مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره پنجم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۵، ۲۷۲-۲۶۵

اثر تزریق فیزوستیگمین درون قشر پیشانی بر یادگیری اجتنابی فعال در مدل حیوانی بیماری آلزایمر

دکتر علی‌رضا سرکاکی[۱]، سعید ولی‌پور چهارده‌چریک[۲]، دکتر مهناز کسمتی[۳]

دریافت مقاله: ۸۵/۵/۳۰ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۵/۹/۱۵ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۵/۱۰/۲۵ پذیرش مقاله: ۸۵/۱۱/۱

چکیده

زمینه و هدف: نورون‌های کولینرژیک هسته قاعده‌ای با سلول‌های درشت مغز (NBM) در فرایند یادگیری و حافظه نقش دارند و نشان داده شده است که نورون‌های این هسته در بیماران آلزایمری تحلیل می‌رود. از طرفی مصرف داروهای مقلد استیل‌کولین و مهار کننده استیل‌کولین‌استراز موجب بهبودی نسبی فراگیری، در این گونه بیماران می‌گردد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که قشر پیشانی‌انشعابات کولینرژیک از NBM دریافت می‌کند. در تحقیق حاضر اثر تزریق داخل قشرپیشانی فیزوستیگمین، مهارکننده آنزیم استیل‌کولین‌استراز، بر یادگیری اجتنابی فعال مدل حیوانی بیماری آلزایمر بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه که به روش تجربی انجام شد، به منظور ایجاد مدل حیوانی بیماری آلزایمر، هسته NBM موش‌های صحرایی نر بالغ جوان نژاد Wistar با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم به طور الکتریکی تخریب گردید. از آن جایی که قشر پیشانی یکی از نواحی هدف مسیرهای کولینرژیکی هسته NBM می‌باشد، ۲۰ دقیقه قبل از آموزش روزانه حیوان‌ها، مقادیر مختلف فیزوستیگمین (۲/۵، ۵ و ۷/۵ میکروگرم در یک میکرولیتر) به صورت دوطرفه درون قشر پیشانی مغز گروه‌های مختلف تزریق شد. آموزش اجتنابی فعال حیوان‌ها در طی ۸ جلسه (هر جلسه ۳۰ مرحله) درون ماز Y شکل انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که یادگیری اجتنابی فعال به طور قابل ملاحظه‌ای در گروه با ضایعه NBM کاهش یافت و هم‌چنین تزریق فیزوستیگمین درون قشرپیشانی (۲/۵، ۵ و ۷/۵ میکروگرم) نقص یادگیری ناشی از تخریب الکتریکی هسته NBM را به طور معنی‌داری، شدیدتر نمود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه پیشنهاد می‌کند که انشعابات کولینرژیک NBM به قشر پیشانی در حیوانات ضایعه دیده یک نقش منفی در این نوع یادگیری بازی می‌کند. به نظر می‌رسد که سایر سیستم‌های نوروترانسمیتری نظیر گلوتامات و نیز سایر انشعابات آورانی از نواحی مختلف مغز به قشرپیشانی احتمالاً در این پدیده دخالت دارند.

واژه‌های کلیدی: هسته NBM، فیزوستیگمین، قشر پیشانی، بیماری آلزایمر، موش صحرایی

۱- (نویسنده مسؤول) دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز

تلفن: ۳۳۳۲۳۶۸-۰۶۱۱، فاکس: ۳۳۶۱۶۴۴-۰۶۱۱، پست الکترونیکی: sarkaki-a@yahoo.com

۲- کارشناس ارشد گروه آموزشی زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون

۳- استادیار عضو هیأت علمی گروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-11-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1385.5.4.10.1]

مقدمه

نقش سیستم کولینرژیک مرکزی در فرآیند یادگیری و حافظه از اواخر دهه ۱۹۷۰ میلادی، که بعضی محققین تحلیل رفتن بافت تولید کننده استیل‌کولین در مغز بیماران آلزایمری را توصیف کردند، تحت بررسی قرار گرفت. بر همین اساس، فرضیه کولینرژیکی که نقص ادراکی بیماری آلزایمر را به آسیب در سیستم کولینرژیک ربط می‌دهد مطرح شد [۲-۱]. فرضیه کولینرژیکی بیماری آلزایمر مطالعه پیرامون یادگیری و حافظه این گونه بیماران را در طی چند سال اخیر تحت تأثیر قرار داده است و این تحقیقات به کاهش روند تحلیل رفتن عصبی در اثر درمان با از مصرف داروهای مقلد استیل‌کولین منجر شده‌اند [۳].

