IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران
سال ۱۴۰۳، دوره ۸، پیاپی ۱۸، صفحه ۳۱-۲۳

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات کوتاه مدت و بلند مدت پم-۳-سیس برحافظه فضایی موش صحرایی

محبوبه کامرانی مهنی[۱،۲]، مریم هوشمند[۲،۳]، محمد سیاح[۲*]، حمید غلامی پوربدیع[۲*]، مرتضی زنده‌دل[۱]

۱. بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲. بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۳. دانشکده علوم، بخش شیمی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

دریافت: ۲۵ بهمن ۱۴۰۲ پذیرش:۶ خرداد ۱۴۰۳

چکیده

زمینه و هدف: پم-۳-سیس یک اگونیست ضعیف گیرنده‌های شبه تول نوع ۱ و ۲ است که قادر است ازطریق مهار ترشح سایتوکاین‌های التهابی و افزایش ترشح سایتوکاین‌های ضدالتهابی اختلال یادگیری و حافظه در مدل حیوانی بیماری آلزایمر را مهار کند و به‌این‌ترتیب در بهبود عملکرد حافظه موثر باشد. در این مطالعه، اثر داروی پم-۳-سیس به تنهایی بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی سالم بررسی شد.

روش‌ها: این مطالعه بر روی ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ ۴۵ روزه نژاد ویستار با وزن ۲۷۰-۲۵۰ گرم انجام شد. موش‌ها به‌طور تصادفی در شش گروه (۸ سر در هر گروه) شامل دو گروه کنترل ۷ و ۲۸ روز، دو گروه شم ۷ و ۲۸ روز و دو گروه دارو ۷ و ۲۸ روز قرار گرفتند. روند یادگیری حافظه فضایی تمام موش‌ها با استفاده از ماز آبی موریس به مدت پنج روز و هر روز چهار جلسه تمرین برای یافتن سکوی پنهان انجام شد. در آخرین روز دوره یادگیری، تزریق از راه داخل بطنی بافر فسفات (گروه شم) و یا پم-۳-سیس (۱ میکروگرم بر ۵ میکرولیتر به ازای هرموش) انجام شد. ۷ و ۲۸ روز پس از تزریق، با اندازه‌گیری مدت زمان، سرعت و مسافت طی شده در ربع دایره هدف حافظه موش‌ها سنجیده شد.

یافته‌ها: در مرحله یادگیری، تفاوت معناداری بین گروه‌ها از نظر زمان صرف شده و همچنین مسافت طی‌شده در ربع دایره هدف و سرعت پیمایش مسافت توسط حیوان ، مشاهده نشد. در زمان‌های ۷ و ۲۸ روز پس از دوره یادگیری، نیز تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر فراخوانی حافظه بین گروه حیواناتی که پم-۳-سیس دریافت نمودند با گروه حیوانات کنترل و همچنین شم وجود نداشت ($p > ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: پم-۳-سیس با دوز استفاده شده در این مطالعه در کوتاه‌مدت و بلندمدت تأثیری بر عملکرد حافظه فضایی موش‌های صحرایی ندارد. همچنین به‌علت عدم تأثیر بر موش سالم، می‌تواند به‌عنوان داروی مطمئن در شرایط بیماری مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پم-۳-سیس، حافظه فضایی، مازآبی موریس، موش صحرایی

مقدمه

حافظه فرایندی است که توسط آن اطلاعات اکتسابی از طریق یادگیری ذخیره[1] شده و مجددا بازخوانی[2] می‌شود. برای‌این‌که یک تجربه قسمتی از حافظه شود، باید تغییرات عملکردی و ساختاری پایدار ایجاد گردد [۱]. مطالعات رفتاری و زیست‌شناسی نشان می‌دهند که یادگیری و حافظه از فرایندهای متعدد مجزایی تشکیل شده‌اند. همان‌طورکه می‌دانیم یادگیری، فرایند کسب اطلاعات جدید از دنیای اطراف است در حالیکه حافظه به قابلیت حفظ و بازخوانی این اطلاعات گفته می‌شود [۲]. اساس ایجاد یادگیری و حافظه، تغییر در قدرت ارتباطات سیناپسی است که در بخش‌های مختلفی از سیستم عصبی بخصوص هیپوکمپ، اتفاق می‌افتد [۳]. اکنون مشخص شده است که اشکال متعددی از حافظه وجود دارد که از طریق تغییر در پاسخ‌های رفتاری یا فیزیولوژیکی ظاهر می شود. یکی از این اشکال حافظه، حافظه فضایی است که به یکپارچگی هیپوکمپ بستگی دارد [۴]. هیپوکامپ اطلاعات فضایی و غیرفضایی محیط را از طریق قشر انتورینال جنبی و

[1] Storage
[2] Retrieve

* نویسندگان مسئول مکاتبات: h_gholamipour@pasteur.ac.ir (ORCID: 0000-0002-7634-7428)
(ORCID: 0000-0003-0603-2444)sayyahm2@pasteur.ac.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-09-01]

میانی می‌گیرد در نتیجه هر آسیبی به هیپوکامپ با نقص در توانایی‌های حافظه فضایی و یادگیری در ارتباط است [۵]. حافظه فضایی شامل توانایی رمزگذاری، ذخیره و بازیابی اطلاعات در مورد مکان ها، پیکربندی‌ها یا مسیرهای مکانی است [۶]. این نوع از حافظه در جهت‌یابی فضایی و رفتار جستجوگرانه دخیل است.

