



تأثير الميثوتركسيت على ذاكرة التعرف في إناث الفئران البالغة

وفاء فرج الماطوني^{1*}، فاطمة حسين أحمد¹، هاجر محمد غليو¹، مصطفى محمد دراه²¹ قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبيا² قسم التقنيات الحيوية، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبيا

تاريخ الاستلام: 11 فبراير 2022 / تاريخ القبول: 12 يونيو 2022

<https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i2.617>:Doi

المستخلص: يُستخدم الميثوتركسيت MTX لعلاج بعض أمراض السرطان، والأمراض الجلدية، والأمراض الروماتيزمية، وقد أثبتت العديد من الدراسات أنه يسبب ضرراً للذاكرة لدى الفئران. وعليه أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير جرعات مختلفة من الميثوتركسيت على ذاكرة التعرف في الفئران. قسمت 24 أنثى بالغة من الفئران albino mice (تزن ما بين 30-36 جم) بالتساوي إلى أربعة مجموعات، كل مجموعة خضعت لأحد المعاملات الآتية: المجموعة الأولى: الضابطة (حقنت بمحلول فسيولوجي)، المجموعة الثانية: المعاملة بجرعة 20 ملجم/كجم من الـ MTX، المجموعة الثالثة: المعاملة بجرعة 40 ملجم/كجم من الـ MTX، المجموعة الرابعة: المعاملة بجرعة 80 ملجم/كجم من الـ MTX. أعطيت جميع الجرعات لمرة واحدة داخل التجويف البروتوني، وبعد الحقن بنصف ساعة مثلاً أُجري اختبار الذاكرة، والذي يشمل التدريب على الأجسام، واختبار التعرف على الجسم الجديد. أظهرت نتائج هذه الدراسة انخفاض معدل استكشاف الفئران المحقونة بالـ MTX للجسم الجديد مقارنة بالمجموعة الضابطة، وهذا الانخفاض ازداد مع ازدياد الجرعة المحقونة. نستنتج مما سبق أن للميثوتركسيت تأثيراً سلبياً على ذاكرة التعرف لدى الفئران.

الكلمات المفتاحية: اختبار التعرف على الجسم الجديد؛ التجويف البريتوني؛ الميثوتركسيت؛ تدهور معرفي؛ ذاكرة التعرف.

لحمض الفوليك (Bedoui et al., 2019). يعمل MTX

على منع عمل أنزيم ثنائي هيدرو حمض الفوليك (Dihydrofolate reductase)، مسبباً تثبيطاً في عملية تخليق البيورين، والبريميدين (Purine and Pyrimidine)، مما يوقف صنع الـ DNA، وتضاعفه، وبالتالي توقف الخلايا التي تتكاثر بسرعة مثل: الخلايا السرطانية (Akman, 2021; Bedoui et al., 2019).

هناك العديد من الآثار الجانبية لاستخدام الميثوتركسيت علاجاً، فبعضها طفيف نادر لا يهدد حياة الشخص كالغثيان، والصداع، وتساقط الشعر، والشعور بالضعف العام. إلا أن هناك بعض الآثار السمية لهذا العقار قد تهدد الحياة وتشمل:

المقدمة

الميثوتركسيت (MTX) Methotrexate هو عامل مضاد للأورام ومثبط للمناعة، استخدم منذ سنة 1948م على نطاق واسع في علاج العديد من الأمراض مثل السرطان، والالتهابات، وأمراض المناعة الذاتية، وبعض الأمراض الجلدية، وكذلك علاج التهاب المفاصل الروماتويدي (Akman, 2021).

يعتبر الميثوتركسيت (4 أمينو 10 ميثيل حمض الفوليك (4-amino-10-methylfolic acid)) مادة منازرة ومضادة

* وفاء فرج الماطوني: elmatonw@sci.misuratau.edu.ly، قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبيا

أشار (Seigers et al., 2008) إلى أن حقن الـ MTX (250 ملجم /كجم) في وريد الجرذان أدى إلى انخفاض وظيفة الحصين، مما جعل الجرذان تفشل في تمييز الجسم الجديد من الجسم القديم، أي حدث ضعف في ذاكرة التعرف على الأجسام الجديدة لدى هذه الجرذان.

أدى حقن أربع جرعات من الـ MTX (0.5 ملجم / كجم) في فترة أسبوعين داخل التجويف البريتوني لذكور الجرذان إلى عجز في ذاكرة التعرف، استمر هذا العجز لمدة ثلاثة أشهر على الأقل بعد الحقن (Vijayanathan et al., 2011).

تسبب حقن جرعة واحدة من الـ MTX (75 ملجم / كجم) في وريد الجرذان البالغة، إلى عجز في الذاكرة، وانخفاض كبير في تكاثر الخلايا العصبية غير الناضجة، وهذه النتائج اتضحت عند إجراء اختبار التعرف على الأجسام الجديدة (Naewla et al., 2019).

