

تعدیل یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول توسط گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک هیپوکامپ پستی

مجید نوائیان^۱، بهاره پاکپور^۲، مرتضی پیری^۳

۱. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری، تهران، ایران.

۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران.

۳. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل، ایران، (مؤلف مسئول) تلفن ثابت: ۷۷۲۹۸۲۲-۰۴۵۱، biopiri@iauardabil.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: سیستم های آدرنژیک و گابائژیک مغز نقش مهمی در حافظه و یادگیری دارند. مطالعات قبلی نشان می دهند که مورفین، هیستامین و لیتيوم یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می کنند. در این مطالعه اثر گیرنده های آلفا-۱-آدرنژیک ناحیه CA1 بر روی یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی از موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI استفاده شد. حیوان ها بیهوش شدند و با استفاده از دستگاه استریوتاکیسی کانول گذاری دوطرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی انجام شد. بعد از طی دوره بهبودی هفت روزه، آزمون رفتاری با استفاده از دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال آغاز شد. داده ها با آنالیز واریانس یک طرفه، ناپارامتریک کروسکال - والیس و به دنبال آن تست من - ویتنی آنالیز شدند.

یافته ها: تزریق پیش از آموزش یا پیش از آزمون موسیمول به ناحیه CA1 باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری در روز آزمون شد ($P < 0/01$). تزریق قبل از آزمون موسیمول حافظه تخریب شده با موسیمول قبل از آموزش را برمی گرداند ($P < 0/01$). تزریق قبل از آموزش فنیل افرین نیز باعث برگشت فراموشی القاء شده با موسیمول قبل از آموزش می شود ($P < 0/01$). تزریق قبل از آزمون پرازوسین به ناحیه CA1 دو دقیقه قبل از تزریق مقدار مؤثر موسیمول، جلوی یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول را می گیرد ($P < 0/01$).

نتیجه گیری: بطور کلی می توان گفت که گیرنده های آلفا - ۱- آدرنژیک هیپوکامپ پستی نقش مهمی در یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول در روز تست دارند.

کلمات کلیدی: موسیمول، گیرنده آلفا - ۱ - آدرنژیک، هیپوکامپ پستی، یادگیری وابسته به وضعیت.

وصول مقاله: ۹۲/۱/۱۷ اصلاحیه نهایی: ۹۳/۵/۱۱ پذیرش: ۹۳/۵/۱۵

مقدمه

یادگیری اجتنابی مهارى مدل step-through روشى است که برای مطالعه یادگیری و حافظه در موش‌های صحرایی به کار می‌رود (۱). یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که در آن به یاد آوردن اطلاعات تازه کسب شده تنها در شرایطی صورت می‌گیرد که فرد از لحاظ حسى و فیزیولوژیکی در همان شرایطی قرار گیرد که اطلاعات در همان شرایط کد شده‌اند (۲). مطالعات آشکار نموده‌اند که داروهایی نظیر کانابینوئیدها (۳)، اپیوئیدها (۴)، لیتیم و هیستامین‌قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند (۵). مطالعات پیشین همچنین پیشنهاد نموده‌اند که گیرنده‌های گابا- A در یادگیری وابسته به وضعیت دخیل می‌باشند (۶). در گذشته اثر سیستم گابا بر روی یادگیری و حافظه مشخص شده است (۷ و ۸). اکثر گزارشات نشان می‌دهند که تزریق آگونیست گیرنده‌های گابا باعث تخریب حافظه می‌شود، در حالیکه تزریق آنتاگونیست‌های گابا باعث تسهیل ذخیره‌سازی و به یادآوری حافظه احترازی غیر فعال می‌شود (۹ و ۶). مطالعات نشان می‌دهند که گابا نقش کنترلی بر روی تعادل بین شرایط تحریکی و مهارى در کورتکس، هیپوکامپ و نورون‌های بینابینی دارند و احتمالاً از این طریق در فرآیند پردازش اطلاعات در هیپوکامپ تأثیر می‌گذارد (۱۰ و ۱۱).

از سوی دیگر مطالعات نشان می‌دهند که هر دو مرحله تثبیت و به خاطر آوری اطلاعات در مدل یادگیری اجتنابی مهارى نیازمند فعال شدن پروتئین کیناز A (PKA) در هیپوکامپ می‌باشد (۱۰). با توجه به اینکه مونوآمین‌های دوپامین، نورآدرنالین و سروتونین همگی می‌توانند ساخت $cAMP$ را در هیپوکامپ تحت تأثیر قرار داده و عملکرد پروتئین کیناز A را تنظیم نمایند، بنابراین می‌توان انتظار داشت که تمامی مونوآمین‌های ذکر شده بتوانند حافظه و یادگیری را تحت تأثیر قرار دهند (۱۲). در این بین روی نقش نورآدرنالین به عنوان تعدیل‌کننده عصبی که می‌تواند

