

بررسی اثر تجویز داخل بینی انسولین بر روی حافظه فضایی در مدل حیوانی بیماری آلزایمر؛ نقش بیوژنز میتوکندری

فائقه شاهرضایی (M.Sc)، المیرا بیرامی* (Ph.D)، دلارام اسلیمی اصفهانی (Ph.D)

- گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۴/۴

Elmira.beirami@khu.ac.ir

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۸۶۰۷۲۷۰۹

چکیده

هدف: بیماری آلزایمر شایع‌ترین بیماری تحلیل برنده عصبی است که با اختلالات پیش‌رونده شناختی و کاهش حافظه همراه است. انسولین به دلیل اثرات ضدالتهابی، شناختی و محافظتی خود اخیراً مورد توجه زیادی قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تجویز داخل بینی انسولین بر عملکردهای شناختی و بیوژنز میتوکندری در موش‌های صحرایی تیمار شده با استرپتوزوتوسین (STZ) بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، از ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. به منظور القاء مدل حیوانی بیماری آلزایمر، STZ به صورت دوطرفه در بطن‌های جانبی تزریق شد (۳mg/rat؛ ۳µl در هر بطن). ماز آبی موریس جهت بررسی اختلالات شناختی و تایید القاء مدل حیوانی بیماری آلزایمر مورد استفاده قرار گرفت. تیمار توسط تجویز داخل بینی انسولین (۲IU/rat/day؛ ۱۰µl در هر مجرای بینی) پس از تزریق STZ و به مدت ۱۴ روز متوالی انجام گرفت. تغییر در بیان ژن‌های دخیل در بیوژنز میتوکندری (PGC-1α، NRF-1 و TFAM) در ناحیه هیپوکامپ، توسط تکنیک Real-time PCR اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که تزریق STZ منجر به اختلال در حافظه فضایی همراه با کاهش بیان ژن‌های دخیل در بیوژنز میتوکندری در هیپوکامپ موش‌ها شد. در حالی که، تجویز داخل بینی انسولین باعث کاهش اختلالات شناختی و افزایش بیان ژن‌های دخیل در بیوژنز میتوکندری در هیپوکامپ حیوانات تیمار شده با STZ گردید. نتیجه‌گیری: انسولین احتمالاً می‌تواند از طریق تأثیر بر مسیر بیوژنز میتوکندری سبب کاهش اختلالات شناختی ناشی از STZ شود، بنابراین می‌تواند به عنوان هدف مهمی برای کاهش نقایص شناختی در بیماران آلزایمری مورد توجه بیش‌تری قرار بگیرد.

واژه‌های کلیدی: انسولین، بیماری آلزایمر، اختلالات شناختی، بیوژنز میتوکندری

مقدمه

مولکولی، پاتولوژیکی و رفتاری بیماران آلزایمری را نشان می‌دهد [۴]. در این خصوص می‌توان به بروز استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی، تجمع پروتئین تائو هایپرفسفریله شده، مقاومت به انسولین و نیز اختلالات شناختی اشاره نمود [۵]. از این رو تزریق درون بطنی STZ می‌تواند مدل حیوانی مناسبی را برای القاء بیماری آلزایمر و مطالعه سیگنالینگ‌های مولکولی تخریب شده در این بیماری ارائه دهد [۳].

وجود میتوکندری در سلول‌های عصبی از اهمیت بالایی برخوردار بوده و به عنوان یک اندامک دینامیک برای سلول محسوب می‌شود [۶]. به فرایند افزایش تعداد میتوکندری‌ها بیوژنز میتوکندری می‌گویند که برای رخدادهایی همچون تولید انرژی، سیگنالینگ کلسیم و چرخه پیری ضروری بوده و می‌تواند توسط استرس‌های محیطی تحت تأثیر قرار بگیرد [۷]. به عنوان مثال گزارش شده است که در وضعیت بالا رفتن

بیماری آلزایمر یک بیماری تحلیل‌برنده سیستم عصبی است که با کاهش عملکردهای شناختی و تغییر در رفتار نمایان می‌شود. این بیماری با از بین رفتن غیرقابل برگشت نورون‌ها، کاهش سیناپس‌ها و زوال تدریجی توانایی‌های ذهنی از جمله یادگیری و حافظه همراه است [۱]. تجمع پلاک‌های آمیلوئیدی، استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی و نیز اختلال در عملکرد میتوکندری از ویژگی‌های نوروپاتولوژیک این بیماری می‌باشند که می‌توانند منجر به مرگ نورونی شوند [۲].

استرپتوزوتوسین (STZ) یک ترکیب گلوکز آمین نیتروز آورده است که خواص ضد باکتریایی و ضد توموری داشته و از طریق آلکیلاسیون DNA می‌تواند منجر به نکروز سلولی شود [۳]. گزارش شده است که تزریق درون بطنی STZ جذب گلوکز مغزی را کاهش داده و نیز اثرات متعددی مشابه با ویژگی‌های

حیوانات آزمایشگاهی و شرایط نگهداری آنها. در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم، خریداری شده از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه خوارزمی، استفاده شد. حیوانات در حیوان‌خانه‌ای با دمای $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی 50 ± 10 درصد و دوره تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته در گروه‌های چهارتایی و در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. در تمامی مدت نگهداری به‌جز هنگام آزمایش، حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موش‌ها را داشتند. تست‌های رفتاری بین ساعات ۹ صبح تا ۳ عصر انجام گرفتند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه خوارزمی با کد اخلاق IR.KHU.REC.1401.028 مورد تایید قرار گرفت.

داروها. در این مطالعه از STZ (سیگما، آمریکا)، انسولین (Ins) (شرکت داروسازی اکسیر، ایران)، کتامین هیدروکلراید و زایلازین (شرکت نتوژن، ایران) استفاده شد. STZ بلافاصله قبل از تزریق در نرمال سالین ۰/۹ درصد حل شد.

گروه‌های مورد مطالعه. در این مطالعه موش‌ها در ۴ گروه ۸ تایی به ترتیب زیر قرار گرفتند: ۱- گروه کنترل (Control): تزریق درون بطنی نرمال سالین ($3 \mu\text{l}$ در هر بطن) + تجویز داخل بینی نرمال سالین ($10 \mu\text{l}$ در هر مجرای بینی)، ۲- گروه STZ بدون تیمار (STZ): تزریق درون بطنی 3 mg/rat STZ؛ ۳- $3 \mu\text{l}$ در هر بطن) + تجویز داخل بینی نرمال سالین ($10 \mu\text{l}$ در هر مجرای بینی)، ۳- گروه STZ و تیمار با انسولین (STZ+Ins): تزریق درون بطنی 3 mg/rat STZ؛ $3 \mu\text{l}$ در هر بطن) + تجویز داخل بینی انسولین (2 IU/rat/day ؛ $10 \mu\text{l}$ در هر مجرای بینی)، ۴- گروه انسولین (Ins): تزریق درون بطنی نرمال سالین ($3 \mu\text{l}$ در هر بطن) + تجویز داخل بینی انسولین (2 IU/rat/day ؛ $10 \mu\text{l}$ در هر مجرای بینی). تجویز داخلی بینی انسولین توسط میکروپیت، بعد از تزریق درون بطنی STZ و به مدت ۱۴ روز متوالی انجام گرفت. به این ترتیب که هر حیوان هوشیار روزانه $20 \mu\text{l}$ انسولین، محتوی ۲ واحد انسولین (IU2)، را در مجاری بینی دریافت می‌نمود ($10 \mu\text{l}$ در هر مجرای بینی) [۱۴]. پروتکل زمان‌بندی تجویز داروها، انجام تست‌های رفتاری و مطالعات مولکولی در شکل ۱ ارائه شده است.

