

# تأثیر هومانین بر اختلال ایجاد شده در حافظه فضایی ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزتوسین در رت‌های نر

کورش نگین تاجی<sup>۱</sup>، اسدالله ظریف‌کار<sup>۲</sup>، مریم موسوی<sup>۲</sup>، رسول قاسمی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، <sup>۲</sup>گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران، <sup>۳</sup>مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۳

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/۱۰/۱۴

## چکیده:

**زمینه و هدف:** آلزایمر اسپورادیک یک نوع جدید شناخته شده از بیماری مخرب آلزایمر می باشد که اختلال در مسیر سیگنالینگ انسولین یکی از عوامل احتمالی ایجاد کننده آن می باشد. هدف از این مطالعه تاثیر هومانین بر اختلال ایجاد شده در حافظه فضایی ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزتوسین در رت‌های نر بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی بر روی ۴۲ رت نر با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم، کانول درون بطن جانبی به صورت دوطرفه کاشته شد و استرپتوزتوسین و یا سرم فیزیولوژی یک روز در میان در روز اول و سوم در بطن جانبی تزریق گردید و تزریق داروی هومانین با دوزهای (۰/۰۱ و ۰/۰۵ و ۰/۱ و ۱) نانو مول از روز چهارم به صورت یک روز در میان تا روز چهاردهم انجام گردید و سپس از روز چهاردهم الی هفدهم حافظه فضایی حیوان با روش ماز آبی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های آماری به وسیله تست آزمون اندازه‌گیری مکرر و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** گروه‌های دریافت کننده هومانین با دوزهای ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۱ نانومول نتوانسته به طور معنی‌داری اختلال حافظه فضایی ناشی از تزریق درون بطنی استرپتوزتوسین را بهبود بخشد.

**نتیجه‌گیری:** هومانین با اثر محافظت عصبی نتوانست اختلالات حافظه فضایی ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزتوسین را تعدیل نموده و موجب بهبود حافظه گردد.

**واژه‌های کلیدی:** هومانین، استرپتوزتوسین، حافظه فضایی، آلزایمر اسپورادیک

\*نویسنده مسئول: کورش نگین تاجی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

Email: k.negintaji@gmail.com



## مقدمه

شامل: تنظیم متابولیسم گلوکز مغز (۶) تعدیل عملکرد گیرنده‌های گلوتامات (۷) و معکوس کردن انسداد کولینرژیک و کاهش برداشت نوراپی نفرین در این کار دخالت دارند (۸). در حالی که بخش زیادی از انسولین مغز از محیط خارج از آن منشاء می‌گیرد (۹)، در مغز به وسیله سلول‌های هر می هیپوکامپ، تالاموس، قشر پره فرونتال میانی و لایه گرانولی پیاز بویایی تولید می‌شود (۱۰-۱۱).

انسولین به گیرنده خود متصل شده و باعث فعال شدن دو مسیر فسفا تیدل، اینوزیتیل تری فسفات (PI3K) (۱۲) و MAPK (۱۳) می‌شود. سیگنالینگ انسولین از طریق فعال کردن مسیر PI3K/AKT/GSK-3 میزان رها شدن پروتئین پیش ماده آمیلوئید APP (۱۴) را به درون فضای خارج سلولی تنظیم می‌کند (۱۳).

هومانین (HN) (۱۵) یک پپتید متشکل از ۲۴ اسید آمینه است که برای اولین بار در سال ۲۰۰۱ در ناحیه پس‌سری مغز بیمارانی که به علت بیماری آلزایمر فوت کرده بودند شناسایی گردید و نقش حفاظتی این پپتید در سلول‌های عصبی در این ناحیه مورد بررسی قرار گرفت و پیشنهاد گردید که هومانین می‌تواند در سلول‌های عصبی در مقابل پروتئین‌های مختلفی که

بیماری آلزایمر (AD) (۱) یک بیماری عصبی پیش رونده (۲) می‌باشد که به تدریج باعث از بین رفتن حافظه فرد شده و توانایی شخص را برای یادگیری، قضاوت، برقراری ارتباط و حتی انجام فعالیت‌های روزمره مختل می‌کند (۱). از مشخصه‌های بیماری آلزایمر می‌توان به از بین رفتن پیش رونده و غیر قابل برگشت سلول‌های عصبی در سیستم لیمبیک و قشر مخ اشاره کرد (۲). از نشانه‌های اصلی این بیماری می‌توان به تجمع پلاک‌های خارج سلولی آمیلوئید و کلاف‌های نوروفیبریلاری (NFT) (۳) در مغز اشاره کرد (۳). اخیراً نوع دیگری از بیماری آلزایمر شناسایی شده که تحت عنوان اسپورادیک (۴) آلزایمر (sAD) معرفی می‌گردد. فاکتورهایی که در ایجاد آن نقش دارند شامل: سن، دیابت نوع دوم و آپولیپو پروتئین ۴ APE4 (۵) می‌باشد (۲). از تغییرات بالینی آن می‌توان به کاهش حافظه اشاره کرد و از جمله علایم نوروپاتولوژیک آن ایجاد پلاک‌های آمیلوئید و NFT می‌باشد (۴). تا حدود سه دهه قبل مشخص نبود که مغز به انسولین حساس می‌باشد (۴)، در این زمان بود که پیشنهاد گردید که انسولین می‌تواند از سد خونی مغز (BBB) (۵) عبور کند و به دنبال آن مشخص شد که انسولین و گیرنده‌های آن در مناطق مختلف مغز وجود دارد (۵). مکانیسمی که به وسیله آن، انسولین بر یادگیری و حافظه اثرگذار است به طور دقیق مشخص نیست، با این حال پیشنهاد شده که مکانیسم‌هایی

