



اثر حفاظتی آگماتین در برابر اختلال حافظه ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین داخل بطنی در موش‌های صحرایی نر

یعقوب فربود^۱، امیرحسین ظریف‌کار^۱، مهین دیانت^۱، علیرضا سرکاکي^۱، مریم موسوی^{۲*}

۱- دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز- دانشکده پزشکی- مرکز تحقیقات فیزیولوژی- گروه فیزیولوژی- استادیار.

۲- دانشگاه علوم پزشکی شیراز- و مرکز تحقیقات علوم اعصاب- گروه فیزیولوژی- استادیار.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۱۸، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۱۲

چکیده

مقدمه: تجویز استرپتوزوتوسین به صورت داخل بطنی موجب اختلال یادگیری و حافظه می‌شود. مکانیسم‌های مختلفی مانند استرس اکسیداتیو و اختلال سیگنالینگ انسولین برای این اختلال حافظه مطرح شده است. با توجه به اینکه تغییرات فوق در بیماری آلزایمر نیز رخ می‌دهد این مدل جهت بررسی بیماری آلزایمر به صورت وسیعی استفاده می‌شود. آگماتین پلی‌آمین است که از دکربوکسیلاسیون ال- آرژینین مشتق می‌شود. اخیراً نقش حفاظت‌گر نورونی برای این شناسایی شده است. لذا در این مطالعه اثر حفاظتی آگماتین در برابر اختلال حافظه ناشی از استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: رت‌های نر از نژاد *Sprague Dawley* در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم در این مطالعه استفاده شدند. ابتدا کانول‌هایی به صورت دو طرفه در بطن جانبی جای‌گذاری شد. سپس استرپتوزوتوسین در روزهای ۱ و ۳ با دوز ۳ mg/kg در دو دوز منقسم تزریق گردید. تزریق درون صفاقی آگماتین نیز با دوزهای ۴۰ و ۸۰ از روز ۴ تا روز ۱۴ به صورت یک در میان انجام شد. همچنین توانایی یادگیری و حافظه در روز ۱۵ تا ۱۸ به وسیله ماز آبی موریس ارزیابی شد. رت‌ها در ۳ روز اول آموزش دیدند و در روز چهارم آزمون پروب انجام شد. همچنین به منظور بررسی اثر داروها بر انگیزش یا هماهنگی حسی حرکتی، پس از آزمون، آزمون سکوی آشکار نیز انجام شد.

نتایج: نتایج نشان دادند که آگماتین با دوز ۸۰ mg/kg و نه ۴۰ mg/kg از اختلال یادگیری و حافظه ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین در ماز آبی موریس جلوگیری می‌کند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که آگماتین می‌تواند در اختلالات یادگیری و حافظه ناشی از جمله در بیماری آلزایمر سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: استرپتوزوتوسین، آگماتین، یادگیری، حافظه، ماز آبی موریس، موش صحرایی.

*نویسنده مسئول: شیراز- دانشگاه علوم پزشکی شیراز- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، تلفن: ۰۷۱۱-۲۳۰۲۰۲۶، نمابر: ۰۷۱۱-۲۳۰۲۰۲۶، Email: marmoosavi@sums.ac.ir

ارجاع: فربود یعقوب، ظریف‌کار امیرحسین، دیانت مهین، سرکاکي علیرضا، موسوی مریم. اثر حفاظتی آگماتین در برابر اختلال حافظه ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین داخل بطنی در موش‌های صحرایی نر. مجله دانش و تندرستی ۱۳۹۳؛ ۹(۳): ۷۰-۷۶.

مقدمه

بیماری آلزایمر یک اختلال نورودژنراتیو شایع که به وسیله از دست رفتن پیشرونده حافظه مشخص می‌شود. این بیماری دارای دو فرم است. فرم فامیلیال که نادرتر است و در نتیجه بعضی از جهش‌های ژنتیکی است و فرم اسپورادیک که علت آن هنوز به طور کامل مشخص نیست (۱). در سال ۱۹۹۸ هایلر پیشنهاد داد که اختلال در سیگنالینگ انسولین در پاتولوژی بیماری آلزایمر اسپورادیک درگیر است، بر همین اساس این بیماری دیابت نوع ۳ نام گرفت. این فرضیه منجر به توسعه یک مدل حیوانی با تزریق مرکزی STZ شد (۲). علی‌رغم اینکه تزریق سیستمیک STZ در دوزهای بالا سبب تخریب جزایر لانگرهانس می‌شود، در دوزهای پایین (ساب دیابتوژنیک) سبب مقاومت به انسولین به وسیله اختلال در سیگنالینگ انسولین می‌شود (۳). این یافته‌ها باعث شد که محققان با تزریق STZ در دوزهای پایین برای ایجاد مقاومت به انسولین مرکزی و اختلال حافظه بدون اثرات سیستمیک استفاده کنند (۲ و ۴).

