

## اثر استاتین‌ها بر یادگیری احترازی غیرفعال و نورژن سلول‌های CA<sub>1</sub> و DG در هیپوکامپ رت‌های نر مبتلا به آلزایمر

پریچهر یغمایی<sup>۱</sup>، کاظم پریور<sup>۲</sup>، نسیم عالی خانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشیار، دکترای فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران  
<sup>۲</sup> استاد، دکترای زیست‌شناسی تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران  
<sup>۳</sup> کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، 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 دماغ 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 ایوبوتینک اسید تخریب شده و حلال سالین به مدت ۱۴ روز به طریق گاواظ 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 و ۲ و ۳ به ترتیب رت‌هایی با تخریب NBM و دریافت کننده آتورواستاتین به میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز به طریق گاواظ بودند. یادگیری و حافظه تمام گروه‌ها با استفاده از دستگاه یادگیری احترازی غیرفعال (PAL) بررسی گردید. به منظور بررسی‌های بافتی، مغز به طور کامل خارج و به سرعت به فرمالین ۱۰٪ منتقل شد.

**یافته‌ها:** (مدت زمان ماندن در قسمت روش) در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل و شم افزایش معنی‌داری پیدا کرد ( $p < 0.01$ ). تیمار با استاتین در گروه‌های تجربی باعث کاهش معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) TDC (مدت زمان باقی ماندن در قسمت تاریک) در مقایسه با گروه کنترل و شم شد. در مطالعات هیستولوژیکی مغز، افزایش معنی‌دار سلول‌های گرانولار در منطقه DG و همچنین افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های پیرامیدال در منطقه CA<sub>1</sub> در گروه ۲ ( $p < 0.01$ ) و گروه ۳ ( $p < 0.01$ ) 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

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 دماغ مشخص شناخته نشده است. تحقیقات نشان می‌دهند که بیماری با

بیماری آلزایمر، بیماری نورودژنرایتو وابسته به سن در دوران کهولت می‌باشد که با از دست رفتن سلول‌های عصبی در مغز و دماغ مشخص می‌گردد (۲،۱). اختلال شناختی در سن

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی، 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

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<sub>1</sub> و هم از ناحیه CA<sub>3</sub> وارد سپتوم می‌شوند. امروزه نقش سیستم 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<sub>1</sub> هیپوکمپ منشاء می‌گیرند. مسیر غیرمستقیمی که از ناحیه CA<sub>1</sub> هیپوکمپ به آمیگدال می‌رود از هیپوتalamوس 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 شدید 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  $300 \pm 50$  گرم از انسستیتو پاستور ایران خردباری شده و در شرایط آزمایشگاهی مناسب با درجه حرارت  $22 \pm 2$  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. رت‌ها 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 ایبوتینیک اسید (۵ میکروگرم در هر هسته) تخربی شد و روزانه ۱ میلی گرم بر کیلوگرم سالین (حلال) را دریافت کردند.

گروه تجربی ۱: رت‌های نر با تخربی NBM که روزانه ۱ میلی گرم بر کیلوگرم آنورواستاتین را به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. گروه تجربی ۲: رت‌های نر با تخربی NBM که روزانه ۱ میلی گرم بر کیلوگرم سیمووواستاتین به مدت ۱۴ روز دریافت کردند.

ظهور پلاک‌ها و کلاف‌های نامنظم رشته‌های عصبی در مغز ارتباط دارد (۵). بعضی از گروه‌های نورونی ترجیحاً به وسیله کلاف‌ها در بیماری آلزایمر مبتلا می‌شوند، به عنوان مثال کلاف‌های نوروفیریلاری به تناوب در نواحی هیپوکامپ که در پردازش تجربه قبلی جهت ذخیره به عنوان حافظه دائمی دخلالت 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. نقص‌های نوروترانسمیتری کولینرژیک 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 دخلالت 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 سنتر کلسترول را محدود می‌کنند و تاثیر به سزایی در کاهش LDL و کلسترول پلاسمای دارند. استاتین‌ها خطر بیماری‌های قلبی-عروقی و حملات قلبی را کاهش می‌دهند (۸-۱۰).

