بررسی سیستم گاباارژیک (گیرنده $GABA_b$) ناحیه CA1 هیپوکامپ بر حافظه فضایی و غیرفضایی در موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI

نیوشا علاقمندان‌مطلق[1*]، علی حائری روحانی[2]، محمدرضا زرین‌دست[3]، محمد ناصحی[4]

۱ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی، تهران، ایران
۲ـ دانشگاه تهران، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، تهران، ایران
۳ـ پژوهشکده علوم شناختی، تهران، ایران
۴ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، گروه زیست شناسی، گرمسار، ایران
مسئول مکاتبات: niyousha_65@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۲۴

چکیده

گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) نوروترنسمیتر مهاری اصلی است که در تمام نواحی مغز انسان یافت می‌شود و مشخص شده است که در تعدیل حافظه نقش دارد. تا کنون سه نوع گیرنده برای گابا شناسایی شده است. گیرنده‌های $GABA_b$ می‌توانند به دو صورت پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی متمرکز شوند. هیپوکامپ در پردازش انواع مختلف حافظه از قبیل یادگیری وابسته به پاداش و یادگیری فضایی دخالت دارد. یکی از مناطقی که به شدت در حافظه فضایی دخیل می‌باشد، هیپوکامپ پشتی است و نوروترنسمیتر گابا در هیپوکامپ حضور دارد. بر این اساس هدف از تحقیق حاضر بررسی سیستم گاباارژیک (گیرنده گابا B) ناحیهCA1 بر حافظه فضایی و غیرفضایی است. در این آزمایش از ۶۴ سر موش نر نژاد NMRI با میانگین وزنی ۳۰-۲۵ گرم در گروه‌های هشت‌تایی استفاده شد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین هیدروکلراید و زایلزین بیهوش شده و سپس برای جراحی ناحیهCA1 در دستگاه استرئوتاکس قرار داده شدند. هفت روز پس از عمل جراحی ناحیه CA1 آزمون رفتاری آغاز شد. از دستگاه Novelty (Open field objects) جهت سنجش حافظه فضایی و غیرفضایی و از نرم‌افزار SPSS (one- way ANOVA) برای تحلیل نتایج آماری استفاده شد. داده‌ها نشان می‌دهد که تزریق درون مغزی (ناحیهCA1) باکلوفن (آگونیست گیرنده $GABA_b$) بلافاصله بعد از آموزش تشخیص تغییر فضایی (حافظه فضایی) در روز تست را تخریب می‌کند. تزریق درون مغزی فاکلوفن (آنتاگونیست گیرنده $GABA_b$) بلافاصله بعد از آموزش تشخیص تغییر غیرفضایی (حافظه غیرفضایی) در روز تست را تخریب می‌کند. نتایج نشان می‌دهد سیستم گاباارژیک (گیرنده گابا B) ناحیه CA1 سبب کاهش حافظه فضایی و غیرفضایی می‌شود.

کلمات کلیدی: هیپوکامپ (CA1)، باکلوفن، فاکلوفن، حافظه فضایی، حافظه غیرفضایی، گیرنده گابا B

مقدمه

گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) نوروترنسمیتر مهاری اصلی است که در تمام نواحی مغز انسان یافت می‌شود و مشخص شده است که در تعدیل حافظه نقش دارد. GABA در تمام جانوران شامل مهره‌داران و بی‌مهرگان وجود دارد [۳]. تاکنون سه نوع گیرنده برای گابا شناسایی شده است که شامل $GABA_a$، $GABA_b$ و $GABA_c$ هستند. زیرگروه‌های این گیرنده‌ها با یکدیگر در خواص فارماکولوژیک و رفتارهای فیزیولوژیک متفاوت می‌باشند. این گیرنده‌ها را می‌توان به دو گروه عمده یونوتروپیک (گیرنده‌های $GABA_a$/ $GABA_c$) و متابوتروپیک (گیرنده $GABA_b$) طبقه‌بندی نمود [۳]. گیرنده‌های متابوتروپیک $GABA_b$ هترودیمر هستند [۹] که متشکل از ۲ زیرواحد