مطالعات نشان می‌دهند که تجویز مرکزی STZ موجب آسیب سیستم کولینرژیک مغز، استرس اکسیداتیو، مقاومت به انسولین و نقص در متابولیسم گلوکز و انرژی می‌شود، که این علائم شبیه تغییرات مشاهده شده در مراحل اولیه بیماری آلزایمر اسپورادیک است (۱). در این بین به نظر می‌رسد که علت اصلی فراموشی ناشی از STZ اثر بر سیگنالینگ انسولین است. ثابت شده که STZ سنتز انسولین و گیرنده انسولین را در مغز کاهش می‌دهد (۵).

STZ به دلیل شباهت ساختاری از طریق ترانسپورتر گلوکز (GLUT 2) وارد سلول می‌شود. طی متابولیسم STZ گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS) و گونه‌های واکنشی نیتروژن (RNS) تولید می‌شوند که موجب آپوپتوز می‌شوند (۶).

آگماتین یک آمین پلی‌کاتیونیک است که به وسیله دکربوکسیلاسیون L- آرژنین توسط آرژنین دکربوکسیلاز (ADC) سنتز می‌شود و به عنوان یک تعدیل‌کننده نورونی شناخته شده است. برای مدت زیادی آگماتین به عنوان یک واسطه در متابولیسم پلی‌آمین‌ها در باکتری‌های مختلف، گیاهان و تعدادی از بی‌مهرگان شناخته می‌شد (۷). بعد از آن آگماتین، آرژنین دکربوکسیلاز (ADC) و آگماتیناز (آنزیم متابولیزه‌کننده آگماتین) در بافت‌های پستانداران یافت شد (۸-۹). در مغز پستانداران آگماتین در بعضی از نواحی از جمله هیپوتالاموس، هیپوکامپ، قشر مغز، لوکوس سرلئوس، هسته‌های رافه و مغز قدامی بیان می‌شود (۱۰). گزارش شده که آگماتین دارای اثرات نورو پروتکتیو در برابر نورو تاکسیسیستی ناشی از MPTP (methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) (۱۱)، ایسکمی نخاع (۱۲)، تغییرات القاء شده

به وسیله محدودیت در مغز و اختلال حافظه ایجاد شده به وسیله LPS و اسکوپولامین دارد (۱۳ و ۱۴). علاوه بر این آگماتین دارای اثرات ضد افسردگی، ضد اضطراب، ضد تومور و ضد تشنج است (۱۰). با در نظر گرفتن اثرات تخریبی STZ بر حافظه و یادگیری و اثرات نوروپروتکتیو آگماتین، هدف این مطالعه بررسی اثر حفاظتی آگماتین در برابر اختلال حافظه ناشی از STZ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۴۰ رت از نژاد Sprague Dawley در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز حیوان خانه دانشگاه تهیه شد و به صورت تصادفی ساده در ۵ گروه قرار داده شد. این حیوانات آزمایشگاهی در شرایط استاندارد شامل ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با آب و غذای نامحدود قرار گرفتند و در کلیه مراحل پروژه ملاحظات اخلاقی طبق NIH guide و اصول اخلاقی کار با حیوانات تنظیم شده توسط دانشگاه علوم پزشکی اعمال گردید. داروهای استفاده شده شامل داروی استرپتوزتوسین (STZ) (Sigma-USA) و داروی آگماتین (Agmatine) (Sigma-USA) و حلال استفاده شده جهت هر دو دارو سالین می‌باشد.

حیوانات آزمایشگاهی توسط داروی بیهوشی کتامین ۱۰ درصد و زایلوزین ۲ درصد به صورت تزریق درون صفاقی (IP) بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکس موجود در آزمایشگاه اعصاب بخش فیزیولوژی قرار داده می‌شد و محل جراحی توسط محلول بتادین ضد عفونی و پس از باز کردن پوست سر و نمایان شدن جمجمه، مختصات دقیق بطن جانبی توسط جدول پاکسینوس مشخص شده (۰/۸ میلی‌متر به سمت خلفی برگما، ۱/۵ میلی‌متر فاصله از دو طرف خط ساژیتال و ۳/۵ میلی‌متر عمق نسبت به سطح جمجمه) سپس محل مورد نظر توسط دریل سوراخ گردید و کانول‌های از پیش تهیه شده با بتادین ضد عفونی و در محل سوراخ شده قرار گرفت. بعد از آن محل جراحی توسط سیمان دندانپزشکی پوشانده می‌شد به طوری که کانول‌ها در جای خود کاملاً فیکس می‌شدند (در کلیه مراحل کار سعی شد که خطر عفونت به حداقل برسد).

