

# اثر تجویز مزمن نورهارمان بر حافظه فضایی موش آلزایمیری مدل داخل بطنی استرپتوزوتوسین

نویسندگان: صدیقه توکلی<sup>۱</sup>، محمدحسین اسماعیلی<sup>۲\*</sup> و مریم بنانج<sup>۳</sup>

- ۱- دانشجوی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، ایران  
۲- دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران  
۳- استادیار گروه بیولوژی دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، ایران

E-mail: esmail66@yahoo.com

\* نویسنده مسئول: محمدحسین اسماعیلی

### چکیده

مقدمه و هدف: بیماری آلزایمر شایع ترین بیماری نورودژنراتیو مغز در دنیاست. درمان های فارماکولوژیک موجود فقط می توانند روند پیشرفت علایم آن را کند کنند ولی نمی توانند این بیماری را درمان کنند. مشخص شده است که بنزودیازپین ها و آگونیسست های مرتبط، در محل اتصال بنزودیازپین، روی گیرنده های گابا خواص ضد اضطرابی و فراموشی آور دارند در حالی که آگونیسست های معکوس آنها از قبیل بتا-کاربولین ها (نورهارمان) بر عکس از خود خواص اضطراب زایی و افزایش میزان یادگیری نشان می دهند. این یافته باعث تمرکز تحقیق ها بر استفاده بالقوه از بتا کاربولین ها به عنوان داروی ضد آلزایمر شده است. هدف مطالعه حاضر، تعیین اثرهای تزریق مزمن نورهارمان بر حافظه فضایی موش های آلزایمیری مدل استرپتوزوتوسین بود.

مواد و روش ها: ۴۸ موش نر ویستار (۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) به گروه های زیر تقسیم شدند: کنترل، استرپتوزوتوسین، استرپتوزوتوسین + الکل و استرپتوزوتوسین + نورهارمان. گروه الکل و نورهارمان به مدت ده روز الکل اتانول (۰/۲ میلی لیتر) و نورهارمان (۴ و ۱۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. برای القای آلزایمر استرپتوزوتوسین (۳ میلی گرم بر کیلوگرم، ۱۰ میکرو لیتر در هر طرف) به صورت دوطرفه به درون بطن های جانبی تزریق شد. تمام موش ها به کمک ماز آبی تحت آزمون حافظه فضایی قرار گرفتند.

نتایج: تزریق پیش از آموزش نورهارمان در دوز کم (۲ و ۱ میلی گرم بر کیلوگرم) باعث بهبود حافظه فضایی ولی دوز بالای آن (۴ میلی گرم بر کیلوگرم) باعث تضعیف حافظه فضایی موش های آلزایمیری مدل استرپتوزوتوسین شد. به طوری که تفاوت میان گروه کنترل و استرپتوزوتوسین + نورهارمان (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) معنی دار نبود در حالی که تفاوت میان گروه کنترل و استرپتوزوتوسین + نورهارمان (۴ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) معنی دار بود ( $P < 0.01$ ).

نتیجه گیری: با توجه به یافته ها، نورهارمان در دوز کم در درمان بیماری آلزایمر به وسیله توانایی آن در تحت تأثیر قرار دادن سیستم گابا آرژیک، مؤثر است.

واژگان کلیدی: نورهارمان، حافظه فضایی، آلزایمر

دوماهنامه علمی-پژوهشی  
دانشگاه شاهد  
سال بیست و یکم-شماره ۱۱۱  
تیر ۱۳۹۳

دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۰۲  
آخرین اصلاح ها: ۱۳۹۳/۰۳/۱۷  
پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۲۱

