Original Article

The effect of methylprednisolone on spatial learning and memory in adult male rats using an experimental model of Alzheimer's disease

Ashkavandi S[1], Moazedi AA[1], Semnanian S[2], Eshagh-Harooni H[1], Mohammadi T[1], Pourmehdi-Boroujeni M[3]

1- Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, I. R. Iran.
2- Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modarres University, Tehran, I. R. Iran.
3- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, I. R. Iran.

Received November 12, 2014; Accepted May 5, 2015

Abstract:

Background: The methylprednisolone (MP) is a synthetic glucocorticoid steroid initially developed for its enhanced anti-inflammatory activity. The present study aimed to examine the effect of MP on the spatial learning and memory in an experimental model of Alzheimer's disease in rats.
Materials and Methods: Male rats were allocated into five groups: control group; lesion group which received electrically-induced lesion (0.5 mA, 3s) in the nucleus basalis magnocellularis (NBM) to create Alzheimer's model; sham group (the electrode was impaled into the NBM with no lesion); MP group (lesion+30 mg/kg MP) and saline group (lesion NBM + 0.2 mL saline). After one week, the rats were trained to perform the Y-maze task for five days. The animals were tested for spatial memory one month later.
Results: Results showed that the bilateral lesion of NBM impaired the spatial learning compared to the control group ($P<0.01$). The administration of MP significantly improved spatial learning of rats with the Alzheimer's disease ($P<0.001$). Moreover, no effect on spatial learning was seen in the sham group compared with the lesion group. No significant difference was observed between the results in the 5th day of training and the memory test after one month.
Conclusion: Administration of MP can be an effective treatment for the Alzheimer's disease.

Keywords: Methylprednisolone, Spatial learning, Nucleus basalis of Meynert, Glucocorticoid, Alzheimer's dementia

* **Corresponding Author.**
Email: s_bio84@yahoo.com
Tel: 0098 61 333 31045
Fax: 0098 61 333 31045

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2015; Vol. 19, No 2, Pages 102-110

Please cite this article as: Ashkavandi S, Moazedi AA, Semnanian S, Eshagh-Harooni H, Mohammadi T, Pourmehdi-Boroujeni M. The effect of methylprednisolone on spatial learning and memory in adult male rats using an experimental model of Alzheimer's disease. ***Feyz*** 2015; 19(2): 102-10.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-06]

تاثیر متیل پردنیزولون بر یادگیری و حافظه فضایی در موش‌های نر بالغ مدل تجربی بیماری آلزایمر

صدیقه اشکاوندی[1*]، احمدعلی معاضدی[2]، سعید سمنانیان[3]، هومن اسحق هارونی[2]، طیبه محمدی[2]، مهدی پورمهدی بروجنی[4]

خلاصه:

سابقه و هدف: متیل پردنیزولون به‌عنوان یک گلوکوکورتیکوئید مصنوعی، جهت درمان آسیب طناب نخاعی و فعالیت ضد التهابی به‌کار می‌رود. در مطالعه حاضر اثر این دارو بر یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی نر بالغ مدل آلزایمر مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر به پنج گروه تقسیم شدند: کنترل؛ تخریب (القاء جریان الکتریکی (۰/۵ میلی‌آمپر به‌مدت ۳ ثانیه) به‌طور دوطرفه در هسته NBM (Nucleus Basalis Magnocellularis) جهت ایجاد مدل آلزایمر)؛ شاهد تخریب (ورود الکترود به هسته NBM بدون القاء جریان الکتریکی)؛ تخریب+متیل پردنیزولون (تخریب+تزریق متیل پردنیزولون به مقدارmg/kg ۳۰)؛ و تخریب+سالین (تخریب +ml ۰/۲ سالین). یک هفته بعد، موش‌های صحرایی به‌مدت ۵ روز با دستگاه ماز Y شکل آموزش دیدند. تست حافظه حیوانات یک ماه بعد انجام گرفت.

نتایج: آنالیز آماری نشان داد که تخریب دوطرفه هسته NBM در گروه تخریب، یادگیری فضایی را نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ($P<۰/۰۱$). تزریق متیل پردنیزولون بعد از القاء جریان به‌طور معنی‌داری یادگیری فضایی را بهبود می‌دهد ($P<۰/۰۰۱$). هم‌چنین، وارد کردن الکترود به هسته NBM بدون القاء جریان الکتریکی نسبت به گروه تخریب، اثری بر یادگیری فضایی ندارد و بین نتایج مربوط به روز پنجم آموزش و تست حافظه یک ماه بعد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج به‌دست آمده می‌توان متیل پردنیزولون را به‌عنوان دارویی مؤثر در بهبود یادگیری در افراد مبتلا به بیماری آلزایمر معرفی کرد.

واژگان کلیدی: متیل پردنیزولون، یادگیری فضایی، هسته قاعده‌ای مینرت، گلوکوکورتیکوئید، بیماری آلزایمر

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۴، صفحات ۱۱۰-۱۰۲

مقدمه

بیماری آلزایمر یک اختلال تحلیل نورونی پیش‌رونده مزمن، پیچیده و عامل مشترک بسیاری از اختلالات ذهنی در افراد مسن می‌باشد [۵-۱]. اولین شواهد پیشرفت بیماری به‌صورت یک توالی از تغییرات پاتولوژیکی در کورتکس انتورینال و ترانس انتورینال مشاهده می‌شوند که به‌طور متناوب به هیپوکمپ، نواحی آلوکورتیکال مجاور و در نهایت به نئوکورتکس گسترش می‌یابند؛ این تغییرات قشری با تحلیل سوماتوتروپیک نورون‌های کولینرژیک در هسته مینرت (Nucleus Basalis Magnocellularis or Minert: NBM) همراه می‌باشند.

