

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده علوم طبیعی
گروه علوم جانوری

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری

عنوان:

بررسی اثر حفاظت عصبی استروژن بر حافظه فضایی و
کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از بیماری مولتیپل
اسکلروزیس در مغز موش صحرایی نر

اساتید راهنما:

دکتر حمیرا حاتمی نعمتی

دکتر علیرضا علی همتی

پژوهشگر:

وحیده زرین

آذر ماه ۱۳۹۲

تقدیم به سرچشمه‌های حیاتم :

پدر و مادر
عزیزم

تقدیر و تشکر

سپاس به پیشگاه حضرت دوست که هرچه هست از اوست. او که نعمت سلامتی به بنده عطا فرمود تا بتوانم در راه شناخت ذره‌ای از آثار آفرینش او قدم برداشته و در اقیانوس ژرف آفرینش برای راه یافتن به ساحل بیکران کشف نادانستنی‌ها همواره در تکاپو باشم.

اکنون که در این راه به آغازی نو رسیده‌ام سپاسگزار تمام بزرگواری‌هایی هستم که در حین انجام این پژوهش مرا قرین محبت‌های خود نموده‌اند:

وظیفه شاگردی خود می‌دانم از استاد ارجمندم سرکار خانم دکتر حمیرا حاتمی نعمتی که زحمت اصلی این پایان نامه به گردن ایشان بوده است، به خاطر تمام آنچه از علم و اخلاق ایشان بهره بردم کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر علیرضا علی‌همتی که با صبر و توجه رحیمانه خویش مرا در تمام مراحل کار همراهی کردند بسیار سپاسگزارم. بی‌شک بدون راهنمایی‌ها و کمک‌های بی‌شائبه ایشان انجام این مهم میسر نمی‌گردید.

مراتب سپاس و تشکر را از جناب آقای دکتر فرزاد شیخ زاده که زحمت داوری این پایان نامه را تقبل فرموده و با ارائه نظرات و پیشنهادات اصلاحی خود به رفع نقایص و کاستی‌های آن کمک کرده‌اند به جای می‌آورم.

