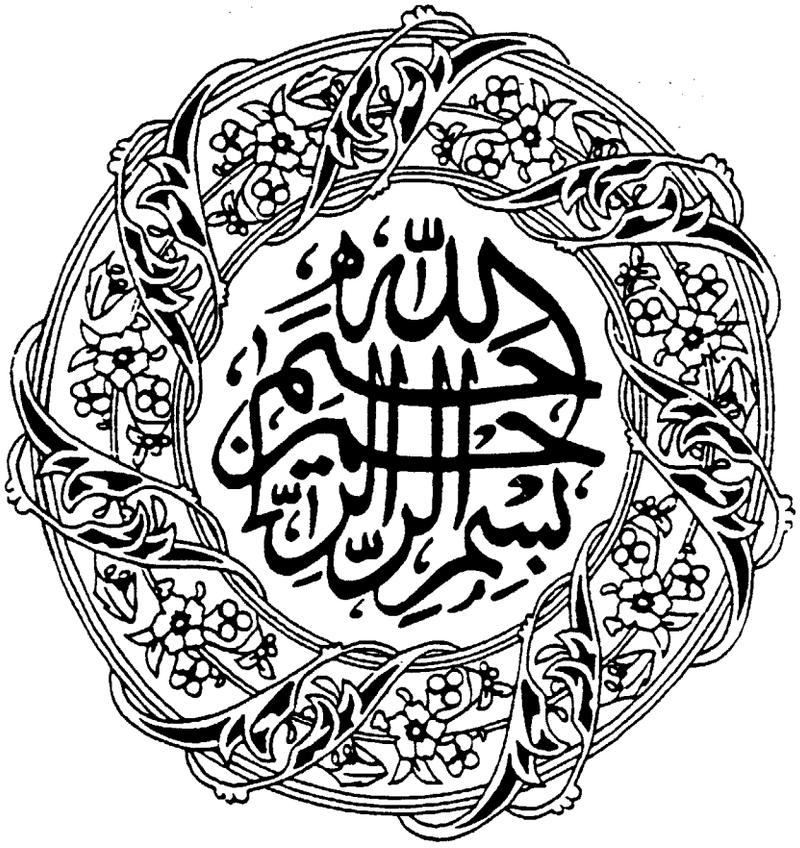


٤٠٠٣٩

۱۳۸۰ /۱۲/ ۲۸

۴۰۰۲۶

01669

دانشگاه تربیت معلم
دانشکدهٔ علوم ـ گروه زیست‌شناسی

پایان نامه:
برای دریافت درجهٔ کارشناسی ارشد ـ شاخهٔ علوم جانوری ـ گرایش فیزیولوژی

موضوع:

بررسی اثر تزریق درون صفاقی آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینرژیک بر فعالیت محور HPA و حافظه و یادگیری اجتنابی غیر فعال در موش صحرائی نر نژاد ویستار

استاد راهنما:
سرکار خانم دکتر شهربانو عریان

استاد مشاور:
جناب آقای دکتر محمدرضا زرین دست

نگارش
حمیده افتخاری

«شهریور ۱۳۸۰»

تقدیم به :

پدر و مادر عزیزم ، اسطوره های صبر و استقامت . آنانکه بالهای پر مهر و محبتشان سایه ای دیرینه برایم بوده است.

تقدیم به:

همسرم ، ترنم مهر و وفا که عاشقانه زیستن را به من آموخت.

تقدیم به :

میوه زندگیم زینب ، که آمدنش زیبا ئی ها را برایم به ارمغان آورد.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

