

## تأثیر تجویز توام ممانتین و اسیدفولیک بر یادگیری و حافظه‌ی فضایی در موش‌های صحرایی نر بالغ

نسترن زمانی<sup>۱\*</sup>

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

یافته / دوره ۲۶ / شماره ۲ / تابستان ۱۴۰۳ / مسلسل ۱۰۰

### چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۱۲/۱۴ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۵/۲۲

مقدمه: ممانتین (MEM) آنتاگونیست گیرنده‌ی NMDA و یکی از داروهای مورد تایید در درمان بیماران مبتلا به آلزایمر است. اسیدفولیک و یا ویتامین B9 نیز ویتامینی محلول در آب است که در برخی مطالعات پیشین اثرات آن بر بهبود اختلالات شناختی نشان داده شده است. مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر ممانتین و تجویز توام آن با اسیدفولیک بر یادگیری و حافظه‌ی فضایی در موش‌های صحرایی نر بالغ انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به ۶ گروه ۷ تایی تقسیم شدند: کنترل، حلال (سالین)، ممانتین (MEM ۳, ۵, ۱۰ mg/kg; ip) و FA ۱۵ mg/kg-MEM ۱۰ mg/kg. تیمار اسیدفولیک به مدت ۷ روز با شروع دو روز پیش از آموزش و تیمار ممانتین به مدت ۵ روز و ۳۰ دقیقه قبل از آموزش انجام شد. موش‌های صحرایی به مدت ۵ روز با دستگاه ماز Y شکل آموزش دیدند. بیست و پنج روز بعد از آموزش آزمون فراخوانی حافظه برای ارزیابی حافظه‌ی بلند مدت انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه‌ی ۱۶) انجام شد.

یافته‌ها: در نتایج این مطالعه مقایسه بین گروه‌های MEM ۵ mg/kg ( $p < 0/05$ ) و MEM ۱۰ mg/kg ( $p < 0/001$ ) با گروه کنترل کاهش معنی‌دار یادگیری و حافظه‌ی فضایی را نشان می‌دهد. در صورتیکه در گروه FA ۱۵ mg/kg-MEM ۱۰ mg/kg در مقایسه با گروه MEM ۱۰ mg/kg افزایش معنی‌دار یادگیری و حافظه‌ی فضایی نشان داده شد ( $p < 0/05$ ). همچنین در این مطالعه نتایج آزمون فراخوانی حافظه روز سی‌ام در مقایسه با روز پنجم آموزش در گروه‌های MEM ۱۰ mg/kg و FA ۱۵ mg/kg-MEM ۱۰ کاهش معنی‌دار یادگیری و حافظه‌ی فضایی را نشان داد ( $p < 0/05$ ).

بحث و نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه کاهش یادگیری و حافظه‌ی فضایی را در آزمون ماز Y شکل در موش‌های صحرایی تحت تیمار با ممانتین به صورت وابسته به مقدار نشان می‌دهند. علاوه‌براین در تجویز توام ممانتین و اسیدفولیک بهبود اختلال یادگیری و حافظه‌ی فضایی ناشی از ممانتین در موش‌های صحرایی نر بالغ مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: اسیدفولیک، ممانتین، یادگیری فضایی، گیرنده‌ی NMDA، استیل کولین.

\*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی.

پست الکترونیک: na\_zamani2000@pnu.ac.ir

## مقدمه

اسیدفولیک (FA) که با عنوان فولات و یا ویتامین B9 نیز شناخته می‌شود، از جمله ویتامین‌های گروه B و محلول در آب است (۱). نقش اسیدفولیک در بسیاری از واکنش‌های متیلاسیون از جمله متیلاسیون DNA، پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و نیز متابولیسم نوروترانسمیترها نشان داده شده است (۲). علاوه بر این مطالعات پیشین تأثیر اسیدفولیک را بر افزایش سطوح استیل کولین و BDNF (۳) و نیز کاهش آسیب اکسیداتیو، آپوپتوز (۴،۵)، فعالیت استیل کولین استراز و بهبود اختلال شناختی (۶) نشان داده‌اند.

کمبود اسیدفولیک از جمله دلایل سطوح افزایش یافته‌ی هموسیستئین یا هیپرهوموسیستئینی (HHcy) است. مطالعات انجام شده در شرایط فیزیولوژیک که غلظت گلیسین در بافت عصبی طبیعی است، تأثیر Hcy با غلظت کم را به عنوان آنتاگونیست نسبی جایگاه گلیسین در گیرنده‌ی NMDA و مهار فعالیت این گیرنده و نیز تأثیر Hcy با غلظت بالا را به عنوان آگونیست جایگاه گلوتامات در گیرنده‌ی NMDA و ایجاد سمیت تحریکی نشان داده‌اند (۷). در همین راستا مطالعات سمره و همکاران فعالیت گیرنده‌ی NMDA در سلول‌های اپیتلیال رنگدانه‌دار شبکیه را به عنوان مکانیسمی جهت القای دژنراسیون ماکولای وابسته به سن توسط HHcy نشان داده‌اند (۸).

