بررسی نقش گیرنده های گابا – ب هسته قاعده ای مغز جلویی در یادگیری و حافظه در موشهای نر نژاد ویستار

پروانه نورجاه ، پروین رستمی* و محمد حسین برزگر بفرویی

تهران ، دانشگاه تربیت معلم ، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت ۸۵/۲/۲ تاریخ پذیرش:۸۵/۱۱/۲۳

چکیده

گابا بعنوان یک میانجی عصبی مهاری در مغز می تواند در بسیاری از اختلالات رفتاری و بالینی دخالت داشته باشد. کشف ترکیبات جدید و اختصاصی مؤثر بر سیستم گابائرژیک امکان بررسی عمل آنها را بر زیر گروههای گیرنده های گابا در بخشهای مختلف سیستم عصبی فراهم کرده است. هدف از انجام این پروژه بررسی نقش گیرنده های گابا – ب در ناحیه هسته قاعده ای مینرت (Nucleus Basalis of Meynert =NBM) در فرآیند یادگیری و حافظه می باشد، بدین منظور، کانولی تنها در یک هسته NBM قرار گرفت (بصورت یکطرفی) و آزمون یک روز پس از آموزش حیوانات با استفاده از دستگاه احترازی غیر فعال انجام شد. باکلوفن بعنوان یک آگونیست گیرنده های گابا – ب با غلظتهای ۰۱ /۰ ، ۰۵ /۰ و ۰/۱ میکروگرم در ۵ /۰ میکرولیتر سالین مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان می دهد که دوز های ۰۵ / ۰ و ۰/۱ میکروگرم این دارو باعث کاهش توان حیوان در بیادآوری آموخته های قبلی می شود. در حالیکه وقتی CGP35348 بعنوان یک آنتاگونیست گیرنده های گابا – ب با غلظتهای ۰/۱ ، ۰/۵ و ۱ میکروگرم در ۰/۵ میکرولیتر سالین استفاده می شود دوز های ۵ /۰ و ۱ میکروگرم این دارو توان حیوان برای بیادآوری آموخته های قبلی افزایش می یابد، اما دوز ۰/۱ میکروگرم این دارو بی تأثیر است . نتایج همچنین نشان می دهند که از تزریق ترکیب توأم دو داروی باکلوفن و CGP در دوزهایی با اختلاف غلظت کم سبب تضعیف حافظه می شود در حالی که تزریق ترکیب توأم دارو های فوق هنگامی که غلظت CGP بیست برابر یا پنجاه برابر بیشر از باکلوفن است حافظه را تقویت می کند. از این نتایج چنین استنباط می شود که تحریک گیرنده های گابا – ب در ناحیه NBM باعث مختل شدن یادگیری و حافظه شده و مهار این گیرنده ها منجر به تقویت یادگیری و حافظه می گردد.

واژه های کلیدی: گابا– ب، هسته قاعده ای مغز جلویی ، یادگیری وحافظه ، رت (موش صحرایی)، باکلوفن، CGP

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۲۱۵۹۲۷٦۸، پست الکترونیک: rostami@saba.tmu.ac.ir

مقدمه

شناخت عبارت است از کسب اطلاعات ، ذخیره و یاد آوری آنها که اصطلاحاً به آن حافظه و یاد گیری می گویند (۵).

در برخی از اختلالات عصبی بمنظور تقویت حافظه ازبرخی دارو ها استفاده می شود . این داروها اغلب روی روندی موسوم به long – term potentiation (LTP) تأثیر می گذارند. در سال۱۹۷۳ Bliss و Lomo برای اولین بار مسیرسوراخدار (perforant) را که به هیپوکمپوس ختم می شود تحریک کردند و متوجه شدند که پتانسِل پس سیناپسی مدتها بصورت دراز مدت (LTP)روی صفحه اسیلوسکوپ باقی می ماند (نقل ازAbraham و همکاران ۲۰۰۲)(۲). بطور کلی گاما آمینو بوتیریک اسید نقش تعدیل کننده در مکانیسم حافظه دراز مدت دارد (٤).

اسید گاما آمینو بوتیریک (GABA) نوروترانس میتر مهاری اصلی است که در تمام نواحی مغز انسان یافت می شود، و مشخص شده است که GABA در تعدیل حافظه نقش دارد

