

اثر اسید فرولیک در کاهش اختلال یادگیری و حافظه و آسیب هیپوکمپ در موش‌های تحت تیمار با دگزامتازون

فاطمه خواجهات^۱، علیرضا عزیززاده دلشاد^۲، نرگس حدادزاده نییری^۳، مهرداد روغنی^۴*

تاریخ دریافت ۱۴۰۱/۰۸/۲۲ تاریخ پذیرش ۱۴۰۱/۱۱/۱۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض گلوکوکورتیکواستروئیدها از طریق افزایش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز، موجب آسیب مغز می‌شود. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آپوپتوتیک اسید فرولیک، در مطالعه‌ی حاضر اثر اسید فرولیک بر یادگیری، حافظه و حفاظت هیپوکمپ در موش صحرایی تیمار شده با دگزامتازون مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: این بررسی تجربی بر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار انجام شد. برای القای آسیب عصبی، روزانه ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم دگزامتازون به مدت ۳ هفته تزریق گردید. گروه‌های تحت درمان به مدت ۳ هفته، روزانه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید فرولیک دریافت کردند. در پایان هفته سوم، پس از ارزیابی یادگیری و حافظه با استفاده از آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال و تشخیص شیء جدید، برخی شاخص‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در هموزنه هیپوکمپ سنجش شد و تعداد نورون‌ها در ناحیه CA1 هیپوکمپ مورد شمارش قرار گرفت.

یافته‌ها: تأخیر در حین عبور و درصد تشخیص در گروه دگزامتازون دریافت‌کننده اسید فرولیک افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه دگزامتازون داشت. همچنین، کاهش معنی‌دار میزان مالون دی‌آلدئید (MDA)، کاسپاز ۱، و کاسپاز ۳، و افزایش معنی‌دار فعالیت سوپراکسیددیس‌موتاز (SOD) در گروه دگزامتازون تیمار شده با اسید فرولیک به دست آمد. بعلاوه، تیمار گروه دگزامتازون با اسید فرولیک از کاهش تراکم نورونی ناحیه CA1 هیپوکمپ جلوگیری نمود.

بحث و نتیجه‌گیری: مصرف اسید فرولیک هم‌زمان با تجویز طولانی‌مدت دگزامتازون از بروز اختلال یادگیری و حافظه و آسیب هیپوکمپ جلوگیری می‌نماید و بخشی از اثر سودمند آن از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز انجام می‌شود.

کلیدواژه‌ها: دگزامتازون، اسید فرولیک، هیپوکمپ، یادگیری، حافظه

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و سوم، شماره هفتم، ص ۵۴۰-۵۲۸، مهر ۱۴۰۱

آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه شاهد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، تلفن: ۰۲۱۸۸۹۶۴۷۹۲

Email: mehjour@yahoo.com

مقدمه

جنس، هورمون‌ها و انواع استرس‌ها در ارتباط است. اختلالات شناختی ناشی از این بیماری‌ها می‌تواند موجب افت بارز کیفیت زندگی شود. بنابراین پیشگیری و مقابله با این بیماری‌ها از ارزش بالینی زیادی برخوردار است (۱، ۲). در معرض قرارگرفتن به داروهای کورتیکواستروئیدی در درازمدت و وارد آمدن استرس‌های روانی-اجتماعی که منجر به افزایش گلوکوکورتیکوئیدهای درون‌زا (Endogenous) می‌شود، می‌تواند باعث افزایش آپوپتوز در ناحیه هیپوکمپ شود. اگرچه دگزامتازون در دوزهای پایین دارای اثرات

بیماری‌های نورودژنراتیو (Neurodegenerative disorders)، بیماری‌های عصبی با ماهیت پیشرونده هستند که با تخریب جبران‌ناپذیر سلول‌های عصبی مشخص می‌شوند و منجر به بروز اختلالات عصبی متعدد به‌خصوص اختلال عملکرد حرکتی و ذهنی می‌شوند. تعداد بیماران مبتلا به بیماری‌های نورودژنراتیو به علت افزایش تعداد افراد سالمند به‌صورت فزاینده‌ای در حال گسترش است. منشأ اصلی این بیماری‌ها با ویژگی‌های ژنتیکی، سن،

^۱ دانش آموخته‌ی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۲ دانشیار، گروه علوم تشریح و آسیب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۳ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۴ استاد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

ضدالتهابی در بدن هست اما مصرف مزمن آن به‌ویژه در دوزهای بالا ظرفیت شناختی و حافظه را از طریق القا آسیب عصبی و تشدید التهاب عصبی کاهش می‌دهد (۳).

پاپروپتوز (Pyroptosis) یک نوع مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول (آپوپتوز) با ماهیت التهابی می‌باشد که بیشتر به دنبال یک عفونت داخل سلولی رخ می‌دهد و در پاسخ‌های دفاعی بدن نقش مهمی دارد (۴). اینفلامازومها (Inflammasomes) گیرنده‌های داخل سلولی هستند که توانایی شناسایی پاتوژن‌های میکروبی و سیگنال‌های خطرناک درون‌زاد حاصل از استرس یا آسیب سلولی را دارند. فعال شدن اینفلامازومها سبب فعال شدن کاسپاز ۱ می‌گردد که این باعث تحریک تولید و ترشح سایتوکاین‌های التهاب زا می‌شود (۵). کاسپازها خانواده‌ای از سیستمین پروتئازها هستند که نقش کلیدی در فرآیندهای سلولی متعدد از جمله مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی و التهاب دارند. شواهد اخیر نشان می‌دهد که کاسپازها همچنین در عملکردهای غیر آپوپتوز مانند رشد دندرت، تنظیم انشعابات آکسون و شکل‌پذیری سیناپسی، و فرآیند یادگیری و حافظه نقش دارند (۶). NLRP3 (NLR Family Pyrin Domain Containing 3) عمدتاً در ماکروفاژها ساخته شده و به‌عنوان جزئی از کمپلکس اینفلامازوم محسوب می‌شود. NLRP3 فعال‌شده قادر است سیستم ایمنی بدن را تحریک کند (۷). مصرف برخی مواد ضدالتهاب از طریق مهار مسیر NLRP3 و کاسپاز ۱ باعث بهبود عملکرد شناختی و کاهش آسیب نورون‌های هیپوکمپ می‌شود (۸). کاسپاز ۳ یک آنزیم مهم در اجرای آپوپتوز می‌باشد. باین‌حال شواهد نشان می‌دهند که کاسپاز ۳ نقش‌های کلیدی در تنظیم رشد و بقای سلول‌ها در موجودات زنده ایفا می‌کند (۹).