مطالعات نشان داده‌اند که شدت فراموشی در بیماری آلزایمر، به میزان زیادی به کاهش نورون‌ها در هسته قاعده‌ای با سلول‌های درشت مغز (NBM) وابسته است که با کاهش معنی‌داری در مقدار آنزیم کولین استیل ترانسفراز (ChAT) در قشر و آمیگدال و در نتیجه اختلال یادگیری همراه می‌شود [۴]. کاهش تعداد و اندازه نورون‌ها در NBM و نیز کاهش فعالیت ChAT در پیری دیده می‌شود [۵]. مدل حیوانی بیماری آلزایمر، با تخریب شیمیایی و یا الکتریکی هسته NBM به عنوان بخش مهمی از سیستم کولینرژیک مرکزی ایجاد می‌شود [۶]. تجویز فیزوستیگمین اولین کوشش جهت درمان بیماران آلزایمری می‌باشد [۷]. فیزوستیگمین سالیسیلات یا ارزین سالیسیلات با قابلیت حل شدن در آب، الکل، کلروفرم واتر، از سد خونی- مغزی عبور می‌کند و می‌تواند به سرعت از لوله گوارش، بافت‌های زیر پوستی و غشای مخاطی جذب شود. نیمه عمر آن پس از تزریق وریدی به بیماران آلزایمری ۱۶/۴ دقیقه گزارش شد که مهار کولین استراز را طولانی‌تر نموده، ولی نیمه عمر آن در تزریق موضعی داخل مغزی (مرکزی) بسیار طولانی‌تر است، به طوری که با مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز مدت حضور و فعالیت استیل‌کولین را در محل سیناپس‌ها طولانی‌تر کرده که می‌تواند موجب بهبود یادگیری و حافظه شود [۹-۸]. قبلاً نشان داده شده که تزریق فیزوستیگمین درون هسته آمیگدال، نقص یادگیری در موش‌های صحرایی با ضایعه الکتریکی NBM را به طور معنی‌داری بهبود بخشید [۱۰]. با توجه به این که قشر پیشانی یکی از نواحی هدف انشعابات کولینرژیکی هسته NBM در مغز می‌باشد، در این تحقیق تلاش شده است تا نقش ارتباط NBM با قشر پیشانی مغز در روند یادگیری اجتنابی فعال در مدل حیوانی بیماری آلزایمر، مورد مطالعه قرار گیرد. به همین منظور مقادیر مختلف فیزوستیگمین درون قشر پیشانی مغز گروه‌های حیوانی با ضایعه الکتریکی NBM تزریق شد و سرعت یادگیری اجتنابی فعال آن‌ها در ماز Y شکل مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی بوده و حیوانات با روش تصادفی ساده در گروه‌های مختلف آزمایشی قرار گرفتند.

الف- حیوانات: تعداد ۳۳ سرموش‌های صحرایی نر بالغ جوان نژاد Wistar در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم و سن ۵-۴ ماهه از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد و دسترسی آسان به آب و غذای کافی، نگهداری شدند. حیوان‌ها به گروه‌های زیر تقسیم شدند:

۱- کنترل: تحت هیچگونه عمل جراحی یا تزریق دارو، قرار نگرفتند (n=۷).

۲- ضایعه دیده (آلزایمری): تحت عمل جراحی استرئوتاکسیک، الکترود تخریب به صورت دوطرفه، درون NBM وارد شده و با عبور جریان الکتریکی تخریب گردید (n=۷).

۳- شاهد ضایعه: تحت عمل جراحی استرئوتاکسیک، الکترود تخریب به صورت دوطرفه درون NBM وارد شده، ولی هیچ‌گونه جریان الکتریکی به منظور تخریب هسته مغزی، از آن عبور داده نشد (n=۷).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-11-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1385.5.4.10.1]

۴- گروه شاهد درمان: بعد از تخریب دو طرفه هسته NBM، بخش پیشانی قشر مغز آن‌ها به صورت دوطرفه کانول‌گذاری شد و پس از طی دوره بهبودی از عمل جراحی، ۲۰ دقیقه قبل از آموزش روزانه، مقدار یک میکرولیتر سالین نرمال جهت بررسی اثر حجم و حلال فیزوستیگمین، درون آن تزریق شد (n=۶).

۵- گروه‌های درمان شده: پس از طی دوره بهبودی از عمل جراحی تخریب هسته NBM و کانول‌گذاری دو طرفه در قشر پیشانی مغز آن‌ها، روزانه ۲۰ دقیقه قبل از آموزش مقدار یک میکرولیتر از محلول فیزوستیگمین به ترتیب با دوزهای ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میکروگرم به صورت دو طرفه درون قشر پیشانی مغز حیوان‌ها سه گروه مجزا تزریق گردید (در هر گروه ۶ سر موش).

