تأثیر حفاظتی پالماتین هیدروکلرید بر اختلالات یادگیری، حافظه فضایی و مرگ سلولی نکروز در ناحیه هیپوکامپ در مدل سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین

ادریس شریفی[۱]، حسین خواستار[۲]، بهزاد گرمابی[۳]، ویدا حجتی[۴]، مهدی خاکساری[۲*]

۱. دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
۳. استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
۴. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی دامغان، دامغان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۶

چکیده

زمینه و هدف مت‌آمفتامین، یک محرک قدرتمند سیستم عصبی مرکزی است. سوءمصرف مت‌آمفتامین می‌تواند باعث اختلال در عملکردهای شناختی و آسیب به سیستم عصبی گردد. همچنین، بررسی‌ها و شواهد بسیاری مبنی بر تأثیرات ضدالتهابی، ضدآپوپتوزی و آنتی‌اکسیدانی پالماتین در انواع بیماری‌های عصبی وجود دارد. از این رو این مطالعه در راستای کمک به اثبات عملکرد محافظت نورونی پالماتین در برابر فعالیت نوروتوکسیک مت‌آمفتامین انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها سمیت عصبی به‌وسیله تزریق مت‌آمفتامین با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در چهار نوبت با فاصله زمانی دو ساعت هر بار به مقدار ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ایجاد شد. سپس در گروه‌های تیمار تزریق پالماتین با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن درون صفاقی انجام گرفت؛ به این صورت که نوبت‌های تزریق ۳۰ دقیقه، ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق مت‌آمفتامین انجام شدند. برای بررسی حافظه فضایی تست ماز آبی موریس انجام گرفت، سپس مغزها برای رنگ‌آمیزی نیسل خارج گردیدند.

یافته‌ها داده‌های رفتاری نشان داد که در گروه‌های تیمار شده با پالماتین میزان یادگیری نسبت به گروه مت‌آمفتامین افزایش می‌یابد و در آزمون پروب، درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در گروه‌های تیمار شده، به‌طور معناداری از گروه مت‌آمفتامین بیشتر بود که نشان‌دهنده بهبود عملکرد حافظه می‌باشد ($P<0.05$)، به‌علاوه در گروه مت‌آمفتامین، افزایش مرگ سلولی نکروز در ناحیه CA1 هیپوکامپ مشاهده گردید که تیمار با پالماتین، کاهش معناداری در میزان سلول‌های نکروتیک نشان داد ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری براساس یافته‌ها پالماتین احتمالاً با کاهش مرگ سلولی در برابر سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین باعث بهبود عملکرد حافظه و یادگیری در رت‌ها گردد.

کلیدواژه‌ها:
سمیت عصبی متامفتامین، پالماتین، نکروز، اختلال یادگیری و حافظه.

۱. مقدمه

امروزه، کشور ما ایران با مشکل روزافزون اعتیاد به مت‌آمفتامین به‌ویژه در جوانان و نوجوانان روبه‌روست. استفاده از مت‌آمفتامین به‌شدت با عوارض مختلف پزشکی و عصبی در ارتباط است و دارای عوارض متعدد جانبی بر سلامت عصبی و دیگر ابعاد سلامت فرد مصرف‌کننده

* **نویسندهٔ مسئول: مهدی خاکساری**
نشانی: میدان هفت تیر، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، دانشکده پزشکی

تلفن: ۰۹۱۵۵۸۱۷۰۵۴
رایانامه: khaksari417@yahoo.com
شناسه ORCID: 0000- 0002-2240-1521
شناسه ORCID نویسندهٔ اول: 0000-0001-6172-2371

مجلهٔ علمی ـ پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۸، شمارهٔ ۲، خرداد و تیر ۱۴۰۰، ص ۲۲۲-۲۳۱
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

می‌شود (۱-۳) اختلال سایکوتیک ناشی از مصرف آمفتامین به‌عنوان یکی از مخرب‌ترین عوارض آن باعث شده بخش قابل‌توجهی از تخت‌های بیمارستان‌های کشور به بیماران مبتلا به این اختلال اختصاص یابد (۴). مصرف غیرقانونی روان‌گردان‌ها به‌ویژه مت‌آمفتامین به‌عنوان معضلی بین‌المللی در آمده است. در حال حاضر ۱۶- ۱۵ میلیون نفر در جهان به این ماده اعتیاد دارند که این رقم بیش از تعداد مصرف‌کنندگان کوکایین و هرویین می‌باشد و به دومین ماده پرمصرف جهان بعد از کلنابیس تبدیل شده است (۵). مصرف این ماده اعتیادآور در درازمدت به سیستم‌های دوپامینرژیک، سروتونرژیک و سوخت‌وساز مغزی آسیب می‌رساند و به‌علت اثرات سمیت عصبی در مغز، بیمار دچار اختلالات‌شناختی از جمله اختلال در حافظه و یادگیری، اختلال توجه و تمرکز و نیز اختلال عملکرد اجرایی، برنامه‌ریزی و تصمیم‌گیری، اختلالات خلقی و اضطرابی می‌گردد (۶). هرچند به نظر می‌رسد فاکتورهای دیگری نیز در ایجاد سمیت عصبی ناشی از متامفتامین شرکت داشته باشند که مکانیسم‌های آنها هنوز شناخته نشده است. بیشتر فرضیه‌ها بر وقایع درون نورون‌ها از قبیل اکسیداسیون دوپامین، استرس اکسیداتیو و سمیت خارج سلولی استوارند. مت‌آمفتامین از طریق ناقل‌های دوپامین یا سروتونین وارد پایانه‌های نورونی می‌شود و جایگزین دوپامین و سروتونین درون‌سلولی و وزیکولار می‌گردد. این گونه آمین‌های جایگزین شده از طریق اتواکسیداسیون یا به‌وسیله مونوآمین اکسیداز به رادیکال‌های آزاد اکسیژن، اکسیده می‌شوند. با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (از طریق نیتریک اکساید و پراکسیدهیدروژن) مرگ نکروتیک سلولی رخ می‌دهد (۷)؛ هرچند در طول زمان، مکانیسم‌های دیگری از جمله سمیت عصبی ناشی از گلوتامات یا پروکسی نیتریت نیز افزوده شدند.