حافظه و یادگیری را تحت تأثیر قرار دهد، تأکید بیشتری می‌شود (۱۳). نورون‌های بالارو سیستم نورآدرنژیک از لوکوس سرولئوس منشأ می‌گیرند و نواحی مختلف مغز از جمله نئوکورتکس و هیپوکامپ را عصب دهی می‌نمایند (۱۴). نورآدرنالین از طریق دو دسته رسپتور به نامهای α و β اثرات خود را اعمال می‌نماید که هر دوی این رسپتورها از نوع گیرنده‌های جفت شده با G پروتئین‌ها می‌باشند (۱۵). گیرنده‌های α آدرنژیک خود به دو زیرگروه α_1 و α_2 تقسیم می‌شوند که از لحاظ نوع لیگاند، کینتیک و اثرات با یکدیگر متفاوت می‌باشند. این رسپتورها به مقدار زیاد در سیستم عصبی مرکزی بیان می‌گردند (۱۶). گیرنده‌های α_1 -آدرنژیک بیشتر به صورت پس‌سیناپسی هستند (۱۷). مدارک زیادی وجود دارند که نشان می‌دهند نورآدرنالین و گیرنده‌های آدرنژیک در یادگیری و حافظه نقش دارند (۱۳). به عنوان نمونه تزریق نورآدرنالین به نواحی مختلف مغز از جمله هیپوکامپ، کورتکس انتورینال (۱۸) و آمیگدال (۱۹) باعث تقویت شکل‌گیری حافظه می‌شود. همچنین غلظت نورآدرنالین بعد از آموزش در مغز افزایش می‌یابد و این افزایش همبستگی مثبتی با شکل‌گیری و بازخوانی حافظه دارد. مکانیسمی که نورآدرنالین از طریق آن حافظه را تحت تأثیر قرار می‌دهد کاملاً روشن نمی‌باشد، اما به نظر می‌رسد نورآدرنالین به واسطه‌ی تعدیل انتقال پیام‌های گلوتاماتی در محل سیناپس از طریق فعال کردن G پروتئین‌های جفت شده با گیرنده‌های آدرنژیک اثرات خود را اعمال می‌نماید (۱۳).

مطالعات پیشین نشان می‌دهند که نقش تعدیل‌کننده سیستم گابا بر روی حافظه و یادگیری از طریق مکانیسم‌های بتا-آدرنژیک میانجی‌گری می‌شود (۲۰). با توجه به اینکه فعال شدن گیرنده‌های پس‌سیناپسی α -آدرنژیک تولید $cAMP$ را که بواسطه فعال شدن گیرنده‌های بتا-آدرنژیک القاء شده است را تقویت می‌نماید (۲۱) و

همچنین با در نظر داشتن این نکته که گیرنده های آلفا-آدرنژیک در میانجی گری اثرات نورآدرنالین در ذخیره سازی اطلاعات دخیل می باشد و این نقش گیرنده های آلفا - آدرنژیک وابسته به فعال شدن همزمان گیرنده های بتا - آدرنژیک می باشد (۲۱) ، این احتمال وجود دارد که گیرنده های آلفا - آدرنژیک نیز نقش تعدیل کننده خود را بر روی حافظه از طریق برهمکنش با سیستم گابا اعمال نمایند. لذا در این مطالعه برای اولین بار اثرات تزریق دو طرفه ی آگونیست ها و آنتاگونیست های گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک به داخل ناحیه ی CA1 هیپوکامپ پستی بر روی فراموشی القاء شده با آگونیست گیرنده های GABA_A (موسیمول) و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با موسیمول مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از موش های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۳۰-۲۲ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند استفاده گردید. حیوان ها بعد از انتقال به حیوانخانه تحقیقاتی در قفس های ده تایی با دوره شبانه روزی طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) و در دمای ۳±۲۲ درجه سانتیگراد، با آب و غذای کافی نگهداری می شدند. در هر گروه آزمایشی از ده سر موش استفاده شد.

برای جراحی و کانول گذاری در ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی، موش های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) به علاوه گزیزین (۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم) بیهوش شدند. بعد از بیهوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکیسی قرار داده شدند و دو کانول راهنما (اندازه ۲۲) یک میلی متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس (۲۰۰۱) قرار داده شدند. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی عبارت بود از : ۲-

AP = ۱/۶ ± ML ، V = -۱/۵ (۲۲). بعد از قرار دادن کانول ها در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان ها اجازه داده شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده، به حالت عادی خود برگردند.

در این تحقیق داروی موسیمول (تاکریس، آمریکا) که به عنوان آگونیست گیرنده های گابا A عمل می نماید و فیلافرین (تاکریس ، آمریکا) و پرازوسین (تاکریس، آمریکا) که به ترتیب به عنوان آگونیست و آنتاگونیست گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک عمل می کنند، استفاده شدند. تمامی داروها بلافاصله قبل از تزریق در سالیन حل شدند و به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پستی تزریق شدند. انتخاب دوز داروها بر اساس مطالعات قبلی (۲۳ و ۲۴) و مطالعات آزمایشی (Pilot) انجام گرفت. لازم به ذکر است که دوز مؤثر و غیر مؤثر داروی موسیمول نیز در طی پروسه آزمایش بدست آمد، به عنوان نمونه دوزی از موسیمول که می تواند بطور مؤثر حافظه اجتنابی مهار را تخریب نماید ، به عنوان دوز مؤثر موسیمول انتخاب گردید. اما دوزی که قادر به تخریب حافظه در روز آموزش و بازگرداندن حافظه تخریب شده با موسیمول در روز آزمون نمی باشد، به عنوان دوز غیر مؤثر در آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن دندان پزشکی شماره ۲۷ که ۹ میلی متر طول داشت و به کت دان تیوب نوزاد (شماره ۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما شماره ۲۲ قرار داده شد و در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق شد. تزریق ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه به صورتی دستی کنترل می شد و به منظور تزریق از سرنگ همیلتون یک میکرو لیتری که ساخت کشور سوئیس بود استفاده شد. در

حیوانات مورد آزمایش در روز آزمون شوک دریافت نمی‌کنند. مدت زمان توقف موش بر روی سکو در روز آزمون به عنوان معیار حافظه در موش اندازه گیری می‌شود، که حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان سقف cut-off) برابر با ۳۰۰ ثانیه می‌باشد که به عنوان حافظه کامل در نظر گرفته می‌شود.