مطالعات بالینی متعددی که به تازگی در سراسر نقاط جهان روی استاتین‌انجام شده، فواید مهارکننده‌های ۳-هیدروکسی ۳-متیل گلوتاریل کوآنزیم 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 احتمالاً 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 واbrane‌های متعددی است. خروجی اصلی هیپوکمپ، آکسون سلول در هرمی ناحیه CA<sub>1</sub> می‌باشد 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

روشن و یک بخش تاریک). در دیوار عرضی، یک درب گیوتینی متحرک تعییه شده است (سایز  $9 \times 7$  سانتی متر). کف جعبه از میله‌های موازی با هم و عمود بر محور طولی جعبه تشکیل شده است که یک درمیان به قطب + - متصل هستند. حیوان تحریک الکتریکی را با شدت ۱ میلی آمپر 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 (۲۱، ۲۲). به این ترتیب که ۵ ثانیه بعد از قرار دادن حیوان در قسمت روشن دستگاه، در باز می‌شود. بلافضله پس از ورود حیوان به قسمت تاریک در بسته شده و حیوان به قفس باز گردانده می‌شود. این عمل ۳۰ دقیقه بعد تکرار می‌شود. دقیقه پس از بار دوم عادت، مرحله اکتساب PLA انجام می‌شود. بلافضله بعد از ورود حیوان به قسمت تاریک، در بسته شده و شوک الکتریکی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱ میلی آمپر 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 غیرفعال 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 می‌شوند. 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 هستیولوژیکی مغز را خارج کرده و به مدت ۲۴ ساعت در فیکساتور فرمالین قرار داده و سپس طی مراحل آب‌گیری و درنهایت قالب‌گیری شده، برش‌های ۶-۷ میکرون تهیه گردید و رنگ‌آمیزی به وسیله هماتوکسیلین و انوزین انجام شد. هدف از تهیه برش‌های مغزی از نواحی CA و DG شد. هیبوکامپ بررسی تغییرات احتمالی بافت مغز و شمارش سلول‌های پیرامیدال و گرانولار در هر مقطع بود که به طور کاملاً 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  $\pm$  خطای معیار ارائه گردید.  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد (۲۴).

### یافته‌ها

آتورواستاتین و سیموواستابین به میزان ۱ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز موجب افزایش معنی دار STL (مدت

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

ابتدا رت‌ها توزین و سپس با تزریق داخل صفاقی ۶۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن هیدروکلراید (Alfasan, woerden, Holland) و ۲۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن زایلارین (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 کاملاً ثابت شد (Narshinge, Tokyo, Japan). برای ایجاد مدل حیوانی بیماری آزایمر، از تخریب شیمیایی هسته NBM به صورت دوطرفه با استفاده از اسید ایوتیک (sigma chemicalco., USA) استفاده شد. ابیوتیک اسید داروی سمی مشتق شده از قارچ‌ها است (۱۷).

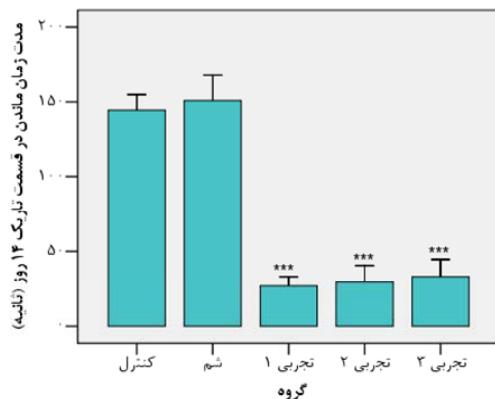
مختصات هسته NBM با توجه به مختصات استخراج شده از اطلس جراحی پاکسینوس و واتسون (AP =  $-1/3$  mm و DV =  $\pm 2/3$  mm و MI =  $-6/8$  mm) از سطح استخوان جمجمه) مشخص گردید (۱۸).

به منظور تخریب هسته NBM، پس از سوراخ کردن نقاط مشخص شده، با استفاده از سرنگ هامیلتون (۵ میکرولیتری)، اسید ابیوتیک (۵ میکروگرم در هر طرف) که در  $0/5$  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 ۷-۱۰ روز جهت بهمودی کامل مورد مراقبت قرار گرفتند.

