کومش- جلد ۱۶، شماره ۳ (پیاپی ۵۵)، بهار ۱۳۹٤

بررسی اثرات متقابل استرس حاد و کورتیکوسترون با گیرنده‌های $5HT_6$ سروتونرژیک بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه ترس در موش سوری

مریم واشقانی(M.D Student) ، عباسعلی وفایی*(Ph.D)، علی رشیدی‌پور(Ph.D)، حسین رجب‌زاده (M.D Student) علی بوستانی (M.D Student)

دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی، آزمایشگاه یادگیری و حافظه

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات اخیر نشان می‌دهند گیرنده‌های سروتونرژیک می‌توانند اثرات ناشی از استرس یا گلوکوکورتیکوئیدها را در فرایندهای رفتاری به‌ویژه یادگیری و حافظه تعدیل نمایند. هدف این مطالعه تعیین نقش گیرنده‌های سروتونرژیک ($5HT_6$) در اثرات کورتیکوسترون و استرس حاد بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه ترس احترازی غیر فعال بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی موش‌های سوری در مدل یادگیری احترازی غیر فعال آموزش داده شدند (شوک ۱ میلی‌آمپر برای مدت ۳ ثانیه). در آزمایش بررسی به خاطرآوری، (۴۸ ساعت بعد از آموزش) ۳۰ دقیقه قبل اعمال استرس حاد (به مدت ۱۰ دقیقه استرس محدودکننده) یا تزریق کورتیکوسترون (۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم)، SC203575 به عنوان آگونیست گیرنده سروتونرژیک ($5HT_6$) و SB271046 به عنوان آنتاگونیست گیرنده سروتونرژیک ($5HT_6$) ۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد. در ارزیابی خاموشی حافظه، ۶۰ دقیقه قبل از فعال‌سازی حافظه حیوانات داروها و ۳۰ دقیقه قبل از آن استرس یا کورتیکوسترون را داخل صفاقی دریافت نمودند و حافظه موش‌ها در طی چندین تست متوالی در طی روزهای ۲، ۵، ۷ و ۹ بعد از فعال‌سازی بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که استرس حاد یا کورتیکوسترون موجب اختلال در به خاطرآوری و تسهیل خاموشی حافظه می‌شود. تزریق هر دو آگونیست و آنتاگونیست گیرنده سروتونرژیک $5HT_6$ اثرات کورتیکوسترون و استرس حاد را بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه مهار نمود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد که حداقل بخشی از اثرات استرس حاد و کورتیکوسترون بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه از طریق گیرنده‌های سروتونرژیک و به‌ویژه $5HT_6$ اعمال می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کورتیکوسترون، استرس حاد، به خاطرآوری و خاموشی حافظه، حافظه ترس، دستگاه احترازی غیر فعال، گیرنده سروتونرژیک، $5HT_6$

مقدمه

مراحل یادگیری و حافظه شامل اکتساب، تثبیت، به خاطرآوری و در ادامه باز تثبیت یا خاموشی می‌باشد. خاموشی حافظه فرایندی فعال است که طی آن اطلاعات تثبیت شده قبلی که در فاز بازیابی دچار ناپایداری شده، به تدریج از بین رفته و با اطلاعات جدیدی جایگزین می‌شوند. تفاوت اصلی فاز خاموشی با بازتثبیت صرف نظر از تفاوت‌های بیوشیمیایی در مدت زمان و مکان‌های مغزی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۳۶۵۴۱۸۶ - ۰۲۳ Email: Aavaf43@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۵

Archive of SID
www.SID.ir

دخیل در این فرایند است. یعنی در صورت طولانی بودن مدت فعال‌سازی حافظه فرایند خاموشی غالب است ولی اگر کوتاه باشد بازتثبیت غالب است. برای بازتثبیت وجود آمیگدال و هیپوکمپ ضروری است ولی فرایند خاموشی وابسته به قشر میانی پرفرونتال است [۱].

گلوکوکورتیکوییدها هورمون‌هایی هستند که از بخش قشری غده آدرنال ترشح شده و از طرق جریان خون به بافت‌های مختلف می‌رسند. این هورمون‌ها لیپوفیل هستند و به راحتی می‌توانند از سد خونی- مغزی عبور کنند و با اتصال به گیرنده‌های خود در مناطق مختلف مغزی اثرات خود را اعمال نمایند [۲]. مطالعات قبلی زیادی نشان می‌دهد که اثر گلوکوکورتیکوییدها در مراحل مختلف حافظه متفاوت است. آن‌ها قادرند ذخیره‌سازی اطلاعات را تعدیل کنند [۳]، در دوزهای متوسط تثبیت حافظه را افزایش می‌دهند ولی در دوزهای خیلی بالا یا پایین فاقد اثر هستند [۴] و تزریق آن‌ها قبل از به خاطرآوری موجب اختلال آن می‌شود [۵]. هم‌چنین گلوکوکورتیکوییدها در روند بازتثبیت یا خاموشی حافظه نقش دارند و نشان داده شده است که خاموشی حافظه در مدل ترس شرطی به دنبال تزریق سیستمیک دگزامتازون به عنوان آگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوییدی تسهیل می‌شود [۶]. در حالی که تزریق متی‌راپون به عنوان مهارکننده سنتز گلوکوکورتیکوییدها موجب مهارخاموشی حافظه می‌شود [۶،۷]. آدرنالکتومی موجب مهار خاموشی حافظه در مدل احترازی غیر فعال می‌شود و تزریق زیر جلدی یا داخل بطنی- مغزی کورتیکوسترون موجب تعدیل اثر آدرنالکتومی بر خاموشی حافظه می‌شود [۸]. از طرفی تزریق داخل آمیگدال RU38486 به عنوان آنتاگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوییدی موجب مهار اثرات تسهیلی دگزامتازون بر خاموشی حافظه در مدل ترس شرطی می‌گردد [۶].

