مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۲، شماره ۲، تابستان ۹۱، صفحات ۸۵ تا ۹۲

Original Article

اثر استاتین‌ها بر یادگیری احترازی غیرفعال و نورژنز سلول‌های CA_1 و DG در هیپوکامپ رت‌های نر مبتلا به آلزایمر

پریچهر یغمایی[۱]، کاظم پریور[۲]، نسیم عالی خانی[۳]

[۱] دانشیار، دکترای فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران
[۲]استاد، دکترای زیست‌شناسی تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران
[۳]کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران

چکیده

سابقه و هدف: *بیماری آلزایمر، بیماری نورودژنرایتو وابسته به سن در دوران کهولت است که با از دست رفتن سلول‌های عصبی در مغز و دمانس مشخص می‌گردد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، رت‌های نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفتند: گروه کنترل: رت‌های دست نخورده، گروه شم: رت‌هایی که هسته NBM آنها با ایبوتینک اسید تخریب شده و حلال سالین به مدت ۱۴ روز به طریق گاواژ دریافت کردند، گروه تجربی ۱ و ۲ و ۳ به ترتیب رت‌هایی با تخریب NBM و دریافت کننده آتورواستاتین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سیموواستاتین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و آتورواستاتین و سیموواستاتین هرکدام به میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز به طریق گاواژ بودند. یادگیری و حافظه تمام گروه‌ها با استفاده از دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال (PAL) بررسی گردید. به منظور بررسی‌های بافتی، مغز به طور کامل خارج و به سرعت به فرمالین ۱۰٪ منتقل شد.*

یافته‌ها: *STL (مدت زمان ماندن در قسمت روشن) در گروه های تجربی نسبت به کنترل و شم افزایش معنی‌داری پیدا کرد ($p<۰/۰۰۱$). تیمار با استاتین در گروه‌های تجربی باعث کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۰۱$) TDC (مدت زمان باقی ماندن در قسمت تاریک) در مقایسه با گروه کنترل وشم شد. در مطالعات هیستولوژیکی مغز، افزایش معنی‌دار سلول‌های گرانولار در منطقه DG و همچنین افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های پیرامیدال در منطقه CA_1 در گروه ۲ ($p<۰/۰۰۱$) و گروه ۳ ($p<۰/۰۱$) نسبت به گروه کنترل و شم مشاهده شد.*

نتیجه‌گیری: *این مطالعه نشان داد که استاتین‌ها ممکن است منجر به بهبود یادگیری و حافظه و ترمیم هیپوکامپ در رت‌های نر آلزایمری شوند.*

واژگان کلیدی: *آلزایمر، استاتین، یادگیری احترازی غیرفعال، هیپوکامپ، رت نر.*

مقدمه

بیماری آلزایمر، بیماری نورودژنرایتو وابسته به سن در دوران کهولت می‌باشد که با از دست رفتن سلول‌های عصبی در مغز و دمانس مشخص می‌گردد (۲،۱). اختلال شناختی در سن پیری و بیماری آلزایمر با اختلال سیستم کولینرژیک ارتباط دارد. کولین استیل ترانسفراز در بیماری آلزایمر، به ویژه در کورتکس گیجگاهی و هیپوکامپ، کاهش می‌یابد (۳). دانسیته نورون‌های کولینرژیک مغز جلویی به طور قابل توجهی در نواحی قشری و هیپوکامپ در بیماری آلزایمر کاهش می‌یابد. غلظت استیل کولین مایع مغزی-نخاعی در بیماران دارای بیماری آلزایمر کاهش می‌یابد و یک رابطه مثبت با دمانس را نشان می‌دهد (۴). علت و پیشرفت بیماری آلزایمر به خوبی شناخته نشده است. تحقیقات نشان می‌دهند که بیماری با

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی،گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم تحقیقات، دکتر پریچهر یغمایی
(**email**: yaghmaei_p@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۹/۲۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۲/۲

Archive of SID
www.SID.ir

ظهور پلاک‌ها و کلاف‌های نامنظم رشته‌های عصبی در مغز ارتباط دارد (۵). بعضی از گروه‌های نورونی ترجیحا به وسیله کلاف‌ها در بیماری آلزایمر مبتلا می‌شوند، به عنوان مثال کلاف‌های نوروفیبریلاری به تناوب در نواحی هیپوکامپ که در پردازش تجربه قبلی جهت ذخیره به عنوان حافظه دائمی دخالت دارند، رخ می‌دهد. این فرآیند با نقص‌های بالینی مشاهده شده در مرحله اولیه بیماری آلزایمر در یادگیری و حافظه و ایجاد حافظه‌های جدید و همچنین بانگهداری نسبی حافظه‌های ثابت شده همراه است. همچنین نورون‌های قاعده مغز قدامی که بیشترین عصب دهی کولینرژیک به قشر را دارند، به طور چشمگیری مبتلا هستند. نقص های نوروترانسمیتری کولینرژیکی ناشی از آن اغلب به وسیله مهارکننده‌های کولین استراز درمان می‌شوند (۶). این یافته‌ها همراه با نتایج مطالعاتی که نشان می‌دهند داروهای آنتی کولینرژیکی در عملکرد وظایف حافظه دخالت می‌کنند، پیشنهاد می‌نمایند که اختلالات کولینرژیک مسئول اختلالات شناختی وابسته به سن و بیماری آلزایمر می‌باشند (۷). استاتین‌ها مهارکننده‌های ۳-هیدروکسی ۳- متیل گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز می‌باشند که سرعت سنتز کلسترول را محدود می‌کنند و تاثیر به سزایی در کاهش LDL و کلسترل پلاسما دارند. استاتین‌ها خطر بیماری‌های قلبی- عروقی و حملات قلبی را کاهش می‌دهند (۱۰-۸).

