



دانشگاه علوم پزشکی  
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

## دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

### دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه ی کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی

عنوان:

بررسی اثرات فرم فعال ویتامین D (کلسی تریول) بر یادگیری ، حافظه، آستانه درد و میزان بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در تشکیلات هیپوکمپی به دنبال شیمی درمانی با سیس پلاتین در موشهای

صحرائی نر بالغ

نگارش:

مریم عبدالله زاده

اساتید راهنما:

دکتر حکیمه سعادتى

دکتر حمده پناهپور

بهمن ماه ۱۴۰۰

شماره پایان نامه:

۰۷۶

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تقدیم به

پدر و مادرم

این دو تکیه گاه بزرگ زندگیم ، که هر چه دارم مدیون همراهی  
وصبروشکیبایی و زحمات بی دریغ آنهاست.

## سپاسگزاری

سپاس خدای را که سخنوران ، درستودن او بمانند و شمارندگان ،  
شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان ، حق او را گزاردن نتوانند .  
اکنون که باید آغازی بر یک پایان بنگارم ، بر خود لازم می دانم که  
از استادان عزیزم سرکار خانم دکتر سعادتى و جناب آقای دکتر  
حمداله پناهپور به خاطر راهنماییهای ارزشمندشان نهایت تشکر و  
قدردانی را نمایم.

خانواده ی عزیزم بابت صبر و شکیبایی و دلگرمی که از دور نثارم  
میکردن، نهایت تشکر را دارم.

دوست مهربان و همیشه همراهم سرکار خانم صفا قاهری فرد، بابت  
حضور پر مهرش در کنارم در این مدت تشکر و قدر دانی مینمایم .

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱.....	چکیده
	فصل اول: مقدمه
۵.....	۱-۱ اهمیت موضوع و انگیزه ی تحقیق
۷.....	۲-۱ اهداف و فرضیات طرح
۷.....	۱-۲-۱ هدف کلی طرح
۷.....	۱-۲-۲ اهداف اختصاصی طرح
۸.....	۳-۲-۱ اهداف کاربردی
۸.....	۴-۲-۱ فرضیات یا سؤالات تحقیق
۹.....	۳-۱ تعریف واژه‌های اختصاصی
	فصل دوم: بررسی متون
۱۳.....	۲-۱ مبانی نظری
۱۳.....	۲-۱-۱ سیس پلاتین
۱۷.....	۲-۱-۲ سنتز و متابولیسم ویتامین D
۱۸.....	۲-۱-۳ اثرات ویتامین D
۱۹.....	۲-۱-۴ کمبود ویتامین D
۲۰.....	۲-۱-۵ عوامل خطر کمبود ویتامین D

۲۲	..... یادگیری ۲-۱-۶
۲۴	..... انواع یادگیری ۲-۱-۶-۱
۲۴	..... خوگیری ۲-۱-۶-۱-۱
۲۵	..... حساس شدگی ۲-۱-۶-۱-۲
۲۵	..... شرطی شدن کلاسیک ۲-۱-۶-۱-۳
۲۷	..... شرطی شدن فعال ۲-۱-۶-۱-۴
۲۹	..... یادگیری نهفته ۲-۱-۶-۱-۵
۲۹	..... یادگیری بصیرت ۲-۱-۶-۱-۶
۳۰	..... حافظه ۲-۱-۷
۳۱	..... انواع حافظه ۲-۱-۷-۱
۳۴	..... طبقه‌بندی حافظه بر اساس نوع اطلاعات موجود در حافظه بلند مدت ۲-۱-۷-۲
۳۵	..... عوامل مؤثر بر حافظه ۲-۱-۷-۳
۳۶	..... اختلال‌های حافظه ۲-۱-۷-۴
۳۸	..... تقویت حافظه ۲-۱-۷-۵
۴۰	..... حس درد ۲-۱-۸
۴۱	..... سیستم لیمبیک ۲-۱-۹
۴۳	..... ارتباطات سیستم لیمبیک ۲-۱-۹-۱
۴۵	..... الیاف آوران هیپوکامپ ۲-۱-۹-۲
۴۵	..... الیاف وبران هیپوکامپ ۲-۱-۹-۳