اولین تغییرات نوروفیبریلاری در ناحیه ترانس انتورینال و هم‌چنین هسته رافه پشتی و هسته قاعده‌ای مینرت مشاهده شده‌اند [۴]. از ویژگی‌های مشخص بیماری آلزایمر می‌توان به کاهش متابولیسم گلوکز در کورتکس مغز [۶] و تحلیل نورون‌های کولینرژیکی که از هسته قاعده‌ای مینرت به کورتکس مغز انشعاب پیدا می‌کنند، اشاره کرد [۷،۱]. شواهد بسیاری از نقش سیستم کولینرژیک در شناخت حمایت می‌کنند [۸،۱]. به‌عنوان مثال مهار سیستم کولینرژیک چندین نوع اختلال حافظه را در الگوهای یادگیری حیوانات و انسان‌ها ایجاد می‌کند، درحالی‌که آگونیست‌های کو-لینرژیک معمولا می‌توانند اختلالات حافظه ناشی از تخریب یا تجزیه فارماکولوژیکی را از بین ببرند [۱]. یکی از ویژگی‌های مهم نوروپاتولوژیک بیماری آلزایمر تخریب نورون‌های بزرگ کولینر-ژیک هسته قاعده‌ای مینرت می‌باشد که مسئول بسیاری از نواقص شناختی این بیماری می‌باشد [۹،۵]. هسته قاعده‌ای مینرت یکی از هسته‌های قاعده مغز جلویی می‌باشد [۸-۵،۱۰] که در طول حاشیه طرفی و قدامی کپسول داخلی و حاشیه میانی گلوبوس پالیدوس قرار گرفته است [۱۰]. ۹۰ درصد نورون‌های این هسته کولینرژیک هستند و فیبرهای خود را به تمام قشر و آمیگدال گسیل می‌دهند [۱۰،۵-۸]؛ به‌طوری‌که ۷۰ تا ۸۰ درصد اعصاب کولینرژیک قشر

[1] دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

[2] استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

[3] استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

[4] استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

* **نشانی نویسنده مسئول:**

خوزستان، اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۶۱ ۳۳۳۳۱۰۴۵ **دورنویس:** ۰۶۱ ۳۳۳۳۱۰۴۵

پست الکترونیک: s_bio84@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲۱ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۴/۲/۱۵

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-06]

مغز از هسته مینرت منشأ گرفته‌اند و در بیماران مبتلا به آلزایمر ۵۰ تا ۸۸ درصد این نورون‌ها از بین می‌روند. بنابراین، از موش-های NBM-lesioned می‌توان به‌عنوان مدل حیوانی آلزایمر استفاده کرد و یکی از روش‌های ایجاد مدل حیوانی آلزایمر، تخریب نورون‌های NBM با استفاده از روش الکتریکی می‌باشد [۱۰]. گلوکوکورتیکوئیدها به‌عنوان یک روش درمانی برای کاهش ادم مغزی مرتبط با صدمه مغزی معرفی شده و استفاده از آنها منجر به بهبود شناخت در این بیماران می‌شود [۶]. متیل پردنیزولون که یک گلوکوکورتیکوئید مصنوعی می‌باشد جهت درمان صدمه طناب نخاعی و فعالیت ضد التهابی به‌کار می‌رود [۵،۱۶-۱۱]. علی‌رغم اینکه در حال حاضر هیچ درمانی به‌تنهایی نمی‌تواند همه مشکلات مرتبط با صدمه طناب نخاعی را بر طرف کند، متیل پردنیزولون به-عنوان دارویی معرفی شده است که به تنهایی قادر به افزایش بهبود پس از صدمه طناب نخاعی می‌باشد [۵]. اثر مفید دوز بالای متیل پردنیزولون به‌وسیله بسیاری از مطالعات آزمایشگاهی مطرح شده است و نشان می‌دهد که این دارو پراکسیداسیون لیپید را مهار می-کند. هم‌چنین، مشخص شده است که پراکسیداسیون لیپید به‌عنوان یک عامل مهم در آسیب بافتی پیشرفته در طناب‌های نخاعی آسیب دیده می‌باشد و متیل پردنیزولون غشاء را در برابر پراکسیداسیون محافظت کرده و بنابراین به‌نظر می‌رسد که آبشار حوادث پس از تروما را در چند مکان متوقف می‌کند [۱۷]. از دیگر ویژگی‌ها و عملکردهای متیل پردنیزولون می‌توان به سرکوب سیستم ایمنی [۱۲]، محافظت از عروق خونی کوچک، کاهش اختلالات متابو-لیکی، جلوگیری از ایسکمی پس از ضربه و تقویت فعالیت یون کلسیم خارج سلولی [۱۷] اشاره کرد. مشخص شده است که متیل پردنیزولون بازسازی آکسونی و بهبود عملکردی را در موش‌های صحرایی بالغ مبتلا به آسیب نخاعی افزایش می‌دهد [۱۵]. آزمایشات گسترده‌ای جهت بررسی اثر متیل پردنیزولون بر بهبود عملکرد سلول‌های عصبی پس از ضربه انجام شده است. در بعضی از این تحقیقات اثر متیل پردنیزولون بر یادگیری پس از ضربه مثبت بوده است [۱۱]. برخی مطالعات دیگر اثر مثبت متیل پردنیزولون را وابسته به زمان تزریق دانسته‌اند؛ به‌طوری‌که اگر در زمان‌های کوتاه‌تری پس از ایجاد آسیب تجویز شود، اثر بیشتر و بهتری دارد [۱۷]. مطالعات نشان داده‌اند که اگر متیل پردنیزولون ۸ ساعت پس از آسیب طناب نخاعی تجویز شود، بازگشت نورولوژیکی را بهبود می‌بخشد و اگر درمان در زمانی بیش از ۸ ساعت شروع شود، اثر مفیدی ندارد [۱۷،۱۱]. لذا، باتوجه به تنوع اعمالی که متیل پردنیز-ولون قادر به انجام آنها می‌باشد، در این مطالعه اثر این دارو بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های آلزایمری و مقایسه آنها با موش‌های سالم مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه تجربی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد N-MRI در محدوده وزنی۲۰±۲۰۰ گرم از مرکز تکثیر حیوانات علوم پزشکی اهواز تهیه شده و مورد استفاده قرار گرفتند. محل نگهداری حیوانات دارای دوره روشنایی– تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۳±۲۳ درجه سانتی‌گراد بود. آب و غذا به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار داشت. آزمایشات رفتاری در دوره روشنایی و با استفاده از دستگاه ماز Y شکل انجام می‌گرفت. ماده مورد استفاده متیل پردنیزولون بود که از شرکت سیگما تهیه گردید. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند (n= ۷): گروه کنترل: هیچ‌گونه تزریقی دریافت نمی‌کردند و تنها به‌مدت ۵ روز متوالی با ماز Y شکل آموزش می‌دیدند؛ گروه تخریب: موش‌هایی که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته NBM آنها به‌صورت دوطرفه با روش الکتریکی تخریب شدند و یک هفته بعد بدون هیچ‌گونه تزریقی آموزش دیدند؛ گروه شاهد تخریب: موش‌هایی که الکترود به هسته NBM آنها وارد شد، ولی تخریبی ایجاد نکرد و پس از یک هفته بدون تزریق آموزش دیدند؛ گروه تخریب-متیل پردنیزو-لون: موش‌هایی که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته NBM آنها به-صورت دوطرفه با روش الکتریکی تخریب شد و یک هفته بعد و قبل از آموزش، متیل پردنیزولون با مقدار mg/kg ۳۰ [۵،۳،۲] و به‌مدت ۴ بار با فاصله زمانی ۶ ساعت دریافت کردند و آخرین دوز آن نیم ساعت قبل از آموزش تزریق شد [۱۸،۵]؛ و گروه تخریب-سالین: موش‌هایی که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته NBM آنها به‌صورت دوطرفه با روش الکتریکی تخریب شد و یک هفته بعد، قبل از آموزش، سالین (حلال دارو) به‌میزان ml ۰/۲ و به‌مدت ۴ بار با فاصله زمانی ۶ ساعت دریافت کردند و آخرین دوز آن نیم ساعت قبل از آموزش تزریق شد. همه گروه‌ها پس از اتمام دوره آموزش در خانه حیوانات تحت شرایط مناسب نگهداری می‌شدند و پس از یک ماه یک جلسه درون دستگاه ماز Y شکل و تحت تست حافظه قرار گرفتند و نتایج آن با روز پنجم آموزش مقایسه گردید.