اختلال درحافظه، نقص در توانایی به‌خاطرسپردن و یادآوری وقایع است. این اختلال به‌عنوان نشانه‌ای از وجود بیماری است. بیماری‌های زیادی از جمله بیماری‌های عصبی، بیماری‌های نورودژنراتیو، آسیب‌های مغزی و حتی سمیت در اختلال حافظه دخیل هستند [۷]. تخمین زده می‌شود که در حال حاضر بیش از ۴۷ میلیون نفر در جهان به زوال عقل مبتلا هستند. بیماری آلزایمر شایع ترین علت زوال عقل در سراسر جهان است [۸]. اختلال عملکرد عصبی با افزایش سن، به‌ویژه با ایجاد اختلال در ناقل‌های عصبی منجر به ایجاد علائم شناختی مرتبط با بیماری آلزایمر می‌شود. متأسفانه، گزینه های درمانی فعلی فقط موجب تسکین علائم می‌شوند و بر روند پیشرونده بیماری تاثیری ندارند. بنابراین، جستجو برای عوامل یا استراتژی های درمانی محافظ عصبی ادامه دارد. امروزه نیاز ضروری برای درمان‌های موثرتر دارویی بیماری های مغزی مانند آلزایمر احساس می‌شود [۹].

تری‌پالمیتیل-اس-گلیسریل سیستئین[3] یا به اختصار پم-۳-سیس[4] فرم مصنوعی ناحیه N-ترمینال لیپوپروتئین براون است. لیپوپروتئین براون ساختاری در غشای باکتری‌های گرم منفی است که به داخل غشای داخلی و خارجی باکتری فرو رفته است. پم-۳-سیس با تحریک سیستم ایمنی و ماکروفاژها موجب تولید آنتی‌بادی برعلیه برخی بیماری‌های ویروسی مثل ویروس آنفلوانزا می‌گردد [۱۰]. مطالعات نشان داده است که به‌علت عمل تحریکی پم-۳-سیس این ماده یاری‌گر مناسبی برای تحریک سیستم ایمنی بوده و مطالعات بالینی استفاده از پم-۳-سیس را به‌عنوان واکسن تایید کرده‌اند [۱۱]. در مطالعات قبلی نشان داده شده است پم-۳-سیس، قادر است ازطریق مهار ترشح سایتوکاین‌های التهابی و افزایش ترشح سایتوکاین‌های ضدالتهابی اختلال یادگیری و حافظه در مدل حیوانی بیماری آلزایمر را مهار کند و به‌این‌ترتیب در بهبود عملکرد حافظه موثر باشد [۱۲]. در این مطالعه، اثر بهبوددهنده پم-۳-سیس بر حافظه موش‌ها ۲۴ ساعت بعد از تزریق دارو بررسی گردیده شده و به‌تنهایی تاثیری بر عملکرد حافظه نداشته است [۱۲]. در تحقیق دیگری که بر روی اثر پم-۳-سیس بر آسیب‌های مغزی از جمله منتژیت، ایسکمی و آلزایمر انجام شده است به نقش حفاظتی پم-۳-سیس و اثرات درمانی آن در دوز کم (۰/۱ میکروگرم بر میکرولیتر) اشاره شده است [۱۳]. با عنایت به‌این‌که بسیاری از پاسخ‌های ایمنی، فوری نبوده و معمولا پس از یک دوره تاخیری ظاهر می شوند به نظر می‌رسد عدم تاثیر پم-۳-سیس بر حافظه در زمان ۲۴ ساعت پس از تزریق ناشی از همین مساله باشد [۱۲]. برهمین‌اساس، در مطالعه حاضر تاثیر پم-۳-سیس بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی در زمان‌های ۷ و ۲۸ روز بعد از تزریق دارو مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط آزمایشگاهی

۴۸ سر موش صحرایی ۴۵° روزه نر نژاد ویستار به وزن ۲۵۰ ± ۲ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. موش‌ها در شرایط استاندارد دمای ۲ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آسان به آب و غذا، نگهداری شدند. تمامی آزمایشات مطابق با کتاب راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و کلیه روش‌ها مورد تایید کمیته اخلاق تحقیق موسسه نیماد (IR.NIMAD.REC.1402.069) بوده است.

مراحل انجام ماز آبی موریس

الف- مرحله یادگیری یا آموزش

طی این مرحله، حیوان از یکی از سمت‌های چهارگانه (شمال جنوب، مشرق، مغرب) ماز درحالی‌که روی آن به طرف دیواره ماز بود، در آب رها می‌شد؛ لازم به ذکر است که انتخاب ناحیه شروع آزمایش به‌طور تصادفی بوده، و به‌وسیله برنامه نرم‌افزاری پیشنهاد می‌گردید. همزمان با رها شدن حیوان در ماز دگمه حسگر برنامه که در هر چهار سوی ماز نصب شده است، فشار داده می‌شد و مرحله ثبت آزمایش شروع می‌گردید. باتوجه‌به اندازه ماز و نوع حیوان (موش صحرایی) حداکثر زمان آزمایش ۶۰ ثانیه درنظر گرفته شد. حیوان پس از قرار گرفتن در

[3] tri-palmitoyl-S-glyceryl-cysteine
[4] Pam3Cys
[5] Rat

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-09-01]

آب شروع به شنا می‌کند. به‌طورمعمول، در جلسات اولیه‌ی آزمایش، حیوان برای فرار از آب در کناره‌ی دیواره ماز به شنا می‌پردازد اما به مرور در جلسات بعدی به بخش‌های میانی‌تر نیز وارد می‌شود. به‌هرحال اگر حیوان به‌طور اتفاقی سکوی پنهان زیر آب را پیدا می‌کرد، روی آن قرار می‌گرفت. دراین‌صورت به حیوان اجازه داده می‌شد تا به مدت ۲۰ ثانیه روی سکو بماند و با جستجوی اطراف و دیدن علایم موجود در آزمایشگاه موقعیت خود را شناسایی کند. این موضوع به حیوان کمک می‌کند تا در جلسات بعدی آزمایش با استفاده از علایم بینایی موجود در اتاق محل آزمایش، جایگاه محل سکو را پیدا نماید. لازم به ذکر است که هم علایم فضایی موجود در محل آزمایش هم موقعیت سکو در یکی از چهار قسمت ماز (جنوب غربی) درطول آزمایشات ثابت بود. در هر صورت اگر در مدت ۶۰ ثانیه موش نمی‌توانست سکو را پیدا کند، آزمایش‌کننده به‌آرامی حیوان را به سمت سکو هدایت می‌کرد تا اینکه موش سکو را یافته و برای ۲۰ ثانیه روی آن قرار می‌گیرد. این پدیده اغلب در اولین جلسات آزمایش اتفاق می‌افتد. پس از گذشت این زمان، حیوان از سکو برداشته شده، بعد از خشک‌شدن با یک حوله به قفس خود برگردانده می‌شد. پس از ۱۰ دقیقه آزمایش بار دیگر تکرار می‌گردید. با این تفاوت که محل رهاشدن موش در ماز نسبت به مرحله قبل متفاوت بود. هر موش ۴ جلسه روزانه با فاصله ۱۰ دقیقه ای را تجربه می‌کرد [۱۴]. در مجموع این مرحله آزمایش به مدت ۵ روز طول کشید که طی آن ۲۰ جلسه آزمایش رو حیوانات انجام گرفت. در آخرین روز دوره یادگیری، تزریق داخل بطنی بافر فسفات (گروه شم) و یا پم-۳-سیس (۱ میکروگرم بر۵ میکرولیتر به ازای هرموش) انجام شد.