Archive of SID
www.SID.ir

GBR1 و GBR2 می‌باشند. گیرنده‌های $GABA_b$ می‌توانند به دو صورت پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی متمرکز شوند [۲، ۱۹]. فعال شدن گیرنده‌های پیش‌سیناپسی $GABA_b$ که در پایانه‌های عصبی حاوی GABA (اتورسپتورها) و یا در پایانه‌های مختلف نورون‌هایشان (هترورسپتور) مستقر می‌باشند از آزادسازی نوروترنسمیتر جلوگیری می‌کنند در حالی‌که تحریک گیرنده‌های پس‌سیناپسی باعث طولانی‌تر شدن هیپرپلاریزاسیون عصبی می‌گردد [۱۷]. مکانیسم‌های مرتبط با گیرنده‌های $GABA_b$، سیستم آدنیلیل‌سیکلاز و کانال‌های یونی Ca^{+2} و k^{+} هستند. فعالیت گیرنده $GABA_b$ توسط G پروتئین‌ها تنظیم می‌شود [۲]. آگونیست‌های $GABA_b$ از چرخه آدنیلیل در مغز، از طریق مکانیسمی وابسته به G پروتئین که منجر به کاهش سطح cAMP داخل سلولی می‌شود جلوگیری می‌کنند [۱۴]. فعالیت گیرنده‌های $GABA_b$ سبب کاهش انتقال کلسیم و افزایش انتقال پتاسیم در غشاهای نورونی می‌شود [۲]. باکلوفن (بتا– ۴ کلروفنیل GABA) آگونیست انتخابی گیرنده‌های $GABA_b$، یکی از آنالوگ‌های GABA است که در ناحیه β حاوی پاراکلروفنیل است. این گروه پاراکلروفنیل باعث لیپوفیل شدن مولکول‌های GABA می‌شود، به طوری که نفوذ باکلوفن به مغز تسهیل می‌گردد [۳]. فاکلوفن یکی از مواردی است که به عنوان آنتاگونیست این گیرنده معرفی شده و از بعضی اعمال باکلوفن ممانعت به عمل می‌آورد. یادگیری فرآیندی است که طی آن دانش و اطلاعات جدیدی به دست می‌آید و حافظه، توانایی ذخیره و فراخوانی اطلاعات یادگرفته شده است [۷]. مراحل تشکیل حافظه شامل آموزش، تثبیت، ذخیره و فراخوانی است. در روان‌شناختی و علوم اعصاب به بخشی از حافظه که برای ضبط اطلاعات در مورد محیط زیست و جهت‌گیری فضایی نیاز است حافظه فضایی گویند. یادگیری فضایی، نوع پیچیده‌ای از یادگیری است که حیوان یا انسان با توجه به اطلاعات بدست آمده از اشیا یا نمادهای موجود در محیط، موقعیت خود را در فضا و زمان یاد می‌گیرد و در موقع نیاز و با توجه به نمادهایی که در محیط موجود است، موقعیت خود را در فضا و زمان به خاطر می‌آورد. در پستانداران، یکی از مناطقی که به شدت در حافظه فضایی دخیل می‌باشد هیپوکامپ پشتی است [۲۶]. تشکیلات هیپوکامپی در تثبیت دراز مدت اطلاعات نقش مهمی دارند. مطالعه روی موش آزمایشگاهی نشان می‌دهد که هیپوکامپ در پردازش انواع مختلف حافظه از قبیل یادگیری وابسته به پاداش و یادگیری مکانی دخالت دارد [۶].

مواد و روش کار

در این پژوهش از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۳۰–۲۵ گرم) استفاده شد. حیوانات در حیوانخانه تحقیقاتی پژوهشکده علوم شناختی تکثیر و تا رسیدن به وزن مناسب نگهداری می‌شدند. در طول نگهداری آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت. حیوانات در محیطی با دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و با دوره روشنایی– تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی ۸ صبح) نگهداری می‌شدند. تمامی آزمایش‌ها طبق موازین اخلاقی کار با حیوانات و طبق دستورالعمل‌های نگهداری و استفاده از حیوانات انجام می‌شد.

آزمایش اول: بررسی اثر فاکلوفن بر حافظه فضایی و غیر فضایی در موش کوچک آزمایشگاهی: گروه اول به عنوان گروه کنترل، پس از آموزش، سالین را به صورت درون مغزی دریافت کردند. گروه دوم پس از آموزش، (۱ میکرولیتر بر موش) فاکلوفن را با دوز ۰/۰۶۲۵ میکروگرم بر موش به صورت تزریق درون CA1 (۰/۵ µl/side) دریافت کردند. گروه سوم پس از آموزش، (۱ میکرولیتر بر موش) فاکلوفن را با دوز ۰/۱۲۵ میکروگرم بر موش صورت تزریق درون CA1 (۰/۵ µl/side) دریافت کردند. گروه

Archive of SID

www.SID.ir

چهارم پس از آموزش (۱ میکرولیتر بر موش) فاکلوفن را با دوز ۰/۲۵ میکروگرم بر موش به صورت تزریق درون CA1 (۰/۵ µl/side) دریافت کردند.

آزمایش دوم: بررسی اثر باکلوفن بر حافظه فضایی و غیر فضایی در موش کوچک آزمایشگاهی: گروه اول به عنوان گروه کنترل، پس از آموزش، سالین را به صورت درون مغزی دریافت کردند. گروه دوم پس از آموزش، (۱ میکرولیتر بر موش) باکلوفن را با دوز ۰/۰۶۲۵ میکروگرم بر موش به صورت تزریق درون CA1 (۰/۵ µl/side) دریافت کردند. گروه سوم پس از آموزش، (۱ میکرولیتر بر موش) باکلوفن را با دوز ۰/۱۲۵ میکروگرم بر موش به صورت تزریق درون CA1 (۰/۵ µl/side) دریافت کردند. گروه چهارم پس از آموزش، (۱ میکرولیتر بر موش) باکلوفن را با دوز ۰/۲۵ میکروگرم بر موش را به صورت تزریق درون CA1 (۰/۵ µl/side) دریافت کردند.