تیمارهای دارویی و آزمایش‌های انجام شده بررسی اثر تزریق موسیمول بر حافظه اجتنابی مهاری

در این آزمایش ۸ گروه موش سوری مورد استفاده قرار گرفت. چهار گروه اول مقادیر مختلف موسیمول (۰/۱۲، ۰/۰۶، ۰/۰۳، ۰ میکروگرم بر موش) را پنج دقیقه قبل از آموزش به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پشتی دریافت نمودند. تمامی این چهار گروه قبل از آزمون یک میکرولیتر بر موش سالیان را به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پشتی دریافت نمودند. چهار گروه بعدی در روز آموزش دوز مؤثر موسیمول (۰/۱۲ میکروگرم بر موش) را پنج دقیقه قبل از آموزش به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ دریافت نمودند و در روز آزمون پنج دقیقه قبل از آزمون مقادیر مختلف موسیمول (۰/۱۲، ۰/۰۶، ۰/۰۳، ۰ میکروگرم بر موش) را به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پشتی دریافت نمودند.

بررسی اثر فنیل افرین بر تخریب حافظه القاء شده توسط موسیمول

در این آزمایش ۸ گروه موش سوری مورد استفاده قرار گرفت. چهار گروه اول پنج دقیقه قبل از آموزش مقدار یک میکرولیتر بر موش سالیان و ۵ دقیقه قبل از آزمون مقادیر مختلف فنیل افرین (۱/۲، ۰/۶، ۰/۳، ۰ میکروگرم بر موش) را به همراه سالیان (۱ میکرو لیتر بر موش) به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پشتی دریافت نمودند. چهار گروه بعدی در روز آموزش دوز مؤثر موسیمول (۰/۱۲ میکروگرم بر موش) را پنج دقیقه قبل از آموزش به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ دریافت نمودند و در روز

طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری، مدل Step-down که ساخت شرکت برج صنعت (تهران - ایران) می‌باشد، جعبه چوبی به ابعاد (۴۰×۳۰×۳۰ سانتی متر) است. کف دستگاه دارای ۲۹ میله فولادی با قطر ۰/۳ سانتی متر می‌باشد که به فاصله ۱ سانتی متر از یکدیگر قرار گرفته‌اند، این میله‌ها به دستگاه تحریک کننده متصل شده و شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می‌شود. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد (۴×۴×۴ سانتی متر) در قسمت میانی کف دستگاه (روی میله‌های فلزی) قرار گرفته است، که حیوانات هنگام انجام آزمایشات به آرامی در روی این سکو قرار داده می‌شوند.

آزمون‌های رفتاری

در این روش، بررسی حافظه در دو روز متوالی و بین ساعت ۸ صبح تا ۲ بعد از ظهر انجام می‌شود. روز اول یا روز آموزش (Training day) شامل آموزش دادن حیوان‌ها در دستگاه می‌باشد و در روز دوم یا روز آزمون (Testing day) میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بررسی می‌شود. در روز آموزش هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گیرد و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شود. در صورتی که هر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو بماند آن موش حذف می‌شود. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای مؤثر بر روی میله‌های فولادی، شوک الکتریکی به مدت ۱۵ ثانیه (۱ هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ ولت مستقیم) توسط حیوان دریافت می‌شود. لازم به ذکر است که در یادگیری اجتنابی مهاری مدل step-down حیوان در روز آموزش فقط یک بار در داخل دستگاه یادگیری اجتنابی قرار گرفته و فقط یک مرحله آموزش را تجربه می‌کند. جلسه آزمون ۲۴ ساعت بعد از آموزش، مشابه آموزش انجام می‌شود. با این تفاوت که

آزمون پنج دقیقه قبل از آزمون مقادیر مختلف پرازوسین (۲/۴، ۱/۲، ۰/۶، ۰، میکروگرم بر موش) را به همراه دوز مؤثر موسیمول (۰/۱۲ میکروگرم بر موش) را به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پستی دریافت نمودند.

بافت شناسی

پس از کشتن حیوان ها توسط کلروفرم، ۰/۵ میکرولیتر رنگ متیلن بلو ۱٪ به داخل هر کانول تزریق شد، سپس مغز از درون مجسمه بیرون آورده شده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش هایی داده شده و محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده می شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در همه آزمایش ها، زمان توقف حیوان روی سکو به صورت میانه و چارک ثبت گردید. به علت تفاوت های خاص زیادی که در پاسخ های یادگیری حیوانات وجود داشت، داده ها توسط آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و برای داده های غیر پارامتریک (Kruskal-wallis) و به دنبال آن برای بررسی جفت گروه ها از روش Mann-withy، U-test استفاده گردید. در تمام ارزیابی های آماری، حداقل $P < 0.05$ معیار معنی دار بودن مقایسه بین گروه ها بوده است. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Sigmaplot استفاده شد.

یافته ها

شکل شماره ۱ مقطع بافتی مربوط به ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی را که نشان دهنده محل قرار گیری صحیح کانول در مقایسه با شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس می باشد، نمایش می دهد. لازم به ذکر است که تنها داده های مربوط به حیواناتی که محل جراحی آنها در مقایسه با اطلس پاکسینوس صحیح بود، در آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت.