مطالعات بالینی متعددی که به تازگی در سراسر نقاط جهان روی استاتین انجام شده، فواید مهارکننده‌های ۳ هیدروکسی ۳ متیل گلوتاریل کو آنزیم A ردوکتاز با استاتین‌ها را در پیشگیری اولیه و ثانویه از بیماری‌های قلبی و عروقی مطرح کرده‌اند و نتیجه‌گیری کرده‌اند که استاتین‌ها به جز اثر کاهش کلسترول خون، فواید قابل توجه دیگری نیز دارند و احتمالا می‌توان این ترکیبات دارویی را در درمان و پیشگیری از بیماری‌های غیرقلبی مانند سرطان، عفونت‌ها، آلزایمر، بیماری‌های مزمن انسدادی، بیماری‌های مزمن ریوی و سایر مشکلات عملکردی ریه به کار برد. البته هنوز جایگاه استاتین‌ها در درمان یا پیشگیری این بیماری‌ها به اثبات نرسیده است (۱۱). مهم‌ترین ناحیه در ارتباط با یادگیری و حافظه، هیپوکمپ می‌باشد. هیپوکمپ دارای آوران‌ها و وابران‌های متعددی است. خروجی اصلی هیپوکمپ، آکسون سلول در هرمی ناحیه CA_1 می‌باشند که به ساختمان مختلف مغزی ارسال می‌شوند. هیپوکمپ همچنین آوران‌های متعددی را از سایر نواحی مغزی دریافت می‌کند و در نتیجه عمل هیپوکمپ تحت تاثیر اعمال سایر ساختمان‌های مغزی قرار می‌گیرد و خود نیز آن نواحی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۲). سپتوم یکی از نواحی است که از هیپوکمپ ورودی دریافت می‌کند، خروجی‌های هیپوکمپ هم از ناحیه CA_1 و هم از ناحیه CA_3 وارد سپتوم می‌شوند. امروزه نقش سیستم سپتوم– هیپوکمپی در انجام اعمال مختلف یادگیری و حافظه به اثبات رسیده است (۱۳). هیپوکمپ مسیرهای خروجی را به طور مستقیم و غیرمستقیم به آمیگدال می‌فرستد که از ناحیه CA_1 هیپوکمپ منشاء می‌گیرند. مسیر غیرمستقیمی که از ناحیه CA_1 هیپوکمپ به آمیگدال می‌رود از هیپوتالاموس عبور می‌کند (۱۴). با توجه به اینکه بیماری آلزایمر شایع‌ترین عامل نارسایی‌های عصبی هنگام پیری است و ۲۵ میلیون نفر در سرتاسر جهان به آن مبتلا هستند و با توجه به اینکه استاتین‌ها امروزه یکی از پرمصرف‌ترین داروها در بیماران قلبی می‌باشند، بر آن شدیم تا اثرات استاتین‌ها را بر انشعابات کولینرژیک NBM (nucleus Basal Minret) که به سپتوم میانی و سپس هیپوکامپ می‌روند و در یادگیری حافظه نقش دارند، در مدل حیوانی آلزایمری شده مورد مطالعه و بررسی قرار دهیم.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۵۰±۳۰۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در شرایط آزمایشگاهی مناسب با درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت و ۱۲ ساعت تاریکی و نیز رطوبت نسبی هوای بین ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. آب و غذای کافی همواره در دسترس حیوانات قرار داشت. در این تحقیق از ۴۰ رت استفاده گردید. رت ها در ۵ گروه ۸ تایی قرار گرفتند:

گروه کنترل: گروه رت‌های سالم بودند که آب و غذای کافی در اختیار داشتند.

گروه شم: در این گروه هسته NBM (هسته قاعده‌ای مینرت) با ایبوتنیک اسید (۵ میکروگرم در هر هسته) تخریب شد و روزانه ۱ میلی گرم بر کیلوگرم سالین (حلال) را دریافت کردند.

گروه تجربی ۱: رت‌های نر با تخریب NBM که روزانه ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم آتورواستاتین را به مدت ۱۴ روز دریافت کردند.

گروه تجربی ۲: رت‌های نر با تخریب NBM که روزانه ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیموواستاتین به مدت ۱۴ روز دریافت کردند.

Archive of SID
www.SID.ir

گروه تجربی ۳: رت‌های نر با تخریب NBM که روزانه ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم آتورواستاتین و سیموواستاتین را به مدت ۱۴ روز دریافت کردند.

