

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

A. Eskandary¹, AA. Moazedi¹

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 led 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.

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 مگنوسولولاریس 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 مگنوسولولاریس (تخریب دوطرفه هسته قاعده‌ای مگنوسولولاریس با القای جریان الکتریکی ۰/۵ میلی‌آمپر به‌مدت ۳ ثانیه)، گروه شاهد تخریب (ورود الکتروود به هسته قاعده‌ای مگنوسولولاریس 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 سالیسین (تخریب هسته قاعده‌ای مگنوسولولاریس + سالیسین). 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 مگنوسولولاریس 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 مگنوسولولاریس، دونپزیل، اسید فولیک، حافظه

* مقدمه

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

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

کاهش علائم 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 B₆، 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 نورو و همچنین اختلال‌های متابولیکی مانند افزایش اسید آمینه هموسیستئین می‌شود که عامل مهمی در آسیب‌های عصبی است.^(۱۳) اسید فولیک یک پیش‌ماده مهم برای تولید آنتی‌اکسیدان کوآنزیم Q₁₀ 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 دونپزیریل 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 20 ± 20 گرم در شروع آزمایش از مرکز تکثیر دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه شد. حیوانات تحت شرایط کنترل شده دمایی 23 ± 3 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

نوروفیبریلاری داخل نوروئی 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.^(۵،۳) 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 مگنوسولولاریس (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 دونپزیریل که از تخریب استیل‌کولین در شکاف سیناپسی ممانعت می‌نمایند، در بیماران آلزایمری استفاده می‌شوند. با این حال این داروها دارای اثربخشی قابل ملاحظه‌ای نمی‌باشند و تنها علائم 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

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 به مدت 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 سانتی متر) بود. علائم نشانه در محیط اطراف ماز وجود داشت که در طول دوره آزمایش در مکان‌های ثابتی قرار گرفته بودند. قبل از شروع آموزش با محدود کردن غذا، وزن موش‌ها 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 موش‌ها، اجازه داده شد تا هر هفته ۵ گرم اضافه وزن داشته باشند. موش‌ها به خوردن تکه‌های 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 به صورت روزانه و با وزن ۴۵ میلی‌گرم آماده شد.

آزمون ماز شعاعی هشت بازویی در ۳ مرحله؛ آشنایی، اکتساب و یادآوری انجام شد؛ به این 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 به مدت 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 به مدت ۱۰ دقیقه ماز طعمه‌گذاری 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 طعمه‌گذاری شده را جستجو کند. دومین مرحله، اکتساب به دنبال مرحله آشنایی است. در طول ۵

جهت مدل آلزایمر، هسته NBM آن‌ها به صورت دو طرفه تخریب شد.^(۱۵) در گروه شاهد تخریب، الکتروود به صورت دو طرفه به هسته NBM موش‌ها وارد شد اما تخریبی ایجاد نکرد. گروه تخریب+دوئیزیل، موش‌هایی که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته NBM آن‌ها به صورت دو طرفه با روش الکتریکی تخریب شد و به مدت ۵ روز داروی دوئیزیل با دوز ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم را نیم ساعت قبل از آموزش، به صورت داخل صفاقی، دریافت نمودند. گروه تخریب+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 اسید فولیک با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را نیم ساعت قبل از آموزش به صورت داخل صفاقی، دریافت نمودند. گروه تخریب+دوئیزیل-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 دوئیزیل 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 به صورت دو طرفه با روش الکتریکی تخریب شدند و به مدت ۵ روز، سالین (حلال دارو) را نیم ساعت قبل از آموزش به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. همه گروه‌ها 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 الکتروود

اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P = 0/05$). این نتایج بیان‌گر این است که ورود الکتروود 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. به طوری که در طی آزمون اکتساب و یادآوری افزایش خطای حافظه مرجع ($P = 0/001$) و کارکردی ($P = 0/001$) در روند آموزش و مرحله یادآوری در گروه تخریب در مقایسه با کنترل مشاهده شد (نمودار ۱-۱ و ۲-۱). همچنین مدت زمان سپری شده برای یافتن طعمه‌ها در طول مرحله اکتساب در گروه تخریب NBM به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد ($P = 0/001$) و در آزمون یادآوری نیز انتخاب بازوها همراه با تأخیر بود (نمودار ۳-۱).

