بررسی میکروسکوپی آسیب شناسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی انسولین وگلی بن کلامید بر سلولهای پورکنژ در مدل تجربی دیابت

امیرمهدی افشارمازندران M.Sc.☆*، افشین عبدی‌راد Ph.D.☆، مهدیه فقیهی Ph.D.☆

☆ دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و آسیب شناسی

* آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۷۳۱۳-۱۴۱۵۵، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه فیزیولوژی و آسیب شناسی

چکیده

* **هدف:** بررسی آسیب‌شناسی آثار تزریق درون هیپوکامپی انسولین و گلی بن کلامید بر سلولهای پورکنژ در مدل تجربی دیابت

* **مواد و روشها:** به منظورتعیین آثار احتمالی تزریق داخل هیپوکامپی انسولین و گلی بن کلامید بر پیشگیری و ترمیم سلولهای پورکنژ آسیب دیده بر اثر دیابت تجربی، ۲۸ رت نر با میانگین وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم انتخاب و پس از جراحی استروتاکسیک و کانول گذاری با تجویز داروی استرپتوزوتوسین (با دوز ۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم) به دیابت تجربی مبتلا شدند. سپس ۷ روز بعد پس از تایید ابتلا به دیابت تجربی با تست گلوکز خون به ۵ گروه آزمایشی شامل شاهد، حامل، انسولین و گلی بن کلامید و انسولین همراه با گلی بن کلامید تقسیم و تحت تزریق داخل هیپوکامپی مواد بالا قرار گرفتند. پس از ۸ هفته ناحیه تزریق نمونه برداری شد و پس از آماده سازی بافتی با دو روش میکروسکوپی نوری با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین و میکروسکوپی الکترونی اسکنینگ مورد بررسی قرار گرفتند.

* **یافته ها:** نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی نوری مقاطع نشان می‌دهد که در نمونه‌های گروههای شاهد و حامل آثار مرگ گسترده سلولی به صورت کاملا مشهودی به چشم می‌خورد. در حالی که در گروه انسولین و انسولین همراه با گلی بن کلامید میزان آسیب سلولی در لایه‌های سلولهای پورکنژ بسیار کمتر است. در مقابل در نمونه‌های گروه گلی بن کلامید علیرغم کاهش میزان آسیب این اثر محافظتی به میزان کمتری ملاحظه می‌شود. تصاویر میکروسکوپ الکترونی ضمن تایید یافته‌های حاصل از میکروسکوپی نوری نشان می‌دهد که بین مورفولوژی دندریتها به ویژه تعداد خارهای سیناپسی گروههای شاهد و حامل از یک سو و گروه انسولین و گلی بن کلامید از سوی دیگر تفاوت آشکار وجود دارد که کماکان این تفاوت در مورد انسولین بارزتر ازگلی بن کلامید است.

* **نتیجه گیری:** انسولین احتمالا به شکل اختصاصی سلولهای پورکنژ هیپوکامپ را در مقابل تغییرات متابولیسم گلوکز و آسیبهای سلولی محافظت می‌نمایند. این اثر محافظتی به میزان محدودتری توسط گلی بن کلامید به عنوان آگونیست گلوکز و مسدود کننده کانال پتاسیمی ظاهر می‌شود. اثرهای بارز انسولین بر افزایش تراکم و تعداد خارهای سیناپسی حکایت از اثر تروفیک قدرتمند آن دارد، اثری که گلی بن کلامید نیز با میزان کمتری ظاهر می‌سازد.

کل واژگان: انسولین، هیپوکامپ، میکروسکوپی، محافظت

مقدمه

شواهد بسیاری حاکی از اهمیت انسولین در متابولیسم و محافظت سلولهای بدن است. کمبود انسولین یا عدم پاسخگویی مغز به این هورمون عوارض متعددی از فراموشی خفیف تا بیماری آلزایمر ایجاد می‌کند (۱). شواهد حاصل از بررسی بیماریهایی که توام با آمیب بافتی پیشرونده عصبی همراه با اختلالات روز افزون حافظه هستند، نشان داده‌اند که به موازات این عوارض، ناهنجاریهایی در متابولیسم گلوکز رخ می‌دهد (۲). همگام با شدت گرفتن اختلالات حافظه از خفیف به شدید میزان آمیب بافتی مغز گسترش (۳) در تجربه‌ای دیگر با تجویز ساندواستاتین که اثرهای مشابه با سوماتواستاتین را دارد، انسولین داخلی در بیماران آلزایمری سرکوب شد و این بیماران با تجویز گلوکز در شرایط هیپرگلیسمی قرار گرفتند. لیکن بهبودی در روند حافظه مشاهده نشد. در حالی که در همین بیماران ایجاد شرایط هیپرانسولینمی، بدون افزایش گلوکز باعث افزایش قابل ملاحظه حافظه شد (۴) ولی سوالی هنوز پاسخ داده نشده این است که چه قسمتی از مغز مسئول بروز این اثرهای انسولین است.

