

اثر نوبیلین بر عملکرد رفتاری در آزمون‌های بعلاوه‌ای شکل مرتفع و شنای اجباری در مدل تجربی بیماری آلزایمر القا شده با تزریق داخل هیپوکمپی آمیلوئید بتا در موش سفید بزرگ

نویسندگان: مرضیه فکور^۱، زهرا کیاسالاری^۲، ریحانه قاسمی^۱، مریم خراسانی^۱،
صدیقه کشتکار^۱، مهرداد روغنی^{۲*}

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

E-mail: mehjour@yahoo.com

* نویسنده مسئول: مهرداد روغنی

چکیده

مقدمه و هدف: بیماری آلزایمر رایج‌ترین فرم بیماری زوال عقل است که به عنوان بیماری مزمن و سندرم پیش‌رونده در نظر گرفته شده که منجر به فقدان برگشت‌ناپذیر نورون‌ها بخصوص در ناحیه قشر و هیپوکمپ می‌شود. در این مطالعه اثر نوبیلین بر عملکرد رفتاری در آزمون‌های بعلاوه‌ای شکل مرتفع و شنای اجباری در مدل تجربی بیماری آلزایمر القا شده با تزریق داخل هیپوکمپی آمیلوئید بتا در موش بزرگ نر آزمایشگاهی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق ۳۲ موش سفید بزرگ نر انتخاب و به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شد. این چهار گروه عبارت بود از: گروه شم، گروه شم دریافت‌کننده نوبیلین که دارو را به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از یک ساعت بعد از جراحی تا یک هفته بعد آن به طور روزانه و به شکل خوراکی دریافت کرد. گروه آمیلوئید بتا که در این گروه برای ایجاد مدل بیماری آلزایمر، ماده $A\beta(1-40)$ با دوز $2\text{nanomol}/2\mu\text{l}$ به درون ناحیه هیپوکامپ پشتی بصورت دوطرفه تزریق شد. همچنین از آزمون‌های بعلاوه‌ای شکل مرتفع و شنای اجباری جهت سنجش عملکرد استفاده گردید.

نتایج: بررسی عملکرد حیوانات در آزمون بعلاوه‌ای شکل مرتفع نشان داد که در گروه آمیلوئید بتا دریافت‌کننده نوبیلین یک افزایش معنی دار زمان باقی ماندن در بازوی باز نسبت به گروه آمیلوئید بتا ($P<0.05$) دارد. بعلاوه، در آزمون شنای اجباری نیز میزان عملکرد در گروه آمیلوئید بتا دریافت‌کننده نوبیلین نسبت به گروه آمیلوئید بتا کاهش غیر معنی دار نشان داد.

نتیجه‌گیری: در مطالعه اخیر بطور خلاصه مشخص شد تجویز خوراکی نوبیلین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش اضطراب می‌شود ولی بر افسردگی تأثیر معنی‌داری ندارد.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر، آمیلوئید بتا، اضطراب، افسردگی، نوبیلین، مان بعلاوه‌ای شکل مرتفع، آزمون شنای اجباری

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وهفتم - شماره ۱۴۱
تیر ۱۳۹۸

دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۲۸
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۸/۰۳/۱۲
پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۲

مقدمه

بیماری آلزایمر اختلال پیش‌رونده و غیرقابل بازگشت مغز است که به کندی، حافظه، مهارت‌های ذهنی و یا فکری و بالاخره توانایی انجام کارهای ساده را مختل می‌کند. علائم بیماری شامل فقدان حافظه^۱، مشکلات کلامی^۲ و رفتارهای غیرقابل پیش‌بینی است. بیماری آلزایمر در چند مرحله پیشرفت می‌کند: خفیف^۳ یا (مرحله اولیه^۴)، متوسط^۵ و شدید^۶ یا (مرحله پایانی^۷). از علائم بیماری در مرحله متوسط اضطراب بوده و بیمار در مرحله شدید دچار حزن و اندوه و افسردگی شدید می‌شود. علائم فردی اضطراب (مثلاً تنش، بی‌حوصلگی، تحریک‌پذیری، ترس از تنهایی) در ۲۲٪ تا ۸۱٪ افراد مبتلا در بیماری آلزایمر شایع است. اختلالات اضطرابی نیز می‌تواند به بیماری آلزایمر منجر شود. یک مطالعه جدید نشان داده است که افزایش علائم اضطراب و افسردگی ممکن است به افزایش پروتئین آمیلوئید بتا، نشانه مشخصه بیماری آلزایمر مرتبط باشد منجر گردد (۱-۴).

