جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره هفتم، شماره اول، فروردین ـ اردیبهشت ۹۲
صفحه ۱ الی ۱۰

مقاله پژوهشی
(Original Article)

بررسی تداخل گیرنده‌های NMDA هسته اکومبنس با گیرنده‌های موسکارینی در حافظه

بهاره پاکپور[۱*]، شهربانو عریان[۲]، مجید نوائیان[۳]، صبا طاهری[۴]، مرتضی پیری[۵]

[۱]استادیار فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران، تهران، ایران.
[۲]استاد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت معلم، تهران، ایران.
[۳]استادیار فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر ری، تهران، ایران.
[۴]دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، تهران، ایران.
[۵]استادیار فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، اردبیل، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:
بهاره پاکپور، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
biopakpour@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۳

تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اینکه مطالعات نشان‌دهنده برهمکنش بین NMDA و سیستم کولینرژیک است، این مطالعه با هدف تعیین اثر گیرنده‌های NMDA در هسته آکومبنس بر روی فراموشی القاشده با اسکوپولامین انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه ابتدا موش‌های صحرایی با تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید همراه با زایلزین بیهوش شده و سپس در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند. دو کانول ۲mm بالاتر از پوسته هسته آکومبنس گذاشته شد. به تمامی حیوانات قبل از شروع آزمون رفتاری، برای بهبودی یک هفته فرصت داده شد. سپس حیوانات در دستگاه یادگیری اجتنابی غیرفعال مدل Step-through آموزش دیدند. تزریق داروها بعد از آموزش موفق و قبل از آزمون انجام شد. حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آموزش تست شده و میزان تأخیر حیوان در ورود به خانه سیاه، به‌عنوان معیار حافظه رت‌های نر نژاد ویستار اندازه‌گیری شد. از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. $p<۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تزریق اسکوپولامین یا NMDA به داخل هسته آکومبنس باعث تخریب حافظه در موش‌ها شد، اگرچه تزریق همزمان دوز غیرمؤثر NMDA با دوز غیرمؤثر اسکوپولامین هیچ اثر معنی‌داری بر حافظه نداشت، اما دوزهای مؤثر NMDA مانع از اثر فراموشی‌زای اسکوپولامین بر حافظه مهاری اجتنابی شد. از طرف دیگر، تزریق آنتاگونیست رسپتور NMDA؛ یعنی MK-801 به تنهایی به داخل هسته آکومبنس، هیچ نوع تغییری در حافظه ایجاد نکرد و تزریق همزمان آن نیز با دوز مؤثر اسکوپولامین نتوانست از اثر تخریبی داروی اخیر جلوگیری کند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد رسپتورهای NMDA در هسته اکومبنس در تعدیل فراموشی القاشده با اسکوپولامین دخیل هستند.

کلید واژه‌ها: حافظه اجتنابی مهاری؛ ان- متیل اسپارتات؛ هیبریدوما اسکوپولامین؛ دیزوسیلپین مالیت؛ رت.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Pakpour B, Oryan Sh, Navaeian M, Taheri S, Piri M. Evaluation of the Interaction Between NMDA Receptors of Nucleus Accumbens and Muscarinic Receptors in Memory. Qom Univ Med Sci J 2013;7(1):1-10. [Full Text in Persian]