خلاصه ..... و

بخش اول مقدمه

۱-۱- یادگیری و حافظه ۱

۱-۱-۱- تعریف ۱

۱-۱-۲- طبقه بندی انواع یادگیری ۱

۱-۱-۳- حافظه، مراحل و انواع آن ۶

۱-۱-۴- ساختمان تشکیلات هیپوکلپ و مسیرها ۷

۱-۱-۵- ارتباط هیپوکامپ با یادگیری و حافظه ۸

۱-۲- سیستم هیستامینرژیک ۱۱

۱-۲-۱- هیستامین ۱۱

۱-۲-۲- هسته تکمه‌ای - پستانی ۱۱

۱-۲-۳گیرنده‌های هیستامین ۱۴

۱-۲-۴- آنتاگونیست های هیستامین ۱۵

۱-۲-۴-۱- پیریلامین (مپیرامین) ۱۸

فارماکوکینتیک ۱۸

تداخل دارویی: ۱۹

عوارض جانبی: ۱۹

اسامی تجارتی نام سازنده ۲۰

۱-۲-۴-۲- سایمتیدین ۲۱

مولد درمانی: ۲۱

مکانیسم اثر: ۲۱

فارماکوکینتیک ۲۲

تداخل دارویی ۲۲
اثر بر آزمایشهای تشخیصی ۲۳
عوارض جانبی ۲۳
اسامی تجارتی نام سازنده ۲۳
۱-۲-۵- اثر هیستامین بر تنظیم خودکار و نوروانتوکرین ۲۳

بخش دوم مواد و روشها ۲۵

۲-۱- مواد و وسایل ۲۷
۲ـ۱ـ۱ ـ دستگاه شاتل باکس (Shuttle box) ۲۷
۲ـ۱ـ۲ ـ مواد و وسایل مورد نیاز جهت تزریق ۲۸
مواد و وسایل زیر استفاده شد: ۲۸
۲ـ۱ـ۳ ـ مواد و وسایل مورد نیاز جهت خونگیری ۲۹
وسایل و مواد زیر استفاده شد: ۲۹
۲ـ۲ ـ روشها ۳۰
۲ـ۲ـ۱ ـ تزریق درون صفاقی: ۳۰
۲ـ۲ـ۲ ـ خونگیری و تست هورمونی: ۳۰
۲ـ۲ـ۳ ـ روش یادگیری احترازی غیر فعال (Passive avoidance learning) ۳۲

بخش سوم نتایج ۳۴

۳-۱- بررسی نتایج اثر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف سایمتیدین بر STL ۳۵
۳-۲- بررسی نتایج اثر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف پیریلامین بر STL ۳۷
۳-۳- بررسی نتایج اثرات تزریق درون صفاقی توأم دوزهای مؤثر پیرلامین و سایمتیدین ۳۹
۳-۴- بررسی نتایج اثر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف سایمتیدین بر سطح پلاسمایی برکورتیزول ۴۱
۳-۵- بررسی نتایج اثر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف پیریلامین بر سطح پلاسمایی کورتیزول ۴۳
۳-۶- بررسی نتایج اثر تزریق درون صفاقی توأم دوزهای مؤثر سایمتیدین و پیریلامین ۴۵

۳-۷- بررسی نتایج اثر درون صفاقی دوزهای مختلف سایمتیدین بر سطح پلاسمایی ACTH ۴۷

۳-۸- بررسی نتایج اثر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف پیریلامین بر سطح پلاسمایی ACTH ۴۹

نمودار ۳-۹- بررسی نتایج اثر درون صفاقی توأم دوزهای مؤثر سایمتیدین و پیریلامین بر سطح پلاسمایی ACTH ۵۱

بخش چهارم بحث ۵۳

منابع ۶۲

بسم الله الرحمن الرحیم

هنگامی که شما چیزی را می‌خواهید، تمامی ذرات عالم دست به یکی می‌کنند تا بتوانید افسانه شخصی خود را تحقق بخشید.

پائولوکوئیلو

با نگاهی بر آنچه در این دو سال گذشت. در می‌یابم که چه انسانهای عزیزی یار و یاور من بودند و مرا در تحقق نگارش این پایان نامه که مرحله‌ای از رسیدن به افسانه شخصی‌ام بود، یاری نمودند. خاک پای تمامی آنها را به دیده منت می‌سایم.

از سرکار خانم دکتر شهربانو عریان، استاد راهنمای عزیز و گرانقدرم که وجودشان همچون سایه‌ای بر سر من بود و همواره مرا از راهنمائیهای سودمند خویش بهره‌مند می‌ساخت، صمیمانه تشکر و قدرانی می‌نمایم.