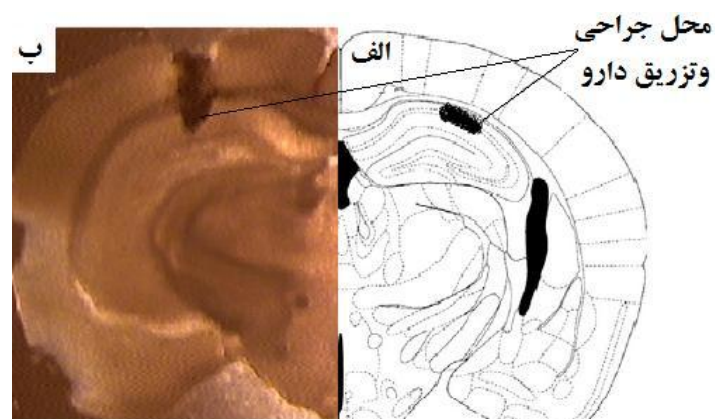
آزمون پنج دقیقه قبل از آزمون مقادیر مختلف فیل افرین (۲/۴، ۱/۲، ۰/۶، ۰/۳، ۰، میکروگرم بر موش) را به همراه دوز غیر مؤثر موسیمول (۰/۰۳ میکروگرم بر موش) به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پستی دریافت نمودند. هدف از این آزمایش بررسی این موضوع می باشد که آیا فیل افرین می تواند اثر دوز غیر مؤثر موسیمول را در روز آزمون تقویت کرده و باعث گردد که دوزی از موسیمول که به تنهایی قادر به اصلاح حافظه نیست بتواند در حضور فیل افرین اثر اصلاحی اعمال نماید. این آزمایش همچنین می تواند نشان دهنده این موضوع باشد که موسیمول و فیل افرین روز آزمون اثر همدیگر را خنثی نمی کنند بلکه اثر تقویت کننده بر روی هم دارند.

دوز غیر مؤثر موسیمول که به تنهایی قادر به اصلاح فراموشی القاء شده با موسیمول روز آموزش نمی باشد ولی وقتی فیل افرین همراه این دوز غیر مؤثر موسیمول می آید با کمک هم قادر به اصلاح فراموشی القاء شده با موسیمول روز آموزش می گردند. در آزمایش سوم پرازوسین قبل از دوز مؤثر موسیمول در روز آزمون آمده است یعنی همان دوز که قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت و اصلاح فراموشی القاء شده با موسیمول روز آموزش می باشد و این پرازوسین قادر به مهار اثر اصلاحی موسیمول روز آزمون می باشد.

بررسی اثر پرازوسین بر یادگیری وابسته به وضعیت

القاء شده توسط موسیمول

در این آزمایش ۸ گروه موش سوری مورد استفاده قرار گرفت. چهار گروه اول پنج دقیقه قبل از آموزش مقدار یک میکرولیتر بر موش سالین و ۵ دقیقه قبل از آزمون مقادیر مختلف پرازوسین (۲/۴، ۱/۲، ۰/۶، ۰، میکروگرم بر موش) را به همراه سالین (۱ میکرو لیتر بر موش) به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پستی دریافت نمودند. چهار گروه بعدی در روز آموزش پنج دقیقه قبل از آموزش دوز مؤثر موسیمول (۰/۱۲ میکروگرم بر موش) را به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پستی دریافت نمودند و در روز

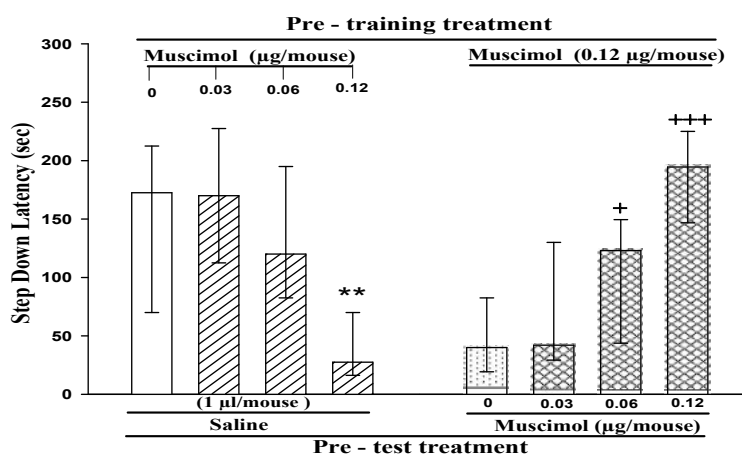


شکل ۱- شکل شماتیک بر گرفته از اطلس پاکسینوس که ناحیه CA1 در آن مشخص شده است (الف) و عکس مقطع بافتی مربوط به کانول گذاری در ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی (ب).

بررسی اثر موسیمول بر حافظه اجتنابی مهاری: در

موش هایی که در روز آموزش موسیمول و در روز آزمون سالین دریافت کرده بودند، تزریق قبل از آموزش موسیمول (۰/۱۲ میکرو گرم بر موش) به داخل ناحیه هیپوکامپ پستی باعث تخریب معنی دار حافظه در روز آزمون شد. بعلاوه در

موش هایی که دوز موثر موسیمول (۰/۱۲ میکرو گرم بر موش) در روز آموزش باعث تخریب حافظه شده بود، تزریق دوزهای ۰/۱۲ و ۰/۰۶ میکرو گرم بر موش موسیمول قبل از آزمون به هیپوکامپ پستی باعث اصلاح معنی دار حافظه تخریب شده با موسیمول روز آموزش شد (نمودار ۱).

