

تأثیر اسیدفولیک بر یادگیری و حافظه فضایی در مدل تخریب الکتریکی هسته‌ی قاعده‌ای مگنوسلولاریس: مدل حیوانی بیماری آلزایمر

نسترن زمانی^{۱*} 

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

زمینه: بیماری آلزایمر (AD) یک بیماری نورودژنراتیو همراه با اختلال شناختی شدید است. با در نظر گرفتن نقش اسیدفولیک (FA) بر بهبود عملکردهای شناختی در برخی از مدل‌های بیماری، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر اسیدفولیک بر اختلال یادگیری و حافظه فضایی القاء شده توسط تخریب الکتریکی دو طرفه هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس (NBM) در موش‌های صحرایی نر بالغ مدل بیماری آلزایمر انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۹ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند: کنترل، تخریب NBM (تخریب الکتریکی دوطرفه NBM)، شاهد تخریب (ورود الکتروود به NBM بدون القاء جریان الکتریکی)، حلال (تخریب + سالین)، تخریب + اسیدفولیک (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم). در گروه‌های تحت تیمار ۳۰ دقیقه بعد از تخریب NBM تزریق داخل صفاقی اسیدفولیک و یا سالین به مدت یک هفته انجام شد. سپس به مدت ۵ روز بوسیله ماز Y شکل آموزش دیدند. بیست و پنج روز بعد از آموزش نیز آزمون فراخوانی حافظه برای ارزیابی حافظه بلند مدت انجام گرفت.

یافته‌ها: تخریب دوطرفه NBM منجر به کاهش یادگیری و حافظه فضایی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد تخریب گردید ($P < 0/001$). افزایش معنی‌دار یادگیری و حافظه فضایی در گروه‌های تخریب ۱۰+ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید فولیک ($P < 0/05$) و تخریب ۱۵+ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید فولیک ($P < 0/01$) در مقایسه با گروه تخریب مشاهده شد.

پیام کلیدی: در این مطالعه به نظر می‌رسد مصرف اسیدفولیک موجب بهبود یادگیری و حافظه فضایی در مدل بیماری آلزایمر می‌گردد.

واژگان کلیدی:

اسیدفولیک

یادگیری

حافظه فضایی

هسته قاعده‌ای مگنوسلولاریس

بیماری آلزایمر

*نویسنده مسئول:

نسترن زمانی

zamani2000@pnu.ac.ir

کد اخلاق:

E/ 99, 24, 3061243/scu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۲
پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۴



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی و درمانی بوشهر



مرکز تحقیقات
طب گرمسیری و غنوی خلیج فارس



CrossMarck

Original Research

The Effect of Folic Acid on Learning and Spatial Memory in Electrical Leisions Model of Nucleus Basalis Magnocellularis: Animal Model of Alzheimer's Disease

N. Zamani^{1*}

¹ Department of Biology, School of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder with severe cognitive impairments. Taking into account the role of folic acid on improving cognitive functions in some disease models, the present study aimed to examine the effect of folic acid on spatial learning and memory impairment induced by bilateral electrical lesion of nucleus basalis magnocellularis (NBM) in Alzheimer's disease model of adult male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 49 adult male Wistar rats were randomly divided into seven groups: Negative control, NBM lesion (bilateral electric lesion of NBM), sham lesion (electrode entry into NBM without induction of electric current), vehicle (lesion+saline), and lesion+folic acid (FA 5, 10, 15 mg/kg). In the treated groups, intraperitoneal injection of folic acid or saline was performed for one week, 30 minutes after the NBM lesion. Then, they were trained for five days by Y-shaped maze. Twenty-five days after the training, a memory recall test was performed to evaluate long-term memory.

Results: NBM bilateral lesion decreased learning and spatial memory compared to the negative and sham control groups ($P < 0.001$). There was a significant increase in learning and spatial memory in the lesion+FA 10 mg/kg ($p < 0.05$) and lesion+FA 15 mg/kg ($P < 0.01$) groups compared to the lesion group.

Conclusion: The results of this study show that folic acid improves learning and spatial memory in Alzheimer's disease models with bilateral electrical lesions of NBM in adult male rats.

Keywords:

Folic Acid
learning
spatial memory
Nucleusbasalisof magno-
cellularis
Alzheimer's disease

*Corresponding author:

Nastaran Zamani
na_zamani2000@pnu.ac.ir
Ethical code:
EE/ 99, 24, 3061243/scu.ac.ir

Received: 2024/07/26
Accepted: 2024/10/05



مقدمه

بیماری آلزایمر (Alzheimer's disease: AD) اختلالی نورودژنراتیو است که نهایتاً می‌تواند منجر به زوال عقل در این بیماران می‌گردد (۱). در حالیکه کاهش پیشرونده عملکردهای شناختی از نشانه‌های بالینی اولیه در افراد مبتلا به آلزایمر است، علائم آن سال‌ها پیش از ابتلای فرد به زوال عقل نمایان می‌گردد (۲). از ویژگی‌های مهم پاتولوژیک بیماری آلزایمر رسوبات خارج سلولی پروتئین آمیلوئیدبتا (Beta-amyloid: Aβ) در نتیجه پردازش غیر طبیعی پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید (APP)، هیپرفسفریلاسیون پروتئین تاو و تشکیل کلافه‌های نوروفیبریلاری (NFT) در داخل سلول، گلیوز، فقدان نورونی (۳) و نیز دژنراسیون نورون‌های کولینرژیک هسته‌های قاعده‌ای مگنوسلولاریس (Nucleus basalis) (Magnocellularis: NBM) در جوندگان و یا معادل آن هسته‌های قاعده‌ای مینرت در انسان می‌باشد (۴ و ۵).