نام خانوادگی دانشجو: زرین	نام: وحیده
عنوان پایان نامه: بررسی اثر حفاظت عصبی استروژن بر حافظه فضایی و کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از بیماری مولتیپل اسکلروزیس در مغز موش صحرایی نر	
استادان راهنما: دکتر حمیرا حاتمی نعمتی دکتر علیرضا علی همتی	
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: زیست شناسی گرایش: فیزیولوژی جانوری دانشگاه: تبریز	
دانشکده: علوم طبیعی تاریخ فارغ التحصیلی: آذر ماه ۹۲ تعداد صفحه: ۱۲۱	
کلید واژه: مالتیپل اسکلروزیس، استرس اکسیداتیو، هیپوکامپ، حافظه فضایی، استرادیول	
<p>چکیده</p> <p>مقدمه و بیان مسئله: بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) نوعی بیماری سیستم عصبی مرکزی است که در آن میلین رشته-های عصبی تخریب می‌شوند. مهم‌ترین علائم این بیماری فلج حرکتی، تخریب حسی، نقایص شناختی و به ویژه نقص در حافظه می‌باشد. در حال حاضر بیماری MS درمان قطعی و ریشه کن کننده‌ای نداشته و اغلب درمان‌های موجود منجر به کاهش علائم یا کاهش سرعت پیشرفت بیماری می‌گردند. مکانیسم‌های 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 می‌باشند. استرس اکسیداتیو و به دنبال آن آپوپتوز از دیگر عواملی هستند که در پاتوژنز بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) مطرح شده‌اند. استرس اکسیداتیو ناشی از یک عدم تعادل بین تولید گونه‌های بازفعال اکسیژن (ROS) و توانایی سیستم زیستی برای سم‌زدایی این واسطه‌های فعال می‌باشد. استرس اکسیداتیو سبب القای آسیب اکسیداتیو در هیپوکامپ و آسیب سلول‌های هرمی می‌شود. هیپوکامپ بالغین یک مرکز حیاتی برای فرآیندهای یادگیری و حافظه می‌باشد که به شدت نسبت به بیماری‌های نورولوژیک نظیر MS آسیب پذیر می‌باشد. از طرفی بیماری MS به نسبت متفاوتی در بین افراد مونث و مذکر بروز می‌نماید، به طوریکه این نسبت در زنان دو برابر مردان است. این وضعیت پیشنهاد کننده این است که MS توسط هورمون‌های جنسی متاثر می‌گردد. یک مکانیسم حفاظتی مهم استرادیول از طریق عمل آنتی‌اکسیدانی آن است. پیشنهاد شده است که استروژن با کاهش دادن غلظت کلسیم اضافی داخل سلولی که یک عنصر اصلی در ایجاد آسیب‌های ایسکمی توسط گونه‌های بازفعال اکسیژن (ROS) است، عمل آنتی‌اکسیدانی خود را اعمال می‌کند. بنابراین در این پژوهش اثر استروژن بر کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو مورد بررسی قرار گرفت. از آنجائیکه افراد مبتلا به MS دارای اختلالات شناختی و نقص در حافظه می‌باشند لذا در بخش دیگری از این پژوهش اثرات حفاظت عصبی استروژن بر روی اختلالات حافظه در رت‌های مبتلا به MS مطالعه گردید.</p> <p>مواد و روش‌ها: ۴۹ سر رت نر پس از کانول‌گذاری در ناحیه CA1 هیپوکامپ به طور تصادفی به گروه‌های زیر تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه شاهد (روغن کنجد، ۱ μl/rat)، گروه MS (اتیدیوم بروماید ۰.۱٪، ۳ μl/rat)، گروه‌های دریافت کننده استرادیول (استرادیول بنزوات، ۲ μg/۱ μl و ۴ μg/۱ μl)، گروه‌های MS + استرادیول (اتیدیوم بروماید + استرادیول بنزوات، ۲ μg/۱ μl و ۴ μg/۱ μl). ایجاد مدل MS با تزریق داخل هیپوکامپی اتیدیوم بروماید صورت گرفت و استرادیول بنزوات به صورت پیش تیمار و به مدت ۵ روز تزریق گردید. جهت ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی از آزمون ماز آبی موریس استفاده شد. در خاتمه، نمونه برداری از هیپوکامپ انجام گردید و میزان پارامترهای استرس اکسیداتیو در این ناحیه با سنجش MDA</p>	

محتوای گلوکاتایون و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPx، SOD و CAT مشخص شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey و به وسیله نرم افزار SPSS 16 صورت گرفت.

نتایج: نتایج این بررسی نشان داد که تزریق اتیدیوم بروماید به عنوان القاء کننده بیماری MS سبب تخریب حافظه فضایی گردید. پیش‌تیمار استرادیول با دوزهای $2 \mu\text{g}/1 \mu\text{l}$ و $4 \mu\text{g}/1 \mu\text{l}$ به طور معنی‌داری حافظه فضایی کاهش یافته در گروه MS را بهبود بخشید ($P < 0/05$). همچنین پیش‌تیمار استرادیول با دوزهای $2 \mu\text{g}/1 \mu\text{l}$ و $4 \mu\text{g}/1 \mu\text{l}$ افزایش MDA و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPx، SOD و CAT ناشی از تزریق اتیدیوم بروماید را بهبود بخشید ($P < 0/05$).

بحث و نتیجه گیری: اختلال حافظه فضایی یکی از رایج‌ترین نقص‌های شناختی در بیماران ام‌اسی می‌باشد و یافته‌های ما تاییدی بر وجود اختلالات شناختی ناشی از دمی‌لیناسیون (توسط اتیدیوم بروماید) طی بیماری MS می‌باشد. استرادیول قادر است اختلال حافظه ناشی از بیماری MS را بهبود بخشد. یک مکانیسم حفاظتی مهم استرادیول از طریق عمل آنتی‌اکسیدانی آن است. استروژن مرگ سلولی ایجاد شده با استرس اکسیداتیو در ردیف سلول‌های هیپوکمپی را کاهش می‌دهد. از طرفی استروژن به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود و احتمالاً از طریق تداخل عمل با سیستم‌های کولینرژیک، گلوتاماترژیک و نوروترنسمیترهای دیگر و همچنین با افزایش انعطاف‌پذیری سیناپسی قادر است حافظه فضایی کاهش یافته طی بیماری MS را بهبود بخشد.

