

الحمد لله الذي



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی پزشکی

عنوان:

بررسی اثرات تحریک و انسداد گیرنده ی گاباA در دوران اولیه زندگی بر شکل
پذیری سیناپسی نورون های ناحیه CA1 هیپوکامپ و حافظه و یادگیری در موش
صحرائی بالغ نر

نگارش:

فروزان محمدیان

استاد راهنما:

دکتر محمد امانی

اساتید مشاور:

دکتر حمید شیخ کانلوی میلان

دکتر علی عابدی

شهریور ۱۴۰۰

شماره پایان نامه: ۰۶۴



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل

بسمه تعالی

گواهی اصالت پایان نامه

اینجانب فروزان محمدیان دانشجوی مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تایید مینمایم که:

- این پایان نامه بر اساس نتایج بررسی‌ها/ تحقیقات انجام یافته توسط اینجانب تحت راهنمایی‌های آقای دکتر محمد امانی بوده و بوسیله خودم انشا گردیده است و در صورت استفاده از نتایج پژوهش‌ها و یا آثار دیگران بلافاصله به مرجع مورد استفاده استناد شده است و مشخصات مرجع به قسمت منابع و مآخذ طور کامل ذکر گردیده است.

- مسئولیت صحت مطالب مندرج در این پایان‌نامه به طور کامل با اینجانب است.

- این پایان نامه قبلاً برای دریافت هیچ مدرک تحصیلی در سایر دانشگاه‌ها و موسسات آموزش عالی (هم سطح، پایین تر یا بالاتر) ارائه نشده است.

- کلیه حقوق مادی و معنوی این پایان و محصول مستخرج از آن اعم از مقالات، نامه و هر گونه چاپ کتاب و ثبت اختراع به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تعلق دارد و هرگونه استفاده از اطلاعات و یا نتایج، واگذاری اطلاعات به افراد دیگر، چاپ، تکثیر، نسخه برداری، ترجمه و اقتباس از این پایان‌نامه بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه علوم پزشکی اردبیل ممنوع است.

- کلیه مقالات مستخرج از این پایان نامه تحت نام دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (Ardabil University of Medical sciences) به عنوان وابستگی نویسنده اول یا مسئول و با اطلاع و اجازه تمامی اساتید راهنما و مشاور به چاپ رسیده یا خواهد رسید.

- چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن را می پذیرم و دانشگاه مجاز است با اینجانب مطابق با مقررات رفتار نموده و در صورت برخورد قانونی، هیچ گونه ادعایی نخواهم داشت.

نام و نام خانوادگی دانشجو

امضا تاریخ

- بدینوسیله اصالت و صحت نتایج این پایان نامه مورد تأیید اینجانب، دکتر محمد امانی استاد راهنما می باشد.

نام و نام خانوادگی استاد راهنما

امضا و تاریخ

تقدیم

با کمال افتخار این پایان نامه را به خانواده‌ی عزیزم و همچنین قلب‌های مهربانی که همیشه حامی و امید بخش اینجانب بودند تقدیم می‌کنم.

سپاسگزاری

از استاد فرهیخته و بزرگوام آقای دکتر محمد امانی که افتخار حضور در کلاس درس و همچنین شاگردی در عرصه امور پژوهشی پایان نامه‌ام را داشته‌ام کمال تشکر را دارا می‌باشم، که نه تنها در طول دوران تحصیلی‌ام ایشان استاد و آموزگار علمی بنده، بلکه اسوه و استاد صبر و آرامش و از خودگذشتگی و عطوفت و مهربانی بوده‌اند و از درگاه خداوند منان برای ایشان سلامتی و پایداری و موفقیت‌های روز افزون را آرزومندم.

از اعضای محترم گروه فیزیولوژی: جناب آقایان دکتر عابدی، دکتر پناهپور، دکتر میلان و سرکارخانم دکتر سعادت‌ی بخاطر همه‌ی حمایت‌هایشان طی این دوره‌ی تحصیلی تشکر کمال تشکر را می‌نمایم. این مقطع تحصیلی برای اینجانب یکی از طلایی‌ترین مقاطع و اساتید محترم گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل بدون شک از بهترین گروه‌های فیزیولوژی در ایران می‌باشند و بسیار خرسندم که بعد از طی این دوره با نگاهی به مسیر طی شده، اینبار نیز گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل انتخاب اول اینجانب خواهد بود.