اسیدفولیک (ویتامین B9) فرمی از فولات است که در عملکرد طبیعی سیستم عصبی نقش دارد. برخی مطالعات تأثیر اسیدفولیک را بر کاهش التهاب (۶)، استرس اکسیداتیو (۷ و ۸)، رسوبات Aβ42 (۸)، فسفریلاسیون تاو (۹)، فعالیت استیل‌کولین‌استراز (۷) و نیز بهبود یادگیری و حافظه (۷ و ۶) در مدل‌های بیماری آلزایمر، التهاب عصبی، کم‌کاری تیروئید و دیابت نشان می‌دهند. هموسیستئین (Hcy) نیز اسیدآمینوای است که از طریق چرخه متیلاسیون وابسته به فولات و ویتامین B12 کاتابولیزه می‌شود و گروه متیل را برای تعدادی از مراحل متابولیک فراهم می‌کند (۱۰). مطالعات پیشین ارتباط بین کمبود اسیدفولیک در رژیم غذایی و افزایش سطوح پروتئین‌های کربنیل در قشر فرونتال و هیپوکامپ، افزایش سطوح پلاسمایی هموسیستئین و اختلال در حافظه فضایی را

نشان می‌دهند (۱۱). برخی مطالعات نیز نشان دهنده ارتباط مثبت بین سطوح افزایش یافته هموسیستئین در پلاسما (HHcy) و بیماری آلزایمر (۱۰) و نیز تأثیر HHcy بر آسیب DNA، آپوپتوز سلول‌های عصبی، افزایش تولید Aβ (۱۲)، پاسخ‌های التهابی در هیپوکامپ (۱۳)، کاهش سطوح استیل‌کولین در قشر مغز (۱۴) و آسیب نورونی در نواحی خاصی از مغز مثل هیپوکامپ (۱۲) می‌باشند. در حالیکه در مطالعاتی دیگر تأثیر اسیدفولیک بر تنظیم پاسخ التهابی، مهار آپوپتوز و استرس اکسیداتیو و نیز کاهش سطوح Hcy در موش‌های مدل آسیب گلومرولی و شریانی القاء شده بوسیله HHcy نشان داده شده است (۱۵ و ۱۶).

بنابراین با در نظر گرفتن اثرات اسیدفولیک بر افزایش سطوح استیل‌کولین و نیز کاهش التهاب، استرس اکسیداتیو، آپوپتوز و سطوح پلاسمایی Hcy و همچنین تأثیر آن بر بهبود یادگیری و حافظه در برخی از مدل‌های بیماری در مطالعه حاضر بر آن شدیم تا تأثیر تزریق داخل صفاقی اسیدفولیک را بلافاصله پس از القای مدل حیوانی بیماری آلزایمر به روش تخریب الکتریکی دوطرفه‌ای NBM بر یادگیری و حافظه فضایی در دستگاه ماز Y شکل مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی 20 ± 20 گرم مورد بررسی قرار گرفتند. موش‌ها در گروه‌های چهارتایی در هر قفس، در خانه حیوانات با درجه حرارت کنترل شده (۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد) و تحت چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و آب و غذا به مقدار کافی در دسترس داشتند. در انجام این آزمایشات، منشور و موازین اخلاق در پژوهش (کمیته اخلاق پژوهش وزارت علوم، تحقیقات

و فناوری ۱۳۰۹/۲۵۰۳ مورخ ۱۳۹۰/۱۲/۳ (ش ۱۳۹۰ الف ۹/۵۵/۵۵/۱۸۰۱)) مبنای کار قرار گرفت و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت انجام شد. آزمایشات رفتاری در دوره روشنائی با استفاده از دستگاه ماز ۷ شکل انجام گرفت. ماده مورد استفاده اسیدفولیک بود که از شرکت سیگما تهیه گردید. موش‌ها به‌طور تصادفی به هفت گروه (n=۷) تقسیم شدند.

گروه اول (کنترل): که تحت هیچ گونه تزریق یا جراحی قرار نگرفتند.

گروه دوم (تخریب NBM): که تحت عمل جراحی استروئوتاکسیک الکتروود تخریب به صورت دوطرفه وارد NBM شد و با عبور جریان الکتریکی عمل تخریب انجام گردید.

گروه سوم (شاهد تخریب): که تحت جراحی و ورود الکتروود به NBM (بدون القاء جریان الکتریکی) قرار گرفتند.