در خصوص اثر التهابی مت‌آمفتامین مطالعات نشان می‌دهد استفاده از مت‌آمفتامین سبب فعال‌سازی میکروگلیاها در استریاتوم، قشر مغز و هیپوکامپ می‌شود (۱۱-۸). افزایش دوپامین سیتوزولی و استرس اکسیداتیو در جریان استفاده از متامفتامین باعث تولید دوپاکوئینون‌ها می‌شود و میکروگلیاها را فعال می‌کند، سپس سیتوکین‌های تولید شده در جریان فعال شدن میکروگلیاها باعث افزایش انتقال گلوتامات شده سمیت سلولی می‌شود (۱۲). پالماتین، یک پروتوبربرین، از گروه آلکالوئیدها است که دارای قدمتی تاریخی در طب سنتی چین و هند می‌باشد و در گیاهان متعددی یافت شده است؛ از جمله زرشک خاردار. این ترکیب را می‌توان در ریشه، ریزوم و پوست ساقه این گیاهان یافت. در مطالعه کیم و همکاران، پالماتین در بافت میوکارد موش‌های صحرایی تحت ایسکمی و برقراری مجدد جریان خون، به مقدار قابل‌توجهی میزان سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) را افزایش داد. SOD، یک آنزیم آنتی‌اکسیدان است که تبدیل سوپراکسید را به H2O2 (پراکسیدهیدروژن) و O2 کاتالیز می‌کند؛ بنابراین می‌توان متوجه شد که پالماتین می‌تواند آزادسازی رادیکال‌های آزاد را طی ایسکمی و برقراری مجدد جریان خون، کاهش دهد (۱۳). همچنین لی و همکاران، آثار حفاظتی پالماتین بر کبد را مطالعه کردند. در نارسایی کبدی القاشده با گالاکتوزامین/ لیپوپلی ساکارید، فاکتور نکروزی آلفا (TNF-α)، نقش مهمی در پاسخ التهابی ایفا می‌کند. این فاکتور می‌تواند آغازگر یک آبشار التهابی دخیل در القای سایر سیتوکین‌های التهابی نظیر اینترفرون-گاما (IFN-γ) و اینتر لوکین ۱ بتا (IL-1β) باشد. در این مطالعه، در گروه درمان شده با گالاکتوزامین/ لیپوپلی ساکارید، سطح سرمی TNF-α و IL-6 افزایش یافت و افزایش TNF-α با پالماتین، تقلیل پیدا کرد (۱۴).

با توجه به تمام حقایق پیش‌گفته در مورد تأثیر حفاظتی پالماتین و مکانیسم‌های مهم سمیت عصبی متامفتامین و با توجه به اینکه تاکنون درمان مشخص و مؤثری برای جلوگیری از عوارض سمی متامفتامین بر سیستم عصبی مشخص و تأیید نشده است؛ در مطالعه حاضر، برای اولین‌بار، تأثیرات درمان پالماتین در آسیب عصبی به دنبال سمیت عصبی متامفتامین بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

تعداد ۲۸ رأس موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار و با وزن تقریبی ۲۸۰-۲۵۰ گرم خریداری شد و تحت شرایط استاندارد با دوره معکوس روشنایی و تاریکی ۱۲ساعته (۸ صبح تا ۸ شب) و دمای ۱ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد و دسترسی به آب آشامیدنی و غذای کافی نگهداری شدند. حیوانات برای سازگاری با محیط، حداقل ۱۰ روز قبل از مطالعه به حیوان‌خانه منتقل گردیدند. رت‌ها سه بار در هفته وزن شدند. با بررسی لازم اطمینان حاصل شد که هیچ‌کدام از حیوانات بیماری یا شواهدی دال بر بیماری نداشتند. سپس رت‌ها به‌طور تصادفی در ۴ گروه ۷ تایی تقسیم‌بندی شدند. این تحقیق دارای کد اخلاق IR.SHMU.REC.1396.154 می‌باشد.

ایجاد مدل نوروتوکسیسیته مت‌آمفتامین و اختلال حافظه و یادگیری در رت‌ها به‌صورت زیر انجام شد:

۱.۲. مرحله اول: تجویز دارو

گروه اول: شاهد

گروه دوم: دریافت‌کننده مت‌آمفتامین با دوز ۴× ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی + سالین به‌عنوان حلال دارو ۳۰ دقیقه، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق متامفتامین

گروه سوم: دریافت‌کننده مت‌آمفتامین با دوز ۴× ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی + پالماتین ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای یک کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی ۳۰ دقیقه، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق مت‌آمفتامین.

گروه چهارم: دریافت‌کننده مت‌آمفتامین با دوز ۴× ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم (درون صفاقی) + پالماتین ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای یک کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی ۳۰ دقیقه، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق مت‌آمفتامین.