از دوست و همکلاسی عزیزم، سرکارخانم نسترن گلی طبری که قطعاً بدون همراهی ایشان پشت سر نهادن این مسیر طولانی و پرکار آسان نمی‌بود، بی‌پاس همکاری و همراهی و دلگرمی‌های بی دریغش کمال تشکر را دارا می‌باشم و آرزومند مدارج علمی بالاتر برای ایشان می‌باشم.

همچنین از دوستان عزیزم سرکارخانم‌ها راضیه‌دهقانی و هدیه‌اسماعیلی و جناب آقای حامد رضایی (دانشجویان کارشناسی ارشد بیوشیمی) و سرکارخانم فاطمه‌غلامی و جناب آقای سیدرضایی به پاس همراهی و همدلی‌هایشان در این سال‌ها کمال تشکر را دارم.

فهرست مقالات منتشر شده از پایان نامه (در صورت وجود)

1. Mohammadian F, Golitabari N, Abedi A, Saadati H, Sheikhkanlou H, Salari A, et al. Early life GABA A blockade alters the synaptic plasticity and cognitive functions in male and female rats. *Eur J Pharmacol.* 2022;925:174992.
2. Amani M, Mohammadian F, Golitabari N, Salari A-A. Postnatal GABAA Receptor Activation Alters Synaptic Plasticity and Cognition in Adult Wistar Rats. *Mol Neurobiol.* 2022;(0123456789).

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۳	فصل اول
۳	مقدمه
۴	۱-۱- مقدمه، اهمیت موضوع و انگیزه تحقیق
۶	۱-۲- اهداف
۶	۱-۲-۱- هدف کلی
۶	۱-۲-۲- اهداف اختصاصی
۷	۱-۲-۳- هدف کاربردی
۷	۱-۲-۴- فرضیات یا سؤالات تحقیق
۷	۱-۲-۵- تعریف واژه‌های کلیدی
۷	۱-۲-۵-۱- یادگیری
۷	۱-۲-۵-۲- حافظه
۸	۱-۲-۵-۳-
۸	۱-۲-۵-۴- گاما آمینو بوتریک اسید
۹	فصل دوم
۹	بررسی متون
۱۰	۲-۱- گابا
۱۱	۲-۲- سیستم گابائریک و شناخت
۱۲	۲-۳- گیرنده ی GABAA
۱۲	۲-۳-۱- تنوع زیر واحدهای گیرنده ی GABAA
۱۳	۲-۳-۲- ساختار زیرواحد گیرنده‌های GABAA و ویژگی‌های اتصالی شان
۱۵	۲-۴- یادگیری
۱۵	۲-۴-۱- انواع یادگیری
۱۵	۲-۴-۱-۱- یادگیری ارتباطی یا همخوان
۱۵	۲-۴-۱-۲- یادگیری غیرارتباطی یا ناهمخوان
۱۵	۲-۴-۱-۲-۱- عادت کردن یا خوگیری
۱۶	۲-۴-۱-۲-۲- حساس شدن
۱۶	۲-۵- حافظه
۱۷	۲-۵-۱- حافظه را می توان از دو بعد کلی تقسیم بندی نمود

- ۲-۵-۲- از نظر فیزیولوژیکی حافظه ی بلندمدت به دو نوع تقسیم می شود :..... ۱۸
- ۲-۵-۲-۱- حافظه ی صریح یا اخباری یا خودآگاه..... ۱۸
- ۲-۵-۲-۲- حافظه ی مفهومی یا غیراخباری یا ناخودآگاه..... ۱۸
- ۲-۶- تشکیلات هیپوکمپ..... ۲۱
- ۲-۶-۱- آناتومی هیپوکمپ..... ۲۱
- ۲-۶-۲- شکنج دندانۀ دار..... ۲۳
- ۲-۶-۳- هیپوکمپ..... ۲۴
- ۲-۷- قشر انتورینال..... ۲۵
- ۲-۸- شکل پذیری سیناپسی..... ۲۷
- ۲-۹- مکانیسم های سلولی و مولکولی LT..... ۲۸
- ۲-۱۰- فاز E-LTP..... ۲۹
- ۲-۱۱- فاز L-LTP..... ۳۰
- ۲-۱۲- یادگیری و LTP در نقاط مختلف مغزی..... ۳۳
- ۲-۱۲-۱- هیپوکامپ..... ۳۳
- ۲-۱۲-۲- قشر بینایی..... ۳۵
- ۲-۱۲-۳- آمیگدال..... ۳۶
- ۲-۱۲-۴- قشر حسی پیکری..... ۳۶
- ۲-۱۲-۵- سابیکولوم..... ۳۷
- ۲-۱۲-۶- قشر پره فرونتال..... ۳۷
- ۲-۱۳- نقش برخی گیرنده ها و واسطه های کلیدی در LTP و یادگیری..... ۳۸
- ۲-۱۳-۱- گیرنده ی NMDA..... ۳۸
- ۲-۱۳-۲- گیرنده متابوتروپیک گلوتامات..... ۳۹
- ۲-۱۳-۳- گیرنده های AMPA..... ۳۹
- ۲-۱۳-۴- آنزیم CaMKII..... ۴۰
- ۲-۱۳-۵- آنزیم ERK..... ۴۱
- ۲-۱۳-۶- فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز BDNF..... ۴۱
- ۲-۱۴- اثر برخی مواد و هورمونها بر LTP و یادگیری..... ۴۲
- ۲-۱۴-۱- لپتین..... ۴۲
- ۲-۱۴-۲- هورمونهای جنسی زنانه..... ۴۳
- ۲-۱۴-۳- ملاتونین..... ۴۴
- ۲-۱۴-۴- الکل..... ۴۴