سروتونین (۵ هیدروکسی تریپتامین) یک آمین بیوژنیک است که در محدوده وسیعی از فعالیت‌های فیزیولوژیک شامل خواب، اشتها، احساس درد، فعالیت‌های جنسی، حافظه و کنترل خلق دخالت دارد. آثار سروتونین در مغز به وسیله گیرنده‌های (5HT) متفاوت تنظیم می‌شود. سروتونین اعمال حافظه‌ای خود را توسط رسپتورهای اختصاصی مستقر در مناطق مختلف مغزی از جمله مناطقی مثل کمپلکس سپتوهیپوکامپال و هسته‌های ساقه مغز و قشر فرونتال انجام می‌دهد. استفاده از آگونیست‌ها و یا آنتاگونیست‌های رسپتورهای مختلف سروتونینی اثرات این گیرنده‌ها را در حافظه و یادگیری مشخص نموده است ولی به‌دلیل تنوع رسپتورها و مدل‌های مختلف حافظه و یادگیری که مدارهای ویژه‌ای را فعال می‌کنند اثرات متنوع افزایشی یا کاهشی حافظه و یادگیری را ایجاد نموده‌اند [۹].

مطالعات قبلی نشان داده است که بین فعالیت گیرنده‌های سروتونرژیک (به‌ویژه $5HT_6$)، استرس حاد و گلوکوکورتیکوییدها اثرات متقابل وجود دارد. بیان mRNA رسپتور 5HT در هیپوکمپ به طور بارزی در وضعیت کاهش گلوکوکورتیکوییدها (مثل آدرنالکتومی) زیاد می‌شود. اختلالات شناختی مرتبط با اختلال محور HPA به طور کامل به وسیله تجویز SB271046 آنتاگونیست انتخابی رسپتور $5HT_6$ قابل برگشت است [۱۰]. این یافته‌ها حاکی از تعامل گلوکوکورتیکوییدها با سیستم سروتونرریک روی فعالیت‌های شناختی است.

در این مطالعه، تعامل استرس حاد و گولوکوکورتیکوییدها با گیرنده‌های سروتونرژیک (نوع $5HT_6$) بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه ترس بررسی شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات. در این تحقیق از ۱۲۰ سر موش‌های سوری آلبینو در محدوده وزنی ۳۰- ۲۵ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۱۰ تایی با سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و میزان آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند.

داروها. کورتیکوسترون با دوز ۳ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم به عنوان بهترین دوز به‌دست آمده طی مطالعات قبلی، ۳۰ دقیقه قبل از ارزیابی به خاطرآوری و هم‌چنین با همین

Archive of SID

www.SID.ir

دوز ۳۰ دقیقه قبل از تست فعال‌سازی حافظه در جهت ارزیابی خاموشی تزریق شد SC203575 و SB271046 (۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم) به ترتیب به عنوان آگونیست و آنتاگونیست‌های گیرنده سروتونرژیک HT65، 1 ساعت قبل از ارزیابی به خاطرآوری یا تست فعال‌سازی تزریق شدند [۱۱].

دستگاه احترازی غیر فعال. دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال یک محفظه پلکسی‌گلاس مکعب مستطیل با طول ۴۰ سانتی‌متر، عرض ۱۰ سانتی‌متر در قسمت بالا و کف و ۱۶ سانتی‌متر ارتفاع می‌باشد. دستگاه توسط یک درب گیوتینی به دو قسمت روشن به طول ۱۹ سانتی‌متر و تاریک ۲۱ سانتی‌متر تقسیم می‌شود. در کف هر دو بخش میله‌های ضد زنگ به فاصله نیم سانتی‌متر از هم قرار دارند و کف قسمت تاریک دستگاه به یک مدار الکتریکی وصل می‌شود که با روشن شدن کلید مدار، جریان الکتریکی با مدت، شدت و فرکانس مشخص از کف آن عبور می‌کند. دستگاه در یک محل بدون صدا و رفت و آمد قرار می‌گیرد و ضمناً بازشدن درب گیوتینی و سنجش زمان‌های حضور حیوان در نواحی تاریک و روشن به صورت تعریف شده و اتوماتیک انجام می‌شود.