فهرست مطالب

عنوان
صفحه

فصل اول: بررسی مطالب

۱- بررسی منابع.....	۱
۱-۱- مولتیپل اسکلروزیس.....	۱
۱-۱-۲- اپیدمیولوژی (همه گیر شناسی).....	۱
۱-۱-۳- اتیولوژی.....	۲
۱-۱-۴- پاتوژنز.....	۴
۱-۱-۵- روند بالینی MS.....	۷
۱-۱-۶- مدل های تجربی در بررسی بیماری MS.....	۸
۱-۲- حافظه و یادگیری.....	۹
۱-۲-۱- تثبیت حافظه.....	۱۱
۱-۲-۲- شکل پذیری عصبی.....	۱۲
۱-۲-۳- حافظه فضایی.....	۱۲
۱-۲-۳-۱- اختلال عملکرد شناختی در بیماران MS.....	۱۳
۱-۳- استرس اکسیداتیو.....	۱۵
۱-۳-۱- آسیب های اکسیداتیو با واسطه ROS.....	۱۸
۱-۳-۲- آنتی اکسیدان ها و دفاع طبیعی در برابر آسیب های ایجاد شده توسط ROS.....	۱۹
۱-۳-۳- استرس اکسیداتیو و MS.....	۲۱

- ۲۴ ۴-۱- استروژن‌ها.....
- ۲۵ ۴-۱-۱- اثر هورمون های جنسی زنانه بر بیماری MS.....
- ۲۶ ۴-۱-۱- اثرات حفاظت کننده عصبی استروژن‌ها.....
- ۲۷ ۴-۱-۲- اثرات ضد التهابی استروژن‌ها.....
- ۳۰ ۴-۱-۳- گیرنده‌های استروژن، حفاظت عصبی و تعدیل ایمنی.....
- ۳۲ ۴-۲- اثر استروژن بر حافظه.....
- ۳۳ ۴-۳- استروژن‌ها و مناطق مغزی دخیل در حافظه.....
- ۳۳ ۴-۳-۱- استروژن و هیپوکمپ.....
- ۳۴ ۴-۳-۲- استروژن و قشر پره‌فرونتال.....
- ۳۶ ۴-۴-۱- اثر استروژن بر استرس اکسیداتیو.....
- ۳۶ ۴-۴-۱- اثر استروژن بر اختلال عملکرد میتوکندریایی.....
- ۳۹ ۴-۴-۲- استرادیول و عملکرد میتوکندریایی.....
- ۴۰ ۵-۱- هدف تحقیق.....

فصل دوم : مواد و روش‌ها

- ۴۳ ۲- مواد و روش‌ها.....
- ۴۳ ۲-۱- طرح تحقیق.....
- ۴۳ ۲-۲- حیوانات.....
- ۴۳ ۲-۳- گروه بندی.....
- ۴۴ ۲-۴- جراحی و کانول گذاری.....
- ۴۶ ۲-۵- تزریق.....

- ۴۶-۲-۶- پروتکل القاء مالتهیل اسکروزیس توسط اتیدیوم بروماید و تیمار با استرادیول.....
- ۴۷-۲-۷- روش مطالعه یادگیری فضایی در ماز آبی موریس.....
- ۴۸-۲-۸- تایید بافت شناسی.....
- ۴۸-۲-۹- نمونه برداری.....
- ۴۹-۲-۹-۱- تهیه هموزن از بافت هیپوکامپ.....
- ۴۹-۲-۹-۲- سنجش پراکسیداسیون لیپیدی.....
- ۵۰-۲-۹-۳- سنجش محتوای گلوتاتیون (GSH).....
- ۵۰-۲-۹-۴- سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی.....
- ۵۰-۲-۹-۴-۱- گلوتاتیون پروکسیداز (GPx).....
- ۵۱-۲-۹-۴-۲- سوپراکسید دیسموتاز (SOD).....
- ۵۱-۲-۹-۴-۳- کاتالاز (CAT).....
- ۵۱-۲-۱۰- آنالیز آماری.....