گروه چهارم (حلال): که تحت عمل جراحی تخریب دوطرفه NBM قرار گرفتند و ۳۰ دقیقه بعد از جراحی حلال دارو (سالین) را به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر • به مدت ۷ روز به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه‌های پنجم، ششم و هفتم (تخریب+ مقادیر مختلف اسیدفولیک): که تحت عمل جراحی تخریب دوطرفه NBM قرار گرفتند و ۳۰ دقیقه بعد از جراحی هر گروه اسیدفولیک را در یکی از مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۷) به صورت تزریق داخل صفاقی به مدت ۷ روز دریافت کرد (۱۷). گروه کنترل و سایر گروه‌ها یک هفته بعد از جراحی به مدت ۵ روز متوالی با دستگاه ماز ۷ شکل آموزش دیدند.

جراحی: موش‌ها جهت تخریب هسته NBM تحت بیهوشی عمومی با تزریق داخل صفاقی مخلوطی متشکل از ۷۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلروهیدرات کتامین ۱۰ درصد و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلایزین ۲ درصد قرار گرفتند و

سپس در دستگاه استرنوتاکسی (Stoelting, USA) ثابت شدند. میله دندانی ۳/۳ میلی‌متر زیر صفر افقی قرار گرفت تا مطابق اطلس وضعیت مناسب مجسمه حاصل گردد. سپس موهای پشت سر حیوان از ناحیه بین چشم‌ها تا گوش‌ها تراشیده و پوست این ناحیه ضدعفونی شد. با کمک اسکالپل یک برش طولی در پوست ناحیه پشت سر حیوان داده شد و بعد از کنار زدن بافت‌های پیوندی محل مورد نظر با نرمال سالین تمیز گردید تا درزهای مجسمه نمایان گردد. مختصات مورد استفاده برای NBM طبق اطلس پاکسینوس و واتسون عبارت بود از: $AP = -1/3$ از برگما، $ML = \pm 2/8$ از خط وسط و $DV = -7/6$ از سطح سخت شامه. با استفاده از دستگاه ایجادکننده ضایعه (UGO Basile, Lesion Making Device) پس از قرار گرفتن الکترود در نقطه مورد نظر با عبور جریان الکتریکی مستقیم با شدت ۵/۵ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه NBM در هر دونیمکره مغزی به‌صورت الکتریکی تخریب گردید و مدل آلزایمر ایجاد شد. پس از دوره بهبودی (یک هفته) آموزش در دستگاه ماز ۷ شکل به مدت ۵ روز آغاز گردید (۱۸ و ۱۹).

دستگاه ماز ۷ شکل: بررسی روند یادگیری و حافظه در مدل‌های آزمایشگاهی، بر اساس دو روش تنبیه (دریافت شوک یا احساس ناخوشایند) و تشویق (دریافت پاداش مثل آب و غذا) توسط مازهای متنوعی انجام می‌شود. با توجه به تداخل احتمالی برخی داروها در مکانیسم اشتها، به نظر می‌رسد برای بررسی تأثیر داروها بر روند یادگیری، روش تنبیه مناسب‌تر می‌باشد و با توجه به اینکه هیپوکامپ در حافظه‌ی فضایی نقش عمده‌ای دارد در این تحقیق از دستگاه ماز ۷ شکل برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی استفاده گردید (۱۹ و ۲۰). این دستگاه به شکل ۷ است و دارای سه بازوی کاملاً مشابه به ابعاد

۶۰×۱۷/۵ سانتی متر و ارتفاع ۳۰ سانتی متر و از جنس شیشه شفاف است. کف هر شاخه میله‌های آبکاری کروم - نیکل به فواصل یک سانتی متر از هم قرار گرفته‌اند که به دو طرف دیواره نصب گردیده است. احساس ناخوشایند (شوگ 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 بعمل آید. در دستگاه 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 بی‌سر و صدا قرار گیرد. در روز اول آموزش ابتدا حیوان را در ماز قرار داده و به مدت ۱۵ دقیقه اجازه داده می‌شود تا آزادانه درون ماز حرکت کند و با شکل ظاهری ماز آشنا شود. سپس از بازویی که حیوان در آن قرار دارد آموزش شروع می‌شود. انتخاب بازوها بر اساس جدول تصادفی صورت می‌گیرد. با فشار دادن یک دکمه روی دستگاه کنترلی، چراغ یکی از بازوهای ماز روشن می‌شود که در یک فاصله زمانی کوتاه (۵ ثانیه) موش فرصت دارد تا از محل تاریک خارج شده و وارد بازوی روشن شود؛ در این صورت ورود موش به بازوی روشن به عنوان انتخاب صحیح محسوب می‌شود، در غیر این صورت بعد از ۵ ثانیه به پاهای موش شوکی داده می‌شود، که در این صورت ورود به بازوی روشن به عنوان انتخاب صحیح و ورود به بازوی تاریک به عنوان 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 به

مدت ۵ روز متوالی ادامه می‌یابد. بیست و پنج روز بعد از آموزش آزمون فراخوانی حافظه برای ارزیابی حافظه بلند مدت انجام گرفت. در این آزمون حافظه هر کدام از حیوانات در روز سی‌ام به صورت یک جلسه در دستگاه ماز ۷ شکل مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج آن با نتایج روز پنجم آموزش مقایسه گردید (۲۰).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

