[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

Original Article JQUMS, Vol.22, No.5 2018, pp. 14-25

Effect of co-administration of donepezil and folic acid on spatial memory impairment in adult male rat model of Alzheimer's disease

A. Eskandary[1], AA. Moazedi[1]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

Corresponding Address: Azade Eskandary, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
Tel: +98-916-3608155. Email: azade.eskandary@gmail.com
Received: 11 Aug 2018; Accepted: 14 Oct 2018

Abstract

Background: Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder that is diagnosed with a lack of memory and perception.

Objective: The aim of this study was to evaluate the effect of donepezil and folic acid on reference and working memory disorders caused by electrical lesion of nucleus basalis magnocellularis (NBM).

Methods: In this experimental study, 49 adult male Wistar rats were divided into 7 groups: control and, nucleus basalis magnocellularis (NBM) lesion group. which received electrically-induced lesion (0.5 mA, 3 s) in NBM, sham group (the electrode was impaled in to the nucleus basalis magnocellularis with no lesion), donepezil group (lesion + donepezil 0.1 mg/kg), folic acid group (lesion + folic acid 5 mg), interaction group (lesion + donepezil-folic acid) and vehicle group (lesion + saline). Acquisition and retention tests were done by using an eight-radial arm maze task.

Findings: Results showed that there was a significant difference between control and lesion groups ($P<0.05$). Combination treatment with donepezil and folic acid improved the parameters of spatial memory errors in the acquisition and retention tasks comparing to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: The degradation of the nucleus basalis magnocellularis caused to increase reference and working memory errors. Also the co-administration of donepezil and folic acid leaded to a reduction in these errors and improved spatial memory of the rat.

Keywords: Alzheimer's disease, Nucleus basalis magnocellularis, Donepezil, Folic acid, Memory

Citation: Eskandary A, Moazedi AA. Effect of co-administration of donepezil and folic acid on spatial memory impairment in adult male rat model of Alzheimer's disease. J Qazvin Univ Med Sci 2018; 22(5): 14-25.

[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

اثر تجویز توأم دونپزیل و اسید فولیک بر اختلالات حافظه فضایی در موش صحرایی نر بالغ مدل بیماری آلزایمر

آزاده اسکندری[۱]، دکتر احمدعلی معاضدی[۱]

[۱] گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، تلفن ۰۹۱۶۳۶۰۸۱۵۵

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۲۲

✸چکیده

زمینه: بیماری آلزایمر یک بیماری تحلیل برنده عصبی است که با فقدان حافظه و ادراک مشخص می‌گردد.

هدف: مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر دونپزیل و اسید فولیک بر اختلالات حافظه مرجع و کارکردی ناشی از تخریب الکتریکی دوطرفه هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۹ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۷ گروه هفت‌تایی تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه تخریب هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس (تخریب دوطرفه هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس با القای جریان الکتریکی ۰/۵ میلی‌آمپر به‌مدت ۳ ثانیه)، گروه شاهد تخریب (ورود الکترود به هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس بدون القای جریان الکتریکی)، گروه تخریب تحت تیمار با دونپزیل (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه تخریب تحت تیمار با اسید فولیک (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه تداخل دونپزیل- اسید فولیک، گروه سالین (تخریب هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس+ سالین). در آزمون‌های اکتساب و یادآوری دستگاه ماز شعاعی هشت بازویی، الگوهای ورود به بازوها برای محاسبه خطای حافظه کارکردی، خطای حافظه مرجع و زمان سپری شده در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و تخریب از نظر خطای حافظه مرجع و کارکردی وجود داشت ($P<۰/۰۵$). تجویز توأم دونپزیل و اسید فولیک منجر به کاهش خطای حافظه مرجع، کارکردی و مدت زمان سپری شده در دستگاه ماز شعاعی هشت بازویی در مقایسه با گروه تخریب گردید ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: تخریب هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس موش‌ها موجب افزایش خطای حافظه مرجع و کارکردی شد. همچنین تجویز توأم دونپزیل و اسیدفولیک منجر به کاهش این خطاها و بهبود حافظه فضایی موش‌ها شد.

کلیدواژه‌ها: بیماری آلزایمر، هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس، دونپزیل، اسید فولیک، حافظه

✸مقدمه:

بیماری آلزایمر یکی از شایع‌ترین بیماری‌های دوران پیری است. این بیماری یک اختلال تحلیل رونده عصبی می‌باشد که با کمبود حافظه و ادراک تشخیص داده می‌شود و در برخی موارد با نشانه‌های روان‌پریشی مثل توهم و وهم همراه است.[۱] بیماری آلزایمر یک مسئله مهم سلامت عمومی در جهان است که یک‌بار مالی، اجتماعی و بهداشتی را بر جوامع تحمیل کرده است. حدود ۳۵ میلیون نفر در جهان از بیماری آلزایمر و دیگر انواع دمانس رنج می‌برند و انتظار می‌رود که تا سال ۲۰۳۰ به ۶۵ میلیون نفر برسد.[۲]

تحقیق‌های اپیدمیولوژیک نشان داده است که سن مهم‌ترین عامل خطر برای توسعه بیماری است. پس از ۶۵ سالگی، هر ۵ سال خطر ابتلا به بیماری تقریباً دو برابر می‌شود.[۳] عوامل مهم هیستوپاتولوژیک در پارانشیم مغز بیماران آلزایمری شامل پلاک‌های آمیلوئید خارج سلولی متشکل از پروتئین بتاآمیلوئید و وجود کلافه‌های

[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

نوروفیبریلاری داخل نورونی متشکل از پروتئین‌های هایپر فسفوریله تائو می‌باشند.[۴] علاوه بر این عوامل نوروپاتولوژیک، فرضیه‌های مختلفی از جمله استرس اکسیداتیو و فرضیه‌های کولینرژیک با توجه به آسیب‌شناسی بیماری توسعه یافته است.[۳و۵] استرس اکسیداتیو که به‌عنوان اختلال در تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و دفاع آنتی‌اکسیدانی تعریف شده است، می‌تواند نقش مهمی در چندین بیماری در سیستم عصبی داشته باشد. مطالعه‌های متعدد نشان داده است که آسیب القا شده توسط رادیکال‌های آزاد ممکن است یک پاتوژنز مهم در بیماری آلزایمر باشد.[۶]