فصل سوم : نتایج

- ۵۴-۳- نتایج.....
- ۵۴-۳-۱- نتایج حافظه فضایی.....
- ۶۲-۳-۲- نتایج سنجش پارامترهای استرس اکسیداتیو.....
- ۶۲-۳-۲-۱- نتایج سنجش پراکسیداسیون لیپیدی.....
- ۶۳-۳-۲-۲- نتایج سنجش محتوای گلوتاتیون (GSH).....
- ۶۴-۳-۲-۳- نتایج سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی.....
- ۶۴-۳-۲-۱- نتایج سنجش گلوتاتیون پروکسیداز (GPx).....

۶۶.....	۲-۳-۲-۳- نتایج سنجش سوپراکسید دیسموتاز (SOD)
۶۷.....	۳-۳-۲-۳- نتایج سنجش کاتالاز (CAT)
	فصل چهارم : بحث
۷۰.....	۴- بحث.....
۷۰.....	۴-۱- حافظه فضایی.....
۸۳.....	۴-۲- پارامترهای استرس اکسیداتیو.....
۹۵.....	۴-۳- نتیجه گیری.....
۹۷.....	۴-۴- پیشنهادات.....
	فصل پنجم : منابع
۹۹.....	۵- منابع.....
۱۲۱.....	فهرست اختصارات.....

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
فصل اول: بررسی منابع	
شکل ۱-۱: پاتوژنز MS	۶
شکل ۱-۲: انواع حافظه بلندمدت	۱۰
شکل ۱-۳: برداشت گونه‌های بازفعال اکسیژن توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی	۲۰
شکل ۱-۴: بیوسنتز و متابولیسم استروژن‌ها ۲۵۵- منابع	۲۵
شکل ۱-۵: قشر پره‌فرونتال و قشر پاراهیپوکامپ مغز در حین رمزگذاری حافظه‌ها فعال می‌شوند	۳۵
فصل دوم: مواد و روش‌ها	
شکل ۱-۲-۱: ناحیه CA ₁ هیپوکامپ موش صحرائی	۴۵
شکل ۲-۲-۲: دستگاه استرئوتاکس	۴۵
شکل ۲-۳-۲: سرنگ همیلتون	۴۶
شکل ۲-۴-۲: تأیید بافت شناسی	۴۹
فصل سوم: نتایج	
نمودار ۱-۱-۳-۱: نتایج آزمون ماز آبی موریس در طی روزهای آموزش بین گروه‌های کنترل، شاهد و MS	۵۵
نمودار ۱-۳-۲-۱: نتایج آزمون ماز آبی موریس در طی روزهای آموزش بین بین گروه کنترل، گروه دریافت کننده استرادیول (۲ μg/۱ μl) و گروه دریافت کننده استرادیول (۴ μg/۱ μl)	۵۷

- نمودار ۳-۱-۳- نتایج آزمون ماز آبی موريس در طی روزهای آموزش بین گروه MS، گروه پیش تیمار استرادیول (MS + استرادیول) با دوز $1 \mu\text{l} / 1 \mu\text{g}$ و گروه پیش تیمار استرادیول (MS + استرادیول) با دوز $1 \mu\text{l} / 4 \mu\text{g}$ ۵۹
- نمودار ۳-۱-۴- نتایج آزمون ماز آبی موريس در طی روزهای آموزش بین گروه کنترل، شاهد، گروه پیش- تیمار استرادیول (MS + استرادیول) با دوز $1 \mu\text{l} / 1 \mu\text{g}$ و گروه پیش تیمار استرادیول (MS + استرادیول) با دوز $1 \mu\text{l} / 4 \mu\text{g}$ ۶۱
- نمودار ۳-۲-۱- نتایج سنجش میزان TBARS برای ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه ۶۲
- نمودار ۳-۲-۲- نتایج سنجش محتوای گلوتاتیون در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه ۶۴
- نمودار ۳-۲-۳-۱- نتایج سنجش میزان GPx برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این آنزیم در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه ۶۵
- نمودار ۳-۲-۳-۲- نتایج سنجش میزان SOD برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این آنزیم در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه ۶۷
- نمودار ۳-۲-۳-۳- نتایج سنجش میزان CAT برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این آنزیم در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه ۶۸