ب- مرحله بازخوانی یا پروب[6]

پس از پایان مرحله یادگیری، باتوجه‌به این‌که حیوان محل سکوی پنهان را شناسایی و بخاطر سپرده است، سکو از ماز برداشته شده و به هر حیوان۶۰ ثانیه فرصت شناکردن داده می‌شد. به‌دلیل عدم وجود سکو، پس از پایان زمان تعیین‌شده، موش از ماز برداشته می‌شد. این مرحله از آزمایش برای هر موش یکبار انجام شده و درصد حضور حیوان در ربع دایره هدف ماز، که قبلا در آن سکو وجود داشت، به‌عنوان معیاری از اکتساب و فراخوانی حافظه فضایی درنظر گرفته شد. درمرحله پروب یا بازیابی حافظه، مدت زمان طی شده توسط موش در ربع هدف، مسافت طی شده تا رسیدن به ربع دایره هدف، و همچنین سرعت موش در هر دو گروه در روزهای ۷، و ۲۸ ام پس از آخرین روز یادگیری بررسی گردید [۱۵].

ج- آزمون سکوی آشکار

از آن‌جایی‌که اختلال دقت بینایی و توانایی حسی-حرکتی می‌تواند نتایج حاصل از آزمون شناختی را تحت تاثیر قرار دهد یک روز پس از آزمون پروب (روز ۱۵ یا ۲۹) از آزمون سکوی آشکار که به جهت‌گیری فضایی نیاز ندارد برای بررسی احتمال تداخل این عوامل بر توانایی حیوان در رسیدن به سکو استفاده شد. این آزمون همانند آزمون سکوی پنهان انجام شد با این تفاوت که سکو یک سانتی متر بالاتر از سطح آب و در ربع مقابل دایره هدف قرار می‌گرفت. حیوانات، هرکدام سه بار و هر بار از یک ربع ماز، وارد ماز شدند و با پیدا کردن سکو و قرار گرفتن حیوان برروی آن، زمان و سرعت پیدا کردن سکو، ثبت می‌شد [۱۶].

جراحی استریوتاکسی و تزریق پم-۳-سیس

موش‌های صحرایی با استفاده از تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (کیلوگرم بر میلی‌گرم ۱۰۰) ساخت شرکت Beremer Pharma، آلمان) و زایلازین (کیلوگرم بر میلی‌گرم ۱۰) ساخت شرکت Alfasan، هلند) بیهوش شدند. پس از اطمینان از ایجاد بیهوشی عمیق، مختصات بطن طرفی چپ مغز موش با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون تعیین و روی سطح جمجمه علامت گذاری گردید (از برگما ۰/۹ میلی‌متر به طرف عقب، و ۱/۸ میلی‌متر به طرف چپ). ناحیه علامت‌گذاری‌شده توسط مته دندان‌پزشکی و تحت شرایط استریل سوراخ شد. سپس ۵ میکرولیتر پم-۳-سیس (ساخت شرکت Abcam، آمریکا) با غلظت ۱ میکروگرم بر ۵ میکرولیتر به ازای هر موش به‌وسیله سرسوزن شماره ۲۷ وصل شده به سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری به‌آهستگی داخل بطن جانبی مغز (در ناحیه علامت‌گذاری از قبل و عمق ۳/۵ میلی‌متر از سطح سخت شامه به‌طرف داخل مغز) تزریق گردید. این دوز تزریقی براساس مطالعات قبلی در مورد اثر پم-۳-سیس بر آسیب های مغزی از جمله منتژیت، ایسکمی و آلزایمر انتخاب

[6] Probe

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-09-01]

شد [۱۲]. حلال پم-۳-سیس در این بررسی، بافر فسفات با pH محدوده ۷/۵ بود که حجم ۵ میکرولیتر آن به‌داخل بطن جانبی مغز تزریق می‌شد. در انتها سطح جمجمه با آنتی‌بیوتیک ضدعفونی شد و ناحیه جراحی شده بوسیله آکریل آمید خودپخت (ساخت شرکت Marlic medical industries، ایران)، پوشانده شد. سپس موش‌ها به محلی گرم منتقل شدند تا بهوش آیند.

اطمینان از تزریق دارو در بطن جانبی

رنگ تریپان بلو ۲۵ درصد با حجم ۱۰ میکرولیتر به بطن چپ حیوان تزریق می‌شد. سپس موش‌ها با دی‌اکسیدکربن معدوم می‌شدند. پس از جدا کردن سر، مغز را درآورده و در داخل ماتریکس مخصوص مغز قرار داده می‌شد. به‌وسیله تیغ مخصوص برش‌های کرونال با ضخامت ۲ میلی‌متر از مغز گرفته می‌شد. با مشاهده رنگ تریپان بلو در بطن چپ مغز، محل درست تزریق، تأیید می‌گردید.