از عوامل پاتولوژیک این بیماری تجمع پپتیدهای آمیلوئید بتا در اطراف سلول‌های مغزی و نوروفیلامنت‌های نوروفیبریلاری، آمیلوئید بتا در درون سلول‌های مغزی است. نتیجه نقص در خانواده آنزیمی سكرتازها و برش ناقص، ایجاد (APP) پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا می‌شود. پلاک‌های آمیلوئیدی با استفاده از مکانیسمی که هنوز مشخص نیست سبب از بین رفتن فعالیت سیناپسی، ایجاد التهاب، واکنش‌های اکسیداتیو و کاهش نورونی در نواحی مختلف مغز می‌شود و از مهم‌ترین عوامل دخیل در ایجاد بیماری آلزایمر است در نتیجه این کاهش نورونی یادگیری و حافظه دچار اختلال می‌شود، در این خصوص یکی از نواحی درگیر در حافظه

که دچار اختلال در عملکرد آن می‌شود هیپوکمپ است. هیپوکمپ وظیفه پردازش اطلاعات اولیه برای شکل‌دهی و ایجاد حافظه را بر عهده دارد (۵-۷). تحقیقات نشان داده است که تزریق آمیلوئید بتا درون هیپوکمپ مغز سبب اختلال در یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی و بروز نورودژنراسیون و اختلال در عملکرد نورونی می‌شود، پاک‌سازی نواحی مختلف مغز از حضور آمیلوئید بتا می‌تواند در بهبود بیماری آلزایمر نقش به‌سزایی ایفا کند، مکانیسم‌های مختلفی برای حذف آمیلوئید بتا وجود دارد (۸، ۹).

امروزه گیاهان دارویی به دلیل داشتن اثرات متعدد و عوارض جانبی کمتر توجه جوامع بشری را برای درمان بیماری‌ها به خود جلب کرده است. نوبیلترین یکی از اعضای خانواده پلی‌متوکسی‌فلاون است که در پوست مرکبات بخصوص نارنگی دیده می‌شود. تحقیقات مختلف نشان داده است که نوبیلترین موجب بهبود نقصان حافظه ناشی از القای پیش‌ساز پروتئین آمیلوئید (APP) در موش می‌گردد. همچنین استفاده از نوبیلترین پلاک‌های آمیلوئید بتا در هیپوکمپ موش را کاهش می‌دهد (۱۰-۱۴). در این مطالعه اثر نوبیلترین بر عملکرد رفتاری در آزمون‌های بعلاوه‌ای شکل مرتفع و شنای اجباری در مدل تجربی بیماری آلزایمر القا شده با تزریق داخل هیپوکمپی آمیلوئید بتا در موش صحرایی بررسی - گردید.

مواد و روش‌ها

حیوان‌ها

در این مطالعه از ۳۲ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات مذکور از حیوان‌خانه مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی خریداری شدند و در حیوان‌خانه گروه فیزیولوژی نگهداری شدند. در طول مدت مطالعه حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی طبیعی، در قفس‌های مخصوص نگهداری

1. Memory loss

2. Language difficulty

3. Mild

4. Early-stage

5. Moderate

6. Sever

7. Last-stage

موزر زدوده و سر حیوان به صورت متقارن در دستگاه استریوتکس قرار داده شد. با استفاده از میله‌های افقی مخصوص گوش‌ها که مجهز به پیچ قابل تنظیم هستند، سر در وضعیت کاملاً صاف ثابت گردید. دندان‌های نیش نیز با میله دندان‌بی حرکت شده، گیره ثابت نگهدارنده بینی محکم شد. چشم حیوان با گاز وازلین پوشانده شد. سر حیوان با بتادین ضد عفونی گردید. با تیغ بیستوری شماره ۱۱ برشی به طول تقریباً ۲ سانتی‌متر در خط وسط حد فاصل بین دو چشم و دو گوش ایجاد گردید. پس از جداسازی بافت و ضریع استخوان، نقطه برگما مشخص گردید. براساس اطلس آناتومی پاکسینوس و واتسون جهت تزریق آمیلوئید بتا در ناحیه CA₁ هیپوکمپ دو سوراخ متقارن به کمک مینی‌دریل در سطح مجمله به مختصات ۳/۵ میلی‌متر خلف برگما، ±۲ میلی‌متر طرفین خط وسط ایجاد شد.