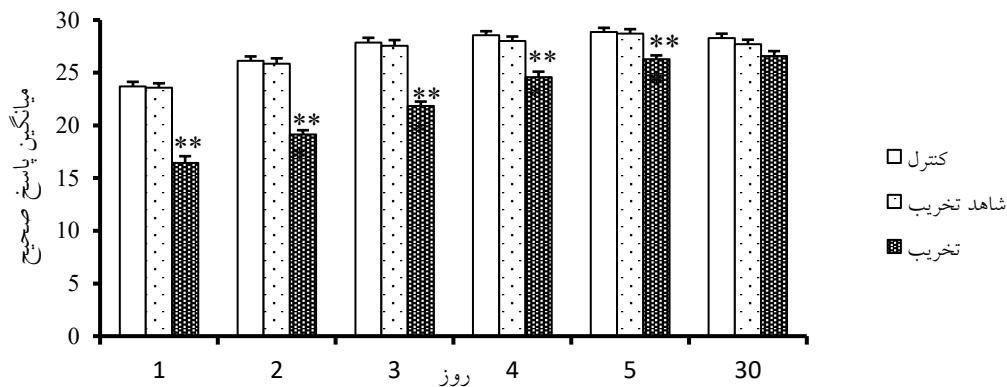
نتایج حاصل از این پژوهش به صورت توصیفی و تحلیلی با نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ بررسی گردیدند. به‌منظور مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح در گروه‌های مختلف و تعیین اینکه آیا گروه‌ها با یکدیگر اختلاف دارند یا نه، از آنالیز واریانس با اندازه گیری تکراری و آزمون تکمیلی TUKEY استفاده گردید. مقایسه گروه‌های مختلف در ۵ روز متوالی آموزش با روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه، آزمون تکمیلی TUKEY و آزمون t مستقل انجام شد. در این بررسی $P < ۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه نتایج حاصل از آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری نشان دهنده تأثیر معنی‌دار گروه، زمان و اثر متقابل آن‌ها بر یادگیری فضایی می‌باشد ($P < ۰/۰۰۱$). در مقایسه گروه‌های مختلف در ۵ روز متوالی آموزش با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه تفاوت معنی‌داری بین میزان یادگیری فضایی در گروه‌های کنترل و شاهد تخریب در هیچ کدام از روزها نشان داده نشد. از طرف دیگر میزان یادگیری فضایی بین گروه‌های کنترل و تخریب در روزهای اول، دوم، سوم، چهارم و پنجم ($P < ۰/۰۰۱$) آموزش دارای تفاوت معنی‌داری بود، که نشان دهنده تأثیر تخریب دوطرفه

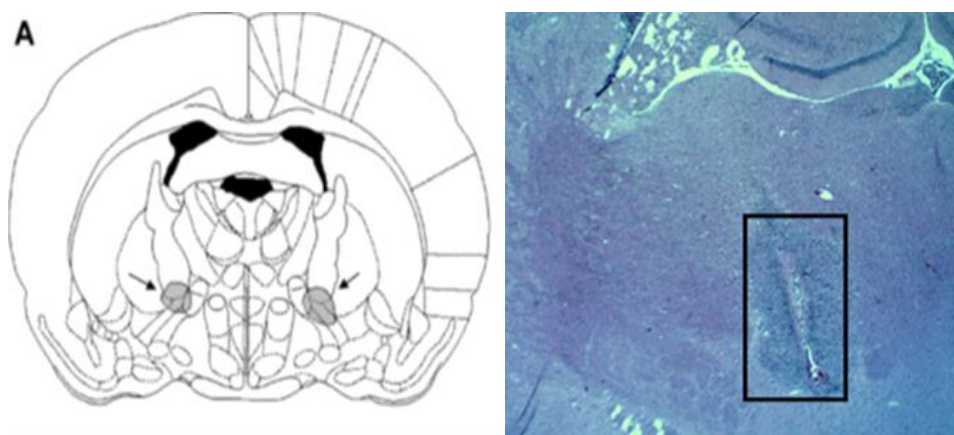
است، برش بافتی قسمت مورد نظر را تهیه و پس از رنگ‌آمیزی با روش هماتوکسیلین-اُئوزین، ناحیه تخریب شده در آن با موقعیت فضایی NBM در اطلس پاکسینوس و واتسون، مقایسه شد (شکل ۱).

NBM بر کاهش یادگیری فضایی در گروه تخریب می‌باشد. علاوه بر این، در این گروه‌ها میانگین پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و آزمون فراخوانی حافظه روز سی‌ام تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۱). علاوه بر این برای اطمینان از اینکه ناحیه تخریب شده توسط الکتروود NBM



نمودار ۱. مقایسه میانگین پاسخ صحیح ($\bar{X} \pm S.E.M$) بین گروه کنترل با گروه‌های شاهد تخریب و تخریب در روزهای اول تا پنجم و روز سی‌ام با روز پنجم آموزش در موش‌های صحرایی نر بالغ ($n=7$, $***P < 0.001$).

Chart 1. Comparison of the mean correct answer ($\bar{X} \pm S.E.M$) between the control group and the groups of sham and lesion on the first to fifth days and the 30th day with the fifth day of training in adult male rats ($n=7$, $***: P < 0.001$).

