مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۲، شماره ۱، بهار ۱۳۸۶
صفحات: ۱ – ۱۲

تأثیر تحریک الکتریکی هسته قاعده‌ای ماینرت برخصوصیات پاسخی نورون‌های قشر بارل موش صحرایی

فاطمه گشادرو .Ph.D

چکیـده

هدف: هدف از این مطالعـه بررسـی تـأثیر تحریـک الکتریکـی هـسته قاعـده‌ای مـاینرت (NBM) بـر خصوصیات پاسخی نورون‌های قشر بارل می‌باشد.

روش بررسی: ثبت خارج سلولی تک واحدی به جابه‌جایی ویسکرها که با کامپیوتر کنترل مـی‌گردیـد، از نورون‌های لایه V قشر بارل، موشهای صحرایی نر، نژاد Wistar به عمـل آمـد؛ آن گـاه خـصوصیات پاسخی نورون‌ها قبل و بعد از تحریک NBM با یکدیگر مقایسه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تحریک الکتریکی NBM پاسخ برانگیختـه شـده ۶۰/۷ ٪ از نـورون‌هـا را تغییر می‌دهد. پاسخ بقیه نورون‌ها (۳۹/۳٪) تحت تأثیر تحریک NBM قرار نمی‌گیـرد. بعـد از تحریـک NBM بیشترین اثر مشاهده شده کاهش پاسخ نورون‌ها است که در ۷۶/۵٪ موارد تغییـر یافتـه مـشاهده گردید. اثرات کاهشی مشاهده شده، ۸۰۰ میلی ثانیه بعـد از تحریـک الکتریکـی NBM از بـین مـی‌رود. تحریک NBM زمان پاسخ‌دهی نورون‌هـا را نیـز بـه طـور معنـی‌داری کـاهش مـی‌دهـد ولـی فعالیـت خودبه‌خودی نورون‌ها تغییری نمی‌کند.

نتیجه‌گیری: نتیجه گرفته شد که NBM نقش مهمی در تنظیم تعادل تحریک و مهار قشر بارل دارد.

واژه‌های کلیدی: هسته قاعده‌ای ماینرت (NBM)، تحریک الکتریکی، قشر بارل، ثبت تک واحدی.

مقـدمـه

هـسته قاعـده‌ای مـاینرت (NBM; Nucleus Basalis of Meynert) به مجموعه‌ای از سلولها (سلولهای بزرگ، کوچـک، کولینرژیک، غیر کولینرژیک) که در طول حاشیه طرفی و قدامی کپسول داخلی و حاشیه میانی گلوبوس پالیدوس قرار گرفتـه‌انـد، گفته می‌شود (۱). ۹۰٪ اجسام سـلولی ایـن ناحیـه نـورون‌هـای بزرگ کولینرژیک هستند کـه فیبرهـای خـود را بـه تمـام قـشر می‌فرستند (۲). به‌طوری که ۸۰٪ اعصاب کولینرژیک مغز از این ناحیه منشأ می‌گیرند. بقیه فیبرهای کولینرژیک مغز منشأ داخـل قشری دارند (۳). NBM در موش صحرایی برخلاف پریماتها به صـورت یـک هـسته قابـل تمـایز ظـاهر نمـی‌گـردد (۳،۴) و محتوی حداقل دویست هزار نورون در هر نیمکره اسـت (۵). این نورون‌ها دارای فعالیت خودبه‌خودی با الگوی منظم هستند و موجب آزاد شدن مقادیر پایه ای استیل کولین در قشر می‌گردنـد (۶). اعصاب کولینرژیک به طور وسیع در قشر توزیع شـده‌انـد و نواحی قشری مجزایی دارند (۷). توزیع آورانهای کولینرژیـک در لایـه‌هـای مختلـف قـشر یکـسان و مـشابه نیـست. فیبرهـای کولینرژیک بیشتر در لایـه‌هـای III و V توزیـع گـشته‌انـد (۸). گزارشهای متعدد نشان می‌دهند که فیبرهـای کولینرژیـک مغـز به‌طور تونیک و هم به صورت فازیک قشر مغز را فعال می‌کننـد

دریافت مقاله: ۸۵/۳/۲۸، اصلاح مقاله: ۸۶/۲/۲۷، پذیرش مقاله: ۸۶/۲/۲۹
استادیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پیراپزشکی، گروه فیزیولوژی، و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، تهران – ایران
آدرس پست الکترونیکی: fgoshadrou@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

(۹). آنالیز همبستگی زمانی نشان داده است که تغییر فعالیت نورون‌های کولینرژیک همواره قبل از قشر انجام می‌شود. این یافته‌ها معلوم می‌کند که سیستم کولینرژیک نقش مهمی در تنظیم فعالیت قشر دارد (۱۰) . قشر مغز نیز یک دریافت کننده غیر فعال سیستم تعدیلی کولینرژیک نبوده و در هنگام لزوم با ساختن فاکتور رشد عصب (NGF) که به گیرنده‌های NGFr در نورون‌های کولینرژیک متصل می‌گردند، زنده ماندن و عمل فیبرهای کولینرژیک را تعدیل می‌نماید (۱۱). نظر به اهمیت تأثیر استیل کولین بر فعالیت قشر که می‌تواند تحریک‌پذیری نورون‌های قشر را تغییر داده، ارتباطات نورونی را تعدیل نموده و پاسخ نورونها به محرکهای حسی را تحت تأثیر قرار دهد، بر آن شدیم تا به بررسی اثر استیل کولین بر قشر بپردازیم. طی سالهای گذشته تحقیقات متعددی به این منظور انجام گرفته است. در بیشتر این تحقیقات اثر مستقیم استیل کولین روی قشر به طور وسیع مطالعه شده است (۱۲).

از آنجاییکه استیل کولین آیونتوفورز شده می‌تواند گیرنده‌های کولینرژیکی که در In vivo توسط نورون‌های کولینرژیک خود قشر (و نه نورون‌های کولینرژیک NBM) فعال می‌شوند را تحریک کند، لذا اثر مستقیم استیل کولین نمی‌تواند نقش NBM را به طور دقیق بررسی کند. از طرف دیگر نورون‌های NBM فیبرهای خود را غیر از قشر به محلهای دیگری (تالاموس و ساختمانهای زیر قشری) نیز می‌فرستند (۱۳) که ممکن است بخشی از اثرات NBM روی قشر با واسطه این ساختمانها صورت بگیرد. پس تحریک فارماکولوژیک و موضعی قشر مغز با استیل کولین تنها می‌تواند بخشی از اثرات با میانجیگری NBM را بازسازی کند. در حالیکه تحریک الکتریکی NBM می‌تواند با همان ویژگیهای فضایی و زمانی که با آناتومی و فیزیولوژی طبیعی این سیستم هماهنگ است، موجب آزاد شدن استیل کولین و یا سایر نوروترنسمیترها در قشر گردد.

