

ارزیابی اثرات حاد و مزمن آلومینیوم بر روی یادگیری و حافظه موش صحرائی

دکتر حجت‌اله علانی^۱، دکتر علی اصغر مشتاقی^۲ و خسرو رضانی^۳

خلاصه

با توجه به نقش آلومینیوم در پیدایش اختلالات عصبی در بیماری‌های مزمن کلیوی، در این پژوهش سعی شده است که اثرات حاد و مزمن آلومینیوم بر روی حافظه و یادگیری موش صحرائی مورد مطالعه قرار گیرد. به منظور بررسی اثرات کوتاه مدت و دراز مدت آلومینیوم بر روی مراحل مختلف یادگیری و حافظه، پس از گروه‌بندی رت‌ها، کلرور آلومینیوم با غلظت‌های ۱ و ۵ و ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در سه دوره زمانی ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز به صورت داخل صفاقی تزریق و از دستگاه Shuttle box برای ارزیابی یادگیری و حافظه استفاده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سطح پلاسمایی آلومینیوم به میزان قابل توجهی افزایش یافته است ولی این عنصر در دوز ۲۰ mg/kg اثرات قابل توجهی بر روی سرعت یادگیری نداشته است. در صورتی که دوزهای ۱ و ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به طور واضح سرعت یادگیری و تثبیت حافظه را کاهش داد که میزان کاهش با مدت و دوز تزریقی رابطه مستقیمی را نشان داد. بیشترین درصد کاهش یادگیری و حافظه در دوز ۱۵ میلی‌گرم در دوره‌های ۳۰ و ۴۵ روزه بوده که به ترتیب ۳۴/۵ و ۵۲/۳ درصد کاهش را نشان داد ($P < 0/05$). تزریق ۲ mg/kg داروی آرکولین، افزایش حدود ۲۵ درصدی یادگیری را سبب شد که در مقایسه با گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0/05$). با توجه به نتایج حاصله از این تحقیق به طور کلی می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که آلومینیوم بر روی اعمال و فعالیت‌های طبیعی سلول‌های عصبی تأثیر گذاشته و باعث یک سری تغییرات در سرعت یادگیری و تثبیت حافظه می‌شود که این تغییرات تابع غلظت و مدت زمانی می‌باشد که سلول‌ها تحت تأثیر این عنصر قرار می‌گیرند.

واژه‌های کلیدی: کلرور آلومینیوم، یادگیری، حافظه، امواج مغزی، موش صحرائی

۱- دانشیار گروه فیزیولوژی، ۲- استاد گروه بیوشیمی، ۳- مربی، گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی اصفهان

مقدمه

از آنجایی که یادگیری و حافظه نقش بسیار اساسی در زندگی روزمره انسان دارند و پایه و مبنای تمام آموزش‌ها و یادگیری‌ها حافظه می‌باشد، شناسایی ترکیباتی که بتوانند تأثیرگذار بر این دو پدیده رفتاری بوده و موجب تغییراتی در آنها گردند، می‌تواند در درمان بیماری‌های کند ذهنی و فراموشی (آلزایمر) مؤثر باشد (۱۰،۲۵).

عنصر آلومینیوم از جمله عناصری است که به علت فراوانی در طبیعت و بعضی اثرات سمی شناخته شده آن بر بعضی فرایندهای متابولیسمی خاص، مورد توجه می‌باشد. در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در زمینه مسمومیت با آلومینیوم صورت گرفته است و اکنون مشخص شده که این فلز در حالت محلول و یونیزه (Al^{3+}) می‌تواند در انسان و به خصوص در بیماران کلیوی ایجاد مسمومیت کند. تجمع یون آلومینیوم (Al^{3+}) در مغز منجر به انسفالوپاتی جدی، هم در افرادی که برای مدت طولانی تحت دیالیز بوده‌اند و هم در مدل‌های حیوانی که این عنصر به آنها تزریق شده است، می‌شود (۲۹).

اگرچه مکانیسم شیمیایی تأثیر آلومینیوم کاملاً شناخته شده نیست ولی در این مورد چندین فرضیه پیشنهاد شده که عمده‌تاً پیدایش تغییرات در نوروترانسمیترهای سیناپس‌های کولینرژیک را مسؤول سمیت و عوارض این فلز می‌دانند (۱۳،۲۲). مطالعات بافت‌شناسی و بیوشیمیایی کاهش چشمگیری در فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز توسط آلومینیوم را در مغز بیماران با دمانس مغزی از نوع آلزایمر (SDAT=Senile dementia of the Alzheimer type) در مقایسه با نمونه‌های کنترل نشان می‌دهد (۱۳). این مطلب به خوبی روشن شده است که میزان این کاهش در فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز (Ach.E) با شدت بیماری در هنگام مرگ بیمار کاملاً در ارتباط است (۸). این نکته قابل توجه است که در این بیماران بسیاری از سلول‌هایی که در نواحی مختلف مغز قرار دارند، دچار تغییرات پاتولوژیک می‌شوند. این تغییرات شامل پیدایش و ایجاد یک سری پلاکت‌های محتوی آنزیم استیل‌کولین استراز در این محل‌ها می‌باشد (۱۵). با توجه به این یافته‌ها پیشنهاد شده که بیماری آلزایمر در افراد مسموم با آلومینیوم با تغییرات غیرطبیعی یک سری سلول‌ها که حاوی آنزیم Ach.E می‌باشند، در ارتباط بوده به طوری که بعضی از محققین کاهش عمده‌ای را در فعالیت این آنزیم در بیماران با SDAT گزارش کرده‌اند (۴،۲۸). هر چند که عده‌ای دیگر از دانشمندان گزارش کرده‌اند که متعاقب مصرف نیترات آلومینیوم تغییرات قابل