ابتدا رت‌ها توزین و سپس با تزریق داخل صفاقی ۶۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن هیدروکلراید (Alfasan, woerden, Holland) و ۲۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن زایلازین (Alfasan, woerden, Holland) بیهوش شدند. تخریب NBM بر اساس روش Wang و همکارانش صورت گرفت (۱۵، ۱۶).

بعد از بیهوشی، حیوان در دستگاه استرئوتاکس قرار گرفت و سر حیوان در دستگاه کاملا ثابت شد (Narshinge, Tokyo, Japan). برای ایجاد مدل حیوانی بیماری آلزایمر، از تخریب شیمیایی هسته NBM به صورت دوطرفه با استفاده از اسید ایبوتنیک (sigma chemicalco.,USA) استفاده شد. ایبوتنیک اسید داروی سمی مشتق شده از قارچ‌ها است (۱۷).

مختصات هسته NBM با توجه به مختصات استخراج شده از اطلس جراحی پاکسینوس و واتسون (AP = -۱/۳ mm و DV = -۶/۶mm ، Ml = ± ۲/۳) (DV از سطح استخوان جمجمه) مشخص گردید (۱۸).

به منظور تخریب هسته NBM، پس از سوراخ کردن نقاط مشخص شده، با استفاده از سرنگ هامیلتون (۵ میکرولیتری)، اسید ایبوتنیک (۵ میکروگرم در هر طرف) که در ۰/۵ میکرولیتر سالین نرمال حل شده بود، به آرامی و در طی ۳ دقیقه به درون هسته NBM تزریق شد. سرنگ هامیلتون به مدت ۵ دقیقه پس از تزریق در محل باقی می‌ماند تا ضمن پیشگیری از پس زدن محلول دارو و نیز دیفیوژن، تمامی محلول تزریقی جذب نورون‌های هسته مغز شود. بعد از اتمام تزریق، پوست سر توسط نخ جراحی بخیه شد (۱۹). پس از اتمام عمل جراحی، حیوانات به دمای مناسب منتقل و پس از به هوش آمدن در قفس‌های پلاستیکی قرار گرفتند و آن گاه به مدت ۱۰-۷ روز جهت بهبودی کامل مورد مراقبت قرار گرفتند.

داروهای سیموواستاتین و آتورواستاتین به میزان ۰/۰۱٪ در سالین محلول بودند. این محلول‌ها توسط شیکر کاملا محلول می‌شد و توسط سرنگ و نیدل گاواژ به مدت ۱۴ روز به رت‌ها خورانده می‌شد، به این صورت که پوست پشت گردن حیوان محکم به وسیله دست گرفته می‌شود و نیدل را به صورت عمودی و قائم وارد مری کرده تا به معده برسد (۲۰).

در مورد تست رفتاری، دستگاه تست یادگیری احترازی غیرفعال شامل یک جعبه با ابعاد ۱۸×۱۸×۶۰ سانتی‌متر می‌باشد که توسط دیوار عرضی به ۲ محفظه تقسیم می‌شود (یک بخش روشن و یک بخش تاریک). در دیوار عرضی، یک درب گیوتینی متحرک تعبیه شده است (سایز ۹ × ۷ سانتی متر). کف جعبه از میله‌های موازی با هم و عمود بر محور طولی جعبه تشکیل شده است که یک درمیان به قطب + و - متصل هستند. حیوان تحریک الکتریکی را با شدت ۱ میلی‌آمپر به مدت ۵ ثانیه که توسط استیمولاتور به میله‌های فولادی کف بخش تاریک منتقل می‌شود، را دریافت می‌کند. ابتدا همه گروه‌های آزمایشی به دستگاه عادت داده می‌شوند(۲۲،۲۱). به این ترتیب که ۵ ثانیه بعد از قرار دادن حیوان در قسمت روشن دستگاه، در باز می‌شود. بلافاصله پس از ورود حیوان به قسمت تاریک در بسته شده و حیوان به قفس باز گردانده می‌شود. این عمل ۳۰ دقیقه بعد تکرار می‌شود. ۳۰ دقیقه پس از بار دوم عادت، مرحله اکتساب PLA انجام می‌شود. بلافاصله بعد از ورود حیوان به قسمت تاریک، در بسته شده و شوک الکتریکی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱ میلی‌آمپر به مدت ۱ ثانیه به پای حیوان وارد می‌گردد. عدم ورود حیوان به ناحیه تاریک به مدت ۱۲۰ ثانیه به عنوان یادگیری موفق در یادگیری احترازی غیر فعال در نظر گرفته می‌شود. در صورت ورود مجدد حیوان به ناحیه تاریک، در برای بار دوم بسته شده و شوک وارد می‌گردد. در آزمون به خاطر آوری که ۲۴ ساعت پس از آموزش صورت می‌گرفت، حیوانات در قسمت روشن قرار داده می‌شدند. ۵ ثانیه بعد در باز می‌گردید و زمانی که طول می‌کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک شود (Step Through latency, STL) و مدت زمانی که در آنجا می‌ماند (Time in Dark compartment, TDC) به مدت ۵ دقیقه (۳۰۰ ثانیه) محاسبه گردید.

