Alpha-Pinene Effect on Passive Avoidance Memory and CDK5 Gene Expression in the Rat Model of Huntington's Disease Induced by 3-Nitropropionic Acid

Paria Hashemi[1], Mohammad Raman Moloudi[2], Helia Rahmani[3], Zakaria Vahabzadeh[4], Esmael Izadpanah[5]

1. Ph.D of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0003-2813-0803
2. Associate Professor of Physiology, Neurosciences Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0003-2883-5213
3. MSc of Physiology, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0003-4093-7626
4. Associate Professor of Clinical Biochemistry, Liver and Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. (Corresponding Author Tel: +98-87-33664674-8358, Email: zakariav@gmail.com) ORCID ID: 0000-0002-9854-9653
5. Associate Professor of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. (Corresponding Author, Tel: +98-87-33664674-8498, Email: eizadpanah2000@muk.ac.ir). ORCID ID: 0000-0001-8090-906X

ABSTRACT

Background and Aim: Huntington's disease is a chronic hereditary disorder that causes cognitive and movement defects in affected individuals by progressive destruction of neurons in the cerebral cortex, striatum and the hippocampus. Studies have shown that increased activity of cyclin-dependent kinase-5 (CDK5) plays an important role in the pathogenesis and occurrence of memory impairment in Huntington's disease. Recently, alpha-pinene has been reported to improve learning and memory performance in Alzheimer's and Parkinson's models. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of alpha-pinene on passive avoidance memory and CDK5 gene expression in Huntington's animal model induced by 3-nitro-propionic acid (3-NP).

Materials and Methods: In this study, 40 male rats were randomly divided into 5 groups: sham, 3-NP (10 mg/kg),and 3 other groups receiving 3-NP (10 mg/kg) + alpha-pinene at doses of 1, 5 and 10 mg/kg (for 3 weeks,via intraperitoneal injection). Passive avoidance memory was assessed through the shuttle box device. Then, the expression level of CDK5 gene was measured by RT-qPCR method in brain cortex and hippocampus.

Results: 3-NP injection caused memory impairment by decreasing step through latency (STL). Alpha-pinene at all three doses improved passive avoidance memory performance. Also, 3-NP injection caused a significant increase in CDK5 gene expression level in the brain cortex and hippocampus compared to that in the sham group. The groups which received alpha-pinene at doses of 5 and 10 mg/kg in brain cortex and 1 mg/kg in hippocampus showed decreased expression level of this gene compared to the group that received 3-NP.

Conclusion: The results of this study showed that alpha-pinene improves passive avoidance memory performance probably by reducing the CDK5 gene expression level in Huntington's animal model induced by 3-NP.

Keywords: Memory impairment, Shuttle box, Alpha-pinene, Huntington disease, Cyclin dependent kinase-5, 3-nitropropionic acid

Received: June 3, 2023 **Accepted:** Sep 26, 2023

How to cite the article: Paria Hashemi, Mohammad Raman Moloudi, Helia Rahmani, Zakaria Vahabzadeh, Esmael Izadpanah. Alpha-Pinene Effect on Passive Avoidance Memory and CDK5 Gene Expression in the Rat Model of Huntington's Disease Induced by 3-Nitropropionic Acid.ŚJKU 2024;29(1):34-45.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

اثر آلفاپاینن بر حافظه اجتنابی غیرفعال و بیان ژن CDK5 در مدل بیماری هانتینگتون القاشده با تری–نیتروپروپیونیک اسید در موش صحرایی

پریا هاشمی[۱]، محمد رامان مولودی[۲]، هلیا رحمانی [۳]، ذکریا وهاب زاده [۴]، اسماعیل ایزدپناه [۵]

۱. دکترای فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۰۸۰۳-۲۸۱۳-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۲. دانشیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
کد ارکید: ۵۲۱۳-۲۸۸۳-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۳. کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۷۶۲۶-۴۰۹۳-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۴. دانشیار بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. (نویسنده مسئول) تلفن: ۰۸۷۳۳۶۶۴۶۷۴ داخلی ۸۳۵۸ پست الکترونیک zakariav@gmail.com کد ارکید: ۹۶۵۳-۹۸۵۴-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۵. دانشیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. (نویسنده مسئول) تلفن: ۰۸۷۳۳۶۶۴۶۷۴ داخلی ۸۴۹۸ پست الکترونیک eizadpanah2000@muk.ac.ir کد ارکید: ۹۰۶x-۸۰۹۰-۰۰۰۱-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: بیماری هانتینگتون یک اختلال ارثی مزمن است که با تخریب پیشرونده نورون‌های قشر مغز، استریاتوم و هیپوکامپ سبب بروز نقایص شناختی و حرکتی در افراد مبتلا می‌گردد. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش فعالیت کیناز وابسته به سیکلین-۵ (CDK5)، نقش مهمی در پاتوژنز و بروز اختلال حافظه در بیماری هانتینگتون ایفا می‌نماید. اخیراً، گزارش شده است که آلفاپاینن عملکرد یادگیری و حافظه را در مدل‌های آلزایمر و پارکینسون بهبود بخشیده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر آلفاپاینن بر حافظه اجتنابی غیرفعال و بیان ژن CDK5 در مدل هانتینگتون القا شده با ۳-نیتروپروپیونیک اسید (3-NP) است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، ۴۰ سر موش صحرایی نر به صورت تصادفی به ۵ گروه شم، دریافت کننده 3-NP با دوز ۱۰mg/kg، گروه های دریافت کننده 3-NP با دوز ۱۰mg/kg و آلفاپاینن با دوزهای mg/kg ۱، ۵ و ۱۰ (به مدت ۳ هفته، تزریق داخل صفاقی) تقسیم شدند. حافظه اجتنابی غیرفعال به‌وسیله شاتل باکس ارزیابی شد. سطح بیان ژن CDK5 با روش RT-qPCR در بافت هیپوکامپ و کورتکس اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: تزریق 3-NP منجر به اختلال حافظه با کاهش تأخیر حین عبور (STL) در مقایسه با گروه شم شد. آلفاپاینن در هر سه دوز موجب بهبود حافظه اجتنابی غیرفعال با افزایش تأخیر حین عبور شد. همچنین، تزریق 3-NP سبب افزایش معنی‌دار سطح بیان ژن CDK5 در کورتکس و هیپوکامپ مغز نسبت به گروه شم گردید. آلفاپاینن در دوزهای mg/kg ۵ و ۱۰ در کورتکس و دوز mg/kg ۱ در هیپوکامپ منجر به کاهش معنی دار سطح بیان این ژن در مقایسه با گروه دریافت کننده 3-NP شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که آلفاپاینن سبب بهبود عملکرد حافظه اجتنابی غیرفعال در موش‌های هانتینگتونی القا شده با 3-NP گردید و احتمالاً این اثر را از طریق کاهش سطح بیان ژن CDK5 اعمال کرده است.