برای تهیه محلول حاوی آمیلوئید بتا ۱-۴۰ با غلظت ۵/۵ μg/μl ابتدا ویال حاوی یک میلی‌گرم پپتید آمیلوئید بتا ۱-۴۰ در ۱۸۱/۵ میکرولیتر حلال فسفات بافرسالین حل گردید، سپس در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در بن ماری به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد تا فیبریل تشکیل گردد. به جهت استفاده، محلول مذکور به صورت دوزهای منقسم در میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری پوشیده با فویل آلومینیوم در دمای ۲۰- نگهداری گردید. برای القای بیماری آلزایمر با استفاده از سرنگ همیلتون (G=26) محلول مذکور با حجم ۲ میکرولیتر، ۲/۸ میلی‌متر پایین‌تر از سطح سخت شامه به صورت دوطرفه به آهستگی طی ۳ دقیقه تزریق گردید. (مجموعاً ۲۲ میکروگرم آمیلوئید بتا در ۴ میکرولیتر فسفات بافر سالین برای هر حیوان). به منظور حداکثر توزیع بافتی محلول، سرنگ به مدت ۲ دقیقه پس از اتمام تزریق در محل باقی‌مانده سپس به آهستگی خارج شد.

در گروه شم طبق مختصات و شیوه‌ها و حجم‌های ذکر شده صرفاً فسفات بافر سالین تزریق گردید. پس از اتمام فرآیند جراحی پوست سر با نخ سیلک ۳ صفر بخیه شده و سطح پوست آغشته به پماد تتراسایکلین

حیوانات آزمایشگاهی از جنس پلاستیک شفاف و در دمای تقریبی ۲۲ تا ۲۴ درجه سلسیوس و با دسترسی کافی و آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. تمامی آزمایش‌ها بر اساس دستورالعمل‌های جهانی نگهداری حیوانات آزمایشگاهی و بین ساعات ۸ صبح تا ۴ بعدازظهر انجام گردید.

گروه‌های مورد مطالعه

در این تحقیق حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند که عبارتند از:

۱- گروه شم: در این گروه موش‌های سالمی قرار داشتند که بر روی آن‌ها جراحی استریوتاکسیک با تزریق داخل مغزی نرمال سالین انجام شد.

۲- گروه شم دریافت‌کننده نوبیلتین: که دارو را به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از یک ساعت بعد از جراحی تا یک هفته بعد آن به طور روزانه و به شکل خوراکی دریافت تجویز شد.

۳- گروه آمیلوئید بتا: در این گروه برای ایجاد مدل بیماری آلزایمر، ماده Aβ(1-40) با دوز 2 nanomol/2μl به درون ناحیه هیپوکامپ پشتی بصورت دوطرفه تزریق شد. تزریق بدین صورت انجام گردید که به هر طرف از مغز با مختصات Lateral: ±2، Anteroposterior: -3.5 و Deep: -2.8، 5μl از Aβ با غلظت ذکر شده تزریق شد.

۴- گروه آمیلوئید بتا دریافت‌کننده نوبیلتین: که دارو را به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از یک ساعت بعد از جراحی تا یک هفته بعد آن به طور روزانه و به شکل خوراکی تجویز شد.

روش‌ها

در مطالعه حاضر ابتدا با تزریق مستقیم پپتید آمیلوئید بتا ۱-۴۰ اختصاصی موش به ناحیه یک شاخ آمون (CA₁) در هیپوکمپ به ایجاد مدل حیوانی بیماری آلزایمر مبادرت شد.

پس از اندازه‌گیری وزن و القای بیهوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلازین (۱۰mg/kg) صورت گرفت. سپس موهای سر حد فاصل نوک بینی تا پشت گردن با ماشین اصلاح

اضطراب در این تست است. البته عامل درصد ورود به بازوی باز نسبت به فاکتور درصد زمان حضور در (OAE%) در ثبت رفتارهای اضطرابی و (OAT%) بازوی باز ضد اضطرابی حیوان دارای حساسیت کمتری است.

