



دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده داروسازی

پایان نامه برای دریافت درجه‌ی دکترای داروسازی

عنوان

بررسی اثر تری انتین بر اختلال شناختی ناشی از آلومینیوم کلرید در موش های صحرائی

استاتید راهنما

دکتر سارا مصطفی‌لو

دکتر محمد امانی

استاد مشاور

دکتر پرهام محمدی

نگارش

روح‌الله موسوی‌نسب

شماره‌ی پایان‌نامه: د-۲۰۶

اسفند ۱۴۰۲

این پایان نامه را ضمن تشکر و سپاس بیکران و در کمال افتخار و امتنان تقدیم می نمایم به محضر ارزشمند پدر و مادر عزیزم به خاطر همه ی تلاش های محبت آمیزی که در دوران مختلف زندگی ام انجام داده اند و با مهربانی چگونه زیستن را به من آموخته اند.

از استادان گرامیم سرکار خانم دکتر سارا مصطفی‌لو و جناب آقای دکتر محمد امانی بسیار سپاسگزارم چراکه بدون راهنمایی‌های ایشان تامین این پایان‌نامه بسیار مشکل می‌نمود. از یاری‌ها و راهنمایی‌های بی‌چشم‌داشت ایشان که بسیاری از سختی‌ها را برایم آسان نمودند کمال تقدیر و تشکر را دارم.

چکیده:

مقدمه: بیماری‌های با منشا اختلال عملکرد عصبی رو به افزایش بوده و مطالعه‌ی اتیولوژی و روش‌های درمانی جدید در حال انجام هستند. تری انتین یک شلات کننده‌ی فلز مس بوده که اثرات مفید آن در بسیاری از بیماری‌های مزمن انسانی همچون کاردیومیوپاتی و نوروپاتی دیابتی مشاهده شده است. در این مطالعه اثر تری انتین بر اختلال شناخت ناشی از آلومینیوم کلرید در موش‌های صحرایی نر ویستار با محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ الی ۲۵۰ گرم مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار: مطالعه‌ی مذکور بر روی ۳۶ موش صحرایی در چهار گروه مشتمل بر گروه کنترل (دریافت کننده‌ی آب مقطر)، گروه آلومینیوم کلرید (دریافت کننده‌ی آلومینیوم کلرید با دوز 100 mg/kg/day)، گروه تری انتین (دریافت کننده‌ی تری انتین با دوز 100 mg/kg/day) و گروه درمان (دریافت کننده‌ی آلومینیوم کلرید با دوز 100 mg/kg/day و تری انتین با دوز 100 mg/kg/day) انجام شد. مواد شیمیایی مذکور به مدت پنج هفته برای موش‌های صحرایی گاوژ شدند و سپس تست‌های رفتاری Open field maze، Elevated plus maze، Novel object recognition memory و Shuttle box برای هر گروه از موش‌ها انجام شدند. پس از انجام تست‌های رفتاری، تست‌های بیوشیمیایی مشتمل بر brain derived neurotrophic factor (BDNF) β 3 (GSK-3) glycogen synthase kinase، فعالیت کولین استراز و مارکرهای استرس اکسیداتیو و واسطه‌های التهابی بر روی بافت هیپوکمپ انجام شدند.

نتایج: آلومینیوم کلرید رفتارهای شبه اضطرابی را در موش‌های صحرایی افزایش داد و باعث اختلال در عملکرد شناختی و حافظه‌ی کوتاه مدت آن‌ها شد. تری انتین رفتارهای اضطرابی و اختلال حافظه‌ی ناشی از آلومینیوم کلرید را در موش‌ها کاهش داد. در گروه آلومینیوم افزایش قابل توجهی در میزان GSK-3 β ، بیان ژن‌های مارکرهای استرس اکسیداتیو و مارکرهای پیش التهابی و پیش آپوپتوتیک و همچنین کاهش در میزان BDNF هیپوکمپ مشاهده شد. همچنین مشاهده شد که در گروه درمان در مقایسه با گروه آلومینیوم، تجویز تری انتین باعث کاهش میزان بیان ژن‌های مربوط به مارکرهای پراکسیداسیون لیپیدی و التهابی، GSK-3 β ، فعالیت کولین استراز و افزایش میزان BDNF در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی شد.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به مطالب فوق می‌توان نتیجه گرفت که تری انتین می‌تواند یادگیری و حافظه را از طریق محافظت بدن در مقابل تغییرات مارکرهای استرس اکسیداتیو، التهاب و مسیرهای پیش آپوپتوتیک بهبود بخشد که منجر به بازگشت BDNF و GSK-3 β به سطوح نرمال می‌شود.