در این مطالعه از محور نورونی ویسکر–بارل برای مطالعه اثر استیل کولین روی فعالیت قشر استفاده گردید. در این مسیر اطلاعات حسی با واسطه سه نورون به قشر می‌رسد. نورون‌های ردیف اول فولیکولهای ویسکر را به هسته‌های حسی اصلی و نخاعی مجتمع سه قلو مربوط می‌کند. دومین ردیف نورون‌ها بعد از تقاطع به هسته‌های تالاموسی VPM و POM می‌رسند. سومین نورون، نورون‌های تالاموکورتیکال بوده که در لایه IV قشر بارل ختم می‌شوند (۱۴). قشر بارل نیز آورانهای کولینرژیک را از NBM دریافت می‌کند که تأثیر این آورانها بر پاسخ نورون‌های قشر بارل پیچیده بوده و تاکنون شناخته نشده است (۱۵). بنابراین هدف ما در این مطالعه بررسی تحریک الکتریکی NBM روی خصوصیات پاسخی نورون‌های قشر بارل می‌باشد.

مواد و روشها

حیوانات. در این آزمایشها از ۱۲ موش صحرایی نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ۳۵۰–۲۵۰ گرم، که در شرایط ۱۲/۱۲ ساعت دوره تاریکی و روشنایی و رژیم غذایی آب و دان فشرده بدون محدودیت و درجه حرارت ۴±۲۲ سانتیگراد نگهداری می‌شدند، استفاده گردید.

جراحی. حیوانات با تزریق داخل صفاقی یورتان (۱/۵ g/kg) بیهوش می‌شدند. سپس موهای سر تراشیده و در دستگاه استریو تاکس قرار می‌گرفتند. آنگاه با توجه به مختصات NBM در اطلس پاکسینوز و واتسون (۱/۳ – و ۱/۴– : AP از برگما، ۲/۴± و ۲/۶± : L از خط میانی، ۷/۵– و ۷/۶– : P از سطح جمجمه سوراخی در جمجمه با مته برقی ایجاد می‌کردیم (۱۶) از الکترود فلزی Stainless Steel با پوشش تفلون (قطر ۰/۲۵ میلی متر، شرکت Advent) که به دور هم پیچیده بودند، برای تحریک الکتریکی NBM استفاده شد. برای تحریک الکتریکی از دستگاه تولید کننده جریان ثابت Stimulus Isolator (مدل A360, WPI) که توسط بورد D/A موجود در دستگاه کنترل کننده پیزو و توسط کامپیوتر فعال می‌گردید، استفاده شد. موج تحریکی قطاری از امواج مربعی به مدت ۱۰۰ میلی ثانیه با فرکانس ۵۰ هرتز و عرض ۰/۲ میلی ثانیه و شدت ۳۰ µA بود که از طریق الکترود به NBM اعمال می‌گردید.

ثبت الکتروفیزیولوژیک. از روش ثبت تک واحدی خارج سلولی برای بررسی خصوصیات پاسخی نورون‌ها استفاده شد.

Archive of SID
www.SID.ir

برای دسترسی به قشر بارل استخوان جمجمه نیمکره راست (۴-۱ میلیمتر عقب برگما و ۷-۴ میلیمتر سمت راست خط میانی) با دقت برداشته می‌شد تا سخت شامه در معرض دید قرار بگیرد. درجه حرارت بدن حیوان در تمام مدت آزمایش به وسیله دستگاه تنظیم کننده حرارت و پروبی که در رکتوم حیوان قرار داشت در حد ۳۸-۳۷ درجه سانتیگراد ثابت می‌ماند و در صورت سبک شدن بیهوشی ده درصد مقدار اولیه ماده بیهوشی تزریق می‌شد. میکروالکترود شیشه‌ای با نوک ۵-۲ میکرون که به وسیله دستگاه کشنده میکروالکترود کشیده و با کلرید سدیم (NaCl) ۳ مولار پر شده بود، برای ثبت از قشر بارل استفاده گردید. میکروالکترود شیشه‌ای از طریق نگهدارنده میکروالکترود (Microelectrode Holder) به پروب دستگاه تقویت کننده (Differential Amplifier) متصل می‌شد. این پروب سیگنالهای ثبت شده را بدون افت ولتاژ به دستگاه تقویت کننده منتقل می‌کرد. الکترود دیگر به پوست سر متصل می‌گردید. برای جابجا کردن میکروالکترود شیشه‌ای در قشر از ریزسنج متصل به دستگاه استریوتاکس استفاده شد که با زاویه ۲۰ درجه نسبت به خط Dorso Ventral قرار داشت و به صورت عمود وارد قشر می‌شد. پتانسیلهای الکتریکی ثبت شده توسط میکروالکترود شیشه‌ای بعد از ورود به دستگاه تقویت کننده ده هزار برابر تقویت و با باند فرکانسی ۳۰۰Hz – ۱۰ KHz پالایش می‌شدند. خروجی دستگاه تقویت کننده به ورودی دستگاه موج بیز و به طور همزمان به دستگاه مدار تأخیری متصل می‌شد. خروجی دستگاه مدار تأخیری سیگنال ورودی را با تأخیر ۲/۵ میلی ثانیه به ورودی اسیلوسکوپ حافظه دار منتقل می‌کرد. خروجی Multiplex شده موج بیز به اسیلوسکوپ دوم ارسال می‌شد تا بتوان با مشاهده سیگنالهای اصلی سطوح بالایی و پایینی موج بیز را کنترل و تنظیم کرد. دستگاه موج بیز به ازای هر سیگنال ورودی که در پنجره آن قرار می‌گرفت، یک موج مربعی یا TTL Pulse تولید می‌کرد که از یک طرف توسط دستگاه شمارشگر اسپایک به کامپیوتر برای ثبت و آنالیز منتقل می‌شد و از طرف دیگر Trigger خارجی اسیلوسکوپ حافظه‌دار را فعال می‌کرد. بدین ترتیب شکل سیگنال ایزوله شده (Single Unit) در اسیلوسکوپ حافظه‌دار قابل مشاهده بود. ابتدا، میکروالکترود شیشه‌ای در مرکز بارل قرار می‌گرفت و به آهستگی پایین برده می‌شد. بعد از ظاهر شدن فعالیت چند واحدی (Multiunit) روی اسیلوسکوپ، با حرکت دادن ویسکرهای طرف مقابل ثبت، به وسیله یک چوب نازک و گوش کردن به صدای فعالیت نورون‌ها، ویسکری که بیشترین فعالیت تحریکی را بر می‌انگیخت به عنوان ویسکر اصلی در ابتدای کار در نظر گرفته می‌شد. پس از مشخص شدن ویسکر اصلی، سطح قشر به وسیله آگار گرم (۴-۳٪) که در سالین حل شده بود پوشانده می‌شد تا از تبخیر آب از سطح قشر مغز جلوگیری کند. الکترود ثبات به آرامی تا لایه V قشر (عمق ۱۲۰۰- ۸۰۰ میکرون) پایین برده شد. ثبت در همه حیوانات از نورون های لایه V صورت گرفت.