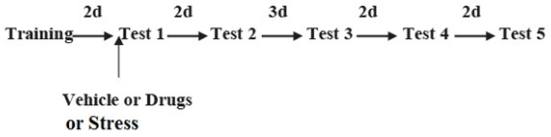
آموزش یادگیری احترازی غیر فعال.

الف- سازش‌یافتن: هر موش ابتدا در قسمت روشن دستگاه پشت به درب قرار داده می‌شود و وقتی که موش به طرف درب می‌چرخد درب باز می‌شود و اجازه داده می‌شود حیوان وارد قسمت تاریک می‌شود. بلافاصله درب بسته می‌شود و حیوان پس از چند ثانیه از قسمت تاریک گرفته و به قفس بازگردانیده می‌شود. این روش برای دو بار دیگر در فواصل ۳۰ دقیقه‌ای تکرار می‌گردد.

ب- آموزش (اکتساب یادگیری): ۳۰ دقیقه بعد از بار سوم سازش‌یافتن، اکتساب یادگیری انجام می‌شود. به دنبال وارد شدن موش به قسمت تاریک درب بسته شده و شوک الکتریکی با شدت ۱ میلی‌آمپر و به مدت ۳ ثانیه از طریق سیم‌های استیل تعبیه شده در کف قسمت تاریک به حیوان اعمال می‌شود.

ج- تست به خاطرآوری: ۴۸ ساعت بعد از آموزش تست به خاطرآوری انجام می‌شود. حیوان در قسمت روشن پشت به درب قرار داده می‌شود و پس از چرخیدن موش به طرف درب، درب باز می‌شود. زمانی که طول می‌کشد (Step-through latency, STL) تا حیوان برای اولین بار وارد قسمت تاریک شود و به طور اتوماتیک توسط دستگاه اندازه‌گیری می‌شود.

د- تست ارزیابی خاموشی حافظه که بر اساس شکل ۱ انجام خواهد شد.



شکل ۱. پروتکل ارزیابی خاموشی حافظه

نحوه ایجاد استرس حاد: برای این منظور حیوانات در زمان مشابه با دریافت کورتیکوسترون به مدت ۱۰ دقیقه در یک تیوپ پلکسی‌گلاس محدودکننده قرار می‌گیرند.

آزمایش‌ها و گروه‌های مختلف آزمایشی:

آزمایش ۱: هدف این آزمایش تعیین تعامل SC203575 و SB271046 (به عنوان آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های سروتونرژیکی $5HT_6$) و کورتیکوسترون بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه ترس است (n=۶۰ در ۶ گروه). در بررسی به خاطرآوری و خاموشی ۶۰ دقیقه قبل از به خاطرآوری و فعال‌سازی حافظه SC203575 یا SB271046 و ۳۰ دقیقه بعد از آن کورتیکوسترون را دریافت نمودند.

گروه ۱: حامل + حامل (n=۱۰)

گروه ۲: حامل + کورتیکوسترون (n=۱۰)

گروه ۳: SC203575 + حامل (n=۱۰)

گروه ۴: SC203575 + کورتیکوسترون (n=۱۰)

گروه ۵: SB271046 + حامل (n=۱۰)

گروه ۶: SB271046 + کورتیکوسترون (n=۱۰)

آزمایش ۲: هدف این آزمایش تعیین تعامل SC203575 و SB271046 (به عنوان آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های

Archive of SID
www.SID.ir

$5HT_6$) و استرس حاد بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه ترس بود (n=۶۰ در ۶ گروه). در بررسی به خاطرآوری و خاموشی ۶۰ دقیقه قبل از فعال‌سازی حافظه SC203575 یا SB271046 و ۳۰ دقیقه بعد، استرس حاد دریافت نمودند.

گروه ۱: حامل + بدون استرس (n=۱۰)

گروه ۲: حامل + استرس (n=۱۰)

گروه ۳: SC203575 + بدون استرس (n=۱۰)

گروه ۴: SC203575 + استرس (n=۱۰)

گروه ۵: SB271046 + بدون استرس (n=۱۰)

گروه ۶: SB271046 + استرس (n=۱۰)

ابزار گردآوری اطلاعات: هر موش در زمان انجام آزمایش‌ها با کمک مشاهده و دستگاه ارزیابی می‌گردد. سپس این اطلاعات استخراج شده و توسط برگه‌های جمع‌آوری اطلاعات ثبت می‌گردد.

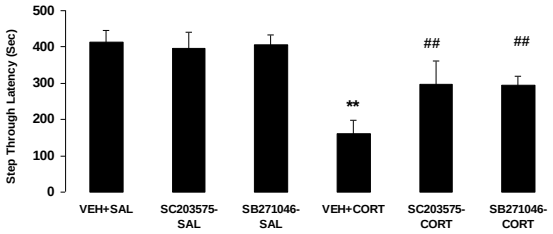
روش تجزیه و تحلیل اطلاعات. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov - Smirnov بررسی شد. چون توزیع داده‌ها نرمال بود از آنالیز واریانس (یک‌طرفه، دو طرفه یا سه طرفه بر حسب نوع Data) و به دلیل تست موش‌ها در روزهای متوالی، از اندازه‌گیری‌های تکراری با متغیرهای ثابت و تست بعدی توکی استفاده شد. از آنالیز واریانس دو طرفه برای بررسی اثرات متقابل SC203575، SB271046 و کورتیکوسترون یا استرس حاد استفاده شد.