برای تزریق دارو از سرنگ همیلتون ۵ میکرولیتر که توسط یک لوله پلی‌اتیلن کوتاه که به سوزن تزریق متصل است استفاده شد. سوزن تزریق ۰/۵ میلی‌متر از نوک کانول جایگذاری شده در مغز رت بلندتر است. STZ (3mg/kg/5µl) یا سالین به صورت دو طرفه در دوزهای منقسم در روزهای ۱ و ۳ تزریق شد. بدین شکل که در هر بار تزریق میزان ۰/۷۵ میلی‌گرم STZ به هر طرف تجویز گردید. سرعت تزریق ۰/۵ میکرولیتر در دقیقه و سوزن بعد از تزریق ۵ دقیقه در کانول باقی گذارده شد تا از خارج شدن دارو جلوگیری شود. آگماتین (۴۰ یا

شبهه به آزمون سکوی پنهان (Hidden platform) می‌باشد و فقط سکو برای حیوانات قابل رؤیت است و مدت زمان هر آزمون ۶۰ ثانیه است. موقعیت حیوان در طول آزمون توسط دوربینی که در بالای تانک قرار گرفته ثبت و سیگنال دوربین به رایانه منتقل و شاخص‌هایی مانند: زمان موردنیاز (Escape latency)، مسافت طی شده برای یافتن سکو و سرعت یافتن سکو ثبت می‌شود. تمام شاخص‌های فوق توسط نرم‌افزار Ethovision ثبت می‌شود.

داده‌ها به وسیله آزمون one-way analysis of variance (ANOVA) و آزمون Tukey برای مقایسه چندگانه بررسی شدند. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار نشان داده شده‌اند. در تمام مقایسه‌های آماری، $P < 0.05$ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود.

نتایج

اثرات تجویز سالین، STZ با (بدون) آگماتین بر حافظه و یادگیری فضایی در ماز آبی در شکل ۱ نشان داده شده است. در این شکل داده‌ها به صورت میانگین \pm S.E.M نشان داده شده‌اند.

این شکل نشان می‌دهد یک همبستگی خطی منفی بین زمان رسیدن به سکو و روزهای آموزش در همه گروه‌ها وجود دارد و نشان می‌دهد همه گروه‌ها محل سکو را یاد گرفته‌اند. بنابراین STZ توانایی یادگیری را کاهش می‌دهد. شکل ۱- الف الگوی یادگیری حیوانات در گروه‌ها را نشان می‌دهد. آنالیز Repeated measure تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان می‌دهد ($F(3, 4) = 16.451$ ، $P = 0.001$).

آزمون Post hoc Tukey به دنبال آنالیز Repeated measure نشان داد که زمان رسیدن به سکو در گروه دریافت‌کننده STZ به طور معنی‌دار بیشتر از گروه دریافت‌کننده سالین است ($P < 0.001$). درمان با دوز ۸۰ میلی‌گرم آگماتین (و نه دوز ۴۰ میلی‌گرم) ($P = 0.005$) اختلال القاء شده به وسیله A β را معکوس کرد.

شکل ۱- ب زمان رسیدن به سکو پنهان طی روزهای ۱ تا ۳ را نشان می‌دهد. برای مقایسه چگونگی رفتار رت‌ها در روزهای مختلف آموزشی آزمون آماری One-way ANOVA استفاده شد و نتایج تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها در تمام روزها را نشان داد (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج آزمون آماری عملکرد حیوانات در روزهای یادگیری

روز	F(۳ و ۴)	P.V
۱	۱۰/۳۹۸	<۰/۰۰۱
۲	۶/۴۶۷	۰/۰۰۱
۳	۸/۹۳۱	<۰/۰۰۱

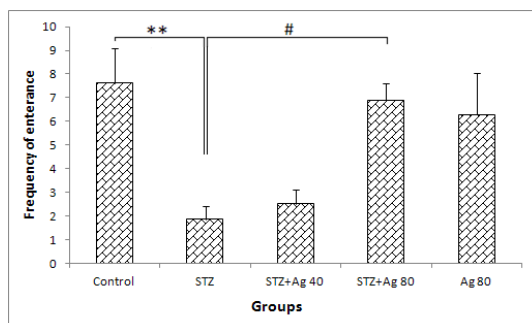
۸۰ mg/kg) یا سالین به صورت داخل صفاقی به صورت یک روز در میان از روز چهارم تا روز چهاردهم تزریق شد. در روز پانزدهم، آزمون رفتاری (حافظه و یادگیری ماز آبی) انجام شد.

