

## اثر تزریق سدیم سالیسیلات بر یادگیری و حافظه فضایی موش صحرائی نر

لیلا عظیمی<sup>۱</sup>؛ علی پورمتعبد<sup>۱\*</sup>؛ سید ارشاد ندایی<sup>۱</sup>؛ محمد رسول قدمی<sup>۱</sup>

### چکیده

زمینه: آنزیم سیکلواکسیژناز به عنوان یک عامل تنظیمی در شکل پذیری سیناپسی شناخته شده است. گزارش شده که شکل پذیری سیناپسی یکی از مکانیسم‌های درگیر در فرآیندهای یادگیری و حافظه است. در مطالعه حاضر اثرات تجویز محیطی دوزهای مختلف سدیم سالیسیلات (مهارکننده غیرانتخابی سیکلواکسیژناز) بر یادگیری و حافظه فضایی مورد بررسی قرار گرفته است. روش‌ها: موش‌های صحرائی نر، در چهار گروه دوزهای مختلف سدیم سالیسیلات (صفر، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ mg/kg, i.p.) را دریافت کردند. مطالعات با استفاده از ماز آبی موريس انجام شد. شاخصه‌های یادگیری و حافظه فضایی به روش آنالیز واریانس یک طرفه و دوطرفه و به دنبال آن آزمون تعقیبی توکی بررسی شد. یافته‌ها: تجویز داخل صفاقی سدیم سالیسیلات اثر معناداری بر شاخصه‌های یادگیری فضایی (شامل زمان سپری شده و مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان در طی روزهای آموزش) نداشت اما تجویز دوز بالای دارو (۴۰۰ mg/kg) در مرحله probe trial، درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف را به طور معناداری افزایش داد. نتیجه‌گیری: تجویز محیطی مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز، تأثیر معناداری بر یادگیری فضایی در ماز آبی موريس ندارد اما به خاطر آوری اطلاعات فضایی را تقویت می‌کند.

کلیدواژه‌ها: ماز آبی موريس، یادگیری و حافظه فضایی، سیکلواکسیژناز، سدیم سالیسیلات، موش صحرائی

«دریافت: ۱۳۸۹/۹/۳ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۲/۰۶»

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

\* عهده دار مکاتبات: کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۰۸۳۱-۴۲۷۴۶۱۸، فاکس: ۰۸۳۱-۴۲۷۴۶۲۳-۰۸۳۱

Email: apourmotabbed@kums.ac.ir

### مقدمه

COX-2 در سلول‌های عصبی توسط فعالیت‌های سیناپسی

تنظیم می‌شود (۸).

داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی (NSAIDs)،

خانواده بزرگی از داروها هستند که با مهار انواع

سیکلواکسیژناز، تولید پروستاگلاندین‌ها را کاهش داده

(۹) و اثرات ضددرد، ضد تب و ضد التهاب آن‌ها

به خوبی شناخته شده است (۱۰). تجویز به موقع انواع

NSAIDs از قبیل مهارکننده‌های غیرانتخابی COX

(ایندومتاسین و آسپرین) و مهارکننده‌های انتخابی COX-

2 (NS-398)، اثرات مفیدی بر پیشگیری و بهبود

آسیب‌های مغزی ناشی از تحریک زیاد دارد (۱۱).

سالیسیلات‌ها از قبیل آسپرین و سدیم سالیسیلات به علت

قیمت ارزان، همچنان از پرمصرف‌ترین اعضاء این

پروستاگلاندین‌ها از شناخته شده‌ترین متابولیت‌های اسید

آراشیدونیک هستند (۱) که ساخت آن‌ها توسط آنزیم‌های

سیکلواکسیژناز کاتالیز می‌شود (۲). دو ایزوفرم از

سیکلواکسیژنازها شامل COX-1 و COX-2 شناسایی شده

است (۳ و ۴). COX-1 شکل رایج آنزیم بوده و در

فعالیت‌های محافظتی سلول (Housekeeping cellular

function) مشارکت می‌کند (۵). درحالی‌که COX-2

شکل القایی سیکلواکسیژناز بوده و بیان آن در پاسخ به

محرك‌های مختلف از قبیل عوامل التهابی و میتوزن القاء

می‌شود (۶). هر دو نوع ایزوفرم سیکلواکسیژناز در

نواحی مختلف مغزی از قبیل قشر تمپورال، آمیگدال،

شکنج دندانه‌ای و هیپوکامپ یافت شده (۷) و میزان بیان

قبیل روفکوکسیب (مهارکننده انتخابی COX-2) و ناپروکسن (مهارکننده غیرانتخابی COX) بر بهبود حافظه و یادگیری فضایی حیوانات پیر سالم و نیز الگوی حیوانی بیماری آلزایمر دیده شده است (۲۴). گرچه مصرف مزمن NSAID خطر بروز و پیشرفت بیماری آلزایمر را کاهش داده اما اثرات این داروها بر تقویت فرآیندهای شناختی به خوبی بررسی نشده است (۲۱) و مطالعات کمی در رابطه با اثرات حفاظتی مصرف کوتاه مدت NSAIDs بر تخریب حافظه وجود دارد (۲۵).

