بررسی نقش گیرنده‌های NMDA و کانال‌های کلسیمی در اثرات گلوکوکورتیکوییدها بر تثبیت حافظه در موش سوری

مریم ابوطالبی چالشتری
علی رشیدی‌پور*
عباسعلی وفایی

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

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۰۳/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۰۴/۰۶

چکیده

زمینه و هدف: شواهد نشان می‌دهد تزریق گلوکوکورتیکوییدها بعد از آموزش تثبیت انواع مختلف حافظه‌را افزایش می‌دهند. مکانیسم‌های اثر افزایشی آنها بر تثبیت حافظه روشن نیست. هدف مطالعه بررسی نقش گیرنده‌های NMDA و کانال‌های کلسیمی در اثرات کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه است. ***روش بررسی:*** ۱۶۶ سر موش سوری نر نژاد آلبینو با وزن میانگین ۳۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در مدل یادگیری احترازی غیر فعال آموزش داده شدند (شوک ۰/۵ میلی‌آمپر برای مدت سه ثانیه). در آزمایش یک بلافاصله بعد از آموزش، کورتیکوسترون با دوزهای مختلف (۰/۳، یک و سه میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم) تزریق شد. در آزمایش دو و سه به‌ترتیب اثر موثرترین دوز کورتیکوستر- ون در حضور یا غیاب وراپامیل (یک آنتاگونیست کانال‌های‌کلسیمی با دوزهای ۲/۵، پنج و ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم) یا MK 801 (یک آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA با دوز ۰/۱ میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم) بررسی شد. در همه آزمایش‌ها، ۴۸ ساعت بعد از آموزش، تست به‌خاطرآوری (مدت زمانی که طول می‌کشید که حیوان وارد بخش تاریک دستگاه شود) انجام شد. ***یافته‌ها:*** کورتیکوسترون در دوز ۰/۳ میلی‌گرم به‌میزان معنی‌داری تثبیت حافظه را افزایش‌داد. وراپامیل در دوزهای ۲/۵ و پنج میلی‌گرم اثرات تقویتی کورتیکوسترون را بر تثبیت حافظه تضعیف نمود. تجویز MK 801 نیز به‌طور معنی‌داری اثرات کورتیکوسترون را بر تثبیت حافظه مهار می‌کند. ***نتیجه‌گیری:*** حداقل بخشی از اثرات کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه از طریق کانال‌های کلسیمی و گیرنده‌های NMDA اعمال می‌شود.

کلمات کلیدی: کورتیکوسترون، تثبیت حافظه، کانال‌های کلسیمی، گیرنده NMDA، وراپامیل، MK 801، موش‌سوری.

* نویسنده مسئول: گروه و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، آزمایشگاه حافظه و یادگیری، دانشگاه علوم پزشکی سمنان
تلفن: ۰۲۳۱-۳۳۵۴۱۷۰
email: rashidy-pour@sem-ums.ac.ir

مقدمه

یادگیری (Learning) فرایندی است که طی آن اطلاعات کسب می‌شود و حافظه (Memory) فرایند کدگذاری و ذخیره اطلاعات و به‌خاطرآوری آنهاست. مطالعات گذشته نشان می‌دهند که گلوکوکور- تیکوییدها بر بسیاری از فرایندهای شناختی تأثیر می‌گذارند.[۱و۲] برای مثال تجویز حاد این ترکیبات مثل کورتیکوسترون به‌صورت وابسته به دوز (که نمودار آن به‌صورت یک U وارونه است) تثبیت حافظه بلندمدت را افزایش می‌دهد.[۳] مطالعات دیگر نشان داده‌اند که تزریق محیطی کورتیکوسترون با دوزهای مشابه شرایط استرس به موش‌ها قبل از تست یادآوری سبب اختلال به‌خاطرآوری اطلاعات فضایی و غیر فضایی می‌شود.[۴و۵] به‌علاوه تزریق گلوکوکورتیکوییدها به‌میزان شرایط استرس، در انسان نیز سبب اختلال در به‌خاطرآوری اطلاعات وابسته به هیپوکامپ می‌شود.[۶] مکانیسم عمل گلوکوکورتیکوییدها بر فرایندهای حافظه به‌خوبی روشن نمی‌باشد. یکی از مکانیسم‌های عمل گلوکوکورتیکوییدها تغییر بیان ژن به‌دنبال فعال‌شدن گیرنده‌های درون سلولی است. گلوکوکورتیکوییدها دو نوع گیرنده سیتوپلاسمی دارند: گیرنده MR (مینرالوکورتیکوئیدی) و گیرنده GR (گلوکوکور- تیکوییدی). گیرنده GR در مغز جوندگان به‌طور گسترده‌ای پراکنده است و در هیپوکامپ، هسته پاراونتریکولار و هیپوتالاموس تراکم بیشتری دارد. گیرنده‌های GR فقط در طی استرس و در پیک ریتم شبانه‌روزی، وقتی‌که سطح گلوکوکورتیکوییدها بالا است فعال می‌شوند.[۷] بنابراین اثرات گلوکوکورتیکوییدها بر تثبیت حافظه عمدتاً به‌علت فعال شدن گیرنده‌های GR رخ می‌دهد. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که اثرات گلوکوکورتیکوییدها بر فرایندهای حافظه سریع ظاهر می‌شود. به‌نظر می‌رسد این اثرات سریع ناشی از تعامل آنها با چندین نوروترانسمیتر در مغز است.[۸و۹] یکی از این نوروترانسمیترها

