IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران
سال ۱۴۰۳، دوره ۸، پیاپی ۱۸، صفحه ۱۰-۱

مقاله پژوهشی

اثر مونوفسفریل لیپید–آ برحافظه فضایی موش صحرایی

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

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

دریافت: ۲۵ بهمن ۱۴۰۲ پذیرش: ۲۷ فروردین۱۴۰۳

چکیده

زمینه و هدف: بیماری‌های نورودژنراتیو همانند آلزایمر، رایج‌ترین دلیل اختلال در حافظه و عملکرد آن در دنیا بشمار می‌روند که تابحال درمان دارویی موثری برای بهبود نقص حافظه و کیفیت زندگی این افراد، پیدا نشده است. باتوجه‌به تأثیرات مونوفسفریل لیپید آ (monophosphoryl lipid A [MPL]) بر بهبود حافظه در بیماری آلزایمر و همچنین ایسکمی هیپوکمپ، در این مطالعه به بررسی اثر MPL بر حافظه فضایی موش صحرایی، پرداخته شده است.

روش‌ها: این مطالعه بر روی ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ ۴۵ روزه نژاد ویستار با وزن ۲۷۰–۲۵۰ گرم انجام شد که به‌طور تصادفی در دو گروه مطالعه ۷روزه و ۲۸روزه قرار گرفتند. هر گروه به سه زیرگروه ۸تایی؛ کنترل، شم و دارو، تقسیم شد. حیوانات در ماز آبی موریس برای بررسی روند یادگیری، به‌مدت پنج روز و هر روز ۴ جلسه برای یافتن سکوی پنهان در ماز تلاش کردند. تزریق دارو به‌صورت داخل بطنی با دوز یک میکروگرم بر ۵ میکرولیتر به‌ازای هر موش، بیست دقیقه بعد از جراحی انجام شد. مدت زمان سپری شده در ربع هدف و مسافت پیموده شده توسط حیوانات در گروه‌های مختلف، در روزهای هفتم و بیست و هشتم پس از آخرین روز یادگیری، آزموده شد.

یافته‌ها: با بررسی زمان صرف شده و همچنین مسافت طی شده در ربع هدف، در مرحله یادگیری، تفاوت معناداری بین گروه‌ها در آخرین روز یادگیری ماز آبی موریس مشاهده نشد ($p > ۰/۰۵$). بعلاوه در زمان‌های هفت روز و ۲۸ روز پس از دوره یادگیری، نیز بین گروه حیواناتی که MPL دریافت نمودند با گروه حیوانات کنترل و همچنین شم بدون دریافت دارو، تفاوتی وجود نداشت ($p > ۰/۰۵$).

نتایج: می‌توان گفت MPL با دوز یک میکروگرم بر ۵ میکرولیتر و شرایط مطالعه حاضر بهبودی در عملکرد حافظه فضایی موش صحرایی ندارد.

واژه‌های کلیدی: حافظه فضایی، ماز آبی موریس، مونوفسفریل لیپیدآ

مقدمه

مغز فعالیت‌هایش را از طریق شبکه نورونی خود پیش می‌برد و اجتماعی از نورون‌ها در شکل‌گیری و حفظ حافظه شرکت می‌کنند [۲، ۱]. حافظه و یادگیری از پیچیده‌ترین فرآیندهای سیستم عصبی هستند. اساس ایجاد حافظه و یادگیری، تغییر در قدرت ارتباطات سیناپسی است که در بخش‌های مختلفی از سیستم عصبی بخصوص هیپوکمپ، اتفاق می‌افتد [۳]. حافظه فضایی نوعی از حافظه است که توسط هیپوکمپ و قشر انتورینال میانی[۱] و جانبی کنترل‌شده و مسئول ثبت اطلاعات مورد نیاز برای به خاطر سپردن یک موقعیت و همچنین به یادآوری آن است. در واقع این نوع از حافظه در جهت‌یابی فضایی و رفتار جستجوگرانه دخیل است.

اختلال در حافظه، نقص در توانایی به‌خاطرسپردن و یادآوری وقایع است. این اختلال به‌عنوان نشانه‌ای از بیماری در افراد است. بیماری‌های زیادی از جمله بیماری‌های عصبی،

[1] Medial entorhinal cortex

* نویسندگان مسئول مکاتبات: asoodeh@um.ac.ir (ORCID: 0000-0002-1406-0595)
sayyahm2@pasteur.ac.ir (ORCID: 0000-0003-0603-2444)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]

بیماری‌های نورودژنراتیو، آسیب‌های مغزی و حتی مسمومیت در اختلال حافظه دخیل هستند. بیماری آلزایمر از شایع‌ترین بیماری‌های نورودژنراتیو[2] در جهان و اصلی‌ترین دلیل فراموشی در افراد بالای ۶۵ سال است بطوریکه تا به امروز ۵۵ میلیون نفر در جهان از این بیماری رنج می‌برند و پیش‌بینی می‌شود این تعداد تا سال ۲۰۳۰ به ۸۰ میلیون نفر برسد [۴]. اگرچه اختلال در حافظه همچون حافظه فضایی با افزایش سن طبیعی است، با اینحال در شرایط پاتولوژیک همانند آلزایمر، این اختلالات شدیدتر است. تابحال راه‌های درمانی محدودی از جمله تیمارهای دارویی و تغییر در سبک زندگی افراد، جهت بهبود اختلال حافظه فضایی در این بیماران به کار گرفته شده است. داروهای موجود فقط در مهار موقت پیشرفت فراموشی مؤثر بوده‌اند. از این رو، همواره تلاش برای یافتن داروهایی با تأثیر بیشتر در بهبود حافظه این بیماران در دست بررسی قرار دارد.

