مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی دهم، شماره‌ی ۳، صفحه‌های ۲۶۴ ـ ۲۵۷ (شهریور ۱۳۸۷)

مقاله‌ی پژوهشی

نقش تزریق داخل هیپوکامپی آنیزومایسین در تأثیر تعدیلی دگزامتازون بر تثبیت حافظه‌ی موش صحرایی

دکتر عباسعلی وفایی، دکتر علی یزدانی، دکتر علی رشیدی‌پور

آزمایشگاه یادگیری و حافظه، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی سمنان؛ **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** آزمایشگاه یادگیری و حافظه، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی سمنان، دکتر عباسعلی وفایی؛ e-mail: aavaf43@yahoo.com

چکیده

مقدمه: شواهد زیادی نشان می‌دهند که هیپوکامپ و فعالیت گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی در این ناحیه در فرایند یادگیری و حافظه‌ی هیجانی ضروری است. هم‌چنین برخی مطالعه‌ها پیشنهاد کرده‌اند که احتمالاً گلوکوکورتیکوئیدها تأثیر خود را از طریق دخالت در فرایند سنتز پروتئین در هیپوکمپ اعمال می‌کنند. هدف این مطالعه تعیین نقش تزریق آنیزومایسین (به عنوان مهارکننده‌ی فرایند سنتز پروتئین) به درون ناحیه‌ی خلفی هیپوکامپ بر تأثیر تعدیلی دگزامتازون در تثبیت حافظه‌ی موش صحرایی در مدل یادگیری احترازی غیرفعال بود. مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۹۰ سر موش نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شدند. ابتدا به صورت دوطرفه روی ناحیه‌ی هیپوکامپ موش‌ها کانول راهنما قرار داده شد. یک هفته بعد، موش در مدل یادگیری احترازی غیرفعال آموزش داده شد. در آزمایش۱ بلافاصله بعد از آموزش داروی دگزامتازون (۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۳ میلی‌گرم) به صورت داخل صفاقی و همزمان، حلال دارو در ناحیه‌ی خلفی هیپوکامپ تزریق شد. در آزمایش ۲ بلافاصله بعد از آموزش، داروی دگزامتازون به میزان ۱ میلی‌گرم به صورت داخل صفاقی (بهترین دوز) و همزمان ۰/۵ و ۱ میکروگرم در میکرولیتر آنیزومایسین به درون هیپوکامپ تزریق شد. ۴۸ ساعت بعد، میزان آموخته‌های حیوان با ملاک‌های مدت زمان تأخیر قبل از اولین ورود به ناحیه‌ی تاریک و کل زمان طی شده در ناحیه‌ی روشن، طی ۱۰ دقیقه ارزیابی شد و با گروه شاهد مقایسه شدند. یافته‌ها: تزریق دگزامتازون بلافاصله بعد از آموزش وابسته به دوز موجب تقویت تثبیت حافظه می‌شود (P<۰/۰۱). از طرفی تزریق همزمان آنیزومایسین به داخل هیپوکامپ موجب تعدیل تأثیر دگزامتازون می‌شود (P<۰/۰۱). نتیجه‌گیری: گلوکوکورتیکوئیدها نقش مهمی در روند تثبیت یادگیری‌های هیجانی دارند و احتمالاً یکی از سازوکارهای مداخله‌گر فرایند سنتز پروتئین داخل سلولی در ناحیه‌ی خلفی هیپوکمپ هستند.

واژگان‌های کلیدی: هیپوکامپ، یادگیری و حافظه، دگزامتازون، آنیزومایسین، موش صحرایی

دریافت مقاله: ۸۶/۴/۲۱ ـ دریافت اصلاحیه: ۸۶/۹/۲۷ ـ پذیرش مقاله: ۸۶/۱۰/۱

مقدمه

شواهد نشان می‌دهد که طی دهه‌ی اخیر یادگیری و حافظه بیشتر مورد توجه قرار گرفته و دانشمندان زیادی به دنبال دستیابی و شناخت سازوکارهای آن هستند.[1] هم‌چنین مطالعه‌ها نشان داده‌اند که عوامل متعددی از جمله هورمون‌ها مانند گلوکوکورتیکوئیدها و برخی نواحی مغز و به ویژه هیپوکامپ در فرایند یادگیری و حافظه‌ی هیجانی دخیل هستند. به علاوه، نشان داده شده که هیپوکامپ یک ساختمان مهم و هدف است که در تنظیم فیدبکی محور هیپوتالاموس ـ

Archive of SID
www.SID.ir

هیپوفیز ـ قشرآدرنال دخالت دارد و گلوکوکورتیکوئیدها موجب تعدیل ذخیره حافظه در هیپوکامپ می‌شوند.[۲] شواهد زیادی وجود دارد که نورون‌های هیپوکامپ دارای مقادیر و تراکم بالایی از گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی هستند و برخی از مطالعه‌ها با استفاده از تزریق آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی نشان داده‌اند که این گیرنده‌ها در هیپوکامپ در تنظیم ذخیره‌ی حافظه‌ی هیجانی دخیل هستند گلوکوکورتیکوئیدها بر تحریک‌پذیری عصبی و القای تقویت طولانی‌مدت در هیپوکامپ نیز مؤثرند می‌باشند.[۳] در مطالعه‌های دیگر دیده شد که تجویز موضعی گلوکوکورتیکوئیدها (دگزامتازون) در هیپوکامپ ذخیره‌ی حافظه را در فعالیت‌های مختلف آموزشی با اثر بر گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی تعدیل می‌کند.[۴،۵]