ونظرا للاستخدام الواسع لعقار الـ MTX في علاج السرطان (Aldosouky et al., 2011)، وعلاج التهاب المفاصل الروماتويدي في ليبيا بجرعات منخفضة مختلفة، وحيث أن معظم المصابين كانوا من النساء (Etaher et al., 2021) فإن هذه الدراسة تهدف إلى قياس التأثير السمي لثلاث جرعات مختلفة (منخفضة، ومتوسطة، وعالية) من الميثوتريكسيت على ذاكرة التعرف على أجسام جديدة لدى إناث الفئران البالغة.

المواد وطرق البحث

الكيمياءويات المستخدمة: سائل الميثوتريكسيت (Methotrexate ® 50 mg/2ml, Mylan, France) ومحلول فسيولوجي (0.9% Normal saline).

الحيوانات المختبرية Experimental Animals : استخدم في هذه الدراسة 24 أنثى بالغة من الفئران البيضاء mice Female albino أوزانها ما بين (30-36 جرام)، والتي تحصل عليها من بيت الحيوان التابع لكلية الصيدلة

انخفاض أعداد خلايا الدم البيضاء، وأمراض الكبد، والكلية الناتجة عن سمية MTX (Bedoui et al., 2019). كما أن استخدام MTX قد يسبب حدوث خلل طويل الأمد في الانتباه، وتدهور وظائف الدماغ، وأيضا له تأثير سلبي على الذاكرة (John et al., 2021; Madhyastha et al., 2019; Naewla et al., 2002).

وتعرف ذاكرة التعرف (Recognition Memory) بأنها القدرة على التعرف على الأحداث، أو الأشياء، أو الأشخاص الذين تمت مواجهتهم مسبقاً (Broadbent et al., 2010). أصبحت مهمة التعرف على الأجسام الجديدة Novel Object Recognition مهمة قياسية لتقييم ذاكرة التعرف لدى القوارض، حيث تستغل هذه المهمة ميل القوارض الطبيعي لاستكشاف أجسام جديدة، إذ يمكن الوصول إلى استنتاجات حول الذاكرة من خلال قياس المدة الزمنية التي تستغرقها القوارض في استكشاف هذه الأجسام (Cohen & Stackman Jr, 2015).

بينت دراسات عديدة التأثير الضار للميثوتريكسيت على ذاكرة القوارض (John et al., 2021). عند حقن جزاء الفئران بالـ MTX (1 أو 2 ملجم / كجم) داخل التجويف البريتوني في الأيام 14 و 15 و 16 بعد الولادة، لوحظ تدهور ذاكرة الفئران (اختبار التعرف على الأجسام الجديدة) بعد مرور تسعة عشر يوماً من المعاملة، هذا التدهور شمل الذاكرة على فترات قصيرة (ساعة واحدة) وطويلة (24 ساعة) (Bisen-Hersh et al., 2013).

تسبب حقن جرعتين من الـ MTX (75 ملجم / كجم) اليوم في اليومين السابع، والرابع عشر من التجربة) في الوريد الذيلي للجرذان البالغة في تدهور ذاكرة التعرف لدى هذه الجرذان، وحدث انخفاض في تركيز مجموعة من البروتينات التي تلعب دوراً مهماً في وظيفة التذكر لدى الجرذان (Sritawan et al., 2021)، كما حدث انخفاض في عدد الخلايا العصبية غير الناضجة في منطقة الحصين Hippocampus (Sritawan et al., 2020).

عرضه 25 سم، ارتفاعه 25 سم)، مفتوح من الأعلى. أما الأجسام فهي عبارة عن ثلاث عبوات زجاجية ذات ألوان مختلفة أبيض شفاف (الجسم A)، بني (الجسم B)، وأخضر (الجسم C)، اختيرت هذه الأجسام بناء على تجارب سابقة أجريت في المعمل. أجري اختبار الذاكرة على 3 مراحل: فترة تأقلم Habituation period (قبل يوم الحقن بأربعة أيام)، ويوم التدريب Training، ويوم الاختبار Testing.

أولا فترة التأقلم: تأقلمت الفئران على الصندوق الفارغ على مرحلتين: المرحلة الأولى أجريت بوضع كل مجموعة من الفئران على حدة لمدة 10 دقائق في يوم واحد، أما في المرحلة الثانية وُضع كل فأر في صندوق الاختبار الفارغ لمدة 5 دقائق لمدة يومين، يُساعد تأقلم الفئران التعرف على الصندوق واستكشافه.