نورون‌های کولینرژیک به‌طور ویژه‌ای در بیماری آلزایمر دچار آسیب می‌شوند.[۷] این نورون‌ها از قاعده مغز جلویی، ناحیه‌ای به نام هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس (Nucleus basalis of magnocellularis; NBM)، نشأت گرفته و مناطق مختلف قشر را عصب‌دهی می‌نمایند.[۸] فرضیه کولینرژیک بیماری آلزایمر بیان می‌نماید که سطح کاهش شناختی در بیماری آلزایمر به‌طور مستقیم با کاهش نورون‌های کولینرژیک در NBM در ارتباط است.[۹] در حمایت از این فرضیه، سطح آنزیم استیل‌کولین ترانسفراز به‌طور قابل توجهی در هیپوکامپ و قشر فرونتال کاهش یافت و تعداد نورون‌های کولینرژیک NBM به‌طور معنی‌داری در شرایط بیماری آلزایمر پایین‌تر بود.[۵]

در حال حاضر، مهارکننده‌های استیل‌کولین استراز مانند دونپزیل که از تخریب استیل‌کولین در شکاف سیناپسی ممانعت می‌نمایند، در بیماران آلزایمری استفاده می‌شوند. با این‌حال این داروها دارای اثربخشی قابل ملاحظه‌ای نمی‌باشند و تنها علایم نشانه‌ای بیماری را کاهش می‌دهند. همچنین استفاده از مقادیر بالای مهارکننده‌های استیل‌کولین استراز دارای اثرهای ثانویه محیطی می‌باشند.[۱۰] بنابراین، راهبردهای درمانی جدیدی برای بیماری آلزایمر مورد نیاز است. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند نقش مهمی در کاهش علایم آلزایمر داشته باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها از فعالیت رادیکال‌های آزاد ممانعت می‌نمایند و احتمالاً می‌توانند در پیشگیری و درمان بیماری آلزایمر مورد استفاده قرار گیرند.[۱۱]

اسید فولیک یا ویتامین B_6، از گروه ویتامین‌های B، برای بسیاری از عملکردهای بدن از جمله سلامت سیستم عصبی مورد نیاز می‌باشد. علاوه بر نقش آن در توسعه سیستم عصبی در مراحل جنینی، این ویتامین باعث احیا و بازسازی بخش‌های آسیب دیده مغز و نخاع در افراد مبتلا به آسیب سیستم عصبی مرکزی می‌شود.[۱۲] بررسی‌ها نشان داده است که کمبود اسید فولیک منجر به مرگ نورون و همچنین اختلال‌های متابولیکی مانند افزایش اسید آمینه هموسیستئین می‌شود که عامل مهمی در آسیب‌های عصبی است.[۱۳] اسید فولیک یک پیش ماده مهم برای تولید آنتی‌اکسیدان کوآنزیم Q_{10} است و اثرهای مفید آن در بیماری آلزایمر ثابت شده است.[۱۴] بنابراین، در مطالعه حاضر، برای ارزیابی افق‌های درمانی مؤثرتر در بهبود اختلال‌های شناختی، اثربخشی درمان ترکیبی دونپزیل و اسید فولیک در مقایسه با مونوتراپی هر یک از داروها مورد بررسی قرار گرفت.

❋مواد و روش‌ها:

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۹ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰±۲۰۰ گرم در شروع آزمایش از مرکز تکثیر دانشگاه علوم پزشکی جُندی شاپور اهواز تهیه شد. حیوانات تحت شرایط کنترل‌شده دمایی ۳±۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد و در یک چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگه‌داری شدند. آب و غذا آزادانه در اختیار موش‌ها قرار گرفت. تمام آزمایش‌ها مطابق دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شدند. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۷ گروه (هر گروه ۷ موش) تقسیم شدند.

گروه کنترل تحت هیچ‌گونه عمل جراحی یا تزریق دارو قرار نگرفتند. گروه تخریب، موش‌هایی بودند که

[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

جهت مدل آلزایمر، هسته NBM آن‌ها به‌صورت دو طرفه تخریب شد.[۱۵] در گروه شاهد تخریب، الکترود به صورت دو طرفه به هسته NBM موش‌ها وارد شد اما تخریبی ایجاد نکرد. گروه تخریب+دونپزیل، موش‌هایی که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته NBM آن ها به‌صورت دو طرفه با روش الکتریکی تخریب شد و به‌مدت ۵ روز داروی دونپزیل با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم را نیم ساعت قبل از آموزش، به‌صورت داخل صفاقی، دریافت نمودند. گروه تخریب+ اسید فولیک، موش‌هایی که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته NBM آن‌ها به‌صورت دو طرفه با روش الکتریکی تخریب شدند و به‌مدت ۵ روز اسید فولیک با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را نیم ساعت قبل از آموزش به‌صورت داخل صفاقی، دریافت نمودند. گروه تخریب+دونپزیل–اسید فولیک، موش‌هایی که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته NBM آن‌ها به صورت دو طرفه با روش الکتریکی تخریب شدند و به مدت ۵ روز داروی دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و اسید فولیک ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را نیم ساعت قبل از آموزش به صورت داخل صفاقی، دریافت نمودند و در گروه تخریب+ حلال (سالین) جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته NBM موش‌ها به‌صورت دو طرفه با روش الکتریکی تخریب شدند و به‌مدت ۵ روز، سالین (حلال دارو) را نیم ساعت قبل از آموزش به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. همه گروه ها با استفاده از ماز شعاعی هشت بازویی تحت آزمون اکتساب و یادآوری قرار گرفتند.