همچنین یافته‌های متناقضی در رابطه با اثرات مهار سیکلواکسیژناز بر فرآیند یادگیری دیده می‌شود که از آن جمله می‌توان به یافته‌های Bruce-Jones و همکارانش در رابطه با اثرات تقویتی مهار COX بر حافظه در مقایسه با اثرات تخریبی دیده شده از آن در بررسی‌های Holscher اشاره کرد (۱۹ و ۲۶). این تفاوت‌ها نشان می‌دهد که نقش سیکلواکسیژنازها در فرآیند یادگیری و حافظه نسبت به اطلاعات موجود، پیچیده‌تر بوده و نیاز به مطالعه و بررسی بیشتری دارد (۲۵). لذا به منظور شناسایی بیشتر نقش این آنزیم‌ها در یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرائی، در این تحقیق اثرات تجویز محیطی سدیم سالیسیلات (از شناخته شده‌ترین NSAIDs) بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرائی سالم و جوان با استفاده از آزمون ماز آبی مورس بررسی شد.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های صحرائی نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات از مؤسسه رازی تهران تهیه شدند و در قفس‌های ۴-۳ تایی با سیکل تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته (سیکل نوری ساعت ۸ صبح شروع می‌شد) و در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و به استثنای زمان آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. در هر سری آزمایش، ۷-۸ رأس حیوان مورد استفاده قرار گرفت. هر حیوان

خانواده دارویی بوده و با وجود عرضه طیف وسیعی از داروها همچنان خط اول درمان بیماری‌های التهابی مفصلی و استخوانی را شامل می‌شوند (۱۰ و ۱۲). مطالعات نشان داده که سالیسیلات‌ها در آسیب‌های مغزی ناشی از ایسکمی، اثر حفاظت‌کننده نرونی دارند که مستقل از اثرات ضدالتهابی آن‌ها می‌باشد درحالی‌که اثر مشابهی از ایندومتاسین که همانند آن‌ها یک مهارکننده غیرانتخابی COX است دیده نمی‌شود. این اثر حفاظتی از مهار تجمع خارج سلولی گلوتامات و اثرات سوء آن ناشی می‌شود (۱۳ و ۱۴). علاوه بر این نشان داده شده است که سالیسیلات انتقال گابا ترژیکی را تحت تأثیر قرار داده و اثرات گسترده‌ای بر انواع کانال‌های یونی از قبیل کانال گیرنده NMDA، کانال‌های کلسیمی نوع L و کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ دارد (۱۷-۱۵). از آنجا که این عوامل در فرآیند یادگیری و حافظه مشارکت دارند می‌توان انتظار داشت که اثرات سالیسیلات بر آن‌ها شکل‌گیری حافظه را تحت تأثیر قرار دهد.

از طرفی به نظر می‌رسد COX-2 در فعالیت‌های وابسته به پلاستیسیته نرونی نقش داشته باشد (۱۸). از آنجا که پلاستیسیته نرونی یکی از عوامل دخیل در فرآیند یادگیری و حافظه است احتمال می‌رود که سیکلواکسیژنازها در مکانیسم‌های فیزیولوژیک دخیل در شکل‌گیری حافظه مؤثر باشند. لذا دور از انتظار نیست که تجویز NSAIDs و از جمله سالیسیلات‌ها، با تغییر میزان یادگیری و حافظه همراه باشد (۲۱-۱۹). محققان نشان دادند که تزریق داخل هیپوکامپی مهارکننده‌های COX-2 تثبیت حافظه را کاهش می‌دهد (۹). از طرف دیگر بیان COX-2 در کورتکس و هیپوکامپ بیماران مبتلا به نقص حافظه ناشی از پیری افزایش یافته و پیشرفت بیماری با مصرف داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی کاهش می‌یابد (۲۲). Jonker و همکارانش نشان دادند که مصرف استیل سالیسیلیک، عملکردهای شناختی از قبیل حافظه کوتاه مدت را در افراد مسن سالم بهبود می‌بخشد (۲۳). اثر مشابهی در رابطه با سایر NSAIDs از

قرار گرفت. در شش روز اول در هر کارآزمایی، حیوان درحالی که صورتش رو به دیوار حوضچه بود، از یکی از چهار نقطه شمال، جنوب، شرق و یا غرب، در آب رها می شد. هر یک از چهار نقطه در هر بلاک یکبار استفاده شد و ترتیب آن‌ها به صورت تصادفی توسط کامپیوتر تعیین می گردید. هر حیوان ۶۰ ثانیه فرصت داشت تا سکوی پنهان را پیدا کرده و روی آن قرار بگیرد. پس از آن ۳۰ ثانیه بر روی سکوی باقی می ماند و سپس کارآزمایی بعدی به همین ترتیب انجام می گرفت. مرحله probe trial در روز هفتم جهت بررسی تثبیت یادگیری اولیه انجام می شد. در این مرحله از آزمایش، سکوی از حوضچه خارج شده و حیوان طی یک بلاک (شامل چهار کارآزمایی)، اما فقط از یکی از نقاط فوق الذکر (که توسط کامپیوتر تعیین می شد) در آب رها می گردید. در این روز درصد حضور حیوان در ربع دایره ای که در روزهای قبل از سکوی در آن قرار داشت (ربع دایره هدف) توسط کامپیوتر ثبت شد. در روز هشتم، آزمون سکوی آشکار جهت تشخیص هرگونه تداخل احتمالی فاکتورهای بینایی و حسی حرکتی بر توانایی حیوان برای یافتن سکوی انجام شد. در این مرحله، سکوی در ربع دایره جنوب شرقی قرار گرفت درحالی که برای حیوان قابل رؤیت شده بود. بدین منظور سطح سکوی توسط فویل آلومینیوم پوشانیده شده و یک سانتی متر بالاتر از سطح آب قرار گرفت. همچنین تمام علائم خارج از ماز از حوزه دید حیوان حذف گردید. در چنین شرایطی تنها علامت موجود برای رسیدن حیوان به سکوی، خود سکوی قابل رؤیت بود. سپس هر حیوان یک بلاک کامل مورد آزمایش قرار می گرفت و مدت زمان لازم برای یافتن سکوی آشکار و سرعت شنای حیوان ثبت شد.