## مقدمه

بیماری آلزایمر، یک بیماری نورودژنراتیو پیشرونده و برگشت‌ناپذیر است که مشخصه آن، کاهش میزان یادگیری و حافظه و اعمال شناختی، تجمع و رسوب آمیلوئیدهای بتا در مغز، زوال سیستم کولینرژیک است. به‌دنبال آسیب و مرگ نورون‌ها که در این بیماری حادث می‌شود، مشکلات ناشی از آن نیز که عبارت‌اند از: کاهش یادگیری، حافظه، هوش، اعمال شناختی و تغییر شخصیت و درنهایت مرگ بروزی‌یابند. چندین سایت تعدیلی روی گیرنده گابا وجود دارد که داروهای زیادی از جمله بنزودیازپین‌ها از طریق آنها بر مغز اثر می‌گذارند. سه نوع تعدیل‌کننده الوستریک از طریق محل اتصال بنزودیازپین‌ها عمل می‌کنند: تعدیل‌کننده‌های مثبت (اگونست)، خنثی (انتاگونست) و منفی (اگونست معکوس) (۱-۳). نشان‌داده‌شده‌است که اگونست‌های گیرنده‌های بنزودیازپینی به‌ویژه بنزودیازپین‌ها خواص ضداضطرابی و فراموشی‌آوری دارند درحالی‌که اگونست‌های معکوس گیرنده‌های بنزودیازپینی از قبیل بتا-کاربولین برعکس از خود خواص اضطراب‌زایی و افزایش میزان یادگیری نشان می‌دهند (۵، ۴). بتا-کاربولین (هارمان و هارمالین و نورهارمان) که به‌صورت اگزوزن در گوشت، میوه‌های مختلف، دود سیگار و تنباکو و مشروبات الکلی وجود دارند؛ به‌صورت اندوژن نیز در بدن یافت می‌شوند؛ این بتاکاربالین‌های داخلی و خارجی و برخی از متابولیت‌های آنها آثار نوروکسیک از خود نشان می‌دهند و تصویری شود که گیرنده‌های بنزودیازپینی و ایمیدازولین را تحت تأثیر قرار می‌دهند؛ این ترکیب‌ها همچنین می‌توانند گیرنده‌های سروتونین را فعال و آنزیم مونوآمینواکسیداز و مبادله‌گر سدیم/هیدروژن را مهار کنند (۷، ۶). به دلیل آنکه سطوح بالای پلاسمایی از این ترکیب‌ها در افراد «سیگاری، هروئینی، بیماران دچار لرزش عضلانی و همچنین پارکینسونی» شناسایی شده‌است، تصویری شود که نقشی مهم در پاتوفیزیولوژی برخی از اختلال‌های سیستم عصبی

مرکزی از جمله پارکینسون داشته‌باشند (۶)؛ با این حال، بعضی از محققان نشان‌داده‌اند که بعضی از این ترکیب‌ها در دوز کم، روی سیستم دوپامینرژیک اثر تحریکی دارند و ضمن افزایش سطح دوپامین، تکثیر دندریت‌ها و سیناپس‌ها در هیپوکامپ، باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌شوند؛ در حال حاضر، این یافته باعث تمرکز تحقیق‌ها روی اثر تحریکی و حفاظتی بتاکاربولین‌ها بر سیستم دوپامینرژیک و استفاده بالقوه از آن به‌عنوان داروی ضد آلزایمر شده و نشان‌داده‌شده‌است که بتاکاربالین‌ها در دوز بالا تشنج‌زا و در دوز متوسط، اضطراب‌زا و در دوز کم، تقویت‌کننده یادگیری هستند (۸). گزارش‌شده‌است که بنزودیازپین‌ها از جمله دیازپام و لورازپام، باعث هر دو نوع فراموشی پیشین و پسین می‌شوند (۹، ۱۰)؛ برعکس، آنتاگونست‌های بنزودیازپینی از قبیل فلومازینیل، اختلال حافظه و یادگیری ایجاد شده توسط داروهای بنزودیازپینی را بهبود می‌بخشند (۱۱)، بنابراین اگونست‌های معکوس آنها از جمله نورهارمان باید بتوانند در جهت معکوس داروهای بنزودیازپینی، حافظه و یادگیری را در موش‌های آلزایمری بهبود بخشند؛ شواهد تحقیقاتی جدید موجود نیز این مسئله را تا حدود زیادی تأیید می‌کنند (۱۳، ۱۴)؛ بنابراین در این تحقیق سعی شده تا آثار تزریق مزمن نورهارمان بر روند یادگیری و حافظه فضایی موش‌های آلزایمری شده با استرپتوزوسین در ماز آبی بررسی شود.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. تعداد ۴۸ موش نر نژاد ویستار (تهیه شده از مؤسسه رازی) که وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم داشتند در شش گروه (۸ موش در هر گروه) مورد آزمایش قرار گرفتند موش‌ها در شش قفس جداگانه در شرایط استاندارد از نظر دما ( $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) و نور نگهداری شدند. در طول مدت آزمایش، موش‌ها آب و غذای طبیعی خود را آزادانه دریافت می‌کردند. این تحقیق در سه مرحله اجرا شد: ۱) جراحی استرئوتاکسی و تزریق دوطرفه استرپتوزوتوسین به درون بطن‌های طرفی به منظور ایجاد مدل آلزایمر؛ ۲) تزریق درون‌صفافی نورهارمون (سیگما، آمریکا) و حلال آن (الکل) به موش‌های آلزایمری شده توسط استرپتوزوتوسین به مدت ده روز (از چهار روز به آزمون تا آخر آزمون، هر روز صبح ۲۰ دقیقه پیش از آزمون) و ۳) آزمون رفتاری ماز آبی به مدت شش روز و آزمون تست پروب به منظور ارزیابی حافظه موش‌ها در روز هفتم.