روش جراحی ناحیه CA1: ابتدا موش را وزن کردیم سپس داروی بیهوشی که از ترکیب کتامین هیدروکلراید، زایلازین و سالین تهیه می‌شد مطابق با وزن موش به صورت درون صفاقی تزریق شد. پس از بیهوشی کامل سر موش را در دستگاه استریوتاکس ثابت کردیم. مطابق اطلس پاکسینوس و فرانکلین مختصات محل کانول‌گذاری برای ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی به قرار زیر است: از برگما ۲- میلی‌متر: قدامی- خلفی (AP) ، از خط وسط ۱/۶ ± میلی-متر: میانی- جانبی (ML) و از سطح جمجمه ۱/۵- میلی‌متر: شکمی- پشتی (DV). پس از تنظیم مختصات دستگاه در راستای قدامی- خلفی و میانی- جانبی، محل به دست آمده را با جوهر روی جمجمه علامت‌گذاری کرده و سپس به کمک مته دو سوراخ تا پرده مننژ روی استخوان جمجمه ایجاد شد. سپس کانول راهنما به طول ۸ میلی‌متر (تهیه شده از سر سرنگ ۲۲ گیج) در درون سوراخ قرار داده شد. در مرحله بعد به منظور تثبیت کانول از مخلوط آکریل و مونومر استفاده شد. پس از تثبیت کانول‌ها موش به آرامی از دستگاه خارج و در مکان مناسب قرار داده شد تا به هوش آید.

روش تزریق دارو به ناحیه CA1: باکلوفن و فاکلوفن جهت تزریق در سالین حل می‌شدند. برای تهیه کانول تزریق، سر سرنگ ۲۷ گیج دندان‌پزشکی را یک میلی‌متر بلندتر از کانول راهنما بریده و با چسب به رابط پلی اتیلنی متصل می‌کردیم. پس از خشک شدن، درون لوله پلی اتیلنی را با آب مقطر پر کرده و آنرا به سرنگ همیلتون وصل کردیم. سپس برای ایجاد حباب و جلوگیری از ترکیب دارو با سالین ۱ تا ۲ میکرولیتر هوا وارد لوله پلی‌اتیلنی کرده و سپس دارو را می‌کشیم. بدین ترتیب بین دارو و سالین حباب هوا ایجاد می‌شد. این روش از هدر رفتن دارو جلوگیری می‌کند. برای تزریق دارو، حیوان را به آرامی به طوری که هیچ استرسی به حیوان وارد نشود از ناحیه پشتی گرفته و سپس کانول تزریق را به آرامی وارد کانول راهنما شده به مدت ۶۰ ثانیه ۰/۵ میکرولیتر دارو را به ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی تزریق و در کل ۱ میکرولیتر دارو به مغز حیوان تزریق شد.

دستگاه Open field objects (Novelty): مهم‌ترین دلایل انتخاب این دستگاه: ۱- با دستگاه‌هایی نظیر ماز و Morris Water Maze فقط سنجش حافظه فضایی ممکن است در حالی‌که با دستگاه Novelty سنجش هر دو حافظه فضایی و غیر فضایی ممکن است. ۲- این دستگاه هیچ‌گونه استرسی به حیوان وارد نمی‌کند. دستگاه Novelty یک فضای دایره‌ای است که شصت سانتی‌متر قطر دارد و توسط یک دیواره یکپارچه به ارتفاع سی سانتی‌متر محصور شده است. کف و دیواره‌های آن سفید رنگ می‌باشد و کف آن با خطوط سیاه به نواحی مختلف تقسیم می‌شود. در این دستگاه اجسامی قرار می‌گیرند که در مطالعه حاضر دارای مشخصات زیر هستند: (جسم شماره ۱) استوانه سیاه رنگ که دو سر آن سفید است و دارای طول ۱۵ سانتی‌متر و شعاع

Archive of SID

www.SID.ir

۵ سانتی‌متر است. (جسم شماره ۲) ورقی گالوانیزه با زاویه ۹۰ درجه که دارای سوراخ‌هایی به شعاع نیم سانتی‌متر است و بر روی ورقی مکعبی شکل با طول ۵ سانتی‌متر قرار گرفته است. (جسم شماره ۳) یک نردبان کوچک ساخته شده از پلاستیک به رنگ شیری و به ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر و عرض ۵ سانتی‌متر که دارای ۱۰ پله است. (جسم شماره ۴) سکوی مکعبی شکل که دارای شش سانتی‌متر ارتفاع و سه سانتی‌متر طول و عرض است و در هر طرف توسط مته با قطر ۰/۵ سانتی‌متر سه سوراخ ایجاد شده است. (جسم شماره ۵) مخروط روشن که در قسمت پایه دارای قطر شش سانتی-متری است. (جسم شماره ۳ در مرحله S6 روز تست) استوانه‌ای کاملاً مشکی با شعاع ۵ سانتیمتر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر که در راس آن سوراخی ایجاد شده است. این اجسام در مکان‌های خاصی از دستگاه چیده می‌شوند و با جابجایی این اجسام در روز تست میزان حافظه موش بررسی می‌شود [۷، ۲۲].