کلیدواژه: آلومینیوم، تری انتین، تترامین، آلازیم، التهاب، شناخت، استرس اکسیداتیو

فهرست مطالب

فصل اول.....	۱
مقدمه.....	۱
۱-۱. بیان مساله.....	۲
۱-۱-۱. اختلال شناخت.....	۲
۱-۱-۲. تعریف اختلال شناخت.....	۲
۱-۱-۳. ریسک فاکتورهای اختلال شناخت.....	۳
۱-۱-۴. یادگیری.....	۴
۱-۱-۵. انواع یادگیری.....	۵
۱-۱-۵-۱. یادگیری ارتباطی یا همخوان (Association).....	۵
۱-۱-۵-۲. یادگیری غیر ارتباطی یا ناهمخوان (non association).....	۵
۱-۱-۵-۳. عادت کردن (Habituation).....	۶
۱-۱-۵-۴. حساس شدن (Sensitization).....	۶
۱-۱-۶. حافظه.....	۷
۱-۱-۷. تعریف استرس اکسیداتیو.....	۱۰
۱-۱-۸. فلزات سنگین.....	۱۰
۱-۱-۹. تری انتین.....	۱۲
۱-۱-۱۰. مالون دی آلدهید (MDA).....	۱۵
۱-۱-۱۱. استیل کولین استراز.....	۱۶
۱-۱-۱۲. فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF).....	۱۷
۱-۱-۱۳. پروتئین همولوگ C/EBP (CHOP).....	۱۸

۱۸ ترکیبات کربونیل.....
۱۹ ۱۵-۱-۱. سایتوکاین های پیش التهابی.....
۱۹ ۱۶-۱-۱. فاکتور هسته ای kB (NF-kB).....
۲۰ ۱۷-۱-۱. گلیکوژن سنتاز کیناز-۳ (GSK-3).....
۲۰ ۲-۱. اهمیت موضوع.....
۲۰ ۱-۲-۱. مسمومیت با آلومینیوم.....
۲۴ ۲-۲-۱. اپیدمیولوژی.....
۲۴ ۱-۲-۲-۱. آب آشامیدنی.....
۲۴ ۲-۲-۲-۱. مواجهات شغلی.....
۲۵ ۳-۲-۲-۱. محصولات حاوی آلومینیوم.....
۲۶ ۴-۲-۲-۱. سایر منابع.....
۲۷ ۳-۱. سابقه ای انجام طرح و بررسی متون.....
۲۷ ۱-۳-۱. سابقه ای مطالعه ای بیماری.....
۲۹ ۲-۳-۱. مطالعات اخیر.....
۳۰ ۴-۱. اهداف و فرضیات.....
۳۰ ۱-۴-۱. هدف کلی.....
۳۰ ۲-۴-۱. اهداف اختصاصی.....
۳۰ ۳-۴-۱. اهداف کاربردی.....
۳۰ ۴-۴-۱. فرضیات.....
۳۲ فصل دوم.....
۳۲ مواد و روش کار.....

