

# 甲状腺素联合多奈哌齐对甲减大鼠乙酰胆碱酯酶活性、乙酰胆碱含量和 synaptotagmin-1 表达的影响

吴 洋<sup>1</sup>, 蔡瑶俊<sup>2</sup>, 朱德发<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探讨甲状腺素联合多奈哌齐对成年期甲状腺功能减退模型 SD 大鼠的海马乙酰胆碱酯酶活性及乙酰胆碱含量和突触结合蛋白(Syt-1)表达的影响。方法 将成年 SD 大鼠随机分为正常对照组、甲状腺功能减退组(甲减组)、单独甲状腺素治疗组和甲状腺素联合多奈哌齐治疗组(联合治疗组),每组 10 只。采用色度法测定各组大鼠海马乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量,并应用免疫组织化学法检测大鼠海马不同亚层 Syt-1 表达。结果 与正常对照组相比,甲减组大鼠海马 CA1、CA3 和齿状回区乙酰胆碱酯酶活性、乙酰胆碱含量及 Syt-1 表达显著降低( $P < 0.05$ )。单独甲状腺素治疗组大鼠海马乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量恢

复正常,但 Syt-1 蛋白表达未恢复。联合治疗组大鼠海马乙酰胆碱含量和 Syt-1 表达均恢复至正常。结论 甲减可引起脑内乙酰胆碱酯酶活性、乙酰胆碱含量及 Syt-1 表达下降,甲状腺激素单独治疗对上述损伤有改善作用,但联合多奈哌齐治疗效果可能更好。

**关键词** 甲状腺功能减退;海马;甲状腺素;多奈哌齐;synaptotagmin-1

**中图分类号** R 581.2;R 977.1+4;R 971+.92

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2014)08-1091-05

甲状腺激素在中枢神经系统的发育和功能成熟中发挥重要的作用<sup>[1]</sup>。有研究<sup>[2]</sup>显示成年期甲状腺功能减退(甲减)可致广泛的中枢神经系统结构损伤和功能紊乱。然而,关于甲状腺素替代治疗是否能恢复这些结构和功能的改变的研究结论并不一致<sup>[3-4]</sup>。成年期甲减主要表现为认知功能损伤,其神经机制可能涉及神经元突触可塑性。乙酰胆碱是广泛存在脑内的与学习和记忆功能相关的重要神经

2014-03-20 接收

**基金项目**:国家自然科学基金(编号:81272152)

**作者单位**:安徽医科大学第一附属医院<sup>1</sup>药学部、<sup>2</sup>干部内分泌科,合肥 230022

**作者简介**:吴 洋,男,主管药师;

朱德发,男,博士,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: defazhu@163.com

[1] Müller-Newen G, Küster A, Hemmann U, et al. Soluble IL-6 receptor potentiates the antagonistic activity of soluble gp130 on IL-6 responses [J]. *J Immunol*, 1998, 161(11):6347-55.

[2] Rydgren T, Oster E, Sandberg M, et al. Administration of IL-1 prolongs survival of transplanted pancreatic islets to type 1 diabetic NOD mice [J]. *Cytokine*, 2013, 63(2):123-9.

[3] Lamson D R, House A J, Danshina P V, et al. Recombinant human sperm-specific glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAP-DHS) is expressed at high yield as an active homotetramer in baculovirus-infected insect cells [J]. *Protein Expr Purif*, 2011, 75(1):104-13.