بررسی نتایج با استفاده از روش آماری ANOVA انجام شد. برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها آنالیز post-hoc از نوع آزمون Tukey انجام گرفت. در کلیه موارد  $P < 0.05$  به عنوان سطح تفاوت معنادار بودن اختلاف بین گروه‌های آزمایش در نظر گرفته شد.

پس از انجام مطالعه، به وسیله اتر تحت بیهوشی عمیق قرار گرفته و کشته می شد.

داروی مورد استفاده در پژوهش حاضر سدیم سالیسیلات (Sigma) بود که در سالین حل می شد. حیوانات به طور تصادفی در چهار گروه تحت تجویز سدیم سالیسیلات (صفر، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ mg/kg, i.p.) قرار گرفتند. لازم به ذکر است که دوزهای دارو از مطالعات مقدماتی انجام شده در آزمایشگاه استخراج شده اند.

از ماز آبی مورس جهت ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی موش‌ها استفاده شد. ماز آبی مورس از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه‌رنگ با قطر داخلی ۱۴۰ سانتی متر و ارتفاع ۸۰ سانتی متر تشکیل شده که تا ارتفاع ۳۵ سانتی متر با آب  $2 \pm 20$  درجه سانتی گراد پر می شد. یک سکوی کوچک از جنس پلگسی گلاسی شفاف با قطر ۱۰ سانتی متر در مرکز ربع شمال غربی حوضچه، یک سانتی متر زیر سطح آب قرار می گرفت. هر موش به مدت ۸ روز تحت آزمایش قرار می گرفت که موقعیت سکوی در طی ۶ روز ابتدای آزمایش ثابت بود. یک فرستنده نور مادون قرمز به موش متصل شده و اطلاعات مربوط به مسیر حرکت حیوان از طریق یک دوربین مدار بسته که نور مادون قرمز را ردیابی می کرد به کامپیوتر انتقال یافته و پارامترهای مختلف از جمله مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی به وسیله کامپیوتر ثبت و آنالیز می گردید. آزمایش‌ها در اتاق نیمه تاریک انجام می شد که علائم قابل رویتی از قبیل کامپیوتر، قفسه‌ها، ساعت، پرده‌ها، پنجره‌ها و... در آن وجود داشت و حیوان با استفاده از علائم خارج مازی، موقعیت سکوی پنهان را پیدا می کرد.

به منظور آشنایی حیوان با شرایط محیط آزمایش و فرد آزمایشگر، هر حیوان به مدت پنج روز قبل از شروع آزمایشات تحت دست‌ورزی (Handling) قرار گرفت. پس از آن هر موش به مدت هشت روز و هر روز یک بلاک (هر بلاک شامل چهار کارآزمایی) مورد آزمایش

## یافته‌ها

بررسی فرآیند یادگیری در طی روزهای آزمایش

در این قسمت نتایج حاصل از میانگین زمان سپری‌شده (escape latency) و مسافت طی‌شده (distance) برای رسیدن به سکوی پنهان در روزهای آموزش مورد بررسی قرار گرفت.

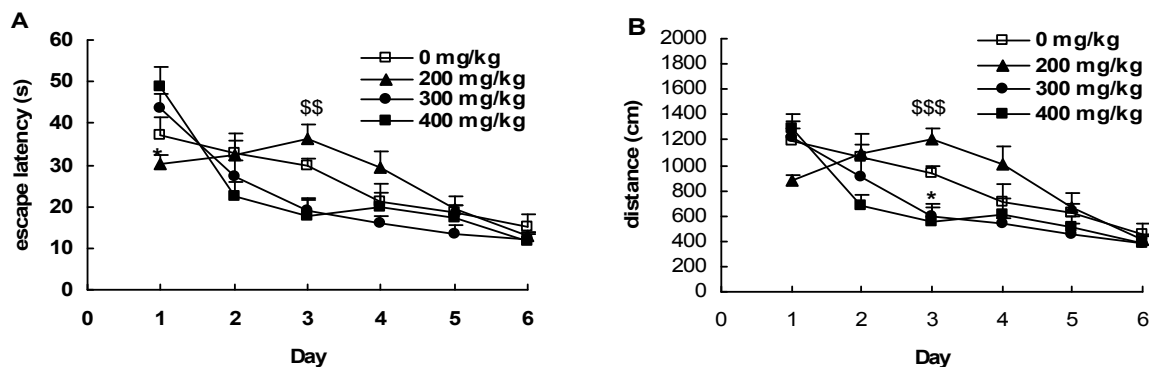
۱- میانگین زمان سپری‌شده برای رسیدن به سکوی (escape latency): نتایج بیانگر کاهش میانگین زمان سپری‌شده برای رسیدن به سکوی در طی روزهای آموزش، در تمامی گروه‌های دریافت‌کننده سالیسیلات بود (۰ mg/kg،  $F_{(5,35)}=8/59$ ،  $P<0/0001$ ؛ ۲۰۰ mg/kg،  $F_{(5,35)}=21/93$ ،  $P<0/0001$ ؛ ۳۰۰ mg/kg،  $F_{(5,35)}=10/35$ ،  $P<0/0001$ ؛ ۴۰۰ mg/kg،  $F_{(5,30)}=16/07$ ،  $P<0/0001$ ).