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

اسکوپولامین یک آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده‌های موسکارینی استیل‌کولین است که باعث تخریب حافظه و القای فراموشی می‌شود (۱). فراموشی القاشده با اسکوپولامین تشابه زیادی با فراموشی موجود در بیماری آلزایمر دارد؛ به‌گونه‌ای که از اسکوپولامین برای ایجاد مدل حیوانی بیماری آلزایمر استفاده می‌شود (۳،۲). همچنین فرضیه‌هایی وجود دارد که بیان‌کننده فراموشی ناشی از افزایش سن به دلیل عملکرد نامطلوب سیستم کولینرژیک در سنین بالا می‌باشد (۴). مطالعات پیشین نشان می‌دهد سیستم کولینرژیک و گیرنده‌های موسکارینی، نقش مهمی را در فرآیندهای حافظه و یادگیری بازی می‌کنند (۵). از طرفی، مشخص شده است که مهارکننده‌های آنزیم استیل‌کولین استراز که پایداری استیل‌کولین را در فضای سیناپسی افزایش می‌دهند، باعث بهبود حافظه نیز می‌شوند (۶). درحالی‌که آنتاگونیست‌های گیرنده‌های نیکوتینی و موسکارینی، حافظه و یادگیری را در مدل‌های مختلف حافظه تخریب می‌کنند (۷). تخریب حافظه مشاهده‌شده در اثر تزریق اسکوپولامین می‌تواند با اثر مستقیم اسکوپولامین بر روی سیستم کولینرژیک و تضعیف این سیستم ایجاد شود (۸،۳)، و یا اینکه با اثر غیرمستقیم اسکوپولامین بر روی سیستم‌های نورترانس میتری دیگر اعمال گردد (۹). همچنین این احتمال وجود دارد که استیل‌کولین به‌واسطه برهمکنش با سیستم گلوتاماترژیک، تغییر شکل سیناپسی و ایجاد تقویت درازمدت سیناپسی را در نواحی مختلف مغز تسهیل کند (۱۱،۱۰). گیرنده NMDA زیرخانواده گیرنده‌های گلوتاماتی است که ارتباط آنها با یادگیری و حافظه کاملاً مشخص شده است (۱۳،۱۲). از طرف دیگر، هسته اکومبنس ساختاری کلیدی از استریاتوم جانبی است که در فرآیندهای مختلف از جمله انگیزش، پاداش، توجه، حافظه و یادگیری نقش دارد (۱۵،۱۴). نورون‌های هسته اکومبنس، آوران‌های گلوتاماتی زیادی را از کورتکس مخچه، تالاموس، هیپوکامپ و آمیگدال دریافت می‌کنند (۱۷،۱۶)، و دارای تراکم بالایی از گیرنده‌های NMDA هستند (۱۸). با توجه به نقش اساسی گلوتامات و گیرنده‌های NMDA در حافظه و یادگیری می‌توان بیان داشت که هسته اکومبنس یکی از ساختارهای کلیدی مؤثر در فرآیند حافظه و یادگیری است (۲۰،۱۹). در همین راستا، گزارشهایی وجود دارد که نشان‌دهنده اهمیت گیرنده‌های NMDA هسته اکومبنس در زمینه حافظه اجتنابی مهاری است (۲۱). همچنین در برخی از مطالعات، برهمکنش بین سیستم گلوتاماترژیک و کولینرژیک در حافظه نشان داده شده است (۲۲)، و در بعضی گزارشها نیز آمده است که تحریک همزمان سیستم کولینرژیک و گیرنده‌های NMDA باعث تسهیل ایجاد تقویت درازمدت سیناپسی و بهبود حافظه می‌شود (۲۳)، درحالی‌که تزریق همزمان اسکوپولامین و MK-801 (آنتاگونیست گیرنده NMDA) منجر به تخریب حافظه می‌شود (۲۵،۲۴). با توجه به مطالعاتی که در مورد برهمکنش سیستم کولینرژیک و NMDA وجود دارد، و با در نظر گرفتن اهمیت گیرنده‌های NMDA و موسکارینی استیل‌کولین در زمینه حافظه و یادگیری، مطالعه حاضر با هدف تعیین نقش گیرنده‌های NMDA هسته اکومبنس در فراموشی القاشده با اسکوپولامین انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه از موش صحرایی نر نژاد ویستار به وزن تقریبی ۲۵۰g-۲۰۰ تهیه‌شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد. حیوان‌ها به حیوانخانه تحقیقاتی منتقل شدند. در هر قفس ۵ سر موش گذاشته شد و آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار گرفت، هر ۳ روز یک‌بار نیز قفس موش‌ها تمیز می‌شد. دما در حیوانخانه بین ۲۲±۳°c متغیر بود. قبل از جراحی به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. در طول یک هفته به‌منظور جلوگیری از تنش کار، هر روز حیوان‌ها توسط آزمایشگر به مدت چند دقیقه دست زده می‌شدند. همچنین از هر حیوان فقط یک‌بار استفاده می‌شد، و سپس در گروه ۸ تایی قرار می‌گرفت. همه آزمایشها نیز در طول روز انجام شد.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیرفعال)، مدل Step-Through، متشکل از جعبه‌ایست که به‌وسیله دیواره‌ای به دو قسمت با اندازه یکسان (با ابعاد ۳۰×۲۰×۲۰cm) تقسیم می‌شود. درون دیواره بین دو قسمت، درب کشویی به ابعاد ۷×۹cm تعبیه شده است که می‌توان در موقع لزوم آن را باز کرد. این دستگاه دارای بخش سفید رنگی است که کف و دیواره‌های آن از جنس پلکسی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

گلاس غیرشفاف ساخته شده، و فاقد هرگونه سقف است و توسط نور غیرمستقیم فلورسنت آفتابی روشن می‌شود. بخش دیگر دستگاه سیاه رنگ بوده که در کف دارای میله‌های فولادی با فاصله ۱cm می‌باشد، این میله‌ها توسط سیم رابطی به دستگاه تحریک‌کننده متصل می‌شوند و بدین طریق عمل انتقال شوک الکتریکی به حیوانات مورد آزمایش را ممکن می‌سازند. در این مطالعه تمامی آزمایشها در اتاق نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا انجام شد.

داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از: NMDA و MK-801 و اسکوپولامین (تاکریس، آمریکا) که بلافاصله قبل از آزمایش، در سرم فیزیولوژیک استریل ۰/۹٪ حل شدند.

ابتدا موش‌های صحرایی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید (۵۰mg/kg) همرا با زایلزین (۴mg/kg) بیهوش شدند. سپس در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند. دو کانول راهنمای (۲۲G) به‌صورت دوطرفه نیز ۲mm بالاتر از محل تزریق براساس اطلس پاکسینوس و واتسون (سال ۱۹۹۷) قرار داشت. مختصات NAc برابر (V=-6, ML=±0.6, AP=-5.8) بود. بعد از قرار دادن کانول‌ها در مختصات مورد نظر، با استفاده از سیمان دندانپزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. برای جلوگیری از بسته شدن کانول‌های راهنما در طی آزمایش در داخل آنها کانول‌های (۲۷G) قرار داده شد. در ادامه، پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده شد ۷-۵ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به‌منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده تا به حالت عادی خود برگردد.

روش اجتنابی مهاری برای بررسی حافظه در موش‌های صحرایی در ۲ روز متوالی انجام گرفت. روز اول یا روز آموزش (Training Day) شامل آموزش دادن حیوان‌ها در دستگاه بود، و روز دوم یا روز آزمون (Testing Day) میزان حافظه حیوان‌های آموزش‌دیده بررسی شد.