آزمون شنای اجباری

آزمون شنای اجباری (FST) یکی از معتبرترین و رایج‌ترین آزمون‌ها جهت بررسی افسردگی در جوندگان است. بر اساس نظریه درماندگی آموخته شده مارتین سلیگمن در صورتی که حیوان در معرض استرس مداوم قرار گیرد و راه‌گریزی از آن نداشته باشد، رفته رفته امید به گریز را از دست داده و تحرک و فعالیت خود را متوقف می‌کند و درمانده و بی‌حرکت می‌گردد. روش آزمایش به این صورت است که ظرفی استوانه‌ای از جنس شیشه آکرلیک به قطر ۴۵ و ارتفاع ۷۹ سانتی‌متر تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر از آب ۲۳ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد پر شده و حیوان به آرامی در آن قرار داده می‌شود. زمان این آزمون ۵ دقیقه است و رفتار موش در این مدت ثبت می‌شود. به طور قراردادی قطع حرکات دست و پای موش و شناور شدن آن به عنوان بی‌حرکت و مدت آن را به عنوان زمان بی‌حرکتی در نظر می‌گیرند. ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمون جهت کسب تجربه شنا کردن اجباری، حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در آب قرار داده می‌شود. همان‌طور که ذکر شد این آزمون بازتاب دهنده یک مرحله از یأس رفتاری در افسردگی است، به گونه‌ای که موش‌های افسرده که امید کمتری دارند مدت زمان بی‌حرکتی بیشتری نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند. تحقیق حاضر نشان داده که استفاده از نوبیلیتین مدت زمان بی‌حرکتی را کاهش داده است.

نتایج

آزمون بعلاوه‌ای شکل مرتفع

نمودار ۱ نتایج عملکرد موش‌های بزرگ آزمایشگاهی در آزمون بعلاوه‌ای شکل مرتفع در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد در این رابطه میزان اضطراب در مورد موش‌ها محاسبه گردیده، در این خصوص گروه شم

گردید. در نهایت حیوانات تا بیداری کامل به قفس‌های انفرادی و سپس به قفس‌های گروهی جهت طی کردن دوره بهبودی انتقال داده شدند.

آزمون‌های رفتاری

آزمون بعلاوه ای شکل مرتفع

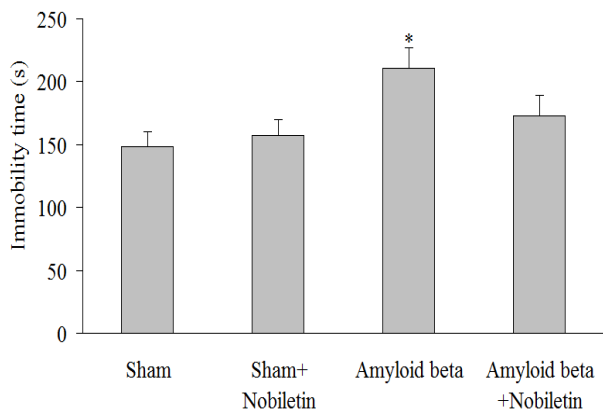
برای سنجش اضطراب از مدل رفتاری ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع استفاده شد. این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو، به شکل علامت بعلاوه (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته ۱۰×۵۰ است؛ که در دو طرف و انتهای بازوی بسته دیوارهایی به بلندی ۴۰ سانتی‌متری قرار دارند. برای جلوگیری از سقوط موش‌های صحرائی، در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه‌هایی به ارتفاع یک سانتی‌متر از جنس شیشه تعبیه شده است چهار بازو به یک محدوده مرکزی به ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی‌متر منتهی می‌شوند. ماز بوسیله پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر از سطح زمین قرار می‌گیرد. موش‌ها درون محدوده مرکزی و رو به یک بازوی باز قرار می‌گرفتند. در مدت ۵ دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت می‌کرد چهار پارامتر به روش مشاهده اندازه‌گیری می‌شد: تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی باز می‌شد، تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می‌شد، مدت زمانی که حیوان در بازوی بسته می‌ماند، مدت زمانی که حیوان در بازوی باز می‌ماند، منظور از بازوی باز یا بسته قرار گرفتن هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر است. مدت زمان ماندن در هر بازو نیز بر همین اساس محاسبه شده است. برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز (Open Arm Entries (%OAE)) و درصد زمان ماندن در بازوی باز (Open Arm Times (% OAT)) به طریق زیر محاسبه شد.

$$\text{درصد ورود به بازوی باز} = \frac{\text{تعداد ورود به بازوی باز}}{\text{تعداد ورود به بازوی بسته} + \text{تعداد ورود به بازوی باز}} \times 100$$

$$\text{درصد ماندن در بازوی باز} = \frac{\text{تعداد ورود به بازوی باز}}{\text{مدت ماندن در بازوی بسته} + \text{مدت ماندن در بازوی باز}} \times 100$$

افزایش معنادار این دو پارامتر نشان‌دهنده کاهش

افسردگی در مقایسه با شم به دست آمده است.