از طرف دیگر ممانتین یکی از داروهای مورد تایید جهت درمان بیماران مبتلا به آلزایمر است که به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌ی NMDA دارای میل ترکیبی کم تا متوسط، غیررقابتی، غیرانتخابی، و وابسته به ولتاژ است (۹). نقش گیرنده‌های گلوتامات بویژه NMDA در فرآیندهای فیزیولوژیک متعدد از جمله پلاستی سیتی سیناپسی، یادگیری و حافظه نشان داده شده است (۱۰) در صورتیکه فعالیت بیش از حد این گیرنده‌ها منجر به مرگ سلولی و سمیت تحریکی می‌گردد (۱۱). تأثیر استیل کولین و سیگنالینگ کولینرژیک نیز

در اعمال شناختی از جمله یادگیری و حافظه شناخته شده است (۱۲) برخی مطالعات اثرات مهاری ممانتین را بر گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین ( $\alpha 7$  nACh) نشان داده‌اند (۱۳) درحالی‌که در مطالعاتی دیگر تأثیر ممانتین بر افزایش سیگنالینگ کولینرژیک از طریق گیرنده‌های موسکارینی نشان داده شده است (۱۰). در مطالعات پیشین نتایج متناقضی از تأثیر ممانتین بر یادگیری و حافظه‌ی فضایی در موش‌های صحرایی سالم نشان داده شده است (۱۴،۱۵). بنابراین با توجه به نقش مهاری ممانتین بر گیرنده‌های NMDA و  $\alpha 7$  nACh (۹،۱۳) و نیز اثرات افزایشی آن بر سیگنالینگ کولینرژیک از طریق گیرنده‌های موسکارینی استیل کولین (۱۰)، همچنین با در نظر گرفتن تأثیر اسیدفولیک بر افزایش سطوح استیل کولین (۳) و مطالعاتی که تأثیرات Hcy را بر گیرنده‌های NMDA در شرایط فیزیولوژیک نشان می‌دهند (۷)، در مطالعه‌ی حاضر بر آن شدیم تا تأثیر ممانتین و تجویز توام آنرا با اسیدفولیک بر یادگیری و حافظه‌ی فضایی در موش‌های صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرار دهیم.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی  $20 \pm 200$  گرم مورد استفاده قرار گرفتند. در محل نگهداری موش‌ها درجه حرارت  $24-20$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته بود و موش‌ها در گروه‌های چهارتایی در هر قفس با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند. بررسی یادگیری و حافظه‌ی فضایی در دوره روشنایی در دستگاه ماز Y شکل انجام شد. ممانتین و اسیدفولیک مورد استفاده از شرکت سیگما تهیه شدند و غلظت‌های مورد نظر از آنها در روز آزمایش توسط حلال سالین ۰/۹ درصد به صورت روزانه آماده گردید. موش‌ها به طور تصادفی به ۶ گروه ( $n = 7$ ) تقسیم شدند.

کنترل: هیچ‌گونه تزریقی دریافت نکرد. حلال: سالین (حلال ممانتین و اسیدفولیک) را با میزان ۰/۲ میلی‌لیتر به مدت ۷ روز با شروع ۲ روز پیش از آموزش و در

روزهای آموزش ۳۰ دقیقه پیش از آن به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کرد.

تیمار اول، دوم و سوم: در هر گروه یکی از مقادیر ۳، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم ممانتین به مدت ۵ روز ۳۰ دقیقه پیش از آموزش به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت شد (۱۶).

تیمار چهارم (تداخل اسیدفولیک - ممانتین): اسیدفولیک را با مقدار ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم (۱۷) به مدت ۷ روز با شروع ۲ روز پیش از آموزش و نیز ممانتین را با مقدار ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۵ روز ۳۰ دقیقه پیش از آموزش به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کرد. در این گروه تزریق اسیدفولیک در روزهای آموزش یک ساعت پیش از تزریق ممانتین انجام شد (۱۸).

دستگاه ماز Y شکل: بررسی روند یادگیری و حافظه در مدل‌های آزمایشگاهی با استفاده از دو روش تنبیه (دریافت شوک یا احساس ناخوشایند) و تشویق (دریافت پاداش مثل آب و غذا) انجام می‌شود که باتوجه به تداخل احتمالی برخی داروها در مکانیسم اشتها، به نظر می‌رسد که روش تنبیه مناسب‌تر باشد. با توجه به نقش هیپوکامپ در حافظه‌ی فضایی در این تحقیق دستگاه ماز Y شکل به منظور بررسی یادگیری و حافظه‌ی فضایی مورد استفاده قرار گرفت (۱۹). این دستگاه Y شکل دارای سه بازوی کاملاً مشابه با ابعاد  $60 \times 17/5$  سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و از جنس شیشه‌ای شفاف است. در کف هر بازو میله‌های آبکاری کروم - نیکل با فواصل یک سانتیمتر از هم به دو طرف دیوار متصل هستند و احساس ناخوشایند (شوک الکتریکی) از طریق این میله‌ها به حیوان منتقل می‌گردد. انتهای هر بازو دارای یک منبع نور (لامپ ۱۲ ولت) است. به منظور جلوگیری از خروج حیوان در حین آموزش سطح بالای دستگاه توسط سرپوش‌های کشویی مسدود شده است. مشخصات تحریک نظیر طول تحریک، فرکانس تحریک، فاصله زمانی بین روشن شدن لامپ و اعمال تحریک، فاصله زمانی بعد از عمل تحریک و