Archive of SID

www.SID.ir

(۷). گابا اثرات خود را از طریق گیرنده های مختلف در مغز اعمال می کند. بطور کلی گیرنده های GABA دو نوع می باشند: گیرنده های متابوتروپیک و گیرنده های یونوتروپیک. گیرنده های متابوتروپیک موسوم به GABA -$_B$ هستند و از نوع گیرنده های سرپنتینی می باشند که با پروتئینهای G جفت می شوند و از طریق پیامبر ثانوی موجب کاهش ورود یون کلسیم و یا خروج یون پتاسیم از سلول می شوند و یا سطح آدنوزین منوفسفات حلقوی درون سلولی را کاهش می دهند (۳). گیرنده های یونوتروپیک، موسوم به GABA-$_A$ و GABA-$_C$، در واقع کانالهای دریچه دار لیگاندی می باشند. نشان داده شده است که باکلوفن (baclofen)آگونیست گیرنده GABA-$_B$ وCGP آنتاگونیست گیرنده GABA- $_B$ بر حافظه اثر می گذارند(٦). یافته های دیگر پیشنهاد می کند که داروهای گابائرژیک از طریق تأثیر بر سیستم کولینرژیک حافظه را مختل می کند. بخوبی مشخص شده که دستگاه های کولینرژیک مرکزی نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارند. مطالعات فارماکولوژیکی هم در انسان و هم در جانوران از این فرضیه حمایت می کند که تغییرات عملکردی در فعالیت کولینرژیکی مرکزی بر فرآیند حافظه و یادگیری تأثیر می گذارد. هیپوکمپ و آمیگدال که در شکل گیری حافظه نقش دارند و غنی از سیناپسهای کولینرژیکی می باشند تحت کنترل سیستم گابائرژیک اند (۸). در منطقه ای بین کمپلکس آمیگدال و هسته عدسی شکل، منطقه ای از ماده خاکستری زیر مخططی وجود دارد که Basal Forebrain (BF) نامیده می شود . درون BF تجمعی از نورونهای کولینرژیک در چند ناحیه از جمله هسته قاعده ماگنوسلولاریس مینرت (Nucleus Basalis of Meynert =NBM) دیده می شود. نورونهای گابائرژیک جمعیت اصلی نورون های غیر کولینرژیک هسته BF را تشکیل می دهند.

با توجه به تحقیقات انجام شده بررسی نقش گیرنده های GABA –$_B$ هسته قاعده ای مغز جلویی در یادگیری و حافظه مورد نظر قرار گرفت و پژوهش اخیر انجام شد .

مواد و روشها

رتهای نر نژاد Wistar با وزن تقریبی ۲۰۰±۲۰gr از مرکز تحقیقات ژنتیک ایران تهیه، و بمدت یک هفته جهت سازش با شرایط محیط بصورت انفرادی در حیوانخانه در شرایط حرارتی ۲ ±۲۱ درجه سانتی گراد و۱۲ ساعت روشنایی و۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. در این زمان حیوانات از غذای رت آماده (پلت) و آب لوله کشی استفاده کردند. برای انجام عمل جراحی روش زیر بکار برده شد .

با تزریق درون صفاقی مخلوطی از بیهوش کننده های کتامین (80 mg/Kg) و رامپون ((4 mg/Kg) حیوانات بیهوش و پس از تمیز و ضد عفونی کردن سردر حد فاصل گوشها و چشمها، پوست این ناحیه برداشته شد تا جمجمه نمایان شود وبه کمک اطلس (۱۰) موقعیت NBM مشخص شد (AP=6.4 mm نسبت به برگما و ML= 2.4mmنسبت به خط میانی) سپس با استفاده از مته دندانپزشکی سوراخی در جمجمه در ناحیه تعیین شده ایجاد و پس از وارد کردن کانول راهنما به مغز به اندازه 6.8 mm در موقعیت فوق ، به کمک پیچ عینک و آکریل دندان پزشکی در محل تثبیت شد. حیوانات جراحی شده یک هفته در آزمایشگاه نگهداری تا مراحل بعدی آزمایش بر روی آنها انجام شود.

برای یادگیری احترازی غیر فعال از دستگاه شاتل باکس به ابعاد ۲۵ × ۲۵ × ۱۰۰ سانتیمتر و متشکل از دو قسمت، یک بخش روشن و یک بخش تاریک ، استفاده شد.

روش آموزش حیوانات به این صورت بود که ابتدا حیوان در بخش روشن دستگاه شاتل باکس قرار می گرفت سپس دریچه باز می شد تا حیوان بطور چهار پا وارد بخش

Archive of SID

www.SID.ir

تاریک شود . سپس دریچه بسته شده و بدون اعمال شوک، حیوان از بخش تاریک دستگاه خارج و در قفس مربوطه قرار می گرفت . ۳۰ دقیقه بعد این عمل تکرار می شد . بار سوم پس از ورود حیوان به بخش تاریک بلافاصله شوکی با فرکانس HZ ۵۰ و ولتاژ mA ۰/٦ – ۵ /۰ بمدت یک ثانیه از ناحیه پا به حیوان وارد، و آنگاه حیوان به قفس مربوطه برگردانده می شد .

جهت انجام آزمون ٢٤ ساعت پس از آموزش، حیوان در بخش روشن دستگاه شاتل باکس قرار می گرفت ، پس از ۳۰ ثانیه دریچه را باز کرده و زمان لازم جهت ورود به بخش تاریک بعنوان زمان " به یاد آوری " (Retention) ثبت می شد. آنگاه برای تعیین Total time in Dark Compartment (.T.D.C) بصورتی عمل می شد که رت در مدت ٦۰۰ ثانیه ای که مورد آزمون قرار می گرفت، چندین بار از محفظه روشن دستگاه وارد محفظه تاریک می شد (هر چهار اندام حرکتی در محفظه تاریک قرار می گرفتند) و مجدداً به محفظه روشن برمی گشت، لذا هر دفعه که رت وارد بخش تاریک دستگاه می شد ، مدت زمانی که در این بخش می ماند را محاسبه کرده و با هم جمع نموده و مجموع آنها بعنوان .T.D.C ثبت می گردید.