جهت بررسی‌های هیستولوژیکی مغز را خارج کرده و به مدت ۲۴ ساعت در فیکساتور فرمالین قرار داده و سپس طی مراحل آب‌گیری و درنهایت قالب‌گیری شده، برش‌های ۷-۶ میکرون تهیه گردید و رنگ‌آمیزی به وسیله هماتوکسیلین و ائوزین انجام شد. هدف از تهیه برش‌های مغزی از نواحی CA_1 و DG هیپوکامپ بررسی تغییرات احتمالی بافت مغز و شمارش سلول‌های پیرامیدال و گرانولار در هر مقطع بود که به طور کاملا تصادفی ۵ مقطع از مقاطع بافتی هر گروه بررسی‌های میکروسکوپی شدند (۲۳).

داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تست Tukey بررسی گردیدند. نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار ارائه گردید. $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد (۲۴).

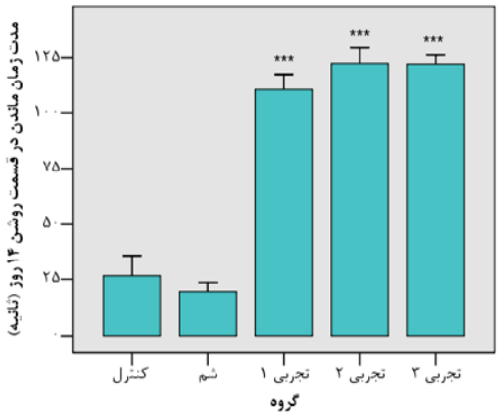
یافته‌ها

آتورواستاتین و سیموواستاتین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز موجب افزایش معنی‌دار STL (مدت

Archive of SID

www.SID.ir

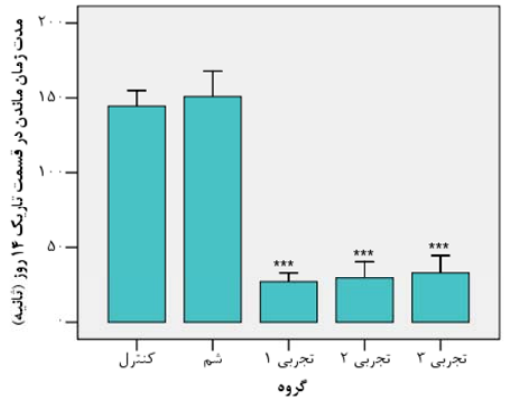
زمان ماندن در روشنایی) رت‌های نـر گـروه تجربـی ۱، ۲ و ۳ نسبت به کنترل و شم شد (نمودار ۱).



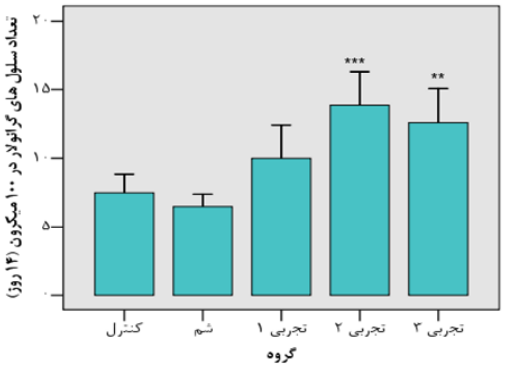
نمودار ۱- مقایسه مدت زمان ماندن در قسمت روشن با ۱۴ روز تیمار خوراکی استاتین. کنترل: رت های سالم؛ شم: رت‌هایی با تخریب NBM دریافت کننده حلال (سالین)؛ گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳: رت‌هایی با تخریب NBM که به ترتیب آتورواستاتین، سیموواستاتین و آتورواستاتین + سیمواستاتین را به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. *** تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل با $p<۰/۰۰۱$.

آتورواستاتین و سیموواستاین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به مدت ۱۴ روز موجب کاهش معنی دار TDC (مدت زمـان ماندن در تاریکی) رت‌های نر گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل و شم شد (نمودار ۲).

تیمار خوراکی استاتین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مـدت ۱۴ روز در ارزیابی هیستولوژیکال مقاطع مغـز افـزایش در تعـداد سلول‌های پیرامیدال در ناحیه CA_1 و سلول‌های گرانولار در ناحیه DG رت‌های نر با تخریب NBM در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. در گروه تجربی ۲ که سیموواستاتین را به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به مدت ۱۴ روز دریافت کردنـد، افـزایش معنـی‌دار ($P < ۰/۰۰۱$) در تعداد سلول‌های گرانولار مشاهده شد. در گـروه تجربـی ۳ کـه آتورواسـتاتین و سیموواسـتاتین را بـه میـزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به مدت ۱۴ روز دریافت کردنـد، افـزایش معنی‌دار ($P <۰/۰۱$) در تعداد سلول‌های گرانولار مشاهده شد که نشان دهنده نوروژنز نسبی بود.



نمودار ۲- مقایسه مدت زمان ماندن در قسمت تاریک با ۱۴ روز تیمار خوراکی استاتین. کنترل: رت های سالم؛ شم: رت‌هایی با تخریب NBM دریافت کننده حلال (سالین)؛ گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳: رت‌هایی با تخریب NBM که به ترتیب آتورواستاتین، سیموواستاتین و آتورواستاتین + سیمواستاتین را به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. *** تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل با $p<۰/۰۰۱$.