- 1-Alzheimer Disease (AD)
- 2-Neurodegenerative
- 3-Neurofibrillary Tangle
- 4-Sporadic
- 5-Apolipoprotein E4
- 6-Blood-Brain Barrier
- 7-Phosphatidylinositol-3 Kinase
- 8-Mitogen Activated Protein Kinase
- 9-Amyloid Precursor Protein
- 10-Humanin

فعال شدن پروتئین‌های Bad , GSK3 $\beta$  و کاسپاز-۹ می‌شود (۲۰).

استرپتوزوتوسین<sup>(۱)</sup> که به اختصار STZ هم گفته می‌شود یک ترکیب طبیعی است که به وسیله باکتری اسپریتومایسس آکروموژنس تولید می‌شود (۲۱). در دهه ۱۹۹۰ مشاهده شد که تزریق STZ به صورت درون بطنی (i.c.v) در مغز در دوز پایین سبب نقص حافظه می‌شود (۲۲). STZ به صورت تزریق درون بطنی در رت سبب تغییرات نوروپاتولوژیک و بیوشیمیایی شبیه آلزایمر اسپورادیک می‌شود و بنابراین به عنوان یک مدل آزمایشگاهی در تغییرات پاتوفیزیولوژیک اولیه در بیماری آلزایمر کاربرد دارد (۲ و ۲۳). هدف این تحقیق بررسی اثر هومانین در برابر اختلال ایجاد شده در حافظه فضایی ناشی از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین (STZ) در رت‌های نر بود.

### روش بررسی

در مطالعه تجربی حاضر ۴۲ رت از نژاد اسپراگ داوولی در محدوده وزنی ۲۳۰ تا ۲۷۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد و به صورت تصادفی ساده در شش گروه قرار داده شد. این حیوانات آزمایشگاهی در شرایط استاندارد شامل ۱۲ ساعت

باعث ایجاد بیماری آلزایمر می‌شوند نقش حفاظتی<sup>(۱)</sup> داشته باشد و باعث مهار مرگ سلول‌های عصبی در قسمت‌هایی از مغز این بیماران شود (۱۴). هومانین نه فقط در ناحیه پس سری مغز بلکه در سلول‌های گلیال هیپوکامپ نیز مشاهده شده است (۱۵).

نقش حفاظتی هومانین در محیط‌های مختلف کشت از جمله محیط کشت سلول‌های عصبی (۱۶-۱۴) مدل لنفوسیت (۱۷) و همچنین سلول‌های ماهیچه صاف دیواره عروق مغزی (۱۸) مورد بررسی قرار گرفته است. اثر محافظت عصبی هومانین علیه بتا آمیلوئید ۱-۴۲ (A $\beta$  1-42) که باعث مرگ سلولی در سلول‌های عصبی می‌شود در محیط آزمایشگاهی<sup>(۲)</sup> نیز گزارش شده است (۱۶). همچنین نقش حفاظتی این پپتید علیه نوروتوکسیستی القاء شده به وسیله رادیکال‌های آزاد (سوپراکساید دیسموتاز) دیده شده است (۱۴). مطالعه‌های اندکی در خصوص هومانین و نقش حفاظتی آن بر روی حافظه در حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است. در تحقیقی مشاهده گردید که تزریق هومانین به صورت درون بطنی (i.c.v)<sup>(۳)</sup> باعث مهار اختلال ایجاد شده به وسیله بتا آمیلوئید در LTP<sup>(۴)</sup> می‌شود (۱۹).

هنوز به طور دقیق نحوه عمل هومانین و گیرنده آن مشخص نشده است. احتمالاً گیرنده غشایی تیروزین کیناز (RTK) فسفوریله می‌شود و باعث فعال شدن Pi3k و فسفوریله شدن Akt شده و نهایتاً فعال شدن Akt باعث مهار مرگ سلولی<sup>(۵)</sup> به وسیله غیر

1-Neuroprotective  
2-Invitro  
3-Intra Cerebroventricular  
4-Long - Term Potentiation  
5-Apoptosis  
6-Streptozetosin

میکروگرم (Sigma-USA) و حلال استفاده شده جهت هر دو دارو سالین بود. هومانین در دوزهای ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، و ۱ نانومول به کار برده شد.

در گروه کنترل بعد از عمل جراحی میزان ۵ میکرولیتر سالین به صورت دو طرفه و هر طرف ۲/۵ میکرولیتر با تزریق درون بطنی در روزهای اول و سوم و از روز ۴ تا ۱۴ یک روز درمیان دریافت نمودند. کلیه تزریق‌ها از طریق کانول راهنما و به وسیله سرنگ همپلتون به آهستگی انجام می‌گرفت. روزهای تزریق در همه گروه‌های مورد آزمایش به صورت ثابت و یکسان انجام گرفت.