برای القای آلزایمر ۱۰ میکرولیتر از محلول استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) با غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به وسیله جراحی استرئوتاکسیک به درون هریک از بطن‌های جانبی مغز با مختصات برحسب برگما: قدامی خلفی (۰/۵-)، جانبی از خط وسط ( $1/2 \pm$ )، پشتی شکمی ( $3/2 -$ ) تزریق شد (۱۵ و ۱۶) در این جراحی ابتدا حیوانات با استفاده از کتامین/زایلازین (۶/۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش و سپس در دستگاه استرئوتاکس قرار داده شدند و پس از فیکس کردن حیوان در این دستگاه در پشت سر حیوان در خط وسط یک برش ایجاد شد. پس از تمیز کردن سطح جمجمه و یافتن نقطه برگما به عنوان مرجع، با استفاده از اطلس پاکسینوز به روش استرئوتاکسیک محل مورد نظر تزریق در دو طرف سر نشانه گذاری شد و پس از علامت گذاری نقاط هدف روی سطح جمجمه، دو سوراخ به کمک دریل

دندان پزشکی ایجاد شد و سپس با استفاده از سرنگ هامیلتون محلول استرپتوزوسین (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۱۰ میکرولیتر در هر طرف) به صورت دوطرفه به درون بطن‌های جانبی به آرامی تزریق شد. گروه‌های مورد آزمایش به شرح زیر بودند: ۱) گروه کنترل و ۲) گروه آلزایمری شده با STZ که خود به پنج زیر گروه به شرح زیر تقسیم شدند: ۱) گروه STZ؛ ۲) گروه الکل + STZ که به مدت ده روز و روزی یک مرتبه الکل (۲/۰ میلی‌لیتر) به صورت درون‌صفافی از چهار روز پیش از آغاز آزمون یادگیری و در طول آزمون یادگیری فضایی (۲۰ دقیقه پیش از آزمون) دریافت می‌کردند و ۳ تا ۶) گروه‌های نورهارمون + STZ که به مدت ده روز و روزی یک مرتبه نورهارمون (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت درون‌صفافی، مشابه گروه الکل دریافت می‌کردند (۱۵ و ۱۷).

برای ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی حیوان از ماز آبی موریس استفاده شد که یک تانک آب با قطر ۱۸۰ و عمق ۶۰ سانتی‌متر است و تا نیمه از آب پر می‌شود و یک سکوی نجات با قطر ۱۰ سانتی‌متر در یکی از چهار ربع آن ۱ سانتی‌متر زیر سطح آب قرار گرفته است؛ این مجموعه از طریق دوربین ردیابی و اطلاعات مربوط به آزمایش در رایانه، ذخیره و آنالیز می‌شود. حداکثر زمانی که حیوان برای پیدا کردن سکو در اختیار دارد ۶۰ ثانیه است. در صورتی که حیوان در طول این مدت، سکو را پیدا نکرد با دست به سمت سکو هدایت می‌شود و به مدت ۱۰ ثانیه روی آن قرار می‌گیرد تا موقعیت سکو نسبت به علایم نصب شده در آزمایشگاه را به خاطر بسپارد. در صورتی که حیوان سکو را پیدا کند هم‌زمان با قرارگیری حیوان روی سکو، عمل ضبط دوربین متوقف می‌شود. این آزمایش به مدت شش روز و هر روز چهار بار با فاصله ۱۰ دقیقه تکرار می‌شود؛ در این مراحل، روند یادگیری حیوان بر اساس مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده و