باتوجه به اینکه بالاترین میزان تجمع گیرنده‌های انسولین در هیپوکامپ قرار دارد (۵) و از آنجاکه دخالت این عضو در روند حافظه بارها به اثبات رسیده است (۶) و در روند آسیبهای پیشرونده عصبی در بیماری آلزایمر این ناحیه صدمه می‌بیند (۷) سلولهای پورکنژ به دلیل حساسیت زیاد در مقابل تغییرات متابولیک و هورمونی و بروز پاسخهای آمیب شناختی بارز در مقابل این شرایط جمعیت سلولی ایده‌آلی برای مطالعاتی از این دست محسوب می‌شوند. به علاوه؛ تعداد و تراکم خارهای سیناپسی دندریتهای این سلولها نیز در پاسخ به تغییرات هورمونی تغییر می‌نماید. در این مطالعه با تزریق داخل هیپوکامپی انسولین و گلی بن کلامید به رتهای مبتلا به دیابت تجربی، نقش انسولین و گلی بن کلامید را در پیشگیری و جبران آمیب سلولی به هیپوکامپ بررسی شد. از آنجاکه اثر گلوکز بر حافظه از طریق مسدود نمودن کانالهای پتاسیمی صورت می‌پذیرد (۸) برای روشن شدن ارتباط بین گلوکز و انسولین در ایجاد اثرهای جبرانی به روی آسیبهای سلولی از تزریق گلی بن کلامید که یک مسدود کننده کانال پتاسیمی است کمک گرفته شد (۹).

مواد و روشها

* حیوانات مورد آزمایش

تعداد ۲۸ رت نر در محدوده وزنی ۲۰۰ - ۲۵۰ گرم در این بررسی مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات تحت شرایط استاندارد دما و روشنایی نگهداری شدند. پس از جراحی تا پایان مراحل بررسی هر موش در قفس جداگانه نگهداری شد.

* جراحی

موشها با استفاده از کتامین (۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم) بیهوش شده و با روشهای استاندارد استروتاکسی کانولهای هدایتی فلزی به شماره ۲۳ در هیپوکامپ با مختصات زیر به صورت یک طرفه نصب شدند، (در محور قدامی - خلفی ۳/۸ میلی متر عقبتر از برگما، ۴ میلی متر در محور عرضی و به عمق ۳/۸ میلی‌متر پایین‌تر از سخت شامه) که از اطلس پاکسینوس و واستون استخراج شده بود (۱۰). پس از جراحی به حیوانات یک هفته استراحت داده شد و در طول این مدت از نظر عفونت مورد مراقبت قرار داشتند. قبل از تزریق دارو با خونگیری از دم و اندازه‌گیری گلوکز خون مشاهده شد که مقدار گلوکز حیوانات بین ۲±۱۷ است که از مقدار طبیعی بین ۵/۰±۵/۵ بسیار بالاتر بود.

* تزریقات داخل هیپوکامپی

تزریقات داخل هیپوکامپی با کمک یک لوله شماره ۲۸ که از یک سو به کانول نصب شده به سر حیوان و از سوی دیگر به یک سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری متصل بود با سرعت نیم میکرولیتر در دقیقه انجام شد. داروها در محلول سالین حل شده بودند لیکن برای حل بهتر گلی بن کلامید، Tween-۸۰ به این محلول افزوده شده بود (۱/۵ درصد وزنی)؛ حجم تزریق برای داروهای سالین، حامل، انسولین و گلی بن کلامید یک میکرولیتر بوده است. یک هفته پس از جراحی، رتها به پنج گروه آزمایشی تقسیم شدند (n=۷).

گروه شاهد: تحت تزریق درون هیپوکامپی سالین قرار گرفتند.

گروه حامل: تحت تزریق درون هیپوکامپی حامل قرار گرفتند.

گروه انسولین: تحت تزریق درون هیپوکامپی انسولین قرار گرفتند.

گروه گلی بن کلامید: تحت تزریق درون هیپوکامپی گلی بن کلامید قرار گرفتند.

گروه انسولین همراه با گلی بن کلامید: تحت تزریق هر دو دارو قرار گرفتند.

* آماده سازی و بررسی میکروسکوپی نوری

هشت هفته بعد، نیمی از رتها قربانی شده و با محلول ۰/۹ و ۱۰ درصد فرمالین پرفیوز شده و مغز از جمجمه خارج و در محلول سوکروز ۳۰ درصد و فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. سپس با ایجاد مقاطع به قطر ۱۰ میکرومتر از ناحیه هیپوکامپ با H&E رنگ‌آمیزی شدند که هسته‌ها به رنگ بنفش و زمینه به رنگ صورتی در می‌آید.