شمارش تعداد دفعات تحریک در قسمت کنترل دستگاه قابل تنظیم است. دستگاه باید در یک محیط تاریک، آرام و بی‌سر و صدا باشد. در روز اول آموزش به مدت ۱۵ دقیقه به حیوان اجازه آشنا شدن با شکل ظاهری ماز داده می‌شود. سپس آموزش از بازویی که حیوان در آن قرار دارد آغاز می‌گردد. انتخاب بازوها بر اساس جدول تصادفی است و با فشار دادن دکمه‌ی آن روی دستگاه کنترلی، چراغ آن بازو روشن می‌گردد. موش در یک فاصله زمانی کوتاه (۵ ثانیه) فرصت دارد تا از محل تاریک خارج و به بازوی روشن وارد شود؛ در این صورت ورود موش به بازوی روشن به عنوان انتخاب صحیح محسوب می‌گردد، در غیر این صورت پس از ۵ ثانیه شوک الکتریکی به پاهای موش وارد می‌شود. در این حالت ورود موش را به بازوی روشن به عنوان انتخاب صحیح و ورود آن را به بازوی تاریک به عنوان انتخاب غلط در نظر می‌گیریم. هر موش در هر روز بر اساس جدول تصادفی ۳۰ بار آموزش داده می‌شود و در پایان هر جلسه تعداد پاسخ‌های صحیح محاسبه می‌گردد. جلسات آموزش ۵ روز متوالی است و سپس آزمون فراخوانی حافظه بیست و پنج روز بعد به منظور ارزیابی حافظه‌ی بلند مدت انجام می‌گردد. در این آزمون حافظه‌ی هر کدام از حیوانات در روز سی‌ام به صورت یک جلسه ارزیابی شد و نتایج آن با نتایج روز پنجم آموزش مورد مقایسه قرار گرفت (۱۹).

آنالیز آماری: نتایج حاصل از این پژوهش به صورت توصیفی و تحلیلی با استفاده از آزمون‌های آماری پارامتریک با نرم افزار SPSS، بررسی گردیدند. به منظور مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح در گروه‌های مختلف و تعیین اینکه آیا گروه‌ها با یکدیگر اختلاف دارند یا نه، از آنالیز واریانس با اندازه گیری تکراری و آزمون تکمیلی Tukey استفاده شد. در مقایسه‌ی گروه‌های مختلف در ۵ روز متوالی آموزش از روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey و در مقایسه‌ی میانگین پاسخ

گروه‌های کنترل و حلال (سالین) اختلاف معنی‌داری بین میزان یادگیری و حافظه‌ی فضایی در هیچ یک از روزهای آموزش دیده نشد (جدول ۱). در مقایسه‌ی میزان یادگیری و حافظه‌ی فضایی بین گروه کنترل و تیمار اول (ممانتین با مقدار ۳ mg/kg) نیز در روزهای اول تا پنجم آموزش اختلاف معنی‌داری نشان داده نشد. در صورتیکه مقایسه‌ی بین گروه‌های کنترل و تیمار دوم (ممانتین با مقدار ۵ mg/kg) در روزهای دوم، سوم و چهارم آموزش کاهش معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) یادگیری و حافظه‌ی فضایی را در گروه تیمار دوم نشان داد (نمودار ۱). علاوه‌براین مقایسه‌ی بین میانگین پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و آزمون فراخوانی حافظه‌ی روز سی‌ام در هر یک از گروه‌های کنترل، حلال، تیمار اول و تیمار دوم تغییر معنی‌داری را در یادگیری و حافظه‌ی فضایی نشان نداد (جدول ۱).

صحیح روز پنجم و روز سی‌ام در هر گروه از آزمون زوجی استفاده شد. در این بررسی  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