پس ازمراحل آموزش و آزمون حیوانات، تأثیر داروهای باکلوفن و CGP35348 بر حافظه بررسی شد. در این مرحله پودر باکلوفن و CGP را بطور جداگانه در سرم فیزیولوژی حل کرده و غلظتهای ۰/۱ و ۰/۰۵، ۰/۰۱ میکروگرم از باکلوفن و غلظتهای ۱ ، ۰/۵ ، ۰/۱ میکروگرم از CGP35348 در ۰/۵ میکرولیتر سالین بر حسب هر رت بصورت تازه برای هر جلسه تزریق تهیه شد و با استفاده از سرنگ هامیلتون و سر سوزن G ۳۰ و لوله رابط پلی اتیلن از طریق کانول راهنما برای هر حیوان l ۰/ میکرولیتر دارو با غلظت مورد نظر و با سرعت µl /min ۰/ ۷۵ تزریق شد. عمل تزریق بگونه ای صورت گرفت که به حیوان کمترین استرس وارد شود و بمنظور اطمینان از اینکه کانول در هسته NBM قرار دارد از روش بافت شناسی استفاده شد چنانچه کانول در این هسته قرار نداشت نتایج مربوط به آن حیوان برای محاسبات آماری لحاظ نشد. لذا، حیوانات را با استفاده ازکلروفرم کشته و با شیوه قبلی µl ۰/۵ رنگ کریستال ویوله به درون ناحیه NBM تزریق شد . سپس با شکافتن جمجمه ، مغز را بطور کامل بیرون آورده و در محلول فرمالدئید بمدت یک هفته قرار گرفت تا عمل فیکس شدن بطور کامل انجام شود . سپس در مرحله بعد با استفاده از روشهای بافت شناسی کلاسیک برشهایی با ضخامت ٤۰µm تهیه شد، موقعیت رنگ و محل کانول با دیاگرام مربوطه در اطلس ,Paxinos & Watson مقایسه گردید و صحت موقعیت کانول مورد بررسی قرار گرفت .

تجزیه و تحلیل حاصل از آزمایشها بر اساس (خطای معیار± میانگین) انجام و برای پی بردن به همگن بودن پراکندگی واریانس میان گروه ها ، آزمون .K.S مورد استفاده قرار گرفت و پارامتریک بودن واریانس از این طریق مشخص شد. پس از آن، با انجام آنالیز واریانس معمولی یک طرفه و دو طرفه اختلاف بین گروههای متفاوت مشخص و برای یافتن اختلاف بین هر گروه از آزمونهای Dunnet' / Tukey's-Test استفاده شد. سطح معنی دار در تمام موارد P< ۰/ ۰۵ در نظر گرفته شد.

پارامترهای مورد مطالعه (S.T.L,R.L,Te-Tr,T.D.C)

بررسی تأثیر داروها گرچه می توان تنها از یک یا دو پارامتر استفاده کرد ولی از آن جا که NBM هسته کوچکی است برای افزایش دقت عمل از چهار پارامتر زیر استفاده شد.

۱ – S.T.L (Step Through Latency) : مدت زمانی(بر حسب ثانیه) که در جلسه آزمایش است که حیوان با چهار پا از بخش روشن دستگاه وارد بخش تاریک دستگاه می شود.

Archive of SID

www.SID.ir

۲ – R.L (Retention Latency): مدت زمانی که در جلسه آموزش است و حیوان از بخش روشن دستگاه وارد بخش تاریک می شود .

۳ – Te- Tr (Testing – Training Latency): اختلاف زمان آزمون به یاد آوری (R.L) هرحیوان با S.T.L همان حیوان است .

٤ – T.D.C (Total time in Dark Compartment): مدت زمانی است که حیوان در جلسه آزمون ظرف مدت ٦۰۰ ثانیه در بخش تاریک دستگاه بسر می برد.

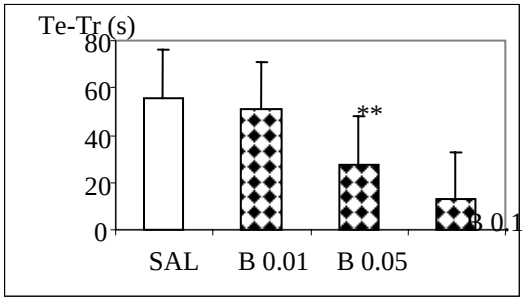
نتایج

الف – نتایج حاصل از آزمایش شماره ۱ (نمودارهای ۱ و ۲) نشان می دهند که تزریق B 0.1 µ g ۰/ ۰۱ باکلوفن در NBM رت بلافاصله بعد از دریافت شوک اثر معنی داری بر T.D.C و Te – Tr ندارد. ولی تزریق µg ۰/ ۰۵ باکلوفن باعث کاهش معنی دار Te-Tr : P < ۰ / ۰۱ ، F = ۹/ ۲۲ و افزایش معنی دار T.D.C: P <۰/ ۰۵ ، F = – ۵/ ۰۷ می شود. تزریق µg ۰/ ۱ از باکلوفن نیز همین اثر را دارد ولی به نسبت شدید تر است.