جراحی استریوتاکس. حیوانات با استفاده از تزریق داخل صفاقی ترکیب کتامین هیدروکلراید (80 mg/kg) و زایلازین (20 mg/kg) بی‌هوش شدند و سپس در دستگاه استریوتاکس (Stoelting, USA) قرار گرفتند. پس از تعیین نقاط برگما و لامبدا، مختصات محل‌های مورد نظر برای تزریق درون بطنی STZ (3 mg/rat ؛ $3 \mu\text{l}$ در هر بطن) توسط سرنگ همیلتون، طبق اطلس پاکسینوس به قرار زیر مشخص شد:

استرس اکسیداتیو پاسخ‌های هومئوستازی از قبیل بیوژنز میتوکندری در سلول‌های عصبی فعال شده و موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سلول و نهایتاً افزایش تعداد میتوکندری‌ها می‌شود [۸]. PGC-1 α به عنوان تنظیم‌کننده اصلی بیوژنز میتوکندری، فعال‌کننده فاکتورهای رونویسی هم‌چون فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ۱ و ۲ (NRF1,2) و فاکتور رونویسی میتوکندری (TFAM) می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که هرگونه اختلال در عملکرد PGC-1 α منجر به اختلال در عملکرد میتوکندری، متابولیسم انرژی و نهایتاً مرگ نورون می‌شود [۹]. هم‌چنین گزارش شده است که نقص در عملکرد میتوکندری و یا نقص در هر یک از مسیرهای درگیر در بیوژنز میتوکندری می‌تواند منجر به بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی هم‌چون بیماری آلزایمر شود [۱۰].

تا سه دهه قبل تصور بر این بود که انسولین تنها یک هورمون محیطی است که توسط سلول‌های بتا لانگرهانس به گردش خون ترشح شده و قادر به عبور از سد خونی مغزی نمی‌باشد. اکنون شواهد زیادی مبنی بر عبور انسولین از سد خونی مغزی توسط مکانیسم وابسته به رسپتور وجود دارد [۱۱]. هم‌چنین مطالعات نشان داده‌اند که انسولین در مغز توسط نورون‌های هرمی هیپوکامپ، کورتکس پره فرونتال و نورون‌های پیاز بویایی سنتز شده و دارای اثرات مهمی از جمله تنظیم رشد زوائد نورونی، تنظیم انتقال سیناپسی، مهار آپوپتوز و نیز مهار دژنراسیون نورونی است [۱۲]. بعلاوه حضور انسولین و گیرنده‌های مربوط به آن در هیپوکامپ و کورتکس مغزی دلالت بر اهمیت انسولین در پدیده‌های شناختی همچون حافظه و یادگیری دارد [۱۲]، به‌طوری‌که سطوح کاهش یافته انسولین و یا اختلال در سیگنالینگ آن در بیماری‌های نورودژنراتیو هم‌چون آلزایمر گزارش شده است [۱۳]. با توجه به عدم شناسایی کامل مکانیسم‌های مولکولی زمینه‌ساز بیماری آلزایمر و نیز با توجه به اهمیت بیوژنز میتوکندری در فرایندهای شناختی، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تجویز داخل بینی انسولین بر روی حافظه فضایی و میزان بیان ژن‌های دخیل در بیوژنز میتوکندری در موش‌های تیمار شده با STZ بود، تا مشخص شود آیا انسولین می‌تواند از طریق تعدیل بیان فاکتورهای دخیل در بیوژنز میتوکندری موجب بهبود و یا کاهش نقایص شناختی در یک مدل حیوانی از بیماری آلزایمر گردد یا خیر.

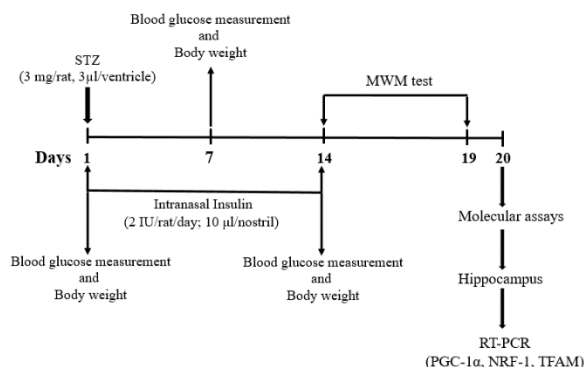
مواد و روش‌ها

موش صرف یافتن سکو می‌کرد، تحت عنوان Escape (Latency) ثبت شده و به عنوان شاخصی برای ارزیابی حافظه فضایی مورد استفاده قرار گرفت. ۳) مرحله به خاطر آوری یا پروب، در این مرحله موش از ربع مقابل ربع هدف به درون ماز رها شد و ۶۰ ثانیه فرصت داشت تا در تانک شنا کند. شاخص‌هایی که برای ارزیابی حافظه فضایی در این مرحله اندازه‌گیری شدند، شامل: مدت زمان صرف شده در ربع هدف (Time in target quadrant)، تعداد دفعات عبور حیوان از جایگاه قبلی سکو (Number of crossing) و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان برای اولین بار از جایگاه قبلی سکو عبور کند (Latency to first crossing) بودند. ۳۰ دقیقه بعد از مرحله به خاطر آوری، برای سنجش توانایی‌های حسی - حرکتی و انگیزشی حیوان، ارزیابی قوه بینایی حیوانات با سکوی آشکار انجام شد. برای انجام این آزمون، سکو در مکانی متفاوت از مرحله قبلی و ۱ cm بالاتر از سطح آب قرار گرفت و سپس به حیوان اجازه داده شد تا به مدت ۶۰ ثانیه شنا کرده و سکو را با استفاده از محرک‌های بصری شناسایی نماید. زمان رسیدن به سکو به عنوان Escape latency ثبت شد [۱۷].