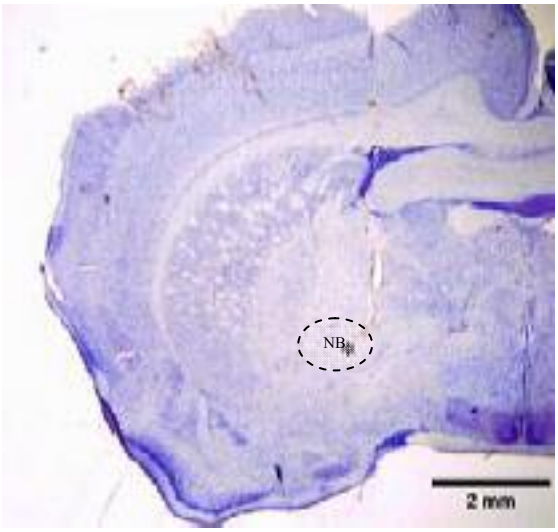
جابه‌جایی مکانیکی ویسکرها. برای جابه‌جایی مکانیکی ویسکرها از یک کریستال پیزوالکتریک که به یک طرف آن لوله شیشه‌ای نازک و سبکی به قطر داخلی ۰/۵ میلی متر چسبیده بود و طرف دیگر آن به وسیله دو صفحه فلزی ثابت شده بود استفاده گردید. توسط کامپیوتر و دستگاه کنترل کننده پیزو ولتاژی به کریستال پیزو اعمال می‌گردید تا جابه‌جایی به میزان ۲۰۰ میکرومتر با سرعت ۱۰۰ میلی متر بر ثانیه و مدت ۲۰۰ میلی ثانیه در نوک لوله شیشه‌ای ایجاد کند. جهت جابه‌جایی از بالا به پایین بود. ویسکری که به محرک مکانیکی بیشترین پاسخ را با کمترین تأخیر می‌داد به عنوان ویسکر اصلی در نظر گرفته می‌شد. ویسکرها به طول ۱۵ میلیمتر کوتاه شده و ۱۰ میلیمتر آنها در داخل لوله شیشه‌ای گذاشته می‌شد. پس از تشخیص ویسکر اصلی و جدا کردن یک نورون از لایه V قشر بارل، پروتکل ثبت، اجرا می‌گردید. هر پروتکل ثبت از هشت نوع تحریک مکانیکی و الکتریکی مختلف تشکیل می‌شد که هرکدام به طور تصادفی و ۵۰ مرتبه با فرکانس یک هرتز انجام می‌گرفت و پاسخهای به دست آمده در فایلهای جداگانه ذخیره می‌شدند. هر فایل ثبت شده شامل پاسخ نورون به تحریک مکانیکی ویسکر اصلی بدون تحریک الکتریکی هسته NBM و همچنین، پاسخ نورون در زمانهای مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰،

Archive of SID
www.SID.ir

۳۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی ثانیه) بعد از تحریک الکتریکی هسته NBM می‌باشد. در انتهای هر آزمایش، برای اطمینان از درست قرار گرفتن الکترود در NBM از جریان DC (۵۰ میکرو آمپر به مدت ۳۰ ثانیه) برای تخریب NBM استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از هیستوگرامهای زمانی پس از تحریک (PSTH) استفاده شد. زمانی پس از تحریک (با اندازه Bin یک میلی ثانیه) که میزان پاسخ از میانگین فعالیت خودبه‌خودی به اندازه دو انحراف معیار (Standard Deviation: SD) بزرگتر بود به عنوان زمان شروع پاسخ یا تأخیر پاسخ در نظر گرفته شد. بزرگی پاسخ به وسیله شمارش تعداد اسپایکها به ازای هر تحریک (Spike per Stimulus) در طول ده میلی ثانیه پس از شروع پاسخ مورد محاسبه قرار گرفت. از آن‌جا که شروع و انتهای تحریک ویسکرها دو پاسخ ایجاد می‌کرد، پاسخ اول پاسخ ON و پاسخ بعدی پاسخ OFF در نظر گرفته شد. فعالیت خودبه‌خودی در مدت ۱۰۰ میلی ثانیه قبل از پاسخ ON اندازه‌گیری می‌شد. میزان پاسخهای برانگیخته شده با جابه‌جایی ویسکر اصلی بعد از تحریک NBM به میزان پاسخهای برانگیخته شده با تحریک ویسکر اصلی بعد از تحریک الکتریکی NBM تقسیم شده، درصد پاسخهای هر نورون نسبت به میزان پایه (Base Line) به دست می‌آمد و از نتیجه آن برای تقسیم‌بندی واحدها استفاده گردید. درصورتی که پاسخ نورون در چندین فایل پس از تحریک NBM نسبت به میزان پایه تغییر پیدا کرده باشد، در گروه I و در صورتیکه تغییری نکرده باشد، در گروه II قرار می‌گیرند. از آن‌جایی که پاسخهای OFF کوچکتر از پاسخهای ON و تغییرات بیشتری نسبت به پاسخهای ON دارند، فقط از پاسخهای ON برای گروه بندی استفاده شد.

بافت شناسی. در انتهای هر آزمایش با عبور دادن جریان (شدت ۵ میکرو آمپر، مدت ۱۰ ثانیه) از نوک الکترود ثبات محل ثبت لیژن داده می‌شد. سپس حیوان از طریق قلب پرفیوز شده و پس از شستشوی عروق با نرمال سالین و فیکساتیو، مغز حیوان خارج شده، در فرمالین ۱۰٪ قرار می‌گرفت. پس از تثبیت بافت، برشهای ۸۰ میکرونی از مغز تهیه و با روش نیسل رنگ آمیزی می‌گردید (شکل ۱ یکی از مقاطع بافتی محل تحریک الکتریکی را نشان می دهد).



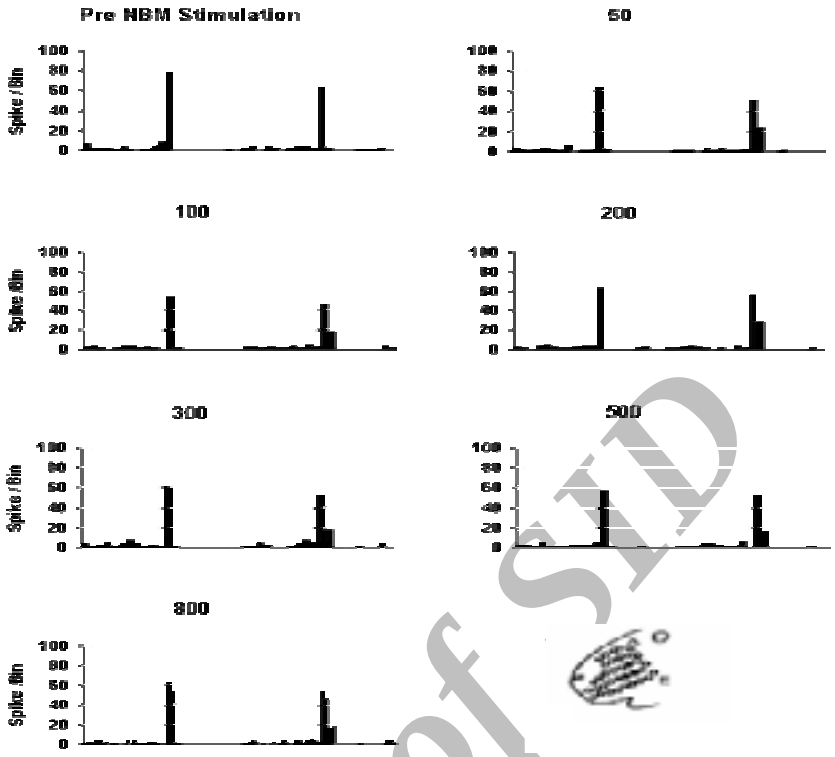
شکل ۱. مقطع بافتی کورونال از محل تحریک الکتریکی در NBM

تجزیه و تحلیل آماری داده ها. در این تحقیق نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار (SEM) ارائه گردیده است. از آزمون Paired t test برای مقایسه داده‌ها قبل و بعد از تحریک NBM استفاده شده است. اختلاف در سطح $P<0/05$ معنی‌دار تلقی شده است.