ثانياً التدريب Training: أُجري يوم التدريب بعد حقن الميثوتركسيت بساعة، حيث وُضع الجسم A، و B في الصندوق، وعلى مسافة 10 سم من الجدار وُسمح لكل فأر باستكشاف الجسمين لمدة 5 دقائق مع مراعاة تسجيل الملاحظات.

ثالثاً أُجري الاختبار Test: بعد انتهاء التدريب بأربع وعشرين ساعة، وذلك باستبدال الجسم B بأخر جديد C، وُسمح لكل فأر باستكشاف الجسمين لمدة 5 دقائق.

سُجل زمن استكشاف كل فأر لكل جسم (بالتواني) يدوياً باستخدام ساعة إيقاف. ثم حُسب معدل استكشاف الفأر لكل جسم (%) بالنسبة للزمن الكلي لاستكشاف الجسمين. استخدم كحول الإيثانول (70%) لمسح الصندوق، والأجسام الزجاجية بين كل فأر وآخر (Lyons et al., 2011; Reger et al., 2009). انظر الشكل 1 يوضح خط سير التجربة.

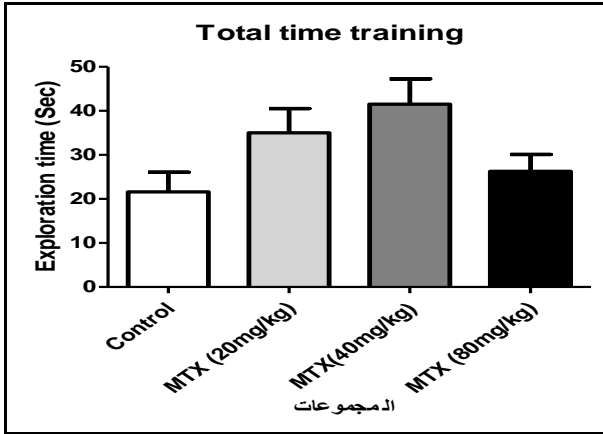
مصراثة. تم إيواء هذه الفئران في أقفاص بلاستيكية (طول 60 سم × عرض 30 سم × ارتفاع 32 سم)، حيث هُيئت لها الظروف المختبرية المطلوبة والمناسبة لها من ضوء (12 ساعة ظلام: 12 ساعة إضاءة)، ودرجة حرارة (22 ± 2 م)، وعليقة خاصة بتغذيتها (ذرة، وشعير، وقمح)، وكان الماء والغذاء متاحا لها طول فترة التجربة. تم التعامل مع الحيوانات وفق أخلاقيات البحث العلمي.

تصميم التجربة Experimental Design: قُسمت حيوانات التجربة إلى أربع مجموعات عشوائياً، بواقع ستة فئران لكل مجموعة، عُرِزت الإناث عن الذكور لمدة شهر سمح لها خلال ذلك بالأقلمة مع الظروف البيئية (بيت الحيوان بكلية العلوم مصراثة). استغرقت دراسة الذاكرة مدة أسبوع، حيث سُمح للفئران بالتأقلم مع الصندوق الخاص باختبار الذاكرة، في اليوم الأول (كل مجموعة فئران على حدة)، واليوم الثاني، والرابع (كل فأر على حدة)، أما في اليوم الخامس عُوملت حيوانات التجربة وفق التالي (Elens et al., 2019; Ermens et al., 1989; Naewla et al., 2019):

- المجموعة الأولى (المجموعة الضابطة Group: Control): حُقنت بمحلول فسيولوجي (0.9%) بحجم مماثل لحجم جرعة الـ MTX.
- المجموعة الثانية: حُقنت بـ 20 ملجم/كجم من الـ MTX.
- المجموعة الثالثة: حُقنت بـ 40 ملجم/كجم من الـ MTX.
- المجموعة الرابعة: حُقنت بـ 80 ملجم/كجم من الـ MTX.

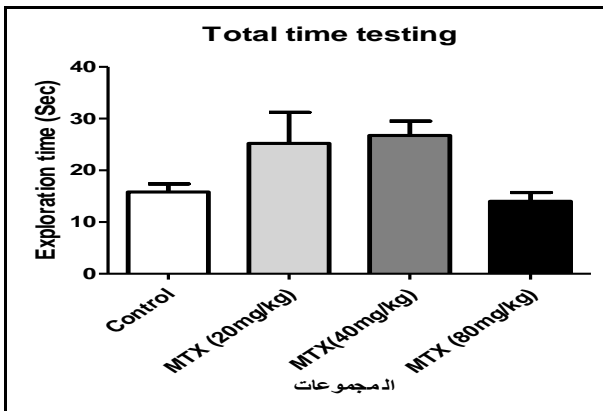
أعطيت جرعة الـ MTX عن طريق الحقن في التجويف البريتوني. بعد الحقن بساعة أُجري التدريب على الأجسام، ثم بعد أربع وعشرين ساعة من انتهاء التدريب أُجري اختبار التعرف على الجسم الجديد لقياس ذاكرة التعرف لدى الفئران.