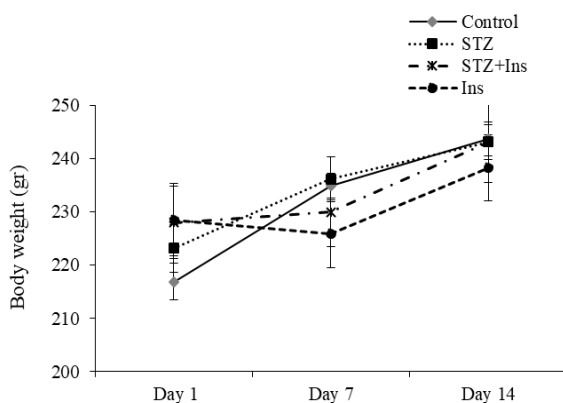
تکنیک **Real-Time PCR (RT-PCR)** ۲۴ ساعت پس از اتمام تست‌های رفتاری، حیوانات با تزریق داخل صفاقی ترکیب کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند و در ظرف مدت کوتاهی هیپوکامپ آن‌ها خارج و به مدت ۲۴ ساعت در تانک ازت مایع قرار گرفت و سپس به فریزر 80°C منتقل شد. در این مطالعه استخراج RNA از بافت هیپوکامپ بر اساس پروتکل کیت استخراج RNA شرکت پارس طوس (Total RNA Extraction Kit, pars tous) کیفیت و کمیت و RNA استخراج شده به ترتیب توسط دستگاه نانودراپ و ژل آگارز ۱ درصد ارزیابی شد. سنتز cDNA با استفاده از یک میکروگرم RNA، طبق دستورالعمل کیت شرکت پارس طوس (Easy cDNA Synthesis Kit, pars tous) انجام شد. جهت اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های دخیل در بیوزنز میتوکندری ($\text{PGC-1}\alpha$ ، NRF-1 و TFAM) تکنیک RT-PCR مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۱۵ μl تشکیل شد، که شامل ۲ μl cDNA، ۱ μl از پرایمرهای Forward و Reverse، ۷/۵ μl مسترمیکس حاوی Sybergreen و ۳/۵ μl آب مقطر دو بار تقطیر بود. واکنش با استفاده از دستگاه

از اتمام تزریق، حدود ۱ دقیقه سرنگ در محل تزریق باقی ماند تا ماده تزریق شده به خارج از ناحیه پس‌زده نشود، سپس محل جراحی بخیه و استریل شد. انتخاب دوز STZ (۳ mg/rat) و تزریق آن به صورت تک دوز در روز اول، جهت القاء مدل حیوانی بیماری آلزایمر، بر اساس مطالعات قبلی انجام گرفت [۱۶، ۱۵، ۳].

شکل ۱. پروتکل زمانبندی تجویز داروها و انجام تست‌های رفتاری و مطالعات مولکولی



ارزیابی حافظه فضایی. برای ارزیابی حافظه فضایی از تست ماز آبی موریس (Morris water maze; MWM) استفاده شد. این تست شامل یک تانک شنا با پوشش داخلی سیاه رنگ با قطر ۲۵۲ cm و عمق ۶۲ cm است، که حدوداً ۴۵ cm از آن با آبی با دمای تقریبی 20°C پر می‌شود. ماز به چهار قسمت مساوی و هم‌چنین چهار نقطه شروع تقسیم می‌شود. یک سکوی پنهان دایره‌ای شکل با قطر ۲۲ cm در مرکز ربع هدف و با فاصله ۲ cm در زیر آب قرار گرفته است، که تنها راه نجات حیوان از غرق شدن است. علائم فضایی متنوعی بر روی دیواره اتاقی که ماز در آن قرار دارد، تعبیه شده است که به حیوان در زمان استراحت بر روی سکو کمک می‌کند تا بتواند سکوی پنهان را مسیریابی کند. در طول انجام تست، مسیر حرکت حیوان توسط دوربینی که در بالای ماز نصب شده است، ردیابی و ثبت می‌شود. در این مطالعه، این تست در ۶ روز متوالی و در ۳ مرحله متفاوت به ترتیب زیر انجام گرفت: ۱) مرحله آشنایی، در این مرحله موش به مدت ۶۰ ثانیه در درون تانک قرار گرفت تا آزادانه در محیط ماز شنا کرده و با محیط آن آشنا شود. ۲) مرحله آموزش یا یادگیری، در این مرحله موش از یک محل مشخص به درون ماز رها شد و ۶۰ ثانیه فرصت داشت تا سکو را پیدا کند و اگر موفق به این کار نمی‌شد، به سمت سکو راهنمایی شده و برای مدت ۲۰ ثانیه اجازه استراحت بر روی سکو به حیوان داده شد. این مرحله به مدت ۴ روز و هر روز در ۴ مرحله تکرار شد. در طول این ۴ روز مدت زمانی که



شکل ۲. اثر تزریق درون بطنی STZ و تجویز داخل بینی انسولین بر روی وزن بدن حیوانات. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در وزن بدن حیوانات در بین گروه‌های مختلف وجود نداشت.

تجویز داخل بینی انسولین تغییری در سطح گلوکز خون محیطی حیوانات ایجاد نکرد. در مطالعه حاضر برای اطمینان از عدم تغییر گلوکز خون محیطی و عدم ایجاد هایپوگلیسمیا، که ممکن است فعالیت‌های رفتاری حیوانات را تحت تاثیر قرار بدهند، ۳۰-۴۰ دقیقه بعد از تجویز داخل بینی انسولین/نرمال سالیین گلوکز خون توسط خون‌گیری از دم حیوان هوشیار و با استفاده از دستگاه گلوکومتر (Accu-Chek Go (Roche) (glucometer) اندازه‌گیری شد (حدود ۱۵-۲۰ دقیقه طول می‌کشد تا انسولین در رت از راه بینی وارد مغز شود [۱۹]). نتایج آزمون آماری ANOVA یک طرفه نشان داد که تجویز داخل بینی انسولین/نرمال سالیین تغییری در میزان گلوکز خون محیطی حیوانات گروه‌های مختلف ایجاد نکرد [P > ۰/۰۵، F(۳،۲۸) = ۰/۷۳۸، (جدول ۲)].

جدول ۲. اثر تجویز داخل بینی انسولین بر روی گلوکز خون محیطی. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان گلوکز خون محیطی در بین گروه‌های آزمایشی مختلف وجود نداشت.

Group	Blood Glucose (mg/dl)
Control	128.63 ± 1.36
STZ	127.25 ± 1.37
STZ+Ins	126.88 ± 1.38
Ins	126 ± 0.91

تجویز داخل بینی انسولین منجر به کاهش اختلال در یادگیری و حافظه فضایی در موش‌های تیمار شده با STZ گردید. آنالیز آماری داده‌ها توسط Repeated measures ANOVA در روزهای یادگیری تست ماز آبی موریس نشان داد که حیوانات در تمامی گروه‌ها با گذشت زمان بهبودی در یادگیری را از نظر زمان سپری شده جهت رسیدن به سکو در طول روزهای مختلف نشان دادند [P < ۰/۰۰۱، F(۲/۳۹۴،۶۷/۰۲) = ۴۹/۹۲، هم‌چنین تفاوت معنی‌داری در

Applied Biosystems Step One, USA و برنامه زمانی و دمایی ۹۵ °C به مدت ۱۵ دقیقه (۱ چرخه)، تکرار ۴۰ چرخه شامل: ۹۵ °C به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰ °C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه (جدول ۱)، به کمک نرم‌افزار Oligo analysis طراحی و توسط شرکت تکاپوزیست سنتز شدند. پس از پایان واکنش نتایج بیان ژن به صورت کمی به دست آمد و آنالیز آن‌ها با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام گرفت. نتایج تمام ژن‌ها نسبت به ژن بتا-اکتین، به عنوان کنترل داخلی، نرمالایز شد و سپس مقایسه بین گروه‌ها انجام گرفت [۱۸].