## Expression and identification of mouse IL-6 receptor fusion protein

Cheng Haiyan<sup>1</sup>, Gao Wenda<sup>2</sup>, Ren Cuiping<sup>1</sup>, et al<sup>(1</sup>Dept of Microbiology and Parasitology, Anhui Medical University, Hefei 230032;<sup>2</sup>Antagen Pharmaceuticals, Inc., Boston 02118)

**Abstract Objective** To construct and express mouse IL-6 receptor fusion protein. **Methods** Mouse IL-6 receptor fusion gene was cloned on the baculovirus plasmid Bacmid by recombinant technology. Recombinant baculovirus transfected insect cell Sf9 was mediated by liposome, then the titer of recombinant baculovirus was calculated by plaque assay, and the expression of mouse IL-6 receptor fusion protein was identified by Western blot. **Results** Recombinant baculovirus was obtained from DH10Bac, the third generation recombinant baculovirus titer was  $5 \times 10^7$  pfu/ml, Western blot showed that mouse IL-6 receptor fusion protein expressed in infected cells. **Conclusion** We successfully expressed mouse IL-6 receptor fusion protein, lays the foundation for further study on the role of IL-6 in inflammatory diseases.

**Key words** IL-6 receptors; baculovirus; protein expression

递质<sup>[5-9]</sup>。研究<sup>[7-9]</sup>显示甲状腺素与胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量关系密切,成年期甲减可以引起脑内胆碱能系统功能紊乱,前期研究<sup>[10]</sup>也显示甲减大鼠脑内乙酰胆碱含量降低并与学习记忆减退有关。然而,关于成年期甲减导致特定脑区乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量变化及甲状腺素替代治疗对这些指标影响的报道甚少。突触结合蛋白(synaptotagmin, Syt)属于突触前囊泡蛋白,是涉及神经递质释放过程的关键蛋白之一,其中 Syt-1 是 Syt 家族中脑特异性亚型,高度表达于海马神经元。目前研究<sup>[11-12]</sup>显示 Syt-1 可能与学习和记忆有关,如阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)患者脑内 Syt 水平显著降低、自然衰老小鼠海马 Syt-1 表达存在年龄相关性改变且与学习记忆减退有关等。该研究选用 SD 大鼠作为研究对象,探讨甲状腺素联合多奈哌齐对成年期甲减大鼠的海马乙酰胆碱酯酶活性及乙酰胆碱含量和 Syt-1 表达的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 3月龄 SD 大鼠 40 只,雄性,清洁级,体重(170±20)g,购自北京维通利华实验动物公司。常规条件下喂养(温度 21~23℃,湿度 50%~60%,明暗周期为 12 h),所有大鼠接受标准啮齿类食物,并自由进水,适应性喂养 1 周。

**1.2 模型制作** 将 40 只 SD 大鼠随机均分为 4 组:正常对照组、甲减组、单独甲状腺素治疗组(单独治疗组)和甲状腺素联合多奈哌齐治疗组(联合治疗组)。除正常对照组外每组大鼠于每日饮水中给予丙基硫氧嘧啶(PTU, 0.05%, Sigma 公司),4 周后甲减组继续予以 PTU 处理,而单独治疗组开始腹腔注射左旋甲状腺素[6 μg/100(g·d), Sigma 公司],联合治疗组在单独治疗基础上饮水中加入浓度为 0.005% 的多奈哌齐。正常对照组大鼠饮用正常自来水,4 周后腹腔内注射相同体积生理盐水,造模时间共 6 周。

**1.3 标本制备** 血清制备:造模结束后称取大鼠体重,予 7% 水合氯醛(350 mg/kg)麻醉后打开胸腔,腹主动脉取血,离心后取血清置于 4℃ 冰箱保存待测总三碘甲状腺原氨酸(Triiodothyronine, T3)、总甲状腺素(Tyroxine, T4)和促甲状腺激素(thyrotropin, TSH)。

**脑标本制备:**取血后将大鼠断头处死,冰上迅速开颅取脑,右大脑半球置于 4% 多聚甲醛溶液固定,

流水冲洗,修块,脱水,透明,浸蜡,HE 染色定位,4 μm 连续冠状切片(德国 Leica 公司, RM2235 型),进行免疫组织化学染色检测 Syt-1 蛋白的表达。左大脑半球在冰上分离出海马,用于比色法检测乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量。

