

مطالعه حافظه کاری و مرجع فضایی در مدل تجربی بیماری مالتیپل اسکلروزیس پس از درمان با ویتامین D3

سپیده تربالی: کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
sh.khezri@urmia.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: هیپوکمپ، مرکز اصلی یادگیری و حافظه، به بیماری‌های نورولوژیک بسیار آسیب‌پذیر می‌باشد. گزارش‌های متعددی از اختلالات شناختی و حافظه در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis-MS) منتشر شده است. شیوع MS در مناطقی که مصرف ویتامین D بالا است، کمتر می‌باشد. در بررسی حاضر حافظه کاری و مرجع فضایی در مدل تجربی بیماری MS پس از درمان با ویتامین D3 مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار: برای ایجاد دمیلیناسیون، ۲ میکرولیتر لیزوولیستین به کمک استروتاکس در ناحیه CA1 هیپوکمپ موش صحرایی تزریق شد. حیوانات تحت درمان با ویتامین، به مدت ۱۴ و ۲۱ روز ۵ میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 را به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. بررسی بافتی فرآیند دمیلیناسیون، با استفاده از رنگ آمیزی اختصاصی میلین انجام شد. حافظه کاری و مرجع فضایی توسط دستگاه ماز شعاعی بررسی گردید.

یافته‌ها: تجویز لیزوولیستین به عنوان الکتندن بیماری MS سبب دمیلیناسیون و اختلالات حافظه کاری و مرجع فضایی، ۱۴ و ۲۱ روز پس از ضایعه شد. در حالی که مصرف ویتامین D3 به مدت ۱۴ و ۲۱ روز منجر به بهبود حافظه کاری و مرجع فضایی در مقایسه با گروه دریافت کننده لیزوولیستین گردید.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تیمار ویتامین D3 قادر به ممانعت از کاهش حافظه کاری و مرجع فضایی در مدل تجربی MS است. با این حال، ارزیابی اثرات مغاید ویتامین D3 بر روی حافظه فضایی در بیماران مبتلا به MS نیازمند مطالعات بالینی بسیار گسترده‌تر می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: مالتیپل اسکلروزیس، ویتامین D3، حافظه کاری، حافظه مرجع فضایی، موش صحرایی

مقدمه

بیماری مالتیپل اسکلروزیس (Multiple sclerosis) یک بیماری مزمن التهابی سیستم عصبی مرکزی (Central nervous system-CNS) است که مهم‌ترین شاخص آن دمیلینه شدن اعصاب محیطی و مرکزی، آسیب آکسونی و از دست رفتن آن‌ها می‌باشد (۱). با توجه به این که در این بیماری، CNS درگیر می‌شود و مشکلات و ناتوانی‌های متعددی را برای بیمار به دنبال دارد، جلوگیری از پیشرفت و کنترل بیماری، ارزشمند می‌باشد. اتیولوژی این بیماری مشخص نیست ولی فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در استعداد ابتلا به بیماری نقش دارند (۲).

مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که شیوع MS در مناطقی که بیشتر در معرض نور خورشید هستند، به دلیل نقش مهمی که اشعه ماوراء بنفش در تولید ویتامین D دارد، کمتر است. همچنین در

جوامعی که غذاهای سرشار از ویتامین D مصرف می‌کنند، شیوع و شدت بیماری کمتر می‌باشد. این مطالعات نشان از ارتباط ویتامین D با این بیماری دارد. اخیراً استفاده از ویتامین D در درمان این بیماری، مورد توجه محققین قرار گرفته است. هر چند مطالعات *in vivo* و *in vitro* نشان می‌دهند که ویتامین D3 در کاهش شدت بیماری‌های خود ایمن از جمله MS مؤثر است، ولی هنوز در خصوص چگونگی تأثیر ویتامین D3 بر مهار بیماری، اطلاعات روشنی در دسترس نمی‌باشد (۳).

جهت مطالعه فرضیات مختلف در رابطه با مکانیسم‌های ترمیمی در بیماری MS از مدل‌های حیوانی استفاده می‌شود (۱). دمیلیناسیون موضعی ناشی از مواد شیمیایی مدل مناسبی برای بررسی عوامل مؤثر بر میلیناسیون و دمیلیناسیون است که در بیماری‌های دمیلینه کننده مانند MS اتفاق

سزایی برخوردار است و نقش ویتامین D در حفظ سلامت نورون‌ها نیز نشان داده شده است (۱۲). امروزه مشخص شده است که بسیاری از ویتامین‌ها به‌ویژه ویتامین D (۱۳) بر پدیده‌های یادگیری و حافظه تأثیرگذارند. اگرچه اطلاعات در این زمینه اندک است، اما نتایج برخی تحقیقات نشان می‌دهند که ویتامین D و فرم فعل آن (کلسیتریول) بر پدیده شناخت مؤثرند (۱۴ و ۱۵). از آنجایی که در ۲۵ تا ۶۰ درصد بیماران مبتلا به MS اختلال حافظه گزارش شده است (۱۶)، بنابراین تصمیم گرفته شد تا در این مطالعه حافظه کاری و حافظه مرجع فضایی را در مدل تجربی بیماری MS در موش صحرایی نر پس از درمان با ویتامین D3 بررسی گردد.

روش کار

روش مطالعه: در این مطالعه، از موش‌های صحرایی نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم (خریداری شده از انسٹیتو پاستور ایران) استفاده شد. حیوانات در هر قفس به‌طور انفرادی تحت شرایط ۱۲ ساعت تاریکی/ روشنایی در دمای کنترل شده اتاق (23 ± 2) نگهداری شدند که دسترسی کامل به آب و غذا داشتند. در این مطالعه کلیه موazین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق قوانین مصوب کمیته اخلاق در پژوهش‌های پژوهشی رعایت شد. حیوانات به‌طور تصادفی در ۹ گروه قرار گرفتند ($n=8$).

(۱) گروه کنترل (سالین) که تحت جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند و ۲ میکرولیتر سالین CA1 ۰/۹ درصد (حلال لیزولسیتین) در ناحیه هیپوکمپ آن‌ها تزریق شد.

(۲) گروه کنترل (روغن کنجد) ۱۴ روزه که پس از جراحی استرئوتاکسی، به مدت ۱۴ روز ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد (حلال ویتامین D3) را به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

(۳) گروه کنترل (روغن کنجد) ۲۱ روزه که پس از جراحی استرئوتاکسی، به مدت ۲۱ روز ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد (حلال ویتامین D3) را به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

(۴) گروه کنترل (ویتامین) ۱۴ روزه که پس از

می‌افتد (۴). در این مطالعه، دترجنت لیزولسیتین برای القای دمیلیناسیون انتخاب شد، زیرا با اثر بر روی سلول‌های میلینه کننده، سبب آسیب به میلین می‌شود و از مرگ سایر سلول‌ها مثل آستروسیت‌ها و آسیب آکسونی جلوگیری می‌کند (۱). طبق پژوهش‌های انجام شده تا به حال از توکسین لیزولسیتین جهت القای دمیلیناسیون موضعی در نواحی مختلف CNS مثل پایک تحتانی مخچه (۵) و عصب بینایی (۶) استفاده شده است. ناحیه هیپوکمپ به بیماری‌های نورودئزراتیو بسیار حساس و آسیب‌پذیر می‌باشد (۷) و به دلیل داشتن سلول‌های بنیادی عصبی، توانایی تکثیر، تمایز، آسیب‌پذیری و همچنین قابلیت بازسازی ناحیه مناسبی جهت مطالعه‌ی مکانیسم‌های دخیل در فرآیند یادگیری، حافظه و ترمیم عصبی خواهد بود (۸).

