

اثر اریتروپویتین بر یادگیری و حافظه در رات‌های آلزایمری شده پس از تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن‌های طرفی مغز

دکتر پرهام رئیسی^۱، زهره عرب پور^۲، مولود شبرنگ^۳، دکتر بهمن رشیدی^۴، دکتر حجت‌اله علایی^۵،
دکتر محمدرضا شریفی^۶، دکتر محمود سلامی^۷، دکتر غلامعلی حمیدی^۷

خلاصه

مقدمه: با توجه به شیوع بیماری آلزایمر و اختلالات شدید یادگیری و حافظه در این بیماری و همچنین این که به تازگی مشخص شده است که اریتروپویتین (EPO) موجب بهبود عملکردهای شناختی می‌گردد و دارای اثرات نروپروتکتیو بارزی است، هدف این مطالعه بررسی اثر EPO بر یادگیری و حافظه در رات پس از آلزایمری کردن آن‌ها با تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) به داخل بطن‌های طرفی مغز بود.

روش‌ها: جهت ایجاد مدل آلزایمری در رات‌ها داروی استرپتوزوتوسین به درون بطن‌های طرفی مغز تزریق گردید و دو هفته بعد جهت تأیید القای اختلال یادگیری و حافظه، رات‌ها تحت آزمون یادگیری اجتنابی غیر فعال قرار گرفتند و سپس به مدت دو هفته اریتروپویتین به صورت یک روز در میان با دوز ۵۰۰ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به آن‌ها تزریق شد و سپس به طور مجدد تحت مطالعه‌ی رفتاری قرار گرفتند.

یافته‌ها: تزریق داخل بطن‌های مغزی استرپتوزوتوسین موجب کاهش شدید تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک در رات‌ها شد و تفاوت معنی‌داری میان گروه‌های شم و استرپتوزوتوسین وجود داشت. هر چند اریتروپویتین تأثیر معنی‌داری بر تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک در گروه شم نداشت، ولی از آسیب‌های ناشی از تزریق داخل بطن‌های مغزی استرپتوزوتوسین جلوگیری کرد، به طوری که این شاخص افزایش معنی‌داری در گروه استرپتوزوتوسین - اریتروپویتین نسبت به گروه استرپتوزوتوسین داشت. بین گروه استرپتوزوتوسین - اریتروپویتین و گروه شم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: این نتایج پیشنهاد کننده‌ی این موضوع است که ممکن است کاربرد اریتروپویتین بتواند به صورت چشم‌گیری در بهبود آسیب‌های یادگیری و حافظه در بیماری آلزایمر، مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: آلزایمر، اریتروپویتین، استرپتوزوتوسین، یادگیری و حافظه.

مقدمه

ناپذیر با اتیولوژی نامشخص و همراه با آسیب شدید یادگیری و حافظه است (۱-۲). شاخص‌های نوروپاتولوژیک این بیماری شامل تجمع وسیع کلافه‌های نوروفیبریلاری به دنبال هیپرفسفروریلاسیون

بیماری آلزایمر (AD) شایع‌ترین علت زوال عقل پیری است که میلیون‌ها انسان را در جهان درگیر کرده است. این بیماری یک اختلال مغزی پیشرونده و برگشت

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۱۸۹۰۲۹ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است که به صورت مشترک با دانشگاه علوم

پزشکی کاشان به شماره‌ی ۸۹۲۴ می‌باشد.

^۱ استادیار، مرکز تحقیقات بیوسنسور و مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۲ دانشجوی فیزیولوژی پزشکی و عضو کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

^۳ دانشجوی فیزیولوژی پزشکی، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۴ استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۵ استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۶ دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

^۷ استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

کاربرد اریتروپویتین می‌تواند باعث القای نوروزن در هیپوکامپ شده و از این طریق حافظه‌ی فضایی را بهبود بخشد (۱۲-۱۱). علاوه بر این EPO قادر است در محیط کشت، نورون‌ها را در مقابل عوامل مختلف استرس مانند استرس اکسیداتیو، سمیت تحریک بیش از حد ناشی از گلوتامات و عوامل دیگر که در پاتوژنز بیماری‌های نورودژنراتیو، مانند آلزایمر درگیر می‌باشند، محافظت نماید (۱۴-۱۳، ۱۰). هر چند مکانیسم دقیق اثر نوروپروتکتیو EPO به طور کامل مشخص نشده است، با این وجود نقش آن در پیشبرد آبشارهای پیام‌دهی مؤثر در بقای سلولی و افزایش بیان پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک در طیف وسیعی از مدل‌های آزمایشگاهی گزارش شده است (۱۵).