آنالیز آماری این نتایج نشان داد که به‌طور کلی بین گروه‌های آزمایش، تفاوت معناداری در میزان یادگیری وجود نداشته (P=0/20 و  $F_{(3,27)}=1/63$ ) اما تفاوت بین روزهای آموزش (P=0/0 و  $F_{(5,135)}=43/7175$ ) و

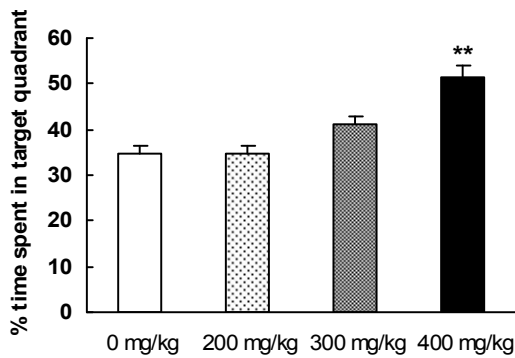
برهم‌کنش گروه‌ها و روزها ( $P=0/00005$ ) و معنادار بود. مقایسه Post hoc نشان داد مدت زمان لازم برای یافتن سکوی در روز اول آموزش در دوز پایین دارو (۲۰۰ mg/kg) نسبت به دوز بالای آن (۴۰۰ mg/kg) به‌طور معناداری کم‌تر بود ( $P<0/05$ ). اما در سومین روز از روند یادگیری، افزایش معناداری در مدت‌زمان لازم برای یافتن سکوی در دوز پایین دارو (۲۰۰ mg/kg) نسبت به دوزهای بالاتر (۳۰۰ و ۴۰۰ mg/kg) وجود داشت ( $P<0/01$ ) (نمودار ۱-A).

۲- میانگین مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکوی در طی روزهای آموزش:

کاهش میانگین مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکوی در طی روزهای آموزش، در گروه دریافت‌کننده محیطی بیانگر مثبت بودن روند یادگیری در این گروه‌ها می‌باشد (۰ mg/kg،  $F_{(5,35)}=7/92$ ،  $P<0/001$ ؛ ۲۰۰ mg/kg،  $F_{(5,35)}=11/65$ ،  $P=0/0$ ؛ ۳۰۰ mg/kg،  $F_{(5,30)}=13/16$ ،  $P=0/0$ ؛ ۴۰۰ mg/kg،  $F_{(5,30)}=13/16$ ،  $P=0/0$ ).



نمودار ۱- بررسی اثر تجویز داخل صفاقی سدیم سالیسیلات بر روند یادگیری در ماز آبی موریس. نمودارها مقایسه زمان سپری‌شده (escape latency) (A) و مسافت طی‌شده (distance) (B) (Mean±SEM) برای رسیدن به سکوی در طی روزهای آموزش را نشان می‌دهند (n=7-8). (A) زمان لازم برای یافتن سکوی (escape latency) در گروه دریافت‌کننده داخل صفاقی دوز پایین دارو (۲۰۰ mg/kg) نسبت به دوز بالای آن (۴۰۰ mg/kg) در روز اول آموزش به‌طور معناداری ( $P<0/05$ ) کم‌تر بود. اما در روز سوم، زمان لازم برای یافتن سکوی در گروه دریافت‌کننده دوز پایین (۲۰۰ mg/kg) نسبت به دوزهای بالاتر (۳۰۰ و ۴۰۰ mg/kg) افزایش معناداری ( $P<0/01$ ) را نشان می‌داد. (B) در گروه دریافت‌کننده دوز بالای دارو (۴۰۰ mg/kg) نسبت به گروه کنترل، کاهش معناداری در مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکوی در روز سوم آموزش وجود داشت ( $P<0/05$ )\*، همچنین مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکوی در گروه دریافت‌کننده دوز پایین دارو (۲۰۰ mg/kg) نسبت به دوزهای بالاتر (۳۰۰ و ۴۰۰ mg/kg) در سومین روز آموزش به‌طور معناداری کم‌تر بود ( $P<0/001$ )<sup>SSS</sup>.