مونوفسفریل لیپید آ (MPL) مشتقی از لیپوپلی‌ساکارید (LPS) است. تغییرات شیمیایی برروی LPS، سبب ایجاد دی-گلوکوزامین‌های دی-استیله دارای شش زنجیر جانبی آسیل، یک گروه فسفریل و عدم حضور زنجیر جانبی پلی‌ساکارید، می‌گردد. این مخلوط منوفسفریله به MPL معروف است که برخلاف LPS، سمیت خیلی کمی دارد. MPL به‌عنوان یک آگونیست TLR4[3] که از دیواره سلولی باکتری سالمونلا مینسوتا[4] مشتق شده است، تولید سایتوکاین‌های التهابی را القا می‌کند. MPL به‌عنوان ادجوانت در واکسن‌های پیشگیری[5] و درمان از جمله واکسن‌های ضد سرطان، هاری، ویروس سینسیتال تنفسی[6]، استفاده شده است و در نتیجه برای انسان ایمن بوده و با ایمنی بالا و تحمل خوب، اثربخشی بالایی نیز دارد [۵].

مطالعات نشان داده‌اند که تزریق MPL قبل از ایجاد صرع در موش‌های صحرایی، سبب مهار اثر تسریع کننده ضربه مغزی در اکتساب صرع و همچنین کاهش آستانه تشنج می‌شود [۶]. تجویز MPL به موش‌های تحت استرس مزمن منجر به بهبود رفتارهای شبه افسردگی و افزایش سطح تحمل موش‌ها نسبت به استرس گردید [۷]. همچنین پیش-درمانی با MPL در بهبود اختلال حافظه در موش‌های دچار آلزایمر [۸] و همچنین موش‌هایی دچار ایسکمی هیپوکمپ موثر بوده است [۹]. MPL از افزایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی همانند TNF-α[7] در بافت مغزی موش‌های تیمار شده با آمیلوئید بتا جلوگیری کرده و سبب بهبود عملکرد حافظه فضایی در ۲۴ ساعت پس از مرحله یادگیری می‌گردد [۸]. قابل ذکر است که در این بررسی، ۲۴ ساعت پس از مرحله یادگیری، تفاوتی در حافظه موش کنترل نسبت به موش دریافت کننده MPL، وجود نداشت. با توجه به مطالعات گذشته مبنی بر عدم تاثیر MPL بر حافظه فضایی موش‌های سالم در ۲۴ ساعت پس از تزریق، این احتمال وجود دارد با توجه به اثر محرک این ماده بر سیستم ایمنی از یک سو، و وجود یک دوره تأخیری در شروع پاسخ‌های ایمنی از سوی دیگر، برای بروز اثرات این ماده به زمان‌های بیشتر از ۲۴ ساعت نیاز باشد. علاوه بر این، علیرغم اثربخشی MPL بر بهبود حافظه در بیماری‌های نورودژنراتیو، اثر این ماده به تنهایی در زمانهای طولانی‌تر از ۲۴ ساعت بررسی نشده است. بنابراین، در این مطالعه به بررسی اثر MPL به‌تنهایی بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی سالم در زمان‌های ۷ و ۲۸ روز پس از تزریق، پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط آزمایشگاهی

۴۸ سر موش صحرایی ۴۵ روزه نر نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۲۷۰ گرم از انستیتو پاستور کرج خریداری و در این مطالعه استفاده 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 راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران و مجوز کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی این موسسه (شناسه IR.PII.REC.1400.087) انجام شد.

ماز آبی موریس[8]

یکی از رایج‌ترین آزمون‌ها در علوم اعصاب شناختی

[2] Nuerodegenerative
[3] Toll like receptor-4
[4] Salmonella Minnesota
[5] Prophylactic
[6] Respiratory syncytial virus
[7] Tumor necrosis factor alpha
[8] Morris water maze

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]

جهت بررسی حافظه و یادگیری فضایی در جوندگان، ماز آبی موریس است. ماز آبی موریس مخزنی با دیواره سیاه رنگ به قطر ۱۵۰ سانتی‌متر و ارتفاع۶۰-۵۰ سانتی‌متر می‌باشد که به عمق حدودی ۳۰-۲۵ سانتی‌متر با آب پر می‌شود. دمای آب ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. جهت انجام آزمون، ماز آبی به چهار ربع فرضی غرب، شرق، شمال و جنوب تقسیم شده و یک سکوی شفاف از جنس پالکسی‌گلس با سطح مقطع ۱۰ × ۱۰ سانتی‌متر در عمق ۱ سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز یکی از چهار ربع فرضی قرار داده شده بطوریکه قابل دیدن نمی‌باشد. موش از یکی از ربع دایره‌ها در آب رهاشده و فرصت داده می‌شود تا به جستجوی سکوی پنهان در زیر آب بپردازد. یک دوربین ردیاب ویدیویی در بالای ماز آبی نصب شده و به یک سیستم رایانه‌ای متصل است بطوری‌که مسیر حرکت حیوان را ردیابی نموده و ذخیره می‌کند [۱۰]. داده‌های حاصل از آزمایش از جمله مسافت طی شده تا رسیدن به سکو و مدت زمانی طی شده در ربع دایره هدف، توسط سیستم نرم‌افزاری تجزیه و تحلیل می‌گردند.