روش تخریب هسته NBM

جهت تخریب هسته NBM، حیوانات ابتدا تحت عملیات جراحی قرار می‌گرفتند؛ بدین‌منظور ابتدا حیوانات با مخلوطی از داروهای بیهوشی که به نسبت mg/kg ۷۸ کتامین ۱۰ درصد و

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-06]

۳ mg/kg زایلازین ۲ درصد با یکدیگر مخلوط شده و به‌صورت داخل صفاقی تزریق می‌گردید، بیهوش می‌شدند. برای تخریب این هسته از دستگاه استریوتاکسی ساخت (Stoelting, USA) استفاده گردید. مختصات مورد استفاده طبق اطلس پاکسینوس و واتسون عبارت بود از: AP=-۱/۳ از برگما، ML=±۲/۸ از خط وسط و DV= -۷/۶ از سطح سخت شامه [۱۹،۷]. میله دندانی ۳/۳ میلی‌متر زیر صفر افقی قرار داشت تا مطابق اطلس وضعیت مناسب جمجمه حاصل گردد. پس از قرار گرفتن الکترود در نقطه مورد نظر با اعمال شوک الکتریکی به‌مدت ۳ ثانیه و با شدت ۰/۵ میلی-آمپر [۵]، هسته مورد نظر را تخریب کرده و مدل آلزایمر ایجاد شد. یک هفته پس از جراحی، آموزش درون دستگاه ماز Y شکل و به-مدت ۵ روز آغاز گردید. برای بررسی حافظه، هر کدام از حیوانات یک ماه بعد یک جلسه در دستگاه ماز Y شکل تست می‌شدند و نتایج آن با نتایج روز پنجم آموزش مقایسه می‌گردید [۲۰].

دستگاه ماز Y شکل

برای بررسی به روند یادگیری و حافظه در مدل‌های آزمایشگاهی، مازهای متنوعی به‌کار گرفته می‌شوند که به‌طور عمده بر اساس دو روش تنبیه (دریافت شوک یا احساس ناخوشایند) و تشویق (دریافت پاداش مثل آب و غذا) طراحی شده‌اند. باتوجه به تداخل احتمالی برخی داروها در مکانیسم اشتها، به‌نظر می‌رسد برای بررسی تاثیر داروها بر روند یادگیری، روش تنبیه مناسب‌تر می‌باشد و با توجه به این‌که هیپوکامپ در حافظه فضایی نقش عمده‌ای دارد در این تحقیق از دستگاه ماز Y شکل، که برای بررسی یادگیری و حافظه طراحی شده است، استفاده گردید. [۲۰]. این دستگاه به شکل Y است و دارای سه بازوی کاملا مشابه به ابعاد ۱۷/۵×۶۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و از جنس شیشه شفاف است. کف هر شاخه میله‌های آبکاری کروم – نیکل به فواصل یک سانتی‌متر از هم قرار گرفته‌اند که به دو طرف دیواره نصب گردیده است. احساس ناخوشایند (شوک الکتریکی) توسط دستگاه و از طریق این میله‌ها به حیوان منتقل می‌شود. در انتهای هر بازو یک منبع نوری (لامپ ۱۲ ولت) نصب گردیده است. سطح بالای دستگاه نیز توسط سرپوش‌های کشویی مسدود شده است تا از خروج حیوان در حین آموزش جلوگیری به‌عمل آید. در قسمت کنترلی، مشخصات تحریک نظیر طول تحریک، فرکانس تحریک، فاصله زمانی بین روشن شدن لامپ و اعمال تحریک، فاصله زمانی بعد از عمل تحریک و شمارش تعداد دفعات تحریک قابل تنظیم است. دستگاه باید در یک محیط تاریک، آرام و بی سر و صدا قرار گیرد. در روز اول آموزش ابتدا حیوان را در ماز قرار داده و ۱۵ دقیقه اجازه داده می‌شود تا آزادانه درون ماز حرکت کند و با شکل ظاهری ماز آشنا شود. سپس آموزش از بازویی شروع می‌شود که حیوان در آن قرار دارد. انتخاب بازوها بر اساس جدول تصادفی صورت می‌گیرد. با فشار دادن یک دکمه روی دستگاه کنترلی، چراغ یکی از بازوهای ماز روشن می‌شود و در فاصله زمانی کوتاه (۵ ثانیه) موش فرصت دارد تا از محل تاریک خارج شده و به بازوی روشن برود؛ در این صورت اگر موش به بازوی روشن برود انتخاب صحیح محسوب می‌شود، در غیر این صورت بعد از ۵ ثانیه شوک به پاهای موش وارد می‌شود، و اگر موش به بازوی تاریک برود، انتخاب غلط محسوب می‌شود. بر اساس جدول تصادفی در هر روز به هر موش ۳۰ بار آموزش داده می‌شود و در پایان هر جلسه تعداد پاسخ صحیح محاسبه می‌گردد. جلسات آموزش به‌مدت ۵ روز متوالی ادامه می‌یابد تا موش‌ها به معیار پاسخ صحیح برسند؛ یعنی از ۳۰ بار آموزش در روز حداقل ۲۶ بار انتخاب صحیح بنمایند [۲۰].