نتایج

آزمایش ۱: ارزیابی اثرات متقابل تزریق SC203575 و SB271046 و کورتیکوسترون بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه

در ابتدا زمان قبل از اولین ورود به ناحیه تاریک در طی دوره آموزش بررسی شد. آنالیز واریانس یک‌طرفه زمان ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی آموزش حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها [$P=۰/۷۸, F_{5,42}=۰/۴۸$] بود. این یافته نشان‌دهنده همگون بودن گروه‌ها است شکل نشان داده نشده است.

شکل ۲ اثرات متقابل تزریق SC203575 به عنوان آگونیست و SB271046 به عنوان آنتاگونیست گیرنده سروتونرژیک و تزریق محیطی کورتیکوسترون را بر به‌خاطرآوری حافظه نشان می‌دهد. آزمون آنالیز واریانس دو طرفه بر روی زمان ورود به قسمت تاریک در تک تک گروه‌ها حاکی از اثر معنی‌دار گروه‌ها [$P<۰/۰۰۰۱, F_{1,42}=۲۲/۱$]، عدم اثر معنی‌دار مداخله [$P=۰/۲, F_{2,42}=۱/۶۳$] و عدم تعامل معنی‌دار بین دو متغیر فوق است [$P=۰/۱۴, F_{2,42}=۱/۹۹$]. آنالیز بعدی نشان داد که کورتیکوسترون موجب اختلال در به خاطرآوری اطلاعات شده و SC203575 و SB271046 این اثر را مهار نموده است [شکل ۲]. این یافته نشان می‌دهد که تزریق SC203575 و SB271046 با دوز ۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم منجر به مهار اثرات کورتیکوسترون بر به خاطرآوری اطلاعات شده است.



شکل ۲. اثرات متقابل تزریق SC203575 و SB271046 و تزریق محیطی کورتیکوسترون را بر به خاطرآوری حافظه در مدل احتترازی غیر فعال می باشد، محور عمودی میانگین ± خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در ارزیابی به خاطرآوری حافظه را نشان می دهد. $**P<0.01$ در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل+سالین و $##P<0.01$در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل+کورتیکوسترون

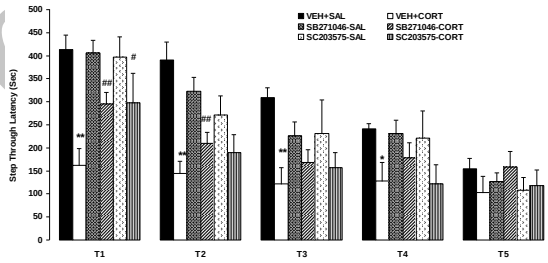
SAL: Saline, VEH: Vehicle, CORT: Corticosterone,

شکل ۳ اثرات متقابل تزریق SC203575 به عنوان آگونیست و SB271046 به عنوان آنتاگونیست گیرنده سروتونرژیک و تزریق محیطی کورتیکوسترون بر خاموشی حافظه را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس سه طرفه [تست‌ها × مداخله × گروه] با اندازه‌گیری تکراری حاکی از اثر معنی‌دار

Archive of SID

www.SID.ir

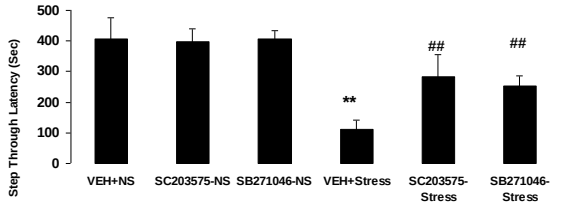
گروه‌ها [P<۰/۰۰۰۱, F 1, 42=۱۹/۳۵]، عدم اثر معنی‌دار مداخله [P=۰/۷۳, F 2, 42=۰/۳]، اثر معنی‌دار تست‌ها [P=۰/۰۰۰۱, F 4, 168=۴۷/۰۲] و عدم تعامل معنی‌دار بین گروه و مداخله [P=۰/۱, F 2, 42=۲/۳۹] هم‌چنین تعامل معنی‌دار بین گروه و تست‌ها [P=۰/۰۰۰۱, F 4, 168=۷/۵۱] و عدم تعامل معنی‌دار بین مداخله و تست‌ها [F 8, =۱/۱۷ , P=۰/۳۱168] و عدم تعامل معنی‌دار بین سه متغیر فوق است [P=۰/۶۸, F 8, 168=۰/۷]. آنالیز بعدی نشان داد که کورتیکوسترون موجب تسهیل در خاموشی حافظه شده است و پیش‌درمانی SC203575 و SB271046 موجب مهار اثرات کورتیکوسترون بر خاموشی حافظه ترس شده است. به گونه‌ای که تفاوت بین گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون + سالین و کورتیکوسترون + SC203575 و کورتیکوسترون + SB271046 معنی‌دار است P<۰/۰۵ [شکل ۳].