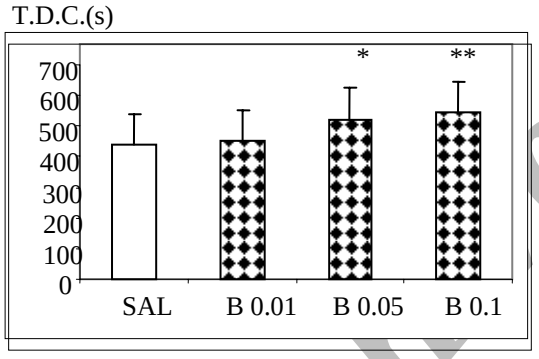
ب – نتایج حاصل از آزمایش شماره ۲ در نمودارهای ۳ و ٤ نشان می دهد که تزریق µg ۰ / ۱ از CGP35348 در NBM رت بلافاصله بعد از دریافت شوک در مقایسه با گروه Sham اثر معنی داری برTe- Trو T.D.C ندارد ، ولی تـــــزریـقµg ۰ / ۵ این دارو باعث افزایش معنی دار Te-Tr و کاهش معنی دار T.D.C می شود . برای Te-Tr : P <۰/ ۰۵ و F= ۲ / ۳٤ و برای T.D.C : P < ۰ / ۰۱ ، ٤ / F = – ۲۰ می باشد . تزریقµg ۱ این دارو همین اثر را، اما نسبتاً شدیدتر، دارد.

ج – نتایج حاصل از آزمایش شماره ۳ (نمودارهای ۵ و ٦) نشان می دهند که :

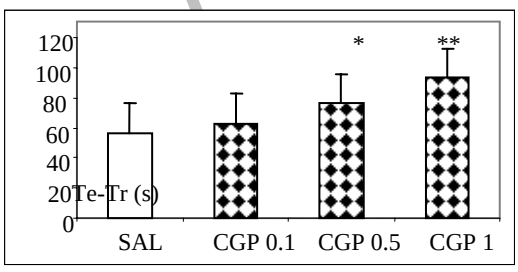
۱– تزریق µl ۰/۵ سالین+µl ۰/۵ سالین در NBM رت بعنوان گروه شاهد تزریقی در مقایسه با گروه کنترل تاثیری در پارامترهای T.D.C و Te-Trندارد.



نمودار۱ – اثر دوزهای محتلف باکلوفن بر Testing – Training Latency در جلسه آزمون ** = P <0.01 – تأثیر تزریق دوزهای ۰۵ /۰ و ۰/۱میکروگرم باکلوفن درون NBM بر Te-Tr معنی دار است.

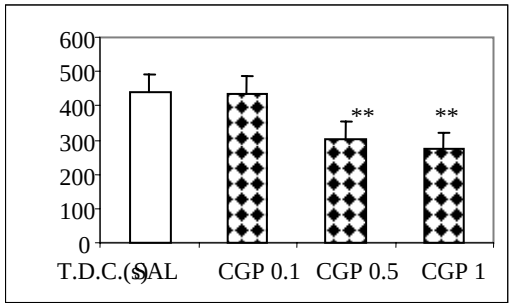


نمودار ۲– اثر دوزهای مختلف التراکم باکلوفن بر Total time in Dark Compartment در جلسه آزمون ** = P <0.01 * = P<0.05 – تأثیر تزریق دوزهای ۰/۰ ۵ و ۱/. میکرو گرم باکلوفن درون NBM بر T.D.C معنی دار است



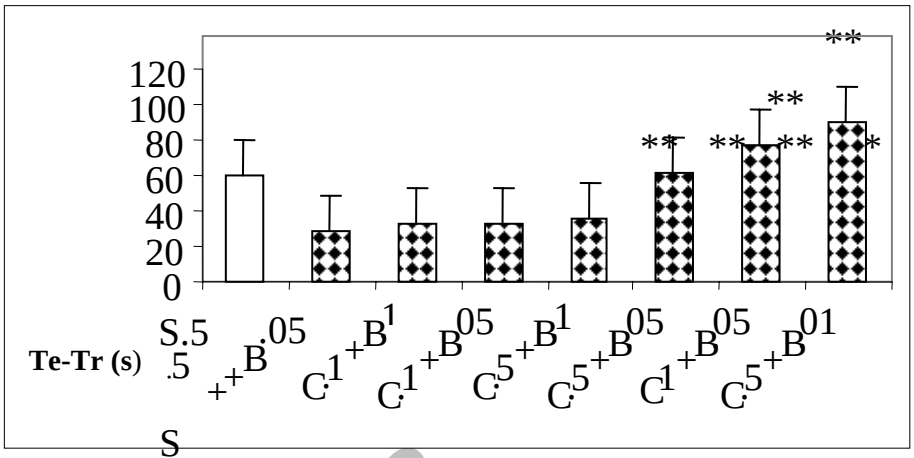
نمودار ۳ – اثر دوزهای مختلف CGP بر Testing- Training Latencyدر جلسه آزمون ** = P <0.01 * = P<0.05 – تاثیر تزریق دوزهای ۰/۵ و ۱میکروگرم CGP در ناحیه NBM بر Te-Tr معنی دار است.