اختبار الذاكرة Memory test: أُجري اختبار التعرف على الأجسام الجديدة Object recognition memory لقياس تأثير MTX على ذاكرة التعرف لدى الفئران، طُبِق هذا الاختبار في غرفة ذات إضاءة خافتة وهادئة. واستخدم في هذا الاختبار صندوق خشبي أسود مستطيل (طوله 30 سم،



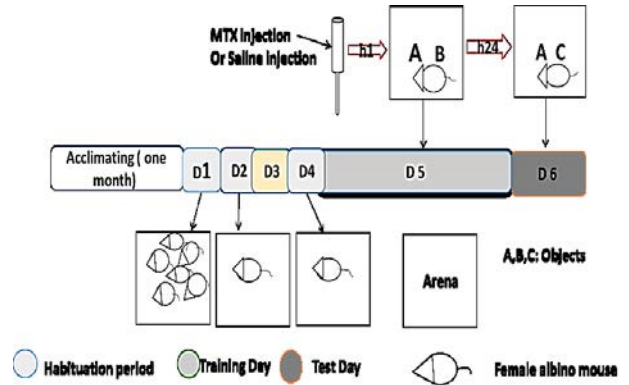
شكل (2). تأثير MTX على زمن الاستكشاف الكلي يوم التدريب.

تأثير MTX على زمن الاستكشاف الكلي في يوم الاختبار: أظهرت النتائج أن زمن الاستكشاف الكلي للجسمين A و C في يوم الاختبار للمجموعة MTX(40mg/kg) أعلى من المجموعات الأخرى، ثم تليها المجموعة MTX(20 mg/kg) كانت المجموعة الضابطة Control group في المرتبة الثالثة، في حين كانت فئران المجموعة MTX(80mg/kg) أقل المجموعات استكشافا للجسمين. بين اختبار التباين الأحادي عدم وجود دلالة معنوية لهذه الفروقات (p=0.078) (شكل 3).



شكل (3). تأثير MTX على زمن الاستكشاف الكلي يوم الاختبار.

تأثير MTX على معدل استكشاف الجسمين A و B يوم التدريب : أوضحت النتائج أن معدل استكشاف الفئران للجسم A بالمجموعتين الضابطة، و MTX(80mg/kg) أعلى من معدل استكشافها للجسم B، والعكس صحيح بالنسبة للمجموعتين MTX(20mg/kg) ، و MTX(40mg/kg)



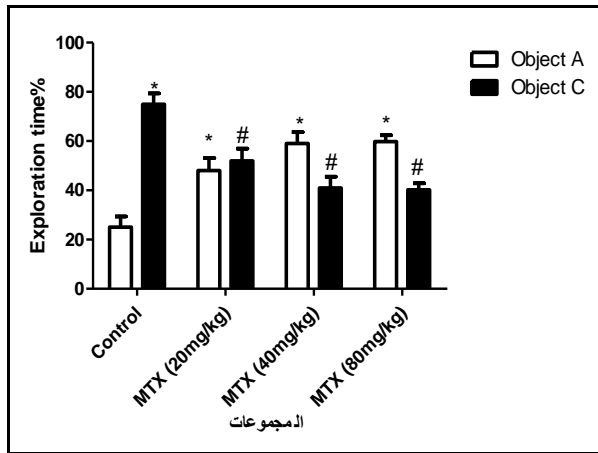
شكل (1). خط سير التجربة.

التحليل الإحصائي Statistical Analysis : استخدم البرنامج الإحصائي SPSS لإجراء التحاليل الإحصائية الخاصة بالدراسة، أعدت الأشكال البيانية ببرنامج Graphpad prism. وعُبر عن النتائج بالمتوسط \pm الخطأ المعياري. استخدم تحليل اختبار التباين الأحادي One Way ANOVA لمقارنة نتائج الزمن الكلي للاستكشاف، وكذلك لإيجاد الفروقات في نتائج اختبار الذاكرة بين المجموعات الأربعة. وأجري اختبار T لعينتين مرتبطتين T paired test للمقارنة بين الفرق في معدل استكشاف الجسمين داخل المجموعة الواحدة. واستخدم اختبار الأقل فرق معنوي Least Significant Difference (LSD) لمعرفة أي الفروقات ذات دلالة إحصائية. حدد مستوى المعنوية عن $P \leq 0.05$.