اسید فرولیک که در دیواره سلول‌های برخی گیاهان دارویی به میزان زیاد یافت می‌شود دارای خواص ضد استرس اکسیداتیو و آنتی آپوپتوتیک بوده و خاصیت حفاظت عصبی آن به اثبات رسیده است (۱۰، ۱۱). این ترکیب به‌عنوان تقویت‌کننده حافظه، تحریک‌پذیری را در نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکمپ موش‌های آزمایشگاهی افزایش می‌دهد و باعث بهبود حافظه می‌شود (۱). در مطالعه‌ای ضمن بررسی اثر حفاظتی اسید فرولیک در مدل تشنجی ناشی از پنتیلن تترازول، پاسخ حرکتی، توانایی یادگیری فضایی و قابلیت حافظه‌ی موش‌های صحرایی موردسنجش قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که اسید فرولیک به علت اثرات محافظت‌کننده عصبی موجب کاهش شدت تشنج و بهبود توانایی یادگیری فضایی و حافظه می‌شود و این اثر ممکن است در نتیجه‌ی کاهش مرگ سلول‌های عصبی از طریق مسیرهای آنتی‌اکسیدانی و ضد آپوپتوز باشد (۱۲). همچنین، در یک مطالعه، اثر بهبود بخش اسید فرولیک بر نقایص شناختی ناشی از سرب مورد تأیید قرار گرفت (۱۳). در بررسی دیگر

مشخص شد که تجویز اسید فرولیک در مدل تجربی مالتیل اسکروز القا شده با کوپریزون در موش‌های آزمایشگاهی موجب کاهش اختلالات حرکتی و شناختی شده و از آسیب نورونی جلوگیری می‌نماید که بخشی از اثر سودمند آن از طریق مهار آپوپتوز و تقویت تمایز اولیگودندروسیت‌ها انجام می‌شود (۱۴). تاکنون اثربخشی اسید فرولیک در مدل آسیب عصبی القا شده با کورتیکواستروئیدها گزارش نشده است، لذا در این مطالعه، اثر اسید فرولیک بر یادگیری، حافظه و حفاظت هیپوکمپ در موش‌های دریافت‌کننده دگزامتازون بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (خریداری‌شده از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران)، در دمای ۲۳-۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد و در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات، آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش به مدت ۴ هفته دسترسی داشتند. روش کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس دستورالعمل‌های توصیه‌شده انستیتو ملی بهداشت آمریکا (National Institutes of Health) بود (۱۵).

گروه‌بندی و مراحل انجام کار:

موش‌های صحرایی نر به تعداد ۳۲ سر در محدوده وزنی ۳۰-۳۳ گرم و به‌طور تصادفی به ۴ گروه به شرح زیر تقسیم شدند: کنترل، کنترل تحت تیمار با اسید فرولیک (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دگزامتازون (۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). جهت القای آسیب مغز، دگزامتازون (شرکت داروپخش، ایران) حل‌شده در نرمال سالین به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر و با دوز ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم به فرم داخل صفاقی به مدت ۳ هفته و به‌طور روزانه و یک ساعت قبل از تجویز اسید فرولیک به حیوانات تزریق گردید (۱۶). اسید فرولیک (Sigma, USA) حل‌شده در حلال کالیفور (Kolliphor, Sigma, USA) و به‌صورت خوراکی با حجم ۰/۲ میلی‌لیتر و با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۳ هفته تجویز شد (۱۷). با توجه به اینکه با افزایش سن موجودات زنده، مصرف کورتیکواستروئیدها از جمله دگزامتازون آسیب بیشتری در یافت مغز ایجاد می‌کند و در مورد موش‌های آزمایشگاهی بعد از چند ماه نگهداری که وزن آن‌ها افزایش می‌یابد، این به‌عنوان یک جامعه پیر محسوب می‌شود که طراحی کار نیز بر همین اساس بر روی موش‌های نسبتاً پیر و با وزن بالاتر انجام شد (۱۸).

آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال (شاتل باکس):

برای ارزیابی نگهداری و به یادآوری اطلاعات (بررسی یادگیری و حافظه) حیوانات از روش استاندارد رفتار اجتنابی غیرفعال در هفته سوم بعد از شروع تجویز داروها استفاده شد. برای بررسی رفتار احتراز غیرفعال، از یک دستگاه به ابعاد $20 \times 8 \times 20$ سانتی متر (شامل باکس) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. از میله‌های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان استفاده شد. برای اعمال تحریک به محفظه تاریک، از دستگاه استیمولاتور خاص (بهبودپرداز، تهران) استفاده گردید. بدین منظور، تک تحریکی به شدت یک میلی‌آمپر و به مدت یک ثانیه اعمال گردید. در این مطالعه، روش بررسی رفتار احترازی غیرفعال پس از بررسی به شرح زیر بود:

الف) سازش: در این مرحله، قبل از شروع آزمایش، هر حیوان برای ۲ روز متوالی به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شد. (ب) اکتساب: در این مرحله (روز سوم)، حیوان در محفظه روشن قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه، این محفظه تاریک نگه داشته شد. در این مدت درگیلوتینی ارتباط‌دهنده محفظه روشن و تاریک کاملاً بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه روشن شده و در گیلوتینی باز گردید. به‌محض باز کردن در، کورنومتر بکار انداخته می‌شد و مدت‌زمانی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود، یادداشت می‌گردید که مدت‌زمان این تأخیر اولیه تحت عنوان تأخیر اولیه یا ILI اطلاق گردید. سپس، در پایین آورده شد و یک تک شوک به حیوان وارد آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه، حیوان به قفس منتقل گردید.

ج) نگهداری اطلاعات: این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام پذیرفت. این مرحله مشابه مرحله قبل بود با این تفاوت که زمانی که حیوان به محفظه تاریک وارد می‌شد، هیچ‌گونه شوکی را دریافت نمی‌کرد. در این مرحله، تأخیر در حین عبور یا STL اندازه‌گیری گردید. منظور از تأخیر در حین عبور مدت زمانی است که قبل از آنکه حیوان وارد محفظه تاریک شود، در محفظه روشن باقی می‌ماند. زمان قطع آزمایش (Cut off) نیز ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد (۱۹)

آزمون تشخیص شیء جدید (بازشناسی) NOD¹:

توانایی بازشناسی موش‌ها، از طریق آزمون تشخیص شیء جدید و مطابق با مطالعه پیشین صورت گرفت. این آزمون در یک محوطه باز (Open field) مربعی شکل با ابعاد یک در یک متر دارای دیوار در اطراف انجام شد و رفتار حیوان از طریق مشاهده ثبت شده و محاسبه درصد تشخیص در پایان کار انجام شد. بعد از سازگار شدن موش‌ها با محیط، هر موش در دو آزمون اکتشافی قرار گرفت؛ این

¹ Novel Object Discrimination

سانتی‌گراد انکوبه گردید. مقدار pNA کروموزنیک آزادشده با دستگاه میکروپلیت خوان در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدارها برحسب دانسیته اوبتیکال (OD) گزارش گردید (۲۰).

سنجش فعالیت کاسپاز ۱:

برای این منظور، ۱۰۰ میکرولیتر بافر واکنش حاوی دی تیوتریتول ۱۰ میلی مولار به چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد و ۲۵ میکرولیتر نمونه در ادامه افزوده شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از سوبسترای آنزیم یعنی YVAD-p-NA با غلظت ۲ میلی مولار اضافه شد و بعد انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی میزان جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانده شد و مقدارها برحسب دانسیته اوبتیکال (OD) گزارش شد (۲۰).