گروه دوم، (گروه STZ) داروی STZ، ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به صورت دو طرفه و هر طرف ۲/۵ میکرولیتر در روزهای اول و سوم دریافت شد. از روز ۴ تا ۱۴ به صورت یک روز در میان سرم فیزیولوژی تزریق گردید.

در گروه سوم، گروه داروی استرپتوزتوسین (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت دو طرفه و هر طرف ۲/۵ میکرولیتر در روزهای اول و سوم درون بطنی تزریق گردید و سپس از روز ۴ تا ۱۴ به صورت یک روز در میان تزریق درون بطنی داروی هومانین با غلظت ۰/۰۱ نانومول به صورت دو طرفه و هر طرف ۲/۵ میکرولیتر انجام گرفت.

فرآیند کاری گروه‌های چهارم، پنجم و ششم همانند گروه سوم انجام شد، ولی هومانین در گروه چهارم با غلظت ۰/۰۵ نانومول، در گروه پنجم ۰/۱ نانومول، در گروه ششم ۱ نانومول تزریق شد. ضمن آن که روزهای اول و سوم نیز رت‌ها در این گروه‌ها استرپتوزتوسین دریافت کرده بودند.

نور و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد با آب و غذای نامحدود قرار گرفتند و در کلیه مراحل پروژه ملاحظات اخلاقی طبق NIH guide و اصول اخلاقی کار با حیوانات تنظیم شده به وسیله دانشگاه علوم پزشکی شیراز اعمال گردید.

در هر گروه هفت رت به صورت تصادفی ساده قرار گرفت؛ حیوانات آزمایشگاهی با داروی بیهوشی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلوزین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش و در دستگاه استریوتاکس قرار گرفت و محل جراحی با محلول بتادین ضد عفونی و پس از باز کردن پوست سر و نمایان شدن جمجمه، مختصات دقیق بطن جانبی به وسیله اطلس پاکسینوز مشخص می‌شد (۰/۸ میلی‌متر به سمت خلفی برگما، ۱/۵ میلی‌متر فاصله از دو طرف خط ساژیتال و ۳/۵ میلی‌متر عمق نسبت به سطح جمجمه). سپس محل مورد نظر به وسیله دریل سوراخ و کانول‌های از پیش تهیه شده ضد عفونی و در محل قرار داده می‌شد. بعد از آن محل جراحی به وسیله سیمان دندانپزشکی پوشانده شده به طوری که کانول‌ها در جای خود کاملاً ثابت می‌شدند. (در کلیه مراحل کار سعی شد که خطر عفونت به حداقل برسد). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی توکی و با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفته است. سطح معنی‌داری برابر  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

داروهای استفاده شده شامل داروی استرپتوزتوسین ۵۰۰ میلی‌گرم (Sigma-USA) (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و داروی هومانین ۵۰۰

در روز چهاردهم پس از آخرین تزریق درون بطنی، حافظه فضایی این گروه‌ها به وسیله آزمون ماز آبی موریس (MWM) مورد ارزیابی قرار گرفت.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و تست آزمون اندازه‌گیری مکرر و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

### یافته‌ها

اثرات تجویز سرم فیزیولوژی، استرپتوزتوسین و استروپتوزتوسین همراه با هومانین بر حافظه و یادگیری فضایی در ماز آبی در شکل ۱ نشان داده شده است. این شکل نشان می‌دهد یک همبستگی خطی منفی بین زمان رسیدن به سکو و روزهای آموزش در همه گروه‌ها وجود داشت و نشان می‌دهد که گروه کنترل محل سکو را یاد گرفته، در حالی که STZ توانایی یادگیری را کاهش می‌دهد. شکل ۱: الف الگوی یادگیری حیوانات در گروه‌ها را نشان می‌دهد. آنالیز آزمون اندازه‌گیری مکرر تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان داد ( $p < 0.001$ ). تست توکی به دنبال آنالیز آزمون اندازه‌گیری مکرر نشان داد که زمان رسیدن به سکو در گروه دریافت‌کننده STZ به طور معنی‌دار بیشتر از گروه دریافت‌کننده سالین بود ( $p < 0.001$ ). همچنین درمان با دوزهای ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۱ نانومول هومانین تأثیری در بهبود اختلال القاء شده به وسیله استرپتوزتوسین نداشته و تغییری در زمان رسیدن به سکو در

گروه‌های دریافت‌کننده استرپتوزتوسین به همراه دوزهای ذکر شده هومانین ایجاد نشده است.

شکل ۱: ب زمان رسیدن به سکو پنهان طی روزهای ۱ تا ۳ را نشان می‌دهد. برای مقایسه چگونگی رفتار رت‌ها در روزهای مختلف آموزشی تست آماری آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و نتایج تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها در روزهای دوم و سوم را نشان داد ( $p < 0.001$ ).