۲.۲. مرحله دوم: آزمون‌های رفتاری

۱.۲.۲. دستگاه ماز آبی موریس

در این آزمون، میزان یادگیری حیوانات به مدت ۵ روز متوالی (۴ روز آموزش و یک روز آزمون) ارزیابی شد. ماز آبی موریس از یک حوضچه استوانه‌ای‌شکل سیاه‌رنگ تشکیل شده که تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر با آب (22 ± oC1) پر شد. حوضچه به چهار ربع دایره (شمال، جنوب، شرق و غرب) تقسیم شد و یک سکوی مخفی کوچک از جنس فلز تیره‌رنگ یک سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز ربع دایره جنوب‌غربی قرار گرفت. هر موش، به‌طور تصادفی از یکی از ربع‌های حوضچه آزاد شد و سپس مدت‌زمان و مسافت طی شده تا پیدا کردن سکو ثبت شد. هر موش به مدت ۴ روز و هر روز یک نوبت (هر نوبت شامل ۴ تجربه) از ۴ ربع حوضچه به‌طور تصادفی رهاسازی و تحت آموزش و آزمایش قرار گرفت و در روز پنجم، ارزیابی از آموزش صورت گرفت. یک تجربه، زمانی به اتمام می‌رسید که موش روی سکو می‌رفت یا ۹۰ ثانیه می‌گذشت. سپس ۳۰ ثانیه به حیوان فرصت داده شد و پس از آن تجربه بعدی شروع گردید. آزمایش‌گر، موش‌هایی که محل سکو را پیدا نکردند را به روی سکو منتقل کرد و اجازه یافتند ۳۰ ثانیه در آنجا بمانند. پس از اتمام تجربه چهارم، موش‌ها از حوضچه خارج شدند. حرکات حیوان درون ماز آبی، به‌وسیله یک نرم‌افزار کامپیوتری ردیابی و بررسی شد. در این آزمون، مدت‌زمان رسیدن به سکوی هدف به‌عنوان زمان تأخیر تا گریز یا مدت‌زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان، مسافت طی شده برای رسیدن به سکو و سرعت طی شده[1] در طول روزهای آموزش، ثبت شد. در روز آزمون، سکو برداشته شد و به حیوانات اجازه داده شد تا به مدت ۶۰ ثانیه شنا کنند و زمان صرف شده در منطقه هدف، ثبت گردید. اطلاعات جمع‌آوری شده برای هریک از حیوانات شامل: ۱- مدت‌زمان سپری شده برای یافتن سکوی پنهان ۲- مدت مرحله پروب. مقایسه اطلاعات به‌دست‌آمده از حیوانات گروه‌های مختلف موردمطالعه با روش‌های آماری و نرم‌افزارهای مرتبط انجام شد.

۲.۲.۲. روش ارزیابی میزان مرگ سلولی نکروزیس با رنگ‌آمیزی کریزل ویوله (نیسل)

رنگ‌آمیزی نیسل معمولاً برای شناسایی ساختار پایه‌ای نورون‌های سالم از نورون‌های نکروز شده در بافت مغز و طناب نخاعی استفاده می‌شود. در این رنگ‌آمیزی، سلول‌های سالم به‌صورت سلول‌های یوکروماتین دیده می‌شوند.

پس از انجام آزمون حافظه، برای آماده‌سازی بافت‌ها، ابتدا موش‌ها بی‌هوش شدند و سپس پرفیوژن ترانس‌کاردیاک با ۰.۹٪ سالین و به دنبال آن ۴٪ پارافرمالدهید در M0.1 بافر فسفات (pH ۷.۴) به‌عنوان فیکساتیو انجام شد. سپس مغز موش‌های صحرایی برداشته شد و به مدت یک شبانه‌روز در فیکساتیو مشابه قرار داده شدند. سپس، از مغزها بلوک‌های پارافینه، تهیه شد و با استفاده از دستگاه میکروتوم، مقاطع کرونال با ضخامت µm7 برای رنگ‌آمیزی بافتی تهیه شد. مقاطع براساس اطلس پاکسینوس بین ۳.۳ و ۴.۲ میلی‌متر پشت برگما تهیه شدند. برای رنگ‌آمیزی نیسل، برش‌های ۷ میکرومتری (سه برش در هر حیوان) بر روی لام‌های سیلانه شده انتقال داده شدند. سپس با استفاده از محلول کرزیل ویوله استات ۰/۱ درصد (سیگما، USA) رنگ‌آمیزی شدند. سپس لام‌ها خشک و با انتالن پوشانده شدند. سپس با استفاده از میکوسکوپ نوری (Olympus AX-70) و با بزرگ‌نمایی x۴۰۰، از برش‌ها تصویر تهیه شد. پس از تهیه

1. Velocity

تصاویر، با استفاده از نرم‌افزار Olysia bio report شمارش سلولی در امتداد خطی با طول ۴۰۰ میکرومتر (مساحتی حدود ۰/۱۶۰ میلی‌مترمربع) از ناحیه CA1 هیپوکامپ راست رت‌ها انجام گردید. فقط سلول‌های نامنظم و تیره که هسته و هستک مشخص نداشتند به‌عنوان سلول‌های مرده در نظر گرفته و شمارش شدند.