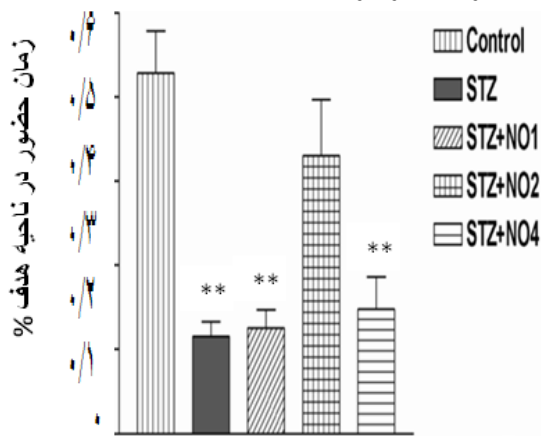
سرعت حرکت حیوان برای یافتن سکو سنجیده می‌شود. در پایان روز ششم، پس از اتمام آزمایش‌ها یک مرحله پروب انجام می‌شود؛ بدین صورت که پس از برداشتن سکو (پروپ)، حیوان از یکی از جهات درون ماز رها می‌شد. این آزمایش بر این اساس است که با فرض اینکه حیوان، محل سکو را به‌خاطر سپرده، باید طی بیشترین زمان و مسافت در ربع محل قرارگیری سکو بماند. این مرحله برای هر حیوان یک‌بار تکرار می‌شود که مدت آن ۶۰ ثانیه است. مدت زمان و مسافت طی شده در ربع محل قرارگیری سکو، معیار و میزان سنجش حافظه است. برای بررسی یادگیری، مدت زمان رسیدن به سکو و مسافت طی شده و سرعت حرکت حیوان برای یافتن سکو در مدت شش روز یادگیری در میان گروه‌ها با هم مقایسه شد (۱۸). برای بررسی حافظه، مدت زمان حضور در ربع سکوی هدف و مسافت طی شده در ربع سکوی هدف در روز هفتم در میان گروه‌ها با هم مقایسه شد. در تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آنوای یک‌طرفه (و آزمون تعقیبی توکی) استفاده شد.

#### یافته‌ها

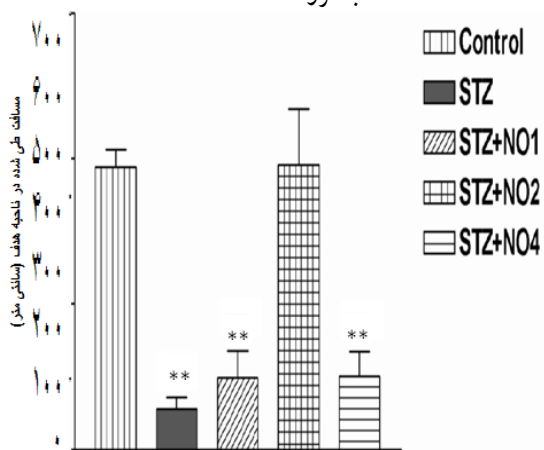
با توجه به اینکه میان گروه STZ و گروه STZ+الکل، تفاوتی معنی‌دار مشاهده نشد، بقیه گروه‌ها با گروه STZ مقایسه شدند. اختلاف میان گروه‌های STZ و STZ+ نورهارمان (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه شاهد در پنج روز اول آموزش، معنی‌دار بود ( $P < 0/01$ ). اختلاف گروه STZ+ نورهارمان (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه شاهد در روز سوم معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). اختلاف میان گروه STZ+ نورهارمان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه شاهد در هیچ‌یک از روزهای آموزش معنی‌دار نبود. نورهارمان در دوز کم (۱ و ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم) یادگیری فضایی حیوانات آلزایمری را نسبت به گروه STZ بهبود بخشید. به‌گونه‌ای که موش‌های گروه ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم نورهارمون در تمام روزها سریع‌تر از گروه STZ، مکان سکو را پیدا کردند و زودتر از گروه

STZ به سکو رسیدند و در پنج روز اول آزمون، اختلاف این دو گروه، معنی‌دار شد (روز اول و پنجم  $P < 0/05$  و روزهای دوم تا چهارم  $P < 0/01$ ). اختلاف گروه STZ+ نورهارمان (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه STZ در روز سوم ( $P < 0/05$ ) و چهارم ( $P < 0/01$ ) معنی‌دار بود (نمودار ۱). در مؤلفه مسافت طی شده تا سکو میان گروه‌های STZ و STZ+ نورهارمان (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه شاهد در چهار روز اول آموزش اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0/01$ ). اختلاف گروه STZ+ نورهارمان (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه شاهد در روز سوم معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). اختلاف میان گروه STZ+ نورهارمان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه شاهد در هیچ‌یک از روزهای آموزش معنی‌دار نبود (نمودار ۲). مشابه نتایج مربوط به زمان رسیدن به سکو، موش‌های گروه ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم نورهارمان مسافتی کمتر و تعداد ربع‌هایی کمتر را برای رسیدن به سکو در مقایسه با گروه STZ طی کردند نورهارمان در دوز بالا (۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) برعکس، یادگیری فضایی حیوانات آلزایمری را مختل کرد به‌گونه‌ای که دوز ۴ برعکس دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم، زمان و مسافت طی شده و تعداد ربع‌های طی شده تا رسیدن به سکو را افزایش داد. سرعت حرکت موش‌ها برای یافتن سکو، به‌تدریج از روز اول تا روز ششم در تمام گروه‌ها افزایش یافت ولی اختلاف میان گروه‌ها معنی‌دار نبود.