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
PGC-1 α	GTGCAGCCAAGACTCTGTATGG	GTCCAGGTCATTTCATCAAGTTC
NRF-1	AAATTGGGCCACATTACAGGG	GTTCATCTCTCGAGAAGCG
TFAM	AGAGTTGTCATTGGGATTGG	CATTTCAGTGGCCAGAAGTC
β -actin	TCTATCCTGGCTCACTGTC	AACGCAGCTCAGTAACACTCC

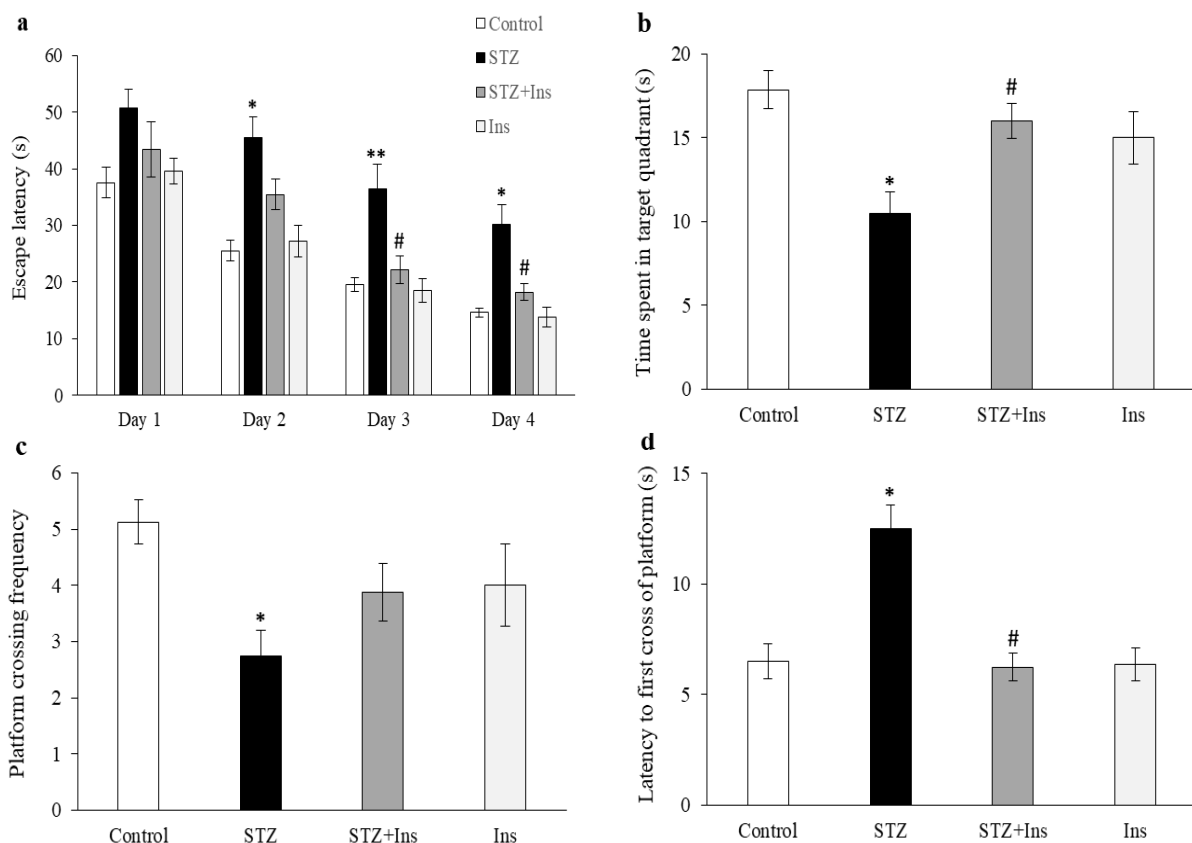
روش تجزیه و تحلیل داده‌ها. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد. آزمون واریانس یک طرفه و دوطرفه جهت آنالیز داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت و در صورت معنادار شدن از آزمون تعقیب توکی برای مشخص شدن تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنادار بودن در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت Mean \pm SEM بیان شدند.

نتایج

تزریق درون بطنی STZ و تجویز داخل بینی انسولین تغییری در وزن بدن حیوانات ایجاد نکرد. به منظور بررسی اثر تزریق درون بطنی STZ و هم‌چنین تجویز داخل بینی انسولین بر وزن بدن حیوانات، در تمامی گروه‌ها وزن حیوانات در روز ۱ (قبل از جراحی)، روز ۷ و هم‌چنین بعد از آخرین تجویز داخل بینی انسولین (روز ۱۴) اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری Repeated-measures ANOVA نشان داد که گذشت زمان و تزریق داروها تغییری در وزن بدن حیوانات گروه‌های مختلف ایجاد نکردند (شکل ۲). اثر درمان بر روی وزن بدن [P > ۰/۰۵، F(۳،۲۸) = ۱/۵۲۷، P > ۰/۰۵]، اثر زمان بر روی وزن بدن [P > ۰/۰۵، F(۳،۲۸) = ۰/۴۱۹، اثر تیمار \times زمان بر روی وزن بدن [P > ۰/۰۵، F(۳،۲۸) = ۰/۵۳۴].

یافتند (شکل ۳b و ۳c). حیوانات گروه STZ هم‌چنین در مقایسه با گروه کنترل مدت زمان بیشتری را جهت عبور از جایگاه قبلی سکو در روز آزمون صرف کردند [0.05 P]. (شکل ۳d) $F(3,28) = 3/418, P < 0.05$ بین انسولین به مدت ۱۴ روز، به طور چشم‌گیری سبب بهبود پارامترهای مذکور در حیوانات تیمار شده با STZ گردید (شکل ۳b و ۳c) $P < 0.05$. لازم به ذکر است که این بهبودی در رابطه با تعداد دفعات عبور از جایگاه قبلی سکو از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$) (شکل ۳c). حیواناتی که انسولین را به تنهایی دریافت کرده بودند، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را در پارامترهای مذکور نسبت به گروه کنترل نشان ندادند ($P > 0.05$). هم‌چنین تفاوت معنی‌داری در ارزیابی قوه بینایی حیوانات با سکوی آشکار و نیز سرعت شنای حیوانات مشاهده نشد (نتایج گزارش نشده‌اند).

