

تأثیر آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های آلفا-۲- آدرنرژیک در ناحیه هیپوکامپ پشتی بر یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول

مرتضی پیری^{۱*}، مجید نوائیان^۲، بهاره پاکپور^۳

چکیده

زمینه و هدف: سیستم‌های آدرنرژیک و گابائترژیک مغز نقش مهمی در حافظه و یادگیری دارند. طبق نتایج مطالعات انجام‌شده، مورفین، هیستامین و لیتیموم، یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می‌کنند. این مطالعه با هدف بررسی اثر گیرنده‌های آلفا-۲- آدرنرژیک ناحیه CA1 بر روی یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه کلونیدین و یوهمبین به‌عنوان آگونیست و آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲- آدرنرژیک، موسیمول به‌عنوان آگونیست گیرنده GABA_A و مدل یادگیری اجتنابی غیرفعال برای سنجش حافظه مورد استفاده قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه، تی تست و من‌ویتنی تجزیه و تحلیل شدند. در تمام ارزیابی‌های آماری، حداقل $p < 0/05$ معیار معنی‌دار بودن مقایسه بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تزریق پیش از آزمون موسیمول ($1/2 \mu\text{g}/\text{mice}$) به ناحیه CA1 باعث تخریب حافظه اجتنابی مهارى در روز آزمون شد ($p < 0/01$). تزریق قبل از آزمون موسیمول ($1/2$ و $0/06 \mu\text{g}/\text{mice}$) باعث برگشت حافظه تخریب‌شده با موسیمول ($1/2 \mu\text{g}/\text{mice}$) قبل از آموزش شد، بنابراین، موسیمول می‌تواند باعث القای یادگیری وابسته به وضعیت گردد ($p < 0/01$). تزریق قبل از آموزش کلونیدین ($1/2$ و $0/06 \mu\text{g}/\text{mice}$) نیز باعث برگشت فراموشی القاشده با موسیمول ($0/2 \mu\text{g}/\text{mice}$) قبل از آموزش شد ($p < 0/01$). همچنین تزریق قبل از آزمون یوهمبین ($2/4$ و $1/2 \mu\text{g}/\text{mice}$) به ناحیه CA1، ۲ دقیقه قبل از تزریق دوز مؤثر موسیمول، باعث ممانعت از یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول گردید ($p < 0/01$).

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی می‌توان گفت گیرنده‌های آلفا-۲- آدرنرژیک هیپوکامپ پشتی، نقش مهمی در یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول در روز تست دارند.

کلید واژه‌ها: موسیمول؛ گیرنده آلفا-۲- آدرنرژیک؛ هیپوکامپ؛ یادگیری؛ یادگیری وابسته به وضعیت.

استادیار فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، اردبیل، ایران.

دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرری، تهران، ایران.

دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

مرتضی پیری، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، اردبیل، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

biopiri@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۹

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Piri M, Navaeian M, Pakpour B. Assessment of effects of $\alpha 2$ -adrenoceptor agonists and antagonists in dorsal hippocampus on muscimol state-dependent memory. *Qom Univ Med Sci J* 2014;8(1):16-26. [Full Text in Persian]

مقدمه

گابا اصلی‌ترین ناقل عصبی مهاری در مغز است. این ناقل عصبی مهاری از طریق اثر بر روی سه گیرنده مختلف گابا، اثرات مهاری خود را اعمال می‌کند (۱). گیرنده‌های گابا - A و گابا - C، جزء گیرنده‌هایی هستند که با کانال وابسته به لیگاند کلر جفت شده‌اند، درحالی‌که گیرنده گابا - B از طریق پروتئین‌های G عمل می‌کند (۲،۱). به‌خوبی مشخص شده است گابا می‌تواند فرآیند حافظه و یادگیری را تحت تأثیر خود قرار دهد (۳). اکثر گزارشها نشان می‌دهد تزریق آگونیست گیرنده‌های گابا باعث تخریب حافظه و آنتاگونیست‌های آنها باعث تسهیل ذخیره و یادآوری حافظه احترازی غیرفعال می‌شود. همچنین تزریق آگونیست‌های گابا به داخل بطن‌های جانبی، بخش قاعده‌ای مغز جلویی، هیپوکامپ و آمیگدال باعث تخریب حافظه می‌شود (۴،۵). براساس مطالعات انجام‌شده، گابا نقش کنترلی بر روی تعادل بین شرایط تحریکی و مهاری در کورتکس، هیپوکامپ و نورون‌های بینابینی دارد و از این طریق فرآیند پردازش اطلاعات در هیپوکامپ را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد (۶). نتایج مطالعات پیشین نشان‌دهنده آن است که تزریق قبل از آزمون آگونیست گیرنده گابا A و موسیمول به داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی باعث تخریب حافظه می‌شود (۷). همچنین این نتایج مشخص می‌کند فراموشی القاشده با موسیمول روز آموزش با تزریق همان مقدار از موسیمول ۲۴ ساعت بعد، قبل از آزمون اصلاح شده و به حالت عادی برمی‌گردد. این فرآیند، یادگیری وابسته به وضعیت نامیده شده و تحت تأثیر زمان تزریق و دوز دارو قرار دارد و با فعال‌شدن یا مهار سیستم‌های نورترانس متری مختلف در هیپوکامپ می‌تواند باعث تقویت یا مهار یادگیری وابسته به وضعیت در هیپوکامپ گردد (۸-۱۱). از طرف دیگر، هر دو مرحله تثبیت و یادآوری اطلاعات در مدل یادگیری اجتنابی مهاری نیازمند فعال‌شدن پروتئین کیناز A (PKA) در هیپوکامپ است (۶). با توجه به اینکه مونوآمین‌های دوپامین، نورآدرنالین و سروتونین می‌توانند ساخت cAMP را در هیپوکامپ تحت تأثیر قرار داده و عملکرد پروتئین کیناز A را تنظیم کنند، می‌توان انتظار داشت مونوآمین‌ها بتوانند فرآیند حافظه و یادگیری را در هیپوکامپ تحت تأثیر خود قرار دهند (۱۲).