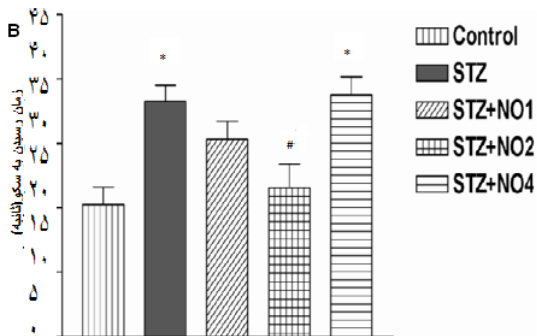
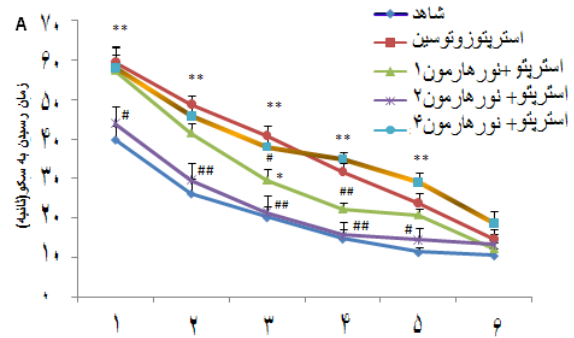
( $P < 0.01$ ) \*\* اختلاف معنی‌دار میان گروه‌ها با گروه شاهد نورهارمان در دوز کم (۲ میلی‌گرم/کیلوگرم)، حافظه فضایی موش‌های آلزایمری را بهبودبخشید درحالی‌که دوز بالای آن (۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) حافظه فضایی موش‌های آلزایمری را مختل کرد، به‌گونه‌ای که موش‌های گروه نورهارمان ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم مشابه گروه شاهد در روز تست حافظه (پروب) مدت زمانی بیشتر را در ناحیه هدف طی کردند؛ همین‌طور مسافت طی شده و درصد زمان طی شده در ناحیه هدف و تعداد دفعات ورود به ناحیه هدف در این گروه، مشابه گروه شاهد بیشتر از سایر گروه‌ها بود (نمودار ۳ و ۴).



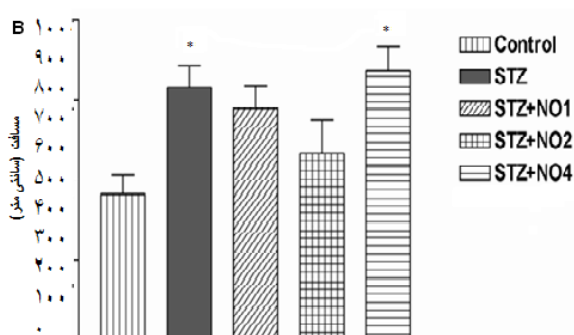
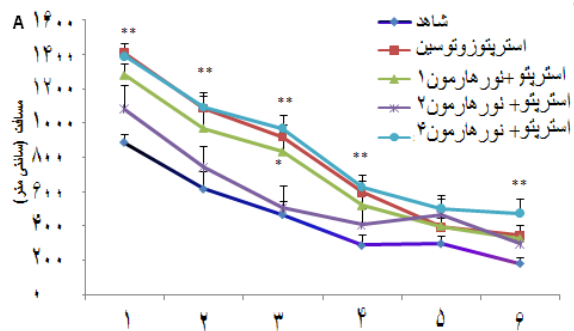
نمودار ۳. مقایسه درصد زمان طی شده در ناحیه هدف، میان گروه‌های مورد مطالعه ( $P < 0.01$ ) \*\* اختلاف معنی‌دار میان گروه‌ها با گروه شاهد



نمودار ۴. مقایسه مسافت طی شده در ناحیه هدف میان گروه‌های مورد مطالعه ( $P < 0.01$ ) \*\* اختلاف معنی‌دار میان گروه‌ها با گروه شاهد