در روش اجتنابی مهاری مدل Step-through، هر حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار گرفت، و به مدت ۵ ثانیه به آن اجازه داده شد به‌منظور آشنایی با محیط در این قسمت بماند. سپس به حیوان اجازه داده شد تا وارد قسمت سیاه دستگاه شود. بلافاصله بعد از ورود حیوان به خانه سیاه درب کشویی بسته شده و حیوان از دستگاه خارج شد، سپس به آرامی به قفس برگردانده شد. موش‌هایی که در این مرحله بیشتر از ۱۲۰ ثانیه در ورود به بخش تاریک تأخیر داشتند، حذف شدند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه این حیوان دوباره به بخش سفید دستگاه منتقل شده و بعد از ۵ ثانیه درب کشویی باز شد تا حیوان وارد بخش تاریک شود. با ورود حیوان به بخش تاریک، درب کشویی پشت سر حیوان بسته شده، و حیوان تحریک الکتریکی با شدت یک میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه را که توسط دستگاه تحریک‌کننده به میله‌های فولادی کف بخش تاریک منتقل می‌شد، دریافت کرد. ۲۰ ثانیه پس از پایان تحریک، حیوان از دستگاه خارج شده، و سپس به قفس مربوطه انتقال یافت. پس از گذشت ۲ دقیقه مرحله دوم آموزش روی حیوان شوک‌گرفته انجام شد. در این مرحله نیز حیوان مانند دفعات قبل به خانه سفید دستگاه منتقل و با باز کردن درب کشویی، میزان تأخیر ورودش به بخش تاریک دستگاه ثبت شد. تأخیر ۱۲۰ ثانیه در ورود به بخش سیاه دستگاه، به‌عنوان یادگیری موفق برای حیوان ثبت می‌شد، سپس حیوان از دستگاه خارج شده و بلافاصله تزریق پس از آموزش (post-training) را دریافت می‌کرد. در صورت تأخیر کمتر از ۱۲۰ ثانیه، در ورود به بخش تاریک پس از ورود، درب کشویی دستگاه پشت سرش بسته شده و حیوان برای بار دوم شوک دریافت می‌کرد. پس از خارج کردن حیوان از دستگاه و سپری شدن ۲ دقیقه، حافظه حیوان همانند دوره قبل دوباره مورد امتحان قرار گرفت، و در صورت کسب یادگیری موفق، حیوان از دستگاه خارج و تزریق بعد از آموزش را دریافت می‌کرد. در این بررسی حداکثر آموزش برای هر موش ۳ بار در نظر گرفته شد.

در جلسه آزمون که ۲۴ ساعت پس از مرحله آموزش انجام می‌شد، تمامی شرایط به مانند مرحله آموزش بود؛ بجز این مسئله که در جلسه آزمون شوک الکتریکی به حیوان داده نمی‌شد. برای بررسی حافظه، هر موش پس از دریافت تزریق قبل از آزمون، همانند روز اول در بخش روشن دستگاه قرار گرفت، و درب کشویی بعد از ۵ ثانیه باز شد. زمان تأخیر حیوان در ورود به بخش تاریک دستگاه، به‌عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته شد. بیشترین مقدار تأخیر برای ورود به بخش تاریک که

به‌عنوان حافظه کامل شناخته می‌شود ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد. برای تزریق دارو از کانول (۲۷G) دندانپزشکی به طول ۱۴mm، (۱mm بزرگتر از کانول راهنما) به‌منظور دسترسی دقیق هسته اکومبنس و جلوگیری از آسیب آن استفاده شد. این سر سوزن به کت‌دان تیوپ نوزاد (شماره ۴) متصل بود. برای تزریق از سرنگ هامیلتون ۲µl استفاده شد. در مرحله تزریق پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷G دندانپزشکی در داخل کانول راهنما ۲۲G قرار داده شد، در هر کانول ۰/۳µl دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق شد. این زمان به‌منظور کسب اطمینان از ورود دارو به مغز و جلوگیری از خروج آن از کانول راهنما در نظر گرفته شد. مجموع حجم تزریق درون مغزی به هر موش ۰/۶µl تعیین شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده شد تا بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند. پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو ۱٪ (۰/۳µl/rat) به درون هر دو کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شد و به‌منظور جلوگیری و سفت شدن بافت‌ها، درون فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شد، محل ورود کانول به مغز به‌وسیله لوپ مورد بررسی قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه‌شده نیز از اطلس پاکسینوس و واتسون استفاده شد. در ادامه، اطلاعات به دست آمده از موش‌هایی که جراحی در آنها درست انجام شده بود، مورد تجریه و تحلیل آماری قرار گرفت. در ۱۷ مورد از ۱۹۲ موش جراحی‌شده، کانول در سایت مورد نظر نبود که این موش‌ها با موش‌های دیگر جایگزین شدند تا تعداد آنها در هر گروه کمتر از ۸ موش نباشد.

در همه آزمایشهای انجام‌شده، میزان تأخیر ورود حیوان به خانه سیاه در روز آزمون به‌عنوان ملاک حافظه در نظر گرفته شد همچنین نمره هرگروه به‌صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد (Mean±S.E.M)، و تعداد آموزش هر حیوان در روز آموزش ثبت شد. در آزمایش اول، اثر پس از آموزش آنتاگونیست غیرانتخابی استیل‌کولین؛ یعنی اسکوپولامین بر حافظه اجتنابی مهاری مورد آزمایش قرار گرفت. یک گروه، تزریق درون اکومبنسی از سالین (۰/۶µl/rat بر موش) را بلافاصله پس از آموزش دریافت کردند. چهار گروه از حیوانات تزریق درون اکومبنسی از سالین را با دوزهای مختلفی از اسکوپولامین (۰/۵µg/rat، ۱، ۲) بلافاصله پس از آموزش دریافت کردند.