**نمودار ۲-** بررسی اثر تجویز داخل صفاقی سدیم سالیسیلات بر فرآیند به‌خاطرآوری اطلاعات. این نمودار مقایسه درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در مرحله probe trial را نشان می‌دهد (n=۷-۸). افزایش معناداری در میزان حضور حیوانات دریافت‌کننده داخل صفاقی دوز بالای دارو (۴۰۰mg/kg) در ربع دایره هدف نسبت به سایر گروه‌ها وجود داشت (\*P<۰/۰۱)

## بحث

نتایج تحقیقات ما نشان داد که تجویز داخل صفاقی سدیم سالیسیلات بر روند یادگیری فضایی نسبت به گروه شاهد، اثر معناداری نداشت اما روند به‌خاطرآوری اطلاعات فضایی در ماز آبی موریس را تسهیل کرد.

مطالعات پیشین در رابطه با اثرات سالیسیلات بر فرآیند یادگیری و حافظه، نشان داده‌اند که تجویز این دارو می‌تواند مانع از کاهش حافظه ناشی از پیری شده و نقص ایجادشده در این فرآیند را بهبود بخشد (۲۳). تجویز سایر مهارکننده‌های سیکلواکسیژناز نیز می‌تواند اثر مشابهی بر فرآیند یادگیری و حافظه در حیوانات مسن داشته باشد (۲۴). در همین راستا نشان داده شده است که مهار سیکلواکسیژناز با تجویز NS-398 (مهارکننده انتخابی COX-2) اثرات مخرب هیپوکسی بر حافظه فضایی را کاهش می‌دهد که بیانگر نقش احتمالی افزایش COX-2 در تخریب یادگیری و حافظه فضایی است (۲۷). همچنین اثرات مثبتی از تجویز ایندومتاسین (مهارکننده غیرانتخابی COX) بر جلوگیری از تخریب حافظه، ناشی از فرآیندهای غیرالتهابی نشان داده شده است (۲۲).

به‌طورکلی بررسی آماری نتایج حاصل از میانگین مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکو نشان داد که بین گروه‌های آزمایش (p<۰/۰۵ و  $F_{(3,27)}=۳/۱۴$ )، روزهای آموزش (p=۰/۰ و  $F_{(5,135)}=۳۴/۸۴$ ) و برهمکنش گروه‌ها و روزها (p=۰/۰ و  $F_{(5,135)}=۳/۸۸$ ) تفاوت وجود دارد. بر اساس مقایسه Post hoc، این تفاوت بین گروه‌های ۰mg/kg و ۴۰۰mg/kg در روز سوم (P<۰/۰۵) معنادار بود. از طرفی مقایسه نتایج نشان داد که در دوزهای پایین دارو (۲۰۰mg/kg)، تغییرات مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکو در طی روزهای آموزش، همانند تغییرات زمان لازم برای یافتن سکو در طی این روزها بود. به این صورت که روند یادگیری در این گروه تا روز سوم به‌تدریج کاهش یافته و پس از آن به حالت نرمال برمی‌گشت. مقایسه post hoc این داده‌ها نشان داد که مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکو در روز سوم در این گروه نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای بالاتر دارو به‌طور معناداری افزایش یافت (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۱-B).

بررسی فرآیند به‌خاطرآوری اطلاعات در مرحله probe trial:

در نمودار ۲ مقایسه درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در گروه‌های مورد مطالعه نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در گروه‌های مختلف تفاوت وجود دارد (p=۰/۰ و  $F_{(3,27)}=۱۵/۱۲$ ). این تفاوت بین گروه ۴۰۰mg/kg با سایر گروه‌ها معنادار (P<۰/۰۱) بود.

## بررسی نتایج آزمون سکوی آشکار

در این مرحله، میانگین سرعت شنای حیوانات و مدت‌زمان سپری‌شده برای رسیدن به سکوی آشکار بین گروه‌های مورد مطالعه مقایسه شد. نتایج نشان داد که تفاوت معناداری در زمان سپری‌شده تا رسیدن به سکوی آشکار و میانگین سرعت شنای حیوانات در گروه‌های مورد مطالعه وجود ندارد.

پنهان در این گروه افزایش یافت اما بعد از چند روز این اثر مهارى از بین رفت و روند یادگیری به حالت نرمال برگشت. این احتمال مطرح است که نقص یادگیری در روزهای نخست آزمایش از اثرات مخرب سالیسیلات بر یادگیری ناشی شده باشد که پس از چند روز با غلبه اثرات تحریکی سالیسیلات جبران شد و به حالت نرمال برگشت. احتمالاً در دوزهای بالاتر سالیسیلات، وقوع همزمان اثرات تسهیلی و مهارى دارو، مانع از بروز اثرات مهارى دارو بر روند یادگیری شده است.

تحقیقات نشان داده که مسیر COX یکی از عوامل تنظیم کننده انتقال عصبی گابائترژیکی در CNS بوده (۳۶) و در حضور سدیم سالیسیلات، میزان ترشح گابا (۳۷) و پاسخهای با واسطه گیرنده GABAA به طور قابل توجهی کاهش می یابد. به همین ترتیب سدیم سالیسیلات با مهار پیش سیناپسی گابا، تحریک پذیری نرونهای هرمی هیپوکامپ در محیط کشت را افزایش داده است (۴۰-۳۸). بر اساس این یافته ها، کاهش اثرات مهارى گابا توسط سالیسیلات می تواند باعث افزایش تحریک پذیری نرونهای دخیل در شکل گیری حافظه شود که این امر بخشی از نتایج به دست آمده از تحقیقات ما در رابطه با اثرات تسهیلی سالیسیلات بر فرآیند به خاطر آوری اطلاعات را تأیید می کند. همچنین سدیم سالیسیلات، تعداد و فعالیت گیرنده های گلوتاماتی NMDA را افزایش می دهد (۱۵ و ۲۱). از آن جا که نقش گیرنده های NMDA در فرآیند یادگیری و حافظه به خوبی شناخته شده است (۴۱)، می توان بخشی از اثرات تسهیلی سالیسیلات بر فرآیند حافظه را ناشی از اثرات آن بر گیرنده های NMDA دانست.