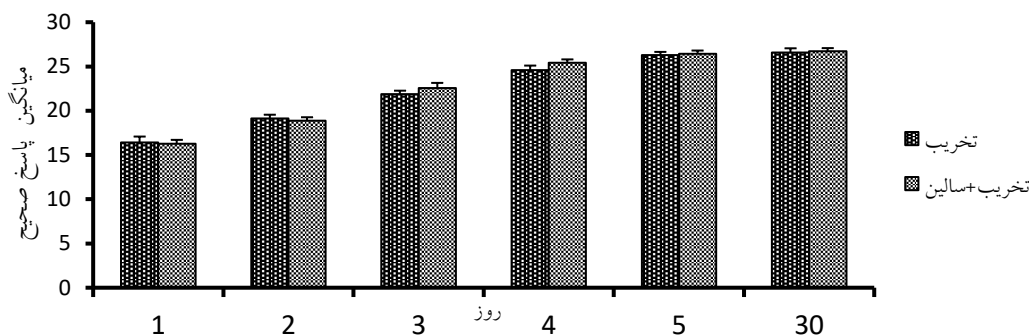


شکل ۱. A: موقعیت شماتیک NBM در اطلس پاکسینوس و واتسون. B: برش بافتی مربوط به تخریب NBM، ناحیه تخریب شده توسط الکتروود با استفاده از باکس مشخص شده است.

Fig 1. A: Schematic location of NBM in the Paxinos and Watson atlas. B: Histological section depicting NBM lesion, with the electrode-damaged area highlighted within the box

این گروه‌ها بین میانگین پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و آزمون فراخوانی حافظه روز سی‌ام نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (نمودار ۲).

در این مطالعه در مقایسه میزان یادگیری فضایی بین گروه‌های تخریب و حلال (تخریب + سالین) در هیچ یک از روزها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. علاوه بر این در

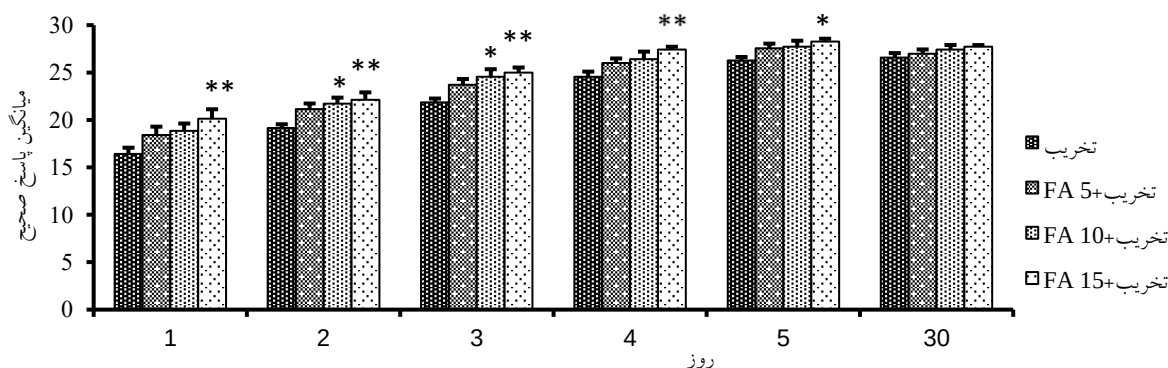


نمودار ۲. مقایسه میانگین پاسخ صحیح ($\bar{X} \pm S.E.M$) بین گروه‌های تخریب و حلال در روزهای اول تا پنجم و روز سیام با روز پنجم آموزش در موش‌های صحرایی نر بالغ ($n=7$)

Chart 2. Comparison of the mean correct answer ($\bar{X} \pm S.E.M$) between the lesion and Vehicle groups on the first to fifth days and the 30th day with the fifth day of training in adult male rats ($n=7$).

فضایی در روزهای اول، دوم، سوم، چهارم ($p<0/01$) و پنجم ($p<0/05$) آموزش در مقایسه با گروه تخریب افزایش معنی داری را نشان داد. در این مطالعه مقایسه‌ی میانگین پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و آزمون فراخوانی حافظه‌ی روز سیام بین گروه تخریب و گروه‌های تخریب+مقادیر مختلف اسید فولیک اختلاف معنی داری را نشان نداد (نمودار ۳).

همچنین در مقایسه‌ی میزان یادگیری فضایی بین گروه‌های تخریب و تخریب +۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید فولیک نیز در هیچ یک از روزها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، در صورتیکه در گروه تخریب +۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید فولیک یادگیری فضایی در روزهای دوم و سوم آموزش در مقایسه با گروه تخریب افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$). علاوه‌براین در گروه تخریب +۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید فولیک نیز یادگیری



نمودار ۳. مقایسه میانگین پاسخ صحیح ($\bar{X} \pm S.E.M$) بین گروه تخریب با گروه‌های تخریب+اسید فولیک در مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای اول تا پنجم و روز سیام با روز پنجم آموزش در موش‌های صحرایی نر بالغ ($n=7$) (** $p<0/01$; * $p<0/05$)

Chart 3. Comparison of the mean of the correct answer ($\bar{X} \pm S.E.M$) between the lesion group and the lesion+Folic acid (5, 10, and 15 mg/kg) groups in the first to fifth days and the 30th day with the fifth day of training in adult male rats ($n=7$, * $p<0/05$, ** $p<0/01$).