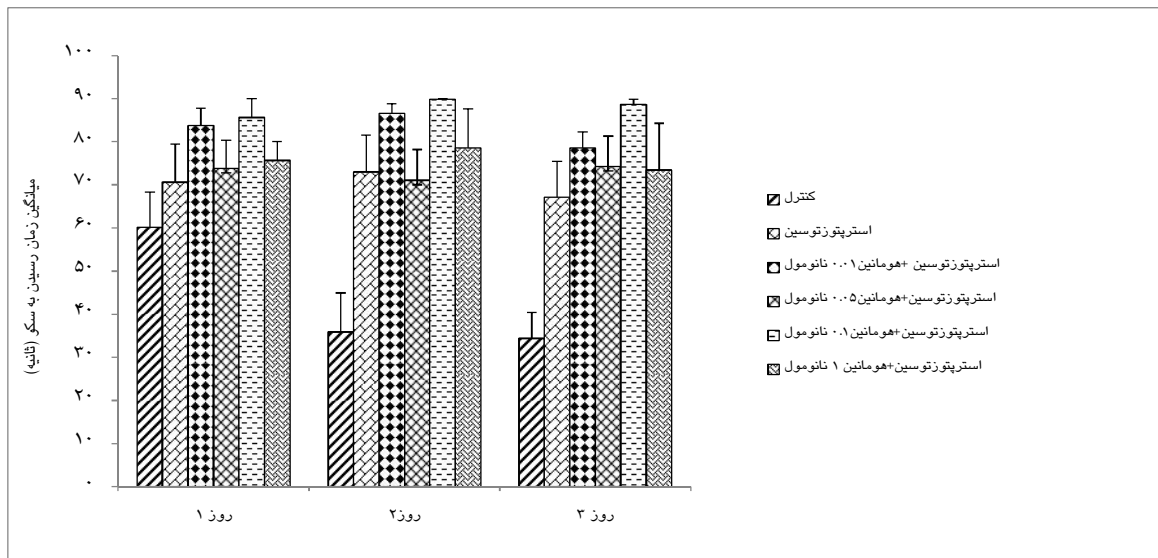
تست توکی و به دنبال آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که STZ به صورت معنی‌داری سبب افزایش زمان رسیدن به سکو در روزهای دوم و سوم آموزش شده است، در حالی که درمان با دوزهای ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۱ نانومول هومانین نتوانست تأثیری در بهبود اختلال القاء شده به وسیله استرپتوزتوسین داشته باشد و هیچ کاهشی در زمان رسیدن به سکو در این دو روز حاصل نشد.

تأثیر تجویز سالین، STZ و STZ همراه با هومانین بر مسافت طی شده از محل رها شدن حیوان در آب تا محل سکو پنهان در ماز آبی در شکل ۲ نشان داده شده است. شکل ۲ الف اثر دریافت سالین، STZ و STZ همراه با هومانین بر میزان مسافت طی شده تا رسیدن به سکو را نشان داده است. تست آماری آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که در مسافت طی شده تا رسیدن به سکو تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد.

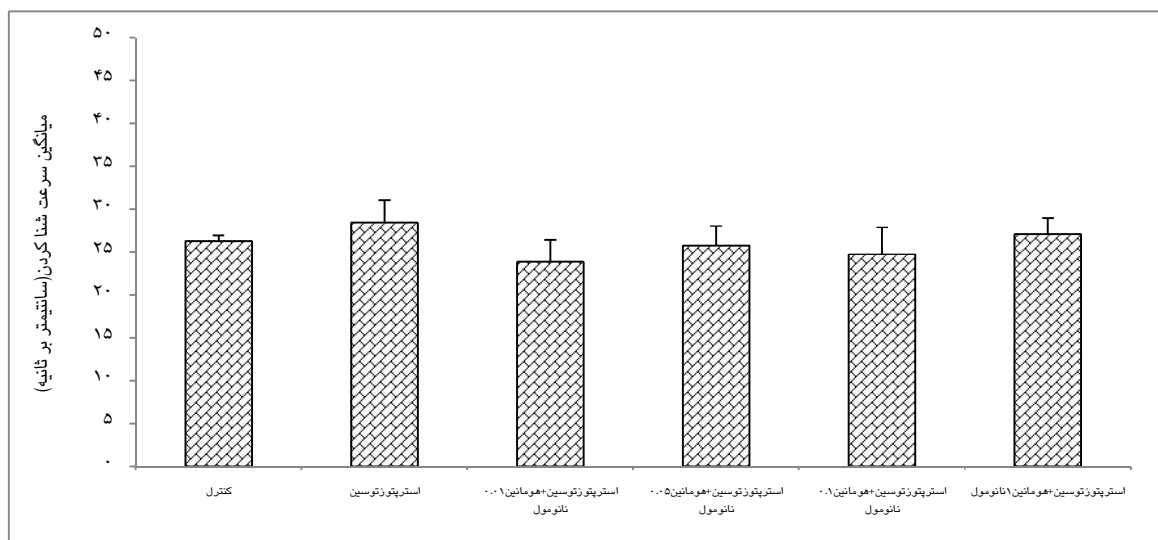
تست Post hoc Tukey نشان داد که در میزان مسافت طی شده تا ناحیه سکو در گروه کنترل با

گروه‌ها شبیه به گروه دریافت‌کننده استرپتوزتوسین به تنهایی بود.