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 ($P = 0/05$) اما گروه اسید فولیک ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه داخل دونپزیل - اسید فولیک در مقایسه با گروه تخریب تفاوت معنی‌داری نشان داد و سطح معنی‌داری برای این گروه‌ها به ترتیب $P = 0/001$ و $P = 0/05$ 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 ($P = 0/05$) اما سطح معنی‌داری برای گروه تداخل دونپزیل - اسید فولیک در مقایسه با گروه تخریب معنی‌دار بود ($P = 0/001$) (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 ($P = 0/05$) در حالی که سطح معنی‌داری برای گروه تداخل

روز دوره آموزش، ۴ بازو از ۸ بازو طعمه گذاری شد. الگوی طعمه گذاری به گونه‌ای انتخاب شد که سطح دشواری آن برای همه موش‌ها یکسان باشد. این الگو در دوره‌های آموزش و یادآوری برای هر موش باقی می‌ماند. اتمام هر دور زمانی بود که موش وارد هر ۴ بازو شده باشد. در فاصله بین دوره‌ها، غذا جایگزین و ماز تمیز گردید. مرحله سوم، آزمون یادآوری بود که ۷ روز بعد از اکتساب انجام گرفت. برای آزمون‌های اکتساب و یادآوری خطای حافظه مرجع، خطای حافظه کارکردی و مدت زمان سپری شده در ماز مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.^(۱۹و۱۸)

در ماز شعاعی هشت بازویی، موش‌ها 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 نمی‌شود (اکتساب). در مقابل، بعد از یادگیری در طول آزمون یادآوری، موش‌ها باید بازوهایی را که با استفاده از نشانه‌های فضایی در آن غذا یافته بودند، به یاد آورند و دوره آزمون را مطابق الگوی تعیین شده برای هر موش کامل نمایند.^(۱۷) خطای حافظه کارکردی به عنوان ورود مجدد به یک بازو که در آن پاداش را در طول مراحل قبلی آزمایش دریافت کرده است، تعریف می‌شود. خطای حافظه مرجع، به عنوان ورود به بازوهایی که هرگز در آن طعمه‌گذاری صورت نگرفته باشد، اطلاق می‌شود.^(۲۰)

برای انجام آزمون‌های آماری از نرم افزار SPSS ۲۰ استفاده گردید و به منظور مقایسه عملکرد حافظه کارکردی و مرجع در دو آزمون اکتساب و یادآوری ماز شعاعی هشت بازویی از آنالیز واریانس یک‌طرفه و توکی استفاده گردید. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد از میانگین گزارش گردید و سطح معنی‌داری $P = 0/05$ در نظر گرفته شد.

* یافته‌ها:

مقایسه گروه‌های شاهد تخریب و کنترل در طول دوره اکتساب و یادآوری برای پارامترهای مورد بررسی،

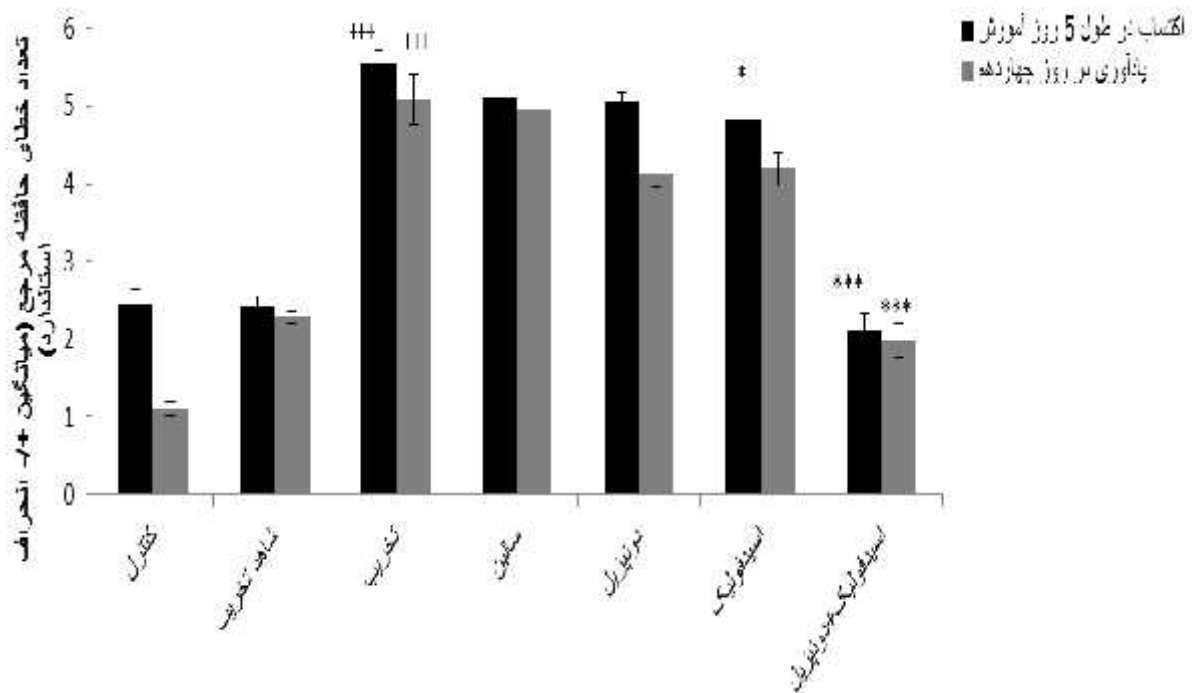
مقایسه با گروه تخریب تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P = 0/05$) در حالی که برای گروه دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه تداخل دونپزیل- اسید فولیک در مقایسه با گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید و سطح معنی‌داری برای این گروه‌ها به ترتیب $P = 0/05$ و $P = 0/001$ بود. در مرحله یادآوری برای دونپزیل ۰/۱ میلی‌گرم 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 به ترتیب $P = 0/001$ ، $P = 0/05$ و $P = 0/01$ بود (نمودارهای شماره ۱ تا ۳).