بین گروه‌های مختلف در طی روزهای یادگیری مشاهده شد [0.01 P] $F(3,28) = 12/63$ آنالیز بین گروهی نشان داد که حیوانات گروه STZ در مقایسه با گروه کنترل در روزهای ۲ تا ۴ به طور معنی‌داری مدت زمان بیشتری را جهت رسیدن به سکو (Escape latency) صرف کردند (به ترتیب $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.05$) (شکل ۳a). نتایج ما هم‌چنین آشکار نمود که تجویز داخل بینی انسولین به حیوانات تیمار شده با STZ سبب کاهش میزان Escape latency در طی ۴ روز آموزش در مقایسه با گروه STZ شد، که این کاهش در روزهای ۳ و ۴ از لحاظ آماری در سطح معنی‌داری قرار داشت ($P < 0.05$) (شکل ۳a). در روز به خاطر آوری (پروپ)، نتایج آزمون آماری ANOVA یک طرفه نشان داد که مدت زمان گذرانده شده در ربع هدف [0.05 P] $F(3,28) = 4/107$ و نیز تعداد دفعات عبور از جایگاه قبلی سکو [0.05 P] $F(3,28) = 2/236$ در گروه STZ در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش



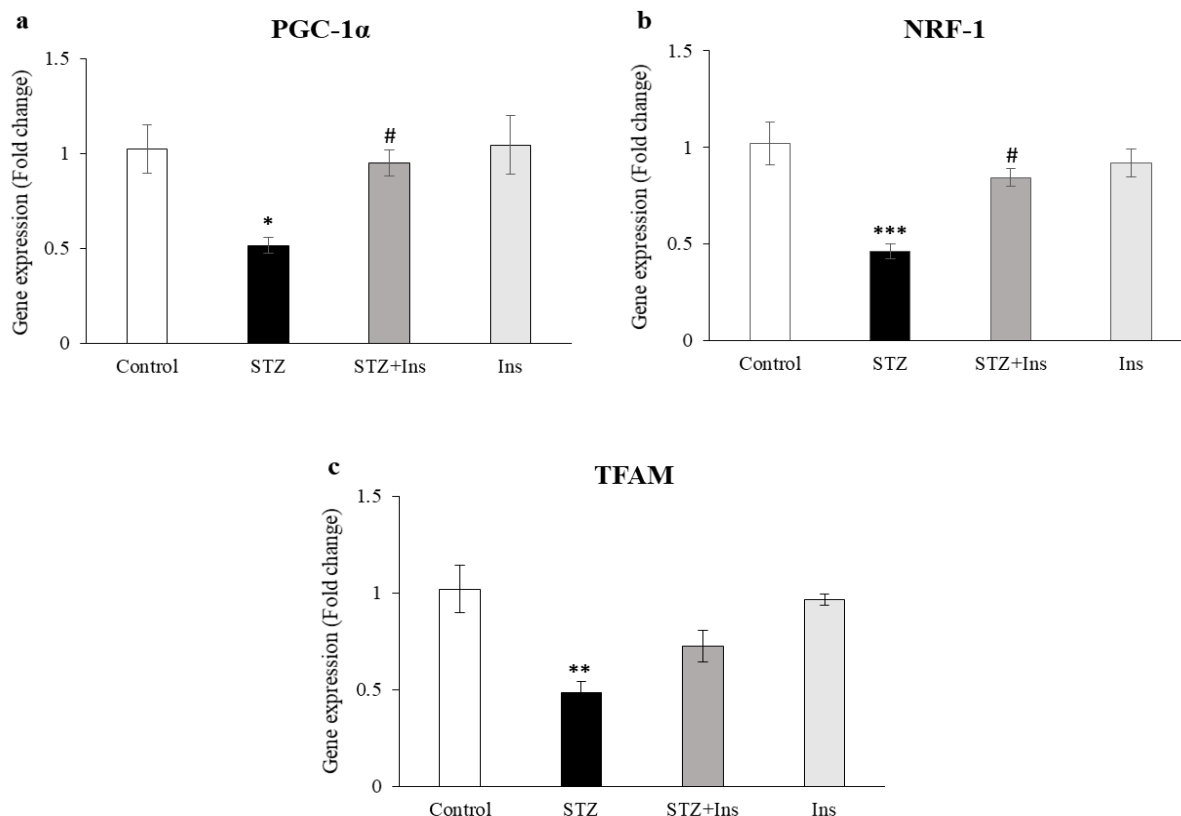
شکل ۳. اثر تجویز داخل بینی انسولین بر روی اختلالات شناختی ناشی از تزریق درون بطنی STZ. تجویز داخل بینی انسولین به موش‌های تیمار شده با STZ سبب کاهش دیرکرد رسیدن به سکو در طول روزهای آموزش (a)، افزایش مدت زمان گذرانده شده در ربع هدف (b) و کاهش دیرکرد اولین ورود به ربع هدف (d) شد، اما تعداد دفعات عبور از ربع هدف را از لحاظ آماری کاهش نداد (c). $P < 0.05$ و $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل، $P < 0.05$ در مقایسه با گروه STZ.

STZ گردید. آزمون آماری ANOVA یک طرفه نشان داد که تزریق درون بطنی STZ منجر به کاهش معنی‌دار در بیان

تجویز داخل بینی انسولین سبب افزایش بیان ژن‌های دخیل در بیوزنز میتوکندری در هیپوکامپ موش‌های تیمار شده با

نسبت به گروه STZ شد ($P < 0.05$)، اما این افزایش در مورد ژن TFAM از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). در واقع انسولین توانست تا حدود زیادی اختلال در بیوژنز میتوکندری ناشی از تزریق STZ را کاهش دهد. انسولین به تنهایی تاثیری بر روی بیان ژن‌های مذکور نسبت به گروه کنترل نداشت ($P > 0.05$).

ژن‌های PGC-1 α [$F(3,12) = 5/236, P < 0.05$] (شکل ۴a)، NRF-1 [$F(3,12) = 11/069, P < 0.001$] (شکل ۴b) و TFAM [$F(3,12) = 9/091, P < 0.01$] (شکل ۴c) در هیپوکامپ موش‌ها شد. به طور جالب توجهی تجویز داخل بینی انسولین به حیوانات تیمار شده با STZ منجر به افزایش بیان ژن‌های دخیل در بیوژنز میتوکندری در هیپوکامپ این حیوانات



شکل ۴. اثر تجویز داخل بینی انسولین بر روی اختلالات بیوژنز میتوکندری ناشی از تزریق درون بطنی STZ. تجویز داخل بینی انسولین به موش‌های تیمار شده با STZ منجر به افزایش بیان ژن PGC-1 α (a) و NRF-1 (b) نسبت به گروه STZ شد، اما افزایش بیان ژن TFAM از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (c). (* $p < 0.05$ ، ** $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل، # $p < 0.05$ در مقایسه با گروه STZ).