جهت تخریب هسته NBM، حیوانات آزمایشگاهی تحت بیهوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از ۷۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین ۲ درصد قرار گرفتند. برای تخریب این هسته، از دستگاه استریوتاکسی (شرکت استولتینگ، آمریکا) استفاده شد. مختصات مورد استفاده طبق اطلس پاکسینوس و واتسون عبارت بود از: موقعیت جلویی عقبی ۱/۳ – میلی‌متر، جانبی ۲/۸± میلی‌متر و پشتی شکمی ۷/۶ میلی‌متر.[۱۵] بعد از قرار گرفتن الکترود تک قطبی تخریبی در نقطه مورد نظر (جنس پلاتین، روکش تفلون، شرکت استولتینگ آمریکا)، هسته NBM با استفاده از دستگاه تخریب‌ساز با شدت جریان ۰/۵ میلی‌آمپر به‌مدت ۳ ثانیه تخریب و مدل بیماری آلزایمر ایجاد گردید.[۱۶]

ماز شعاعی هشت بازویی، از جنس پلاکسی گلاس برای بررسی حافظه فضایی مورد بررسی قرار گرفت. این ماز، متشکل از یک سکوی مرکزی (با قطر ۲۶ سانتی متر) و ۸ بازو با فواصل یکسان (طول ۵۰ و عرض ۱۰ سانتی‌متر) بود. علایم نشانه در محیط اطراف ماز وجود داشت که در طول دوره آزمایش در مکان های ثابتی قرار گرفته بودند. قبل از شروع آموزش با محدود کردن غذا، وزن موش ها به ۸۵ درصد وزن اولیه رسید و این ۸۰ تا ۸۵ درصد وزن طبیعی بدن در طول آزمون با محدود کردن مقدار غذا حفظ شد.[۱۷و۱۸] برای کمک به رشد موش ها، اجازه داده شد تا هر هفته ۵ گرم اضافه وزن داشته باشند. موش ها به خوردن تکه های کوچک طعمه (شکلات)، ابتدا در قفس انفرادی در طول مرحله کاهش وزن (به مدت یک روز) عادت داده شدند و سپس در طول آزمون ماز شعاعی هشت بازویی، تکه‌های کوچک طعمه به‌صورت روزانه و با وزن ۴۵ میلی‌گرم آماده شد.

آزمون ماز شعاعی هشت بازویی در ۳ مرحله ؛ آشنایی، اکتساب و یادآوری انجام شد؛ به‌این ترتیب که مرحله آشنایی و اکتساب دو بار در روز به فاصله ۲ ساعت و مرحله یادآوری ۳ بار در یک جلسه برای هر موش انجام شد. هفت روز بعد از تخریب، مرحله آشنایی به‌مدت ۲ روز انجام شد که در این مدت؛ همه بازوها با غذا طعمه‌گذاری شدند. این مرحله ابتدا به شکل گروهی و سپس انفرادی انجام گرفت. در آشنایی گروهی، روز اول اجازه داده شد ۳ موش هم‌زمان به‌مدت ۱۰ دقیقه ماز طعمه گذاری شده را جستجو کنند تا به دستگاه عادت کنند. در آشنایی انفرادی، روز دوم به هر موش ۵ دقیقه زمان داده شد تا همه بازوهای طعمه گذاری شده را جستجو کند. دومین مرحله، اکتساب به‌دنبال مرحله آشنایی است. در طول ۵

[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

روز دوره آموزش، ۴ بازو از ۸ بازو طعمه گذاری شد. الگوی طعمه گذاری به‌گونه‌ای انتخاب شد که سطح دشواری آن برای همه موش‌ها یکسان باشد. این الگو در دوره های آموزش و یادآوری برای هر موش باقی می‌ماند. اتمام هر دور زمانی بود که موش وارد هر ۴ بازو شده باشد. در فاصله بین دوره ها، غذا جایگزین و ماز تمیز گردید. مرحله سوم، آزمون یادآوری بود که ۷ روز بعد از اکتساب انجام گرفت. برای آزمون های اکتساب و یادآوری خطای حافظه مرجع، خطای حافظه کارکردی و مدت زمان سپری شده در ماز مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.[۱۸و۱۹]

در ماز شعاعی هشت بازویی، موش ها باید یاد بگیرند که جهت‌های خاصی را در ماز دنبال نمایند که غذا در انتهای آن بازو یافت می‌شود و اگر آن‌ها به انتهای بازوی مورد نظر رسیدند و غذا را خوردند، دیگر غذایی جایگزین آن نمی شود (اکتساب). در مقابل، بعد از یادگیری در طول آزمون یادآوری، موش ها باید بازوهایی را که با استفاده از نشانه‌های فضایی در آن غذا یافته بودند، به‌یاد آورند و دوره آزمون را مطابق الگوی تعیین شده برای هر موش کامل نمایند.[۱۷] خطای حافظه کارکردی به‌عنوان ورود مجدد به یک بازو که در آن پاداش را در طول مراحل قبلی آزمایش دریافت کرده است، تعریف می‌شود. خطای حافظه مرجع، به‌عنوان ورود به بازوهایی‌که هرگز در آن طعمه‌گذاری صورت نگرفته باشد، اطلاق می‌شود.[۲۰]

برای انجام آزمون های آماری از نرم افزار SPSS ۲۰ استفاده گردید و به‌منظور مقایسه عملکرد حافظه کارکردی و مرجع در دو آزمون اکتساب و یادآوری ماز شعاعی هشت بازویی از آنالیز واریانس یک‌طرفه و توکی استفاده گردید. داده ها به‌صورت میانگین و انحراف استاندارد از میانگین گزارش گردید و سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

✵یافته‌ها:

مقایسه گروه‌های شاهد تخریب و کنترل در طول دوره اکتساب و یادآوری برای پارامترهای مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). این نتایج بیان‌گر این است که ورود الکترود به هسته NBM بدون القای جریان الکتریکی در مغز، اثری بر میزان خطای حافظه کارکردی و مرجع موش‌های صحرایی گروه شاهد تخریب در مقایسه با گروه کنترل نداشت. تجزیه و تحلیل داده‌ها بیان‌گر این است که تخریب دوطرفه هسته NBM با القای جریان الکتریکی منجر به تخریب روند اکتساب و به خاطرآوری حافظه فضایی می‌گردد. به‌طوری که در طی آزمون اکتساب و یادآوری افزایش خطای حافظه مرجع (P<۰/۰۰۱) و کارکردی (P<۰/۰۰۱) در روند آموزش و مرحله یادآوری در گروه تخریب در مقایسه با کنترل مشاهده شد (نمودار ۱-۱ و ۱-۲). همچنین مدت زمان سپری شده برای یافتن طعمه‌ها در طول مرحله اکتساب در گروه تخریب NBM به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد (P<۰/۰۰۱) و در آزمون یادآوری نیز انتخاب بازوها همراه با تأخیر بود (نمودار ۱-۳).

نتایج در مرحله اکتساب برای خطای حافظه مرجع نشان داد که تیمار موش‌های صحرایی با دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه تخریب نگردید (P>۰/۰۵) اما گروه اسید فولیک ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم و گروه تداخل دونپزیل- اسید فولیک در مقایسه با گروه تخریب تفاوت معنی‌داری نشان داد و سطح معنی‌داری برای این گروه‌ها به‌ترتیب P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۵ بود. در مرحله یادآوری تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و اسید فولیک ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه تخریب مشاهده نشد (P>۰/۰۵) اما سطح معنی‌داری برای گروه تداخل دونپزیل- اسید فولیک در مقایسه با گروه تخریب معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱) (نمودار شماره ۱-۱). آنالیز آماری داده‌ها در مرحله اکتساب برای خطای حافظه کارکردی نشان داد که تیمار موش‌های صحرایی با دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و اسید فولیک ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه تخریب نشد (P>۰/۰۵) در حالی‌که سطح معنی‌داری برای گروه تداخل

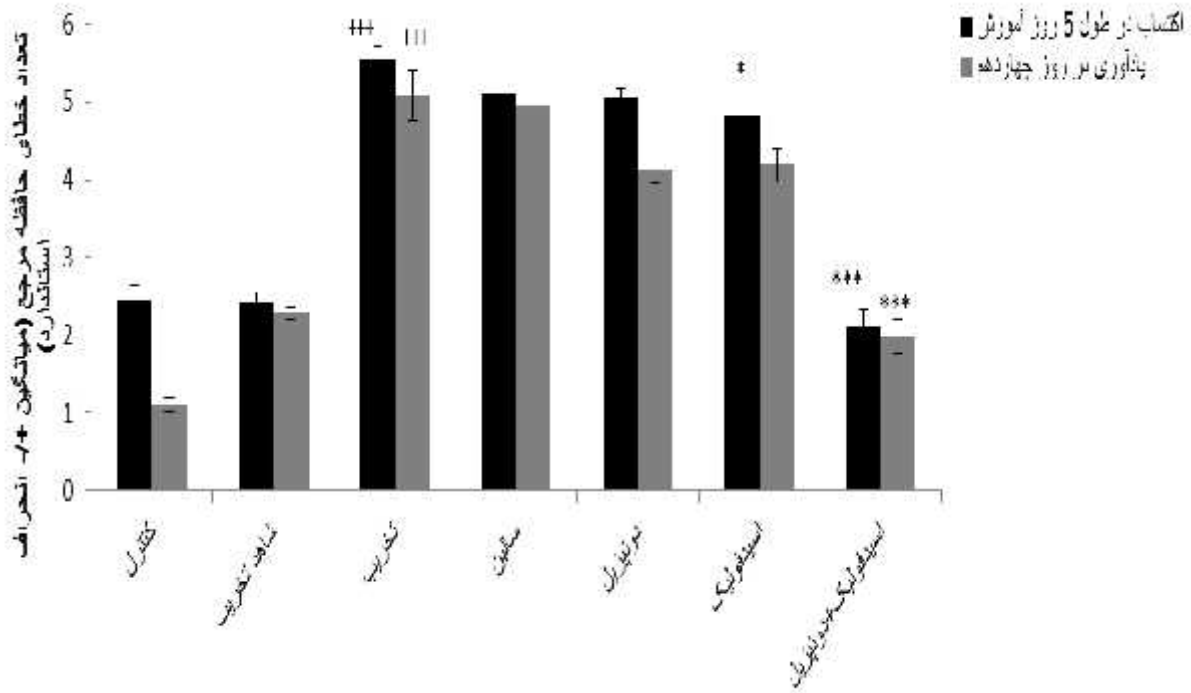
[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

دونپزیل- اسید فولیک در مقایسه با گروه تخریب معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱).

در مرحله یادآوری تفاوت معنی‌داری بین گروه اسید فولیک ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه تخریب مشاهده نشد، در حالی‌که گروه دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه تداخل دونپزیل- اسید فولیک در مقایسه با گروه تخریب تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید و سطح معنی‌داری برای این گروه‌ها به‌ترتیب P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۵ بود (نمودار شماره ۱-۲). همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر زمان سپری شده برای یافتن طعمه‌ها وجود دارد؛ به طوری‌که در مرحله اکتساب تیمار موش‌های صحرایی با اسید فولیک ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه تخریب تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) در حالی‌که برای گروه دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه تداخل دونپزیل- اسید فولیک در مقایسه با گروه تخریب تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید و سطح معنی‌داری برای این گروه‌ها به‌ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۰۱ بود. در مرحله یادآوری برای دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اسید فولیک ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه تداخل دونپزیل- اسید فولیک در مقایسه با گروه تخریب تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید و سطح معنی‌داری برای این گروه‌ها به‌ترتیب P<۰/۰۰۱، P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱ بود (نمودارهای شماره ۱ تا ۳).