ب- جراحی: حیوانات با تزریق داخل صفاقی مقدار ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کتامین هیدروکلراید (شرکت Rotex Medica آلمان) بیهوش شدند. موهای پشت سر آن‌ها از ناحیه از فاصله بین چشم‌ها تا گوش‌ها تراشیده شد و به دقت ضدعفونی گردید. سر حیوان‌ها درون دستگاه استرئوتاکسیک ثابت شد (شرکت ناریشیجه ژاپن) آنگاه به کمک کوتر جراحی یک برش طولی در پوست ناحیه پشتی سر آن‌ها داده شده و پس از کنار زدن بافت‌های پیوندی، محل مورد نظر با آب اکسیژنه رقیق (۵٪) ضد عفونی و تمیز گردید تا درزهای جمجمه ظاهر شود. نقاط برگما و لامبدا بر اساس اطلس جراحی استرئوتاکسیک مغز موش صحرایی [۱۱] در یک سطح قرار داده شدند. مختصات استرئوتاکسیک به ترتیب برای NBM، به صورت AP= -۱/۳، ML= ±۲/۲، DV= -۷ و برای ناحیه یک از قشر پیشانی مغز، (Fr1) AP= ۱/۲، ML=±۲/۴، DV= -۲ بود. پس از تعیین نقاط مورد نظر روی سطح جمجمه، با استفاده از دریل دندانپزشکی و مته مناسب پنج عدد سوراخ در نقاط مورد نظر به ترتیب برای کاشتن الکترود ضایعه، دو عدد کانول راهنما درون قشر پیشانی دو نیمکره مغز، یک عدد پیچ کوچک از جنس فولاد زنگ نزن در استخوان جمجمه ایجاد گردید. با استفاده از دستگاه ایجاد کننده ضایعه، با عبور جریان الکتریکی مستقیم ۲mA به مدت ۳ ثانیه از طریق الکترود تخریب که از جنس فولاد زنگ نزن و با قطر ۰/۸ میلی‌متر بود، هسته NBM در هر دو نیمکره‌های مغزی به صورت الکتریکی تخریب گردید [۱۳-۶،۱۲]. بعد از خارج کردن الکترود، محل سوراخ‌ها با موم استخوان مسدود شده و بعد از ریختن پودر پنی‌سیلین G ۱۲۰۰۰۰۰ در محل زخم، پوست سر حیوان‌ها گروه کنترل بخیه گردید. در گروه‌هایی که جهت تزریق دارو در نظر گرفته شدند، پس از کانول‌گذاری دوطرفه در قشر پیشانی مغز با استفاده از سیمان دندانپزشکی، پیچ و کانول‌های راهنما روی سطح استخوان جمجمه ثابت شدند. بعد ازطی دوره بهبودی (۱۰-۷ روز)، حیوان‌ها تحت آموزش رفتاری قرار گرفتند.

ج- تزریق دارو: برای تزریق مرکزی دارو از سرنگ‌ها میلتون پنج میکرولیتری استفاده شد. سر سوزن تزریق شماره ۲۶ با قطر خارجی ۰/۶ میلی‌متر با طولی به اندازه ۰/۵ میلی‌متر بلندتر از طول کانول راهنما انتخاب شد. قبل از هربار تزریق، سرسوزن تزریق چندبار با محلول سالین نرمال شستشو داده شد تا از باز بودن مسیر آن نیز اطمینان حاصل شود. آنگاه دارو به آهستگی و در طی مدت یک دقیقه درون مغز حیوانات هوشیار تزریق شد.

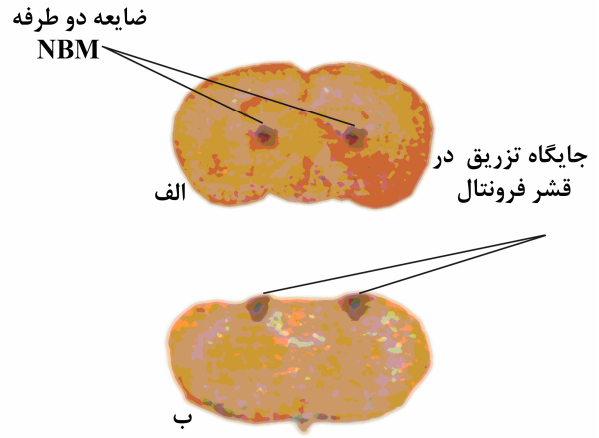
د- آموزش حیوان‌ها: برای این منظور از دستگاه آموزش رفتاری Y-Maze استفاده گردید که بر اساس روش یادگیری اجتنابی فعال، طراحی شده است و آموزش حیوان‌ها در این دستگاه موجب تشخیص بازوی روشن آن به عنوان جایگاه امن و بازوی تاریک به عنوان جایگاه نا امن، موجب یادگیری اجتنابی و فضایی می‌شود. این دستگاه دارای سه بازوی با رنگ و اندازه کاملاً مشابه به ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی‌متر از جنس پلکسی گلاس است. در کف آن میله‌های آبکاری کروم- نیکل با قطر سه میلی‌متر و فاصله یک سانتی‌متر وجود دارد. شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به کف پای حیوان اعمال می‌شود. در انتهای هر بازو محفظه کوچکی به طول ۱۰

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-11-19]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1385.5.4.10.1]

سانتی‌متر با یک دیواره از جنس پلکسی گلاس از بقیه بازو جدا شده است و در هر محفظه یک منبع نوری (لامپ ۱۲وات، ۰/۵ آمپر) نصب گردیده است. سطح بالایی بازوهای دستگاه توسط درب‌های کشویی تا حدی تیره رنگ ازجنس پلکسی گلاس مسدود شده تا ضمن قابل مشاهده بودن رفتار حیوان در اطاق تاریک در طی مراحل آموزش، از پریدن حیوان در حین دریافت شوک الکتریکی به خارج از دستگاه ممانعت گردد. در این دستگاه، تعداد دفعات آموزش در هر جلسه روزانه ۳۰ مرحله و زمان تأخیر بین روشن شدن چراغ در یک بازوی انتخابی (به طور تصادفی) تا شروع اعمال شوک در بخش‌های تاریک دستگاه (بازوها و مثلثی بین آن‌ها) ۵ ثانیه و زمان بین مراحل ۶۰ ثانیه و سطح قابل قبول برای کفایت یادگیری اکتساب پاسخ‌های صحیح به میزان ۹۰٪ (Response Criterion) تعیین گردید. این فرامین از طریق کامپیوتر به دستگاه اجراکننده واسطه و سپس Y-Maze منتقل شده و از آن‌جا شوک الکتریکی به حیوان اعمال می‌شد. ترک بازوی تاریک و انتخاب بازوی روشن قبل از پایان یافتن زمان تأخیر ۵ ثانیه‌ای به عنوان پاسخ صحیح حیوان تلقی گردیده است [۱۴-۱۵].