روش آموزش و تست: سنجش حافظه فضایی و غیرفضایی توسط این دستگاه، شامل شش مرحله یا Session است که از این پس به طور خلاصه به هر مرحله 'S' می‌گوییم. آزمایش در دو روز متوالی انجام می‌شود. روز اول روز آموزش و روز دوم روز تست است. روز آموزش در برگیرنده مراحل S1- S4 است. مراحل S5 و S6 نیز در روز تست انجام می‌شود. در هر یک از مراحل، موش ۶ دقیقه در دستگاه قرار می‌گیرد و بین هر دو مرحله متوالی ۱ دقیقه استراحت وجود دارد. در روز آموزش هر موش به تنهایی در چهار مرحله متوالی به ترتیب زیر در دستگاه قرار می‌گیرد: طی مرحله S1، موش به مدت شش دقیقه در فضای خالی دستگاه قرار می‌گیرد. این مرحله جهت آشنایی موش با فضای دستگاه و همچنین ثبت پایه فعالیت حرکتی است. پس از اتمام زمان S1 موش‌های با پایه فعالیت حرکتی مناسب می‌توانند وارد مراحل بعدی آزمایش شوند.

مراحل S2 تا S4 کاملا از هر لحاظ به هم شبیه هستند. در این مراحل اجسام در مکان‌های خاصی از دستگاه چیده می-شوند و به صورت قراردادی شماره‌گذاری می‌گردند. طی این مراحل موش به فضای دستگاه عادت می‌کند. موشی که مرحله S1 را گذرانده است وارد دستگاه می‌شود و زمانی را که به هریک از اجسام توجه می‌کند (این امر با پوزه زدن مشخص می‌شود) توسط کرنومتر ثبت می‌کنیم. مراحل S2 تا S4 به ترتیب بالا انجام می‌شود. پس از اتمام آموزش تزریق درون مغزی و درون صفاقی صورت می‌گیرد و بدین ترتیب روز آموزش پایان می‌پذیرد. آزمایش‌های روز تست ۲۴ ساعت بعد از آموزش آغاز می‌شود که این روز در برگیرنده مراحل S5 و S6 است. در مرحله S5 اجسام مانند مراحل قبلی چیده می‌شوند با این تفاوت که در این مرحله جهت سنجش حافظه فضایی موش دو عدد از اجسام (جسم شماره ۴ و ۵) با جابجایی مکانی نسبت به چیدمان اولیه در دستگاه قرار می‌گیرند و درست مانند مراحل قبل موش وارد دستگاه می‌شود و ثبت مدت زمان توجه به هر یک از اجسام با دقت انجام می‌گیرد. در مرحله S6 اجسام مانند مرحله S5 چیده می‌شوند با این تفاوت که در این مرحله جهت سنجش حافظه غیرفضایی موش، یکی از اجسام (جسم شماره ۳) از دستگاه خارج می‌شود و به جای آن، جسم دیگری قرار داده می‌شود و درست مانند مراحل قبل موش وارد دستگاه می‌شود و ثبت مدت زمان توجه به هر یک از اجسام با دقت انجام می‌گیرد.

مدت زمان‌هایی را که در آزمایش‌ها ثبت می‌کنیم تبدیل به یکسری داده خام می‌کنیم که آماده آنالیز توسط نرم‌افزار SPSS شوند. این داده‌ها عبارتند از:

S1: میانگین تعداد حرکت موش‌ها در مرحله S1 نشانگر پایه فعالیت حرکتی است. S6، S4،S5 ، S3، S2: میانگین زمانی تماس موش با مجموع پنج جسم موجود در دستگاه در هر مرحله.

Archive of SID

www.SID.ir

DO = (DO5-DO4): این عدد نشان می‌دهد که پس از تغییر فضای دو جسم در مرحله S5 نسبت به مرحله S4، میزان توجه (تماس) موش‌ها به این اجسام تا چه اندازه تغییر کرده است. این عدد بیانگر حافظه فضایی موش است.

NDO = (NDO5-NDO4): این عدد نشان می‌دهد که پس از تغییر فضای دو جسم در مرحله S5 نسبت به مرحله S4، میزان توجه (تماس) موش‌ها به اجسام دیگر که جابجا نشده اند تا چه اندازه تغییر کرده است.

SO = (SO6-SO5): این عدد نشان می‌دهد که پس از برداشتن یکی از اجسام و جایگزین کردن جسم جدید در مرحله S6 نسبت به مرحله S5، میزان توجه (تماس) موش-ها به این جسم تا چه اندازه تغییر کرده است. این عدد بیانگر حافظه غیر فضایی موش است.

NSO = (NSO6-NSO5): این عدد نشان می‌دهد که پس از برداشتن یکی از اجسام و جایگزین کردن جسم جدید در مرحله S6 نسبت به مرحله S5، میزان توجه (تماس) موش‌ها به اجسام دیگر تا چه اندازه تغییر کرده است.