توجهی در فعالیت آنزیم صورت نگرفته است و یا همراه با مصرف آن، کاهش در یادگیری‌های غیرفعال در رت‌های جوان و مسن ایجاد نشده است (۶،۲۵). با توجه به شناخته شدن آلومینیوم به عنوان یکی از عوامل ایجاد کننده بیماری آلزایمر (۵)، ضمن نامعلوم بودن مکانیزم آن، نوع فراموشی‌های ایجاد شده نیز مشخص نشده است. لذا در این پژوهش سعی شده رابطه طول دوره مصرف و غلظت آن با اختلالات ایجاد شده در یادگیری و حافظه تعیین و این اختلالات با اثرات داروی آرکولین که افزایش دهنده فعالیت سیستم کولینرژیک بوده و تأثیرات گوناگونی بر روی حافظه کوتاه مدت دارد، مقایسه شود (۱۹،۲۷). به علاوه با توجه به تغییرات امواج مغزی در بیماران آلزایمر، سعی شده نوع این تغییرات نیز پس از مصرف آلومینیوم مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش تحقیق

داروها: کلرور آلومینیوم - آرکولین - یوربتان: تهیه شده از شرکت سیگما

روش آزمایش: روش یادگیری و حافظه در مقالات قبلی به طور کامل بحث شده است (۲) و در این تحقیق به طور خلاصه و گویا اشاره می‌شود:

ابتدا رت‌های نریا وزن تقریبی ۲۱۰-۱۹۰ گرم از نژاد Wistar را به دسته‌های ۵ تایی تقسیم کرده و یک دسته را به عنوان شاهد منظور نموده و برای هر دوز دارو یک گروه ۵ تایی انتخاب شد و پس از آنکه میزان غذا و آب آنها مشخص شد، جهت آزمایش آماده شدند. لازم به ذکر است که از بین رت‌ها در سنین پایین تعداد ۱۲۰ عدد برگزیده شدند و به مدت ۴ ماه تحت رژیم غذایی مشخص قرار داده شدند (غذای ساخته شده از مؤسسه رازی که حاوی حیویات می‌باشد). از بین اینها تعداد نمونه‌های مورد نظر به طور تصادفی انتخاب و آزمایشات زیر بر روی آنها انجام گردید:

۱- آموزش قبل از یادگیری (Prelearning): آموزش سنجش یادگیری همان یادگیری اجتنابی فعال یک طرفه (One way active avoidance learning) می‌باشد. برای ارزیابی اثرات حاد کلرور آلومینیوم و آرکولین بر روی سرعت یادگیری، ۲۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش آرکولین با دوزهای ۱، ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد (۷، ۱۶، ۲۳) و آزمایشات برای هر گروه سه روز متوالی انجام گردید و هر روز هر رت دو مرتبه و هر مرتبه ۱۰ بار تحت آموزش قرار گرفت. اندازه‌گیری با دستگاه شائل باکس انجام شد که با

به سطح سخت شامه برسند. سوراخ دیگری برای الکتروود رفرنس در ناحیه اکسی پیتال ایجاد شد. رت‌ها پس از به هوش آمدن و بهبودی جهت آزمایش آماده شدند. هر سه الکتروود توسط کابل رابط به تقویت کننده فیزیوگراف مورد استفاده (HP 7798A) وصل شدند. خروجی تقویت کننده توسط ثباتی بر روی کاغذهای شطرنجی قابل ثبت است. از طرفی این خروجی پس از تقویت به کامپیوتر منتقل گردید. در کامپیوتر تغییرات پتانسیل الکتریکی دو الکتروود دریافت شده در حوزه زمان، تبدیل به رشته‌های عددی شده و بر روی این رشته‌ها پردازش‌های دیجیتال از جمله تبدیل فوریه سریع (Fast Fourier Transformation) انجام شد که نتیجه آن رسم منحنی هیستوگرام توان سیگنال نسبت به فرکانس است. برای بررسی اثر داروهای مختلف، دارو با میزان مشخص در داخل صفاق تزریق گردید و بعد از تزریق، بیست دقیقه سیگنال مورد ارزیابی قرار گرفت. در اول هر آزمایش، برای هر رت مدت ۲۰ دقیقه پس از تجویز سرم فیزیولوژی در داخل صفاق به عنوان کنترل منظور شد که تأثیر دارو با آن مقایسه گردید (۱).