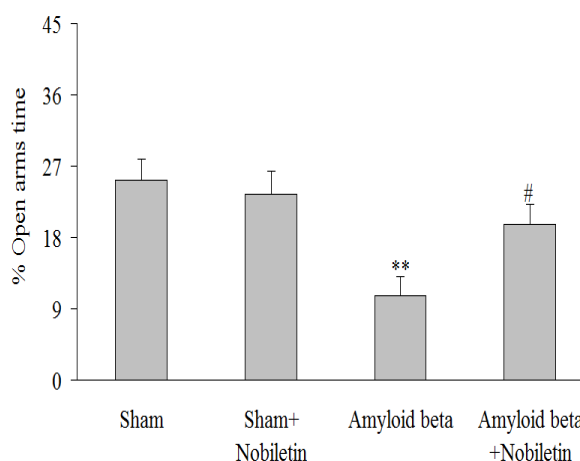


نمودار ۲. میزان افسردگی در آزمون شنای اجباری شکل مرتفع در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. $A\beta_{1-40}$ به فرم دوطرفه به روش استریوتاکسیک به داخل هیپوکمپ تزریق شد. نوبیلتین به صورت خوراکی از یک ساعت بعد جراحی تا یک هفته داده شد. ($P < 0.05$ در مقایسه با گروه شم)

بحث

در این مطالعه اثر نوبیلتین بر عملکرد رفتاری در آزمون‌های بعلاوه‌ای شکل مرتفع و شنای اجباری در مدل تجربی بیماری آلزایمر القا شده با تزریق داخل هیپوکمپی آمیلوئید بتا در موش صحرایی بررسی شده است. همانطور که در مقدمه ذکر شد پلاک‌های آمیلوئیدی و کلاف‌های رشته‌ای داخل نرونی دو نشانه اصلی بیماری آلزایمر است. مطالعات مختلف نشان داده است افسردگی و اضطراب می‌توانند شاخص‌هایی برای ابتلا به بیماری آلزایمر باشند زیرا علائم این وضعیت‌های سلامت روانی اغلب در مراحل اولیه این بیماری بروز می‌کند (۱۵-۱۷). استرس، پاتوژن‌های مربوط به بیماری آلزایمر را در محیط‌های تجربی بطور گسترده و متنوع افزایش می‌دهد (۱۵-۱۷). در یک تحقیق موش‌های بزرگ آزمایشگاهی و موش‌های کوچک آزمایشگاهی را که در معرض استرس قرار دادند بعد از آن افزایش سطح پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا (APP) و افزایش سطح

دریافت کننده نوبیلتین افزایش مختصر و غیر معنی‌دار از نظر میزان اضطراب در مقایسه با گروه شم مشاهده شد. در گروه آمیلوئید بتا یک افزایش بارز و معنی‌دار ($P < 0.001$) در مورد میزان اضطراب در مقایسه با گروه شم بدست آمد. در گروه آمیلوئید بتا دریافت کننده نوبیلتین یک کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) در مورد میزان اضطراب در مقایسه با گروه آمیلوئید بتا بدست آمده است.



نمودار ۱. میزان اضطراب در آزمون بعلاوه‌ای شکل مرتفع در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. $A\beta_{1-40}$ به فرم دوطرفه به روش استریوتاکسیک به داخل هیپوکمپ تزریق شد. نوبیلتین به صورت خوراکی از یک ساعت بعد جراحی تا یک هفته داده شد.

$P < 0.001$ ** (در مقایسه با گروه شم)

$P < 0.05$ # (در مقایسه با گروه آمیلوئید بتا)

آزمون شنای اجباری

نمودار ۲ نتایج عملکرد موش‌های بزرگ آزمایشگاهی در آزمون شنای اجباری در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد در این رابطه میزان افسردگی در مورد موش‌ها محاسبه گردیده، در این خصوص گروه شم دریافت کننده نوبیلتین افزایش مختصر و غیر معنی‌دار از نظر میزان افسردگی در مقایسه با گروه شم مشاهده شد.

در گروه آمیلوئید بتا یک افزایش بارز و معنی‌دار ($P < 0.001$) در مورد میزان افسردگی در مقایسه با گروه شم به دست آمد. در گروه آمیلوئید بتا دریافت کننده نوبیلتین یک کاهش غیر معنی‌دار در مورد میزان

پتید آمیلوئید بتا در مایع مغزی-نخاعی مشاهده کردند. در تحقیقی نشان داده‌اند که استرس مزمن و حاد هر دو باعث افزایش پلاک‌های آمیلوئیدی که خود نشانه بیماری آلزایمر است، می‌شود (۱۸-۲۰).