تهیه برش‌های مغزی جهت تایید صحت جراحی مغز و محل تزریق دارو: پس از انجام آزمایشات، حیوانات توسط کلروفرم کشته می‌شوند و با تزریق رنگ متیلن بلو ۱٪ (یک میکرولیتر) داخل هر دو کانول، محل جراحی رنگ آمیزی می‌گردد. سپس مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گیرد.

پس از یک هفته با استفاده از دستگاه ویبرواسلایس برش-هایی تهیه شده و محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ و نرم‌افزار Motic Image مورد مطالعه قرار گرفت. از نرم‌افزار SPSS و one-way ANOVA برای تحلیل نتایج آماری استفاده شد. ملاک استنتاج آماری $p<0.05$ بود.

نتایج

بررسی آزمایش اول: اثر دوزهای مختلف فاکلوفن بر حافظه فضایی و غیرفضایی در موش کوچک آزمایشگاهی. آنالیز آماری One-way Anova و آزمون مکمل Tukey Post Hoc نشان می‌دهد که در میزان حافظه فضایی (DO) و پارامترهای NDO و NSO اختلاف معنی‌داری در هیچ یک از گروه‌هایی که سه دوز مختلف فاکوفن را دریافت می‌کنند مشاهده نمی‌شود ولی دوز ۰/۱۲۵ فاکلوفن کاهش حافظه غیرفضایی (SO) را نشان می‌دهد. افزایش معنی‌داری در زمان تماس در Habituation (که با پارامترهای S4، S5 و S6 نشان داده می‌شود) دوز ۰/۲۵ وجود دارد ولی هیچ اختلاف معنی‌داری در Habituation (که با پارامترهای S2 و S3 نشان داده می‌شود) وجود ندارد. هیچ اختلاف معنی‌داری در S1 که بیانگر پایه فعالیت حرکتی است مشاهده نشد. نتایج آنالیز آماری One-way Anova و تعیین سطح معنی‌داری نتایج فوق در جدول۱ و ستون سمت چپ نمودار (A)۱ ارائه شده است.

بررسی آزمایش دوم: اثر دوزهای مختلف باکلوفن بر حافظه فضایی و غیرفضایی در موش کوچک آزمایشگاهی. آنالیز آماری One-way Anova و آزمون مکمل Tukey Post Hoc نشان می‌دهد که باکلوفن در دوز ۰/۲۵ منجر به کاهش حافظه فضایی (DO) می‌شود. علاوه بر آن نتایج نشان می‌دهد که تمام دوزهای دارو اثر قابل توجهی بر روی فرآیندهای NDO، SO و NSO ندارند. افزایش معنی‌داری در زمان تماس در Habituation (که با پارامترهای S4، S5 و S6 نشان داده می‌شود) دوز ۰/۲۵ وجود دارد ولی هیچ اختلاف معنی‌داری در زمان تماس در Habituation (که با پارامترهای S2 و S3 نشان داده می‌شود) وجود ندارد. هیچ اختلاف معنی-داری در S1 که بیانگر پایه فعالیت حرکتی است مشاهده

Archive of SID

www.SID.ir

نشد. نتایج آنالیز آماری One-way Anova و تعیین سطح معنی‌داری نتایج فوق در جدول ۲ و ستون سمت راست نمودار (B)۱ نشان داده شده است.

جدول۱ـ نتایج آنالیز آماری اثر فاکلوفن بر حافظه فضایی و غیرفضایی در موش کوچک آزمایشگاهی