مراحل انجام ماز آبی موریس

الف- مرحله یادگیری یا آموزش

در این مرحله، موش به‌طور تصادفی از یکی از ربع‌های چهارگانه ماز (شمال، جنوب، مشرق و مغرب) در آب رها شد. همزمان با رهاشدن حیوان در ماز، برنامه ردیابی موش، فعال می‌شد. مدت زمانیکه به موش اجازه داده می‌شد تا در ماز شنا کند، ۶۰ ثانیه بود. محل سکوی پنهان در تمام طول مدت آزمایش ثابت است. اگر حیوان سکوی پنهان شده در ربع هدف ماز را پیدا می‌کرد، ثبت داده‌ها بصورت خودکار متوقف شده و داده‌های مربوطه در رایانه ذخیره می‌شدند. در این زمان به حیوان اجازه داده می‌شد تا به‌مدت ۲۰ ثانیه برروی سکو باقی بماند. پس از گذشت ۱۰ دقیقه، آزمایش بار دیگر آغاز می‌شد با این تفاوت که موش از ربع دیگری در آب رها می‌شد. در روزهای یادگیری، هر موش چهار بار و با فاصله‌ی زمانی ۱۰ دقیقه‌ای در آب رها می‌شد. موش‌های همه گروه‌ها، به‌مدت ۵ روز آموزش دیدند که طی آن در مجموع ۱۶۰ آزمایش برروی حیوانات انجام گردید [۱۲، ۱۱].

ب- مرحله بازخوانی یا پروب[9]

پس از پایان مرحله یادگیری ۵ روزه، باتوجه‌به این‌که حیوان محل سکوی پنهان را شناسایی و بخاطر سپرده است، سکو از ماز برداشته می‌شد و به هر حیوان۶۰ ثانیه فرصت شنا کردن داده می‌شد. به‌دلیل عدم وجود سکو، پس از پایان زمان تعیین شده، موش از ماز برداشته می‌شد. این مرحله از آزمایش برای هر موش یکبار انجام می‌شد و درصد حضور حیوان در ربع هدف ماز، که قبلا در آن سکو وجود داشت، به‌عنوان معیاری از اکتساب و فراخوانی حافظه فضایی درنظر گرفته می‌شد. در مرحله پروب یا بازیابی حافظه، مدت زمان طی شده در ربع هدف و مسافت طی شده تا رسیدن به ربع دایره هدف و همچنین سرعت موش در روزهای هفت و ۲۸ام پس از آخرین روز یادگیری، بررسی گردید [۱۳].

ج- آزمون حسی-حرکتی

جهت اطمینان از سلامت حیوانات گروه‌های مورد مطالعه، در حین انجام آزمایشات و همچنین بعد از انجام جراحی، از آزمون حرکتی-حسی در ماز آبی موریس استفاده شد. برای‌این‌منظور، پس از پایان دوره بازخوانی، سکو مجدداً در ربع دایره هدفی که قبلاً قرار داشت، قرار گرفت، بااین‌تفاوت که سطح سکو از آب بیرون بوده و برای حیوان قابل مشاهده است. حیوانات، هرکدام سه بار و هر بار از یک ربع ماز، وارد ماز شدند و با پیداکردن سکو و قرار گرفتن روی حیوان برروی آن، زمان و سرعت پیداکردن سکو، ثبت شد.

جراحی استریوتاکسی و تزریق داخل بطنی MPL

موش‌ها با استفاده از تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (ساخت شرکت Beremer Pharma، آلمان) و زایلازین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (ساخت شرکت Alfasan، هلند) بیهوش شدند. پس از اطمینان از ایجاد بیهوشی عمیق، مختصات بطن طرفی چپ مغز موش صحرایی با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون تعیین و روی سطح جمجمه علامت گذاری گردید (۰/۹ میلی‌متر از برگما به طرف عقب، و ۱/۸ میلی‌متر از برگما به طرف چپ). ناحیه علامت‌گذاری‌شده توسط مته دندانپزشکی و تحت شرایط استریل سوراخ شد. سپس پنج میکرولیتر MPL

[9] Probe

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]

(ساخت شرکت Sigma-Aldrich، آمریکا) با غلظت یک میکروگرم در پنج میکرولیتر به ازای هر موش، به‌وسیله سرنگ هامیلتون به‌آهستگی به عمق ۳/۵ میلی‌متری داخل بطن جانبی مغز تزریق شد. علت انتخاب این دوز، با استناد به مطالعات قبلی این دارو است [۹] که در آن دوز یک میکروگرم بر پنج میکرولیتر به‌ازای هر موش، سبب القا سایتوکاین‌های پیش-التهابی و درنتیجه حفاظت نورون‌ها می‌گردد. حلال MPL در این بررسی، بافر فسفات نمکی با pH محدوده ۷/۵ بود. در موش‌های گروه شم، بافر فسفات استریل (PBS[۱۰]) به حجم پنج میکرولیتر به‌داخل بطن مغز تزریق گردید. در انتها سطح جمجمه با آنتی‌بیوتیک ضدعفونی شد و ناحیه جراحی شده بوسیله آکریل آمید خودپخت (ساخت شرکت صنایع پزشکی مارلیک ، ایران)، پوشانده شد. سپس موش‌ها به محلی گرم منتقل شدند تا بهوش آیند.

