



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجهٔ دکترای حرفه ای رشته پزشکی

عنوان:

بررسی اثر کوئرستین بر حافظه احترازی غیر فعال در مدل شبه آلزایمری موشهای صحرائی

تحت استرس (نقش فاکتورهای التهابی و استرس اکسیداتیو بر بیان ژنهای مرتبط با آلزایمر)

نگارش:

مهدی اکبری

اساتید راهنما:

دکتر معصومه دادخواه

دکتر الهام صفرزاده

استاد مشاور:

دکتر حکیمه سعادتی

اسفند ماه ۱۴۰۲

شماره پایان نامه:

۰۱۱۴۷

سپاس و شکر خدا را که بندها بگشاد

تقدیم به مادر مهربانم که زندگی را مدیون مهر و فداکاری آن می دانم
و پدرم که همواره در سایه سارحمایتش جرأت چشم دوختن به افق های دور را یافته ام
و خواهر عزیزم که لبخند را به دنیایم هدیه میکند.

با سپاس و تقدیر ویژه از استاد گرانقدر سرکار خانم دکتر معصومه دادخواه که در مراحل مختلف این پژوهش راهنمایی های ارزنده و سازنده خود را بر من ارزانی داشته و از هیچ کوششی در این زمینه دریغ ننمودند.

و نیز از سرکار خانم دکتر صفرزاده و خانم دکتر سعادت‌ی که با مشاوره و نظارت دقیق بر پژوهش مرا یاری نمودند، تشکر ویژه دارم.

فهرست مطالب

چکیده ۱

فصل اول: مقدمه

۱-۱ اهمیت موضوع و انگیزه تحقیق ۴

۱-۲ اهداف و فرضیات طرح ۱۰

۱-۲-۱ هدف کلی طرح ۱۰

۱-۲-۲ اهداف اختصاصی طرح ۱۰

۳-۲-۱ فرضیات ۱۱

۱-۳ تعریف واژه های اختصاصی ۱۳

فصل دوم: بررسی متون

۲-۱ پاتوژنز آلزایمر و اثر کوئرستین بر آن ۱۷

۲-۲ نقش استرس مزمن و التهاب در پاتوژنز آلزایمر ۲۰

۳-۲ نقش استرس اکسیداتیو در پاتوژنز آلزایمر ۲۴

فصل سوم: مواد و روش تحقیق

۳-۱ نوع مطالعه در این پژوهش ۲۷

۳-۲ مکان و زمان انجام مطالعه ۲۷

۲۷	۳-۳ معیار ورود
۲۷	۳-۴ معیار خروج
۲۸	۳-۵ شرایط تهیه و نگهداری حیوانات
۲۸	۳-۶ گروه بندی
۳۰	۳-۷ القای استرس مزمن
۳۱	۳-۸ خونگیری
۳۲	۳-۹ پروتکل پیش درمانی با کوئرتستین
۳۲	۳-۱۰ ایجاد مدل شبه آلازیمری در گروه های مربوطه
۳۳	۳-۱۱ انجام تست های رفتاری
۳۳	۳-۱۱-۱ آزمون بررسی حافظه احترازی غیرفعال
۳۵	۳-۱۲ آزمایش Real Time PCR
۳۶	۳-۱۲-۱ استخراج RNA
۳۷	۳-۱۲-۲ تعیین غلظت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری نانودراپ
۳۸	۳-۱۲-۳ سنتز cDNA از RNA استخراج شده
۳۸	۳-۱۲-۴ پروتکل واکنش PCR
۴۰	۳-۱۳ آزمایش الایزا
۴۰	۳-۱۴ یوتانازی حیوانات

۴۱ ۱۵-۳ روش گردآوری اطلاعات
۴۱ ۱۶-۳ مواد مورد استفاده در این تحقیق
۴۳ ۱۶-۳ ملاحظات اخلاقی
۴۳ ۱۷-۳ جدول متغیر ها