- ۳۲ ۱-۲. نوع پژوهش و جمعیت مورد مطالعه.
- ۳۲ ۲-۲. مواد و محلول‌های مورد استفاده.
- ۳۳ ۳-۲. ابزار و دستگاه‌های مورد استفاده.
- ۳۳ ۴-۲. روش تهیه‌ی مواد.
- ۳۳ ۱-۴-۲. آماده‌سازی محلول‌های مورد نیاز.
- ۳۳ ۱-۱-۴-۲. روش تهیه‌ی محلول تری انتین.
- ۳۳ ۲-۱-۴-۲. روش تهیه‌ی محلول آلومینیوم کلراید.
- ۳۴ ۵-۲. حیوانات مطالعه.
- ۳۴ ۶-۲. طرح مطالعه.
- ۳۵ ۷-۲. تست‌های رفتاری.
- ۳۵ ۱-۷-۲. Open field آزمون.
- ۳۷ ۲-۷-۲. آزمون ماز بعلاوه شکل مرتفع (EPM).
- ۳۷ ۳-۷-۲. آزمون تشخیص شی جدید (Novel Object).
- ۳۹ ۴-۷-۲. Shuttle Box آزمون.
- ۳۹ ۱-۴-۷-۲. روش یادگیری اجتنابی غیر فعال.
- ۴۰ ۸-۲. نحوه‌ی نمونه برداری از موش‌های صحرایی.
- ۴۱ ۹-۲. ارزیابی مارکرهای استرس اکسیداتیو در هیپوکمپ.
- ۴۱ ۱۰-۲. ارزیابی بیان ژن نسبی ژن‌های پیش التهابی و پیش آپوپتوتیک با روش Real-time PCR.
- ۴۲ ۱۱-۲. بررسی سطح ACE، BDNF، TBARS، Carbonyl و GSK-3b به وسیله ELISA.
- ۴۲ ۱-۱۱-۲. ارزیابی فعالیت کولین استراز در بافت سرم و هیپوکمپ.
- ۴۳ ۲-۱۱-۲. ارزیابی فعالیت GSK-3 β در بافت هیپوکمپ.

۳-۱۱-۲. ارزیابی سطح BDNF در بافت هیپوکمپ.....	۴۳
۱۲-۲. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری.....	۴۳
فصل سوم.....	۴۵
نتایج.....	۴۵
۱-۳. نتایج آزمون‌های رفتاری.....	۴۵
۱-۱-۳. نتایج اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر پارامترهای رفتاری موش‌های صحرایی در تست Open field.....	۴۶
۱-۱-۱-۳. نمودار مدت زمان ایستادن بر روی دو پا (Rearing) در تست رفتاری Open field در گروه های مورد بررسی.....	۴۷
۲-۱-۱-۳. نمودار مدت زمان حضور در ناحیه‌ی مرکزی (TCZ) در تست رفتاری Open field در گروه‌های مورد بررسی.....	۴۷
۳-۱-۱-۳. نمودار ورود به ناحیه‌ی مرکزی (ECZ) در تست رفتاری Open field در گروه‌های مورد بررسی.....	۴۷
۴-۱-۱-۳. نمودار مدت زمان آراستن (Grooming) در تست رفتاری Open field در گروه‌های مورد بررسی.....	۴۸
۲-۱-۳. نتایج اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر پارامترهای رفتاری موش‌های صحرایی در تست Elevated plus maze.....	۴۹
۱-۲-۱-۳. نمودار مدت زمان حضور در بازوی باز (TOA) در تست رفتاری EPM براساس گروه‌های مورد بررسی.....	۵۰
۲-۲-۱-۳. نمودار مدت زمان حضور در بازوی بسته (TCA) در تست رفتاری EPM بر اساس گروه‌های مورد بررسی.....	۵۰
۳-۲-۱-۳. نمودار ورود به بازوی باز (EOA) در تست رفتاری EPM بر اساس گروه‌های مورد بررسی ...	۵۰