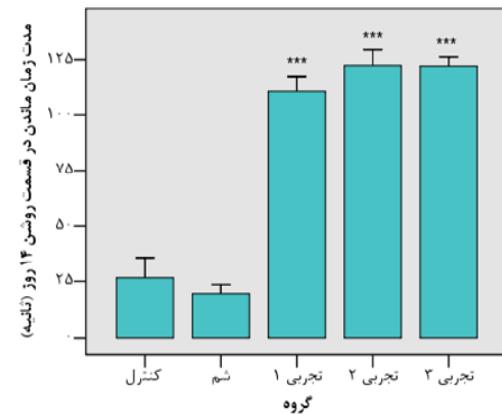
داروهای سیموواستابین و آتورواستابین به میزان ۱٪/در سالین محلول بودند. این محلول‌ها توسط شیکر کاملاً محلول می‌شد و توسط سرنگ و نیدل گاواز به مدت ۱۴ روز به رت‌ها خورانده می‌شد، به این صورت که پوست پشت گردن حیوان محکم به وسیله دست گرفته می‌شود و نیدل را به صورت عمودی و قائم وارد می‌کرده تا به معده برسد (۲۰).

در مورد تست رفتاری، دستگاه تست یادگیری احترازی غیرفعال شامل یک جعبه با ابعاد  $18 \times 18 \times 60$  سانتی‌متر می‌باشد که توسط دیوار عرضی به ۲ محفظه تقسیم می‌شود (یک بخش

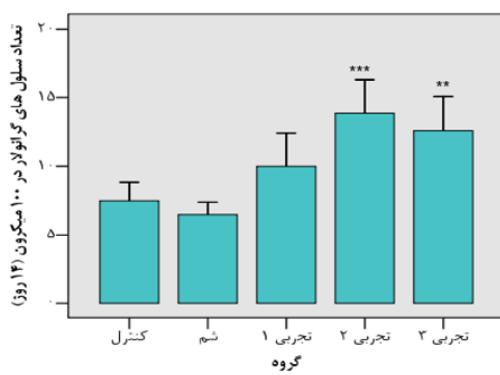
زمان ماندن در روشنایی) رت‌های نر گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به کنترل و شم شد (نمودار ۱).



نمودار ۲- مقایسه مدت زمان ماندن در قسمت تاریک با ۱۴ روز تیمار خوراکی استاتین. کنترل: رت‌های سالم؛ شم: رت‌هایی با تخریب NBM دریافت کننده حلال (سالین)؛ گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳: رت‌هایی با تخریب NBM که به ترتیب آتورواستاتین، سیموواستابین و آتورواستاتین + سیموواستابین را به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. \*\*\* تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل با  $p < 0.001$ .



نمودار ۱- مقایسه مدت زمان ماندن در قسمت روشن با ۱۴ روز تیمار خوراکی استاتین. کنترل: رت‌های سالم؛ شم: رت‌هایی با تخریب NBM دریافت کننده حلال (سالین)؛ گروه‌های تجربی ۱، ۲ و ۳: رت‌هایی با تخریب NBM که به ترتیب آتورواستاتین، سیموواستابین و آتورواستاتین + سیموواستابین را به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. \*\*\* تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل با  $p < 0.001$ .



نمودار ۳- مقایسه تعداد سلول‌های گرانولار با ۱۴ روز تیمار خوراکی استاتین. \*\*  $p < 0.01$  و \*\*\*  $p < 0.001$  بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل.

آتورواستاتین و سیموواستابین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به مدت ۱۴ روز موجب کاهش معنی‌دار TDC (مدت زمان 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 مدت ۱۴ روز در ارزیابی هیستولوژیکال مقاطع مغز افزایش در تعداد سلول‌های پیرامیدال در ناحیه CA1 و سلول‌های گرانولار در ناحیه DG رت‌های نر با تخریب NBM در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. در گروه تجربی ۲ که سیموواستابین را به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند، افزایش معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) در تعداد سلول‌های گرانولار مشاهده شد. در گروه تجربی ۳ که آتورواستاتین و سیموواستابین را به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند، افزایش معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) در تعداد سلول‌های گرانولار مشاهده شد که نشان دهنده نوروژن نسبی بود.

تیمار خوراکی آتورواستاتین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (نمودار ۳ و شکل ۱ و ۲). تیمار خوراکی استاتین افزایش معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) در تعداد سلول‌های پیرامیدال در مقایسه با گروه کنترل را نشان داد.

تیمار خوراکی آتورواستاتین به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز تفاوت معنی‌داری ( $P < 0.001$ ) را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (نمودار ۴ و شکل ۱).

رت‌های نر با تخریب NBM که به مدت ۱۴ روز داروی استاتین دریافت کردند، بهبودی معنی‌داری ( $P < 0.001$ ) در یادگیری و حافظه نشان دادند.