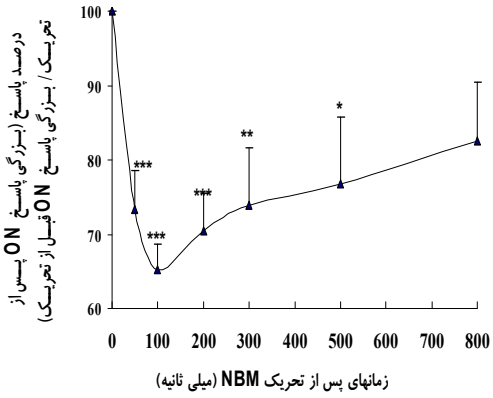
یافته‌ها

داده‌ها از ۲۸ واحد نورونی در طی ۱۲ آزمایش به دست آمد. کلیه نورون‌های ایزوله شده دارای فعالیت خودبه‌خودی بودند. تمامی نورون‌ها قبل و بعد از تحریک الکتریکی NBM مورد مطالعه قرار گرفتند و شش فایل داده بعد از تحریک الکتریکی NBM برای آنها موجود می‌باشد. شکل ۲ نمونه‌ای از پاسخهای ثبت شده را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که فعالیت خودبه‌خودی نورون‌ها قبل و بعد از تحریک الکتریکی NBM اختلاف معنی‌داری ندارند (Paired t-test, $P>0/05$). بر اساس تغییر بزرگی پاسخ برانگیخته شده با جابه‌جایی ویسکر، نورون‌ها به دو گروه تقسیم‌بندی شدند.

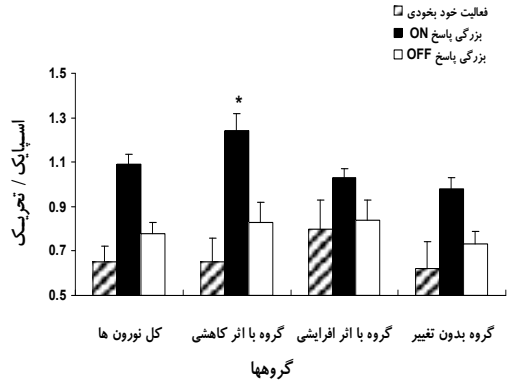
Archive of SID
www.SID.ir



شکل۲. نمونه‌ای از پاسخ نورونها در گروه تحریک الکتریکی NBM را نشان می‌دهد. بالا و سمت چپ، هیستوگرامهای زمانی ۵۰ مرتبه تحریک سبیل اصلی را قبل از تحریک NBM نشان می‌دهد. سایر نمودارها پاسخهای نورون را در زمانهای مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی ثانیه) بعد از تحریک NBM نشان می‌دهد (اندازه Bin ۱۰ میلی ثانیه).



شکل ۳. درصد پاسخ نورون‌ها در زمانهای مختلف پس از تحریک NBM در گروه با اثر کاهشی را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که درصد پاسخ نورون‌ها به‌طور معنی‌داری تا ۵۰۰ میلی‌ثانیه پس از تحریک NBM کاهش یافته است.
(Paired t-test, *P<0.05, ***P<0.001)



شکل ٤. میانگین (و خطای معیار) پاسخ خودبه‌خودی (SA) و برانگیخته شده نورون‌ها به شروع (پاسخ ON) و خاتمه تحریک (پاسخ OFF) ویسکر در گروههای مختلف. (کل نورون‌ها قبل از گروه‌بندی (n=۲۸)، گروه با اثر کاهشی (n=۱۳)، گروه با اثر افزایشی (n=٤)، گروه بدون تغییر (n=۱۱). نتایج نشان می‌دهد که بزرگی پاسخ نورون‌ها در گروه با اثر کاهشی به طور معنی‌داری از دیگر گروهها بیشتر است (Unpaired t-test, * P<0.05).

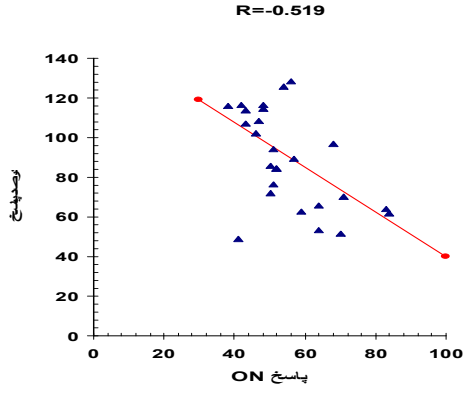
www.SID.ir

جدول ۱. درصد تفکیکی تغییر بزرگی پاسخ نورون ها در زمانهای مختلف پس از تحریک NBM در گروههای مختلف

فاصله زمانی بین تحریک NBM تا تحریک ویسکر (ms)	کل نورون های ثبت شده		I- گروه تغییر یافته (۶۰/۷٪)				II- گروه بدون تغییر (۳۹/۳٪)
			گروه با اثر کاهشی		گروه با اثر افزایشی		
	N	میانگین ٪ تغییر پاسخ	تعداد نورون	میانگین ٪ کاهش پاسخ	تعداد نورون	میانگین ٪ افزایش پاسخ	تعداد نورون
NBM- 50	۲۸	↓ ۶	۱۳	٪۲۵	۴	٪۲۲/۷	۱۱
NBM- 100	۲۸	↓ ۱۲	۱۳	٪۳۴	۴	٪۲۵/۳	۱۱
NBM- 200	۲۸	↓ ۱۰	۱۳	٪۲۸	۴	٪۵۳/۱	۱۱
NBM- 300	۲۶	↓ ۸	۱۲	٪۲۴	۳	٪۳۸/۳	۱۱
NBM- 400	۱۶	↓ ۷	۱۰	٪۱۲	۳	٪۳۳/۵	۳
NBM- 500	۲۳	↓ ۱۴	۱۲	٪۲۷	۲	٪۲۵/۱	۹
NBM- 800	۲۷	↓ ۷	۱۲	٪۲۱/۴۲	۴	٪۲۲/۸	۱۱

گروه I یا گروه تغییر یافته که ۶۰/۷٪ کل نورون‌ها را تشکیل می‌دهند. گروه II یا گروه بدون تغییر که۳۹/۳٪ کل نورون‌ها را تشکیل می‌دهند. ویژگیهای پاسخ نورون‌های گروه تغییر یافته در زمانهای مختلف پس از تحریک الکتریکی NBM نشان می‌دهد که پاسخ ۷۶/۵٪ درصد از این نورون‌ها پس از تحریک الکتریکی NBM به طور کاملاً معنی‌داری (Paired t-test, P<۰/۰۰۱) کاهش می‌یابد (گروه با اثر کاهشی). جدول ۱ نشانگر درصد تفکیکی تغییر بزرگی پاسخ نورون‌ها در زمانهای مختلف پس از تحریک NBM در گروههای مختلف می‌باشد. شکل ۳ نیز درصد کاهش پاسخ نورون‌ها را در زمانهای مختلف پس از تحریک الکتریکی NBM نشان می‌دهد. حداکثر کاهش پاسخ نورون‌ها حدود ۳۵٪ است، که در زمان ۱۰۰ میلی ثانیه پس از تحریک NBM اتفاق می‌افتد. کاهش پاسخ نورون‌ها تا ۵۰۰ میلی ثانیه پس از تحریک NBM ادامه دارد و در زمان ۸۰۰ میلی ثانیه به حد طبیعی برمی‌گردد.