نتایج

الف) یادگیری و حافظه

تجویز داخل صفاقی کلرور آلومینیوم به طور کلی باعث کاهش سرعت یادگیری و تضعیف حافظه شد. این تغییرات نسبت به طول دوره و غلظت‌های مختلف یون آلومینیوم متفاوت بود، به طوری که سرعت یادگیری (یادگیری قبل از آموزش) در یک دوره ۳۰ روزه با دوزهای ۱ و ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کاهش قابل قبولی را نشان نداد. ولیکن تجویز کلرور آلومینیوم با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در تمام دوره‌های مختلف (۳۰، ۴۵ و ۶۰ روزه) اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$) که شدت این کاهش در سرعت یادگیری به طول دوره مصرف بستگی داشت (جدول ۱). همچنین حافظه کوتاه مدت و دراز مدت با تجویز کلرور آلومینیوم تضعیف شدند. این موضوع در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده که دوزهای کاربردی در دوره‌های متفاوت موجب تخریب حافظه شد. دوز ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن یون آلومینیوم به طور قابل قبولی حافظه کوتاه مدت و دراز مدت را تضعیف کرد. در یک دوره ۶۰ روزه حافظه بلند مدت بطور قابل توجهی تخریب شده و یادآوری اطلاعات اندوخته شده برای رت‌ها در دوزهای ۲۰ و ۱۰ میلی‌گرم تقریباً محال بوده است به طوری که در این دوزها بیشترین تعداد شوک‌ها را دریافت داشته‌اند و همین طور که اشاره

تعداد شوک‌های دریافتی توسط هر رت محاسبه می‌گردد.

جهت ارزیابی اثرات مزمن کلرور آلومینیوم بر روی سرعت یادگیری و حافظه، پس از گروه‌بندی رت‌ها در گروه‌های ۵ تا ۱۰ دوزهای ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کلرور آلومینیوم در ۳ دوره (۳۰، ۴۵ و ۶۰ روزه تجویز شد. به این ترتیب که رت‌ها در گروه‌های مربوطه هر روز دوزهای مورد اشاره را تا قبل از شروع آزمایش دریافت می‌داشتند (برای مثال دوره ۶۰ روزه یعنی ۶۰ روز دارو دریافت داشته و سپس آزمایش انجام می‌شد). در این قسمت آزمایشات در سه مرحله انجام شد: الف) آموزش قبل از یادگیری (Prelearning): در هر گروه پس از اتمام دریافت دارو در مدت مورد نظر (مثلاً ۴ گروه پس از ۳۰ روز)، آزمایش به همان طریق که اشاره شد، انجام گردید و تعداد شوک‌های دریافتی محاسبه شدند.

ب) حافظه کوتاه مدت (Short term memory): ۷ روز پس از اتمام یادگیری، رت‌های همان گروه‌ها مجدداً توسط دستگاه شاتل باکس مورد آزمایش قرار گرفتند. مدت آزمایش ۳ روز به طول انجامید و هر روز ۲ مرتبه و هر مرتبه ۱۰ بار آزمایش انجام شد.

ج) حافظه بلند مدت (Long term memory): ۲۱ روز پس از اتمام یادگیری، مجدداً همان رت‌ها در همان ۳ دوره با دوزهای اشاره شده به همان روش و با استفاده از دستگاه شاتل باکس مورد آزمایش قرار گرفتند.

روش‌های آماری

برای انجام محاسبات آماری برای یادگیری و حافظه از آزمون آماری t (t-student) و برای مقایسه اثرات آرکولین با آلومینیوم از تحلیل پراش (ANOVA) و برای ارزیابی امواج مغزی از آزمون t -زوج (Paired t-test) استفاده شد.

روش الکتروفیزیولوژیک: در این حالت تعداد ۸ رت را با 50 mg/kg تیوپتال بی‌هوش نموده به طوری که به عکس‌العمل عقب کشیدن پا (Withdrawal reflex) جواب ندهند. سپس شکافی در طول خط وسط روی پوست ایجاد شده و با کمک تیغ بیستوری روی جمجمه را تراشیده تا کاملاً ضریع برداشته شود. پس از ضدعفونی کردن آن، توسط مته دستی دو سوراخ در نواحی parietal (به مختصات $L=1/8, DV=2, AP=-3/5$) و Frontal ($L=3/8, DV=2, AP=+0/9$) ایجاد شد. این نقاط جایگاه sensory motor در رت هستند. در این سوراخ‌ها الکتروودهای نقره‌ای با پوشش مخصوص از جنس Nonpolarizing کار گذاشته می‌شد. عمق سوراخ‌های ایجاد شده به اندازه‌ای بود که الکتروودها

۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تغییرات برجسته‌ای را بر روی سرعت یادگیری نشان نداد، هر چند که در دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم کاهش یادگیری را نشان می‌دهد ولی این اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد (نمودار ۱). در صورتی که تجویز آرکولین که یک آگونیست گیرنده‌های

شد هر چه دریافت تعداد شوک‌ها بیشتر گردید، تضعیف حافظه بیشتر بود. به خاطر آوری دریافت شوک‌ها بعد از ۲۱ روز با تجویز ۱۰ میلی‌گرم آلومینیوم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در یک دوره ۴۵ روزه نیز کاملاً مختل شد ($P < 0.05$) (جدول ۳). تجویز داخل صفاقی حاد کلرور آلومینیوم در غلظت‌های ۱،

جدول ۱: اثرات مزمن آلومینیوم کلراید بر روی یادگیری قبل از آموزش

(Prelearning) در دوره‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روزه

طول دوره (روز)	نام دارو	غلظت (mg/kg)	میانگین تعداد شوک‌های دریافتی انحراف معیار
۳۰	آلومینیوم	۰/۲cc	۶/۵ ± ۱/۱
		۱	۵/۴ ± ۲
		۵	۱۰/۳ ± ۱/۲
		۱۰	۱۲/۳ ± ۳/۱*
۴۵	آلومینیوم	۰/۲cc	۷/۲ ± ۲/۳
		۱	۶/۸ ± ۲/۱
		۵	۱۸/۱ ± ۲/۴*
		۱۰	۲۱/۳ ± ۱/۸*
۶۰	آلومینیوم	۰/۲cc	۵/۹ ± ۱/۹
		۱	۶/۷ ± ۲/۱
		۵	۱۸/۸ ± ۱/۸*
		۱۰	۲۳ ± ۲/۳*
		۲۰	۲۴ ± ۲/۱*

تعداد رت‌ها N=۵

* $P < 0.05$

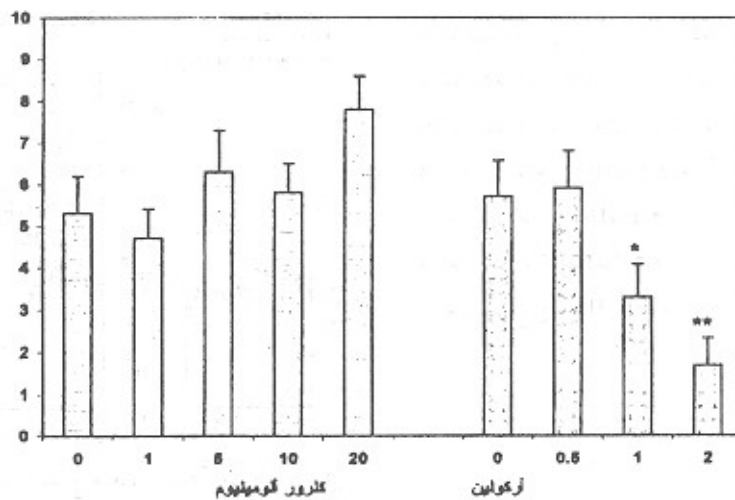
طبق این جدول کلرور آلومینیوم در دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به طور محسوس سرعت یادگیری را نسبت به گروه کنترل کاهش داده است و یادگیری با طول دوره تجویز رابطه معکوس دارد.

جدول ۲: اثرات مزمن آلومینیم کلراید بر روی حافظه کوتاه مدت (۷ روز پس از یادگیری) در دوره‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روزه

طول دوره (روز)	نام دارو	غلظت (mg/kg)	میانگین تعداد شوک‌های دریافتی انحراف معیار
۳۰	سرم فیزیولوژی آلومینیم	۰/۲cc	۳/۴ ± ۱/۱
		۱	۳/۷ ± ۱/۹
		۵	۶/۹ ± ۲/۱ ^o
		۱۰	۹/۳ ± ۲/۱ ^o
		۲۰	۱۰/۴ ± ۳/۱ ^c
۴۵	سرم فیزیولوژی آلومینیم	۰/۲cc	۳/۵ ± ۲/۱۷
		۱	۳/۱۶ ± ۱/۹
		۵	۷/۳ ± ۲/۴ ^o
		۱۰	۱۴/۵ ± ۱/۸ ^{oo}
		۲۰	۱۵/۶ ± ۲/۳ ^{oo}
۶۰	سرم فیزیولوژی آلومینیم	۰/۲cc	۴/۱ ± ۱/۸
		۱	۵/۳ ± ۲/۱
		۵	۷/۶ ± ۱/۹ ^o
		۱۰	۱۶/۱ ± ۲/۱ ^{oo}
		۲۰	۲۰/۳ ± ۱/۴ ^{oo}

تعداد رت‌ها N=۵ * P<۰/۰۵ ** P<۰/۰۱

طبق این جدول حافظه کوتاه مدت در هر سه دوره زمانی با مصرف کلرور آلومینیم کاهش داشته است که با افزایش دوز مصرفی این کاهش بیشتر می‌شود.



نمودار ۱: اثرات حاد کلرور آلومینیم و آرکولین بر یادگیری

در این نمودار دوزهای ۱ و ۲ میلی‌گرم آرکولین به طور معنی‌داری یادگیری را افزایش داده است. * P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱، N=۵

جدول ۳: اثرات مزمن آلومینیوم کلراید بر روی حافظه بلند مدت (۲۱ روز پس از یادگیری) در دوره‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روزه

طول دوره (روز)	نام دارو	غلظت (mg/kg)	میانگین تعداد شوک‌های دریافتی ± انحراف معیار
۳۰	آلومینیوم	۰/۲cc	۵/۸ ± ۱/۱
		۱	۴/۱ ± ۱/۲
		۵	۶/۴ ± ۲/۱
		۱۰	۹/۹ ± ۲/۳*
		۲۰	۱۲/۸ ± ۱/۹*
۴۵	آلومینیوم	۰/۲cc	۵/۳ ± ۲/۱
		۱	۶/۲ ± ۱/۹
		۵	۱۰/۸ ± ۱/۳*
		۱۰	۱۴/۱ ± ۲/۳*
		۲۰	۱۳/۱ ± ۱/۸**
۶۰	آلومینیوم	۰/۲cc	۴/۹ ± ۱/۳
		۱	۶/۷ ± ۱/۴
		۵	۹/۸ ± ۲/۳*
		۱۰	۱۵/۴ ± ۱/۸*
		۲۰	۱۸/۵ ± ۲/۱**

** P < ۰/۰۱

* P < ۰/۰۵

تعداد رت‌ها N=۵

مصرف کلرور آلومینیوم باعث تضعیف حافظه بلند مدت می‌شود و این تضعیف به طول دوره و افزایش دوز مصرفی بستگی دارد.

طبق این نمودار فرکانس امواج آلفا و بتا در دقیقه بیستم پس از تزریق آلومینیوم کاهش داشته است

که بیانگر کاهش سطح هوشیاری رت‌ها می‌باشد.

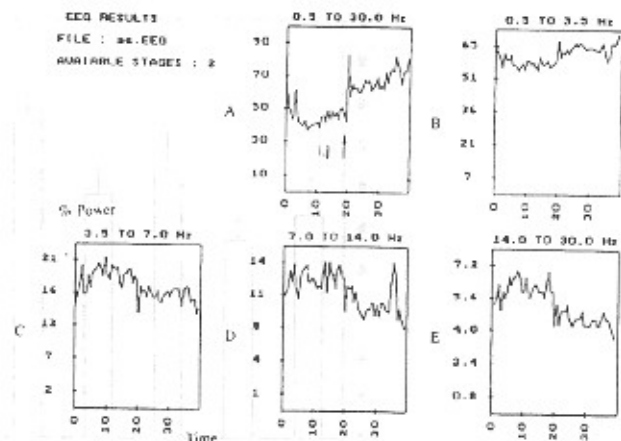
A: توان نسبی تمام امواج مغزی را نشان می‌دهد (۰/۵-۳۰Hz)

B: توان نسبی امواج دلتا (۰/۵-۳/۵Hz)

C: توان نسبی امواج تتا (۳/۵-۷Hz)

D: توان نسبی امواج آلفا (۷-۱۴Hz)

E: توان نسبی امواج بتا (۱۴-۳۰Hz)



نمودار ۲: توان نسبی میانگین امواج مغزی رت‌ها پس از تزریق آلومینیوم

اختلالات متعدد رفتاری از جمله فراموشی وجود دارد (۱۴). با توجه به نتایج به دست آمده در این پروژه و با استفاده از دانسته‌های موجود می‌توان چنین نتیجه گیری کرد که علت سمیت این فلز بر روی سیستم اعصاب، یادگیری، حافظه، EEG و بیماری آلزایمر عمدتاً پیدایش تغییرات در نوروترانسمیترهای سیناپس‌های کولینرژیک می‌باشد (۱۳). در تأیید این مطلب محققین ثابت کرده‌اند که در ساکنان نواحی Guam که آب آشامیدنی آنها غلظت بالایی از آلومینیم و غلظت پایینی از کلسیم و منیزیم را دارا می‌باشد، بیماری آلزایمر بیشتر دیده می‌شود (۱۷). البته نباید از نظر دور داشت که به دنبال تأثیر قرار گرفتن حیوان با آلومینیم، علاوه بر اینکه فعالیت آنزیم Ach.E در سه ناحیه مغزی (مخچه - مغز میانی و قشر مغز) کاهش می‌یابد، دوز مزمن این ترکیب می‌تواند فعالیت و میزان کاتکول آمین‌های نواحی مختلف مغز را تحت الشعاع قرار داده و میزان این کاتکول آمین‌ها (دوپامین - نوراپی نفرین و اپی نفرین و سروتونین) هم در گروه تحت تزریق با آلومینیم دچار کاهش می‌گردند (۶).

مکانیزم احتمالی که برای اثر آلومینیم بر روی حافظه مطرح شده است، به طور خلاصه عبارت است از اینکه بالا رفتن غلظت آلومینیم در بافت‌های مغزی در رقابت با یون‌های منیزیم در ترکیب شدن با متالو آنزیم‌ها، باعث آلومینیزه شدن این آنزیم‌ها شده که از فعالیت آنها می‌کاهد که نهایتاً عامل محدود کننده سنتز کاتکول آمین‌ها در مغز افزایش پیدا می‌کند و این امر مانع از اندوخته کردن اطلاعات در مغز می‌شود (۱۸،۳۰).

در این تحقیق تزریق حاد آلومینیم تغییرات قابل توجهی در سرعت یادگیری ایجاد نمود در صورتی که تجویز حاد آرکولین که یک آگونیست سیستم کولینرژیک می‌باشد، تغییرات قابل قبولی را در یادگیری به وجود آورد (۲۰). محققان دیگر اثرات حاد آرکولین بر یادگیری و حافظه را تأیید نموده‌اند. Raffaele و همکارانش نشان دادند که تزریق دوزهای پایین آرکولین اثرات مثبتی بر بهبودی بیماری آلزایمر داشته است (۲۰). دیگران گزارش کرده‌اند که تزریق حاد آرکولین در رت‌ها و میمون‌ها، تخریب حافظه و یادگیری ناشی از اسکوپلامین را اصلاح نموده و سرعت یادگیری را افزایش داده است (۳،۱۱). اکثراً معتقدند که اثرات حاد آرکولین مربوط به تأثیر بر روی گیرنده‌های موسکارتینی کولینرژیک می‌باشد و با تأثیر بر این گیرنده‌ها در هسته‌های قاعده‌ای پیشانی اختلال در حافظه کوتاه مدت را متوقف نموده و موجب بهبودی در یادگیری می‌شود (۱۱،۱۶). هر چند Shannon و همکارانش نشان دادند که آرکولین با کاهش پاسخ‌های اجتنابی در آزمایش Foot Shock همانند ترکیبات

سیستم کولینرژیک می‌باشد، تغییرات قابل قبولی را در سرعت یادگیری به وجود آورده است. سرعت یادگیری پس از تجویز آرکولین با غلظت ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بطور محسوسی افزایش داشته است، به عبارتی تعداد شوک‌های دریافتی توسط رت‌ها برای خروج از محفظه تاریک بسیار کم بوده که از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$).

ب) ثبت EEG

برای پیدا کردن ارتباط تغییرات به وجود آمده در امواج مغزی بعد از تجویز مزمن آلومینیم در یک دوره ۶۰ روزه، پس از ثبت امواج مغزی و مقایسه آنها با گروه‌های کنترل مشخص شد که به طور قابل قبولی توان کلی امواج مغزی افزایش داشته است. فرکانس‌های امواج α و β به شدت کاهش داشته در صورتی که امواج آهسته و کم فرکانس (γ) افزایش نشان می‌دهد (نمودار ۲). افزایش فرکانس امواج γ در حالت هوشیاری بیانگر یک نوع کندذهنی و تخریب حافظه می‌باشد.

بحث و نتیجه گیری

در تحقیقات اخیر نشان داده شده که عنصر آلومینیم در انسان و همچنین حیوان موجب تغییراتی در سرعت یادگیری و حافظه می‌گردد که این تغییرات با اختلال در امواج مغزی و خلق و خو و دیگر اختلالات رفتاری همراه است (۹،۱۲،۲۱). بعضی از محققین گزارش کرده‌اند که با وجود این که جزئیات نظاهرات پاتولوژیک در بیماران آلزایمر با علایم پاتولوژیک در انسفالوپاتی دیالیزی اختلافاتی دارد ولی نقش ایجاد یون آلومینیمیومی Al^{3+} در بیماری آلزایمر قطعی و محقق می‌باشد (۸،۱۳). مطالعات بیوشیمیایی اخیر اندازه گیری فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در CSF را یک فاکتور تشخیصی برای بیماری آلزایمر پیشنهاد می‌کند. کاهش یافتن فعالیت آنزیم Ach.E در CSF این بیماران شاید منعکس کننده یک نقص در سیستم کولینرژیک باشد (۲۶).

در پژوهش حاضر اثرات حاد و مزمن یون آلومینیم بر روی مراحل مختلف حافظه و یادگیری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که فعالیت حافظه و یادگیری به دنبال تحت تأثیر قرار گرفتن دراز مدت حیوان با آلومینیم کاهش چشمگیری داشته است (جدول‌های ۳،۲،۱). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج به دست آمده توسط Kilburn مطابقت دارد. وی تعدادی از مردان و زنانی را که در معرض آلومینیم قرار داشته‌اند، مورد آزمایش قرار داده و نشان داد که در اکثر آنها

تثبیت حافظه، بالا بودن سطح هوشیاری می باشد که این موضوع با مصرف آلومینیم کاهش پیدا می کند.

نتیجه گیری کلی: آلومینیم عنصری است که می تواند اثرات سمی بر روی سیستم اعصاب مرکزی (CNS) داشته باشد. یون آلومینیم به طور جدی می تواند هم باعث کاهش یادگیری و هم باعث تضعیف حافظه در دراز مدت شود و با کم کردن سطح هوشیاری، حیوان را به سمت خواب میل دهد و نظر به اینکه آرکولین (آگونیست سیستم کولینرژیک) در کوتاه مدت سرعت یادگیری را افزایش داده ولی یون آلومینیم اثرات قابل توجهی را نشان نداد، احتمالاً تأثیر آلومینیم از طریق تغییر اساسی در ساختمان آنزیم ها به خصوص Ach.E و نهایتاً میانجی های عصبی در مغز می باشد.

مربوط به سیستم دوپامینرژیک عمل کرده است. لذا تزریق حاد آلومینیم بر یادگیری بی تأثیر بوده و احتمالاً تأثیراتش از طریق این گیرنده ها نیست و ممکن است در دراز مدت با اثر بر آنزیم های مربوطه ایجاد کند ذهنی نماید (۲۴)، تحقیقات بیشتری ضرورت دارد تا مکانیسم اثر حاد آلومینیم بر یادگیری مشخص شود.

ارزیابی امواج مغزی روشی است که به تشخیص ارتباط امواج مغزی و تغییرات در حافظه کمک می کند (۲۱). آلومینیم درصد امواج کم فرکانس را به شدت افزایش می دهد که بیانگر آرامش و کندذهنی در رت ها می باشد (نمودار ۲). آلومینیم در دوز ۱۰mg/kg در حالت هوشیاری باعث کاهش شدید سطح هوشیاری شده به طوری که امواج دلتا که بیانگر افزایش خواب آلودگی است، افزایش داده شده است. لازمه امر یادگیری و

Summary

Determination of the Acute and Persistent Effects of Aluminium on Memory and Learning Abilities of Rat
H. Alaei, PhD¹, AA. Moshtaghy, PhD², and Kh. Rezaie, MSc³.

1. Associate Professor of Physiology, 2. Professor of Biochemistry, 3. Instructor of Physiology, Isfahan University of Medical Sciences and Health Services, Isfahan, Iran

In regard to the role of Aluminium in the emergence of psychological disorders in patients with chronic kidney diseases, this research project studied the acute, and chronic effects of alluminium on memory and learning abilities of rat. In order to determine the short and long term effects of alluminium on different stages of memory and learning abilitis, after grouping the rats Alluminium chloride with concentrations of 1mg, 5mg, 10mg and 20mg was used per kg of body weight. The alluminium was given by intraperitoneal injection during 3 phases of 30 days, 60 days and 90 days and following this a shuttle box was used to evaluate its effects on memory and learning abilities. The results indicated that plasma level of alluminium was significantly increased, however Alluminium at 90 mg/kg had no significant effect on the rat's ability of learning. However doeses of 1, 5, 10 mg/kg clearly had a significant inhibitory effect on memory and learning abilities. This inhibitory effect had a direct correlation with the duration and dose of the alluminium injection. The highest inhibitory effect on memory and learning abilities was achieved at 15mg/kg dose at 30 and 45 days, which was 34.5 and 52.3% respectively (P<0.05). Injection of 2mg/kg of arecholine caused an increase of 25% in learning abilitis and was statistically significant in comparison to the control group (P<0.05). It can be concluded from this study that alluminium have an inhibitory effect on metabolism of nerve cells, and induces alterations on memory level and rat's learning ability, these changes completly depended on the concentration and duration of exposure to alluminium.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2001; 8(3): 137-146

Key Words: Al³⁺, Memory, Learning, EEG, Rat

منابع

۱. علانی، حجت‌اله و کمکی، علیرضا: ارزیابی اثرات داروهای کوئین پیرول و سولپیرید بر روی امواج خودبخودی مغز در دو حالت هوشیاری و بیهوشی. مجله دانشکده پزشکی تهران، ۱۳۷۷، شماره ۳، ص ۸-۱.
۲. علانی، حجت‌اله و ملک‌احمدی، مصطفی: ارزیابی آثار مرکزی سیستم کلی‌نرژیک. مجله پژوهشی دانشگاه اصفهان (علوم پایه) ۱۳۷۵، سال هفتم، شماره‌های ۱ و ۲، ص ۱۳۲-۱۱۷.
3. Bratt AM, Kelly ME, Domeney AM, Naylor RJ and Costall B. Acute and chronic arecoline: Effects on a scopolamine-induced deficit in complex maze learning. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 53(3): 713-721.
4. Cestari V, Castellano C, Cabib S and Puglisi Allegra S. Strain-dependent effects of post-training dopamine receptor agonists and antagonists on memory storage in mice. *Behav Neural Biol* 1992; 58(1): 58-63.
5. Cowbum JD and Blair JA. Effect of Aluminium on *in vitro* BH₄ synthesis in brain preparations. *Lancet* 1987; 2(8550): 105-110.
6. Domingo JL, Lorens J, Sanchez DJ, Gomez M, Liobet JM and Corbella J. Age - related effects of aluminium ingestion on brain aluminium accumulation and behavior in rats. *Life Sci* 1996; 58(17): 1387-1395.
7. Gillin JC, Sutton L, Ruiz C, et al. The cholinergic rapid eye movement induction test with arecoline in depression. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48(3): 264-270.
8. Greenfield S. Acetylcholin-esterase may have novel functions in the brain. *Trends Neurosci* 1984; 7: 364-368.
9. Guo G, Ma H, Wang X and He Y. Relationship between health status and work ability among elderly Al³⁺ exposed workers. *Wei Sheng Yan Jiu* 1998; 27(4): 217-219.
10. Guyton AC and Hall JE. Text book of medical physiology. 9th ed., Philadelphia, W.B. Saunders, Co., 1996; p1495.
11. Hironaka N and Ando K. Effects of cholinergic drugs on scopolamine-induced memory impairment in rhesus monkeys. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 1996; 16(3): 103-108.
12. Hosovski E, Mastelica Z, Sunderic D and Radulovic D. Mental abilities of workers exposed to aluminium. *Med Lav* 1990; 81(2): 119-123.
13. Julka D, Sandhir R and Gill KD. Altered cholinergic metabolism in rat CNS following aluminium exposure: implications on learning performance. *J Neurochem* 1995; 65(5): 2157-2164.
14. Kilburn KH and Warshaw RH. Neurobehavioral testing of subjects exposed residentially to groundwater contaminated from an aluminum die-casting plant and local referents. *J Toxicol Environ Health* 1993; 39(4): 483-496.
15. Lalonde R and Vikis Freibergs V. Manipulations of 5-HT activity and Memory in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1985; 22(3): 377-382.
16. Leanza G, Muir J, Nilsson OG, Wiley RG, Dunnett SB and Bjorklund A. Selective immunolesioning of the basal forebrain cholinergic system disrupts short-term memory in rats. *Eur J Neurosci* 1996; 8(7): 1535-1544.
17. Ludwic M and Michael W. Uptake and distribution of Al in rat hepatocytes and effect of enzyme leakage and lactate formation. *Toxicology* 1987; 44(2):

- 203-214.
18. Mc Lachlan DRC, Kruck TP, Lukiw WJ and Krishnan SS. Would decreased aluminum ingestion reduce the incidence of Alzheimer's disease? *Can Med Assoc J* 1991; 145(7): 793-804.
 19. Meltzer LT and Rosecrans JA. Nicotine and arecoline as discriminative stimuli involvement of a non-cholinergic mechanisms for nicotine. *Pharmacol Biochem Behave* 1988; 29(3): 587-593.
 20. Raffaele KC, Asthana S, Berardi A, et al. Differential response to the cholinergic agonist arecoline among different cognitive modalities in Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology* 1996; 15(2): 163-170.
 21. Rihimaki V, Hanninen H, Akila R, et al. Body burden of aluminum in relation to central nervous system function among metal inert-gas welders. *Scand J Work Environ Health* 2000; 26(2): 118-130.
 22. Schumacher M, Cupmp S and Maulety Y. Biochemistry of nicotinic receptors. *Nature* 1986; 27: 319-404.
 23. Sen AP and Bhattacharya SK. Effect of selective muscarinic receptor agonists and antagonists on active-avoidance learning acquisition in rat. *Indian J Exp Biol* 1991; 29(2): 136-139.
 24. Shannon HE, Heart GC, Bymaster FP, Calligaro BO and Sheardon MG. Muscarinic receptor agonists, lack dopamin receptors antagonist antipsychotics, inhibit conditioned avoidance response in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290(2): 901-907.
 25. Soininen H, Halonen T and Riekkinen P. Acetyl- cholinesterase E Activities in cerebrospinal fluid of patients with senile dementia of Alzheimer type. *Acta Neurol Scand* 1981; 64(3): 217-224.
 26. Soncrant TT, Holloway HW Greig NH and Rapoport SI. Regional brain metabolic responsivity to the muscarinic cholinergic agonist arecoline is similar in young and aged fischer-344 rats. *Brain Res* 1993; 487(2): 255-266.
 27. Tariot PN, Cohen RM, Welkowitz JA, et al. Multiple - dose arecoline infusions in Alzheimer's disease. *Arch Gen Psychiatry* 1988; 45(10): 901-905.
 28. White NM, Packard MG and Hiroi N. Place conditioning with dopamine D₁ and D₂ agonists injected peripheraly or into nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 1991; 103(2): 271-276.
 29. Yang H, Zheng Y and Liang Y. Effects of aluminium on neurobehaviorl function and metabolism of monoamine neurotransmitter. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 1998; 32(2): 82-84.
 30. Yokel RA, Allen DD and Meyer JJ. Studies of aluminum neurobehavioral toxicity in the intact mammal. *Cell Mol Neurobiol* 1994; 14(6): 791-808.