نمودار ۱-۱- تأثیر تخریب هسته NBM بر خطای حافظه مرجع

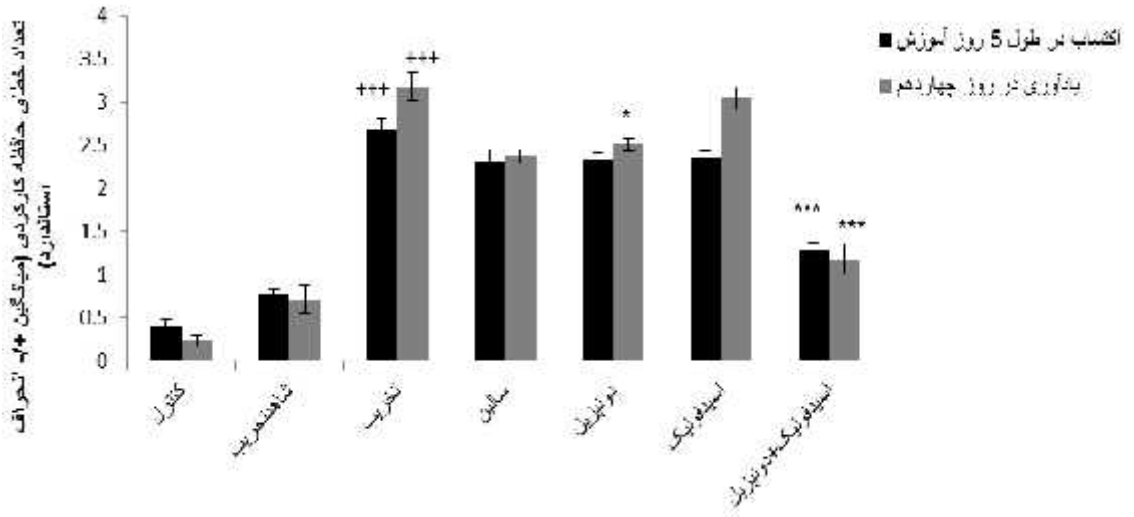
مقایسه (میانگین ± انحراف استاندارد) بر اکتساب و آزمون یادآوری روز ۱۴ در ماز شعاعی (n=۷; P< ۰/۰۰۱*، P< ۰/۰۵* در مقایسه با گروه تخریب در آزمون اکتساب و یادآوری. P< ۰/۰۰۱+++ در مقایسه با گروه کنترل در آزمون اکتساب و یادآوری).**



[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

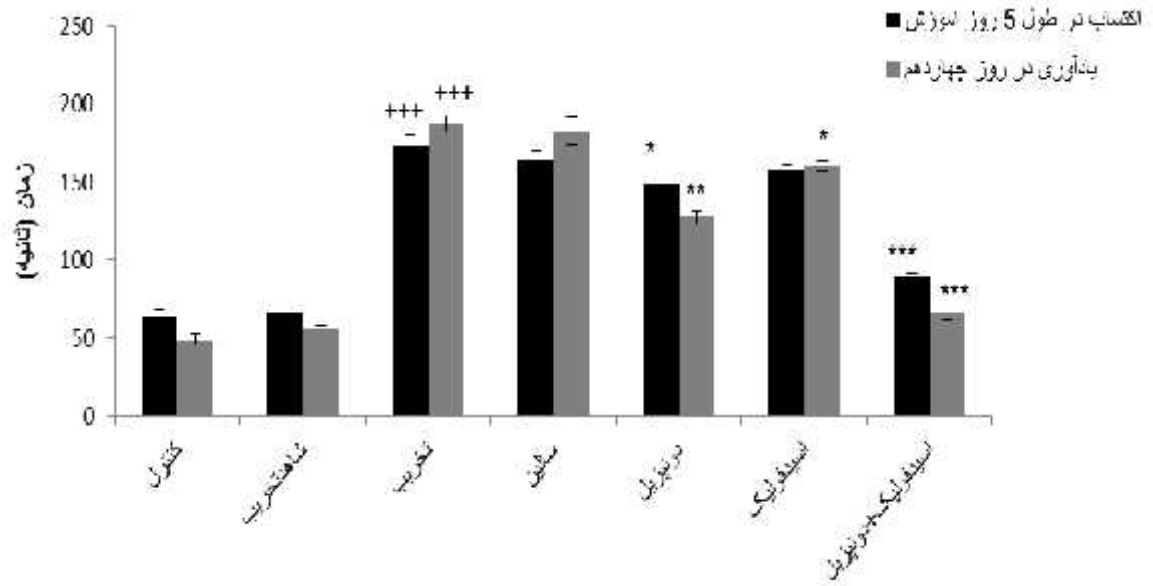
نمودار ۱-۲- تأثیر تخریب هسته NBM بر خطای حافظه کارکردی

مقایسه (میانگین ± انحراف استاندارد) بر اکتساب و آزمون یادآوری روز ۱٤ در ماز شعاعی (n=۷; P< ۰/۰۰۱*، P< ۰/۰۵*) در مقایسه با گروه تخریب در آزمون اکتساب و یادآوری. P< ۰/۰۰۱+++ در مقایسه با گروه کنترل در آزمون اکتساب و یادآوری).**



نمودار ۱-۳- تأثیر تخریب هسته NBM بر زمان سپری شده

مقایسه (میانگین ± انحراف استاندارد) بر اکتساب و آزمون یادآوری روز ۱٤ در ماز شعاعی (n=۷; P< ۰/۰۰۱*، P< ۰/۰۱**، P< ۰/۰۵*) در مقایسه با گروه تخریب در آزمون اکتساب و یادآوری. P< ۰/۰۰۱+++ در مقایسه با گروه کنترل در آزمون اکتساب و یادآوری).**



[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

✵بحث و نتیجه‌گیری:

بررسی‌ها در جوندگان، پریمات‌ها و انسان نشان داده است که عملکرد کولینرژیک قشر برای اکتساب حافظه جدید ضروری است.[۲۱] NBM منبع اصلی انشعاب‌های کولینرژیک برای هیپوکامپ و کورتکس است و فعالیت NBM کولینرژیک قشر در مراحل اولیه اکتساب حافظه کارکردی و ذخیره حافظه مرجع مهم می‌باشد.[۲۲] در پژوهش حاضر نتایج نشان داد که تخریب دو طرفه هسته NBM به‌وسیله جریان الکتریکی در موش صحرایی منجر به کاهش معنی‌داری حافظه کارکردی و مرجع در ماز شعاعی هشت بازویی در مقایسه با گروه کنترل گردید.