Archive of SID
www.SID.ir



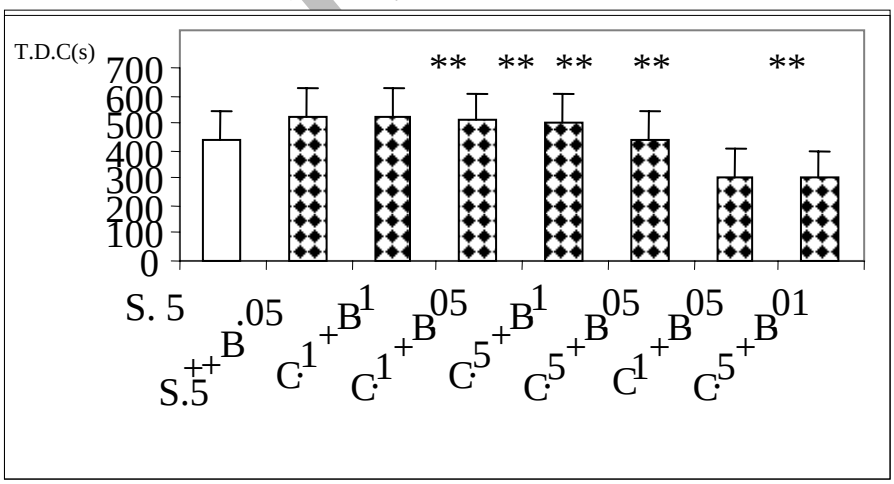
نمودار٤- : اثر دوزهای مختلف CGP بر Total time in Dark Compartment در جلسه آزمون** = P <0.01

* = P<0.05 S= Saline – تأثیر تزریق دوزهای ۰/۵ و ۱ میکروگرم CGP در ناحیه NBM بر .T.D.C معنی دار است.



نمودار٥ : اثر ترکیبات مختلف باکلوفن و CGP بر Testing – Training Latency در جلسه آزمون ** = P <.01

* = P<.05 – تزریق توأم دوزهای متفاوت باکلوفن و CGP در ناحیه NBM بر Te-Tr نشان می دهد که چنانچه غلظت CGP بیست یا پنجاه برا بر باکلوفن باشد می تواند اثر باکلوفن را معکوس کند



نمودار٦- : اثر ترکیبات مختلف باکلوفن و CGP بر Tatal time in Dark Compartment در جلسه آزمون ** = P <.01 * = P<.05

- تزریق توام دوزهای متفاوت باکلوفن و CGP در ناحیه NBM بر .T.D.C نشان می دهد که باکلوفن موجب افزایش Total-Time می شود ولی دوزهای بالای CGP تأثیر باکلوفن را معکوس می کند .

www.SID.ir

۲ – تزریق۵ µl / ۰ سالین +µg ۰۵ / ۰ باکلوفن باعث کاهش معنی دار Te – Tr : ۰۱ / ۰ > P ،۱۸/۰٤– = F و افزایش معنی دار T.D.C: ۰۱/۰ > P ، ٦ / ۹٤ = F می شود .

۳ – تزریق۱µg / ۰ باکلوفن +µ g۱ / ۰ از CGP نیز باعث کاهش معنی دار Te – Tr: ۰ ۱ / ۰ > P ، ۹۵ / ۱۵ – = F و افزایش معنی دار T.D.C: ۰ ۱ /۰ >P ، ۷۸ / ۱۰ = F می شود .

٤ – تزریق µg ۵ / ۰ باکلوفن +µg ۱ / ۰ از CGP باعث کاهـش معنی دارTe–Tr:۱ ۰/۰ > P . ۵۱/۱۵ –= F و افزایش معنی دار T.D.C: ۰۱ / ۰ > P ، ٦۵ / ۱۳ = F می شود.

۵ – تزریقµg ۰/۱ باکلوفن +µg ۰/۵ از CGP باعث کاهش معنی دار Te-Tr : ۰۱ /۰ >P ۹ /۱۳ – = F و افزایش معنی دار T.D.C: ۰۱ / ۰ >P ، ٦۵ / ۷ =F می شود.

٦ – تزریق µ g۰۵ / ۰ باکلوفن + µg ۰/۵ از CGP اثر معنی داری بر هیچکدام از پارامترهای مورد نظر ندارد.

۷ – تزریق µg۰۵ /۰ باکلوفن + µg ۱ از CGP باعث افزایش معنی دار Te-Tr :۰۱ /۰ >P ،٥٦ ۱۷/ = F و کاهش معنی دار T.D.C : ۰۱ / ۰ > P ، ۳۳/ ۱۰ =F می شود.