از جناب آقای دکتر محمد رضا زرین دست که مسئولیت مشاوره این رساله را بر عهده داشتند و در جهت رفع نواقص و تکمیل این رساله دریغ ننموده و مرا یاری نمودند، سپاسگزاری می‌کنم.

از استاد عالیقدرم جناب آقای دکتر کاظم پریور که با در اختیار قرار دادن آزمایشگاه تحقیقات تکوینی و اتاق حیوانات، برای تکمیل این تحقیق و قبول زحمت قرائت پایان نامه، نهایت لطف و محبت خود را ابراز نمودند، سپاسگزارم.

همچنین از سرکار خانم دکتر پروین رستمی مدیر محترم گروه زیست‌شناسی که افتخار شاگردی ایشان را داشته‌ام و در جهت پیشبرد این رساله یاریم نمودند تشکر می‌کنم.

از خانم‌ها دکتر مریم عیدی و دکتر اکرم عیدی بخاطر تمام راهنمائیهایشان نهایت سپاس را دارم.

از دوستان عزیز و بزرگوارم خانمها: امینی، هاشمی، بایرام زاده، سپهرآرا، سولگی و آقایان: فدائی، زارعی و عباسپور قدرانی می‌نمایم.

بر خود لازم می‌دانم از همسر عزیز و مهربانم که در جهت پیشبرد این تحقیق، سختیها و زحمات فراوانی را متحمل شدند و همیشه یار و یاور من بودند. صمیمانه قدرانی و تشکر کنم.

خلاصه

اثرات تزریق درون صفاقی (I.P.) پیریلامین آنتاگونیست گیرنده H_1 هیستامین و سایمتیدین آنتاگونیست گیرندهٔ H_2 هیستامین، بر روی زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک (Step - through latency, STL) از طریق تست یادگیری احترازی غیر فعال و نیز سطح پلاسمایی ACTH وکورتیزول در موش صحرایی (RAT) مورد مطالعه قرار گرفت .

تزریق درون صفاقی (I.P.) پیریلامین باغلظت‌های $mg.kg^{-1}$ ۲۰ و ۱۰ و سایمتیدین با غلظت‌های $mg.kg^{-1}$ ۲۰ و ۱۰ موجب تخریب بیادآوری در شیوه احترازی غیر فعال - که امروزه وسیله مناسبی برای بررسی فرآیند حافظه می‌باشد - با غلظت مؤثر mg/kg ۲۰ می‌شود. دو دارو در دوز $5mg.kg^{-1}$ تأثیر معنی داری بر روی زمان STL به جا نمی‌گذارند .

در این پروژه تحقیقاتی، بکارگیری آنتاگونیست‌های گیرنده H_1 و H_2 هیستامین، موجب کاهش سطح پلاسمایی ACTH وکورتیزول شده است. بطوریکه پیریلامین و سایمتیدین هر دو در دوزهای $mg.kg^{-1}$ ۲۰ و ۱۰ باعث کاهش سطح پلاسمایی ACTH وکورتیزول، با غلظت $mg.kg^{-1}$ ۲۰ شده‌اند. دوز $mg.kg^{-1}$ ۵ دو دارو بر روی میزان ACTH وکورتیزول غیر مؤثر بوده است .

تزریق توأم پیریلامین با غلظت مؤثر $mg.kg^{-1}$ ۲۰ و سایمتیدین با غلظت مؤثر $mg.kg^{-1}$ ۲۰ بدون اینکه حالت سینرژیستی ایجادکند ، باعث تخریب بیادآوری شده و زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک (STL) راکاهش داده است. بعلاوه میزان پلاسمایی کورتیزول و ACTH در تزریق توأم دو دارو کاهش یافته است. بطوریکه در مورد کورتیزول حالت سینرژیستی ایجاد کرده و در مورد ACTH بدون ایجاد حالت سینرژیستی موجب کاهش سطح پلاسمایی ACTH شده است .