ه- بررسی صحت محل ضایعه و کانول گذاری در مغز: در پایان آزمایشات رفتاری، حیوان‌ها با تزریق داخل صفاقی داروی بیهوشی به طور برگشت ناپذیری بیهوش شدند. پس از باز کردن قفسه سینه، با فرو بردن سر سوزن شماره ۲۳ یک سرنگ در بطن چپ قلب و تزریق سالین نرمال، خون درون عروق بافت مغز کاملاً از طریق سوراخ تعبیه شده در دهلیز راست قلب خارج می‌شد. مقدار ۰/۵ میکرولیتر ماده رنگی تیونین، از طریق کانول راهنما، در قشر پیشانی هر دو نیمکره مغز، تزریق گردید. با استفاده از قیچی استخوان شکن مغز و بخشی از نخاع گردنی از جمجمه خارج و مدت یک هفته درون محلول فرمالین ۵ درصد نگهداری شد. با تهیه برش‌های عرضی مناسب از محل‌های ضایعه و تزریق در مغز، صحت ضایعه در هسته NBM و کانول‌گذاری و تزریق در قشر پیشانی مغز مورد بررسی قرار گرفت، و نتایج مربوط به حیوان‌ها با برش‌های مغزی تأیید شده برای آنالیز آماری، مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).

و- آنالیز آماری: از روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه و تست توکی استفاده شد. نتایج به صورت میانگین± خطای معیار بیان شد و مقدار $p<0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.



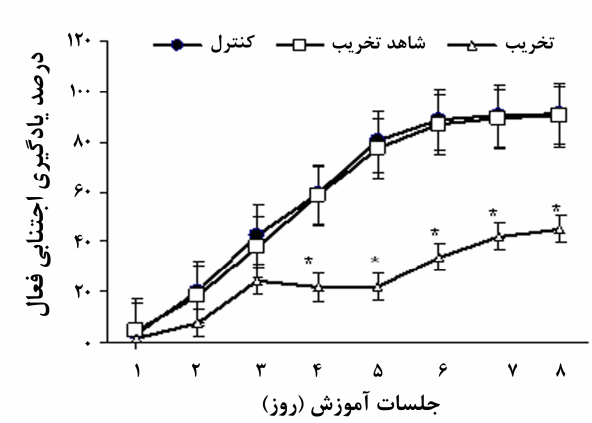
شکل ۱- بررسی بافت شناسی برای نمایش جایگاه ضایعه الکتریکی دو طرفه NBM و تزریق دوطرفه فیزوستیگمین، در قشر پیشانی موش صحرایی، الف- ضایعه الکتریکی دوطرفه NBM، ب- تزریق دوطرفه فیزوستیگمین در قشر فرونتال

نتایج

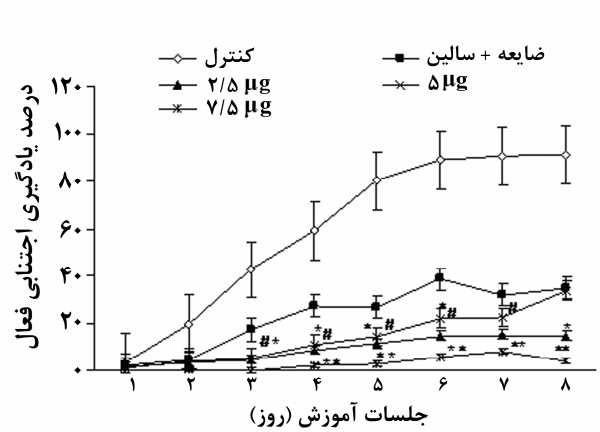
نتایج حاصل از آموزش گروه‌های کنترل و شاهد تخریب در یادگیری اجتنابی فعال، تفاوت معنی‌داری را نسبت به هم نشان نمی‌دهند و هر دو گروه پس از ۸ جلسه آموزش به سطح قابل قبول یادگیری رسیدند، در حالی که مقایسه دو گروه کنترل و تخریب NBM نشان می‌دهد که گروه با ضایعه NBM پیشرفت قابل توجهی در یادگیری نشان نداده و نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را از جلسه چهارم آموزش نشان می‌دهد ($p<0/01$ *، نمودار ۱).