مقایسه کیفی پاسخها. شکل ۴ میانگین (و خطای معیار) پاسخ خودبه‌خودی و برانگیخته نورون‌ها را در گروههای مختلف قبل از تحریک NBM نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که میان فعالیت خودبه‌خودی نورون‌ها، زمان تأخیر شروع تحریک (پاسخ ON)، زمان تأخیر پایان تحریک (پاسخ OFF) و بزرگی پاسخ OFF قبل از تحریک الکتریکی NBM در گروههای مختلف اختلاف معنی‌داری ندارند. اما بزرگی پاسخ ON قبل از تحریک الکتریکی NBM در نورون‌های گروه با اثر کاهشی به طور معنی‌داری از گروههای دیگر بیشتر است (Unpaired t-test, P<۰/۰۵).

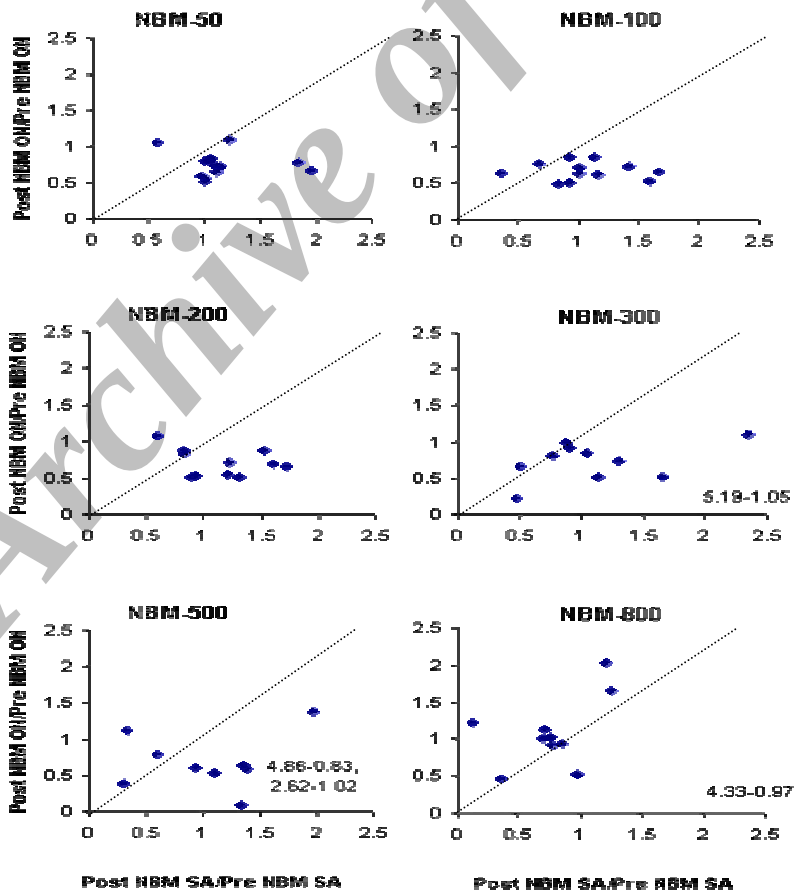


شکل ۵. نمودار پراکندگی داده‌ها در زمان ۱۰۰ میلی ثانیه پس از تحریک الکتریکی NBM را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود نورون هایی که بزرگی پاسخ ON بیشتری دارند پس از تحریک NBM بیشتر دچار کاهش پاسخ شده اند. داده‌ها اطراف خط با معادله y = -1.1324x + 153.15 پراکنده شده‌اند.

Archive of SID
www.SID.ir

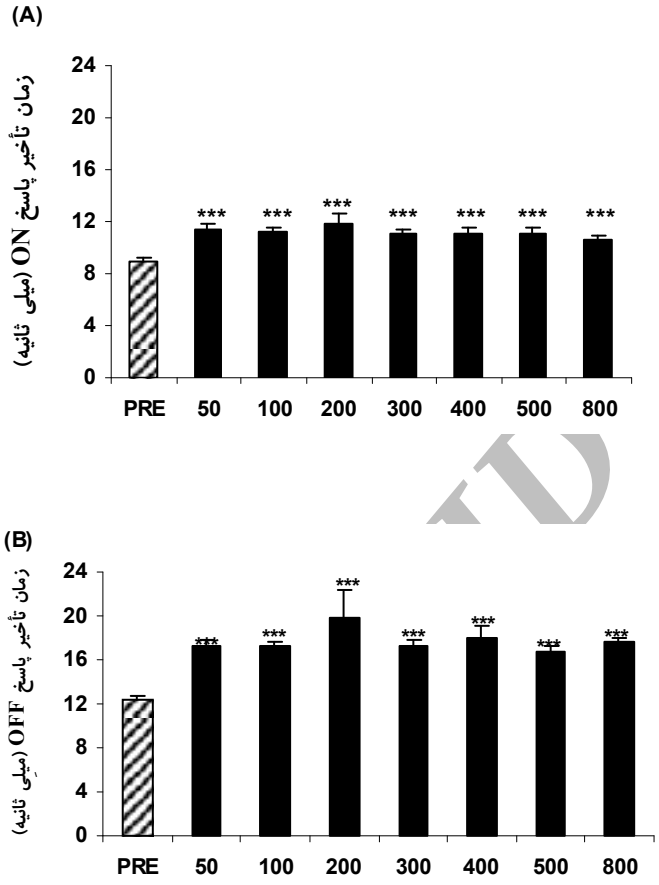
به عبارت دیگر نورون‌های گروه با اثر کاهشی کـه دارای پاسـخ ON بزرگتری نسبت به گروههای دیگر هستند، بعد از تحریـک الکتریکی NBM دچار کاهش پاسخ می‌شوند. آنـالیز همبـستگی میان بزرگـی پاسـخ ON قبـل از تحریـک الکتریکـی NBM و درصد پاسخ نورون‌ها بعد از تحریک NBM نشان مـی‌دهـد کـه ارتباط خطی معکوسی میان آن دو وجود دارد. به‌طوریکه هرچـه بزرگی پاسخ نورون (پاسخ ON) قبل از تحریـک NBM بیـشتر باشد، با تحریـک الکتریکـیNBM درصـد پاسـخ‌دهـی نـورون کاهش پیدا می‌کند. شدت همبستگی در زمان ۱۰۰ میلـی ثانیـه بعد از تحریک NBM از همه بیشتر است (R = - 0.519).