شکل ۳: اثرات متقابل تزریق SC203575 و SB271046 و تزریق محیطی کورتیکوسترون بر خاموشی حافظه در مدل احترازی غیر فعال می باشد. محور عمودی میانگین ± خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در طی تست فعال سازی و در طی تست های ارزیابی خاموشی [T1-T5] را نشان می دهد. P<0.01* در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل+سالین و P<0.01** در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل+سالین و P<0.01## در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل+کورتیکوسترون وP<0.05# در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل+کورتیکوسترون

آزمایش ۲- ارزیابی اثرات متقابل تزریق SC203575 و SB271046 و استرس حاد بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه. در ابتدا زمان قبل از اولین ورود به ناحیه تاریک در طی دوره آموزش بررسی شد. آنالیز واریانس یک‌طرفه زمان ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی آموزش حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها [F =۰/۴۳ , P=۰/۸۲5,42] بود. این یافته نشان‌دهنده همگون بودن گروه‌ها است (شکل آن نمایش داده نشده است).

شکل ۴ اثرات متقابل تزریق SC203575 به عنوان آگونیست و SB271046 به عنوان آنتاگونیست گیرنده سروتونرژیک و اعمال استرس حاد را بر به‌خاطرآوری حافظه نشان می‌دهد. آزمون آنالیز واریانس دو طرفه بر روی زمان ورود به قسمت تاریک در تک تک گروه‌ها حاکی از اثر معنی‌دار گروه‌ها [P<۰/۰۰۰۱, F 1,42=۲۱/۶] عدم اثر معنی‌دار مداخله [P=۰/۲۳, F 2,42=۱/۵۱] و عدم تعامل معنی‌دار بین دو متغیر فوق است [P=۰/۱۲, F 2,42=۲/۱۸] آنالیز بعدی نشان داد که استرس حاد موجب اختلال در به‌خاطرآوری اطلاعات شده و SC203575 و SB271046 این اثر را مهار نموده است. [شکل ۴]. این یافته نشان می‌دهد که تزریق SC203575 و SB271046 با دوز ۱ میلی‌گرم منجر به مهار اثرات استرس حاد بر به خاطرآوری اطلاعات شده است.

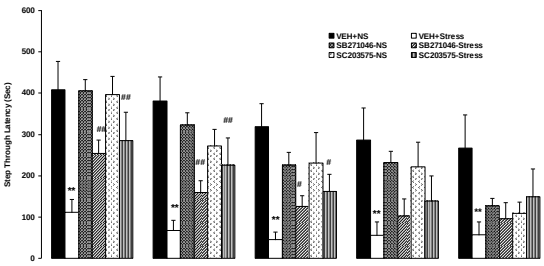


شکل ۴. اثرات متقابل تزریق SC203575 و SB271046 و استرس حاد را بر به خاطرآوری حافظه در مدل احترازی غیر فعال می باشد، محور عمودی میانگین ± خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در ارزیابی به خاطرآوری حافظه را نشان می دهد. P<0.01** در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل+بدون استرس
P<0.01## در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل+استرس حاد
NS: No Stress

شکل ۵ اثرات متقابل تزریق SC203575 به عنوان آگونیست و SB271046 به عنوان آنتاگونیست گیرنده سروتونرژیک و اعمال استرس حاد بر خاموشی حافظه را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس سه طرفه [تست‌ها × مداخله × گروه] با اندازه‌گیری تکراری حاکی از اثر معنی‌دار گروه‌ها [P<۰/۰۰۰۱, F 1, 41=۲۶/۸۱] عدم اثر معنی‌دار مداخله

Archive of SID
www.SID.ir

[P=۰/۷۸, $F_{5, 42}$=۰/۴۸ , F =۱۹/۳۸] اثر معنی‌دار تست‌ها [P=۰/۰۰۰۱$_{4, 168}$] و تعامل معنی‌دار بین گروه و مداخله [P=۰/۰۱, $F_{2, 42}$=۵/۰۵] هم‌چنین عدم تعامل معنی‌دار بین گروه و تست‌ها [P=۰/۰۶, $F_{4,168}$=۲/۲۵] و عدم تعامل معنی‌دار بین مداخله و تست‌ها [P=۰/۵۷, $F_{8,168}$=۰/۸۳] و عدم تعامل معنی‌دار بین سه متغیر فوق است [P=۰/۲۶,$F_{8,168}$=۰/۹۷] آنالیز بعدی نشان داد که استرس حاد موجب تسهیل در خاموشی حافظه شده است و پیش‌درمانی SC203575 و SB271046 موجب مهار اثرات استرس حاد بر خاموشی حافظه ترس شده است. به گونه‌ای که تفاوت بین گروه‌های دریافت‌کننده حامل + استرس حاد و SC203575 + استرس حاد و SB271046 + استرس حاد معنی‌دار است P<۰/۰۵ [شکل ۵].