یکی از مدل‌های مناسب جهت القای بیماری آلزایمر و مطالعه‌ی این بیماری در حیوانات آزمایشگاهی، تزریق استرپتوزوتوسین (icv-STZ) به داخل بطن‌های مغزی است (۱۷-۱۶). این ماده یک ترکیب دیابتوزنیک است که جهت القای تیپ یک دیابت به کار می‌رود (۱۸) و مشخص شده است که تزریق این ماده با دوز غیر دیابتوزنیک به داخل بطن‌های طرفی مغز منجر به آسیب حافظه و فرآیندهای متابولیکی مغز، مشابه با آلزایمر نوع تک‌گیر (Sporadic)، که بیش از ۹۰ درصد بیماران مبتلا به آلزایمر را در بر می‌گیرد، می‌شود (۱۷-۱۶).

با توجه به اثرات مطلوب EPO در ضایعات مغزی از طریق افزایش نوروزن و اثرات نوروپروتکتیو و پیشنهاد کاربرد آن به عنوان یک درمان محتمل برای بیماران آلزایمر (۱۹، ۱۵)، هدف این مطالعه بررسی اثرات اریتروپویتین بر یادگیری و حافظه در رات‌های آلزایمری شده از طریق تزریق داخل بطن‌های مغزی STZ بود.

پروتئین tau (پروتئین‌هایی که موجب پایداری میکروتوبول‌ها می‌شوند)، نشست گسترده‌ی پلاک‌های بتا-آمیلوئید (A β) و تخریب وسیع نورون‌ها می‌باشد (۲-۱). هر چند مکانیسم‌های درگیر در کاهش حافظه و اعمال شناختی در بیماری آلزایمر مورد بحث می‌باشد، مشخص شده است که این بیماری همراه با کاهش نورون‌ها در چندین منطقه‌ی مهم برای یادگیری و حافظه، به خصوص در هیپوکامپ است (۱). این بیماری یک مشکل پزشکی و اجتماعی است که هیچ روش درمانی مؤثری برای آن وجود ندارد و مطالعات زیادی برای یافتن روش‌ها مناسبی جهت پیشگیری و درمان این بیماری نیز در حال اجرا هستند.

اریتروپویتین (EPO) یک عامل مؤثر در خونسازی می‌باشد که نقش اولیه‌ی آن جلوگیری از آپوپتوز رده‌ی اریتروییدی سلول‌های گلبول قرمز و افزایش ماندگاری آن‌ها می‌باشد (۲). این عامل به طور وسیعی برای درمان آنمی به کار می‌رود. EPO نوترکیبی انسانی (rh-EPO) پس از جداسازی ژن انسانی و بیان در یک لاین سلولی از تخمدان همستر چینی تولید می‌شود. وزن مولکولی این پروتئین حدود ۳۰/۴ کیلودالتون است و از لحاظ ایمنولوژیکی با هورمون درون‌زاد یکسان است و فعالیت بیولوژیک کاملی را بدون محدودیت در تمام گونه‌های جانوری بروز می‌دهد (۵-۳).

به تازگی مشخص شده است که EPO و گیرنده‌های آن در سیستم مرکزی اعصاب وجود دارند (۷-۶). پیام‌دهی گیرنده‌های EPO برای تکامل طبیعی مغز مورد نیاز می‌باشد. نشان داده شده است که این ماده دارای اثرات حفاظتی اعصاب (Neuroprotective) در مدل‌های حیوانی ضایعات سیستم مرکزی اعصاب مانند پارکینسون می‌باشد (۱۰-۸). مطالعات نشان داده‌اند

روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش رات‌های نر از نژاد ویستار با وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم بودند که در شرایط سیکل تاریکی و روشنی به صورت ۱۲ ساعته در قفس‌های چهارتایی نگهداری شدند. جهت القای آلزایمر از مدل تزریق داخل بطن‌های مغزی STZ (۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و با حجم ۴ میکرولیتر در هر بطن طرفی) استفاده گردید (۲۰، ۱۶). برای تزریق STZ، حیوانات را با تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات با دوز ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوش کرده و برای ثابت نگه داشتن دمای بدن رات ($36/5 \pm 0/5$ درجه ی سانتی گراد) از تشک گرم کننده استفاده شد.