گروه‌بندی آزمایشات

موش‌های صحرایی به‌مدت پنج روز تحت آموزش ماز آبی موریس قرار گرفتند. سپس موش‌ها به‌طور تصادفی به شش گروه و هر گروه به هشت سر موش تقسیم شدند. الف- گروه کنترل۷ روز؛ حافظه موش‌ها پس از یادگیری ماز آبی در روز ۷ بررسی شد. ب- گروه کنترل ۲۸ روز؛ حافظه موش‌ها پس از یادگیری ماز آبی در روز ۲۸ بررسی شد. پ- گروه شم + بافر فسفات۷ روز؛ پس از یادگیری ماز آبی، بافر فسفات استریل به‌داخل بطن طرفی مغز تزریق‌شده و حافظه در روز ۷ پس از تزریق بررسی شد. ت- گروه شم + بافر فسفات ۲۸ روز؛ پس از یادگیری ماز آبی بافر فسفات استریل به داخل بطن طرفی مغز تزریق شده و حافظه در روز ۲۸ پس از تزریق بررسی شد؛ ث- گروه دارو ۷ روز؛ پس از یادگیری ماز آبی، پم-۳-سیس به‌داخل بطن طرفی مغز تزریق شده و حافظه در روز ۷ پس از تزریق بررسی شد؛ ج- گروه دارو ۲۸ روز؛ پس از یادگیری ماز آبی، پم-۳-سیس به‌داخل بطن طرفی مغز تزریق و حافظه فضایی در روز ۲۸ پس از تزریق بررسی شد (شکل ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج بدست آمده از داده‌ها توسط نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۹ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها بصورت میانگین ± میانگین انحراف معیار استاندارد (mean ± SEM) بیان شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا توزیع نرمال داده‌ها با تست شاپیروپویلک بررسی و تأیید شد. سپس با توجه به توزیع نرمال داده‌ها از آنالیز واریانس دو طرفه[7] (ANOVA) و تست تکمیلی توکی استفاده شد. $p < ۰/۰۵$ ملاک معنی‌داربودن تفاوت بین میانگین داده‌ها در هر دو گروه مورد مطالعه در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مرحله یادگیری

باتوجه‌به نمودار ۱، مدت زمان، مسافت لازم برای رسیدن به ربع دایره هدف و سرعت پیمایش مسافت توسط حیوان در ماز هدف، در طی روزهای یادگیری، کاهش پیدا کرد.

مرحله بازخوانی (پروب)

الف - مدت زمان سپری شده در ربع هدف

در نمودار ۲الف، با آنالیز واریانس دوطرفه و تست تکمیلی توکی، در روز۷ و ۲۸ پس از آخرین روز مرحله یادگیری، تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل با گروه‌های شم + PBS و پم-۳-سیس، از نظر زمان صرف‌شده در ربع دایره هدف، مشاهده نشد [$F(۲,۳۹) = ۱/۳۱$ ، $p > ۰/۰۵$] .

ب- مسافت طی شده

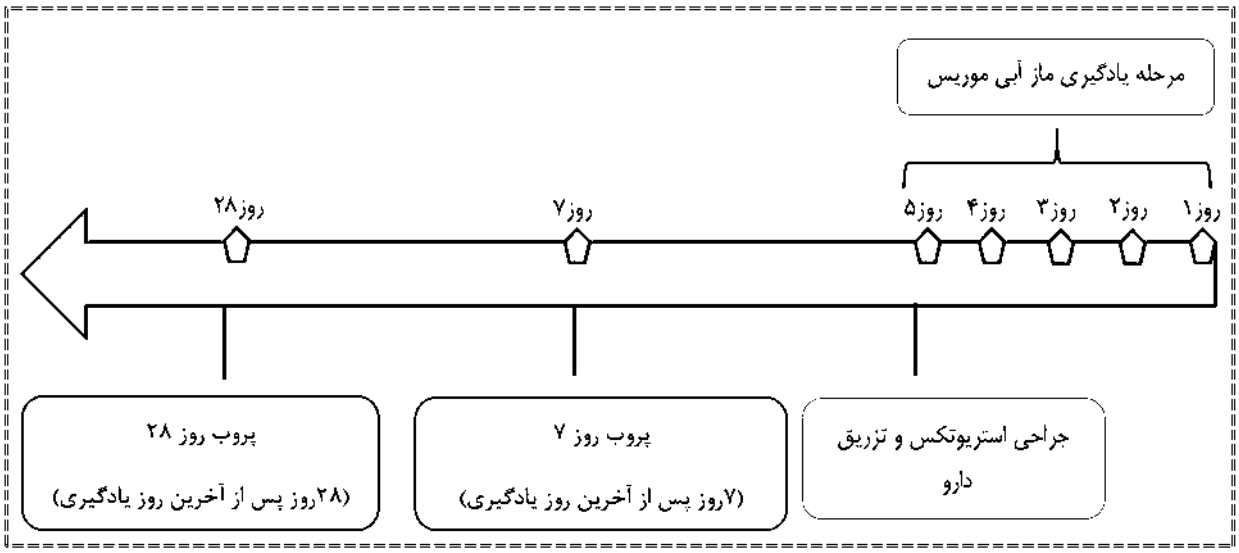
باتوجه‌به نمودار ۲ب، با آنالیز واریانس دوطرفه و تست تکمیلی توکی، مسافت طی شده جهت یافتن سکو در ربع دایره هدف در هر دو پروب ۷ و ۲۸ تفاوت معناداری بین گروه‌های کنترل، شم + PBS و پم-۳-سیس وجود نداشت [$F(۲,۴۲) = ۰/۹۷$ ، $p > ۰/۰۵$].

ج- سرعت پیمایش مسیر در ربع هدف

با توجه به نمودار ۲ج، مقایسه سرعت پیمایش مسیر توسط حیوان در روزهای ۷ و ۲۸ با آنالیز واریانس دوطرفه و تست تکمیلی، تفاوت معناداری بین

[7] Two-way analysis of variance

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-09-01]



شکل ۱- برنامه زمانی دوره یادگیری در ماز آبی موریس به مدت ۵ روز ، جراحی استریوتکس ،تزریق پم-۳-سیس و دوره بازخوانی حافظه موش صحرایی

گروه‌های کنترل، شم + PBS و پم-۳-سیس مشاهده نشد [$F(۲،۳۶) = ۰/۲۰$ ،$p = ۰/۸۱$].