در آزمایش دوم اثر تزریق درون اکومبنسی پس از آموزش NMDA بر حافظه اجتنابی مهاری آزمایش شد. یک گروه تزریق درون اکومبنسی سالین (۰/۶µl/rat) و سه گروه نیز تزریق درون اکومبنسی از NMDA (۰/۰۱µg/rat، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱) را بلافاصله پس از آموزش دریافت کردند.

در آزمایش سوم نخست اثر تزریق همزمان دوز غیرمؤثر اسکوپولامین (۰/۲۵µg/rat، ۰/۵) با دوز غیرمؤثر NMDA (۰/۰۰۱µg/rat) بر حافظه اجتنابی مهاری ارزیابی شد، بدین منظور بعد از یادگیری موفق، ابتدا دوزهای غیرمؤثر اسکوپولامین و بلافاصله بعد از آن دوز غیرمؤثر NMDA تزریق شد. در مرحله دوم اثر تزریق همزمان و پس از آموزش دوزهای مختلف NMDA (۰/۰۱µg/rat، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱) با دوز مؤثر اسکوپولامین (۲µg/rat) بر حافظه اجتنابی مهاری در روز تست آزمایش شد، که در این مرحله نیز بعد از آموزش ابتدا اسکوپولامین و سپس دوزهای مختلف NMDA تزریق شد.

در آزمایش چهارم اثر تزریق پس از آموزش MK-801 به تنهایی و در ترکیب با دوز مؤثر اسکوپولامین بر حافظه اجتنابی مهاری ارزیابی شد. چهار گروه از حیوانات سالین و یا دوزهای متفاوت MK-801 (۰/۵µg/rat، ۱، ۱/۵) را دریافت کردند. چهار گروه دیگر بعد از آموزش موفق، ابتدا سالین و یا دوزهای مختلف MK-801 (۰/۵µg/rat، ۱، ۱/۵) و بلافاصله بعد از آن دوز مؤثر اسکوپولامین (۲µg/rat) را دریافت کردند.

به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایش، از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی استفاده شد. اختلاف در سطح $p<۰/۰۵$ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد .

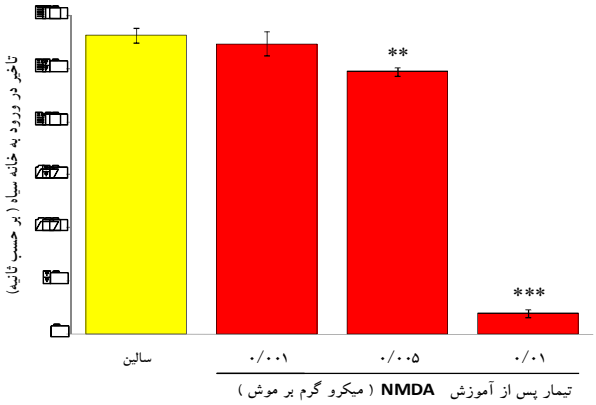
یافته‌ها

۱- **آزمایش اول:** تزریق پس از آموزش اسکوپولامین حافظه اجتنابی مهاری را تغییر داد ($p<۰/۰۰۱$)، همچنین تزریق پس از آموزش و درون اکومبنسی اسکوپولامین (۱µg/rat، ۲) تأخیر در

ورود به محل شوک یا اصطلاحاً میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش داد (جدول و نمودار شماره ۱).

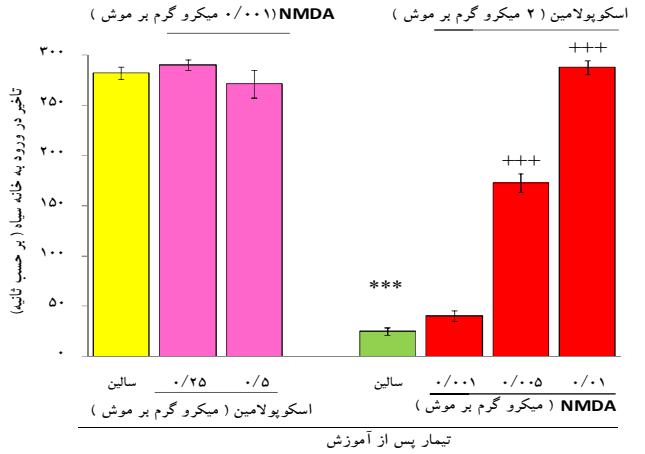
نمودار شماره ۱: اثر تزریق پس از آموزش اسکوپولامین بر حافظه اجتنابی مهاری p<۰/۰۰۱ * در مقایسه با گروه سالین**

۲- **آزمایش دوم:** تزریق درون اکومبنسی پس از آموزش NMDA حافظه اجتنابی مهاری را تغییر داد (p<۰/۰۰۱). تزریق پس از آموزش NMDA (۰/۰۱μg/rat، ۰/۰۰۵)، تأخیر در ورود به محل شوک یا اصطلاحاً میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش داد (جدول و نمودار شماره ۲).