نمودار A.1. مقایسه زمان رسیدن به سکو میان گروه‌های مورد مطالعه در شش روز آزمون و B. مقایسه میانگین کل مدت زمان رسیدن به سکو در شش روز میان گروه‌ها ( $P < 0.05$ ) \* و ( $P < 0.01$ ) \*\* اختلاف معنی‌دار میان گروه‌ها با گروه شاهد. ( $P < 0.05$ ) # و ( $P < 0.01$ ) ## اختلاف معنی‌دار میان گروه‌ها با گروه STZ



نمودار A.2. مقایسه مسافت طی شده تا سکو میان گروه‌های مورد مطالعه در شش روز آزمون و B. مقایسه میانگین کل مسافت طی شده تا سکو در شش روز میان گروه‌ها ( $P < 0.05$ ) \* و

### بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان‌داد که تزریق پیش از آموزش نورهارمان در دوز کم (۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) برای مدت ده روز، یادگیری و حافظه فضایی را در موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین بهبودمی‌بخشد ولی دوز بالای آن (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) برعکس، موجب اختلال بیشتر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های آلزایمری می‌شود؛ این یافته با نتایج محققانی که نشان‌داده‌اند بتاکاربالین‌ها در دوز کم، باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌شوند همخوانی دارد (۸). اگر حافظه به معنای یادآوردن اطلاعات باشد باید این اطلاعات ابتدا دریافت شوند و دریافت اطلاعات، تحت تأثیر سطح هوشیاری است و فعالیت طبیعی سیستم‌های واسطه‌های عصبی مغز برای این امر لازم است. می‌توان پیش‌بینی کرد هر ماده‌ای که سطح هوشیاری را کاهش دهد، سبب اختلال در روند طبیعی یادگیری و حافظه خواهد شد و برعکس، هر ماده‌ای که سبب افزایش سطح هوشیاری شود، موجب بهبود یادگیری و حافظه نیز خواهد شد؛ در این رابطه محققان نشان‌داده‌اند داروهای بنزودیازپینی (ازجمله دیازپام) که سطح هوشیاری را کاهش می‌دهند، موجب اختلال در یادگیری و حافظه و همچنین هر دو نوع فراموشی پیشین و پسین می‌شوند؛ برعکس، آنتاگونیست‌های بنزودیازپینی از قبیل فلومازینیل که باعث افزایش سطح هوشیاری می‌شوند، اختلال حافظه و یادگیری ایجاد شده توسط داروهای بنزودیازپینی را بهبودمی‌بخشند (۹-۱۱)؛ بنابراین می‌توان انتظار داشت که نورهارمان به‌عنوان آنتاگونیست معکوس بنزودیازپین، ضمن افزایش سطح هوشیاری، حافظه و یادگیری را بهبودبخشد؛ از این نظر، نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات محققانی که نشان‌داده‌اند داروهای بنزودیازپینی موجب اختلال در یادگیری و حافظه می‌شوند و برعکس، آنتاگونیست‌های بنزودیازپینی باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌شوند، همخوانی دارند (۱۰ و ۱۱). نتایج مطالعه حاضر، همچنین