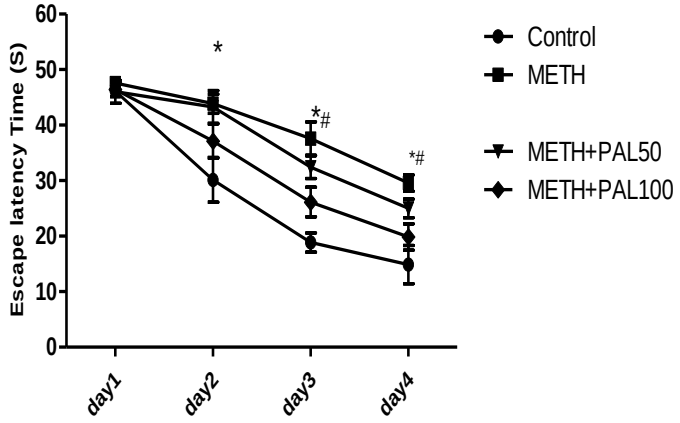
۳.۲. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری پریسم و آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و دوطرفه و توکی، تجزیه‌وتحلیل شدند. نتایج به‌صورت mean ± SEM بیان می‌شوند و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

۳. یافته‌ها

۳. ۱. تأثیر درمانی پالماتین بر اختلال یادگیری در روزهای آموزش (روزهای ٤-۱)

میزان یادگیری در روزهای آموزش افزایش معناداری در گروه مت‌آمفتامین نسبت به گروه‌های کنترل نشان می‌دهد (کاهش میزان یادگیری P<0.001). همچنین در گروه‌های تیمار شده با پالماتین، میزان یادگیری در روزهای آموزش نسبت به گروه مت‌آمفتامین کاهش یافته است (بهبود فرایند یادگیری P<0.01).

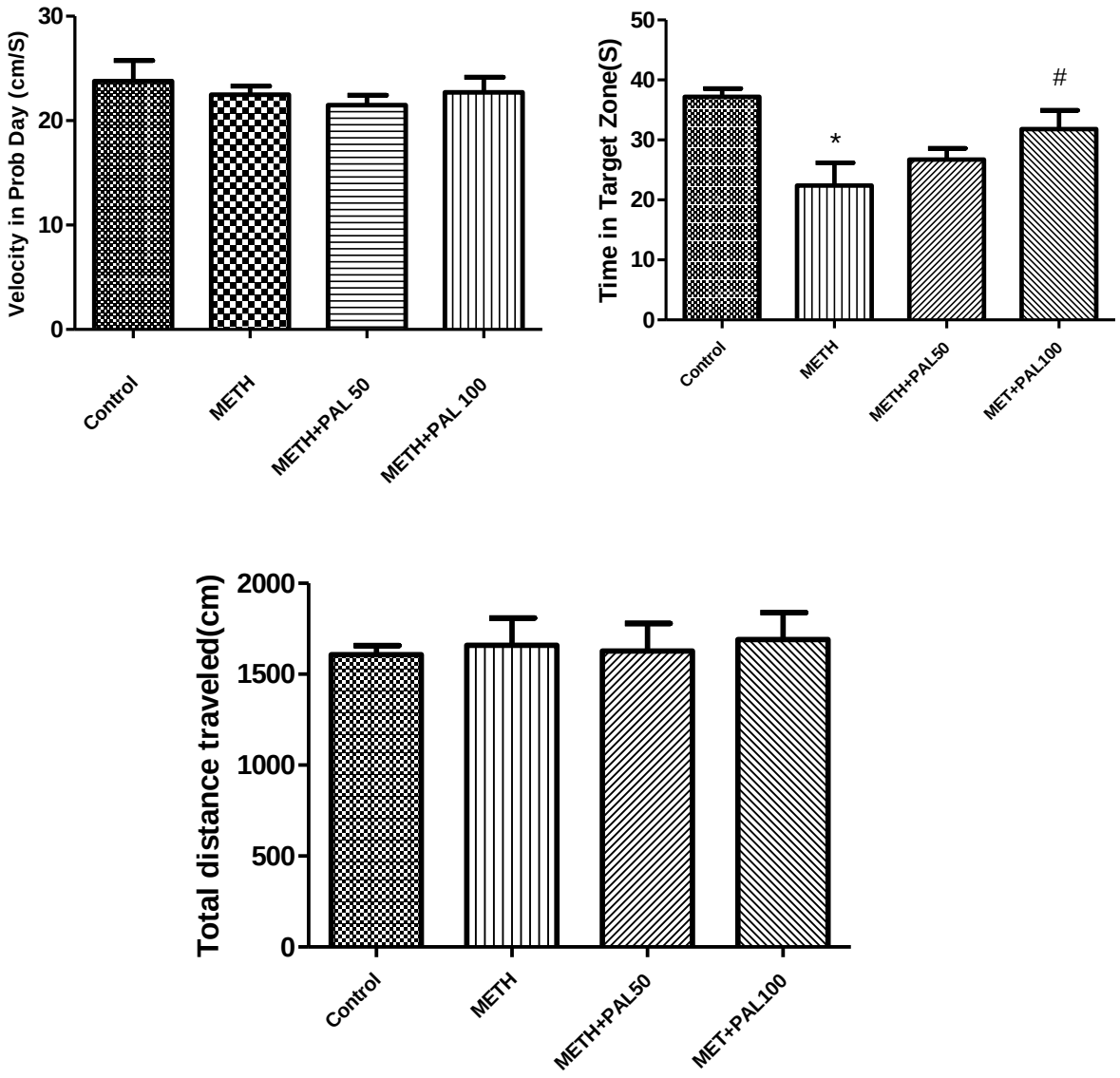


نمودار ۱. مقایسه زمان تأخیر تا گریز در روزهای آموزش (روزهای ۴-۱) در گروه‌های موردآزمایش

تعداد موش در هر گروه ۷ می‌باشد و برای آنالیز نتایج از آزمون‌های آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد.
* نشانه معناداری میانگین گروه متامفتامین در مقایسه با گروه کنترل (P<0.001).
# نشانه معناداری میانگین گروه پالماتین در مقایسه با گروه دریافت‌کننده متامفتامین (P<0.01).