النتائج

تأثير MTX على زمن الاستكشاف الكلي في يوم التدريب: بينت النتائج أن زمن الاستكشاف الكلي للجسمين A و B في يوم التدريب للمجموعة MTX(40mg/kg) أعلى من المجموعات الأخرى، ثم تليها المجموعة MTX(20mg/kg)، أما المجموعة MTX(80mg/kg) فتأتي في المرتبة الثالثة، في حين كانت فئران المجموعة الضابطة أقل المجموعات استكشافا للجسمين. إلا أنه عند إجراء اختبار التباين الأحادي تبين عدم وجود دلالة معنوية لهذه الفروقات (p=0.062) (شكل 2).

المجموعات المختلفة فإن استكشاف الفئران للجسم A في المجموعات الثلاثة للميثوتركسيت أعلى من المجموعة الضابطة، بينما العكس صحيح لمعدل استكشافها للجسم C، حيث كان أعلى في المجموعة الضابطة من باقي المجموعات. أي معدل استكشاف الفئران الجسم C في مجموعات MTX انخفض مقارنة بالمجموعة الضابطة، وهذا الانخفاض ازداد بزيادة الجرعة، والعكس بالنسبة للجسم A، بين اختبار التباين الأحادي One Way ANOVA وجود فروق معنوية بينها ($p=0.0001$)، أظهر اختبار LSD الفرق المعنوي بين معدل استكشاف الجسمين A, C في المجموعة الضابطة فقط، وأيضا هناك فرق معنوي بين معدل استكشاف فئران المجموعة الضابطة للجسم A، و معدل استكشاف فئران باقي المجموعات للجسم A، وهناك فرق معنوي بين معدل استكشاف فئران المجموعة الضابطة للجسم C، و معدل استكشاف فئران باقي المجموعات للجسم (شكل 5).



* فرق معنوي مع الجسم A في المجموعة الضابطة

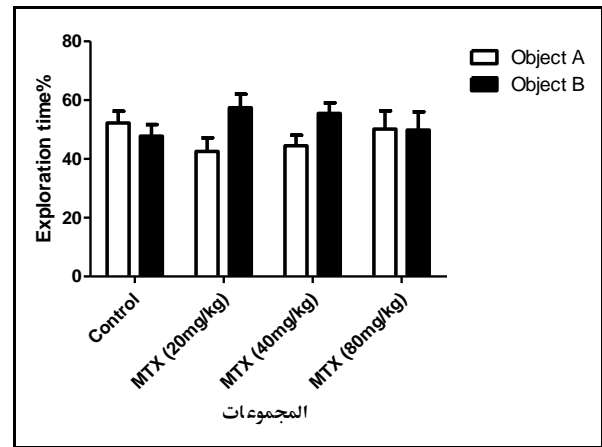
فرق معنوي مع الجسم C في المجموعة الضابطة

شكل (5). تأثير MTX على معدل الاستكشاف للجسمين A, C يوم الاختبار.

المناقشة

في هذه الدراسة لم تُظهر نتائج اختبار التعرف على الجسم الجديد NOR الذي أجري بعد حقن MTX أي فروق معنوية في زمن الاستكشاف الكلي بين مجاميع الدراسة في يومي التدريب والاختبار، مما يشير إلى أن الـ MTX لم يتداخل مع

أي أن معدل استكشاف الجسم B أعلى من الجسم A داخل كلا المجموعتين. وعند إجراء اختبار T تبين عدم وجود فرق معنوي بين معدل استكشاف الفئران للجسمين A و B داخل كل مجموعة. أما عند مقارنة زمن استكشاف الفئران للجسمين في المجموعات المختلفة لوحظ أن زمن استكشاف الجسم A في المجموعتين الضابطة Control، و MTX (80mg/kg) أعلى من المجموعتين MTX(20mg/kg) و MTX (40mg/kg)، بينما العكس صحيح بالنسبة لمعدل الاستكشاف للجسم B أي أنه كان أعلى في المجموعتين MTX (20mg/kg)، MTX (40mg/kg) عنه في المجموعتين الضابطة، و MTX (80 mg/kg) وعند إجراء اختبار التباين الأحادي One way ANOVA تبين عدم وجود دلالة معنوية لهذه الفروقات ($p=0.441$) (شكل 4).



شكل (4). تأثير MTX على معدل الاستكشاف للجسمين A, B يوم التدريب

تأثير MTX على معدل استكشاف الجسمين A, C يوم الاختبار: أوضحت النتائج أن معدل استكشاف فئران المجموعة الضابطة، والمجموعة MTX(20mg/kg) للجسم C أعلى من معدل استكشافها للجسم A، في حين أن معدل استكشاف الفئران للجسم A أعلى من معدل استكشافها للجسم C داخل المجموعتين MTX (40mg/kg) و MTX (80mg/kg) عند إجراء اختبار T تبين وجود فرق معنوي داخل مجموعة الضابطة فقط أما باقي المجموعات لا يوجد. أما بالنسبة لمعدل استكشاف الفئران للجسمين A, C في

لاختلاف البروتوكول المتبع عند إجراء اختبار NOR في الدراساتتين.