در این میان، تأکید زیادی روی تعدیل‌کننده عصبی نورآدرنالین شده است. نورون‌های بالارو سیستم نورآدرنژیک از لوکوس سرولئوس منشأ گرفته و نواحی مختلف مغز از جمله نوکورتکس و هیپوکامپ را عصب‌دهی می‌کنند (۱۳،۱۴). نورآدرنالین از طریق دو دسته رسپتور به‌نام‌های آلفا و بتا اثرات خود را اعمال می‌کند، که این رسپتورها از نوع گیرنده‌های جفت‌شده با G پروتئین‌ها هستند (۱۵). گیرنده‌های آلفا آدرنژیک، خود به دو زیرگروه آلفا-۱ و آلفا-۲ تقسیم می‌شوند، که از لحاظ نوع لیگاند، کیتیک و اثرات با یکدیگر متفاوتند. این رسپتورها به مقدار زیادی در سیستم عصبی مرکزی بیان می‌شوند (۱۶). گیرنده‌های آلفا-۱ آدرنژیک بیشتر به‌صورت پس‌سیناپسی هستند، درحالی‌که نورون‌های آلفا-۲ آدرنژیک هم به‌صورت پیش‌سیناپسی و هم به‌صورت پس‌سیناپسی قرار گرفته‌اند (۱۷). مدارک زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد نورآدرنالین و گیرنده‌های آدرنژیک در یادگیری و حافظه نقش دارند (۱۸). به‌عنوان نمونه تزریق نورآدرنالین به نواحی مختلف مغز از جمله هیپوکامپ، کورتکس انتورینال (۱۹) و آمیگدال (۲۰) باعث تقویت شکل‌گیری حافظه می‌شود. همچنین بعد از آموزش غلظت نورآدرنالین در مغز افزایش یافته، که این افزایش همبستگی مثبتی با شکل‌گیری و بازخوانی حافظه دارد. مکانیسمی که نورآدرنالین از طریق آن حافظه را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد، کاملاً مشخص نیست، اما به‌نظر می‌رسد نورآدرنالین به‌واسطه تعدیل انتقال پیام‌های گلوتاماتی در محل سیناپس از طریق فعال‌کردن G پروتئین‌های جفت‌شده با گیرنده‌های آدرنژیک، اثرات خود را اعمال می‌کند (۱۸).

گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنژیک به دو صورت پس‌سیناپسی و پیش‌سیناپسی قرار گرفته‌اند (۲۱). یافته‌های فارماکولوژیکی نشان می‌دهد فعال‌شدن گیرنده‌های پس‌سیناپسی آلفا - آدرنژیک، تولید cAMP القاشده توسط گیرنده‌های بتا - آدرنژیک را تقویت می‌کند (۲۲). همچنین گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک در میانجی‌گری اثرات نورآدرنالین جهت ذخیره‌سازی اطلاعات دخیل بوده و این نقش گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک وابسته به فعال‌شدن همزمان گیرنده‌های بتا - آدرنژیک می‌باشد (۲۲). با توجه به اینکه برخی از شواهد نشان می‌دهد نقش تعدیل‌کننده

و از کلونیدین و یوهیمین به ترتیب به عنوان آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک (تاکریس، آمریکا) استفاده شد. تمامی داروها بلافاصله قبل از تزریق در سالیین حل شده و به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ پشتی تزریق گردید. دوز موسیمول براساس مطالعات جعفری ثابت و همکاران (۷) و دوز آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک براساس مطالعات اعظمی و همکاران انتخاب شد (۱۰). موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ mg/kg) به علاوه گزلیزین (۱۰ mg/kg) بیهوش شدند. بعد از بیهوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند و دو کانول راهنما (اندازه ۲۲) ۱ mm بالاتر از محل تزریق، براساس اطلس پاکسینوس (سال ۲۰۰۱) قرار گرفت. مختصات ناحیه CAI هیپوکامپ پشتی عبارت بود از:

$V = -1/5$, $ML = \pm 1/6$, $AP = -2$ (۲۴). بعد از قرار دادن کانول در مختصات موردنظر با استفاده از سیمان دندانپزشکی، کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده شد ۷-۵ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی، سپری کرده تا به حالت عادی خود برگردد. یادگیری اجتنابی مهارتی مدل Step-down روشی مورد قبول برای بررسی حافظه درازمدت در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌باشد (۲۶، ۲۵). در این روش، بررسی حافظه در ۲ روز متوالی و بین ساعت ۱۴-۸ انجام می‌شود. روز اول، روز آموزش دادن (Traning Day) به حیوان‌ها در دستگاه بوده و در روز دوم یا روز آزمون (Testing Day) نیز 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 می‌گردد. 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 Hz و ۴۵ V مستقیم) توسط حیوان دریافت می‌شود. لازم به ذکر است که مقدار و مدت شوک براساس مطالعات قبلی انتخاب شده است (۲۷، ۸، ۷).