فهرست جداول

عنوان

صفحه

جدول ۱-۲-۳- نتایج سنجش میزان TBARS برای ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه.....	۶۳
جدول ۲-۲-۳- نتایج سنجش محتوای گلوتاتیون در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه.....	۶۳
جدول ۱-۳-۲-۳- نتایج سنجش میزان GPx برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این آنزیم در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه.....	۶۵
جدول ۲-۳-۲-۳- نتایج سنجش میزان SOD برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این آنزیم در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه.....	۶۶
جدول ۳-۳-۲-۳- نتایج سنجش میزان CAT برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این آنزیم در هیپوکمپ تمام گروه‌های مورد مطالعه.....	۶۸

بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS)¹ از شایع‌ترین بیماری‌های نورولوژیک در انسان و شایع‌ترین بیماری منجر به ناتوانی در جوانان ذکر شده (Werring & Thompson, 1998) که با التهاب بافتی و آپوپتوز سلول‌های عصبی همراه می‌باشد. در ابتدا میلین تخریب شده و سلول‌های تولید کننده میلین یا الیگودندروسیت‌ها در مراحل بعدی آسیب می‌بینند (Cudrici et al., 2006). مکانیسم‌های پاتوژنیک بیماری به طور کامل شناخته نشده است اما به خوبی مشخص شده که استرس اکسیداتیو یکی از عواملی است که نقش مهمی در پاتوژنز MS ایفا می‌کند (Carlson & Rose., 2006). استرس اکسیداتیو عامل اصلی تحلیل در تعدادی از بیماری‌های تحلیل برنده عصبی مانند ایسکمی، پارکینسون، آلزایمر و MS می‌باشد (Haddad, 2002). استرس اکسیداتیو زمانی در یک سیستم سلولی اتفاق می‌افتد که میزان تشکیل رادیکال‌های آزاد در آن فراتر از توان آنتی‌اکسیدانی آن باشد. استرس اکسیداتیو سبب القاء آسیب اکسیداتیو در هیپوکمپ و آسیب سلول‌های هرمی می‌شود. رادیکال‌های آزاد اثر تخریبی بر روی DNA و پروتئین در سلول‌ها دارند و می‌توانند باعث فعال شدن ساز و کارهای مرگ سلولی از جمله آپوپتوز شوند (Chandra et al., 2000).

مشخص شده است که بیماری MS به نسبت متفاوتی در بین افراد مونث و مذکر بروز می‌نماید، به طوری که این نسبت در زنان دو برابر مردان است. در واقع زنان نسبت به مردان در ابتلاء به بیماری‌های خودایمن همچون آرتریت روماتوئید و MS مستعدتر می‌باشند. این بیماری در زنان هنگامی که سطوح بالایی از هورمون‌های تخمدانی وجود دارد (مثلاً در حین بارداری)، با تخفیف علائم همراه است (2010 Yates et al.,). این وضعیت پیشنهاد کننده این است که MS توسط هورمون‌های جنسی متأثر می‌گردد. آزمایشات متعددی نشان داده‌اند که هورمون‌های جنسی می‌توانند از بروز بیماری انسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE)² که یک مدل حیوانی بیماری MS است جلوگیری نمایند. استرادیول یا ترکیبی از استرادیول و پروژسترون، یا اتینیل استرادیول تا حدودی قادر به جلوگیری از EAE در رت‌ها

