مجلـــه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۳، شماره‌ی ۱۰۰، آذر و دی ۱۳۹۴، صفحات ۲۲ تا ۳۵

# مطالعه اثرات محافظتی کاپتوپریل و والزارتان بر عملکرد حافظه و بیان ژن فاکتور BDNF مغز در مدل تجربی آلزایمر در موش صحرایی

یاسمن ارجمند عباسی[۱]، دکتر محمدتقی محمدی[۲]، دکتر اکرم عیدی[۳]

**نویسنده‌ی مسوول:** تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک Mohammadi.mohammadt@yahoo.com

دریافت: ۹۳/۸/۲۹ پذیرش: ۹۳/۱۱/۲۰

## چکیده

***زمینه و هدف:*** *مهارکننده‌های AT1 و ACE، به‌عنوان کاهنده فشار خون، سبب بهبود حافظه در افراد سالمند با پرفشاری شریانی و مستعد بیماری آلزایمر می‌شوند. بنابراین، مطالعه‌ی حاضر در نظر داشت اثرات مصرف خـوراکی داروی کاپتوپریـل و والزارتـان بـر عملکـرد حافظـه و بیـان ژن BDNF مغز در مدل آزمایشگاهی آلزایمر در موش صحرایی را مورد ارزیابی قرار دهد.*

***روش بررسی:*** *۴۰ سر موش نر نژاد ویستار به ۵ گروه تقسیم شدند: کنترل، وهیکل، آلزایمر، گروه‌هـای درمـانی کاپتوپریـل و والزارتـان. بیمـاری آلزایمر در گروه‌های آلزایمر و درمان با تزریق استرپتوزوتوسین (۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) به‌صورت دوطرفه و داخل بطنی مغز در روزهـای اول و سوم انجام شد. گروه‌های درمان، کاپتوپریل (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و والزارتان (۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به‌صورت دهانی دریافت نمودند. در پایان عملکرد حافظه با روش T-Maze و بیان ژن BDNF با روش RT-PCR ارزیابی شـد. نهایتـا، آسـیب‌هـای هیـستوپاتولوژیکی بـا روش رنگ‌آمیزی H&E و تولوئیدین بلو بررسی گردید.*

***نتایج:*** *زمان تاخیر و تعداد خطاها برای یافتن غذا به‌ترتیب برای گروه کنترل ۱۵/۵±۳۷/۴ ثانیه و ۱/۲±۱۱/۸ بود که القاء آلزایمر به‌طور معنـی‌داری آن‌ها را افزایش داد (۵۷/۹±۲۱۶/۲ثانیه و ۲/۹±۱۶/۲). آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی (نورون‌های نکروز شـده و واکئولیزاسـیون بـافتی) بـه همـراه کاهش ژن BDNF بطور واضحی در حیوانات گروه آلزایمر مشاهده شد. کاپتوپریل و والزارتان در گروه‌های درمـان سـبب کـاهش زمـان تـاخیر (۴۶ و ۸۶ درصد) و تعداد خطاها (۳۱ و ۴۳ درصد) همراه بهبود آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی و افزایش mRNA ژن BDNF گردید.*

***نتیجه‌گیری:*** *یافته‌های ما نشان می‌دهند مهار سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی عملکـرد حافظـه و آسـیب نـورونی در بیمـاری آلزایمـر را بهبـود می‌بخشد. به نظر می‌رسد فعال شدن این سیستم بیان ژن BDNF را مهار می‌کند.*

***واژگان کلیدی:*** ***سیستم رنین-آنژیوتانسین، کاپتوپریل، والزارتان، BDNF، بیماری آلزایمر***

## مقدمه

بیماری آلزایمر شایع‌ترین نوع زوال عقل در سـنین پیـری بوده و به‌دلیل افزایش سن جمعیت جهانی به سـرعت تبـدیل به‌یک چالش بزرگ در سلامت عمومی شده است (۳-۱). پس از یک دهه مطالعات، در حال حاضر اعتقاد بر این اسـت کـه

---

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران

۲- دکترای تخصصی فیزیولوژی پزشکی، دانشیار گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران

۳- دکترای فیزیولوژی، دانشیار گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران

فرم‌های اولیگومری محلول پروتئین بتاآمیلوئید القا کننده‌ی آبشارهای مخربی هستند که در پاتوفیزیولوژی بیماری آلزایمر دخیل می‌باشند (۴). عامل دیگر دخیل در پیشرفت بیماری آلزایمر، پروتئین تاو بوده که با تشکیل اولیگومرهایی با آرایش فضایی نادرست در پاتوژنز این بیماری نقش ایفا می‌کند (۵). همراه این تغییرات ساختاری تعداد گسترده‌ای از مسیرهای سیگنالی مخرب نورونی فعال می‌شوند که فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی یکی از این عوامل مخرب بوده که مختص مغز است و به‌صورت موضعی عمل می‌کند (۶). طبق نتایج مطالعات اخیر فعال شدن این سیستم در مغز نقش بسیار مهمی در پاتوژنز بیماری آلزایمر بر عهده دارد (۷). آنژیوتانسین-II جزو مهم این سیستم بوده و داری دو نوع گیرنده‌ی نوع یک (AT1) و دو (AT2) در بافت مغز می‌باشد. گیرنده‌ی AT1 اثرات سمی روی نورون‌ها داشته و باعث افزایش التهاب در بافت عصبی، استرس اکسیداتیو، نفوذپذیری سد خونی- مغزی و کاهش جریان خون در مغز می‌شود. اما گیرنده‌ی AT2 نقشی محافظتی در مغز داشته که باعث پیچیدگی عملکرد آنژیوتانسین-II می‌شود (۱۰-۸). بر خلاف فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی در حین بیماری آلزایمر فاکتور تروفیک نورونی مشتق شده از مغز Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) کاهش می‌یابد که در حال طبیعی به مقدار زیادی در بافت مغز وجود دارد (۱۱). کمپلکس پروتئینی BDNF، یک مولکول سیگنالی درون سلولی بوده و به‌عنوان مهم‌ترین فاکتور بقای سلولی از بسیاری از سلول‌های مغز خصوصا نورون‌ها آزاد می‌شود (۱۲و ۲). فاکتور BDNF به‌میزان بسیار بالایی در شرایط طبیعی در قسمت‌های مختلف مغز بیان شده و در پیشبرد رشد و شکل پذیری نورون‌ها در اکثر نواحی مغز به‌خصوص در نواحی هیپوکامپ و کورتکس ضروری است (۱۱). تحقیقات اخیر نشان می‌دهند سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی بر پردازش حافظه و یادگیری تاثیر داشته و باعث کاهش عملکرد شناختی در بیماری آلزایمر می‌شود (۱۳و ۷). گر چه شواهد محدود است اما مطالعات و بررسی‌های اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهند که درمان با داروهای مهار کننده‌ی اختصاصی گیرنده ی آنژیوتانسین-II و مهار آنزیم مبدل آنژیوتانسین-I به آنژیوتانسین-II Angiotensin Converting Enzyme(ACE) در بیماران مبتلا به فشار خون بالا که دچار اختلالات شناختی و مستعد بیماری آلزایمر هستند علاوه بر کاهش فشار خون سبب بهبود عملکرد حافظه و عملکرد شناختی می‌شوند (۱۶-۱۴). هر چند نتایج تحقیقات نشان می‌دهند که فشار خون بالا می‌تواند به پیشرفت بیماری آلزایمر کمک نماید، اما براساس یافته‌های اخیر به نظر می‌رسد مهارکننده‌های آنزیم ACE و گیرنده ی اختصاصی آنژیوتانسین-II مستقل از اثرات کاهندگی فشار خون و به‌طور مستقل باعث بهبود حافظه و عملکرد شناختی در بیماران دارای فشار خون بالا همراه با علایم بیماری آلزایمر می‌گردد (۱۷-۱۴). همچنین یافته‌های مطالعه ی آواستهی و همکارانش که در سال ۲۰۱۲ انجام شده نشان می‌دهد مهار طولانی مدت سیستم رنین-آنژیوتانسین باعث بهبود عملکرد حافظه به‌دنبال آسیب مغزی ناشی از کولشیسین می‌شود (۱۸). همچنین یافته‌های مطالعه‌ی سینگ و همکارانش که در سال ۲۰۱۳ انجام شده نشان می‌دهد استفاده از داروی لیزینوپریل (مهارکننده‌ی ACE) باعث بهبود عملکرد حافظه در مدل آزمایشگاهی بیماری آلزایمر شده است (۱۹). به هر حال آنچه مشخص است اختلال در میزان و عملکرد سیگنالی فاکتور BDNF همراه با تخریب نورونی در بیماری آلزایمر مشاهده می‌گردد (۱۱). برای مثال در مناطقی از مغز مانند هیپوکامپ که کاهش بیان فاکتور BDNF دیده می‌شود بالاترین سطوح تخریب نورونی و بافت عصبی روی می‌دهد (۲۰و۲). اما ارتباط بین فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی و تغییرات بیان فاکتور BDNF نکته ی مبهمی است که نیاز به بررسی دارد.

هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثرات داروی کاپتوپریل (مهار کننده‌ی آنزیم ACE) و والزارتان (مهار کننده‌ی اختصاصی گیرنده آنژیوتانسین-II) بر عملکرد حافظه و یادگیری، آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی و میزان بیان فاکتور BDNF در مدل تجربی بیماری آلزایمر مطالعه بود.

## روش بررسی

**حیوانات و نحوه نگهداری:** در مطالعه‌ی حاضر که یک مطالعه مداخله‌ای تجربی بود، از ۴۰ سر موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده ی سنی ۸تا۱۰ هفته به وزن تقریبی ۲۵۰ تا ۲۲۰ گرم که از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی واقع در مرکز علوم اعصاب در دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... تهیه می‌شد استفاده گردید. آزمایش‌ها طبق مقررات اخلاقی کار با حیوانات مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... انجام گردید. دمای محل نگهداری حیوانات بین ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد ثابت نگه‌داشته می‌شد که دارای رطوبت ۵۰ تا ۶۰ درصد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. در طول آزمایش آب و غذای کافی در اختیار حیوان‌ها قرار می‌گرفت و هر ۲ روز یک بار قفس موش‌ها تمیز می‌شد.

**نحوه القای بیماری آلزایمر:** جهت القای بیماری آلزایمر از روش تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین (STZ) استفاده شد که در شکل ۱ نشان داده شده است (۲۱). ابتدا حیوانات با تزریق درون صفاقی ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کتامین هیدروکلراید و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم زایلازین بیهوش می‌شدند. بعد از بیهوشی، موهای روی سر از فاصله بین دو چشم تا دو گوش تراشیده و با پنبه الکلی ضد عفونی می‌شد و سپس حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار می‌گرفتند. بعد از اطمینان از ثابت شدن سر حیوان در دستگاه استریوتاکسی ابتدا با تیغ جراحی شکافی طولی به اندازه ۲ تا ۳ سانتی‌متر بر روی پوست ناحیه سر در همان محدوده تمیز شده ایجاد می‌شد. مختصات محل کانول گذاری تعیین شده و با استفاده از مته سوراخی در این محل ایجاد می‌گردید. بر طبق اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۹۹۸) مختصات محل کانول گذاری ۰/۸ میلی‌متر در سمت خلفی، ۱/۵ میلی‌متر در جهت جانبی و ۳/۶ میلی‌متر زیر سخت شامه نسبت به برگما می‌باشد. کانول‌هایی که از قبل آماده شده را در محل تعیین شده در بطن قرار داده و سپس با اضافه کردن آکریل دندانپزشکی کانول‌ها ثابت می‌شدند. پس از پایان عمل جراحی حیوان را از دستگاه استریوتاکسی بیرون آورده و تا به هوش آمدن کامل از حیوان مراقبت می‌گردید. برای تزریق محلول استرپتوزوتوسین به داخل بطن‌ها، از کانول تزریقی به طول ۱۰ میلی‌متر و سرنگ هامیلتون ۵۰ میکرولیتری متصل به لوله پلی‌اتیلنی استفاده می‌شد. جهت القاء بیماری آلزایمر در این تحقیق از دو دوز تزریق متوالی استرپتوزوتوسین در روز اول و سوم استفاده گردید و در هر دوز تزریق ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم استرپتوزوتوسین به‌صورت داخل بطنی انجام می‌شد. در هر بار تزریق مقدار داروی مورد نظر طوری محاسبه می‌گردید که ۵ میکرولیتر محلول دارای استرپتوزوتوسین به بطن‌های جانبی تزریق گردد. همچنین در گروه شاهد معادل محلول استرپتوزوتوسین نرمال سالین ۰/۹ درصد به بطن‌های جانبی هر حیوان تزریق گردید.

**گروه بندی حیوانات:** پروتکل و گروه‌های آزمایشی در این طرح به صورت زیر انجام شد و حیوانات مورد نظر به صورت تصادفی در ۵ گروه به شرح زیر قرار گرفتند:

۱- گروه کنترل (Control): حیوانات این گروه موش‌های صحرایی سالم بوده که در طی آزمایش بدون جراحی و بدون تیمار باقی می‌ماندند.

۲- گروه وهیکل (Vehicle): در حیوانات این گروه جراحی بر روی جمجمه حیوان جهت کانول گذاری انجام می‌شد و سرم فیزیولوژی به‌عنوان حلال داروی استرپتوزوتوسین در درون بطن‌ها تزریق می‌گردید.

۳- گروه آلزایمر (Alzheimer): در حیوانات این گروه جراحی بر روی جمجمه حیوان جهت کانول گذاری انجام شده و حیوانات این گروه با تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین در بطن‌های جانبی مغز به صورت دو طرفه دچار بیماری آلزایمر می‌شدند.

۴- گروه تیمار با کاپتوپریل (Captopril): در حیوانات این گروه بیماری آلزایمر با تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین ایجاد شده و از داروی کاپتوپریل به‌میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز به مدت ۲۵ روز به‌صورت خوراکی (از طریق گاواژ) استفاده می‌شد (۲۲).

۵- گروه تیمار با والزارتان (Valsartan): در این گروه بیماری آلزایمر با تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین ایجاد شده و حیوانات این گروه داروی والزارتان را به میزان ۳۰ می‌لی گرم بر کیلوگرم در روز به‌مدت ۲۵ روز به صورت خوراکی (از طریق گاواژ) دریافت نمودند (۲۳).

**آزمون عملکرد حافظه:** در تحقیق حاضر جهت بررسی عملکرد حافظه و یادگیری از روش T-maze برای موش‌های صحرایی در پایان آزمایش استفاده شد. برای انجام این آزمون از دستگاهی با سه بازو (طول هر بازو ۵۰ سانتی‌متر با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر) به شکل T استفاده گردید. در ابتدای بازوی مرکزی دستگاه یک دریچه گیوتینی قرار داشت که بعد از گذشت ۵ ثانیه این دریچه باز شده تا حیوان وارد قسمت اصلی بازوی مرکزی شده و از آنجا وارد دو بازی جانبی گردد. جهت انجام آزمون ابتدا حیوانات به مدت ۱۲ ساعت گرسنه نگه داشته می‌شدند. در ابتدا از موش‌ها تست برتریت گرفته می‌شد. به این ترتیب که ۵ بار هر موش در دستگاه گذاشته می‌شد و یکی از بازوهای جانبی که به میزان سه بار یا بیشتر انتخاب می‌شد به عنوان بازوی برتر ثبت می‌گردید. در مرحله بعد (برای بررسی عملکرد حافظه) مقداری غذا در سمت مخالف بازوی برتر برای هر حیوان به صورت جدا قرار می‌گرفت و با برداشته شدن دریچه ورودی زمان توسط کرنومتر تا انتخاب بازو توسط حیوان ثبت می‌شد (Latency). همچنین تعداد خطاهای حیوان در انتخاب بازو نیز ثبت می‌گردید. این مرحله آزمون به تعداد ۳۰ بار تکرار می‌شد.

**مطالعه‌ی هیستوپاتولوژی:** جهت مطالعات میکروسکوپی ابتدا نمونه مورد نظر (بافت مغز) به مدت دو هفته جهت تثبیت در فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گرفت و سپس بقیه مراحل به شرح زیر انجام می‌شد. ابتدا مراحل پاساژ بافت و بعد قالب‌گیری با پارافین طبق روش‌های روتین آماده سازی بافت انجام می‌شد. بعد از آن مرحله برش‌گیری به‌وسیله دستگاه میکروتوم با ضخامت ۵ میکرومتر انجام می‌گرفت. سپس مقاطع تهیه شده در محل مورد نظر بر روی لام انتقال داده شده و با دو روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) و تولوئیدین بلو (TB) برش‌ها رنگ آمیزی می‌شدند. در نهایت بر روی برش‌های تهیه شده آب گیری و شفاف‌سازی انجام شده و فرآیند مانت کردن انجام می‌گردید. در آخر لام‌های تهیه شده با دقت و توسط دستگاه میکروسکوپ نوری (Nikon) مورد ارزیابی قرار گرفته و با استفاده از دوربین مخصوص میکروسکوپ متصل به کامپیوتر از نقاط مورد نظر تصویر تهیه شده و شاخص‌های نکروز و آسیب نورونی به همراه تخریب بافت عصبی در ناحیه پری‌فرونتال و هیپوکامپ که محل‌های اصلی حافظه بوده و در بیماری آلزایمر مشاهده می‌گردد مورد ارزیابی قرار می‌گرفت (۲۵ و ۲۴).

**بررسی ژن BDNF:** جهت اندازه‌گیری میزان بیان ژن BDNF از روش اندازه‌گیری mRNA با استفاده از تکنیک نیمه کمی نسخه برداری معکوس- واکنش زنجیری پلیمراز Reverse transcriptase-Polymerase chain Reaction (RT-PCR) در سه مرحله استفاده شد. در ابتدا RNA کل از ۵۰ میلی‌گرم بافت مغز توسط کیت استخراج RNA (Topagene kavosh, Iran) براساس پروتکل کارخانه سازنده استخراج گردید. کمیت و کیفیت نمونه‌های RNA استخراج شده به‌وسیله‌ی الکتروفورز

RNA کل بر روی ژل آگاروز ۱ درصد انجام گردید. در مرحله دوم سنتز DNA مکمل (cDNA) از ۳ میکرولیتر از RNA کل با استفاده از کیت سنتز cDNA (Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit) بر اساس پروتکل کارخانه‌ی سازنده (BIONEER, Takapozyst, Iran) انجام گردید. در مرحله‌ی سوم ۲میکرولیتر از cDNA به‌وسیله کیت مخصوص PCR (PCR kit) با استفاده از پروتکل کارخانه‌ی سازنده (BIONEER, Takapozyst, Iran) و پرایمرهای مناسب برای ژن‌های BDNF ( Forward: TGTCCGAGGTGGTAGTACT, Reverse: CGAGGAATGTAATGCAGA) و بتا اکتین به‌عنوان ژن مرجع (Forward: CCACACCCGCCACCAGTTCG, Reverse: CTAGGGCGGCCCACGATGGA) تکثیر انجام گرفت. در نهایت محصولات تکثیر شده PCR بر روی ژل آگاروز ۱ درصد الکتروفورز شده و برای دیدن باندهای تشکیل شده ابتدا ژل در داخل محلول اتیدیوم بروماید یک درصد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد و تصاویر باندهای تشکیل توسط دستگاه ژل داک (Kiagene, Iran) تهیه گردید. در پایان میزان تراکم باندها که نشان دهنده‌ی میزان بیان ژن مورد نظر بود برای تمامی حیوانات با استفاده از نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری و داده‌های به‌دست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

**آنالیز آماری:** نتایج آماری به دست آمده در این تحقیق به صورت میانگین±خطای استاندارد میانگین (میانگین±انحراف معیار) ارایه شده است. با توجه به این نکته که داده‌های مورد نظر آماری در تحقیق حاضر از توزیع نرمال برخوردار بودند از آزمون‌های پارامتریک ANOVA (آنالیز واریانس یک طرفه) برای مقایسه داده‌ها استفاده گردید و برای مقایسه درصدها و اسکورها به‌عنوان Post-hoc از تست LSD استفاده شد. در تمامی موارد اختلاف بین گروه‌ها با P<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شده است.

## یافته‌ها

**نتایج آزمون عملکرد حافظه:** نتایج مربوط به عملکرد حافظه که با آزمون T-Maze انجام شده در جدول ۱ خلاصه شده است. به‌طور متوسط از حدود ۳۰ بار انجام آزمون جهت‌گیری به سمت غذا در گروه کنترل حدودا ۱۱ بار خطا دیده می‌شود.

***جدول ۱: پارامترهای ارزیابی شده برای اندازه‌گیری حافظه و یادگیری موش صحرایی در گروه‌های مورد آزمایش***

| Groups | Control | Vehicle | Alzheimer | Captopril | Valsartan |
|---|---|---|---|---|---|
| **Errors (N)** | ۱۱/۸±۱/۲ | ۸±۱/۸ | ۱۶/۲±۲/۹* | ۱۱/۵±۱/۵$ | ۹/۶±۲/۴$$ |
| **Latency (Sec)** | ۷۳/۴±۱۵/۵ | ۶۷/۸±۱۴/۴ | ۲۱۶/۲±۵۷/۹* | ۱۱۸±۳۱/۷$ | ۳۰/۲±۵/۵$$ |

***تعداد خطاهای انجام شده (Errors) بر حسب تعداد (N) در ۳۰ مرتبه تکرار آزمایش و زمان لازم برای جهت‌گیری به سمت غذا (Latency)، داده‌ها به صورت Means ±SEM نمایش داده شده است. * نشانگر تفاوت معنی‌دار با P<۰/۰۵ در مقایسه‌ی با گروه نرمال و شاهد***

***$نشانگر تفاوت معنی‌دار با P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل $$نشانگر تفاوت معنی‌دار با P<۰/۰۱ در مقایسه‌ی با گروه کنترل***

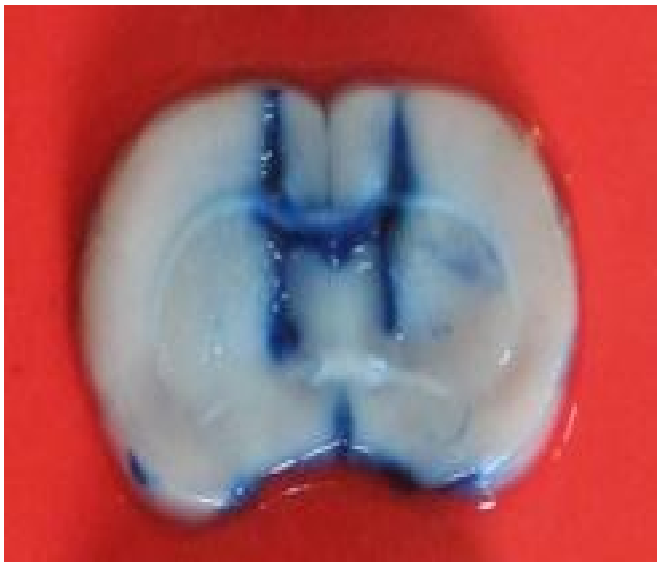
در مقایسه میانگین خطاهای جهت‌گیری به سمت غذا، اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل و گروه وهیکل مشاهده نشد. در حالی که در گروه آلزایمری در مقایسه با گروه وهیکل و کنترل در تعداد خطاهای جهت‌گیری به سمت غذا افزایش معنی داری وجود داشت (۱۶/۲±۲/۹). در گروه‌های تیمار شده با کاپتوپریل و والزارتان کاهش معنی‌داری در تعداد

خطاهای جهت‌گیری حیوانات به سمت غذا مشاهده شد که این کاهش در گروه تیمار با والزارتان بارزتر بود (P<۰/۰۱). میانگین مدت زمان تاخیر در جهت‌گیری حیوانات کنترل به سمت غذا (Latency) حدودا ۷۰ ثانیه بود که این مدت زمان در حیوانات گروه وهیکل اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری با گروه کنترل نداشت (جدول ۱). در حالی که در زمان تاخیر در جهت‌گیری به سمت غذا در حیوانات گروه آلزایمر افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل وجود داشت (۲۱۶±۵۷ ثانیه). در گروه‌های تیمار شده با کاپتوپریل و والزارتان کاهش معنی‌داری در زمان تاخیر جهت‌گیری حیوانات به سمت غذا مشاهده شد که این کاهش در گروه تیمار با والزارتان در مقایسه با گروه آلزایمر بارزتر بود (P<۰/۰۱).

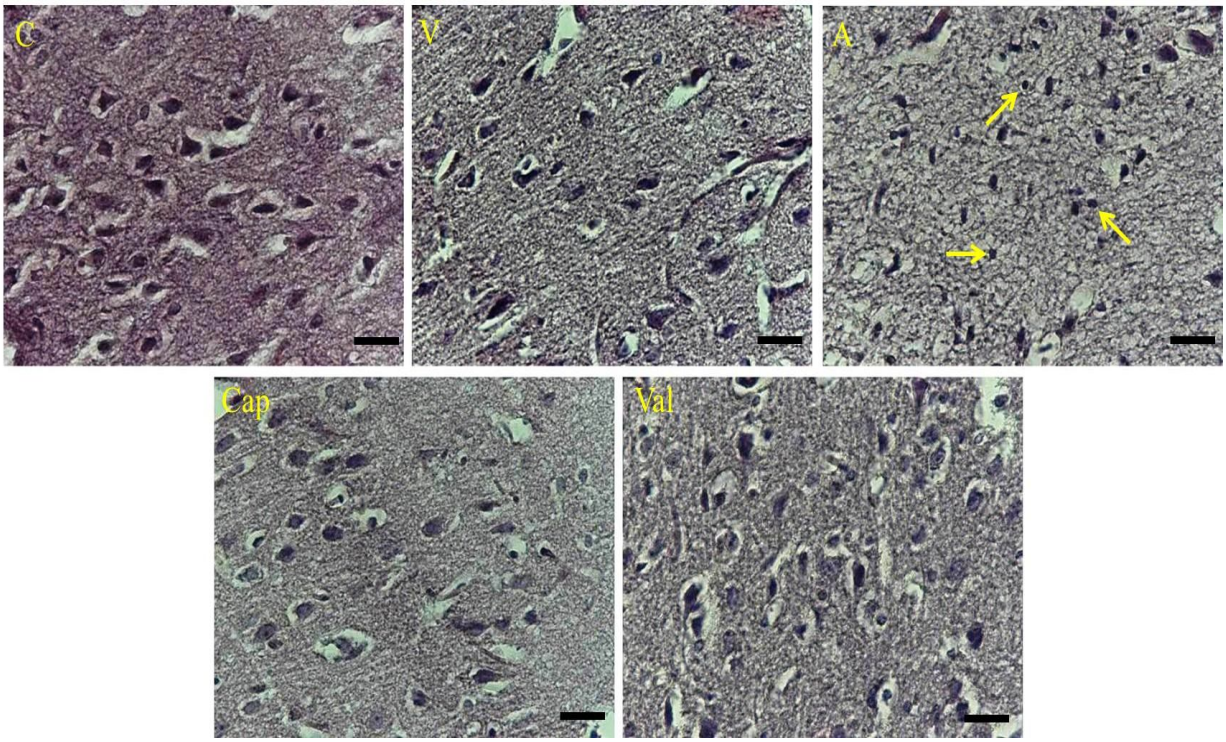
**نتایج هیستوپاتولوژی:** در موش‌های صحرایی نرمال بخش‌هایی از قشر پری‌فرونتال که با هماتوکسیلین & ائوزین رنگ آمیزی شده نشان می‌دهد نورون‌ها و سایر سلول‌های این ناحیه به همراه رشته‌های عصبی آن سالم هستند (شکل ۲). این سلول‌ها بافتی منسجم با نظم خاصی را تشکیل داده‌اند که در بافت پارانشیم مغز (نوروپیل) قرار گرفته‌اند. بررسی‌های مقاطع تهیه شده از حیوانات گروه وهیکل نشان می‌دهد که وضعیت نورون‌ها و بافت عصبی در ناحیه قشر پری فرونتال همانند گروه کنترل است. اما بررسی مقاطع تهیه شده حیوانات گروه آلزایمر نشان می‌دهد که در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل تخریب نورونی به همراه واکئولیزه شدن بافت عصبی در ناحیه قشر پری‌فرونتال به مقدار زیادی صورت گرفته و چروکیدگی و متراکم بودن هسته‌ها نشان‌دهنده‌ی نورون‌های پیکنوتیک و نکروتیک می‌باشند. پراکندگی نامنظم هسته‌ها و شکل‌های نافرم آن‌ها، تخریب رشته‌های عصبی و به‌طور کلی آثار تخریب سلول ها در این ناحیه در گروه آلزایمر به وضوح مشاهده می‌شود (شکل ۲). در صورتی که در حیوانات تیمار شده با کاپتوپریل و والزارتان به مدت ۲۵ روز در مقایسه با حیوانات گروه آلزایمر بهبود ناحیه پری‌فرونتال کورتکس به وضوح مشخص می‌باشد.

بررسی هیستوپاتولوژی مقاطع تهیه شده از هیپوکامپ در ناحیه CA1 که با تولوئیدین بلو رنگ آمیزی شده نشان می‌دهد که نورون‌ها و سایر سلول‌های گلیال در حیوانات گروه کنترل سالم هستند که هسته‌های گرد و مشخص، بدون مشاهده هیچ‌گونه آسیب در ناحیه مورد نظر دال بر سلامت نورون‌ها و بافت عصبی این ناحیه است (شکل ۳). همین وضعیت نیز برای حیوانات گروه وهیکل در بررسی‌های هیستوپاتولوژی مقاطع تهیه شده وجود دارد. بررسی برش‌های تهیه شده حیوانات گروه آلزایمر نشان می‌دهد که در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل تخریب ناحیه CA1 به مقدار زیادی صورت گرفته است. در این تصاویر چروکیدگی و متراکم بودن هسته‌ها نشان دهنده‌ی نورون‌های پیکنوتیک و نکروتیک می‌باشد. پراکندگی نامنظم هسته‌ها و شکل‌های نافرم آن‌ها، تخریب رشته‌های عصبی و به‌طور کلی آثار تخریب سلول‌ها در این ناحیه در گروه آلزایمر به وضوح مشاهده می‌شود (شکل ۳). در صورتی که در حیوانات تیمار شده با کاپتوپریل و والزارتان به مدت ۲۵ روز در مقایسه با حیوانات گروه آلزایمر بهبود ناحیه CA1 هیپوکامپ به وضوح مشخص می‌باشد.

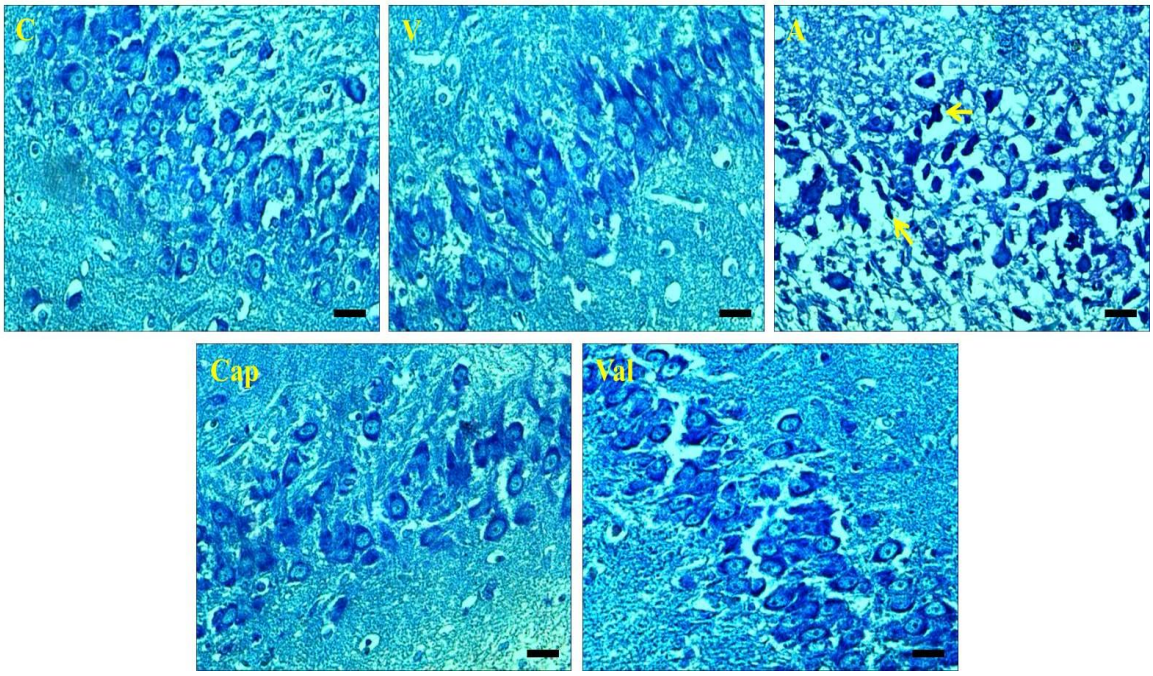
**نتایج بررسی ژن BDNF:** بررسی‌های بیان ژن BDNF براساس مقایسه کیفی باندهای تشکیل شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد نشان می‌دهد که در حیوانات گروه کنترل رونویسی از ژن BDNF به مقدار زیادی در حالت طبیعی انجام می‌شود (شکل ۴). بررسی‌های کیفی بین باندهای تشکیل شده بین گروه کنترل و وهیکل تفاوتی در میزان رونویسی از ژن BDNF را نشان نمی‌دهد.



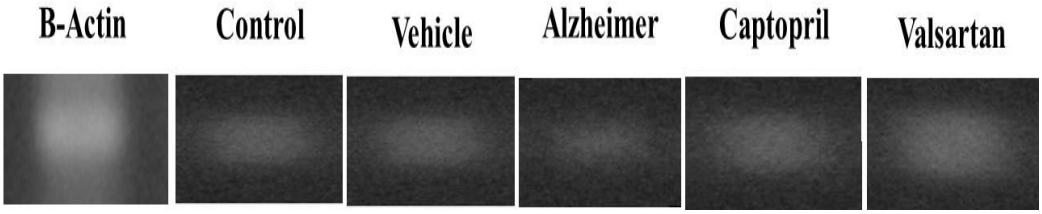
*شکل ۱: فتوگراف نشان دهنده‌ی محل ورود کانول‌ها به داخل بطن‌های جانبی می‌باشد که با شیوه تزریق رنگ اونس بلوی یک درصد به داخل بطن‌ها و برش عرضی مغز در محل ورود کانول‌ها انجام شده است.*




*شکل ۲: میکروگراف نشان دهنده‌ی مقاطع عرضی ناحیه پری‌فرونتال مغز با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. در تصاویر به‌دست آمده از حیوانات کنترل (C) و گروه وهیکل (V) نورون‌ها سالم هستند. در گروه آلزایمر (A) نورون‌های آسیب دیده با هسته‌های متراکم و چروکیده (نورون‌های پیکنوته و نکروتیک) به همراه واکئولیزه شدن بافت عصبی به وفور مشاهده می‌شود. میزان این آسیب در گروه‌های درمان شده (Cap & Val) به میزان زیادی کاهش یافته است. (Scale bars= 100 µm، X400)*

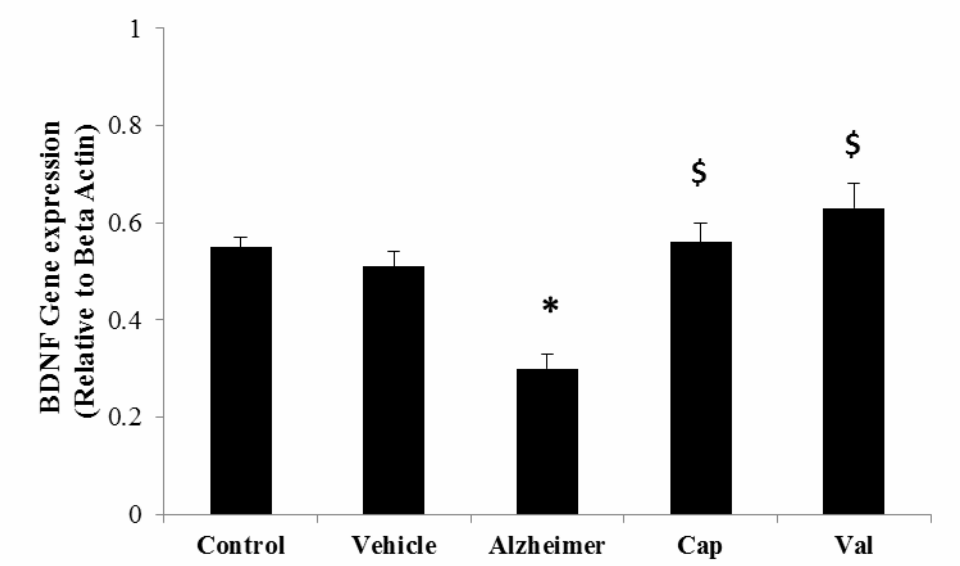



*شکل ۳: میکروگراف نشان دهنده‌ی مقاطع عرضی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مورد آزمایش با روش رنگ آمیزی تولوئیدن بلو را نشان می‌دهد. در گروه کنترل (C) و گروه وهیکل (V) نورون‌ها به طور طبیعی قرار گرفته‌اند و دارای هسته‌های گرد و سالم هستند. در گروه آلزایمر (A) نورون‌های آسیب دیده به وفور یافت می‌شود که هسته‌های متراکم و چروکیده دال بر نورون‌های پیکنوته و نکروتیک هستند. همچنین تخریب بافت عصبی به وضوح مشخص است. میزان آسیب در گروه‌های درمان شده (Cap & Val) به میزان زیادی کاهش یافته است. (X400 ،Scale bars= 100 µm)*




*شکل ۴: تصویر مقادیر mRNA فاکتور BDNF را در گروه‌های کنترل (Control)، وهیکل (Vehicle)، گروه آلزایمر (Alzheimer)، گروه تجربی تیمار با کاپتوپریل (Cap) و گروه تجربی تیمار با والزارتان (Val) را بر روی ژل آگارز ۱ درصد نشان می‌دهد. مقادیر mRNA فاکتور BDNF در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها کمتر است. اولین باند تشکیل شده در سمت چپ نشان دهنده mRNA بتا اکتین (β-Act) می‌باشد.*

اما مقایسه‌ی کیفی میزان باند تشکیل شده گروه آلزایمر با دو گروه کنترل و وهیکل نشان دهنده‌ی کاهش بیان ژن مربوطه در موش‌های صحرایی است که در آن‌ها بیماری آلزایمر القا شده است. همچنین مقایسه‌ی باندهای تشکیل شده در گروه‌های تیمار شده با کاپتوپریل و والزارتان نشان می‌دهد که بیان ژن BDNF در مقایسه‌ی با گروه آلزایمر افزایش یافته و همانند گروه کنترل و وهیکل است. تمام نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری کمی باندهای تشکیل شده به روش تراکم سنجی با نتایج بررسی‌های چشمی منطبق است (نمودار ۱).




***نمودار ۱: مقادیر کمی میزان mRNA ژن BDNF در گروههای کنترل (Control)، وهیکل(Vehicle)، آلزایمر (Alzheimer)، گروه تجربی تیمار با کاپتوپریل (Cap) و گروه تجربی تیمار با والزارتان (Val) که مقدار تراکم با روش دانسیتومتری را نشان می‌دهد. داده‌ها به صورت Means ±SEM نمایش داده شده است.***

**** نشانگر تفاوت معنی دار با P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه نرمال و شاهد*** ***$نشانگر تفاوت معنی دار با P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل***

## بحث

تحقیقات کلینیکی و آزمایشگاهی اخیر نشان می‌دهند که فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی نقش مهمی در پاتوژنز بیماری آلزایمر دارد (۱۶و ۱۳). همچنین شواهد اپیدمیولوژیکی اثرات بهبودی بخش مهار کننده‌های این سیستم مخرب را در بیماران دچار فشار خون بالا که مستعد ابتلا به بیماری آلزایمر هستند نشان داده‌اند که مستقل از اثرات کاهندگی فشار خون سیستمیک است (۱۷و ۱۴). بر این اساس در مطالعه ی حاضر اثرات محافظتی دو داروی متفاوت که با مکانیسم‌های مختلف سبب مهار سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی می‌شوند در مدل آزمایشگاهی بیماری آلزایمر که با تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین انجام می‌شد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد داروی کاپتوپریل (مهار کننده‌ی آنزیم ACE) و والزارتان (مهار کننده‌ی اختصاصی گیرنده آنژیوتانسین-II) باعث بهبود عملکرد حافظه و یادگیری در حین القای بیماری آلزایمر می‌گردد هر چند که اثرات والزارتان در بهبود عملکرد حافظه قوی‌تر بود. نتایج بررسی‌های هیستوپاتولوژی هم نشان می‌دهد که دو داروی فوق از تغییرات هیستوپاتولوژیکی و تخریب بافت عصبی در حین بیماری جلوگیری کرده است. از طرفی میزان رونویسی و بیان ژن فاکتور BDNF که بعد از القای آلزایمر به شدت کاهش یافته بود بعد از ۲۵ روز استفاده از کاپتوپریل و والزارتان به میزان طبیعی خود برگشته است. بر اساس یافته‌های این تحقیق با مهار سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی می‌توان از پیشرفت بیماری آلزایمر جلوگیری کرد. هیپوکامپ مرکز اصلی یادگیری و حافظه در سیستم عصبی مرکزی بوده و بسیار حساس و آسیب‌پذیر به بیماری‌های پیشرونده تخریب عصبی و ایسکمی می‌باشد (۲۷و ۲۶). در تحقیقات با تزریق استرپتوزوتوسین داخل بطنی مغز نورون‌های هیپوکامپ تخریب شده و در نتیجه آلزایمر تجربی در حیوانات

آزمایشگاهی ایجاد می گردد. بر اساس تحقیق خلیلی و همکاران و با استفاده از نتایج حاصل از کار با Y-Maze در حیواناتی که استرپتوزوتوسین را به‌صورت درون بطنی مغز دریافت کرده بودند تعداد خطاهای بالا در جهت‌گیری اختلال در فرآیندهای شناختی و یادگیری در این موش‌های صحرایی را به خوبی نشان داده است (۲۸). بر این اساس در مطالعه‌ی حاضر نیز تزریق استرپتوزوتوسین به صورت داخل بطنی در حیوانات علایم رفتاری و اختلال در عملکرد حافظه مشابه بیماری آلزایمر ایجاد کرد (جدول ۱). موازی با اختلال عملکرد حافظه فضایی، مطالعات هیستوپاتولوژیکی نیز تغییرات آسیب بافت عصبی و تخریب نورونی را در نواحی مختلف هیپوکامپ و قشر پری‌فرونتال را به خوبی نشان داد (شکل ۲ و ۳). این یافته‌ها با تغییرات بافتی بیماران آلزایمری مشابهت دارد به طوری که بررسی‌های هیستولوژیکی چاکرابارتی و همکارانش تغییرات هیستوپاتولوژیکی قشر مغز به همراه نواحی مختلف هیپوکامپ مثل دژنره شدن و واکنش‌های پیکنوز و گلیوزیس را نشان داده‌اند (۲۹).

بر پایه تحقیقات اخیر به نظر می‌رسد استرس اکسیداتیو، التهاب و فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی نقش مهم در پاتوژنز بیماری آلزایمر داشته باشند (۳۰و ۶ و ۱). نتایج مطالعات نشان می‌دهند فعالیت بیش از حد گیرنده AT1 با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، فعال شدن مسیرهای آپوپتوز، التهاب مغز و از دست دادن درک و شناخت ارتباط دارد (۳۰و ۱۴). فعال شدن گیرنده‌ی AT1 در سلول‌های هدف منجر به افزایش تولید فاکتورهای پیش التهابی توسط افزایش تولید فاکتورهایی مانند NF–κB شده که خود این فاکتور نسخه‌برداری باعث تولید آبشارهای التهابی داخل سلولی و افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد (۳۰). از طرفی تحریک گیرنده‌ی AT1 سیستم ضد التهابی PPARγ را مهار می‌کند (۱۹). در نهایت فعال سازی مداوم سیستم رنین-آنژیوتانسین مغز باعث اختلال عملکرد شناختی از طریق فعال سازی گیرنده ی AT1 و کاهش جریان خون مغز می‌شود (۳۰و ۱۳). بنابراین بر اساس نتایج به‌دست آمده این تحقیق و مقایسه با یافته‌های محققین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش فعالیت سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی در پیشبرد بیماری آلزایمر نقش بسیار مهمی داشته و با مهار این سیستم می‌توان از پیشرفت بیماری کاست. به‌طوری که اخیرا گزارش شده تلمیزارتان کاهش اختلالات شناختی در بیماری آلزایمر را بهبود می‌بخشد و دارای اثرات حفاظت نورونی است (۱۷). از طرفی نکته بسیار ظریفی در یافته‌های ما به‌دست آمده که قابل اهمیت است. این موضوع مربوط به تفاوت اثر مهار کردن آنزیم ACE با کاپتوپریل و گیرنده ی AT1 با استفاده از والزارتان است. همان‌طور که بررسی‌های عملکرد حافظه نشان می‌دهد اثر بهبودی بخش والزارتان به مراتب از کاپتوپریل بیشتر می‌باشد. این اتفاق شاید به‌دلیل این است که آنزیم ACE خود تا حدی باعث تجزیه رسوب پروتئینی آمیلوئید بتا می‌شود که اخیرا پیشنهاد شده است (۷). از طرفی این آنزیم باعث مهار مسیر برادی کینین می‌شود که غیر فعال شدن آنزیم ACE باعث فعال شدن مسیر برادی کینین شده و اثرات مخرب بر نورون‌ها و بافت عصبی در بیماری آلزایمر دارد (۱۹). در نهایت با غیر فعال کردن مسیر آنزیم ACE عملا اثرات حفاظتی گیرنده AT2 نیز حذف می‌گردد. بنابراین مهار گیرنده‌ی AT1 از اولویت بیشتری نسبت به مهار آنزیم ACE برخوردار است. در طی بیماری آلزایمر فاکتورهای گوناگونی دچار تغییر شده که فاکتور BDNF یکی از آن‌ها است (۱۰). این فاکتور یکی از مسیرهای مهم سیگنالی فعال در مغز بوده که در بقای نورونی، رشد نورون‌ها و سیناپس‌های جدید نقش اساسی داشته و از آتروفی نورونی جلوگیری می‌نماید (۱۲). از آنجا که سطوح BDNF با افزایش سن و بیماری آلزایمر کاهش می‌یابد کاربرد BDNF به‌عنوان یک راه درمانی بالقوه برای از دست دادن حافظه در

این شرایط پیشنهاد شده است (۱۰). به‌طوری که تزریق BDNF به مغز جوندگان و نخستی‌ها آسیب‌های سیناپسی، مرگ سلولی، کاهش عملکرد ادراکی و اختلالات حافظه را در بیماری‌های مختلف پیشرونده تخریب عصبی معکوس کرده است (۱۱و ۱۰). در مطالعه‌ی حاضر نیز سنجش کیفی و کمی میزان mRNA پروتئین BDNF کاهش بیان ژن این فاکتور را در گروه کنترل بیماری نشان داده است (شکل ۴ و نمودار ۱). از آن جایی که این فاکتور برای بقای نورون‌ها و شکل‌پذیری سیناپس‌ها ضروری می‌باشد کاهش آن در حیوانات گروه بیماری باعث تخریب نورون‌ها و ایجاد اختلال در یادگیری و حافظه شده است (جدول ۱). این فاکتور بعد از درمان با داروهای کاپتوپریل و والزارتان به حد طبیعی خود برگشته که با بهبود عملکرد حافظه و کاهش آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی همراه بود (شکل ۲ و ۳). در اینجا باید به نکته ی مهمی اشاره نمود که مطالعه ما برای اولین بار به آن پرداخته است. این نکته با اهمیت رابطه بین فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی و کاهش فاکتور BDNF است که مطابق نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی باعث کاهش فاکتور BDNF در بافت مغز می‌شود.

## نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد مهار سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی توسط مهار آنزیم ACE با کاپتوپریل و گیرنده AT1 با استفاده از والزارتان از پیشرفت بیماری آلزایمر جلوگیری کرده و تا حدودی باعث بهبود عملکرد حافظه و آسیب‌های هیستوپاتولوژیکی می‌شود. همچنین نتایج ما پیشنهاد می‌نماید بین فعال شدن سیستم رنین-آنژیوتانسین مرکزی و کاهش فاکتور BDNF رابطه عکس وجود دارد که می‌تواند یک استراتژی جدید برای درمان بیماری آلزایمر باشد.

## تقدیر و تشکر

این مقاله‌ی حاصل نتایج پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد. بدین‌وسیله از گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله که مقدمات و وسایل مورد نیاز این تحقیق را فراهم نموده قدردانی می‌شود. همچنین از کارشناسان گروه مربوطه سرکار خانم کفایت بغلانی و فاطمه سالم که در انجام پروژه حاضر ما را یاری کردند صمیمانه تشکر می‌گردد.

## References

1- Barnham KJ, Masters CL, Bush AI. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat Rev Drug Disco.* 2004; 3: 205-14.

2- Calderon-Garcidenas L, Solt AC, Heriquez-Roldan C. Long-term air pollution exposure is associated with neuroinflammation, an altered inner immune response, disruption of the blood-brain-barrier, ultrafine particulate desposition, and accumulation of amyloid beta-42 and alpha-synuclein in children and young adults. *Toxicol Pathol*. 2008; 36: 289-310.

3- Fjell AM, Mc-Evoy L, Holland D, Dale AM, Kristine B. 6- Brain changes in older adults at very low risk for alzheimer's disease. *J Neuroscience.* 2013; 33: 8237-42.

4- Larson ME, Lesne SE. Soluble Aβ oligomer production and toxicity. *J Neurochem.* 2012; 120: 125-39.

5- Nussbaum JM, Seward ME, Bloom GS. alzheimer disease: a tale of two prions. *Prion.* 2013; 7: 9-14.

6- Savaskan E. The role of the brain renin-angiotensin system in neurodegenerative disorders. *Curr Alzheimer Res.* 2005; 2: 29-35.

7- Ciobica A, Bild W, Hritcu L, Haulica I. Brain renin-angiotensin system in cognitive function: pre-clinical findings and implications for prevention and treatment of dementia. *Acta Neurol Belg.* 2009; 109: 171-80.

8- Horiuchi M, Mogi M, Iwai M. The angiotensin II type 2 receptor in the brain. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2010; 11: 1-6.

9- Schmieder RE, Hilgers KF, Schlaich MP, Schmidt BM. Renin-angiotensin system and cardiovascular risk. *Lancet.* 2007; 369: 1208–19.

10- Wong J, Higgins M, Halliday G, Garner B. Amyloid beta selectively modulates neuronal TrkB alternative transcript expression with implications for alzheimer's disease. *Neuroscience.* 2012; 17: 363-74.

11- Nagahara AH, Merrill DA, Coppola G, et al. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer’s disease. *Nat Med.* 2009; 15: 331-37.

12- Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors.* 2004; 22: 123-31.

13- Inaba S, Iwai M, Furuno M, et al. Continuous activation of renin-angiotensin system impairs cognitive function in renin/angiotensinogen transgenic mice. *Hypertension.* 2009; 53: 356-62.

14- Fournier A, Oprisiu-Fournier R, Serot JM. Prevention of dementia by antihypertensive drugs: how AT1-receptor blockers and dihydropyridines better prevent dementia in hypertensive patients than thiazides and ACE-inhibitors. *Expert Rev Neurother.* 2009; 9: 1413-31.

15- Wright JW, Harding JW. The brain RAS and alzheimer’s disease. *Exp Neurol.* 2010; 223: 326-33.

16- Zou K, Maeda T, Watanabe A, et al. Abeta42-to-Abeta40- and angiotensin-converting activities in different domains of angiotensin-converting enzyme. *J Biol Chem.* 2009; 284: 31914-20.

17- Iwanami J, Mogi M, Iwai M, Horiuchi M. Inhibition of the renin-angiotensin system and target organ protection. *Hypertens Res.* 2009; 32: 229-37.

18- Awasthi H, Kaushal D, Siddiqui HH. Chronic inhibition of central angiotensin-converting enzyme ameliorates colchicine-induced memory impairment in mice. *Sci Pharm.* 2012; 80: 647-62.

19- Singh B, Sharma B, Jaggi AS, Singh N. Attenuating effect of lisinopril and telmisartan in intracerebroventricular streptozotocin induced experimental dementia of alzheimer's disease type: possible involvement of PPAR-gamma agonistic property. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2013; 14: 124-36.

20- Jefferson AL, Cantwell NG, Byerly LK, Morhardt D. Medical student education program

in alzheimer's disease: the PAIRS Program. *BMC Med Educ*. 2012; 21;12:80.

21- Pourrabi SR, Mohajjel-Nayebi A, Hossini SE. Role of testosterone in memory impairment of alzheimer disease induced by streptozotocin in male rats. *Daru*. 2012; 20: 1-5.

22- Cruz-Laguna EY, Gámez-Méndez AM, Vargas-Robles H, et al. Renin-angiotensin system blockade: effect on renal mRNA expression in 5/6 nephrectomized rat. *Sci Res.* 2013; 5: 9-15.

23- Bayir Y, Halici Z, Karakus E, et al. Comparing effects of lacidipine, ramipril, and valsartan against experimentally induced myocardial infarcted rats. *Cardiovasc Toxicol.* 2012; 12: 166-74.

24- Abo El-Khair DM, El-Nabawia AF, El-Safti Nooh HZ, El-Mehi EA. A comparative study on the effect of high cholesterol diet on the hippocampal CA1 area of adult and aged rats. *Anat Cell Biol. 2014:* 47: 117-26.

25- Raouf Sarshoori J, Asadi MH, Mohammadi MT. Neuroprotective effects of crocin on the histopathological alterations following brain ischemia-reperfusion injury in rat. *IJBMS*. 2014; 17: 895-902.

26- Galani R, Weiss I, Cassel JC, Kelche C. Spatial memory, habituation, and reactions to spatial and nonspatial changes in rats with selective lesions of the hippocampus, the entorhinal cortex or the subiculum. *Behav Brain Res*. 1998; 96: 1-12.

27- Kenan CV, Ezgie I, Yildiz G, Birhan YM, Gurlek A, Aydin H. Vitamin E and antioxidant activity; its role in slow coronary flow. *Cardiovasc J Afr*. 2013; *24*: 360-63.

28- Khalili M, Hamzeh F. Effects of active constituents of on streptozocin-induced model of sporadic alzheimer's disease in male rats. *Iran Biomed J*. 2010; 14: 59-65.

29- Chakrabarty M, Bhat P, Kumari S, et al. Cortico-hippocampal salvage in chronic aluminium induced neurodegeneration by celastrus paniculatus seed oil: neurobehavioural, biochemical, histological study. *J Pharmacol Pharmacother*. 2012; 3: 161-71.

30- Saavedra JM. Angiotensin II AT1 receptor blockers as treatments for inflammatory brain disorders. *Clinical Science*. 2012; 123: 567-90.

# Protective Effects of Captopril and Valsartan on Memory Function and Gene Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Experimental Model of Alzheimer's Disease in Rats

Arjmand Abbassi Y[1], Mohammadi MT[2], Eidi A[1]

[1]Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

[2]Dept. of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

***Corresponding Author:*** Mohammadi MT, Dept. of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

***E-mail:*** Mohammadi.mohammadt@yahoo.com

**Received:** 20 Nov 2014 **Accepted:** 9 Feb 2015

***Background and Objective:*** The use of AT1 and ACE inhibitors, as antihypertensive drugs, improves memory function in the elderly people with hypertension and vulnerable to Alzheimer's disease (AD). Therefore, the aim of this study was to evaluate effects of oral administration of Captopril and Valsartan on memory function and expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF**)** in experimental model of AD in rats.

***Materials and Methods:*** Forty adult male Wistar rats were assigned to five groups; Control, Vehicle, Alzheimer, Captopril and Valsartan treated groups. AD in the Alzheimer and treated groups was induced using bilateral *i.c.v.* injection of streptozotocin (3mg/kg) in days one and three. Treated groups received captopril (50mg/kg) and valsartan (30mg/kg) orally for 25days. At the end of the experiment, memory function was tested using T-Maze and gene expression of BDNF was assessed by RT-PCR technique. Finally, histopathological damages were evaluated using H&E and toluidine blue staining methods.

***Results:*** Time of latency and error number for food searching was 73.4±15.5Sec and 11.8±1.2 in the control group respectively, induction of AD significantly increased these issues (216.2±57.9Sec, 16.2±2.9). Histopathological damages (necrotic neurons and tissue vacuolization) along with reduction of BDNF mRNA were obviously observed in rats of the Alzheimer group. Captopril and valsartan treatment led to a decrease in the time of latency (46 and 86%) and error number (31 and 43%) and improved histopathological damages and increased BDNF mRNA.

***Conclusion:*** Our findings indicated that inhibition of central renin-angiotensin improves memory function and neuronal damages during AD disease. It appears that activation of this system inhibits gene expression of BDNF.

***Key words: Renin-angiotensin System, Captopril, Valsartan, BDNF, Alzheimer's Disease***