سیستم گابا بر روی حافظه و یادگیری از طریق مکانیسم‌های بتا-آدرنژیک میانجی‌گری می‌شود (۲۳). این احتمال وجود دارد که گیرنده‌های آلفا-آدرنژیک نیز در میانجی‌گری اثرات تعدیل‌کننده سیستم گابا در حافظه و یادگیری دخیل باشند. باید توجه داشت هر چند مطالعاتی در زمینه برهمکنش بین گیرنده‌های بتا-آدرنژیک و گیرنده‌های گابا در زمینه حافظه انجام شده است، ولی بررسی در زمینه نحوه برهمکنش گیرنده‌های گابا با گیرنده‌های آلفا-آدرنژیک در زمینه حافظه اجتنابی مهارتی در هیپوکامپ پشتی تاکنون صورت نگرفته است. لذا در این مطالعه برای اولین بار تأثیر گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک بر روی فراموشی القاشده با موسیمول (آگونیست گیرنده گابا A) و یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با موسیمول مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۳۰-۲۲ g) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شد، استفاده گردید. حیوان‌ها بعد از انتقال به حیوانخانه تحقیقاتی در قفس‌های ۱۰ تایی با دوره شبانه‌روزی طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) و در دمای $22 \pm 3^{\circ}C$ ، با آب و غذای کافی نگهداری شدند. قبل از شروع فاز آزمایشی، به موش‌ها یک هفته فرصت داده شد تا با شرایط حیوانخانه سازش پیدا کنند. در هر گروه آزمایشی از ۱۰ سر موش استفاده شد و هر موش فقط یک‌بار مورد استفاده قرار گرفت.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهارتی، مدل Step-down (ساخت شرکت برج صنعت تهران)، دارای جعبه چوبی به ابعاد (۳۰×۳۰×۴۰ cm) می‌باشد. کف دستگاه دارای ۲۹ میله فولادی با قطر ۰/۳ cm بوده که به فاصله ۱ cm از یکدیگر قرار گرفته‌اند، این میله‌ها به دستگاه تحریک‌کننده متصل و شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می‌شود. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد (۴×۴×۴ cm) در قسمت میانی کف دستگاه (روی میله‌های فلزی) قرار گرفته است، که حیوانات هنگام انجام آزمایش به آرامی در روی این سکو قرار داده می‌شوند. در این بررسی از داروی موسیمول به عنوان آگونیست گیرنده‌های گابا A

در روز آزمون نیز ۵ دقیقه قبل از آزمون مقادیر مختلف موسیمول (۰، ۰/۰۳، ۰/۰۶، و ۰/۱۲ μg/mice) به حیوانات داده شد. برای بررسی اثر کلونیدین بر تخریب حافظه القاشده توسط موسیمول از ۸ گروه ۱۰ تایی موش سوری (مجموعاً ۸۰ حیوان) استفاده شد. چهار گروه اول بلافاصله بعد از آموزش مقدار ۱ μl/mice سالین و ۵ دقیقه قبل از آزمون مقادیر مختلف کلونیدین (۰، ۰/۳، ۰/۶، و ۱/۲ μg/mice) را به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ دریافت کردند. به چهار گروه بعدی در روز آموزش، دوز مؤثر موسیمول (۰/۱۲ μg/mice) ۵ دقیقه قبل از آموزش به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ تزریق شد و در روز آزمون ۵ دقیقه قبل از آزمون مقادیر مختلف کلونیدین (۰، ۰/۳، ۰/۶، و ۱/۲ μg/mice) تزریق گردید.

برای بررسی اثر پرازوسین بر یادگیری وابسته به وضعیت القاشده توسط موسیمول از ۸ گروه ۱۰ تایی موش سوری (مجموعاً ۸۰ حیوان) استفاده شد. چهار گروه اول بلافاصله بعد از آموزش مقدار ۱ μl/mice سالین و ۵ دقیقه قبل از آزمون، مقادیر مختلف یوهیمین (۰، ۰/۶، ۱/۲، و ۲/۴ μg/mice) را به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ دریافت کردند. چهار گروه بعدی در روز آموزش دوز مؤثر موسیمول (۰/۱۲ μg/mice) را ۵ دقیقه قبل از آموزش به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ دریافت کردند و در روز آزمون ابتدا مقادیر مختلف یوهیمین (۰، ۰/۶، ۱/۲، و ۲/۴ μg/mice) و ۲ دقیقه بعد، دوز مؤثر موسیمول (۰/۱۲ μg/mice) تزریق شد و ۵ دقیقه بعد، آزمون حافظه به عمل آمد. در مطالعه حاضر داده‌ها دارای توزیع غیرنرمال بودند (۲۷،۲۵،۸). برای اطمینان از نرمال یا غیرنرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگراف - اسمیرنوف (Kolmogoroff-Smirnov) استفاده شد و بعد از اطمینان از غیرنرمال بودن توزیع داده‌های به دست آمده در این پژوهش، زمان توقف حیوان روی سکو به صورت میانه و چارک ثبت گردید و داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه برای داده‌های غیرپارامتریک (Kruskal-wallis) آنالیز شدند و برای بررسی وجود تفاوت معنی‌دار بین جفت گروه‌ها نیز از روش تی تست و من‌ویتنی استفاده گردید. در تمام ارزیابی‌های آماری، حداقل $p < 0.05$ معیار معنی‌دار بودن مقایسه بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

در یادگیری اجتنابی مهارتی مدل Step-down حیوان در روز آموزش فقط یک‌بار در داخل دستگاه یادگیری اجتنابی قرار گرفته و فقط یک مرحله آموزش را تجربه می‌کند. به عبارت دیگر، این روش یک نوع یادگیری One-trial می‌باشد. جلسه آزمون ۲۴ ساعت بعد از آموزش، مشابه آموزش انجام می‌شود. با این تفاوت که 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 اندازه‌گیری می‌شود و حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان سقف Cut-off) برابر با ۳۰۰ ثانیه بوده، که به عنوان حافظه کامل در نظر گرفته می‌شود.