- ۴۷..... ۲-۱-۱۰ پتانسیل عمل
- ۴۷..... ۲-۱-۱۰-۱ پتانسیل عمل عصب
- ۴۸..... ۲-۱-۱۰-۲ پتانسیل عمل عضله
- ۴۹..... ۲-۱-۱۱ فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز
- ۵۲..... ۲-۲ مطالعات پیشین
- ۵۲..... ۲-۲-۱ مطالعات پیشین خارجی
- ۵۴..... ۲-۲-۲ مطالعات پیشین داخلی

### فصل سوم: مواد و روش کار

- ۵۷..... ۳-۱ نوع ، مکان و زمان پژوهش
- ۵۷..... ۲-۳ جمعیت و نمونه ی مورد مطالعه
- ۵۸..... ۳-۳ روش گردآوری اطلاعات
- ۵۸..... ۱-۳-۳ آزمون تشخیص شی جدید
- ۵۹..... ۲-۳-۳ آزمون حافظه و یادگیری اجتنابی غیر فعال (شاتل باکس)
- ۶۱..... ۳-۳-۳ تست Hot plate
- ۶۲..... ۴-۳-۳ روش RT-PCR جهت بررسی بیان ژن BDNF
- ۷۰..... ۵-۳-۳ روشهای اندازه گیری پاسخ های الکتروفیزیولوژیک
- ۷۳..... ۴-۳ مواد مورد استفاده در این تحقیق
- ۷۵..... ۵-۳ تجهیزات مورد استفاده در این تحقیق
- ۷۶..... ۶-۳ تجزیه و تحلیل آماری

۷-۳ ملاحظات اخلاقی ..... ۷۷

## فصل چهارم : نتایج

- ۴-۱ بررسی اثر تجویز کلسی تریول بر آستانه درد یا بر پاسخ به محرک حرارتی در حیوانات تحت مواجهه با سیس پلاتین در Hot plate ..... ۸۱
- ۴-۲ بررسی اثر تجویز کلسی تریول بر اختلال حافظه اجتنابی القاء شده توسط مصرف سیس پلاتین در شاتل باکس ..... ۸۲
- ۴-۳ بررسی اثر تجویز کلسی تریول در زمان مصرف سیس پلاتین بر یادگیری و حافظه تشخیص شی جدید در موش های صحرایی بزرگسال ..... ۸۵
- ۴-۴ اثرات تزریق کلسی تریول بر سرعت هدایت (SNCV) و دامنه پتانسیل های عمل مرکب عصب حسی سوراخ (SNAP) در موش های مواجهه با سیس پلاتین ..... ۸۸
- ۴-۵ اثرات تزریق کلسی تریول بر سرعت هدایت (MNCV) و دامنه پتانسیل های عمل مرکب در عضله گاستروکنیموس (CMAP) در موش های تحت مواجهه با سیس پلاتین ..... ۹۰
- ۴-۶ اثرات تزریق کلسی تریول بر زمان تاخیر و دامنه پتانسیل های عمل عصب سیاتیک در بررسی H-reflex در موش های مواجهه با سیس پلاتین ..... ۹۲
- ۴-۷ بررسی تجویز کلسی تریول همراه با مصرف سیس پلاتین بر میزان بیان ژن BDNF در هیپوکمپ و قشر پره فرونتال در موش های بالغ ..... ۹۳

## فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

۱-۵ بحث ..... ۹۷



- ۵-۱-۱ بررسی اثر تجویز کلسی تریول بر اختلال حافظه اجتنابی القاء شده توسط مصرف سیس پلاتین در شاتل باکس و اثر تجویز کلسی تریول در زمان مصرف سیس پلاتین بر یادگیری و حافظه تشخیص شی جدید در موش های صحرایی بزرگسال ..... ۹۷
- ۵-۱-۲ بررسی اثر تجویز کلسی تریول بر آستانه درد یا بر پاسخ به محرک حرارتی در حیوانات تحت مواجهه با سیس پلاتین در Hot plate ..... ۹۹
- ۵-۱-۳ بررسی اثر تجویز کلسی تریول همراه با مصرف سیس پلاتین بر میزان بیان ژن BDNF در هیپوکمپ و قشر پره فرونتال در موش های بالغ ..... ۱۰۲
- ۵-۱-۴ اثرات تزریق کلسی تریول بر سرعت هدایت (MNCV) و دامنه پتانسیل های عمل مرکب در عضله گاستروکنیموس و سوراال و زمان تاخیر و دامنه پتانسیل های عمل عصب سیاتیک در بررسی H-reflex در موش های تحت مواجهه با سیس پلاتین ..... ۱۰۴
- ۲-۵ محدودیت مطالعه ..... ۱۱۰
- ۳-۵ نتیجه گیری ..... ۹
- ۴-۵ پیشنهادات ..... ۱۱۲
- ۱-۴-۵ پیشنهادات برخواسته از مطالعه ..... ۱۱۲
- ۲-۴-۵ پیشنهادات برای پژوهش های آتی ..... ۱۱۲
- منابع ..... ۱۱۳
- چکیده ی انگلیسی ..... ۱۱۸