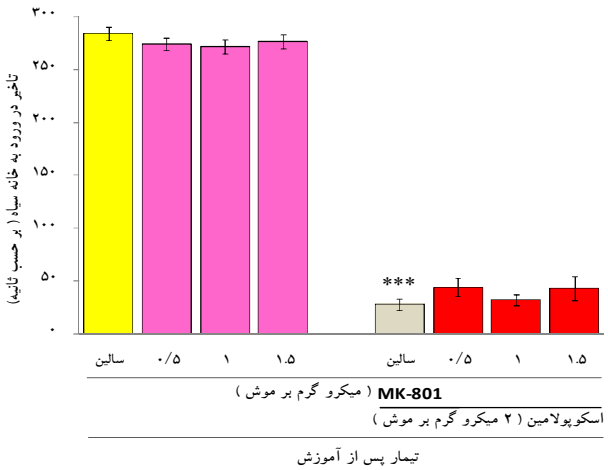
نمودار شماره ۲: اثر تزریق پس از آموزش و درون اکومبنسی NMDA بر حافظه اجتنابی مهاری p<۰/۰۰۱ ** p<۰/۰۱ * در مقایسه با گروه سالین**

۳- **آزمایش سوم:** تزریق همزمان و پس از آموزش دوز غیرمؤثر NMDA (۰/۰۱μg/rat) با دوزهای غیرمؤثر اسکوپولامین (۰/۲۵μg/rat، ۰/۵) هیچ تأثیر معنی‌داری بر حافظه اجتنابی مهاری در مقایسه با گروه کنترل نداشت (p>۰/۰۵). از طرف دیگر، تزریق همزمان و پس از آموزش دوزهای مختلف NMDA (۰/۰۱μg/rat، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱) با دوز مؤثر اسکوپولامین (۲μg/rat) باعث کاهش معنی‌دار فراموشی القاشده توسط اسکوپولامین شد (p<۰/۰۰۱). دوزهای مؤثر NMDA (۰/۰۱μg/rat، ۰/۰۰۵) که به تنهایی باعث تخریب حافظه می‌شوند، مانع از فراموشی القاشده توسط اسکوپولامین شد (جدول و نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: اثر تزریق همزمان، پس از آموزش NMDA با اسکوپولامین بر حافظه اجتنابی مهاری p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل که فقط سالین دریافت کرده‌اند، می‌باشد. p<۰/۰۰۱ +++ در مقایسه با گروه اسکوپولامین/سالین

۴- **آزمایش چهارم**، تزریق پس از آموزش دوزهای مختلف MK-801 هیچ اثری بر حافظه اجتنابی مهاری نداشت (p>۰/۰۵). نتایج آزمایش ۴ نشان داد که تزریق همزمان و پس از آموزش دوزهای مختلف MK-801 (۰/۵μg/rat، ۱، ۱/۵) با دوز مؤثر اسکوپولامین (۲μg/rat) نمی‌تواند مانع از اثر داروی اخیر بر حافظه اجتنابی مهاری در روز تست شود (p>۰/۰۵) (جدول و نمودار شماره ۴).



نمودار شماره ۴: اثر تزریق پس از آموزش MK-801 به تنهایی و در ترکیب با اسکوپولامین بر حافظه اجتنابی مهاری p<۰/۰۰۱ * در مقایسه با گروه سالین**

جدول: داده‌های مربوط به آزمایشهای اول، دوم، سوم و چهارم به‌صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد

شماره نمودار	نام گروه	میانگین	انحراف معیار استاندارد
	روز آموزش: سالین	۲۹۲/۳	۴/۸
	اسکوپولامین ۰/۲۵μg/rat	۲۸۶/۴	۵/۱
نمودار ۱	اسکوپولامین ۰/۵μg/rat	۲۸۳/۷	۷/۱
	اسکوپولامین ۱μg/rat	۱۳۴/۳	۱۴/۶
	اسکوپولامین ۲μg/rat	۱۷/۴	۲/۸
	روز آموزش: سالین	۲۸۲/۱	۶/۹
	۰/۰۰۱μg/rat NMDA	۲۷۳/۸	۱۱/۳
نمودار ۲	۰/۰۰۵μg/rat NMDA	۲۴۷/۶	۴/۱
	۰/۰۱μg/rat NMDA	۲۰/۱	۳/۷
نمودار ۳ پانل راست	روز آموزش: سالین+اسکوپولامین 0μg/rat	۲۸۲/۲	۶/۳
	۰/۰۰۱μg/rat NMDA+اسکوپولامین ۰/۲۵μg/rat	۲۹۰/۱	۵/۲
	۰/۰۰۱μg/rat NMDA+اسکوپولامین ۰/۵μg/rat	۲۷۱/۴	۱۳/۹
نمودار ۳ پانل چپ	اسکوپولامین 0μg/rat NMDA+۲μg/rat	۲۵/۲	۳/۸
	اسکوپولامین ۰/۰۰۱μg/rat NMDA+۲μg/rat	۴۰/۷	۵/۴
	اسکوپولامین ۰/۰۰۵μg/rat NMDA+۲μg/rat	۱۷۲/۴	۹/۳
	اسکوپولامین ۰/۰۱μg/rat NMDA+۲μg/rat	۲۷۸/۷	۶/۹
نمودار ۴ پانل راست	0μg/rat MK-801	۲۸۳/۹	۶/۲
	۰/۵μg/rat MK-801	۲۷۴/۳	۵/۹
	۱μg/rat MK-801	۲۷۱/۶	۶/۷
	۱/۵μg/rat MK-801	۲۷۶/۲	۶/۴
نمودار۴ پانل چپ	اسکوپولامین 0μg/rat MK-801+۲μg/rat	۲۷/۸	۵/۸
	اسکوپولامین ۰/۵μg/rat MK-801+۲μg/rat	۴۴/۲	۸/۳
	اسکوپولامین ۱μg/rat MK-801+۲μg/rat	۳۲/۱	۴/۹
	اسکوپولامین ۱/۵μg/rat MK-801 ۲μg/rat	۴۲/۷	۱۱/۴

بحث

در یادگیری اجتنابی مهاری که نوعی حافظه درازمدت است، ساختارهایی نظیر هیپوکامپ پشتی و ناحیه جانبی استریاتوم نقش دارند (۲۷،۲۶). در این مطالعه نقش گیرنده‌های NMDA هسته اکومبنس بر روی فراموشی القاشده با اسکوپولامین بررسی شد.