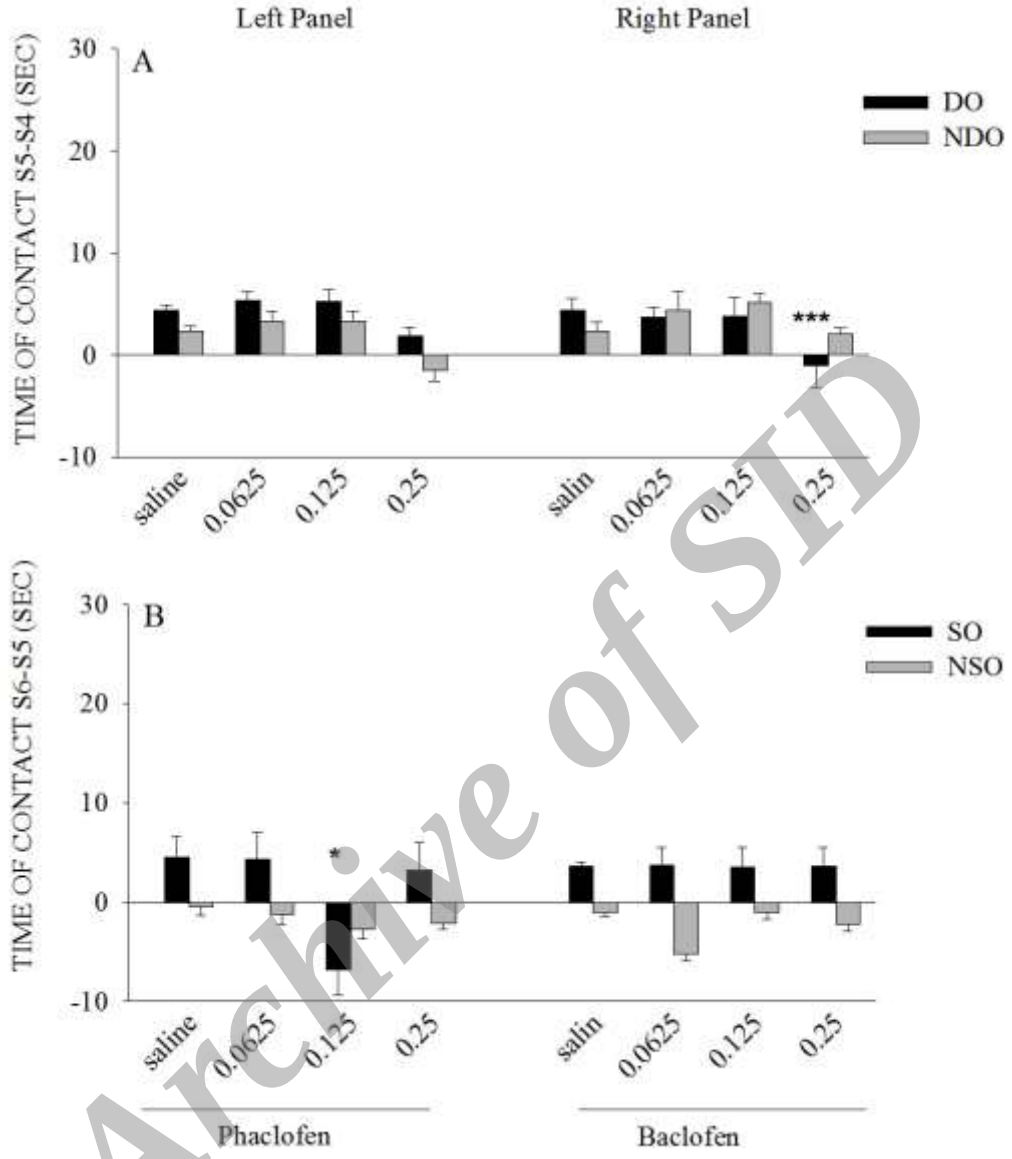
	One-way ANOVA	SIGNIFICANCE	P-value
S1	F (3 , 28) = 3.505	0.631	P > 0.05
S2	F (3 , 28) = 1.852	0.161	P > 0.05
S3	F (3 , 28) = 2.919	0.052	P > 0.05
S4	F (3 , 28) = 5.898	0.003	P < 0.01
S5	F (3 , 28) = 7.728	0.001	P < 0.001
S6	F (3 , 28) = 6.458	0.002	P < 0.01
DO	F (3 , 28) = 0.577	0.635	P > 0.05
NDO	F (3 , 28) = 1.010	0.403	P > 0.05
SO	F (3 , 28) = 4.215	0.014	P < 0.05
NSO	F (3 , 28) = 0.632	0.600	P > 0.05

جدول۲ـ نتایج آنالیز آماری اثر باکلوفن بر حافظه فضایی و غیرفضایی در موش کوچک آزمایشگاهی

	One-way ANOVA	SIGNIFICANCE	P-value
S1	F (3 , 28) = 0.301	0.824	P > 0.05
S2	F (3 , 28) = 2.459	0.084	P > 0.05
S3	F (3 , 28) = 2.172	0.114	P > 0.05
S4	F (3 , 28) = 6.704	0.001	P < 0.001
S5	F (3 , 28) = 7.505	0.001	P < 0.001
S6	F (3 , 28) = 16.489	0.000	P < 0.001
DO	F (3 , 28) = 8.450	0.000	P < 0.001
NDO	F (3 , 28) = 1.663	0.197	P > 0.05
SO	F (3 , 28) = 0.005	1.000	P > 0.05
NSO	F (3 , 28) = 2.039	0.131	P > 0.05

Archive of SID

www.SID.ir



Archive of SID

نمودار ۱ـ سمت چپ (A): هیچ اختلاف معناداری در پارامترهای DO و NDO وجود ندارد و بیانگر این است که تزریق درون مغزی(CA1) فاکلوفن در سه دوز مختلف هیچ تاثیری بر حافظه فضایی ندارد. نمودار سمت چپ (B): در پارامترNSO هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ولی دوز ۰/۱۲۵ فاکلوفن کاهش حافظه غیرفضایی(SO) را نشان می‌دهد. نمودار سمت راست (A): در پارامترNDO هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ولی دوز ۰/۲۵ باکلوفن کاهش حافظه فضایی(DO) را نشان می‌دهد. نمودار سمت راست (B): هیچ اختلاف معنی‌داری در پارامترهای SO و NSO وجود ندارد و بیانگر این است که تزریق درون مغزی(CA1) باکلوفن در سه دوز مختلف هیچ تاثیری بر حافظه غیرفضایی ندارد. DO (displaced object)، NDO (nondisplaced object)، SO (substituted object)، NSO (non-substituted object).

www.SID.ir

بحث

داده‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تزریق درون مغزی (ناحیه CA۱) باکلوفن (آگونیست گیرنده گابا B) بلافاصله پس از آموزش سبب اختلال در تشخیص تغییرات جدید فضایی می‌شود. علاوه بر این داده‌های ما نشان می‌دهد که تزریق درون مغزی (ناحیه CA۱) فاکلوفن (آنتاگونیست گیرنده گابا B) بلافاصله پس از آموزش سبب اختلال در تشخیص تغییرات جدید غیرفضایی می‌شود. هیپوکامپ بخشی از لوب تمپورال میانی است که به شدت در یادگیری و حافظه اتفاقی یا اخباری [۲۵] نقش دارد [۸].