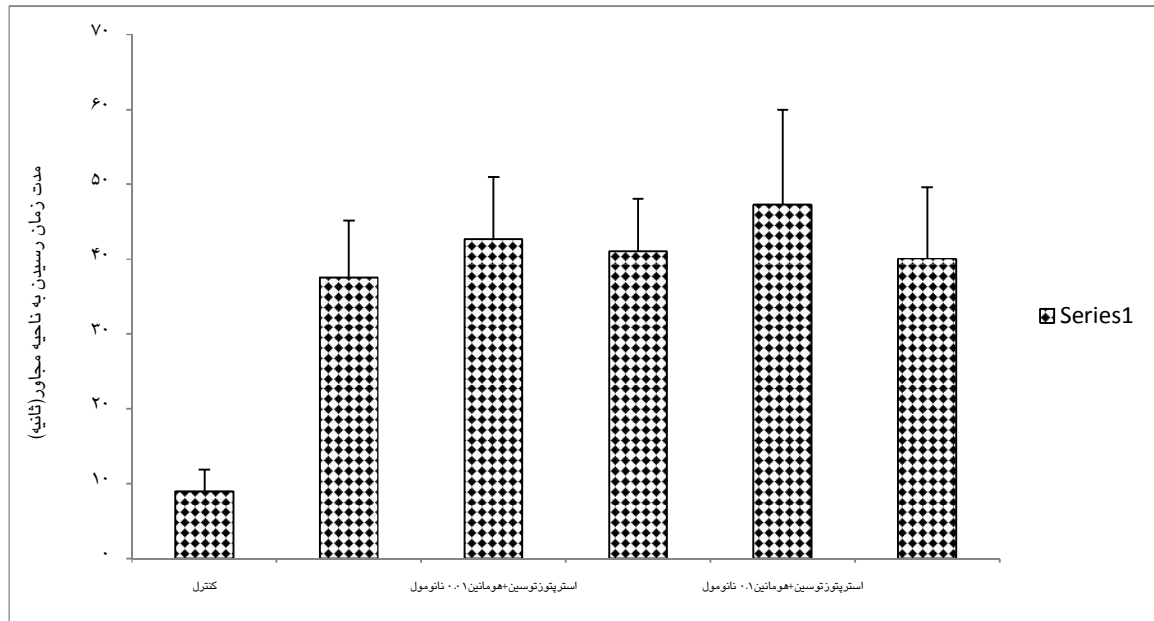
سایر گروه‌ها به صورت معنی‌داری تفاوت وجود داشته است و درمان با دوزهای ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و ۰/۱ و ۱ نانومول هومانین تأثیری در بهبود اختلال القاء شده به وسیله STZ نداشته و مسافت طی شده در این



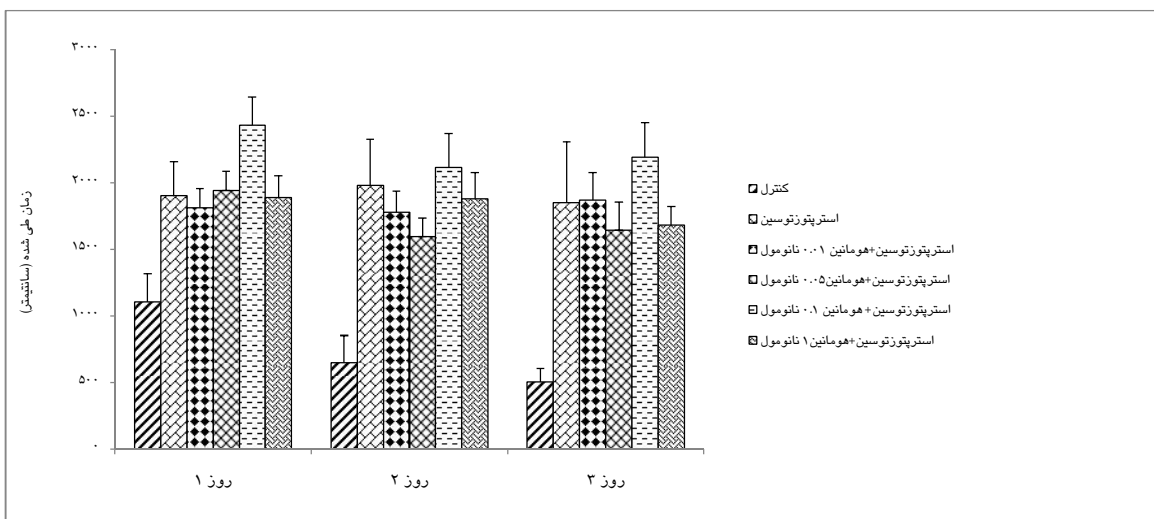
شکل ۱: اثر تجویز سالین، STZ، STZ به همراه دوزهای مختلف هومانین برحافظه و یادگیری فضایی در ماز آبی، الف: الگوهای یادگیری حیوانات دریافت‌کننده سالین، STZ با هومانین، و یا بدون هومانین در جلسات آموزش را نشان می‌دهد، ب: زمان رسیدن به سکوی پنهان طی روزهای ۱ تا ۳ آموزش. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  S.E.M نشان داده شده‌اند.  $p < 0.01$  تفاوت معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده STZ و سالین را نشان می‌دهد.