**1.4 甲状腺水平测定** 采用放射免疫法根据试剂盒指示测定血清 T3、T4 和 TSH 水平。

**1.5 比色法检测** 将左侧半球的海马,按照重量和体积比 1:9 的比例,加入预冷的生理盐水,在冰浴中制成 10% 的组织匀浆,4℃ 离心分离上清液(3 500 r/min, 10 min),按试剂盒说明书测定乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量。

**1.6 免疫组织化学染色** 免疫组化采用超敏 SP 法。一抗为重组单克隆 Syt-1 蛋白抗体(美国 Sigma 公司);SP 二抗超敏试剂盒(SP-9001, 生物素标记羊抗兔/小鼠 IgG)和 DAB 显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物科技有限公司。10×40 倍显微镜(Olympus, 日本)下对背海马齿状回(DG 区:颗粒细胞层、分子层)、CA1 区(起层、放射层、腔隙层)和 CA3 区(起层、透明层、放射层)观察、照相。图像以 TIFF 格式保存,用 Image Pro Plus 6.0 图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司)分析。亚区各层的 Syt-1 含量用免疫反应产物光密度值(optical density, OD)代表。由于每个标本各层选取的形状大小各异,故以平均 OD(累积 OD 与选取面积的比值)进入统计学分析。

**1.7 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用单因素方差分析(one way-ANOVA),进一步用 LSD 法进行多重比较。

## 2 结果

**2.1 大鼠血清甲状腺激素水平** 与正常对照组相比,甲减组大鼠血清 T3、T4 水平明显减低( $P < 0.05$ ),TSH 显著增高( $P < 0.01$ ),而单独治疗组和联合治疗组大鼠血 T3、T4 明显升高( $P < 0.05$ ),TSH 接近正常水平,见表 1。

表 1 各组大鼠血清 T3、T4 和 TSH 水平( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

| 组别   | T3 (nmol/L)            | T4 (nmol/L)             | TSH (μIU/ml) |
|------|------------------------|-------------------------|--------------|
| 正常对照 | 0.81±0.06              | 49.31±3.71              | 1.31±0.28    |
| 甲减   | 0.62±0.03*             | 18.14±4.30*             | 19.28±9.79*  |
| 单独治疗 | 0.81±0.05 <sup>#</sup> | 52.40±5.86 <sup>#</sup> | 1.23±1.21    |
| 联合治疗 | 0.76±0.06 <sup>#</sup> | 52.75±2.02 <sup>#</sup> | 1.08±0.13    |

与正常对照组比较:\*  $P < 0.05$ ; 与甲减组比较:<sup>#</sup> $P < 0.05$

2.2 大鼠海马乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量的变化 与正常对照组大鼠相比,甲减组大鼠海马乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量明显降低( $P < 0.05$ )。单独甲状腺素治疗后,大鼠乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量升至正常水平( $P > 0.05$ )。甲状腺素联合多奈哌齐治疗后,大鼠乙酰胆碱酯酶活性明显降低( $P < 0.05$ ),而乙酰胆碱含量恢复至正常水平( $P > 0.05$ ),见表2。

表2 大鼠海马乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 乙酰胆碱酯酶活性<br>( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) | 乙酰胆碱含量<br>( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) |
|------|-----------------------------------------|---------------------------------------|
| 正常对照 | $324.27 \pm 22.12$                      | $20.27 \pm 3.82$                      |
| 甲减   | $230.27 \pm 20.87^*$                    | $14.80 \pm 2.24^*$                    |
| 单独治疗 | $290.27 \pm 21.53$                      | $21.98 \pm 4.88$                      |
| 联合治疗 | $220.27 \pm 19.41^*$                    | $22.27 \pm 3.45$                      |