اندازه‌گیری میزان پروتئین بافتی به روش برادفورد:

روش زیر برای یک حجم نمونه ۱۰۰ میکرولیتری با استفاده از ۵ میلی لیتر معرف رنگ توصیف شده است. این مقدار به ۵ تا ۲۰۰ میکروگرم پروتئین (بستگی به کیفیت رنگ دارد) حساس می‌باشد. با استفاده از ۵ میلی لیتر از معرف رنگ تهیه شده در آزمایشگاه، محدوده حساسیت هنگام سنجش، بین ۵ تا ۱۰۰ میکروگرم پروتئین است. برای تهیه معرف برادفورد، ۱۰۰ میلی گرم coomassie brilliant blue G-250 را در ۵۰ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد حل نمودیم و ۱۰۰ میلی لیتر فسفریک اسید ۸۵ درصد به آن اضافه کردیم و وقتی که رنگ کاملاً حل شد، حجم آن را به ۱ لیتر رسانده و قبل از استفاده محلول را از صافی رد می‌کنیم. دستگاه اسپکتروفوتومتر روشن و آماده شد. درون هر لوله آزمایش ۲ سی سی از محلول معرف برادفورد و ۱۰۰ میکرولیتر نمونه ریختیم و ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه انکوبه کردیم. نهایتاً محلول حاوی نمونه را داخل کووت دستگاه اسپکتروفوتومتر ریخته شد و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.

سنجش شاخص استرس اکسیداتیو مالون دی آلدئید (MDA):

MDA به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی معرفی می‌شود. برای سنجش MDA از مواد سنجش اختصاصی MDA شرکت سیگما آلدیج آمریکا استفاده شد. این کیت بر اساس واکنش با تیوباربتوریک اسید (TBA) است. مالون دی آلدئید (MDA) پس از واکنش با تیوباربتوریک اسید در دمای جوش باعث به وجود آمدن رنگ صورتی می‌شود که با حداکثر جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر می‌توان آن را در اسپکتروفوتومتر موردبررسی قرارداد. برای این سنجش، به محلول معرف نیاز است که این محلول شامل ۱ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA)، ۲۰٪ و ۱ میلی لیتر تیوباربتوریک اسید ۱٪ است. ۲ میلی لیتر از این معرف با ۱۰۰ میکرولیتر نمونه سانتریفیوژ شده مخلوط شد. محلول‌های

به‌دست‌آمده به مدت ۸۰ دقیقه در بن ماری آب جوش قرار داده شد تا واکنش مذکور رخ دهد. بعد از طی شدن مرحله‌ی استراحت در آب جوش، آن‌ها خارج شدند و پس از رسیدن به دمای محیط نمونه‌ها به یک لوله‌ی آزمایش منتقل گردید و به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس به درون چاهک‌های میکروپلیت ریخته و به پلیت ریدر منتقل گردید و جذب آن را در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. درنهایت بر اساس منحنی استاندارد که بر مبنای رقت‌های تتراتوکسی پروپان رسم شده است جذب‌های به‌دست‌آمده مورد مطالعه قرار گرفت (۲۱).

سنجش شاخص آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD):

برای سنجش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز که یک آنزیم آنتی‌اکسیدانت درشت مولکول محسوب می‌شود، از محلولی شامل گزانتین-گزانتین اکسیداز در بافر پتاسیم فیفات و نیتروبلوترازولیوم (NBT) استفاده شد. دلیل استفاده از این محلول این است که اساس این روش برای اندازه‌گیری مهار احیای NBT توسط سیستم گزانتین-گزانتین اکسیداز به‌عنوان تولیدکننده سوپراکسید می‌باشد. پس از انجام روش فوق جذب نوری نمونه‌ها را در طول موج ۵۵۰ نانومتر به مدت ۵ دقیقه هر ۳۰ ثانیه یک‌بار خوانده شدند سپس با استفاده از فرمول ارائه شده در کیت سنجش، در صد مهار محاسبه شد و در منحنی استاندارد کیت فعالیت آنزیم به دست آمد (۲۱).

تهیه برش بافتی و شمارش نوری:

پس از طی مراحل پردازش بافتی، قالب‌های پارافینی از بلوک هیپوکمپ تهیه شد و با دستگاه میکروتوم (دید سبز، ارومیه، ایران) مقاطع بافتی به قطر ۵ میکرون تهیه گردید. مقاطع به فرم سریال بر روی لام برده شد و تحت رنگ‌آمیزی نیسل قرار گرفتند. تعداد نوروں پیرامیدال در ناحیه CA۱ هیپوکمپ در واحد سطح مورد بررسی قرار گرفت. برای شمارش نوری در مورد هر موش، حداقل چهار برش از ناحیه مرکزی هیپوکمپ طبق اطلس پاکسینوس و واتسون انتخاب شده و تعداد نوروں هر می با محدوده سیتوپلاسمی مشخص واقع در این نواحی در بزرگنمایی ۲۰۰ شمارش شد. شمارش نوری در برنامه Image Tool نسخه ۳ انجام شد.

آنالیز آماری:

تمامی داده‌ها به‌صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ بیان شدند. در مورد نتایج از آزمون آماری پارامتریک آنوای یک‌طرفه و در صورت اختلاف معنی‌دار از آزمون توکی استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها در برنامه سیگما پلات نسخه ۱۲ انجام شد. جهت رسم نمودارها از برنامه اکسل ۲۰۱۳ استفاده گردید. در مورد کلیه یافته‌ها اختلاف در سطح $p < 0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

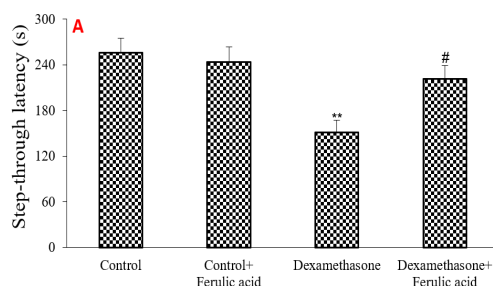
دریافت‌کننده اسید فرولیک نیز نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری یافت نشد.

۲- نتایج مربوط به آزمون تشخیص شیء جدید (NOD):

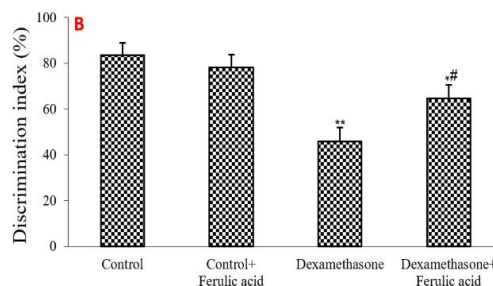
نمودار B-۱ نتایج مربوط به آزمون تشخیص شیء جدید را در موش‌های گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. با انجام آنوای یکطرفه یک تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت شد ($F(3,28)=9.18$, $p<0.001$) این پارامتر در گروه دگزامتازون کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p<0.01$). در گروه دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک نسبت به گروه کنترل کاهش و نسبت به گروه دگزامتازون افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($p<0.05$). در گروه دریافت‌کننده اسید فرولیک نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری یافت نشد.