در این زمینه یافته‌های مطالعه‌های رفتاری و الکتروفیزیولوژی پیشنهاد می‌کنند که اثر ناشی از گلوکوکورتیکوئیدها بر ذخیره‌ی حافظه به طور مستقیم و موضعی واسطه‌گری می‌شود[۶] و نشان داده‌اند که تأثیر حاد گلوکوکورتیکوئیدها به دنبال استفاده از آگونیست‌های آنها احتمالاً منجر به کاهش سنتزگلیکوپروتئین در هیپوکامپ و استریاتوم می‌شود، که این تأثیر ممکن است با اثر تسهیلی استروئیدها بر تثبیت حافظه مرتبط باشد.[۷،۸] به خوبی ثابت شده که در برخی از گونه‌های حیوانات و مدل‌های ارزیابی یادگیری فرایند سنتز پروتئین برای تشکیل و ایجاد حافظه بلند مدت ضروری است[۹] و نشان داده شده که مهار سنتز پروتئین حین آموزش در روند آن اختلال ایجاد نمی‌کند ولی در یادآوری آموخته‌ها برای چند روز بعد اختلال ایجاد می‌کند.[۸] از طرفی یافته‌های مطالعه‌های قبلی نشان داد که تزریق آنیزومایسین به عنوان مهار کننده فرایند سنتز پروتئین در دوزهای (۱/۸۲۵، و ۲/۵ میکروگرم) در ناحیه خلفی هیپوکامپ موجب اختلال در تثبیت حافظه فضایی در مدل ماز آبی موریس می‌گردد.[۸] هم‌چنین برخی مطالعه‌های قبلی احتمال تداخل فرایند سنتز پروتئین را در برخی از نواحی مغز مطرح نموده‌اند که در نقش گلوکوکورتیکوئیدها بر فرایند یادگیری و حافظه‌ی هیجانی مؤثر است[۱۰] البته این تأثیر در خصوص روند تثبیت حافظه به طور دقیق بررسی نشده است. از آنجا که یافته‌های مطالعه‌های قبلی ما نشان دادند که تزریق سیستمیک آگونیست گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی موجب تقویت تثبیت حافظه می‌شود ولی سازوکارهای مداخله‌گر و نواحی مغزی دخیل در این تأثیر مشخص نبود، هدف مطالعه‌ی حاضر تعیین نقش تزریق آنیزومایسین در ناحیه خلفی هیپوکامپ بر تأثیر سیستمیک دگزامتازون در تثبیت حافظه در مدل یادگیری احترازی غیرفعال بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه‌ی تجربی از ۹۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد که از انستیتو پاستور تهران تهیه و در حیوان‌خانه‌ی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سمنان در شرایط محیطی کنترل شده (۲۴-۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد) و نور طبیعی ۱۲ ساعته (تنظیم شده با کمک زمان‌سنج) نگهداری می‌شدند و آب و غذا آزادانه و به اندازه کافی در اختیار آنها قرار داده شد.

برای ارزیابی نقش تزریق آنیزومایسین در ناحیه‌ی خلفی هیپوکامپ روی اثر گلوکوکورتیکوئیدها در تثبیت حافظه هیجانی آزمایش‌های زیر انجام شد.

آزمایش ۱: هدف این آزمایش بررسی اثر تزریق سیستمیک دگزامتازون بر تثبیت یادگیری و حافظه‌ی هیجانی در مدل یادگیری احترازی غیرفعال بود. ۵۰ سر موش در ۵ گروه ۱۰ تایی که قبلاً در هیپوکامپ آنها کانول راهنما قرار گرفته بود به طور تصادفی به پنج گروه آزمایشی تقسیم شدند:

۱- گروه شاهد که بلافاصله بعد از آموزش، حلال دگزامتازون به صورت داخل صفاقی و حلال آنیزومایسین در داخل هیپوکامپ آنها تزریق شد (n=۱۰).

۲- گروه‌های آزمون که بلافاصله بعد از آموزش، دگزامتازون به صورت داخل صفاقی با دوزهای ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۳ میلی‌گرم و حلال دارو (آنیزومایسین) در داخل هیپوکامپ آنها تزریق شد (n=۴۰).

آزمایش ۲: هدف این آزمایش بررسی نقش فرایند سنتزپروتئین داخل سلولی در ناحیه‌ی خلفی هیپوکامپ بروی اثر سیستمیک گلوکوکورتیکوئیدها در تثبیت یادگیری و حافظه‌ی هیجانی در مدل یادگیری احترازی غیرفعال بود. ۴۰

Archive of SID

www.SID.ir

سر موش که قبلاً درون هیپوکامپ آنها کانول راهنما کاشته شده بود، به طور تصادفی به چهار گروه آزمایشی تقسیم شدند:

۱- گروه‌های شاهد که بلافاصله بعد از آموزش، حلال دگزامتازون به صورت داخل صفاقی و آنیزومایسین در دوزهای ۰/۵ و ۱ میکروگرم به داخل هیپوکامپ آنها تزریق شد (n=۲۰).

۲- گروه‌های آزمون که بلافاصله بعد از آموزش، بهترین دوز دگزامتازون (۱ میلی‌گرم) به صورت داخل صفاقی و آنیزومایسین در دوزهای ۰/۵ و ۱ میکروگرم داخل هیپوکامپ آنها تزریق شد (n=۲۰).