قرار داده و می‌تواند با تخریب سلول‌های عصبی و القاء اختلالات شناختی باعث بروز بیماری‌های نورودژنراتیو هم‌چون بیماری آلزایمر شوند [۲۲]. تاکنون مطالعات انجام شده در رابطه با تاثیر STZ بر روی عملکردهای میتوکندری، به‌خصوص بیوژنز میتوکندری، بسیار محدود می‌باشند، بنابراین یکی از اهداف مطالعه حاضر این بود که آیا STZ می‌تواند با اثر بر روی بیان ژن‌های دخیل در بیوژنز میتوکندری سبب اختلالات شناختی شود یا خیر. نتایج مطالعه ما نشان داد که تزریق درون بطنی STZ منجر به کاهش بیان ژن‌های دخیل در بیوژنز میتوکندری هم‌چون PGC-1 α ، NRF-1 و TFAM در هیپوکامپ موش‌ها شد، که دلالت بر تاثیر STZ در کاهش بیوژنز میتوکندری دارد. در این راستا، مطالعه‌ای نشان داده است که تزریق درون بطنی STZ به موش‌های صحرایی با

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بخش رفتاری مطالعه حاضر نشان داد که تزریق درون بطنی STZ موجب ایجاد اختلال در حافظه فضایی موش‌ها در تست ماز آبی موریس شد. در توافق با یافته‌های ما، مطالعات نشان داده‌اند که تزریق درون بطنی STZ با تغییرات رفتاری بسیاری همراه می‌باشد، به‌طوری‌که اختلال در حافظه و یادگیری ناشی از تزریق STZ در موش‌های صحرایی به طور گسترده‌ای گزارش شده است [۳، ۲۰، ۱۶، ۱۵]. مطالعات هم‌چنین نشان داده‌اند که موش‌های تیمار شده با تزریق درون بطنی STZ طیف وسیعی از تغییرات پاتولوژیک هم‌چون افزایش فسفوریلاسیون پروتئین تائو، مقاومت به انسولین، التهاب عصبی، استرس اکسیداتیو و نقص در سیستم کولینرژیک را نشان می‌دهند [۲۱]. تمامی این عوامل پاتولوژیک عملکردهای عصبی را تحت تاثیر

[۲۹]. مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که تجویز داخل بینی انسولین با کاهش التهاب عصبی، کاهش بیان پروتئین آمیلوئید بتا، کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش آپوپتوز، افزایش بیان فاکتورهای نوروتروفیک و نیز افزایش بیان فاکتورهای دخیل در مسیر سیگنالینگ انسولین سبب بهبود حافظه فضایی در موش‌های صحرایی مدل بیماری آلزایمر می‌شود [۱۴،۳۰].

در این مطالعه هم‌چنین اثر تجویز داخل بینی انسولین بر روی بیان ژن‌های دخیل در بیوزنز میتوکندری مورد بررسی قرار گرفت، تا مشخص شود آیا انسولین می‌تواند با تاثیر بر روی مسیر بیوزنز میتوکندری سبب کاهش اختلالات شناختی ناشی از STZ شود. نتایج مطالعه ما نشان داد که تجویز داخل بینی انسولین به حیوانات تیمار شده با STZ سبب افزایش معنی‌دار در بیان ژن‌های دخیل در بیوزنز میتوکندری در هیپوکامپ این حیوانات شد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که انسولین در انجام عملکردهای میتوکندری دخیل می‌باشد، به طوری که عدم حضور انسولین باعث دپلاریزاسیون میتوکندری و به دنبال آن تولید رادیکال‌های آسیب‌رسان ROS می‌شود [۳۱]. مطالعه‌ی دیگر نیز بیان کاهش یافته $PGC-1\alpha$ و $NRF-1$ را در مقاومت به انسولین و در بیماران دیابتی نشان داده است [۹]. به علاوه گزارشاتی مبنی بر دخالت انسولین در عملکرد فاکتورهای $eNOS$ و $CREB$ ، که در فعال‌سازی $PGC-1\alpha$ و بیوزنز میتوکندری دخیل هستند، وجود دارد [۳۲]. از طرفی مشاهده شده است که اختلال در مسیرهای سیگنالینگ انسولین، به‌خصوص مسیر $PI3K/Akt$ ، با تحت تاثیر قرار دادن عملکردهای میتوکندری می‌تواند منجر به بروز اختلال در فرایندهای شناختی هم‌چون حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی شود [۳۳].

با توجه به نقش مهم التهاب عصبی در بروز بیماری‌های نورودژنراتیو هم‌چون بیماری آلزایمر، از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به انجام مطالعات ایمونوهیستوشیمی و ارزیابی بیان فاکتورهای دخیل در التهاب عصبی در بافت هیپوکامپ گروه‌های مورد بررسی در این مطالعه اشاره نمود، که انجام آن برای مطالعات آتی پیشنهاد می‌شود.

به طور کلی، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تزریق درون بطنی STZ منجر به اختلال در حافظه فضایی موش‌های صحرایی در تست ماز آبی موریس شد که با اختلال در مسیر بیوزنز میتوکندری همراه بود. در صورتی که تجویز داخل بینی انسولین به طور چشمگیری منجر به افزایش توانایی یادگیری و حافظه فضایی و نیز افزایش بیان ژن‌های دخیل در بیوزنز میتوکندری در هیپوکامپ موش‌های تیمار شده با STZ گردید. بنابراین تجویز داخل بینی انسولین می‌تواند به عنوان یک راه‌کار

ایجاد اختلال در فعالیت آنزیم‌های میتوکندری مغز منجر به بروز اختلالات شناختی در این موش‌ها می‌شود [۲۳]. بعلاوه گزارش شده است که در مدل حیوانی بیماری آلزایمر القاء شده با STZ، ناهنجاری‌های میتوکندری هم‌چون مورفولوژی غیرطبیعی، کاهش بیوستتز آدنوزین تری فسفات (ATP) و تجمع ROS مشاهده می‌شود [۲۴]. هم‌چنین نشان داده شده است که اختلال در عملکرد میتوکندری و بروز استرس اکسیداتیو نقش‌های اساسی را در آسیب‌شناسی بیماری‌های نورودژنراتیو ایفاء می‌کنند [۲۲]. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر و یافته‌های مطالعات قبلی، این احتمال وجود دارد که STZ حداقل بخشی از اثرات خود در تخریب حافظه را با تاثیر بر روی بیوزنز میتوکندری اعمال کرده است. از این رو، یافتن راه‌کارهای درمانی که بتوانند منجر به کاهش اختلال در عملکردهای میتوکندری به‌خصوص بیوزنز میتوکندری شوند، می‌توانند از پیشرفت بیماری آلزایمر تا حدود زیادی جلوگیری نمایند.

در مطالعه حاضر جهت کاهش اختلالات شناختی ناشی از تزریق STZ از تجویز داخل بینی انسولین استفاده شد. طبق گزارشات اخیر تجویز داخل بینی انسولین روش مناسبی را برای مطالعه اثرات کوتاه‌مدت و بلندمدت انسولین بر روی بیماری‌های نورودژنراتیو هم‌چون بیماری آلزایمر فراهم می‌کند [۲۵]. در این روش تجویز، انسولین به راحتی وارد نواحی مختلف مغز هم‌چون نواحی درگیر در فرایندهای شناختی از جمله هیپوکامپ و کورتکس شده و برخلاف سایر روش‌های تزریق از جمله تزریق داخل وریدی و یا زیرجلدی، که روش‌های تهاجمی بوده و همراه با اثرات جانبی همانند هایپوگلیسمیا می‌باشند، در تجویز داخل بینی انسولین، میزان گلوکز خون محیطی و نیز انسولین بدون تغییر باقی می‌ماند [۲۶]. هم‌راستا با این گزارشات، نتایج حاصل از مطالعه ما نیز نشان داد که تجویز داخل بینی انسولین به مدت ۱۴ روز بدون ایجاد تغییر در میزان گلوکز خون محیطی منجر به کاهش اختلال در حافظه فضایی موش‌های تیمار شده با STZ گردید. در این خصوص مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که تیمار موش‌های صحرایی مدل بیماری آلزایمر با تجویز داخل بینی انسولین سبب بهبود یادگیری و حافظه در این حیوانات می‌شود [۱۴،۲۸،۲۷]. مطالعه‌ی دیگر نیز نشان داده است که تجویز داخل بینی انسولین، بدون تغییر در گلوکز خون محیطی، سبب بهبود حافظه در بیماران مبتلا به آلزایمر و نیز افرادی با اختلالات خفیف شناختی می‌شود [۲۵]. هم‌چنین گزارش شده است که تجویز داخل بینی انسولین به موش‌هایی با اختلال حافظه ناشی از ضربه مغزی (تروما) باعث بهبود حافظه، کاهش التهاب عصبی و نیز کاهش حجم ضایعه ناشی از تروما در هیپوکامپ این موش‌ها می‌شود