۱- نتایج مربوط به یادگیری و به یادآوری اطلاعات:

تأخیر در حین عبور شاخصی از توانایی حیوان برای تثبیت اطلاعات در انبارهای حافظه و به یادآوری آن‌ها می‌باشد. نمودار A-۱ نتایج مربوط به اندازه‌گیری تأخیر در حین عبور را در موش‌های گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. با انجام آزمون آنوای یکطرفه یک تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت شد ($F(3,28)=6.65$, $p<0.01$). این پارامتر در گروه دگزامتازون به‌صورت معنی‌دار و بارز نسبت به گروه کنترل کمتر بود ($p<0.01$). بعلاوه، این پارامتر در گروه دگزامتازون دریافت‌کننده اسید فرولیک یک افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه دگزامتازون نشان داد ($p<0.05$). در گروه کنترل



ANOVA table	SS	DF	MS	F (Dfn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	52114	3	17371	F (3, 28) = 6.652	P=0.0016
Residual (within columns)	73123	28	2612		
Total	125237	31			



ANOVA table	SS	DF	MS	F (Dfn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	6672	3	2224	F (3, 28) = 9.180	P=0.0002
Residual (within columns)	6784	28	242.3		
Total	13456	31			

نمودار (۱): نتایج تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیرفعال (A) و درصد تشخیص در آزمون تشخیصی جدید (B).
 $\times\times\times$ $P<0.01$ مقایسه با گروه کنترل. $\#$ $P<0.05$ مقایسه با گروه دگزامتازون. (گروه‌های مورد آزمایش: کنترل، کنترل تحت تیمار با اسید فرولیک با دوز 50 mg/kg، دگزامتازون با دوز 500 micg/kg و دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک با دوز 50 mg/kg)

کنترل رخ داده است ($P<0.01$). از طرف دیگر، در گروه دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک یک کاهش معنی‌دار MDA نسبت به گروه دگزامتازون مشاهده شد ($p<0.05$). در گروه کنترل تحت تیمار با اسید فرولیک تغییر معنی‌داری در این خصوص مشاهده نشد.

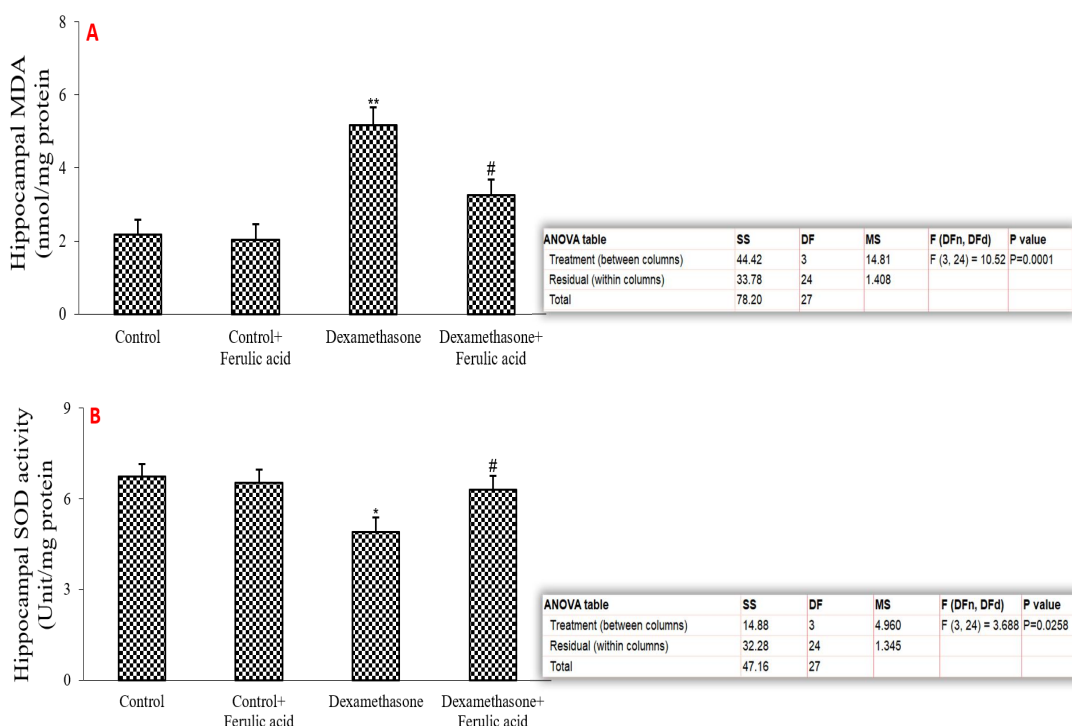
با انجام آنوای یکطرفه در مورد میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به‌عنوان شاخص آنتی‌اکسیدانی در بافت

۲- نتایج فاکتورهای استرس اکسیداتیو:

با انجام آنوای یکطرفه در مورد میزان مالون دی آلدئید (MDA) به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در بافت هیپوکمپ در گروه‌های مختلف یک تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت شد ($F(3,24)=10.52$, $p<0.001$). طبق نمودار A-۲ مشخص شد که در گروه دگزامتازون یک افزایش معنی‌دار MDA نسبت به گروه

هیپوکمپ در گروه‌های مختلف یک تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت شد ($F(3,24)=3.68, p<0.05$). طبق نمودار ۲-B مشخص شد که در گروه دگزامتازون یک کاهش معنی‌دار SOD نسبت به گروه کنترل رخ داد ($P<0.05$). به علاوه در گروه دگزامتازون تحت

تیمار با اسید فرولیک افزایش معنی‌دار SOD نسبت به گروه دگزامتازون مشاهده شد ($P<0.05$). در گروه کنترل تحت تیمار با اسید فرولیک تغییر معنی‌داری از این نظر مشاهده نشد.



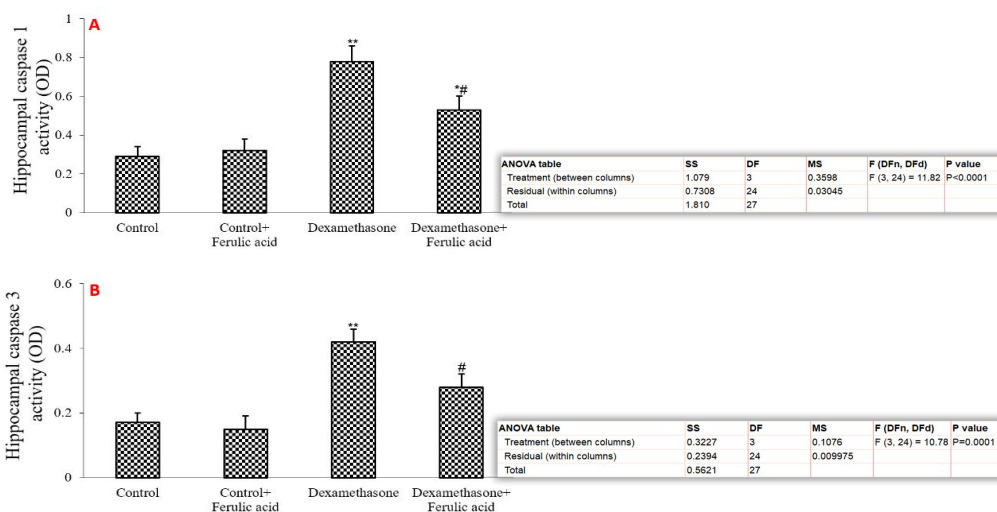
نمودار (۲): A- نتایج سنجش شاخص استرس اکسیداتیو MDA در گروه‌های مورد آزمایش. B- نتایج سنجش شاخص آنتی‌اکسیدان SOD در گروه‌های مورد آزمایش. $P<0.05$ ××× مقایسه با گروه کنترل. $P<0.05$ × مقایسه با گروه کنترل. $P<0.05$ # مقایسه با گروه دگزامتازون. (گروه‌های مورد آزمایش: کنترل، کنترل تحت تیمار با اسید فرولیک با دوز 50 mg/kg، دگزامتازون با دوز 500 mic/kg و دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک با دوز 50 mg/kg)