ربیعی و همکاران گزارش کردند که تخریب دو طرفه هسته NBM با روش الکتریکی باعث کاهش یادگیری اجتنابی غیرفعال در دستگاه شاتل باکس می شود.[۲۳] همچنین زاهدی و همکاران گزارش دادند که تخریب دوطرفه هسته NBM با استفاده از روش الکتریکی باعث کاهش حافظه فضایی در ماز آبی موریس و همچنین کاهش یادگیری اجتنابی فعال می گردد؛[۲۴] بنابراین تخریب سیستم کولینرژیک NBM در جوندگان و پریمات‌ها باعث کاهش عملکرد کولینرژیکی قشر می‌گردد و به‌موجب آن منجر به اختلال یادگیری و حافظه در انواع مختلفی از عملکردها می‌گردد.[۲۱] در مطالعه حاضر، تزریق دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم تنها منجر به کاهش خطای حافظه کارکردی در مرحله یادآوری گردید و اثری بر روی حافظه مرجع در مرحله اکتساب و یادآوری نداشت.

لیندر و همکاران گزارش کردند که تزریق اسکوپولامین به موش‌های صحرایی منجر به افزایش خطای حافظه کارکردی می‌گردد و تیمار موش‌های صحرایی با دونپزیل (۱-۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نتوانست اثرهای اسکوپولامین را آنتاگونیزه نماید؛[۲۵] در حالی‌که در پژوهش حاضر تزریق دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به کاهش خطای حافظه کارکردی گردید. همچنین برخلاف نتایج مطالعه حاضر، شارما و همکاران گزارش کردند که تیمار موش‌های صحرایی با دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت ۱۵ روز منجر به بهبود اختلال‌های شناختی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین در ماز آبی موریس می‌گردد.[۲۶]

دونپزیل با مهار آنزیم استیل‌کولین استراز منجر به افزایش غلظت و نگه‌داری استیل‌کولین در شکاف سیناپسی می‌گردد که به بهبود عملکرد کولینرژیک در بیماران آلزایمری منجر می‌گردد. بررسی‌های کلینیکی در بیماران آلزایمری دریافت‌کننده مهارکننده‌های استیل‌کولین استراز تنها کارایی متوسط و تحمل فوری را در اثر درمان طولانی مدت نشان دادند.[۲۷] اگرچه علت مرگ نورونی در بیماری آلزایمر مشخص نیست؛ مطالعه‌ها نشان داده‌اند که پپتید بتاآمیلوئید منجر به افزایش آپوپتوز نورونی از طریق افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد؛ بنابراین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند در کاهش علایم بیماری مفید باشند.[۲۸] نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق اسید فولیک (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌تنهایی منجر به کاهش خطای حافظه مرجع در مرحله اکتساب در موش‌های صحرایی آلزایمری گردید و هیچ تأثیری بر کاهش خطای حافظه کاری نداشت. در حالی‌که دهقانی و همکاران مشاهده کردند که در اختلال حافظه القایی با استرپتوزوتوسین، تیمار موش‌های صحرایی با اسید فولیک منجر به بهبود یادگیری اجتنابی فعال گردید که مغایر با مطالعه حاضر است.[۲۹]

پژوهش حاضر همچنین نشان داد که تزریق توأم دونپزیل و اسید فولیک منجر به بهبود اختلال‌های شناختی ناشی از تخریب NBM گردید. این درمان ترکیبی منجر به بهبود حافظه در موش‌های صحرایی مدل آلزایمر شد. ذکر این نکته لازم است که داروهایی که تنها بر یک جنبه بیماری تأکید دارند نمی‌توانند برای درمان سندرم‌های نورولوژیکی که در آن‌ها چندین عامل پاتولوژیک درگیر است کارآمد باشند. در این میان، ارتباط چندین دارو یا درمان چند دارویی به‌طور گسترده ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. در حقیقت، اجزای درمان ترکیبی که

[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

هر کدام جداگانه بـر سیسـتم‌هـای نـورونی مجزایـی اثـر می‌گذارند ممکن است اثـر درمـانی مفیـدتری نسـبت بـه درمان‌های مجزا داشته باشند. به‌کارگیری مقادیر بی‌اثر هر کدام از داروها می‌توانـد دارای اثـر افزایشـی معنـی‌دار بـر یادگیری و حافظـه و همچنـین کـاهش عـوارض جـانبی جداگانه هر کدام از داروها باشد.[۲۷]

بررسی‌ها نشان داده است که سطح اسید فولیک به‌طور چشمگیری در خـون بیمـاران آلزایمـر کـاهش مـی یابـد. کاهش سطح اسید فولیک به‌طور قابل توجهی نـوروژنز را در هیپوکامپ مهار می‌کند و بر متابولیسم انتقال‌دهنده‌های عصبی مانند استیل کولین تـأثیر مـی‌گـذارد.[۳۰] همچنـین بررسی‌هایی نشان داده که رژیم غذایی فاقد اسید فولیـک منجر به کاهش سطح نوروترانسمیتر استیل‌کولین در ناحیه هیپوکامپ موش‌های صحرایی بالغ گردیـد.[۳۱] عـلاوه بـر این، شواهد قوی در مـورد اثرهـای آنتـی‌اکسـیدانی ایـن ویتامین وجود دارد.[۳۲] اسید فولیک یکی از پیش‌سـازهای مهم برای سنتز آنتی‌اکسیدان کوآنزیم Q_{10} در بدن اسـت. اسید فولیک همچنین در تولید سـایر آنتـی‌اکسـیدان‌هـای قوی مانند آلفا توکوفرول نقش دارد.[۲۹] مطالعه‌ها بـر روی اثرهای کوآنزیم Q_{10} در اختلال شناختی نشان داده اسـت که کوآنزیم Q_{10} به‌طور قابل توجهی اختلال‌های شناختی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین در هیپوکامـپ را کـاهش می‌دهد.[۳۳]