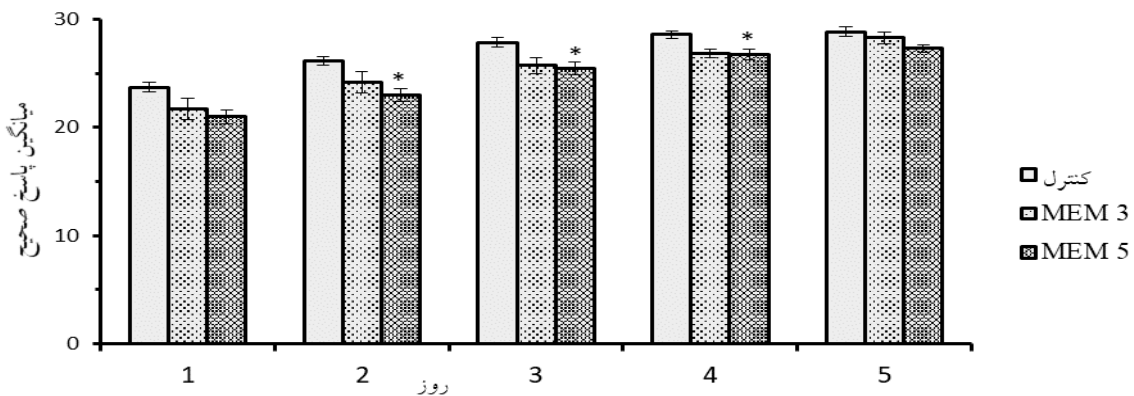
در این مطالعه نتایج حاصل از آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری نشان داد که گروه، زمان و اثر متقابل گروه و زمان تأثیر معنی‌داری بر یادگیری و حافظه‌ی فضایی دارد ( $P < 0.001$ ) در حالی که نتایج حاصل از آنالیز کوواریانس بین میانگین پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و آزمون فراخوانی حافظه‌ی روز سی‌ام اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های تیمار و کنترل نشان نداد. با توجه به معنی‌دار بودن اثر متقابل گروه و زمان، مقایسه‌ی بین گروه‌ها در هر زمان به صورت مجزا با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد. بر این اساس در مقایسه‌ی بین

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار تعداد پاسخ صحیح موش‌های صحرایی گروه‌های مورد مطالعه در روزهای اول تا پنجم و روز سی‌ام در ماز Y شکل

گروه	روز اول	روز دوم	روز سوم	روز چهارم	روز پنجم	روز سی‌ام
کنترل	۲۳/۷۱±۰/۴۲۰	۲۶/۱۴±۰/۴۰۴	۲۷/۸۵±۰/۴۵۹	۲۸/۵۷±۰/۳۶۸	۲۸/۸۵±۰/۴۰۴	۲۸/۲۸±۰/۴۲۰
حلال	۲۳/۱۴±۰/۴۰۴	۲۵/۲۸±۰/۳۵۹	۲۷/۱۴±۰/۴۰۴	۲۷/۷۱±۰/۳۵۹	۲۸/۴۲±۰/۳۶۸	۲۸/۴۲±۰/۲۹۷
تیمار اول	۲۱/۷۱±۰/۹۹۳	۲۴/۱۴±۰/۹۸۶	۲۵/۷۱±۰/۷۴۶	۲۶/۸۵±۰/۴۰۴	۲۸/۲۸±۰/۵۲۱	۲۷/۵۷±۰/۲۹۷
تیمار دوم	۲۱±۰/۶۵۴	۲۳±۰/۶۱۷+	۲۵/۴۲±۰/۵۷۱+	۲۶/۷۱±۰/۴۷۳+	۲۷/۲۸±۰/۳۵۹	۲۷/۲۸±۰/۴۲۰
تیمار سوم	۱۹/۱۴±۰/۷۶۹+++	۲۰/۸۵±۰/۵۹۴+++	۲۳/۱۴±۰/۴۰۴+++	۲۴/۷۱±۰/۴۲۰+++	۲۵/۴۲±۰/۴۲۸+++	۲۴/۵۷±۰/۴۸۰†
تیمار چهارم	۲۰/۱۴±۰/۵۹۴	۲۳±۰/۶۵۴	۲۵/۴۲±۰/۳۶۸#	۲۶/۵۷±۰/۴۲۸#	۲۷/۱۴±۰/۲۶۰#	۲۶/۴۲±۰/۲۹۷†

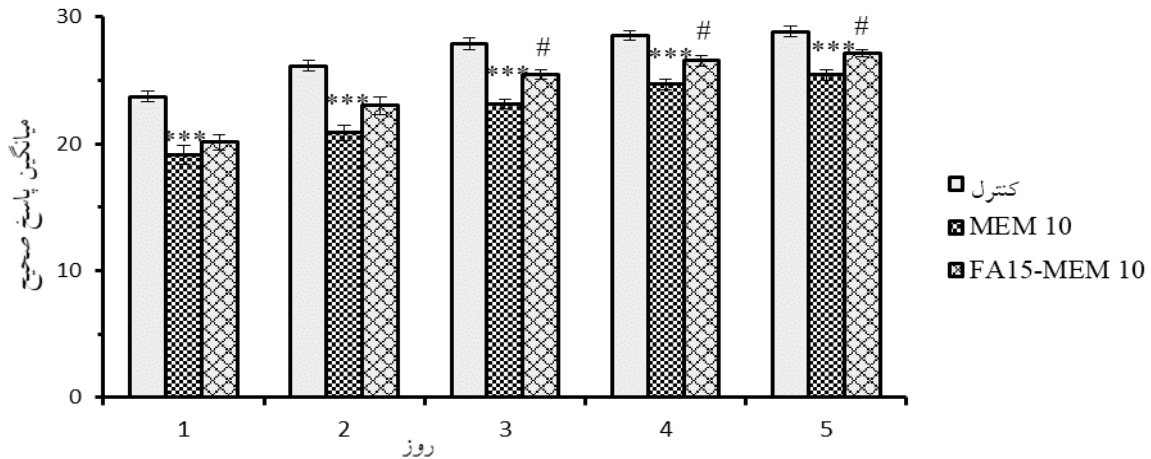
+++  $P < 0.001$ ، +  $P < 0.05$  کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل؛ #  $P < 0.05$  افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه ممانتین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ †

$P < 0.05$  کاهش معنی‌دار در مقایسه با روز پنجم آموزش.