محققان در یک مطالعه افراد مسن ۶۲ تا ۹۰ ساله را که عملکرد شناختی عادی داشتند، مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها به منظور تعیین سطح آمیلوئید بتا در مغز این افراد، تمامی آنها را در ابتدای این مطالعه و سالانه در طول یک پیگیری ۵ ساله تحت توموگرافی انتشار پوزیترون قرار دادند. این مطالعه نشان داد، افراد مسنی که در طول این ۵ سال پیگیری افزایش سطح اضطراب داشتند از سطوح آمیلوئید بتا بالاتری نیز در مغز خود برخوردار بودند. محققان می‌گویند: این موضوع نشان می‌دهد که بدتر شدن اضطراب می‌تواند علامت اولیه ابتلا به بیماری آلزایمر باشد (۲۱). محققان در رابطه با تحقیقی درباره فرآیند التهابی بیماری آلزایمر اعلام کردند تحت شرایط خاص مانند استرس‌های مزمن، تجمع آستروسیتی ایجاد شده باعث پیشرفت التهاب عصبی و سمیت نورونی ناشی از نیتریک اکساید^۱ می‌شود. همچنین آستروسیت‌ها در پاسخ به استرس‌های مزمن، بتا-سکرتاز را بیان کرده و می‌توانند منشأ تشکیل آمیلوئید بتا باشند (۲۲-۲۴). در تحقیقی دیگر مشخص شد که افسردگی یکی از رایج‌ترین اختلالات روانی-عصبی بیماری آلزایمر است (۲۵). نتیجه این مطالعه با تحقیق ما همخوانی دارد. در این مطالعه ما از آمیلوئید بتا $A\beta_{(1-40)}$ به صورت تزریق دوطرفه در هیپوکامپ استفاده نموده و مشاهده کردیم که این ماده می‌تواند باعث آسیب به حافظه و یادگیری شود به عبارت دیگر نتایج آزمون بعلاوه‌ای شکل مرتفع که نشان می‌دهد که میزان اضطراب در گروه دریافت کننده آمیلوئید بتا نسبت به گروه شم افزایش معنی‌داری داشته است. همچنین آزمون شنای اجباری میزان افسردگی نیز در گروه دریافت کننده آمیلوئید بتا افزایش معنی‌داری دارد.

کشف روش‌های درمانی موفق و مؤثر و همچنین

پیشگیرانه در این بیماری ضروری و مورد نیاز است. برخی محققین زمانی که در رابطه با منابع طبیعی که دارای فعالیت‌های دارویی ضد دمانس باشد، تحقیق می‌کردند نوبیلترین را شناسایی کردند که یک فلانوئید پلی‌متوکسیلات از پوست میوه مرکبات است نوبیلترین یکی از اعضای خانواده پلی‌متوکسی فلاون است که در پوست مرکبات بخصوص نارنگی دیده می‌شود. نوبیلترین اثرات ضد قارچی دارد. اثرات ضد التهابی نیز دارد و بطور قابل توجهی میزان کلاسترول را در موش‌های آزمایشگاهی کاهش می‌دهد (۲۶، ۲۷). محققان شواهدی را ارائه می‌دهند که نشان می‌دهد نوبیلترین باعث بهبود اختلال شناختی و کاهش سطح آمیلوئید بتا محلول در موش مدل تریپل ترنسژنیک با بیماری آلزایمر (3XTg-AD) شده است که در آن پلاک‌های آمیلوئید، نوروفیلاری تنگلز و اختلالات شناختی افزایش پیش‌رونده‌ای داشته است. همچنین آن‌ها اعلام کردند درمان با نوبیلترین باعث بهبود حافظه کوتاه‌مدت و حافظه شناختی موش‌های ترنسژنیک شده است (۱۲). در تحقیقی دیگر محققان شواهدی را ارائه دادند که این ترکیب طبیعی اختلال شناختی وابسته به پیری را بهتر کرده و همچنین استرس اکسیداتیو، فسفریلاسیون پروتئین تائو را در موش SAMP 8 کاهش می‌دهد (۲۸). درمان نوبیلترین (۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن) اختلال حافظه تشخیصی و حافظه ترس وابسته به محیط در موش SAMP 8 بهتر می‌کند درمان با نوبیلترین کاهش نسبت GSH به GSSG را در مغز موش SAMP 8 به حالت سابق برمی‌گرداند. علاوه بر این فعالیت گلوکوتایون پر اکسیداز و منگنز-سوپر اکسید دسموتاز را افزایش می‌دهد؛ و کاهش در سطح کربونیل پروتئین در مغز موشی که با نوبیلترین درمان شده است نیز مشاهده کردند (۲۸).