معادله خط کمترین مجذور نشان مـی‌دهـد کـه داده‌هـا اطـراف خطـی با معـادلـه Y=153.02-1.13X پراکنـده هستند. آزمون آماری نشان می‌دهد که این همبستگی خطی معکوس در زمـان ۱۰۰ میلی ثانیه پـس از تحریـک NBM بـا P<0.05 معنـی‌دار است (شـکل ۵). شـکل ۶ نمـودار پراکنـدگی تغییـرات فعالیـت خودبـه‌خـودی (SA) را در مقایـسه بـا تغییـرات پاسـخ ON در زمانهای مختلف پس از تحریک NBM در گروه (با اثر کاهشی) نشان می‌دهـد. شـکل NBM-50 ، NBM-100، NBM-200، NBM-300 و NBM-500 نشان می‌دهد که نقاط داده شده در زیر خط اریب مجتمع شده اند. پس تحریک NBM پاسـخهای تحریک شده توسط جابه‌جایی ویسکر را در گروه با اثر کاهـشی در زمانهای ۵۰ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ ، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلـی ثانیـه پـس از تحریک NBM کاهش می‌دهد. در حالی‌که فعالیت زمینه در این نورون‌ها تغییر نمی‌کند.



شکل ٦. نمودار پراکندگی تغییرات فعالیت خودبه‌خودی (SA) در مقایسه با تغییرات پاسخ ON در زمانهای مختلف پس از تحریـک NBM در گروه با اثر کاهشی.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۷. نمودار تأثیر تحریک الکتریکی NBM بر زمان تأخیر پاسخ نورونها به شروع و خاتمه تحریک ویسکر اصلی. هر ستون بیانگر میانگین ± خطای معیار می‌باشد (n=۲۸). (Paired-t-test, ***P<۰/۰۰۱)

شکل NBM-800 نشان می‌دهد که افت پاسخ در زمان ۸۰۰ میلی ثانیه پس از تحریک از بین رفته و بیشتر نقاط در بالای خط اریب و اطراف عدد یک مجتمع شده‌اند. مقایسه زمان تأخیر پاسخ نورون ها به تحریک ویسکر اصلی قبل و بعد از تحریک الکتریکی NBM نشان می‌دهد که زمان تأخیر پاسخ ON نورون‌ها با تحریک الکتریکی NBM افزایش یافته است. این افزایش از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (Paired t-test,P<۰/۰۰۱). همچنین، زمان تأخیر پاسخ نورون‌ها به بازگشت ویسکر به حالت استراحت (پاسخ OFF) بعد از تحریک الکتریکی NBM نسبت به قبل از تحریک NBM به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Paired t-test,P<۰/۰۰۱). اختلاف معنی‌داری بین زمان تأخیر پاسخ نورون به تحریک ویسکر اصلی (پاسخ ON وOFF) در زمانهای مختلف پس از تحریک الکتریکی NBM وجود ندارد. شکل ۷ زمان تأخیر پاسخ نورون‌ها را قبل و بعد از تحریک NBM نشان می‌دهد.

بحث

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اعمال جریان الکتریکی مختصر بهNBM می تواند فعالیت نورون‌های قشری به تحریک مکانیکی کنترل شده ویسکر را تغییر دهد. اگر چه فعالیت خودبه‌خودی نورون‌ها پس از تحریک الکتریکی NBM تغییر نمی‌کند، اما فعالیت برانگیخته شده آنها توسط انحراف ویسکر پس از تحریک الکتریکی NBM تغییر می‌کند. بیشترین پاسخ مشاهده شده پس از تحریک الکتریکی NBM کاهش پاسخ نورون‌ها است. زمان تأخیر پاسخ نورون‌ها نیز پس از تحریک

www.SID.ir

NBM به طور کاملاً معنی‌داری افزایش می‌یابد. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که تحریک الکتریکی NBM موجب آزاد شدن استیل کولین در قشر می‌شود (۲۰- ۱۷). پارامترهای تحریک در میزان آزاد شدن استیل کولین در قشر مؤثر هستند. در این مطالعه، موج تحریک قطاری از امواج مربعی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۳۰ μA بود که از طریق الکترود فلزی به NBM اعمال می‌گردید. این فرم امواج می‌تواند بازتابی از فعالیت فیزیولوژیک فیبرهای کولینرژیک را در NBM ایجاد کند (۲۱). زمان تحریک NBM حداقل ۵۰ میلی ثانیه قبل از تحریک ویسکر بود. زیرا نشان داده شده است که ۲۰ میلی ثانیه بعد از تحریک NBM می‌توان یک پاسخ در قشر حسی پیکری ثبت کرد (۲۲). لذا زمانهای انتخاب شده مدت کافی برای آزاد شدن استیل کولین از پایانه‌های آکسونی نورون‌های NBM را فراهم می نماید. نتایج ما نشان داد که پاسخ بیشتر نورون‌های تغییر یافته، پس از تحریک NBM کاهش پیدا می‌کند. حداکثر کاهش پاسخ ۳۵٪ است که در زمان ۱۰۰ میلی ثانیه پس از تحریک NBM ایجاد می‌شود. اگر چه مطالعات قبلی که با استفاده از استیل کولین آیونتوفورز شده انجام شده بود، نشان می‌دهد که استیل کولین یک اثر فزاینده دارد و کاربرد متوالی آن تولید پاسخهای قویتر می‌کند (۲۴، ۲۳) و این پاسخها با واسطه گیرنده‌های موسکارینی به وجود می‌آیند اما وجود پاسخهای مهاری در نورون‌های قشری به وسیله استیل کولین نیز قبلاً گزارش شده است (۲۷-۲۵). دو فرضیه برای توجیه پاسخهای کاهشی محتمل است: **۱.** وجود پاسخهای کاهشی به علت تأثیر استیل کولین روی نورون‌های واسطه مهاری است که نورون‌های هرمی قشر را مهار می‌کنند. **۲.** وجود پاسخهای کاهشی به دلیل تحریک نورون های گابارژیک NBM است که نورون‌های قشری را عصب‌دهی کرده‌اند. علاوه بر نورون‌های هرمی، دو نوع نورون واسطه گابارژیک که از نظر مورفولوژی و خصوصیات الکتروفیزیولوژیک با یکدیگر متفاوت هستند، در لایه V قشر یافت می‌شوند (۲۸). نورون‌های FS یا Fast Spike و نورون‌های LTS یا Low Threshold Spike که هر دو نورون واسطه با نورون‌های هرمی ارتباط سیناپسی دارند. آورانهای کولینرژیک که از NBM منشأ گرفته‌اند به طور متراکم در لایه V قشر توزیع می‌شوند و با سلولهای هرمی و نورون‌های واسطه مهاری ارتباط سیناپسی برقرار می‌کنند (۸). علیرغم تفاوتهای مورفولوژیک که میان سلولهای LTS و FS وجود دارد، از نظر پاسخ به استیل کولین نیز این دو متفاوت هستند. استیل کولین سلولهای مهاری LTS را از طریق گیرنده‌های نیکوتینی تحریک می‌کند و منجر به مهار کولینرژیکی قشر می‌گردد. در حالی که سلولهای FS از طریق گیرنده‌های موسکارینی توسط استیل کولین هیپرپلاریزه می‌شود و از طریق حذف مهار (Disinhibition) نورون‌های هرمی موجب تحریک قشر می‌شود (۲۹).