۴۵۵-۱۴-۲- وازوپرسین
۴۶۶-۱۴-۲- کورتیکواستروئیدها
۴۸ فصل سوم
۴۸ مواد و روش ها
۴۹۱-۳- نوع مطالعه در این پژوهش
۴۹۲-۳- جامعه آماری و نمونه مورد مطالعه
۴۹۳-۳- مکان و زمان انجام مطالعه
۴۹۴-۳- معیار ورود
۴۹۵-۳- معیار خروج
۴۹۶-۳- روش گردآوری اطلاعات
۵۱۷-۳- گروه بندی
۵۱۸-۳- مطالعات الکتروفیزیولوژی
۵۴۹-۳- مطالعات رفتاری
۵۴۱-۳-۹- آزمون حافظه و یادگیری اجتنابی غیرفعال(شاتل باکس)
۵۵۲-۳-۹- آزمون ماز Y شکل
۵۶۳-۳-۹- آزمون MWM
۵۷۴-۳-۹- Reversal learning test
۵۷۵-۳-۹- بافت شناسی
۵۷۱۰-۳- روش تجزیه تحلیل داده‌ها و بررسی آماری
۵۷۱۱-۳- ملاحظات اخلاقی
۵۸ فصل چهارم
۵۸ نتایج
۵۹۱-۴- نتایج مربوط به مطالعات الکتروفیزیولوژی
۵۹۱-۴-۱- نتایج مربوط به ثبت Input-output
۶۱۲-۴-۱- نتایج مربوط به Paired pulse
۶۳۳-۴-۱- نتایج مربوط به LTD و LTP در سیناپس‌ها
۶۵۴-۴-۱- نتایج مربوط به LTD
۶۷۲-۴-۲- نتایج مربوط به پاسخ‌های پیچیده
۶۷۱-۴-۲- TBS EPSP
۷۲۲-۴-۲- نتایج مربوط به پاسخ نرونی به فرکانس‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ هرتز
۷۹۳-۴-۲- نتایج مربوط به مطالعات رفتاری

۷۹MWM	نتایج مربوط به آزمون	۴-۳-۱
۸۲Revesed MWM	نتایج مربوط به آزمون	۴-۳-۲
۸۴Passive Avoidance Test	نتایج مربوط به آزمون	۴-۳-۳
۸۶Y-maze	نتایج مربوط به آزمون	۴-۳-۴
۸۸	نتایج مربوط به وزن	۴-۴
۹۰	فصل پنجم	
۹۰	بحث	
۹۱	بحث	۵-۱
۹۸	محدودیت‌های مطالعه	۵-۲
۹۹	نتیجه‌گیری	۵-۳
۱۰۰	پیشنهادات	۵-۴
۱۰۱	منابع	
۱۲۴	ضمایم	