۴- نتایج سنجش کاسپاز ۱:

با انجام آنوای یکطرفه در مورد فعالیت آنزیم کاسپاز ۱ در بافت هیپوکمپ در گروه‌های مختلف یک تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت شد ($F(3,24)=11.82, p<0.001$). طبق نمودار ۳-A در گروه دگزامتازون یک افزایش معنی‌دار قابل‌توجه در میزان فعالیت آنزیم کاسپاز ۱ نسبت به گروه کنترل رخ داد ($P<0.01$). همین میزان افزایش در حد کمتر در گروه دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک نسبت به گروه کنترل به دست آمد ($P<0.05$). به‌علاوه در گروه دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک نسبت به گروه دگزامتازون کاهش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم کاسپاز ۱ مشاهده‌گردید ($P<0.05$).

۵- نتایج سنجش کاسپاز ۳:

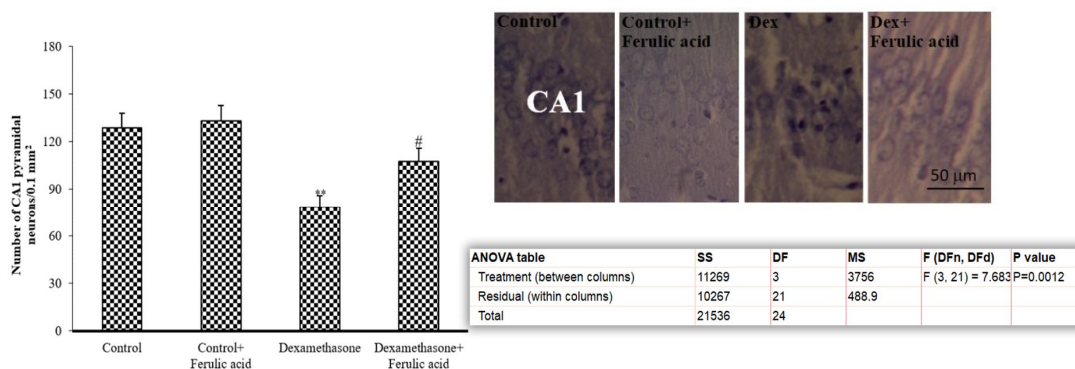
با انجام آزمون آماری آنوای یکطرفه در مورد فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ در بافت هیپوکمپ در گروه‌های مختلف یک تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت شد ($F(3,24)=10.78, p<0.001$). طبق نمودار ۳-B در گروه دگزامتازون یک افزایش معنی‌دار قابل‌توجه در میزان فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ نسبت به گروه کنترل رخ داد ($P<0.01$). از طرفی در گروه دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک یک کاهش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم کاسپاز ۳ نسبت به گروه دگزامتازون مشاهده‌گردید ($P<0.05$). در گروه کنترل تحت تیمار با اسید فرولیک تغییر معنی‌داری از فعالیت این آنزیم به دست نیامد.



نمودار (۳): A- نتایج سنجش آنزیم کاسپاز ۱ در گروه‌های مورد آزمایش. B- نتایج سنجش آنزیم کاسپاز ۳ در گروه‌های مورد آزمایش. $P<0.05$ ×× مقایسه با گروه کنترل. $P<0.05$ ×# مقایسه با گروه دگزامتازون. (گروه‌های مورد آزمایش: کنترل، کنترل تحت تیمار با اسید فرولیک با دوز 50 mg/kg، دگزامتازون با دوز 500 mic/kg و دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک با دوز 50 mg/kg)

۴- نتایج مربوط به بررسی بافت شناسی:

با انجام آزمون آنوای یکطرفه در مورد تعداد نورون‌های ناحیه CA1 بافت هیپوکمپ یک تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت شد ($F(3,21)=7.68$, $p<0.01$). در نتایج بافت‌شناسی (نمودار ۴) مشخص شد که تجویز مزمن دگزامتازون با دوز بالا منجر به آسیب نورون‌ها و همچنین کاهش در تراکم نورونی در ناحیه CA1 هیپوکمپ می‌شود و درمان تکمیلی اسید فرولیک در کنار دگزامتازون، این وضعیت را بهبود بخشیده است، درحالی‌که مصرف



نمودار (۴): نتایج شمارش نورونی ناحیه CA1 هیپوکمپ در گروه‌های مورد آزمایش و عکس میکروسکوپ نوری مربوطه در رنگ آمیزی نیسل انجام شده با رنگ کرزیل ویوله. (گروه‌های مورد آزمایش: کنترل، دگزامتازون 500 mic/kg و دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک 50 mg/kg). $P<0.05$ ×× مقایسه با گروه کنترل. $P<0.05$ ×# مقایسه با گروه دگزامتازون. (گروه‌های مورد آزمایش: کنترل، کنترل تحت تیمار با اسید فرولیک با دوز 50 mg/kg، دگزامتازون با دوز 500 mic/kg و دگزامتازون تحت تیمار با اسید فرولیک با دوز 50 mg/kg)

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، دگزامتازون در دوز بالا و در طولانی‌مدت، دارای آثار نوروژنراتیو بوده و منجر به آسیب نورون‌های هرمی هیپوکمپ و در نتیجه مختل شدن حافظه می‌شود. بدین ترتیب که در گروه دریافت‌کننده دگزامتازون پارامتر تأخیر در حین عبور که شاخصی از توانایی حیوان برای تثبیت اطلاعات در انبارهای حافظه و به یادآوری آن‌هاست، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. دگزامتازون باعث کاهش معنی‌دار پارامتر آزمون تشخیص شیء جدید در گروه آسیب‌دیده با این دارو نسبت به گروه کنترل شد. همچنین در این گروه تعداد نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکمپ کم شده و محدوده‌ی سیتوپلاسمی سلول‌ها خوب مشخص نبود. به‌علاوه دگزامتازون باعث افزایش شاخص استرس اکسیداتیو MDA و از طرفی کاهش شاخص آنتی‌اکسیدان SOD در گروه آسیب‌دیده با این دارو گردید. همچنین در این گروه افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم‌های کاسپاز ۱ و ۳ مشاهده شد که به‌نوعی نشان‌دهنده آپوپتوز سلول‌های هیپوکمپ بود.

در مطالعه‌ای که Kanchana Suksri و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام دادند، اثر حفاظتی ژنیستین در برابر آپوپتوز سلول‌های بتای پانکراس ناشی از دگزامتازون را بررسی کردند. دگزامتازون از طریق تنظیم افزایشی گیرنده‌های مرگ و تولید سوپراکسید، بیان پروتئین‌های آپوپتوز درونی و بیرونی از جمله NF- κ B، Bax، فعال شدن کاسپاز ۸ و ۳، همچنین سرکوب پروتئین ضدآپوپتوز BCL-2 باعث آپوپتوز سلول‌های بتای پانکراس شد (۲۲). نتایج این تحقیق از یافته‌های ما پشتیبانی می‌کند.