حافظه فضایی توسط آزمایش ماز آبی موریس (Morris Water Maze) مورد بررسی قرار شد. ماز آبی شامل یک حوضچه به قطر تقریبی ۱۲۰ سانتی‌متر و عمق ۵۰ سانتی‌متر می‌باشد که تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری آن از آب پر می‌شود، دمای آب بایستی در حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد باشد. در این حوضچه از یک صفحه پلکسی گلاس مدور به قطر ۱۱ سانتی‌متر به عنوان سکوی پنهان (Hidden platform) استفاده می‌شود که حدود دو سانتی‌متر زیر سطح آب قرار دارد و سطح سکو از یک جنس شفاف ساخته شده که قابل دیدن توسط حیوان نباشد. ماز آبی در یک اتاق تاریک قرار دارد و یک دوربین مخصوص در بالای آن به صورت عمودی نصب شده و از حرکات حیوان آزمایشگاهی در حوضچه فیلم برداری نموده و آن را به سیستم ثبت اطلاعات که بر روی یک کامپیوتر نصب است ارسال می‌کند. نرم‌افزار مخصوص ثبت و بررسی آزمون حافظه اتوویشن (Ethovision) نام دارد.

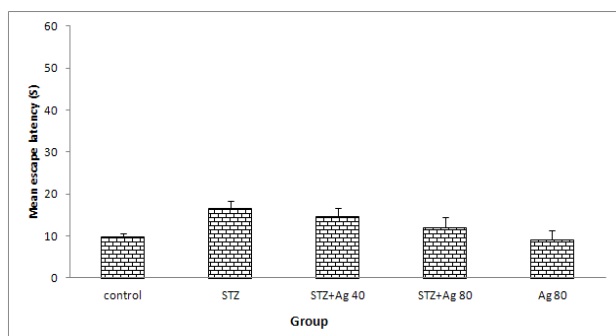
رت‌ها بر طبق پروتکل آموزش چهار روزه آموزش دیدند در سه روز اول سکوی غیرقابل رؤیت در ربع جنوب غربی تانک و حدود دو سانتی‌متر زیر سطح آب قرار داده شدند و در این سه روز جایگاه آن ثابت نگه داشته می‌شد. هر بلاک یادگیری از چهار کارآزمایی، تشکیل شده است در هر کارآزمایی حیوان به طوری که صورتش به طرف دیوار حوضچه باشد، از یکی از چهار منطقه شروع (شمال، جنوب، شرق و غرب) در آب رها می‌شد و به حیوان اجازه داده می‌شود شنا کند و سکوی پنهان شده را بیابد، در هر کارآزمایی ۹۰ ثانیه به حیوان اجازه داده می‌شود تا سکوی پنهان شده را بیابد، پس از یافتن سکو به حیوان اجازه داده می‌شود مدت ۲۰ ثانیه در روی آن باقی بماند و سپس کارآزمایی بعدی شروع می‌شود. پس از اتمام یادگیری حیوان با حوله خشک و به قفس خود بازگردانده می‌شود.

در روز ۴ سکوی پنهان برداشته شد و آزمایش آزمون پروب (Probe) انجام گرفت به این صورت که هیچ سکوی در حوضچه نیست و حیوان را از منطقه جنوب در آب قرار داده و مدت ۶۰ ثانیه اجازه داده می‌شود تا در حوضچه شنا کند، پس از اتمام زمان حیوان حوضچه بیرون آورده می‌شود.

بعد از آزمون پروب آزمون Visible انجام شد در این آزمون یک سکوی قابل رؤیت که توسط فویل آلومینیوم پوشیده شده است در بالای سطح آب قرار داده می‌شود و حیوان در یک منطقه دیگر (جنوب شرقی) قرار می‌گیرد تا انگیزش و عملکرد سیستم حسی حرکتی بررسی شود این آزمایش کاملاً



شکل ۳- اثر دریافت سالین، STZ با (بدون) آگماتین بر فرکانس ورود به ناحیه سکو و مجاور آن طی آزمون پروب. $P < 0.01^{**}$ تفاوت معنی‌داری بین گروه سالین و STZ. # $P < 0.05$ تفاوت معنی‌داری بین گروه STZ و آگماتین