تأیید ناحیه تزریق دارو در بطن چپ مغز

برای اطمینان از درستی محل تزریق دارو، رنگ تریپان بلو ۲۵ درصد با حجم ۱۰ میکرولیتر به بطن چپ مغز حیوان تزریق شد. نیم ساعت پس از تزریق، حیوان کشته شد و برش‌های کرونال با ضخامت ۳ میلی‌متر در اطراف محل تزریق تهیه شد. با مشاهده رنگ تریپان بلو در بطن چپ مغز، محل درست تزریق، تأیید شد.

گروه بندی آزمایشات

تمام موش‌ها به مدت پنج روز تحت آموزش ماز آبی موریس قرار گرفتند. سپس موش‌ها به‌طور تصادفی به شش گروه و هر گروه شامل هشت موش تقسیم شدند: الف- گروه کنترل هفت روز؛ حافظه موش‌ها ۷ روز پس از یادگیری ماز آبی بررسی شد. ب- گروه کنترل ۲۸ روز؛ حافظه موش‌ها ۲۸ روز پس از یادگیری ماز آبی بررسی شد. ج- گروه شم + PBS هفت روز؛ پس از یادگیری ماز آبی، بافر فسفات استریل به‌داخل بطن طرفی مغز تزریق شد و حافظه در روز هفت پس از تزریق بررسی شد. د- گروه شم + PBS ۲۸ روز؛ پس از یادگیری ماز آبی، بافر فسفات استریل به داخل بطن چپ مغز تزریق شد و حافظه در روز ۲۸ پس از تزریق بررسی شد. ه-گروه MPL هفت روز؛ پس از یادگیری ماز آبی، MPL به‌داخل بطن طرفی مغز تزریق شد و هفت روز پس از تزریق حافظه بررسی شد؛ و- گروه MPL ۲۸ روز؛ پس از یادگیری ماز آبی، MPL به‌داخل بطن طرفی مغز تزریق شد و ۲۸ پس از تزریق حافظه بررسی شد (شکل ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج بدست آمده از داده‌ها توسط نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۱.۴.۹ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها به‌صورت میانگین ± میانگین خطای استاندارد (mean ± SEM) نشان داده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا توزیع نرمال داده‌ها بررسی شد. سپس با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه (ANOVA) و تست تکمیلی توکی استفاده شد. ملاک معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین داده‌ها در گروه‌های مورد مطالعه $p < ۰/۰۵$ بود.

یافته‌ها

مرحله یادگیری

در طی روند آموزش و یادگیری حیوانات هر شش گروه مورد مطالعه، مدت زمان و مسافت لازم برای رسیدن به ربع دایره هدف کاهش پیدا کرد. بطوریکه با گذشت زمان بین روزهای اول و پنجم یادگیری، تفاوت چشمگیر در مدت زمان سپری شده در ماز، مسافت طی شده و سرعت پیمایش مسافت وجود داشت. (نمودار ۱).

مرحله بازخوانی (پروب)

الف- مدت زمان سپری‌شده در ربع هدف

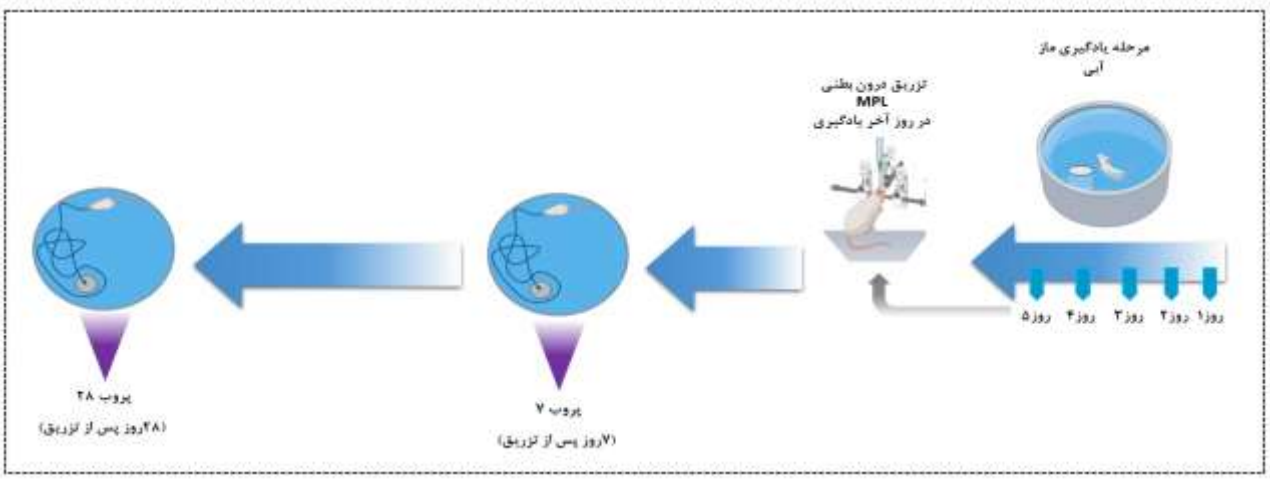
در نمودار ۲الف، در روزهای هفت و ۲۸ پس از یادگیری تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی ازنظر زمان صرف‌شده در ربع هدف، مشاهده نشد ($F(۲،۴۱) = ۰/۰۷۰۲$ ،$p > ۰/۰۵$).

ب- مسافت طی شده

از نظر مسافت طی‌شده جهت یافتن سکو در ربع هدف تفاوت معناداری بین گروه‌های آزمایشی در هر دو پروب هفت و ۲۸ وجود نداشت ($F(۲،۴۳) = ۰/۷۶۵$ ،$p > ۰/۰۵$) (نمودار ۲ب).