مشاهدات آزمایشگاهی نشان داده است که تجویز آیونتوفورتیک استیل کولین روی نورون‌های قشر ابتدا یک مکث (Pause) قبل از تحریک طولانی مدت و آهسته ایجاد می‌کند که این مکث را به فعال شدن نورون‌های واسطه گابارژیک قشر نسبت داده‌اند که قبل از این که اثر تحریک مستقیم بگذارد، فعالیت نورون‌های هرمی را کاهش می‌دهد (۳۱،۳۰). احتمال داده می‌شود که اثرات کاهشی مشاهده شده در آزمایشهای ما به دلیل فعال شدن نورون‌های واسطه مهاری گابارژیک توسط استیل کولین آزاد شده از فیبرهای کولینرژیک باشد. زیرا حداکثر پاسخ کاهشی ۱۰۰ میلی ثانیه پس از تحریک NBM مشاهده می‌شود و به مرور زمان این پاسخ از بین می رود. به‌طوری که پاسخ نورون‌ها ۸۰۰ میلی ثانیه پس از تحریک NBM اختلاف معنی‌داری با پاسخ نورون‌ها قبل از تحریک NBM ندارد. به هرحال نتایج این تحقیق با مطالعاتی که نشان داده‌اند میان استیل کولین آزاد شده از NBM و نورونهای واسطه مهاری داخل قشری تداخلاتی وجود دارد و نورونهای واسطه قشری سریعتر از نورونهای هرمی قشر توسط استیل کولین تحریک می‌شوند، هماهنگ می‌باشد (۳۰،۳۱). از طرف دیگر، مشاهده شده است که تحریک بعضی نواحی قاعده مغز جلویی (Basal Forbrain: BF) می‌تواند تأثیرات مهاری قوی در قشر ایجاد کند. در این موارد منبع مهاری که به دنبال تحریک BF مشاهده می‌شود، ناشی از فعالیت نورون‌های دیگر BF غیر از

Archive of SID
www.SID.ir

نورون‌های کولینرژیک است. مثلاً نورون‌های گابارژیک فیبرهای خود را به قشر فرستاده، با گروههای معینی از نورون‌های قشر تماس دارند و از این طریق می‌توانند موجب مهار داخل قشری گردند. فقدان افزایش استیل کولین آزاد شده که مستقیماً با میکرودیالیز اندازه‌گیری می‌شود، ماهیت غیر کولینرژیک این پاسخها را نشان می‌دهد (۲۰). از آن‌جایی‌که در این مطالعه الکترود تحریکی در NBM قرار می‌گرفت که ۹۰ درصد اجسام سلولی NBM را نورون‌های کولینرژیک تشکیل می‌دهند و با توجه به آن‌که بیشترین اثر مشاهده شده اثرات کاهشی بوده است، لذا این احتمال که تحریک سلول‌های گابارژیک NBM علت اثرات کاهشی مشاهده شده باشد، ناچیز به نظر می‌رسد. به تازگی در یک مطالعه جامع که Oldford و همکارش انجام داده‌اند، به بررسی تأثیر استیل کولین داخلی و خارجی روی پاسخهای برانگیخته شده حسی و پاسخهای داخل قشری پرداخته‌اند (۳۲). نتایج آنها نشان می‌دهد که استیل کولین دارای تأثیر Input-Specific و وابسته به مقدار می‌باشد. نتایج آنها نشان می‌دهد که استیل کولین چهار اثر اصلی روی قشر دارد: یکی از این اثرات، اثر کاهشی موسکارینی پاسخهای برانگیخته شده حسی است که می‌تواند نتیجه احتمالی آزاد شدن استیل کولین فیزیولوژیک باشد. با توجه به این مطالعه در تحقیق حاضر، اثر کاهشی مشاهده شده روی پاسخهای برانگیخته شده حسی می‌تواند یک اثر فیزیولوژیک آزاد شدن مقادیر کم استیل کولین باشد. آنالیز کیفی پاسخ نورون‌ها نشان می‌دهد که نورون‌هایی که با تحریک NBM پاسخهایشان افت می‌کند، قبل از تحریک NBM پاسخهای بزرگتری به تحریک ویسکر ایجاد می‌کردند. به طوریکه یک رابطه خطی میان بزرگی پاسخ نورون‌ها قبل از تحریک NBM و درصد کاهش پاسخ بعد از تحریک NBM وجود دارد. پس این احتمال وجود دارد که استیل کولین آزاد شده روی جمعیت‌های مختلف نورونی که دارای ویژگیهای الکتروفیزیولوژیک متفاوت هستند، اثر کرده و تأثیرات متفاوت به‌وجود آورده است. مطالعات قبلی نیز گزارش کرده‌اند که دو جمعیت مختلف از نورون‌ها در قشر حسی پیکری موش صحرایی وجود دارد که به طور متفاوت تحت تأثیر استیل کولین قرار می‌گیرند (۳۳). همچنین یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که تحریک NBM زمان شروع پاسخ و زمان خاتمه پاسخ نورون‌ها به تحریک ویسکر را به تعویق می‌اندازد. از آن‌جایی که گیرنده‌های کولینرژیک هم به طور پیش سیناپسی روی آوران‌های تالامو کورتیکال (۳۴) و هم به طور پس سیناپسی روی نورون‌های قشری وجود دارد (۳۰،۳۵) و سیناپسهای هم داخل قشری و هم تالاموکورتیکال با فعال شدن گیرنده‌های موسکارینی تضعیف می‌شوند (۳۸-۳۶)، لذا احتمال داده می‌شود که آزاد شدن استیل کولین با تأثیر بر گیرنده‌های کولینرژیک که به طور پیش سیناپسی روی نورون‌های تالاموکورتیکال قرار دارند، آزاد شدن نوروترنسمیتر را به تأخیر انداخته، منجر به افزایش زمان شروع پاسخ می‌گردد. از طرف دیگر آزاد شدن استیل کولین با تأثیر بر گیرنده‌های کولینرژیک سیناپسهای داخل قشری و تضعیف آنها منجر به افزایش زمان تأخیر پاسخ نورونها به بازگشت ویسکر به وضعیت اولیه می‌گردد. به طور خلاصه یافته‌های ما نشان می‌دهد که NBM تأثیری بر فعالیت پایه و خودبه‌خودی نرونهای قشر ندارد ولی در تنظیم تعادل تحریک و مهار قشر بارل و شکل‌دهی پاسخ نورونها نقش مهمی دارد. زیرا تحریک الکتریکی هسته NBM پاسخ نورونهای قشر بارل به محرک‌های حسی را تغییر می‌دهد. بیشترین تغییر مشاهده شده کاهش پاسخ برانگیخته شده نورونها است. اثرات کاهشی مشاهده شده وابسته به زمان است.

References

1. Lehman J, Nagy JI, Atmadia S, Fibiger HC. The neucleus basalis magnocellolaris: The origin of a cholinergic projection to the neocortex of the rat. Neuroscience 1980; 5: 1161-1174.