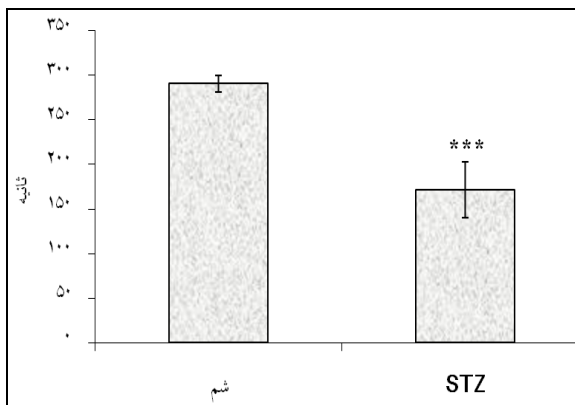
بعد از تراشیدن (Shave) موی سر حیوان، سر آن‌ها را در دستگاه استریوتاکسیک جراحی مغز ثابت کرده و با ایجاد شکافی طولی در بخش خلفی سر، جمجمه نمایان گشت. بعد از مشخص کردن مختصات استریوتاکس برای بطن‌های جانبی مغزی با استفاده از راهنمای اطلس مغز رات (۲۵) و همچنین با استفاده از مختصات به دست آمده از مطالعه‌ی پایلوت (جلویی-عقبی ۰/۸- میلی متر، جانبی ۱/۶ \pm میلی متر و پشتی-شکمی ۴/۲- میلی متر)، با کمک دریل دو سوراخ در جمجمه طوری که به بافت مغز آسیب نرساند ایجاد شد و کانول مخصوص تزریق را به آرامی وارد بطن‌ها شد و داروی STZ با دوز ۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را به وسیله سرنگ هامیلتون طی مدت ۳ دقیقه داخل هر بطن تزریق گردید. پس از اتمام تزریق، به مدت ۵ دقیقه سوزن مورد استفاده در داخل بطن باقی ماند و پس از اتمام این مدت سوزن خارج و همه‌ی این مراحل در بطن طرف مقابل انجام گرفت. گروه‌های شم

نیز به همین روش تحت جراحی قرار گرفتند ولی به جای STZ حجم مساوی از سالین دریافت نمودند. بعد از جراحی رات‌ها در قفس‌های جداگانه‌ای قرار گرفتند و بدون هیچ محدودیتی به آب و غذا دسترسی داشتند. جهت تأیید القای آلزایمر دو هفته پس از تزریق رات‌ها تحت مطالعه‌ی رفتاری قرار گرفتند و رات‌هایی که یادگیری و حافظه در آن‌ها دچار اختلال گردیده بود جهت ادامه‌ی مطالعه انتخاب شدند. از این زمان ۱۲ رات به ۴ گروه تقسیم شدند: (۱) گروه شم، (۲) گروه شم-EPO، (۳) گروه STZ و (۴) گروه EPO-STZ. گروه‌های دریافت کننده‌ی EPO این دارو را به صورت یک روز در میان با دوز ۵۰۰۰ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی و با حجم نیم میلی لیتر به مدت دو هفته دریافت کردند (۲۴-۲۱). همچنین گروه‌های شم نیز به همین ترتیب دارونما دریافت نمودند. پس از ۲ هفته همه‌ی رات‌ها تحت مطالعه‌ی رفتاری قرار گرفتند.

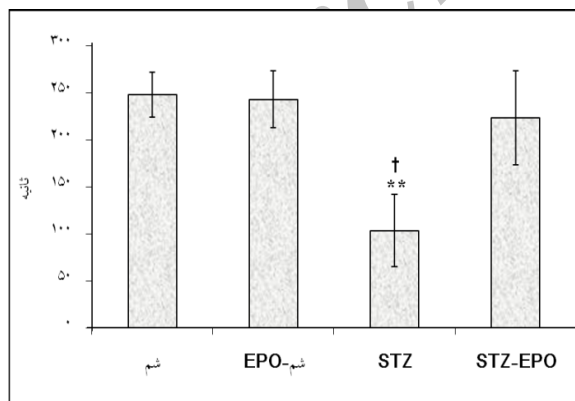
از آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال (Passive avoidance learning test) به منظور بررسی یادگیری و حافظه استفاده گردید. دستگاه یادگیری اجتنابی غیرفعال (Shuttle box) شامل دو بخش تاریک و روشن است که توسط یک درب گیوتینی از هم جدا می‌شوند. جهت اجرای مرحله‌ی یادگیری موش در حالی که پشتش به سمت در گیوتینی بود در داخل اتاق تاریک گذاشته شد و ۶۰ ثانیه بعد درب گیوتینی بالا کشیده شد. بعد از ورود موش به ناحیه‌ی تاریک در بسته شد و شوک الکتریکی (۷۵ ولت، ۰/۲ میلی آمپر و ۵۰ هرتز) به مدت ۳ ثانیه به کف پای حیوان اعمال گردید. زمان ورود از زمان باز شدن دریچه ثبت گردید و رات‌هایی که پس از باز شدن