<https://doi.org/10.3892/etm.2016.3465>

PMid:27602077 PMCID:PMC4998213

[9] Halling JF, Pilegaard H. PGC-1 α -mediated regulation of mitochondrial function and physiological implications. *Appl Physiol Nutr Metab* 2020; 45: 927-936.

<https://doi.org/10.1139/apnm-2020-0005>

PMid:32516539

[10] Singulani MP, Pereira CP, Ferreira AF, Garcia PC, Ferrari GD, Alberici LC, et al. Impairment of PGC-1 α -mediated mitochondrial biogenesis precedes mitochondrial dysfunction and Alzheimer's pathology in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease. *Exp Gerontol* 2020; 133: 110882.

<https://doi.org/10.1016/j.exger.2020.110882>

PMid:32084533

[11] Duarte AI, Moreira PI, Oliveira CR. Insulin in central nervous system: more than just a peripheral hormone. *J Aging Res* 2012; 2012: 384017.

<https://doi.org/10.1155/2012/384017>

PMid:22500228 PMCID:PMC3303591

[12] Agrawal R, Reno CM, Sharma S, Christensen C, Huang Y, Fisher SJ. Insulin action in the brain regulates both central and peripheral functions. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2021; 321: 156-163.

<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00642.2020>

PMid:34056920 PMCID:PMC8321819

[13] Ferreira ST. Brain insulin, insulin-like growth factor 1 and glucagon-like peptide 1 signalling in Alzheimer's disease. *J Neuroendocrinol* 2021; 33: e12959.

<https://doi.org/10.1111/jne.12959>

PMid:33739563

[14] Rajasekar N, Nath C, Hanif K, Shukla R. Intranasal insulin administration ameliorates streptozotocin (ICV)-induced insulin receptor dysfunction, neuroinflammation, amyloidogenesis, and memory impairment in rats. *Mol Neurobiol* 2017; 54: 6507-6522.

<https://doi.org/10.1007/s12035-016-0169-8>

PMid:27730514

[15] Mehla J, Pahuja M, Gupta YK. Streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease: selection of appropriate dose. *J Alzheimers Dis* 2013; 33: 17-21.

<https://doi.org/10.3233/JAD-2012-120958>

PMid:22886014

[16] Verma V, Singh D, KH R. Sinaptic acid alleviates oxidative stress and neuro-inflammatory changes in sporadic model of Alzheimer's disease in rats. *Brain Sci* 2020; 10: 923.

<https://doi.org/10.3390/brainsci10120923>

PMid:33266113 PMCID:PMC7760902

[17] Ronaghi A, Zibaii MI, Pandamooz S, Nourzei N, Motamedi F, Ahmadiani A, et al. Entorhinal cortex stimulation induces dentate gyrus neurogenesis through insulin receptor signaling. *Brain Res Bull* 2019; 144: 75-84.

<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.11.011>

PMid:30472148

[18] Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X. An improvement of the 2'-(delta delta CT) method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Bioinform Biomath* 2013; 3: 71-85.

[19] Gizurarson S. Anatomical and histological factors affecting intranasal drug and vaccine delivery. *Curr Drug Deliv* 2012; 9: 566-582.

<https://doi.org/10.2174/156720112803529828>

PMid:22788696 PMCID:PMC3480721

[20] Bassani TB, Bonato JM, Machado MM, Cópola-Segovia V, Moura EL, Zanata SM, et al. Decrease in adult neurogenesis and neuroinflammation are involved in spatial memory impairment in the streptozotocin-induced model of sporadic Alzheimer's disease in rats. *Mol Neurobiol* 2018; 55: 4280-4296.

<https://doi.org/10.1007/s12035-017-0645-9>

PMid:28623617

[21] Halawany AM, Sayed NS, Abdallah HM, Dine RS. Protective effects of gingerol on streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease: emphasis on inhibition of β -amyloid, COX-2, alpha, beta-secretases and A β 1a. *Sci Rep* 2017; 7: 2902.

<https://doi.org/10.1038/s41598-017-02961-0>

PMid:28588301 PMCID:PMC5460182

درمانی امیدوارکننده برای کاهش و یا بهبود نقایص شناختی در بیماران آلزایمری پیشنهاد شده و کیفیت زندگی این افراد را بهبود بخشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی بابت

حمایت از این پژوهش قدردانی می‌کنند.

مشارکت و نقش نویسندگان

فائقه شاهرزایی: انجام مطالعات حیوانی، جمع‌آوری

داده‌ها، المیرا بیرامی: ایده و طراحی مطالعه، آنالیز و تفسیر نتایج،

نگارش مقاله، دلارام اسلیمی اصفهانی: نگارش نسخه نهایی

مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله

را تایید نمودند.

منابع

[1] Calsolaro V, Femminella GD, Rogani S, Esposito S, Franchi R, Okoye C, et al. Behavioral and psychological symptoms in dementia (BPSD) and the use of antipsychotics. *Pharmaceuticals (Basel)* 2021; 14: 246.

<https://doi.org/10.3390/ph14030246>

PMid:33803277 PMCID:PMC8002184

[2] Javadpour P, Askari S, Rashidi FS, Dargahi L, Ahmadiani A, Ghasemi R. Imipramine alleviates memory impairment and hippocampal apoptosis in STZ-induced sporadic Alzheimer's rat model: Possible contribution of MAPKs and insulin signaling. *Behav Brain Res* 2021; 408: 113260.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113260>

PMid:33775777

[3] Akhtar A, Dhaliwal J, Saroj P, Uniyal A, Bishnoi M, Sah SP. Chromium picolinate attenuates cognitive deficit in ICV-STZ rat paradigm of sporadic Alzheimer's-like dementia via targeting neuroinflammatory and IRS-1/PI3K/AKT/GSK-3 β pathway. *Inflammopharmacology* 2020; 28: 385-400.

<https://doi.org/10.1007/s10787-019-00681-7>

PMid:31898080

[4] Grieb P. Intracerebroventricular streptozotocin injections as a model of Alzheimer's disease: in search of a relevant mechanism. *Mol Neurobiol* 2016; 53: 1741-1752.