هیپوکامپ از نواحی موجود در ناحیه‌ی لیمبیک محسوب می‌شود. برای دسترسی به این ناحیه متعاقب بیهوشی با داروی کتامین (۷۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) مخلوط با داروی زایلوزین (۱۴ میلی‌گرم) و ثابت نمودن سر حیوان در دستگاه استروتاکس و برداشتن نسوج سطحی جمجمه، با استفاده از اطلس Paxinos & Watson (2005) نقطه‌ی قرار دادن کانول راهنما (AP=3.6, DV=3.5, ML=±3 از سطح جمجمه) مشخص شد.[11] سپس در نقطه‌ی مورد نظر استخوان جمجمه سوراخ شده و یک کانول راهنما درون مغز موش قرار داده و توسط پیچ ظریف عینک و اکریل دندانپزشکی فیکس شد. برای باز نگه‌داشتن کانول‌ها از ماندرن مسی که به روغن معدنی آغشته شده کمک گرفته شد و بلافاصله پس از جراحی برای جلوگیری از عفونت، پنی‌سیلین به میزان ۱۵۰۰۰-۳۰۰۰۰ واحد به صورت عضلانی تزریق شد و تا زمان به هوش آمدن، موش‌ها در درجه حرارت کنترل شده قرار داشتند. بعد از پایان جراحی حداقل ۷ روز به موش‌ها استراحت داده شد تا بهبود یابند و استرس جراحی از بین برود. سپس آزمایش‌های مربوط انجام شد.

یادگیری احترازی غیرفعال (PAL)[i] دستگاه یک جعبه‌ی پلکسی گلاس مکعب مستطیل (ساخت شرکت مهندسی نورسا) با ابعاد ۹۱ سانتی‌متر طول و ۲۰ سانتی‌متر عرض در قسمت بالا و ۶/۴ سانتی‌متر در قسمت کف و ۲۰ سانتی‌متر عمق و حاوی دو قسمت روشن و تاریک است. ابعاد دو قسمت به ترتیب ۲۰×۳۱×۲۰ در قسمت روشن و ۲۰×۶۰×۲۰ در قسمت تاریک است که با یک در ۸×۸ سانتی‌متری گیوتینی به هم راه دارند. در کف هر دو بخش میله‌های ضد زنگ با فاصله‌ی یک سانتی‌متر از هم قرار دارند و یک لامپ ۱۰۰ واتی، در ۴۰ سانتی‌متری بالای قسمت روشن دستگاه قرار دارد. کف قسمت تاریک به یک مدار الکتریکی وصل است که با روشن شدن کلید مدار، جریان الکتریکی با مدت، شدت و فرکانس مشخص از کف آن عبور می‌کند و در صورت حضور حیوان در این ناحیه یک جریان الکتریکی ناخوشایند را به بدن حیوان وارد می‌سازد که بر اساس آن در دفعه‌های بعد حیوان از ورود به این ناحیه اجتناب می‌کند.

یادگیری در دستگاه احترازی غیر فعال طی سه مرحله انجام و ارزیابی می‌شود.

الف) سازش یافتن: یک هفته بعد از جراحی، ابتدا همه گروه‌های آزمایشی به دستگاه عادت داده شدند. ۵ ثانیه بعد از قرار دادن حیوان در قسمت روشن دستگاه در حالی که پشت آن به در بود وقتی که موش به طرف در می‌چرخید، در بین دو قسمت تاریک و روشن باز شده و اجازه داده می‌شد حیوان وارد قسمت تاریک شود. بلافاصله بعد از ورود حیوان به قسمت تاریک در بسته شده، حیوان از قسمت تاریک گرفته شده و به قفس بازگردانده می‌شد. این کار در سه نوبت هر ۳۰ دقیقه یکبار انجام می‌گرفت.

ب) آموزش و اکتساب یادگیری: ۳۰ دقیقه‌ی بعد «سازش یافتن» آموزش (اکتساب یادگیری) داده شد. به طوری که موش‌ها تک تک با فاصله‌ی زمانی مشخص در قسمت روشن دستگاه قرار داده شدند و بلافاصله بعد از ورود هر موش به قسمت تاریک، در بین قسمت روشن و تاریک بسته و شوک الکتریکی به شدت ۰/۵ میلی‌آمپر و به مدت ۳ ثانیه از طریق سیم‌های استیل تعبیه شده در کف ناحیه به حیوان داده شد. بعد از ۲۰ ثانیه موش از قسمت تاریک گرفته و به طور موقت به قفس بازگردانده شد و دو دقیقه‌ی بعد رفتار موش همانند قبل آزمایش شد. عدم ورود به قسمت تاریک در مدت ۱۲۰ ثانیه به عنوان اکتساب موفقیت‌آمیز در نظر گرفته شد. در غیر این صورت با ورود حیوان به قسمت تاریک در بسته شده و حیوان برای بار دوم همان شوک بالا را دریافت می‌کرد.

ج) روش آزمون به خاطرآوری: ۴۸ ساعت بعد از مرحله‌ی آموزش، آزمون به خاطرآوری انجام شد، به نحوی که ابتدا حیوان در قسمت روشن قرار داده شد و پس از باز

i - Passive Avoidance Learning

Archive of SID

www.SID.ir

شدن در گیوتینی زمان تأخیر قبل از اولین ورود به ناحیه‌ی تاریک (STL)[i] و کل زمان صرف شده توسط موش در قسمت روشن (TLC)[ii] به مدت ۶۰۰ ثانیه با کمک کورنومتر اندازه‌گیری و ثبت شد.