与正常对照组比较: \*  $P < 0.05$

2.3 大鼠海马各区 Syt-1 蛋白表达的变化 光镜下观察各组大鼠海马不同亚区结构(见图1),可见 Syt-1 在海马所有亚区各层均有表达(阳性着色呈棕红色)。甲减组和单独治疗组(尤其是甲减组)大鼠海马 DG 分子层、CA1 起层和放射层及 CA3 透明层和放射层的 Syt-1 较正常对照组呈低表达,而联合治疗组和正常对照组 Syt-1 在海马不同亚区的表达基本相似。

以 Image Pro Plus 6.0 图像分析系统对海马不同亚区 Syt-1 的免疫产物进行平均光密度值分析,结果显示,与正常对照组相比,甲减组大鼠海马 DG 分子层、CA1 起层和放射层及 CA3 透明层和放射层的 Syt-1 表达显著降低( $P < 0.01$ ),而 DG 颗粒细胞层、CA1 腔隙层及 CA3 起层的 Syt-1 表达未见明显改变( $P > 0.05$ )。单独甲状腺素治疗后 Syt-1 免疫反应

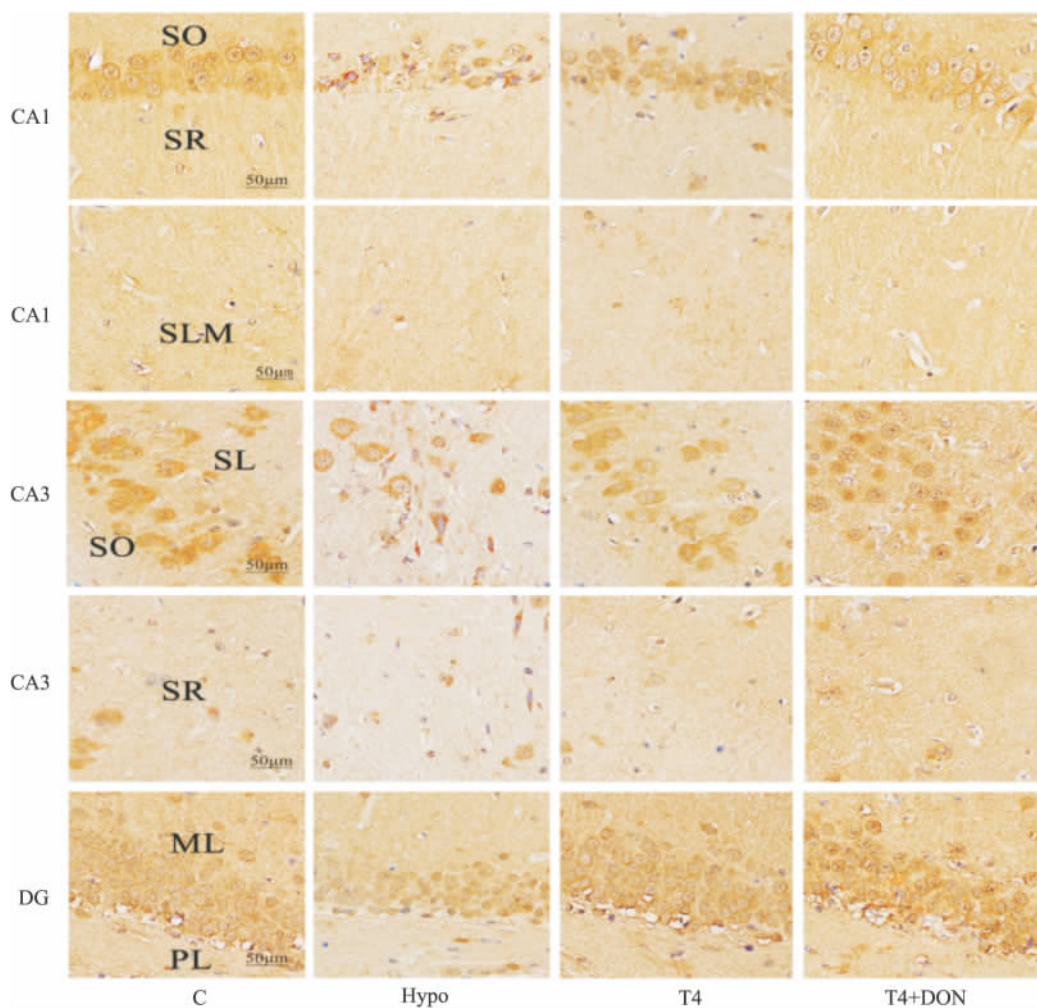


图1 各组大鼠海马不同亚层的 Syt-1 的免疫反应物的表达  $\times 400$

C:正常对照组;Hypo:甲减组;T4:单独治疗组;T4 + DON:联合治疗组;SO:起层;SR:放射层;SLM:腔隙层;SL:透明层;ML:分子层;PL:颗粒细胞层

表3 大鼠海马 Syt-1 蛋白水平 ( $\bar{x} \pm s$ , OD)

| 亚区  | 分层    | 正常对照组       | 甲减组            | 单独治疗组          | 联合治疗组       |
|-----|-------|-------------|----------------|----------------|-------------|
| DG  | 分子层   | 4.75 ± 0.06 | 4.09 ± 0.03 ** | 4.37 ± 0.05 ** | 4.61 ± 0.05 |
|     | 颗粒细胞层 | 3.76 ± 0.05 | 3.51 ± 0.03    | 3.67 ± 0.07    | 3.72 ± 0.06 |
| CA1 | 起层    | 5.06 ± 0.15 | 3.49 ± 0.13 ** | 4.09 ± 0.20 ** | 4.79 ± 0.16 |
|     | 放射层   | 4.75 ± 0.19 | 3.19 ± 0.14 ** | 3.60 ± 0.29 ** | 4.29 ± 0.28 |
|     | 腔隙层   | 4.31 ± 0.09 | 3.91 ± 0.16    | 3.99 ± 0.05    | 4.42 ± 0.09 |