حافظه‌های فضایی، شامل حافظه‌های کاری و مرجع، جنبه‌هایی از روندهای شناختی هستند که به‌وسیله آن‌ها توانایی‌های انسان و حیوان مورد ارزیابی واقع شده است (۹). حافظه کاری نوعی از حافظه است که اطلاعات مربوط به آنکه برای انجام فعالیتی مورد استفاده قرار می‌گیرد در طول زمان تغییر نمی‌کند درحالی که اطلاعات مربوط به حافظه مرجع بر حسب شرایط قابل تغییر است (۱۰).

نقایص شناختی به‌طور معمول به عنوان یکی از عوارض بالینی ناتوان کننده در بیماری MS شناسایی شده است. شایع‌ترین نقایص شناختی در میان بیماران مبتلا به MS شامل کاهش سرعت پردازش اطلاعات، کاهش حافظه و اختلال در درک فضایی می‌باشند. اطلاعات به دست آمده از مطالعات تصویربرداری مغناطیسی رزونانس (MRI) در شرایط In-vivo نشان می‌دهند که علاوه بر ماده‌ی سفید، بخش‌های خاکستری مغز به‌ویژه هیپوکمپ نیز دچار دمیلیناسیون و تغییرات ساختاری می‌گردند که این تغییرات ساختاری با اختلال عملکرد در آزمون‌های حافظه تصویری-فضایی همراه می‌شود (۱۱).

سلامت ساختاری و عملکردی نورون‌ها در تشکیل پدیده‌های حافظه و یادگیری از اهمیت به

(۴). سپس محورهای دستگاه استرئوتاکسی در سه جهت فضایی تنظیم و حیوان در دستگاه استرئوتاکسی قرار گرفت. موهای سر حیوان با قیچی کوتاه و پوست ناحیه توسط پنبه آغشته به الكل ۷۰ درصد تمیز و سپس یک برش طولی ۱/۵ سانتی‌متری در پوست جمجمه در حدفاصل دو چشم تا برآمدگی استخوان پس‌سری ایجاد گردید. عضلات و بافت‌های سطح جمجمه برداشته شد و سطح استخوان تمیز و خشک گردید تا محل درزها (برگما، لامبدا و ساجیتال) نمایان گردد. مختصات ناحیه CA1 هیپوکمپ (۱۷) با توجه به اطلس پاکسینوس ($ML = \pm 2/2$ و $DV = +3/2$) تعیین گردید. سپس سوراخی به قطر ۱/۵ میلی‌متر توسط مته دندان پزشکی در آن نقطه ایجاد گردید. پرده سخت‌شامه با نوک سوزن برداشته شد و یک نوبت تزریق مستقیم ۲ میکرولیتر لیزولسیتین (۱۸) (با سرعت ۱ میکرولیتر در هر دقیقه) با استفاده از سرنگ همیلتون در ناحیه CA1 صورت گرفت. جهت اطمینان از فراهم نمودن زمان لازم برای انتشار لیزولسیتین، سوزن تزریق به مدت ۵ دقیقه در محل تزریق نگه داشته می‌شد تا مایع به‌طور کامل به فضاهای بافتی نفوذ کند. پس از جراحی هر حیوان به‌طور انفرادی در قفس نگهداری شد. حیوانات گروه تحت درمان با ویتامین D3 ۵ میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 را به مدت ۱۴ و ۲۱ روز پس از القای دمیلیناسیون توسط لیزولسیتین به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. همچنین از روغن کنجد به عنوان حلال ویتامین استفاده گردید (۱۹).

بررسی حافظه کاری و مرجع فضایی توسط دستگاه ماز شعاعی ۸ بازویی: دستگاه ماز شعاعی شامل ۸ بازوی کاملاً یکسان است که به صورت شعاعی از یک صفحه مرکزی کوچک دایره‌ای شکل منشعب می‌شوند. ظروف غذا در کف هر بازو قرار داده شد تا تکه‌های غذا در آنجا ریخته شود که این امر به‌منظور کم کردن قابلیت دید از مرکز است. چندین علامت قابل دید مانند پوسترهای کاغذهای رنگی با اشکال مختلف روی دیوار قرار می‌گیرند. این علائم به حیوان جهت پیدا کردن

جراحی استرئوتاکسی، به مدت ۱۴ روز ۵ میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 را در ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

(۵) گروه کنترل (ویتامین) ۲۱ روزه که پس از جراحی استرئوتاکسی، به مدت ۲۱ روز ۵ میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 را در ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

(۶) گروه لیزولسیتین (۱۴ روزه) که تحت جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند و به‌منظور القای دمیلیناسیون، ۲ میکرولیتر لیزولسیتین (Sigma, USA) ۱ درصد در سالین ۹٪ در ناحیه هیپوکمپ (CA1) دریافت کردند. این گروه ۱۴ روز پس از تزریق لیزولسیتین مورد بررسی قرار گرفتند.

(۷) گروه لیزولسیتین (۲۱ روزه) که تحت جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند و به‌منظور القای دمیلیناسیون، ۲ میکرولیتر لیزولسیتین (Sigma, USA) ۱ درصد در سالین ۹٪ در ناحیه هیپوکمپ (CA1) دریافت کردند. این گروه ۲۱ روز پس از تزریق لیزولسیتین مورد بررسی قرار گرفتند.

(۸) گروه تحت درمان با ویتامین به مدت ۱۴ روز که پس از جراحی و دریافت ۲ میکرولیتر لیزولسیتین، ۵ میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 را در ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد به مدت ۱۴ روز پس از ضایعه به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

(۹) گروه تحت درمان با ویتامین به مدت ۲۱ روز که پس از جراحی و دریافت ۲ میکرولیتر لیزولسیتین، ۵ میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 را در ۱۵۰ میکرولیتر روغن کنجد به مدت ۲۱ روز پس از ضایعه به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

جراحی استرئوتاکسی: جهت القای دمیلیناسیون، حیوانات تحت جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند. به این منظور، حیوانات توسط داروی کتابی (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلزین (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی بیهوش شدند

(PFA) ۴ درصد انجام شد. سپس مغز حیوان از جمجمه جدا و برای بهتر فیکس شدن به مدت ۲۴ ساعت در پارافرمالدهید ۴ درصد در دمای ۴ سانتی گراد نگهداری شد. پس از پاساژ نمونه بلوک های پارافینی تهیه و برش های کرونال ۵ میکرونی از نمونه ها تهیه شد. سپس برش ها با رنگ آمیزی اختصاصی میلین Luxol Fast Blue و Crysel Fast Violet رنگ آمیزی شدند (۲۴).

مقاطع بافتی تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند تا موقعیت دقیق محل تزریق لیزولسیتین در ناحیه CA1 تائید شود (شکل ۱). نتایج به دست آمده از هر حیوان در مطالعات رفتاری، تنها در صورتی جهت تجزیه و تحلیل آماری پذیرفته می شد که محل تزریق در ناحیه CA1 قرار داشت.

آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت. از آنالیز واریانس داده های تکراری (Repeated measure ANOVA) (۲۱) برای تجزیه تحلیل داده ها استفاده شد. داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (Mean \pm SEM) ارائه شد و $p < 0.05$ به عنوان حداقل سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

یافته ها

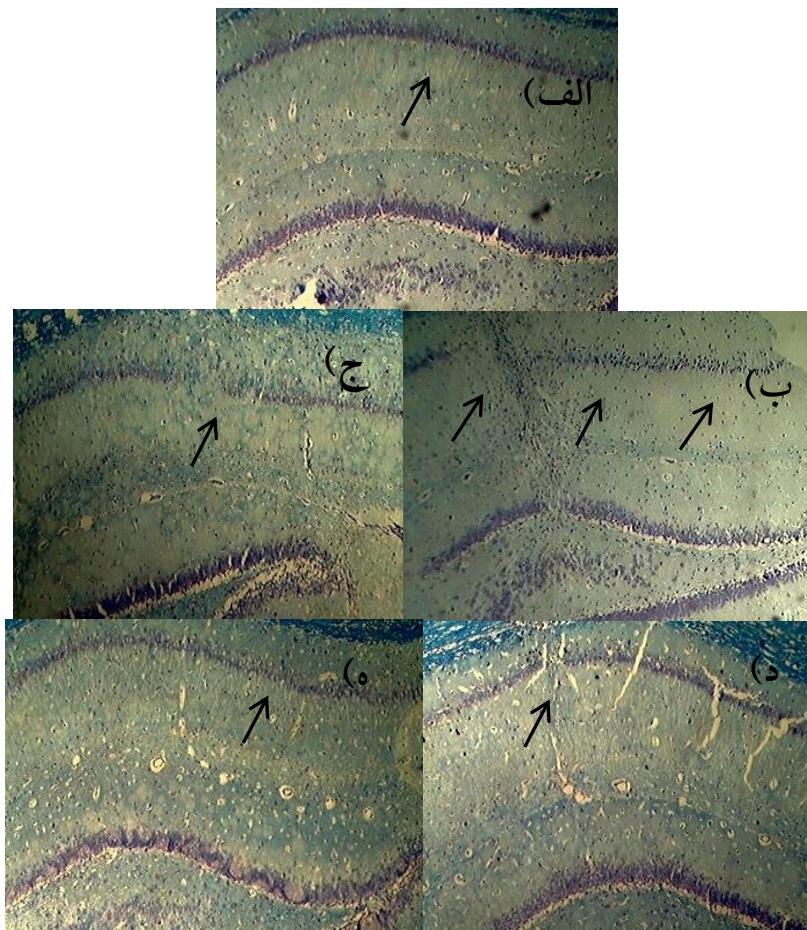
یافته های این پژوهش اختلاف معناداری را بین گروه های کنترل سالین، روغن کنجد و ویتامین در مطالعات رفتاری نشان ندادند. از این رو میانگین داده های سه گروه محاسبه و به عنوان گروه کنترل ارائه شد.

نتایج بافت شناسی: مطالعه هیستولوژیک ناحیه CA1 هیپوکمپ نشان داد که در گروه کنترل ناحیه CA1 هیپوکمپ سالم بوده و هیچ دمیلیناسیونی مشاهده نگردید. لیزولسیتین در ۱۴ و ۲۱ روز پس از تزریق موضعی موجب دمیلیناسیون مشخص و وسیعی در ناحیه CA1 هیپوکمپ گردید (شکل ۱).

نتایج مطالعات رفتاری طی روزهای ۱۱-۱۴: تجزیه تحلیل آماری داده ها (آنالیز واریانس داده های تکراری) نشان داد که گروه لیزولسیتین در روزهای یازدهم ($p = 0.04$), دوازدهم

غذا کمک می کنند. حیوان در تمامی روزهای آموزش و آزمون در یک جهت ثابت قرار گرفت تا شرایط برای تمامی حیوانات یکسان باشد. به منظور فراهم آوردن انگیزه لازم برای جستجو کردن حیوان، میزان غذای حیوان تا حدی کاهش یافت که میزان وزن موش ها به ۸۵ درصد وزن آن ها در حالت تغذیه نرمال برسد. یک ورود به بازو زمانی ثبت می شود که ۴ اندام حرکتی حیوان وارد بازو شود. آزمایش های رفتاری در گروه های کنترل (کنجد و ویتامین) و گروه تحت درمان با ویتامین D3، پس از تجویز داخل صفاقی روغن کنجد و ویتامین D3 انجام گرفت. در روز اول به حیوان اجازه داده شد تا ۵ دقیقه به منظور آشنایی با محیط، دستگاه ماز را آزادانه بگردد که به این مرحله، مرحله خوگیری گویند. در این مرحله هیچ گونه غذایی در دسترس حیوان قرار نگرفت. روزهای دوم و سوم به عنوان جلسات آموزش شامل دو جلسه در هر روز به مدت ۵ دقیقه بود که در دو نوبت صبح و عصر انجام شد. در این مرحله غذا در چهار بازوی ثابت (بازو های ۱، ۲، ۴ و ۷) قرار گرفت (۲۰). بعد از اتمام جلسات آموزش، جلسات آزمون به مدت ۵ دقیقه با قرار دادن غذا در بازو های مذکور شامل یک جلسه در هر روز طی روزهای یازدهم تا چهاردهم و هجدهم تا بیست و یکم انجام شد (۲۱). اطلاعات به وسیله یک دوربین دیجیتال نصب شده در بالای رادیال ماز ثبت شد. پس از اتمام آزمون های رفتاری فیلم به کامپیوتر منتقل شد و اطلاعات ثبت شده شامل زمان سپری شده جهت اولین ورود به بازو های محتوی غذا، تعداد ورود مجدد به بازو های حاوی غذا به عنوان معیاری جهت بررسی خطای حافظه کاری و تعداد ورود به بازو های فاقد غذا به عنوان معیاری جهت بررسی خطای حافظه مرجع یادداشت گردید (۲۲) و (۲۳).

بافت شناسی: حیوانات در گروه های آزمایشی مختلف در روزهای مورد نظر (۱۴ و ۲۱ پس از تزریق)، با تزریق داخل صفاقی کتابیین و زایلزین بیهوده شدند و عمل پر فیوزن به منظور خارج نمودن خون درون رگ ها از طریق بطん چپ با بافر فسفات سالین (PBS) (۰/۱ مولار و پارافرمالدهید

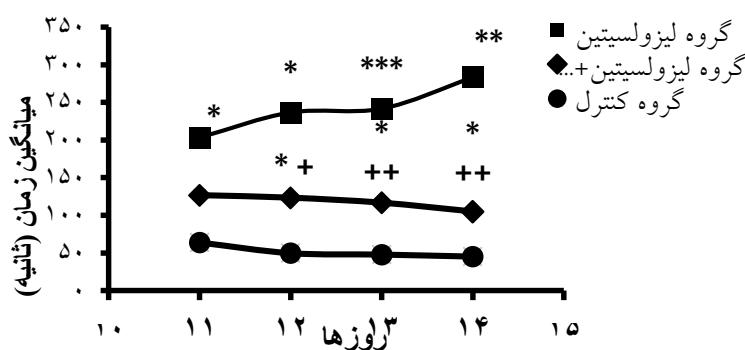


شکل ۱- رنگ آمیزی اختصاصی میلین (لوگزول فست بلو و کریزل فست ویولت) از بافت هیپوکمپ در مقاطع تهییه شده از مغز حیوانات در گروه ها و زمان های متفاوت. فلش ها ناحیه تزریق در هیپوکمپ (ناحیه CA1) را نشان می دهند. (الف) در گروه کنترل هیچ دمیلیناسیون دیده نشد. (ب) در گروه لیزوولسیتین (۱۴ روز پس از تزریق لیزوولسیتین) (ج) در گروه لیزوولسیتین (۲۱ روز پس از تزریق لیزوولسیتین) (د) در گروه تحت درمان با ویتامین D3 به مدت ۱۴ روز (ه) در گروه لیزوولسیتین (۲۱ روز پس از تزریق لیزوولسیتین) در گروه تحت درمان با ویتامین D3 به مدت ۲۱ روز.

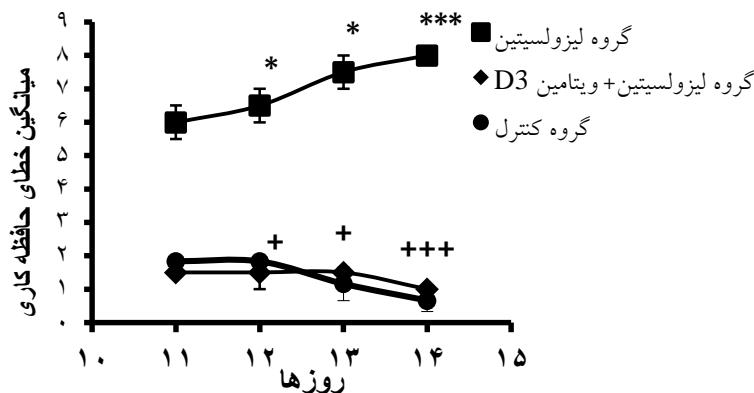
از طرفی نتایج نشان داد که تزریق لیزوولسیتین موجب افزایش معنادار خطای حافظه کاری طی روزهای دوازدهم ($p=0.03$)، سیزدهم ($p=0.003$) و چهاردهم ($p=0.0001$) در مقایسه با گروه کنترل زمان گردید. با این وجود، تزریق ۱۴ روز ویتامین D3 در گروه تحت درمان منجر به کاهش معنادار خطای حافظه کاری نسبت به گروه لیزوولسیتین طی روزهای دوازدهم ($p=0.05$)، سیزدهم ($p=0.02$) و چهاردهم ($p=0.001$) شد (نمودار ۲).

با بررسی میانگین های خطای حافظه مرجع مشخص گردید که طی روزهای دوازدهم ($p=0.017$)، سیزدهم ($p=0.02$) و چهاردهم ($p=0.001$) میزان خطای حافظه مرجع در گروه لیزوولسیتین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت. در حالی که تزریق ویتامین به

سیزدهم ($p=0.019$)، سیزدهم ($p=0.005$) و چهاردهم ($p=0.0005$) در مقایسه با گروه کنترل زمان بیشتری را برای یافتن بازو های حاوی غذا سپری کردند که نشان دهنده اثر تخریبی لیزوولسیتین به عنوان القاکننده بیماری MS بر روی حافظه فضایی می باشد. همچنین در گروه تحت درمان با ویتامین در مقایسه با گروه کنترل در روزهای دوازدهم ($p=0.02$)، سیزدهم ($p=0.04$) و چهاردهم ($p=0.02$) اختلاف معناداری مشاهده شد. در حالی که گروه تحت درمان با ویتامین نسبت به گروه لیزوولسیتین زمان کمتری را جهت اولین ورود به بازوی حاوی غذا سپری کردند؛ به طوری که بین این دو گروه در روزهای دوازدهم ($p=0.03$)، سیزدهم ($p=0.05$) و چهاردهم ($p=0.006$) اختلاف معناداری مشاهده شد (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه میانگین زمان سپری شده جهت اولین ورد به بازوی مختلف طی روزهای ۱۱-۱۴ آزمون. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین بیان شده است. *p<۰/۰۵ و **p<۰/۰۱ و ***p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل (سالین، روغن کنجد و ویتامین) و +p<۰/۰۵ و ++p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه لیزولیستین در نظر گرفته شده است.



نمودار ۲- مقایسه میانگین خطای حافظه کاری در گروه های مختلف طی روزهای ۱۱-۱۴ آزمون. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین بیان شده است. *p<۰/۰۵ و **p<۰/۰۱ و ***p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل (سالین، روغن کنجد و ویتامین) و +p<۰/۰۵ و ++p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه لیزولیستین در نظر گرفته شده است.

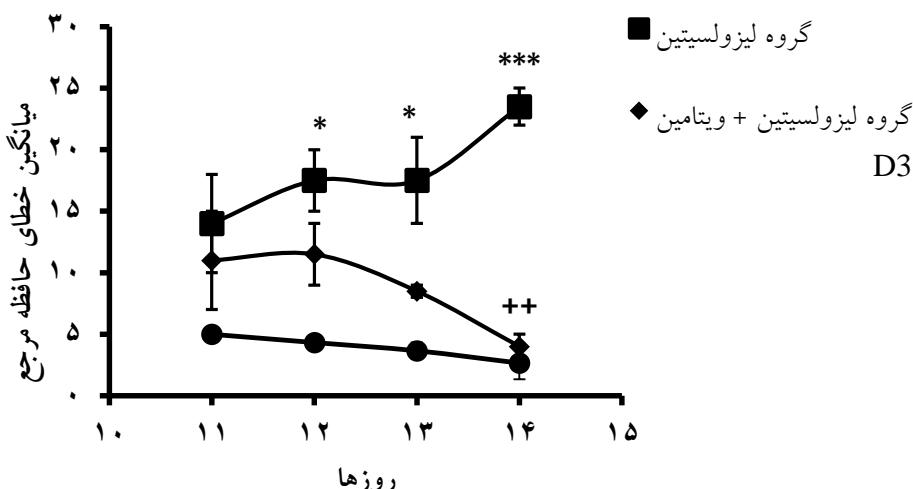
مدت ۱۴ روز نسبت به گروه لیزولیستین در روز چهاردهم ($p=۰/۰۲$) خطای حافظه مرجع را به طور معناداری کاهش داد (نمودار ۳).

نتایج مطالعات رفتاری طی روزهای ۱۸-۲۱ زمان سپری شده در طی روزهای نوزدهم ($p=۰/۰۳$)، بیستم ($p=۰/۰۹$) و بیست و یکم ($p=۰/۰۴$) توسط گروه لیزولیستین نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. همچنین در گروه تحت درمان با ویتامین در مقایسه با گروه کنترل در روزهای نوزدهم ($p=۰/۰۸$)، بیستم ($p=۰/۰۳$) و بیست و یکم ($p=۰/۰۲$) اختلاف معناداری مشاهده شد. گروه تحت درمان با ویتامین نسبت به گروه لیزولیستین زمان کمتری را برای یافتن بازوی مختلفی غذا سپری کردند که در روزهای نوزدهم

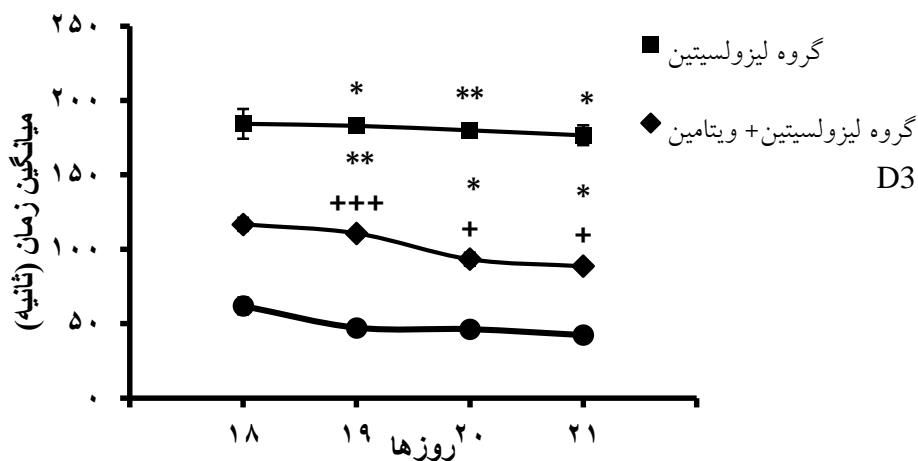
تزریق لیزولیستین در روزهای بیستم ($p=۰/۰۰۴$) و بیست و یکم ($p=۰/۰۲$) موجب

زمان سپری شده در طی روزهای نوزدهم ($p=۰/۰۳$)، بیستم ($p=۰/۰۹$) و بیست و یکم ($p=۰/۰۴$) توسط گروه لیزولیستین نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. همچنین در گروه تحت درمان با ویتامین در مقایسه با گروه کنترل در روزهای نوزدهم ($p=۰/۰۸$)، بیستم ($p=۰/۰۳$) و بیست و یکم ($p=۰/۰۲$) اختلاف معناداری مشاهده شد. گروه تحت درمان با ویتامین نسبت به گروه لیزولیستین زمان کمتری را برای یافتن بازوی مختلفی غذا سپری کردند که در روزهای نوزدهم

زمان سپری شده در طی روزهای نوزدهم ($p=۰/۰۳$)، بیستم ($p=۰/۰۹$) و بیست و یکم ($p=۰/۰۴$) توسط گروه لیزولیستین نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. همچنین در گروه تحت درمان با ویتامین در مقایسه با گروه کنترل در روزهای نوزدهم ($p=۰/۰۸$)، بیستم ($p=۰/۰۳$) و بیست و یکم ($p=۰/۰۲$) اختلاف معناداری مشاهده شد. گروه تحت درمان با ویتامین نسبت به گروه لیزولیستین زمان کمتری را برای یافتن بازوی مختلفی غذا سپری کردند که در روزهای نوزدهم



نمودار ۳- مقایسه میانگین خطای حافظه مرجع در گروه های مختلف طی روزهای ۱۱-۱۴ آزمون. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین بیان شده است. $p<0.05$ و $p<0.01$ ** در مقایسه با گروه کنترل (سالین، روغن کنجد و ویتامین) و $p<0.01$ ++ در مقایسه با گروه لیزو لسیتین در نظر گرفته شده است.



نمودار ۴- مقایسه میانگین زمان سپری شده جهت اولین ورود به بازوی محتوی غذا در گروه های مختلف طی روزهای ۱۸-۲۱ تست. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین بیان شده است. $p<0.05$ و $p<0.01$ ** در مقایسه با گروه کنترل (سالین، روغن کنجد و ویتامین) و $p<0.01$ ++ در مقایسه با گروه لیزو لسیتین در نظر گرفته شده است.

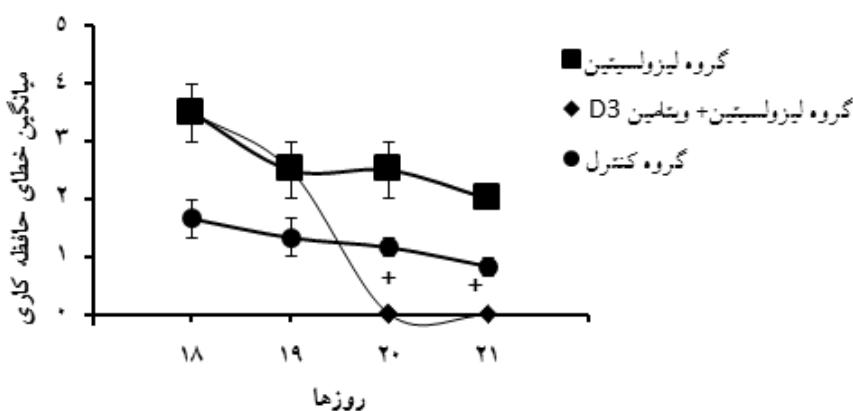
بهره گیری از مطالعات رفتاری تغییرات ناشی از دمیلیناسیون ردیابی گردد. با استفاده از این مدل تزریق لیزو لسیتین منجر به دمیلیناسیون آشکار در ناحیه CA1 هیپو کمپ گردید. نتایج مطالعه حاضر مبنی بر تأثیر لیزو لسیتین در تخریب میلین، با نتایج به دست آمده از مطالعات انجام گرفته توسط Makinodan و همکاران (۲۵)، Mozafari و همکاران همکاران (۴) و Pourabdolhossein و همکاران (۱) هم راست است.

تشکیلات ساختاری هیبو کامپ به عنوان یکی از مهم ترین بخش های خاکستری CNS در بیماری

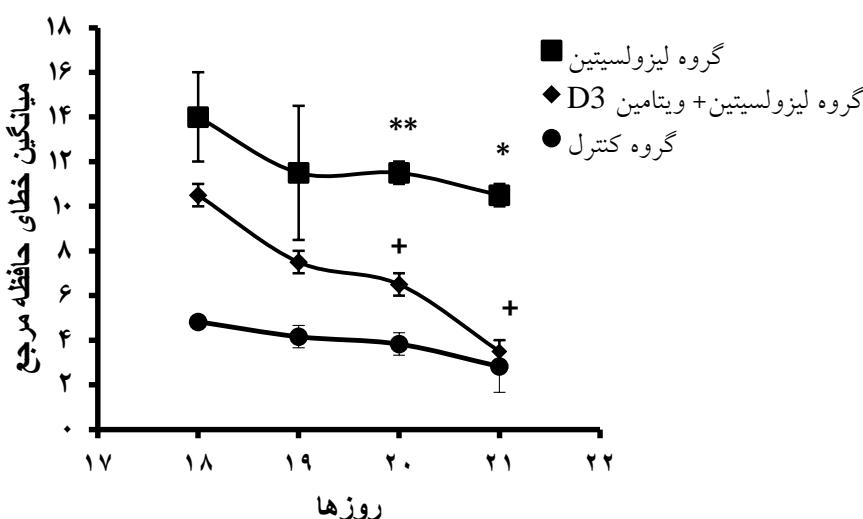
افزایش معنادار خطای حافظه مرجع در مقایسه با گروه کنترل گردید. با این وجود، تزریق ۲۱ روز ویتامین D3 در گروه تحت درمان نسبت به گروه لیزو لسیتین در روزهای بیستم ($p=0.04$) و بیست و یکم ($p=0.02$) منجر به کاهش معنادار خطای حافظه مرجع شد (نمودار ۶).

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه ما مدلی را تکوین داده ایم که با استفاده از لیزو لسیتین قادر به القا هدفمند دمیلیناسیون در ناحیه CA1 هیپو کمپ بوده و با



نمودار ۵- مقایسه میانگین خطای حافظه کاری در گروه های مختلف طی روزهای ۱۸-۲۱ آزمون. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین بیان شده است. $p<0.05$ + در مقایسه با گروه لیزولسیتین در نظر گرفته شده است.



نمودار ۶- مقایسه میانگین خطای حافظه مرجع در گروه های مختلف طی روزهای ۱۸-۲۱ آزمون. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین بیان شده است. $p<0.05$ * و $p<0.01$ **+ در مقایسه با گروه کنترل (سالین، روغن کنجد و ویتامین) و $p<0.05$ + در مقایسه با گروه لیزولسیتین در نظر گرفته شده است.

به هیپوکمپ را دچار اختلال می کند، به طوری که منجر به افزایش معنادار زمان سپری شده جهت اولین ورود به بازوی محتوی غذا، افزایش خطاهای حافظه کاری و مرجع فضایی در گروه های لیزولسیتین نسبت به گروه کنترل گردید. این نتایج می تواند به دلیل دمیلیناسیون وسیع ناحیه CA1 هیپوکمپ متعاقب تزریق لیزولسیتین و ایجاد اختلالات حافظه کاری و مرجع فضایی باشد. مطالعه فارماکولوژی نشان داده که لیزولسیتین باعث تخریب حافظه و یادگیری در مدل های مختلف یادگیری می شود (۲۸). همچنین

MS تحت تأثیر قرار می گیرد (۱۶). نقایص شناختی یکی از مهم ترین تعیین کننده های کیفیت زندگی مبتلایان به این بیماری محسوب می شود (۲۶). توافق گستره ای وجود دارد که حافظه فضایی (حافظه کاری و مرجع) به سلامت هیپوکمپ بستگی دارد، به طوری که مطالعات نشان داده که آسیب هیپوکمپ منجر به اختلالاتی در حافظه فضایی می شود (۲۰ و ۲۷).

تحقیق حاضر نشان داد که تزریق لیزولسیتین به صورت مستقیم به تشکیلات هیپوکمپ (ناحیه CA1) عملکرد یادگیری و حافظه فضایی وابسته

طولانی مدت با ویتامین D₃ اختلالات حافظه کاری و مرجع فضایی ایجاد شده در اثر تزریق لیزولسیتین را بهبود بخشیده است.

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مصرف ویتامین D باعث کاهش دمیلیناسیون در مدل‌های تجربی MS (۱۶ و ۳۶) و شدت بیماری در بیماران مبتلا به MS می‌گردد (۳۷). لذا این نظریه پیشنهاد می‌شود که در مطالعه حاضر، ویتامین D می‌تواند با کاهش دمیلیناسیون در بهبود اختلالات حافظه کاری و مرجع فضایی ایجاد شده متعاقب دمیلیناسیون موضوعی القا شده توسط لیزولسیتین نقش داشته باشد.

شواهدی وجود دارند که نشان می‌دهند استرس اکسیداتیو در اختلالات دمیلینه کننده نظیر MS نقش دارد. افزایش استرس اکسیداتیو اثرات مضری را بر عملکرد سیستم عصبی اعمال می‌کند که با بیماری‌های تحلیل بزندگی CNS و نقايس شناختی ایجاد شده در آن‌ها، ارتباط دارد (۳۸)؛ به طوری که نشان داده شده که افزایش استرس اکسیداتیو در گونه‌های مختلف حیوانی تحریب نورونی را تسريع کرده (۳۹) و عملکردهای شناختی و یادگیری را کاهش می‌دهد (۴۰). از طرف دیگر مشاهده شده که در بیماری‌های نورودژنراتیو سطح آنتی‌اکسیدان‌های بافت مغز و مایع مغزی نخاعی تغییر می‌یابد (۴۱)، لذا درمان آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مفید واقع شود. مطالعات متعددی اثرات مؤثر ویتامین D₃ را در برابر استرس اکسیداتیو نشان داده‌اند (۴۲). در مطالعه قبلی‌مان نقش آنتی‌اکسیدانی ویتامین D₃ در مدل تجربی بیماری MS مشخص گردید. به طوری که نشان دادیم که تزریق ویتامین D₃ به مدت ۷ روز، باعث کاهش وضعیت استرس اکسیداتیو متعاقب تزریق لیزولسیتین می‌شود (۴۳)؛ بنابراین ویتامین D₃ از طریق اثر حفاظتی خود در برابر آسیب اکسیداتیو می‌تواند در بهبود اختلالات شناختی ایجاد شده در مدل تجربی بیماری MS مؤثر واقع گردد.

مطالعه دیگری که توسط مسیبی و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام گرفته نشان داد که ویتامین D₃ در موش‌های مبتلا به EAE از طریق مهار تولید

Makinodan و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که تزریق لیزولسیتین به ناحیه هیپوکمپ پشتی منجر به اختلالات رفتاری می‌گردد (۲۵) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

مطالعات انجام گرفته توسط Kim و همکاران Ziehn و همکاران Nizri و همکاران (۳۰) (۳۱) در مدل انسفالومیلیت خود اینمن تجربی Encephalomyelitis Autoimmune Experimental (EAE) حاکی از اختلال حافظه فضایی در مدل‌های تجربی بیماری MS می‌باشد. همچنین یافته‌های دیگری که با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر اختلال حافظه فضایی متعاقب تزریق موضعی گلیوتوكسین در ناحیه CA1 هیپوکمپ همسو می‌باشد، مطالعات انجام گرفته شده توسط RahimluyMarjani و همکاران در سال ۲۰۱۴ (۳۲) و Ghaffari و همکاران در سال ۲۰۱۳ (۳۳) می‌باشد. در مطالعات مذکور به منظور القای MS از گلیوتوكسین اتیدیوم بروماید و جهت بررسی حافظه فضایی از ماز آبی موریس استفاده شده است.

حضور گیرنده‌های ویتامین D در نواحی درگیر در یادگیری و حافظه به اثبات رسیده است (۹). همچنین مطالعات انجام شده به وسیله محققین در مورد اثرات ویتامین D در سیستم عصبی حاکی از آن است که این ویتامین نقش تعیین‌کننده‌ای در پدیده‌های شناختی ایفا می‌کند (۳۴)؛ به طوری که آزمایش‌های انجام شده توسط Taghizadeh و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داد که عملکرد فضایی در رت‌هایی با کمبود ویتامین D₃ نسبت به موش‌های دریافت کننده ویتامین D₃ ضعیفتر می‌باشد. همچنین نشان داده‌اند که میزان خطاهای آزمایش در آزمون رفتاری ماز آبی موریس در گروه دریافت کننده‌ی ویتامین D₃ نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است (۳۵).

همراستا با یافته‌های Taghizadeh و همکاران در سال ۲۰۱۳، در مطالعه حاضر تجویز ویتامین D₃ به مدت ۱۴ و ۲۱ روز موجب کاهش معنادار پارامترهای خطای حافظه کاری و خطای حافظه مرجع نسبت به گروه‌های لیزولسیتین در این روزها گردید که نشان‌دهنده‌ی این است که درمان

آمده طی بیماری‌های تحلیل برنده عصبی از جمله MS مورد توجه قرار گیرد.

منابع

- Pourabdolhossein F, Javan M, Mirnajafi-Zadeh J, Dehghan S, Sherafat M, Mozafari S, et al. [PKC Mediates endogenous inhibition of myelin repair in the context of local demyelination induced in mice optic chiasm]. *Feyz*. 2010;14(4):369-79. Persian.
- Sorensen PS. Multiple sclerosis: pathophysiology revisited. *Lancet Neurol*. 2005; 4(1):9-10.
- Van Amerongen BM, Dijkstra CD, Lips P, Polman CH. Multiple sclerosis and vitamin D: An update. *Eur J Clin Nutr*. 2004; 58(8):1095-109.
- Mozafari S, Javan M, Sherafat M, Mirnajafi-Zadeh J, Heibatollahi M, Pour-Beiranvand SH, et al. Analysis of structural and molecular events associated with adult rat optic chiasm and nerves demyelination and remyelination; possible role for 3rd ventricle proliferating. *Cells Neuromol Med*. 2011;13:138-50.
- Lachapelle F, Bechelin C, Moissonnier P, Nait-Oumesmar B, Fontaine D, Baron-Van Evercooren A. Failure of remyelination in the non humanprimateoptic nerve. *Brain Pathol*. 2005;15(3):198-207.
- Kotter MR, Li WW, Zhao C, Franklin RJM. Myelin impairs CNS remyelination by inhibiting oligodendrocyte precursor cell differentiation. *J Neurosci*. 2006;26:328-32.
- Nakatomi H, Kuriu T, Okabe S, Yamamoto S, Hatano O, Kawahara N, et al. Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors. *Cell*. 2002;110:429-41.
- Choopani S, Moosavi M, Naghdi N. Involvement of nitric oxide in insulin induced memory improvement. *Peptides Sci*. 2008;29:898-903.
- Taghizadeh M, Jazayeri A, Salami M, Ashraghian M, Talaei Zavareh SA. [Effect of vitamin D deficiency and calcitriol supplementation on adult rats' learning and memory in Morris water maze]. *Feyz*. 2010;13(4):251-60. Persian.
- Gresack JE, Frick KM. Male mice exhibit better spatial working and reference memory than females in a water-escape radial arm maze task. *Brain Res*. 2003; 2(1):98-107.
- Glanz BI, Healy BC, Hviid LE, Chitnis T, Weiner HL. Cognitive deterioration in patients with early multiple sclerosis: a 5-year study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012;83(1):38-43.
- Hoenderop JG, Nilius B, Bindels RJ. Calcium absorption across epithelia. *Physiol Rev*. 2005;

نیتریک اکساید، تعدیل پاسخ‌های ایمنی و کاهش ارتشاح لوکوسیت‌ها به مغز سبب کاهش شدت بیماری، علائم کلینیکی و تعدیل بیماری می‌گردد (۱۹). در هر صورت مکانیسم دقیق اثر ویتامین D در جلوگیری از بیماری یا کاهش شدت علائم بالینی بیماری مشخص نیست. پاره‌ای مطالعات نشان داده که ویتامین D3 با اثر ایمونومدولاتوری موجب مهار پاسخ‌های ایمنی می‌شود و معتقدند که ویتامین D از این طریق مانع ایجاد MS می‌شود (۴۴). از طرفی ثابت شده که ویتامین D می‌تواند از طریق فعال‌سازی سلول‌های الیگو‌دندروسیت موجب بهبود علائم بیماری گردد (۴۵).

همچنین نشان داده شده است که ویتامین D می‌تواند با دخالت در تعادل کلسیم درون‌سلولی از دژنره شدن نورون‌ها که همراه با اختلالات شناختی است، جلوگیری نماید (۴۶). در هر صورت در خصوص عملکرد ویتامین D3 در مهار بیماری MS مکانیسم‌های متعددی را مطرح می‌کنند؛ بنابراین اثرات این ویتامین در CNS دیدگاه جدیدی را برای توان درمانی این ویتامین در عرصه سلامت پدید می‌آورد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر، عدم بررسی وسعت و شدت دمیلیناسیون القا شده توسط لیزولسیتین و همین‌طور عدم بررسی وسعت و شدت دمیلیناسیون احتمالی القا شده توسط تزریق داخل صفاقی ویتامین D3 می‌باشد. با این حال، ارزیابی اثرات مفید ویتامین D3 بر روی حافظه کاری و مرجع فضایی در بیماران مبتلا به MS نیازمند مطالعات بالینی بسیار گسترده‌تر می‌باشد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تزریق موضعی گلیوتوكسین لیزولسیتین به تشکیلات هیپوکمپ (ناحیه CA1) عملکرد حافظه کاری و مرجع فضایی وابسته به هیپوکمپ را دچار اختلال می‌کند. این ضعف در عملکرد رفتاری می‌تواند ناشی از دمیلیناسیون ناحیه CA1 هیپوکمپ باشد. با این حال، تزریق داخل صفاقی ویتامین D3 اختلالات حافظه کاری و مرجع فضایی القا شده را بهبود بخشید. بنابراین پیشنهاد می‌شود ویتامین D3 می‌تواند در بهبود اختلالات شناختی به وجود

25. Makinodan M, Tatsumi K, Okuda H, Manabe T, Yamauchi T, Noriyama Y, et al. Lysophosphatidylcholine induces delayed myelination in the juvenile ventral hippocampus and behavioral alterations in adulthood. *Neurochem Int.* 2008;53: 374-81.
26. Ziehn MO, Avedisian AA, Dervin SM, Umeda EA, O'Dell TJ, Oskuhl RR. Therapeutic testosterone administration preserves excitatory synaptic transmission in the hippocampus during autoimmune demyelinating disease. *J Neurosci.* 2012;32: 12312- 24.
27. Longstaff A, editor. *Neuroscience*. First published, Biddies LTD, Guild Ford Press; 2000. p. 375-99.
28. Wallace VC, Cottrell DF, Brophy PJ, Fleetwood-Walker SM. Focal lysolecithin-induced demyelination of peripheral afferents results in neuropathic pain behavior that is attenuated by cannabinoids. *J Neurosci.* 2003;23:3221-33.
29. Kim D, Hao J, Liu R, Turner G, Shi FD, Rho JM. Inflammation-mediated memory dysfunction and effects of a ketogenic diet in a murine model of multiple sclerosis. *PLoS ONE.* 2012;7:35476.
30. Ziehn MO, Avedisian AA, Tiwari-Woodruff S, Voskuhl RR. Hippocampal CA1 atrophy and synaptic loss during experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE. *Lab Invest.* 2010; 90:774-86.
31. Nizri E, Irony-Tur-Sinai M, Faranesh N, Lavon I, Lavi E, Weinstock M, et al. Suppression of neuroinflammation and immunomodulation by the acetylcholinesterase inhibitor rivastigmine. *J Neuroimmunol.* 2008;203:12-22.
32. RahimluyMarjani Z, Hatami H, AliHemmati AR. [The investigation of the role of nitric oxide system in the spatial memory of rats in experimental model of multiple sclerosis]. *Razi J Med Sci.* 2014;20(117):49-58. (Persian).
33. GhaffariSh, HatamiNemati H, Dehghan Gh. [Protective effect of short-term administration of ethanolic saffron extract on improvement of cognitive deficits and decrement of lipid peroxidation induced by ethidium bromide in experimental models of MS]. *PhysiolPharmacol.* 2013;17(3):315-27. Persian.
34. Annweiler C, Schott AM, Rolland Y, Blain H, Herrmann FR, Beauchet O. Dietary intake of vitamin D and cognition in older women: a large population based study. *Neurology.* 2010; 75(20):1810-6.
35. Taghizadeh M, Talaei SA, Salami M. Vitamin D Deficiency impairs spatial learning in adult rats. *Iran Biomed J.* 2013;17(1):42-8.
36. Wergeland S, Torkildsen O, Myhr K-M, Aksnes L, Mørk SJ, Bø L. Dietary vitamin D3 supplements reduce demyelination in the cuprizone model. *PLoS ONE.* 2011;6:e26262.
37. Tajouri L, Ovcaric M, Curtain R, Johnson MP, 85(1):373- 422.
13. Przybelski RJ, Binkley NC. Is vitamin D important for preserving cognition? A positive correlation of serum 25-hydroxyvitamin D concentration with cognitive function. *Arch Biochem Biophys.* 2007;460:202-5.
14. Buell JS, Dawson-Hughes B. Vitamin D and neurocognitive dysfunction: Preventing "Decline"? *Mol Aspects Med.* 2008; 29(6):415-22.
15. McCann JC, Ames BN. Is there convincing biological or behavioral evidence linking vitamin D deficiency to brain dysfunction? *FASEB J.* 2008;22: 982-1001.
16. Goudarzvand M, Javan M, Mirnajafizadeh J, Mozafari S. Vitamins E and D attenuate demyelination and potentiate remyelination processes of hippocampal formation of rats following local injection of ethidium bromide. *Cell Mol Neurobiol.* 2010;30:289-99.
17. Aminizadeh M, Abbasnejad M, Moazedi A, Papahn A. [The effect of bilateral intrahippocampal injection of all-transretinoic acid on spatial learning in adult male rat]. *Physiol Pharmacol.* 2008;12(1):60-7. (Persian).
18. Sherafat M, Javan M, MozafariS, Mirnajafizadeh J, Motamed F. Castration attenuates myelin repair following lysolecithin induced demyelination in rat optic chiasm: An Evaluation Using Visual evoked Potential, Marker Genes Expression and Myelin Staining. *Neurochem Res.* 2011;36:188795.
19. Mosayebi G, Ghazavi A, Payani MA. [The effect of vitamin D3 on the inhibition of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice]. *J Iran Univ Med Sci.* 2006.13; 184-96. Persian.
20. He J, Yamada K, Nakajima A, Kamei H, Nabeshima T. Learning and memory in two different reward tasks in a radial arm maze in rats. *Behav Brain Res.* 2002;134:139-48.
21. MC Gurk SR, Lvin ED, Butcher LL. Radial-arm maze performance in rats is impaired by a combination of nicotinic- cholinergic and D2 dopaminergic antagonist drugs. *Psychpharmacol.* 1989;99(3):371-3.
22. Tarragon E, Lopez L, Ros-Berna F, Yuste J.E, Ortiz-Cullera V, Martin E, et al. The Radial Arm Maze (RAM) for the evaluation of working and reference memory deficits in the diurnal rodent Octodondegus. *Proceedings of Measuring Behavior.* 2012;98-100.
23. Niewoehner B, Single FN, Hvalby Q, Jensen V, Meyer zum Alten Borgloh S, Seeburg PH, et al. Impaired spatial working memory but spared spatial reference memory following functional loss of NMDA receptors in the dentate gyrus. *EUR J Neurosci.* 2007;25:83746.
24. Pistorio A, Hendry S, Wang X.A. modified technique for high-resolution staining of myelin. *Neurosci Meth.* 2006; 53: 135–146.

Griffiths LR, Csurhes P, et al. Variation in the vitamin D receptor gene is associated with multiple sclerosis in an Australian population. *J Neurogenet.* 2005;19(1): 25-38.

38. Abdel-Salam OME, Khadrawy YA, Salem NA, Sleem AA. Oxidative stress in a model of toxic demyelination in rat brain: the effect of piracetam and vinpocetine. *Neurochem Res.* 2011; 36:1062-72.

39. Esposito E, Rotilio D, Di Matteo V, Di Giulio C, Cacchio M, Algeri S. A review of specific dietary antioxidant and effects on biochemical mechanism related to neurodegenerative processes. *Neurobiol Aging.* 2002; 23:719-35.

40. Bishop NA, Lu T, Yankner BA. Neural mechanisms of ageing and cognitive decline. *Nature.* 2010; 464: 529-535.

41. Liang Zahang H, Jiang WU. Role of vitamin D in immune responses and autoimmune disease, with emphasis on its role in sclerosis. *Neurosci.* 2010; 26:445-54.

42. Ibi M, Sawada H, Nakanishi M, Kume T, Katsuki H, Kaneko S, et al. Protective effects of 1 alpha,25-(OH)(2)D-3 against the neurotoxicity of glutamate and reactive oxygen species in mesencephali culture. *Neuropharmacology.* 2001; 40(6):761-71.

43. Tarbali S, Khezri Sh, Heidari R. [Effect of vitamin D3 on improvement of learning and spatial memory following demyelination induction in hippocampal CA1 area of rat]. *Physiol Pharmacol.* 2014;17(4):449-60. (Persian)

44. May E, Asadullah K, Zugel U. Immunoregulation through 1, 25- dihydroxyvitamin and its analogs. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2004;3(4):377-93.

45. Faridar A, Eskandari G, Sahraian MA, Minagar A, Azimi A. Vitamin D and multiple sclerosis: a critical review and recommendations on treatment. *Acta Neurol Belg.* 2012;112(4):327-33.

46. Brewer LD, Porter NM, Kerr DS, Landfield PW, Thibault O. Chronic 1 alpha,25-(OH)(2) vitamin D-3 treatment reduces Ca²⁺-mediated hippocampal biomarkers of aging. *Cell Calcium.* 2006;40:277-86.

The study of spatial working and reference memory in experimental model of multiple sclerosis after treatment with vitamin D3

Sepideh Tarbali, MSc, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran.
Sepideh_tarbali@yahoo.com

***Shiva Khezri**, PhD, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran
(*Corresponding author). sh.khezri@urmia.ac.ir

Abstract

Background: The hippocampus, a vital center for learning and memory, is extremely vulnerable to neurological diseases. Several reports of cognitive and memory impairment have been published in patients with Multiple sclerosis (MS). The prevalence of MS is highest where environmental supply of vitamin D is low. In the present study spatial working memory and reference memory after treatment with vitamin D3 was assessed in an experimental model of MS.

Methods: For demyelination induction, 2 μ l lysolecithin was injected stereotactically into the CA1 area of hippocampus in male rat. Animals treated with vitamin D3, received 5 μ g/kg vitamin D3 for 14 and 21 days post lesion with intraperitoneal injection. Histological assessments of the demyelination process were done with specific myelin staining. The spatial working memory and reference memory were investigated by radial arm maze.

Results: Administration of lysolecithin as the inducer of MS disease caused demyelination and impairment of spatial working and reference memory at days 14 and 21 post lesion in lysolecithin treated animals. While the administration of vitamin D3 for 14 and 21 days caused improvement of spatial working and reference memory compared to the group receiving lysolecithin alone.

Conclusion: It seems that treatment with vitamin D3 is able to prevent spatial working memory and reference memory reduction in an experimental model of MS. However, evaluation of beneficial effects of vitamin D3 on the spatial memory in MS patients requires much more extensive clinical studies.

Keywords: Multiple sclerosis, Vitamin D3, Working memory, Spatial reference memory, Rat