به طور کلی می توان نتایج به دست آمده از این مطالعه در رابطه با اثر تسهیلی سالیسیلات بر شکل گیری حافظه را به اثرات تأیید شده از آن، در رابطه با افزایش پاسخهای تحریکی گلوتاماترژیکی و کاهش پاسخهای گابائترژیکی نسبت داد.

از طرفی مطالعات نشان داده که سدیم سالیسیلات

علی رغم نتایج به دست آمده از آزمایشات ما و سایر مطالعات ذکر شده در رابطه با اثر تقویتی مهار COX بر فرآیند حافظه، یافته های متناقضی در این زمینه وجود دارد. به عنوان مثال می توان به نتایج بررسی های Teather و همکارانش (۲۰۰۲) اشاره کرد که در آن تجویز محیطی ایندومتاسین (مهارکننده غیرانتخابی COX) و NS-398 (مهارکننده انتخابی Cox-2) یادگیری و حافظه فضایی در ماز آبی موریس را تخریب کرده است. این اثر مخرب مهار COX-2 بر فرآیند یادگیری و حافظه به کاهش تولید پروستاگلاندین ها نسبت داده شده است (۲۸). پروستاگلاندین ها از تعدیل کننده های مهم انتقال گلوتاماترژیکی (۲۹)، آدرنرژیک و نورآدرنرژیک (۳۰) است و با افزایش فعالیت گیرنده های NMDA در شروع یادگیری، مقدار آن ها افزایش می یابد (۳۱) که به نوبه خود با اتصال به گیرنده های متابوتروپیک مختلف (۳۲)، نقش مهمی در مسیرهای پیام رسانی مرتبط با یادگیری و حافظه فضایی ایفا می کنند (۳۳). از آن جا که فعالیت آنزیم سیکلواکسیژناز برای تولید پروستاگلاندین ها ضروری است (۱۰)، لذا مهار آنزیم COX-2 می تواند اثرات مخربی بر شکل گیری فرآیند حافظه داشته باشد (۲۴). لازم به ذکر است که در مطالعه مذکور، تجویز پیروکسیکام (مهارکننده انتخابی COX-1) اثر تخریبی مشابه در رابطه با حافظه و یادگیری ایجاد نکرد که می تواند ناشی از غیرالقایی بودن COX-1 و نقش متفاوت آن در فرآیند یادگیری باشد (۲۸ و ۳۴). در همین رابطه، بررسی اثرات تزریق داخل صفاقی استامینوفن (مهارکننده غیراختصاصی COX) نشان داده که تجویز دوزهای بالای این دارو منجر به تخریب یادگیری فضایی و تجویز دوزهای پایین آن باعث تسهیل یادگیری فضایی در ماز آبی موریس شده است (۳۵).

در بخشی از نتایج مطالعه ما اثر دوگانه ای از تجویز سالیسیلات با دوز پایین (۲۰۰ mg/kg) بر روند یادگیری دیده شد. به این صورت که در روزهای ابتدایی آزمایش، مدت زمان لازم و مسافت طی شده برای یافتن سکوی

یک از مکانیسم‌های احتمالی مذکور، نیازمند مطالعات تکمیلی می‌باشد.

قسمت دیگری از نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه نشان داد که تجویز دوزهای مختلف سالیسیلات، تفاوت معناداری بر مدت‌زمان لازم برای یافتن سکوی آشکار و همچنین سرعت شنای حیوانات در این آزمون ایجاد نکرد لذا می‌توان گفت تجویز سالیسیلات، فاقد اثرات سوء بر سیستم‌های بینایی و حسی حرکتی حیوان بوده و نتایج به‌دست‌آمده از تجویز دارو، مربوط به اثر آن در روندهایی است که طی آن‌ها یادگیری فضایی اتفاق می‌افتد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز محیطی سدیم سالیسیلات به‌صورت وابسته به دوز، فرآیند به‌خاطر‌آوری اطلاعات فضایی در ماز آبی موريس را بهبود می‌بخشد. مکانیسم‌های درگیر در ایجاد این پدیده مشخص نبوده و نیازمند مطالعات تکمیلی است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل قسمتی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد.