کلمات کلیدی: اختلال حافظه، آلفاپاینن، شاتل باکس، بیماری هانتینگتون، کیناز وابسته به سیکلین-۵، ۳-نیترو پروپیونیک اسید

وصول مقاله:۱۴۰۲/۳/۱۳ اصلاحیه نهایی:۱۴۰۲/۶/۲۱ پذیرش:۱۴۰۲/۷/۴

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

مقدمه

بیماری هانتینگتون یک اختلال ژنتیکی است که در اثر تکرار غیرعادی توالی‌های پلی‌گلوتامین در پروتئین هانتینگتین ایجاد می‌شود(۱). این بیماری با تخریب پیشرونده نورون‌های عصبی در نواحی استریاتوم و قشر مغز سبب بروز اختلالات حرکتی در افراد مبتلا می‌گردد(۲). یکی از مشکلات مهمی که بیماران مبتلا به هانتینگتون با آن مواجهه هستند و کیفیت زندگی آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، آسیب در روند یادگیری و حافظه است(۳). در حقیقت، اختلالات رفتاری و مشکلات حافظه ۱۵ سال زودتر از بروز علائم حرکتی در بیماران مبتلا به هانتینگتون ایجاد می‌شود(۴). این اختلالات شامل نقایص شناختی از قبیل تغییر در روند یادگیری مهارت‌های حرکتی، اختلال در تمرکز و عدم توانایی در برنامه‌ریزی است(۵). مرگ نورونی و اختلال در عملکرد مسیر کورتیکواستریاتال نه تنها می‌تواند مسبب این مشکلات باشد، بلکه مشخص شده است که اختلال در عملکرد حافظه در بیماران مبتلا به هانتینگتون ناشی از نقص وسیع در نواحی مختلف مغزی خصوصاً کاهش حجم هیپوکامپ است(۶)؛ بنابراین، علاوه بر آتروفی استریاتوم و قشر مغز، روند نورودژنراتیو وسیع در هیپوکامپ که به عنوان مرکز اصلی تشکیل، ذخیره و نگهداری حافظه شناخته شده است، می‌تواند مسئول اصلی ایجاد اختلال حافظه در بیماری هانتینگتون باشد(۷).

مکانیسم‌های مولکولی مهمی در بروز اختلال حافظه در این بیماری سهیم هستند که از میان آن‌ها می‌توان به نقش کیناز وابسته به سیکلین نوع ۵ (CDK5) اشاره کرد. CDK5 یک پرولین-سرین-تره ئونین کیناز است که در تنظیم پلاستیسیته سیناپسی و حافظه نقش مهمی را ایفا می‌نماید. شواهد پیشین نشان داده‌اند که CDK5 در پاتوژنز بیماری هانتینگتون دخیل است(۹ و ۸). بر طبق یافته‌های حاصل از مطالعات بالینی و حیوانی، افزایش میزان فعالیت این نوع کیناز در بیماری هانتیگتون سبب بروز مشکلات یادگیری و حافظه می‌گردد(۱۰). همچنین، افزایش سطح آن منجر به افزایش فعالیت رسپتورهای گلوتامات، استرس اکسیداتیو و مرگ نورونی در بیماری هانتینگتون می‌شود(۱۱). فقدان ژنتیکی این نوع کیناز در موش‌های سوری سبب حفاظت آن‌ها در برابر نواقص یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکامپ گردیده است(۸).

روش‌های مختلفی جهت القای آزمایشگاهی بیماری هانتینگتون ابداع شده است(۱۲). مدل ۳-نیتروپروپیونیک اسید (3-NP) جزو متداولترین مدل‌های القایی بیماری هانتینگتون است. این ماده برای اولین بار از یک گونه قارچ سمی به نام Arthrinium استخراج گردید(۱۳). 3-NP به صورت برگشت‌ناپذیر موجب مهار آنزیم سوکسینات دهیدروژناز در چرخه تری کربوکسیلیک اسید میتوکندری، مهار انتقال الکترون طی فسفریلاسیون اکسیداتیو و افت سطح آدنوزین تری فسفات در مغز می‌شود (۱۴). تزریق سیستمیک این ماده سبب ایجاد ضایعات نوروپاتولوژیک وسیع در نواحی استریاتوم، قشر مغز و هیپوکامپ در یک الگویی مشابه با نمونه‌های انسانی بیماری هانتینگتون می‌گردد(۱۵). به علاوه، تزریق داخل صفاقی این ماده در موش‌های صحرایی سبب ایجاد اختلالات رفتاری از جمله کاهش عملکرد حافظه و یادگیری مشابه با بیماران مبتلا به هانتینگتون می‌شود(۱۶).