Archive of SID
www.SID.ir

اسیدهای آمینه تحریکی هستند. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد تزریق محیطی گلوکوکورتیکوییدها غلظت اسیدهای آمینه تحریکی را در مغز به‌ویژه در ساختارهای مغزی درگیر در حافظه افزایش می‌دهد.[۹] بنابراین احتمال می‌رود که اثرات گلوکوکورتیکوییدها بر حافظه و تثبیت آن از طریق اسیدهای آمینه تحریکی و گیرنده‌های آنها اعمال شود. از سوی دیگر نقش کلسیم و کانال‌های کلسیمی در حافظه به اثبات رسیده است.[۱۰] چون گلوکوکورتیکوییدها غلظت یون‌های‌کلسیمی و فعالیت کانال‌های کلسیمی را افزایش می‌دهند.[۱۱و۱۲] احتمال دارد که یکی از مکانیسم‌های دخیل در اثرات گلوکوکورتیکو- ئیدها بر حافظه از طریق افزایش فعالیت کانال‌های کلسیمی باشد. بنابراین هدف این مطالعه عبارت است از: ۱- بررسی نقش اسیدهای آمینه تحریکی در اثرات کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه. ۲- بررسی نقش کانال‌های کلسیمی در اثرات کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۷ در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان انجام شد.

حیوانات: در این تحقیق از موش‌های سوری (آلبینو) در محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های پنج‌تایی با سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ^{o}C ۲۴-۲۲ و میزان آب و غذای کافی نگهداری شدند. ضمناً کار با حیوانات در کلیه مراحل، بر اساس پروتوکل اخلاقی ارائه شده در مرکز تحقیقات فیزیولوژی سمنان که برگرفته از نمونه جهانی کار با حیوانات است، انجام گرفت.

داروها: داروهای مورد استفاده عبارت بودند از: کورتیکوسترون (۰/۳، یک و سه میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن)، وراپامیل (به‌میزان ۲/۵، پنج و ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن) و MK-801 (۰/۱ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم). داروها بلافاصله بعد از آموزش تزریق می‌شدند. تزریق‌اول کورتیکوسترون یا حامل آن و تزریق‌دوم وراپامیل یا MK-801 یا سالین بود. ضمناً همه داروها از شرکت سیگما آلمان تهیه و دوز آنها بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شده بود.[۳و۹و۱۳]

آموزش یادگیری احترازی غیر فعال:

دستگاه احترازی غیر فعال: دستگاه یادگیری احترازی غیرفعال یک محفظه پلکسی گلاس 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 به‌طول ۱۹cm و تاریک ۲۱cm تقسیم شده است. در کف هر دو بخش میله‌های ضد زنگ به‌فاصله ۱cm از هم قرار داشته و کف قسمت تاریک دستگاه به یک مدار الکتریکی وصل شد که با روشن شدن کلید مدار، جریان الکتریکی با مدت، شدت و فرکانس مشخص از کف آن عبور می‌کرد. دستگاه در یک محل بدون صدا و رفت و آمد قرار داشت.

سازش یافتن: هر موش ابتدا در قسمت روشن دستگاه پشت به‌درب قرار داده و وقتی‌که به‌طرف درب می‌چرخید درب باز و اجازه داده می‌شد حیوان وارد قسمت تاریک شود. بلافاصله درب بسته و پس از چند ثانیه از قسمت تاریک گرفته و به قفس بازگردانیده می‌شد.