2. Mesulam M-M, Geula C. Nucleus basalis (Ch4) and cortical cholinergic innervation of the human brain: observations based on the distribution of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase. J Comp Neurol 1988; 275: 216–240.

Archive of SID
www.SID.ir

3. Eckenstein FP, Baughman RW, Quinn J. An anatomical study of cholinergic innervation in rat cerebral cortex. Neuroscience 1988; 25:457-474.

4. Houser CR, Crawford GD, Salvaterra PM, Vaughn JE. Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase in rat cerebral cortex: a study of cholinergic neurons and synapses. J Comp Neurol 1985; 234: 17-34.

5. Arendt T, Bigl V, Tennstedt A, Arendt A. Neuronal loss in different parts of the nucleus basalis is related to neuritic plaque formation in cortical target areas in Alzheimer's disease. J Neurosci 1985; 14:1–14.

6. Zhang YQ, Lu SG, Ji YP, Zhao JQ, Mei J. Electrophysiology and pharmacology properties of nucleus basalis magnocellularis neurons in rats. Acta Pharmacol Sin 2004; 25:161-170.

7. Baskerville KA, Chang HT, Herron P. Topography of cholinergic afferents from the nucleus basalis of Meynert to representational areas of sensorimotor cortices in the rat. J Comp Neurol 1993; 335:552-562.

8. Eckenstein F, Thoenen H. Cholinergic neurons in the rat cerebral cortex demonstrated by immunohistochemical localization of choline acetyltransferase. Neurosci Lett 1983; 36:211-215.

9. Hefti F, Hartikka J, Salvaterra A, Weiner WJ, Mash D. Localization of nerve growth factor receptors in cholinergic neurons of the human basal forebrain Neurosci Lett 1986; 9:37–41.

10. Grove EA. Efferent connections of the substantia inniminata in the rat. J Comp Neurol 1988; 277:347-364.

11. Hefti F, Hartikka J, Salvaterra A, Weiner WJ, Mash D. Localization of nerve growth factor receptors in cholinergic neurons of the human basal forebrain, Neurosci Lett 1986; 9:37–41.

12. Metherate R, Tremblay N, Dykes RW. The effects of acetylcholine on response properties of cat somatosensory cortical neurons. Neurophysiol 1988; 59:1231-1252.

13. Bickford ME, Gunluk AE, Van Horn SC, Sherman SM. GABAergic projection from the basal forebrain to the visual sector of the thalamic reticular nucleus in the cat. J Comp Neurol. 1994; 348:481-510.

14. Kublik E., Contextual impact on sensory processing at the barrel cortex of awake rat, Acta Neurobiol Exp 2004; 64:229-38.

15. Waite PME, Tracey DJ. Trigeminal sensory system. In: G Paxinos (eds). The rat nervous system, Academic Press 1995; 705-724.

16. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York, 1986.

17. Casamenti F, Deffenu G, Abbamondi AL, Pepeu G. Changes in cortical acetylcholine output induced by modulation of the nucleus basalis, Brain Res Bull 1986; 16:689-695.

18. Kurosawa M, Sato A, Sato Y. Stimulation of the nucleus basalis of Meynert increases acetylcholine release in the cerebral cortex in rats. Neurosci Lett 1989; 98:45-50.

19. Rasmusson DD, CloAw K, Szerb JC. Frequency-dependent increase in cortical acetylcholine release evoked by stimulation of the nucleus basalis magnocellularis in the rat. Brain Res 1992; 594:150-154.

20. Jimenez-Capdeville ME, Dykes RW, Myasnikov AA. Differential control of cortical activity by the basal forebrain in rats: A role for both cholinergic and inhibitory influences. J Comp

Archive of SID

www.SID.ir

Neurol. 1997; 381:53-67.

21. Rasmusson DD, Dykes RW. Long- term enhancement of evoked potentials in cat somatosensory cortex produced by co-activation of the basal forebrain and cutaneous receptors. Exp Brain Res 1988; 70:276-286.

22. Webster HH, Rasmusson DD, Dykes RW, Schliebs R, Schober W, Bruckner G, Biesold D. Long-term enhancement of evoked potentials in raccoon somatosensory cortex following co-activation of the nucleus basalis of Meynert complex and cutaneous receptors. Brain Res 1991; 545:292-296.

23. Woody CD, Swartz BE, Gruen E. Effects of acetylcholine and cyclic GMP on input resistance of cortical neurons in awake cats. Brain Res 1978; 158:373-395.

24. Metherate R, Tremblay N, Dykes RW. Acetylcholine permits long-term enhancement of neuronal resposiveness in cat primary somatosensory cortex. Neuroscience 1987; 22:75-81.

25. Phillis JW, York DH. Pharmacological studies on a cholinergic inhibition in the cerebral cortex. Brain Res 1968;10:297-306.

26. Sillito AM, Kemp JA. Cholinergic modulation of the functional organization of the cat visual cortex. Brain Res 1983; 289:143-55.

27. Howard MA, Simons DJ. Physiology effect of nucleus basalis magnocellularis stimulation on rat barrel cortex neurons Exp Brain Res 1994; 102: 21-33.

28. Kawaguchi y. Groupings of nonpyramidal and pyramidal cells with specific physiological and morphological characteristics in rat frontal cortex. J Neurophysiol 1993; 69:416-31.

29. Xiang Z, Huguenard JR, Prince DA. Cholinergic switching within neocortical inhibitory networks. Science 1998; 281:985-987.

30. McCormick DA, Prince DA. Two types of muscarinic response to acetylcholine in mammalian cortical neurons. Proc Natl Acad Sci 1985; 82:6344-8.

31. McCormick DA, Prince DA. Mechanisms of action of acetylcholine in the guinea-pig cerebral cortex in vitro. J Physiol 1986; 375:169-94.

32. Oldford E, Castro-Alamancos MA. Input – specific effect of acetylcholine on sensory and intracortical evoked responses in the barrel cortex. Neuroscience 2003; 117:769-778.

33. Lamour Y, Dutar P, Jobert A. A comparative study of two populations of acetylcholine-sensitive neurons in rat somatosensory cortex. Brain Res 1983; 289:157-167.

34. Vogt BA. Afferent specific localization of muscarinic acetylcholine receptors in cingulate cortex. J Neurosci 1984; 4:2191-2199.

35. Houser CR, Crawford GD, Salvaterra PM, Vaughn JE. Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase in rat cerebral cortex: a study of cholinergic neurons and synapses. J Comp Neurol 1985; 234:17-34.

36. Gil Z, Connors BW, Amitai Y. Differential regulation of neocortical synapses by neuromodulators activity. Neuron 1997; 19:679-86.

37. Hsieh CY, Cruikshank SJ, Metherate R. Differential modulation of auditory thalamocortical and intracortical synaptic transmission by cholinergic agonist. Brain Res 2000; 880:51-64.

38. Kirkwood A, Rozas C, Kirkwood J, Perez F, Bear MF. Modulation of long-term synaptic depression in visual cortex by acetylcholine and norepinephrine. J Neurosci 1999; 19:1599-1609.

Archive of SID

www.SID.ir