طی سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای از سوی پژوهشگران به سمت اثرات مفید ترکیبات طبیعی نظیر آلفاپاینن بر اختلالات عصبی معطوف گردیده است. آلفاپاینن یک ترکیب از خانواده ترپن ها است که در گیاهان مختلفی از رده مخروطیان، از جمله درخت بنه کردستانی موجود است(۱۷). آلفاپاینن خواص فارماکولوژیک متعددی شامل: اثرات آنتی‌اکسیدانی، آنتی-آپوپتوتیک، ضدالتهابی و ضد سرطان را نشان داده است(۱۹ و ۱۸). اثرات محافظت کننده عصبی آلفاپاینن در بسیاری از مطالعات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است. در این راستا گزارش شده است که آلفاپاینن سبب مهار التهاب، احیای ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین، کاهش سطح مالون دی‌آلدئید در

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

بافت هیپوکامپ و استریاتوم موش‌های صحرایی در مدل حیوانی ایسکمی مغزی شده است(۲۱ و۲۰). اخیراً، تیم تحقیقاتی ما نیز نشان داده است که آلفاپاینن سبب بهبود علائم حرکتی در مدل هانینگتون القا شده با 3-NP به واسطه اعمال اثرات آنتی اکسیداتیو در ناحیه استریاتوم و قشر مغز موش‌های صحرایی می‌گردد(۲۲). از طرفی دیگر، مطالعات نشان داده‌اند که آلفاپاینن می‌تواند عملکرد حافظه و یادگیری را هم در حیوانات سالم(۲۳) و هم در بعضی از مدل‌های آسیب عصبی از جمله پارکینسون و آلزایمر بهبود بخشد(۲۵ و ۲۴). آلفاپاینن موجب بهبود فعالیت حرکتی و حافظه اجتنابی در مدل حیوانی پارکینسون می‌شود(۲۴). همچنین آلفاپاینن در بهبود اختلال حافظه و یادگیری القاء شده با اسکوپولامین هم مؤثر است و بر اساس این یافته‌ها احتمال داده‌اند که آلفاپاینن با داشتن خواص محافظت‌کننده عصبی در مدیریت دمانس و اختلال حافظه و یادگیری مفید باشد(۲۶). علاوه بر این، آلفاپاینن سبب بهبود عملکرد حافظه فضایی، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش التهاب نورونی ناحیه هیپوکامپ در مدل حیوانی آلزایمر شده است(۲۵)؛ لذا، با توجه به اثرات مثبت گزارش شده آلفاپاینن بر حفاظت مؤثر نورونی و بهبود عملکرد حافظه و یادگیری در مدل‌های حیوانی پارکینسون و آلزایمر، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر آلفاپاینن بر حافظه اجتنابی غیرفعال و سطوح بیان ژن CDK5 در هیپوکامپ و قشر مغز مدل حیوانی هانتینگتون القا شده با 3-NP بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی کردستان تهیه شد. در طول آزمایش، موش‌ها (هر سه موش در یک قفس) تحت شرایط استاندارد از نظر دما (درجه حرارت ۲ ± ۲۲ درجه سلیسیوس)، نور (چرخه روشنایی و تاریکی۱۲ ساعته جهت تنظیم سیکل سیرکادین(و رطوبت ۶۰-۵۵٪ با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موش نگهداری شدند. در تمام مراحل مختلف مطالعه، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. تمامی آزمایش‌های انجام‌گرفته بر روی حیوانات آزمایشگاهی این مطالعه با کد IR.MUK.REC.1399.295 به تائید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان رسیده است و مطابق با دستورالعمل‌های انستیتوی ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید. حیوانات به صورت تصادفی در ۵ گروه ۸ تایی به ترتیب زیر قرار گرفتند:

گروه شم: که نرمال سالین و حامل آلفاپاینن (۱۰٪ دی متیل سولفوکساید در نرمال سالین) را دریافت کردند.

گروه کنترل: که 3-NP (N5636, Sigma) را با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و حامل آلفاپاینن را دریافت کردند(۲۸ و ۲۷).

گروه‌های تیمار (۳، ۴ و ۵): 3-NP را با دوز۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و آلفاپاینن (تهیه شده از شرکت سقزسازی کردستان) را در دوزهای ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند (۲۹ و ۲۶ و ۲۲).

موش‌های صحرایی در هر گروه به مدت سه هفته و به صورت تزریق داخل صفاقی داروها یا حامل آلفاپاینن را دریافت کردند(۲۲). در روزهای هجدهم تا بیست و یکم، بین ساعت ۸ تا ۱۲ ظهر تحت شرایط استاندارد آزمون رفتاری از حیوانات جهت سنجش میزان حافظه اجتنابی غیرفعال به عمل آمد.

آزمون رفتار اجتنابی غیر فعال (passive avoidance test)

جهت بررسی رفتار اجتنابی غیر فعال از دستگاه شاتل باکس (به ابعاد ۲۰ ×۸۰ ×۲۰ سانتی متر) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. در کف محفظه تاریک، میله‌های فلزی برای شوک دادن به پای حیوان تعبیه شده است. برای اعمال تحریک به محفظه تاریک از دستگاه استیمولاتور استفاده گردید. بدین منظور، تک تحریکی به

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

شدت یک و نیم میلی‌آمپر و به مدت سه ثانیه اعمال شد(۳۰). در این تحقیق بررسی رفتار اجتنابی غیرفعال به شرح زیر انجام شد:

الف) سازش (Adaptation):

در این مرحله هر حیوان برای دو روز متوالی قبل از شروع آزمایش حداقل به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده می‌شد(۳۱).

ب) اکتساب (Acquisition):

در این مرحله (روزسوم) حیوان در محفظه روشن قرار داده و به مدت ۲ دقیقه در این محفظه نگه داشته شد. در این مدت درب گیوتینی ارتباط دهنده محفظه روشن و تاریک کاملاً بسته می‌ماند. در انتهای دوره، درب گیوتینی باز می‌شد. به محض باز کردن در کرنومتر را بکار انداخته و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود، یادداشت شد. به این مدت زمان تأخیر اولیه یا IL (Initial latency) اطلاق می‌گردد (ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک عبور اندام‌های حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط دهنده دو محفظه است). سپس در را پایین آورده و یک تک شوک (یک و نیم میلی‌آمپر، سه ثانیه) به حیوان وارد می‌شد. در ارتباط با این مرحله، موش‌های با تأخیر اولیه بیشتر از ۶۰ ثانیه از آزمایش‌ها حذف می‌شدند(۳۱).

ج) نگهداری و به یادآوری اطلاعات (Retention and Recall):

این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام گرفت. این مرحله مشابه مرحله قبل بود با این تفاوت که زمانی که حیوان به محفظه تاریک وارد می‌شد هیچ‌گونه شوکی دریافت نمی‌کرد. طی این فاز، تأخیر در حین عبور یا STL (step-through latency) اندازه‌گیری شد. منظور از STL، مدت زمانی است که حیوان در محفظه روشن باقی می‌ماند قبل از آنکه وارد محفظه تاریک شود. زمان قطع آزمایش (Cut-off time) در صورتی‌که موش وارد محفظه تاریک نمی‌شد، ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد(۳۰).