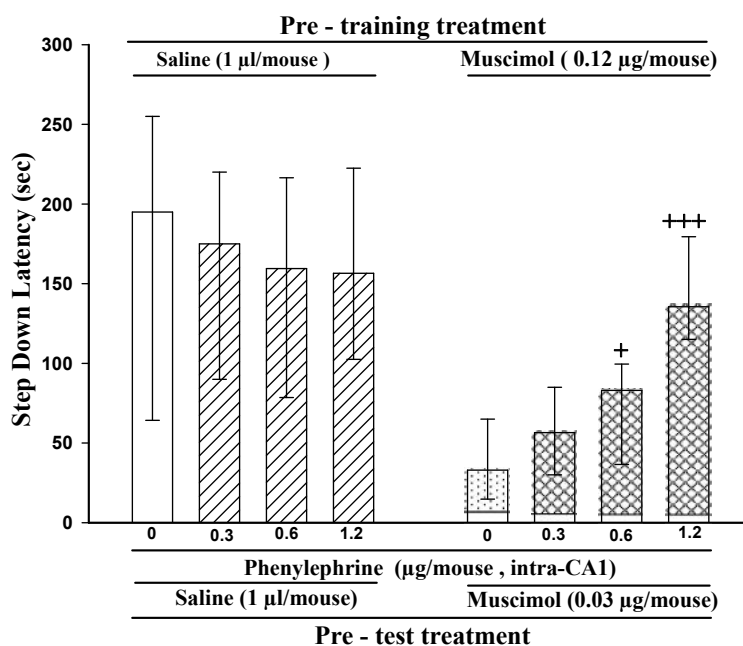


نمودار ۱- اثر موسیمول بر حافظه اجتنابی مهاری. داده ها به صورت میانۀ $\pm$ چارک برای ده سر حیوان می باشد. $P < 0.01$ در مقایسه با گروه موسیمول (۰ میکروگرم بر موش) / سالین و $P < 0.001$ ، $+++$ ، $P < 0.05$ در مقایسه با گروه موسیمول (۰/۱۲ میکروگرم بر موش) / موسیمول (۰ میکروگرم بر موش) می باشد.

بررسی اثر فنیل افرین بر حافظه اجتنابی مهاري و

حافظه تخریب شده با موسیمول: در موش هایی که در روز آموزش سالین و در روز آزمون فنیل افرین به همراه سالین را دریافت کرده بودند، تزریق فنیل افرین به هیپوکامپ پشتی هیچ اثر معنی داری بر روی حافظه اجتنابی مهاري نداشت، اما در موش هایی که حافظه آنها توسط دوز

موثر موسیمول (۰/۱۲ میکرو گرم بر موش) در روز آموزش تخریب شده بود، تزریق قبل از آزمون فنیل افرین به همراه دوز غیر موثر موسیمول (۰/۰۳ میکرو گرم بر موش) که به تنهایی قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با موسیمول روز آموزش نیست باعث اصلاح حافظه تخریب شده با موسیمول روز آموزش شد (نمودار ۲).

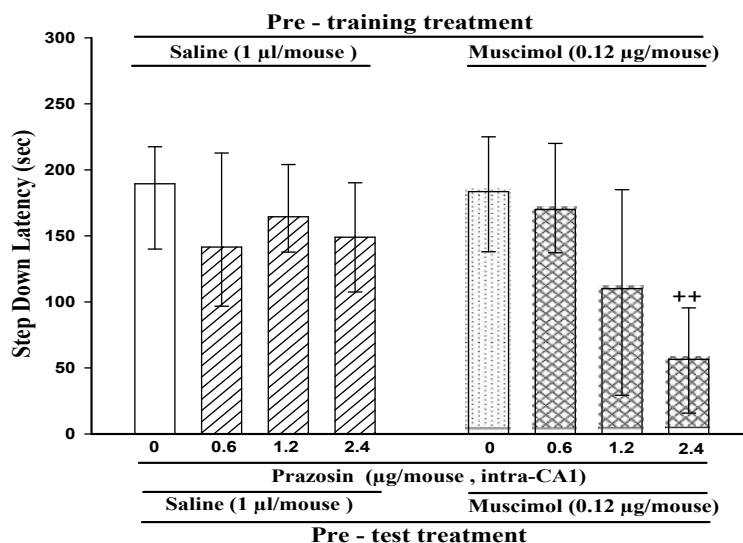


نمودار ۲ - اثر تزریق قبل از آزمون فنیل افرین بر حافظه اجتنابی مهاري و حافظه اجتنابی مهاري تخریب شده با موسیمول. داده ها به صورت میان ± چارک برای ده سر حیوان می باشد. $P < 0.001$ ، $+++$ ، $P < 0.05$ + در مقایسه با گروه موسیمول (۰/۱۲ میکرو گرم بر موش) / موسیمول (۰/۰۳ میکرو گرم بر موش) و فنیل افرین (۰ میکرو گرم بر موش) می باشد.

بررسی اثر پرازوسین بر حافظه اجتنابی مهاري و

یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول: در موش هایی که در روز آموزش سالین و در روز آزمون پرازوسین را به همراه سالین دریافت کرده بودند، هیچ اثر معنی داری بر روی حافظه اجتنابی مهاري مشاهده نشد، اما در موش هایی که در روز آموزش و آزمون دوز موثر موسیمول (۰/۱۲ میکرو

گرم بر موش) را دریافت کرده بودند، تزریق دوز ۲/۴ میکرو گرم بر موش پرازوسین در روز آزمون باعث مهار یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول شد، به بیان دیگر پرازوسین قادر به مهار اثر اصلاحی دوز موثر موسیمول روز آزمون بر روی حافظه تخریب شده با موسیمول روز آموزش می باشد (نمودار ۳).