<https://doi.org/10.1007/s12035-015-9132-3>

PMid:25744568 PMCID:PMC4789228

[5] Moosavi M, Hooshmandi E, Javadpour P, Maghsoudi N, Katinger H, Ghasemi R. Effect of carbamylated erythropoietin Fc fusion protein (CEPO-Fc) on learning and memory impairment and hippocampal apoptosis induced by intracerebroventricular administration of streptozotocin in rats. *Behav Brain Res* 2020; 384: 112554.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112554>

PMid:32057828

[6] Chan DC. Fusion and fission: interlinked processes critical for mitochondrial health. *Annu Rev Genet* 2012; 46: 265-287.

<https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132529>

PMid:22934639

[7] Popov LD. Mitochondrial biogenesis: An update. *J Cell Mol Med* 2020; 24: 4892-4899.

<https://doi.org/10.1111/jcmm.15194>

PMid:32279443 PMCID:PMC7205802

[8] Wang G, Song Y, Feng W, Liu L, Zhu Y, Xie X, et al. Activation of AMPK attenuates LPS-induced acute lung injury by upregulation of PGC1 α and SOD1. *Exp Ther Med* 2016; 12: 1551-1555.

- intranasal insulin administration in amyloid β oligomer induced Alzheimer's like rat model. *Exp Gerontol* 2022; 164: 111812.
<https://doi.org/10.1016/j.exger.2022.111812>
 PMID:35476966
- [29] Brabazon F, Wilson CM, Jaiswal S, Reed J, Frey Nd WH, Byrnes KR. Intranasal insulin treatment of an experimental model of moderate traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 2017; 37: 3203-3218.
<https://doi.org/10.1177/0271678X16685106>
 PMID:28058996 PMCID:PMC5584695
- [30] Rajasekar N, Nath C, Hanif K, Shukla R. Intranasal insulin exerts beneficial effects by improving cerebral blood flow, Nrf-2 expression and BDNF in STZ (ICV) induced memory-impaired rats. *Life Sci* 2017; 173: 1-10.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.09.020>
 PMID:27693383
- [31] Hong CT, Chen KY, Wang W, Chiu JY, Wu D, Chao TY, et al. Insulin resistance promotes parkinson's disease through aberrant expression of α -synuclein, mitochondrial dysfunction, and deregulation of the polo-like kinase 2 signaling. *Cells* 2020; 9: 740.
<https://doi.org/10.3390/cells9030740>
 PMID:32192190 PMCID:PMC7140619
- [32] Piantadosi CA, Carraway MS, Babiker A, Suliman HB. Heme oxygenase-1 regulates cardiac mitochondrial biogenesis via Nrf2-mediated transcriptional control of nuclear respiratory factor-1. *Circ Res* 2008; 103: 1232-1240.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000338597.71702.ad>
 PMID:18845810 PMCID:PMC2694963
- [33] Beirami E, Oryan S, Tamijani SM, Ahmadiani A, Dargahi L. Intranasal insulin treatment restores cognitive deficits and insulin signaling impairment induced by repeated methamphetamine exposure. *J Cell Biochem* 2018; 119: 2345-2355.
<https://doi.org/10.1002/jcb.26398>
 PMID:28884876
- [22] Rai S, Kamat PK, Nath C, Shukla R. Glial activation and post-synaptic neurotoxicity: the key events in Streptozotocin (ICV) induced memory impairment in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2014; 117: 104-117.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.11.035>
 PMID:24333387
- [23] Correia SC, Santos RX, Santos MS, Casadesus G, Lamanna JC, Perry G, et al. Mitochondrial abnormalities in a streptozotocin-induced rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2013; 10: 406-419.
<https://doi.org/10.2174/1567205011310040006>
 PMID:23061885
- [24] Ruiz A, Alberdi E, Matute C. Mitochondrial division inhibitor 1 (mdivi-1) protects neurons against excitotoxicity through the modulation of mitochondrial function and intracellular Ca²⁺ signaling. *Front Mol Neurosci* 2018; 11: 3.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00003>
 PMID:29386996 PMCID:PMC5776080
- [25] Craft S, Raman R, Chow TW, Rafii MS, Sun CK, Rissman RA, et al. Safety, efficacy, and feasibility of intranasal insulin for the treatment of mild cognitive impairment and Alzheimer disease dementia. *JAMA Neurol* 2020; 77: 1099-1109.
<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1840>
 PMID:32568367 PMCID:PMC7309571
- [26] Santiago JCP, Hallschmid M. Outcomes and clinical implications of intranasal insulin administration to the central nervous system. *Exp Neurol* 2019; 317: 180-190.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.03.007>
 PMID:30885653
- [27] Farzampour S, Majdi A, Sadigh-Eteghad S. Intranasal insulin treatment improves memory and learning in a rat amyloid-beta model of Alzheimer's disease. *Physiol Int* 2016; 103: 344-353.
<https://doi.org/10.1556/2060.103.2016.3.7>
 PMID:28229638
- [28] Bazrgar M, Khodabakhsh P, Dargahi L, Mohagheghi F, Ahmadiani A. MicroRNA modulation is a potential molecular mechanism for neuroprotective effects of

Evaluating the effect of intranasal insulin administration on spatial memory in an animal model of Alzheimer's disease; the role of mitochondrial biogenesis

Faeghe Shahrezaee (M.Sc), Elmira Beirami (Ph.D)*, Delaram Eslimi Esfahani (Ph.D)
- Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 21 86072709 elmira.beirami@khu.ac.ir

Received: 2 Feb 2023 ; Accepted: 25 Jun 2023

Introduction: Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease, which is associated with progressive cognitive disorders and memory loss. Insulin has recently gained more attention for its anti-inflammatory, cognitive, and protective effects. This study aimed to investigate the effect of intranasal insulin administration on cognitive functions and mitochondrial biogenesis in rats treated with streptozotocin (STZ).

Materials and Methods: In this experimental study, 32 adult male Wistar rats were used. Correspondingly, to induce an animal model of AD, STZ was injected bilaterally in the lateral ventricles (3 mg/rat; 3 μ l/ventricle). Morris water maze was used to investigate cognitive disorders and confirm the induction of the AD animal model. Treatment was performed by intranasal insulin administration (2 IU/rat/day; 10 μ l/nostril) after STZ injection for 14 consecutive days. Changes in the expression of genes involved in mitochondrial biogenesis (PGC-1 α , NRF-1, and TFAM) were measured by Real-time PCR technique in the hippocampus.

Results: The results of the study showed that STZ injection led to spatial memory disorder concomitant with a decrease in the expression of genes involved in mitochondrial biogenesis in the hippocampus of rats. Whereas, intranasal insulin administration reduced cognitive disorders and increased the expression of genes involved in mitochondrial biogenesis in the hippocampus of animals treated with STZ.

Conclusion: Insulin can reduce STZ-induced cognitive disorders by affecting the mitochondrial biogenesis pathway, so it can be considered an important target for reducing cognitive deficits in AD patients.

Keywords: Insulin, Alzheimer Disease, Cognitive Disorders, Mitochondrial Biogenesis