علاوه بر مهار فعالیت COX-1 و COX-2 مانع از افزایش بیان COX-2 توسط عوامل القاء‌کننده آن می‌شود (۴۲). حضور طولانی‌مدت مهارکننده‌های COX-2 در ناحیه شکنج دندان‌های، میزان وقوع (Long-term potentiation, LTP) در این ناحیه را کاهش داده (۴۳) و تجویز پروستاگلاندین‌ها می‌تواند اثر مخرب مهارکننده‌های COX-2 بر روند یادگیری و حافظه را برگرداند (۴۴). همچنین این احتمال وجود دارد که اثر مهارکننده‌های COX-2 بر کاهش یادگیری و حافظه فضایی از کاهش انتقال کولینرژیک در حضور آن‌ها ناشی شده باشد (۴۵). بنابراین می‌توان گفت سالیسیلات در هیپوکامپ دارای هر دو اثر تحریکی و مهاری است که اثر تحریکی آن، از کاهش فعالیت مهاری گابائرژیکی و افزایش اثرات تحریکی گلوتاماترژیک و اثر مهاری آن، از کاهش عملکرد پروستاگلاندین‌ها و انتقال کولینرژیک ناشی می‌شود. اگر این اثرات تحریکی و مهاری سالیسیلات به‌طور هم‌زمان و با قدرت نسبتاً برابر ایجاد شوند، اثر نهایی دیده شده از آن بر شکل‌گیری حافظه خنثی خواهد بود. یافته‌های موجود در رابطه با اثر دوگانه تجویز دوز پایین سالیسیلات (۲۰۰mg/kg) می‌تواند دلیل دیگری بر وجود هم‌زمان اثرات تحریکی و مهاری دارو بر روند یادگیری و حافظه فضایی باشد. به‌رحال بررسی نقش هر

### References

1. Turini ME, DuBois RN. Cyclooxygenase-2: a therapeutic target. *Annu Rev Med* 2002; 53: 35-57.
2. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38: 97-120.
3. DeWitt DL, Smith WL. Primary structure of prostaglandin G/H synthase from sheep vesicular gland determined from the complementary DNA sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85(5): 1412-6.
4. Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem* 1991; 266(20): 12866-72.
5. Herschman HR. Prostaglandin synthase 2. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1299(1): 125-40.
6. Smith WL, Marnett LJ, DeWitt DL. Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmacol Ther* 1991; 49(3): 153-79.
7. Murray HJ, O'Connor JJ. A role for COX-2 and p38 mitogen activated protein kinase in long-term depression in the rat dentate gyrus in vitro. *Neuropharmacology* 2003; 44(3): 374-80.
8. Yamagata K, Andreasson KI, Kaufmann WE, Barnes CA, Worley PF. Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron* 1993; 11(2): 371-86.
9. Rall JM, Mach SA, Dash PK. Intrahippocampal infusion of a cyclooxygenase-2 inhibitor attenuates memory acquisition in rats. *Brain Res* 2003; 968(2): 273-6.

10. Fathollahi A. Basic and clinical pharmacology of Katzung. 1<sup>st</sup> ed. Tehran: Arjmand; 2002.
11. Leroux P, Hennebert C, Catteau J, Legros H, Hennebert O, Laudenbach V, Marret S. Neuroprotective effects vary across nonsteroidal antiinflammatory drugs in a mouse model of developing excitotoxic brain injury. *Neuroscience* 2010; 167(3):716-23.
12. Amann R, Peskar BA. Anti-inflammatory effects of aspirin and sodium salicylate. *Eur J Pharmacol* 2002; 447(1): 1-9.
13. De Cristóbal J, Cárdenas A, Lizasoain I, Leza JC, Fernández-Tomé P, Lorenzo P, Moro MA. Inhibition of glutamate release via recovery of ATP levels accounts for a neuroprotective effect of aspirin in rat cortical neurons exposed to oxygen-glucose deprivation. *Stroke* 2002; 33(1): 261-7.
14. Castillo J, Leira R, Moro MA, Lizasoain I, Serena J, Dávalos A. Neuroprotective effects of aspirin in patients with acute cerebral infarction. *Neurosci Lett* 2003; 339(3): 248-50.
15. Guitton MJ, Caston J, Ruel J, Johnson RM, Pujol R, Puel JL. Salicylate induces tinnitus through activation of cochlear NMDA receptors. *J Neurosci* 2003; 23(9): 3944-52.
16. Liu Y, Li X, Ma C, Liu J, Lu H. Salicylate blocks L-type calcium channels in rat inferior colliculus neurons. *Hear Res* 2005; 205(1-2): 271-6.
17. Liu Y, Li X. Effects of salicylate on voltage-gated sodium channels in rat inferior colliculus neurons. *Hear Res* 2004; 193(1-2): 68-74.
18. Kaufmann WE, Worley PF, Pegg J, Bremer M, Isakson P. COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(6): 2317-21.
19. Hölscher C. Inhibitors of cyclooxygenases produce amnesia for a passive avoidance task in the chick. *Eur J Neurosci* 1995; 7(6): 1360-5.
20. Kunz T, Oliw EH. The selective cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib reduces kainate-induced cell death in the rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 2001; 13(3): 569-75.
21. Mesches MH, Gemma C, Veng LM, Allgeier C, Young DA, Browning MD, Bickford PC. Sulindac improves memory and increases NMDA receptor subunits in aged Fischer 344 rats. *Neurobiol Aging* 2004; 25(3): 315-24.
22. Yermakova AV, O'Banion MK. Downregulation of neuronal cyclooxygenase-2 expression in end stage Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001; 22(6): 823-36.
23. Jonker C, Comijs HC, Smit JH. Does aspirin or other NSAIDs reduce the risk of cognitive decline in elderly persons? Results from a population-based study. *Neurobiol Aging* 2003; 24(4): 583-8.
24. Jain NK, Patil CS, Kulkarni SK, Singh A. Modulatory role of cyclooxygenase inhibitors in aging- and scopolamine or lipopolysaccharide-induced cognitive dysfunction in mice. *Behav Brain Res* 2002; 133(2): 369-76.
25. Rao SK, Andrade C, Reddy K, Madappa KN, Thyagarajan S, Chandra S. Memory protective effect of indomethacin against electroconvulsive shock-induced retrograde amnesia in rats. *Biol Psychiatry* 2002; 51(9): 770-3.
26. Bruce-Jones PN, Crome P, Kalra L. Indomethacin and cognitive function in healthy elderly volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1994; 38(1): 45-51.
27. Li RC, Row BW, Gozal E, Kheirandish L, Fan Q, Brittan KR, Guo SZ, Sachleben LR Jr, Gozal D. Cyclooxygenase 2 and intermittent hypoxia-induced spatial deficits in the rat. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168(4):469-75.
28. Teather LA, Packard MG, Bazan NG. Post-training cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibition impairs memory consolidation. *Learn Mem* 2002; 9(1): 41-7.
29. Kimura H, Okamoto K, Sakai Y. Modulatory effects of prostaglandin D<sub>2</sub>, E<sub>2</sub> and F<sub>2</sub> alpha on the postsynaptic actions of inhibitory and excitatory amino acids in cerebellar Purkinje cell dendrites in vitro. *Brain Res* 1985; 330(2): 235-44.
30. Partington CR, Edwards MW, Daly JW. Regulation of cyclic AMP formation in brain tissue by alpha-adrenergic receptors: requisite intermediacy of prostaglandins of the E series. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77(5): 3024-8.
31. Dumuis A, Sebben M, Haynes L, Pin JP, Bockaert J. NMDA receptors activate the arachidonic acid cascade system in striatal neurons. *Nature* 1988; 336(6194): 68-70.
32. Coleman RA, Smith WL, Narumiya S. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol Rev* 1994; 46(2): 205-29.
33. McGaugh JL. Dissociating learning and performance: drug and hormone enhancement of memory storage. *Brain Res Bull* 1989; 23(4-5): 339-45.
34. Breder CD, Dewitt D, Kraig RP. Characterization of inducible cyclooxygenase in rat brain. *J Comp Neurol* 1995; 355(2): 296-315.