شکل ۵. اثرات متقابل تزریق SC203575 و SB271046 و اعمال استرس حاد بر خاموشی حافظه در مدل احترازی غیر فعال می باشد. محور عمودی میانگین ± خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در طی تست فعال سازی و در طی تست های ارزیابی خاموشی [T1-T5] را نشان می دهد.

P<0.01** در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل + بدون استرس

P<0.01## در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل + استرس حاد

P<0.05# در مقایسه با گروه دریافت کننده حامل + استرس حاد

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های اصلی:

۱- تزریق محیطی کورتیکوسترون و استرس حاد به روش محدود کردن منجر به اختلال به خاطرآوری اطلاعات حافظه ترس می‌شود.

۲- تزریق محیطی کورتیکوسترون و استرس حاد به روش محدود کردن منجر به تسهیل خاموشی حافظه ترس می‌شود.

۳- پیش‌درمانی SC203575 و SB271046 قبل از تزریق کورتیکوسترون و اعمال استرس حاد موجب مهار اثرات کورتیکوسترون و استرس بر به خاطرآوری حافظه می‌گردد.

۴- پیش‌درمانی SC203575 و SB271046 قبل از تزریق کورتیکوسترون و اعمال استرس حاد موجب مهار اثرات کورتیکوسترون و استرس بر خاموشی حافظه ترس می‌گردد.

اثرات گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی و استرس حاد بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه ترس

نتایج این مطالعه نشان داد که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی نقش مهمی در به خاطرآوری و خاموشی حافظه ترس قبل و بعد از فعال‌سازی حافظه بازی می‌کند. ما مشاهده کردیم که تزریق محیطی کورتیکوسترون به عنوان لیگاند گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی منجر به اختلال به‌خاطر آوری و تقویت خاموشی حافظه ترس (تسهیل آن) شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی نقش مهمی در به‌خاطرآوری و خاموشی حافظه بازی می‌کنند.

یافته‌های ما با مطالعات قبلی در این زمینه هم‌خوانی دارد. مطالعات قبلی در حیوانات آزمایشگاهی نشان داده است که تزریق محیطی کورتیکوسترون احتمالاً منجر به تسهیل خاموشی حافظه می‌شود [۱۳،۱۲]. بنابراین می‌توان تصور کرد که آگونیست‌های گیرنده گلوکوکورتیکوئید چنان‌چه قبل از فعال‌سازی حافظه تروماتیک تزریق شوند می‌توانند داروهای بالقوه برای درمان بیماری‌های ناشی از حافظه‌های پاتوژنیک مثل PTSD و فوبیا شوند.

گلوکوکورتیکوئیدها باعث القاء فعالیت محور هیپولاموس-هیپوفیز- آدرنال می‌شود که باعث تنظیم مکانیسم‌های فیدبک منفی از طریق گیرنده‌های هسته‌ای و غشایی استروئیدها می‌شود. عوامل متعددی در تنظیم ترشح گلوکوکورتیکوئیدها نقش دارند که مهم‌ترین آن‌ها هورمون ACTH مترشحه از هیپوفیز قدامی است. فیبرهای عصبی که از هسته‌های آمیگدال می‌آیند، باعث بروز پاسخ‌های ترشحی ناشی از استرس‌های هیجانی می‌شود و از این طریق ترس، اضطراب و وحشت موجب افزایش ترشح ACTH می‌گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

فیبرهای عصبی که از هسته‌های فوق کیاسمایی می‌آیند در تولید ریتم شبانه‌روزی ترشح ACTH نقش دارند و سایر ایمپالس‌ها که از مراکز مختلف روی هیپوتالاموس متمرکز می‌شوند در ایجاد پاسخ ترشح هیپوتالاموس به صدمات و آسیب‌ها نقش دارند. فیدبک گلوکوکورتیکوئیدی نیز نقش مؤثری در تنظیم ترشح CRH و ACTH دارد [۱۴].

ترشح گلوکوکورتیوئیدها به دنبال استرس حاد اثرات آنی و مستقیم روی سیستم عصبی مرکزی دارد. در مطالعات invitro نشان داده شده که گلوکوکورتیکوئیدها انتقال گلوکز به داخل نورون‌ها را مهار می‌کنند. استرس مزمن نیز همانند استرس حاد اثرات تخریبی متعددی روی سیستم عصبی به خصوص نواحی مربوط به حافظه و یادگیری دارد، با این تفاوت که اثرات ایجاد شده توسط استرس مزمن بر روی سیستم عصبی، بسیار برجسته‌تر و پایدارتر از اثرات استرس حاد می‌باشد [۱۶،۱۵].

در مطالعاتی که بر روی موش‌ها انجام گرفت و استرس به‌وسیله الکتروشوک به آن‌ها القا شد، وقتی که شوک ۴ ساعت یا ۲ دقیقه قبل از آزمایش موش با ماز، داده می‌شد در به خاطرآوری موش‌ها مشکلی ایجاد نمی‌کرد اما وقتی که ۳۰ دقیقه قبل استفاده می‌شد در به خاطرآوری موش در مسیر ماز اختلال ایجاد می‌کرد. این زمان وابسته به سطح در گردش کورتیزول می‌باشد که بیش‌ترین مقدار در گردش کورتیزول ۳۰ دقیقه بعد از استرس می‌باشد.