در مطالعه اخیر، نتایج آزمون بعلاوه‌ای شکل مرتفع نشان می‌دهد که میزان اضطراب در گروه آمیلوئید بتا دریافت کننده نوبیلترین نسبت به گروه آمیلوئید بتا کاهش معنی‌داری داشته ولی نسبت به گروه شم افزایش داشته

¹. Nitric oxide(NO)

سپاسگزاری

پژوهش حاضر حاصل پایان‌نامه دانشجویی مرضیه فکور مصوب معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۶ است و با حمایت مالی این دانشگاه به انجام رسیده است که بدینوسیله از این معاونت تشکر می‌گردد.

تعارض در منافع

وجود ندارد.

منابع

1. Canet G, Chevallier N, Zussy C, Desrumaux C, Givalois L. Central Role of Glucocorticoid Receptors in Alzheimer's Disease and Depression. *Frontiers in Neuroscience* 2018;12:739.
2. Paroni G, Panza F, De Cosmo S, Greco A, Seripa D, Mazzocchi G. Klotho at the Edge of Alzheimer's Disease and Senile Depression. *Molecular Neurobiology* 2019;56(3):1908-20.
3. Ross JA, Gliebus G, Van Bockstaele EJ. Stress induced neural reorganization: A conceptual framework linking depression and Alzheimer's disease. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2018;85:136-51.
4. Tu CH, MacDonald I, Chen YH. The Effects of Acupuncture on Glutamatergic Neurotransmission in Depression, Anxiety, Schizophrenia, and Alzheimer's Disease: A Review of the Literature. *Frontiers in Psychiatry* 2019;10:14.
5. Bi C, Bi S, Li B. Processing of Mutant beta-Amyloid Precursor Protein and the Clinicopathological Features of Familial Alzheimer's Disease. *Aging and Disease* 2019;10(2):383-403.
6. Castellani RJ, Plascencia-Villa G, Perry G. The amyloid cascade and Alzheimer's disease therapeutics: theory versus observation. *Laboratory Investigation* 2019, in press.
7. Tan JZA, Gleeson PA. The role of membrane trafficking in the processing of amyloid precursor protein and production of amyloid peptides in Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica acta. Biomembranes* 2019;1861(4):697-712.
8. Silva MVF, Loures CMG, Alves LCV, de Souza LC, Borges KBG, Carvalho MDG. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. *Journal of Biomedical Science* 2019;26(1):33.
9. Tsuda L, Lim YM. Alzheimer's Disease Model System Using *Drosophila*. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2018;1076:25-40.
10. Kimura J, Shimizu K, Kajima K, Yokosuka A, Mimaki Y, Oku N, et al. Nobiletin Reduces Intracellular and Extracellular beta-Amyloid in iPS Cell-Derived Alzheimer's Disease Model Neurons. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2018;41(4):451-7.
11. Matsuzaki K, Yamakuni T, Hashimoto M, Haque AM, Shido O, Mimaki Y, et al. Nobiletin restoring beta-amyloid-impaired CREB phosphorylation rescues memory deterioration in Alzheimer's disease model rats. *Neuroscience Letters* 2006;400(3):230-4.
12. Nakajima A, Aoyama Y, Shin EJ, Nam Y, Kim HC, Nagai T, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid, improves cognitive impairment and reduces soluble Abeta levels in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease (3XTg-AD). *Behavioural Brain Research* 2015;289:69-77.
13. Onozuka H, Nakajima A, Matsuzaki K, Shin RW, Ogino K, Saigusa D, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid, improves memory impairment and Abeta pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2008;326(3):739-44.
14. Seki T, Kamiya T, Furukawa K, Azumi M, Ishizuka S, Takayama S, et al. Nobiletin-rich Citrus reticulata peels, a kampo medicine for Alzheimer's disease: a case series. *Geriatrics & Gerontology International* 2013;13(1):236-8.
15. Chakraborty S, Lennon JC, Malkaram SA, Zeng Y, Fisher DW, Dong H. Serotonergic system, cognition, and BPSD in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters* 2019;704:36-44.