هم‌چنین نتایج حاصل از آموزش دو گروه با ضایعه NBM که در یک گروه حیوانات سالین نرمال دریافت کرده و در گروه دیگر درمان نشده بودند، نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین میزان یادگیری در هر دوگروه ملاحظه نمی‌شود و هر دو پیشرفت ضعیفی را نشان می‌دهند (نمودار۲).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-11-19]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1385.5.4.10.1]

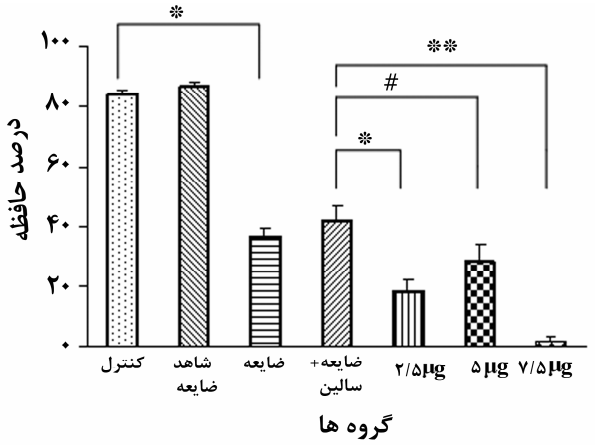


نمودار ۱- درصد یادگیری شرطی اجتنابی فعال در گروه‌های کنترل، شاهد ضایعه NBM و آلزایمری (آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی، *p< ۰/۵۰، سطح یادگیری قابل قبول (CCR) در گروه کنترل برابر با ۹۰٪ پاسخ‌ها در یک جلسه آموزش در نظر گرفته شد.



نمودار ۲- درصد یادگیری شرطی اجتنابی فعال در گروه‌های کنترل، با ضایعه NBM (آلزایمری) دریافت کننده سالین نرمال (شاهد درمان)، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میکروگرم فیزوستیگمین درون قشر پیشانی موش‌های صحرایی نر بالغ جوان (آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی، *p<۰/۵۰، **p< ۰/۰۱، #p< ۰/۰۲، سطح یادگیری قابل قبول (CCR) در گروه کنترل برابر با ۹۰٪ پاسخ‌ها در یک جلسه آموزش در نظر گرفته شد.

مقایسه نتایج حاصل از آموزش گروه‌های با ضایعه NBM دریافت کننده ۲/۵ میکروگرم فیزوستیگمین در میکرولیتر و درمان نشده، نشان می‌دهد که در گروه درمان شده، شدت یادگیری کاهش بیشتری یافته و تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه درمان نشده نشان می‌دهد (p<۰/۰۱، نمودار ۳). مقایسه میزان یادگیری در دو گروه با ضایعه NBM دریافت کننده ۵ میکروگرم فیزوستیگمین در میکرولیتر و درمان نشده نشان می‌دهد که در گروه درمان شده، یادگیری کاهش بیشتری یافته و تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه درمان نشده نشان می‌دهد (p<۰/۰۳، نمودار۲). هم‌چنین مقایسه نتایج حاصل از آموزش گروه‌های با ضایعه NBM درمان شده با ۷/۵ میکروگرم فیزوستیگمین در میکرولیتر و گروه درمان نشده نشان می‌دهد که این دوز از فیزوستیگمین بر میزان یادگیری نیز اثر منفی داشته و باعث گردید تا در جلسات سوم تا هشتم این کاهش به طور معنی‌داری بیشتر باشد (p<۰/۰۱، نمودار ۲). مقایسه نتایج حاصل ازیک جلسه تست حافظه متعاقب ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه آموزش یادگیری اجتنابی فعال در گروه‌های کنترل، با ضایعه NBM درمان نشده، درمان شده با سالین نرمال (شاهد درمان)، و با مقادیر ۲/۵، ۵، و ۷/۵ میکروگرم فیزوستیگمین نشان می‌دهند که درگروه‌های ضایعه دیده درمان نشده و شاهد درمان، کاهش معنی‌دار حافظه نسبت به گروه کنترل ایجاد شده است (p<۰/۰۵، نمودار ۳).



نمودار ۳- درصد حافظه در گروه‌های کنترل، ضایعه NBM (آلزایمری) دریافت کننده سالین نرمال (شاهد درمان)، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میکروگرم فیزوستیگمین درون قشر پیشانی موش‌های صحرایی نر بالغ جوان (آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی، *p< ۰/۵۰، **p< ۰/۰۱، #p<۰/۰۲، سطح یادگیری قابل قبول (CCR) در گروه کنترل برابر با ۹۰٪ پاسخ‌ها در یک جلسه آموزش در نظر گرفته شد.