* آماده سازی و بررسی با میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ

هشت هفته بعد نیمی از رتها قربانی شده و مغز آنها خارج شده و ناحیه تزریق به قطر یک میلی متر جدا شده و با محلول گلوتارآلدئید و اسید اسمیک ۴ درصد به مدت دو ساعت تثبیت شدند، سپس به ترتیب در محلولهای اتانول با غلظتهای ۲۵ درصد، ۵۰ درصد، ۷۵ درصد هر یک به مدت ۱۵ دقیقه و الکل مطلق (اتانول ۱۰۰ درصد) سه بار، هر بار به مدت ۱۰ دقیقه آبگیری شدند. سپس مدت ۱۸ ساعت در محفظه دستگاه خشک کن انجمادی (Freeze Drier) قرار داده شدند و بلافاصله برای پوشش دادن و رسانا گشتن به دستگاه Sputter Coating انتقال داده شده و با طلا پوشش داده شدند. سپس روی سکوی مخصوص با چسب نقره نصب و برای مطالعه

به محفظه میکروسکوپ انتقال داده شدند.

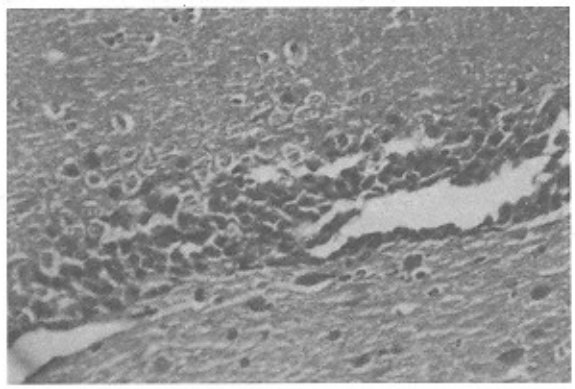
یافته‌ها

* گزارش آسیب شناسی

یافته‌های هیستوپاتولوژیک در هیپوکامپ پنج گروه از حیوانات تحت بررسی تفاوتهای آشکاری را با یکدیگر نشان می‌دهد.

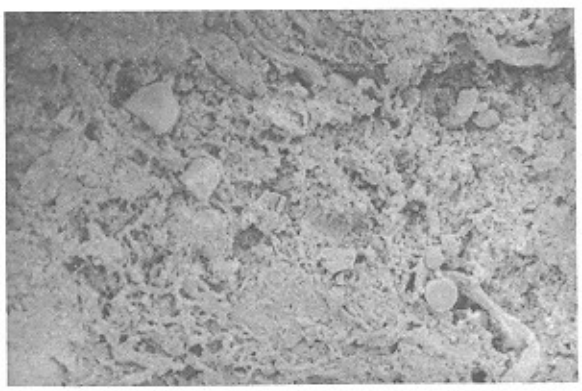
الف) گروه شاهد دیابتی

در این گروه که تحت تزریق انسولین یا گلی بن کلامید قرار نگرفته بودند در نواحی گسترده‌ای از هیپوکامپ به ویژه لایه مولکولار و دندانه‌دار و لایه سلولهای CA1-CA4 دستجات وسیعی از سلول های تخریب شده دیده می‌شوند که دارای هسته چروکیده و کروماتین تیره هستند که می‌تواند به دلیل وقوع تغییرات دژنراتیو در سلولهای فوق باشد (شکل ۱).



شکل ۱: نمای هیپوکامپ حیوانات دیابتی که تحت تزریق درون هیپوکامپی هیچ دارویی قرار نگرفته‌اند. تعداد سلولهای دژنره بسیار افزایش یافته‌اند و تخریب سلولی به طرز گسترده‌ای مشاهده می‌شود. رنگ‌آمیزی: هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگنمایی: ۴۰۰x

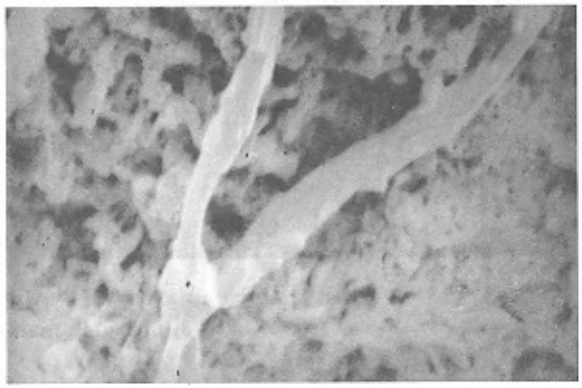
بررسی با میکروسکوپ الکترونی در این گروه کاهش چشمگیر اندازه سلولها از یک سو و کاهش تعداد رشته‌های عصبی را آشکار می‌سازد. ازسوی دیگر این رشته ها صاف و باریک و تقریباً فاقد خارهای سیناپسی هستند (شکل ۲ و ۳).