به طور کلی استرس از طریق افزایش غلظت گلوکوکورتیکوئیدها، کاتکولآمین‌ها ونوروپپتیدهایی نظیر وازوپرسین در خون، باعث تغییر در خصوصیات الکتریکی، شکل و ظرفیت تکثیری سلول‌ها در مغز می‌شود که همگی این عوامل پاسخ مرکزی و رفتاری به استرس را شکل می‌دهد [۱۰].

به‌طور کلی نتایج این قسمت از مطالعه نشان می‌دهد که اثر تزریق کورتیکوسترون قبل از فعال‌سازی حافظه، سبب تقویت (تسهیل) خاموشی حافظه ناشی از ترس می‌شود. این اثر به فعال‌سازی حافظه وابسته است و ضمناً با شوک به خاطرآورنده باز نمی‌گردد.

SC203575 و SB271046 اثرات تخریبی کورتیکوسترون و استرس حاد را بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه مهار می‌کند.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که SC203575 به عنوان آگونیست SB271046 به عنوان آنتاگونیست گیرنده سروتونرژیک $5HT_6$ موجب مهار اثرات اختلالی کورتیکوسترون و استرس حاد بر به خاطرآوری حافظه و نیز بر خاموشی حافظه می‌گردد. این یافته‌ها با نتایج برخی از مطالعات قبلی هم‌خوانی دارد.

مطالعات قبلی نشان داده که فعال شدن گیرنده $5HT_6$ در مغز و به‌ویژه در ناحیه قشر فرونتال با محور هیپوتالاموس- هیپوفیز-آدرنال مرتبط است و فرضیه‌ای که مطرح است این است که بلوک گیرنده $5HT_6$ می‌تواند اثرات واسطه‌ای سیستم کولی نرژیک و هم‌چنین ارتباط بین سیستم کولی نرژیک و گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی را تسهیل کند.

بر اساس این عقیده بلوک گیرنده $5HT_6$ می‌تواند منجر به افزایش سطح استیل‌کولین و نهایتاً مکانیسم‌های جبرانی و افزایش سطوح گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی در هیپوکمپ گردد. این موضوع یکی از مکانیسم‌های اساسی است که احتمالاً از طریق آن سیستم سروتونرژیک موجب تعدیل اثرات کورتیکوسترون بر روند به‌خاطرآوری و خاموشی حافظه می‌گردد [۱۷].

هم‌چنین مطالعات قبلی نشان داده که فعالیت گیرنده $5HT_6$ موجب پیشرفت حافظه از طریق تعدیل فعالیت سیستم کولی‌نرژیک و گلوتامینرژیک می‌گردد. ضمناً آنتاگونیست گیرنده $5HT_6$ موجب تعدیل و برگشت اختلالات ایجاد شده در محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال می‌گردد. هم‌چنین تزریق آنتاگونیست گیرنده $5HT_6$ موجب افزایش و تقویت حافظه در بیماران آلزایمری می‌گردد. یا در جای دیگر دیده شده که داروهای ضد افسردگی موجب افزایش فعالیت گلوکوکورتیکوئیدها می‌شود. ضمناً کورتیکوسترون می‌تواند

Archive of SID
www.SID.ir

سطوح سروتونین هیپوکمپ را تغییر دهد و ضمناً سروتونین موجب افزایش فعالیت محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال می‌گردد [۱۷]. که همه این نکات نشان‌دهنده اثرات متقابل نزدیک بین سیستم سروتونرژیکی و گلوکوکورتیکوئیدها به‌ویژه در فرایندهای شناختی می‌باشد.

یافته‌های این مطالعه نشان داد که فعال نمودن گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی توسط کورتیکوسترون و یا اعمال استرس حاد به خاطرآوری اطلاعات را مختل و خاموشی حافظه ترس را تسهیل می‌کند. ضمناً پیش‌درمانی SC203575 به عنوان آگونیست و SB271046 به عنوان انتاگونیست گیرنده سروتونرژیک $5HT_6$ منجر به مهار اثرات کورتیکوسترون و استرس حاد می‌شود. بر این اساس احتمالاً حداقل بخشی از اثرات استرس حاد و کورتیکوسترون بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه از طریق گیرنده‌های سروتونرژیک و به‌ویژه $5HT_6$ اعمال می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه خانم مریم واشقانی که در جهت اخذ مدرک پزشکی عمومی طراحی شده بود استخراج شده است و بدین وسیله از همه همکاران مرکز تحقیقات فیزیولوژی سمنان به ویژه آقایان صادقی و وفایی‌نژاد و خانم نوری‌زاد که در تمامی مراحل اجرای آزمایش‌ها همیار ما بودند صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

[1] Bear MF. Synaptic basis of memory storage in the cerebral cortex. Proc Natl Acad Sci 1996; 93: 13453-13459.