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که گیرنده‌های H_1 و H_2 هیستامین هر دو در بیادآوری حافظه نقش دارند. ولی با توجه به اینکه در دوز مؤثر $mg.kg^{-1}$ ۲۰، پیریلامین آنتاگونیست گیرنده H_1، میزان STL را بیش از سایمتیدین آنتاگونیست گیرنده H_2 در این دوز کاهش داده است، چنین به نظر می‌رسد که گیرندهٔ H_1 در فرآیند تثبیت حافظه ارجح باشد .

در مورد نقش هیستامین بر روی سطح پلاسمایی ACTH و کورتیزول نیز یافته‌ها نشان می‌دهند که هیستامین آزاد شدن ACTH را در سطح هیپوتالاموس از طریق فاکتورهای هیپوتالاموسی مانند AVP یا CRH انجام می‌دهد. چرا که فیبرهای عصبی هیستامینرژیک در هسته‌های PVN و SON که محل اجسام سلولی نورونهای آزادکننده AVP و CRH می‌باشد، از لحاظ نوروآناتومیکی شناسایی شده‌اند.

در مورد افزایش سطح کورتیزول در اثر هیستامین به نظر می‌رسد ACTH واسطه این ترشح باشد. ولی وجود فاکتورهای احتمالی دیگر نظیر کاتکول آمین‌ها و ماده P را نباید نادیده گرفت. احتمال دیگر این است که هیستامین مستقیماً بر روی بخش قشری غدهٔ آدرنال اثر کند و منجر به آزادسازی کورتیزول شود. بهرحال گیرنده‌های H_1 و H_2 هر دو در آزادسازی ACTH و کورتیزول نقش دارند و آنتاگونیست‌های ذکر شده باعث مهار این عملکرد می‌شوند.

حال با توجه به اینکه ACTH با تأخیر انداختن زمان فراموشی باعث تمرکز، دقت و تسهیل در بیادآوری حافظه می‌شود و کورتیزول با حذف پاسخهای نامناسب، سازش رفتاری را فراهم می‌آورد و هیستامین منجر به آزادسازی و افزایش سطح پلاسمایی این دو شده است. این پروژه پیشنهاد می‌کند که امکان دارد هیستامین از طریق افزایش سطح این دو هورمون، باعث بهبود بیادآوری و حافظه شود.

بخش اول

مقدمه

Introduction

۱-۱- یادگیری و حافظه

۱-۱-۱- تعریف

یادگیری عبارت است از فرآیند تغییرات سازشی در رفتار فرد که بر اثر کسب تجربه صورت می‌گیرد. همچنین می‌توان گفت که یادگیری یعنی توانایی تغییر در رفتار، منظور از تغییر در رفتار، وجود یک اختلاف قابل اندازه‌گیری بین رفتار قبل و بعد از تجربه می‌باشد.

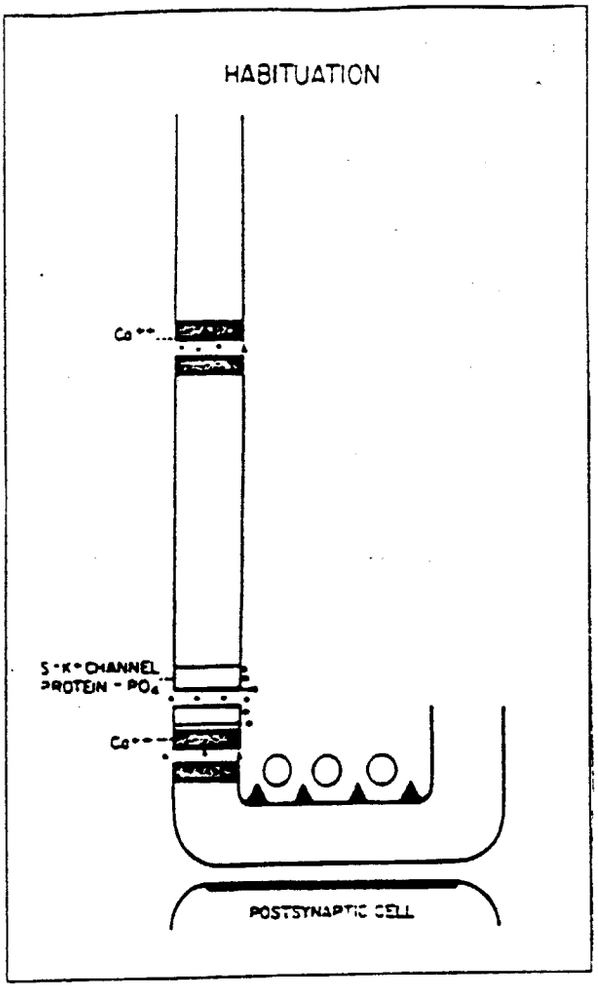
(Manning et al., 1992 ; Kupferman , 1991 ; Thompson , 1986)