پ- سرعت و مدت زمان پیدا کردن سکوی آشکار در آزمون حسی-حرکتی

نمودار ۳ نتایج آزمون حسی-حرکتی را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس دوطرفه و تست تکمیلی توکی نشان داد مدت زمان صرف‌شده جهت رسیدن به سکوی آشکار تفاوت معناداری در هر سه گروه کنترل، شم + PBS و پم-۳-سیس نداشت [$F(۲،۴۲) = ۰/۲۷۷۲$ ،$p = ۰/۷۵۹۳$]. همچنین سرعت حیوان جهت رسیدن به سکوی آشکار در ربع هدف در گروه‌های کنترل، شم + PBS و پم-۳-سیس در روزهای ۷ و ۲۸ تفاوت معنی‌داری نداشت [$F(۲،۴۲) = ۱/۱۵۱$ ،$p = ۰/۳۲$].

ارزیابی هیستولوژیک محل تزریق

با توجه به شکل ۲ ناحیه درست تزریق در بطن چپ مغز، تأیید شد.

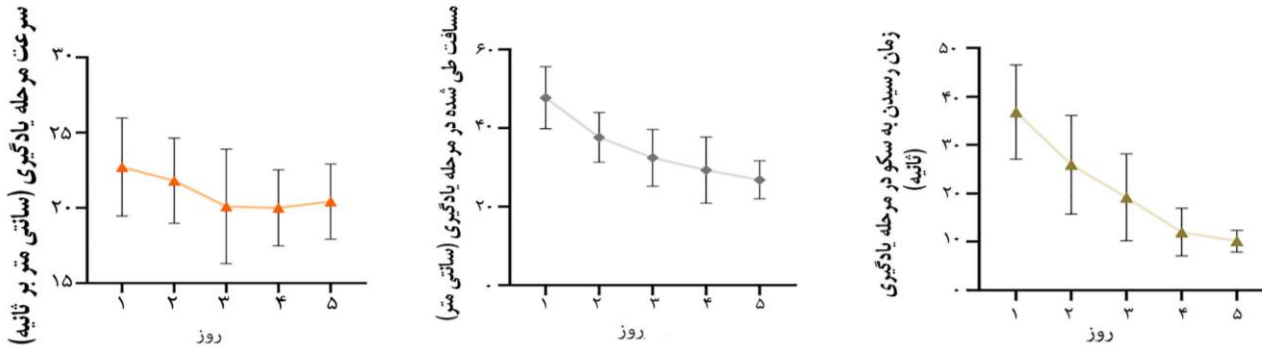
بحث

در نتایج بدست آمده با استفاده از ماز آبی موریس، در روز آخر مرحله یادگیری، موش‌ها ربع دایره هدف را کاملا بخاطر داشتند. زمان و مسافت طی شده و سرعت پیمایش توسط حیوانات جهت رسیدن به سکوی مخفی طی مرحله یادگیری در ربع دایره هدف درحیوانات مورد مطالعه بصورت معنی‌دار کاهش یافت. به‌عبارت‌دیگر می‌توان گفت که در پایان دوره یادگیری، موش‌های مورد مطالعه، ناحیه سکوی مخفی را بخاطر داشتند. با تزریق پم-۳-سیس، در مرحله پروب، زمان و مسافت طی شده در ربع دایره هدف و سرعت پیمایش توسط حیوانات، چه در کوتاه‌مدت و چه در بلندمدت مشابه با نمونه کنترل و شم بود. به‌عبارت‌دیگر حیوانات با مشکلات در حافظه فضایی روبرو نبودند و محل سکو را بخاطر داشتند.

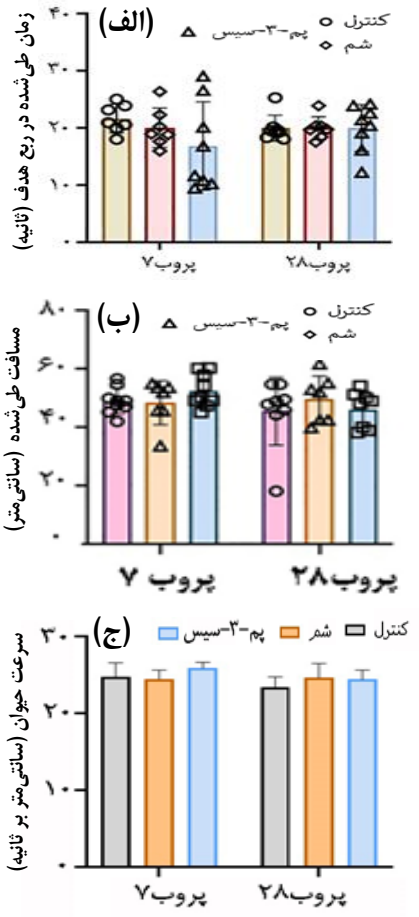
در مطالعه حاضر، مرحله یادگیری با مدل ماز آبی موریس بود که یکی از رایج ترین مدل‌های یادگیری و حافظه فضایی در جوندگان است. مدل ماز آبی موریس در سنجش توانایی هیپوکامپ در ردیابی موقعیت فضایی استفاده می‌شود و روشی ایده‌آل برای بررسی نقش دارو در بررسی‌های بلند مدت می‌باشد [۱۷]. ماز آبی موریس یک آزمون قوی و قابل اعتماد است که به‌شدت با پلاستیسیته سیناپسی هیپوکامپ در ارتباط می‌باشد [۱۸]. یافته‌های حاضر در مرحله یادگیری با مدل ماز آبی ۵ روزه با نتایج تحقیقات ورهیز[8] و همکاران [۱۴] همسو بود، آن‌ها نشان دادند که سرعت موش‌ها در پیدا کردن سکوی مخفی با پیشرفت مرحله یادگیری، افزایش یافت به‌صورتی‌که در روز آخر مرحله یادگیری (روز پنجم) به بیشترین سرعت خود