بحث

با توجه به اینکه شناخت دربرگیرنده فرآیندهای ذهنی مربوط به حافظه، یادگیری، توجه و عملکردهای اجرایی می‌باشد (۲۱) و عملکردهای شناختی در جانوران از طریق مطالعات رفتاری در مدل‌های تجربی اختصاصی ارزیابی می‌شوند (۲۲). در مطالعه حاضر تأثیر تزریق داخل صفاقی اسیدفولیک به مدت ۷ روز با شروع ۳۰ دقیقه پس از تخریب الکتریکی دوطرفه NBM و القای مدل بیماری آلزایمر بر فرآیندهای یادگیری و حافظه فضایی در دستگاه ماز ۷ شکل و در موش‌های صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرار گرفته است. از دست دادن نورون‌های NBM منجر به سطوح کاهش یافته استیل‌کولین در قشر مغز می‌گردد (۲۳). نتایج برخی مطالعات وجود کلافه‌های نوروفیبریلاری (Neurofibrillary tangles: NFTs) را در NBM افراد مبتلا به آلزایمر پس از مرگ آن‌ها نشان می‌دهند (۲۴). با توجه به اینکه اختلال عملکرد سیستم کولینرژیک و دژنراسیون NBM همراه با اختلالات شناختی می‌باشد (۲۳) در مطالعه حاضر از تخریب الکتریکی دوطرفه NBM به منظور القای مدل بیماری آلزایمر در موش‌های صحرایی نر بالغ استفاده شده است که مقایسه نتایج بین گروه کنترل و تخریب دوطرفه NBM در این مطالعه کاهش معنی‌دار یادگیری و حافظه فضایی را پس از تخریب الکتریکی دوطرفه NBM در آزمون ماز ۷ شکل نشان داد. هم راستا با این نتایج مطالعات هویزی و همکاران نیز کاهش معنی‌دار یادگیری و حافظه فضایی را پس از تخریب الکتریکی دوطرفه NBM در آزمون ماز ۷ شکل نشان داده‌اند (۱۹).

از طرف دیگر، مقایسه نتایج بین گروه کنترل و شاهد تخریب نشان دهنده این است که ورود الکتروده به NBM بدون تخریب این هسته تأثیری بر یادگیری و حافظه فضایی ندارد بر این اساس مراحل مختلف بیهوشی،

جراحی و ورود الکتروده به NBM بدون ایجاد تخریب هیچ تأثیری بر یادگیری و حافظه فضایی در آزمون ماز ۷ شکل ندارد. همچنین مقایسه نتایج بین دو گروه تخریب و تخریب+ سالین نیز نشان داد که سالین (حلال اسید فولیک) نیز هیچ‌گونه تأثیری بر یادگیری و حافظه فضایی در آزمون ماز ۷ شکل ندارد.

همچنین در نتایج این مطالعه نشان داده شد که در موش‌های نر بالغ مدل آلزایمر به روش تخریب الکتریکی دو طرفه NBM اسیدفولیک با مقادیر ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب بهبود اختلال یادگیری و حافظه فضایی در آزمون ماز ۷ شکل می‌گردد. مقادیر اسید فولیک در این مطالعه بر اساس مطالعات انجام شده پیشین (۷) انتخاب شد. در مطالعات امیراحمدی و همکاران اسیدفولیک موجب بهبود اختلال شناختی در آزمون‌های ماز آبی موریس و احترازی غیرفعال و نیز کاهش سطوح MDA و افزایش فعالیت SOD در مدل کم‌کاری تیروئید القاء شده توسط پروپیل تیواوراسیل (PTU) گردید. همچنین نتایج این مطالعه تأثیر اسیدفولیک را با مقادیر ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر کاهش سطوح فعالیت افزایش یافته استیل کولین استراز در هیپوکامپ و قشر مغز موش‌های صحرایی مدل کم‌کاری تیروئید نشان می‌دهد (۷). در مطالعات کانور (Canever) و همکاران نیز که کمبود اسیدفولیک در رژیم غذایی موش‌های ماده در دوران بارداری و شیردهی موجب افزایش سطوح پروتئین‌های کربنیل در قشر فرونتال و هیپوکامپ، افزایش سطوح پلاسمایی هموسیستئین و اختلال در حافظه فضایی در آزمون ماز ۷ شکل گردید، نشان داده شد که استفاده از مکمل اسیدفولیک با مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در رژیم غذایی موجب بهبود اختلال شناختی، مهار آسیب پروتئینی و کاهش سطوح پلاسمایی هموسیستئین