۱-۱-۲- طبقه بندی انواع یادگیری

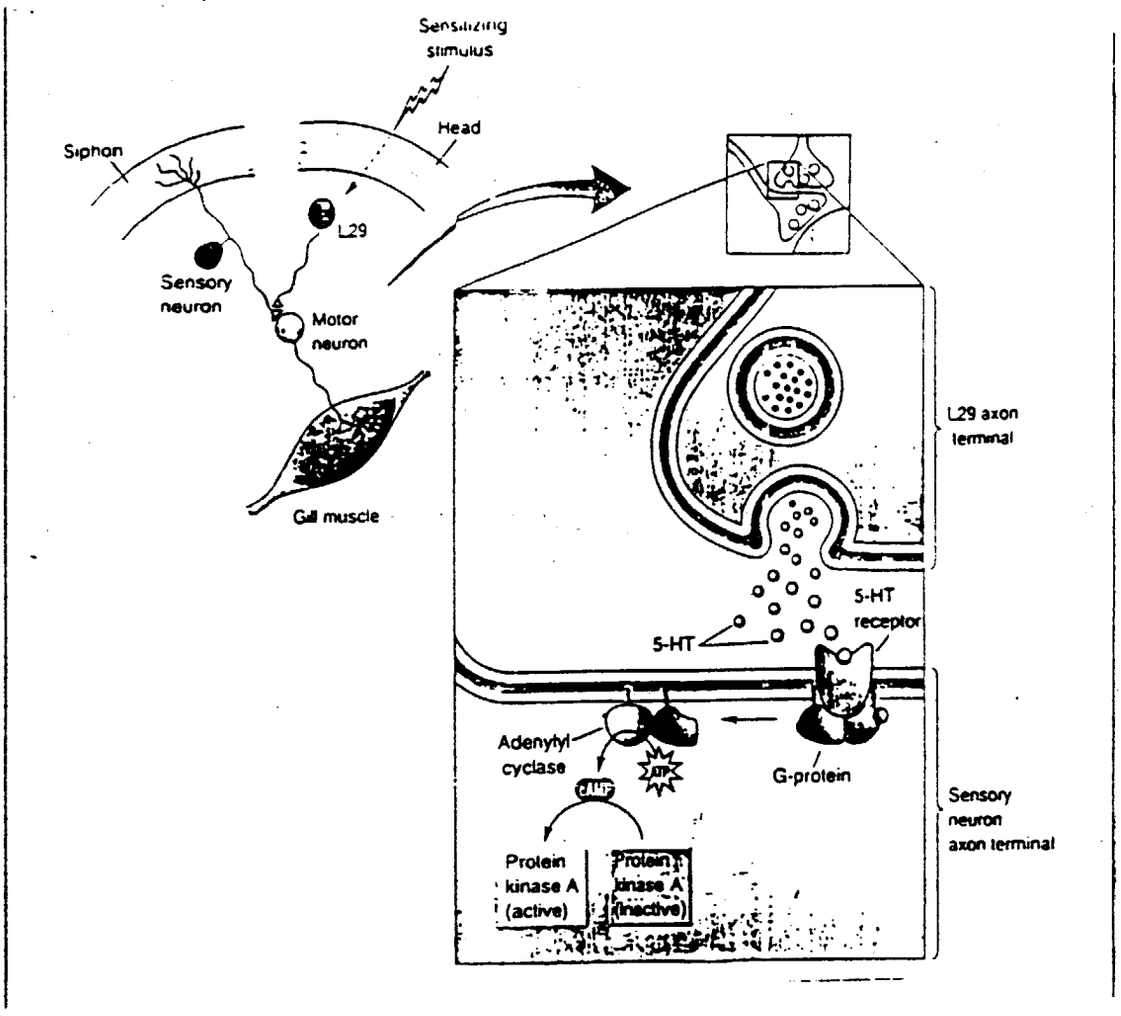
یادگیری را می‌توان به سه دسته مهم تقسیم نمود:

الف - یادگیری ساده یا غیرارتباطی *(Nonassociative Learning)* که خوگرفتگی *(Habituation)* و حساس شدگی *(Sensitization)* را شامل می‌شود. خوگرفتگی ساده‌ترین نوع یادگیری محسوب می‌شود و بر خلاف سایر انواع یادگیریها، متضمن کسب پاسخ جدید نبوده، بلکه باعث حذف پاسخ قدیمی می‌شود. اگر به حیوان محرکی وارد شود که به همراه آن تنبیه و پاداشی وجود نداشته باشد، حیوان بتدریج پاسخ خود را نسبت به آن از دست می‌دهد. در خوگرفتگی از نظر مطالعات سلولی، یک نوع تنزل انتقال سیناپسی وجود دارد. در واقع در اثر تکرار تحریک نورون حسی، بتدریج انتقال دهندهٔ کمتری آزاد می‌شود. این امر وابسته به میزان کلسیم ورودی در طی پتانسیل عمل می‌باشد. بعبارت دیگر، کلسیم وارد شده به پایانهٔ اکسونی کمتر شده و نوروترانسمیتر کمتری را آزاد می‌نماید که در واقع یک نوع تغییر عملکردی در سلول عصبی محسوب می‌شود *(Hawkins et al.1984;Kupferman, 1991)* (شکل ۱-۱). در حالیکه حساس شدگی افزایش در واکنش بازتابی نسبت به یک محرک است که معمولاً پس از یک محرک شدید یا آزاردهنده ایجاد می‌شود. حساس شدگی نیاز به توالی در محرک نداشته و در سطح سلولی در واقع یک تسهیل پیش سیناپسی از نوع اکسون به اکسون می‌باشد.

(Alkon , 1995 ; Ridley , 1995) (شکل ۱-۲)



شکل ۱-۱- مکانیسم سلولی خوگرفتگی ؛ تکرار پتانسیل عمل در پایانه‌های عصبی، باعث کاهش تعداد کانالهای باز کلسیم می‌شود. کاهش ورود کلسیم به پایانه عصبی مانع اتصال و زیکول‌های سیناپسی به غشاء پیش سیناپسی شده و سیناپس را غیر فعال می‌سازد. **(Schwartzkorin,etal.,1989)**