## فهرست جداول، اشکال و نمودارها

- شکل ۱-۲ ساختار هیپوکمپ ..... ۳۳
- شکل ۲-۲ انواع حافظه ..... ۳۵
- شکل ۳-۲ سیستم لیمبیک ..... ۴۴
- شکل ۱-۳ شاتل باکس ..... ۶۱
- شکل ۲-۳ هات پلیت ..... ۶۲
- جدول ۱-۳ مرحله اول سنتز cDNA ..... ۶۵
- جدول ۲-۳ مرحله دوم سنتز cDNA ..... ۶۶
- جدول ۳-۳ ترکیبات واکنش PCR برای ژن GAPDH ..... ۶۷
- جدول ۴-۳ تهیه ترکیبات واکنش PCR برای ژن BDNF ..... ۶۷
- جدول ۵-۳ وضعیت برنامه دستگاه Light cycler برای GAPDH ..... ۶۸
- جدول ۶-۳ وضعیت برنامه دستگاه Light cycler برای ژن BDNF ..... ۶۸
- شکل ۳-۳ نمایش شماتیک بساط روشهای اندازه گیری پاسخ های الکتروفیزیولوژیک در این پژوهش ..... ۷۰
- جدول ۷-۳: متغیرهای به کار رفته در این پژوهش ..... ۷۷
- نمودار ۱-۴ بررسی اثر تجویز کلسی تریول بر زمان واکنش به محرک حرارتی در موش های نر تحت مواجهه با سیس پلاتین ..... ۸۱

- نمودار ۲-۴ بررسی اثر تجویز کلسی تریول در دوره مصرف سیس پلاتین بر یادگیری و حافظه اجتنابی غیر فعال در موش های بزرگسال ..... ۸۴
- نمودار ۳-۴ بررسی اثر مصرف کلسی تریول بر اختلال حافظه تشخیص شی جدید ایجاد شده توسط سیس پلاتین ..... ۸۶
- شکل ۱-۴ نمونه ای از پاسخهای الکتروفیزیولوژیک ثبت شده..... ۸۶
- نمودار ۴-۴ اثرات تزریق کلسی تریول بر سرعت هدایت (A) SNCV و دامنه پتانسیل های عمل مرکب عصب حسی سورال (B) SNAP در موش های مواجهه با سیس پلاتین ..... ۸۹
- نمودار ۵-۴ اثرات تزریق کلسی تریول بر سرعت هدایت (A) MNCV و دامنه پتانسیل های عمل مرکب در عضله گاستروکنیموس (B) CMAP در موش های مواجهه با سیس پلاتین ..... ۹۱
- نمودار ۶-۴ اثرات تزریق کلسی تریول بر سرعت هدایت (A) و دامنه پتانسیل های عمل عصب سیاتیک (B) در بررسی H-reflex در موش های مواجهه با سیس پلاتین..... ۹۳
- نمودار ۷-۴ نتایج بررسی اثر سیس پلاتین و فرم فعال ویتامین D بر میزان بیان ژن BDNF در هیپوکمپ (A) و قشر پره فرونتال (B) در موش های صحرایی بالغ ..... ۹۵