۳. ۲. تأثیرات درمانی پالماتین بر اختلال حافظه طی روز آزمون (روز ۵) در ماز آبی موریس

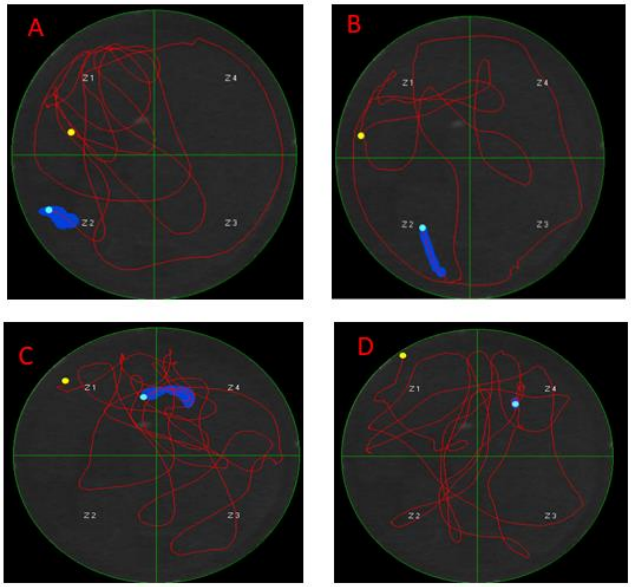
زمان حضور در منطقه هدف (محل حضور سکو در روزهای آموزش) در روز پراب در گروه مت‌آمفتامین، کاهش معناداری نسبت به گروه‌های کنترل و پالماتین نشان می‌دهد که بیانگر اختلال در حافظه فضایی می‌باشد. در گروه تیمار شده با پالماتین (۱۰۰و۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) افزایش معناداری در عملکرد حافظه نسبت به گروه مت‌آمفتامین مشاهده می‌شود (P<0.05). همچنین قسمت دیگر نتایج نشان می‌دهد که سرعت حرکت شنا در گروه‌های مختلف، تفاوت معناداری ندارد.



نمودار ۲. مقایسه عملکرد حافظه در ماز آبی موریس در گروه‌های موردآزمایش، تعداد موش در هر گروه ۷ می‌باشد.

* نشانه معناداری میانگین گروه متامفتامین در مقایسه با گروه کنترل ($P<0.01$).

نشانه معناداری میانگین گروه متامفتامین در مقایسه با گروه کنترل ($P<0.05$).

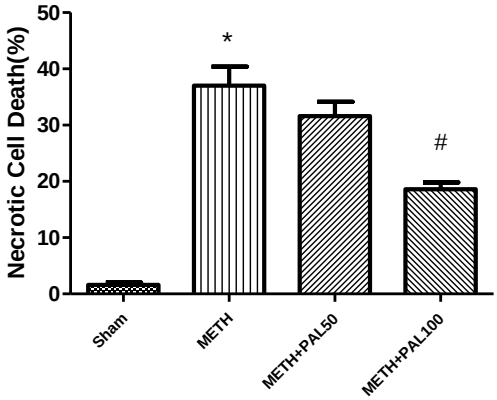


شکل ۱. الگوی شنای حیوانات در گروه‌های مختلف در روز آزمون (روز پنجم) در تست ماز آبی موریس.A)گروه کنترل، B) گروه مت‌آمفتامین، C) گروه تیمار شده با پالماتین ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، D) گروه تیمار شده با پالماتین۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم

۳. ۳. تأثیر تجویز پالماتین بر مرگ سلولی نکروزیس در ناحیه هیپوکامپ در موش‌های صحرایی نر تحت مصرف مت‌آمفتامین

پالماتین نکروز نورونی ناشی از مت‌آمفتامین در ناحیه هیپوکامپ را کاهش می‌دهد. نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی نیسل نشان می‌دهد که درصد سلول‌های نکروتیک در ناحیه CA1، هیپوکامپ راست در گروه مت‌آمفتامین نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (P<0.001).