شکل ۲: اثر دریافت سالین، STZ و STZ همراه هومانین بر میانگین سرعت شنا کردن. از لحاظ سرعت شنا کردن حیوانات تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها دیده نشد.



شکل ۳: اثر دریافت سالیسین، STZ به تنهایی و یا STZ با هومانین، بر مدت زمان رسیدن به ناحیه سکو و مجاور آن طی آزمون پروب. داده ها به صورت  $Mean \pm SEM$  نشان داده شده اند.  $P < 0.001$ \* تفاوت معنی داری بین گروه دریافت کننده سالیسین و گروه های STZ و STZ با هومانین را نشان می دهد



شکل ۴: اثر تجویز سالیسین، STZ، STZ با دوزهای مختلف هومانین بر مسافت طی شده تا سکوی پنهان - الف: الگوهای طی مسافت توسط حیوانات دریافت کننده سالیسین، STZ، STZ همراه هومانین در جلسات آموزش را نشان می دهد. ب: مسافت طی شده توسط رت ها تا رسیدن به سکوی پنهان طی روزهای ۱ تا ۳ آموزش. داده ها به صورت  $Mean + SEM$  نشان داده شده اند.  $P < 0.001$ \* تفاوت معنی داری بین گروه دریافت کننده STZ و STZ همراه با دوزهای متفاوت هومانین نسبت به سالیسین رادر هر سه روز نشان می دهد.



## بحث

این مطالعه نشان داد که تجویز استرپتوزتوسین سبب اختلال در یادگیری و حافظه فضایی در ماز آبی موریس شد که با مطالعات قبلی در این زمینه همخوانی نشان می دهد. گروه های رت که علاوه بر استرپتوزتوسین، داروی هومانین در دوزهای مختلف شامل؛ ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و یا دوز ۱ نانومول ( دریافت کردند، بهبود در اختلال ایجاد شده به وسیله STZ بر روی حافظه و یادگیری آنان حاصل نشد.

همانطور که قبلاً اشاره شد تا چند دهه گذشته حساسیت مغز به انسولین حتی تولید آن در مغز کشف نشده بود (۵ و ۴). مکانیسم اثر انسولین بر یادگیری و حافظه به طور دقیق مشخص نیست، ولی آنچه مسلم است این که انسولین به گیرنده های خود متصل می شود و باعث فعال شدن سیگنالینگ درون سلولی می شود (۲۴)، انسولین موجب فعال شدن PI3K می شود که آن هم سبب فعال شدن Akt/PKB می گردد (۱۲).

تزریق داخل بطنی استرپتوزتوسین در رت باعث تغییرات نوروپاتولوژیک و بیوشیمیایی شبیه به SAD می شود. STZ با دوزی کمتر از آنچه که موجب دیابت می گردد، سبب اختلالات حافظه و یادگیری شده و همچنین اثرات عمیق بر متابولیسم و عملکرد مغز اعمال می کند (۲۶ و ۲۵). استرپتوزتوسین می تواند باعث کاهش جذب گلوکز، افزایش استرس اکسیداتیو بافتی، اختلالات کولینرژیک و اختلال در شناخت، یادگیری و

حافظه شود (۲۷). از طرفی استرپتوزتوسین باعث کاهش سنتز گیرنده انسولین در هیپوکامپ می شود (۲۸)، همچنین می تواند نفوذپذیری سد خونی مغزی را کاهش داده (۲۹) که شاید بر روی اثرگذاری سیستمیک انسولین در هیپوکامپ نقش داشته باشد. با توجه به این که تأثیر انسولین در بهبود حافظه و نوروپلاستیستی به اثبات رسیده (۳۰)، اگر چه مکانیسم دقیق تأثیر آن بر حافظه و یادگیری هنوز کاملاً شناخته نشده است (۳۱ و ۶).

هومانین می تواند مانع از تخریب ایجاد شده با قطعات مختلف بتا آمیلوئید در مغز شود (۱۹)، مکانیسم های مختلفی در خصوص نحوه عملکرد این پپتید و نقش حفاظتی آن مطرح شده هر چند که تا کنون مکانیسم دقیق آن مشخص نشده است (۱۹ و ۲۰). عمده ترین مکانیسم ارایه شده در خصوص نقش محافظت عصبی آن علیه A $\beta$  مهار گیرنده اختصاصی بتا آمیلوئید FPRL-1 می باشد که این عمل را به صورت رقابتی با A $\beta$  انجام می دهد و در جایگاه اختصاصی آن روی گیرنده در سطح سلول قرار گرفته و مانع از اتصال بتا آمیلوئید به گیرنده و شروع سیگنالینگ های مخرب درون سلولی آن شده که منجر به مرگ سلولی می شود (۳۲).

مطالعه حاضر علی رغم انتظاری که وجود داشت، هومانین با دوزهای ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۱ نانومول به صورت i.c.v دو طرفه در بطن جانبی نتوانست تأثیری در اختلال ایجاد شده به وسیله استرپتوزتوسین در حافظه فضایی و یادگیری رت ها

ایجاد کند و در ماز آبی موريس نشانده‌ای از بهبود در رفتار آنها مشاهده نگردید.