در مطالعه‌ای که Liang Ma و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام دادند، اثر دگزامتازون بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی را بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که دگزامتازون آپوپتوز سلول‌های بنیادی مزانشیمی را ترویج کرد و با ایجاد اختلال در پویایی میتوکندری، استئوژنز را مهار نمود. استفاده از غلظت‌های بالای دگزامتازون باعث کاهش فعالیت سلولی، ارتقاء آپوپتوز، افزایش سطح گونه‌های فعال اکسیژن و اختلال در پویایی میتوکندری شد که این باعث افزایش تقسیم میتوکندری و کاهش همجوشی استخوان گردید. دگزامتازون با دوز ۱۰- مول بر لیتر استخوان سازی سلول‌های بنیادی را مهار کرد و باعث افزایش چربی‌زایی شد (۲۳). در راستای ایجاد آپوپتوز نتایج این بررسی با یافته‌های ما هم‌راستا می‌باشد.

در مطالعه‌ای که Wanlin Liu و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام دادند، همبستگی بین گونه‌های اکسیژن فعال ناشی از دگزامتازون، اتوفازی و آپوپتوز در سلول‌های شبه استئوبلاست MC3T3-E1 بررسی شد. با انجام فلوسیتومتری، ایمنوفلورسانس و وسترن به لات

مشخص شد که دگزامتازون نه‌تنها زنده‌مانی سلول را کاهش داده بلکه آپوپتوز را از طریق فعال‌سازی شبکه آندوپلاسمی ارتقاء داد. به‌علاوه دگزامتازون باعث توقف چرخه سلولی در فاز G0/G1 از طریق مهار بیان CDK2 و تولید ROS فعال شد. در نتیجه دگزامتازون با افزایش تولید ROS آپوپتوز را از طریق فعال‌سازی اتوفازی و استرس ER در سلول‌های MC3T3-E1 افزایش داد (۲۴). نتایج این تحقیق از یافته‌های ما پشتیبانی می‌کند.

بر اساس نتایج این مطالعه، اسید فرولیک از تخریب سلول‌های عصبی ناشی از دگزامتازون جلوگیری می‌کند؛ که هم‌جهت با سایر مطالعاتی است که اسید فرولیک را یک ترکیب نوروپروتکتیو در برابر برخی مسمومیت‌ها دانسته‌اند. از جمله در مطالعه Adefegha و همکاران که نشان داد، اسید فرولیک به‌واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی و از طریق کاهش لیپید پراکسیدازها و استیل کولین استرازها، از بافت عصبی در برابر آسیب ناشی از کادمیوم محافظت می‌کند؛ و یا در مطالعه Kumar و همکاران، که اسید فرولیک به‌واسطه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حفظ فعالیت کلینرژیک و دوپامینرژیک، از آسیب سلول‌های عصبی در برابر مسمومیت با سرب جلوگیری کرد؛ (۱۰، ۲۵).

اسید فرولیک با مهار مسیر سیگنالینگ TLR4/MYD88 اثر محافظت عصبی خود را اعمال می‌کند. این اثر در مطالعه Ren Z. به دست آمد. که اثرات محافظت عصبی اسید فرولیک در برابر آسیب‌های ناشی از ایسکمی/پرفیوژن مجدد را بررسی کردند. اسید فرولیک به‌صورت وابسته به دوز اختلال حافظه، آپوپتوز عصبی هیپوکمپ و استرس اکسیداتیو را کاهش داد. همچنین از سلول‌های PC-12 در برابر تولید گونه‌های اکسیژن فعال، آپوپتوز، هجوم کلسیم، آنیون سوپراکسید و MDA محافظت کرد (۲۶).

اسید فرولیک با مکانیسم‌های بالقوه ضدآمیلوئیدوز، ضدالتهاب ضداکسیداسیون، حفاظت از میتوکندری و مهار آپوپتوز اثر حفاظت عصبی خود را اعمال می‌کند که این هم‌راستا با تحقیق Wang E.J و همکاران است. او اثر فرولیک اسید را در مدل‌های حیوانی آلزایمر بررسی کرد. نتایج نشان داد که فرولیک اسید می‌تواند به‌طور مؤثری توانایی حافظه فضایی جوندگان را در آزمایش‌های Y-maze و MWM بهبود بخشیده، همچنین رسوب آمیلوئید بتا را در مغز حیوانات مدل‌های مختلف کاهش دهد (۲۷).

اسید فرولیک در این پژوهش از آسیب سلول‌های عصبی در برابر مصرف طولانی‌مدت و با دوز بالای دگزامتازون محافظت کرد که این نتیجه در راستای مطالعاتی است که به بررسی اثر اسید فرولیک در برابر برخی مواد نوروژنراتیو پرداخته‌اند، از جمله در مطالعه Yang و همکاران که نشان داده شد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی

قوی اسید فرولیک، با مکانیسم افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و کاهش سطح گلوکاتینون، آسیب‌های ذهنی ناشی از تجمع دی گالاکتوز را کاهش داد، و همچنین به واسطه کاهش مالون‌دی‌آلدهید، نیتریک اکساید و نیز مهار التهاب مغزی از تحلیل سیستم عصبی مرکزی جلوگیری کرد؛ و یا در مطالعه حسن‌زاده و همکاران که دیده شد، اسید فرولیک از طریق مهار آسیب‌های اکسیداتیو، از اختلالات شناختی و عوارض نورولوژیک ناشی از داروی ضد صرع پنتیلین ایترازول جلوگیری کرد (۲۸، ۲۹).

در مطالعه حاضر، اسید فرولیک، آسیب سلول‌های عصبی و اختلال در حافظه ناشی از دگزامتازون را به میزان قابل‌توجهی کاهش داد، که در راستای نتایج مطالعه کیم قرار گرفت. در مطالعه Kim و همکاران نشان داده شد که اسید فرولیک، آسیب حافظه ناشی از تری متیل تین و همچنین آسیب‌های ناشی از کاهش فعالیت استیل کولین ترانسفراز را مهار می‌کند، درواقع با فعال کردن استیل کولین ترانسفراز منجر به بهبود عملکرد تشخیصی و کنترل دمانس می‌شود (۳۰).

همانند نتایج پژوهش حاضر، در مطالعه Ojha و همکاران نیز، آثار نوروپروتکشن اسید فرولیک (دربرابر بیماری پارکینسون) مشاهده شد؛ که ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی اسید فرولیک و نیز نقش آن در افزایش سطح دوپامین در بافت مغز بوده است (۳۱).

آثار نوروپروتکتیو اسید فرولیک در این پژوهش، در راستای مطالعاتی است که این اثر اسید فرولیک را ناشی از نقش آن در بهبود جریان خون مغزی و نیز مهار ایسکمی می‌دانند، ازجمله در مطالعه Zhang و همکاران که اسید فرولیک از طریق افزایش سطح اریتروپویتین در مغز و خون محیطی منجر به بهبود آسیب سلول‌های عصبی ناشی از ایسکمی گشت (۳۲).