نتیجه تحقیق حاضر نشان داد تزریق پس از آموزش اسکوپولامین به‌عنوان آنتاگونیست غیرانتخابی موسکارینی حافظه را تخریب کرده و تأخیر زمانی ورود به خانه سیاه را در روز آزمون کاهش می‌دهد. همسو با نتایج به دست آمده در این مطالعه، نتایج تحقیقات پیشین نیز نشان داده است سیستم کولینرژیک نقش بسیار مهمی در حافظه و یادگیری دارد (۲۸،۶،۵)، در گزارشهای متعدد آمده است که داروهای آنتی‌کولینرژیک منجر به تخریب حافظه در بسیاری از تست‌های حافظه و یادگیری می‌شود (۲۴،۶،۵)، مطالعات دیگری نیز وجود دارد که نشان‌دهنده اثر تخریبی اسکوپولامین بر روی حافظه اجتنابی مهاری می‌باشد (۳۰،۲۹،۶،۵).همچنین در یافته‌های مطالعه حاضر مشاهده شد تزریق NMDA به درون هسته اکومبنسی پس از آموزش باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود، اما تزریق آنتاگونیست غیررقابتی NMDA؛ یعنی MK-801 به تنهایی اثری بر روی حافظه اجتنابی مهاری ندارد.

گزارشهایی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد فعالیت گیرنده‌های NMDA در هسته و پوسته هسته اکومبنس برای مرحله اکتساب حافظه ضروری است، اما بر روی مرحله تثبیت حافظه اجتنابی مهاری اثری ندارد (۳۱). در راستای این گزارش، با توجه به عدم اثر تزریق بعد از آموزش MK-801 بر روی حافظه اجتنابی مهاری می‌توان بیان داشت که MK-801 روی مرحله تثبیت حافظه در هسته اکومبنس تأثیری ندارد. برخلاف نتایج مطالعه حاضر، گزارشهایی نیز وجود دارند که نشان‌دهنده اثر تخریبی MK-801 بر روی حافظه هستند (۳۲). این گزارشها حاکی از اثر مخرب MK-801 بر روی حافظه فعال، حافظه اجتنابی مهاری و حافظه فضایی است (۳۴،۳۳). همچنین به‌نظر می‌رسد مهم‌ترین عامل ایجاد این نتایج متفاوت، محل تزریق دارو بوده است؛ چراکه یک داروی واحد در نواحی مختلف با اثر بر روی نورون‌های متفاوت می‌تواند اثرات متفاوتی ایجاد کند.

Lisman و Grace (سال ۲۰۰۵)در بررسی خود مشاهده کردند حلقه عملکردی از نورون‌ها بین هیپوکامپ و ناحیه تگمنتوم شکمی وجود دارد که می‌تواند در حافظه درازمدت نقش داشته باشد. مسیر بالارو این حلقه شامل نورون‌های دوپامینرژیک بوده، که از ناحیه تگمنتوم شکمی منشأ می‌گیرد، و به هیپوکامپ می‌رود. مسیر پایین‌رو این حلقه نیز از هیپوکامپ شروع شده و با گذر از هسته اکومبنس و پالیدوم جانبی به ناحیه تگمنتوم شکمی می‌رسد (۳۵). هسته اکومبنس، ورودی‌های دوپامینرژیکی را از ناحیه تگمنتوم شکمی و ورودی‌های گلوتاماترژیک را از بخش میانی کورتکس پیش‌پیشانی، تالاموس، هیپوکامپ و آمیگدال دریافت می‌کند. علاوه بر این، نورون‌های تولیدکننده گابا (گاما آمینو بوتریک اسید) در هسته اکومبنس قرار دارند که در روی آنها گیرنده‌های NMDA حضور داشته و بخش اعظمی از این نورون‌ها به ناحیه تگمنتوم شکمی ختم می‌شوند (۳۴). شاید علت عدم تأثیر MK-801 بعد از آموزش بر روی حافظه این باشد که پیام‌های منتقل‌شده از طریق گیرنده‌های NMDA در زمان یادگیری نقش بسیار اساسی را در حافظه بازی می‌کنند و بعد از مرحله اکتسابی اثری بر روی بقیه مراحل شکل‌گیری حافظه ندارند. داده‌های اخیر نشان داده‌اند تزریق درون اکومبنسی دوز غیرمؤثر NMDA و اسکوپولامین همراه با هم هیچ اثری بر حافظه اجتنابی مهاری ندارد، درحالی‌که مقادیر مختلف NMDA می‌تواند مانع تخریب حافظه با دوز مؤثر اسکوپولامین شود. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد تزریق MK-801 برخلاف NMDA نمی‌تواند مانع از تخریب حافظه با دوز مؤثر اسکوپولامین شود. در مطالعات پیشین نیز مشخص شده است که MK-801 در داخل هیپوکامپ می‌تواند اثر NMDA و فیزوستیگمین بر حافظه اجتنابی مهاری را بلوک کند (۳۶). همچنین گزارشهایی وجود دارد که نشان‌دهنده تقویت اثر مخرب اسکوپولامین بر حافظه فضایی و اجتنابی مهاری توسط MK-801 است (۲۴).