آنالیز آماری

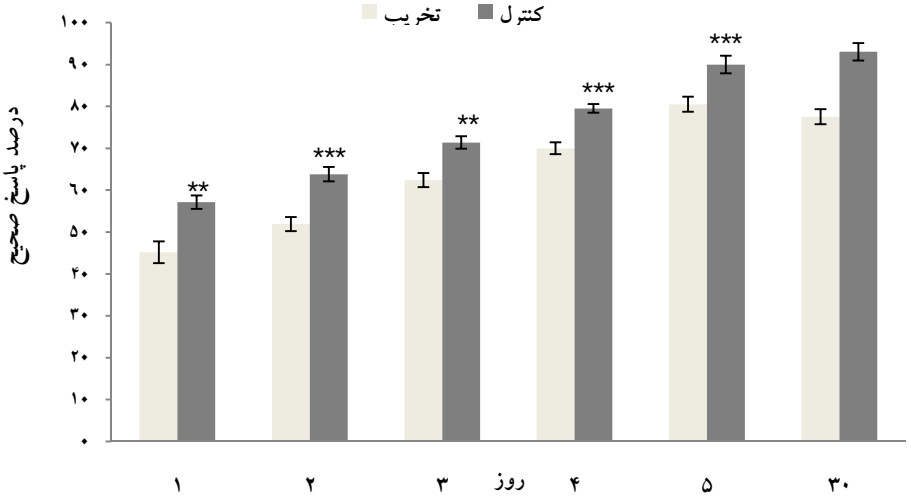
به‌منظور مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (به‌عنوان معیار یادگیری) در گروه‌های مختلف و تعیین این‌که آیا گروه‌ها با یکدیگر اختلاف دارند یا نه، از آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری استفاده گردید. برای مقایسه گروه‌های مختلف در ۵ روز متوالی آموزش نیز از روش آماری آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری استفاده گردید. برای تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین گروه‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار استفاده شد و برای مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و آزمون حافظه یک ماه بعد نیز از آزمون LSD استفاده گردید. کلیه آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد.

نتایج

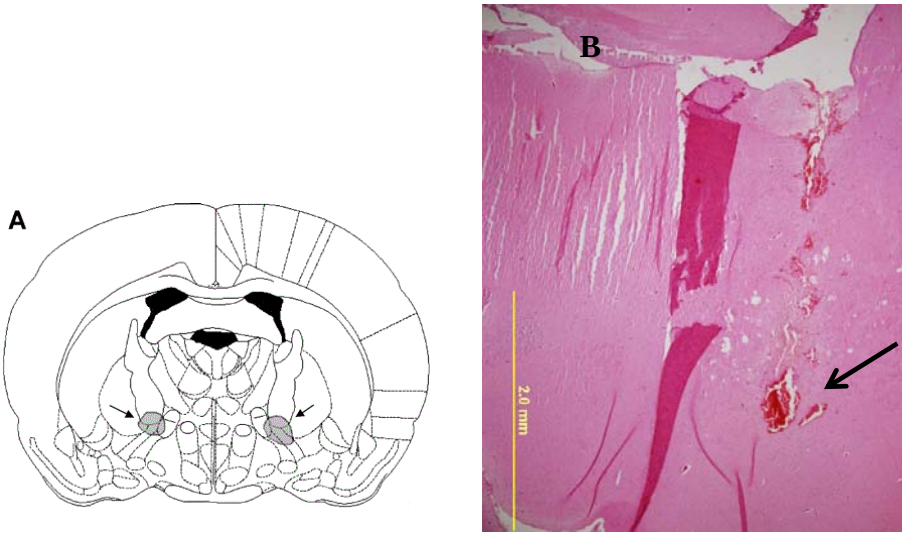
بررسی اثر تزریق داخل صفاقی متیل پردنیزولون بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های آلزایمری نشان داد که به‌طور کلی تفاوت معنی‌داری بین گروه متیل پردنیزولون و بقیه گروه‌ها وجود دارد (P<۰/۰۰۱). به‌علاوه، آزمون LSD نشان داد که میزان یادگیری فضایی بین گروه کنترل و گروه تخریب در روزهای اول و سوم (P<۰/۰۱) و در روزهای دوم، چهارم و پنجم (P<۰/۰۰۱) دارای تفاوت معنی‌دار می باشد، که بیان‌گر این مسئله می‌باشد که تخریب دوطرفه هسته NBM منجر به کاهش یادگیری فضایی نسبت به گروه کنترل می‌شود. هم‌چنین،

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-06]

بین میانگین پاسخ صحیح روز پنجم و آزمون حافظه یک ماه بعد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و بعد از یک ماه حافظه نسبت به روز پنجم تغییری نکرده است (شکل شماره ۱). از طرف دیگر جهت اطمینان از تخریب کامل هسته NBM، با استفاده از روش‌های بافتی از محل ورود الکترود مقطع بافتی تهیه شده و سپس با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، برش‌ها را رنگ آمیزی کرده و در نهایت با مقایسه محل تخریب با موقعیت فضایی هسته NBM با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون، از تخریب مطمئن شدیم (شکل شماره ۲).



