

اثر ترمیمی پپتید غنی از پرولین هیپوتالاموس (PRP-1) روی فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ در بیماری آلزایمر ایجادشده به وسیله پپتیدهای بتا آمیلوئید (A β 25-35) و (A β 1-42) در موش‌های صحرایی

ناصر خلجی*^۱، جون سرکیسیان^۲، ورژینه چاوشیان^۳، واغیناک سرگیسیان^۴

تاریخ دریافت 32/04/25 تاریخ پذیرش 1393/06/14

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: بیماری آلزایمر شایع‌ترین نوع جنون مغزی است که به آهستگی حافظه و مهارت‌های تفکری را از بین می‌برد. این بیماری درمان بخصوصی ندارد و سرانجام منجر به مرگ می‌شود.

اخیراً پپتید غنی از پرولین از هیپوتالاموس (PRP-1) استخراج شده که طیف وسیعی از عمل بیولوژیکی روی ایمنی و سیستم عصبی دارد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر PRP-1 روی فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ در بیماری آلزایمر ایجادشده توسط پروتئین‌های بتا آمیلوئید A β 1-42 و A β 25-35 هست. اثر A β 1-42 در ایجاد بیماری آلزایمر شدیدتر از A β 25-35 می‌باشد. بنابراین بررسی شدت بیماری، شناخت و تسریع درمان بیماری آلزایمر اساس این پژوهش می‌باشد.

مواد و روش کار: مطالعه تجربی حاضر روی ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با سن ۳ الی ۴ ماهگی و با وزن ۲۰۰ تا ۲۶۰ گرمی انجام گرفت. ابتدا موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به پنج گروه چهارتایی تقسیم شدند (گروه کنترل، گروه‌های بتا آمیلوئیدی و گروه‌های بتا آمیلوئیدی به همراه PRP-1). در گروه کنترل بدون تزریق محلول‌های بتا آمیلوئید و PRP-1، در گروه‌های بتا آمیلوئیدی بعد از تزریق ۳ میکرولیتر محلول‌های بتا آمیلوئید و در گروه‌های بتا آمیلوئیدی به همراه PRP-1 بعد از تزریق محلول‌های بتا آمیلوئید و درمان با PRP-1 آزمایش الکتروفیزیولوژی با تحریک ناحیه اینتورینال با فرکانس ۵۰ و ۱۰۰ هرتز انجام گرفت و فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ به صورت تتانیک پتانسیشن و تتانیک دیپریشن ثبت گردید.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد هنگام استفاده از PRP-1 در بیماری ایجادشده به وسیله A β 25-35 پست استیمولوس تحریکی و مهارتی زودرس و تأخیری فعالیت نورون‌های هیپوکامپ به سطح نرمال رسیدند، اما در نمونه مدل A β 1-42 فعالیت تظاهرات مهارتی پست استیمولوس در سطح نرمال نرسیدند. **نتیجه‌گیری:** در طی مسمومیت با A β 25-35 و A β 1-42 ماهیت پست استیمولوس مهارتی ثبت شده گابارژیک در این مطالعه میسر، تخریب نورونی خنثی و اثر محافظتی حمایت‌شده به وسیله PRP-1 تأمین گردید.

لغات کلیدی: بیماری آلزایمر، پپتید غنی از پرولین هیپوتالاموس (PRP-1)، فعالیت الکتریکی نورون‌ها، هیپوکامپ، پپتیدهای بتا آمیلوئید A β 25-35 و A β 1-42

42

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و پنجم، شماره هشتم، ص ۷۱۷-۷۰۶، آبان ۱۳۹۳

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۰۴۴-۳۲۷۸۰۸۰۳

Email: khalajji.naser@gmail.com

مقدمه

توده‌ای از هیپرفسفریلاسیون میکروتوبولی مربوط به پروتئین تائو در نوروفیبریل‌ها در داخل سلول‌های عصبی می‌باشد که نتیجه آن منجر به اختلال در نظم سیناپس‌ها و تخریب نورونی می‌شود (۲).

بیماری آلزایمر شایع‌ترین نوع جنون مغزی در کوهنسالی می‌باشد (۱). نشانه اصلی پاتولوژی بیماری آلزایمر وجود پلاک‌های بتا آمیلوئیدی در خارج سلول‌های عصبی و تجمع

^۱ استادیار فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی (نویسنده مسئول)

^۲ استاد نوروفیزیولوژی، دانشگاه ملی ایروان، انستیتو نوروفیزیولوژی اوربیلی

^۳ استاد نوروفیزیولوژی، دانشگاه ملی ایروان، انستیتو نوروفیزیولوژی اوربیلی

^۴ استاد نوروفیزیولوژی، دانشگاه ملی ایروان، انستیتو نوروفیزیولوژی اوربیلی

مطالعات الکتروفیزیولوژی نشان دادند که آسیب حافظه اخباری طولانی مدت و بیماری‌های تخریب نورونی مربوط به تغییرات در تقویت طولانی مدت (LTP) و تضعیف طولانی مدت (LTD) در هیپوکامپ و سایر نقاط لوب گیجگاهی در گیر در تشکیل حافظه می‌باشد (۲۲).

در طی دهه گذشته محققان پیشنهاد کردند که یک عدم تعادل بین سیستم نوروترانسمیتری تحریکی و مهاری در زمینه عملکرد غیرطبیعی سیناپسی وجود دارد که عامل آن در اثر بتا آمیلوئید می‌باشد (۲۳).

علی‌رغم پیشرفت در علم پزشکی و تحقیقات وسیع در بیماری آلزایمر هنوز تشخیص زود به هنگام و درمان کامل آن ناکامل مانده است.

اخیراً PRP-1 از سلول‌های مترشحه پاراونتریکولار و سوپرا اپتیک هیپوتالاموس استخراج شده است که اثر بیولوژیک فعال روی ایمنی، سیستم عصبی و همچنین اثر محافظتی عمومی روی فرآیند تخریب نورونی دارد (۲۴، ۲۵).

با توجه به اینکه در مطالعات قبلی ما PRP-1 اثر تسریع در جبران دهلیزی بعد از لایبرنتکتومی یک طرفه روی فعالیت الکتریکی نورون‌های دیترز داشت (۲۶) و نیز اثر کاهش پلاک‌های آمیلوئیدی و حفظ زنده ماندن سلول‌های عصبی در بخش هیپوکامپ و ادامه حیات آن‌ها شده بود (۲۷)، لذا ما تصمیم گرفتیم اثر PRP-1 را روی فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ در بیماری آلزایمر به صورت تتانیک پتانسیشن (TP) و تتانیک دیپرسیشن (TD) در دو نوع از بتا آمیلوئید بررسی کنیم.

مواد و روش کار

مطالعه تجربی حاضر روی ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با سن ۳ الی ۴ ماهگی و با وزن ۲۰۰ تا ۲۶۰ گرمی انجام گرفت. ابتدا موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به پنج گروه چهارتایی تقسیم شدند (گروه کنترل، گروه‌های بتا آمیلوئیدی و گروه‌های بتا آمیلوئیدی به همراه PRP-1). با توجه به اینکه آزمایش فوق ثبت فعالیت الکتریکی نورون‌ها بود و داده‌های بدست آمده از هر رت بیش از ۸۰ نمونه بود به این تعداد اکتفا گردید.

موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه استاندارد با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با درجه حرارت ۲۰ الی ۲۲ درجه سانتی‌گراد و بدون محدودیت آب و غذا نگهداری می‌شدند و از اصول (NIH publication no.85-23, revised 1985) پیروی گردیدند.