پودر خالص دگزامتازون (Synopharm-Italy) ابتدا در اتانول ۹۶٪ حل و به تدریج رقیق شد تا درصد اتانول موجود به ۲٪ تقلیل یابد، سپس دوزهای مورد نظر تهیه شد. در ضمن از اتانول ۲٪ و سالین به عنوان حلال دارو استفاده شد.

پودر خالص آنیزومایسین (Sigma, Germany) ابتدا با ۰/۴ سی‌سی اسید کلریدریک نرمال حل شد و سپس با سود نرمال pH آن به ۷/۴ رسید و بعد با محلول سالین ۰/۹٪ رقیق و بر اساس دوزهای مورد نظر تزریق شد. در ضمن، از محلول اسید و سود و سالین بدون دارو به عنوان حلال دارو استفاده شد.

بلافاصله بعد از آموزش، دگزامتازون در دوزهای مختلف به صورت سیستمیک (داخل صفاقی) تزریق شد. هم‌چنین آنیزومایسین (به عنوان مهارکننده‌ی سنتز پروتئین) به میزان ۰/۵ و ۱ میکروگرم در میکرولیتر به ازای هر طرف و توسط سرنگ هامیلتون از طریق کانول‌های راهنما در گروه‌های آزمایشی متفاوت طبق گروه‌های پیش‌بینی شده درون هیپوکامپ تزریق شد. تزریق با سرعت ۰/۵ میکرولیتر در مدت ۳۰ ثانیه انجام شد و سوزن تزریق به مدت ۲ دقیقه برای جلوگیری از پس زدن مایع در داخل کانول باقی ماند و سپس خارج شد.

در پایان آزمایش‌ها موش‌ها با کتامین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بیهوش شدند. پس از آن مغز موش‌ها از جمجمه خارج و برای ۷-۵ روز در فرمالین۱۰٪ قرار داده شد. سپس برش‌های ۴۰ میکرومتری تهیه، با روش کریستال ویولت رنگ‌آمیزی و برای بررسی محل قرار گرفتن کانول زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند. یافته‌های به دست آمده از حیواناتی که محل کانول در آنها درست نبود در تحلیل آماری استفاده نشد.

داده‌های گروه‌های آزمایشی ۱ با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی و آزمایش ۲ با آنالیز واریانس دو طرفه و پس آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند و P<۰/۰۵ ملاک معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

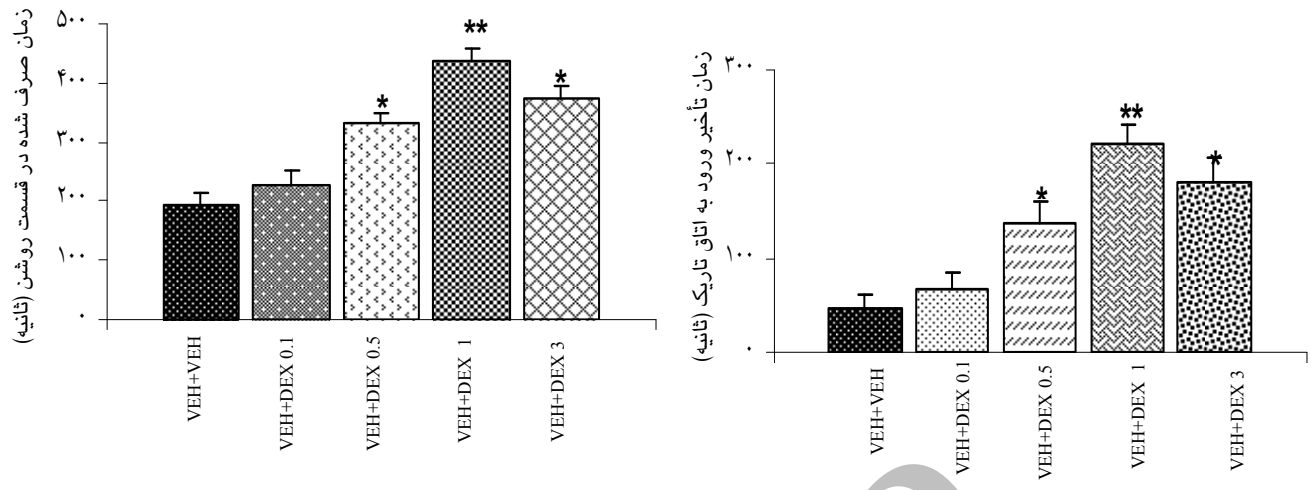
آنالیز واریانس یک‌طرفه‌ی داده‌های مربوط به زمان تأخیر ورود به اتاق تاریک (STL) حاکی از اثر معنی‌دار دگزامتازون بر تثبیت یادگیری و حافظه‌ی هیجانی بود و آنالیز بعدی با کمک ژس آزمون توکی نشان داد که تزریق دگزامتازون بلافاصله بعد از آموزش به طور معنی‌داری تثبیت حافظه را افزایش داده است (p<۰/۰۰۱، F۴ ،۳۰=۵۰/۷). هم‌چنین آنالیز داده‌های مربوط به زمان صرف شده در قسمت روشن (TLC) یافته‌های مشابهی را به همراه داشت (p<۰/۰۰۱، F۴ ،۳۰=۲۲/۹۷). یافته‌های باید نشان می‌دهد که گلوکوکورتیکوئیدها نقش مهمی در فرایند تثبیت یادگیری دارند و این اثر وابسته به دوز است به طوری که در دوزهای ۰/۵، ۱ و ۳ میلی‌گرم در مقایسه با گروه شاهد اثر آنها معنی‌دار بود. به علاوه، این اثر در دوز ۱ میلی‌گرم بسیار بارزتر بود، به همین منظور این دوز دگزامتازون به عنوان بهترین دوز در آزمایش بعدی و در خصوص تأثیر متقابل با آنیزومایسین مورد استفاده قرار گرفت (نمودار ۱ الف و ب).