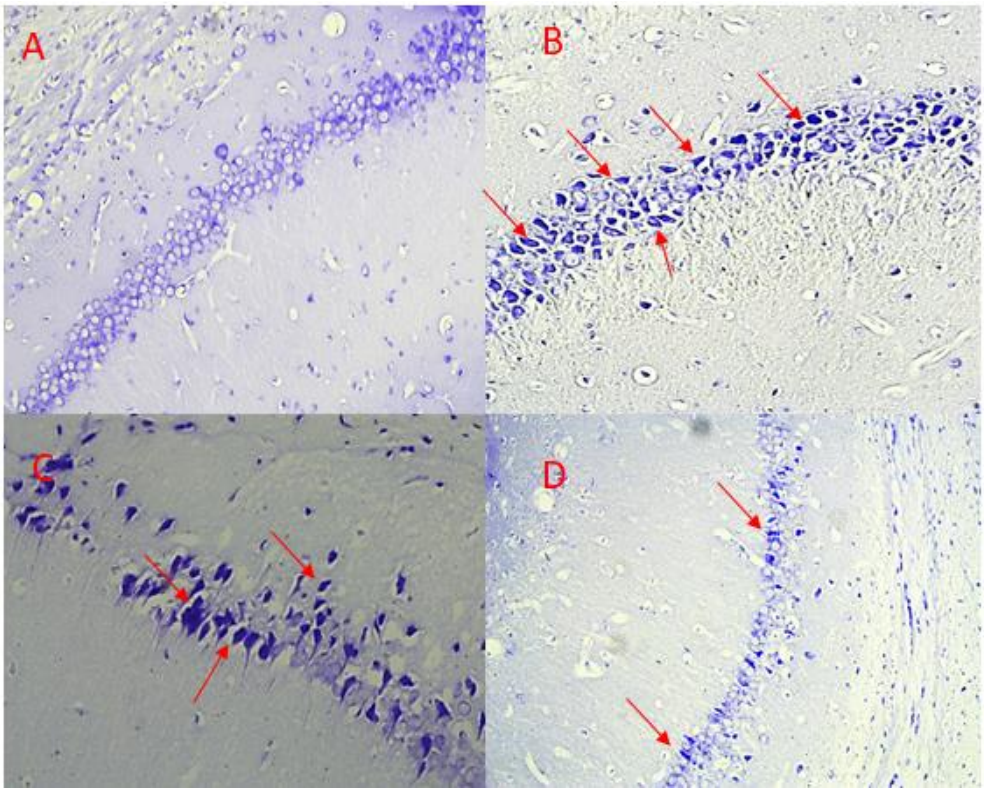
در گروه تیمار شده با پالماتین مرگ سلولی نکروتیک در مقایسه با گروه مت‌آمفتامین کاهش یافت (P<0.05).



نمودار ۳. تأثیرات پالماتین بر مرگ سلول‌های نکروتیک ناشی از دریافت مت‌آمفتامین در ناحیه هیپوکامپ CA1 موش صحرایی با استفاده از رنگ‌آمیزی نیسل. پالماتین به‌طور قابل‌توجهی باعث کاهش مرگ سلولی نکروتیک ناشی از دریافت مت‌آمفتامین در ناحیه CA1 می شود. تعداد موش در هر گروه ۷ می‌باشد.

* نشانه معناداری میانگین گروه متامفتامین در مقایسه با گروه کنترل (P<0.001).

نشانه معناداری میانگین گروه متامفتامین در مقایسه با گروه کنترل (P<0.05).



شکل ۲: فوتومیکروگراف از رنگ آمیزی کریزل ویوله (نیسل) در ناحیه CA1 هیپوکامپ راست پس از ایجاد نوروتوکسیسیته ناشی از مت‌آمفتامین

A)گروه کنترل، B) گروه متآمفتامین، C) گروه تیمار شده با پالماتین ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، D) گروه تیمار شده با پالماتین ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم

٤. بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از متامفتامین باعث کاهش معنی‌داری در شاخص‌های عملکردی یادگیری و حافظه فضایی شامل زمان تأخیر تا گریز برای رسیدن به سکو در روزهای آموزش و همین‌طور زمان صرف شده در منطقه هدف در طول روز آزمون در گروه مت‌آمفتامین نسبت به سایر گروه‌ها می‌شود که این شاخص‌ها در گروه تیمار شده با پالماتین بهبود یافتند. این نتایج نشان‌دهنده تأثیرات مثبت پالماتین بر آسیب یادگیری و حافظه فضایی موش‌ها پس از سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین است که می‌تواند به دلیل تأثیرات محافظت‌کننده عصبی پالماتین و کاهش مرگ سلولی در ناحیه CA1 هیپوکمپ باشد؛ به‌گونه‌ای که افزایش معناداری در میانگین تعداد سلول‌های نکروتیک ناحیه CA1 در گروه مت‌آمفتامین نسبت به سایر گروه‌ها وجود دارد که در اثر تیمار با پالماتین میزان مرگ سلولی نکروز در مقایسه با گروه مت‌آمفتامین به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.

پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند استرس‌های اکسیداتیو در آسیب ناشی از سمیت مت‌آمفتامین نقش محوری دارند. مت‌آمفتامین باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، نیتریک اکساید و کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل سوپراکساید دیسموتاز، گلوتاتیون و کاتالاز می‌شود (۱۵). مطالعات دیگر نشان دادند که افزایش سطح رادیکال‌های آزاد از طریق تأثیر مستقیم و تخریب پروتئین‌ها و لیپیدهای سلول و همچنین تخریب DNA منجر به فعال شدن مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود. همچنین از طریق تأثیر غیرمستقیم باعث اختلال در مسیر سیگنالینگ و تنظیم ژنی سلول و در نهایت مرگ سلول می‌شود. پژوهش‌های قبلی گزارش کرده‌اند، مهارکننده پراکسیداسیون چربی‌های غشا یا از بین‌برنده‌های رادیکال‌های آزاد اثر محافظتی در مقابل سمیت ناشی از مت‌آمفتامین دارند (۱۶).