| CA3 | 起层    | 5.01 ± 0.18 | 4.55 ± 0.17    | 4.87 ± 0.10    | 4.98 ± 0.14 |
|     | 透明层   | 4.85 ± 0.10 | 3.94 ± 0.04 ** | 4.23 ± 0.07 ** | 4.71 ± 0.08 |
|     | 放射层   | 4.94 ± 0.05 | 3.90 ± 0.07 ** | 4.46 ± 0.09 ** | 4.81 ± 0.06 |

与正常对照组比较: \*\*  $P < 0.01$ 

产物分布及细胞内表达与甲减大鼠相似,但甲状腺素联合多奈哌齐治疗后大鼠 Syt-1 阳性免疫反应物在海马各层均恢复至正常对照组大鼠水平,两者比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表3。

### 3 讨论

甲状腺功能减退症是一种常见的内分泌疾病,目前建立甲减的动物模型的方法较成熟,其中科研上最常用的方法之一是利用抗甲状腺药物诱导甲减模型,其主要优点为实验方法操作简单,成功率高,重复性好,便于观察等。本实验采用 PTU 饮水(浓度为 0.05%)6 周进行造模,并检测血清 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 水平,结果显示甲减组大鼠血清 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 明显低于正常对照组,提示甲减模型制备成功。此外,甲状腺单独和联合治疗后 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 明显升高,说明甲状腺素治疗可使甲状腺相关指标恢复至正常。与既往的研究<sup>[3]</sup>结果基本一致。

目前认为突触联络的完整性遭到破坏可能是成年期后认知功能减退(包括甲减)的原因<sup>[4]</sup>。突触蛋白由于参与化学突触传递的全过程正受到广泛的关注,Syt-1 是一种含有两个 Ca<sup>2+</sup> 结合的 C2 结构域的突触囊泡整合膜蛋白,介导快速同步神经递质释放,参与调节突触囊泡循环的锚定融合和再利用,进而在神经递质释放过程中发挥重要作用。Syt-1 广泛分布与神经及神经内分泌组织中,在生物体内主要集中于大脑皮质和海马的小突触囊泡和大致密核心囊泡表面。近期研究<sup>[11-12]</sup>显示 Syt-1 可能与自然衰老状态和病理性状态(如 AD、甲减)相关学习记忆减退有关,之前的研究<sup>[13]</sup>显示成年期甲减大鼠海马 CA1、CA3 和 DG 区 Syt-1 的表达明显降低,且单独甲状腺素替代治疗并不能使 Syt-1 在海马中的表达恢复至正常。本研究与既往研究<sup>[13]</sup>结果基本一致。