35. Ishida T, Sato T, Irifune M, Tanaka K, Nakamura N, Nishikawa T, Effect of acetaminophen, a cyclooxygenase inhibitor, on Morris water maze task performance in mice. *J Psychopharmacol* 2007; 21(7): 757-67.
36. Ghahremani MH, Eghtesad E, Tahsili-Fahadan P, Sharifzadeh M, Amini M, Tootian Z, Inhibition of the cyclooxygenase pathway attenuates morphine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 85(2): 356-61.
37. Bauer CA, Brozoski TJ, Holder TM, Caspary DM. Effects of chronic salicylate on GABAergic activity in rat inferior colliculus. *Hear Res* 2000; 147(1-2): 175-82.
38. Gong N, Zhang M, Zhang XB, Chen L, Sun GC, Xu TL. The aspirin metabolite salicylate enhances neuronal excitation in rat hippocampal CA1 area through reducing GABAergic inhibition. *Neuropharmacology* 2008; 54(2): 454-63.
39. Pernia-Andrade AJ, Tortorici V, Vanegas H. Induction of opioid tolerance by lysine-acetylsalicylate in rats. *Pain* 2004; 111(1-2): 191-200.
40. Wang HT, Luo B, Huang YN, Zhou KQ, Chen L. Sodium salicylate suppresses serotonin-induced enhancement of GABAergic spontaneous inhibitory postsynaptic currents in rat inferior colliculus in vitro. *Hear Res* 2008; 236(1-2):42-51.
41. Yoshihara T, Ichitani Y. Hippocampal N-methyl-D-aspartate receptor-mediated encoding and retrieval processes in spatial working memory: delay-interposed radial maze performance in rats. *Neuroscience* 2004; 129(1): 1-10.
42. Xu XM, Sansores-Garcia L, Chen XM, Matijevic-Aleksic N, Du M, Wu KK. Suppression of inducible cyclooxygenase 2 gene transcription by aspirin and sodium salicylate. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(9): 5292-7.
43. Chen C, Magee JC, Bazan NG. Cyclooxygenase-2 regulates prostaglandin E2 signaling in hippocampal long-term synaptic plasticity. *J Neurophysiol* 2002; 87(6): 2851-7.
44. Andreasson KI, Savonenko A, Vidensky S, Goellner JJ, Zhang Y, Shaffer A, Kaufmann WE, Worley PF, Isakson P, Markowska AL. Age-dependent cognitive deficits and neuronal apoptosis in cyclooxygenase-2 transgenic mice. *J Neurosci* 2001; 21(20): 8198-209.
45. Sharifzadeh M, Naghdi N, Khosrovani S, Ostad SN, Sharifzadeh K, Roghani A. Post-training intrahippocampal infusion of the COX-2 inhibitor celecoxib impaired spatial memory retention in rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 511(2-3): 159-66.

Archive of SID