در گروه‌های با ضایعه NBM درمان شده با ۲/۵ و ۷/۵ میکروگرم فیزوستیگمین، حافظه کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته (p<۰/۰۵) ولی کاهش آن نسبت به گروه با ضایعه NBM درمان نشده یا شاهد درمان، معنی‌دار

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-11-19]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1385.5.4.10.1]

نمی‌باشد. در حالی که گروه با ضایعه NBM درمان شده با ۵ میکروگرم، بر خلاف مقادیر ۲/۵ و ۷/۵ میکروگرم فیزوستیگمین توانسته است کاهش حافظه را نسبت به گروه‌های با ضایعه NBM درمان نشده و شاهد درمان، افزایش دهد، ولی این کاهش نسبت به آن گروه‌ها معنی‌دار نبوده و نتوانسته است حافظه را به سطح گروه کنترل برساند (نمودار۳)

بحث

الگوهای تخریب هسته کولینرژیک NBM برای مطالعه نقش سیستم کولینرژیک قشری در عمل هوشیاری و درک به کار می‌رود و بر نقص‌های ادراکی ایجاد شده در بیماری آلزایمر دلالت دارد [۱۲،۱۶]. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهند که تخریب الکتریکی NBM باعث کاهش معنی‌داری در روند اکتساب و فراخوانی رفتار اجتنابی فعال می‌شود و تزریق مقادیر ۲/۵، ۵، و ۷/۵ میکروگرم فیزوستیگمین در میکرولیتر درون قشر پیشانی حیوان‌ها آلزایمری، موجب اثرات منفی شده و کاهش بیشتری در پیشرفت یادگیری ایجاد نموده است.

Popovic و همکاران نشان داده‌اند که تخریب NBM، موجب کاهش یادگیری فضایی درون ماز شعاعی (Radial Maze) و نیز کاهش یادگیری اجتنابی غیر فعال و فعال، درون دستگاه آموزش رفتاری (Shuttle Box) می‌شود [۱۸-۱۷]. با استفاده از نوروتوکسین‌های مختلف برای تخریب شیمیایی NBM و ایجاد مدل‌های تجربی بیماری آلزایمر، مشخص گردید که کاربرد نوروتوکسین‌های مختلف، اثرات متفاوتی در ایجاد اختلال یادگیری دارند. مثلاً تخریب NBM با ایبوتونیک اسید در مقایسه با کوئیسکوالیک اسید، نقص شدیدتری را در یادگیری فضایی درون ماز آبی(Water Maze) ایجاد نموده است، هر چند که کوئیسکوالیک اسید کاهش شدیدتری را در فعالیت آنزیم استیل‌کولین ترانسفراز قشری ایجاد می‌کند. البته ممکن است که نقص ادراکی به دنبال تخریب شیمیایی NBM، به علت تخریب انشعابات کولینرژیک از NBM به سپتوم و قشر نباشد، بلکه به دلیل وسعت تخریب سلول‌های غیر کولینرژیک درون NBM باشد و نیز ممکن است سایر مسیرهای کولینرژیک قاعده جلویی مغز هم تحت تأثیر قرار گرفته باشند. هم‌چنین ممکن است فعالیت آنزیم استیل‌کولین ترانسفراز درون قشر کاهش یافته باشد [۱۹]. یافته‌های این بخش از تحقیق حاضر با یافته‌های Popovic و همکاران و نیز حیدری و همکاران ۱۳۷۸ مشابه بوده [۱۴]، لذا صحت یافته‌ها تأیید می‌گردد.

Winkler و همکاران نشان دادند که بیماری آلزایمر ناشی از ایجاد بی‌نظمی در سیستم عصبی مرکزی است و سبب تحلیل رفتن تدریجی ادراک و تغییرات شدید رفتاری-شخصیتی می‌شود. تحلیل رفتن نورون‌ها در NBM که انشعابات کولینرژیک را به برخی از نواحی مغز و نیز به نئوکورتکس ارسال می‌نماید، سبب این بیماری می‌شود و به کاهش ادراک منجر خواهد شد. با استفاده از مدل‌های حیوانی این بیماری، چندین پیشرفت در استراتژی‌های درمان کولینرژیک نقص‌های ادراکی ناشی از ضایعه NBM حاصل شد که از جمله آن‌ها استفاده از مهارکننده‌های آنزیم کولین استراز است [۲۰] به دلیل نقش مهم استیل‌کولین در روند یادگیری، تخریب هسته NBM می‌تواند سبب کاهش میزان فعالیت این نوروترانسمیتر در نواحی مختلف مغز شود. Mesulam و همکاران، Gureviciene Dimppel و همکاران نشان دادند که چون استیل‌کولین نقش مهمی در تنظیم رشد آکسونی و شکل‌پذیری سیناپس‌ها دارد، نقص کولینرژیک در اختلال آلزایمر می‌تواند شکل‌پذیری قشری را همان طور که در قشر افراد پیر به تعویق می‌اندازد، مختل نماید [۱۴،۱۹،۲۱]. قشر پیشانی با دریافت انشعابات کولینرژیک از هسته NBM و سایر نواحی دیگر مغز در یادگیری‌های شرطی، (نه فضایی) نقش دارد، به طوری که انسداد گیرنده‌های موسکارینی در قشر پیشانی موش‌های صحرایی با اسکوپولامین به صورت وابسته به دوز، شرطی شدن تأخیری تمیز اشیاء (DCD) را مختل می‌کند [۱۵]. هم‌چنین Kato و همکاران،

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-11-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1385.5.4.10.1]

نشان دادند که اندازه ناحیه ضایعه دیده در هسته NBM به صورت دوطرفه، ارتباط شدیدی با میزان استیل‌کولین آزاد شده در قشر پیشانی دارد [۱۷].