آنالیز واریانس دوطرفه‌ی داده‌های STL حاکی از اثر معنی‌دار دگزامتازون و اثر غیر معنی‌دار آنیزومایسین و تعامل معنی‌دار بین آنها (p<۰/۰۰۱ و F4 ،۴۱=۵۱/۷) بر تثبیت یادگیری بود و آنالیز بعدی با کمک پس‌آزمون توکی نشان داد که تزریق دگزامتازون بلافاصله بعد از آموزش به طور معنی‌داری تثبیت حافظه را افزایش داده است، در حالی که تزریق آنیزومایسین این اثر را تعدیل نمود. هم‌چنین آنالیز داده‌های TLC یافته‌های مشابهی را به همراه داشت (p<۰/۰۰۱، F۴ و ۴۱=۲۲/۶) (نمودار ۲ – الف و ب).

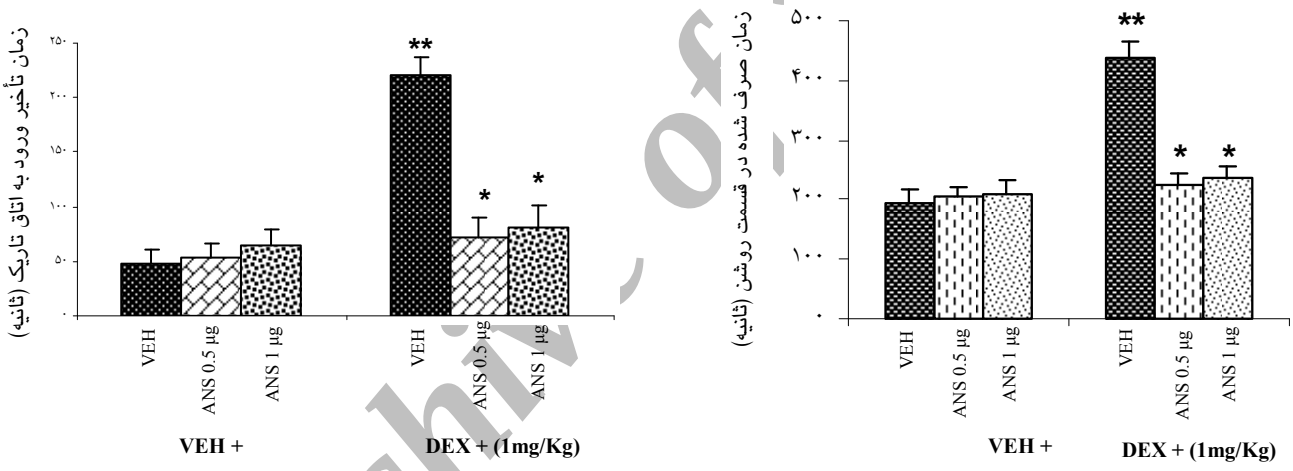
[i]- Step Through Latency
[ii] - Total Light Compartment

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱- اثر تزریق دگزامتازون با دوزهای مختلف و به صورت داخل صفاقی را بر تثبیت حافظه هیجانی در مدل یادگیری احترازی غیر فعال نشان می‌دهد. الف: STL و ب: TLC را طی آزمون به خاطرآوری نشان می‌دهد. *تفاوت بین گروه VEH+DEX با VEH+VEH در سطح (P<0.05) و **تفاوت بین گروه VEH+DEX با VEH+VEH در سطح (P<0.01) معنی‌دار می‌باشد (VEH: Vehicle, DEX: Dexamethasone).



نمودار ۲- اثر تزریق دگزامتازون به صورت داخل صفاقی و تزریق داخل هیپوکامپی آنیزومایسین را بر تثبیت حافظه در مدل یادگیری احترازی غیرفعال نشان می‌دهد. الف: STL و ب: TLC را طی آزمون به خاطرآوری نشان می‌دهد. ** تفاوت بین گروه VEH+DEX با VEH+VEH در سطح (P<0.01) معنی‌دار می‌باشد. *تفاوت بین گروه ANS+DEX با VEH+DEX در سطح (P<0.01) معنی‌دار است (ANS: Anisomycin).