شکل ۲: میکروگراف هیپوکامپ حیوانات دیابتی گروه حامل که تحت درمان قرار نگرفته‌اند. سلولهای پورکنژ با هسته‌های کوچک و تحلیل مشهود رشته‌های عصبی بزرگنمایی: ۱۰۰۰x

ب) گروه حامل

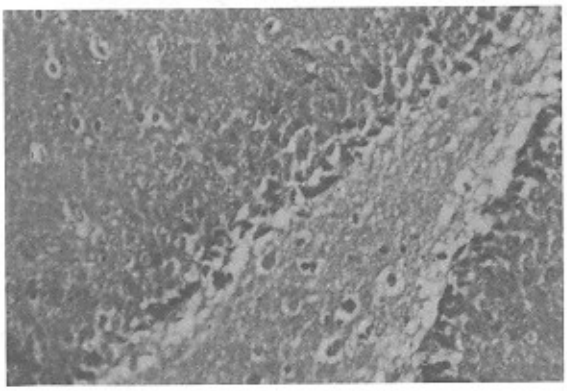
تغییرات آسیب شناسی این گروه مشابه گروه شاهد دیابتی بوده است.



شکل ۳: رشته های دندریتهای سلولهای پورکنژ و نمای تراکم خار های سیناپسی در گروه حیوانات گروه حامل که تحت هیچ درمانی قرار نگرفته اند. دندریتها با تراکم خارهای سیناپسی ناچیز بزرگنمایی: ۵۰۰۰x

ج) گروه انسولین

دراین گروه که تحت تزریق انسولین قرار گرفته بودند تعداد اندکی از سلولها تغییر شکل داده‌اند و این سلولها دارای هسته کوچک زاویه دار و کروماتین تیره هستند (شکل ۴).



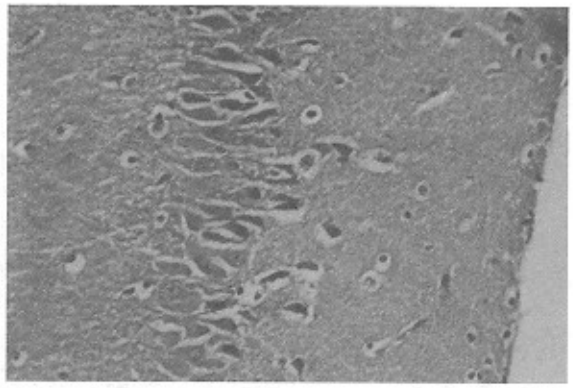
شکل ۴: نمای هیپوکامپ حیوانات دیابتی که تحت تزریق درون هیپوکامپی انسولین قرار گرفته‌اند. تعدادی از سلولها دژنره شده‌اند و هسته هیپرکروماتیک و چروکیده دارند. رنگ‌آمیزی: هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگنمایی: ۴۰۰x

بررسی با میکروسکوپ الکترونی اندازه جسم سلولی را طبیعی و تعداد و تراکم نسبتا بالای خارهای سیناپسی را نشان می‌دهد.

د) گروه گلی بن کلامید

در این گروه که فقط تحت درمان با گلی بن کلامید قرار داشته‌اند، درصد بیشتری از سلولهای صدمه دیده با هسته زاویه‌دار و کروماتین تیره مشاهده شد (شکل ۵).

در بررسی با میکروسکوپ الکترونی اندازه جسم سلولی کاهش یافته و تعداد خارهای سیناپسی کمتر شده است.

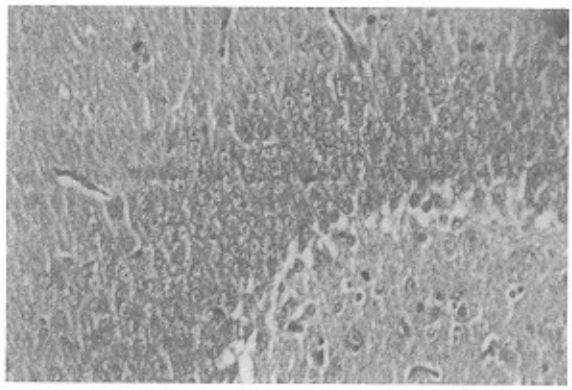


شکل ۵: نمای هیپوکامپ حیوانات دیابتی که تحت تزریق درون هیپوکامپی گلی‌بن‌کلامید قرار گرفته‌اند. تعدادی از سلولها دژنره شده‌اند و هسته هیپرکروماتیک و چروکیده دارند.