نمودار ۱. مقایسه میانگین پاسخ صحیح بین گروه کنترل و گروه‌های ممانتین در مقادیر ۳ و ۵ mg/kg در روزهای اول تا پنجم آموزش در موش‌های صحرایی نر بالغ. میله خطا نشان دهنده انحراف معیار است (n=7): (\*:  $P < 0.05$ ; MEM: Memantine).

پنجم آموزش، افزایش معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) یادگیری و حافظه‌ی فضایی در گروه تیمار چهارم نشان داده شد (نمودار ۲). علاوه‌براین مقایسه‌ی بین میانگین پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و آزمون فراخوانی حافظه‌ی روز سی‌ام در هر یک از گروه‌های تیمار سوم ( $P < 0.05$ ) و چهارم ( $P < 0.05$ ) کاهش معنی‌دار یادگیری و حافظه‌ی فضایی را در روز سی‌ام نشان داد (جدول ۱).



نمودار ۲. مقایسه میانگین پاسخ صحیح بین گروه کنترل و ممانتین با مقدار ۱۰ mg/kg و ممانتین با گروه ممانتین با گروه تداخل اسیدفولیک و ممانتین (MEM: Memantine) ۱۰ mg/kg و ممانتین (FA-MEM: Folic acid-Memantine) در روزهای اول تا پنجم آموزش در موش‌های صحرایی نر بالغ (n=7). میله خط نشان دهنده انحراف معیار است.

نورون‌های پیرامیدال CA1 هیپوکامپ در موش‌های صحرایی سالم در شرایط *in vivo* نیز نشان داده شد که تزریق داخل رگی ممانتین در مقادیر ۴، ۸، ۱۶ mg/kg منجر به کاهش شلیک نورونی به صورت وابسته به مقدار می‌گردد (۲۰) که نتایج فوق هم‌راستا با نتایج بدست آمده در این کار پژوهشی است. از طرف دیگر در نتایج حاصل از پژوهش‌های زولدز و همکاران نشان داده شده است که تزریق داخل صفاقی ممانتین به مدت ۳ روز هر روز نیم ساعت قبل از آموزش در ماز آبی موریس در موش‌های صحرایی سالم تأثیری بر میزان یادگیری فضایی در مراحل آموزش ندارد اما ممانتین با مقادیر ۷ و ۵ mg/kg در آزمون حافظه‌ی ۲۴ ساعت پس از آموزش موجب افزایش ( $P < 0.05$ ) حافظه‌ی فضایی می‌گردد (۱۵). علاوه‌براین درمان سیستمیک موش‌های صحرایی با ممانتین نیز موجب افزایش وابسته به مقدار سطوح

نتایج این مطالعه در مقایسه‌ی بین گروه کنترل و تیمار سوم (ممانتین با مقدار ۱۰ mg/kg) نیز کاهش معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) یادگیری و حافظه‌ی فضایی را در گروه تیمار سوم در روزهای اول، دوم، سوم، چهارم و پنجم آموزش نشان داد. در صورتیکه در مقایسه‌ی بین گروه‌های تیمار سوم و چهارم (اسیدفولیک با مقدار ۱۵ mg/kg + ممانتین با مقدار ۱۰ mg/kg) در روزهای سوم، چهارم و

## بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر به بررسی تأثیر تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف ممانتین به مدت ۵ روز و تجویز توام آن با اسیدفولیک به مدت ۷ روز با شروع ۲ روز قبل از ممانتین بر یادگیری و حافظه‌ی فضایی در موش‌های صحرایی نر بالغ پرداخته است. مقادیر اسیدفولیک و ممانتین در این مطالعه بر اساس مطالعات انجام شده‌ی پیشین انتخاب شدند (۱۶، ۱۷). در نتایج این مطالعه نشان داده شد که تیمار با ممانتین به صورت وابسته به مقدار موجب کاهش یادگیری و حافظه‌ی فضایی در موش‌های صحرایی نر بالغ می‌گردد (نمودارهای ۲ و ۳). در مطالعات کریلی و همکاران نیز نشان داده شد که تزریق داخل صفاقی مقادیر ۱۰ mg/kg و ۵ mg/kg ممانتین در موش‌های صحرایی ماده ۶ تا ۸ ماهه منجر به اختلال در حافظه و فعالیت حرکتی می‌گردد (۱۴). علاوه‌براین در بررسی اثرات ممانتین بر