عند مقارنة معدل استكشاف الفئران للجسمين A,C بين المجموعات المختلفة، تبين أن معدل استكشاف الجسم C في مجموعات MTX انخفض مقارنة بالمجموعة الضابطة وهذا الانخفاض يزداد بزيادة الجرعة. اتفقت هذه النتائج مع نتيجة (Seigers et al., 2008) حيث أشار أن حقن MTX بجرعة (250ملجم/كجم) في الوريد الذليل للفئران سبب في إحداث عجز في ذاكرة التعرف (اختبار التعرف على الأجسام الجديدة)، مما أدى إلى انخفاض تكاثر خلايا الحصين، ويعتمد هذا الانخفاض على الجرعة (كلما زادت الجرعة قل تكاثر الخلايا الحصينية).

الميثوتريكسات MTX قادر على اجتياز حاجز الدم في الدماغ Blood-Brain Barrier (Dukic et al., 2000; Lyons et al., 2011) بالتالي فإنه إذا حقن هذا العقار بالتجفيف البريتوني، يكون قادراً على الوصول إلى أنسجة الدماغ وخلاياه مسبباً العديد من التغييرات التي قد تؤدي إلى تدهور ذاكرة التعرف لدى الفئران. حيث يسبب الميثوتريكسات انخفاضاً في عوامل النمو بالدماغ (Sritawan et al., 2021)، وانخفاض مستوى الفوليت Folate في السائل المخي الشوكي، وكذلك في المصل (Li et al., 2019; Elens et al., 2010).

الميثوتريكسات MTX يقوم أيضاً بتنشيط عملية انقسام الخلايا غير الناضجة بالحصين في الدماغ (Sritawan et al., 2020)، كما أنه يقلل من كثافة المادة البيضاء في الجسم الثفني Corpus callosum في حين أنه لا يسبب موت خلايا الحصين البالغة (Aukema et al., 2009; Seigers et al., 2009).

بالرغم من وجود دراسة تثبت أن الأدوية المعالجة للسرطان تُصغر من حجم المادة الرمادية في الدماغ (Inagaki et al., 2007)، فإن هناك دراسات—أجريت عن طريق التصوير

النشاط الحركي لحيوانات التجربة. وعليه فإن أي تغييرات تطراً على معدل استكشاف الفئران للأجسام سيكون راجعاً إلى وجود تأثير للـ MTX على ذاكرة الفئران.

بينت نتائج استكشاف الفئران للجسمين A,B في يوم التدريب عدم وجود فروق معنوية بينهما في داخل كل مجموعة وبين المجموعات المختلفة، أي أن فئران كل مجموعة لم تفضل أياً من الجسمين على الآخر عند استكشافها لهما. في حين أن هناك فروق معنوية لمعدل استكشاف فئران المجموعة الضابطة بين الجسمين A,C في يوم الاختبار، أي أن معدل استكشاف الفئران للجسم C أعلى من معدل استكشافها للجسم A. والعكس صحيح في مجاميع الفئران المحقونة بجرعات مختلفة MTX حيث كان معدل استكشافها للجسم A أعلى من معدل استكشافها للجسم C، أي أنها لم تتعرف على الجسم C على أنه جسم جديد، مما يوضح أن جرعات MTX الثلاثة أدت إلى عجز ذاكرة التعرف لدى الفئران، وضعفها.

تعد هذه النتائج مماثلة لدراسة (Naewla et al., 2019) التي استنتجت أن حقن الـ MTX (75ملجم/كجم) في الوريد الذليل للفئران أدى إلى إحداث عجز في ذاكرة التعرف (اختبار التعرف على الأجسام الجديدة)، ويعود هذا التدهور إلى انخفاض تكاثر خلايا الحصين Hippocampal Neurogenesis، والتي يعتقد أن تكاثرها يشارك في سلوك التعلم والذاكرة، حيث أشار (Kempermann, 2002) أن التغييرات في معدل تكوين الخلايا العصبية له تأثير على سلوك التعلم.

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Elens et al., 2019) حيث تسبب حقن جراء الفئران بجرعة 20 ملجم/كجم (في التجفيف البريتوني) في تدهور ذاكرة التعرف لدى هذه الفئران عند البلوغ. في حين اختلفت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Li et al., 2010) الذين بينوا أن حقن الجرذان البالغة بجرعة 250 ملجم/كجم من MTX في التجفيف البريتوني لم تسبب عجزاً في ذاكرة التعرف لدى الجرذان في حين أدت إلى تدهور الذاكرة المكانية لديها، قد يعود السبب في ذلك

Radiation Oncology Biology* Physics*, 74(3), 837-843 .