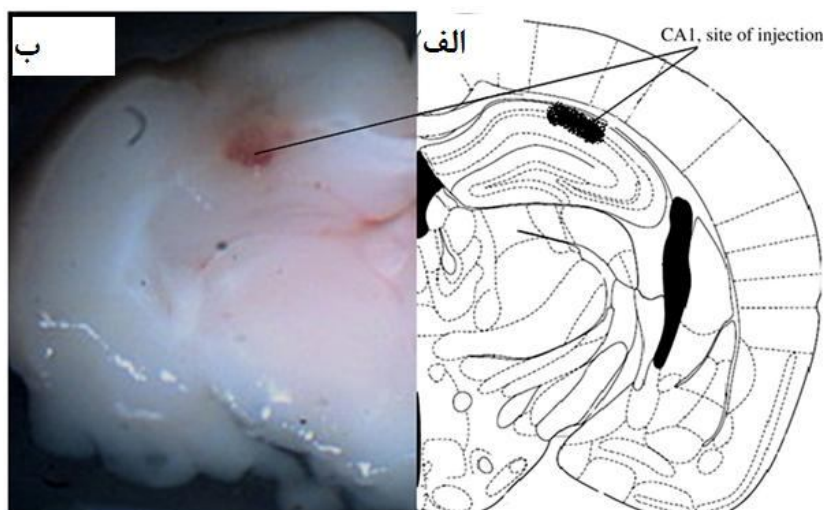
در این مطالعه برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن دندانپزشکی شماره ۲۷ به طول ۹mm متصل به کت‌دان تیوب نوزاد (شماره ۴)، در داخل کانول راهنما شماره ۲۲ قرار گرفت. سپس در هر کانول، ۰/۵ μl دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق شد. تزریق ۰/۵ μl دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه به صورت دستی کنترل می‌شد و به منظور تزریق، از سرنگ همیلتون ۱ μl ساخت کشور سوئیس استفاده گردید. در طول تزریق، به حیوان اجازه داده شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند. پس از کشتن حیوان توسط کلروفورم، ۰/۵ μl رنگ متیلن بلو ۱٪، به داخل هر کانول تزریق شد، سپس مغز از درون جمجمه خارج و درون فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی، در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شد و محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد بررسی قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه‌شده، از اطلس پاکسینوس استفاده شد. برای بررسی اثر تزریق موسیمول بر حافظه اجتنابی مهارتی از ۸ گروه ۱۰ تایی موش سوری (مجموعاً ۸۰ حیوان) استفاده گردید. چهار گروه اول مقادیر مختلف موسیمول (۰، ۰/۰۳، ۰/۰۶، و ۰/۱۲ μg/mice) را ۵ دقیقه قبل از آموزش به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ دریافت کردند. تمامی این چهار گروه قبل از آزمون ۱ μl/mice سالین را به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ دریافت کردند. به چهار گروه بعدی در روز آموزش، دوز مؤثر موسیمول (۰/۱۲ μg/mice) ۵ دقیقه قبل از آموزش به صورت درون مغزی به داخل هیپوکامپ تزریق شد و

که نشان‌دهنده محل قرارگیری صحیح کانول در مقایسه با شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس می‌باشد، مشاهده می‌شود. لازم به ذکر است در این مطالعه تنها داده‌های مربوط به حیواناتی که محل جراحی آنها در مقایسه با اطلس پاکسینوس صحیح بود، در آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت (شکل).

برای انجام محاسبات آماری نیز از نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها از نرم‌افزار Sigmaplot استفاده شد.

یافته‌ها

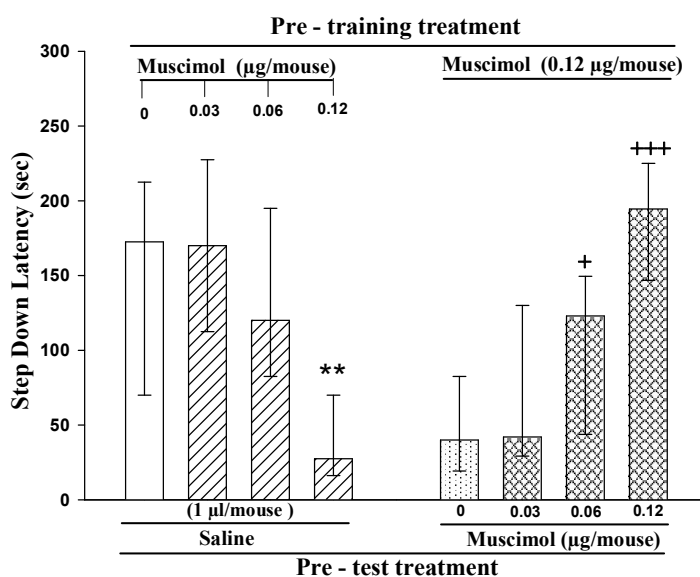
در شکل مقطع بافتی مربوط به ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی



شکل: الف) شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس که ناحیه CA1 در آن مشخص شده است، ب) عکس مقطع بافتی مربوط به کانول گذاری در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی می‌باشد.

روز آموزش را بهبود بخشید ($p < 0.001$)، $H(3) = 16.22$ ، واریانس یک‌طرفه)، که این اثر اصلاحی موسیمول روز آزمون در دوزهای (0.12 و 0.06 $\mu\text{g}/\text{mice}$)، از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون مکمل من‌وینتی) (جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۱).