استیل کولین خارج سلولی در نئوکورتکس و هیپوکامپ گردید که در مقدار  $10 \text{ mg/kg}$  از ممانتین این افزایش در نئوکورتکس  $241\%$  و در هیپوکامپ  $247\%$  گزارش شده است (۲۱). در مطالعات شیرمن و همکاران نیز که تأثیر تزریق حاد ممانتین بر غلظت‌های خارج نوروئی نوروترانسمیترهای متفاوت مورد بررسی قرار گرفته است ممانتین موجب افزایش معنی‌دار سطوح نوراپی نفرین، دوپامین و متابولیت‌های آن‌ها در نواحی قشری مغز و کاهش دوپامین در هیپوکامپ گردید. علاوه‌براین سطوح استیل کولین خارج سلولی نیز تحت تأثیر ممانتین در هسته‌ی اکومینس و نواحی تگمنتال شکمی افزایش یافت (۲۲). از طرف دیگر در مطالعه‌ی بر نوروئی‌های هیپوکامپ نشان داده شد که اثرات مهار غلظت‌های درمائی ممانتین بر گیرنده‌های  $\alpha 7 \text{ nACh}$  در مقایسه با گیرنده‌های NMDA بیشتر است (۱۳). در صورتیکه در مطالعات الکتروفیزیولوژیک در شرایط *in vitro* که ممانتین موجب افزایش انتقالات سیناپسی گردید، اسکوپولامین (آنتاگونیست موسکارینی استیل کولین) موجب مهار این تأثیر گردید اما MK-801 (آنتاگونیست NMDA) یا بیکوکولین (آنتاگونیست GABA) هیچ تأثیری بر این افزایش انتقالات سیناپسی نداشتند (۱۰).

از طرف دیگر در نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داده شد که تجویز اسیدفولیک موجب افزایش یادگیری و حافظه‌ی فضایی در موش‌های صحرایی نر بالغ تحت تیمار با ممانتین می‌گردد (نمودار ۳). در تجویز توام، از ممانتین با مقدار  $10$  میلی‌گرم بر کیلوگرم با اثرات کاهشی معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) بر یادگیری فضایی در مطالعه‌ی حاضر و اسیدفولیک با مقدار  $15$  میلی‌گرم بر کیلوگرم که مطالعات پیشین تأثیر معنی‌دار آن‌را بر بهبود اختلال یادگیری و حافظه ناشی از القای مدل کم‌کاری تیروئید از طریق مهار استرس اکسیداتیو و فعالیت استیل کولین استراز نشان داده‌اند (۱۷)، استفاده شده است. در مطالعات اسکندری و

همکاران نیز اثرات هم‌افزایی اسیدفولیک و دونپزیل در بهبود اختلالات حافظه‌ی فضایی با کاهش خطای حافظه‌ی مرجع و کارکردی در ماز شعاعی هشت بازویی در موش‌های صحرایی نر بالغ مدل بیماری آلزایمر نشان داده شده است (۲۳). چن و همکاران نیز در مطالعات خود نشان دادند که تیمار با اسیدفولیک در موش‌های ترانسژنیک تحت درمان با ممانتین موجب تنظیم مثبت رونویسی از  $72$  ژن مغزی دخیل در نوروزنز، تمایز عصبی و انتقالات عصبی و نیز بهبود یادگیری فضایی در ماز آبی موریس و کاهش آسیب عصبی در مقایسه با موش‌های ترانسژنیک تحت درمان با ممانتین می‌گردد (۲۴). در نتایج مطالعات الدیب و همکاران نیز که کاهش معنی‌دار سطوح استیل کولین، BDNF و گلوتاتیون ردوکتاز در موش‌های مدل آلزایمر القاء شده توسط اسکوپولامین نشان داده شده بود، تیمار با اسیدفولیک و ممانتین در گروه‌های مجزا موجب افزایش سطوح استیل کولین، BDNF و گلوتاتیون ردوکتاز گردید (۳). علاوه‌براین تأثیر اسیدفولیک بر بهبود اختلال شناختی در آزمون‌های ماز آبی موریس و احترازی غیرفعال، کاهش فعالیت استیل کولین استراز و سطوح MDA و نیز افزایش فعالیت SOD در مدل کم‌کاری تیروئید القاء شده توسط پروپیل تیواوراسیل (PTU) نیز نشان داده شده است (۶). از طرف دیگر در مطالعات مات و همکاران پیش درمان با اسیدفولیک ( $0.11/0 \text{ mol/g}$ ; ip) در موش‌های صحرایی  $22$  روزه به مدت  $7$  روز موجب بهبود اختلال در تثبیت حافظه‌ی کوتاه مدت و دراز مدت ناشی از تزریق حاد هموسیستئین بلافاصله پس از جلسات آموزش در آزمون اجتناب مهارتی پایین آمدن از سکو و نیز افزایش سطوح BDNF در هیپوکامپ گردید (۲۵) که این نتایج هم‌راستا با نتایج بدست آمده در این کار پژوهشی هستند. بنابراین در این کار پژوهشی نیز به نظر می‌رسد که اسیدفولیک احتمالاً با کاهش استرس اکسیداتیو و فعالیت

### حمایت مالی

این مقاله توسط هیچ سازمانی حمایت مالی نشده است.