دونپزیل- اسید فولیک در مقایسه با گروه تخریب معنی‌دار بود ($P = 0/001$).

در مرحله یادآوری تفاوت معنی‌داری بین گروه اسید فولیک ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه تخریب مشاهده نشد، در حالی که 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 به ترتیب $P = 0/05$ و $P = 0/001$ (نمودار شماره ۱-۲). همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر زمان سپری شده برای یافتن طعمه‌ها وجود دارد؛ به طوری که در مرحله اکتساب تیمار موش‌های صحرائی با اسید فولیک ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در

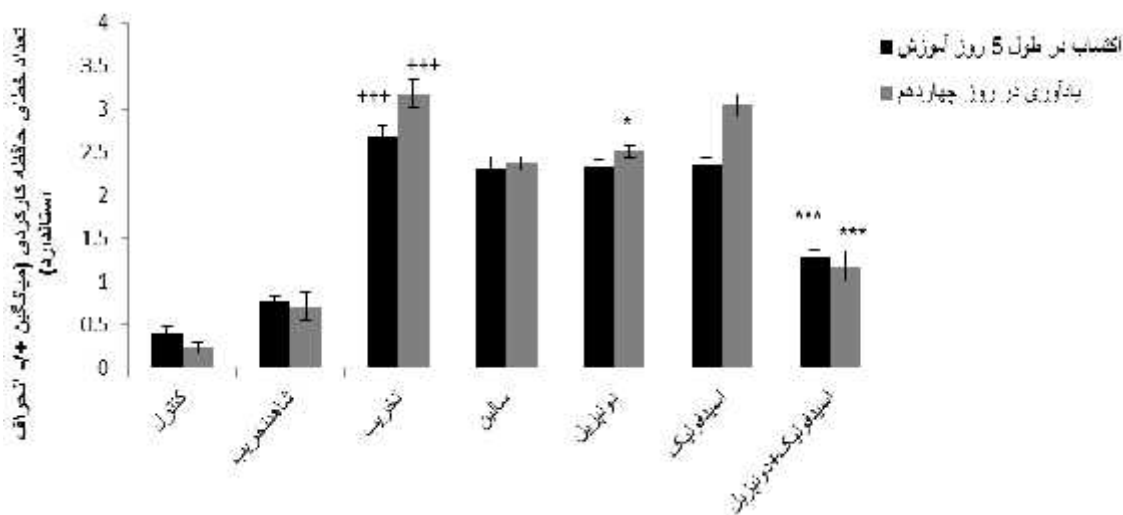
نمودار ۱-۱- تأثیر تخریب هسته NBM بر خطای حافظه مرجع

مقایسه (میانگین \pm انحراف استاندارد) بر اکتساب و آزمون یادآوری روز ۱۴ در ماز شعاعی ($n=7$; $***P = 0/001$ ، $**P = 0/05$ ، $*P = 0/05$ در مقایسه با گروه تخریب در آزمون اکتساب و یادآوری. $***P = 0/001$ در مقایسه با گروه کنترل در آزمون اکتساب و یادآوری).