مطالعه‌های قبلی نشان داده است که پیش درمـان بـا کوآنزیم Q_{10}، فعالیت آنزیمـی اسـتیل‌کـولین اسـتراز را در موش های مبتلا به اختلال‌های شناختی ناشـی از تزریـق استرپتوزوتوسین مهار می‌کند؛[۳۴] این یافته نشان می‌دهـد کـه کـوآنزیم Q_{10} دارای اثرهـای حفاظـت‌کننـده بـر نورون های کولینرژیک می‌باشد. در مطالعه حاضـر، تیمـار با اسید فولیک به تنهایی نتوانست اختلال‌های یادگیری و حافظه را در موش‌های مدل بیماری آلزایمر بهبود بخشـد. با توجه به ایـن‌کـه در پـژوهش حاضـر از تزریـق داخـل صفاقی دارو استفاده شده و مدت زمان تیمـار ۵ روز بـوده، علت تفاوت نتیجه گزارش‌های ارایه شـده بـا نتیجـه ایـن پژوهش، احتمالاً به‌دلیل تفاوت نوع تزریق و عامـل زمـان بوده است. همچنین تفاوت در مدل اختلال حافظه القـایی و نیز دستگاه مورد استفاده جهت بررسی حافظه فضایی از مواردی هستند که در ایجـاد نتـایج متفـاوت در پـژوهش دخیل می‌باشند. در مطالعه ما، تجویز توأم دونپزیل و اسید فولیک منجـر بـه بهبـود پارامترهـای حافظـه فضـایی در آزمون ماز شعاعی هشت بـازویی گردیـد. از آن‌جـایی کـه اسید فولیک پیش‌ساز کـوآنزیم Q_{10} اسـت و اثـر مهـاری کوآنزیم Q_{10} بر آنزیم اسـتیل‌کـولین اسـتراز اثبـات شـده است؛[۳۳] به‌نظر می رسد که اسید فولیک باعث تقویت اثـر مهاری دونپزیل بر آنزیم استیل کولین اسـتراز مـی‌شـود و حافظه فضایی را بهبود می‌بخشد.

✵سپاس‌گزاری:

ایـــن مطالعـــه بـــا کُـــد اخـــلاق شـــماره EE/97.24.3.17933 از دانشـگاه شـهید چمـران اهـواز مورد تأیید قرار گرفت.

✵مراجع:

1. Dumont D, Beal MF. Neuroprotective strategies involving ROS in Alzheimer's disease. Free Radic Biol Med 2011; 51(5): 1014-26. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.026.

2. Koroler I.O. Alzheimer's disease: a clinical and basic science review. Medical Student Research J 2014; 4: 24-33.

3. Ferreira ME, de Vasconcelos AS, da Costa Vilhena T, da Silva TL, da Silva Barbosa A, Gomes AR, et al. Oxidative stress in Alzheimer's disease: should we keep trying antioxidant therapies? Cell Mol Neurobiol 2015; 35(5): 595-614. doi: 10.1007/s10571-015-0157-y.

4. Khanahmadi M, Farhud DD, Malmir M. Genetic of Alzheimer's disease: a narrative

[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

review article. Iran J Public Health 2015; 44(7): 892-901.

5. An Y, Zhang C, He S, Yao C, Zhang L, Zhang Q. Main hypotheses, concepts and theories in the study of Alzheimer's disease. Life Sci J 2008; 5(4): 1-5.

6. Padurariu M, Ciobica A, Lefter R, Serban IL, Stefanescu C, Chirita R. The oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. Psychiatr Danub 2013; 25(4): 401-9.

7. Geula C, Nagykery N, Nicholas, A, Wu CK. Cholinergic neuronal and axonal abnormalities are present early in aging and in Alzheimer's disease. J Neuropathol Exp Neurol 2008; 67(4): 309-18. doi: 10.1097/ NEN. 0b013e31816a1df3.

8. Selden NR, Gitelman DR, Salamon-Murayama N, Parrish TB, Mesulam MM. Trajectories of cholinergic pathways within the cerebral hemispheres of the human brain. Brain 1998; 121(12): 2249-57.

9. Bartus RT, Dean RL, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. Science 1982; 217(4558): 408-14. doi: 10.1126/science. 7046051.

10. Borlongan CV. Recent preclinical evidence advancing cell therapy for Alzheimer's disease. Exp Neurol 2012; 237(1): 142-6. doi: 10.1016/j.expneurol.2012. 06.024.

11. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem 1995; 41(12 Pt 2): 1819-28.

12. Hernandez-Diaz S, Werler MM, Walker AM, Mitchell AA. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. N Engl J Med 2000; 343(22): 1608-14. doi: 10.1056/NEJM200103223441212.

13. Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, et al. Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury recruitment of endogenous neural progenitors. Cell 2002; 110(4): 429-41. doi: 10.1016/S0092-8674(02)00862-0.

14. Rauscher FM, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Effects of coenzyme-Q10 treatment on antioxidants pathways in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. J Biochem Mol Toxicol 2001; 15(1): 41-6. doi: 10.1002/1099-0461(2001)15:1<41.