در گروه کنترل بدون تزریق محلول‌های بتا آمیلوئید و محلول PRP-1 ناحیه اینتورینال با فرکانس ۵۰ و ۱۰۰ هرتز و با ولتاژ

از دست رفتن نورون‌ها و سیناپس‌ها در قشر مغز و مناطق خاص زیر قشری ایجاد می‌گردد. این مناطق شامل: تخریب نورونی در لوب گیجگاهی، آهیانه‌ای، بخشی از فرونتال، شکنج سینگولیت (۳) و همچنین در هسته‌های ساقه مغزی نظیر لوكوس سرلوس ایجاد می‌گردد (۴). در بیماری آلزایمر عدم تنظیم سیگنال‌های داخل سلولی و آندوسیتوز منجر به تجمع بتا آمیلوئید و تشکیل پروتئین تائو می‌گردد (۵). همچنین تغییرات در هموستاز کلسیم در نورون‌ها و سلول‌های گلیا و نیز تغییرات در فعالیت میکروگلیا و دیگر اختلالات منجر به مرگ سلولی در بیماری آلزایمر می‌گردد (۶).

در مراحل اولیه این بیماری، تجمع تدریجی اولیگومرهای محلول بتا آمیلوئید منجر به اختلال در عملکرد سیستم کولینرژیک و اختلال خفیف شناختی می‌شود (۷) اما در مراحل بعدی تشکیل پلاک‌های بتا آمیلوئیدی و نیز التهاب مزمن و تخریب نورونی منجر به جنون مغزی شدید می‌گردد (۸). یکی از علل اصلی تخریب نورونی در بیماری آلزایمر تجمع پلاک‌های بتا آمیلوئید در مغز می‌باشد (۹). همچنین وجود پلاک‌ها در هیپوکامپ مانع از انتقال پیام عصبی نیز می‌شود (۱۰).

پروتئین بتا آمیلوئید آلزایمر یک پپتید ۳۹ تا ۴۳ اسید آمینه‌ای است که ترکیب اصلی در بیماری آلزایمر می‌باشد (۱۱) و پپتید کامل آن که نقش اصلی در ایجاد این بیماری دارد، بتا آمیلوئید Aβ1-42 عمومی‌ترین نوع بتا آمیلوئید می‌باشد و قطعات دیگر که همانند قطعه کامل باعث ایجاد بیماری آلزایمر می‌شوند، عبارت‌اند از: Aβ1-28، Aβ25-35 و Aβ34-42 (۱۲). Aβ1-42 عمومی‌ترین نوع بتا آمیلوئید با زنجیره طویل می‌باشد که توسط رتیکولوم آندوپلاسمیک دانه دار تشکیل می‌گردد و شاخه‌های کوچک‌تر آن نظیر Aβ25-35 توسط دستگاه گلژی ایجاد می‌گردد (۱۳). بتا آمیلوئید Aβ1-42 اثر فیرولوژیک قوی تری دارد و نیز در ایجاد بیماری آلزایمر شدت اثر بالاتر از بتا آمیلوئید Aβ25-35 دارد (۱۴).

این پپتیدها مسیر آپیتوزیس را فعال می‌کند (۱۷-۱۵). بعضی محققان پیشنهاد کردند که آپیتوزیس در بیماری آلزایمر به علت عوامل ژنتیکی، محیطی، فاکتورهای داخلی و همچنین فعالیت غیر طبیعی پروتئین‌ها می‌باشد (۱۸).

مطالعات انجام گرفته روی حیوانات در بیماری آلزایمر نشان داده‌اند که بدتر شدن عملکرد شناختی مرتبط با تغییرات چشمگیری در پلاستیسی سیناپسی می‌باشد (۱۹) و تضعیف سیناپسی نتیجه تجمع بتا آمیلوئید می‌باشد (۲۰) و بتا آمیلوئید باعث اختلال در هموستاز یون کلسیم داخل سلولی شده که نقش مرکزی در بیماری زایی این بیماری دارد (۲۱).

بیستوری کنار زده شد تا ناحیه بریگما و لامبدا مشخص گردد. بعد از مشخص شدن ناحیه بریگما و لامبدا، استروناکسی کوردیناتور توسط استاندارد الکتروود هولدر انجام گرفت. توسط الکتروود هولدر رکورد بر اساس اطلس پاگزینوس و واتسون محل‌های هیپوکامپ و اینتورینال علامت گذاری شدند. برای علامت گذاری ناحیه بریگما را صفر در نظر گرفته شده و برای تعیین ناحیه اینتورینال ۱۰ میلی متر به عقب سمت لامبدا آمده و ۳،۵ میلی متر به سمت چپ یا راست و عمق ناحیه از بافت مغز ۴ میلی متر بود. ناحیه هیپوکامپ ۳،۵ میلی متر عقب، ۳،۵ میلی متر به سمت چپ یا راست و عمق ناحیه ۲،۸ تا ۴ میلی متر بود. بعد از علامت گذاری با مته دندان پزشکی محل‌های مشخص شده را سوراخ و الکتروود رکورد که به لومن کاپیلر وصل بود و حاوی مایع کلراید سدیم ۲ مولاری بود به ناحیه هیپوکامپ فرو برده شد و الکتروود اسیمولوس نیز در ناحیه اینتورینال فرو برده شد. ناحیه اینتورینال با فرکانس ۵۰ و ۱۰۰ هرتز و با ولتاژ ۰،۱۶ میلی آمپر به مدت ۱ ثانیه توسط دستگاه استیمولاتور مدل JS T10 تحریک گردید.

پتانسیل عمل غشاء سلول‌ها توسط الکتروود رکورد به آمپلی فایر پیرامید مدل PS-32 Lab انتقال و اطلاعات از آن توسط دو رابط خروجی به اوسیلوسکوپ مدل A تکترونیکس ۴۷۵ می‌رفت. از اوسیلوسکوپ اطلاعات توسط یک سیم رابط به کامپیوتر که برنامه رکورد و آنالیز در کامپیوتر نصب شده بود انتقال می‌یافت. این برنامه استیمولوس ها را منطبق بر روی پتانسیل غشاء می‌کرد و از رکورد رایج داخل سلولی حاصل از تتانیک پتانسیشن و تتانیک دیپریشن طولانی مدت خود داری می‌کرد. در این پروگرام همزمان با مشاهده امواج در اوسیلوسکوپ با زدن کلیک روی Show Data امواج نیز در کامپیوتر نمایان می‌شد. محدوده ولتاژ ایمپالس را در برنامه کامپیوتر انتخاب کرده، طول زمان رکورد را روی ۱۰ گذاشته و دکمه رکورد را می‌زدیم که بعد از ۱۰ ثانیه مدت ۱ ثانیه استیمولوس می‌دادیم و ۱۰ ثانیه بعد از استیمولوس رکورد نیز انجام می‌گرفت. داده‌های الکتروفیزیولوژی توسط Student's T Test مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. $P \leq 0/05$ سطح معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

یافته‌های الکتروفیزیولوژی نورون‌های هیپوکامپ با تحریک ناحیه اینتورینال با فرکانس ۵۰ و ۱۰۰ هرتز در گروه نرمال، در گروه‌های دریافت کننده محلول‌های بتا آمیلوئید A β 25-35 و A β 1-42 و نیز در گروه‌های بتا آمیلوئید به همراه PRP-1 در شکل‌های ۱ تا ۳ به قرار زیر می‌باشد.

