10% DMSO در پارامتر زمان یافتن سکوی پنهان.....
۶۴	نمودار ۲-۳. مقایسه روزهای آموزش گروه کنترل با گروه های دریافت کننده نرمال سالین و 10% DMSO در پارامتر زمان یافتن سکوی پنهان.....
۶۵	نمودار ۳-۳. بررسی روند یادگیری در روزهای آموزش در گروه کنترل و گروه های دریافت کننده نرمال سالین و 10% DMSO در پارامتر مسافت طی شده جهت یافتن سکوی پنهان.....
۶۵	نمودار ۴-۳. مقایسه روزهای آموزش گروه کنترل با گروه های دریافت کننده نرمال سالین و 10% DMSO در پارامتر در پارامتر مسافت طی شده جهت یافتن سکوی پنهان.....
۶۶	نمودار ۵-۳. مقایسه گروه کنترل با گروه های دریافت کننده نرمال سالین و 10% DMSO در پارامتر زمان یافتن سکوی پنهان در مجموع چهار روز آموزش.....

نمودار ۳-۶ مقایسه گروه کنترل با گروه های دریافت کننده نرمال سالین و 10% DMSO در پارامتر مسافت طی شده جهت یافتن سکوی پنهان در مجموع چهار روز آموزش.....۶۶

نمودار ۳-۷. مقایسه گروه کنترل و گروه های دریافت کننده نرمال سالین و 10% DMSO در پارامتر سرعت در مجموع چهار روز آموزش.....۶۷

نمودار ۳-۸. بررسی روند یادگیری در روزهای آموزش در گروه های دریافت کننده تریازین با غلظت های مختلف و گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه کنترل در پارامتر زمان یافتن سکوی پنهان.....۷۰

نمودار ۳-۹. مقایسه روزهای آموزش گروه کنترل با گروه های دریافت کننده تریازین در غلظت های مختلف و گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در پارامتر زمان یافتن سکوی پنهان.....۷۱

نمودار ۳-۱۰. بررسی روند یادگیری در روزهای آموزش در گروه های دریافت کننده تریازین با غلظت های مختلف و گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه کنترل در پارامتر مسافت طی شده جهت یافتن سکوی پنهان.....۷۲

نمودار ۳-۱۱. مقایسه روزهای آموزش گروه کنترل با گروه های دریافت کننده تریازین در غلظت های مختلف و گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در پارامتر مسافت طی شده جهت یافتن سکوی پنهان.....۷۳

نمودار ۳-۱۲. مقایسه گروه کنترل با گروه های دریافت کننده تریازین در غلظت های مختلف و گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در پارامتر زمان یافتن سکوی پنهان در مجموع چهار روز آموزش.....۷۴

نمودار ۳-۱۳. مقایسه گروه کنترل با گروه های دریافت کننده تریازین در غلظت های مختلف و گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در پارامتر مسافت طی شده جهت یافتن سکوی پنهان در مجموع چهار روز آموزش.....۷۵

نمودار ۳-۱۴. مقایسه گروه کنترل با گروه های تریازین در غلظت های مختلف و گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین در پارامتر سرعت در مجموع چهار روز آموزش.....۷۶

۱-۱. یادگیری و حافظه

فرایند یادگیری (*Learning*) به کسب اطلاعات جدید اطلاق می شود که به صورت تغییر در رفتار بروز می کند. حافظه (*memory*) فرایندی است که طی آن این اطلاعات، به رمز درآورده شده، ذخیره شده و بعدها دوباره بازخوانی می شود (۱). در حقیقت حافظه نتیجه یادگیری است و تغییرات پایدار در سیستم عصبی را منعکس می کند (۲). بنابراین حافظه به دلیل توانایی بازخوانی اطلاعات، یک جزء ضروری یادگیری محسوب می شود (۳).

۱-۲. انواع یادگیری

بصورت دقیق تر می توان گفت یادگیری فرایندی است که توسط آن اطلاعات جدید توسط سیستم عصبی حاصل می شود (۴) یا به عبارت دیگر یادگیری، توانایی جهت اکتساب اطلاعات یا مهارت های جدید از طریق آموزش یا تجربه است (۵).

۱-۲-۱. یادگیری غیر ارتباطی

یادگیری غیر ارتباطی (*Non-associative learning*) یا یادگیری ساده (*Simple learning*) وابسته به یک ارتباط ویژه بین آنچه که آموخته می شود و برخی از دیگر محرک ها نیست، بلکه نوعی از یادگیری می باشد که از تجربه مکرر یک نوع حادثه به وجود می آید که خود به دو نوع تقسیم می شود:

الف) عادی شدن (*Habituation*): خو گرفتن یا عادت کردن یک نوع ساده یادگیری است که در آن یک محرک خنثی به دفعات تکرار می شود. با تکرار محرک، پاسخ به آن کاهش می یابد.

ب) حساس شدن (*Sensitization*): حساس شدن واکنش مخالف خو گرفتن است. یک محرک تکراری در صورتی که یک یا چند بار با محرک خوشایند یا ناخوشایند همراه شود، پاسخ بزرگتری ایجاد می کند. برای مثال، با تکرار یک محرک دردناک فرد به سرعت یاد می گیرد که پاسخ دهد (۶). در واقع تقویت و افزایش در پاسخ رفتاری که بر اثر تکرار یک محرک به وجود می آید (۷).

۱-۲-۲. یادگیری ارتباطی

یادگیری ارتباطی (*Associative learning*)، حاصل همزمانی دو یا چند واقعه است که رابطه میان این وقایع منجر به تغییر منطقی رفتار حیوان می شود و خود به دو نوع تقسیم می شود:

الف) یادگیری شرطی کلاسیک (*Classical conditioning*): این نوع یادگیری از طریق ارتباط زمانی و مزدوج شدن پیاپی یک محرک شرطی (محرکی که قبلاً پاسخ ایجاد نمی کرده) با یک محرک غیر شرطی (محرکی که به طور طبیعی قادر به ایجاد پاسخ است) ایجاد می شود (۷).