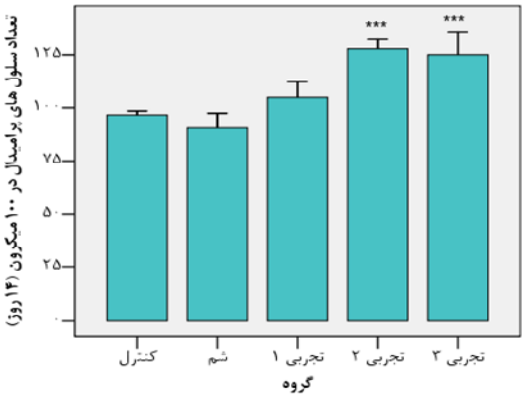
نمودار ۳- مقایسه تعداد سلول‌های گرانولار با ۱۴ روز تیمار خوراکی استاتین. ** $p<۰/۰۱$ و *** $p<۰/۰۰۱$ بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل.

تیمار خوراکی آتورواستاتین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلـوگرم به مدت ۱۴ روز تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (نمودار ۳ و شکل ۱ و ۲). تیمار خـوراکی اسـتاتین افزایش معنی‌دار ($P < ۰/۰۰۱$) در تعداد سلول‌های پیرامیـدال در مقایسه با گروه کنترل را نشان داد.

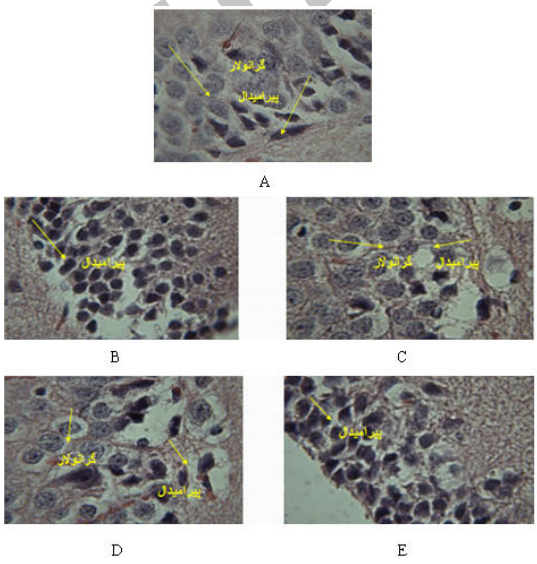
تیمار خوراکی آتورواستاتین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلـوگرم به مدت ۱۴ روز تفاوت معنی داری ($P < ۰/۰۰۱$) را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (نمودار ۴ و شکل ۱).

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۴- مقایسه تعداد سلول‌های پیرامیدال با ۱۴ روز تیمار خوراکی استاتین. *** *** تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل با p<۰/۰۰۱.



شکل ۱- مقاطع مغز رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین (بزرگنمایی ۱۰۰)

A: نمایی از مقطع CA_1 گروه کنترل؛ B: نمایی از مقطع CA_1 در گروه تجربی دریافت کننده سیمواستاتین ۱۴ روز؛ C: نمایی از مقطع DG در گروه تجربی دریافت کننده سیمو واستاتین ۱۴ روز؛ D: نمایی از مقطع DG در گروه تجربی دریافت کننده آتورواستاتین ۱۴ روز؛ E: نمایی از مقطع CA_1 در گروه تجربی دریافت کننده آتورواستاتین ۱۴ روز

مدت زمان ماندن رت‌ها در قسمت تاریک (TDC) بین گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳ که ۱۴ روز تیمار خوراکی را دریافت کرده اند با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت (P < ۰/۰۰۱).

بحث

داده‌ها نشان می‌دهند که یادگیری و حافظه در رت‌های نر نژاد ویستار با تخریب NBM به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. رت‌های نر با تخریب NBM که به مدت ۱۴ روز داروی استاتین دریافت کردند، بهبودی معنی‌داری (P < ۰/۰۰۱) در یادگیری و حافظه نشان دادند.

نتایج نشان می دهند که تیمار خوراکی استاتین‌ها (آتورواستاتین و سیموواستاتین) اختلال حافظه و یادگیری را در رت‌های نر نژاد ویستار دچار اختلالات شناختی القاء شده به وسیله تخریب NBM به عنوان یک مدل حیوانی مبتلا به مرحله اولیه بیماری آلزایمر بهبود می‌بخشد. استاتین درمانی، عملکرد رت‌های نر نژاد ویستار در دستگاه یادگیری احترازی غیرفعال را به طور معنی‌داری (P < ۰/۰۰۱) تقویت می‌کند.

نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که یادگیری و حافظه در گروه‌های دریافت کننده استاتین به طور معنی‌داری تقویت یافته است. مطالعات رفتاری بین گروه کنترل و گروه دریافت کننده استاتین، تقویت حافظه را نشان می‌دهد.