۰،۱۶ میلی آمپر به مدت ۱ ثانیه تحریک و فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ به صورت تتانیک پتانسیشن (TP) و تتانیک دیپریشن (TD) و نیز به صورت پست تتانیک پتانسیشن (PTP) و پست تتانیک دیپریشن (PTD) ثبت گردید.

در گروه بتا آمیلوئید A β 25-35 بعد از بی هوشی با تزریق آمپول پنتاباریتال به مقدار ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، محلول بتا آمیلوئید A β 25-35 به مقدار ۳ میکرولیتر با غلظت ۱۰ مولاری داخل بطنی (ICV) تزریق و ۱۲ هفته بعد آزمایش الکتروفیزیولوژی انجام گرفت و در گروه بتا آمیلوئید A β 1-42 نیز ۳ میکرولیتر محلول A β 1-42 با غلظت ۱۰ مولاری داخل بطنی (ICV) تزریق و ۲۶ هفته بعد آزمایش الکتروفیزیولوژی انجام گرفت.

در گروه بتا آمیلوئید به همراه PRP-1، ۲۴ ساعت بعد از تزریق بتا آمیلوئید، محلول PRP-1 به مقدار ۰،۱ میلی گرم بر کیلوگرم هر روز به صورت داخل صفاقی به مدت ۳ هفته تزریق شد و در گروه بتا آمیلوئید A β 25-35 به همراه PRP-1، ۷ و ۸ هفته بعد از اتمام PRP-1 و در گروه بتا آمیلوئید A β 1-42 به همراه PRP-1، ۲۴ هفته بعد از اتمام PRP-1 آزمایش الکتروفیزیولوژی انجام گرفت (محل تزریق بر اساس اطلس پاگزینوس و واتسون تعیین گردید) (۲۸)، PRP-1 از مرکز تحقیقاتی بیوشیمی ایروان که توسط گالویان استخراج شده بود تهیه گردید و بتا آمیلوئیدها از شرکت سیگما-آلدریج آمریکا خریداری شدند.

برای ثبت فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ ابتدا به موش صحرایی جهت عدم تحرک آمپول دیتیلنیوم ۱ درصد به مقدار ۲۵ میلی گرم به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. بلافاصله بعد از تزریق دیتیلنیوم جهت جلوگیری از ارست تنفسی در موش صحرایی زیر دستگاه استروناکسی به ونتیلاتور وصل و توسط دستگاه الکتروکاردیوگراف مانیتورینگ گردید.

برای قطع ارتباط مغز از نخاع به زیر پوست ناحیه قطع نخاع بین مهره پستی T1-T2 آمپول نواکائین ۵ درصد جهت بی حسی تزریق شد. ۵ دقیقه بعد از تزریق که بی حسی ایجاد شد پوست اطراف T1 تا T3 را توسط فیچی جراحی برداشته شد. در این موقع ورید پستی مشاهده می‌شد که از آن یک مقدار پایین تر محل T1 بود. عضلات و لیگامانهای بین T1 و T2 را برداشتیم تا مفصل بین T1 و T2 آزاد و مشاهده گردد. در این موقع با فیچی کوچک جراحی، نخاع را بین این دو مهره قطع گردید. هنگام بریدن نخاع ریت قلبی کاهش یافته که این نشان دهنده آن است که شوک نخاعی ایجاد شده و درست قطع شدن نخاع را نشان می‌دهد بعد از قطع نخاع به زیر پوست سر نیز آمپول نواکائین ۵ درصد تزریق و بعد پوست سر و عضلات و بافت لیفی سر با تیغ

کمتر بود بطوری که میانگین تعداد اسپایک های ایجاد شده در هنگام تحریک ۰،۷۱ اسپایک در هر ثانیه و قبل از تحریک ۳،۹۳ اسپایک در هر ثانیه بود و بعد از تحریک این اسپایک ها ۲،۴۰ عدد در هر ثانیه رسیده بودند (شکل ۱ نمودار B گروه B و شکل ۲ نمودار E). و تتانیک پتانسیشن تأخیری به دنبال تتانیک پتانسیشن و یک تتانیک پتانسیشن تأخیری قابل محسوس در یک محدوده زمانی به دنبال تتانیک پتانسیشن نیز مشاهده گردید (شکل ۱ نمودار A و شکل ۲ نمودار B)، و تتانیک دیپریشن تأخیری به دنبال تتانیک دیپریشن و یک تتانیک پتانسیشن قبل از تحریک نیز مشاهده گردید (شکل ۲ نمودار E).

همچنین هنگام استفاده از بتا آمیلوئید $A\beta 1-42$ همانند $A\beta 25-35$ تضعیف نورونی وجود داشت اما کاهش اسپایک ها نسبت به آن نسبتاً کمتر بود. تتانیک پتانسیشن نسبت به قبل از تحریک ۱،۵ برابر بود و تعداد اسپایک ها ۳ برابر کمتر از گروه نرمال در هنگام تحریک بود بطوری که میانگین تعداد اسپایک های ایجاد شده در هنگام تحریک ۸،۶۱ اسپایک در هر ثانیه و قبل از تحریک ۵،۲۹ اسپایک در هر ثانیه بود و بعد از تحریک تعداد اسپایک ها ۵،۱۰ اسپایک در هر ثانیه رسیده بود. (شکل ۱ نمودار C گروه E و F و شکل ۳ نمودار B). تتانیک دیپریشن نیز ۱،۸ برابر نسبت به قبل از تحریک کمتر بود بطوری که میانگین تعداد اسپایک های ایجاد شده در هنگام تحریک ۲،۵۰ اسپایک در هر ثانیه و قبل از تحریک ۴،۶۲ اسپایک در هر ثانیه بود و بعد از تحریک این اسپایک ها ۵،۳۴ عدد در هر ثانیه رسیده بودند (شکل ۱ نمودار D گروه E، F).

اما در گروه بتا آمیلوئید $A\beta 25-35$ به همراه PRP-1 فعالیت الکتریکی نورون ها افزایش یافته بود بطوری که تتانیک پتانسیشن ایجاد شده ۷،۵ برابر قبل از تحریک بود و تعداد اسپایک ها در هنگام تحریک از گروه نرمال کمی تجاوز کرده بود و به ۱،۳ برابر رسیده بود اما تعداد اسپایک ها در مقایسه با گروه نرمال قبل و بعد از تحریک تفاوت چندانی نداشت. میانگین تعداد اسپایک های ایجاد شده در هنگام تحریک ۴۴،۵۶ اسپایک در هر ثانیه و قبل از تحریک ۵،۸۹ اسپایک در هر ثانیه و بعد از تحریک نیز به ۷،۴۰ اسپایک در ثانیه رسیده بود. (شکل ۱ نمودار A گروه A و B و شکل ۲ نمودار C). تتانیک دیپریشن نیز ۴،۳ برابر نسبت به قبل از تحریک کمتر بود. بطوری که میانگین تعداد اسپایک های ایجاد شده در هنگام تحریک ۰،۴۵ اسپایک در هر ثانیه و قبل از تحریک ۱،۹۷ اسپایک در هر ثانیه بود و بعد از تحریک این اسپایک ها ۲،۱۹ عدد در هر ثانیه رسیده بودند (شکل ۲ نمودار F).

در گروه بتا آمیلوئید $A\beta 1-42$ به همراه PRP-1 تتانیک پتانسیشن ۲ برابر قبل از تحریک بود و از گروه نرمال در حین

فعالیت الکتریکی نورون ها به صورت اسپایک و ثبت آن ها در نمودارها به صورت تتانیک پتانسیشن (TP) و تتانیک دیپریشن (TD) و نیز تتانیک پتانسیشن تأخیری (PTP) و تتانیک دیپریشن تأخیری (PTD) ارائه شد و نمودارها با همدیگر در گروه های مختلف مقایسه گردیدند.