Bedoui, Y., Guillot, X., Sélambarom, J., Guiraud, P., Giry, C., Jaffar-Bandjee, M. C., Ralandison, S., & Gasque, P. (2019). Methotrexate an old drug with new tricks. *International journal of molecular sciences*, 20(20), 5023 .

Bisen-Hersh, E. B., Hinehline, P. N., & Walker, E. A. (2013). (Effects of early chemotherapeutic treatment on learning in adolescent mice: implications for cognitive impairment and remediation in childhood cancer survivors. *Clinical Cancer Research*, 19(11), 3008-3018 .

Broadbent, N. J., Gaskin, S., Squire, L. R & Clark, R. E. (2010). Object recognition memory and the rodent hippocampus. *Learning & memory*, 17(1), 5-11 .

Cohen, S. J., & Stackman Jr, R. W. (2015). Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. *Behavioural brain research*, 285, 105-117 .

Dukic, S., Heurtaux, T., Kaltenbach, M., Hoizey, G., Lallemand, A., & Vistelle, R. (2000). Influence of schedule of administration on methotrexate penetration in brain tumours. *European Journal of Cancer*, 36(12), 1578-1584 .

Elens, I., Dekeyster, E., Moons, L., & D'Hooge, R. (2019). Methotrexate affects cerebrospinal fluid folate and tau levels and induces late cognitive deficits in mice. *Neuroscience*, 404, 62-70 .

Ermens, A. A., Schoester, M., Spijkers, L. J., Lindemans, J., & Abels, J. (1989). Toxicity of methotrexate in rats preexposed to nitrous oxide. *Cancer research*, 49(22), 6337-6341 .

المقطعي Computed tomography والتصوير بالرنين المغناطيسي Magnetic resonance imaging تشير إلى عدم وجود دليل على تأثير المادة الرمادية بالتأثير السلبي للـ MTX على الذاكرة (Wilks et al., 2002).

الاستنتاج

تكشف هذه الدراسة أن العلاج الكيميائي لـ MTX يسبب إعاقات معرفية (اضطراب في عمليات التعلم، وذاكرة التعرف على الأجسام الجديدة) وذلك بحسب الجرعات المختلفة (المنخفضة، المتوسطة، والمرتفعة). وتؤكد الدراسة الحاجة إلى إجراء العديد من البحوث لمعرفة التأثير السمي للميثوتركسيت، والحصول على تفسيرات علمية وافية.

الشكر والتقدير

يتقدم الباحثون بالشكر الجزيل لكلية الصيدلة بجامعة مصراتة، ومشرف بيت الحيوان بقسم علم الحيوان/ كلية العلوم، السيد الزروق الزقل.

المراجع

Akman, A. U. (2021). Methotrexate Induced Hepatotoxicity and Antioxidants. *Sabuncuoglu Serefeddin Health Sciences*, 3(1), 22-35 .

Aldosouky, E., Elfagieh, M., & Jebriel, A. (2011). Pediatric Burkitt's lymphoma (diagnosis and treatment evaluation) in NCI ،Pediatric Oncology Unit: Misurata/Libya initial experience. *Journal of Clinical Oncology*, 29(15_suppl), e20000-e20000 .

Aukema, E. J., Caan, M. W., Oudhuis, N., Majoie, C. B., Vos, F. M., Reneman, L., Last, B. F., Grootenhuys, M. A., & Schouten-van Meeteren, A. Y. (2009). White matter fractional anisotropy correlates with speed of processing and motor speed in young childhood cancer survivors. *International Journal of*

journal of physiology and pharmacology, 80(11), 1076-1084 .