یافته‌های حاصل از بررسی‌های رفتاری با کمک روش یادگیری احترازی غیرفعال بر رت‌های آلزایمری نشان دهنده اثرات بهبودی دهنده استاتین‌ها بر حافظه ویادگیری می‌باشد. در بررسی‌های انجام شده شاهد اثرات معنی‌دار استاتین بر میزان یادگیری و حافظه رت‌های آلزایمری بودیم. زیرا که دراین گروه از موش‌های تیمارشده در یادگیری احترازی غیرفعال زمان TDC به شدت کاهش (P<۰/۰۰۱) و در عوض زمان STL به شدت افزایش یافت (P<۰/۰۰۱).

تزریق ایبوتنیک اسید، تعدادی از نورون‌ها را در نواحی CA_1 و DG دستخوش تخریب می‌کند (۱۹) و استفاده از داروهای استاتین در پژوهش حاضر (آتورو استاتین و سیمو واستاتین) اثرات قابل ملاحظه‌ای در مطالعات میکروسکوپی داشت. این تاثیر در گروه تجربی که سیمو استاتین دریافت کرده بودند چشم‌گیرتر بود که احتمالاً به واسطه خاصیت لیپوفیلیک آن بود که قادر است از سد خونی-مغزی عبور نماید و احتمالاً اختلالات کولینرژیکی ناشی از ایبوتنیک را در حیوانات آلزایمری تعدیل نموده است (۲۵).

Wang و همکارانش درسال ۲۰۰۲ اثرات سیموواستاتین و آتورواستاتین را بر روی بهبود حافظه و یادگیری، کاهش دژنره شدن هیپوکامپ و بهبود جریان نخاعی اثبات کردند (۲۶) که می‌تواند تاییدی بر یافته‌های ما در پژوهش حاضر باشد.

Parl M. و همکارانش در سال ۲۰۰۱ در مطالعه‌ای نشان دادند که کمبودهای حافظه به وسیله آتورواستاتین و سیموواستاتین قابل برگشت می‌باشند (۲۷). در این پژوهش احتمالاً استاتین‌ها با تاثیر روی انشعابات کولینرژیکی NBM که به سپتوم میانی و هیپوکامپ می‌روند توانسته‌اند حافظه از دست

Archive of SID
www.SID.ir

رفته را جبران نمایند و می‌تواند تاییدی بر یافته های فوق باشد.

Galatti و همکارانش در سال ۲۰۰۶ فقدان حافظه کوتاه مدت را در مورد یک فرد ۵۳ ساله قفقازی با کلسترول بالا مورد بررسی قرار دادند و متوجه بازگشت حافظه در این فرد با دریافت روزانه ۱۰ میلی‌گرم رزرواستاتین شدند (۲۸). یافته‌های فوق نیز موید نتایج ما در پژوهش حاضر می‌باشد.

امروزه تحقیقات زیادی جهت پی بردن به اساس فیزیکی و شیمیایی یادگیری و حافظه در جریان است و ثابت شده است که انواع داروهای محرک عصبی مرکزی در صورتی که قبل یا بعد از جلسات آموزش به حیوان داده شوند، موجب تغییراتی در عملکرد یادگیری می‌شوند (۲۹).

اگر یک ترکیب دارویی به صورت پیش آموزش یعنی قبل از جلسات یادگیری تجویز شود و در رفتار حیوان اثر بگذارد، این ترکیب به عنوان اثر کننده بر فرآیند اکتساب و در مواردی مؤثر بر فرآیندهای یادگیری محسوب می‌شود، ولی در صورتی که پس از هر دوره یادگیری به صورت بعد از آموزش در درجات مختلف تجویز شوند و بر رفتار حیوان مؤثر باشند، این ترکیب به عنوان اثر کننده بر روی فرآیندهای تثبیت حافظه در نظر گرفته می‌شود (۳۰).