نتایج این پژوهش، نشان‌دهنده نقش اسید فرولیک در بهبود حافظه به واسطه مکانیسم‌های مهارکننده آسیب نورون‌ها دربرابر ترکیبات نورودژنراتیو بود، همان‌طور که در مطالعات مربوط به آلزایمر، اسید فرولیک منجر به مهار رسوب یا کاهش عملکرد بتا آمیلوئید شده و از اختلال در عملکرد سلول‌های عصبی و نیز حافظه جلوگیری می‌کند؛ ازجمله مطالعه Mori و همکاران، که اسید فرولیک از طریق افزایش شکسته شدن پیش سازهای بتا آمیلوئیدی، افزایش فعالیت آلفا سکریتاز و مهارکننده بتا سکریتاز منجر به کاهش

رسوب بتا آمیلوئید در مغز و عروق مغزی می‌شود؛ و یا در مطالعه Tsai و همکاران دیده شد که اسید فرولیک با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و نیز فعال کردن رسپتورهای موسکائینی و نیکوتینی در کورتکس و هیپوکمپ منجر به بهبود اختلالات شناختی ناشی از آمیلوئید بتا شد (۳۳، ۳۴).

همچنین حفاظت اسید فرولیک از هیپوکمپ که نتیجه این پژوهش است، در راستای مطالعه Asano و همکاران قرار دارد که درواقع اسید فرولیک به واسطه حفظ سطح دوپامین استریاتوم و نیز حفاظت از سیستم دوپامین- ماده پی، از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از ایسکمی جلوگیری کرده و آسیب دیدن سلول‌های عصبی را مهار می‌کند (۳۵).

یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر عدم انجام مطالعه به فرم دوز-پاسخ بود که در صورت انجام این مطالعه بهتر می‌شد به مقایسه نتایج پرداخت. محدودیت دیگر نیز عدم انجام بررسی‌های بیوشیمیایی بیشتر در مورد تغییرات آپوپتوتیک و انجام آزمایشات ایمونوهیستوشیمیایی در مورد فاکتورهای التهابی بود. انجام چنین مطالعاتی در بررسی‌های مرتبط آینده پیشنهاد می‌گردد.

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف اسید فرولیک هم‌زمان با تجویز طولانی‌مدت دگزامتازون از بروز اختلال یادگیری و حافظه و آسیب هیپوکمپ جلوگیری می‌نماید و بخشی از اثر سودمند آن از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز انجام می‌شود که این می‌تواند در کاهش عوارض عملکردی و بافتی ناشی از مصرف گلوکوکورتیکواستروئیدها سودمند باشد.

تضاد منافع

این مطالعه برای نویسندگان هیچگونه تضاد منافی نداشته است.

تشکر و قدردانی

این اثر پژوهشی با شناسه اخلاق IR.Shahed.REC.1395.142 مصوب کمیته ملی اخلاق وزارت بهداشت ایران و دانشگاه شاهد می‌باشد. کلیه مراحل انجام این مطالعه با پیروی از قوانین مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مصوب وزارت بهداشت ایران و با نظارت کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شاهد انجام گردید.

References:

1. Michels B, Zwaka H, Bartels R, Lushchak O, Franke K, Endres T, et al. Memory enhancement by ferulic

acid ester across species. Sci Adv 2018;4(10):eaat6994.

2. Lamptey RNL, Chaulagain B, Trivedi R, Gothwal A, Layek B, Singh J. A Review of the Common

- Neurodegenerative Disorders: Current Therapeutic Approaches and the Potential Role of Nanotherapeutics. *Int J Mol Sci* 2022;23(3).
3. Dos Santos N, Novaes LS, Dragunas G, Rodrigues JR, Brandão W, Camarini R, et al. High dose of dexamethasone protects against EAE-induced motor deficits but impairs learning/memory in C57BL/6 mice. *Sci Rep* 2019;9(1):1-13.
 4. Ye Z, Li Q, Guo Q, Xiong Y, Guo D, Yang H, et al. Ketamine induces hippocampal apoptosis through a mechanism associated with the caspase-1 dependent pyroptosis. *Neuropharmacology* 2018;128:63-75.
 5. Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med* 2015;21(7):677-87.
 6. Imbriani P, Tassone A, Meringolo M, Ponterio G, Madeo G, Pisani A, et al. Loss of non-apoptotic role of caspase-3 in the PINK1 mouse model of Parkinson's disease. *Int J Mol Sci* 2019;20(14):3407.
 7. Zhang R, Yi Z, Lin Y, Chang H, Zhang Q. Identification of a Variant in NLRP3 Gene in a Patient with Muckle-Wells Syndrome: A Case Report. 2022.
 8. Cai Y, Chai Y, Fu Y, Wang Y, Zhang Y, Zhang X, et al. Salidroside Ameliorates Alzheimer's Disease by Targeting NLRP3 Inflammasome-Mediated Pyroptosis. *Front Aging Neurosci* 2021;13.
 9. Eskandari E, Eaves CJ. Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis. *J Cell Biol* 2022;221(6):e202201159.
 10. Lalith Kumar V. Ameliorative effects of ferulic acid against lead acetate-induced oxidative stress, mitochondrial dysfunctions and toxicity in prepubertal rat brain. *Neurochem Res* 2014;39(12):2501-15.
 11. Lenzi J, Rodrigues AF, Ros AdS, de Castro BB, de Lima DD, Magro DDD, et al. Ferulic acid chronic treatment exerts antidepressant-like effect: role of antioxidant defense system. *Metab Brain Dis* 2015;30(6):1453-63.
 12. Zhang S-H, Liu D, Hu Q, Zhu J, Wang S, Zhou S. Ferulic acid ameliorates pentylentetrazol-induced seizures by reducing neuron cell death. *Epilep Res* 2019;156:106183.
 13. Yu C, Pan S, Zhang J, Li X, Niu Y. Ferulic acid exerts Nrf2-dependent protection against prenatal lead exposure-induced cognitive impairment in offspring mice. *J Nutr Biochem* 2021;91:108603.
 14. Ghobadi M, Arji B, Yadegari M, Esmailidehaj M, Homayouni Moghadam F, Rezvani ME. Ferulic Acid Ameliorates Cell Injuries, Cognitive and Motor Impairments in Cuprizone-Induced Demyelination Model of Multiple Sclerosis. *Cell J* 2022;24(11):681-8.
 15. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US). 2011 [cited 2023].
 16. Issuriya A, Kumarnsit E, Reakkamnuan C, Samerphob N, Sathirapanya P, Cheaha D. Dexamethasone induces alterations of slow wave oscillation, rapid eye movement sleep and high-voltage spindle in rats. *Acta Neurobiol Exp* 2019;79(3):251-60.
 17. Narasimhan A, Chinnaiyan M, Karundevi B. Ferulic acid exerts its antidiabetic effect by modulating insulin-signalling molecules in the liver of high-fat diet and fructose-induced type-2 diabetic adult male rat. *App Physiol Nutr Metabol* 2015;40(8):769-81.
 18. Li WZ, Wu WY, Huang DK, Yin YY, Kan HW, Wang X, et al. Protective effects of astragalosides on dexamethasone and A β 25-35 induced learning and memory impairments due to decrease amyloid precursor protein expression in 12-month male rats. *Food Chem Toxicol* 2012;50(6):1883-90.
 19. Sadraie S, Kiasalari Z, Razavian M, Azimi S, Sedighnejad L, Afshin-Majd S, et al. Berberine