شکل شماره ۱- بررسی تأثیر تخریب دوطرفه هسته NBM بر یادگیری و حافظه فضایی با مقایسه درصد پاسخ صحیح $\overline{X} \pm SD$ بین گروه‌های کنترل و تخریب در روزهای اول تا پنجم در موش‌های صحرایی نر بالغ (n=۷). ***=P< ۰/۰۰۱، **= P<۰/۰۱

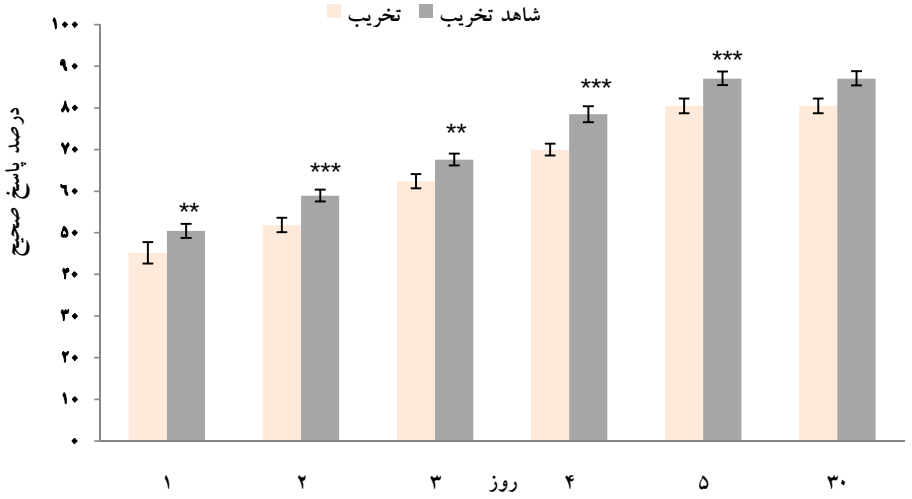


شکل شماره ۲- A: موقعیت شماتیک هسته NBM در اطلس پاکسینوس و واتسون. B: برش بافتی مربوط به تخریب هسته NBM، موقعیت هسته با استفاده از پیکان مشخص شده است و هم‌چنین مسیر حرکت الکترود با ایجاد پارگی‌ها و خونریزی در بافت مغز مشخص است.

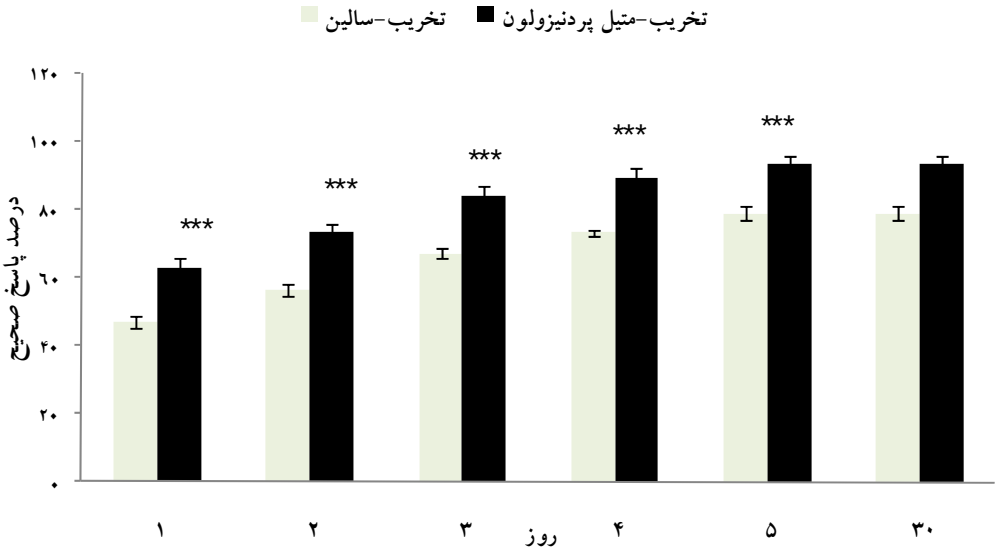
هم‌چنین، میزان یادگیری فضایی بین گروه تخریب و شاهد تخریب در روزهای اول و سوم اختلاف معنی‌دار نبود. و در روزهای دوم و پنجم (P<۰/۰۵) و در روز چهارم (P<۰/۰۱) اختلاف معنی‌دار بود. این نتایج نشان می‌دهند که ورود الکترود به هسته NBM بدون القاء جریان الکتریکی و بقیه مراحل جراحی از جمله بیهوشی، تأثیری بر میزان یادگیری فضایی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-06]

موش‌های صحرایی در مقایسه با موش‌هایی که هسته NBM آنها به‌صورت دوطرفه تخریب شده است، ندارد. بین میانگین پاسخ صحیح روز پنجم و آزمون حافظه یک ماه بعد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل شماره ۳). از طرف دیگر، گروه تخریب-متیل پردنیزولون با تخریب-سالین در میزان یادگیری فضایی طی روزهای اول تا پنجم دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱)، و این نشان می‌دهد که متیل پردنیزولون باعث بهبود یادگیری فضایی در موش‌های صحرایی آلزایمری شده می‌شود، در حالی-که سالین اثری بر میزان یادگیری فضایی ندارد. هم‌چنین، تفاوت معنی‌داری بین میانگین پاسخ صحیح روز پنجم و آزمون حافظه یک ماه بعد وجود نداشت (شکل شماره ۴).



شکل شماره ۳- مقایسه میانگین پاسخ صحیح $\overline{X} \pm SD$ بین گروه‌های تخریب و شاهد تخریب جهت بررسی میزان یادگیری فضایی در اثر ورود الکترود همراه با تخریب و بدون ایجاد تخریب در پنج روز آموزش و حافظه روز سی‌ام با روز پنجم آموزش در موش‌های صحرایی نر بالغ (n=۷).
= P<۰/۰۱ ،*=P<۰/۰۰۱



شکل شماره ۴- بررسی یادگیری و حافظه فضایی با مقایسه درصد پاسخ صحیح $\overline{X} \pm SD$ پس از تزریق سالین و متیل پردنیزولون متعاقب تخریب دوطرفه هسته NBM در پنج روز آموزش و حافظه روز سی‌ام با روز پنجم آموزش در موش‌های صحرایی نر بالغ (n=۷). ***=P<۰/۰۰۱

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-06]