نتایج نشان می‌دهند که تیمار خوراکی استاتین‌ها (آتروواستاتین 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 آزاییمر بهبود می‌بخشد. استاتین درمانی، عملکرد رت‌های نر نژاد ویستار در دستگاه یادگیری احترازی غیرفعال را به طور معنی‌داری ( $P < 0.001$ ) تقویت می‌کند.

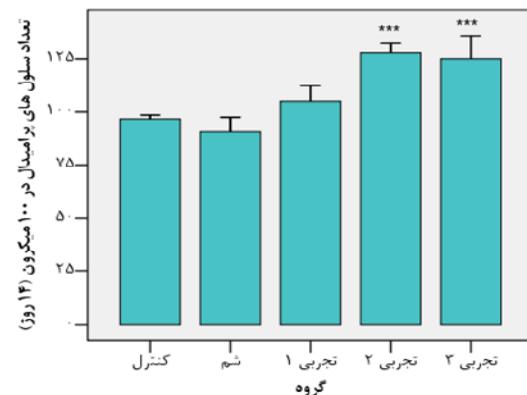
نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که یادگیری و حافظه در گروه‌های دریافت کننده استاتین به طور معنی‌داری تقویت یافته است. مطالعات رفتاری بین گروه کنترل و گروه دریافت یافته استاتین، تقویت حافظه را نشان می‌دهد.

یافته‌های حاصل از بررسی‌های رفتاری با کمک روش یادگیری احترازی غیرفعال بر رت‌های آزاییمری نشان دهنده اثرات بهبودی دهنده استاتین‌ها بر حافظه و یادگیری می‌باشد. در بررسی‌های انجام شده اثرات معنی‌دار استاتین‌ها بر میزان یادگیری و حافظه رت‌های آزاییمری بودیم. زیرا که در این گروه از موش‌های تیمارشده در یادگیری احترازی غیرفعال زمان TDC به شدت کاهش ( $P < 0.001$ ) و در عوض زمان STL به شدت افزایش یافت ( $P < 0.001$ ).

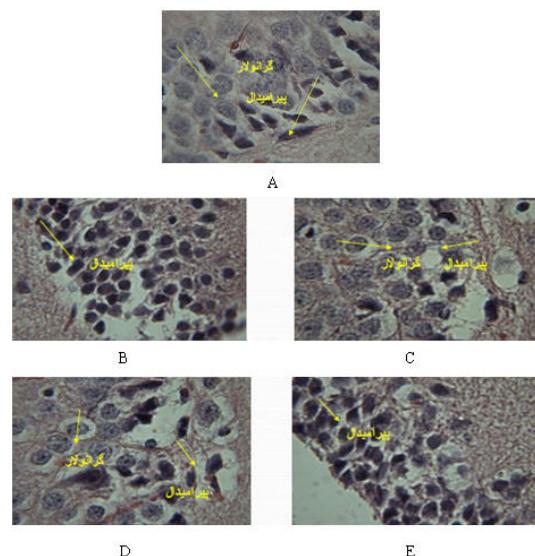
تزریق ایبوتنیک اسید، تعدادی از نورون‌ها را در نواحی CA<sub>1</sub> و DG دستخوش تخریب می‌کند (۱۹) و استفاده از داروهای استاتین در پژوهش حاضر (آتروواستاتین و سیموواستاتین) اثرات قابل ملاحظه‌ای در مطالعات میکروسکوپی داشت. این اثرات تاثیر در گروه تجربی که سیموواستاتین دریافت کرده بودند چشم‌گیرتر بود که احتمالاً 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 آزاییمری تعدیل نموده است (۲۵).

Wang و همکارانش در سال ۲۰۰۲ اثرات سیموواستاتین و آتروواستاتین را بر روی بهبود حافظه و یادگیری، کاهش دژنه 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 آتروواستاتین 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



نمودار ۴- مقایسه تعداد سلول‌های پیرامیدال با ۱۴ روز تیمار خوراکی استاتین. \*\*\* تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تجربی با گروه کنترل با  $p < 0.001$ .



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

A: نمایی از مقطع CA<sub>1</sub> گروه کنترل؛ B: نمایی از مقطع CA<sub>1</sub> در گروه تجربی دریافت کننده سیموواستاتین ۱۴ روز؛ C: نمایی از مقطع DG در گروه تجربی دریافت کننده سیموواستاتین ۱۴ روز؛ D: نمایی از مقطع DG در گروه تجربی دریافت کننده آتروواستاتین ۱۴ روز؛ E: نمایی از مقطع CA<sub>1</sub> در گروه تجربی دریافت کننده آتروواستاتین 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 ( $P < 0.001$ ).