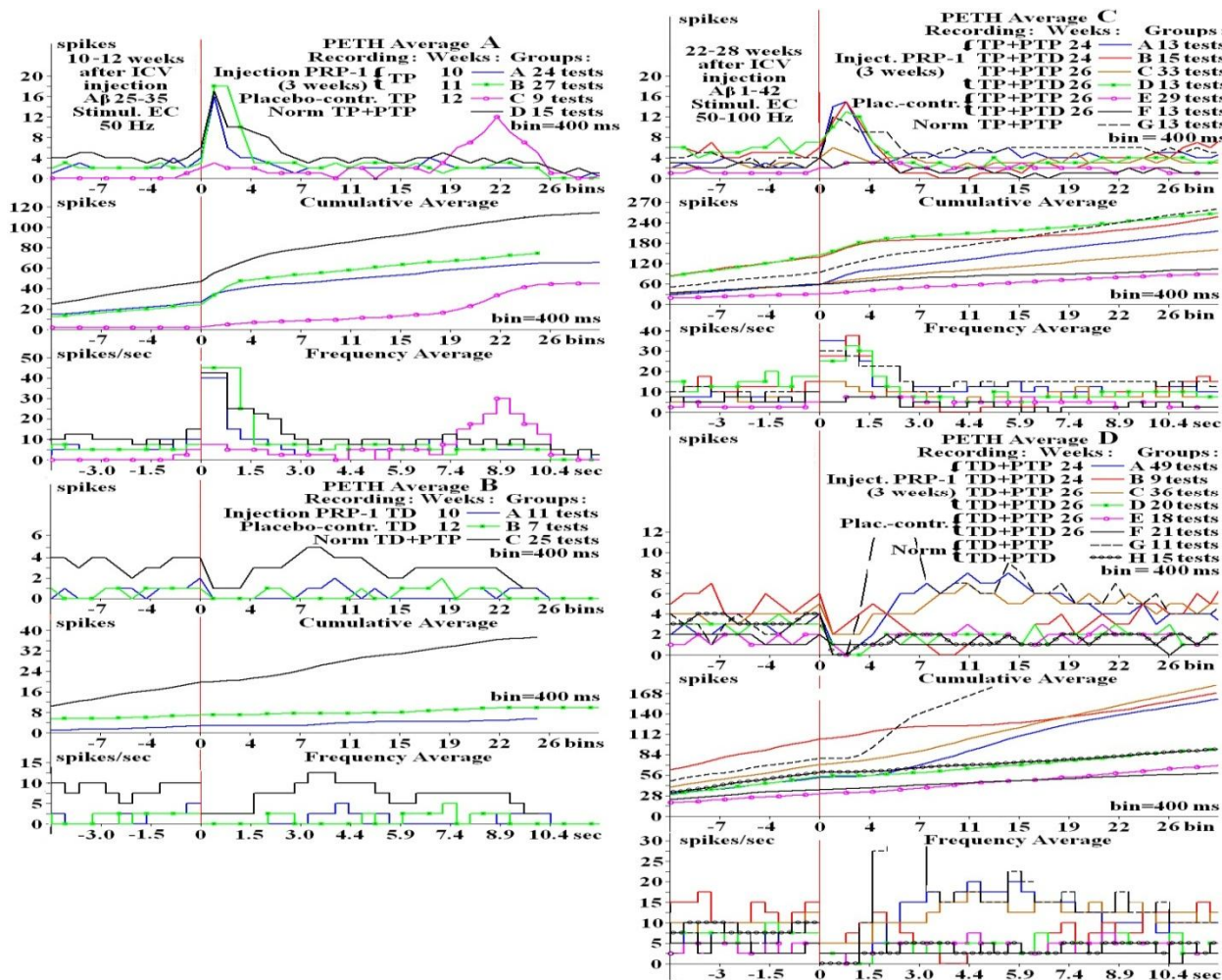
در گروه نرمال با تحریک ناحیه اینتورینال با فرکانس ۵۰ و ۱۰۰ هرتز باعث ایجاد تتانیک پتانسیشن (TP) و تتانیک دیپریشن (TD) شده و در حین تحریک تتانیک پتانسیشن (TP) ۳ برابر نسبت به قبل از تحریک بالا بود بطوری که میانگین تعداد اسپایک های ایجاد شده در هنگام تحریک ۳۲،۴۷ اسپایک در هر ثانیه و قبل از تحریک ۱۰،۴۹ اسپایک در هر ثانیه بود و بعد از تحریک نیز به سطح اولیه یعنی قبل از تحریک رسیده بود که این اسپایک ها ۱۱،۸۳ عدد در هر ثانیه بودند (شکل ۱ نمودار A گروه D و شکل ۲ نمودار A) اما تتانیک دیپریشن ۳،۵ برابر نسبت به قبل از تحریک کمتر بود بطوری که میانگین تعداد اسپایک های ایجاد شده در هنگام تحریک ۲،۶۰ اسپایک در هر ثانیه و قبل از تحریک ۹،۱۶ اسپایک در هر ثانیه بود و بعد از تحریک نیز حدوداً به سطح اولیه یعنی قبل از تحریک رسیده بود که این اسپایک ها ۸،۶۰ عدد در هر ثانیه رسیده بودند (شکل ۱ نمودار B، D و شکل ۲ نمودار D). به عبارت دیگر میانگین اسپایک های ایجاد شده در حین تحریک در هنگام تتانیک پتانسیشن ۳ برابر نسبت به قبل از تحریک بالا بود و در هنگام تتانیک دیپریشن میانگین اسپایک ها در حین تحریک ۳،۵ برابر نسبت به قبل از تحریک پایین بود.

همچنین در گروه نرمال تتانیک پتانسیشن تأخیری (PTP) (شکل ۱ نمودار A، C و شکل ۲ نمودار A و شکل ۳ نمودار A) به دنبال تتانیک پتانسیشن و تتانیک دیپریشن تأخیری (PTD) (شکل ۱ نمودار D و شکل ۲ نمودار D و شکل ۳ نمودار E) به دنبال تتانیک دیپریشن نیز ایجاد شد با این وجود یک توازن اسپایک قبل و بعد از تحریک وجود دارد.

هنگام استفاده از محلول بتا آمیلوئید $A\beta 25-35$ اولاً تضعیف فعالیت الکتریکی نورونی قبل از تحریک بطور قابل محسوس مشاهده گردید و ثانیاً یک عدم توازن اسپایک ها قبل و بعد از تحریک وجود داشت. در این گروه تتانیک پتانسیشن نسبت به قبل از تحریک ۶،۵ برابر بالا بود و تعداد اسپایک ها ۴،۵ برابر کمتر از گروه نرمال در هنگام تحریک مشاهده شد بطوری که میانگین تعداد اسپایک های ایجاد شده در هنگام تحریک ۷،۱۱ اسپایک در هر ثانیه و قبل از تحریک ۱،۱۳ اسپایک در هر ثانیه بود و بعد از تحریک سطح اسپایک ها بالا بود و تعداد اسپایک ها در هر ثانیه ۹،۶۰ عدد رسیده بودند (شکل ۱ نمودار A گروه C و شکل ۲ نمودار B). تتانیک دیپریشن نیز ۵،۵ برابر نسبت به قبل از تحریک

تانیه رسیده بود. (شکل ۳ نمودار A و D) و تتانیک دیپریشن نیز ۴۳ برابر نسبت به قبل از تحریک کمتر و همانند گروه $A\beta_{25-35}$ به همراه PRP-1 بود.