[10] Phosphate buffer saline

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]



شکل ۱- زمان‌بندی آزمایش‌ها. ابتدا موش‌ها با ماز آبی موریس پنج روز تحت یادگیری قرار گرفتند. در روز آخر یادگیری، تزریق داروی MPL با جراحی استریوتکس انجام شد. در روزهای ۷ و ۲۸ پس از تزریق، بازخوانی حافظه موش صحرایی (پروب) انجام شد.

ج- سرعت پیمایش مسیر در ربع هدف

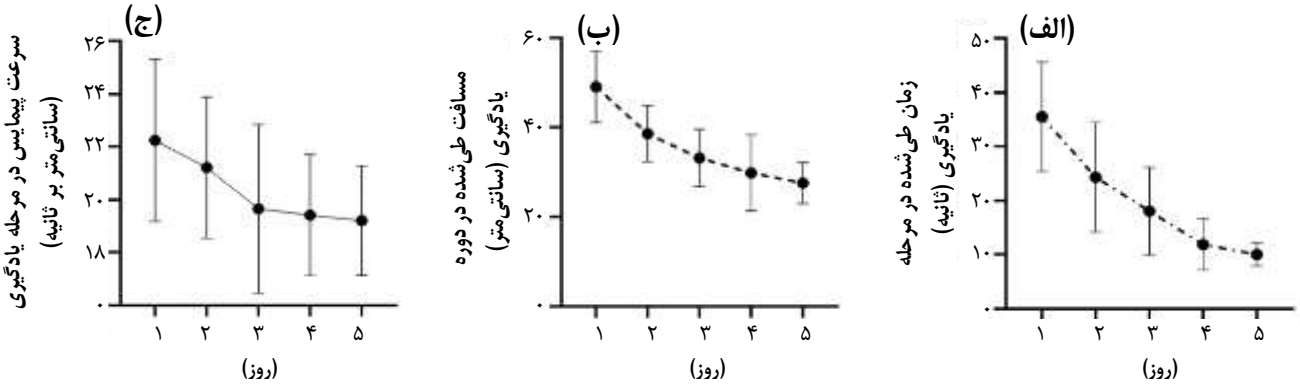
با توجه به نمودار ۲ج تفاوت معناداری بین گروه‌ها از نظر سرعت پیمایش مسیر در ربع هدف در هر دو روز ۷ و ۲۸ مشاهده نشد ($F(۱،۳۶) = ۰/۱۷۳۴$ ،$p = ۰/۶۷$).

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

با توجه به نمودار ۳الف، سرعت رسیدن به سکوی آشکار در ربع هدف در روزهای ۷ و ۲۸، در گروه‌های آزمایشی تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند ($F(۱،۴۲) = ۱/۲۸۴۲$ ،$p > ۰/۰۵$). همچنین مدت زمان صرف‌شده توسط حیوان جهت رسیدن به سکوی آشکار تفاوت معناداری در حیوانات هر سه گروه نداشت ($F(۲،۴۲) = ۰/۱۷۰۸$ ،$p > ۰/۰۵$) (نمودار ۳ب).

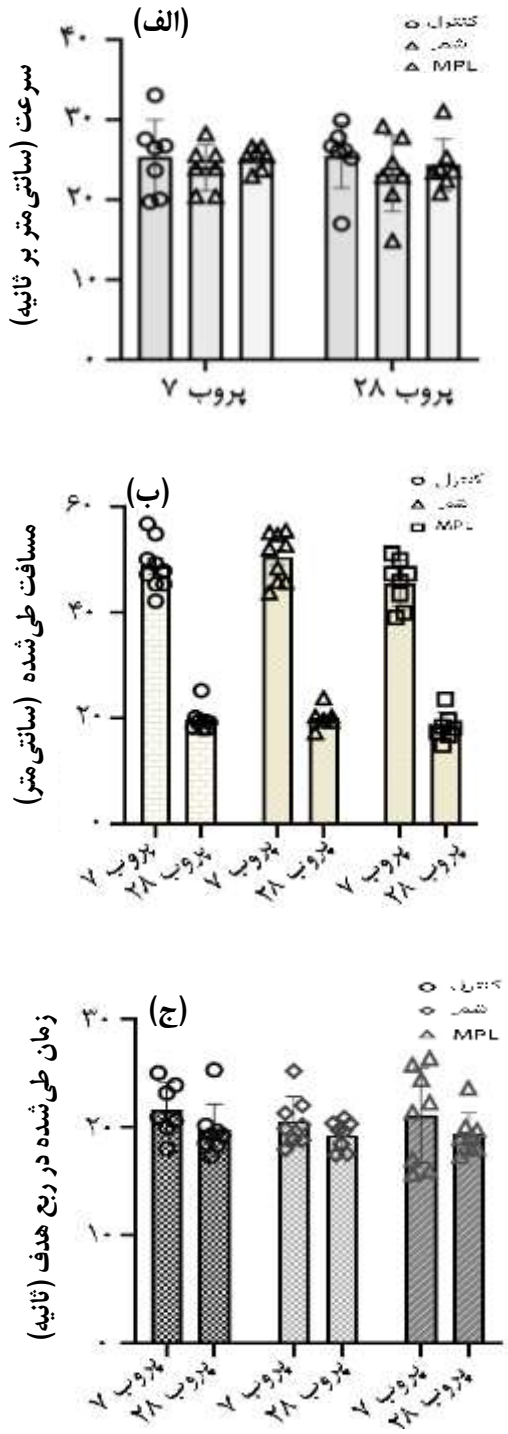
بررسی ناحیه تزریق دارو

شکل ۲ نشان‌دهنده محل تزریق رنگ در بطن چپ مغز، و تایید کننده درستی مختصات استریوتاکسی محل تزریق است.