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۲-۱: ساختار و زیرواحدهای گیرنده گابا A (۳۸).....	۱۴
شکل ۲-۲: طبقه بندی انواع حافظه (۴۴).....	۱۹
شکل ۲-۳: هیپوکمپ و ارتباطات آن (۵۳).....	۲۵
شکل ۲-۴: مکانیسم LTP (۶۵).....	۳۲
شکل ۳-۱: پروسه آزمایش.....	۵۰
شکل ۳-۲: نواحی تحریک و ثبت (راست) تثبیت حیوان در دستگاه استریوتاکس (چپ).....	۵۳
شکل ۳-۳: نمودار شماتیک بخش نزولی پاسخ نرونی جهت آنالیز شیب fEPSP.....	۵۳
شکل ۳-۴: آزمون شاتل باکس.....	۵۴
شکل ۳-۵: آزمون Y_MAZE.....	۵۵
شکل ۳-۶: آزمون MWM.....	۵۶
شکل ۴-۱: نمودار I-O شیب FEPS در نورون های CA1 هیپوکامپ.....	۵۹
شکل ۴-۲: نمودار I-O شیب FEPS در نورون های CA1 هیپوکامپ.....	۶۰
شکل ۴-۳: نمودار مربوط به نتایج مطالعه الکتروفیزیولوژی زوج تحریک.....	۶۱
شکل ۴-۴: نمودار مربوط به نتایج مطالعه الکتروفیزیولوژی زوج تحریک.....	۶۲
شکل ۴-۵: نمودارهای مربوط به Bicucullin بر روی شیب fEPSP بعد از TBS.....	۶۳
شکل ۴-۶: نمودارهای بالا نشان دهنده ی اثر Muscimul بر روی شیب fEPSP بعد از اعمال TBS.....	۶۴
شکل ۴-۷: نمودارهای بالا نشان دهنده اثر Bicuculline بر روی شیب fEPSP بعد از اعمال PPF-LFS.....	۶۵
شکل ۴-۸: نمودارهای بالا نشان دهنده اثر Muscimul بر روی شیب fEPSP بعد از اعمال PPF-LFS.....	۶۶
شکل ۴-۹: نتایج مربوط به شیب fEPSP ثبت شده در نمودار TBS.....	۶۸
شکل ۴-۱۰: نتایج مربوط به مساحت زیر نمودار برای ۱۰ قطار تحریک.....	۶۹
شکل ۴-۱۱: نتایج مربوط به شیب fEPSP ثبت شده در نمودار TBS.....	۷۰
شکل ۴-۱۲: نتایج مربوط به مساحت زیر نمودار برای ۱۰ قطار تحریک.....	۷۱
شکل ۴-۱۳: نمودار مربوط به FF در نورون های CA1 هیپوکامپ.....	۷۳
شکل ۴-۱۴: نمودار مربوط به FF در نورون های CA1 هیپوکامپ.....	۷۴
شکل ۴-۱۵: نمودار مربوط به FF در نورون های CA1 هیپوکامپ.....	۷۵
شکل ۴-۱۶: نمودار مربوط به FF در نورون های CA1 هیپوکامپ.....	۷۶
شکل ۴-۱۷: نمودار مربوط به FF در نورون های CA1 هیپوکامپ.....	۷۷
شکل ۴-۱۸: نمودار مربوط به FF در نورون های CA1 هیپوکامپ.....	۷۸
شکل ۴-۱۹: شکل مربوط به مطالعه رفتاری MWM.....	۸۰

- شکل ۴-۲۰: شکل مربوط به مطالعه رفتاری MWM ۸۱
- شکل ۴-۲۱: شکل مربوط به مطالعه رفتاری R-MWM ۸۲
- شکل ۴-۲۲: شکل مربوط به مطالعه رفتاری R-MWM ۸۳
- شکل ۴-۲۳: شکل مربوط به مطالعه رفتاری شاتل باکس ۸۴
- شکل ۴-۲۴: شکل مربوط به مطالعه رفتاری شاتل باکس ۸۵
- شکل ۴-۲۵: شکل مربوط به مطالعه رفتاری Y-maze ۸۶
- شکل ۴-۲۶: شکل مربوط به مطالعه رفتاری Y-maze ۸۷
- شکل ۴-۲۷: شکل مربوط به وزن گیری در حیوانات تحت درمان با بیکوکولین و DMSO ۸۸
- شکل ۴-۲۸: شکل مربوط به وزن گیری در حیوانات تحت درمان با موسیمول و DMSO ۸۹

AMPA: α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid

cAMP: Cyclic Adenosine Monophosphate

CNT: Control

CNS: Central nervous system

CaMK II: Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein Kinase II

CREB: cAMP Response Element Binding

Cdks: Cyclin-dependent Kinase

DG: Dentate Gyrus

DMSO: Dimethyl Sulfoxide

EPSP: Excitatory PostSynaptic Potential

fEPSP: Field-Excitatory PostSynaptic Potential

EEG: Electroencephalogram

EC: Entorhinal Cortex

HFS: High Frequency Stimulation

HF: Hippocampal Formation

LTD: Long Term Depression

LTP: Long Term Potentiation

NMDA: N-Methyl D-Aspartate

NMDAR: N_Methyl_D_Aspartate Receptor

PKM ζ : Protein Kinase M-zeta

PPF: Paired-Pulse Facilitation

PKA: Protein Kinase A

PKC: Protein Kinase C

SC: Subcutaneous

TrKA: Tyrosine Kinase A

بررسی اثرات تحریک و انسداد گیرنده‌ی گابا^۱ A در دوران اولیه زندگی بر شکل‌پذیری^۲ سیناپسی نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ^۳ و حافظه و یادگیری^۴ در موش‌های صحرایی بالغ نر.