حیدری و همکاران ۱۳۷۸، نشان دادند آمیگدال که به عنوان یکی از جایگاه‌های هدف ارسال انشعابات کولینرژیک از NBM می‌باشد نیز در یادگیری و حافظه نقش دارد و تزریق مقادیر ۵ و ۷ میکروگرم فیزوستیگمین در میکرولیتردرون آمیگدال می‌تواند نقص یادگیری و حافظه حاصل از تخریب NBM را به طور معنی‌داری بهبود بخشد. در حالی که مقادیر ۱/۲۵ و ۲/۵ میکروگرم بر بهبود آن اثر معنی‌داری نداشته است اما مقدار ۱۰ میکروگرم فیزوستیگمین بر یادگیری و حافظه حیوانات آلزایمری اثر منفی داشت [۱۷-۱۵].

نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌کند که تزریق داخل قشر پیشانی فیزوستیگمین به منظور مهار موضعی آنزیم استیل‌کولین‌استراز، نقص یادگیری حاصل از تخریب NBM را به طور معنی‌داری بهبود نبخشیده زیرا احتمال دارد که انشعابات کولینرژیک NBM به قشر پیشانی در حیوانات ضایعه دیده، علی‌رغم مهار کولین استراز در قشر، شدت اختلال یادگیری را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد و این نشان‌دهنده آن است که احتمالاً علاوه بر استیل‌کولین، سیستم‌های نوروترانسمیتری دیگری مانند گلوتامات در قشر مغز وجود دارندکه با تخریب NBM تحت تأثیر قرار گرفته و موجب شدیدتر شدن نقص فراگیری می‌شوند [۲۲]. Mandel و همکاران (۱۹۹۸) اثر دوزهای مختلف تجویز محیطی فیزوستیگمین بر آموزش فضایی موش‌های صحرایی با ضایعه NBM را درون ماز آبی مطالعه کردند، و مشخص نمودند که تجویز دوز بالاتر از ۰/۱۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن فیزوستیگمین، آموزش فضایی موش‌های صحرایی با ضایعه NBM را بیشتر مختل نمود [۲۳] که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت می‌نماید. اگر چه با تجویز فیزوستیگمین جریان خون مختل شده نواحی مختلف مغز به ویژه قشر پیشانی ناشی از بروز بیماری آلزایمر تا حدی یا به طور کامل بهبود می‌یابد [۲۸-۲۴]، اما این یافته‌ها نشان می‌دهد که برای استفاده از دوزهای مختلف این دارو برای درمان بیماری آلزایمر محدودیت وجود دارد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه توضیح دهنده عدم وجود ارتباط کولینرژیک میان NBM و قشر پیشانی و امکان استفاده درمانی از فیزوستیگمین در بیماری آلزایمر می‌باشد. انشعابات کولینرژیک NBM به قشر پیشانی در حیوانات ضایعه دیده، علی‌رغم مهار کولین استراز در قشر پیشانی شدت اختلال یادگیری را به طور معنی‌داری افزایش داد و این نشان می‌دهد که احتمالاً علاوه بر استیل‌کولین، سیستم‌های نوروترانسمیتری دیگری مانند گلوتامات، دراین ناحیه از قشر پیشانی مغز وجود دارند که با تخریب NBM تحت تأثیر قرار گرفته و موجب شدیدتر شدن نقص فراگیری ناشی از ضایعه NBM می‌شوند.

تشکر و قدردانی

از آقای سید محمد تقی منصوری دانشجوی دکترای فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و آقای سلطانعلی ایرانپاک کارمند مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز که دراین تحقیق ما را یاری نمودند سپاسگزاری می‌شود.

References

[1] Wilson WJ, Cook JA. Cholinergic manipulations and passive avoidance the rat: effects on acquisition and recall. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 1994; 54(4): 377-91.

[2] Lawrence AD, Sahakian BJ. The cognitive psychopharmacology of Alzheimer's disease: focus on cholinergic systems. *Neurochem Res*, 1998; 23(5): 787-94.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-11-19]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1385.5.4.10.1]

[3] Camacho F, Smith CP, Vargas HM, Winslow JT. Alpha2 – adrenceptor antagonists potentiate acetylcholinestrase inhibitor effects on passive avoidance learning in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 1996; 124(4): 347-54.

[4] Butt AE, Hodge GK. Simple and confiural association learning in rats with bilateral quisqualic acid lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Behav Brain Res*, 1997; 89(1-2): 71-85.

[5] Wellam CL, Lougo SF. Maze learning and morphology of frontal cortex in adult aged basal forbrain-lesioned rats. *Neurosci*, 1995; 109(5): 837-50.

[6] Nakamura S, Ishihara T. Task-dependent memory loss and recovery following unilateral nucleus basalis lesion: behavioral and neurochemical correlation. *Behav Brain Res*, 1990; 39(2): 113-22.

[7] Kandel ER, Schwartz H. Priciples of neural science, chapter 62, 4th ed: 2000; pp: 1227-46.

[8] Asthana S, Greig NH, Hegedus L, Halloway HH, Raffaele KC, Schapiro MB, et al. Clinical pharmacokinetics of physostigmine in patients with Alzheimer's disease. *Clin Pharmacol Therapy,* 1995; 58(3): 299-309.