یکی از محصولات سیتوتوکسیک ایجاد شده از پراکسیداسیون لیپیدها، مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد که به‌عنوان یک نشانگر زیستی برای استرس اکسیداتیو، تولید

رادیکال‌های آزاد و آسیب بافتی را اثبات می‌کند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون سلول‌ها را در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کنند. آنها یک مکانیسم دفاعی برای ارگانسیم‌های هوازی محسوب می‌شوند (۱۷). سوپراکسید دیسموتاز، تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید اکسیژن و هیدروژن را کاتالیز می‌کند. گلوتاتیون نیز سلول‌ها را در برابر آسیب ناشی از ذرات اکسیژن فعال شده شامل رادیکال‌ها و پراکسیدهای آزاد، محافظت می‌کند. در بررسی‌ها نشان داده شده که پالماتین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد و سبب کاهش سطح مالون‌دی‌آلدهید و نیز افزایش میزان سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود. گلوتامات یک نوروترانسمیتر تحریکی اولیه در سیستم عصبی مرکزی است که نه می‌تواند از سد خونی- مغزی عبور کند و نه اینکه در فضای سیناپسی کم شود؛ بنابراین افزایش میزان گلوتامات در فضای سیناپسی، سبب افزایش فعالیت گیرنده‌های ان-متیل دی‌آسپارتات و زیرواحدهای دیگر گیرنده گلوتاماتی می‌شود و منجر به سمیت برون‌زاد و آسیب نورونی می‌گردد (۷).

ظرفیت بلوکه کردن تولید سایتوکین‌های التهابی؛ نظیر فاکتور نکروز توموری آلفا می‌تواند یکی دیگر از مکانیسم‌های ممکن در خصوص توانایی محافظت‌کننده عصبی پالماتین در برابر مت‌آمفتامین به حساب آید. سطح فاکتور نکروز توموری آلفا مغز به‌طور مشخص در انواع مختلفی از بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی نظیر تروما، ایسکمی، مالتیپل اسکلروزیس و صرع لوب گیجگاهی، افزایش می‌یابد. علاوه بر این، بسیاری از تحقیقات مشخص می‌کند که تیمار با مت‌آمفتامین سبب افزایش فاکتور نکروز توموری آلفا mRNA و اینترلوکین -۶ در هیپوکامپ و قشر پیشانی می‌گردد. همچنین پیش‌بینی شده است که فاکتور نکروز توموری آلفا برای نورون‌ها و گلیاها خاصیت سمی دارد و با سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین همراه است. این مولکول‌های پیش‌التهابی مسیرهای سیگنالینگ آپوپتوزی پایین‌دستی را در نورون‌ها فعال کند؛ در نهایت، سبب مرگ نورونی و فعال‌سازی سلول‌های گلیال می‌گردند که التهاب نورونی را تشدید می‌کند (۱۵).

مطالعات دیگری نشان می‌دهند که درمان با پالماتین، باعث کاهش غلظت واسطه‌های التهابی و اثرات آنتی‌اکسیدانی در مدل‌های مختلف بیماری‌ها از قبیل ایسکمی مغزی و سمیت کبدی و همچنین در سلول‌های اندوتلیال دستگاه گوارش می‌شود (۱۳, ۱۸, ۱۹). از سویی دیگر به خوبی مشخص شده است که مصرف متامفتامین، منجر به پدیده التهاب عصبی می‌شود که توسط فعال‌سازی آستروسیت‌ها و میکروگلیاها و نیز آزادسازی عوامل سیتوتوکسیک مانند نیتریک اکسید، گونه‌های اکسیژن فعال، سیتوکین‌های التهابی مشخص می‌شود که این عوامل منجر به تخریب سد خونی مغزی و مرگ سلول‌های عصبی می‌شوند (۲۰). بنابراین به نظر می‌رسد که پیشگیری از فرایندهای التهابی و آپوپتوزی می‌تواند به‌عنوان روشی درمانی برای بهبود آسیب ناشی از مت‌آمفتامین مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج این مطالعه نشان داد که درمان با پالماتین اختلالات حافظه و یادگیری فضایی و آسیب ناحیه هیپوکامپ را در مدل سمیت عصبی ناشی از مت آمفتامین بهبود می‌بخشد. به نظر می‌رسد که این اثرات محافظت‌کننده عصبی پالماتین از مکانیسم¬های مانند مهار مرگ سلولی نکروزیس ناشی می‌شود. در نتیجه، با توجه به این اثرات حفاظتی پالماتین در شرایط پاتولوژیک، می‌توان آن را به‌عنوان یک عامل مؤثر برای کاهش سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین معرفی کرد، هرچند که تحقیقات بیشتر در آینده مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

این مقاله، قسمتی از پایان‌نامه مقطع دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی شاهرود می‌باشد. بدین‌وسیله از حمایت مالی این دانشگاه در طرح پژوهشی شماره ۹۶۱۶۴ قدردانی می‌گردد. کد اخلاق IR.SHMU.REC.1396.154

References

[1]. Darke S, Kaye S, McKetin R, Duflou J. Major physical and psychological harms of methamphetamine use. Drug and alcohol review. 2008;27(3):253-62.
[2]. Rusyniak DE. Neurologic manifestations of chronic methamphetamine abuse. Psychiatric Clinics. 2013;36(2):261-75.
[3]. Mehrjerdi ZA. Crystal in Iran: methamphetamine or heroin kerack. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013;21(1):22.
[4]. Nutt DJ, King LA, Phillips LD. Drug harms in the UK: a multicriteria decision analysis. The Lancet. 2010;376(9752):1558-65.
[5]. SHAERZADEH F, STREIT W J, HEYSIEATTALAB S, KHOSHBOUEI H. Methamphetamine neurotoxicity, microglia, and neuroinflammation. Journal of neuroinflammation. 2018;15: 1-6.
[6]. Thompson PM, Hayashi KM, Simon SL, Geaga JA, Hong MS, Sui Y, et al. Structural abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine. Journal of Neuroscience. 2004;24(26):6028-36.