脑内胆碱能神经元对甲状腺激素非常敏感,在脑发育关键期,甲状腺激素缺乏会导致大脑皮层、海马及前脑基底部胆碱能神经元相关酶的活性明显降低,造成中枢胆碱能神经发育障碍。然而,对成年期甲减对脑内(尤其是特定脑区)胆碱能神经元研究较少。本课题组先前的研究<sup>[14]</sup>显示甲减大鼠额叶乙酰胆碱含量显著减少,而脑内乙酰胆碱含量降低可能是甲减引起学习记忆能力减退的原因之一。海马位于颞叶内侧面的基底部,是内侧颞叶记忆系统的重要组成部分,主要参与空间记忆和事件记忆的形成<sup>[15]</sup>。研究<sup>[17]</sup>显示海马在自然衰老和 AD 更容易受损,且与其相关认知功能减退密切相关。因此,海马是研究学习记忆改变机制的理想目标脑区。本研究显示甲减大鼠海马 CA1、CA3 和齿状回区乙酰胆碱酯酶活性和乙酰胆碱含量明显降低,与额叶部位的研究结果相似<sup>[14]</sup>。

多奈哌齐是乙酰胆碱酯酶抑制剂,可以提高突触间隙乙酰胆碱含量,研究<sup>[13]</sup>显示多奈哌齐可以改善甲减大鼠的认知功能,但具体机制不明确,可能与某些突触相关蛋白有关。本实验采用甲状腺素联合多奈哌齐干预成年甲减大鼠,发现海马内乙酰胆碱含量和 Syt-1 均可恢复至正常范围,提示甲状腺素联合多奈哌齐可能用于治疗甲减引起的脑功能损伤。综上所述,血清甲状腺素可引起脑内乙酰胆碱含量的变化,因此,甲减脑功能受损可能与海马内乙酰胆碱含量异常有关。然而,甲减导致脑内乙酰胆碱含量降低的确切原因未明,可能与甲减引起脑内突触相关蛋白表达异常和(或)血清甲状腺素水平改变直接影响脑内乙酰胆碱含量有关。

总之,甲减可引起脑内乙酰胆碱酯酶活性、乙酰胆碱含量及 Syt-1 表达降低,甲状腺素单独治疗对上述损伤有改善作用,但联合多奈哌齐治疗效果可能更好,提示多奈哌齐对甲减的认知功能恢复可能更有价值。

### 参考文献

- [1] Di Liegro I. Thyroid hormones and the central nervous system of mammals (Review) [J]. Mol Med Rep, 2008, 1(3):279-95.
- [2] Koromilas C, Liapi C, Schulpis K H, et al. Structural and functional alterations in the hippocampus due to hypothyroidism [J]. Metab Brain Dis, 2010, 25(3):339-54.
- [3] Ambrogini P, Cuppini R, Ferri P, et al. Thyroid hormones affect neurogenesis in the dentate gyrus of adult rat [J]. Neuroendocrinology, 2005, 81(4):244-53.