بحث

با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان گفت تزریق آگونیست گیرنده‌ی گلوکوکورتیکوئیدی (دگزامتازون) بلافاصله بعد از آموزش به صورت داخل صفاقی وابسته به دوز سبب تقویت تثبیت اطلاعات تازه آموخته شده در مدل یادگیری احترازی غیرفعال می‌شود در حالی که تزریق هم‌زمان آنیزومایسین به عنوان مهارکننده‌ی فرایند سنتز پروتئین به داخل هیپوکامپ این اثر را مهار می‌کند. قسمت اول یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تغییر فعالیت گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید بر ذخیره‌ی حافظه‌ی فضایی به این صورت عمل می‌کند که تزریق آگونیست گیرنده‌ی گلوکوکورتیکوئید ذخیره حافظه را افزایش می‌دهد. این امر با یافته‌های دیگران همخوانی دارد. شواهد قبلی نشان داده‌اند که آموزش در مدل‌های مختلف یادگیری هیجانی، محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز ـ قشر غدد فوق‌کلیوی را فعال می‌کند،

Archive of SID
www.SID.ir

در نتیجه گلوکوکورتیکوئیدها در موش به وسیله‌ی قشر آدرنال ترشح شده و اثر فوری بر پاسخ‌های رفتاری و اثر طولانی مدت بر عوامل شناختی دارند. دیده شده که فعال شدن گیرنده‌ی گلوکوکورتیکوئید در مغز موجب تعدیل یادگیری‌های هیجانی می‌شود و تزریق RU28362 (به عنوان آگونیست گیرنده‌ی گلوکوکورتیکوئید) بعد از آموزش به داخل بطن جانبی با افزایش یادگیری در مدل یادگیری احترازی غیرفعال همراه است.[۱] هم‌چنین تزریق RU38486 به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌ی گلوکوکورتیکوئید، بعد از آموزش به داخل بطن جانبی سبب اختلال حافظه می‌شود.[۲] در مطالعه‌ی دیگری دیده شد که خارج کردن غدد فوق کلیه (آدرنالکتومی) ۴ تا ۵ روز قبل از آموزش با اختلال در حافظه همراه است و با تزریق دگزامتازون (۰/۳میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بلافاصله بعد از آموزش تأثیر آدرنالکتومی تقلیل پیدا می‌کند.[۳] هم‌چنین نشان داده شد که حداقل بخشی از اثر افزایش‌دهندگی حافظه توسط گلوکوکورتیکوئیدها ناشی از فعال شدن گیرنده‌ی گلوکوکورتیکوئید در نواحی مختلف مغز است و داروهای تزریق شده از طریق تغییر فعالیت این گیرنده‌ها بر ذخیره‌ی حافظه اثر می‌گذارند.[۲]

هم‌چنین یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که اثر دگزامتازون بر روند تثبیت حافظه، وابسته به دوز است و در دوز متوسط ۱ میلی‌گرم بهتر ظاهر می‌شود که با یافته‌های مطالعه‌های دیگران همخوانی دارد به طوری که مطالعه‌های انسانی و حیوانی نشان داده‌اند که اثر گلوکوکورتیکوییدها بر اکتساب و تثبیت حافظه در روش‌های مختلف آموزشی از جمله احترازی غیر فعال، ترس شرطی و ماز آبی موریس از یک رابطه‌ی دوز- پاسخ به شکل U معکوس پیروی می‌کند؛ به این معنی که در غلظت‌های خیلی پایین و غلظت‌های خیلی بالا اکتساب و تثبیت اطلاعات جدید دچار اختلال می‌شود اما در شرایطی که غلظت کورتیکوسترون متوسط باشد اکتساب و تثبیت اطلاعات جدید تسهیل می‌شود.[۴،۵،۱۲] آزمایش‌های ما، یافته‌های مطالعه‌های مذکور را تأیید کرد. هم‌چنین نشان می‌داد که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی به صورت ∩ عمل می‌کند و در دوز متوسط اثر مطلوبی دارد.

قسمت دوم یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که اثر سیستمیک گلوکوکورتیکوئیدها بر تثبیت یادگیری و حافظه‌ی هیجانی به دنبال تزریق همزمان آنیزومایسین به درون ناحیه‌ی خلفی هیپوکامپ تعدیل می‌شود و احتمالاً اثر گلوکوکورتیکوئیدها از طریق تداخل با فرایند سنتز پروتئین داخل سلولی در هیپوکامپ اعمال می‌شود که این یافته با مطالعه‌های دیگران هم‌خوانی دارد. در این خصوص مطالعه‌های قبلی نشان داده‌اند اثر کلاسیک گلوکوکورتیکوئیدها از طریق گیرنده‌های داخل سلول واسطه‌گری می‌شود و طی‌آن کپی‌برداری ژنی تعدیل شده، احتمالاً از طریق تعدیل فرایند سنتز یک پروتئین جدید تأثیر خود را اعمال می‌کنند.[۱۳]

مطالعه‌های قبلی نشان دادند که گلوکوکورتیکوئیدها اثر دو مرحله‌ای روی تشکیل حافظه دارند به طوری که اثر کوتاه‌مدت آن‌ها با تسهیل و اثر بلندمدت آنها با اختلال در مسایل شناختی همراه است و احتمالاً فعالیت آن‌ها به دنبال اثر بر حافظه ناشی از اثر متقابل آنها بر فرایند سنتز پروتئین در داخل سلول است به طوری که نشان داده شده که گلوکوکورتیکوئیدها فرایند سنتزپروتئین را در در قشر مغز موش‌هایی که هیپوفیز آنها خارج شده، تحریک می‌کنند.[۱۴] در مطالعه‌ی دیگری در جوجه‌ها دیده شد که تزریق آنیزومایسین به طور وابسته به دوز قبل از کورتیکوسترون موجب اختلال اثر آن می‌شود.[۱۵]