دریچه‌ی گیوتینی تا ۶۰ ثانیه وارد اتاق تاریک نشدند از مطالعه خارج شدند. پس از آن حیوان از اتاق تاریک خارج و در قفس قرار داده شد. به منظور ارزیابی حافظه و القای آلزایمر ۲۴ ساعت بعد از دریافت شوک الکتریکی و همچنین دو هفته پس از تأیید القای آلزایمر و دریافت EPO رات‌ها دوباره در داخل اتاق روشن قرار داده شدند و تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک ثبت گردید. در این مرحله از شوک الکتریکی استفاده نگردید. سقف زمانی در این مرحله ۳۰۰ ثانیه بود. کلیه‌ی آزمایشات بین ساعت ۸-۱۱ صبح انجام گرفت. طولانی‌تر بودن تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک نشانه‌ی یادگیری و حافظه‌ی بهتر بود.

برای آنالیز نتایج مربوطه از آزمون‌های غیر پارامتریک Mann Whitney و Kruskal-Wallis استفاده شد.



نمودار ۱. مقایسه‌ی تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک دو هفته پس از دریافت STZ و یک روز پس از اعمال شوک جهت یادگیری در دستگاه شاتل باکس در دو گروه شم و STZ
 $P < 0.001$ ***



نمودار ۲. مقایسه‌ی بر تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک دو هفته پس از اعمال شوک جهت یادگیری، در دستگاه شاتل باکس در ۴ گروه مورد بررسی
 $P < 0.01$ ** در مقایسه‌ی گروه STZ با گروه شم
 $P < 0.05$ † در مقایسه‌ی گروه STZ با گروه EPO-STZ

برای آنالیز نتایج مربوطه از آزمون‌های غیر پارامتریک Mann Whitney و Kruskal-Wallis استفاده شد.

یافته‌ها

دو هفته پس از تزریق STZ و یک روز پس از اعمال شوک جهت یادگیری در دستگاه شاتل باکس، تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک در رات‌های گروه القای آلزایمر در مقایسه با گروه شم کاهش معنی‌داری داشت (به ترتیب $31/4 \pm 171/79$ ثانیه در گروه آلزایمری و $9/4 \pm 290/6$ ثانیه در گروه شم، $P < 0.001$ ، نمودار ۱).

نتایج حاصل از مرحله‌ی به یاد آوری پس از تأیید آلزایمر و تزریق EPO به مدت دو هفته نشان داد هر چند زمان ورود به اتاق تاریک در رات‌های گروه STZ نسبت به گروه شم به شدت کمتر بود (به ترتیب $38/25 \pm 103/62$ و $24/05 \pm 248/21$ ثانیه؛ $P < 0.01$)، ولی زمان ورود به اتاق تاریک در گروه

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کاربرد EPO می‌تواند به صورت معنی‌داری در بهبود آسیب‌های یادگیری و حافظه که به وسیله‌ی تزریق داخل بطن‌های مغزی STZ القا می‌شود، مؤثر باشد.

این تحقیق هماهنگ با مطالعات پیشین نشان داد تزریق STZ به داخل بطن‌های مغزی موجب اختلال شدید یادگیری و حافظه می‌گردد (۲۰). تحقیقات نشان داده‌اند که تزریق STZ به داخل بطن‌های جانبی مغز با دوزی که ایجاد دیابت قندی نمی‌کند، منجر به تخریب متابولیسم گلوکز در مغز می‌گردد. این تخریب باعث کاهش نسبت ATP به ADP می‌گردد که ممکن است به دلیل عدم تعادل بین تولید و مصرف انرژی باشد (۱۷).