۸ – تزریق µg ۰۱ /۰ باکلوفن + µg ۵ /۰ از CGP نیز باعث افزایش معنی دار Te-Tr: ۰۱ /۰ > P ، ۲۳ / ۱۷ = F وکاهش معنی دار T.D.C: ۰۱ /۰< P ، ۵۷ / ۹ = F می شود.

بطور کلی از این آزمایشها چنین استنباط می شود که باکلوفن با تحریک گیرنده های GABA-Bدر NBM موجب تضعیف حافظه شده ولی CGP با مهار این گیرنده ها موجب تقویت حافظه می شود. همچنین Potency باکلوفن حداقل ۱۰ برابر CGP می باشد.

بحث

نتایج حاصل از بررسی دو داروی باکلوفن و CGP بر گیرنده های گابا – ب هسته قاعده ای مغز جلویی با استفاده از چهار پارامتر (S.T.L,R.L,Te-Tr,T.D.C) نشان داد که پارامتر STL معنی دار نبوده و قابل صرفنظر کردن است. اما Tr-Te با سنجش دو پارامتر و تفاضل یکی از دیگری نشان دهنده حافظه است .

با توجه به تحقیقات ذکر شده قبلی در مورد نحوه دخالت نورونهای کولینرژیک ناحیه NBM در فرآیند یادگیری و حافظه و نتایج پژوهشی حاصل از انجام Zaborszky و همکاران در سال ۱۹۹۱ نشان داده شده است که تحریک سیستم گابائرژیک NBM ممکن است مستقیماً فعالیت نورونهای کولینرژیک این ناحیه را کاهش دهد(۱۳) . بعبارت دیگر گیرنده های $GABA-_A$ و $GABA-_B$ در این ناحیه ممکن است در غشاء نورونهای کولینرژیک NBM مستقر باشند (۱۲). اما در سال ۱۹۸۵ Wood و همکارا ن در رابطه با نحوه تأثیر سیستم گابائرژیک NBM بر فعالیت نورونهای کولینرژیک این ناحیه احتمال دیگری را مطرح کردند. مبنی بر این که تحریک گیرنده های گابا در این ناحیه ممکن است بطور غیر مستقیم فعالیت نورونهای کولینرژیک این ناحیه را تعدیل نماید. بعبارت دیگر گیرنده های گابا ممکن است در غشاء نورونهای پیش سیناپسی و تحریکی گلوتامینرژیکی مستقر باشند که از هسته های آمیگدال یا کورتکس به این ناحیه فرستاده می شوند. بنابراین می توان چنین گفت که باکلوفن با دوز ۰/۰۵ میکروگرم احتمالاً با گیرند های $GABA-_B$ که در غشاء پس سیناپسی نورونهای کولینرژیک که از NBM به نواحی ارتباطی کورتکس در لوبهای آهیانه ای و پیشانی فرستاده می شوند جفت می شود . در این صورت احتمالاً این دارو ها از طریق مهارسنتز cAMP یا مهار سنتز IP_3 و با افزایش کنداکتانس کانالهای پتاسیمی باعث کاهش فعالیت این نورونها شده و متعاقب این عمل فعالیت