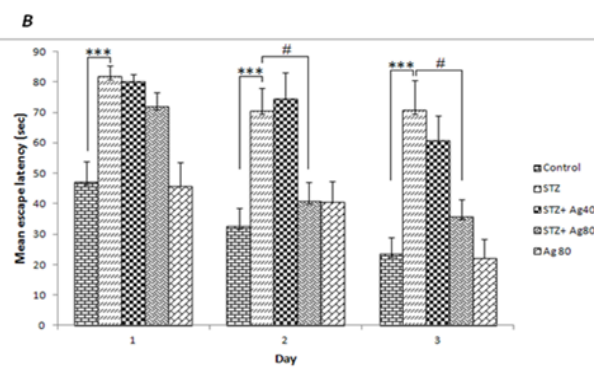
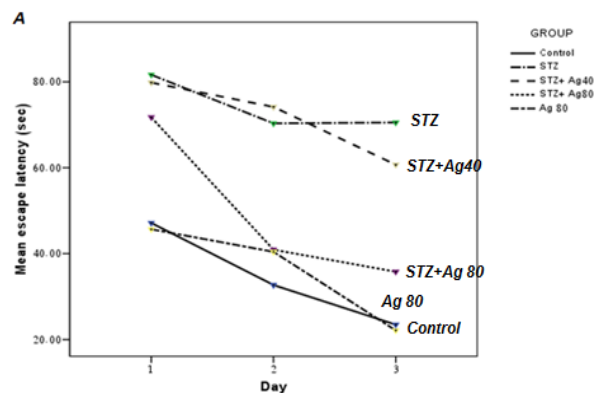


شکل ۴- اثر سالین، STZ با و یا بدون آگماتین بر زمان رسیدن به سکو را طی آزمون سکوی آشکار

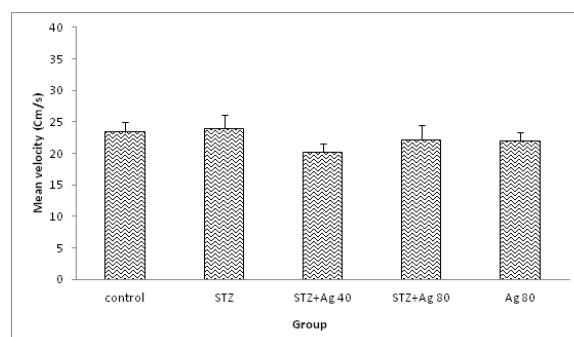
میلی‌گرم (و نه دوز ۴۰ میلی‌گرم) از اثرات اختلال STZ در روز ۲ و ۳ جلوگیری کرد.

شکل ۲ اثرات تجویز سالین، STZ با (بدون) آگماتین میانگین سرعت شنا کردن را نشان می‌دهد. آزمون One-way ANOVA نشان داد که سرعت شنا کردن بین گروه‌ها تفاوتی ندارد ($F(4) = 0.6316, P = 0.6489$) و شکل ۳ اثرات تجویز سالین، STZ با (بدون) آگماتین بر فرکانس ورود به ناحیه سکو و مجاور آن طی آزمون پروب نشان داده شده است ($F(4) = 6.053, P = 0.009$). آزمون Post hoc Tukey نشان داد که فرکانس ورود به ناحیه سکو و مجاور آن به صورت معنی‌داری در گروه STZ کاهش یافت در حالی که درمان با دوز آگماتین ۸۰ میلی‌گرم اختلال حافظه را معکوس کرد. در شکل ۳ داده‌ها به صورت میانگین \pm S.E.M. نشان داده شده‌اند.

شکل ۴ اثر دریافت سالین، STZ با (بدون) آگماتین بر زمان رسیدن به سکو در آزمون سکوی آشکار در روز ۴ را نشان داده شده است. آزمون آماری One-way ANOVA نشان داد که در زمان رسیدن به



شکل ۱- الف- الگوهای یادگیری حیوانات دریافت‌کننده سالین، STZ با و یا بدون آگماتین در جلسات آموزش و شکل ۱-ب- زمان رسیدن به سکوی پنهان طی روزهای ۱ تا ۳ آموزش. $P < 0.01^{***}$ تفاوت معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده STZ و سالین. # $P < 0.01$ تفاوت معنی‌داری بین حیوانات دریافت‌کننده STZ و آگماتین



شکل ۲- اثر دریافت سالین، STZ با و یا بدون آگماتین بر میانگین سرعت شنا کردن

آزمون Post hoc Tukey به دنبال One-Way ANOVA نشان داد که STZ به صورت معنی‌داری سبب افزایش زمان رسیدن به سکو در تمام روزهای آموزش شده است. درحالی‌که تجویز آگماتین با دوز ۸۰