### مشارکت نویسندگان

کلیه مراحل نگارش مقاله توسط خانم نسترن زمانی انجام شده است.

### ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه منشور و موازین اخلاق در پژوهش (کد اخلاق در پژوهش: EE/ 97, 24, 3061243/scu.ac.ir) مبنای کار قرار گرفته است.

استیل کولین استراز و نیز افزایش سطوح استیل کولین و BDNF موجب بهبود کاهش یادگیری و حافظه‌ی القاء شده پس از تیمار با ممانتین در موش‌های صحرایی نر بالغ می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

نویسنده‌ی این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به جهت همکاری و مساعدت در انجام این پروژه علمی- پژوهشی اعلام می‌نماید.

### تعارض منافع

نویسنده مقاله تصریح می‌کند که هیچ گونه تضاد منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

## References

- Harma A, Sahin MS, Zorludemir S. Effects of intraperitoneally administered folic acid on the healing of repaired tibial nerves in rats. *J Reconstr Microsurg.* 2015; 31(3): 191-197.
- Shalini T, Pullakhandam R, Ghosh S, Kulkarni B, Rajkumar H, Sachdev HS, et al. Prevalence of Vitamin B12 and Folate Deficiencies in Indian Children and Adolescents. *Nutrients.* 2023; 15(13): 3026.
- Eldeeb AA, Fathy AE, Elgendy SA. Differential potency of vitamin D3, folic acid and memantine in protecting against neurobehavioral alterations of scopolamine induced Alzheimer's model in rats. *Int J Basic Clin Pharmacol.* 2021; 10(5): 471-478.
- Cui S, Lv X, Li W, Li Z, Liu H, Gao Y, et al. Folic acid modulates VPO1 DNA methylation levels and alleviates oxidative stress-induced apoptosis in vivo and in vitro. *Redox Biol.* 2018; 19: 81-91.
- Koohpeyma H, Goudarzi I, Elahdadi Salmani M, Lashkarbolouki T, Shabani M. Folic Acid Protects Rat Cerebellum Against Oxidative Damage Caused by Homocysteine: the Expression of Bcl-2, Bax, and Caspase-3 Apoptotic Genes. *Neurotox Res.* 2020; 37(3): 564-577.
- Amirahmadi S, Hosseini M, Ahmadabady S, Akbarian M, Abrari K, Vafae F, et al. Folic acid attenuated learning and memory impairment via inhibition of oxidative damage and acetylcholinesterase activity in hypothyroid rats. *Metab Brain Dis.* 2021; 36(8): 2393-2403.
- Lipton SA, Kim WK, Choi YB, Kumar S, D'Emilia DM, Rayudu PV, et al. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94(11): 5923-5928.
- Samra YA, Kira D, Rajpurohit P, Mohamed R, Owen LA, Shakoor A, et al. Implication of N-Methyl-d-Aspartate Receptor in Homocysteine-Induced Age-Related Macular Degeneration. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(17): 9356.
- Kishi T, Matsunaga S, Oya K, Nomura I, Ikuta T, Iwata N. Memantine for Alzheimer's Disease: An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *J Alzheimers Dis.* 2017; 60(2): 401-425.
- Drever BD, Anderson WG, Johnson H, O'Callaghan M, Seo S, Choi DY, et al. Memantine acts as a cholinergic stimulant in the mouse hippocampus. *J Alzheimers Dis.* 2007; 12(4): 319-333.
- Reddy PH. A Critical Assessment of Research on Neurotransmitters in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2017; 57(4): 969-974.
- Zhao LX, Ge YH, Xiong CH, Tang L, Yan YH, Law PY, et al. M1 muscarinic receptor facilitates cognitive function by interplay with AMPA receptor GluA1 subunit. *FASEB J.* 2018; 32(8): 4247-4257.
- Aracava Y, Pereira EF, Maelicke A, Albuquerque EX. Memantine blocks alpha7\* nicotinic acetylcholine receptors