¹ Multiple sclerosis

² Experimental autoimmune encephalomyelitis

بوده و بروز بیماری را به تاخیر می‌اندازد (Kim et al., 1999). پیش تیمار با پروژسترون هم سبب کاهش شدت بیماری، آسیب آکسونی و دمیالیناسیون می‌گردد هر چند نتایج متفاوت می‌باشند (et al., Kim 1999). همانطوری که می‌دانیم در بیماری MS آکسون رشته‌های عصبی دچار آسیب می‌شود. آسیب آکسونی شامل استرس اکسیداتیو، عملکرد نامناسب پمپ سدیم-پتاسیم، سمیت سلولی ایجاد شده توسط گلوتامات و از بین رفتن عوامل محافظ غلاف میلینی می‌باشد (Gonzalez et al., 2005). تیمار با استروژن از طریق کاهش گلوتامات سبب کاهش آپوپتوز و حفظ عملکرد الکتروفیزیولوژیک نورون‌ها می‌شود (Sribnick et al., 2004). تیمار با استروژن الیگودندروسیت‌ها را از مسمومیت سلولی محافظت کرده و تشکیل فرآیند الیگودندروسیتی را سرعت می‌بخشد (Zhang et al., 2004). در مدل‌های حیوانی بیماری پارکینسون، آتاکسی مخچه، ضربه و آسیب نخاع تیمار استروژن می‌تواند با کاهش دادن آپوپتوز دارای اثرات حفاظت کننده عصبی باشد (Yune et al., 2004).

یک مکانیسم حفاظتی مهم استرادیول از طریق عمل آنتی‌اکسیدانی آن است. استروژن‌ها در مغز با مهار پراکسیداسیون لیپیدی می‌توانند نقش درمانی در بهبود بیماری‌های تحلیل برنده عصبی داشته باشند.

همچنین مشخص شده است که افراد مبتلا به MS دارای اختلالات شناختی و نقص در حافظه می‌باشند و این اختلال حافظه می‌تواند با استروژن متاثر گردد. استروژن برخی جنبه‌های حافظه و یادگیری را در مدل‌های انسانی و حیوانی افزایش می‌دهد و این افزایش در سرتاسر طول عمر فرد بالغ وجود دارد و تا سن پیری ادامه می‌یابد (Luine, 2008). استروژن‌ها در شرایط *in vivo* و *in vitro* تشکیل خار دندریتی و سیناپس‌ها بر روی سلول‌های هرمی CA1 هیپوکمپ را در رت‌های سالم افزایش داده و منجر به بهبود حافظه فضایی کاری می‌گردند (Rudick & Woolley, 2001). شواهد متعدد نشان می‌دهند که اختلال عملکرد حافظه به طور گسترده در بیماران مبتلا به MS وجود دارد. فراوان-ترین نقایص شناختی در بیماری MS حافظه کاری و سرعت پردازش اطلاعات می‌باشند (Rao et al., 1991)، اما یادگیری فضایی و زبانی نیز متاثر می‌گردند که احتمالاً منعکس کننده یک اختلال

هیپوکمپی است (Thornton et al, 2002). هیپوکمپ بالغین یک مرکز حیاتی برای فرآیندهای یادگیری و حافظه می‌باشد که به شدت نسبت به بیماری‌های نورولوژیک آسیب پذیر می‌باشد. قشر مغز، آمیگدال و به خصوص هیپوکمپ نقش اساسی در تشکیل و ذخیره سازی حافظه فضایی دارند. بیماری‌های تحلیل برنده عصبی سیستم اعصاب مرکزی اغلب همراه با آسیب به حافظه و سایر اعمال شناختی است، این آسیب احتمالاً به دلیل مرگ انتخابی نورون‌ها در قشر مغز و هیپوکمپ و نواحی از مغز که مرتبط با یادگیری و حافظه هستند، می‌باشد (Abe & Saito, 2000). استفاده از مدل‌های تجربی دمیلیناسیون یک گزینه برای فهم بیولوژی MS و پیدا کردن راه حل‌هایی برای درمان آن می‌باشد. اتیدیوم بروماید یک داروی گلیوتوکسیک است که سبب القاء دمیلیناسیون می‌گردد. بنابراین با در نظر داشتن نقش اتیدیوم بروماید در القاء دمیلیناسیون و با توجه به اثرات حفاظتی استروژن و اثر کاهشی آن بر استرس اکسیداتیو در این پایان نامه اثر تزریق استروژن بر عملکرد حافظه فضایی و نیز پارامترهای استرس اکسیداتیو در رت‌های مدل تجربی بیماری MS بررسی گردید.