بحث

در این تحقیق اثر تزریق محیطی متیل پردنیزولون بر فرآیند یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ پس از تخریب الکتریکی دوطرفه هسته NBM و ایجاد آلزایمر مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه آنالیز واریانس بین گروه کنترل و تخریب دوطرفه هسته NBM نشان داد که تخریب دوطرفه این هسته باعث کاهش معنی‌دار در فرآیند یادگیری فضایی می‌شود. ربیعی و همکاران گزارش داده‌اند که تخریب دوطرفه هسته NBM با استفاده از روش الکتریکی باعث کاهش یادگیری فضایی در ماز آبی موریس و هم‌چنین کاهش یادگیری اجتنابی غیرفعال در دستگاه شاتل باکس می‌شود [۲۱]. هم‌چنین، سرکاکی و همکاران گزارش داده‌اند با تخریب NBM یادگیری و حافظه اجتنابی فعال [۲۲] و هم‌چنین یادگیری و حافظه فضایی [۲۳] کاهش می‌یابد. معاضدی و همکاران نیز نشان داده‌اند که حافظه احترازی غیرفعال، متعاقب تخریب الکتریکی دوطرفه NBM کاهش می‌یابد [۲۴]. از طرف دیگر تخریب هسته NBM با استفاده از سمومی که شبیه میانجی عصبی گلوتامات عمل می‌کنند، مانند اسید ایبوتونیک، منجر به کاهش یادگیری احترازی غیرفعال می‌شود [۱۹]. بنابراین گزارشات ارائه شده نشان‌دهنده کاهش یادگیری و حافظه متعاقب تخریب دوطرفه هسته NBM می‌باشند که این مطالب در تأیید نتایج حاصله از این پژوهش می‌باشد. از طرف دیگر، مقایسه نتایج بین گروه کنترل و شاهد تخریب نشان داد که ورود الکترود به هسته NBM بدون القاء جریان الکتریکی اثری بر روی یادگیری فضایی ندارد و این نشان می‌دهد که مراحل مختلف بیهوشی، جراحی و ورود الکترود به هسته NBM بدون ایجاد تخریب اثری بر روی یادگیری فضایی موش صحرایی ندارد. هم‌چنین مقایسه دو گروه تخریب-متیل پردنیزولون و تخریب-سالین نشان داد که تزریق متیل پردنیزولون با مقدار ۳۰ mg/kg باعث افزایش یادگیری فضایی در موش‌های آلزایمری شده، درحالی‌که تزریق سالین هیچ‌گونه تأثیری بر یادگیری فضایی ندارد. مطالعات بسیاری اثرات مفید متیل پردنیزولون را در بهبود صدمه طناب نخاعی نشان می‌دهند و گزارش‌ها حاکی از این می‌باشد که مکانیسم‌های مختلفی را در این راستا به‌کار می‌گیرد؛ از جمله سرکوب مرگ برنامه‌ریزی شده نورونی با جلوگیری از بیان اینترلوکین-۱ بتا [۲۵]، بهبود رشد دوباره آکسونی [۵]، مهار پراکسیداسیون لیپیدها [۱۰] و مهار واکنش‌های التهابی ایجاد شده توسط فاکتور هسته‌ای NF-kB [۲۶]. به‌طور کلی مکانیسم‌هایی که برای توضیح عملکردهای متیل پردنیزولون بیان می‌شود شامل موارد زیر می‌باشند: ۱- با گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی که خواص ضد التهابی آنرا وساطت می‌کند، باند شده و کموتاکسی و آزادی آنزیم‌های لیزوزومی را مهار می‌کند؛ ۲- فعالیت فسفولیپاز A_2 را مهار می‌کند، که به‌دنبال آن تولید متابولیت‌های آبشار آراشیدونیک اسید و در نتیجه تشکیل رادیکال‌های آزاد کاهش می‌یابند؛ و ۳- بیان فاکتور نکروزکننده تومور آلفا (TNF-α) و فعالیت فاکتور هسته‌ای (NF-kB) را کم می‌کند؛ در نتیجه، شدت و مدت زمان پاسخ التهابی را کاهش می‌دهد. برای اینکه بعد از صدمه طناب نخاعی متیل پردنیزولون از نظر بالینی مؤثر باشد، باید با مقدار ۳۰ mg/kg تزریق شود که در این مقدار اثرات آنتی‌اکسیدانی را نمایش می‌دهد که به آن اجازه می‌دهد رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد؛ از این‌رو پراکسیداسیون لیپید غشاهای سلولی القاشده توسط رادیکال‌های اکسیژن را کاهش می‌دهد [۵]. تعیین اثرات مفید متیل پردنیزولون و گلوکوکورتیکوئیدها بر یادگیری و حافظه توسط مطالعات مختلفی تأیید شده‌اند و این مطالعات مشخص کرده‌اند که متیل پردنیزولون دارای اثرات مفید بر مکانیسم‌های انگیختگی یا حسی-ادراکی در زمان شرطی شدن یا آزمون می‌باشد که این اثرات توسط مطالعات دیگری نیز بیان شده‌اند [۲۹-۲۷]، از طرف دیگر، Pugh و همکارانش متوجه شدند که گلوکوکورتیکوئیدها در تعدیل حافظه و یادگیری پاداشی نقش دارند [۳۰]، هم‌چنین، Sandi و همکاران بیان کرده‌اند که برانگیختگی زیاد یادگیری شرطی، آزادی بیشتر کورتیکوسترون و سطح تثبیت حافظه در ماز آبی باهم در ارتباط می‌باشند [۳۱]. تعدادی از مطالعات نشان می‌دهند که دوز بالای گلوکوکورتیکوئیدها مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی پس از ضربه را در هیپوکمپ افزایش می‌دهند و منجر به نقایص یادگیری، حافظه و مرگ و میر بالای پس از صدمه ترومای مغزی می‌شود [۳۳،۳۲،۶]. در یک مطالعه اثرات متیل پردنیزولون به همراه هورمون محرک ملانوسیت (α-MSH) جهت بهبود عملکردی پس از آسیب نخاعی در موش‌های صحرایی مورد استفاده قرار گرفته شده و نتایج به‌دست آمده نشان داده‌اند که α-MSH به‌تنهایی باعث بهبود می‌شود، درحالی‌که پس از استفاده هم‌زمان با متیل پردنیزولون، اثرات بهبوددهندگی آن از بین می‌رود. هم‌چنین، متیل پردنیزولون به‌تنهایی اثری بر بازگشت عملکردی ندارد [۲۵]. موارد دیگری نیز گزارش داده‌اند که تزریق متیل پردنیزولون منجر به اختلال شناخت در بیماران با صدمه سری می‌شود و این اختلال با کاهش تعداد اینترنورون‌ها در نواحی شکنج دندانه‌ای و CA3 به‌خصوص بعد از صدمه ضربه مغزی که منجر به اختلال فعالیت‌های الکتروفیزیولوژیکی در هیپوکمپ می‌شود، ایجاد می‌گردد [۳۴،۳۲،۱۸،۱۱]. هم‌چنین، مطالعات بسیاری اثرات منفی متیل پردنیزولون را در حافظه بیان کرده‌اند؛ ازجمله