شواهد زیادی بیان‌گرنده‌های انسولینی در قسمت‌های مختلف مغز را تأیید کردند (۲۴) و نشان داده شد که توزیع گیرنده انسولین در ساختارهای مغز به صورت یکنواخت نیست و در بعضی نواحی تراکم بیشتری از گیرنده انسولین وجود دارد. بیشترین تراکم mRNA انسولین در هیپوکامپ وجود دارد (۲۵) که یک ساختار اساسی درگیر در حافظه و یادگیری است (۲۶). انسولین از سیناپتوزوم‌های مغز آزاد می‌شود و آزادسازی آن به وسیله گلوکز تحریک می‌شود (۲۷). پیشنهاد شده است که تزریق مرکزی STZ مصرف گلوکز مرکزی و بنابراین رهاسازی انسولین را کاهش می‌دهد (۲۸) تزریق درون بطن مغزی STZ همچنین سبب کاهش سنتز گیرنده انسولین در هیپوکامپ می‌شود (۱۸) که این می‌تواند توضیحی باشد برای این که هیپوکامپ به انسولین سیستمیک منتقل شده به مغز پاسخ نمی‌دهد. علاوه بر این گزارش شده که STZ نفوذپذیری سد خونی مغزی را کاهش می‌دهد (۲۹) که احتمالاً اثر انسولین سیستمیک به هیپوکامپ را در رت‌های دریافت کننده STZ محدود می‌کند. آگماتین به عنوان یک میانجی درون‌زاد برای گیرنده‌های ایمیدازولینی مورد توجه قرار گرفته است (۳۰). گزارش شده است که آگماتین حساسیت انسولین سیستمیک را از طریق گیرنده‌های ایمیدازولین افزایش می‌دهد (۳۱). ساختارهای مولکولی اصلی، ویژگی‌های مسیر سیگنالینگ گیرنده‌های انسولین مغزی با گیرنده‌های انسولین محیطی یکسان است (۳۲)؛ بنابراین این احتمال وجود دارد که آگماتین یک اثر مثبت در حساسیت گیرنده‌های انسولین هیپوکامپ داشته باشد. اگر انسولین بتواند حساسیت گیرنده‌های انسولین در مغز را حساس‌تر کند بدین طریق نیز می‌تواند مانع اثر مخرب STZ بر عملکرد هیپوکامپ شود.

به عنوان نتیجه‌گیری مطالعه ما نشان داد که آگماتین سبب بازیابی اختلال حافظه القاء شده به وسیله STZ می‌شود. باتوجه به شباهت‌های پاتولوژیک مدل STZ با بیماری آلزایمر، این مطالعه می‌تواند پیشنهادکننده اثرات مثبت آگماتین در اختلال حافظه ناشی از این بیماری باشد.

References

1. Salkovic-Petrisic M, Knezovic A, Hoyer S, Riederer P. What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimer's disease, about the therapeutic strategies in Alzheimer's research. *Journal of Neural Transmission* 2013;120(1):52-233.
2. Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes in peripheral and cerebral glucose metabolism on locomotor activity, learning and memory in adult male rats. *Brain Research* 1990;532(1-2):95-100.
3. Blondel O, Portha B. Early appearance of in vivo insulin resistance in adult streptozotocin-injected rats. *Diabete & Metabolisme* 1989;15(6):382-7.

سکوی آشکار تفاوتی بین گروه‌ها وجود ندارد $F(4) = 2/509$ و $P = 0/06$. که به این معنی است که STZ تأثیری بر انگیزش و هماهنگی حسی حرکتی ندارد.

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که تجویز STZ سبب بدتر شدن حافظه و یادگیری ماز آبی موریس می‌شود و تجویز آگماتین از اختلال حافظه القاء شده به وسیله STZ جلوگیری می‌کند.

رت‌های دریافت‌کننده STZ زمان رسیدن به سکوی طولانی داشتند در حالی که دریافت آگماتین از این اختلال جلوگیری می‌کرد. چون سرعت شنا کردن در تمام گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. در نتیجه آگماتین از بدتر شدن حافظه ی القاء شده به وسیله STZ جلوگیری می‌کند. براساس یافته‌ها باتوجه به این که STZ اثری بر آزمون سکوی آشکار ندارد پس این موضوع نشان می‌دهد که STZ اثر تخریبی بر بینایی و انگیزش حیوان ندارد.

باتوجه به این که آگماتین از سد خون مغزی عبور می‌کند (۱۵) و هیپوکامپ یک ساختار حیاتی درگیر در یادگیری و حافظه فضایی است، پس تصور می‌شود که آگماتین هیپوکامپ را از اثرات تخریبی STZ بر عملکرد هیپوکامپ محافظت می‌کند.

STZ متشکل از نیتروز آمید متیل نیتروزبوری متصل به موقعیت C2-D-گالاکتوز است. زمانی که متابولیزه شود، N- نیتروزبوری آزاد می‌شود و منجر به آسیب DNA به وسیله تولید گونه‌های واکنشی اسیژن (ROS) می‌شود (۱۶ و ۱۷). استرس اکسیداتیو می‌تواند منجر به اختلال حافظه شود (۱۸). شواهدی نیز نشان داد که آگماتین یک آنتی‌اکسیدان است و از کلاپس و تورم میتوکندری جلوگیری می‌کند (۱۹ و ۲۰). بدین طریق احتمال دارد که آگماتین با اثرات آنتی‌اکسیداتیو خود از اختلال حافظه ناشی از STZ پیشگیری کرده باشد. به علاوه Annunzioato و همکارانش نشان دادند که تولید ROS طی استرس اکسیداتیو منجر به آپوپتوز به وسیله فعال کردن کاسپاز ۳ می‌شود (۲۱). تعدادی از مطالعات In vivo و In vitro اثر آنتی‌اکسیداتیو آگماتین را نشان می‌دهند (۲۲ و ۲۳). اگر آگماتین بتواند از آپوپتوز پیشگیری کند، احتمالاً بدین طریق توانسته است از اختلال حافظه ناشی از STZ پیشگیری کند. در همین راستا مطالعات قبلی ما نشان داده است که آگماتین می‌تواند از اختلال حافظه و آپوپتوز ناشی از LPS پیشگیری کند (۱۴)