نمودار ۳- اثر تزریق قبل از آزمون پرازوسین بر حافظه اجتنابی مهارى و یادگیرى وابسته به وضعیت القاء شده با موسیمول. داده ها به صورت میانۀ $\pm$ چارک برای ده سر حیوان می باشد. $P < 0.01$ ++ در مقایسه با گروه موسیمول (۰/۱۲ میکروگرم بر موش) / موسیمول (۰/۱۲ میکروگرم بر موش) و پرازوسین (۰ میکروگرم بر موش) می باشد.

بحث

نتایج مطالعات ما نشان می دهند که تزریق پیش از آموزش موسیمول به داخل هیپوکامپ پستی باعث تخریب حافظه اجتنابی مهارى می شود. نتایج بدست آمده در این مطالعه همسو با گزارشاتى می باشند که نشان می دهند تزریق پس یا پیش از آموزش موسیمول باعث تخریب حافظه در مدل های مختلف از جمله حافظه فضایی و حافظه اجتنابی مهارى می شود (۲۷ و ۲۵ و ۲۳). همچنین نتایج ما نشان می دهند که تزریق پیش از آزمون همان دوزهای موسیمول به حیواناتی که در روز آموزش نیز تحت تأثیر دوز مؤثر موسیمول بوده اند، باعث بهبود حافظه اجتنابی مهارى تخریب شده با موسیمول روز آموزش می شود، این پدیده یادگیرى وابسته به وضعیت موسیمول نامیده می شود (۲۳). در یادگیرى وابسته به وضعیت برای به خاطر آوردن اطلاعات باید شرایط یکسانی در روز آموزش و آزمون حاکم باشد که در این مطالعه با تزریق داروى یکسان در روز آموزش و آزمون این شرایط یکسان ایجاد شده است، به عبارت بهتر داروهایی

نظیر مورفین، کانابینوئیدها و موسیمول اگر تنها در روز آموزش یا روز آزمون بکار روند باعث تخریب حافظه می گردند، اما اگر هم در روز آموزش و هم در روز آزمون حضور داشته باشند با ایجاد شرایط یکسان باعث به یاد آوری اطلاعات کد شده در حضور دارو می گردند (۲). یافته های ما در مطالعات قبلی نشان می دهند که چندین سیستم نورترانسمیتری از جمله دوپامین، نورآدرنالین، استیل کولین، گلوتامات و گابا در یادگیرى وابسته به وضعیت تا حدودی دخیل می باشند (۲۸ و ۵). مطالعات پیشین همچنین نشان می دهند که علاوه بر موسیمول داروهای مختلفی مانند کانابینوئیدها (۳)، لیتیم، هیستامین و اسکوپولامین نیز قادر به ایجاد یادگیرى وابسته به وضعیت می باشند (۲۹).

در بخش دوم این مطالعه برهمکنش گیرنده های گابا A با گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک در زمینه حافظه اجتنابی مهارى در هیپوکامپ پستی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات چندانی در زمینه برهمکنش سیستم گابا با گیرنده های آدرنژیک در زمینه حافظه اجتنابی مهارى

وجود ندارد. هرچند گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهند نقش تعدیل کننده سیستم گابا بر حافظه از طریق برهمکنش با مکانیسم‌های بتا - آدرنژیک میانجی گری می‌شود (۲۰)، اما برهمکنش بین گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک و گیرنده‌های گابا از جمله گیرنده گابا A هنوز بررسی نشده است. با توجه به نقش گیرنده‌های بتا - آدرنژیک در میانجی‌گری اثرات گابا در حافظه و با در نظر داشتن دو تجربه زیر که بیانگر همکاری و شباهت بین گیرنده‌های بتا و آلفا - آدرنژیک می‌باشد، احتمال وجود برهمکنش بین گیرنده‌های گابا و گیرنده‌های آدرنژیک وجود دارد. اولین تجربه بیان می‌دارد که فعال شدن گیرنده‌های پس سیناپسی آلفا - آدرنژیک تولید cAMP را که بواسطه فعال شدن گیرنده‌های بتا - آدرنژیک القاء شده است تقویت می‌نماید (۲۱) و دومین تجربه نشان می‌دهد که گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک در میانجی‌گری اثرات نورآدرنالین در ذخیره سازی اطلاعات دخیل می‌باشند و این نقش گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک وابسته به فعال شدن همزمان گیرنده‌های بتا - آدرنژیک می‌باشد (۲۱). برای بررسی برهمکنش گیرنده‌های گابا A با گیرنده‌های آلفا - ۱ - آدرنژیک در این مطالعه به جای موسیمول روز آزمون از آگونیست گیرنده آلفا - ۱ - آدرنژیک یعنی فنیل افرین استفاده شد تا مشخص گردد که فنیل افرین قادر به تقلید اثر موسیمول روز آزمون و تأثیر گذاری بر روی حافظه تخریب شده با موسیمول روز آموزش می‌باشد یا نه. نتایج ما در این مطالعه نشان داد که تزریق قبل از آزمون فنیل افرین به ناحیه هیپوکامپ پستی موش‌های کوچک آزمایشگاهی باعث اصلاح حافظه اجتنابی مهارت تخریب شده با موسیمول روز آموزش می‌شود. این یافته نشان می‌دهد که فنیل افرین قادر به تقلید اثر موسیمول روز آزمون می‌باشد و به مانند موسیمول روز آزمون باعث بهبود حافظه تخریب شده با موسیمول روز آموزش می‌گردد. گزارشاتی وجود دارند که نشان می‌دهند نورون‌های آزادکننده گابا توسط

گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک تحریک می‌شوند و فنیل افرین قادر به افزایش رهایش گابا می‌باشد (۳۰). بنابراین می‌توان انتظار داشت که فعال شدن گیرنده‌های آلفا - ۱ - آدرنژیک باعث افزایش رهایش گابا و به تبع آن فعال شدن گیرنده‌های گابا از جمله گیرنده‌های گابا A گردد. همین مکانیسم می‌تواند به آگونیست گیرنده‌های آلفا - ۱ - آدرنژیک قدرت تقلید عملکرد آگونیست گیرنده گابا A یعنی موسیمول را بدهد. بر این اساس فنیل افرین روز آزمون به مانند موسیمول قادر به فعال کردن گیرنده‌های گابا A از طریق افزایش گابا می‌باشد و می‌تواند اثر موسیمول روز آزمون را تقلید نموده و شرایط یکسانی را در روز آزمون آموزش ایجاد نماید و طی پدیده یادگیری وابسته به وضعیت باعث برگشت و اصلاح حافظه اجتنابی مهارت گردد. مطالعات پیشین همچنین نشان دهنده تسهیل و تقویت به یادآوری اطلاعات ذخیره شده در حافظه توسط آگونیست‌های گیرنده‌های آدرنژیک می‌باشند (۲۰). نتایج بدست آمده در این مطالعه همسو با مطالعات قبلی ما نیز می‌باشند. یافته پیشین ما نشان می‌دهد که تزریق آگونیست گیرنده‌های آلفا - ۱ - آدرنژیک یعنی فنیل افرین در روز آزمون به ناحیه هیپوکامپ پستی باعث بهبود حافظه تخریب شده با اسکوپولامین یا کانابینوئیدها می‌شود (۲۹). اهمیت این شباهت یافته‌ها زمانی بیشتر می‌گردد که به این نکته توجه نمایم که اسکوپولامین (۲۹) و کانابینوئیدها (۳۱) به مانند موسیمول قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند.

برگشت حافظه تخریب شده توسط فنیل افرین طی پدیده یادگیری وابسته به وضعیت پیشنهاد کننده این موضوع می‌باشد که گیرنده‌های آلفا - ۱ - آدرنژیک در یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول دخیل می‌باشند. برای اینکه این فرضیه به اثبات برسد می‌بایست آنتاگونیست‌های گیرنده‌های آلفا - ۱ - آدرنژیک قادر به مهار یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول باشند. لذا در بخش سوم این

پدیده یادگیری وابسته به وضعیت دارند و مهار این گیرنده ها منجر به مهار یادگیری وابسته به وضعیت می شود.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان می دهد که موسیمول در هیپوکامپ پستی قادر به تخریب حافظه اجتنابی مهارى و ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می باشد و گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک هیپوکامپ پستی می توانند، فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با موسیمول را تحت تأثیر قرار دهند. همچنین این نتایج تأیید کننده وجود برهمکنش بین این دو سیستم در زمینه حافظه اجتنابی مهارى در ناحیه هیپوکامپ می باشند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری که بخشی از هزینه لازم برای انجام این کار پژوهشی را تأمین نمود تقدیر و تشکر می گردد.

مطالعه اثر آنتاگونیست گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک (پرازوسین) بر روی یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور آنتاگونیست گیرنده آلفا - ۱ - آدرنژیک قبل از موسیمول روز آزمون تزریق شد تا مشخص گردد که گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک در میانجی گری اثر موسیمول روز آزمون در برگرداندن حافظه تخریب شده با موسیمول روز آموزش به حالت عادى تأثیرگذار می باشند یا نه. نتایج ما نشان می دهند که پرازوسین قادر به مهار یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با موسیمول می باشد. این یافته می تواند نشان دهنده این موضوع باشد که بخشی از اثرات گابا بر روی حافظه از طریق گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک هیپوکامپ پستی میانجی گری می شود. این یافته همسو با یافته های پیشین ما می باشد که نشان می دهند مهار گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک هیپوکامپ پستی قادر به مهار یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با اسکوپولامین و کانابینوئیدها نیز می باشد (۲۹). مجموع این یافته ها نشان می دهند که گیرنده های آلفا - ۱ - آدرنژیک هیپوکامپ نقش مهمی در

Reference

1. Kameyama T, Nabeshima T, and Kozawa T. Step-down-type passive avoidance- and escape-learning method. Suitability for experimental amnesia models. J Pharmacol Methods 1986;16:39-52.
2. Shulz DE, Sosnik R, Ego V, Haidarliu S, Ahissar E. A neuronal analogue of state-dependent learning. Nature 2000;403:549-53.
3. Nasehi M, Piri M, Jamali-Raeufy N, Zarrindast MR. Influence of intracerebral administration of NO agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. Physiol Behav 2010;100:297-304.
4. Zarrindast MR, Piri M, Nasehi M, Ebrahimi-Ghiri M. Nitric oxide in the nucleus accumbens is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. Pharmacol Biochem Behav 2012;101:166-73.
5. Raoufi N, Piri M, Moshfegh A, Shahin MS. Nicotine improves ethanol-induced impairment of memory: possible involvement of nitric oxide in the dorsal hippocampus of mice. Neuroscience 2012; 219, 82-91.
6. Rassouli Y, Rezayof A, Zarrindast MR. Role of the central amygdala GABA-A receptors in morphine state-dependent memory. Life Sci 2010;86:887-93.
7. Reis HJ, Guatimosim C, Paquet M, Santos M, Ribeiro FM, Kummer A, and et al. Neurotransmitters in the central nervous system and their implication in learning and memory processes. Curr Med Chem 2009;16:796-840.