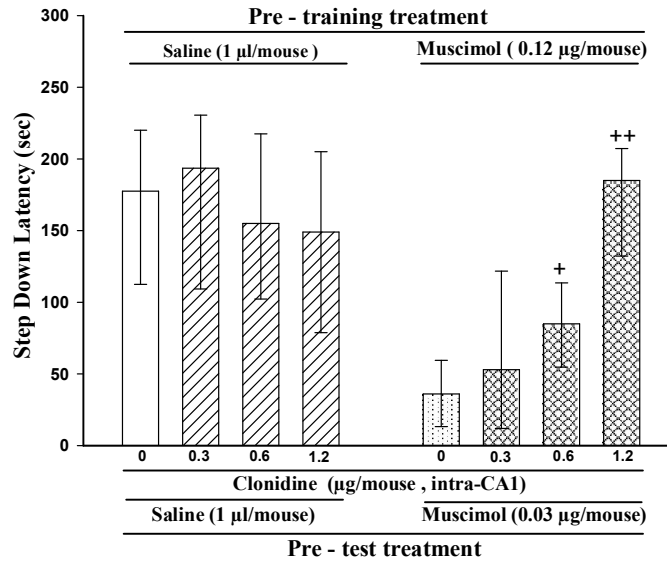
تزریق موسیمول پیش از آموزش، حافظه اجتنابی مهاری را تخریب کرد ($p < 0.01$)، $H(3) = 10.47$ ، واریانس یک‌طرفه)، که این تخریب حافظه در دوز (0.12 $\mu\text{g}/\text{mice}$) موسیمول از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون مکمل من‌وینتی). همچنین تزریق موسیمول قبل از آزمون توانست حافظه تخریب‌شده با موسیمول



نمودار شماره ۱: اثر موسیمول بر حافظه اجتنابی مهاری. داده‌ها به صورت میانگین \pm چارک برای ۱۰ سر حیوان می‌باشد. $p < 0.001$ در مقایسه با گروه سالی/سالی و $p < 0.001$ ، $p < 0.05$ در مقایسه با گروه موسیمول/سالی می‌باشد.

کند ($p < 0.01$)، $H(3) = 12/42$ ، واریانس یک‌طرفه)، که این اثر اصلاحی کلونیدین بر روی حافظه تخریب‌شده با موسیمول در دوزهای (۱/۲ و ۰/۶ $\mu\text{g}/\text{mice}$) کلونیدین از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون مکمل من‌ویتنی) (جدول و نمودار شماره ۲).

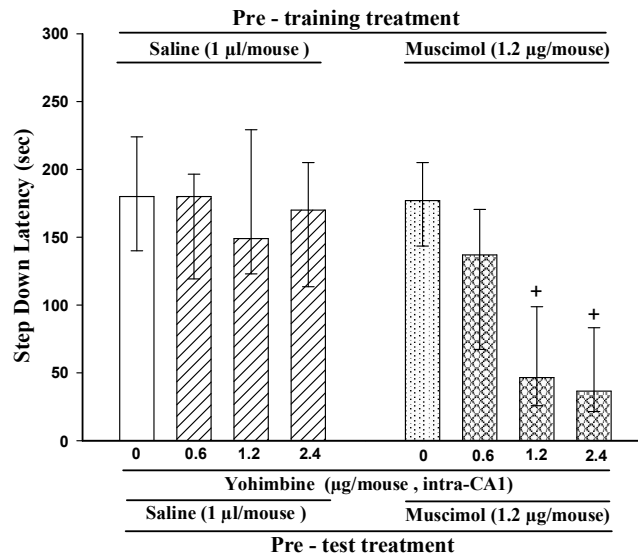
تزریق قبل از آزمون کلونیدین به ناحیه هیپوکامپ پستی موش سوری در مقادیر به کار رفته به تنهایی اثری بر روی حافظه نداشت ($p > 0.05$)، $H(3) = 1/09$ ، واریانس یک‌طرفه)، اما تزریق کلونیدین قبل از آزمون به ناحیه هیپوکامپ پستی توانست حافظه تخریب‌شده توسط تزریق پیش از آموزش موسیمول را اصلاح



نمودار شماره ۲: اثر تزریق قبل از آزمون کلونیدین بر حافظه اجتنابی مهارى و حافظه اجتنابی مهارى تخریب‌شده با موسیمول. داده‌ها به صورت میانگین \pm چارک برای ۱۰ سر حیوان می‌باشد. $p < 0.01$ ، $p < 0.05$ در مقایسه با گروه موسیمول/سالین بوده است.

بودند، موجب فراموشی شد، در واقع، یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول را مهار کرد ($p < 0.05$)، $H(3) = 9/74$ ، واریانس یک‌طرفه)، که این مهار یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول توسط یوهیمین در دوزهای (۲/۴ و ۱/۲ $\mu\text{g}/\text{mice}$)، از نظر آماری معنی‌دار بود (آزمون مکمل من‌ویتنی) (جدول و نمودار شماره ۳).

تزریق قبل از آزمون یوهیمین به هیپوکامپ پستی موش سوری، به تنهایی اثری بر روی حافظه اجتنابی مهارى نداشت ($p > 0.05$)، $H(3) = 0/43$ ، واریانس یک‌طرفه)، اما تزریق مقادیر مختلف یوهیمین در روز آزمون همراه با دوز مؤثر موسیمول به حیواناتی که در روز آموزش نیز دوز مؤثر موسیمول را دریافت کرده



نمودار شماره ۳: اثر تزریق قبل از آزمون یوهیمین بر حافظه اجتنابی مهارى و یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با موسیمول. داده‌ها به صورت میانگین \pm چارک برای ۱۰ سر حیوان می‌باشد. $p < 0.05$ در مقایسه با گروه موسیمول/موسیمول بوده است.