مشخص شده است که نوروترانسمیتر استیل کولین برای شکل‌گیری و رشد حافظه و بازیابی آن لازم و ضروری است و سنتز آن به تجزیه‌ی گلوکز و وجود انسولین جهت کنترل فعالیت آنزیم استیل کولین ترانسفراز (آنزیم سازنده‌ی استیل کولین) نیاز دارد (۱۶). تحقیقات نشان دادند که icv-STZ با کاهش متابولیسم انرژی و استرس اکسیداتیو با مهار سنتز ATP و استیل کوآنزیم A و در نتیجه سنتز استیل کولین موجب آسیب عملکردهای شناختی می‌شود. همچنین مشخص شده است که فعالیت آنزیم استیل کولین ترانسفراز در هیپوکامپ موش‌های آلزایمری شده با STZ کاهش می‌یابد (۱۷).

علاوه بر این مشابه با بیماری آلزایمر تزریق داخل بطن‌های مغزی STZ با ایجاد یک آسیب طولانی مدت استرس اکسیداتیو و متابولیسم انرژی و افزایش سیتوکین‌های التهابی به خصوص اینترلوکین ۱ و ۸ به

صورت گسترده در مغز، موجب مرگ سلولی در مناطق مختلف مغز و به خصوص آپوپتوز شدید نورون‌ها در هیپوکامپ می‌گردد (۲۸-۲۶).

به علاوه در این مطالعه مشاهده گردید که هر چند کاربرد مزمن EPO بر روند یادگیری و حافظه در موش‌های گروه شم تأثیری نداشت ولی موجب بهبود چشمگیر در روندهای بازیابی اطلاعات در رات‌هایی که به دنبال icv-STZ دچار اختلال شده بودند، گردید. طبق تحقیقات به عمل آمده مشخص شده است که EPO و گیرنده‌های آن در سیستم مرکزی اعصاب وجود دارند (۲۹، ۷-۶). پیام‌دهی گیرنده‌های EPO برای تکامل طبیعی مغز نیاز می‌باشد و نشان داده شده است که این هورمون دارای اثرات نوروپروتکتیو در مدل‌های حیوانی ضایعات اکسیداتیو، سمیت تحریک بیش از حد ناشی از گلوتامات و عوامل دیگر در سیستم مرکزی اعصاب مانند پارکینسون، می‌باشد (۲۲، ۱۵).

مشخص شده است که مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی یا آپوپتوز در سیستم مرکزی اعصاب پستانداران بالغ وجود دارد (۳۰). این مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی اغلب در نواحی که در آن نورون‌ها حتی در دوران بلوغ نیز وجود دارد، مانند شکنج دندان‌دار از تشکیلات هیپوکامپ که نقش مؤثری در یادگیری و حافظه دارد، مشاهده می‌گردد (۳۱). از آن جایی که طی فرآیند نورون‌ها در بالغین تعداد بسیار زیادی از نورون‌های جدید ساخته می‌شوند و تنها برخی از آن‌ها زنده مانده و بقیه دچار آپوپتوز می‌شوند (۳۲)، لذا پیشنهاد شده است که آپوپتوز در این ناحیه وابسته به فرآیند نورون‌ها است (۳۳). بنابراین با توجه به این که آپوپتوز یک فرآیند پیچیده است که می‌تواند توسط

حفاظتی داشته باشد علاوه بر این EPO قادر است در محیط کشت، نورون‌ها را در مقابل عوامل مختلف استرس مانند استرس پاتوژن بیماری‌های نورودژنراتیو، مانند آلزایمر، محافظت نماید و ممکن است تأثیر تغییرات اکسیداتیو دیده شده در موش‌های icv-STZ را معکوس کند (۲۹، ۱۶). همچنین مشخص شده است که اریتروپویتین باعث کاهش سیتوکین‌های التهابی می‌گردد و می‌تواند باعث بهبود عوارض التهابی ناشی از بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر شود (۴۰، ۲۲).

به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد EPO می‌تواند تا حدودی در بهبود آسیب‌های icv-STZ مؤثر باشد. بنابراین ممکن است که این ماده از نظر کلینیکی در درمان بیماری آلزایمر و یا پیشگیری از ابتلا به این بیماری مفید باشد. همچنین در حاشیه‌ی این تحقیق مشخص شد رات‌هایی که icv-STZ دریافت کردند مرگ و میر بالایی داشتند و تظاهرات پیش از مرگ آن‌ها شامل خونریزی از بینی، چشم، گوش، فلج شدن دست و پا و در نهایت مرگ بود. ولی مشاهده شد که عوارض ناشی از تزریق icv-STZ و میزان مرگ و میر در حیواناتی که تحت درمان با EPO قرار گرفتند به طور چشمگیری کاهش پیدا کرد. بنابراین از آن جایی که این دارو به عنوان داروی شیمی درمانی در بیماران سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرد، شاید استفاده از EPO در کنار این دارو بتواند از عوارض سوء آن بکاهد.