از آنجایی که در پژوهش حاضر داروی سیموواستاتین و آتورواستاتین تجویز شده است، احتمالاً داروهای مذکور می‌توانند بر فرآیندهای تثبیت حافظه موثر باشند. Chen و همکارانش در سال ۲۰۰۳ نشان دادند استاتین‌ها می‌توانند فعالیت نوروژنز و سیناپتوژنز رت‌های ضربه مغزی را درمان نمایند. در نتایج ما نیز تعداد سلول‌های گرانولار و سلول‌های پیرامیدال افزایش معنی‌داری داشت ($P<0/001$) و بیانگر این است که احتمالاً فعالیت نوروژنز را در حیوانات آلزایمری افزایش داده است. همچنین Ca O و همکارانش در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که اثرات سیموواستاتین بر یادگیری و حافظه وابسته به گونه‌های پروتئین بتاآمیلوئید است و درمان با سیموواستاتین با افزایش بیان گونه‌هایی از پروتئین کیناز B و نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیالی در مغز موش همراه می‌شود. با توجه به مطالعات بافتی در پژوهش حاضر احتمالا استاتین‌ها با افزایش تولید پروتئین کینازها سبب افزایش انشعابات دندریتی و تعداد سیناپس‌ها و در نتیجه تسهیل در میزان حافظه و یادگیری شده‌اند. در مطالعه‌ای که Dunyue Lu و همکارانش در سال ۲۰۰۷ انجام دادند، به بررسی تاثیرات استاتین‌ها بر حافظه فضایی، بقای نورونی و تراکم عروق موش‌های ماده پس از ضربه مغزی پرداختند. مطالعات میکروسکوپی در این تحقیق نشان داد آتورو استاتین تراکم سلولهای نورونی را در منطقه CA_3 هیپوکامپ، به طرز چشم‌گیری افزایش می‌دهد و این حاکی از آن است که آتورواستاتین، از مرگ نورون‌های آسیب دیده در منطقه جراحت و نواحی هیپوکامپ بر اثر وقوع ضربه مغزی جلوگیری می‌کند. نتایج ما در پژوهش حاضر یافته‌های Dunyue Lu و همکارانش را تایید میکند. انشعابات کولینرژیک هسته قاعده‌ای مغز (NBM) در آمیگدال وقشر پیشانی در یادگیری و حافظه فضایی نقش دارند و در طی تکوین مغز و سیستم عصبی، عمل کولین و استیل کولین بسیار مهم است، زیرا که استیل کولین در واقع کوفاکتور تنظیمی برای بسیاری از فرآیندهای وابسته به تکوین مغز و سیستم عصبی است (۳۱). و همچنین محتوی کولین در طی تکوین جنینی میزان یادگیری و حافظه را تنظیم می‌کند (۳۲). نشان داده شده استاتین‌ها حاوی مولکول‌هایی هستند که قادرند تکثیر سلولی، بقاء و مهاجرت و تشکیل مدارها و کلاً توپوگرافی مغز را تنظیم کنند. گر چه در این پژوهش غلظت استیل کولین سنجیده نشده است، اما تراکم نورونی و تراکم تعداد سلول‌ها در بررسی‌های هیستولوژیکی موید این است که احتمالاً استاتین‌ها با افزایش غلظت استیل کولین باعث بقاء و تراکم نورونی در حیوانات شده‌اند. Zeisel در سال ۲۰۰۰ در طی تحقیقات خود بروی تاثیرات کولین بر تکوین طبیعی سیستم عصبی تاکید کرد. بنابراین در تکوین سیستم کولینرژیک در هیپوکامپ، سنتز آنزیم های مختلف در آن مورد توجه بوده است (۳۳). گیرنده‌های موسکارینی استیل‌کولینی قادرند تحریک پذیری را در سلول‌های پیرامیدال هیپوکامپ تعدیل و تنظیم کنند. بنابراین موادی همانند ایبوتنیک اسید که به عنوان بلوکرهای گیرنده‌های موسکارینی استیل کولین می‌باشند، قادرند روی بافت‌ها و رفتارهای موجودات تیمار شده با آنها تاثیر گذارند (۳۳). تغییرات ایجاد شده در ساختار سلول‌های عصبی می‌تواند روی اعمال این سلول‌ها تاثیر بگذارند. در تحقیق حاضر نیز احتمالاً استاتین‌ها به خصوص سیموواستاتین که به خوبی از سد خونی- مغزی عبور می‌کند توانسته است این تغییرات را در سیستم کولینرژیک جبران نماید. استاتین‌ها با خواص ضدالتهابی خود میزان حافظه و یادگیری را از طریق حفاظت نورون‌ها در مغز رت‌های مورد آزمایش افزایش داده است.

از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود با توجه به اینکه داروها و عوامل خارجی عوامل سیگنال‌دهی سیستم نوروترانسمیتری داخل سلول را تغییر می‌دهند و تغییرات ایجاد شده در ساختار

Archive of SID
www.SID.ir

سلول‌های عصبی می‌تواند روی اعمال این سلول تاثیر بگـذارد، بنابراین با توجه به اثرات استاتین‌ها در یادگیری احتمالاً مـی-توان از این دارو در جهت درمان بیماری‌هـای شـناختی نظیـر مولتیپل اسکلروز (MS) و پارکینسون استفاده نمود.