[9] Katheen P. The complete drug reference martindale. Vol.2, 32th ed: 1999; 1395-6.

[10] Schliebs R, Rossner S, Bigl V. Immunolesion by 192 IgG-saporin of rat basal forebrain cholinergic system: a useful tool to produce cortical cholinergic dysfunction. *Prog Brain Res*, 1996; 109: 253-64.

[11] Kato H, Aikawa H, Shinohara Y. The effect of lesions in the nucleus basalis of Meynert and physostigmine on rat frontal cortex acetylcholine level. *Tokai J Exp Clin Med*, 1999; 24(3): 125-30.

[12] Popovic N, Popovic M, Jovanova Nesic K, Bokonjic D, Kostic VS, Sternic N, et al. Effect of neural transplantation on depressive behaviorin rats with lesioned nucleus basalis magnocellularis. *Int J Neurosci*, 2002; 112(1): 105-15.

[13] Vale-Martinez A, Guillazo-Blanch G, Marti-Nicolovius, Nadal R, Arevalo- Garcia R, et al. Electrolytic and ibotonic acid lesions of nucleus basalis magnocellularis interrupt long-term retention, but not acquisition of two-way active avoidance, in rats. *Exp Brain Res*, 2002; 142(1): 52-66.

[14] Gureviciene I, Ikonen S, Gurevicius A, Sarkaki A, Van Groen T, Pussinen R, et al. Normal induction but accelerated decay of LTP in APP+PS1 transgenic mice. *Neurobiol Dis*, 2004; 15: 188-95.

[۱۵] حیدری ا، سرکاکی ع، زاهدی اصل ص. اثرتزریق داخل آمیگدال فیزوستیگمین بر یادگیری و حافظه فضایی مدل حیوانی بیماری آلزایمر در موش صحرایی. (پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی، ۱۳۷۸، اهواز)

[16] Mallet PE, Beninger RJ, Flesher SN, Jhamands K, Boegman RJ. Nucleus basalis lesions: implication of basoamygdaloid cholinergic pathways in memory. *Brain Res Bull*, 1995; 36(1): 51-6.

[۱۷] عصایی ر، سرکاکی ع، زاهدی اصل ص. اثر تجویز آلومینیوم داخل هیپوکامپی بر یادگیری به روش اجتنابی فعال در موش صحرایی. (پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی،۱۳۷۷، اهواز).

[18] Popovic M, Popovic N, Jovanova-Nesic K, Bokonjic D, Dobric S, Kostic VS, et al. Effect of physostigmine and verapamil on active avoidance in an experimental model of Alzheimer's disease. *Int J Neurosci*, 1997; 92(1-2): 87-93.

[19] Mesulam MM. Some cholinergic themes related to Alzheimer's disease: synaptology of the nucleus basalis, location of m2 receptors, interaction with amyloid metabolism, and perturbation of cortical plasticity. *J Physiol Paris*, 1998; 92(3-4): 293-8.

[20] Winkler J, Thal LJ, Gage FH, Fisher LJ. Cholinergic strategies for Alzheimer's disease. *J Mol Med*, 1998; 76(8): 555-67.

[21] Dimpfel W. Pharmacological modulation of cholinergic brain activity and its reflection in special EEG frequency ranges from various brain areas in the freely moving rat (Tele-Stereo-EEG). *Eur Neuropharm*, 2005; 15(6): 673- 82.

[22] Dijk SN, Francis PT, Stratmann GC, Bowen DM. Cholinomimetics increase glutamate outflow via an action on the corticostriatal pathway: implications for Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 1995; 65(5): 2165-9.

[23] Mandel RJ, Thal LJ. Physostigmine improves water maze performance following nucleus basalis magnocellularis lesions in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 1988; 96(3): 421-5.

[24] Prohovnik I, Arnold SE, Smith G, Lucas LR. Physostigmine reversal of scopolamine-induced hypofrontality. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1997; 17(2): 220-8.

[25] Blin J, Ivanoiu A, Coppens A, De Volder A, Labar D, Michel C, Laterre EC. Cholinergic neurotransmission has different effects on cerebral glucose consumption and blood flow in young normals, aged normals and Alzheimer's disease patients. *Neuroimage,* 1997; 6(4): 335-43.

[26] Peruzzi P, von Euw D, Lacombe P. Differentiated cerebrovascular effects of physostigmine and tacrine in cortical areas deafferented from the nucleus basalis magnocellularis suggest involvement of basalocortical projections to microvessels. *Ann N Y Acad Sci*, 2000; 903: 394-406.

[27] Paxinos G, Watson C, The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed, Orlando, Academic Press, 1986

[۲۸] سرکاکی ع، کیاست ا، بدوی م. اثر تزریق داخل سپتوم میانی فیزوستیگمین بر EEG هیپوکامپی و حافظه فضایی در مدل حیوانی بیماری آلزایمر. مجله علوم پایه پزشکی ایران، ۱۳۸۵، جلد ۹، شماره ۱، صفحات: ۳۳-۲۴

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-11-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1385.5.4.10.1]