References

- Herring A, Ambree O, Tomm M, Habermann H, Sachser N, Paulus W, et al. Environmental enrichment enhances cellular plasticity in transgenic mice with Alzheimer-like pathology. *Exp Neurol* 2009; 216(1): 184-92.
- Lasne F, de CJ. Recombinant erythropoietin in urine. *Nature* 2000; 405(6787): 635.
- Kumral A, Uysal N, Tugyan K, Sonmez A, Yilmaz O, Gokmen N, et al. Erythropoietin improves long-term spatial memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in rats. *Behav Brain Res* 2004; 153(1): 77-86.
- Spivak JL, Hogans BB. The in vivo metabolism of recombinant human erythropoietin in the rat.

عوامل یا شرایط بسیار زیادی القا و تنظیم گردد، عواملی که بتوانند در این ناحیه منجر به القای نوروزن شوند و یا از مرگ سلول‌های تازه متولد شده جلوگیری نمایند، می‌توانند بر عملکرد شناختی یادگیری و حافظه تأثیر گذارند (۳۶-۳۴).

مطالعات نشان داده‌اند که کاربرد اریتروپویتین می‌تواند باعث القای نوروزن در هیپوکامپ شود و از این طریق حافظه‌ی فضایی را بهبود بخشد (۳۸-۳۷). اثرات مطلوب EPO در ضایعات مغزی مانند سکتی مغزی و ضربه‌ی مغزی از طریق افزایش نوروزن و همچنین اثرات نوروپروتکتیو از طریق افزایش گلوکز ترانسپورترها، آنزیم‌های گلیکولیتیک و فاکتورهای رشد به اثبات رسیده است (۳۹، ۱۲)، ضمن این که این اثرات EPO ربطی به اثر خون‌سازی آن ندارد (۲۳).

طبق تحقیقات صورت گرفته EPO می‌تواند بیان ژن BDNF (فاکتور نوروتروفین مغزی) و برخی نوروفیلان‌ها و پروتئین‌هایی را که به طور اختصاصی در نورون‌ها بیان می‌شوند، در هیپوکامپ مغز موش‌ها تسهیل کند. BDNF به عنوان عاملی برای حفظ و بقای نورون‌ها است و می‌تواند موجب کاهش فسفوریلاسیون تیروزین کیناز B شده و منجر به القای تمایز نورونی گردد (۳۸).

EPO به دلیل داشتن فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی، می‌تواند در پیش‌گیری از تخریبات ناشی از استرس اکسیداتیو و بروز اختلالات ناشی از آن نقش