می‌گردد (۱۱). در همین راستا در مطالعات کیومرثی دربندی و همکاران نیز استفاده از مکمل اسیدفولیک به مدت ۳ هفته با شروع ۲ هفته پیش از القای مدل التهاب عصبی توسط لیپوپولی‌ساکارید منجر به بهبود اختلال حافظه و یادگیری در آزمون‌های ماز آبی‌موریس و احترازی غیرفعال گردید. علاوه‌براین نتایج این مطالعه نشان‌دهنده تاثیر مکمل اسید فولیک بر افزایش SOD و کاهش MDA و سیتوکین‌های پیش التهابی در هیپوکامپ می‌باشد (۶). در مطالعات ژانگ (Zhang) و همکاران نیز بهبود اختلال حافظه و نیز کاهش سطوح $\text{A}\beta_{1-42}$ ، هیپرفسفوریلاسیون پروتئین تاو، استرس اکسیداتیو و فعالیت استیل کولین استراز و نیتریک‌اکسیدسنتاز تحت تأثیر ۵- متیل تتراهیدروفولات (5-MTHF) در مدل بیماری آلزایمر القاء شده توسط D- گلاکتوز و کلرید آلومینیوم نشان داده شده است (۲۵).

از طرف دیگر در برخی مطالعات تأثیر کمبود اسیدفولیک و افزایش هموسیستئین در شرایط آزمایشگاهی بر تقویت اثرات $\text{A}\beta$ در جریان بیش از حد کلسیم بداخل نورون‌ها، آپوپتوز، اختلال در ترمیم DNA نورون‌های هیپوکامپ و تسریع حساسیت آن‌ها به سمیت $\text{A}\beta$ (۲۶) و نیز تأثیر مکمل اسیدفولیک بر کاهش رسوبات $\text{A}\beta_{42}$ (۸) و هیپرفسفوریلاسیون پروتئین تاو (۹) نشان داده شده است. علاوه بر این در بررسی تأثیر مکمل اسیدفولیک بر موش‌های با تسریع روند پیری (SAMP8) نیز افزایش سطوح فولات سرم و مغز، کاهش کوتاه شدن تلومر، مهار آپوپتوز در مغز، بهبود یادگیری و حافظه فضایی در آزمون ماز آبی موریس و نیز بهبود رفتارهای اکتشافی در آزمون میدان باز نشان داده شده است (۲۷) که نتایج فوق همسو با نتایج ما در مطالعه حاضر می‌باشند. بنابراین به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر نیز استفاده از مکمل اسید فولیک

بلافاصله بعد از القای مدل بیماری آلزایمر به روش تخریب الکتریکی دوطرفه NBM، احتمالاً از طریق افزایش سطوح فولات سرم و مغز و کاهش در استرس اکسیداتیو، سیتوکین‌های پیش التهابی، آپوپتوز و نیز سطوح فعالیت استیل کولین استراز در هیپوکامپ و قشر مغز موجب بهبود یادگیری و حافظه فضایی در آزمون ماز ۷ شکل می‌گردد. در این مطالعه سطوح فعالیت استیل کولین استراز و میزان استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ و قشر مغز مورد بررسی قرار نگرفته است که انجام مطالعات بیشتر در این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه تزریق مزمن داخل صفاقی مکمل اسیدفولیک با شروع ۳۰ دقیقه پس از تخریب الکتریکی دوطرفه NBM در موش‌های صحرایی نر بالغ به صورت وابسته به مقدار موجب بهبود یادگیری و حافظه فضایی در دستگاه ماز ۷ شکل گردید. این پژوهش تحت حمایت مالی هیچ سازمان یا مؤسسه‌ای نمی‌باشد.

سپاس و قدردانی

نویسنده این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به جهت همکاری و مساعدت در انجام این پروژه علمی- پژوهشی اعلام می‌نماید.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References