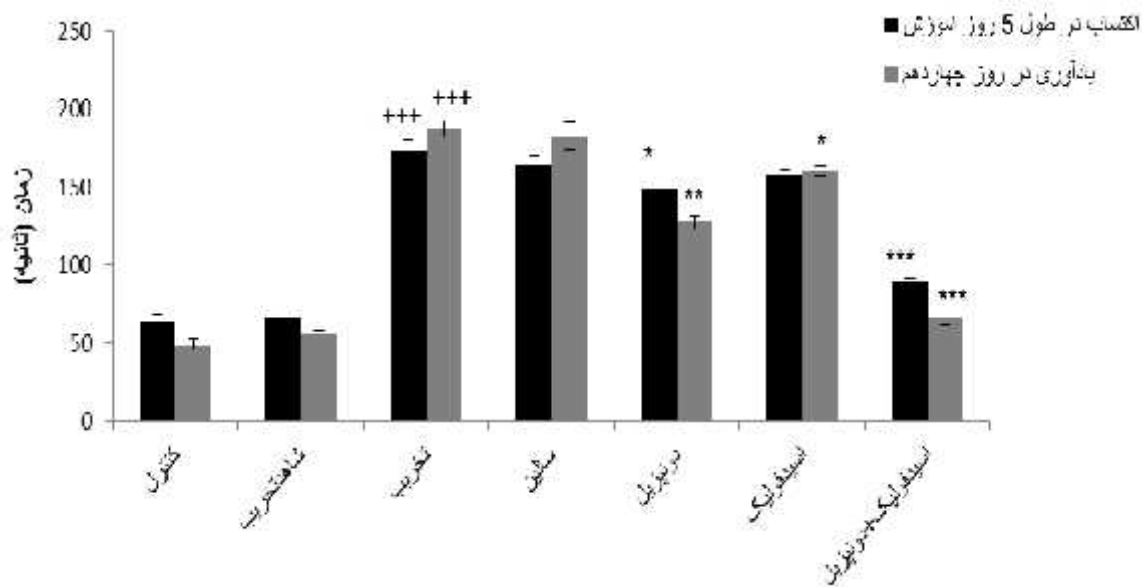
نمودار ۱-۲- تأثیر تخریب هسته NBM بر خطای حافظه کارکردی

مقایسه (میانگین ± انحراف استاندارد) بر اکتساب و آزمون یادآوری روز ۱۴ در ماز شعاعی (n=۷; $P < 0.001$ ، $P < 0.05$ در مقایسه با گروه تخریب 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 ۱۴ در ماز شعاعی (n=۷; $P < 0.001$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.05$ در مقایسه با گروه تخریب در آزمون اکتساب و یادآوری).



***بحث و نتیجه گیری:**

بررسی‌ها در جوندگان، پریمات‌ها و انسان نشان داده است که عملکرد کولینرژیک قشر برای اکتساب حافظه جدید ضروری است.^(۳۱) 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.^(۳۲) در پژوهش حاضر نتایج نشان داد که تخریب دو طرفه هسته NBM به وسیله جریان الکتریکی در موش صحرایی منجر به کاهش معنی‌داری حافظه کارکردی و مرجع در ماز شعاعی هشت بازویی در مقایسه با گروه کنترل گردید.

ربیبی و همکاران گزارش کردند که تخریب دو طرفه هسته NBM با روش الکتریکی باعث کاهش یادگیری اجتنابی غیرفعال در دستگاه شاتل باکس می‌شود.^(۳۳) 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 می‌گردد؛^(۳۴) بنابراین تخریب سیستم کولینرژیک NBM در جوندگان و پریمات‌ها باعث کاهش عملکرد کولینرژیک قشر می‌گردد و به موجب آن منجر به اختلال یادگیری و حافظه در انواع مختلفی از عملکردها می‌گردد.^(۳۱) 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 (۰/۱-۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نتوانست اثرهای اسکوپولامین را آنتاگونیست نماید؛^(۳۵) در حالی که 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 به مدت ۱۵ روز منجر به بهبود اختلال‌های شناختی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین در ماز آبی موریس می‌گردد.^(۳۶)

دونپزیل با مهار آنزیم استیل کولین استراز منجر به افزایش غلظت و نگه‌داری استیل کولین در شکاف سیناپسی می‌گردد که به بهبود عملکرد کولینرژیک در بیماران آلزایمری منجر می‌گردد. بررسی‌های کلینیکی در بیماران آلزایمری دریافت‌کننده مهارکننده‌های استیل کولین استراز تنها کارایی متوسط و تحمل فوری را در اثر درمان طولانی مدت نشان دادند.^(۳۷) اگرچه علت مرگ نوروپاتی در بیماری آلزایمر مشخص نیست؛ مطالعه‌ها نشان داده‌اند که پیتید بتامیلوئید منجر به افزایش آپوپتوز نوروپاتی از طریق افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد؛ بنابراین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند در کاهش علائم بیماری مفید باشند.^(۳۸) نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق اسید فولیک (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به تنهایی منجر به کاهش خطای حافظه مرجع در مرحله اکتساب در موش‌های صحرایی آلزایمری گردید و هیچ تأثیری بر کاهش خطای حافظه کاری نداشت. در حالی که 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.^(۳۹)