رنگ‌آمیزی: هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگنمایی: ۲۰۰×

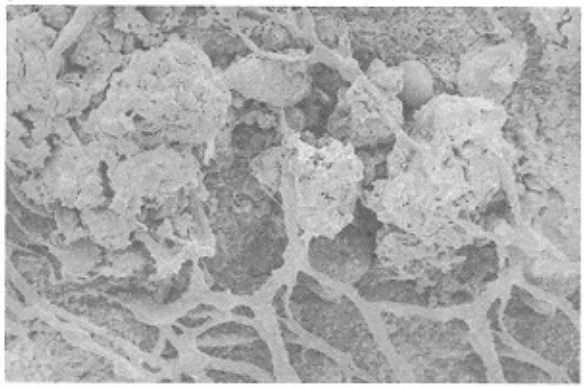
ه) گروه انسولین و گلی‌بن‌کلامید

در این گروه که تحت تزریق همزمان انسولین و گلی بن کلامید قرار گرفته‌اند، هسته سلولها کروماتین یکنواخت و یک یا چند هستک فعال نیز داشته‌اند و اثری از آپوپتوز و التهاب به چشم نمی‌خورد (شکل ۶).



شکل ۶: نمای هیپوکامپ حیوانات دیابتی که تحت تزریق درون هیپوکامپی انسولین و گلی‌بن‌کلامید قرار گرفته‌اند. هسته روشن با کروماتین باز و هستک مشخص

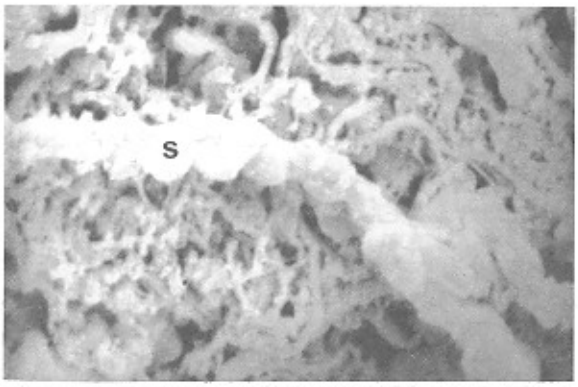
رنگ‌آمیزی: هماتوکسیلین و ائوزین، بزرگنمایی: ۲۰۰×



شکل ۷: میکروگراف هیپوکامپ حیوانات دیابتی که تحت تزریق درون هیپوکامپی انسولین و گلی‌بن‌کلامید قرار گرفته‌اند. سلولهای پورکنژ با هسته‌های فعال و بزرگ دارای رشته‌های عصبی

بزرگنمایی: ۱۰۰۰×

بررسی با میکروسکوپ الکترونی در این گروه هسته‌های بزرگ چند وجهی را آشکار نمود و از سوی دیگر نشان داد که تعداد رشته‌های عصبی کافی و ضخامت آنها نیز مناسب است. روی همه این رشته‌ها خارهای سیناپسی یا برجستگیهای دانه تسبیحی به فراوانی دیده می‌شوند (شکل ۷ و ۸).



شکل ۸: رشته های دندریتهای سلولهای پورکنژ و نمای تراکم خار های سیناپسی در گروه حیوانات تحت درمان با انسولین و گلی‌بن‌کلامید. دندریتها با تراکم خارهای سیناپسی بالا

بزرگنمایی: ۵۰۰۰×

بحث

دیابت همواره با آسیبهای بافت عصبی همراه بوده است و خطر ابتلا به اختلالات حافظه و فراموشی در این بیماران به ویژه افراد کهنسال بسیار زیاد است (۱۱). همزمان با این نقایص تغییرات ساختمانی آشکاری نیز در مغز رخ می‌دهد که از بسیاری جهات مشابه بیماری آلزایمر است. نتایج آسیب شناسی حاصل از این تحقیق با نتایج برخی از یافته‌های پیشین که از تأثیر مثبت انسولین در پیشگیری از آسیبهای عصبی حکایت می‌کردند همخوانی دارد (۱۲).

از سوی دیگر؛ معنی‌دار بودن تغییرات تعداد خارهای سیناپسی و اندازه جسم سلولی تحت تاثیر گلی بن کلامید به تنهایی و با توجه به این نکته که این ترکیب اثرهای همانند گلوکز را در جبران اختلالات حافظه ایجاد می‌نماید نشان دهندهٔ این امر است که کانالهای پتاسیمی نقش مهمی در حافظه دارند و این کانالها ممکن است محل اثر تقویتی گلوکز باشند (۱۴). اما نتایج کرافت و همکاران از دانشگاه واشنگتن که نشان داده‌اند گلوکز به تنهایی در جبران اختلالات حافظه در بیماران آلزایمری بدون ایجاد هیپرانسولینمی ثانویه متعاقب آن بی تأثیر است (۴۸)، این فرضیه راکه گلوکز به تنهایی در تقویت حافظه نقش منحصر به فردی دارد و به تنهایی عمل می‌کند را تضعیف می‌کند. از سوی دیگر؛ اثر تقویتی گلی بن کلامید به عنوان جایگزین گلوکز از اهمیت آن در روند حافظه و جبران آسیب سلولی حکایت می‌کند. لذا می‌توان نتیجه‌گیری نمود که اثرهای گلی بن کلامید و گلوکز از یک سو و انسولین از سوی دیگر در جبران آسیبهای سلولی از دو مکانیسم جدا اما همگرا از نظر نتیجه مثبت نهایی عمل می‌کنند. با این تفاوت که ممکن است آثار انسولین عمیق‌تر و گسترده تر باشد. البته شکی نیست که این نتیجه گیری تا هنگامی که منحنی دوز پاسخ انسولین تهیه نشود تائید نمی‌شود. از سوی دیگر