- Blood 1989; 73(1): 90-9.
5. Squadrito F, Altavilla D, Squadrito G, Campo GM, Arlotta M, Quartarone C, et al. Recombinant human erythropoietin inhibits iNOS activity and reverts vascular dysfunction in splanchnic artery occlusion shock. *Br J Pharmacol* 1999; 127(2): 482-8.
 6. Li F, Chong ZZ, Maiese K. Erythropoietin on a tightrope: balancing neuronal and vascular protection between intrinsic and extrinsic pathways. *Neurosignals* 2004; 13(6): 265-89.
 7. Maiese K, Li F, Chong ZZ. New avenues of exploration for erythropoietin. *JAMA* 2005; 293(1): 90-5.
 8. Gonzalez FF, McQuillen P, Mu D, Chang Y, Wendland M, Vexler Z, et al. Erythropoietin enhances long-term neuroprotection and neurogenesis in neonatal stroke. *Dev Neurosci* 2007; 29(4-5): 321-30.
 9. Grasso G, Sfacteria A, Meli F, Fodale V, Buemi M, Iacopino DG. Neuroprotection by erythropoietin administration after experimental traumatic brain injury. *Brain Res* 2007; 1182: 99-105.
 10. Wu Y, Shang Y, Sun SG, Liu RG, Yang WQ. Protective effect of erythropoietin against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced neurodegeneration in PC12 cells. *Neurosci Bull* 2007; 23(3): 156-64.
 11. Lu D, Mahmood A, Qu C, Goussev A, Schallert T, Chopp M. Erythropoietin enhances neurogenesis and restores spatial memory in rats after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2005; 22(9): 1011-7.
 12. Zhu L, Wang HD, Yu XG, Jin W, Qiao L, Lu TJ, et al. Erythropoietin prevents zinc accumulation and neuronal death after traumatic brain injury in rat hippocampus: in vitro and in vivo studies. *Brain Res* 2009; 1289: 96-105.
 13. Kawakami M, Sekiguchi M, Sato K, Kozaki S, Takahashi M. Erythropoietin receptor-mediated inhibition of exocytotic glutamate release confers neuroprotection during chemical ischemia. *J Biol Chem* 2001; 276(42): 39469-75.
 14. Nakata S, Matsumura I, Tanaka H, Ezoe S, Satoh Y, Ishikawa J, et al. NF-kappaB family proteins participate in multiple steps of hematopoiesis through elimination of reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2004; 279(53): 55578-86.
 15. Ma R, Xiong N, Huang C, Tang Q, Hu B, Xiang J, et al. Erythropoietin protects PC12 cells from beta-amyloid(25-35)-induced apoptosis via PI3K/Akt signaling pathway. *Neuropharmacology* 2009; 56(6-7): 1027-34.
 16. Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Behav Brain Res* 2006; 171(1): 9-16.
 17. Lannert H, Hoyer S. Intracerebroventricular administration of streptozotocin causes long-term diminutions in learning and memory abilities and in cerebral energy metabolism in adult rats. *Behav Neurosci* 1998; 112(5): 1199-208.
 18. Reisi P, Alaei H, Babri S, Sharifi MR, Mohaddes G. Effects of treadmill running on spatial learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett* 2009; 455(2): 79-83.
 19. Li G, Ma R, Huang C, Tang Q, Fu Q, Liu H, et al. Protective effect of erythropoietin on beta-amyloid-induced PC12 cell death through antioxidant mechanisms. *Neurosci Lett* 2008; 442(2): 143-7.
 20. Ishrat T, Hoda MN, Khan MB, Yousuf S, Ahmad M, Khan MM, et al. Amelioration of cognitive deficits and neurodegeneration by curcumin in rat model of sporadic dementia of Alzheimer's type (SDAT). *Eur Neuropsychopharmacol* 2009; 19(9): 636-47.
 21. Adamcio B, Sargin D, Stradomska A, Medrihan L, Gertler C, Theis F, et al. Erythropoietin enhances hippocampal long-term potentiation and memory. *BMC Biol* 2008; 6: 37.
 22. Chu K, Jung KH, Lee ST, Kim JH, Kang KM, Kim HK, et al. Erythropoietin reduces epileptogenic processes following status epilepticus. *Epilepsia* 2008; 49(10): 1723-32.
 23. El-Kordi A, Radyushkin K, Ehrenreich H. Erythropoietin improves operant conditioning and stability of cognitive performance in mice. *BMC Biol* 2009; 7: 37.
 24. van der Kooij MA, Groenendaal F, Kavelaars A, Heijnen CJ, van BF. Neuroprotective properties and mechanisms of erythropoietin in in vitro and in vivo experimental models for hypoxia/ischemia. *Brain Res Rev* 2008; 59(1): 22-33.
 25. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press; 2005.
 26. Shin EJ, Jeong JH, Bing G, Park ES, Chae JS, Yen TP, et al. Kainate-induced mitochondrial oxidative stress contributes to hippocampal degeneration in senescence-accelerated mice. *Cell Signal* 2008; 20(4): 645-58.
 27. Vendramini AA, de Labio RW, Rasmussen LT, Dos Reis NM, Minett T, Bertolucci PH, et al. Interleukin-8-251T > A, Interleukin-1alpha-889C > T and Apolipoprotein E polymorphisms in Alzheimer's disease. *Genet Mol Biol* 2011; 34(1): 1-5.
 28. Zhou Y, Qu ZQ, Zeng YS, Lin YK, Li Y, Chung P, et al. Neuroprotective effect of preadministration with *Ganoderma lucidum* spore on rat hippocampus. *Exp Toxicol Pathol* 2011. [Epub ahead of print].
 29. Wiese L, Hempel C, Penkowa M, Kirkby N, Kurtzhals JA. Recombinant human erythropoietin increases survival and reduces neuronal apoptosis.