[8] Vorhees

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-09-01]

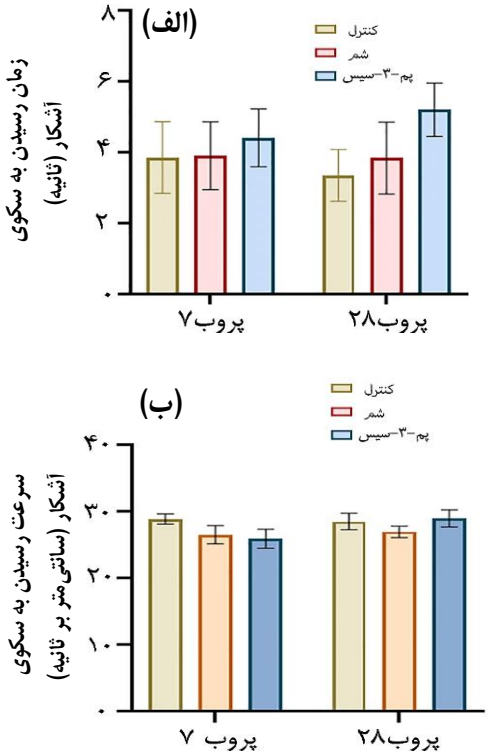


نمودار ۱- روند یادگیری موش‌ها در ماز آبی موریس. الف) مدت زمان رسیدن به سکو، ب) مسافت طی‌شده جهت یافتن سکوی پنهان و ج) سرعت پیمایش مسافت توسط حیوانات گروه‌های مورد مطالعه در روزهای مختلف مرحله یادگیری را نشان می‌دهند. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار حاصل از مجموع جلسات انجام شده برای حیوانات هر گروه طی یک روز نمایش داده شده است (n = ۴۸).



نمودار ۲- تاثیر پم-۳-سیس بر فراخوانی حافظه فضایی در مدل ماز آبی موریس. الف) مدت زمان طی‌شده در ربع دایره هدف، ب) مسافت طی‌شده و ج) سرعت حیوانات گروه‌های مورد مطالعه (۸ سر موش صحرایی در هر گروه) در روزهای آزمایش ۷ و ۲۸. در گروه‌های مورد مطالعه در پروب ۷ و پروب ۲۸ بین گروه کنترل با شم و پم-۳-سیس هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار حاصل از مجموع جلسات انجام شده برای حیوانات هر گروه طی یک روز نمایش داده شده است.

رسید. جئونگ[9] و همکاران نیز با استفاده از پروتکل دوره یادگیری ۵روزه، نشان دادند که زمان رسیدن حیوانات به سکوی مخفی به طرز معنی‌داری کاهش یافت [۱۵]. در مطالعه حاضر حیوانات گروه تیمار شده با پم-۳-سیس، نیز در مرحله پروب، عملکرد مشابه با حیوانات گروه‌های کنترل و شم داشتند.

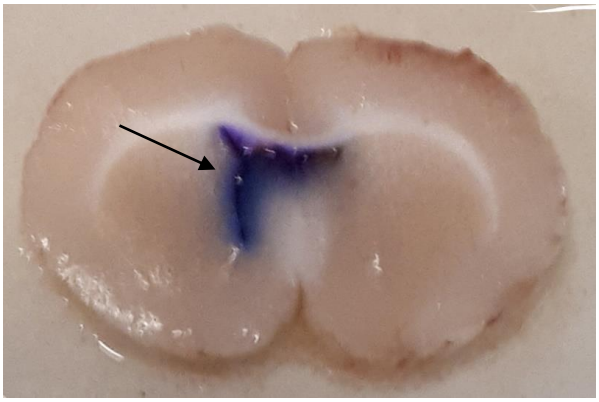


نمودار ۳- تاثیر پم-۳-سیس بر زمان رسیدن و سرعت حیوانات به سکوی آشکار در تست حسی-حرکتی. الف) زمان رسیدن حیوانات به سکو آشکار، ب) سرعت رسیدن حیوانات به سکو آشکار. در هر دو فاکتور، تفاوت معناداری بین گروه‌های کنترل، شم و پم-۳-سیس وجود نداشت

[9] Jeong

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-09-01]

(n = ۸).



شکل۲- تزریق تریپان بلو در بطن چپ مغز و تأیید محل تزریق.

تحقیقات ازقبل‌انجام‌شده نشان می‌دهد که پم-۳-سیس یک اگونیست گیرنده های شبه تول[10] (TLRs)، نوع ۲ (TLR2) می‌باشد که بعنوان ادجوانت در فرمولاسیون واکسن‌های انسانی استفاده می شود [۱۹]. این ماده با تحریک گیرنده TLR2 موجب تحریک ترشح سایتوکاین‌هایی همچون اینترلوکین ۱۰ و ۱۲ و نیز عامل نکروزه کننده تومور آلفا می‌گردد. TLRs واسطه پاسخ التهابی سیستم ایمنی ذاتی هستند. آن‌ها توسط اجزای باکتریایی، ویروسی و قارچی یا رشته‌های RNA یا DNA خاص فعال می‌شوند [۲۰،۲۱]. مطالعات نشان داده است چنانچه پم-۳-سیس با دوز کم و قبل از ایجاد ضایعه یا التهاب تجویز گردد قادر است مانع از ترشح سایتوکاین‌های التهابی شده و موجب محافظت سلول‌های عصبی در مقابل التهاب ناشی از بتا آمیلوئید [۱۲] یا ضربه مغزی گردد [۲۳، ۲۲]. پور بدیع و همکارانش نشان دادند دوز ۱میکروگرم بر میکرو لیتر پم-۳-سیس قادر به تحریک میکروگلیا در شرایط آزمایشگاهی است و همین دوز را داخل مغز موش‌ها تجویز و پروب ۲۴ ساعت بعد از تزریق را گرفتند [۱۲]. با این دوز پم-۳-سیس به تنهایی اثری روی حافظه نداشت ولی توانست اختلال در حافظه فضایی و کاری در مدل حیوانی بیماری آلزایمر را مهار کند [۱۲]. آن‌ها همچنین اثر کوتاه مدت پم-۳-سیس بر حافظه (۲۴ ساعت) پس از تزریق را بررسی کردند و اثری از پم-۳-سیس به تنهایی بر حافظه فضایی ندیدند. با توجه به اینکه پم-۳-سیس یک محرک سیستم ایمنی است و ممکن است اثر آن با تاخیر شروع شود در تحقیق حاضر اثر پم-۳-سیس در زمان‌های یک و ۴ هفته پس از تزریق بررسی شد. پم-۳-سیس مستقیما داخل سیستم عصبی مرکزی وارد شد تا تأثیر تحریک سیستم ایمنی محیطی بدن بر عملکرد مغز را حذف شود. باتوجه‌به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر اثر معنی داری از پم-۳-سیس بر حافظه حیوانات در هیچکدام از زمانهای ۷ و ۲۸ مشاهده نشد، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهند که استفاده از پم-۳-سیس به‌تنهایی در دوز بکار رفته در این مطالعه، هیچ اختلال یا اثر تقویت‌کننده‌ای بر حافظه ندارد.