- ameliorates lipopolysaccharide-induced learning and memory deficit in the rat: Insights into underlying molecular mechanisms. *Metabol Brain Dis* 2019;34(1):245-55.
20. Rousti AM, Mirahmadi SMS, Shahmohammadi A, Ramzi S, Baluchnejadmojarad T, Roghani M. S-allyl cysteine, an active ingredient of garlic, attenuates acute liver dysfunction induced by lipopolysaccharide/d-galactosamine in mouse: Underlying mechanisms. *J Biochem Mol Toxicol* 2020;34(9):e22518.
21. Binesh A, Devaraj SN, Halagowder D. Atherogenic diet induced lipid accumulation induced NFκB level in heart, liver and brain of Wistar rat and diosgenin as an anti-inflammatory agent. *Life Sci* 2018;196:28-37.
22. Suksri K, Semprasert N, Limjindaporn T, Yenchitsomanus P-t, Kooptiwut S, Kooptiwut S. Cytoprotective effect of genistein against dexamethasone-induced pancreatic β-cell apoptosis. *Sci Rep* 2022;12(1):1-12.
23. Ma L, Feng X, Wang K, Song Y, Luo R, Yang C. Dexamethasone promotes mesenchymal stem cell apoptosis and inhibits osteogenesis by disrupting mitochondrial dynamics. *FEBS Open Bio* 2020;10(2):211-20.
24. Liu W, Zhao Z, Na Y, Meng C, Wang J, Bai R. Dexamethasone-induced production of reactive oxygen species promotes apoptosis via endoplasmic reticulum stress and autophagy in MC3T3-E1 cells. *Int J Mol Med* 2018;41(4):2028-36.
25. Adefegha SA, Omojokun OS, Oboh G, Fasakin O, Ogunsuyi O. Modulatory effects of ferulic acid on cadmium-induced brain damage. *J Evid Based Complementary Altern Med* 2016;21(4):NP56-NP61.
26. Ren Z, Zhang R, Li Y, Li Y, Yang Z, Yang H. Ferulic acid exerts neuroprotective effects against cerebral ischemia/reperfusion-induced injury via antioxidant and anti-apoptotic mechanisms in vitro and in vivo. *Int J Mol Med* 2017;40(5):1444-56.
27. Wang E-J, Wu M-Y, Lu J-H. Ferulic acid in animal models of Alzheimer's disease: A systematic review of preclinical studies. *Cells* 2021;10(10):2653.
28. Hassanzadeh P, Arbabi E, Atyabi F, Dinarvand R. Ferulic acid exhibits antiepileptogenic effect and prevents oxidative stress and cognitive impairment in the kindling model of epilepsy. *Life Sci* 2017;179:9-14.
29. Yang H, Qu Z, Zhang J, Huo L, Gao J, Gao W. Ferulic acid ameliorates memory impairment in d-galactose-induced aging mouse model. *nt J Food Sci Nutr* 2016;67(7):806-17.
30. Kim MJ, Choi SJ, Lim S-T, Kim HK, Heo HJ, Kim E-K, et al. Ferulic acid supplementation prevents trimethyltin-induced cognitive deficits in mice. *Biosci Biotech Biochem* 2007;0703070329-.
31. Ojha S, Javed H, Azimullah S, Khair SBA, Haque ME. Neuroprotective potential of ferulic acid in the rotenone model of Parkinson's disease. *rug Des Devel Ther* 2015;9:5499.
32. Zhang L, Wang H, Wang T, Jiang N, Yu P, Chong Y, et al. Ferulic acid ameliorates nerve injury induced by cerebral ischemia in rats. *Exp Ther Med* 2015;9(3):972-6.
33. Mori T, Koyama N, Tan J, Segawa T, Maeda M, Town T. Combination therapy with octyl gallate and ferulic acid improves cognition and neurodegeneration in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 2017;292(27):11310-25.
34. Tsai F-S, Wu L-Y, Yang S-E, Cheng H-Y, Tsai C-C, Wu C-R, et al. Ferulic acid reverses the cognitive dysfunction caused by amyloid β peptide 1-40 through anti-oxidant activity and cholinergic activation in rats. *Am J Chinese Med* 2015;43(02):319-35.

35. Asano T, Matsuzaki H, Iwata N, Xuan M, Kamiuchi S, Hibino Y, et al. Protective effects of ferulic acid against chronic cerebral hypoperfusion-induced swallowing dysfunction in rats. *Int J Mol Sci* 2017;18(3):550.

THE EFFECT OF FERULIC ACID IN PREVENTION OF LEARNING AND MEMORY DEFICIT AND HIPPOCAMPAL INJURY IN RATS UNDER CHRONIC TREATMENT WITH DEXAMETHASONE

Fatemeh Khajati¹, Alireza Azizzade-Delshad², Narges Haddadzadeh-Niri³, Mehrdad Roghani^{4*}

Received: 13 November, 2022; Accepted: 07 February, 2023

Abstract

Background & Aims: Long-term exposure to glucocorticosteroids is associated with brain damage through augmenting oxidative stress and apoptotic cell death. Due to the anti-oxidative and anti-apoptotic effects of ferulic acid (FA), its effect on learning, memory, and protection of the hippocampus in dexamethasone (DEX) treated rats were investigated in this study.

Materials & Methods: This experimental study was conducted on 32 male Wistar rats. Neural injury was induced by injection of 500 µg/kg/day of DEX for 3 weeks. Treatment groups received oral FA (50 mg/kg/day) for 3 weeks. At the end of 3rd week and following evaluation of learning and memory by passive avoidance and novel object discrimination (NOD) tests, some related factors of oxidative stress and apoptosis in hippocampal homogenate were measured and number of neurons in hippocampal CA1 area was also counted.

Results: Step-through latency and discrimination index were significantly higher in FA-treated DEX group than DEX group. FA-treatment of DEX group was associated with lower levels of MDA, caspase 1, and caspase 3 but higher activity of superoxide dismutase (SOD). Meanwhile, CA1 neuronal density was significantly higher in FA-treated DEX group.

Conclusion: Taking ferulic acid simultaneously with long-term administration of dexamethasone prevents the occurrence of learning and memory disorders and hippocampus damage, and part of its beneficial effect is done through reducing oxidative stress and apoptosis.

Keywords: Dexamethasone, Ferulic acid, Hippocampus, Learning, Memory

Address: Neurophysiology Research Center, Shahid University, Tehran, Iran

Tel: +982188964792

Email: mehjour@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2022; 33(7): 540 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2022 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

¹ Medical graduate, Faculty of Medicine, Shahid University, Tehran, Iran

² Associate Professor, Department of Anatomy and Pathology, Faculty of Medicine, Shahid University, Tehran, Iran

³ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahid University, Tehran, Iran

⁴ Professor, Neurophysiology Research Center, Shahid University, Tehran, Iran (Corresponding Author)