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-06]

De Quervain و همکاران دریافتند که اگر نیم ساعت قبل از آزمون ماز آبی به پای حیوان شوک وارد شود، حافظه فضایی مختل می‌شود، اما اگر ۲ دقیقه قبل یا ۴ ساعت قبل از آزمون شوک وارد شود، اختلالی در حافظه ایجاد نمی‌کند. این اثرات وابسته به زمان و سطوح در گردش کورتیکوسترون در زمان آزمون می‌باشد که پیشنهاد می‌کند اختلال حافظه به‌طور مستقیم وابسته به عمل افزایش یافته آدرنوکورتیکوئید می‌باشد [۳۵]. هم‌چنین، القاء استرس و افزایش کورتیکوسترون منجر به اختلال حافظه فضایی می‌شود که این افزایش هورمون منجر به القاء تغییرات ساختاری در سلول‌های هیپوکمپ تشکیل‌دهنده لوپ سه سیناپسه می‌شوند و عمل آن را در ارتباط با یادگیری مختل می‌کند [۳۶]. در مطالعه‌ای که بر روی مردان جوان سالم انجام شد این افراد تحت تأثیر عامل استرس‌زای نرمال قرار گرفتند و سپس بازیابی حافظه آنها مورد آزمایش قرار گرفت، مشخص شد که بازیابی حافظه به‌طور معنی-داری بعد از شرایط استرس دچار اختلال شده بود. اثرات مضر متیل پردنیزولون بر حافظه توسط مطالعات دیگری نیز بیان شده‌اند [۳۷]. علت تفاوت نتیجه گزارش‌های ارائه شده با نتیجه این پژوهش، با توجه به اینکه از تزریق داخل صفاقی استفاده شده و دفعات تزریق ۴ بار و با فاصله زمانی ۶ ساعت بین تزریق‌ها بوده، احتمالا به‌دلیل تفاوت نوع و دفعات تزریق متیل پردنیزولون می-باشد و در موارد تشابه نوع و دفعات تزریق، تفاوت در دستگاه استفاده شده جهت آموزش یادگیری فضایی می‌باشد؛ به‌طوری‌که در این پژوهش از دستگاه ماز Y شکل استفاده شد و در برخی از مطالعات با نتیجه متفاوت از دستگاه‌های دیگری از جمله ماز آبی استفاده شده است.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست آمده می‌توان متیل پردنیزولون را به‌عنوان یکی از داروهای مؤثر جهت بهبود شناخت و یادگیری در بیماران مبتلا به آلزایمر معرفی کرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به‌خاطر همکاری و مساعدت در انجام این پروژه علمی-پژوهشی کمال تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

References:

[1] Goettl VM, Wemlinger TA, Colvin AE, Neff NH, Hadjiconstantinou M. Motoric behavior in aged rats treated with GM1. ***Brain Res*** 2001; 906(1-2): 92–100.

[2] Gris D, Marsh DR, Dekaban GA, Weaver LC. Comparison of effects of methylprednisolone and anti-CD11d antibody treatments on autonomic dysreflexia after spinal cord injury. ***J Exp Neurol*** 2005; 194(2): 541-9.

[3] Lankhorst AJ, ter Laak MP, Hamers FPT, Hendrik Gispen WH. Combined treatment with α MSH and methylprednisolone fails to improve functional recovery after spinal injury in the rat. ***Brain Res*** 2000; 859(2): 334-40.

[4] Moazedi AA, Nasri Nasrabadi M, Chinipardaz R. The effect of peripheral and central administration Monosialoganglioside GM1 on learning and memory of young and adult rats. ***Shahid Chamran Univ J Sci*** 2003; (11): 71-86. [in Persian]

[5] Nash HH, Broke RC, Anders JJ. Ensheathing cells and methylprednisolone promote axonal regeneration and functional recovery in the lesioned adult rat spinal cord. ***J Neurosci*** 2002; 22(16): 7111-20.

[6] Chen X, Zhang B, Chai Y, Dong B, Lei P, Jiang R, et al. Methylprednisolone exacerbates acute critical illness-related corticosteroid insufficiency associated with traumatic brain injury in rats. ***Brain Res*** 2011; 1382: 298-307.

[7] Bailey AM, Rudisill ML, Hoof EJ, Loving ML. 192 IgG-saporin lesions to the nucleus basalis magnocellularis (nBM) disrupt acquisition of learning set formation. ***Brain Res*** 2003; 969(1-2): 147-59.

[8] Goettl VM, Neff NH, Hadjiconstantinou M. Sciatic nerve axotomy in aged rats: response of motoneurons and the effect of GM1 ganglioside treatment. ***Brain Res*** 2003; 968(1): 44–53.

[9] Goettl VM, Wemlinger TA, Fong TG, Neff NH, Hadjiconstantinou M. Retinal cholinergic and dopaminergic deficits of aged rats are improved following treatment with GM1 ganglioside. ***Brain Res*** 2000; 877(1): 1–6.

[10] Ogawa M, Iida Y, Nakagawa M, Kuge Y, Kawashima H, Tominaga A, et al. Change of central cholinergic receptors following lesions of nucleus basalis magnocallularis in rats: search for an imaging index suitable for the early detection of Alzheimer's disease. ***Nucl Med Biol*** 2006; 33(2): 249-54.