پس از اتمام مطالعه رفتاری، به منظور انجام مطالعات مولکولی، حیوانات با استفاده از مخلوط کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و با استفاده از گیوتین سر حیوان جدا گردید. بلافاصله مغز حیوان خارج و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. سپس، روی یخ با یک برش از خط وسط دو نیمکره مغز از هم جدا گردید. پس از استخراج هیپوکامپ و کورتکس، نمونه‌ها در نیتروژن مایع قرار گرفتند و بلافاصله به فریزر منفی ۷۰ درجه سلیسیوس جهت بررسی‌های مولکولی منتقل شدند.

بررسی بیان ژن

جهت بررسی بیان ژن CDK5 از روش RT-qPCR استفاده شد. استخراج و تخلیص RNA ی نمونه‌ها طبق دستورالعمل کیت ترایزول (YT 9064، شرکت یکتا تجهیز آزما، ایران) انجام گرفت. برای ارزیابی کمی و کیفی RNAی تام استخراج شده، مقدار کَمّی RNAی نمونه با خواندن جذب آن در طول موج ۲۶۰ نانومتر محاسبه شد. برای ارزیابی خلوص RNA، از محاسبه نسبت‌های جذب ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر و ۲۶۰/۲۳۰ نانومتر، به کمک پیکودراپ (Synergy HTX-Take3, BioTek, USA) استفاده گردید. مقدار یکسانی از RNAی هر نمونه (حدود ۱۰۰۰ نانوگرم) به کمک کیت مخصوص سنتز cDNA (YT 4500، شرکت یکتا تجهیز آزما، ایران) برای تهیه cDNA بکار برده شد. به منظور ارزیابی میزان RNAی ژن‌های مورد مطالعه، از مقدار یکسانی از cDNA ی تهیه شده از هر نمونه، پرایمر اختصاصی هر ژن وSYBR GREEN برای انجام واکنش RT-qPCR مطابق کیت مخصوص ریل تایم(MM 2042، شرکت سینا کلون، ایران) استفاده گردید (توالی نوکلئوتیدی پرایمرها در جدول ۱ آورده شده است). از GAPDH به عنوان ژن رفرنس استفاده شد. برای ارائه نتایج نمونه‌های مربوط به هر تیمار، نتایج نسبی mRNAی هر ژن، پس از نرمالیزه کردن با مقادیر mRNAی ژن GAPDH،

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

نسبت به گروه شم، در دو بار تکرار محاسبه و سنجش شد(۲۹).

آنالیز آماری

تمامی نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SEM) بیان گردید. پس از مشخص شدن نرمال بودن داده‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی برای تحلیل یافته‌های مطالعه استفاده گردید. برای بررسی‌های آماری و رسم نمودار از نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۸ استفاده گردید. سطح معنی-داری P<0.05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مقایسه تأخیر اولیه در آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال در گروه‌های مختلف آزمایشی

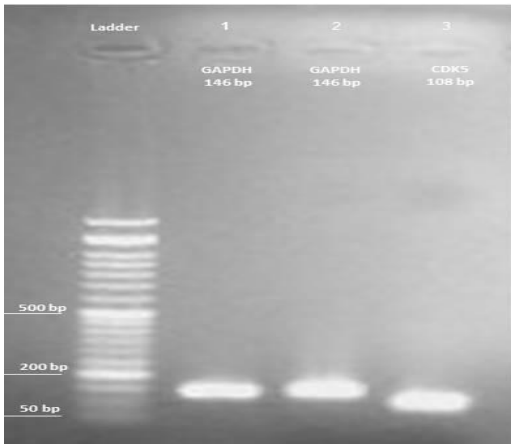
نمودار ۱ تأخیر اولیه (IL) را در آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال نشان می‌دهد. همان‌طور که در این نمودار مشاهده می‌شود این شاخص در گروه دریافت کننده 3-NP به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شم افزایش پیدا کرده است (P=۰/۰۴۹۴). از طرفی تجویز آلفاپاینن با هر سه دوز این شاخص را به طور معنی داری نسبت به گروه دریافت کننده 3-NP کاهش داده است (P =۰/۰۰۰۹، P=۰/۰۰۰۱ ، P=۰/۰۰۰۵).

مقایسه تأخیر در حین عبور (STL) در آزمون رفتار اجتنابی غیر فعال در گروه‌های مختلف آزمایشی

همان‌طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود STL در گروه دریافت کننده 3-NP کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه شم پیدا کرده است (P<۰/۰۰۰۱)؛ اما تجویز آلفاپاینن با هر سه دوز این شاخص را به طور معنی‌داری نسبت به گروه دریافت کننده 3-NP افزایش داده است (P<۰/۰۰۰۱).

مقایسه بیان ژن CDK5 در کورتکس و هیپوکامپ گروه‌های مختلف آزمایشی

نمودار ۳ و ۴ بیان ژن CDK5 در کورتکس و هیپوکامپ مغز گروه‌های مورد آزمایش را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این نمودارها دیده می‌شود، بیان این ژن در گروه دریافت‌کننده 3-NP نسبت به گروه شم افزایش معنی‌داری را نشان داد (به ترتیب P<۰/۰۰۰۱ و P=۰/۰۰۲). تجویز آلفا پاینن با دوز mg/kg/day ۵ و ۱۰ منجر به کاهش معنی‌داری در بیان این ژن در مقایسه با گروه دریافت کننده 3-NP در کورتکس شد (به ترتیب P<۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۲۹ =P)؛ اما در هیپوکامپ فقط در دوز mg/kg/day ۱ نسبت به گروه دریافت کننده 3-NP کاهش معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۰۸۷). شکل ۱ نتایج الکتروفورز محصول qRT-PCR ژن CDK5 به همراه GAPDH را نشان می‌دهد.