این پایان نامه در پنج فصل تدوین شده است: در فصل اول به معرفی مالتیپل اسکلروزیس، حافظه، استرس اکسیداتیو و اثرات حفاظتی استروژن پرداخته شده است. در فصل دوم چگونگی انجام مراحل عملی آزمایش توضیح داده شده است. در فصل سوم نتایج حاصل از بررسی حاضر به همراه نمودارها و جداول مربوطه شرح داده شده است. در فصل چهارم نیز به مقایسه یافته‌های به دست آمده با مطالعات مشابه پرداخته شده و نتیجه کلی حاصل از پایان نامه به همراه پیشنهادها مطرح گردیده است. در فصل پنجم، منابع مورد استفاده معرفی گردیده است.

فصل اول : بررسی منابع

۱- بررسی منابع

۱-۱- مولتیپل اسکلروزیس

بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری دمیالینه کننده التهابی و مزمن سیستم اعصاب مرکزی است که به عنوان یک بیماری خودایمن شناخته شده است (Steinman, 1996). از نظر پاتولوژیک بیماری با التهاب، دمیالیناسیون موضعی منتشر، اغلب جنب بطنی و به دنبال آن گلیوز بازفعال مشخص می‌شود؛ ممکن است آسیب‌های آکسونی نیز وجود داشته باشد. ضایعات در ماده سفید مغز و نخاع و در عصب بینایی ایجاد می‌شوند (Aminoff et al., 2009). در تخریب‌های MS فقط میلین اعصاب مرکزی (نه محیطی) به صورت پلاک‌های کوچک یا بزرگ و منفرد یا متعدد دچار التهاب و تخریب می‌شوند. بسته به اینکه پلاک‌ها در کجای دستگاه اعصاب مرکزی باشند، نشانه‌های بیماری متفاوت خواهد بود (Soltanzadeh, 1995). مهم‌ترین علائم این بیماری فلج حرکتی، تخریب حسی به ویژه اختلالات بینایی، نقایص شناختی و غیره می‌باشد (McQualter & Bernard, 2007). در حال حاضر بیماری MS درمان قطعی و ریشه‌کن‌کننده‌ای نداشته و اغلب درمان‌های موجود منجر به کاهش علائم یا کاهش سرعت پیشرفت بیماری می‌گردند. مکانیسم‌های بروز بیماری مولتیپل اسکلروزیس هنوز به طور کامل شناخته نشده است، اما دخالت عوامل ژنتیکی، محیطی، ایمنی و بعضی از ویروس‌ها ذکر شده‌اند (Lublin & Reingold, 1996).

۱-۱-۲ اپیدمیولوژی (همه گیر شناسی)

این بیماری که یکی از شایع‌ترین بیماری‌های نورولوژیک است، در ایالات متحده حدود ۳۰۰۰۰۰ نفر را مبتلا کرده و بیشترین بروز آن در بزرگسالان جوان است. اولین نشانه‌ها معمولاً قبل از سن ۵۵ سالگی ظاهر می‌شوند، و اوج بروز آن در سنین ۲۰ تا ۴۰ سالگی است ولی موارد نادری هم در کودکان و افراد مسن گزارش شده است. زنان دو برابر بیشتر از مردان به این بیماری مبتلا می‌شوند (Aminoff et al., 2009).

تعداد مبتلایان MS در جهان ۲/۵ میلیون نفر برآورد می‌گردد (Kurtzke, 2000). در مناطق مختلف دنیا شیوع متفاوتی برای این بیماری ذکر گردیده است که مناطق با شیوع بالا عبارت از اروپا، آمریکا، نیوزیلند و استرالیا با شیوعی برابر ۶۰ در ۱۰۰ هزار می‌باشند. مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر شیوع بیماری را در ایران ۱۵ تا ۳۰ نفر در هر ۱۰۰ هزار نفر برآورد کرده‌اند (Olek, 2005) و تخمین زده می‌شود که حداقل ۲۰۰۰۰ نفر در ایران به MS مبتلا باشند (Murrell et al., 1991).