مطالعه روی موش آزمایشگاهی نشان می‌دهد که هیپوکامپ در پردازش انواع مختلف حافظه از قبیل یادگیری وابسته به پاداش و یادگیری مکانی دخالت دارد [۶] از جمله در شکل‌گیری نقشه و حافظه فضایی، حافظه جاری، یادگیری مکان‌ها و یادگیری معکوس دخالت دارد [۱۱، ۲۱]. نظریه نقشه شناختی Nadel and O'Keefe پیشنهاد می‌کند که حافظه فضایی به هیپوکامپ وابسته است [۲۴].

یافته‌ها تراکم بالای گیرنده‌های گابا B در هیپوکامپ را نشان می‌دهند و بیانگر این هستند که فعال‌سازی گیرنده‌های گابا B فرآیند حافظه و یادگیری را کنترل می‌کنند [۱۲]. برخی از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که باکلوفن به عنوان آگونیست گیرنده گابا B موجب اثرات رفتاری در شناخت اعم از تضعیف تا تسهیل حافظه می‌شود [۱۰، ۲۳].

بلوک گیرنده گابا B همچنین نتایج پیچیده و متضادی دارد بطوری‌که تقویت حافظه [۱ و ۱۸] یا تضعیف حافظه [۵] بعد از تیمار با آنتاگونیست‌های گابا B گزارش شده است. گیرنده‌های گابا B هم به‌صورت پیش‌سیناپسی و هم بصورت پس‌سیناپسی در مغز پستانداران وجود دارند و اعمال فیزیولوژیک را سبب می‌شوند، این گیرنده‌ها نقش خاصی بر روی یادگیری فضایی دارند. [۱۲ و ۱۶] بازنمود عمل گیرنده‌های پیش‌سیناپسی به صورت کاهشی در نتایج عملکرد گیرنده‌های پس‌سیناپسی مشاهده می‌شود که در حقیقت این نتایج کاهش آزادسازی نوروترنسمیتر می‌باشد [۱۳]. فعال‌سازی گیرنده گابا B در پایانه‌های پیش‌سیناپسی باعث کاهش انتقال کلسیم و در نتیجه مهار آزادسازی نوروترنسمیتر می‌شود، بطوری‌که بلاک این گیرنده‌ها اثری خالص در افزایش سیگنالینگ هیپوکمپال دارد [۱۵].

سندیک و همکارانش در سال ۱۹۸۵ گزارش نمودند که باکلوفن موجب آسیب حافظه در انسان‌ها می‌شود. اثرات باکلوفن روی یادگیری فضایی موش‌های صحرایی با روش Morris Water Maze مورد مطالعه قرار گرفته است و نشان داده شده که باکلوفن به صورت وابسته به دوز یادگیری فضایی را تخریب می‌کند [۱۶].

تزریق موسیمول به داخل پایه مغز جلویی حافظه را مختل کرده است [۲۰]. همچنین مشخص شده است که تزریق قبل از آموزش موسیمول به داخل سپتوم میانی یادگیری فضایی را تخریب می‌کند [۴].

نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهد که احتمالا دوز وسط فاکلوفن (آنتاگونیست گیرنده گابا B) از طریق گیرنده‌های پیش-سیناپسی در این ناحیه عمل کرده است و با بلاک این گیرنده‌ها سبب افزایش آزادسازی گابا و تخریب حافظه غیر فضایی شده است. همچنین بالاترین دوز باکلوفن (آگونیست گیرنده گابا B) احتمالاً از طریق گیرنده‌های پس‌سیناپسی عمل کرده و با مهار آزادسازی نوروترنسمیتر گابا سبب تخریب حافظه فضایی شده است. نتایج نشان می‌دهد سیستم گاباارژیک (گیرنده گابا B) ناحیه CA1 سبب کاهش حافظه فضایی و غیر فضایی می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1- Bianchi M., A.E. Panerai (1993), Reversal of scopolamine-induced amnesia by the GABAB receptor antagonist CGP 35348 in the mouse. *Brain Research Cognitive Brain Research*, 1: 135-6.

2- Bowery N.G., B. Bettler, W. Froestl, J.P. Gallagher, F. Marshall, M. Raiteri, T.I. Bonner, S.J. Enna (2002), International Union of Pharmacology. XXXIII. Mammalian gamma-aminobutyric acid (B) receptors: structure and function. *Pharmacological Review*, 54(2): 247-264.

3- Bowman W.C., M.J. Rand (1980), Textbook of pharmacology. Second edition, Blackwell Scientific Publication.