کوچان[11] و همکارانش قبلا نشان داده‌اند که استفاده از دوزهای کم پم-۳-سیس (۰/۱ یا ۱ میکروگرم بر میکرو لیتر)، در وضعیت آسیب التهابی، میکروگلیا را به سمت ایجاد اثرات مفید هدایت می‌کند و باعث حفاظت نورونی می‌شود [۱۳]. همچنین حشمتی فخر و همکارانش نیز نشان داده‌اند که تزریق دوز پایین پم-۳-سیس (۱میکروگرم بر میکرولیتر) به موش‌های مدل آلزایمر باعث افزایش بیان پروتئین‌های محافظت نورونی می‌شود و بدینوسیله مانع از گسترش بیماری آلزایمر می‌گردد [۲۴]. با توجه به مطالعات قبلی پم-۳-سیس قادر است از تخریب حافظه ناشی از آسیب و التهاب مغزی جلوگیری کند. بااین‌حال اثر طولانی مدت پم-۳-سیس بر حافظه فضایی در حالت سالم و غیر التهابی، تاکنون مطالعه نشده است و نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در زمان‌های ۱ و ۴ هفته پس از تزریق پم-۳-سیس به تنهایی تاثیری بر عملکرد حافظه ندارد.

نتیجه‌گیری

درمجموع می‌توان گفت که پم-۳-سیس در محدوده دوزهایی که قادر به مهار اختلال حافظه پاتولوژیک می‌باشد، چه به‌صورت حاد و چه به‌صورت تاخیری و در دراز مدت تاثیری بر حافظه فضایی موش‌های سالم ندارد. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آینده، تاثیر این دارو در انواع دیگر حافظه، همانند حافظه کاری و اجتنابی بررسی شود.

ملاحظات مالی

این مقاله بخشی از نتایج رساله دکترا محبوبه کامرانی مهنی از دانشگاه تهران و طرح پژوهشی ۴۰۰۲۳۳۰ موسسه ملی توسعه تحقیقات علوم پزشکی (نیماد) می‌باشد.

[10] Toll-like receptors (TLRs)

[11] Kochan

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-09-01]

تعارض در منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض ندارند.

نقش نویسندگان

م.ه: انجام مطالعه، نگارش مقاله م.ک: نگارش مقاله م.س: طراحی، نظارت، ویرایش مقاله ح.غ.پ: آنالیز داده‌ها ا.ا: نظارت بر اجرای مطالعه.

فهرست منابع

[1] Forehand C, Rhoades R, Tanner G, Integrative function of the nervous system. Medical physiology. 2nd ed. Philadelphia*:* Williams and Wilkins, 2003: 130-132.

[2] Martinez Jr JL, Derrick BE, Long-term potentiation and learning. ***Annu Rev Psychol*** 47 (1996) 173-203.

[3] Ahmadi-kanali R, Abbasnejad M, Esmaeili-Mahani S, Pourrahimi AM, Kooshki R, Effects of Intra-hippocampal Administration of Alpha-pinene on Learning and Memory Performances in Adult Male Rats. ***J Mazandaran Univ Med Sci*** 31 (2021) 26-37.

[4] Broadbent NJ, Squire LR, Clark RE, Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. ***Proc Natl Acad Sci USA*** 101 (2004) 14515-14520.

[5] Carbonell WS, Grady MS, Regional and temporal characterization of neuronal, glial, and axonal response after traumatic brain injury in the mouse. ***Acta Neuropathol*** 98 (1999) 396-406.

[6] De Renzi E, Faglioni P, Previdi P, Spatial memory and hemispheric locus of lesion. ***Cortex*** 13 (1977) 424-33.

[7] Cummings J, Aisen PS, DuBois B, Frolich L, Jack Jr CR, Jones RW, Morris JC, Raskin J, Dowsett SA, Scheltens P, Drug development in Alzheimer's disease: the path to 2025. ***Alzheimers Res Ther*** 8 (2016) 39.

[8] DeTure MA, Dickson DW, The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. ***Mol Neurodegener*** 14 (2019) 32.

[9] Alexi T, Borlongan CV, Faull RL, Williams CE, Clark RG, Gluckman PD, Hughes PE, Neuroprotective strategies for basal ganglia degeneration: Parkinson's and Huntington's diseases. ***Prog Neurobiol*** 60 (2000) 409-70.

[10] Wiesmüller KH, Jung G, Hess G, Novel low-molecular-weight synthetic vaccine against foot-and-mouth disease containing a potent B-cell and macrophage activator. ***Vaccine*** 7 (1989) 29-33.