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

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]



نمودار ۲– اثر MPL بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی در روزهای ۷ و ۲۸ پس از تزریق. الف) مدت زمان طی شده در ربع هدف. ب) مسافت طی شده در ربع هدف. ج) سرعت پیمایش مسافت. هیچگونه تفاوت معناداری بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار حاصل از مجموع جلسات انجام شده برای حیوانات هر گروه (شامل ۸ موش) طی یک روز نمایش داده شده است .

بحث

در این مطالعه، در مرحله یادگیری، روند کاهشی در مدت زمان و مسافت طی‌شده جهت یافتن سکوی پنهان وجود داشت بدین‌معنی‌که در روز آخر مرحله یادگیری، موش‌ها ربع هدف را کاملا بخاطر داشتند. زمان و مسافت طی‌شده توسط حیوانات جهت رسیدن به سکوی مخفی طی مرحله یادگیری در ربع هدف درگروه‌های مورد مطالعه به‌صورت معنی‌دار کاهش یافت. به‌عبارت‌دیگر می‌توان گفت که در پایان دوره یادگیری، موش‌های مورد مطالعه، ناحیه سکوی مخفی را بخاطر داشتند. در مرحله پروب، زمان و مسافت طی شده در ربع هدف، چه در کوتاه‌مدت و چه در بلندمدت در موش‌های دریافت‌کننده MPL مشابه با نمونه کنترل و شم بود. به‌عبارت‌دیگر، حیوانات با مشکلات در حافظه فضایی روبرو نبودند و محل سکو را بخاطر داشتند.

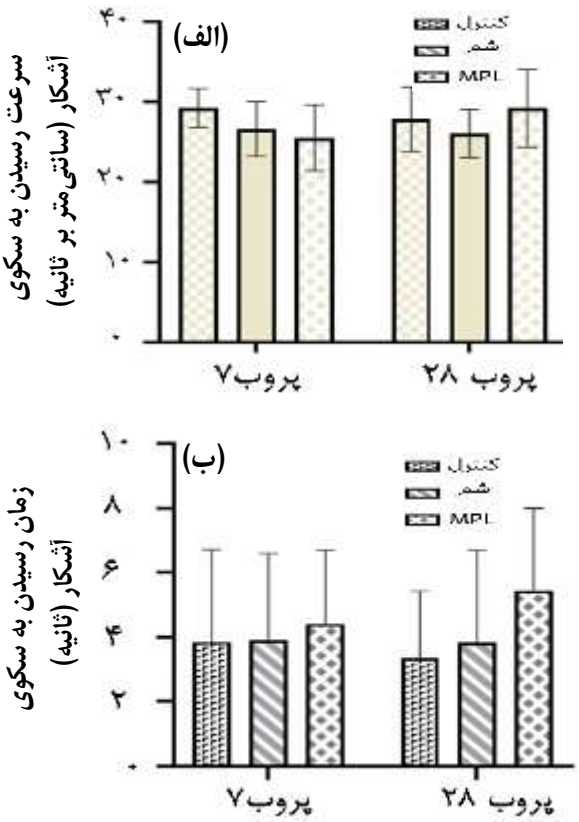
باتوجه‌به اینکه در مطالعه حاضر، مرحله یادگیری با مدل ماز آبی، پنج روزه بود و در پایان مرحله یادگیری، کاهش مدت زمان و مسافت طی‌شده مشاهده شد، این یافته‌ها با نتایج تحقیقات، ژو[11] و همکاران [۱۴] در سال۲۰۲۰، همسو بود که نشان دادند در پایان روز پنجم یادگیری، زمان و مسافت سپری شده جهت یافتن سکوی پنهان در موش‌ها کاهش می‌یابد. در بررسی دیگر [۱۵]، جئونگ[12] و همکاران نیز با استفاده از پروتکل دوره یادگیری پنج‌روزه، نشان دادند که زمان رسیدن حیوانات به سکوی مخفی به‌طرز معنی‌داری کاهش یافت. همچنین در بررسی برودبنت[13] و همکاران [۱۶] سرعت موش-ها در پیداکردن سکوی مخفی با پیشرفت مرحله یادگیری، افزایش یافت بصورتیکه در روز آخر مرحله یادگیری (روز پنجم) به بیشترین سرعت خود رسید.

حیوانات گروه تیمار شده با MPL، با دوز یک میکروگرم بر پنج میکرولیتر در مرحله پروب، عملکرد مشابه با حیوانات گروه‌های کنترل و شم داشتند. بطوریکه با مقایسه گروه‌ها می‌توان نتیجه گرفت که با تزریق MPL، موش‌های تمامی گروه‌ها، همچنان ربع دایره هدف را در خاطر داشتند و MPL، تأثیری بر حافظه فضایی موش‌ها نداشت.