فصل چهارم: نتایج

۴۶ ۴-۱ بررسی میزان کورتیکوسترون در گروه های غیراسترس و گروه های استرس دیده
۴۷ ۴-۲ اثر کوئرستین و اسکوپولامین بر بیومارکر های استرس اکسیداتیو در قشر پره فرونتال و هیپوکامپ
۴۷ ۴-۲-۱ گروه های غیراسترس
۵۰ ۴-۲-۲ گروه های استرس
۵۳ ۴-۴ نتایج تست رفتاری حافظه احترازی غیر فعال
۵۳ ۴-۴-۱ گروه های غیر استرس
۵۴ ۴-۴-۲ گروه های استرس
۵۶ ۴-۴-۵ نتایج میزان بیان پروتئین IL-6 در کورتکس پره فرونتال و هیپوکامپ
۵۶ ۴-۴-۱ گروه های غیراسترس
۵۷ ۴-۴-۲ گروه های استرس
۵۹ ۴-۴-۶ نتایج میزان بیان پروتئین TNF- α در کورتکس پره فرونتال و هیپوکامپ

۵۹	۱-۶-۴ گروه های غیر استرس
۶۰	۲-۶-۴ گروه های استرس
۶۲	۷-۴ میزان بیان ژن های APP و APLP2
۶۲	۱-۷-۴ گروه های غیراسترس
۶۴	۲-۷-۴ گروه های استرس

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

۷۶	۵-۵ محدودیت های مطالعه
۷۷	۵-۶ نتیجه گیری
۷۸	۷-۵ پیشنهادات:
۷۹	۸-۵ ترجمان دانش
۸۰	منابع

فهرست جداول، اشکال و نمودار ها

۷	شکل ۱-۱
۱۴	شکل ۱-۲
۳۱	شکل ۳-۱

۳۲.....	شکل ۳-۲
۳۶.....	شکل ۳-۳
۳۷.....	شکل ۳-۴
۴۰.....	شکل ۳-۵
۴۰.....	شکل ۳-۶
۴۲.....	شکل ۳-۷
۳۹.....	جدول ۳-۱
۴۲.....	جدول ۳-۲
۴۴.....	جدول ۳-۳
۴۷.....	نمودار ۴-۱
۵۰.....	نمودار ۴-۲
۵۳.....	نمودار ۴-۳
۵۵.....	نمودار ۴-۴
۵۶.....	نمودار ۴-۵
۵۸.....	نمودار ۴-۶
۵۹.....	نمودار ۴-۷
۶۱.....	نمودار ۴-۸
۶۲.....	نمودار ۴-۹
۶۴.....	نمودار ۴-۱۰
۶۵.....	نمودار ۴-۱۱

۶۶..... نمودار ۴-۱۲

۶۷ نمودار ۴-۱۳

اختصارات:

APLP2: Amyloid precursor- like protein 2

APP: Amyloid precursor protein

HPA: Hypothalamic–pituitary–adrenal axis

IL-6: Interleukin 6

PFC: Prefrontal cortex

QU: Quercetin

ROS: Reactive oxygen species

SCO: Scopolamine

ST: Stress

STL: Step through latency

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

VEH: Vehicle

بررسی اثر کوئرتستین بر حافظه احترازی غیر فعال، در مدل شبه آلزایمری موشهای صحرايي
تحت استرس (نقش فاکتورهای التهابی و اکسیداتیو بر بیان ژنهای مرتبط با آلزایمر)

چکیده:

زمینه: آلزایمر یک بیماری عصبی پیشرونده بوده و یکی از عوامل اصلی زوال عقل در سراسر جهان به شمار می رود. از طرفی استرس مزمن به عنوان عامل محیطی از طریق افزایش سطوح گلوکوکورتیکوئیدها زمینه را برای بروز این بیماری فراهم می کند. در پی استرس مزمن تغییراتی را در ساختارهای مغزی به ویژه هیپوکامپ که نقش کلیدی در عملکردهای شناختی ایجاد می کند. از این رو رابطه احتمالی را میتوان بین استرس مزمن، زوال شناختی و بروز آلزایمر در نظر گرفت. در مطالعات اخیر نشان داده شده است که کوئرتستین در بهبود اختلال عملکرد شناختی ناشی از استرس مزمن و استرس اکسیداتیو، بهبود حافظه و شناخت در مدل حیوانی آلزایمر موثر بوده است. کوئرتستین به عنوان فلاونوئید موجود در سبزیجات و میوه ها دارای اثرات بیولوژیکی مختلفی شامل آنتی اکسیدان، ضد التهاب، محافظت از کبد میباشد. بعلاوه، کوئرتستین در افزایش فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و نیز کاهش سطح سرمی آنزیم مالون دی آلدئید نقش دارد. اخیراً داده های حاصل از مطالعات حیوانی و انسانی گزارش کرده اند که کوئرتستین در برابر اختلال عملکرد شناختی ناشی از استرس مزمن و استرس اکسیداتیو و بهبود کاهش عملکرد شناختی در آلزایمر مؤثر است. اگرچه مطالعات زیادی برای درک اثر کوئرتستین بر یادگیری و حافظه صورت گرفته با این حال رویکردهای درمانی فعلی اثرات کوئرتستین را بر اختلالات شناختی ناشی از استرس و ژنهای دخیل در پاتوژنز آلزایمر مورد بررسی قرار نگرفته است.

هدف: پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات کوئرستین بر اختلال عملکرد شناختی، تغییرات فاکتورهای استرس اکسیداتیو، فاکتور های التهابی و بیان ژن های دخیل در پاتوژنز آلزایمر در مدل حیوانی شبه آلزایمری استرس دیده است.

مواد و روش ها: ۵۶ سر رت نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۲۰ الی ۲۵۰ گرم در دو دسته غیر استرسی و استرس دیده مورد مطالعه قرار گرفتند. برای القای استرس مزمن رت ها از روز ۱ تا ۱۰ روزانه به مدت دو ساعت داخل رستریئر قرار گرفتند. رت ها به مدت ۳۰ روز متوالی و قبل از القای استرس با کوئرستین (۲۵ mg/kg در روز) بصورت گاوژ دهانی و اسکوپولامین (۱ mg/kg) به صورت داخل صفاقی از روزهای ۲۱ تا ۳۰ برای القای مدل شبه آلزایمری تیمار شدند. پس از انجام آزمایش حافظه احترازی غیر فعال، رت ها با استفاده از کپسول دی اکسید کربن یوتانایز شده و هیپوکامپ و قشر پره فرونتال برای ارزیابی فاکتور های التهابی، استرس اکسیداتیو (با تکنیک الایزا) و بیان ژن های مرتبط با آلزایمر (با تکنیک Real Time PCR) جدا و در فریز منهای ۸۰ نگهداری شد. همچنین سرم جهت بررسی میزان تغییرات هورمون کورتیکوسترون جداسازی شد.

نتیجه: نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که پیش درمانی با کوئرستین اختلال شناختی ناشی از اسکوپولامین و استرس مزمن را بهبود بخشید. پیش درمانی با کوئرستین استرس اکسیداتیو را در مغز را مهار کرده و از ورود پروتئین APP به مسیر آمیلوئیدوژنیک که منجر به ساخت پلاک های آمیلوئید بتا و آلزایمر می شود جلوگیری می کند. کوئرستین التهاب عصبی ناشی از استرس مزمن و اسکوپولامین در نواحی حساس مغز از جمله هیپوکامپ را نیز به طور قابل توجهی کاهش داد.

واژه های کلیدی: کوئرستین، اسکوپولامین، استرس مزمن، استرس اکسیداتیو، حافظه احترازی غیرفعال،

مدل شبه آلزایمر