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 گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. در حقیقت، اجزای درمان ترکیبی که

پژوهش، احتمالاً به دلیل تفاوت نوع تزریق و عامل زمان بوده است. همچنین تفاوت در مدل اختلال حافظه القایی و نیز دستگاه مورد استفاده جهت بررسی حافظه فضایی از مواردی هستند که در ایجاد نتایج متفاوت در پژوهش دخیل می‌باشند. در مطالعه ما، تجویز توأم دونپزیل و اسید فولیک منجر به بهبود پارامترهای حافظه فضایی در آزمون ماز شعاعی هشت بازویی گردید. از آنجایی که اسید فولیک پیش‌ساز کوآنزیم Q10 است و اثر مهارتی کوآنزیم Q10 بر آنزیم استیل‌کولین استراز اثبات شده است؛^(۳۳) به نظر می‌رسد که اسید فولیک باعث تقویت اثر مهارتی دونپزیل بر آنزیم استیل‌کولین استراز می‌شود و حافظه فضایی را بهبود می‌بخشد.

* سپاس‌گزاری:

این مطالعه با کُد اخلاق شماره EE/97.24.3.17933 از دانشگاه شهید چمران اهواز 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

هر کدام جداگانه بر سیستم‌های نورونی مجزایی اثر می‌گذارند ممکن است اثر درمانی مفیدتری نسبت به درمان‌های مجزا داشته باشند. به‌کارگیری مقادیر بی‌اثر هر کدام از داروها می‌تواند دارای اثر افزایشی معنی‌دار بر یادگیری و حافظه و همچنین کاهش عوارض جانبی جداگانه هر کدام از داروها باشد.^(۳۷)

بررسی‌ها نشان داده است که سطح اسید فولیک به‌طور چشمگیری در خون بیماران آلزایمر کاهش می‌یابد. کاهش سطح اسید فولیک به‌طور قابل توجهی نورون‌ها را در هیپوکامپ مهار می‌کند و بر متابولیسم انتقال‌دهنده‌های عصبی مانند استیل‌کولین تأثیر می‌گذارد.^(۳۰) همچنین بررسی‌هایی نشان داده که رژیم غذایی فاقد اسید فولیک منجر به کاهش سطح نوروترانسمیتر استیل‌کولین در ناحیه هیپوکامپ موش‌های صحرایی بالغ گردید.^(۳۱) علاوه بر این، شواهد قوی در مورد اثرهای آنتی‌اکسیدانی این ویتامین وجود دارد.^(۳۲) اسید فولیک یکی از پیش‌سازهای مهم برای سنتز آنتی‌اکسیدان کوآنزیم Q10 در بدن است. اسید فولیک همچنین در تولید سایر آنتی‌اکسیدان‌های قوی مانند آلفا توکوفرول نقش دارد.^(۳۹) مطالعه‌ها بر روی اثرهای کوآنزیم Q10 در اختلال شناختی نشان داده است که کوآنزیم Q10 به‌طور قابل توجهی اختلال‌های شناختی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین در هیپوکامپ را کاهش می‌دهد.^(۳۳)

مطالعه‌های قبلی نشان داده است که پیش‌درمان با کوآنزیم Q10، فعالیت آنزیمی استیل‌کولین استراز را در موش‌های مبتلا به اختلال‌های شناختی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین مهار می‌کند؛^(۳۴) این یافته نشان می‌دهد که کوآنزیم Q10 دارای اثرهای حفاظت‌کننده بر نورون‌های کولینرژیک می‌باشد. در مطالعه حاضر، تیمار با اسید فولیک به تنهایی نتوانست اختلال‌های یادگیری و حافظه را در موش‌های مدل بیماری آلزایمر بهبود بخشد. با توجه به این‌که در پژوهش حاضر از تزریق داخل صفاقی دارو استفاده شده و مدت زمان تیمار ۵ روز بوده، علت تفاوت نتیجه گزارش‌های ارایه شده با نتیجه این

- 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, Nagykerly 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, Semnani 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

- 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 A-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 acetylcholinesterase 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

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.