[11] Nguyen DT, Ludlow M, van Amerongen G, de Vries RD, Yüksel S, Verburgh RJ, Osterhaus AD, Duprex WP, de Swart RL, Evaluation of synthetic infection-enhancing lipopeptides as adjuvants for a live-attenuated canine distemper virus vaccine administered intra-nasally to ferrets. ***Vaccine*** 20 (2012) 5073-80.

[12] Pourbadie HG, Sayyah M, Khoshkholgh-Sima B, Choopani S, Nategh M, Motamedi F, Shokrgozar MA, Early minor stimulation of microglial TLR2 and TLR4 receptors attenuates Alzheimer's disease-related cognitive deficit in rats: behavioral, molecular, and electrophysiological evidence. ***Neurobiol Aging*** 70 (2018) 203-216.

[13] Kochan T, Singla A, Tosi J, Kumar A, Toll-like receptor 2 ligand pretreatment attenuates retinal microglial inflammatory response but enhances phagocytic activity toward Staphylococcus aureus. ***Infect Immun*** 80 (2012) 2076-88.

[14] Vorhees CV, Williams MT, Morris water maze, procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. ***Nat Protoc*** 1 (2006) 848-58.

[15] Jeong DU, Lee JE, Lee SE, Chang SW, Kim SJ, Chang JW, Improvements in memory after medial septum stimulation are associated with changes in hippocampal cholinergic activity and neurogenesis. ***Biomed Res Int*** 2014 (2014).

[16] Mohammadi M, Zare Z, Effects of treadmill exercise on cognitive functions and anxietyrelated behaviors in ovariectomized diabetic rats. ***Physiol Behav*** 1 (2020) 113021.

[17] Brody DL, Holtzman DM, Morris water maze search strategy analysis in PDAPP mice before and after experimental traumatic brain injury. ***Exp Neurol*** 197 (2006) 330–340.

[18] D'Hooge R, De Deyn PP, Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. ***Brain Res Brain Res Rev*** 36 (2001) 60-90.

[19] Steinhagen F, Kinjo T, Bode C, Klinman, DM, TLR-based immune adjuvants. ***Vaccine*** 29 (2011) 3341-3355.

[20] Uematsu S, Akira S, Toll-like receptors and innate immunity. ***J Mol Med*** 84 (2006) 712–725.

[21] Cristofaro P, Opal SM, Role of toll-like receptors in infection and immunity: Clinical implications. ***Drugs*** 66 (2006) 15–29.

[22] Hesam S, Khoshkholgh-Sima B, Pourbadie HG, Babapour V, Zendedel M, Sayyah M, Monophosphoryl lipid A and Pam3Cys prevent the increase in seizure susceptibility and epileptogenesis in rats undergoing traumatic brain injury. ***Neurochem Res*** 43 (2018) 1978-1985.

[23] Kennerknecht K, Noschka R, Loffler F, Wehrstedt S, Pedersen GK, Mayer D, Toll like-receptor agonist Pam(3)Cys modulates the immunogenicity of liposomes containing the tuberculosis vaccine candidate H56. ***Med Microbiol Immunol*** 209 (2020)163-176.

[24] Heshmati-Fakhr N, Sotoodehnejadnematalahi F, Yousefi N, Sayyah M, Hosseini SM, Pourbadie HG, Triggering microglia through toll-like receptor 2 pathway induced interferon β expression in cell and animal model of Alzheimer's disease. ***Neuroreport*** 5 (2018) 1456-1462.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-09-01]

Research paper

Investigating the short-term and long-term effects of Pam3cys on the spatial memory of rats

Mahbobeh Kamrani Mehni[1,2], Maryam Hooshmand[2,3], Mohamamd Sayyah[2*], Hamid Gholami Pourbadie[2*], Morteza Zendehdel[1]

1. Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran, Tehran, Iran
2. Department of Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
3. Department of Chemistry, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 14 February 2024 Accepted: 26 May 2024

Abstract

Background and Aim: Pam3cys is a weak agonist of toll-like receptors type 1 and 2 and is able to inhibit learning and memory impairment in an animal model of Alzheimer's disease by inhibiting the secretion of inflammatory cytokines and increasing the secretion of anti-inflammatory cytokines. This arrangement is effective in improving memory performance. Considering the improving effect of Pam3cys on learning and memory impairment of Alzheimer's disease in an animal model, in this study, the effect of Pam3cys drug alone on the spatial memory of rats was investigated

Methods: In this experimental study, 48 male Wistar rats (age, 45-days old; weight, 220-270 g) were randomly divided into six groups (n = 8) as follows: There were two control groups of 7 and 28 days, two sham groups of 7 and 28 days, and two drug groups of 7 and 28 days. The spatial memory learning process of all mice was done using the Morris water maze for five days and four training sessions every day to find the hidden platform. At the last day of the learning period, the drug was injected intraventricularly with phosphate buffer (sham group) or Pam3cys (1 µg/5µl per mouse). 7 and 28 days after the injection, the memory of the rats was measured by measuring the time, speed and distance traveled in the target quarter of the maze.

Results: In the learning phase, there was no significant difference between the groups in terms of the time spent and the distance traveled in the target quarter of the circle. At 7 and 28 days after the learning period, there was no significant difference between the groups in terms of memory recall between the group of animals that received Pam3cys and the group of control animals as well as sham animals without receiving the drug ($p > 0.05$).

Conclusion: Pam3cys with the dose used in this study has no effect on the spatial memory performance of rats in the short and long term. Also, due to the lack of effect on healthy rats, it can be used as a safe medicine in disease conditions.

Keywords: Pam3cys, spatial memory, Morris water maze, Rat

Please cite this article as follows:

Kamranimehni M , Hooshmand M, Sayyah M, Gholami Pourbadie H, Zendehdel M , Investigating the short-term and long-term effects of Pam3cys on the spatial memory of rats. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 8 (2024) 23-31.

*Corresponding authors: h_gholamipour@pasteur.ac.ir (ORCID: 0000-0002-7634-7428)
sayyahm2@pasteur.ac.ir (ORCID: 0000-0003-0603-2444)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-09-01]