به مدت چندین دهه مستقل بودن برداشت گلوکز مستقل از انسولین توسط مغز منجر به این شد که محققان مغز را به عنوان بافتی که به انسولین غیروابسته است در نظر بگیرند. با این حال کشف انسولین و گیرنده آن در مغز سبب دگرگونی تصور غلط گذشته شد. پس از آن

4. Lackovic Z, Salkovic M. Streptozotocin and alloxan produce alterations in rat brain monoamines independently of pancreatic beta cells destruction. *Life Sciences* 1990;46(1):49-54.
5. Shingo AS, Kanabayashi T, Kito S, Murase T. Intracerebroventricular administration of an insulin analogue recovers STZ-induced cognitive decline in rats. *Behavioural Brain Research* 2013;241:105-11.
6. Chueh W-H, Lin J-Y. Berberine, an isoquinoline alkaloid, inhibits streptozotocin-induced apoptosis in mouse pancreatic islets through down-regulating Bax/Bcl-2 gene expression ratio. *Food Chemistry* 2012;132(1):252-60.
7. Tabor CW, Tabor H. Polyamines. *Annual Review of Biochemistry* 1984;53:749-90.
8. Li G, Regunathan S, Barrow CJ, Eshraghi J, Cooper R, Reis DJ. Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science* (New York, NY) 1994;263(5149):966-9.
9. Raasch W, Regunathan S, Li G, Reis DJ. Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues. *Life Sciences* 1995;56(26):2319-30.
10. Halaris A, Plietz J. Agmatine : metabolic pathway and spectrum of activity in brain. *CNS Drugs* 2007;21(11):885-90.
11. Gilad GM, Gilad VH, Finberg JP, Rabey JM. Neurochemical evidence for agmatine modulation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) neurotoxicity. *Neurochemical Research* 2005;30(6-7):713-9.
12. Gilad GM, Gilad VH. Accelerated functional recovery and neuroprotection by agmatine after spinal cord ischemia in rats. *Neuroscience Letters* 2000;296(2-3):97-100.
13. Moosavi M, Khales GY, Abbasi L, Zarifkar A, Rastegar K. Agmatine protects against scopolamine-induced water maze performance impairment and hippocampal ERK and Akt inactivation. *Neuropharmacology* 2012;62(5-6):2018-23.
14. Zarifkar A, Choopani S, Ghasemi R, Naghdi N, Maghsoudi AH, Maghsoudi N, et al. Agmatine prevents LPS-induced spatial memory impairment and hippocampal apoptosis. *European journal of Pharmacology* 2010;634(1-3):84-8.
15. Piletz JE, May PJ, Wang G, Zhu H. Agmatine crosses the blood-brain barrier. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2003;1009:64-74.
16. Bolzan AD, Bianchi MS. Chromosomal response of human lymphocytes to streptozotocin. *Mutation Research* 2002;503(1-2):63-8.
17. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research/ Academia Scientiarum Bohemoslovaca* 2001;50(6):537-46.
18. Agrawal R, Tyagi E, Shukla R, Nath C. Insulin receptor signaling in rat hippocampus: a study in STZ (ICV) induced memory deficit model. *Eur Neuropsychopharmacol* 2011;21(3):261-73.
19. Hong S, Lee JE, Kim CY, Seong GJ. Agmatine protects retinal ganglion cells from hypoxia-induced apoptosis in transformed rat retinal ganglion cell line. *BMC Neuroscience* 2007;8:81.
20. Shingo AS, Kanabayashi T, Murase T, Kito S. Cognitive decline in STZ-3V rats is largely due to dysfunctional insulin signalling through the dentate gyrus. *Behavioural Brain Research* 2012;229(2):378-83.
21. Annunziato L, Amoroso S, Pannaccione A, Cataldi M, Pignataro G, D'Alessio A, et al. Apoptosis induced in neuronal cells by oxidative stress: role played by caspases and intracellular calcium ions. *Toxicology Letters* 2003;139(2-3):125-33.
22. Battaglia V, Grancara S, Satriano J, Saccoccio S, Agostinelli E, Toninello A. Agmatine prevents the Ca(2+)-dependent induction of permeability transition in rat brain mitochondria. *Amino Acids* 2010;38(2):431-7.
23. Condello S, Curro M, Ferlazzo N, Caccamo D, Satriano J, Ientile R. Agmatine effects on mitochondrial membrane potential and NF-kappaB activation protect against rotenone-induced cell damage in human neuronal-like SH-SY5Y cells. *Journal of Neurochemistry* 2011;116(1):67-75.
24. van Houten M, Posner BI, Kopriwa BM, Brawer JR. Insulin-binding sites in the rat brain: in vivo localization to the circumventricular organs by quantitative radioautography. *Endocrinology* 1979;105(3):666-73.
25. Hill JM, Lesniak MA, Pert CB, Roth J. Autoradiographic localization of insulin receptors in rat brain: prominence in olfactory and limbic areas. *Neuroscience* 1986;17(4):1127-38.
26. Devaskar SU, Giddings SJ, Rajakumar PA, Carnaghi LR, Menon RK, Zahm DS. Insulin gene expression and insulin synthesis in mammalian neuronal cells. *The Journal of Biological Chemistry* 1994;269(11):8445-54.
27. Santos MS, Pereira EM, Carvahlo AP. Stimulation of immunoreactive insulin release by glucose in rat brain synaptosomes. *Neurochemical Research* 1999;24(1):33-6.
28. Nitsch R, Hoyer S. Local action of the diabetogenic drug, streptozotocin, on glucose and energy metabolism in rat brain cortex. *Neuroscience Letters* 1991;128(2):199-202.
29. Hawkins BT, Ocheltree SM, Norwood KM, Egleton RD. Decreased blood-brain barrier permeability to fluorescein in streptozotocin-treated rats. *Neuroscience Letters* 2007;411(1):1-5.
30. Wu N, Su RB, Li J. Agmatine and imidazoline receptors: their role in opioid analgesia, tolerance and dependence. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2008;28(5):629-41.
31. Su CH, Liu IM, Chung HH, Cheng JT. Activation of I2-imidazoline receptors by agmatine improved insulin sensitivity through two mechanisms in type-2 diabetic rats. *Neuroscience letters* 2009;457(3):125-8.
32. Gerozissis K. Brain insulin: regulation, mechanisms of action and functions. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2003;23(1):1-25.