[7]. Yang X, Wang Y, Li Q, Zhong Y, Chen L, Du Y, et al. The main molecular mechanisms underlying methamphetamine-induced neurotoxicity and implications for pharmacological treatment. Frontiers in molecular neuroscience. 2018;11:186.
[8]. LLOYD S A, CORKILL B, BRUSTER M C, ROBERTS R L, SHANKS R A.. Chronic methamphetamine exposure significantly decreases microglia activation in the arcuate nucleus. Journal of chemical neuroanatomy. 2017; 82: 5-11.
[9]. Guilarte T, Nihei M, McGlothan J, Howard A. Methamphetamine-induced deficits of brain monoaminergic neuronal markers: distal axotomy or neuronal plasticity. Neuroscience. 2003;122(2):499-513.
[10]. Pubill D, Canudas AM, Pallàs M, Camins A, Camarasa J, Escubedo E. Different glial response to methamphetamine-and methylenedioxymethamphetamine-induced neurotoxicity. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology. 2003;367(5):490-9.
[11]. Thomas DM, Walker PD, Benjamins JA, Geddes TJ, Kuhn DM. Methamphetamine neurotoxicity in dopamine nerve endings of the striatum is associated with microglial activation. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2004;311(1):1-7.
[12]. Zou JY, Crews FT. TNFα potentiates glutamate neurotoxicity by inhibiting glutamate uptake in organotypic brain slice cultures: neuroprotection by NFκB inhibition. Brain research. 2005;1034(1):11-24.
[13]. Long J, Song J, Zhong L, Liao Y, Liu L, Li X. Palmatine: A review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics. Biochimie. 2019;162:176-84.
[14]. Singh H, Sharma AK, Gupta M, Singh AP, Kaur G. Tinospora cordifolia attenuates high fat diet-induced obesity and associated hepatic and renal dysfunctions in rats. PharmaNutrition. 2020;13:100189.
[15]. Kim B, Yun J, Park B. Methamphetamine-Induced Neuronal Damage: Neurotoxicity and Neuroinflammation. Biomolecules & Therapeutics. 2020;28(5):381.
[16]. Moszczynska A, Callan SP. Molecular, behavioral, and physiological consequences of methamphetamine neurotoxicity: implications for treatment. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2017;362(3):474-88.
[17]. Shafahi M, Vaezi G, Shajiee H, Sharafi S, Khaksari M. Crocin inhibits apoptosis and astrogliosis of hippocampus neurons against methamphetamine neurotoxicity via antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. Neurochemical research. 2018;43(12):2252-9.
[18]. Khaksari M, Esmaili S, Abedloo R, Khastar H. Palmatine ameliorates nephrotoxicity and hepatotoxicity induced by gentamicin in rats. Archives of physiology and biochemistry. 2019:1-6.
[19]. Wang L, Wang X, Zhang S-L, Zhu X-M, Liu Y-Q, Song Z-J, et al. Gastroprotective effect of palmatine against acetic acid-induced gastric ulcers in rats. Journal of natural medicines. 2017;71(1):257-64.
[20]. Shaerzadeh F, Streit WJ, Heysieattalab S, Khoshbouei H. Methamphetamine neurotoxicity, microglia, and neuroinflammation. Journal of neuroinflammation. 2018;15(1):1-6.

The protective effect of palmatine on impairment learning and memory and necrosis cell death on hippocampus following methamphetamine neurotoxicity

Edris Sharifi[1], Hossein Khastar[2], Behzad Gharmabi[3],Vida Hojati[4], Mehdi Khaksari[2*]

1. Medical Student, Student Research Committee, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran
2. Associate Professor of Physiology, Addiction Research Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran
3. Assisstant Professor of Neuroscience School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran
4. Assisstant Professor of Biology, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

Abstract

Introduction: Methamphetamine is a powerful stimulant of the central nervous system Methamphetamine abuse can impair cognitive function and damage the nervous system. Recent studies have shown that methamphetamine result in neuronal damage through several ways such as increased free radicals and oxidative stress, accelerated cell death, and apoptosis. In addition, there are many studies and evidence of anti-inflammatory, anti-apoptotic and antioxidant effects of palmatine on various types of neurological diseases. Therefore, this study was designed to help prove the function of palmatine neurotransmitter protection against neurotoxic activity of methamphetamine.

Materials and Methods: Methamphetamine neurotoxicity was induced by 40 mg/kg of METH in four intraperitoneally (IP) injections (e.g., 4×10 mg/kg q. 2-h, IP.). Palmatine (50,100 mg/kg) was administered at 30- min, 24-h, and 48 h after the final injection of METH. Spatial memory test was evaluated by Morris water maze then the brains were removed for Nissl staining to assess necrosis neuronal death within the hippocampal CA1 area.

Results: Behavioral tests shows that palmatine treatment could significantly improve spatial memory deficits and learning ($P<0.05$) versus the METH group. Moreover, palmatine could significantly reduce necrosis cell death ($P<0.05$) in CA1 area of hippocampus.

Conclusion: According to the findings, palmatine improve memory and learning function in rats by reducing cell death.

Received: 2019/11/15
Accepted: 2020/02/15

Keywords: Methamphetamine neurotoxicity, Palmatine, Necrosis, Impairment learning and memory.