Archive of SID
www.SID.ir

نورونهای مسیر پرفورانت، فرستاده شده از کورتکس به شکنج دندانی هیپوکمپ، نیز کاهش می یابد. نتیجه این فرایند مهار ایجاد LTP هیپوکامپی و تضعیف فرآیند ذخیره سازی اطلاعات حسی و تبدیل حافظه کوتاه مدت به حافظه بلند مدت می باشد. بعبارت دقیق تر کاهش سنتز cAMP و یا IP_3 در نورونهای کولینرژیک ناحیه NBM باعث مهار سنتز استیل کولین در این نورونها می شود. علاوه بر این، افزایش کنداکتانس کانالهای پتاسیمی در این نورونها باعث هیپرپلاریزاسیون نسبی این نورونها شده و در نتیجه کانالهای کلسیمی حساس به ولتاژ مستقر در پایانه های آکسونی این نورونها غیر فعال شده و به دنبال آن آزاد سازی استیل کولین از این پایانه ها کاهش می یابد و در نتیجه فعالیت سلولهای گلوتامینرژیک مسیر پرفورانت را نیز کاهش می دهد. به دنبال آن فعالیت گیرنده های NMDA و non NMDA در غشا پس سیناپسی نورونهای هرمی ناحیه CA_3 کاهش یافته و کانالهای کلسیمی حساس به ولتاژ در این نورونها غیر فعال می شود و سنتز NO کاهش می یابد (۱۱). بطور خلاصه می توان گفت که با کاهش سنتز NO فرایند ایجاد LTP هیپوکامپی، یکی از پایه های حافظه بلند مدت، تضعیف می شود . احتمال دیگر در این رابطه این استکه کاهش فعالیت نورونهای کولینرژیک ناحیه NBM باعث کاهش فعالیت نورونهای کولینرژیکی می گردد که از آمیگدال به نواحی ارتباطی نئوکورتکس در لبهای آهیانه ای و پیشانی فرستاده می شوند. این پدیده نیز باعث کاهش فعالیت نورون های گلوتامینرژیک مسیر پرفورانت می شود. بنابراین اثر مقدار بیشتر باکلوفن یعنی ۰/۱ µg آن می تواند علاوه بر تحریک گیرنده های $GABA-_B$ پس سیناپسی، باعث تحریک گیرنده های $GABA-_B$ پیش سیناپسی مستقر در غشاء پایانه های نورونهای گلوتامینرژیکی شود، که از آمیگدال و نواحی ارتباطی در کورتکس به NBM فرستاده می شوند، و در نتیجه میزان آزاد سازی گلوتامات در NBM کاهش یافته و فعالیت سلولهای کولینرژیک این ناحیه بیش از پیش مهار می شود (۱۳). CGP35348 با دوز ۵µg /۰ با مهار فعالیت گیرنده های $GABA-_B$ مستقر در غشاء نورونهای کولینرژیک ناحیه NBM، اثر مهاری گابای آندوژن را در این ناحیه تضعیف نموده و در نتیجه فعالیت نورونهای کولینرژیک ناحیه NBM افزایش می یابد و ایجاد LTP هیپوکامپی تقویت می شود. دوز µg ۱ این دارو گیرنده های $GABA-_B$ پیش سیناپسی مستقر در پایانه گلوتامینرژیک ناحیه NBM را مهار کرده و در نتیجه میزان ترشح گلوتامات در این ناحیه زیاد شده و به دنبال آن فعالیت نورونهای کولینرژیک این ناحیه نیز افزایش می یابد.

با توجه به نتایج حاصل از آزمایش شماره ۳ می توان گفت چون باکلوفن و CGP برای اتصال به گیرنده های GABA $_B-$ بصورت رقابتی عمل می کنند و از طرفی چون میل ترکیبی CGP برای اتصال با این گیرنده ها کمتر از باکلوفن است، لذا تا زمانی که غلظت CGP کمتر از ۱۰ برابر باکلوفن باشد (۹) CGP نمی تواند اثر مهاری باکلوفن را آنتاگونیزه نماید و در نتیجه باکلوفن در رقابت با CGP جهت اتصال به گیرنده های $GABA-_B$ غالب می شود و وقتی که غلظت CGP حدود ۲۰ برابر (یا بیشر) باکلوفن باشد، اثر تقویت کنندگی CGP بر حافظه مشخص می گردد.

منابع

1 - Abraham, W.C.,Greenwood.J.M., Long, B.L., Mason-Parker, S.E.&Dragunow, M (2002). Introduction and experience-dependent reversal of stable LTP lasting months in the hippocampus.J. Neurosci. 22, 9626-9634.

2 - Bliss T.V., Lomo T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabb following stimulation of the perforant path. Jul. (232) 331-56.

3 - Chebib M., Hanrahan J.R., Mewett M.N., Duke R.K. and Jonston G. A. R.,J. (2004). Inotropic

Archive of SID

www.SID.ir

GABA Receptor as Therapeutic Targets for Memory and Sleep Disorders.Annual reports in Medical Chemistry, Vol. 39.432-438.

4 - Dash P.K.,Mach S.A.,Blum S. and Moore A,N. (2002), Intrahippocampal Wortmannin Infusion Enhances Long-Term Spatial and Contextual Memories.Research Paper. Vol.9, No.4, pp.167-177.

5 - Eadie B. (2004), Memory & the quest for Nootropia .Bio Teach Journal. (vol2),352-358.

6 - Gutnikov S.A., Gaffan D., (1996). Systemic NMDA Receptor Antagonist CGP- 40116 Does Not Impair Memory Acquisition but Protects against NMDA Neurotoxicity in Rhesus Monkey, Neuroscience 16:4041-4045.

7 - Huang CC., Hsu Ks. (2004), Local protein synthesis and GABA receptors regulate the reversibility of long – term potentiation at murine hippocampal mossy fiber- CA3 synapses. J physiol. 91-108.

8 - Izquierdo I.,Dacunha C., Rosat R. (1992) ,Neurotransmitter receptors involved in memory processing by the amygdale , medial septum and hippocampus of *rats*. Behav. and Neurobial, 58:16-26.

9 - Johnston G.A., Chebib M., Hanrahan J.R. and Mewett K.N., (2003), GABAc Receptors as Drug Targets, CNS Neurol Disord, 2, 260-268.

10 - Paxinos G., Watson C. (1997), The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Fourth edition, Academic Press.

11 - Richard F. Thompson and Jeansok J. K. (1996), Memory systems in the brain and localization of memory, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 93,13438-13444.

12 - Stoll R.G., (2004), Questioning Market Leaders for Long Term Investors;Cortex pharmaceuticals,Inc.(COR). 4(15),821-831.

13 - Zaborsky L., Culminant W.E., Braun A., (1991). Afferents to basal forebrain cholinergic projection neurons: Anatomy to function. Plenum Newyork. NY: 43-100.