## بحث

داده‌ها نشان می‌دهند که یادگیری و حافظه در رت‌های نر نژاد ویستار با تخریب NBM به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.

میکروسکوپی در این تحقیق نشان داد آنکه استاتین تراکم سلولهای نورونی را در منطقه CA3 هیپوکامپ، به طرز چشمگیری افزایش می‌دهد و این حاکی از آن است که آنرواستاتین، از مرگ نورون‌های آسیب دیده در منطقه جراحت و نواحی هیپوکامپ بر اثر قوع ضربه مغزی جلوگیری می‌کند. نتایج ما در پژوهش حاضر یافته‌های Lu و Dunyue همکارانش را تایید می‌کنند. انشعابات کولینزیک هسته قاعده‌ای مغز (NBM) در آمیگال و قشر 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 جنبی 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. گرچه 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 برای تاثیرات کولین بر تکوین طبیعی سیستم عصبی تأکید کرد. بنابراین در تکوین سیستم کولینزیک در هیپوکامپ، سنتر آنزیم‌های مختلف در آن مورد توجه بوده است (۳۳). گیرنده‌های موسکارینی استیل کولینی قادرند تحریک پذیری را در سلول‌های پیرامیدال هیپوکامپ تعدیل و تنظیم کنند. بنابراین موادی همانند ایبوتینیک اسید که به عنوان بلوکرهای گیرنده‌های موسکارینی استیل کولین می‌باشند، قادرند روی یافتها و رفتارهای موجودات تیمار شده با آنها تاثیر گذارند (۳۴). تغییرات ایجاد شده در ساختار سلول‌های عصبی می‌تواند روی اعمال این سلول‌ها تاثیر بگذارد. 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 کولینزیک 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

رفته را جبران نمایند و می‌تواند تاییدی بر یافته‌های فوق باشد.

Galatti و همکارانش در سال ۲۰۰۶ فقدان حافظه کوتاه مدت را در مورد یک فرد ۵۳ ساله قرقازی با کلسترون بالا مورد بررسی قرار دادند و متوجه بازگشت حافظه در این فرد با دریافت روزانه ۱۰ میلی‌گرم رزوواستاتین شدند (۲۸).

یافته‌های فوق نیز موید نتایج ما در پژوهش حاضر می‌باشد. امروزه تحقیقات زیادی جهت پی بردن به اساس فیزیکی و شیمیابی 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 آنرواستاتین تجویز شده است، احتمالاً داروهای مذکور می‌توانند بر فرآیندهای تثبیت حافظه موثر باشند. Chen و همکارانش در سال ۲۰۰۳ نشان دادند استاتین‌ها می‌توانند فعالیت نوروژن و سیناپتوژن رت‌های ضربه مغزی را درمان نمایند. در نتایج ما نیز تعداد سلول‌های گرانولار و سلول‌های پیرامیدال افزایش معنی داری داشت (۳۱). پیانگر این است که احتمالاً فعالیت نوروژن را در حیوانات آزمایشی افزایش داده است. همچنین O<sub>2</sub> و همکارانش در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که اثرات سیموواستاتین بر یادگیری و حافظه وابسته به گونه‌های پروتئین بتا‌امیلوئید است و درمان با سیموواستاتین با افزایش بیان گونه‌هایی از پروتئین کیناز B و نیتریک اکساید سنتتاز اندوتیالی در مغز موش همراه می‌شود. با توجه به مطالعات بافتی در پژوهش حاضر احتمالاً استاتین‌ها با افزایش تولید پروتئین کینازها سبب افزایش انشعابات دندرتیتی و تعداد سیناپس‌ها و در نتیجه تسهیل در Dunyue میزان حافظه و یادگیری شده‌اند. در مطالعه‌ای که 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

سلول‌های عصبی می‌تواند روی اعمال این سلول تاثیر بگذارد، بنابراین با توجه به اثرات استاتین‌ها در یادگیری احتمالاً می-

توان از این دارو در جهت درمان بیماری‌های شناختی نظری 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: 200-206.
3. Davies P, Maloney AJ. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* 1976; 2: 1403.
4. Tohogi 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: 1756-59.
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*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: McGraw-Hill; 2012. p.1227-79.
15. Kupferman 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*. 6<sup>th</sup> 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, Goussov 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.

24. Parivar K, Mohseni Kouchesfahani H. Technical methods of histology, embryology 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, Schrolinberger 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.