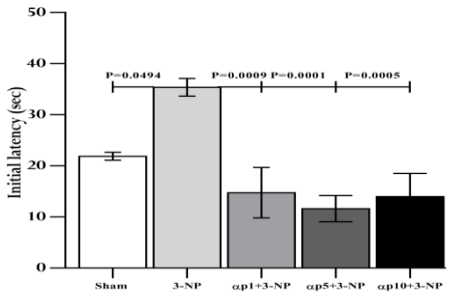
شکل ۱. نتایج الکتروفورز محصول qRT-PCR، ۱: GAPDH ۲: GAPDH ۳: CDK5

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

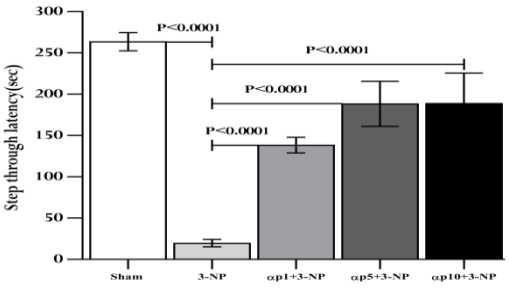
[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

جدول ۱. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده، دمای ذوب و طول (جفت باز) محصول

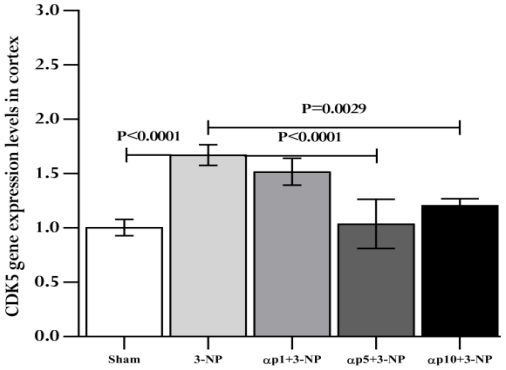
نام ژن	توالی پرایمر (5′-3′)		دمای ذوب (0^C)	طول محصول (bp)
CDK5	Forward	AAGGCACCTACGGAACTGTG	۶۲	۱۰۸
	Reverse	CTGAACTTGGCACACCCTCA		
GAPDH	Forward	CACGGCAAGTTCAACGGCACAG	۶۲	۱۴۶
	Reverse	ACGCCAGTAGACTCCACGACAT		



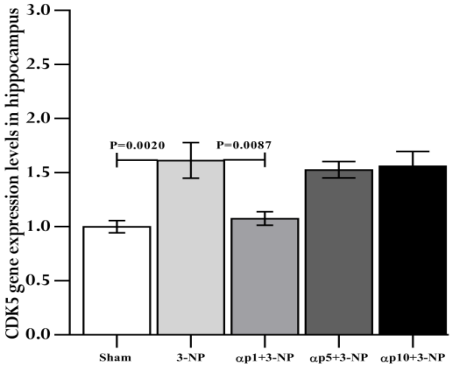
نمودار ۱. اثر آلفا پاپنن بر تاخیر اولیه (IL) در آزمون رفتار اجتنابی غیر فعال در گروه های مختلف آزمایشی. نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده است (n=8). مقادیر P<0.05 معنی دار در نظر گرفته شده است. αp (1,5,10)+3-NP: گروه‌های دریافت کننده آلفا پاپنن و 3-NP، 3-NP: 3-nitro-propionic acid, αp: alpha pinene



نمودار ۲. اثر آلفا پاپنن بر تأخیر در حین عبور (STL) درآزمون رفتار اجتنابی غیر فعال در گروه های مختلف آزمایشی: نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده است (n=8). مقادیر P<0.05 معنی دار در نظر گرفته شده است. αp (1,5,10)+3-NP: گروه‌های دریافت کننده آلفا پاپنن و 3-NP، 3-NP: 3-nitro-propionic acid, αp: alpha pinene



نمودار ۳. اثر آلفا پاپنن بر بیان ژن CDK5 در کورتکس مغز گروه های مختلف آزمایشی در گروه های مختلف آزمایشی: نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده است (n=8). مقادیر P<0.05 معنی دار در نظر گرفته شده است. αp (1,5,10)+3-NP: گروه‌های دریافت کننده آلفا پاپنن و 3-NP، 3-NP: 3-nitro-propionic acid, αp: alpha pinene



نمودار ۴. اثر آلفا پاپنن بر بیان ژن CDK5 در هیپوکامپ گروه های مختلف آزمایشی در گروه های مختلف آزمایشی: نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده است (n=8). مقادیر P<0.05 معنی دار در نظر گرفته شده است. αp (1,5,10)+3-NP: گروه‌های دریافت کننده آلفا پاپنن و 3-NP، 3-NP: 3-nitro-propionic acid, αp: alpha pinene

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

بحث

در این پژوهش، اثر 3-NP به عنوان یک القاگر شیمیایی بیماری هانتینگتون و همچنین دوزهای مختلف آلفاپاینن بر حافظه اجتنابی غیرفعال با استفاده از دستگاه شاتل باکس در موش‌های صحرایی بررسی شد. علاوه بر این، سطوح بیان ژن CDK5 در بافت هیپوکامپ و کورتکس گروه‌های مختلف آزمایشی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج ارزیابی عملکرد حافظه اجتنابی غیرفعال در مطالعه حاضر نشان داد که تزریق سیستمیک 3-NP سبب افزایش قابل ملاحظه تأخیر اولیه (IL) در مرحله اکتساب و کاهش معنی‌دار پارامتر تأخیر در حین عبور (STL) در فاز به یادآوری اطلاعات در مقایسه با گروه شم شد. در گروه‌های هانتینگتونی تحت تیمار با آلفاپاینن، فاز تأخیر اولیه کاهش و شاخص تأخیر در حین عبور به طور معکوس افزایش معناداری پیدا کرد. همچنین، سطح بیان ژن CDK5 در بافت هیپوکامپ و کورتکس موش‌های هانتینگتونی نسبت به گروه شم افزایش معنی داری یافت؛ اما تیمار با آلفاپاینن منجر به کاهش معنی‌دار بیان این ژن در کورتکس (۵ mg/kg/day و ۱۰) و هیپوکامپ (دوز ۱ mg/kg/day) نسبت به گروه دریافت کننده 3-NP شد که این معنی‌دار بودن کاهش بیان ژن در دوزهای بالاتر در کورتکس و دوز پایین در هیپوکامپ احتمالاً به ماهیت متفاوت نورون‌ها در کورتکس و هیپوکامپ و همچنین میزان پایداری mRNA در این نواحی مربوط باشد.