REFERENCES

1. Berchtold NC, Cotman CW. Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s. Neurobiol Aging 1998; 19: 173-89.
2. Kish SJ, el-Awar M, Schut L, Leach L, Oscar-Berman M, Freedman M. Cognitive deficits in olivopontocerebellar atrophy: implications for the cholinergic hypothesis of Alzheimer's dementia. Ann Neurol 1988; 24: 200-2006.
3. Davies P, Maloney AJ. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. Lancet 1976; 2: 1403.
4. Tohgi H, Abe T, Hashiguchi K, Saheki M, Takahashi S. Remarkable reduction in acetylcholine concentration in the cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer type dementia. Neurosci Lett 1994; 177: 139-42.
5. Hernández F, Avila J. Tauopathies. Cell Mol Life Sci 2007; 64: 2219-33.
6. Ohnishi S, Takano K. Amyloid fibrils from the viewpoint of protein folding. Cell Mol Life Sci 2004; 61: 511-24.
7. Court JA, Perry EK. CNS nicotinic receptors: therapeutic target in neurodegeneration. CNS Drugs 1994; 2: 216-33.
8. Essig M, Vrtovsnik F, Nguyen G, Sraer JD, Friedlander G. Lovastatin modulates in vivo and in vitro the plasminogen activator/plasmin system of rat proximal tubular cells: role of geranylgeranylation and Rho proteins. J Am Soc Nephrol 1998; 9: 1377-88.
9. Laufs U. Beyond lipid-lowering: effects of statins on endothelial nitric oxide. Eur J Clin Pharmacol 2003; 58: 719-31.
10. Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. Statins augment vascular growth factor expression osteoblastic cells via inhibition of protein prenylation. Endocrinology 2003; 144: 681-92.
11. Eto M, Kozai T, Cosentino F, Joch H, Lüscher TF. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. Circulation 2002; 105:1 756-59.
12. Gluck MA, Myers CE. Psychobiological models of hippocampal function in learning and memory. Annu Rev Psychol 1997; 48: 481-514.
13. Givens BS, Olton DS. Cholinergic and GABAergic modulation of medial septal area: effect on working memory. Behav Neurosci 1990; 104: 849-55.
14. Kandel ER, Schwartz J, Jessell T, Siegelbaum S, Hudspeth AJ, Eds. Principles of neural science. 5th ed. Philadelphia: McGraw-Hill; 2012. p.1227-79.
15. Kupfelman I. The cellular mechanisms of learning in Aplysia: of blind men and elephants. Biol Bull 2006; 210: 271-79.
16. Sarkaki A, Amani R, Badavi M, Moghaddam AZ, Aligholi H, Safahani M, et al. Pre-treatment effect of different doses of soy isoflavones on spatial learning and memory in an ovariectomized animal model of Alzheimer's disease. Pak J Biol Sci 2008; 11: 1114-19.
17. Wang QH, Xu RX, Nagao S. Transplantation of cholinergic neural stem cells in a mouse model of Alzheimer's disease. Chin Med J (Engl) 2005; 118: 508-11.
18. Gallagher M, Graham PW, Holland PC. The amygdala central nucleus and appetitive Pavlovian conditioning: lesions impair one class of conditioned behavior. J Neurosci 1990; 10: 1906-11.
19. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. New York: Elsevier Academic Press; 2007.
20. Wang QH, Xu RX, Nagao S. Transplantation of cholinergic neural stem cells in a mouse model of Alzheimer's disease. Chin Med J (Engl) 2005; 118: 508-11.
21. Lu D, Qu C, Goussev A, Jiang H, Lu C, Schallert T, Mahmood A, et al. Statins increase neurogenesis in the dentate gyrus, reduce delayed neuronal death in the hippocampal CA3 region, and improve spatial learning in rat after traumatic brain injury. J Neurotrauma 2007; 24:1132-46.
22. Zarrindast MR, Bakhsha A, Rostami P, Shafaghi B. Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. J Psychopharmacol 2002; 16: 313-19.
23. Zarrindast M, Madadi F, Ahmadi S. Repeated administrations of dopamine receptor agents affect lithium-induced state-dependent learning in mice. J Psychopharmacol 2009; 23: 645-51.

Archive of SID

www.SID.ir

24. Parivar K, Mohseni Kouchesfahani H. Technical methods of histology, emberyology and zoology. Tehran: al-Hossein Pub;1999. [In persian]

25. Kinear PR, Gray CD, Eds. SOSS for windows made simple. Hove: LEA; 1995.

26. McKenney JM. Pharmacologic characteristics of statins. Clin Cardiol 2003; 26:III32-38.

27. Wang JH, Ko GY, Kelly PT. Cellular and molecular bases of memory: synaptic and neuronal plasticity. J Clin Neurophysiol 1997; 14: 264-93.

28. Joukhadar C, Klein N, Prinz M, Schrolnberger C, Vukovich T, Wolzt M, et al. Similar effects of atorvastatin, simvastatin and pravastatin on thrombogenic and inflammatory parameters in patients with hypercholesterolemia. Thromb Haemost 2001; 85: 47-51.

29. Galatti L, Polimeni G, Salvo F, Romani M, Sessa A, Spina E. Short-term memory loss associated with rosuvastatin. Pharmacotherapy 2006; 26: 1190-92.

30. Ghoneim MM, Mewaldt SP. Benzodiazepines and human memory: a review. Anesthesiology 1990; 72: 926-38.

31. Galasko D, Schmitt F, Thomas R, Jin S, Bennett D; Alzheimer's Disease Cooperative Study. Detailed assessment of activities of daily living in moderate to severe Alzheimer's disease. J Int Neuropsychol Soc 2005; 11: 446-53.

32. Carew TJ, Pinsker HM, Kandel ER. Long-term habituation of a defensive withdrawal reflex in aplysia. Science 1972; 175: 451-54.

33. Nelson RJ. Modeling microcircuits of realistic Hippocampus neurons. J Neuro Science 2004; 23:478-89.

34. Cermak JM, Holler T, Jackson DA, Blusztajn JK. Prenatal availability of choline modifies development of the hippocampal cholinergic system. FASEB J 1998; 12: 349-57.

35. Wilkinson JA. Side effects of transdermal scopolamine. J Emerg Med 1987; 5: 389-92.

36. Gordon T. Estrogen and cognitive function learning center 2003; 12:145-151.

Archive of SID

www.SID.ir