جدول: داده‌های نمودارهای اول، دوم و سوم براساس میانه و چارک

شماره نمودار	تزریق قبل از آموش	تزریق قبل از آزمون	چارک پایین (25th)	میانه (50th)	چارک بالا (75th)
نمودار اول پانل راست	موسیمول (0 μg/mice)	سالین (1 μl/mice)	۶۹/۰۹	۱۷۱/۳۸	۲۱۲/۷۸
	موسیمول (0/۰۳ μg/mice)	سالین (1 μl/mice)	۱۱۱/۴۳	۱۶۸/۷۵	۲۲۶/۹۲
	موسیمول (0/۰۶ μg/mice)	سالین (1 μl/mice)	۸۲/۳۰	۱۱۹/۳۰	۱۹۴/۳۲
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	سالین (1 μl/mice)	۱۶/۱۷	۲۶/۷۶	۶۹/۹۴
نمودار اول پانل چپ	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	موسیمول (0 μg/mice)	۱۸/۷۹	۳۹/۹۶	۸۲/۳۱
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	موسیمول (0/۰۳ μg/mice)	۲۸/۴۵	۴۱/۷۴	۱۲۹/۸۹
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	موسیمول (0/۰۶ μg/mice)	۴۲/۵۹	۱۲۲/۰۱	۱۴۸/۴۳
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	۱۴۶/۶۵	۱۹۳/۳۹	۲۲۴/۳۰
نمودار دوم پانل راست	سالین (1 μl/mice)	کلونیدین (0 μg/mice)	۱۱۳/۱۲	۱۷۶/۶۳	۲۱۸/۹۶
	سالین (1 μl/mice)	کلونیدین (0/۰۳ μg/mice)	۱۰۹/۶۵	۱۹۳/۳۹	۲۳۰/۴۸
	سالین (1 μl/mice)	کلونیدین (0/۰۶ μg/mice)	۱۰۱/۶۹	۱۵۴/۶۱	۲۱۶/۳۴
	سالین (1 μl/mice)	کلونیدین (0/۱۲ μg/mice)	۷۷/۹۱	۱۴۹/۲۸	۲۰۴/۹۱
نمودار دوم پانل چپ	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	کلونیدین (0 μg/mice)	۱۳/۴۶	۳۶/۴۰	۵۸/۵۱
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	کلونیدین (0/۰۳ μg/mice)	۱۰/۸۳	۵۲/۳۲	۱۲۱/۰۸
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	کلونیدین (0/۰۶ μg/mice)	۵۴/۲۵	۸۴/۹۲	۱۱۳/۱۲
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	کلونیدین (0/۱۲ μg/mice)	۱۳۲/۵۱	۱۸۴/۵۸	۲۰۶/۶۰
نمودار سوم پانل راست	سالین (1 μl/mice)	یوهیمین (0 μg/mice) + سالین (1 μl/mice)	۱۳۸/۸۹	۱۷۹/۲۶	۲۲۴/۳۱
	سالین (1 μl/mice)	یوهیمین (0/۰۶ μg/mice) + سالین (1 μl/mice)	۱۱۹/۳۱	۱۸۰/۱۸	۱۹۵/۱۷
	سالین (1 μl/mice)	یوهیمین (0/۱۲ μg/mice) + سالین (1 μl/mice)	۱۲۲/۸۶	۱۴۸/۴۳	۲۲۹/۵۵
	سالین (1 μl/mice)	یوهیمین (0/۲۴ μg/mice) + سالین (1 μl/mice)	۱۱۳/۱۲	۱۶۷/۸۲	۲۰۴/۹۱
نمودار سوم پانل چپ	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	یوهیمین (0 μg/mice) + موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	۱۴۳/۰۹	۱۷۵/۷۸	۲۰۳/۹۸
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	یوهیمین (0/۰۶ μg/mice) + موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	۶۵/۵۳	۱۳۷/۰۱	۱۷۰/۴۴
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	یوهیمین (0/۱۲ μg/mice) + موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	۲۴/۹۷	۴۶/۹۹	۹۸/۱۳
	موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	یوهیمین (0/۲۴ μg/mice) + موسیمول (0/۱۲ μg/mice)	۲۰/۵۷	۳۵/۵۶	۸۲/۳۰

بحث

مهاری می‌شود. نتایج به دست آمده در این مطالعه با گزارشهایی که نشان می‌داد تزریق پس یا پیش از آموزش موسیمول باعث تخریب حافظه در مدل‌های مختلف از جمله حافظه فضایی و حافظه اجتنابی مهاری می‌شود، همخوانی داشت (۷). همچنین در مطالعه حاضر تزریق پیش از آزمون دوزهای موسیمول به حیواناتی که در روز آموزش نیز تحت تأثیر دوز مؤثر موسیمول قرار داشتند، باعث بهبود حافظه اجتنابی مهاری تخریب‌شده با موسیمول روز آموزش شد، این پدیده، یادگیری وابسته به

در این مطالعه اثر گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک ناحیه هیپوکامپ پستی بر روی فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با موسیمول مورد بررسی قرار گرفت. برای تست حافظه از یادگیری اجتنابی مهاری مدل Step-down که یک مدل پذیرفته‌شده برای بررسی حافظه درازمدت در جوندگان می‌باشد، استفاده شد (۲۸). مطالعه حاضر نشان داد تزریق پیش از آموزش موسیمول به داخل هیپوکامپ پستی باعث تخریب حافظه اجتنابی