تحریک ۵، ۱ برابر کمتر بود. اما قبل و بعد از تحریک تعداد اسپایک ها نزدیک به نرمال بود میانگین تعداد اسپایک های ایجاد شده در هنگام تحریک ۱۹،۲۹ اسپایک در هر تانیه و قبل از تحریک ۹،۷۱ اسپایک در هر تانیه و بعد از تحریک نیز به ۱۲،۱۷ اسپایک



شکل (۱)

شکل ۱ فعالیت الکتریکی نورون های هیپوکامپ به صورت دیگرام در گروه کنترل، گروه های بتا آمیلوئید و گروه های بتا آمیلوئید به همراه PRP-1 قبل از تحریک، در هین تحریک و بعد از تحریک ناحیه اینتورینال با فرکانس ۵۰ و ۱۰۰ هرتز در طول ۱ تانیه و بر اساس میانگین تعداد اسپایک ها به صورت هیستوگرام (نمودار A, B, C, D)، جمع هیستوگرام ها و میانگین فرکانس هیستوگرام ها را نشان می دهد.

نمودارهای سمت چپ مربوط به مقایسه گروه کنترل با گروه بتا آمیلوئید $A\beta_{25-35}$ و گروه درمان با PRP-1 می باشد. و نمودارهای سمت راست مربوط به مقایسه گروه کنترل با گروه بتا آمیلوئید $A\beta_{1-42}$ و گروه درمان با PRP-1 می باشد.

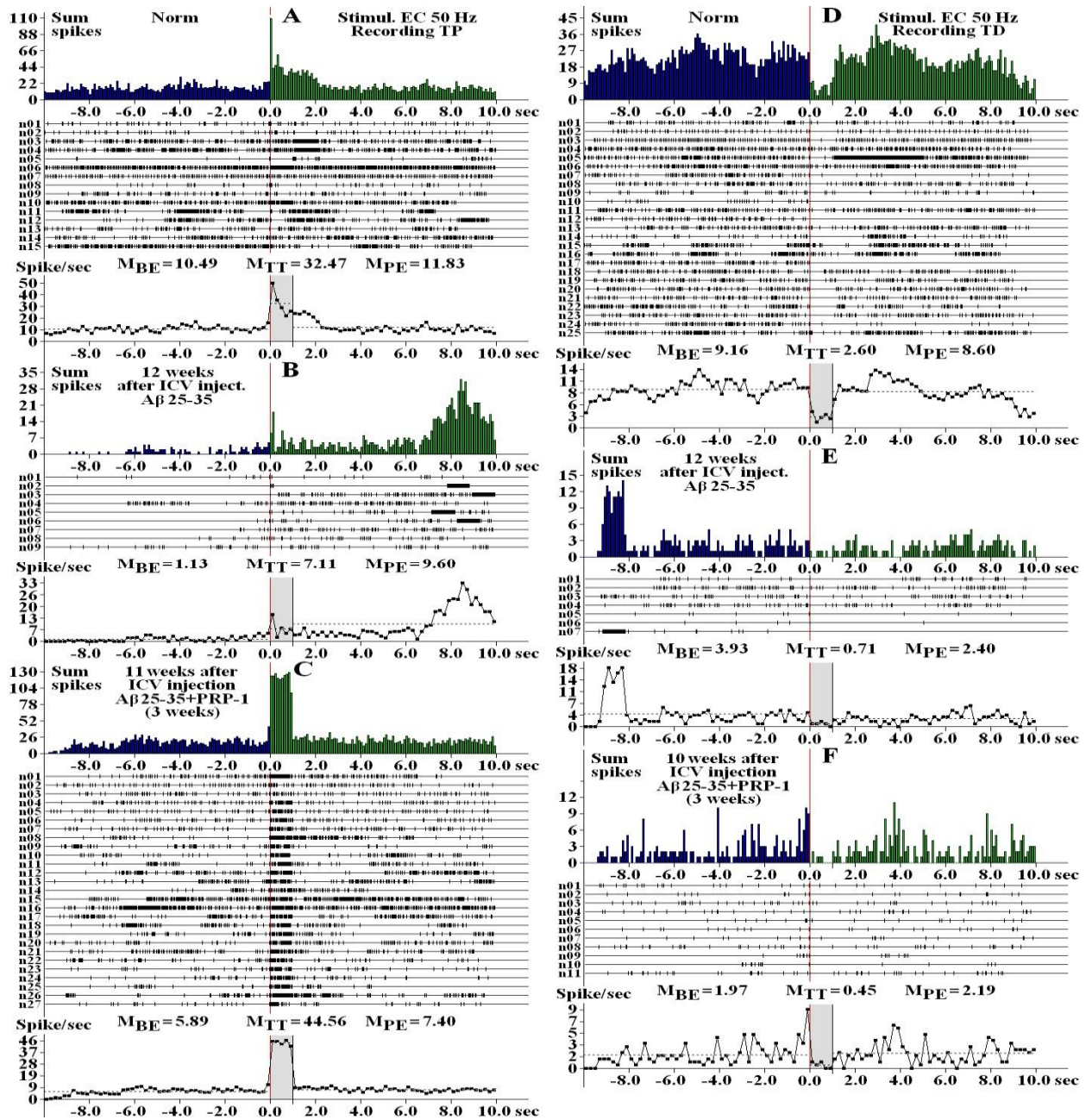
خط عمودی در سمت چپ نمودارها نمایانگر تعداد اسپایک ها و خط افقی مربوط به زمان می باشد که ۱۰ تانیه قبل از تحریک، ۱ تانیه در هنگام تحریک و ۱۰ تانیه بعد از تحریک می باشد و بر اساس bin ارائه شده که هر bin برابر ۴۰۰ میلی تانیه می باشد، خط عمودی میانی در نمودارها مربوط به زمان تحریک می باشد.

TD: تتانیک دیپریشن می باشد یعنی هنگام تحریک با فرکانس ۵۰ یا ۱۰۰ هرتز مهار یا کاهش اسپایک در طول ۱ تانیه ایجاد شده است.

TP: تتانیک پتانسیشن می باشد یعنی هنگام تحریک با فرکانس ۵۰ و ۱۰۰ هرتز افزایش اسپایک در طول ۱ تانیه ایجاد شده است.