مطالعات از قبل انجام‌شده در سال ۲۰۱۴ نشان می‌دهد

[11] Zu
[12] Jeong
[13] Broadbent

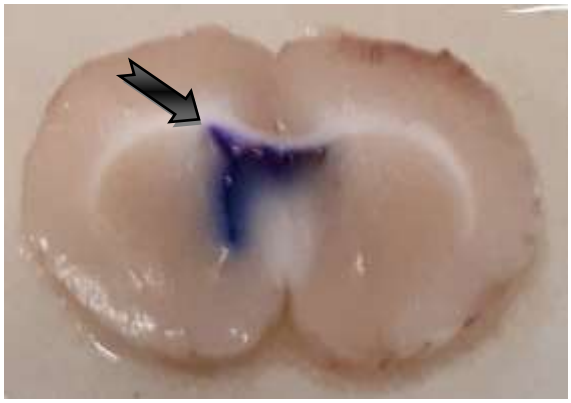
[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]



نمودار ۳- مقایسه سرعت حیوانات و زمان رسیدن به سکوی آشکار در تست حسی-حرکتی در روزهای آزمایش ۷ و ۲۸. الف) سرعت حیوانات در رسیدن به سکوی آشکار در گروه‌های مورد مطالعه ب) زمان رسیدن حیوانات گروه‌های مورد مطالعه به سکوی آشکار. در هردو فاکتور، تفاوت معناداری بین گروه‌های کنترل، شم+ PBS و MPL وجود نداشت. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار حاصل از مجموع جلسات انجام شده برای حیوانات هر گروه طی یک روز نمایش داده شده است (n = ۸).

که MPL در دوزهای پایین، پتانسیل حفاظت نورونی و مهار پیشرفت آسیب‌های عصبی در دوزهای پایین را دارد [۱۷]. مطالعات مشابه با مطالعه حاضر انجام شده است که در آن، MPL، با دوز یک میکروگرم بر پنج میکرولیتر، در موش‌های آلزایمری استفاده شد [۹]. بعلاوه در مطالعه دیگر نیز از دوز یک میکروگرم در هر موش در موش‌های صحرایی با اختلال ایسکمی هیپوکمپ استفاده گردید [۸].

پیش‌تر ارتباط بین پاسخ‌های سیستم ایمنی و عملکرد بهینه حافظه تأیید شده است بطوریکه بررسی‌های قبلی نشان دادند که یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکمپ، در موش‌های صحرایی با نقص سیستم ایمنی، دچار اختلال شده و سبب کاهش عملکرد آن‌ها در ماز آبی موریس می‌گردد. حافظه موش‌های صحرایی با نقص ایمنی نسبت به موش‌های سالم سنجیده شد که در نتیجه این موش‌ها حافظه فضایی ضعیف‌تری نسبت به موش‌های سالم داشتند [۱۸]. لذا با توجه به پتانسیل MPL در فعال‌سازی سیستم ایمنی به‌عنوان لیگاند TLR-4 [۱۹] و همچنین توانایی آن در ایجاد ایمنی طولانی مدت در بدن در زمان استفاده بعنوان ادجوانت واکسن، در مطالعه حاضر اثر MPL بر عملکرد حافظه در دراز مدت، سنجیده شد. در این راستا، MPL به‌صورت درون بطنی به موش صحرایی تزریق شد و ۷ و ۲۸ روز پس از تزریق، اثر آن بر حافظه فضایی سنجیده شد که در نتیجه آن، تغییری در حافظه موش‌های صحرایی سالم مشاهده نشد. در مقابل، در مطالعات قبلی، که به بررسی اثر MPL بر حافظه پرداختند، بازخوانی حافظه فضایی موش‌ها در کوتاه مدت سنجیده شده بود بطوریکه ۲۴ ساعت پس از مرحله یادگیری، بازخوانی حافظه فضایی موش‌ها با مدل ماز آبی موریس بررسی شد و بین موش‌های کنترل و موش‌هایی که MPL درون بطنی دریافت کردند، هیچگونه تفاوتی در یادگیری فضایی و عملکرد حافظه دیده نشد [۹]. همچنین در یک مطالعه دیگر، در موش‌های صحرایی با اختلال ایسکمی هیپوکمپ، تزریق MPL با دوز یک میکروگرم در هر موش سبب بهبود عملکرد حافظه فضایی این موش‌ها نسبت به موش‌های دارای ایسکمی هیپوکمپ، در ۲۴ ساعت پس از مرحله یادگیری با استفاده ماز آبی شعاعی بازودار شد [۸]. باتوجه‌به عدم‌تأثیر MPL در حافظه فضایی موش‌های سالم در زمانهای ۷ و ۲۸ روز پس از تزریق، بنظر می‌رسد MPL بعنوان یک محرک سیستم ایمنی فقط در شرایط بیماری مثل آلزایمری و ایسکمی مغزی قادر به ایفای نقش مثبت و بهبود اختلال حافظه دارد و به تنهایی، بدون وجود شرایط بیماری خاص، تغییری در حافظه ایجاد نمی‌کند.



شکل ۲- تزریق تریپان بلو در بطن چپ مغز و تأیید محل تزریق. فلش ناحیه تزریق و ورود رنگ به بطن چپ را نشان می‌دهد.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان می‌دهد تجویز MPL در مقادیری که سیستم ایمنی مغز را تحریک می‌کند به‌تنهایی تاثیر مخرب یا مفیدی بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی در میان مدت (۷ روز) و دراز مدت (۲۸ روز)، ندارد. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آینده، تأثیر این دارو در انواع دیگر حافظه، همانند حافظه اجتنابی بررسی گردد.

ملاحظات مالی

این مقاله بخشی از نتایج رساله دکترا مریم هوشمند از دانشگاه فردوسی مشهد و طرح پژوهشی ۱۲۷۸ انستیتو پاستور ایران می‌باشد.

تعارض در منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع 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] Ekstrom AD, Ranganath C, Space, time, and episodic memory: The hippocampus is all over the cognitive map. ***Hippocampus*** 28 (2018) 680-687.