با نتایج مطالعه گراس و همکاران مطابقت داشت؛ آنها نشان‌دادند ۹- متیل کاربولین (برخلاف بسیاری از بتاکاربالین‌های دیگر که آثار نوروٹوکسیک از خود نشان می‌دهند) بر نوروٹهای دوپامینرژیک در محیط کشت سلولی اثر تحریکی داشت و تزریق زیرجلدی مزمن ده روزه این دارو در موش‌ها ضمن بهبود یادگیری فضایی، باعث افزایش سطح دوپامین و افزایش میزان تکثیر دندریت‌ها و سیناپس‌ها در هیپوکامپ شد (۱۲). در مطالعه حاضر، نورهارمان در دوز بالا یعنی ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم یادگیری و حافظه موش‌های آلزایمری را تا حدودی مختل کرد که با مطالعه‌های زیر مطابقت داشت؛ این مطالعات نشان‌داده‌اند تحریک مسیر اولیوسربلار مخچه توسط هارمالین (یکی دیگر از بتاکاربولین‌ها)، باعث اختلال در یادگیری و حافظه فضایی می‌شود و به عقیده آنها مسیر اولیوسربلار باید فعالیت طبیعی خود را داشته باشد تا یادگیری و حافظه روند طبیعی و مطلوبی را داشته باشند و در صورتی که این مسیر، تحریک یا مهار شود، حافظه و یادگیری مختل می‌شود؛ مطالعه آنها نشان‌داد هارمالین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق فعال کردن زیتون تحتانی، موجب اختلال در زمان بستن پلک می‌شود (۱۳)؛ همچنین با نتایج تحقیق‌های محققانی که نشان‌داده‌اند هارمان از طریق اختلال در سیستم دوپامینرژیک و کولینرژیک باعث اختلال در حافظه شده، موجب فراموشی می‌شود، همخوانی دارد (۱۴ و ۱۹). به‌احتمال، نورهارمان مورد استفاده در این تحقیق نیز در دوز کم با اثر ضدالتهابی و محافظت‌کنندگی که برای نوروٹهای مغز دارد، باعث افزایش سطح دوپامین و افزایش میزان تکثیر دندریت‌ها و سیناپس‌ها در هیپوکامپ و سایر نقاط مهم درگیر در فرایند یادگیری و حافظه موش‌های آلزایمری می‌شود (مشابه ۹-متیل کاربولین) و از این طریق، یادگیری و حافظه را در موش‌های آلزایمری بهبودمی‌بخشد؛ این دارو در دوز بالا با اثر سمیتی که برای نوروٹها دارد

اختلال بیشتر در یادگیری و حافظه موش‌های آلزایمری شده‌است. در پایان براساس یافته‌های این مطالعه می‌توان بیان کرد که نورهارمان در دوز کم (۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث بهبود یادگیری و حافظه موش‌های آلزایمری شده می‌شود و بنابراین می‌توان در درمان بیماران آلزایمری از آن استفاده کرد در حالی که دوز بالای آن (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، باعث اختلال بیشتر یادگیری و حافظه موش‌های آلزایمری می‌شود. برای مشخص شدن سازوکار مولکولی و عصبی نحوه عمل نورهارمون و تأثیرهای درمانی آن در بیماران آلزایمری به انجام تحقیق‌های بیشتر و کارآزمایی بالینی در آینده نیازاست.

#### منابع

1. Samardžić J, Strac DŠ, Obradović M, Oprić D, Obradović D. A benzodiazepine site inverse agonist, improves active avoidance and motivation in the rat. *Behavioural Brain Research*. 2012; 235: 195–199.
2. Korpi ER, Grunder G, Luddens H. Drug interactions at GABA (A) receptors. *Progress in Neurobiology* 2002; 67(2):113–59.
3. Chebib M, Johnston GA. GABA-activated ligand gated ion channels: medicinal chemistry and molecular biology. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2000; 43(8):1427–47.
4. Krazem A, Borde N, Beracochea D. Effects of diazepam and beta-CCM on working memory in mice: relationships with emotional reactivity. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 2001; 68(2):235–44.
5. Chapouthier G, Venault P. GABA-A receptor complex and memory processes. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2002; 2(8):841–51.
6. Collins MA, Neafsey EJ. Potential neurotoxic “agents provocateurs” in Parkinson’s disease. *Neurotoxicology and Teratology*. 2002; 24: 571–577.
7. Spletstoeser F, Bonnet U, Wiemann M, Bingmann D, Büsselberg D. Modulation of voltage-gated channel currents by harmaline and harmaline. *British Journal of Pharmacology*. 2005; 144(1):52–8.
8. Venault P, Chapouthier G. From the Behavioral Pharmacology of Beta-Carbolines to Seizures, Anxiety, and Memory. *The Scientific World Journal*. 2007; 7: 204–223.
9. Mejo SL. Anterograde amnesia linked to benzodiazepines. *Nurse Practitioners*. 1992; 17 (44):49–50.
10. Rinehart JB, Baker B, Raphael D. Postoperative global amnesia reversed with flumazenil. *Neurologist* 2012; 18 (4): 216–8.
11. Hogan JB, Hodges DB, Lelas S, Gilligan PJ, McElroy JF, Lindner MD. Effects of CRF1 receptor antagonists and benzodiazepines in the Morris water maze and delayed non-matching to position tests. *Psychopharmacology*. 2005; 178 (4): 410–9.
12. Gruss M, Appenroth D, Flubacher A, Enzensperger C, Bock J, Fleck C, et al. 9-Methyl-β-carboline-induced cognitive enhancement is associated with elevated hippocampal dopamine levels and dendritic and synaptic proliferation. *Journal of Neurochemistry*. 2012; 121 (6): 924–31.
13. Beitz AJ, Saxon D. Harmaline-induced climbing fiber activation causes amino acid and peptide release in the rodent cerebellar cortex and a unique temporal pattern of Fos expression in the olivo-cerebellar pathway. *Journal of Neurocytology*. 2004; 33 (1): 49–74.
14. Nasehi M, Sharifi S, Zarrindast MR. Involvement of the cholinergic system of CA1 on harmaline-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. *Journal of Psychopharmacology*. 2012; 26 (8): 1151–61.
15. Anand A, Saraf MK, Prabhakar S. Sustained inhibition of brotizolam induced anterograde amnesia by norharmaline and retrograde amnesia by l-glutamic acid in mice. *Behavioural Brain Research*. 2007; 182: 12–20.