- Naewla, S., Sirichoat, A., Pannangrong, W., Chaisawang, P., Wigmore, P., & Welbat, J. U. (2019). Hesperidin alleviates methotrexate-induced memory deficits via hippocampal neurogenesis in adult rats. *Nutrients*, 11(4), 936 .
- Reger, M. L., Hovda, D. A., & Giza, C. C. (2009). Ontogeny of rat recognition memory measured by the novel object recognition task. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, 51(8), 672-678 .
- Seigers, R., Schagen, S. B., Beerling, W., Boogerd, W., Van Tellingen, O., Van Dam, F. S., Koolhaas, J. M., & Buwalda, B. (2008). Long-lasting suppression of hippocampal cell proliferation and impaired cognitive performance by methotrexate in the rat. *Behavioural brain research*, 186(2), 168-175 .
- Seigers, R., Schagen, S. B., Coppens, C. M., van der Most, P. J., van Dam, F. S., Koolhaas, J. M & Buwalda, B. (2009). Methotrexate decreases hippocampal cell proliferation and induces memory deficits in rats. *Behavioural brain research*, 201(2), 279-284 .
- Sritawan, N., Prajit, R., Chaisawang, P., Sirichoat, A., Pannangrong, W., Wigmore, P., & Welbat, J. U. (2020). Metformin alleviates memory and hippocampal neurogenesis decline induced by methotrexate chemotherapy in a rat model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110651 .
- Sritawan, N., Suwannakot, K., Naewla, S., Chaisawang, P., Aranarochana, A., Sirichoat, A., Pannangrong, W., Etaher, N. A., Saeed, N. M., Elmejrab, M. M., Sherif, R. F., & Sherif, F. M. (2021). Prescribing Patterns of Methotrexate in Libyan Patients with Rheumatoid Arthritis. *City*, 29, 24 .
- Inagaki, M., Yoshikawa, E., Matsuoka, Y., Sugawara, Y., Nakano, T., Akechi, T., Wada, N., Imoto, S., Murakami, K., & Uchitomi, Y. (2007). Smaller regional volumes of brain gray and white matter demonstrated in breast cancer survivors exposed to adjuvant chemotherapy. *Cancer*, 109(1), 146-156 .
- John, J., Kinra, M., Mudgal, J., Viswanatha, G., & Nandakumar, K. (2021). Animal models of chemotherapy-induced cognitive decline in preclinical drug development. *Psychopharmacology*, 238(11), 3025-3053 .
- Kempermann, G. (2002). Why new neurons? Possible functions for adult hippocampal neurogenesis. *Journal of neuroscience*, 22(3), 635-638 .
- Li, Y., Vijayanathan, V., Gulinello, M. E., & Cole, P. D. (2010). Systemic methotrexate induces spatial memory deficits and depletes cerebrospinal fluid folate in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 94(3), 454-463 .
- Lyons, L., ElBeltagy, M., Umka, J., Markwick, R., Startin, C., Bennett, G., & Wigmore, P. (2011). Fluoxetine reverses the memory impairment and reduction in proliferation and survival of hippocampal cells caused by methotrexate chemotherapy. *Psychopharmacology*, 215(1), 105-115 .
- Madhyastha, S., Somayaji, S., Rao, M., Nalini, K., & Bairy, K. L. (2002). Hippocampal brain amines in methotrexate-induced learning and memory deficit. *Canadian*

- Wigmore, P., & Welbat, J. U. (2021). Effect of metformin treatment on memory and hippocampal neurogenesis decline correlated with oxidative stress induced by methotrexate in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 144*, 112-120.
- Vijayanathan, V., Gulinello, M., Ali, N., & Cole, P. D. (2011). Persistent cognitive deficits, induced by intrathecal methotrexate, are associated with elevated CSF concentrations of excitotoxic glutamate analogs and can be reversed by an NMDA antagonist. *Behavioural brain research, 225*(2), 491-497.
- Wilks, M. J., Tie, M. L., & Pozza, C. H. (2002). CT and MRI appearances of methotrexate leucoencephalopathy. *Australasian radiology, 46*(1), 80-83.

Effect of Methotrexate on Recognition Memory in Adult Female Mice

Wafa F. El Matoni^{1*}, Fatima H. Ahmed¹, Hajer M. Ghliwo¹, Mustafa M. Drah²

¹*Zoology Department, Faculty of Science, Misurata University, Libya*

²*Biothocnology Department, Faculty of Science, Misurata University, Libya*

Received: 11 February 2022/ Accepted: 12 June 2022

Doi: <https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i2.617>

Abstract: Methotrexate MTX is used to treat some types of cancers, skin diseases, and rheumatic diseases. Many studies have suggested that it may lead to memory damage in mice. Accordingly, this study was conducted to investigate the effect of different doses of methotrexate on recognition memory in mice. Twenty-four adult female albino mice (weighing between 30-36 g) were divided equally into four groups and subjected to one of the following treatments: the control group (injected with normal saline), the second group treated with a dose of 20 mg/kg of MTX, the third group treated with a dose of 40 mg/kg of MTX, the fourth group treated with a dose of 80 mg/kg of MTX. All doses were given once intraperitoneally. A memory test was performed half an hour after injection, comprising object training and a new object recognition test. The results of this study showed that the MTX-injected mice had a lower rate of exploration of the novel object compared to the control group, and MTX has a dose-dependent negative effect on cognitive behavior. These findings suggest that methotrexate has a negative effect on the recognition memory of mice.

Keywords: Novel recognition task; Intraperitoneally; Methotrexate; Cognitive impairment; Recognition memory.

*Corresponding author: Wafa F. El Matoni: elmatonw@sci.misuratau.edu.ly : Zoology Department, Faculty of Science, Misurata University, Libya