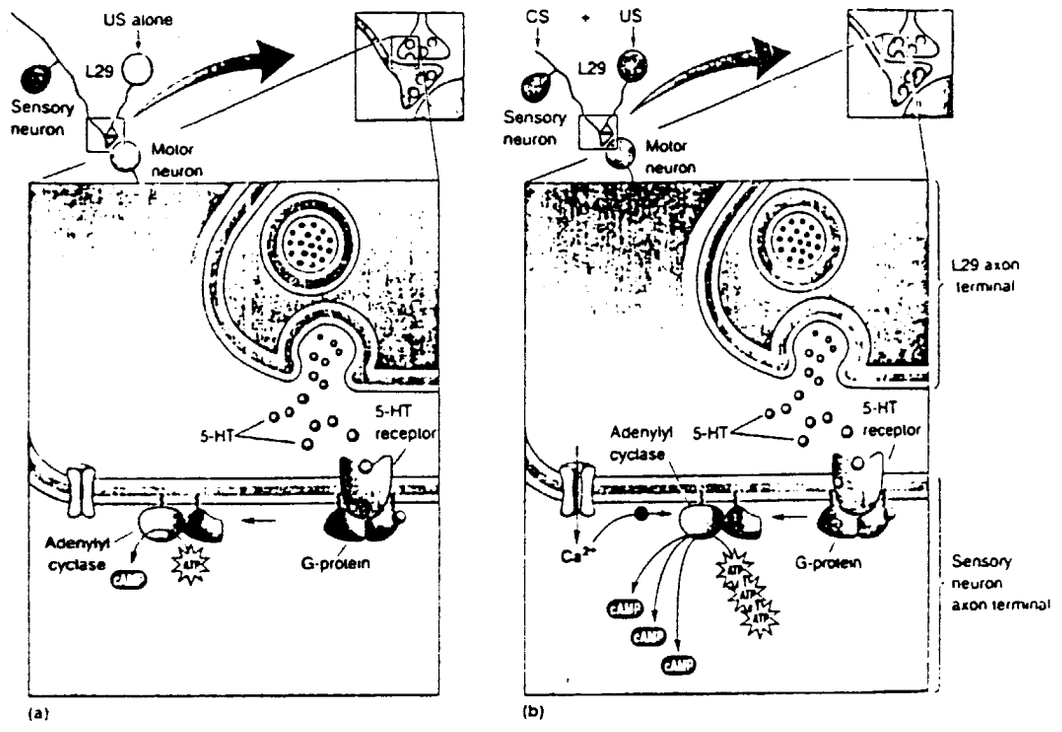


شکل ۱-۲- *(a)* - محرک حساس کننده وارد شده به سر حلزون دریایی بطور غیر مستقیم یک اینترنورون *L29* را فعال می‌کند که یک سیناپس آکسو - آکسونیک روی پایانه نورون حسی می‌سازد. *(b)* - مکانیسم سلولی حساس شدگی. سروتونین در پاسخ به شوک سری از نورون *L29* آزاد می‌شود که منتهی به فعال شدن آدنیلات سیکلاز در پایانهٔ آکسونی حسی می‌گردد. فعال شدن این آنزیم منتهی به تولید *CAMP* می‌شود که بنوبه خود پروتئین کیناز *A* را فعال می‌نماید. پروتئین کیناز *A* موجب چسبیدن گروههای فسفاتی به کانال پتاسیم شده و آن را می‌بندد و پتانسیل عمل را طولانی می‌نماید. *(Bear,et al.,1996)*

ب - یادگیری ارتباطی *(Associative Learning)* که اساس آن درک آن مکانیسم شرطی شدن غیر فعال یا کلاسیک *(Passive or Classical Conditioning)*، شرطی شدن عامل یا وسیله‌ای

(Operant or Instrumental Conditioning) و شرطی شدن احترازی (Aversive Conditioning) را شامل می‌شود (Schwartzkroin,et al.1989;Kupferman,1991) .

در انواع یادگیری ارتباطی، رابطه‌ای بین یک محرک خنثی و محرک دوم که پاداش یا تنبیه است است، ایجاد می‌گردد. در این حالت، حیوان توسط پاسخهای رفتاری جدید نشان می‌دهد که بین این دو محرک ارتباط ایجاد نموده است. (Somjen,1990) (شکل ۱-۳)



شکل ۱-۳- اساس مولکولی شرطی شدن کلاسیک در Aplysia (a) محرک US (Urodel Stimulus) یا شوک به دم حیوان با آزادسازی سروتونین منجر به فعال شدن G - پروتئین و آدنیلات سیکلاز در پایانه پیش سیناپسی می‌شود. (b) جفت شدن محرک CS (Ciphon Stimulus) یا لمس سیفون و US منجر به فعال شدن آدنیلات سیکلاز از حالت اول می‌گردد. محرک CS موجب ورود Ca^{2+} بداخل پایانه پیش سیناپسی شده و Ca^{2+} با رابطه متقابل با کالمودولین موجب افزایش پاسخ آدنیلات سیکلاز به G - پروتئینها می‌گردد. بعد از جفت شدن این دو محرک، حیوان آبشش را در پاسخ به CS بداخل می‌کشد. (Bear,et al.,1996)