## فهرست اختصارات و کلمات کلیدی:

**AD:** Alzheimer Disease

**AMPA:**  $\alpha$ -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazole Propionic Acid

**BDNF:** Brain-Derived Neurotrophic Factor

**BMP:** Bone Morphogenetic Protein

**cAMP:** Cyclic Adenosine Monophosphate

**CA:** Cornu Ammonis

**CNS:** Central Nervous System

**DG:** Dentate Gyrus

**DMSO:** Dimethyl Sulfoxide

**EC:** Entorhinal Cortex

**EGF:** Epidermal Growth Factor

**FGF-2:** Fibroblast Growth Factor-2

**HF:** Hippocampal Formation

**IVC:** Intraventricular Catheter

**L&M:** Learning & Memory

**LTD:** Long Term Depression

**LTP:** Long Term Potentiation

**MAPK:** Mitogen Activated Protein Kinase

**mRNA:** Messenger Ribonucleic Acid

**MS:** Multiple Sclerosis

**NGF:** Nerve Growth Factor

**NO:** Nitric Oxide

**NSCs:** Neural Stem Cells

**NT-3:** Neurotrophin 3

**PCR:** Polymerase Chain Reaction

**PDGF:** Platelet Derived Growth Factor

**PKA:** Protein Kinase A

**PEDF:** Pigment Epithelium Derived Factor

**RNA:** Ribonucleic Acid

**SC:** Subcutaneous

**SEZ:** Sub Ependymal Zone

**SGZ:** Sub Granular Zone

**SVZ:** Sub Ventricular Zone

**TrK:** Tyrosine Kinase

**TrKA:** Tyrosine Kinase A

**TrKB:** Tyrosine Kinase B

**VEGF:** Vascular Endothelial Growth Factor

بررسی اثرات فرم فعال ویتامین D (کلستریول) بر یادگیری، حافظه، آستانه درد و میزان بیان فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در تشکیلات هیپوکمپی به دنبال شیمی درمانی با سیس پلاتین در موشهای صحرایی بالغ

زمینه: اختلالات شناختی ناشی از شیمی درمانی مانند اختلال حافظه و مشکلات تمرکز امروزه به طور گسترده به عنوان عوارض جانبی شیمی درمانی شناخته شده است. این مشکلات کیفیت زندگی بیماران را کاهش می دهد.

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات محافظت کننده عصبی کلسی تریول بر آسیب شناختی، نقص های رفتاری و تغییرات فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز هیپوکامپ (BDNF) در موش های صحرایی در معرض سیس پلاتین طراحی شده است.

مواد و روش ها: اثر محافظت عصبی کلسی تریول (100 ng/kg/day به مدت 5 هفته) از نظر تأثیرات محافظتی عصبی آن از طریق تغییر در سطح BDNF، حافظه اجتناب غیرفعال و حافظه تشخیص شی جدید در موش های تحت درمان با سیس پلاتین مورد بررسی قرار گرفت. ما همچنین تأثیر سیس پلاتین (5 میلی گرم بر کیلوگرم در هفته برای 5 هفته متوالی) و تجویز کلسی تریول بر زمان واکنش در برابر محرک حرارتی را تعیین کردیم.

یافته ها: یافته های ما نشان داد که درمان موش های صحرایی با سیس پلاتین باعث اختلال در عملکرد حافظه اجتناب غیرفعال و شناسایی شی جدید می شود که نشان دهنده نقص های شناختی است. مصرف همزمان کلسی تریول از این اختلالات شناختی ناشی از سیس پلاتین جلوگیری کرد.

قرار گرفتن در معرض سیس پلاتین همچنین منجر به افزایش زمان واکنش به محرک حرارتی شد. علاوه بر این، سطح BDNF هیپوکامپ در موش های تحت درمان با سیس پلاتین کاهش یافت. با این حال، کلسی تریول این اثرات سیس پلاتین را کاهش داد. علاوه بر این، کلسی تریول به تنهایی تغییر معنی داری را در سطح BDNF نسبت به گروه کنترل نشان داد.

نتیجه‌گیری: ما نتیجه می‌گیریم که افزایش BDNF هیپوکامپ تأثیرات محافظتی کلسی تریول در برابر سمیت عصبی را در موش‌های صحرایی در معرض سیس پلاتین واسطه‌گری می‌کند. با این حال، مطالعات بیشتری برای کشف مکانیسم‌های دیگری که اثر محافظتی کلسیتریول را واسطه‌گری می‌کنند، مورد نیاز است.

**کلمات کلیدی:** سیس پلاتین، کلسیتریول (ویتامین D)، اختلال شناختی، آستانه درد، BDNF