15. Ashkavandi S, Moazedi AA, Semnanian S, Harooni H, Pourmehdi M. Effects of GM1 ganglioside on the recovery of spatial learning after a lesion of the nucleus basalis magnocellularis in an experimental model of Alzheimer's disease in adult male rats. American J Medicine and Medical Sciences 2015; 5(1): 42-7. doi: 10.5923/j. ajmms.20150501.08.

16. Montero-Pastor A, Vale-Martinez A, Guillazo-Blanch G, Marti-Nicolovius M. Effect of electrical stimulation of the nucleus basalis on two-ways active avoidance acquisition, retention and retrieval. Behav Brain Res 2004; 154(1): 41-54. doi: 10.1016/ j.bbr.2004.01.017.

17. Cosquer B, Vasconcelos AP, Frohlich J, Cassel J.C. Blood-brain barrier and electromagnetic fields: effects of scopolamine methylbromide on working memory after whole body exposure to 2.45 GHZ microwaves in rats. Behav Brain Res 2005; 161(2): 229-37. doi: 10.1016/j.bbr.2005.02. 025.

18. Davis CP, Franklin LM, Johnson GS, Schrott LM. Prenatal oxycodone exposure impairs spatial learning and/or memory in rats. Behav Brain Res 2010; 212(1): 27-34. doi: 10.1016/j.bbr.2010.03.022.

19. Luine VN, Frankfurt M. Estrogen

[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

facilitate memory processing through membrane mediated mechanisms and alterations in spike density. Front Neuroendocrinol 2012; 33(4): 388-402. doi: 10.1016/j.yfrne. 2012.07.004.

20. Liu P, Bilkey DK. The effect of NMDA lesions centered on the postrhinal cortex on spatial memory tasks in the rat. Behav Neurosci 2002; 116(5): 860-73.

21. Gratwicke J, Kahan J, Zrinzo L, Hariz M, Limousin P, Foltynie T, et al. The nucleus basalis of Meynert: a new target for deep brain stimulation in dementia? Neurosci Behav Rev 2013; 37(10 Pt 2): 2676-88. doi: 10.1016/j.neubiorev. 2013.09.003.

22. Nyakas C, Granic I, Halmy LG, Banerjee P, Luiten PG. The basal forebrain cholinergic system in aging and dementia rescuing cholinergic neurons from neurotoxic amyloid βA-42 with memantine. Behav Brain Res 2011; 221(2): 594-603. doi: 10.1016/j.bbr. 2010.05.033.

23. Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M, Heidarian E, Saghaei E, Mokhtari S. Effects of Zizyphus jujube extract on memory and learning impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus basalis of meynert in rat. Neurochem Res 2014; 39(2): 353-60. doi: 10.1007/s11064-013-1232-8.

24. Zahedi M, Hojjati MR, Fathpour H, Rabiei Z, Alibabaei Z, Basim A. Effect of rheum ribes hydro-alcoholic extract on memory impairments in rat model of Alzheimer's disease. Iran J Pharm Res 2015; 14(4): 1197-206.

25. Lindner MD, Hogan JB, Hodges DB Jr, Orie AF, Chen P, Corsa JA, et al. Donepezil primarily attenuates scopolamine-induced deficits in psychomotor function, with moderate effects on simple conditioning and attention, and small effects on working memory and spatial mapping. Psychopharmacology (Berl) 2006; 188(4): 629-40. doi: 10.1007/s00213-006-0556-3.

26. Sharma B, Singh N, Singh M. Modulation of celecoxib and streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's disease by pitavastatin and donepezil. J Psychopharmacol 2008; 22(2): 162-71. doi: 10.1177/0269881107081553.

27. Kroker K, Rast G, Giovannini R, Marti A, Dorner-Ciossek C, Rosenbrock H. Inhibition of acetylcholinestrase and phosphodiesterase-9A has differential effects on hippocampal early and late LTP. Neuropharmacology 2012; 62(5-6): 1964-74. doi: 10.1016/j. neuropharm.2011.12.021.

28. Barkats M, Millecamps S, Abrioux P, Geoffroy MC, Mallet J. Overexpression of glutathione peroxidase increases the resistance of neuronal cells to Abeta-mediate neurotoxicity. J Neurochem 2000; 75(4): 1438-46.

29. Dehghani Dolatabadi HR, Reisi P, Alaei H, Azizi Malekabadi H, Pilehvarian AA. Folic acid and coenzyme Q10 ameliorate cognitive dysfunction in the rat with intracerebroventricular injection of streptozotocin. Iran J Basic Med Sci 2012; 15(2): 719-24.

30. Kruman II, Kumaravel TS, Lohani A, Pedersen WA, Cutler RG, Kruman Y et al. Folic acid deficiency and homocysteine impair DNA repair in hippocampal neurons and sensitize them to amyloid toxicity in experimental models of Alzheimer's disease. J Neurosci 2002; 22(5): 1752-62. doi: https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-05-01752.2002.

31. Crivello CN, Blusztajn JK, Joseph JA, Shukitt-Hale B, Smith DE. Short-term nutritional folate deficiency in rats has a

[DOI: 10.29252/qums.22.5.14]
Downloaded from journal.qums.ac.ir at 9:20 +0330 on Saturday February 23rd 2019

greater effect on choline and acetylcholine metabolism in the peripheral nervous system than in the brain, and this effect escalates with age. Nutr Res 2010; 30(10): 722-30. doi: 10.1016/j.nutres. 2010.09.008.

32. Hernandez-Diaz S, Werler MM, Walker AM, Mitchell AA. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. N Engl J Med 2000; 343(22): 1608-14. doi: 10.1056/NEJM200103223441212

33. Lenaz G, Bovina C, Formiggini G, Parenti Castelli G. Mitochondria, oxidative stress, and antioxidant defences. Acta Biochim Pol 1999; 46(1): 1-21.

34. Veerendra Kumar MH, Gupta YK. Effect of Centella asiatica on cognition and oxidative stress in an intracerebroventricular streptozotocin model of Alzheimer's disease in rats. Clin Exp Pharmacol Physiol 2003; 30(5-6): 336-42.