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد پیام‌های تقویت‌کننده NMDA در هسته اکومبنس می‌تواند مهار ایجادشده بعد از مرحله اکتساب توسط اسکوپولامین را جبران کند. همچنین دوز مؤثر NMDA که تزریق آن به تنهایی باعث تخریب حافظه می‌شود؛ وقتی همراه با دوز مؤثر اسکوپولامین تزریق شود حافظه به حالت عادی برمی‌گردد، این یافته نشان‌دهنده برهمکنش و همکاری سیستم کولینرژیک و گیرنده‌های NMDA در هسته اکومبنس است؛ چراکه در این حالت تحریک شدید ایجادشده با دوز بالای NMDA توسط مهار ایجادشده با اسکوپولامین تا حدی جبران شده و حافظه به حالت عادی برمی‌گردد.

مسلماً چون MK-801 نیز همانند اسکوپولامین اثر مهاری دارد، بنابراین قادر به خنثی کردن اثر مهاری و مخرب اسکوپولامین بر روی حافظه نیست. در تأیید تداخل گیرنده‌های استیل‌کولینی و NMDA و تأیید نتایج این پژوهش گزارشهایی وجود دارد که نشان می‌دهد تحریک گیرنده‌های NMDA سنتز و فسفریلاسیون گیرنده‌های موسکارینی را در نورون‌های گرانولار مخچه کنترل می‌کنند (۳۷).

نتیجه‌گیری

مهم‌ترین نتیجه حاصل از یافته‌های مطالعه حاضر این است که سیستم کولینرژیک و گیرنده‌های NMDA در هسته اکومبنس همکاری بسیار نزدیکی در زمینه حافظه اجتنابی مهاری با یکدیگر دارند، به‌طوری‌که اثر تحریکی هرکدام از این سیستم‌ها باعث تقویت اثر تحریکی دیگری می‌شود و اثر مهاری یک سیستم نیز می‌تواند توسط اثر تحریکی سیستم دیگر جبران شود؛

به‌گونه‌ای‌که تخریب حافظه القاشده با اسکوپولامین که ناشی از مهار سیستم کولینرژیک است با تحریک گیرنده‌های NMDA خنثی شده و حافظه به حالت عادی برمی‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات همه افرادی که به نوعی با ما در انجام این تحقیق همکاری کرده‌اند، سپاسگزاری می‌نماییم.

References:

1. Blokland A. Acetylcholine: A Neurotransmitter for Learning and Memory? Brain Res Brain Res Rev 1995 Nov; 21(3):285-300.

2. Bartus RT. On Neurodegenerative Diseases, Models, and Treatment Strategies: Lessons Learned and Lessons Forgotten a Generation Following the Cholinergic Hypothesis. Exp Neurol 2000 Jun; 163(2):495-529.

3. Gallagher M, Colombo PJ. Ageing: The Cholinergic Hypothesis of Cognitive Decline. Curr Opin Neurobiol 1995 Apr; 5(2):161-8.

4. Bartus RT, Dean RL, Beer B, Lippa AS. The Cholinergic Hypothesis of Geriatric Memory Dysfunction. Science 1982 Jul 30;217(4558):408-14.

5. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The Cholinergic Hypothesis of Alzheimer's Disease: A Review of Progress. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1999 Feb; 66:137-47.

6. Degroot A, Parent MB. Infusions of Physostigmine Into the Hippocampus or the Entorhinal Cortex Attenuate Avoidance Retention Deficits Produced by Intra-Septal Infusions of the GABA Agonist Muscimol. Brain Res 2001 Nov 30;920(1-2):10-8.

7. Bacciottini L, Passani MB, Mannaioni PF, Blandina P. Interactions between Histaminergic and Cholinergic Systems in Learning and Memory. Behav Brain Res 2001 Oct 15;124(2):183-94.

8. Wallenstein GV, Vago DR. Intrahippocampal Scopolamine Impairs Both Acquisition and Consolidation of Contextual Fear Conditioning. Neurobiol Learn Mem 2001 May; 75(3):245-52.

9. Advokat C, Pellegrin AI. Excitatory Amino Acids and Memory: Evidence from Research on Alzheimer's Disease and Behavioral Pharmacology. Neurosci Biobehav Rev 1992 Spring; 16(1):13-24.

10. Auerbach JM, Segal M. Muscarinic Receptors Mediating Depression and Long-term Potentiation in Rat Hippocampus. J Physiol 1996 Apr 15;492(Pt 2):479-93.

11. Hasselmo ME. Neuromodulation: Acetylcholine and Memory Consolidation. Trends Cogn Sci 1999 Sep; 3(9):351-9.

12. Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF. Learning Induces Long-term Potentiation in the Hippocampus. Science 2006 Aug 25;313(5790):1093-7.

13. Dalley JW, Laane K, Theobald DE, Armstrong HC, Corlett PR, Chudasama Y, et al. Time-limited Modulation of Appetitive Pavlovian Memory by D1 and NMDA Receptors in the Nucleus Accumbens. Proc Natl Acad Sci U S A 2005 Apr 26;102(17):6189-94.

14. Ikemoto S, Panksepp J. The Role of Nucleus Accumbens Dopamine in Motivated Behavior: A Unifying Interpretation with Special Reference to Reward-seeking. Brain Res Brain Res Rev 1999 Dec; 31(1):6-41.

15. Kelley AE. Memory and Addiction: Shared Neural Circuitry and Molecular Mechanisms. Neuron 2004 Sep 30;44(1):161-79.

16. Sesack SR, Pickel VM. In the Rat Medial Nucleus Accumbens, Hippocampal and Catecholaminergic Terminals Converge on Spiny Neurons and Are in Apposition to Each other. Brain Res 1990 Sep 17;527(2):266-79.