آنیزومایسین یک مهار کننده‌ی سنتز پروتئین است که سنتز پروتئین را در سطح ترجمه به وسیله‌ی مهار آنزیم پپتدیل ترانسفراز انجام می‌دهد[۹] و به نظر می‌رسد که خیلی اختصاصی باشد. از طرفی ثابت شده که عملکرد حافظه‌ی بلند مدت در مدل‌های حیوانی به سازوکارهای زیادی بستگی دارد.[۱۰] برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند که مهار پروتئین یا سنتز RNA هنگام آموزش فراموشی می‌آورد[۱۶] یا فرایند سنتز پروتئین برای روند تثبیت حافظه‌ی بلندمدت و نه کوتاه‌مدت بسیار مهم است.[۹] در مطالعه‌های دیگر دیده شد که در هیپوکامپ نروتروفین‌ها، فسفوریلاسیون تیروزین‌کیناز را تحریک نموده، موجب افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی می‌شوند. این حوادث و سیگنال‌ها ممکن است با فعالیت پروتئین کینازی مزدوج شود و سنتز پروتئین را تحریک کنند.[۱۷] اغلب جایگاه‌های مشابه و سنتز پروتئین که توسط نروتروفین‌ها ایجاد می‌شود در دندریت‌های نورون‌های پیرامیدال (CA1) هیپوکامپ هستند. پروتئین‌های سنتز شده‌ی جدید ممکن است به طور موضعی پاسخ‌های پس سیناپسی را افزایش دهند یا ممکن است به ترمینال پیش‌سیناپسی مرتبط شوند و موجب افزایش رهایی نوروترانسمیت‌ها کردند.[۱۷] از طرفی ذخیره‌ی حافظه‌ی بلندمدت نیازمند فعالیت پروتئین‌کیناز A و سنتز پروتئین است. دیده شده که کاهش

Archive of SID

www.SID.ir

فعالیت پروتئین کیناز A و سنتز پروتئین با نقص و اختلال در Long Term Potentiation و حافظه‌ی بلندمدت همراه است.[۱۸]

نشان داده شده است که تزریق داخل هیپوکامپی آنیزومایسین پیش از مرحله‌ی اکتساب یا پس از مرحله‌ی به خاطرآوری، حافظه‌ی موش صحرایی را دچار اختلال می‌کند. این یافته نشان می‌دهد که فرایند سنتز پروتئین برای تثبیت و تثبیت مجدد[i] حافظه ضروری است.[۱۹] به علاوه، به نظر می‌رسد که سنتز پروتئین در فرایند خاموشی حافظه[ii] نیز نقش داشته باشد چرا که نشان داده شده است که تزریق داخل هیپوکامپی مهارکننده‌های بیان ژن و آنیزومایسین پیش از فاز به خاطرآوری فرایند خاموشی حافظه را دچار اختلال می‌کند اما بر فاز به خاطرآوری تأثیری ندارد.[۲۰] البته تقریباً در همه‌ی این مطالعه‌ها آنیزومایسین در دوز بالا اثر خود را به تنهایی اعمال نموده است در حالی که با دوز پایین با این‌که می‌تواند فرایند سنتز پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد بر تعدیل حافظه بی‌اثر بوده است و از این نظر این یافته‌ها با نتیجه‌ی آزمایش‌های مطالعه‌ی ما که نشان داد آنیزومایسین به تنهایی قادر به تأثیر معنی‌دار بر تثبیت اطلاعات نیست، هم‌خوانی دارد. این نکته تأییدی است بر اثر متقابل گلوکوکورتیکوئیدها و فرایند سنتز پروتئین در ناحیه‌ی هیپوکامپ.

به طور کلی مطالعه‌ی ما نشان می‌دهد که فعال شدن گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید در ناحیه‌ی هیپوکامپ نقش مهمی در تثبیت اطلاعات هیجانی دارد و از آنجا که این تأثیر توسط آنیزومایسین تعدیل شد، احتمالاً از طریق دخالت در فرایند سنتز پروتئین داخل سلول در ناحیه‌ی خلفی هیپوکامپ اعمال می‌شود. هم‌چنین، برای تعیین سازوکارهای دیگر درگیر و تأثیر متقابل با نواحی دیگر، مطالعه‌های بیشتری لازم است که در آزمایشگاه ما در حال انجام است.

سپاسگزاری: از همه‌ی همکاران مرکز تحقیقات فیزیولوژی سمنان به خصوص آقایان دکتر طاهریان، صادقی، حقیقی و علی‌محمدی که در انجام این مطالعه همکاری صمیمانه‌ای داشتند تشکر و قدردانی می‌شود.