The Protective Effect of Agmatine Against Intracerebroventricular Streptozotocin-Induced Memory Impairment in Male Rats

Farbood Yaghoub (Ph.D.)¹, Amir Hossein Zarifkar (B.Sc.)¹, Mahin Dianat (Ph.D.)¹, Alireza Sarkaki (Ph.D.)¹, Maryam Mousavi (Ph.D.)^{2*}

1- Dept. of Physiology, School of Medicine, Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences (AJUMS), Ahvaz, Iran.

2- Dept. of Physiology and Shiraz Neuroscience Research Centre, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

Received: 9 September 2013, Accepted: 3 November 2013

Abstract:

Introduction: Intracerebroventricular injection of streptozotocin leads to learning and memory impairment. Different mechanisms such as oxidative stress and insulin signaling disruption has been proposed for streptozotocin induced learning and memory deterioration. As these changes occur in Alzheimer's disease, this model is widely used to assess Alzheimer's disease. Agmatine is a polyamine derived from L-arginine decarboxylation. Agmatine is shown to have various effects such as neuroprotective role. Therefore, the present study was aimed to assess the plausible protective effect of agmatine against streptozotocin induced memory impairment.

Methods: Male sprague-dawely rats weighing 200-250 g were used in this study. Within surgery the canules were implanted bilaterally into lateral ventricle. Streptozotocin was injected on days 1 and 3 (3 mg/kg in divided doses). Agmatine administration (40 and 80 mg/kg) was started from day 4 and continued in an alternate manner till day 14. The animal's learning and memory capability was assessed on days 15-18 using morris water maze. The animals were trained during 3 days, and on day 4, the probe test was done. In order to assess the effect of drugs on motivation and sensorimotor coordination, a visible platform test was performed after the probe trial.

Results: While streptozotocin injection led to learning and memory disability, agmatine treatment in dose 80 mg/kg but not 40 mg/kg restored this memory impairment.

Conclusion: It seems that agmatine might be beneficial for memory impairment caused by Alzheimer's disease.

Keywords: Streptozotocin, Agmatine, Learning, Memory, Morris water maze, Rat.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: M. Mousavi, Email: marmoosavi@sums.ac.ir

Citation: Farbood Y, Zarifkar A H, Dianat M, Sarkaki A, Moosavi M. The protective effect of agmatine against intracerebroventricular streptozotocin-induced memory impairment in male rats. Journal of Knowledge & Health 2014;9(3):70-76.