- Chen Y, Wang H, Zhang D, et al. Multi-feature fusion learning for Alzheimer's disease prediction using EEG signals in resting state. *Front Neurosci* 2023; 17:1272834. 10.3389/fnins.2023.1272834.
- Wilson RS, Segawa E, Boyle PA, et al. The natural history of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Psychol Aging* 2012; 27(4): 1008-17. 10.1037/a0029857.
- Kumar K, Kumar A, Keegan RM, et al. Recent advances in the neurobiology and neuropharmacology of Alzheimer's disease. *Biomed Pharmacother* 2018; 98: 297-307. 10.1016/j.biopha.2017.12.053.
- Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, et al. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. *Curr Neuropharmacol* 2016; 14(1): 101-15. 10.2174/1570159x13666150716165726.
- Nyakas C, Granic I, Halmy LG, et al. The basal forebrain cholinergic system in aging and dementia. Rescuing cholinergic neurons from neurotoxic amyloid- β 42 with memantine. *Behav Brain Res* 2011; 221(2):594-603. 10.1016/j.bbr.2010.05.033.
- Kioumars Darbandi Z, Amirahmadi S, Goudarzi I, et al. Folic acid improved memory and learning function in a rat model of neuroinflammation induced by lipopolysaccharide. *Inflammopharmacology* 2024; 32(2): 1401-11. 10.1007/s10787-023-01314-w.
- Amirahmadi S, Hosseini M, Ahmabadady S, et al. Folic acid attenuated learning and memory impairment via inhibition of oxidative damage and acetylcholinesterase activity in hypothyroid rats. *Metab Brain Dis* 2021; 36(8): 2393-403. 10.1007/s11011-021-00815-3.
- Tian T, Bai D, Li W, et al. Effects of Folic Acid on Secretases Involved in A β Deposition in APP/PS1 Mice. *Nutrients* 2016; 8(9): 556. 10.3390/nu8090556.
- Zheng M, Zou C, Li M, et al. Folic Acid Reduces Tau Phosphorylation by Regulating PP2A Methylation in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Int J Mol Sci* 2017; 18(4): 861. 10.3390/ijms18040861.
- Zhang CE, Wei W, Liu YH, et al. Hyperhomocysteinemia increases beta-amyloid by enhancing expression of gamma-secretase and phosphorylation of amyloid precursor protein in rat brain. *Am J Pathol* 2009; 174(4): 1481-91. 10.2353/ajpath.2009.081036.
- Canevar L, Alves CSV, Mastella G, et al. The Evaluation of Folic Acid-Deficient or Folic Acid-Supplemented Diet in the Gestational Phase of Female Rats and in Their Adult Offspring Subjected to an Animal Model of Schizophrenia. *Mol Neurobiol* 2018; 55(3): 2301-19. doi: 10.1007/s12035-017-0493-7.
- Thomas P, Fenech M. Buccal Cytome Biomarkers and Their Association with Plasma Folate, Vitamin B12 and Homocysteine in Alzheimer's Disease. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2015; 8(2): 57-69. 10.1159/000435784.
- Elshehry NM, Sharma I, Kira D, et al. Homocysteine Induces Inflammation in Retina and Brain. *Biomolecules* 2020; 10(3):393. 10.3390/biom10030393.
- Dam K, Fuchtemeier M, Farr TD, et al. Increased homocysteine levels impair reference memory and reduce cortical
- impairment. *Behav Brain Res* 2017; 321: 201-8. 10.1016/j.bbr.2016.12.041.
- Gao N, Zhang Y, Lei L, et al. Low doses of folic acid can reduce hyperhomocysteinemia-induced glomerular injury in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 2020; 43(11): 1182-91. 10.1038/s41440-020-0471-8.
- Zhang L, Li Z, Xing C, et al. The protective mechanism of folic acid on hyperhomocysteinemia-related arterial injury in spontaneously hypertensive rats: Folic acid against arterial inflammation. *Vascular* 2022; 30(5): 988-98. 10.1177/170853812111036549.
- Shooshtari MK, Moazedi AA, Parham GA. Memory and motor coordination improvement by folic Acid supplementation in healthy adult male rats. *Iran J Basic Med Sci* 2012; 15(6): 1173-9. 10.22038/ijbms.2012.4937.
- Zamani N, Moazedi AA, Afarinesh Khaki MR, et al. Effects of Memantine on the Spontaneous Firing Frequency of Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons in Intact and Alzheimer Rat Model: An Electrophysiological Study. *Basic Clin Neurosci* 2022; 13(5): 661-74. 10.32598/bcn.2021.1970.1.
- Hoveizi E, Mohammadi T, Moazedi AA, et al. Transplanted neural-like cells improve memory and Alzheimer-like pathology in a rat model. *Cytotherapy* 2018; 20(7): 964-73. 10.1016/j.jcyt.2018.03.036.
- Ashkavandi S, Moazedi A A, Semnani S, et al. 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. (Persian) <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-2635-en.html>.
- Venkatramanan S, Armata IE, Strupp BJ, et al. Vitamin B-12 and Cognition in Children. *Adv Nutr* 2016; 7(5): 879-88. 10.3945/an.115.012021.
- Zavvari F, Karimzadeh F. A Review on the Behavioral Tests for Learning and Memory Assessments in Rat. *Shefaye Khatam* 2017; 5(4): 110-24. (Persian) 10.18869/acad-pub.shefa.5.4.110.
- He G, Li Y, Deng H, et al. Advances in the study of cholinergic circuits in the central nervous system. *Ann Clin Transl Neurol* 2023; 10(12): 2179-91. 10.1002/acn3.51920.
- Hanna Al-Shaikh FS, Duara R, Crook JE, et al. Selective Vulnerability of the Nucleus Basalis of Meynert Among Neuropathologic Subtypes of Alzheimer Disease. *JAMA Neurol* 2020; 77(2): 225-33. 10.1001/jamaneurol.2019.3606.
- Zhang Z, Wu H, Qi S, et al. 5-Methyltetrahydrofolate Alleviates Memory Impairment in a Rat Model of Alzheimer's Disease Induced by D-Galactose and Aluminum Chloride. *Int J Environ Res Public Health* 2022; 19(24): 16426. 10.3390/ijerph192416426.
- Chen TF, Huang RF, Lin SE, et al. Folic Acid potentiates the effect of memantine on spatial learning and neuronal protection in an Alzheimer's disease transgenic model. *J Alzheimers Dis* 2010; 20(2): 607-15. 10.3233/JAD-2010-1396.
- Zhou D, Lv X, Wang Y, et al. Folic acid alleviates age-related cognitive decline and inhibits apoptosis of neurocytes in senescence-accelerated mouse prone 8: deoxythymidine triphosphate biosynthesis as a potential mechanism. *J Nutr Biochem* 2021; 97: 108796. 10.1016/j.jnutbio.2021.108796.