17. Wright CI, Groenewegen HJ. Patterns of Overlap and Segregation between Insular Cortical, Intermediodorsal Thalamic and Basal Amygdaloid Afferents in the Nucleus Accumbens of the Rat. Neuroscience 1996 Jul; 73(2):359-73.

18. Tarazi FI, Campbell A, Yeghiayan SK, Baldessarini RJ. Localization of Ionotropic Glutamate Receptors in Caudate-putamen and Nucleus Accumbens Septi of Rat Brain: Comparison of NMDA, AMPA, and kainate Receptors. Synapse 1998 Oct; 30(2):227-35.

19. Ferretti V, Sargolini F, Oliverio A, Mele A, Roullet P. Effects of Intra-accumbens NMDA and AMPA Receptor Antagonists on Short-term Spatial Learning in the Morris Water Maze Task. Behav Brain Res 2007 Apr 16;179(1):43-9.

20. Lei Y, Yaroslavsky I, Tejani-Butt SM. Strain Differences in the Distribution of N-methyl-d-aspartate and Gamma (gamma)-aminobutyric Acid-A Receptors in Rat Brain. Life Sci 2009 Dec 16;85(23-26):794-9.

21. Ahmadi S, Zarrindast MR, Haeri-Rohani A, Rezayof A, Nouri M. Nicotine Improves Morphine-Induced Impairment of Memory: Possible Involvement of N-methyl-D-aspartate Receptors in the Nucleus Accumbens. Dev Neurobiol 2007 Jul; 67(8):1118-27.

22. Ramirez-Lugo L, Nunez-Jaramillo L, Bermudez-Rattoni F. Taste Memory Formation: Role of Nucleus Accumbens. Chem Senses 2007 Jan; 32(1):93-7.

23. Markram H, Segal M. Long-lasting Facilitation of Excitatory Postsynaptic Potentials in the Rat Hippocampus by Acetylcholine. J Physiol 1990 Aug; 427:381-93.

24. Li HB, Matsumoto K, Tohda M, Yamamoto M, Watanabe H. NMDA Antagonists Potentiate Scopolamine-induced Amnesic Effect. Behav Brain Res 1997 Feb; 83(1-2):225-8.

25. Ohno M, Watanabe S. Interactive Processing between Glutamatergic and Cholinergic Systems Involved in Inhibitory Avoidance Learning of Rats. Eur J Pharmacol 1996 Sep 26;312(2):145-7.

26. Izquierdo I, Bevilaqua LR, Rossato JI, Bonini JS, Da Silva WC, Medina JH, et al. The Connection between the Hippocampal and the Striatal Memory Systems of the Brain: A Review of Recent Findings. Neurotox Res 2006 Oct; 10(2):113-21.

27. Izquierdo I, Bevilaqua LR, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M. Different Molecular Cascades in Different Sites of the Brain Control Memory Consolidation. Trends Neurosci 2006 Sep; 29(9):496-505.

28. Ye L, Qi JS, Qiao Jt. Long-term Potentiation in Hippocampus of Rats Is Enhanced by Endogenous Acetylcholine in a Way That Is Independent of N-methyl-D-aspartate Receptors. Neurosci Lett 2001 Mar 16;300(3):145-8.

29. Ghorbanalizadeh-Khalifeh-Mahaleh B, Taheri S, Sahebgharani M, Rezayof A, Haeri-Rohani A, Zarrindast MR. Intra-dorsal Hippocampal Microinjections of Lithium and Scopolamine Induce a Cross State-dependent Learning In Mice. Arch Iran Med 2008 Nov; 11(6):629-38.

30. da Silva AL, Silva Martins B, Linck Vde M, Herrmann AP, Mai N, Nunes DS, et al. MK801- and Scopolamine-induced Amnesias are Reversed by an Amazonian Herbal Locally Used as a Brain Tonic. Psychopharmacology (Berl) 2009 Jan; 202(1-3):165-72.

31. Mondadori C, Weiskrantz L, Buerki H, Petschke F, Fagg GE. NMDA Receptor Antagonists Can Enhance or Impair Learning Performance in Animals. Exp Brain Res 1989;75(3):449-56.

32. Ciamei A, Cestari V, Castellano C. Strain-dependent Interactions between MK-801 and Cocaine on Retention of C57BL/6 and DBA/2 Mice Tested in a one-trial Inhibitory Avoidance Task: Involvement of Dopaminergic Mechanisms. Neurobiol Learn Mem 2000 Mar; 73(2):188-94.

33. Ciamei A, Aversano M, Cestari V, Castellano C. Effects of MK-801 and Nicotine Combinations on Memory Consolidation in CD1 Mice. Psychopharmacology (Berl) 2001 Mar 1; 154(2):126-30.

34. Adriani W, Felici A, Sargolini F, Roullet P, Usiello A, Oliverio A, et al. N-methyl-D-aspartate and Dopamine Receptor Involvement in the Modulation of Locomotor Activity and Memory Processes. Exp Brain Res 1998 Nov; 123(1-2):52-9.

35. Lisman JE, Grace AA. The Hippocampal-VTA Loop: Controlling the Entry of Information Into Long-Term Memory. Neuron 2005 Jun 2;46(5):703-13.

36. Jafari-Sabet M. NMDA Receptor Blockers Prevents the Facilitatory Effects of Post-training Intra-dorsal Hippocampal NMDA and Physostigmine on Memory Retention of Passive Avoidance Learning in Rats. Behav Brain Res 2006 Apr 25;169(1):120-7.

37. Izquierdo I, McGaugh JL. Behavioural Pharmacology and Its Contribution to the Molecular Basis of Memory Consolidation. Behav Pharmacol 2000 Nov; 11(7-8):517-34.