[11] Benton RL, Ross CD, Miller KE. Spinal taurine levels are increased 7 and 30 days following methylprednisolone treatment of spinal cord injury in rats. ***Brain Res*** 2001; 893(1-2): 292-300.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-06]

[12] Doulah. AH, Haeri Rohani A, Khaksari Haddad M, Motamedi F, Farbood Y, Badavi M, et al. The effect of peripheral administration of growth hormone on AD-like cognitive deficiency in NBM-lesioned rats. ***Neurosci Lett*** 2009; 466(1): 47-51.
[13] Ewers M, Frisoni GB, Teipel SJ, Grinberg LT, Amaro JrE, Heinsen H, et al. Staging Alzheimer's disease progression with multimodality neuroimaging. ***Prog Neurobio*** 2011; 95(4): 535-6.
[14] González CLR, Miranda MI, Gutiérrez H, Ormsby C, Bermúdez-Rattoni F. Differential participation of the NBM in the acquisition and retrieval of conditioned taste aversion and Morris water maze. ***Behav Brain Res*** 2000; 116(1): 89-98.
[15] Tanaka S, Tabuchi K, Hoshino T, Murashita H, Tsuji S, Hara A. Protective effects of exogenous Gm-1 ganglioside on acoustic injury of the mouse cochlea. ***Neurosci Lett*** 2010; 473(3): 237-41.
[16] Tessitore A, del P Martin M, Sano R, Ma Y, Mann L, Ingrassia A, et al. GM1-ganglioside-mediated activation of the unfolded protein response causes neuronal death in a neurodegenerative gangliosidosis. ***Mol Cell*** 2004; 15(5): 753-66.
[17] Yoon DH, Kim YS, Young W. Therapeutic Time window for Methylprednisolone in spinal cord injured rat. ***Yonsei Med J*** 1999; 40(4): 313-20.
[18] Zhang B, Chen X, Lin Y, Tan T, Yang Z, Dayao C, et al. Impairment of synaptic plasticity in hippocampus is exacerbated by methylprednisolone in a rat model of traumatic brain injury. ***Brain Res*** 2011; 1382: 165-72.
[19] Goshadrou F. Modified sensory processing in the barrel cortex of the Rat model of Alzheimer's disease. ***J Gorgan Univ Med Sci*** 2011; 13(3): 16-25 [in Persian]
[20] Hoveida R, Moazedi AA, Rasekh AR. The effect of intra-Hippocampal CA_1 area injection of Estradiol Benzoate on the spatial learning and memory in adult male rats. ***Modares J Med Sci*** 2005; 7(2): 115-24. [in Persian]
[21] Rabiei Z, Rafieian-kopaei M, Heidarian E, Saghaei E, Mokhtari Sh. Effects of Zizyphus jujube extract on memory and learning impairment induced by bilateral electric lesions of the neucleus basalis of Mynert in rat. ***Neurochem Res*** 2014; 39(2): 353-60.
[22] Sarkaki AR, Valipoor Chahrdahcherik S, Kesmati M. The Effect of Intrafrontal Cortex Injection of Physostigmine on Active Avoidance Learning on the Animal Model of Alzheimer's Disease. ***J Rafsanjan Univ Med Sci*** 2006; 5(4): 265–72. [in Persian]
[23] Sarkaki AR, Amini R, Badavi M, Moghaddam AZ. Pre-treatment effect of different doses of Soy isoflovones on spatial learning and memory in an ovariectomized animal model of Alzheimer's disease. ***Pak J Biol Sci*** 2008; 11(8): 1114-9.
[24] Moazedi AA, Moosavi M, Chinipardaz R. The effect of Estrogen on passive avoidance memory in an experimental model of Alzheimer's disease in male rats. ***Physiol Pharmacol*** 2011; 14(4): 416-25 [in Persian]
[25] Song X, Zhang J, Ding L, Cao L, Xu X, Wen H. Methylprednisolone intrathecal injections suppress neuronal apoptosis following acute spinal cord injury. ***Neural Regen Res*** 2011; 6(17): 1306-12.
[26] Xu J, Fan G, Chen S, Wu Y, Xu XM, Hsu CY. Methylprednisolone inhibition of TNF-α expression and NF-kB activation after spinal cord injury in rats. ***Brain Res Mol Brain Res***1998; 59(2): 135-42.
[27] Flood JF, Vidal D, Bennett EL, Orme AE, Vasquez S, Jarvik ME. Memory facilitating and anti-amnesic effects of corticosteroids. ***Pharmacol Biochem Behav*** 1978; 8(1): 81–7.
[28] Sandi C, Rose SP. Corticosterone enhances long-term retention on one-day-old chicks trained in a weak passive avoidance learning paradigm. ***Brain Res*** 1994; 647(1): 106–12.
[29] Zorawski M, Killcross S. Posttraining. Glucocorticoid Receptor Agonist Enhances Memory in Appetitive and Aversive Pavlovian Discrete-Cue Conditioning Paradigms ***Neurobiol Learn Mem*** 2002; 78(2): 458–64.
[30] Pugh CR., Tremblay D, Fleshner M, Rudy JW. A selective role for corticosterone in contextualfear conditioning. ***Behav Neurosci*** 1997; 111(3): 503–11.
[31] Sandi C, Loscertales M, Guaza C. Experience-dependent facilitating effect of corticosterone on spatial memory formation in the water maze. ***Eur J Neurosci*** 1997; 9(4): 637–42.
[32] Chen X, Zhang KL, Yang SY, Dong JF, Zhang JN. Glucocorticoids aggravate retrograde memory deficiency associated with traumatic brain injury in rats. ***J Neurotrauma*** 2009; 26(2): 253-60.
[33] Chen X, Lin YP, Wang D, Zhang JN. Dexamethasone exacerbates spatial acquisition deficits after traumatic brain injury in rats. ***Neurol Res*** 2010; 32(10): 1097-102.
[34] Santhakumar V, Ratzliff Ad, Jeng J, Toth Z, Soltesz I. Long-term hyperexcitability in the hippocampus after experimental head trauma. ***Ann Neurology*** 2001; 50(6): 708-717.
[35] de Quervain DJ, Roozendaal B, McGaugh JL. Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. ***Nature*** 1998; 394(6695): 787-90.
[36] Luine VN. Steroid hormone influences on spatial memory. ***Ann N Y Acad Sci*** 1994; 14(743): 201–11.
[37] Kuhlmann S, Piel M, Wol OT. Impaired Memory Retrieval after Psychosocial Stress in Healthy Young Men. ***J Neurosci*** 2005; 25(11): 2977–82.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-06]