مشخص شده است که تزریق سیستمیک 3-NP از طریق افزایش استرس اکسیداتیو منجر به بروز اختلال حافظه به عنوان یکی از علائم مهم بیماری هانتینگتون در حیوانات آزمایشگاهی می‌گردد(۱۶). همچنین گزارش شده است که تزریق این ماده سبب کاهش STL در آزمون رفتاری سنجش حافظه اجتنابی غیرفعال می‌شود(۳۲). مطالعه حاضر نیز از این نظر با این مطالعه همخوانی دارد. در این پژوهش، تزریق داخل صفاقی 3-NP در مدت سه هفته سبب بروز اختلال حافظه از طریق کاهش قابل توجه شاخص STL در تست ارزیابی حافظه اجتنابی غیرفعال شد. علاوه بر این، 3-NP به عنوان یکی از مدل‌های رایج در القای بیماری هانتینگتون سبب بروز مشکلات حرکتی به دنبال تزریق سیستمیک می‌گردد(۳۳). در پژوهش حاضر، شاخص تأخیر اولیه در گروه کنترل (دریافت کننده 3-NP) در مقایسه با گروه شم افزایش معنی‌داری یافت. این افزایش در گروه کنترل ممکن است ناشی از اختلال حرکتی به واسطه تزریق داخل صفاقی و دراز مدت 3-NP باشد. از طرفی دیگر، تیمار با آلفاپاینن در هر سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست شاخص تأخیر اولیه را کاهش دهد، در حالی که تأخیر در حین عبور را به عنوان معیار اصلی در سنجش و تثبیت حافظه اجتنابی غیرفعال افزایش داد. بخشی از اثرات قابل توجه آلفاپاینن برکاهش تأخیر اولیه در مرحله اکتساب را می‌توان به اثر این ماده در بهبود علائم و اختلالات حرکتی ناشی از تزریق داخل صفاقی 3-NP نسبت داد. مطالعه اخیر ما در ارتباط با اثرات بهبود دهنده آلفاپاینن بر فعالیت‌های حرکتی در مدل حیوانی هانتینگتون القا شده با 3-NP می‌تواند مؤید این مطلب باشد(۲۲). در تائید یافته‌های مطالعه حاضر، اثرات سودمند آلفاپاینن بر عملکرد حافظه و یادگیری در بعضی از مدل‌های تخریب کننده عصبی نشان داده شده است. در این راستا، Lee و همکاران در سال ۲۰۱۷ گزارش کردند که پیش تیمار با آلفاپاینن سبب مهار اختلال حافظه ناشی از تجویز اسکوپولامین با اعمال مکانیسم‌های آنتی اکسیداتیو و افزایش در سنتز استیل کولین می‌گردد(۲۶). مطالعه اخیر Khan-Mohammadi-Khorrami و همکاران در سال ۲۰۲۲ نشان داد که آلفاپاینن در مدل حیوانی آلزایمر عملکرد حافظه فضایی را با افزایش مدت زمان سپری شده در ناحیه هدف به واسطه اعمال خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در ماز آبی موریس افزایش می‌دهد(۲۵). به علاوه، آلفاپاینن از بروز اختلال حافظه اجتنابی غیرفعال در مدل حیوانی پارکینسون به واسطه اثرات آنتی‌کولین استراز، مهار فاکتورهای اکسیداتیو و افزایش سطح دوپامین در بافت

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

هیپوکامپ و قشر مغز پیشگیری کرده است(۲۴). سایر شواهد گویای آن است که آلفاپاینن نه تنها سبب بهبود عملکرد حافظه در مدل‌های مرتبط با نواقص و اختلالات شناختی شده است، بلکه تزریق آن به شیوه‌های مختلف قادر به افزایش مهارت‌های حافظه و یادگیری در موش‌های سالم نیز شده است(۳۵ و ۳۴ و ۲۳). مطالعات ما و سایر محققین در این زمینه نشان داده است که تزریق داخل صفاقی(۳۴ و ۲۳) و داخل هیپوکامپی آلفاپاینن سبب بهبود حافظه فضایی با کاهش مدت زمان نهفته در رسیدن به محل قرارگیری سکو و افزایش مدت زمان سپری شده در ناحیه هدف در ماز آبی موریس(۳۵) و همچنین، سبب بهبود حافظه اجتنابی غیرفعال با کاهش سطح مالون دی آلدئید و افزایش تیول در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی شده است(۳۴)؛ بنابراین، یافته‌های پژوهش حاضر در بخش مطالعات رفتاری نشان می‌دهد که تیمار با آلفاپاینن در هر سه دوز می‌تواند عملکرد حافظه اجتنابی غیرفعال را احتمالاً با افزایش شاخص تأخیر در حین عبور در مرحله نگهداری اطلاعات بهبود بخشد.

نشان داده شده است که فرآیند حافظه و یادگیری در ارتباط با مکانیسم‌های مولکولی متنوعی در سیستم عصبی مرکزی هستند(۳۶). بعضی از فاکتورهای مولکولی، مانند CDK5 در تنظیم این مکانیسم‌ها مشارکت دارند(۸). CDK5 عضو کینازهای وابسته به سیکلین است و یک تنظیم کننده مهم عملکرد سیناپسی از طریق کنترل اگزوسیتوز و اندوسیتوز وزیکولی است. همچنین بر فعالیت سیستم عصبی از طریق تغییر در سنتز یا عملکرد رسپتورها در سیستم‌های انتقال عصبی استیل کولینرژیک، کاتکول آمینرژیک و گلوتاماترژیک مؤثر است(۳۷).