i- Reconsolidation
ii- Extinction

References

1. Vafaei AA, Jezek K, Bures J, Fenton AA, Rashidy-Pour A. Post-training reversible inactivation of the rat's basolateral amygdala interferes with hippocampus-dependent place avoidance memory in a time-dependent manner. Neurobiol Learn Mem 2007; 88: 87-93.
2. Roozendaal B, Okuda S, de Quervain DJ, McGaugh JL. Glucocorticoids interact with emotion-induced noradrenergic activation in influencing different memory functions. Neuroscience 2006; 138: 901-10.
3. Sajadi AA, Samaei SA, Rashidy-Pour A. Intra-hippocampal microinjections of naltrexone block gluco corticoid-induced impairment of spatial memory retrieval in rats. Neuropharmacology 2007; 6: 347-54.
4. Roozendaal B. Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. Neurobiol Learn Mem 2002; 78: 578-95.
5. Rashidy-Pour A, Sadeghi H, Taherian AA, Vafaei AA, Fathollahi Y. The effects of acute restraint stress and dexamethasone on retrieval of long term memory in rats: an interaction with opiate system. Behav Brain Res 2004; 154: 193-8.
6. Roozendaal B, Hui GK, Hui IR, Berlau DJ, McGaugh JL, Weinberger NM. Basolateral amygdala noradrenergic activity mediates corticosterone-induced enhancement of auditory fear conditioning. Neurobiol Learn Mem 2006; 86: 249-255.
7. Agnihotri NT, Hawkins RD, Kandel ER, Kentros C. The long-term stability of new hippocampal place fields requires new protein synthesis. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101: 3656-61.
8. Naghdi N, Majlessi N, Bozorgmehr T. The effects of anisomycin (a protein synthesis inhibitor) on spatial learning and memory in CA1 region of rats hippocampus. Behav Brain Res 2003 17; 139: 69-73.
9. Pedreira ME, Maldonado H. Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. Neuron 2003; 38: 863-9.
10. Sajadi AA, Samaei SA, Rashidy-Pour A. Intra-hippocampal microinjections of anisomycin did not block glucocorticoid-induced impairment of memory retrieval in rats: an evidence for non-genomic effects of glucocorticoids. Behav Brain Res 2006; 173: 158-62.
11. Paxinos G, Watson C, editors. The rat brain in stereotaxic coordinates.5th ed. Orlando: Elsevier Academic Press; 2005. P. 58-9.
12. Cammarota M, Bevilaqua LR, Kerr D, Medina JH, Izquierdo I. Inhibition of mRNA and protein synthesis in the CA1 region of the dorsal hippocampus blocks reinstallment of an extinguished conditioned fear response. J Neurosci 2003; 23: 737-41.
13. Oitzl MS, Fluttert M, Sutanto W, de Kloet ER. Continuous blockade of brain glucocorticoid receptors facilitates spatial learning and memory in rats. Eur J Neurosci 1998; 10: 3759-66.
14. Vianna MR, Szapiro G, McGaugh JL, Medina JH, Izquierdo I. Retrieval of memory for fear-motivated

Archive of SID

www.SID.ir

training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98: 12251-4.
15. Lattal KM, Abel T. Behavioral impairments caused by injections of the protein synthesis inhibitor anisomycin after contextual retrieval reverse with time. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101: 4667-72.
16. Hernandez PJ, Sadeghian K, Kelley AE. Early consolidation of instrumental learning requires protein synthesis in the nucleus accumbens. Nat Neurosci 2002; 5: 1327-31.
17. Kang H, Schuman EM. A requirement for local protein synthesis in neurotrophin-induced hippocampal synaptic plasticity. Science 1996; 273: 1402-6.
18. Abel T, Nguyen PV, Barad M, Deuel TA, Kandel ER, Bourtchouladze R. Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. Cell 1997; 88: 615-26.
19. Lattal KM, Abel T. Behavioral impairments caused by injections of the protein synthesis inhibitor anisomycin after contextual retrieval reverse with time. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101: 4667-72.
20. Vianna MRM, Igaz LM, Coitinho AS, Medina JH, Izquierdo I. Memory extinction requiers gene expression in rat hippocampus. Neurobiol Learn Mem 2003; 79: 199-203.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

The Role of Intrahippocampal Microinjections of Anisomycin on Dexamethasone-Induced Modulation of Memory Consolidation in Rats

Vafaei AA, Yazdani A, Rashidy-pour A.
Laboratory of Learning and Memory, Physiology Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, I.R.Iran.
e-mail: aavaf43@yahoo.com

Abstract

Introduction: Evidence indicates that hipppocampus and activation of glucocorticoid receptors in this area are necessary for emotional learning and memory processes; also some studies suggest that glucocorticoid's effects probably involve with processes of protein synthysis in the hippocmapus. The aim of this study was to determine the role of intrahippocampal microinjections of anisomycin [(ANS) as a protein synthysis inhibitor)] on dexamethasone-induced modulation of memory consolidation in the passive avoidance learning (PAL) task in rats. Material and Methods: In this study, 90 male Wistar rats (250–300 gr) were surgically implanted bilaterally with cannulae aimed at the dorsal hippocampus (DH) were trained in PAL task. In experiment 1. Dexamethasone (0.1, 0.5, 1 and 3 mg/kg IP) was injected immediately after training and vehicle injected into DH. In experiment 2. Anisomycin (0.5, 1 µg/µl/side) or vehicle were injected bilaterally into the DH followed immediately by IP injection of Dexamethasone (1 mg/kg) or vehicle. Two days after training, retention tests were done and step-through latency (STL) and total time spent in light chamber (TLC) of apparatus were recorded during 10 min and compared with controls. Results: Data indicated that injection of Dexamethasone immediatly after training enhanced memory consolidation (P<0.01) and this effect was blocked by injection of ANS in to the DH (P<0.01). Conclusion: The findings above showed that glucocorticoids play on important role in consolidation of emotional learning and probably in processes of protein synthesis in the hippocampus may play an important role in mediating these effects.

Key Words: Hippocampus, Passive avoidance learning, Memory consolidation, Dexamethasone, Anisomycin, Rat

Archive of SID

www.SID.ir