Archive of SID

www.SID.ir

گروهای آموزشی : بررسی تاثیر غلظتهای مختلف باکلوفن و CGP35348 بر حافظه حیوانهای مورد مطالعه (جراحی شده)

آزمایش I	تاثیر غلظت های مختلف باکلوفن (0.01 , 0.05 , 0.1 µg)	گروه I = گروه کنترل (intact)	بدون هیچ گونه تزریق
		گروه II = شاهد تزریقی (sham)	تزریق 0.5 µl سالین
		گروه III = گروه تجربی ۱	تزریق 0.01 µg باکلوفن در 0.5 µl سالین
		گروه IV = گروه تجربی ۲	تزریق 0.05 µg باکلوفن در 0.5 µl سالین
		گروه V = گروه تجربی ۳	تزریق 0.1 µg باکلوفن در 0.5 µl سالین
آزمایش II	تاثیر غلظت های مختلف CGP (0.1 , 0.5 , 1 µg)	گروه I = شاهد تزریقی (sham)	تزریق 0.5 µl سالین
		گروه II = گروه تجربی ۱	تزریق 0.1 µg از CGP در 0.5 µl سالین
		گروه III = گروه تجربی ۲	تزریق 0.5 µg از CGP در 0.5 µl سالین
		گروه IV = گروه تجربی ۳	تزریق 1 µg از CGP در 0.5 µl سالین
آزمایش III	تاثیر غلظت های مختلف CGP در ترکیب با غلظت های مختلف باکلوفن بلافاصله بعد از وارد کردن شوک	گروه I = شاهد تزریقی (sham)	تزریق 0.5 µl سالین و بعد از ۵ دقیقه تزریق 0.5 µl سالین
		گروه II = گروه تجربی ۱	تزریق 0.5 µl سالین و بعد از ۵ دقیقه تزریق 0.05 µg باکلوفن
		گروه III = گروه تجربی ۲	تزریق 0.1 µg از CGP و بعد از ۵ دقیقه تزریق 0.1 µg باکلوفن
		گروه IV = گروه تجربی ۳	تزریق 0.1 µg از CGP و بعد از ۵ دقیقه تزریق 0.05 µg باکلوفن
		گروه V = گروه تجربی ٤	تزریق 0.5 µg از CGP و بعد از ۵ دقیقه تزریق 0.1 µg باکلوفن
		گروه VI = گروه تجربی ۵	تزریق 0.5 µg از CGP وبعد از ۵ دقیقه تزریق 0.05 µg باکلوفن
		گروه VII = گروه تجربی ٦	تزریق 1 µg از CGP و بعد از ۵ دقیقه تزریق 0.05 µg باکلوفن
		گروه VIII = گروه تجربی ۷	تزریق 0.5 µg از CGP و بعد از ۵ دقیقه تزریق 0.01 µg باکلوفن

Archive of SID

www.SID.ir

The role of GABA-$_B$ receptors of NBM in learning and memory

Nourjah P., Rostami P., and BarzegarM.H.

Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Teacher Training University,Tehran, I.R. of Iran

Abstract

The discovery of different GABA receptor subtypes has stimulated research relating this neurotransmitter to a variety of behavioral and clinical disorders. The development of new and specific GABA ergic compounds has made it possible to try to identify the specific function of these receptors. The purpose of the present study is to evaluate the role of GABA-$_B$ receptor subtype of Nucleus Basalis of Meynert (NBM) in learning and memory. The *rats* implanted with unilateral intra- NBM guide cannulae and trained on a step – through inhibitory avoidance apparatus. One day later, retention was tested. The doses .0.01, 0.05 and 0.1 µg of Baclofen a GABA-$_B$ receptors,agonist in 0.5µl salin were injected through cannulae in NBM. Results show that doses of 0.05 and 0.1 µg of Baclofen impaired retention, while dose of 0.01 µg of this drug has no effect. The doses 0.1, 0.5 and 1 µg of CGP35348 in 0.5 µl salin were injected in NBM. CGP35348 is an antagonist of GABA-$_B$ receptors. Results show that doses of 0.5 and 1 µg CGP35348 enhanced retention of inhibitory passive avoidance conditioning. Then the combination of Baclofen and CGP were injected. The results show that 0.05 µg Baclofen + 0.5 µg CGP has no effect on the retention , while 1 µg CGP + 0.05 µg Baclofen improved retention and 1 µg CGP + 0.1 µg Baclofen , 0.1 µg Baclofen , 0.1 µg CGP + 0.1 µg Baclofen and 0.5 µg CGP + 0.1 µg Baclofen impaired retention. It is concluded that GABA-$_B$ receptors stimulation within NBM causes retention impairment and also GABA-$_B$ receptors inhibition induce retention enhancement. In addition injection of CGP35348 intra-NBM improves retention impairment induced by Baclofen administration.

Keywords: GABA-$_B$, NBM (nucleus basalis of Meynert), Learning, Memory, Rat

Archive of SID

www.SID.ir