16. Khalili M, Vaez Mahdavi M. The effect of oral feeding of *Withania somnifera* L. alcoholic extract on intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits in male rat. *Daneshvar Medical Journal*. 2012; 19 (99) :47-56.
17. Celikyurt IK, Utkan T, Gocmez SS. Effect of harmane, an endogenous  $\beta$ -carboline, on learning and memory in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2013; 103: 666–671.
18. Pourmotabbed A, Nedaet SE, Cheraghi M. Effect of prenatal pentylenetetrazol-induced kindling on learning and memory of male offspring. *Neuroscience*. 2011; 172 : 205–211.
19. Nasehi M, Piri M, Nouri M, Farzin D, Nayer-Nouri T, Zarrindast MR. Involvement of dopamine D1/D2 receptors on harmane-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. *European Journal of Pharmacology* 2010; 634 (1-3): 77-83.
20. Yoon JW, Kang JK, Lee KR, Lee HW, Han JW, Seo DW. Beta-Carboline alkaloid suppresses NF-kappaB transcriptional activity through inhibition of IKK signaling pathway. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2005; 68 (23-24): 2005-17.
21. Cooke RM, Mistry R, Challiss RA, Straub VA. Nitric oxide synthesis and cGMP production is important for neurite growth and synapse remodeling after axotomy. *Journal of Neuroscience*. 2013; 33 (13): 5626-37.
22. Nasehi M, Piri M, Jamali-Raeufy N, Zarrindast MR. Influence of intracerebral administration of NO agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Physiology and Behavior*. 2010; 100 (4): 297-304.



## The effect of chronic administration of norharmane on spatial memory in intracerebroventricular streptozotocin rat model of Alzheimer's disease

Sedighe Tavakoli<sup>1</sup>, Mohammad Hossein Esmaeili<sup>2\*</sup>, Maryam Benanj<sup>1</sup>

1. Department of Biology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran
2. Department of Physiology, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

E-mail: esmail66@yahoo.com

### Abstract

**Background and Objective:** Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease worldwide. Present available pharmacological treatments can only slow down the progression of symptoms but can not treat the disease. It has been established that benzodiazepines and related agonists at the benzodiazepine site of GABA receptor present anxiolytic and amnesic properties, whereas inverse agonists such as  $\beta$ -carbolines, (norharmane) could exert anxiogenic and learning-enhancing actions. This finding has directed the focus of researches on the potential use of  $\beta$ -carbolines as anti-AD drug. The goal of the present study was to investigate the therapeutic efficacy of norharmane on spatial memory of streptozotocin (STZ) rat model of AD.

**Materials and Methods:** In this study, 48 male Wistar rats were divided into control, STZ, STZ+ alcohol and STZ+ norharmane groups. Rats in alcohol and norharmane groups received alcohol (0.2 ml) or norharmane (1, 2, and 4 mg/kg, i.p.) for 4 days before training and for 6 days during training, 30 min before each session of experiment. For induction of AD, STZ (3 mg/kg, i.c.v, 10  $\mu$ l each) was administered bilaterally into lateral ventricles. All rats were tested for spatial memory in the Morris water maze.

**Results:** Pre-training injection of norharmane improved spatial memory at low doses (1 and 2 mg/kg) but attenuated spatial memory retention at high doses (4 mg/kg) in STZ rat model of AD. There was no significant difference between control and STZ+norharmane groups (2 mg/kg), whereas the difference between control and STZ +norharmane (1 and 4 mg/kg) groups were significant.

**Conclusion:** According to these findings, norharmane at low doses may be effective in the treatment of Alzheimer's disease by its ability to influence the GABAergic system.

**Keywords:** Norharmane, Alzheimer's disease, Spatial memory