۴-۲-۱-۳. نمودار ورود به بازوی بسته (ECA) در تست رفتاری EPM بر اساس گروه‌های مورد بررسی	۵۱
۳-۱-۳. نتایج اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر پارامترهای رفتاری موش‌های صحرائی	
در تست Novel object recognition memory.....	۵۱
۴-۱-۳. نتایج اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر پارامترهای رفتاری موش‌های صحرائی	
در تست Shuttle Box.....	۵۲
۲-۳. نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی.....	۵۳
۱-۲-۳. نتایج اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر استرس اکسیداتیو در بافت هیپوکمپ	
موش‌های صحرائی.....	۵۳
۲-۲-۳. نتایج اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر پاسخ التهابی در بافت هیپوکمپ	
موش‌های صحرائی.....	۵۴
۱-۲-۲-۳. بررسی میزان بیان ژن $TNF\alpha$	۵۵
۲-۲-۲-۳. بررسی میزان بیان ژن $IL-1\beta$	۵۵
۳-۲-۲-۳. بررسی میزان بیان ژن $NF-K\beta$	۵۵
۴-۲-۲-۳. بررسی میزان بیان ژن CHOP.....	۵۵
۳-۲-۳. نتایج اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر فعالیت کولین استراز در بافت	
هیپوکمپ و سرم موش‌های صحرائی.....	۵۶
۴-۲-۳. نتایج اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر $GSK-3b$ و BDNF در بافت هیپوکمپ	
موش‌های صحرائی.....	۵۷
فصل چهارم.....	۵۹
بحث و نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادات.....	۵۹
۱-۴. بحث.....	۶۰

۶۶.....نتیجه گیری.....۲-۴

۶۷.....پیشنهادات.....۳-۴

۶۸.....فهرست منابع:

فهرست اختصارات

TETA..... Triethylenetetramine

AlCl₃..... Aluminium chloride

OFM..... Open-field maze

EPM..... Elevated plus maze

NORM..... Novel object recognition memory

TBARS..... Thiobarbituric acid reactive substances

MDA..... Malondialdehyde

NF-kB..... Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer

IL-1β..... Interleukin-1 beta

TNF-α..... Tumor Necrosis Factor Alpha

ACE..... Acetylcholinesterase

GSK-3β..... Glycogen synthase kinase-3β

BDNF..... Brain-derived neurotrophic factor

CHOP..... C/EBP homologous protein

فهرست جداول

جدول ۲-۱. فهرست مواد مورد استفاده در مطالعه..... ۳۳

جدول ۲-۲. فهرست ابزار مورد استفاده در مطالعه..... ۳۳

فهرست نمودارها و تصاویر

تصویر ۱-۱. انواع یادگیری..... ۷

تصویر ۱-۲. طبقه بندی انوع حافظه..... ۹

تصویر ۲-۱. آزمون Open field..... ۳۶

تصویر ۲-۲. نحوه انجام آزمون تشخیص شیمی جدید..... ۳۸

تصویر ۲-۳. دستگاه شاتل باکس..... ۳۹

نمودار ۳-۱. اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر پارامترهای رفتاری موشهای صحرایی در

تست..... Open field..... ۴۶

نمودار ۳-۲. اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر پارامترهای رفتاری موشهای صحرایی در

تست..... Elevated plus maze..... ۴۹

نمودار ۳-۳. اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر پارامترهای رفتاری موش‌های صحرایی در

تست Novel object recognition

.....memory ۵۱

نمودار ۳-۴. اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر پارامترهای رفتاری موش‌های صحرایی در

تست Shuttle box..... ۵۲

نمودار ۳-۵. اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر استرس اکسیداتیو در بافت هیپوکمپ

موش‌های صحرایی.....

.....صحرایی ۵۳

نمودار ۳-۶. اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر بیان نسبی فاکتورهای پیش التهابی و پیش

آپوپتوتیک در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی..... ۵۴

نمودار ۳-۷. اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر فعالیت آنزیم کولین استراز در بافت هیپوکمپ

و سرم موش‌های صحرایی..... ۵۶

نمودار ۳-۸. اثرات TETA و $AlCl_3$ به تنهایی و در کنار یکدیگر بر GSK-3b و BDNF در بافت هیپوکمپ

موش‌های صحرایی..... ۵۷