اثرهای محافظتی انسولین در جلوگیری از گسترش ضایعات عصبی به دنبال سکته مغزی تجربی و افزایش سرعت بهبودی اعمال ذهنی به ویژه حافظه (۱۵) این نتیجه گیری را محتمل می‌سازد که اثرهای انسولین در مغز فراتر از برآوردن نیازهای متابولیک بافتهای عصبی است (۱۷).

این نکته هنگامی که به فهرست طولانی علل اتیولوژیک گسترده عارضه فراموشی توجه کنیم بیشتر آشکار می‌شود. امروزه محدوده این عوامل به قدری گسترده شده است که تعریف کلاسیک آلزایمر زیر علامت سوال قرار گرفته است (۱۸). بدین ترتیب گروهی از محققین بر اساس مطالعات خود ادعا کرده‌اند که کاهش مستمر مصرف سلولی گلوکز و بر هم خوردن مکانیسم پایه‌ای متابولیسم آن و کاهش تاثیر و غلظت انسولین در مغز در اتیولوژی و پاتولوژی آلزایمر نقش ایفا می‌نماید (۱۹).

این مسئله عملاً با دیدگاه کلاسیک که بر عدم دخالت انسولین در متابولیسم نورونها اصرار دارد در تضاد است. اما توانایی مغز در ساخت انسولین و وجود گیرنده‌های آن در بسیاری از نقاط مغز با بالاترین تراکم در هیپوکامپ و نواحی قشری گیجگاهی (۱) از یک سو و این نکته که این نواحی در روند حافظه از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردارند و در طی پاتولوژی آلزایمر همین نواحی متحمل بیشترین صدمات می‌گردند، این شک را تقویت می‌نماید که این هورمون نقشی در حافظه و پاتولوژی آلزایمر ایفا می‌نماید. بررسیها نشان داده است که دو نوع گیرنده انسولینی در مغز وجود دارد که یکی از آنها روی سلولهای گلیال و دیگری روی نورونها قرار دارد و مستقیما آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بدین ترتیب به نظر می‌رسد انسولین از دو مسیر وابسته به گلوکز و یک مسیر مستقل از گلوکز اثر می‌نماید (۱۳). برخی از محققین پیشنهاد کرده‌اند که انسولین با تاثیر روی گیرنده خود میزان تولید و ترشح استیل کولین را تقویت می‌کند. کاهش فراموشی حاصل از اسکوپولامین بر اثر تجویز انسولین در بررسی بلن چارد و همکارانش مؤید این مطلب است (۱۴). ایکیدا و همکارانش نشان داده‌اند که انسولین در محیط کشت نورونها نیز باعث افزایش فعالیت استیل کولین ترانسفراز می‌شود (۱۸).

از سوی دیگر؛ نتایج بررسیهای آسیب شناختی و مطالعات انجام شده با میکروسکوپ الکترونی نتایج آزمونهای رفتاری فوق را تایید می‌نماید. اصولاً در مراحل گوناگون آسیب شناسی فراموشی به غیر از ظهور کلافهای نوروفیبریلار و پلاکها، از دست رفتن و کاهش گسترده نورونها و اتصالات سیناپسی از بارزترین تظاهرات هیستوپاتولوژیک هستند (۳). نحوه توزیع این شاخصهای آسیب شناختی در نواحی مختلف مغزی یکسان نیست (۱) و زمان بروز این ضایعات نیز متفاوت است به نحوی که در بیماران جوانتر از دست رفتن نورونها و سیناپسها زودتر از بقیه ظاهر می‌شود (۳) شواهد بسیاری بر این امر دلالت می‌کنند که سلولهای هرمی هیپوکامپ و قشر انتورینال در جریان بیماری آلزایمر به طور اختصاصی صدمه می‌بینند (۵) در این بیماری کلافهای نوروفیبریلار ابتدا در این نواحی ظاهر می‌شوند (۶) و از این ناحیه است که این کلافها به سایر نقاط تسری می‌یابند (۷). در این بین گرفتاری سلولهای CA1 آشکارتر است. حتی در پیشرفته‌ترین مراحل بیماری که نواحی نئوکورتکس نیز گرفتار شده‌اند، بیشترین تراکم آسیبهای بافتی در هیپوکامپ و قشر انتورینال مشاهده می‌شود (۸). بدین ترتیب به نظر می‌رسد پاتولوژی بیماری فراموشی مسیرهای ورودی و خروجی هیپوکامپ را هدف حمله قرار می‌دهد. در حال حاضر دلایل و مکانیسمهای این آسیب پذیری روشن نیست. بر اساس این یافته‌ها تصمیم به اجرای این تحقیق گرفته شد.