تفاوت‌های جغرافیایی بروز MS بارها گزارش شده است. با دور شدن از خط استوا شیوع بیماری بیشتر می‌شود و هیچ جمعیت پرخطری از نظر ابتلا به بیماری در بین مدار ۴۰ درجه شمالی (۴۰°N) و ۴۰ درجه جنوبی (۴۰°S) وجود ندارد (Aminoff et al., 2009). با افزایش ارتفاع سطح محل زندگی نیز شیوع بیماری افزایش می‌یابد. یکی از توجیحات مطرح شده پیرامون اثر ارتفاع بر بروز MS اثر حفاظتی نور خورشید است. در ارتفاعات بالا که مواجهه با نور خورشید، خصوصاً در ماه‌های زمستان کمتر است، سطوح پایین ویتامین D شایع می‌باشد. بعضی مطالعات احتمال کمبود ویتامین D و افزایش خطر بروز MS را تایید نموده‌اند. اثرات تنظیم ایمنی ویتامین D می‌تواند این ارتباط احتمالی را توجیه کند (Minna, 2011).

۱-۱-۳- اتیولوژی

علت MS هنوز مشخص نشده است ولی عواملی مثل نارسایی ایمنی، استعداد ژنتیکی فرد، زمینه فامیلی، منطقه جغرافیایی، عفونت‌های ویروسی و فشارهای روحی (استرس) را در پیدایش آن موثر می‌دانند (Soltanzadeh, 1995).

مطالعه دوقلوها، بروز خانوادگی گاهگاهی و ارتباط قوی بیماری با آنتی‌ژن‌های خاص HLA¹ (به ویژه HLA-DR₂) استعداد ژنتیکی ابتلا به بیماری را مطرح می‌نماید (Aminoff et al., 2009). شواهد مربوط به وجود استعداد ژنتیکی در بیماری MS ملاحظات زیر می‌باشد:

¹ Human leukocyte antigen (HLA)

- (۱) میزان شیوع MS در میان گروه‌های نژادی که در یک محیط زندگی می‌کنند متفاوت است.
- (۲) منسوبین درجه اول، دوم و سوم بیماران ام‌اسی در معرض خطر بالاتری برای بیماری قرار دارند. خطر بیماری برای خواهران و برادران افراد درگیر در طول زندگی ۵-۲٪ است، در حالی که این خطر برای والدین یا فرزندان افراد بیمار تا حدودی کمتر می‌باشد.
- (۳) مطالعات بر روی دوقلوها نشان داده‌اند که میزان هماهنگی در ابتلا به بیماری در دوقلوهای تک تخمی ۳۰-۲۵٪ و این میزان در دوقلوهای دو تخمی (شبیه میزان خطر در خواهران و برادران غیر دوقلو) فقط ۵-۲٪ می‌باشد (Minna, 2011).

توارث MS را نمی‌توان با یک مدل ژنتیکی ساده توجیه نمود. استعداد ابتلا به بیماری احتمالاً چند ژنی است و هر ژن به میزان نسبتاً کمی در خطر کلی دخالت دارد. احتمالاً عدم تجانس ژنتیکی (استعداد متفاوت در میان افراد) نیز وجود دارد. مهمترین ناحیه استعداد ابتلا به MS در ژنوم، ناحیه کمپلکس اصلی سازگاری بافتی (MHC)^۱ (یک سری از مولکول‌های سطحی سلول که میانکنش‌های لکوسیت‌ها را میانجی‌گری می‌کنند و در انسان HLA نیز نامیده می‌شوند) بر روی کروموزوم ۶ می‌باشد (Sawcer et al., 1996 و Minna, 2011). مطالعاتی که با نقشه برداری ژنی ظریف صورت گرفته‌اند، نشانگر آن هستند که عمدتاً ناحیه کلاس II مولکول MHC و خصوصاً آلل DR₂ در این مسئله دخالت دارند (Minna, 2011).

نسبت هماهنگی پایین دوقلوهای همسان نشان‌دهنده نقش فاکتورهای غیرژنتیکی در اتیولوژی MS است (Wandinger et al., 2003; Dyment et al., 2004). همانطوری که قبلاً گفته شد، شواهد اپیدمیولوژیک از نقش مواجهه محیطی در MS حمایت می‌کنند. در بین فاکتورهای محیطی، تصور می‌شود که عوامل عفونی و اثرات رفتاری یا سبک زندگی در بروز بیماری نقش داشته باشند (Coo & Aronson, 2004).

¹ Major histocompatibility complex (MHC)