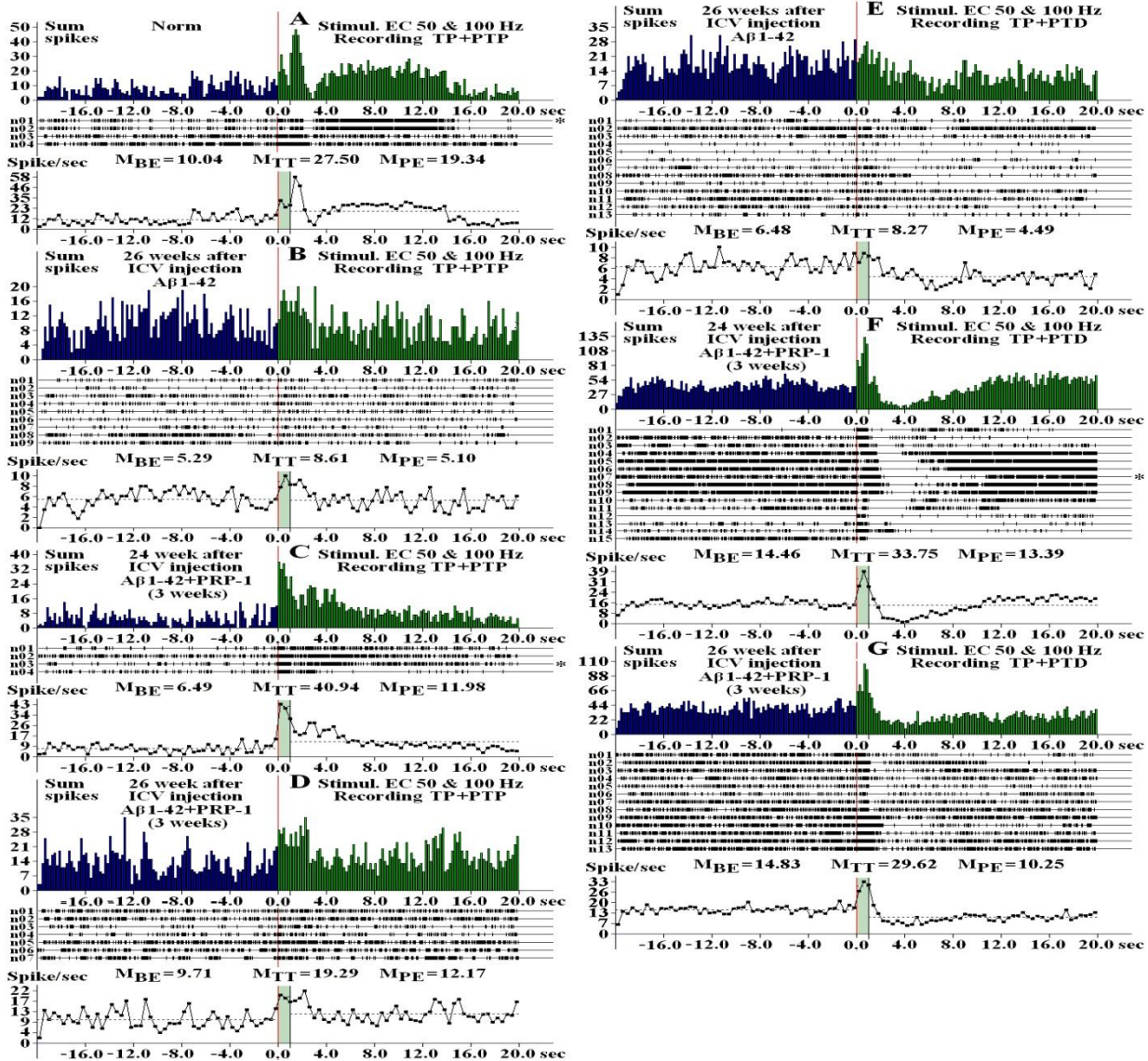
PTD: نمایانگر تتانیک دیپریشن تأخیری است.

PTP: نمایانگر تتانیک پتانسیشن تأخیری می باشد.



شکل (۲)

شکل ۲ فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ به صورت اسپایک نورون‌های متعدد و جمع اسپایک‌ها و میانگین آن‌ها به صورت دیاگرام قبل از تحریک در حین تحریک و بعد از تحریک ناحیه اینتورینال در گروه نرمال (نمودار A و D)، گروه بتا آمیلوئید A β 25-35 (B و E) و نیز گروه بتا آمیلوئید A β 25-35 همراه PRP-1 (F و C) را نشان می‌دهد. در این شکل قسمت A، B، C، D، E و F بخش بالای هر قسمت مربوط به جمع اسپایک‌ها قبل از تحریک در حین تحریک و بعد از تحریک می‌باشد و بخش میانی اسپایک‌های نورون‌های متعدد قبل از تحریک در حین تحریک و بعد از تحریک می‌باشد. و بخش پایین به صورت نمودار همان نورون‌ها و نیز میانگین به صورت عددی قبل از تحریک و بعد از تحریک و در حین تحریک می‌باشد. MBE، میانگین اسپایک‌ها قبل از تحریک. MTT، میانگین اسپایک در حین تحریک. MPE، میانگین اسپایک‌ها بعد از تحریک



شکل (۳)

شکل ۳ فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ به صورت اسپایک نورون‌های متعدد و جمع اسپایک‌ها و میانگین آن‌ها به صورت دیاگرام قبل از تحریک در حین تحریک و بعد از تحریک ناحیه اینتورینال در گروه نرمال (نمودار A)، گروه بتا آمیلوئید Aβ1-42 (B و E) و نیز گروه بتا آمیلوئید Aβ1-42 به همراه PRP-1 (C, G, F, D) را نشان می‌دهد. در این شکل قسمت (A, B, E, D, F و G) بخش بالای هر قسمت مربوط به جمع اسپایک‌ها قبل از تحریک در حین تحریک و بعد از تحریک می‌باشد و بخش میانی اسپایک‌های نورون‌های متعدد قبل از تحریک در حین تحریک و بعد از تحریک می‌باشد. و بخش پایین به صورت نمودار همان نورون‌ها و نیز میانگین به صورت عددی قبل از تحریک و بعد از تحریک و در حین تحریک می‌باشد. MBE، میانگین اسپایک‌ها قبل از تحریک. MTT، میانگین اسپایک در حین تحریک. MPE، میانگین اسپایک‌ها بعد از تحریک.

بحث و نتیجه‌گیری

باعث ایجاد تنانیک پتانسیشن و تنانیک دپیریشن در نورون‌های هیپوکامپ در زمان تحریک و نیز ایجاد تنانیک پتانسیشن و تنانیک دپیریشن تأخیری شده است. حتی نورون‌ها قبل از تحریک

نتایج مطالعه حاضر نشان داد هنگام تحریک ناحیه اینتورینال با فرکانس ۵۰ و ۱۰۰ هرتز در موش‌های صحرایی در گروه نرمال

شده است که بتا آمیلوئید باعث مرگ نورونی و عدم هماهنگی سیناپسی می‌گردد (۲۰۶،۳۴،۳۸،۳۹) همچنین افزایش آستانه تحریک تتانیک پتانسیشن طولانی LTD و کاهش آستانه تحریک تتانیک دیپریشن طولانی (LTD) در بیماری آلزایمر وجود دارد که نتیجه آن LTD در سلول‌های عصبی وجود دارد (۲۲) بطوری که در نتایج ما نیز TD و PTD نسبت به سطح نرمال در گروه‌های آمیلوئیدی در سطح وسیعی وجود داشت.

در مطالعه حاضر تضعیف نورونی هنگام استفاده از بتا آمیلوئید A β 25-35 نسبت به بتا آمیلوئید A β 1-42 بیشتر بود و این می‌تواند به علت طول زمان آزمایش باشد بطوری که آزمایش A β 1-42 دو برابر طولانی تر از زمان آزمایش گروه A β 25-35 بود. اما نتایج حاصل از این پژوهش با استعمال PRP-1 در هر دو گروه نشان داد که سطح اسپایک‌ها به سطح نرمال رسیده و فعالیت الکتریکی نورون‌ها برگشت پذیر شده است. PRP-1 توسط سلول‌های پاراونتریکولار و سوپراپتیک هیپوتالاموس ترشح شده و نقش بیولوژیک گسترده آن نیز ثابت شده است. PRP-1 در تجلی مکانیسم‌های اینترلوکین‌های (TNF، IL1، IL6) در فیبروبلاستها، ماکروفاژها و آستروسیت‌ها دخالت دارد (۴۰) مطالعات اخیر نشان دادند که آستروسیت‌ها پردازش، هماهنگی اطلاعات سیناپسی، انتقال و پلاستیسیته سیناپسی را تأمین می‌کنند (۴۱) و همچنین دارای رسپتورهای عملکردی برای نوروترانسمیترها و پاسخ به تحریکشان از طریق کاهش ترانسمیترهای گلیا هستند (۴۲).