چکیده

زمینه: مرحله‌ی نوزادی یک مرحله‌ی مهم در رشد و تکامل نورونی می‌باشد که قرارگیری در معرض عوامل شیمیایی مضر در اوایل زندگی تاثیرات سوئی در رفتار خواهد گذاشت. رسپتورهای گاما آمینوبوتیریک اسید نقش مهمی در شکل‌پذیری سیناپسی، رشد آکسونی، بلوغ دندریت‌ها و تشکیل شبکه‌های عصبی، بقا و تمایز و مهاجرت نورونی و ایجاد ارتباطات سیناپسی در اوایل زندگی دارد. گابا بزرگترین، مهمترین و اولین نوروترانسمیتر مهاری در سیستم عصبی مرکزی پستانداران می‌باشد. در انسان درصد بالایی از مسیرهای عصبی را سیستم گابائریژیک تشکیل می‌دهند. همانطور که می‌دانیم هیپوکامپ جایگاه اصلی یادگیری و حافظه فضایی^۵ می‌باشد. هیپوکامپ نقش مرکزی در دریافت و پردازش حافظه در سه مرحله: کسب، تثبیت و فراخوانی دارد. پردازش عصبی حافظه نیازمند تغییرات شیمیایی در سطح سیناپسی می‌باشد که می‌تواند بصورت تجربی بوسیله القای تقویت طولانی مدت (LTP)^۶ تولید شود.

هدف: با توجه به اثرات و نقش گابا در اوایل زندگی بر رشد و توسعه‌ی نورونی و با توجه به اینکه مهار گیرنده‌های گابا A در دوران بلوغ سبب بروز اضطراب و افسردگی در حیوانات می‌شود و ارتباط مستقیم بین اضطراب و افسردگی و مکانیسم‌های حافظه و یادگیری، سعی بر این شده که در این مطالعه، اثرات استفاده از آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های GABAA در دوران اولیه‌ی زندگی بر شکل‌پذیری سیناپسی نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ و حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی بالغ نر بررسی شود.

¹ Gamma aminobutyric acid receptor

² Synaptic plasticity

³ Hippocampus

⁴ Learning and memory

⁵ Spatial memory

⁶ Long term potentiation

مواد و روش‌ها: رت‌های نژاد ویستار بطور تصادفی به ۳ گروه ۲۰ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل و گروه آگونیست^۷ و آنتاگونیست^۸ گابا در جنس نر. نوزادان بعد از تولد در روزهای ۹، ۱۱، ۷ تحت درمان با بیکوکولین^۹ (۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و موسیمول^{۱۰} (۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و DMSO^{۱۱} و سالین^{۱۲} ۲۱ روز پس از تولد از شیر گرفته و پس از رسیدن به سن بلوغ یعنی ۶۰-۷۰ روزگی جهت انجام مطالعات الکتروفیزیولوژی و تست‌های رفتاری مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج: یافته‌های الکتروفیزیولوژی هیپوکامپ و قشر پیشانی نشان می‌دهد که انسداد و تحریک گیرنده ی گابا بعد از تولد توسط بیکوکولین و موسیمول، به طور موثری اختلال در حافظه فضایی و کاری^{۱۳} و شکل پذیری سیناپسی کوتاه مدت و بلند مدت نورونهای CA1 هیپوکامپ و رمزگذاری مربوط به حافظه فضایی در بزرگسالی را بدتر می‌کند.

نتیجه گیری: این مطالعه بینش الکتروفیزیولوژی را در مورد تأثیر تحریک و انسداد گیرنده ی GABAA در مراحل اولیه زندگی بر شکل پذیری سیناپسی نورونهای CA1 هیپوکامپ در بزرگسالان ارائه می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: دوران تولد^{۱۴}، شکل‌پذیری سیناپسی^{۱۵}، یادگیری و حافظه و گیرنده گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA)

⁷ Agonist

⁸ Antagonist

⁹ Bicucullin

¹⁰ Muscimul

¹¹ Dimethyl sulfoxide

¹² Saline

¹³ Working memory

¹⁴ Postnatal

¹⁵ Synaptic plasticity