8. Chang SD, Liang KC. Roles of hippocampal GABA(A) and muscarinic receptors in consolidation of context memory and context-shock association in contextual fear conditioning: a double dissociation study. *Neurobiol Learn Mem* 2012;98:17-24.
9. Krebs-Kraft DL, Parent MB. Septal co-infusions of glucose with the benzodiazepine agonist chlordiazepoxide impair memory, but co-infusions of glucose with the opiate morphine do not. *Physiol Behav* 2010;99:438-44.
10. Phelps EA. Human emotion and memory: interactions of the amygdala and hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 2004;14:198-202.
11. Alvares Lde O, Einarsson EO, Santana F, Crestani AP, Haubrich J, Cassini LF, and et al. Periodically reactivated context memory retains its precision and dependence on the hippocampus. *Hippocampus* 2012;22:1092-5.
12. Rossato JI, Bonini JS, Coitinho AS, Vianna MR, Medina JH, Cammarota M, and et al. Retrograde amnesia induced by drugs acting on different molecular systems. *Behav Neurosci* 2004;118:563-8.
13. Scheiderer CL, Dobrunz LE, McMahon LL. Novel form of long-term synaptic depression in rat hippocampus induced by activation of alpha 1 adrenergic receptors. *J Neurophysiol* 2004; 91:1071-7.
14. Aura J, Riekkinen PJr. Blockade of NMDA receptors located at the dorsomedial prefrontal cortex impairs spatial working memory in rats. *Neuroreport* 1999; 10:243-8.
15. Sirvio J, MacDonald E. Central alpha1-adrenoceptors: their role in the modulation of attention and memory formation. *Pharmacol Ther* 1999; 83:49-65.
16. Berridge CW, Waterhouse BD. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Rev* 2003;42:33-84.
17. Stuchlik A, Petrsek T, Vales K. Effect of alpha1-adrenergic antagonist prazosin on behavioral alterations induced by MK-801 in a spatial memory task in long evans rats. *Physiol Res* 2008; 53:9-17.
18. Izquierdo LA, Vianna M, Barros DM, Mello e Souza T, Ardenghi P, Sant'Anna MK, and et al. Short and longterm memory are differentially affected by metabolic inhibitors given into hippocampus and entorhinal cortex. *Neurobiol Learn Mem* 2000;73:141-9.
19. Clayton EC, Williams CL. Adrenergic activation of the nucleus tractus solitarius potentiates amygdala norepinephrine release and enhances retention performance in emotionally arousing and spatial memory tasks. *Behav Brain Res* 2000;112:151-8.
20. Introini-Collison IB, Castellano C, McGaugh JL. Interaction of GABAergic and beta-noradrenergic drugs in the regulation of memory storage. *Behav Neural Biol* 1994;61:150-5.
21. Ferry B, McGaugh JL. Clenbuterol administration into the basolateral amygdala post-training enhances retention in an inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem* 1999;72:8-12.
22. Zarrindast MR, Nasehi M, Piri M, Bina P. Anxiety-like behavior induced by histaminergic agents can be prevented by cannabinoidergic WIN55,212-2 injected into the dorsal hippocampus in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2010;94:387-96.
23. Jafari-Sabet M. Involvement of dorsal hippocampal muscarinic cholinergic receptors on muscimol state-dependent memory of passive avoidance in mice. *Life Sci* 2011;88:1136-41.
24. McEown K, Treit D. Inactivation of the dorsal or ventral hippocampus with muscimol differentially affects fear and memory. *Brain Res* 2010;1353:145-51.
25. Saito S, Okada A, Ouwa T, Kato A, Akagi M, Kamei C. Interaction between hippocampal gamma-aminobutyric acid(A) and N-methyl-D-aspartate receptors in the retention of spatial working memory in rats. *Biol Pharm Bull* 2010;33:439-43.

26. Yamamoto Y, Mikami A, Fujii Y, Kamei C. Effect of histamine on muscimol-induced working memory deficits in radial maze performance. *J PharmacolSci* 2007;104:252-7.
27. Savage LM, Koch AD, Ramirez DR. Basolateral amygdala inactivation by muscimol, but not ERK/MAPK inhibition, impairs the use of reward expectancies during working memory. *Eur J Neurosci* 2007;26:3645-51.
28. Piri M, Zarrindast MR. Nitric oxide in the ventral tegmental area is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. *Neuroscience* 2011;175:154-61.
29. Azami NS, Piri M, Oryan S, Jahanshahi M, Babapour V, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal alpha-adrenergic receptors in the effect of scopolamine on memory retrieval in inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem* 2010;93:455-62.
30. Kawaguchi Y, Shindou T. Noradrenergic excitation and inhibition of GABAergic cell types in rat frontal cortex. *J Neurosci* 1998;18:6963-76.
31. Piri M, Zarrindast MR. Modulation of WIN55,212-2 state-dependent memory by alpha2-adrenergic receptors of the dorsal hippocampus. *Arch Iran Med* 2011;14:389-95.