با توجه به اینکه PRP-1 باعث فعالیت ایمونولوژیک و همچنین اثر محافظتی عمومی روی فرآیند نورونی دارد و نیز باعث گسترش فعالیت آستروسیت‌ها و نوروگلیا می‌گردد به احتمال زیاد PRP-1 با این مکانیسم با حفظ هموستاز کلسیم، نورون‌های گلوتاماترژیک و کلینرژیک باعث ترمیم فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ شده است.

نیز فعالیت الکتریکی از خود نشان می‌دادند. ناحیه اینتورینال بخشی از قسمت میانی هیپوکامپ می‌باشد که رابط اصلی بین نئوکورتکس و هیپوکامپ می‌باشد (۲۹) و سیستم اینتورینال-هیپوکامپ نقش مهمی در تشکیل حافظه و تثبیت آن و نیز در بهینه سازی حافظه در خواب دارد (۳۰). اما هنگام استفاده از محلول‌های بتا آمیلوئید با تحریک ناحیه اینتورینال با فرکانس ۵۰ و ۱۰۰ هرتز تضعیف فعالیت الکتریکی نورون‌های هیپوکامپ قبل، در حین و بعد از تحریک مشاهده شد. هنگام بیماری آلزایمر امکان تخریب نورون‌های گلوتاماترژیک هیپوکامپ و نورون‌های کولینرژیک مغز میانی با حفظ نورون‌های گابارژیک آن نواحی و انتظار مهار مکانیسم حفاظتی برای سلول‌های عصبی وجود دارد (۳۱،۳۲). محلول‌های بتا آمیلوئید A β 25-35 و A β 1-42 نتایج پاتولوژیک نظیر بیماری آلزایمر ایجاد می‌کنند (۲۷) و باعث بیماری آلزایمر می‌شوند (۳۳) این بیماری باعث مرگ نورونی (۳۴) آتروفی ناحیه تمپورال و از بین رفتن میلین در این ناحیه می‌شود (۳۵). داده‌های اخیر نشان دادند که بتا آمیلوئید باعث آسیب پلاستیسیته سیناپسی همزمان با کاهش حافظه و جنون مغزی می‌شود و همچنین بتا آمیلوئید باعث کاهش تتانیک پتانسیشن طولانی (LTP) در هیپوکامپ نیز می‌گردد (۳۶). داده‌های اخیر و تحقیقی که توسط جندرون و پتروسلی روی تخریب نورونی در بیماری آلزایمر انجام داده بودند همسو با نتایج ما می‌باشد بطوری که در نتایج آن‌ها نیز کاهش عملکرد نورونی مشاهده شد (۳۷) و در نتایج ما نیز بعد از استفاده از بتا آمیلوئید تتانیک پتانسیشن تأخیری (PTP) و تتانیک دیپریشن تأخیری (PTD) نسبت به سطح نرمال قابل محسوس بود و همچنین عدم توازن اسپایک‌ها قبل و بعد از تحریک که در گروه‌های بتا آمیلوئیدی مشاهده شد و این کاهش اسپایک‌ها و عدم توازن آن‌ها می‌تواند حضور کم نورون‌ها یا نقصان همکاری سیناپس‌ها و یا اختلال در سیستم نوروترانسمیتری سیناپس‌ها باشد به طوری که در تحقیقات دیگر محققان نشان داده

References:

1. Tamagnini F, Burattini C, Casoli T, Baliotti M, Fattoretti P, Aicardi G. early impairment of long – term depression in the perirhinal cortex of a mouse model of Alzheimers disease. *Rejuvenation Res* 2012; 15(2): 231-4.
2. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on

the road to therapeutics. *Science* 2002;297(5580):353–6.

3. Wenk GL. Neuropathologic changes in Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry* 2003; 64 suppl(9): 7-10.
4. Braak H, Del Tredici K. Where, when, and in what form does sporadic Alzheimer's disease begin? *Curr Opin Neurol* 2012;25(6):708–14.
5. Dooren TV, Princen K, Witte K De, Griffioen G. Derailed Intraneuronal Signalling Drives

- Pathogenesis in Sporadic and Familial Alzheimer's Disease. *BioMed Res Int* 2014; 2014: 1-14.
6. Kamynina AV, Filatova MP, Koroev DO, Abramov AY, Volpina OM. Antibodies to Synthetic fragment 95-123 of the prion protein protect neurons and astrocytes from Beta – Amyloid to toxicity. *Bioorganicheskaya khimiya* 2013; 39(2): 131-40.
 7. Walsh DM, Selkoe DJ. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron* 2004; 44:181–93.
 8. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006; 368: 387–403.
 9. Porayette P, Gallego MJ, Kaltcheva MM, Bowen RL, Vadakkadath Meethal S, Atwood CS. Differential processing of Amyloid- beta precursor protein directs human embryonic stem cell proliferation and differentiation into neuronal precursor cells. *J Biolchem* 2009; 284: 23806-17.
 10. Guyton AC, Hall JE. Guyton and Hall text book of medical physiology 20th Ed. Philadelphia; 2011. P.727-728.
 11. Bond JP, Deverin SP, Inouye H, el-Agnaf OMA, Teeter MM, Kirschner DA. Assemblies of Alzheimer's peptides A beta 25-35 and A beta 31-35: reverse-turn conformation and side-chain interactions revealed by X-ray diffraction. *J Struct Biol* 2003;141(2):156–70.
 12. Shanmugamo G, Lavarapu PL. structure of Aβ(25-35) peptide in different environments. *Biophysical J* 2004; 87(1): 622-30.
 13. Hartmann T, Bieger SC, Brühl B, Tienari PJ, Ida N, Allsop D, et al. Distinct sites of intracellular production for Alzheimer's disease A beta40/42 amyloid peptides. *Nat Med* 1997; 3 (9): 1016–20.
 14. Yin YI, Bassit B, Zhu L, Yang X, Wang C, Li YM. γ -Secretase Substrate Concentration Modulates the Aβ42/Aβ40 Ratio: Implications for Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 2007; 282 (32): 23639–44.
 15. Dehghani L, Hashemi-Beni B, Poorazizi E, Khorvash F, Shaygannejad V, Sedghi M, et al. Evaluation of neural gene expression in serum treated embryonic stem cells in Alzheimer's patients. *J Res Med Sci* 2013;18(Suppl 1):S20–3.
 16. Hardy J, Selkoe DJ. The Amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002; 297: 353-6.
 17. Nat R, Nilbratt M, Narkilahti S, Winblad B, Hovtta O, Nordberg A. Neurogenic neuroepithelial and radial glial cells generated from six human embryonic stemcell lines in serum- free suspension and adherent cultures. *Glia* 2007; 55: 385-99.
 18. Jellinger KA. Recent advances in our understanding of neurodegeneration. *J Neural Transm* 2009; 116(9): 1111–62.
 19. Baliotti M, Tamagnini F, Fattoretti P, Burattini C, Casoli T, Platano D, et al. Impairments of synaptic plasticity in aged animals and in animal models of Alzheimer's disease. *Rejuvenation Res* 2012;15(2):235–8.
 20. Hsieh H, Boehm J, Sato C, Iwatsubo T, Tomita T, Sisodia S, et al. AMPAR removal underlies Abeta-induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron* 2006; 52: 831-43.
 21. Khachaturian ZS. Calcium hypothesis of Alzheimer's disease and brain aging. *Ann NY Acad Sci* 1994; 747: 1-11.
 22. Kumar A. Long-Term Potentiation at CA3-CA1 Hippocampal Synapses with Special Emphasis on Aging, Disease, and Stress. *Front Aging Neurosci* 2011;3:7.
 23. Sun B, Halabisky B, Zhou Y, Palop J J, Yu G, Mucke L, et al. Imbalance between GABAergic and Glutamatergic Transmission Impairs Adult