وضعیت موسیمول نامیده می‌شود (۱۱،۷). در یادگیری وابسته به وضعیت، برای به خاطر آوردن اطلاعات باید شرایط یکسانی در روز آموزش و آزمون فراهم باشد که در مطالعه حاضر با تزریق داروی یکسان در روز آموزش و آزمون، این شرایط یکسان ایجاد شد. به عبارتی، داروهایی نظیر مورفین، کانابینوئیدها و موسیمول، اگر تنها در روز آموزش یا روز آزمون به کار روند، باعث تخریب حافظه می‌شوند، اما در صورتی که در روز آموزش و در روز آزمون استفاده شوند با ایجاد شرایط یکسان، باعث به خاطر آوردن اطلاعات گذشته در حضور دارو می‌شوند (۲۹). یافته‌های مطالعات قبلی نشان داد چندین سیستم نورترانسسمیتری از جمله دوپامین، نورآدرنالین، استیل‌کولین، گلوتامات و گابا در یادگیری وابسته به وضعیت تا حدودی دخیل هستند (۹،۸). همچنین این مطالعات نشان داد علاوه بر موسیمول؛ داروهای مختلفی مانند کانابینوئیدها (۳۰)، لیتیم (۲۴)، هیستامین (۲۷) و اسکوپولامین (۱۰) نیز قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند. در بخش دوم این مطالعه برهمکنش گیرنده‌های گابا A با گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک در زمینه حافظه اجتنابی مهارتی در هیپوکامپ پستی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات چندانی در زمینه برهمکنش سیستم گابا با گیرنده‌های آدرنژیک در زمینه حافظه اجتنابی مهارتی وجود ندارد. هرچند گزارشها نشان می‌دهند نقش تعدیل‌کننده سیستم گابا بر حافظه از طریق برهمکنش با مکانیسم‌های بتا-آدرنژیک میانجی‌گری می‌شود (۲۳)، 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 می‌کند فعال‌شدن گیرنده‌های پس‌سیناپسی آلفا-آدرنژیک می‌تواند تولید cAMP را که به واسطه فعال‌شدن گیرنده‌های بتا-آدرنژیک القا می‌شود، تقویت کند (۲۲) و دومین تجربه نشان می‌دهد گیرنده‌های آلفا-آدرنژیک در میانجی‌گری اثرات نورآدرنالین در ذخیره‌سازی اطلاعات دخیل بوده و این نقش گیرنده‌های آلفا-آدرنژیک وابسته به فعال‌شدن

همزمان گیرنده‌های بتا - آدرنژیک است (۲۲). برای بررسی برهمکنش گیرنده‌های گابا A با گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک در این مطالعه به جای موسیمول روز آزمون از آگونیست گیرنده آلفا-۲-آدرنژیک؛ یعنی کلونیدین استفاده شد تا مشخص گردد آیا کلونیدین قادر به تقلید اثر موسیمول روز آزمون و تأثیرگذاری بر روی حافظه تخریب‌شده با موسیمول روز آموزش است یا نه؟ در مطالعه حاضر تزریق قبل از آزمون کلونیدین به ناحیه هیپوکامپ پستی موش‌های کوچک آزمایشگاهی باعث اصلاح حافظه اجتنابی مهارتی تخریب‌شده با موسیمول روز آموزش شد. این یافته نشان داد کلونیدین قادر به تقلید اثر موسیمول روز آزمون بوده و به مانند موسیمول روز آزمون باعث بهبود حافظه تخریب‌شده با موسیمول روز آموزش می‌شود. گزارشهایی مبنی بر اینکه نورون‌های آزادکننده گابا توسط گیرنده‌های آلفا-آدرنژیک تحریک می‌شوند نیز وجود دارد (۳۱). بنابراین، می‌توان انتظار داشت فعال‌شدن گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک باعث افزایش رهاش گابا و به تبع آن فعال‌شدن گیرنده‌های گابا از جمله گیرنده‌های گابا A می‌شود. همین مکانیسم نیز می‌تواند به آگونیست گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک قدرت تقلید عملکرد آگونیست گیرنده گابا A؛ یعنی موسیمول را بدهد. همچنین مطالعات قبل نشان‌دهنده تسهیل و تقویت به خاطر آوردن اطلاعات ذخیره‌شده در حافظه توسط آگونیست‌های گیرنده‌های آدرنژیک است (۲۳). نتایج به دست آمده در این مطالعه با مطالعات قبلی همخوانی داشت. در نتایج قبل تزریق آگونیست گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک؛ یعنی کلونیدین در روز آزمون به ناحیه هیپوکامپ پستی باعث بهبود حافظه تخریب‌شده با اسکوپولامین یا کانابینوئیدها شد (۹،۱۰). اهمیت این شباهت در یافته‌ها زمانی بیشتر مشخص است که به این نکته توجه شود اسکوپولامین (۱۰) و کانابینوئیدها (۹) به مانند موسیمول قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت هستند. در بخش سوم این مطالعه اثر گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک بر روی یادگیری وابسته به وضعیت موسیمول مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲-آدرنژیک (بوهمین) قبل از موسیمول روز آزمون تزریق شد تا مشخص گردد آیا گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک در میانجی‌گری اثر

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد موسیمول در هیپوکامپ پستی قادر به تخریب حافظه و ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت است و گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک هیپوکامپ پستی می‌تواند فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با موسیمول را تحت تأثیر خود قرار دهد. از طرف دیگر، این نتایج نشان می‌دهد بین این دو سیستم در زمینه حافظه اجتنابی مهارتی در ناحیه هیپوکامپ پستی، برهمکنش وجود دارد و بخشی از اثرات موسیمول بر روی حافظه از طریق گیرنده‌های گابا A میانجی‌گری می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر ری که بخشی از هزینه لازم برای انجام این طرح پژوهشی (با شماره ۹۸۳۳) را تأمین نمود، تقدیر و تشکر می‌گردد.

موسیمول روز آزمون در برگشت حافظه تخریب شده با موسیمول روز آموزش به حالت عادی تأثیرگذار هستند یا نه؟ نتایج مطالعه حاضر نشان داد یوهمین قادر به مهار یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با موسیمول است. این یافته می‌تواند نشان‌دهنده این موضوع باشد که بخشی از اثرات گابا بر روی حافظه، از طریق گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک هیپوکامپ پستی میانجی‌گری می‌شود. این یافته در مطالعه حاضر با نتایج مطالعات پیشین که نشان می‌داد مهار گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک هیپوکامپ پستی قادر به مهار یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با اسکوپولامین و کانابینوئیدها نیز می‌باشد، همخوانی داشت (۱۰). مجموع این یافته‌ها نشان می‌دهد گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک هیپوکامپ، نقش مهمی در پدیده یادگیری وابسته به وضعیت داشته و مهار این گیرنده‌ها منجر به مهار یادگیری وابسته به وضعیت می‌شود.