4- Brioni J.D., M.W. Decker, L.P. Gamboa, I. Izquierdo, J.L. McGaugh (1990), Muscimol injections in the medial septum impair spatial learning. *Brain Research*, 522(2): 227-234.

5- Brucato F.H., E.D. Levin, D.D. Mott, D.V. Lewis, W.A. Wilson, H.S. Swartzwelder (1996), Hippocampal long-term potentiation and spatial learning in the rat: effects of GABAB receptor blockade. *Neuroscience*, 74: 331-9.

6- Chen N., J.B. Justice (2000), Differential effect of structural modification of human dopamine transporter on the inward and outward transport of dopamine. *Brain Research and Molecular Brain Research*, 75(2): 208-215.

7- Coccurello R., W. Adriani, A. Oliverio, A. Mele (2000), Effect of intra-accumbens dopamine receptor agents on reactivity to spatial and non-spatial changes in mice. *Psychopharmacology*, 152(2):189-199.

8- Davies S.N., R.G. Pertwee, G. Riedel (2002), Functions of cannabinoid receptors in the hippocampus. *Neuropharmacology*, 42: 993-1007.

9- Eghbali M., P.W. Gage, B. Birnir (2000), Pentobarbital modulates gamma-aminobutyric acid-activated single-channel conductance in rat cultured hippocampal neurons. *Molecular Pharmacology*, 58(3): 463-469.

10- Georgiev V.P., D.I. Yonkov, T.S. Kambourova (1988), Interactions between angiotensin II and baclofen in shuttle-box and passive avoidance performance. *Neuropeptides*, 12: 155-8.

11- Gluck M.A., C.E. Myers (1997), Psychobiological models of hippocampal function in learning and memory. *Annual Review of Psychology*, 48: 481-514.

12- Helm K.A., R.P. Haberman, S.L. Dean, E.C. Hoyt, T. Melcher, P.K. Lund, M. Gallagher (2005), GABAB receptor antagonist SGS742 improves spatial memory and reduces protein binding to the cAMP response element (CRE) in the hippocampus. *Neuropharmacology*, 48: 956-64.

13- Isaacson J.S., J.M. Solís, R.A. Nicoll (1993), Local and diffuse synaptic actions of GABA in the hippocampus. *Neuron*, 10(2): 165-75.

14- Knight A.R., N.G. Bowery (1996), The pharmacology of adenylyl cyclase modulation by GABAB receptors in rat brain slices. *Neuropharmacology*, 5(6): 703-712.

15- Lasarge C.L., C. Banuelos, J.D. Mayse, J.L. Bizon (2009), Blockade of GABA (B) receptors completely reverses age-related learning impairment. *Neuroscience*, 164: 941-7.

16- McNamara R.K., R.W. Skelton (1996),

Archive of SID

www.SID.ir

Baclofen, a selective GABAB receptor agonist, dose-dependently impairs spatial learning in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53(2): 303-308.

17- Misgeld U., M. Bijak, W. Jarolimek (1995), A physiological role for GABAB receptors and the effects of baclofen in the mammalian central nervous system. *Progress in Neurobiology*, 46(4):423-462.

18- Mondadori C., J. Jaekel, G. Preiswerk (1993), the first orally active GABAB blocker improves the cognitive performance of mice, rats, and rhesus monkeys. *Behavioral and Neural Biology*, 60: 62-8.

19- Mott D.D., D.V. Lewis (1994), The pharmacology and function of central GABAB receptors. *International Review of Neurobiology*, 36: 97-223.

20- Nagel J.A., J.P. Huston (1988), Enhanced inhibitory avoidance learning produced by post-trial injections of substance P into the basal forebrain. *Behavioral and Neural Biology*, 49(3): 374-385.

21- Rezayof A., M.R. Zarrindast, H. Sahraei, A. Haeri-Rohani (2003), Involvement of dopamine receptors of the dorsal hippocampus on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rats. *Journal of Psychopharmacology*, 17(4): 415-423.

22- Roullet P., F. Sargolini, A. Oliverio, A. Mele (2001), NMDA and AMPA antagonist infusions into the ventral striatum impair different steps of spatial information processing in a nonassociative task in mice. *Journal of Neuroscience*, 21(6): 2143-2149.

23- Saha N., Y. Chugh, A. Sankaranaryanan, P.L. Sharma (1993), Effects of post-training administration of baclofen and chlordiazepoxide on memory retention in ICRC Swiss mice: interactions with GABAA and GABAB receptor antagonists. *Pharmacology Toxicology*, 72: 159-62.

24- Sharma S., S. Rakoczy, H. Brown-Borg (2010), Assessment of spatial memory in mice. *Life Science*, 87: 521-36

25- Squire L.R. (1992), Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, 99: 195-231.

26- Yim T.T., N.S. Hong, M. Ejaredar, J.E. McKenna, R.J. McDonald (2008), Post-training CB1 cannabinoid receptor agonist activation disrupts long-term consolidation of spatial memories in the hippocampus. *Neuroscience*, 151(4): 929-936.

Archive of SID

www.SID.ir