- more potently than n-methyl-D-aspartate receptors in rat hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005; 312(3): 1195-1205.
14. Creeley C, Wozniak DF, Labruyere J, Taylor GT, Olney JW. Low doses of memantine disrupt memory in adult rats. *J Neurosci.* 2006; 26(15): 3923-3932.
  15. Zoladz PR, Campbell AM, Park CR, Schaefer D, Danysz W, Diamond DM. Enhancement of long-term spatial memory in adult rats by the noncompetitive NMDA receptor antagonists, memantine and neramexane. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006; 85(2): 298-306.
  16. Zamani N, Moazedi AA, Afarinesh Khaki MR, Pourmehdi Boroujeni M. Effect of memantine on spatial learning and memory in electrical lesions model of nucleus basalis magnocellularis: animal model of Alzheimer's disease. *J Gorgan Univ Med Sci* 2018; 20 (1) :43-50 (In Persian).
  17. Amirahmadi S, Hosseini M, Ahmadabady S, Akbarian M, Abrari K, Vafae F, et al. Folic acid attenuated learning and memory impairment via inhibition of oxidative damage and acetylcholinesterase activity in hypothyroid rats. *Metab Brain Dis.* 2021; 36(8): 2393-2403.
  18. Ataie A, Ataee R, Shadifar M, Shahabi S, Aghajanzpour SM, Hosseinpour Y. Interaction of Memantine with Homocysteine on the Apoptosis in the Rat Hippocampus cells. *Int J Mol Cell Med.* 2012; 1(3): 145-152.
  19. Hoveida R, Moazedi AA, Rasekh AR. The effect of intra-Hippocampal CA1 area injection of Estradiol Benzoate on the spatial learning and memory in adult male rats. *Modares Journal of Medical Sciences* 2005; 7(2): 115-124 (In Persian).
  20. Szegedi V, Juhász G, Parsons CG, Budai D. In vivo evidence for functional NMDA receptor blockade by memantine in rat hippocampal neurons. *J Neural Transm (Vienna).* 2010; 117(10): 1189-1194.
  21. Ihalainen J, Sarajärvi T, Rasmusson D, Kemppainen S, Keski-Rahkonen P, Lehtonen M, et al. Effects of memantine and donepezil on cortical and hippocampal acetylcholine levels and object recognition memory in rats. *Neuropharmacology.* 2011; 61(5-6): 891-899.
  22. Shearman E, Rossi S, Szasz B, Juranyi Z, Fallon S, Pomara N, et al. Changes in cerebral neurotransmitters and metabolites induced by acute donepezil and memantine administrations: a microdialysis study. *Brain Res Bull.* 2006; 69(2): 204-213.
  23. Eskandary A, Moazedi AA. Effect of co-administration of donepezil and folic acid on spatial memory impairment in adult male rat model of Alzheimer's disease. *J Qazvin Univ Med Sci.* 2018; 22(5): 14-25 (In Persian).
  24. Chen TF, Huang RF, Lin SE, Lu JF, Tang MC, Chiu MJ. Folic Acid potentiates the effect of memantine on spatial learning and neuronal protection in an Alzheimer's

- disease transgenic model. *J Alzheimers Dis.* 2010; 20(2): 607-615.
25. Matté C, Pereira LO, Dos Santos TM, Mackedanz V, Cunha AA, Netto CA, et al. Acute homocysteine administration impairs memory consolidation on inhibitory avoidance task and decreases hippocampal brain-derived neurotrophic factor immunocontent: prevention by folic acid treatment. *Neuroscience.* 2009; 163(4): 1039-1045.

## Effect of Coadministration of Memantine and Folic Acid on Spatial Learning and Memory in Adult Male Rats

**Zamani NI\***

I. Assistant Professor, Department of Biology, School of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran,  
na\_zamani2000@pnu.ac.ir

Received: 2024/3/4 Accepted: 2024/8/12

### Abstract

**Background:** Memantine (MEM) is an NMDA receptor antagonist and one of the drugs approved for the treatment of Alzheimer's patients. In some previous studies, folic acid, or vitamin B9, which is also a water-soluble vitamin, has been demonstrated to improve cognitive disorders. The present study aimed to assess the effect of memantine and its combined administration with folic acid on learning and spatial memory in adult male rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, male Wistar rats were randomly assigned to six groups of 7: control, solvent (saline), memantine mg/kg; (i.p.) 10,5,3 (MEM and 10 mg/kg MEM - 15 mg/kg FA. Folic acid treatment was performed for seven days, starting two days before training, and memantine treatment for five days and 30 minutes before training. The rats were trained for five days with a Y-shaped maze device. Following that, 24 days after the training, a memory recall test was performed to evaluate long-term memory. Data analysis was performed using SPSS software (version 16).

**Results:** Based on the results of this study, the comparison between the 5 mg/kg MEM ( $p < 0.05$ ) and 10 mg/kg MEM ( $p < 0.001$ ) groups with the control group pointed to a significant decrease in learning and spatial memory. A significant increase was detected in learning and spatial memory in the group of 10 mg/kg MEM - 15 mg/kg FA compared to the group that received 10 mg/kg MEM ( $P < 0.05$ ). Moreover, in this study, the memory recall test results on the 30th day illustrated a significant decrease in learning and spatial memory compared to the 5th day of training in the groups of 10 mg/kg MEM and 10 MEM - 15 mg/kg FA ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** As evidenced by the results of this study, a dose-dependent decrease was observed in learning and spatial memory in the Y-shaped maze test in rats treated with memantine. In addition, in the administration of memantine and folic acid, a marked improvement was detected in learning disorder and spatial memory caused by memantine in adult male rats.

**Keywords:** Acetylcholine, Folic acid, Memantine, NMDA receptor, Spatial learning.

\***Citation:** Zamani N. Effect of Coadministration of Memantine and Folic Acid on Spatial Learning and Memory in Adult Male Rats. *Yafte*. 2024; 26(2):86-96.