با توجه به این که برای اولین بار تأثیر داروی هومانین بر اختلال ایجادشده در حافظه فضایی در ماز آبی موريس مورد بررسی قرار گرفت و مورد مشابهی در این خصوص وجود ندارد می‌توان این احتمال را در نظر گرفت که هومانین از طریق اثرگذاری بر مسیر سیگنالینگ انسولین نمی‌تواند تأثیری بر بهبود SAD داشته باشد و یا شاید تخریب ایجاد شده به وسیله STZ به حدی بوده که امکان بهبود به وسیله این دارو وجود نداشته و شاید فقط در نوع FAD<sup>(۱)</sup> و از طریق اتصال به گیرنده اختصاصی بتا آمیلوئید یعنی FPRL-1<sup>(۲)</sup> می‌تواند مسیرهای سیگنالینگ درون سلول را فعال کرده و از این طریق مانع فعالیت  $A\beta$  و تخریب سلولی در مغز رت شود. پیشنهاد می‌شود اثر این دارو بر روی اختلال حافظه فضایی به صورت پیشگیری و قبل از تخریب حافظه و یا همزمان نیز مورد بررسی قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی بود که در بخش فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد.

1-Familial Alzheimer's Disease  
2-Formyl Peptide Receptor - Like -1

## REFERENCES

1. Arakawa T, Kita Y, Niikura T. A rescue factor for Alzheimer's diseases: discovery, activity, structure, and mechanism. *Current Medicinal Chemistry* 2008; 15(21): 2086-98.
2. Salkovic-Petrisic M. Amyloid cascade hypothesis: is it true for sporadic Alzheimer's disease. *Peridicum Biologroum* 2008.
3. Miao J, Zhang W, Yin R, Liu R, Su C, Lei G, et al. S14G-Humanin ameliorates Abeta25-35-induced behavioral deficits by reducing neuroinflammatory responses and apoptosis in mice. *Neuropeptides* 2008; 42(5-6): 557-67.
4. Salkovic-Petrisic M, Hoyer S. Central insulin resistance as a trigger for sporadic Alzheimer-like pathology: an experimental approach. *J Neural Transm Suppl* 2007; 72: 217-33.
5. Havrankova J, Roth J, Brownstein M. Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature* 1978; 272(5656): 827-9.
6. McEwen BS, Reagan LP. Glucose transporter expression in the central nervous system: relationship to synaptic function. *Eur J Pharmacol* 2004; 490(1-3): 13-24.
7. Van der Heide LP, Ramakers GM, Smidt MP. Insulin signaling in the central nervous system: learning to survive. *Progress in Neurobiology* 2006; 79(4): 205-21.
8. Blanchard JG, Duncan PM. Effect of combinations of insulin, glucose and scopolamine on radial arm maze performance. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1997; 58(1): 209-14.
9. Banks WA. The source of cerebral insulin. *Eur J Pharmacol* 2004; 490(1-3): 5-12.
10. Schechter R, Beju D, Gaffney T, Schaefer F, Whetsell L. Preproinsulin I and II mRNAs and insulin electron microscopic immunoreaction are present within the rat fetal nervous system. *Brain Research* 1996; 736(1-2): 16-27.
11. Devaskar SU, Giddings SJ, Rajakumar PA, Carnaghi LR, Menon RK, Zahm DS. Insulin gene expression and insulin synthesis in mammalian neuronal cells. *The Journal of Biological Chemistry* 1994; 269(11): 8445-54.
12. Johnston AM, Pirola L, Van Obberghen E. Molecular mechanisms of insulin receptor substrate protein-mediated modulation of insulin signalling. *FEBS Lett* 2003; 546(1): 32-6.
13. Solano DC, Sironi M, Bonfini C, Solerte SB, Govoni S, Racchi M. Insulin regulates soluble amyloid precursor protein release via phosphatidylinositol 3 kinase-dependent pathway. *FASEB J* 2000; 14(7): 1015-22.
14. Hashimoto Y, Niikura T, Tajima H, Yasukawa T, Sudo H, Ito Y, et al. A rescue factor abolishing neuronal cell death by a wide spectrum of familial Alzheimer's disease genes and Abeta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001; 98(11): 6336-41.
15. Guo B, Zhai D, Cabezas E, Welsh K, Nouraini S, Satterthwait AC, et al. Humanin peptide suppresses apoptosis by interfering with Bax activation. *Nature* 2003; 423(6938): 456-61.
16. Hashimoto Y, Niikura T, Chiba T, Tsukamoto E, Kadowaki H, Nishitoh H, et al. The cytoplasmic domain of Alzheimer's amyloid-beta protein precursor causes sustained apoptosis signal-regulating kinase 1/c-Jun NH2-terminal kinase-mediated neurotoxic signal via dimerization. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2003; 306: 899-902.
17. Kariya S, Hirano M, Furiya Y, Ueno S. Effect of humanin on decreased ATP levels of human lymphocytes harboring A3243G mutant mitochondrial DNA. *Neuropeptides* 2005; 39(2): 97-101.
18. Jung SS, Van Nostrand WE. Humanin rescues human cerebrovascular smooth muscle cells from Abeta-induced toxicity. *Journal of Neurochemistry* 2003; 84(2): 266-72.
19. Zapala B, Kaczynski L, Kiec-Wilk B, Staszal T, Knapp A, Thoresen GH, et al. Humanins, the neuroprotective and cytoprotective peptides with antiapoptotic and anti-inflammatory properties. *Pharmacological Reports* 2010; 62(5): 767-77.
20. Xu X, Chua CC, Gao J, Chua KW, Wang H, Hamdy RC, et al. Neuroprotective effect of humanin on cerebral ischemia/reperfusion injury is mediated by a PI3K/Akt pathway. *Brain Research* 2008; 1227: 12-8.
21. Vavra JJ, Deboer C, Dietz A, Hanka LJ, Sokolski WT. Streptozotocin, a new antibacterial antibiotic. *Antibiotics Annual* 1959; 7: 230-5.
22. Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes in peripheral and cerebral glucose metabolism on locomotor activity, learning and memory in adult male rats. *Brain Research* 1990; 5; 532(1-2): 95-100.
23. Deshmukh R, Sharma V, Mehan S, Sharma N, Bedi KL. Amelioration of intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive dysfunction and oxidative stress by vinpocetine -- a PDE1 inhibitor. *Eur J Pharmacol* 2009; 620(1-3): 4, 56-9.