این فاکتور (CDK5) نقش مهمی در بسیاری از اختلالات نورودژنراتیو از جمله بیماری های آلزایمر و هانتینگتون ایفا می‌نماید(۳۸). گزارش شده القای مدل بیماری هانتینگتون در موش‌های سوری سبب بروز نشانه‌هایی از تغییرات ساختاری در نورون‌های خاردار استریاتوم و فقدان عملکرد سیناپسی به واسطه افزایش فعالیت CDK5 شده است. از طرفی کاهش ژنتیکی CDK5 در موش‌های سوری مبتلا به هانتیگتون سبب رفع اختلال حافظه پیشرونده و مشکلات شناختی به واسطه افزایش تعداد نورون‌های خاردار ناحیه هیپوکامپ مغز شده است(۳۹ و ۸). همچنین، CDK5 علاوه بر مرگ و آسیب پذیری نورون‌های استریاتوم در ایجاد اختلال حافظه در بیماری هانتینگتون نیز سهیم است(۸)؛ بنابراین، در بخش دیگری از مطالعه حاضر، به بررسی مکانیسم‌های مولکولی مسئول در بهبود حافظه ناشی از تزریق آلفاپاینن از طریق اندازه گیری سطح بیان ژن CDK5 در کوتکس مغز و بافت هیپوکامپ پرداخته شد. در این راستا، یافته ها نشان داد که تزریق سیستمیک 3-NP منجر به افزایش معنی دار سطح بیان این ژن در کورتکس مغز و هیپوکامپ در مقایسه با گروه شم گردید. به دنبال ۲۱ روز تیمار با آلفاپاینن، سطح بیان این ژن به طور قابل ملاحظه‌ای هم در کورتکس و هم در هیپوکامپ کاهش یافت. در حمایت از نتایج مطالعه حاضر، گزارش شده است که به دنبال تزریق 3-NP، افزایش قابل توجهی نیز در سطوح بیان پروتئین CDK5 در بافت استریاتوم رت‌ها مشاهده شده است که متعاقب آن سبب تخریب وسیع نورونی در این ناحیه شده است (۴۰). همچنین مشخص شده است که مهار مسیر calpain/cdk5 به‌وسیله لیتیم، توکسیستی ناشی از 3-NP را در شرایط برون تنی و درون تنی کاهش می‌دهد(۹).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز آلفاپاینن در دوزهای ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم سبب بهبود حافظه اجتنابی غیرفعال از طریق افزایش شاخص STL در مدل حیوانی هانتینگتون القا شده با 3-NP گردید. یکی از مکانیسم‌های اثر بخشی این ماده در بهبود عملکرد حافظه در پژوهش حاضر ممکن است ناشی از اثر آلفاپاینن در کاهش سطح بیان ژن CDK5 باشد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان بابت حمایت‌های مالی و تأمین امکانات انجام مطالعه حاضر تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله مستخرج از طرح مصوب با کد IR.MUK.REC.1399.295 است.

همچنین از همکاران محترم مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی هم کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. هیچ‌کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه‌ها تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

منابع

1.Ross CA, Tabrizi SJ. Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. Lancet Neurol. 2011;10(1):83-98.

2.Bonelli RM, Hofmann P. A review of the treatment options for Huntington’s disease. Expert Opin Pharmacother. 2004;5(4):767-76.

3.Gray M, Egan GF, Ando A, Churchyard A, Chua P, Stout JC, et al. Prefrontal activity in Huntington's disease reflects cognitive and neuropsychiatric disturbances: the IMAGE-HD study. Exp Neurol. 2013;239:218-28.

4.Lemiere J, Decruyenaere M, Evers-Kiebooms G, Vandenbussche E, Dom R. Cognitive changes in patients with Huntington’s disease (HD) and asymptomatic carriers of the HD mutation: A longitudinal follow–up study. J Neurol. 2004;251:935-42.

5.Lawrence AD, Watkins LH, Sahakian BJ, Hodges JR, Robbins TW. Visual object and visuospatial cognition in Huntington's disease: implications for information processing in corticostriatal circuits. Brain. 2000;123(7):1349-64.

6.Majerová V, Kalinčík T, Laczó J, Vyhnálek M, Hort J, Bojar M, et al. Disturbance of real space navigation in moderately advanced but not in early Huntington's disease. J Neurol Sci. 2012;312(1-2):86-91.

7.Spargo E, Everall I, Lantos P. Neuronal loss in the hippocampus in Huntington's disease: a comparison with HIV infection. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1993;56(5):487-91.

8.Alvarez-Periel E, Puigdellívol M, Brito V, Plattner F, Bibb JA, Alberch J, et al. Cdk5 contributes to Huntington’s disease learning and memory deficits via modulation of brain region-specific substrates. Mol Neurobiol. 2018;55:6250-68.

9.Crespo-Biel N, Camins A, Pallas M, Canudas A. Evidence of calpain/cdk5 pathway inhibition by lithium in 3-nitropropionic acid toxicity in vivo and in vitro. Neuropharmacology. 2009;56(2):422-8.

10.Duff K, Paulsen J, Mills J, Beglinger L, Moser D, Smith M, et al. Mild cognitive impairment in prediagnosed Huntington disease. Neurology. 2010;75(6):500-7.

11.Paoletti P, Vila I, Rifé M ,Lizcano JM, Alberch J, Ginés S. Dopaminergic and glutamatergic signaling crosstalk in Huntington's disease neurodegeneration: the role of p25/cyclin-dependent kinase 5. J Neurosci. 2008;28(40):10090-101.

12.Ramaswamy S, McBride JL, Kordower JH. Animal models of Huntington's disease. Ilar J. 2007;48(4):356-73.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