- Neurogenesis in an Animal Model of Alzheimer's Disease. *Cell Stem Cell* 2009; 5: 624-33.
24. Galoyan AA. Brain neurosecretory cytokines. Immune response and neuronal survival. Kluwer Acad. New York: Plenum Publishers; 2004. P.188.
 25. Galoyan AA. The brain immune system: chemistry and biology of the signal molecules. In: *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology*, 3th ed. Neuroimmunology (eds. A.Galoyan, and H Besedovsky); 2008. P.155-195.
 26. Galoyan A, Khalaji N, Hambardzumyan L, Manukyan L, Meliksetyan I, Chavushyan V, et al. Protective Effects of Hypothalamic Proline-Rich Peptide and Cobra Venom Naja Naja Oxiana on Dynamics of Vestibular Compensation Following Unilateral Labyrinthectomy. *Neurochem Res* 2010; 35:1747-60.
 27. Khalaji N, Sargsyan V, Sarkissian J, Chavoshian V. Protective effect of Proline-rich peptides' hypothalamus (PRP-1) on the Alzheimer's disease induced by Amyloid peptide A β 25-35 in rat. *Urmia Med J* 2013; 249(7): 509-17. (Persian)
 28. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 5th ed. New York: Acad Press; 2005. P. 367.
 29. Wintter M. Entorhinal cortex. *Scholarpedia J* 2011; 6(10):4380.
 30. Suthana N, Haneef Z, Stern J, Mukamel R, Behnke E. Memory enhancement and deep-brain stimulation of the entorhinal area. *N Engl J Med* 2012 366: 502-10.
 31. Rissman RA, Blas AL, Armstrong DM. GABAA receptors in aging and Alzheimer's disease. *J Neurochemistry* 2007; 103(4):1285-92.
 32. Palop JJ, Chin J, Roberson ED, Wang J, Thwin MT, Bien-Ly Nga, et al. Aberrant Excitatory Neuronal Activity and Compensatory Remodeling of Inhibitory Hippocampal Circuits in Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Neuron* 2007; 55: 697-711.
 33. Pereira C, Agostinho P, Moreira PI, Cardoso SM, Oliveira CR. Alzheimer's disease-associated neurotoxic mechanisms and neuroprotective strategies. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2005;4(4):383-403.
 34. Kikuchi M, Ogishima S, Miyamoto T, Miyashita A, Kuwano R, Nakaya J, et al. Identification of unstable network modules reveals disease modules associated with the progression of Alzheimer's disease. *J pone* 2013; 8(11):e76162.
 35. Rowland CP, Pedley TA. *Merritt's Neurology*. 12th ed. Philadelphia: 530 Walnut Street. PA 19106. USA; 2010. P.713-716.
 36. Chen X, Lin R, Chang L, Xu S, Wei X, Zhang J, et al. Enhancement of long-term depression by soluble amyloid β protein in rat hippocampus is mediated by metabotropic glutamate receptor and involves activation of p38MAPK, STEP and caspase-3. *Neuroscience* 2013; 253:435-43.
 37. Gendron TF, Petrucelli L. The role of tau in neurodegeneration. *Molecular Neurodegeneration* 2009; 4: 1-73.
 38. Palop JJ, Mucke L. Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nat Neurosci* 2010; 13: 812-8.
 39. Nava-Mesa MO, Jiménez-Díaz L, Yajeya J, Navarro-Lopez JD. GABAergic neurotransmission and new strategies of neuromodulation to compensate synaptic dysfunction in early stages of Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci* 2014;8:167.
 40. Galoyan AA. Neurochemistry of Brain neuroendocrine immune system: signal molecules. *Neurochemical Research* 2001; 25(9-10): 1343-55.
 41. Perea G, Navarrete M, Araque A. Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic

information. Trends in Neurosciences 2009;
32(8):421-31.

42. Rossi D, Volterra A. Astrocytic dysfunction:
insights on the role in neurodegeneration. Brain
Res Bull 2009; 80: 224-32.

REPARATIVE EFFECT OF PROLINE-RICH PEPTIDES' HYPOTHALAMUS (PRP-1) ON THE ELECTRICAL ACTIVATION OF HIPPOCAMPUS NEURONS IN THE ALZHEIMER'S DISEASE INDUCED BY AMYLOID PEPTIDES AB25-35 AND AB1-42 IN RATS

Nasre Khalaji ^{*1}, John Sarkissian², Vergine Chavushyan³, Vaghinak Sarkisian⁴

Received: 16 Jul , 2014; Accepted: 5 Sep , 2014

Abstract

Background & Aims: Alzheimer's disease is the most common form of dementia which it destroyed memory and thinking skills slowly. There is no cure for the disease and it leads to death eventually. Proline rich peptide (PRP-1) is produced from neurosecretory cells of hypothalamus that has large spectrum of biological action on immune and nervous system. The A β 1-42 is more effective in the development of Alzheimer's disease than A β 25-35. The purpose of this research is to study the effect of PRP-1 on the electrical activity of Hippocampus neurons in the Alzheimer's disease induced by β amyloid proteins A β 25-35 and A β 1-42.

Materials & Methods: The present experimental study was carried out on 20 adult male wistar rat's weighing 230 \pm 30gr and aged 3-4 months. At first, the rats were randomly divided into five groups (normal, Amyloids and Amyloids with PRP-1). In the control group without injection of β amyloid solutions and PRP-1, in the amyloid groups after injection of β amyloid solutions 3 μ Lit and the amyloid with PRP-1 groups after injection of β amyloid solutions and treatment with PRP-1, experiment of electrophysiology with stimulus entorhinal cortex with frequency 50 and 100 HZ was performed and electrical activity of Hippocampus neurons on the base of tetanic potentiation and tetanic depression was recorded.

Results: The results of this research showed when administration of PRP-1 leads to approach of inhibitory and excitatory post stimulus early and late activity of hippocampus neurons to normal levels in Alzheimer's disease produced by A β 25-35, but in the case of the A β 1-42 model the inhibitory post stimulus manifestations of activity didn't reach the normal level.

Conclusion: During A β 25-35 and 1-42 intoxication, a possible GABA-ergic nature of the post stimulus depression was performed and the neurodegeneration was counteracted and the protective effect of PRP-1 was supported.

Key words: Alzheimer's disease, Proline rich peptides' hypothalamus (PRP-1), electrical activity of neurons, Hippocampus, β amyloid peptides(A β 25-35, A β 1-42)

Address: Department of Physiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Nazlo Road, Urmia, Iran

Tel: +984432770698

E-mail: khalaji.naser@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2014; 25(8): 717 ISSN: 1027-3727

¹ Assistant Professor, Physiology Department, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)

² Professor of Neurophysiology, Orbeli Institute of Neurophysiology, Yerevan State University, Yerevan, Armenia

³ Professor of Neurophysiology, Orbeli Institute of Neurophysiology, Yerevan State University, Yerevan, Armenia

⁴ Professor of Neurophysiology, Orbeli Institute of Neurophysiology, Yerevan State University, Yerevan, Armenia