- tosis in a murine model of cerebral malaria. *Malar J* 2008; 7: 3.
30. White LD, Barone S Jr. Qualitative and quantitative estimates of apoptosis from birth to senescence in the rat brain. *Cell Death Differ* 2001; 8(4): 345-56.
 31. Biebl M, Cooper CM, Winkler J, Kuhn HG. Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain. *Neurosci Lett* 2000; 291(1): 17-20.
 32. Gould E, Vail N, Wagers M, Gross CG. Adult-generated hippocampal and neocortical neurons in macaques have a transient existence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(19): 10910-7.
 33. Schlessinger AR, Cowan WM, Gottlieb DI. An autoradiographic study of the time of origin and the pattern of granule cell migration in the dentate gyrus of the rat. *J Comp Neurol* 1975; 159(2): 149-75.
 34. Ferri P, Cecchini T, Ciaroni S, Ambrogini P, Cuppini R, Santi S, et al. Vitamin E affects cell death in adult rat dentate gyrus. *J Neurocytol* 2003; 32(9): 1155-64.
 35. Osredkar D, Sall JW, Bickler PE, Ferriero DM. Erythropoietin promotes hippocampal neurogenesis in in vitro models of neonatal stroke. *Neurobiol Dis* 2010; 38(2): 259-65.
 36. Young D, Lawlor PA, Leone P, Dragunow M, During MJ. Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Nat Med* 1999; 5(4): 448-53.
 37. Ning B, Zhang A, Song H, Gong W, Ding Y, Guo S, et al. Recombinant human erythropoietin prevents motor neuron apoptosis in a rat model of cervical sub-acute spinal cord compression. *Neurosci Lett* 2011; 490(1): 57-62.
 38. Viviani B, Bartesaghi S, Corsini E, Villa P, Ghezzi P, Garau A, et al. Erythropoietin protects primary hippocampal neurons increasing the expression of brain-derived neurotrophic factor. *J Neurochem* 2005; 93(2): 412-21.
 39. Ghezzi P, Brines M. Erythropoietin as an anti-apoptotic, tissue-protective cytokine. *Cell Death Differ* 2004; 11(Suppl 1): S37-S44.
 40. Kim SM, Song J, Kim S, Han C, Park MH, Koh Y, et al. Identification of peripheral inflammatory markers between normal control and Alzheimer's disease. *BMC Neurol* 2011; 11: 51.

Archive of SID

The Effects of Erythropoietin on Learning and Memory in Rats with Alzheimer's Disease

Parham Reisi PhD¹, Zohreh Arabpoor², Molood Shabrang³, Bahman Rashidi PhD⁴,
Hojjatallah Alaei PhD⁵, Mohammad Reza Sharifi PhD⁵, Mahmood Salami PhD⁶,
Gholamali Hamidi PhD⁷

Abstract

Background: Alzheimer's disease is a prevalent disease resulting in learning and memory impairments. Recently, erythropoietin (EPO) has been demonstrated to improve cognitive functions and to have neuroprotective effects. This study aimed to evaluate the effects of erythropoietin on learning and memory in rats after intracerebroventricular (ICV) injection of streptozotocin (STZ), a well defined model for Alzheimer's disease.

Methods: To produce Alzheimer's disease model in rats, STZ was infused in lateral ventricles of the brain. Two weeks later, the rats were tested by passive avoidance learning test to confirm the induction of learning and memory impairments. They then received EPO (5000 IU/kg) once every two days for two weeks. Finally, behavioral tests were conducted again.

Findings: A reduction in time delay for the first entrance of rats to dark chamber as a result of ICV-STZ was found; i.e. there was a significant deference between the sham and the ICV-STZ groups. Although EPO did not have any significant effects on time delay for the first entrance to dark chamber in the sham group, it prevented impairments resulting from ICV-STZ. In fact, the index significantly increased in the STZ-EPO group compared to the STZ group. However, there was not a significant difference between the STZ-EPO and sham groups.

Conclusion: The present results suggest use of EPO to probably cause significant improvements of learning and memory defects in Alzheimer's patients.

Keywords: Alzheimer, Erythropoietin, Streptozotocin, Learning and memory.

* This paper is derived from a MSc thesis No. 189029 in Isfahan University of Medical Sciences and No. 8924 in Kashan University of Medical Sciences.

¹ Assistant Professor, Biosensor Research Center and Applied Physiology Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

² Student of Medical Physiology, Student Research Committee, Department of Physiology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

³ Student of Medical Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

⁴ Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

⁵ Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

⁶ Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

⁷ Assistant Professor, Department of Physiology, School of Medicine and Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

Corresponding Author: Gholamali Hamidi PhD, Email: hamidi_gh@kaums.ac.ir