[2] Adamec R, Creamerb K, Bartoszykc GD, Burton P. Prophylactic and therapeutic effects of acute systemic injections of EMD 281014, a selective serotonin 2A receptor antagonist on anxiety induced by predator stress in rats. Eur J Pharmacol 2004; 504: 79-96.

[3] Holland AC, Kensinger EA. Emotion and autobiographical memory. Phys Life Rev 2010; 7: 88-131.

[4] Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S. Stress, memory and the amygdala. Nat Rev Neurosci 2009; 10: 423-433.

[5] Margarines MA, Verdugo JM, McEwen BS.Chronic stress alters synaptic terminal structure hippocampus. Proc Natl Acad Sci 1997; 94: 140-102.

[6] Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphrey PP. International union of pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). Pharmacol Rev 1994; 46: 157-203.

[7] Nichols DE, Nichols CD. Serotonin receptors. Chem Rev 2008; 108: 1614-1641.

[8] Hannon J, Hoyer D. Molecular biology of 5-HT receptors. Behav Brain Res 2008; 195: 198-213.

[9] Marcos B, Aisa B, Ramırez MJ. Functional interaction between 5-HT6 receptors and hypothalamic-pituitary-adrenal axis: Cognitive implications. Neuropharmacology 2008; 54: 25-29.

[10] Beato M, Sanchez-Pacheco A. Interaction of steroid hormone receptors with the transcription initiation complex. Endocr Rev 1996; 17: 587-609.

[11] King MV, Marsden CA, Fone KCF. A role for the 5-HT1A, 5-HT4 and 5-HT6 receptors in learning and memory. Trends Pharmacol Sci 2008; 29: 482-492.

[12] Donley MP, Schulkin J, Rosen JB. Glucocorticoid receptor antagonism in the basolateral amygdala and ventral hippocampus interferes with long-term memory of contextual fear. Behav Brain Res 2005; 164: 197-205.

[13] Yang YL, Chao PK, Lu KT. Systemic and intra-amygdala administration of glucocorticoid agonist and antagonist modulate extinction of conditioned fear. Neuropsychopharmacology 2006; 31: 912-924.

[14] Reul JM, VandenBosch FR, De Kloet ER. Differential response of type I and type II corticosteroid receptors to changes in plasma steroid level and circadian rhythmicity. Neuroendocrinology 1987; 45: 407-412.

[15] Munck A, Mendel DB, Smith LI, Orti E. Glucocorticoid receptors and actions. Am Rev Respir Dis 1990; 141: S2-S10.

[16] Roozendaal B. Stress activated hormonal systems and the regulation of memory storing: post traumatic stress disorder. Psychobiology. 1996; 821: 247-258.

[17] Marcos B, Aisa B, Ramirez MJ. Functional interaction between 5HT6 receptors and hypothalamic-pituitary-adrenal axis: cognitive implications. Neuropharmacology 2008; 54: 708-714.

Archive of SID

www.SID.ir

An interaction between serotonergic receptors ($5HT_6$) with acute stress and corticosterone on retrieval and extinction of fear memory in mice

Maryam Vasheghani (M.D Student), Abbas Ali Vafaei (Ph.D)*, Ali Rashidy-Pour (Ph.D), Hossien Rajabzadeh (M.D Student), Ali Boustani (M.D Student)
Laboratory of Learning and Memory, Research Center and Department of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 30 Dec 2014; Accepted: 16 Mar 2015)

Introduction*:* Recent studies indicated that serotonergic receptor can modulate of acute stress' and corticosterone effects on behavior processes especially learning and memory. The aim of this study determines the role of serotonergic receptors ($5HT_6$) on effects of acute stress and corticosterone on fear-based memory retrieval and extinction in passive avoidance task.

Materials and Methods*:* Male adult mice were trained and tested in an inhibitory avoidance task (footshock, 1mA 3s). For retrieval assessment, 30 min before corticosterone injection or application acute stress and one hour before retention test (48 hr after training) the animals received SC203575 as a $5HT_6$ receptor agonist or SB271046 as an antagonist of $5HT_6$ receptors. For assessment memory extinction, one hour before memory reactivation (48 hr after training) animal received the above drugs and then received corticosterone or acute stress. Memory retention test was done 2, 5, 7 and 9 days after memory reactivation.

Results: The results show that injection of corticosterone or application of acute stress before memory riactivation impaired memory retrieval and facilitated extinction of memory in subsequent tests. Pre-treatment with serotonergic receptors ($5HT_6$) agonist and antagonist inhibited the effects of corticosterone or acute stress on memory retrieval and extinction, respectively.

Conclusion: These findings indicate that the effects of glucocorticoids or acute stress on memory retrieval and extinction modulated at least, in part, by $5HT_6$ receptors.

Keywords: Memory retrieval, Extinction, Glucocorticoids, $5HT_6$ receptors, Fear Memory, Passive avoidance task

* Corresponding author. Tel: +98 23 33654186
Aavaf43@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir