Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2018; 20(127): 40-51

The Effect of N-acetyl-cysteine on Memory Retrieval and the Number of Intact Neurons of Hippocampal CA1 Area in Streptozotocin-induced Alzheimeric Male Rats

Niloufar Darbandi[1*], Hamidreza Momeni[2], Mahshid Tajiani[3]

1. Assistant Professor, PhD of Animal Physiology, Department of Biology, Arak University, Arak, Iran
2. Associate Professor, PhD of Animal Physiology, Department of Biology, Arak University, Arak, Iran
3. MS.c of Animal Physiology, Arak University, Arak, Iran

Received: 16 Oct 2017, Accepted: 5 Dec 2017

Abstract

Background: Alzheimer is a neurodegenerative disease wich caused memory impairment, reduced cognitive functions, intellectual ability and behavior changes. In this study, the effect of N-acetyl-cysteine (NAC) as a strong antioxidant on memory deficiency and number of CA1 pyramidal neurons in Streptozotocine (STZ) - induced Alzheimeric rats were studied.

Materials and Methods: 32 Male Wistar rats were divided into four groups: sham group, streptozotocin group, treated group with streptozotocin plus N-acetyl-cysteine, and treated group with N-acetyl-cysteine alone. Intracerebroventricular (ICV) administration of STZ was done in the first and the third day of surgery and i.p injection of N-acetyl-cysteine was done in the fourth of surgery. After the memory test, the animals were killed and their brains were fixed and density of intact neurons in the CA1 area of the hippocampus was investigated. Statistical analysis was performed with software SPSS, ANOVA and Prisme software. The level of statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results: The ICV injections of STZ significantly reduced memory retention and intact pyramidal cells compared to the sham group ($p<0.001$). Administration of N-acetyl-cysteine improved STZ-induced effects on memory retrieval and increased intact neurons in hippocampal CA1 area compared to the STZ group ($p<0.001$). N-acetyl-cysteine alone doesn't have any significant effect on memory retrieval and the number of intact neurons in hippocampal CA1 area compared to the sham group ($p>0.05$).

Conclusion: N-acetyl-cysteine improved memory retrieval and hippocampal CA1 area intact neurons in streptozotocin-induced Alzheimeric male rats.

Keywords: Hippocampal CA1 area, Memory, N-acetyl-cysteine, Streptozotocin

*Corresponding Author:
Address: Department of Biology, Arak University, Arak, Iran.
Email: N-Darbandi@araku.ac.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۱۰ (شماره پیاپی ۱۲۷)، دی ۱۳۹۶، ۵۱-۴۰

بررسی اثر ان‌استیل‌سیستئین بربازخوانی حافظه و تعداد نورون‌های سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در رت‌های نر آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین

نیلوفر دربندی[1*]، حمیدرضا مومنی[2]، مهشید تاجیانی[3]

۱.استادیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه بیولوژی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۲.دانشیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه بیولوژی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۳.کارشناس‌ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۲۴، تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: آلزایمر یک بیماری نورودژنراتیو است که موجب اختلال حافظه، کاهش عملکردهای شناختی، توانایی‌های فکری و تغییرات رفتاری می‌گردد. در این مطالعه به بررسی اثر ان استیل سیستئین(NAC) به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی بر نقص حافظه و تعداد نورون‌های هرمی ناحیه CA1 در رت‌های آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین(STZ) پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار به ۴ گروه تقسیم شدند: گروه شم، گروه استرپتوزوتوسین، گروه تیمار با استرپتوزوتوسین به همراه ان‌استیل‌سیستئین و گروه تیمار با ان‌استیل‌سیستئین به تنهایی. تزریق استرپتوزوتوسین به صورت داخل بطنی در روز اول و سوم پس از کانول‌گذاری و تزریق ان‌استیل‌سیستئین در روز چهارم پس از کانول‌گذاری به صورت داخل صفاقی انجام گرفت. پس از آزمون رفتاری، حیوانات کشته و مغز آن‌ها فیکس و تعداد نورون‌های سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ بررسی شد. تحلیل‌های آماری از طریق نرم افزار SPSS، آنووا و نرم افزار Prism انجام گرفت. سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تزریقSTZ به‌طور معناداری به‌خاطرآوری حافظه و تعداد نورون‌های سالم ناحیه CA1 را در مقایسه با گروه شم کاهش داد($p<۰/۰۰۱$). استفاده از ان‌استیل‌سیستئین اثرات ناشی از STZ را بربازخوانی حافظه بهبود بخشید و تعداد نورون‌های سالم را در ناحیه CA1 در مقایسه با گروه STZ افزایش داد($p<۰/۰۰۱$). تزریق ان‌استیل‌سیستئین به‌تنهایی اثر معناداری بر بازخوانی حافظه و تعداد نورون‌های سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ در مقایسه با گروه شم نداشت($p>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: مصرف ان‌استیل‌سیستئین سبب بهبود حافظه و افزایش تعداد نورون‌های سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در رت‌های نر آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین می‌شود.

واژگان کلیدی: ان‌استیل‌سیستئین ، استرپتوزوتوسین، حافظه، ناحیه CA1 هیپوکامپ.

***نویسنده مسئول:** ایران، اراک، دانشگاه اراک، گروه بیولوژی

Email: N-Darbandi@araku.ac.ir

مقدمه

بیماری آلزایمر نوعی اختلال عصبی پیش رونده مرتبط با سن است که به عنوان عامل ایجاد کننده زوال عقل در سالخوردگی مورد توجه قرار می‌گیرد. این بیماری بر اساس علت، سن شروع علائم، تغییرات بیوشیمیایی و ژنتیکی به دو نوع ژنتیکی و تک‌گیر طبقه‌بندی می‌شود(۱، ۲). مطالعات نشان می‌دهد عواملی مثل چاقی، استعمال دخانیات، افزایش سن، جهش‌های ژنتیکی، مقاومت به انسولین و عوامل التهابی در ایجاد این بیماری نقش مهمی دارند(۳). کاهش سلولی در نواحی مغزی به‌خصوص نواحی که برای یادگیری و حافظه مهم هستند از جمله هیپوکامپ و کورتکس پیش‌پیشانی می‌تواند منجر به اشکالاتی در ادراک، حافظه، قضاوت، تفکر و تصمیم‌گیری شود که با افزایش سن شدت می‌یابد(۴).

استرپتوزوتوسین(STZ) ترکیبی سمی است که به‌دلیل شباهت ساختمانی با گلوکز جذب سلول شده و از طریق تولید رادیکال‌های آزاد سبب افزایش استرس اکسیداتیو در برخی از نواحی مغزی مانند هیپوکامپ می‌شود(۵، ۶). علاوه بر آن استرپتوزوتوسین از طریق متیلاسیونDNA، کاهش بیان پروتئین‌ها وکاهش ذخیره انرژی منجر به مرگ نورون‌ها شده و با ایجاد تغییرات بیوشیمیایی غیرطبیعی در مغز و مهار سنتزATPدر ایجاد اختلالات شناختی دخالت دارد(۷).

ان‌استیل‌سیستئین (NAC) یک ترکیب آنتی‌اکسیدانتی مشتق از اسیدآمینه سیستئین می‌باشد که در درمان بیماری‌های نورولوژیکی عروقی و غیر عروقی استفاده می‌شود. ان‌استیل‌سیستئین به‌عنوان یک ماده پیش ساز آنتی‌اکسیدان گلوتامات در مسیرهای التهاب، نروتروفیک و گلوماترژیک عمل می‌کند. هم‌چنین از این دارو در درمان استرس اکسیداتیو، عفونت و شرایط التهابی استفاده می‌شود. استرس اکسیداتیو یکی از علایم پیشرفت آلزایمر بوده و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند در کاهش علایم این بیماری نقش مهمی ایفا کند(۸). مکانیسم عمل ان‌استیل‌سیستئین با پاتوفیزیولوژی بیماری‌های نورونی مختلف از جمله اوتیسم، اعتیاد، افسردگی، شیزوفرنی، دو قطبی، پارکینسون و آلزایمر هم‌پوشانی دارد(۹). ان‌استیل‌سیستئین هم‌چنین قادر است فرآیندهای پاتوفیزیولوژیکی مانند استرس اکسیداتیو، روندهای نورودژنرتیو، آپوپتوزیس، نقص عملکرد میتوکندریایی، تورم نورونی و نقص در تنظیم سیستم‌های نوروترانسمیتر دوپامین و گلوتامات را تعدیل نماید(۱۰).

با توجه به بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیب در پژوهش حاضر به بررسی تأثیر ان استیل سیستئین بر نقص حافظه و تعداد نورون های سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در رت‌های نر آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه پژوهشی اصیل از رت‌های نر نژاد ویستار(تهیه شده ازانستیتو پاستور ایران) بامحدوده وزنی ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. در راستای انجام این تحقیق کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مد نظرقرارگرفته شد. محل نگه‌داری حیوانات دارای دوره روشنایی-تاریکی۱۲ساعته(شروع روشنایی هفت صبح)، دمای۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد بود و آزمایش‌ها در زمان معینی از روز انجام می‌گرفت. هشت حیوان در هر گروه تجربی قرار داشت و هر حیوان فقط یک‌بار آزمایش می‌شد.

کتامین هیدروکلراید و زایلزین (ساخت شرکت Alfasan) به‌صورت درون صفاقی جهت بی‌هوش کردن حیوانات، پودر استرپتوزوتوسین (ساخت شرکت سیگما-آمریکا) به‌صورت محلول در نرمال سالین با غلظت (۳ میلی گرم بر کیلوگرم) به‌صورت درون بطن مغزی جهت القای آلزایمر در روز اول و سوم پس از کانول گذاری(۱۱) وان‌استیل‌سیستئین (ساخت شرکت سیگما) به‌صورت محلول در نرمال سالین، با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم(۱۲، ۱۳) و به‌صورت درون صفاقی در روز چهارم پس از کانول‌گذاری مورد استفاده قرار گرفت.

روش کانول‌گذاری در بطن‌های جانبی

جهت کانول‌گذاری در ناحیه بطن‌های جانبی، ابتدا هر موش بر اساس وزن به‌وسیله تزریق درون صفاقی مخلوطی از کتامین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) وزایلزین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شد. مختصات بطن‌های جانبی بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون(۱۴) به دست آمد(۰/۸ به سمت عقب از برگما ، ۱/۴ میلی‌متر در طرفین شکاف ساژیتال و ۳/۵ میلی‌متر به طرف پایین از سطح جمجمه). درسطح جمجمه، محل کانول گذاری توسط مته دندانپزشکی تا پرده مننژ سوراخ شد. کانول‌های راهنما به طول ۸ میلی‌متراز سرسوزن ۲۲ گیج تهیه شده و به‌صورت دوطرفه در محل‌های سوراخ شده، حدود ۱ میلی‌متر بالاتر از ناحیه مورد نظر به کمک آکریل دندانپزشکی ثابت شد. برای جلوگیری ازبسته شدن کانول راهنما قبل از تزریق، سرسوزن‌های دندانپزشکی به شماره ۳۰ گیج که به اندازه طول کانول راهنما بریده می‌شد، در داخل آن قرارگرفت(۱۵).

تزریق درون بطن مغزی

برای تزریق مرکزی دارو از سر سوزن دندانپزشکی ۲۷ گیج (که۱ میلی متر بلندتر ازکانول راهنما بریده شده بود)، رابط پلی اتیلن و سرنگ هامیلتون ۲۵ میکرولیتری استفاده شد. استرپتوزوتوسین (۳ میلی گرم بر کیلوگرم) با حجم ۱۰ میکرولیتر در هر بطن در روزهای اول و سوم پس از کانول گذاری تزریق شد. برای اطمینان از جذب کامل دارو از طریق کانول تزریق به داخل ناحیه مغزی موردنظر، کانول تزریق با تاخیر۳۰ تا۶۰ ثانیه ای پس از تزریق خارج شد.

دستگاه سنجش حافظه

دستگاه سنجش حافظه از جنس پلکسی‌گلاس(ساخت شرکت برج صنعت-تهران) و دارای دو سمت مجزا یکی به رنگ سیاه (۳۰×۲۰ ×۲۰ سانتی‌متر) و دیگری به رنگ سفید (۳۰×۲۰×۲۰ سانتی‌متر) است که توسط یک درب گیوتینی (۹×۷ سانتی‌متر) واقع در دیواره میانی این دو بخش به یکدیگر راه دارند. درکف بخش سیاه رنگ میله-های فلزی به قطر۲/۵ میلی‌متر و فواصل ۱ سانتی‌متر از یکدیگر قرارگرفته است. هنگامی که دستگاه روشن می شود یک جریان الکتریکی به مدت ۳ ثانیه و شدت ۱میلی‌آمپر در میله‌های فلزی برقرار می‌شود.

یادگیری اجتنابی غیرفعال به‌روش «گذر از یک بخش دستگاه به بخش دیگر» (Step through) برای بررسی حافظه در موش‌های آزمایشگاهی در دو روز پشت سر هم انجام می‌شود. روز اول یا روز آموزش شامل آموزش دادن حیوانات در دستگاه می‌باشد، روز دوم یا روز آزمون شامل بررسی میزان حافظه حیوانات آموزش دیده است(۱۶).

در روز آموزش هر موش با احتیاط درون بخش سفید دستگاه قرار گرفت و پس از ۵ ثانیه درب گیوتینی بالا رفت. مدت زمانی که طی شد تا موش وارد خانه سیاه شود، ثبت گردید. حیواناتی که بیش از ۱۰۰ ثانیه در خانه سفید باقی می‌ماندند از آزمایش حذف شدند. زمانی که حیوان با ۴ پا وارد خانه سیاه شد، درب گیوتینی پایین آمده وحیوان به قفس خود برگردانیده می‌شد. سی دقیقه بعد دوباره حیوان درخانه سفید قرار می‌گرفت و پس از ۵ ثانیه درب گیوتینی بالا رفته و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان وارد خانه سیاه شود ثبت می‌گردید. اما این بار بلافاصله پس از ورود کامل حیوان به خانه سیاه و پایین آوردن درب گیوتینی با روشن کردن استیمولاتور، تحریک الکتریکی به مدت ۳ ثانیه به پاهای موش وارد می‌شد. با توجه به بسته بودن سقف این بخش، موش نمی‌تواند از شوک الکتریکی اجتناب کند (شوک اجتناب ناپذیر). پس از ۲۰ ثانیه موش از این محیط خارج و به قفس نگهداری منتقل می‌گردید. دو دقیقه بعد این مراحل تکرارمی‌شد. اگر حیوان قبل از۱۲۰ ثانیه وارد خانه سیاه می‌شد برای بار دوم تحریک الکتریکی (باشدت کمتر) دریافت می‌کرد، درغیر این صورت یادگیری اجتنابی غیرفعال درحافظه موش شکل گرفته بود. از این رو، حیوان به قفس مربوطه منتقل می‌شد(۱۶).

آزمون حافظه ۲۴ ساعت بعد از جلسه آموزش انجام می‌شد. به این ترتیب که موش‌ها به صورت جداگانه و به ترتیب در خانه سفید قرار می‌گرفتند، پس از ۵ ثانیه درب گیوتینی بالا می‌رفت و مدت زمان تاخیر حیوانات در ورود به خانه سیاه و کل مدت زمانی که در خانه سیاه سپری می‌شد اندازه‌گیری و ثبت شد. دراین مرحله هیچ گونه شوک الکتریکی به حیوان وارد نمی‌شد و حداکثر زمان برای توقف موش درخانه سفید ۳۰۰ ثانیه بود(۱۶).

آزمایشات انجام شده در این تحقیق

در این تحقیق چهار گروه از حیوانات در روزهای اول و سوم پس از کانول گذاری به‌وسیله استرپتوزوتوسین(۳ میلی گرم بر کیلوگرم) و یا سالین به‌میزان۱۰ میکرولیتر در هر بطن تیمار شدند. همه حیوانات سالین (میلی لیتر بر کیلوگرم) و یا ان‌استیل‌سیستئین(۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) را به‌صورت درون صفاقی در روز چهارم پس از کانول گذاری دریافت کردند. در پایان تیمار، حیوانات در دستگاه حافظه اجتنابی غیر فعال(Step Through) آموزش دیدند. ۲۴ ساعت بعد، آزمون حافظه انجام شد.

پس از پایان تیمار و انجام آزمون رفتاری، پرفیوژن مغزی آغاز می‌شود. برای انجام این مرحله ابتدا حیوانات بی‌هوشی شدند سپس با تشخیص محل استخوان جناغ، پوست و سپس ماهیچه های روی آن با کمک قیچی بریده شد. برای دسترسی آسان به قلب پرده دیافراگم بریده شده و ابتدا سرم فیزیولوژیکی سدیم کلراید ۰/۹ درصد و سپس محلول پارافرمالدهید ۴۰ درصد که به عنوان فیکساتیو به بطن چپ تزریق و دهلیز راست برای خروج خون از بدن با کمک قیچی برش داده شد. پس از اتمام پرفیوژن به‌کمک استخوان‌شکن سر حیوان جدا و مغز از جمجمه خارج شد. مغز فیکس‌شده در محلول فیکساتیو به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت نگه‌داری شد. پس از آن تمام مراحل بافتی شامل قرارگیری نمونه‌ها در دستگاه پاساژ بافتی، بلوک‌گیری، برش‌گیری بافتی در ناحیه CA1 هیپوکامپ توسط میکروتوم و رنگ آمیزی نمونه ها با کمک روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین و در نهایت مشاهده نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری صورت می‌گیرد (۱۷).

شمارش نورونی از طریق نرم افزار image j صورت گرفت. در این روش حداقل از چهار میدان دید در هر لام بصورت تصادفی عکس گرفته شد و سپس به‌کمک نرم‌افزار تعداد نورون‌های سالم و نکروز شده شمارش شد. برای هر گروه یا دوز مورد بررسی حداقل ۱۲ میدان دید از نورون‌های پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکامپ مورد بررسی قرار گرفت. به‌دلیل رنگ‌آمیزی مشخص و وضوح نورون‌ها و به دلیل استفاده از نرم‌افزار مذکور اختلاف بین نورون‌ها به صورت کمی بررسی و گزارش شد.

تحلیل آماری

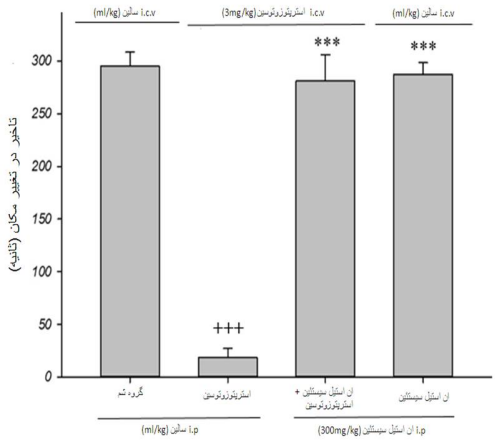
تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش‌های رفتاری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت و با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی سطح معنادار بودن آن‌ها تعیین شد. تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش‌های بافتی توسط نرم‌افزار Prism و با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه صورت گرفت. سطح معناداری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

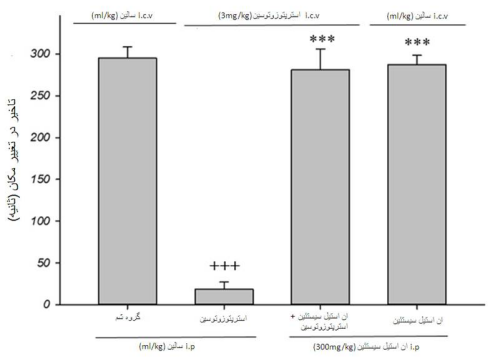
مقایسه حافظه اجتنابی غیرفعال در گروه‌های آزمایشی

نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌طرفه داده‌های آزمون رفتاری نشان داد که تزریق داخل‌بطن‌مغزی استرپتوزوتوسین (۳ میلی گرم بر کیلوگرم) در روزهای اول و سوم پس از کانول‌گذاری، باعث کاهش زمان ورود به اتاق تاریک (STL) (نمودار ۱) و هم‌چنین افزایش مجموع مدت زمان باقی‌ماندن حیوان در اتاق تاریک (TDC) (نمودار۲) نسبت به گروه شم می‌شود($p<۰/۰۰۱$). تزریق درون‌صفاقی ان‌استیل‌سیستئین(۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در روز چهارم پس از کانول گذاری به‌تنهایی و یا همراه با استرپتوزوتوسین

به‌طور معنی‌داری به‌خاطرآوری حافظه را نسبت به گروه استرپتوزوتوسین بهبود بخشید[۰/۰۰۰۱ , F(۳,۴۴)=۱۴۰/۰۵۸p<]. آزمون مکمل توکی نشان داد که تیمار با ان‌استیل‌سیستئین در هر دو گروه تاخیر در ورود به اتاق تاریک را به‌طور معنی‌داری افزایش داد که به معنی بهبود حافظه است. تزریق درون‌صفاقی ان‌استیل‌سیستئین به تنهایی تاثیر معنی‌داری بر بازخوانی حافظه نسبت به گروه شم نداشت(p>۰/۰۵) (نمودار ۱). هم‌چنین مجموع زمان باقی‌ماندن حیوان در اتاق تاریک(TDC) در گروه دریافت کننده ان‌استیل‌سیستئین به‌تنهایی و یا همراه با استرپتوزوتوسین نسبت به گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین اختلاف معنی‌داری را نشان داد[۰/۰۰۰۱ > p , F(۳,۴۴)=۱۴۴/۴۴]. این در حالی است‌که این اختلاف بین گروه‌های دریافت کننده ان‌استیل‌سیستئین و گروه شم معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵) (نمودار ۲).



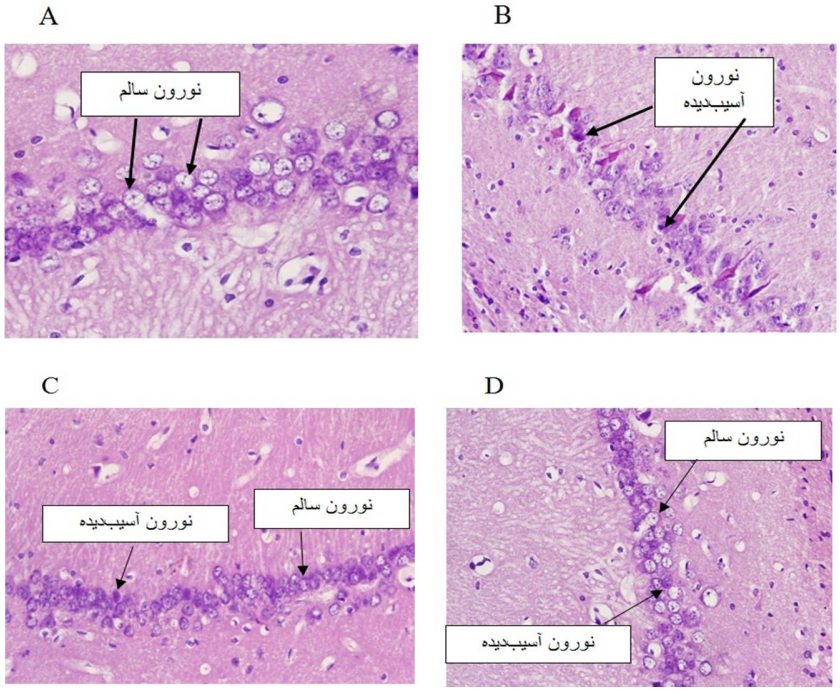
نمودار۱. مقایسه حافظه اجتنابی غیرفعال در گروه های آزمایشی. تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بازخوانی حافظه را نسبت به گروه شم به‌طور معناداری کاهش داد. تزریق ان‌استیل‌سیستئین (۳۰۰i.p میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌همراه استرپتوزوتوسین (۳i.c.v میلی‌گرم بر کیلوگرم) و یا به‌تنهایی منجر به افزایش معنی‌داری بر بازخوانی حافظه نسبت به گروه استرپتوزوتوسین شد. تزریق ان‌استیل‌سیستئین (۳۰۰i.p میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌تنهایی اثر معنی‌داری بر بازخوانی حافظه نسبت به گروه شم نداشت. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار برای هشت سر حیوان انجام شد. (۰/۰۰۱>p+++) تفاوت معنادار بین گروه شم و گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین و (۰/۰۰۱>p*) تفاوت معنادار بین گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین با گروه‌های دریافت کننده ان‌استیل‌سیستئین به‌همراه استرپتوزوتوسین و یا گروه دریافت کننده ان‌استیل‌سیستئین به‌تنهایی.**



نمودار۲. مقایسه مدت زمان ماندن حیوانات در قسمت تاریک(TDC) در گروه‌های آزمایشی. تزریق درون‌بطنی استرپتوزوتوسین (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مدت زمان TDC را نسبت به گروه شم به‌طور معناداری افزایش داد. تزریق ان‌استیل‌سیستئین(۳۰۰i.p میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌همراه استرپتوزوتوسین (۳ i.c.v میلی‌گرم بر کیلوگرم) و یا به‌تنهایی منجر به کاهش معناداری بر مدت زمان TDC نسبت به گروه استرپتوزوتوسین شد. تزریق ان‌استیل‌سیستئین (۳۰۰ i.p میلی-گرم بر کیلوگرم) به‌تنهایی اثر معناداری بر مدت زمان TDC نسبت به گروه شم نداشت. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار برای هشت سر حیوان انجام شد. (۰/۰۰۱>p+++) تفاوت معنادار بین گروه شم و گروه دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین و (۰/۰۰۱>p*) تفاوت معنادار بین گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین با گروه‌های دریافت‌کننده ان‌استیل‌سیستئین به‌همراه استرپتوزوتوسین و یا گروه دریافت کننده ان‌استیل‌سیستئین به‌تنهایی.**

تغییرات هیستوپاتولوژیک مغز و مقایسه تعداد سلول‌های سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های آزمایشی

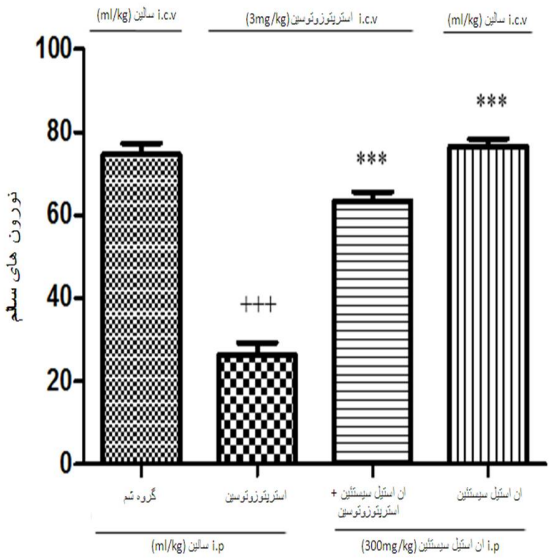
برش‌های بافتی به کمک رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین نشان داد نورون‌های گروه شم کاملا سالم بوده و تراکم نورونی در ناحیه CA1 هیپوکامپ زیاد است(شکل A-۱). در صورتی‌که استرپتوزوتوسین به‌طور معناداری منجر به مرگ نورنی در ناحیه CA1 هیپوکامپ نسبت به گروه شم می‌شود (شکل B-۱). بررسی‌های انجام شده در گروه‌های تحت درمان با ان‌استیل‌سیستئین نشان داد که در حضور ان‌استیل‌سیستئین در گروه‌های آزمایشی به تعداد سلول‌های سالم اضافه و از تعداد سلول‌های آسیب دیده کاسته شده است. در واقع وجود NAC می‌تواند تأثیر سمیت ناشی از داروی استرپتوزوتوسین را برطرف کرده و به هیپوکامپ که دارای سلول‌های بنیادی است اجازه دهد تا سلول‌های جدید را جایگزین سلول‌های قدیمی و مرده نماید(شکل C-۱). در گروه ان‌استیل‌سیستئین به‌تنهایی سلول‌ها کاملا سالم و منظم بوده و تفاوت معناداری بین این گروه و گروه شم وجود نداشت (شکل D-۱)(بزرگ‌نمایی اشکال x ۴۰۰).



شکل۱. مقایسه نورون‌های ناحیه CA۱ هیپوکامپ رنگ آمیزی شده به روش هماتوکسیلین- ائوزین در گروه های A) شم ، B) استرپتوزوتوسین، C) گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین به همراه ان‌استیل‌سیستئین(۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و D) گروه دریافت کننده ان‌استیل‌سیستئین(۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به تنهایی(بزرگ‌نمایی x۴۰۰).

شمارش نورون‌ها و گرفتن میانگین از هر دو نوع سلول‌های سالم و آسیب دیده نشان داد که میانگین تعداد سلول‌های سالم در گروه شم اختلاف معنی‌داری با گروه استرپتوزوتوسین دارد. هم‌چنین نتایج نشان داد که ان-استیل‌سیستئین به‌طور معنی‌داری سلول‌های سالم را نسبت به گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین افزایش می‌دهد. آزمون مکمل توکی و نیز آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان می-دهد که در تیمار با ان‌استیل‌سیستئین به همراه استرپتوزوتوسین، سلول‌های سالم به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه استرپتوزوتوسین افزایش می‌یابد که به‌معنی بهبود حافظه است. در گروه ان‌استیل‌سیستئین به‌تنهایی نیز تعداد سلول‌های سالم نسبت به گروه استرپتوزوتوسین اختلاف معنی‌داری داشت، اما

این اختلاف با گروه شم معنی‌دار نبود که نشان دهنده آن است که ان‌استیل‌سیستئین به‌تنهایی تاثیر معنی‌داری بر نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ نداشته، بلکه در گروه ان-استیل‌سیستئین به همراه استرپتوزوتوسین توانسته از اثرات مخرب استرپتوزوتوسین جلوگیری کند [$F(3,12)=86/333, p<0/001$] (نمودار ۳).



نمودار ۳. مقایسه تعداد نورون‌های سالم در گروه‌های آزمایشی: در گروه استرپتوزوتوسین تعداد نورون‌های سالم در مقایسه با گروه شم کاهش معنی‌داری نشان داد. این نمودار هم‌چنین نشان‌دهنده افزایش معنادار تعداد نورون‌های سالم در گروه‌های دریافت کننده ان‌استیل‌سیستئین (۳۰۰i.p میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌همراه استرپتوزوتوسین (۳i.c.v میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه دریافت کننده ان‌استیل‌سیستئین(۳۰۰ i.p میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌تنهایی در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین می‌باشد. تزریق ان‌استیل‌سیستئین به‌تنهایی اختلاف معنی‌داری در تعداد سلول‌های سالم در ناحیهCA1 هیپوکامپ نسبت به گروه شم نشان نداد. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار برای شش سر حیوان می‌باشد.(+++p<۰/۰۰۱) تفاوت معنی‌دار بین گروه شم و گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین و (*p<۰/۰۰۱) تفاوت معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین با گروه‌های دریافت‌کننده ان‌استیل‌سیستئین به همراه استرپتوزوتوسین و یا گروه دریافت کننده ان‌استیل‌سیستئین به تنهایی.**

بحث

یادگیری و حافظه از جمله عملکردهای اصلی در سطوح عالی دستگاه عصبی است. از نظر فیزیولوژی حافظه، نتیجه تغییر در توانایی انتقال سیناپسی در نورون هاست که به نوبه خود موجب تولید مسیرهای جدید برای انتقال سیگنال‌ها از طریق مدارهای عصبی مغز می‌گردد. الگوهای رفتاری متعددی برای سنجش حافظه و یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی وجود دارد. یک مدل رفتاری برای سنجش اثر داروها بر حافظه، مدل یادگیری اجتنابی مهاری (غیر فعال) است که به‌صورت گسترده در مطالعات فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی جهت بررسی حافظه بلند مدت و اثر نوروترانسمیترها استفاده می‌شود(۲۱-۱۶).

آلزایمر یک بیماری نورودژنراتیو پیش‌رونده غیرقابل برگشت و تدریجی است که موجب اختلال حافظه، کاهش عملکردهای شناختی، توانایی‌های فکری و تغییرات رفتاری می‌گردد(۱، ۲). در دو دهه‌ی اخیر، تحقیقات گسترده‌ای به‌منظور دست‌یابی به روش های درمانی مناسب از یک‌سو و بررسی علل و عوامل ایجاد کننده بیماری آلزایمر از سوی دیگر صورت گرفته و هم‌چنان در حال انجام است. نتایج این تحقیقات نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در کاهش علایم آلزایمر نقش مهمی ایفاء‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها از عمل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند واحتمال می‌رود بتوان آن‌ها را در پیشگیری و درمان بیماری آلزایمر به‌کار برد (۸، ۹).

ان‌استیل‌سیستئین یکی از مشتقات استیله‌ی اسید آمینه سیستئین است که امروزه در درمان روان پریشی و بیماری‌های نورولوژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تحقیقات نشان داده است که این ماده ممکن است فرآیندهای پاتوفیزیولوژیکی مانند استرس اکسیداتیو، دژنره شدن نورون-ها، آپوپتوزیس، نقص عملکرد میتوکندریایی، تورم نورونی و نقص در تنظیم سیستم‌های نوروترانسمیتری دوپامین و

گلوتامات را تعدیل نمایند(۹، ۱۰). با توجه به بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیب در پژوهش حاضر به بررسی اثر ان‌استیل سیستئین بر نقص حافظه و سلول‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ در موش‌های صحرایی نر آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین پرداخته شد.

در پژوهش حاضر تزریق استرپتوزوتوسین (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با حجم ۱۰ میکرولیتر در هر بطن در روزهای اول و سوم پس از کانول‌گذاری در مقایسه با گروه شم زمان ورود به اتاق تاریک (STL) را کاهش و مجموع مدت زمان باقی‌ماندن حیوان در اتاق تاریک (TDC) را افزایش می دهد که به معنی تخریب حافظه است. هم‌چنین بررسی‌های بافتی نشان داد که که تعداد نورون‌های سالم در ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه شم به صورت معناداری کاهش یافته است. مطالعات گذشته نتایج حاصل از این تحقیق را تایید می کنند(۲۳-۱۸).

اگرچه مکانیسم عمل استرپتوزوتوسین‌در ایجاد مرگ سلولی در سلول‌های پستانداران، هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است، اما اظهار می‌شود که استرپتوزوتوسین‌سبب متیلاسیون و تخریب DNA، تولید گونه‌های فعال اکسیژن و استرس اکسیداتیو و در نهایت منجر به مرگ سلولی نورون‌ها و ایجاد نقص در فرآیند حافظه و یادگیری شود(۱۱). یافته‌ها نشان می‌دهند که استرپتوزوتوسین از طریق اختلال در متابولیسم گلوتامات، نقص در سوخت و ساز انرژی مغز، کاهش فعالیت نورون‌های کولینرژیک، اختلال در پیام رسانی گیرنده‌های انسولینی و افزایش فعالیت میکروگلیاها سبب آسیب مستقیم به هیپوکامپ می‌شود(۲۲). استرپتوزوتوسین باعث فعال شدن میکروگلیا، الیگودندروسیت‌ها و آستروسیت-ها می‌شود. آزادسازی عوامل التهابی مانند اینترلوکین‌ها، اینترفرون‌ها، فاکتور نکروز تومور(TNF-α)، سوپراکساید و نیتریک‌اکساید منجر به افزایش سطح استرس اکسیداتیو، آسیب و مرگ نورونی می‌شوند. علاوه بر این، استرپتوزوتوسین با افزایش آنزیم گوانیلیل و نیتریک اکساید باعث آسیب به DNA می‌شود (۲۴، ۲۵). استرپتوزوتوسین با جلوگیری از عمل آنزیم ان‌استیل‌گلوکز آمینیداز (آنزیم مسئول اتصال ان استیل گلوکزآمین به پروتئین‌ها) باعث سمیت در عمل سلول‌های بتای پانکراس شده، سطح انسولین را کاهش می‌دهد و میزان پاسخ‌دهی گیرنده‌های انسولینی در مغز را مختل کرده و باعث تجمع پروتئین تائو و پلاک‌های بتا آمیلوئیدی می‌شود(۲۶).

در پژوهش حاضر، تجویز درون‌صفاقی ان‌استیل‌سیستئین(۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) همراه با استرپتوزوتوسین توانست اثرات ناشی از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین را بر بازخوانی حافظه در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین به‌طور معناداری بهبود دهد. علاوه بر این، بررسی‌های بافتی مغز نشان داد تعداد نورون‌های سالم در ناحیه CA1 در این گروه به‌طور معناداری نسبت به گروه استرپتوزوتوسین افزایش داشته و تقریبا معادل با گروه شم شده است. نتایج حاصل از پژوهش محققان دیگر نیز با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد(۲۶، ۲۷).

ان‌استیل‌سیستئین تأثیرات اکسیداتیو رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از طریق اصلاح یا جلوگیری از کاهش گلوتاتیون به حداقل می‌رساند. گلوتاتیون نقش مهمی در حفظ حالت ردوکس سلولی دارد. تجویز دهانی ان‌استیل‌سیستئین باعث افزایش سیستئین در دسترس شده و فعالیت انتقال‌دهنده سیستئین-گلوتامات را تسهیل کرده و باعث تولید گلوتاتیون در سلول‌های گلیال می‌شود. گلوتاتیون به طور آنزیمی و غیر آنزیمی از صدمات ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت می‌کند. گلوتاتیون آنتی‌اکسیدان اصلی در مغز و حذف کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌باشد که هر دوی این محصولات سمی باعث اختلال متابولیسم دوپامین و گلوتامات می‌شوند. بنابراین ان-استیل‌سیستئین با افزایش سطح گلوتاتیون در دسترس باعث کاهش تنش‌زاهای اکسیداتیو و نیتراتیو در مغز شده و در نهایت منجر به کاهش صدمه سلولی می‌شود. بنابراین

اناستیل‌سیستئین ازطریق تولید گلوتاتیون به‌عنوان آنتی‌اکسیدان شناخته شده و با استرس اکسیداتیو مقابله می‌کند. کاهش دسترسی زیستی به اناستیل‌سیستئین یکی از مهم‌ترین علل بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو می‌باشد (۲۸). علاوه بر آن اناستیل‌سیستئین می‌تواند با تغییر میزان کلسیم داخل میتوکندری و کاهش کلسیم داخل سلولی، نقص میتوکندری را تصحیح نماید. یافته‌های اخیر نشان می دهند که کاهش سطوح آنتی اکسیدانی همراه با از دست رفتن فعالیت آنزیم‌های زنجیره تنفسی می‌تواند منجر به آپوپتوزیس وابسته به میتوکندری شود. مشخص شده است که اناستیل‌سیستئین یکی از منابع پیش‌ساز و محدود کننده سرعت ساخت گلوتاتیون است. گلوتاتیون به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان داخل سلولی با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، استرس اکسیداتیو و التهاب را کاهش می‌دهد. هم چنین اناستیل‌سیستئین با ممانعت از ساخت اسید نیتریک موجب پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد (۲۹). مطالعات نشان داده است که ان-استیل‌سیستئین با کاهش تولید سیتوکین‌هایی مانند فاکتور مرگ توموری آلفا (TNF) و اینترلوکین ۶ (IL-6) مسیرهای فعال التهابی را تعدیل می‌کند. اناستیل‌سیستئین ممکن است التهاب ایجادشده در بیماری‌های انسداد مزمن ریوی، آنفلوانزا و فیبروز ریوی را کاهش دهد. مشخص شده است که تزریق اناستیل‌سیستئین نورون‌زایی را به‌طور مستقیم با افزایش پروتئین‌های محافظت کننده نورونی مثل فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و غیر مستقیم با کاهش آپوپتوزیس از طریق افزایش پروتئین‌های ضدآپوپتوزی در سلول‌های بتای لنفوسیتی (BCL-2) تحریک می‌کند. اناستیل‌سیستئین می-تواند به‌عنوان پیش ساز اسیدآمینه سیستئین نیز عمل کند. این اسیدآمینه توسط انتقال‌دهنده سیستئین-گلوتامات به مغز منتقل شده و منجر به افزایش گلوتامات خارج سلولی می‌شود. گلوتامات بر تاثیر بر گیرنده‌های NMDA (ان - متیل‌دی‌آسپارتات) در روند حافظه اثر گذار است (۲۸). اناستیل‌سیستئین با فعال کردن گیرنده‌های انسولینی و کمک به جذب گلوکز در هیپوکامپ از ساخت معیوب ATP جلوگیری می‌کند. اثر اناستیل‌سیستئین بر جذب گلوکز و متابولیسم انرژی تایید می‌کند که اناستیل‌سیستئین در بهبود نقص حافظه مرتبط با سن و بیماری‌های نورودژنرتیو مرتبط با سن مانند آلزایمر نقش دارد (۳۰، ۳۱).

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های فوق به‌نظر می‌رسد که ان-استیل‌سیستئین به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، تاثیر و تعدیل در رهایش انتقال دهنده‌های عصبی از جمله گلوتامات و دوپامین، شرکت در تولید گلوتاتیون و اثر بر تغییرات ردوکس سلولی، اثر بر نورون‌زایی و ممانعت از مسیرهای آپوپتوتیک سلولی ناشی از نقایص میتوکندری، هم‌چنین از طریق کاهش تولید سیتوکین‌های التهابی در کاهش اثرات استرپتوزوتوسین برنقص حافظه و تخریب نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موثر بوده و احتمالا قادر است در پیش-گیری از بیماری‌های نورودژنرتیو از جمله آلزایمر موثر باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه خانم مهشید تاجیانی دوره کارشناسی ارشد به شماره ۲۳۷۰۶۳۴ می‌باشد و با کمک مالی دانشگاه اراک انجام شده است. بدین وسیله از زحمات کارشناسان و مسئولین آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی جانوری دانشکده زیست شناسی دانشگاه اراک تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1.Roriz-Filho J, Sá-Roriz T, Rosset I, Camozzato A, Santos A, Chaves M. (Pre)diabetes, brain aging, and cognition.BiochimBiophysActa 2009; 1792(5): 432-43.

2. Mecocci P, Polidori M. Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Biochimica et Biophysica Acta 2012; 1822: 631–638.

3. DelaMonte S. Type 3 diabetes is sporadic Alzheimer's disease: Mini-review. European Neuropsychopharmacology 2014; 24:1954–1960.
4. Parsa N.Alzheimer's disease: A medical challenge of 21st century. Arak Medical University Journal Review article (2011);14(55): 100-108.
5. Kamat P. Streptozotocin (ICV) induced neurotoxicity andbrain insulin resistant: A therapeutic intervention.
For treatment of sporadic Alzheimer's disease (sAD) like pathology.Article in Molecular Neurobiology 2016; 53(7):4548-62.
6. Eleazu C, Eleazu K, Chukwuma S, EssienU. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential riskto humans. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders 2013; 12:60.
7. Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes inperipheral and cerebral glucose metabolism on locomotoractivity, learning and memory in adult rats. Brain Res 1990; 532: 95-100.
8. Lavoie S et al. Glutathione precursor, N-acetyl-cysteine, improves mismatch negativity in schizophrenia patients. Neuropsycho pharmacology 2008; 33: 2187–2199.
9.Lei S, Liu Y, Ng KF, Xu A, Lam KS, Irwin MG, Xia Z. N-acetylcysteine and allopurinol synergistically enhance cardiac adiponectin content and reduce myocardial reperfusion injury in diabetic rats. PLoS One 2011;6(8):e23967.
10. Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes inperipheral and cerebral glucose metabolism on locomotoractivity, learning and memory in adult rats. Brain Res 1990; 532: 95-100.
11.Vishwakarma S, Goyal R, Gupta V. GABAergic effect of valeric acid from Valeriana wallichiiina melioration of ICV STZ induced dementia in rats. Kanaya Lal Dhar Revista Brasileira de Farmacognosia 2016; 26(4).
12. Zaeri S, Emamghoreishi M. Acute and Chronic Effects of N-acetylcysteine on Pentylenetetrazole-induced Seizure and Neuromuscular Coordination in Mice. IJMS 2015; 40(2):118-124.
13. Mohammadi Sh. Protective Effect of N-Acetyl Cysteine Against Formaldehyde-Induced Neuronal Damage in Cerebellum of Mice. Pharmaceutical sciences 2014; 20: 61-65.
14. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stere-otaxic, (4th ed). San Diago: Academic Press. 1998; p. 21.
15.Liu J, Wang A, Li L, Huang Y, Xue P, Hao A. Oxidative stress mediates hippocampal neurondeath in ratsafter lithium–pilocarpine-induced statuse pilepticus. Seizure 2010; 19(3):165–72.
16.Zarrindast MR, Bakhsha A, Rostami P, Shafaghi B. Effects of intrahippocampal injection of drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. J Psychopharmacol 2002; 16(4): 313-319.
17. Liu J, Wang A, Li L, Huang Y, Xue P, Hao A. Oxidative stress mediates hippocampal neurondeath in rats after lithium–pilocarpine-induced status epilepticus. Seizure 2010; 19(3):165–72.
18. Darbandi N, Ramezani M, khodagholi F, Noori M. Kaempferol promotes memory retention and density of hippocampal CA1 neurons in intra-cerebroventricular STZ-induced experimental AD model in Wistarrats. Biologija 2016; 62(3): 157–168.
19. Ramezani M, Darbandi N, khodagholi F, Hashemi A. Myricetin protects hippocampal CA3 pyramidal neurons and improves learning and memory impairments in rats with Alzheimer's disease.Neural Regeneration Research 2017; 11(12):1976-1981.
20. Noori M, Darbandi N, Hashemi A, JafariM, Zakeri M. Quali-Quantitative studies of cornelian cherry frout and JUNCUS L.species root flavonoids. 3th National Cong. on Medicinal Plants-Mashad 2014, At Mashad-Iran.
21. Darbandi N, Hezavehi M, Ghadimi F, Noori M. Tract of CORNUS MAS L. Seed on memory retention and some serum parameters in Alzheimer induced male mice. Journal of cell & tissue 2015; 6(3): 269-280.

22.Ejaz Ahmed M, Khan MM, Javed H, Vaibhav K, Khan A, Tabassum R, Ashafaq M, Islam F, Safhi MM, Islam F. Amelioration of cognitive impairment and neurodegeneration by catechin hydrate in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type.NeurochemInt 2013; 62(4):492-501.
23. Kamat P. Streptozotocin (ICV) induced neurotoxicity andbrain insulin resistant: A therapeuticintervention for treatment of sporadicAlzheimer's disease (sAD) like pathology. Article in Molecular Neurobiology 2015; 53(7):4548-62.
24.Grunblatt B, Cadet T,Kukulle W, Maramaldib P. Neuropsychiatric symptoms and Apolipoprotein E: Associations with eventual Alzheimer's disease development. Archives of Gerontology and Geriatrics 2006; 5: 106-115.
25. Song N. Alzheimer's disease: A medical challenge of 21st century. Arak Medical University Journal (AMUJ) Review article 2014; 14(55): 100-108.
26.Michael C, Jamile B, Tiago F, Lidiane C, Ricardo B, Maria E. N-acetylcysteine protects memory decline induced by streptozotocin in mice. Pereira Chemico-Biological Interactions 2016; 253: 10-17.
27. PrasadA, Jain S, Kumar M, Rastogi T, Bhattacharya SK. Effect of N-Acetyl cysteine on some behavioral and oxidative Stress parameters in sleep deprived mice. International Journal of Recent Trends in Science and Technology 2016; 19(3): 404-409.
28.Berk M, Samuni Y, Goldstein S, Dean OM. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine 2013; 1830(8): 4117-29.
29. Martinez M, Hernandez AL, Martinez A. N-Acetylcysteinedelays age-associated memory impairment in mice: role in synapticmitochondria Brain Res 2000; 885: 100-16.
30. FarrSA, Poon HF, Dogrukol-Ak D, Drake J, BanksWA. The antioxidants a-lipoic acid and N-Acetylcysteine reverse memory impairment and brain oxidative stress in aged SAMP8 mice. J. Neurochem 2003; 84: 1173-1183.
31. Sharipour RB, Harrigan MR, Alexandrov AV. N-Acetylcysteine in neurological disorders: mechanism of action and therapeutic opportunities. Brain Behaw 2014; 4: 108-122.