References:

1. Bormann J. The ABC of GABA receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2000 Jan; 21:16-9.
2. Olsen RW, Sieghart W. GABA A receptors: Subtypes provide diversity of function and pharmacology. *Neuropharmacology* 2009 Jan; 56:141-8.
3. Bashiri Z, Oryan S, Pakpour B, Navaeian M, Piri M. Influence of nicotine on muscimol state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. [Research] 2012;17:1-10.
4. Rassouli Y, Rezayof A, Zarrindast MR. Role of the central amygdala GABA-A receptors in morphine state-dependent memory. *Life Sci* 2010 Jun 5;86:887-93.
5. Jafari K, Oryan S, Pakpour B, Navaeian M, Piri M. Influence of dorsal hippocampal GABA receptors on state-dependent learning induced by CB1 cannabinoid receptors agonist in mice. *KAUMS Journal (FEYZ)*. [Research] 2012;16:288-96.
6. Phelps EA. Human emotion and memory: Interactions of the amygdala and hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 2004 Apr; 14:198-202.
7. Jafari-Sabet M. Involvement of dorsal hippocampal muscarinic cholinergic receptors on muscimol state-dependent memory of passive avoidance in mice. *Life Sci* 2011 Jun 20;88:1136-41.
8. 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 Jun 11.
9. Piri M, Zarrindast MR. Modulation of WIN55, 212-2 state-dependent memory by alpha2-adrenergic receptors of the dorsal hippocampus. *Arch Iran Med* 2011 Nov; 14:389-95.

10. 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 May; 93:455-62.
11. Navaeian M, Piri M, Pakpour B. Influence of WIN55, 212-2 on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Scientific J Kurdistan Univ Med Sci* 2011;16:84-94. [Full Text in Persian]
12. Rossato JI, Bonini JS, Coitinho AS, Vianna MR, Medina JH, Cammarota M, et al. Retrograde amnesia induced by drugs acting on different molecular systems. *Behav Neurosci* 2004 Jun; 118:563-8.
13. Aura J, Riekkinen P, Jr. Blockade of NMDA receptors located at the dorsomedial prefrontal cortex impairs spatial working memory in rats. *Neuroreport* 1999 Feb 5;10:243-8.
14. Piri M, Moshfegh A, Oryan S, Zarrindast MR. Influence of dorsal hippocampal α 2-adrenergic receptors on WIN55, 212-2 state-dependent memory of passive avoidance. *Qom Univ Med Sci J* 2010;4:29-36. [Full Text in Persian]
15. Sirvio J, MacDonald E. Central alpha1-adrenoceptors: Their role in the modulation of attention and memory formation. *Pharmacol Ther* 1999 Jul; 83:49-65.
16. Berridge CW, Waterhouse BD. The locus coeruleus-noradrenergic system: Modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev* 2003 Apr; 42:33-84.
17. Stuchlik A, Petrasek 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 Nov 4.
18. 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 Feb; 91:1071-7.
19. Izquierdo LA, Vianna M, Barros DM, Mello e Souza T, Ardenghi P, Sant'Anna MK, et al. Short- and long-term memory are differentially affected by metabolic inhibitors given into hippocampus and entorhinal cortex. *Neurobiol Learn Mem* 2000 Mar; 73:141-9.
20. 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 Jul; 112:151-8.
21. Coull JT. Pharmacological manipulations of the alpha 2-noradrenergic system. Effects on cognition. *Drugs Aging* 1994 Aug; 5:116-26.
22. Ferry B, McGaugh JL. Clenbuterol administration into the basolateral amygdala post-training enhances retention in an inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem* 1999 Jul; 72:8-12.
23. Introini-Collison IB, Castellano C, McGaugh JL. Interaction of GABAergic and Beta-noradrenergic drugs in the regulation of memory storage. *Behav Neural Biol* 1994 Mar; 61:150-5.
24. Zarrindast MR, Madadi F, Ahmadi S. Repeated administrations of dopamine receptor agents affect lithium-induced state-dependent learning in mice. *J Psychopharmacol* 2008 Jul 17.
25. Kameyama T, Nabeshima T, Kozawa T. Step-down-type passive avoidance- and escape-learning method. Suitability for experimental amnesia models. *J Pharmacol Methods* 1986 Aug; 16:39-52.
26. Pakpour B, Oryan S, Navaeian M, Saba T, Piri M. Evaluation of the interaction between NMDA receptors of nucleus accumbens and muscarinic receptors in memory. *Qom Univ Med Sci J* 2013;7:1-10. [Full Text in Persian]
27. Zarrindast MR, Fazli-Tabaei S, Khalilzadeh A, Farahmanfar M, Yahyavi SH. Cross state-dependent retrieval between histamine and lithium. *Physiol Behav* 2005 Sep 15;86:154-63.
28. Izquierdo I, McGaugh JL. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behav Pharmacol* 2000 Nov; 11:517-34.

29. Shulz DE, Sosnik R, Ego V, Haidarliu S, Ahissar E. A neuronal analogue of state-dependent learning. *Nature* 2000 Feb 3;403:549-53.
30. 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 Jun 16;100:297-304.
31. Kawaguchi Y, Shindou T. Noradrenergic excitation and inhibition of GABAergic cell types in rat frontal cortex. *J Neurosci* 1998 Sep 1;18:6963-76.