[2] Johnson EA. A study of the effects of immersion on short-term spatial memory [dissertation]. College of Technology, Purdue Univ., 2010.

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

[4] Cummings J, Aisen P S, DuBois B, Frolich L, Jack, C R Jr, Jones, R W, Morris J C, Raskin J, Dowsett S A, Scheltens P, Drug development in Alzheimer's disease: the path to 2025. ***Alzheimers Res Ther*** 8 (2016) 39.

[5] Beutler B, and Rietschel E T, Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. ***Nat Rev Immunol*** 3 (2003) 169-176.

[6] Hesam S, Khoshkholgh-Sima B, Gholami Pourbadie H, 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.

[7] Li F, Xu L, Yaoying M, Yue G, Ting Y, Chao H, Monophosphoryl lipid a tolerance against chronic stress-induced depression-like behaviors in mice. ***Int J Neuropsychopharmacol*** 25 (2022) 399-411.

[8] 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.

[9] Hosseini S M, Gholami Pourbadie H, Sayyah M, Zibaii MS, Naderi N, Neuroprotective effect of monophosphoryl lipid A, a detoxified lipid A derivative, in photothrombotic model of unilateral selective hippocampal ischemia in rat. ***Behav Brain Res*** 347 (2018) 26-36.

[10] Pourbadie GH, 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.

[11] Wenk GL, Assessment of spatial memory using the radial arm maze and Morris water maze. ***Curr Protoc Neurosci*** 8 (2004) 8.5A.

[12] Patil SS, Sunyer B, Höger H, Lubec G, Evaluation of spatial memory of C57BL/6J and CD1 mice in the Barnes maze, the Multiple T-maze and in the Morris water maze. ***Behav Brain Res*** 198 (2009) 58-68.

[13] Vorhees V, Williams MT, Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. ***Nat Protoc*** 1 (2006) 848-858.

[14] Bromley-Brits K, Deng Y, Song W, Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. ***J Vis Exp*** 53 (2011) 2920.

[15] Xu Z, Liu C, Wang R, Gao X, Hao C, Liu CA, Combination of lycopene and human amniotic epithelial cells can ameliorate cognitive deficits and suppress neuroinflammatory signaling by choroid plexus in Alzheimer's disease rat. ***J Nutr Biochem*** 88 (2021) 108558.

[16] 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) 568587.

[17] Broadbent NJ, Squire LR, Clark E, Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. ***Proc Natl***

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]

Acad Sci USA 101 (2004) 14515-14520.

[18] Ditz C, Bahlmann L, Klaus S, Keck A, Onken N, Gliemroth J, Cerebral metabolism during experimental endotoxin shock and after preconditioning with monophosphoryl lipid A. ***Clin Neurol Neurosurg*** 126 (2014) 115–122.

[19] Ziv Y, Ron N, Butovsky O, Landa G, Sudai E, Greenberg N, Cohen H, Kipnis J, Schwartz M, Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. ***Nat Neurosci*** 9 (2006) 268–275.

[20] MacLeod, MKL, McKee AS, David A, Wang J, Mason R, Kappler JW, Marrack P, Vaccine adjuvants aluminum and monophosphoryl lipid A provide distinct signals to generate protective cytotoxic memory CD8 T cells. ***Proc Natl Acad Sci USA*** 108 (2011) 7914–7919.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]

Research paper

Effect of monophosphoryl lipid-A on spatial memory of rats

Maryam Hooshmand[1, 2], Ahmad Asoodeh[1*], Mohamad Sayyah[2*], Hamid Gholami Pourbadie[2], Mahbobeh Kamrani Mehni[2,3]

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

Received: 14 February 2024 Accepted: 15 April 2024

Abstract

Background and Aim: Neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease are the most common cause of memory impairment worldwide. No effective drug treatment has been found to improve the memory deficit and quality of life of these patients. Considering the effects of MPL on improving memory in Alzheimer's disease and hippocampal ischemia, this study investigated the effect of monophosphoryl lipid A (MPL) on the spatial memory of rats.

Methods: This study was conducted on 48 adult male Wistar rats (45-day-old) weighing 250-270 grams, which were randomly divided into two groups of “7 days” and “28 days”. Each group was divided into three subgroups (n = 8) including control, sham, and drug. The spatial learning and memory were assessed by the Morris water maze. Animals were trained to find the hidden platform in the maze for five days and 4 sessions every day. The drug was injected into the lateral cerebral ventricle at a dose of 1 µg per 5 µL per rat, 20 min after surgery. The time spent and the distance traveled in the target quadrant were assessed on the seventh and twenty-eighth days after the last day of learning.

Results: No significant difference was found between the groups in the time spent and distance traveled in the target quadrant during the learning phase. Furthermore, there was no significant difference between groups in memory recall at both 7 days and 28 days after the training period ($p > 0.05$).

Conclusion: In our study, MPL 1 µg/5 µL/rat did not affect the spatial memory of rats.

Keywords: Monophosphoryl lipid a, spatial memory, Morris water maze

Please cite this article as follows:

Hooshmand M, Asoodeh A, Sayyah M, Gholami Pourbadie H, Kamrani Mehni M, Effect of monophosphoryl lipid-A on spatial memory of rats. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 8 (2024) 1-10.

*Corresponding authors: asoodeh@um.ac.ir (ORCID: 0000-0002-1406-0595)
sayyahm2@pasteur.ac.ir (ORCID: 0000-0003-0603-2444)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-12-05]