16. Cummings J, Lai TJ, Hemrungronj S, Mohandas E, Yun Kim S, Nair G, et al. Role of Donepezil in the Management of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease and Dementia with Lewy Bodies. *CNS Neuroscience & Therapeutics* 2016;22(3):159-66.
17. Victoroff J, Lin FV, Coburn KL, Shillcutt SD, Voon V, Ducharme S. Noncognitive Behavioral Changes Associated With Alzheimer's Disease: Implications of Neuroimaging Findings. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 2018;30(1):14-21.
18. Jan AT, Azam M, Rahman S, Almigeiti AMS, Choi DH, Lee EJ, et al. Perspective Insights into Disease Progression, Diagnostics, and Therapeutic Approaches in Alzheimer's Disease: A Judicious Update. *Frontiers in Aging Neuroscience* 2017;9:356.
19. Marszalek M. Alzheimer's disease against peptides products of enzymatic cleavage of APP protein. Forming and variety of fibrillating peptides - some aspects. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczonej (Online)* 2016;70(0):787-96.
20. Marszalek M. Alzheimer's disease against peptides products of enzymatic cleavage APP protein: Biological, pathobiological and physico-chemical properties of fibrillating peptides. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczonej (Online)* 2017;71(0):398-410.
21. Ewers M, Mattsson N, Minthon L, Molinuevo JL, Antonell A, Popp J, et al. CSF biomarkers for the differential diagnosis of Alzheimer's disease: A large-scale international multicenter study. *Alzheimer's & Dementia* 2015;11(11):1306-15.
22. Elfakhri KH, Abdallah IM, Brannen AD, Kaddoumi A. Multi-faceted therapeutic strategy for treatment of Alzheimer's disease by concurrent administration of etodolac and alpha-tocopherol. *Neurobiology of Disease* 2019;125:123-34.
23. Marttinen M, Takalo M, Natunen T, Wittrahm R, Gabbouj S, Kemppainen S, et al. Molecular Mechanisms of Synaptotoxicity and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience* 2018;12:963.
24. Zhang X, Lao K, Qiu Z, Rahman MS, Zhang Y, Gou X. Potential Astrocytic Receptors and Transporters in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 2019;67(4):1109-22.
25. Elsworth RJ, Aldred S. Depression in Alzheimer's Disease: An Alternative Role for Selective Serotonin Reuptake Inhibitors? *Journal of Alzheimer's Disease* 2019, in press.
26. Braidy N, Behzad S, Habtemariam S, Ahmed T, Daglia M, Nabavi SM, et al. Neuroprotective Effects of Citrus Fruit-Derived Flavonoids, Nobiletin and Tangeretin in Alzheimer's and Parkinson's Disease. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets* 2017;16(4):387-97.
27. Huang H, Li L, Shi W, Liu H, Yang J, Yuan X, et al. The Multifunctional Effects of Nobiletin and Its Metabolites In Vivo and In Vitro. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2016;2016:2918796.
28. Nakajima A, Aoyama Y, Nguyen TT, Shin EJ, Kim HC, Yamada S, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid, ameliorates cognitive impairment, oxidative burden, and hyperphosphorylation of tau in senescence-accelerated mouse. *Behavioural Brain Research* 2013;250:351-60.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
27th Year, No.141
June- July 2019*

Received: 17/04/2019

Last revised: 02/06/2019

Accepted: 12/06/2019

The effect of nobiletin on behavioral function in elevated plus maze and forced swimming tests in intrahippocampal amyloid beta-induced model of Alzheimer's disease in the rat

Marzieh Fakour¹, Zahra Kiasalari², Reihane Ghasemi¹, Maryam Khorasani¹, Sedigheh Keshtkar¹, Mehrdad Roghani^{2*}

1. Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.
2. Neurophysiology Research Center, Department of Physiology, Shahed University, Tehran, Iran.

* Corresponding author e-mail: mehjour@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia that is considered a chronic and progressive syndrome, that leads to the irreversible loss of neurons, particularly in the cortex and hippocampus. In this study, we considered whether nobiletin has any effect on behavioral function in elevated plus maze and forced swimming tests in amyloid beta-induced model of AD in the rat.

Materials and Methods: 32 male rats were randomly divided into four groups as follows: group A (sham), group B (sham+nobiletin), which were administrated nobiletin (10 mg/kg) daily one hour after surgery for one week via gavage, group C (A β): which amyloid β_{1-40} (2 nanomol/2 μ l) was injected into the hippocampal region (CA1) bilaterally, and group D (A β + nobiletin), which was also administrated nobiletin (10 mg/kg). Furthermore, two behavioral tests including elevated plus maze and forced swimming tests were used to assess performance.

Results: Analysis of performance in elevated plus maze showed a significant increase in open arm time in nobiletin-treated A β group versus A β group ($p < 0.05$). In addition, performance in forced swimming test showed a non-significant decrease in nobiletin-treated A β group versus A β group.

Conclusion: Taken together, these findings suggest that nobiletin could reduce anxiety in amyloid beta-induced model of AD in the rat with no significant effect on depression.

Keywords: Alzheimer's disease, Amyloid beta, Anxiety and depression, Nobiletin, Elevated plus maze, Forced swimming test