- [4] Alzoubi K H, Gerges N Z, Alkadhi K A. Levothyroxin restores hypothyroidism-induced impairment of LTP of hippocampal CA1: electrophysiological and molecular studies [J]. *Exp Neurol*, 2005, 195(2): 330–41.
- [5] De Nicola A F, Labombarda F, Deniselle M C, et al. Progesterone neuroprotection in traumatic CNS injury and motoneuron degeneration [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2009, 30(2): 173–87.
- [6] Djebaili M, Guo Q, Pettus E H, et al. The neurosteroids progesterone and allopregnanolone reduce cell death, gliosis, and functional deficits after traumatic brain injury in rats [J]. *J Neurotrauma*, 2005, 22(1): 106–18.
- [7] Smith J W, Evans A T, Costall B, et al. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2002, 26(1): 45–160.
- [8] Sarkar P K, Ray A K. Involvement of L-triiodothyronine in acetylcholine metabolism in adult rat cerebrocortical synaptosomes [J]. *Horm Metab Res*, 2001, 33(5): 270–5.
- [9] 李永军, 王 群, 陆兵勤. 成年甲减大鼠认知行为及其机制研究 [J]. *中华现代内科学杂志*, 2008, 5(7): 577–9.
- [10] 刘俊霞, 朱德发, 王 芬, 等. 甲状腺激素对大鼠额叶乙酰胆碱的影响 [J]. *中国临床保健杂志*, 2011, 14(6): 608–10.
- [11] Masliah E, Mallory M, Alford M, et al. Altered expression of synaptic proteins occurs early during progression of Alzheimer's disease [J]. *Neurology*, 2001, 56(1): 127–9.
- [12] Chen G H, Wang Y J, Qin S, et al. Age-related spatial cognitive impairment is correlated with increase in Synaptotagmin1 in dorsal hippocampus in SAMP 8 mice [J]. *Neurobiol Aging*, 2007, 28(4): 611–8.
- [13] Almandoz J P, Gharib H. Hypothyroidism: etiology, diagnosis, and management [J]. *Med Clin North Am*, 2012, 96(2): 203–21.
- [14] Morrison J H, Baxter M G. The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13(4): 240–50.
- [15] Zhu Y, Ning D, Wang F, et al. Effect of thyroxine on munc-18 and syntaxin-1 expression in dorsal hippocampus of adult-onset hypothyroid rats [J]. *Eur J Histochem*, 2012, 56(2): e22.
- [16] Vann S D, Albasser M M. Hippocampus and neocortex: recognition and spatial memory [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2011, 21(3): 440–5.
- [17] Burke S N, Barnes C A. Neural plasticity in the ageing brain [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7(1): 30–40.

## Effects of thyroxine and donepezil on acetylcholine content, acetylcholinesterase activity and synaptotagmin-1 expression in hypothyroid rats

Wu Yang<sup>1</sup>, Cai Yaojun<sup>2</sup>, Zhu Defa<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Dept of Pharmacy, <sup>2</sup> Dept of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract Objective** To investigate the effects of thyroxine and donepezil treatment on the hypothyroidism-induced alterations of acetylcholine (ACh) content and acetylcholinesterase (AChE) activity and synaptotagmin-1 (Syt-1) expression in the hippocampus of adult rats. **Methods** Adult male SD rats were randomly divided into three groups: blank control group, hypothyroidism group, thyroxine treatment group, thyroxine and donepezil treatment group. Concentration of ACh and the activity of AChE were determined colorimetrically, and protein level of Syt-1 was determined by immunohistochemistry. **Results** Compared to the controls, the hypothyroidism rats had significant decrements of ACh levels, AChE activity and Syt-1 expression in the hippocampus ( $P < 0.05$ ). Thyroxine, ACh levels and AChE activity were restored by thyroxine administration, while expression of Syt-1 did not reach the control level. Co-administration of thyroxine and donepezil led to normalization of thyroxine, ACh levels as well as the Syt-1 expression. **Conclusion** Hypothyroidism can lead to the decline of ACh levels, AChE activity and Syt-1 expression in the hippocampus, and thyroid replacement alone may reduce some of these damages, but thyroid combined with donepezil treatment can be better in the hypothyroidism adult rats.

**Key words** hypothyroidism; hippocampus; thyroxine; donepezil; synaptotagmin-1