یکی از شاخص‌ترین اختلالات در میانجیهای عصبی در بیماری آلزایمر به شکل از میان رفتن این نورونها پدیدار می‌شود (۱۱) جالب اینکه از میان رفتن این ارتباطات نیز به طور همگون در همه نواحی مغز رخ نمی‌دهد و بیشترین و سریعترین نابودی اتصالات کولینرژیک در هیپوکامپ و قشر انتورینال رخ می‌دهد (۱۲). بدین ترتیب به نظر می‌رسد سلولهای کولینرژیک نواحی قاعده‌ای مغز نیز به طرز بارزی نسبت به فرآیند پاتولوژیک آلزایمر آسیب پذیرند. شواهد بسیار مبنی بر اثر تقویتی انسولین بر دستگاه کولینرژیک می‌تواند توجیهی برای اثرهای مشاهده شده در این بررسی باشد.

* نتایج آسیب پذیری اختصاصی

آسیب پذیری شدید و زود هنگام قشر انتورینال باعث ایزوله شدن سریع هیپوکامپ می‌شود (۱۳). بدین ترتیب در این روند هیپوکامپ خیلی زود از دسترسی به اطلاعات راجع به دنیای اطراف محروم می‌شود. از سوی دیگر؛ آسیب به ناحیه CA1 باعث مهار خروج اطلاعات از هیپوکامپ می‌شود. بدین ترتیب یکی از اولین نتایج پاتولوژی آلزایمر اختلال در عملکرد هیپوکامپ است.

بار دیگر با تاکید روی اهمیت هیپوکامپ در روند حافظه می‌توان دریافت که چرا در این بیماری فراموشی از اولین علایمی است که ظهور می‌کند (۱۴).

از سوی دیگر؛ نظر به اهمیت و نقش کلیدی دستگاه کولینرژیک در حافظه (۱۵) اختلال دراین سیستم نیز نتیجه منفی بر روند حافظه در این بیماران دارد. این امر با جبران این اختلالات در صورت تجویز آگونیستهای کولینرژیک به اثبات رسیده است (۱۶).

* کاربردهای درمانی

در حال حاضر با وجود آگاهی از این روند آسیب پذیری اختصاصی هیپوکامپ و ساختمانهای وابسته به آن راهبرد درمانی خاصی مبتنی بر این یافته‌ها ارائه نشده است. البته مانند بسیاری از مسیرهای عصبی ـ قشری میانجی عصبی این مدارات گلوتامات است (۱۷) اما امکان به کارگیری این ترکیب به عنوان یک راه کار درمانی به دلایل چندی میسر نیست. از جمله اینکه این ترکیب با ترکیبات مشابه می‌توانند برای سلولهای عصبی به شدت سمی و خطرناک باشند. لذا به نظر می‌رسد در ارتباط با آسیب‌پذیری بالای هیپوکامپ بهترین راهکار برای محدود نمودن روند از دست رفتن نورونها و سیناپسها باشد؛ راهکاری که تاکنون ارائه نشده است. میزان موفقیت مورد انتظار در راهبردهای درمانی که براساس به کارگیری این یافته‌ها و هدف قرار دادن هیپوکامپ استوار باشد بستگی تام به تشخیص زود هنگام بیماری دارد؛ چرا که این

ساختمانها در روند بیماری اولین قربانیان محسوب می‌شوند.

* نظریه ذخیره ذهنی

این نظریه بیان می‌دارد که علت اختلاف بین آستانه تحمل افراد در ظهور علائم اختلالات مغزی مانند حافظه به میزان تفاوت افراد در میزان و تعداد نورونها و سیناپسهای آنها برمی‌گردد. بر این اساس افرادی که واجد بیشترین تعداد نورونها و بیشترین تراکم سیناپسی هستند مقاومت بیشتری در مقابل عوامل پاتولوژیک ظاهر می‌سازند. بر عکس افرادی که از تعداد کمتری از نورونها و ارتباطات سیناپسی برخوردارند بیشترین آسیب پذیری را داشته و علائم بیماری در آنها زودتر آشکار می‌شود.