24. Combettes-Souverain M, Issad T. Molecular basis of insulin action. *Diabetes Metab* 1998; 24(6): 477-89.
25. Duelli R, Schrock H, Kuschinsky W, Hoyer S. Intracerebroventricular injection of streptozotocin induces discrete local changes in cerebral glucose utilization in rats. *Int J Dev Neurosci* 1994; 12(8): 737-43.
26. Muller D, Nitsch RM, Wurtman RJ, Hoyer S. Streptozotocin increases free fatty acids and decreases phospholipids in rat brain. *J Neural Transm* 1998; 105(10-12): 1271-81.
27. Blokland A, Jolles J. Spatial learning deficit and reduced hippocampal ChAT activity in rats after an ICV injection of streptozotocin. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1993; 44(2): 491-4.
28. Agrawal R, Tyagi E, Shukla R, Nath C. Insulin receptor signaling in rat hippocampus: a study in STZ (ICV) induced memory deficit model. *European neuropsychopharmacology. The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology* 2011; 21(3): 261-73.
29. Hawkins BT, Ocheltree SM, Norwood KM, Egleton RD. Decreased blood-brain barrier permeability to fluorescein in streptozotocin-treated rats. *Neuroscience letters* 2007; 411(1): 1-5.
30. Moosavi M, Naghdi N, Maghsoudi N, Zahedi Asl S. The effect of intrahippocampal insulin microinjection on spatial learning and memory. *Hormones and Behavior* 2006; 50(5): 748-52.
31. Apelt J, Mehlhorn G, Schliebs R. Insulin-sensitive GLUT4 glucose transporters are colocalized with GLUT3-expressing cells and demonstrate a chemically distinct neuron-specific localization in rat brain. *Journal of Neuroscience Research* 1999; 57(5): 693-705.
32. Chueh WH, Lin JY. Berberine, an isoquinoline alkaloid in herbal plants, protects pancreatic islets and serum lipids in nonobese diabetic mice. *J Agric Food Chem* 2011; 59(14): 8021-7.

# The Effect of Humanin on Spatial Memory Disorder Induced by Intraventricular Injection of Streptozotocin in Rats

Negintaji K<sup>1\*</sup>, Zarifkar A<sup>2</sup>, Moosavi M<sup>2</sup>, Ghasemi R<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, <sup>2</sup> Department of Physiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, <sup>3</sup> Shiraz Neuroscience Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Received: 25 Dec 2013

Accepted: 23 April 2014

## Abstract

**Backgrounds & aim:** Sporadic Alzheimer's is known as a new type of devastating disease that the impairment of the insulin signaling pathway may be one of factors causing it. The aim of study was to determine the impact of humanin on spatial memory impairment induced by intraventricular injection of streptozotocin in rats.

**Methods:** In this experimental study 42 male rats weighing 250 to 300 g were selected and then cannule implanted bilaterally into their lateral ventricles. STZ or saline was injected in lateral ventricle every other day for the first and the third days. Humanin drug was injected at doses (0.01, 0.05, 0.1 and 1 n/mol) from days four until fourteenth. From day 14<sup>th</sup> to 17<sup>th</sup> the animal spatial memory was studied using water maze method. Data were analyzed by repeated measure and one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test.

**Results:** Groups treated with humanin at doses 0.01, 0.05, 0.1 and 1 n/mol could not significant improved spatial memory deficits induced by STZ.

**Conclusion:** Humanin with its known neuroprotective effects could not improve spatial memory deficits induced by intra-cerebroventricular STZ.

**Key words:** Humanin, STZ, Spatial memory, Sporadic Alzheimer

---

\*Corresponding author: Negintaji K, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Email: k.negintaji@gmail.com

Please cite this article as follows:

Negintaji K, Zarifkar A, Moosavi M, Ghasemi R. The Effect of Humanin on Spatial Memory Disorder Induced by Intraventricular Injection of Streptozotocin in Rats. *Armaghane-danesh* 2014; 19(7): 580-591.