13.Fu Y, He F, Zhang S, Jiao X. Consistent striatal damage in rats induced by 3-nitropropionic acid and cultures of arthrinium fungus. Neurotoxicol Teratol. 1995;17(4):413-8.
14.Brouillet E, Guyot MC, Mittoux V, Altairac S, Condé F, Palfi S, et al. Partial inhibition of brain succinate dehydrogenase by 3-nitropropionic acid is sufficient to initiate striatal degeneration in rat. J Neurochem. 1998;70(2):794-805.
15.Akashiba H, Ikegaya Y, Nishiyama N, Matsuki N. Differential involvement of cell cycle reactivation between striatal and cortical neurons in cell death induced by 3-nitropropionic acid. J Biol Chem. 2008;283(10):6594-606.
16.Menze ET, Esmat A, Tadros MG, Abdel-Naim AB, Khalifa AE. Genistein improves 3-NPA-induced memory impairment in ovariectomized rats: impact of its antioxidant, anti-inflammatory and acetylcholinesterase modulatory properties. PLoS ONE. 2015; 10(2): doi.org/10.1371/journal.pone.0117223.
17.Martina A, Christian S. α-Pinene: A never-ending story. Phytochemistry. 2021;190(1):112857-63.
18.Him A, Ozbek H, Turel I, Oner AC. Antinociceptive activity of alpha-pinene and fenchone. Pharmacologyonline. 2008;3:363-9.
19.Porres-Martínez M, González-Burgos E, Carretero ME, Gómez-Serranillos MP. In vitro neuroprotective potential of the monoterpenes α-pinene and 1, 8-cineole against H2O2-induced oxidative stress in PC12 cells. Z Naturforsch C J Biosci. 2016;71(7-8):191-9.
20.Khoshnazar M ,Bigdeli MR, Parvardeh S, Pouriran R. Attenuating effect of α-pinene on neurobehavioural deficit, oxidative damage and inflammatory response following focal ischaemic stroke in rat. J Pharm Pharmacol. 2019;71(11):1725-33.
21.Khoshnazar M, Parvardeh S, Bigdeli MR. Alpha-pinene exerts neuroprotective effects via anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms in a rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2020;29(8):104977.
22.Rahmani H, Moloudi MR, Hashemi P, Hassanzadeh K, Izadpanah E. Alpha-Pinene alleviates motor activity in animal model of Huntington's disease via enhancing antioxidant capacity. Neurochem Res. 2023; 23:1-8.
23.Hashemi P, Rahmani H, Moloudi MR, Rahimi K ,Vahabzadeh Z, Izadpanah E. Alpha-Pinene effect on improving working and spatial memory in rats. SJKU 2023; 28 (2) :28-39 [in Perian]
24.Goudarzi S, Rafieirad M. Evaluating the effect of α-pinene on motor activity, avoidance memory and lipid peroxidation in animal model of Parkinson disease in adult male rats. Res J Pharmacog. 2017;4(2):53-63.
25.Khan-Mohammadi-Khorrami MK, Asle-Rousta M, Rahnema M, Amini R. Neuroprotective effect of alpha-pinene is mediated by suppression of the TNF-α/NF-κB pathway in Alzheimer's disease rat model. J Biochem Mol Toxicol. 2022;36(5): doi.org/10.1002/jbt.23006
26.Lee G-Y, Lee C, Park GH, Jang J-H. Amelioration of Scopolamine-Induced Learning and Memory Impairment by Multiple Bioactivities of Traditional Medicinal Herbs for Treatment of Neurodegenerative Diseases. J Evid Based Complementary Altern Med. 2017; doi.org/10.1155/2017/4926815

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]

27.Fotoohi A, Moloudi MR, Hosseini S, Hassanzadeh K, Feligioni M, Izadpanah E. A novel pharmacological protective role for safranal in an animal model of Huntington's disease. Neurochem Res. 2021;46:1372-9.

28.Kaur N, Jamwal S, Deshmukh R, Gauttam V, Kumar P. Beneficial effect of rice bran extract against 3-nitropropionic acid induced experimental Huntington's disease in rats. Toxicol Rep. 2015;1(2):1222-32.

29.Bae G-S, Park K-C, Choi SB, Jo I-J, Choi M-O, Hong S-H, et al. Protective effects of alpha-pinene in mice with cerulein-induced acute pancreatitis. Life Sci. 2012;91(17-18):866-71.

30.Nazarinia D, Karimpour S, Hashemi P, Dolatshahi M. Neuroprotective effects of Royal Jelly (RJ) against pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizures in rats by targeting inflammation and oxidative stress. J CHEM NEUROANAT. 2023;129: doi:10.1016/j.jchemneu.2023.102255.

31.Ahshin-Majd S, Zamani S, Kiamari T, Kiasalari Z, Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Carnosine ameliorates cognitive deficits in streptozotocin-induced diabetic rats: Possible involved mechanisms. Peptides. 2016;86:102-11.

32.Silva RH, Abílio VC, Kameda SR, Takatsu-Coleman AL, Carvalho RC, Ribeiro RdA, et al .Effects of 3-nitropropionic acid administration on memory and hippocampal lipid peroxidation in sleep-deprived mice. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2007;31(1):65-70.

33.Fernagut P, Diguet E, Stefanova N, Biran M, Wenning G, Canioni P, et al. Subacute systemic 3-nitropropionic acid intoxication induces a distinct motor disorder in adult C57Bl/6 mice: behavioural and histopathological characterisation. Neuroscience. 2002;114(4):1005-17.

34.Nozari K, Rafieirad M. Comparison of Alphapinene and Donpezil Effects on Passive Avoidance Memory in Adult Male Rats. Qom Univ Med Sci J. 2019;13(4):1-10. [in Persian]

35.Ahmadi-kanali R, Abbasnejad M, Esmaeili-Mahani S, Pourrahimi AM, Kooshki R. Effects of Intra-hippocampal Administration of Alpha-pinene on Learning and Memory Performances in Adult Male Rats. J Maz Univ Med Sci. 2021;31(200):26-37. [in Persian]

36.D'Mello SR. When good kinases go rogue: Gsk3, p38 mapk and cdks as therapeutic targets for alzheimer's and huntington's disease. Int J Mol Sci. 2021;22(11):5911.

37.McLinden KA, Trunova S, Giniger E. At the fulcrum in health and disease: Cdk5 and the balancing acts of neuronal structure and physiology. Brain disord ther. 2012; doi: 10.4172/2168-975X.S1-001.

38.Cheung ZH, Ip NY. Cdk5: a multifaceted kinase in neurodegenerative diseases. Trends in cell biology. 2012; doi: 10.4172/2168-975X.S1-001

39.Murmu RP, Li W, Holtmaat A, Li J-Y. Dendritic spine instability leads to progressive neocortical spine loss in a mouse model of Huntington's disease. J Neurosci. 2013;33(32):12997-3009.

40.Crespo-Biel N, Camins A, Pelegrí C, Vilaplana J, Pallàs M, Canudas AM. 3-Nitropropionic acid activates calpain/cdk5 pathway in rat striatum. Neurosci Lett. 2007;421(1):77-81.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.61186/sjku.29.1.34]