این نظریه پیش بینی می‌کند که بیماران مبتلا به آلزایمر با تحصیلات بالاتر به دلیل دارا بودن نورونها و سیناپسهای بیشتر واجد ذخیره ذهنی برتری بوده و در نتیجه بروز علائم در آنها دیرتر خواهد بود، اما پس از ظهور علائم سرعت پیشرفت آنها از افراد مشابه بیشتر خواهد بود. تحقیقات بسیاری از جمله تحقیقات Strong و Maccki این موارد را تائید نموده‌اند (۱۶). نتایج این تحقیق بر اساس این نظریه قابل توجیه است. انسولین با تاثیر محافظتی آشکار خود در گروههای آزمایشی دریافت‌کننده با حفظ این ذخیره ذهنی باعث ممانعت از بروز اختلالات حافظه در مقایسه با گروه شاهد و حامل نمود. در مورد اثر گلی بن کلامید با توجه به بررسیهای Sperlagh و همکارانش (۱۷) مبنی بر اثر اختصاصی مهارکننده‌های کانال پتاسیم بر روی کانالهای آدنوزین که باعث افزایش رها شدن استیل کولین در هیپوکامپ می‌شود و با توجه به اینکه تقویت اثر سیستم کولینرژیک اثر درمانی خفیفی در پیشگیری از اختلالات حافظه دارد قابل توجیه است. از سوی دیگر؛ مطالعات انجام شده توسط Ikeda روی مغز بیماران آلزایمری و اندازه‌گیری همزمان تراکم گیرنده‌های گلی بن کلامید و آنزیم استیل‌کولین‌استراز در نواحی گوناگون از جمله هیپوکامپ نشان داده که کاهش مختصری در گیرنده‌های گلی بن کلامید و کاهش شدید آنزیم استیل کولین استراز رخ داده‌است. تزریق این دارو در این تحقیق شاید این کمبود را جبران نموده است (۱۸). اثر خفیف‌تر گلی بن کلامید نیز در همین راستاتوجیه می‌شود.

References

1. Wickelgren I: Tracking insulin to the mind. Science 1998; 24: 517-519
2. Hoyer S: Intracercebroventricilar administration of streptozotocin causes long term diminution's in learning and memory abilities and in cerebral energy metabolism in adult rats. Behav Neuorosci 1998; 112(5): 1199-1208
3. Kumar K, Boyd F: High resolution PET studies in Alzheimer sdisease. Neuropsychopharmacology 1991; 4: 35-46
4. Craft C, Warner D, Basil W: Enhancement of memory in Alzheimer disease with insulin and somatostatin,but not glucose. Arch Gen Psychiat 1999; 56(12): 1135-1140
5. Baskin D, Gold M: Insulin in the brain. Ann Rev Physiol 1987; 49: 335-347
6. Marighetto F, Damato R, Hill K: Effects of intraseptaly injected glutamergic drugs on hippocampal sodium dependent high affinity choline uptake in native and trained mice. Pharmacol Biochem Behav 1994; 49: 689-699
7. Winocur G, White P: Hippocampal and prefrontal cortex contributions to learning and memory: Analysis of lesion and aging effects on maze learning. Brain Res 1990; 4: 544-551
8. Stefani I, Trajonowski J, Flood A: ATP- sensitive potassium channel blockades enhance spontaneous alternation performance in the rat: A potential mechanism for glucose mediated memory enhancement. Neuroscience 1999; 93(2): 557-563
9. Ashcroft J, Alavi A, Packard M: Adenosine 5-trphosphate sensitive potassium channels. Ann Rev Neurosci 1988; 11: 97-118
10. Wang Z, Richard N, Taylor P: GLUT2 in pancreatic islets: Crucial target molecule in diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in rates. Diabetes 1998; 47(1): 50-56
11. Paxinos J, Basil P: The rat brain in streotaxic coordinates. 2ed Academic press, 1996, pp 82-83
12. Kawab K, Francheschi D: Effects of intrahippocampal AP5 treatment on radial maze performance in rates. Brain Rese 1998; 781: 300-306
13. Messier L, Plassman A, Levin Z: Glucose regulation and cognitive functions: Relation to Alzheimer s disease. Behav Brain Res 1996; 75: 1-11
14. Blanchard J, Bodic A: Effect of combination of insulin, glucose, and scopolamine on radial maze performance. Pharm Biochem Behav 1997; 58(1): 209-214
15. Craft S, Mari ghetto F: Memory improvement following induced hyperinsulinemia in Alzheimer s disease. Neurobiol Aging 1996; 17, No.1: 123-130
16. Strong A, Durkin T, Ikeda M: Insulin protects cognitive function in experimental stroke. J Neurol Neurosurg Psychiat 1990; 53(10): 847-853
17. Sperlagh B, Reyez-Ortiz C: K(ATP) channel

blockers selectively interact with A(1)- adenosine receptor mediated modulation of acetylcholine release in the rat hippocampus. Brain Res 2001; 889(1-2): 63-70
18. Ikeda M, Paxinos J, Ryan G: Differential alterations of ion channel binding sites and occipital regiones of the cerebral cortex in Alzheimer disease. Brain Res 1993; 630(1-2): 50-56
19. Ryan C, Blanchard J, Voll C: effectes of insulin-dependent diabetes on learning and memory efficency in adultes. J Clin Exp Neuropsychol 1993; 15: 685-700