آموزش (اکتساب یادگیری): ۳۰ دقیقه بعد از سازش یافتن، اکتساب یادگیری انجام می‌شد. به‌دنبال وارد شدن موش به قسمت تاریک درب بسته شده و شوک الکتریکی با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر و به‌مدت سه ثانیه از طریق سیم‌های استیل تعبیه شده در کف قسمت تاریک به حیوان اعمال می‌شد. موش‌هایی که زمان ورود آنها به محفظه تاریک در زمان آموزش بیش از ۶۰ ثانیه بود از مطالعه حذف شدند.

تست به‌خاطرآوری: ۴۸ ساعت بعد از آموزش تست به‌خاطرآوری انجام می‌شد. حیوان در قسمت روشن پشت به درب قرار داده می‌شد و پس از چرخیدن موش به‌طرف درب، درب باز می‌شد. زمانی که طول می‌کشید تا حیوان برای اولین بار وارد قسمت تاریک شود (Step-through latency, STL) یادداشت می‌شد.

آزمایش‌ها:

آزمایش ۱: هدف این آزمایش اثر دوزهای مختلف کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه بود. ۵۲ سر موش به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل که بلافاصله بعد از آموزش سالین + حامل به آنها تزریق و ۴۸ ساعت بعد تست به‌خاطرآوری انجام شد. ۲- گروه‌های کورتیکوسترون که بلافاصله بعد از آموزش به آنها دوزهای مختلف کورتیکوسترون (۰/۳، یک و سه میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن) تزریق و ۴۸ ساعت بعد تست به‌خاطرآوری انجام شد.

آزمایش ۲: هدف آزمایش بررسی نقش گیرنده NMDA بر اثر کورتیکوسترون (موثرترین دوز در آزمایش ۱) بر تثبیت حافظه بود. ۳۱ سر موش به‌طور تصادفی به دو گروه آزمایشی تقسیم شدند. حیوان دو تزریق دریافت کرد: تزریق اول بلافاصله بعد از آموزش و تزریق دوم بلافاصله بعد از تزریق اول انجام شد.

Archive of SID
www.SID.ir

۱- MK-801 + حامل، ۲- MK-801 + کورتیکوسترون. گروه‌های سالین + حامل و سالین + کورتیکوسترون از آزمایش ۱ انتخاب شدند.

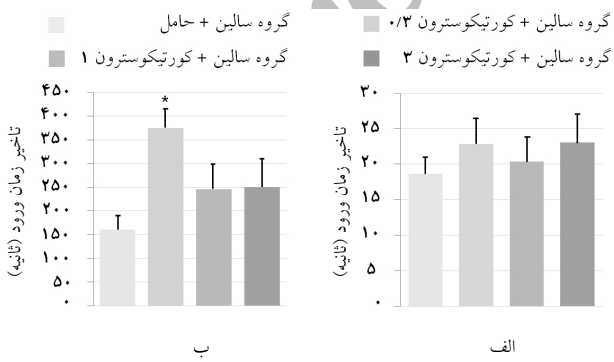
آزمایش ۳: هدف این آزمایش بررسی نقش کانال کلسیم بر اثر کورتیکوسترون (موثرترین دوز در آزمایش ۱) بر تثبیت حافظه بود. ۸۳ سر موش به‌طور تصادفی به شش گروه آزمایشی تقسیم شدند. هر حیوان دو تزریق دریافت کرد: تزریق اول بلافاصله بعد از آموزش و تزریق دوم بلافاصله بعد از تزریق اول انجام شد. ۱- Verapamil (۲/۵mg/kg) + حامل، ۲- Verapamil (۵mg/kg) + حامل، ۳- Verapamil (۲۰mg/kg) + حامل، ۴- Verapamil (۲/۵mg/kg) + کورتیکوسترون، ۵- Verapamil (۵mg/kg) + کورتیکوسترون، ۶- Verapmil (۲۰mg/kg) + کورتیکوسترون. گروه‌های سالین + حامل و سالین + کورتیکوسترون از آزمایش ۱ انتخاب شدند.

یافته‌ها

اثرات کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه: نمودار ۱ اثرات دوزهای مختلف کورتیکوسترون را بر تثبیت حافظه نشان می‌دهد. ملاک ارزیابی حافظه زمانی بود که طول می‌کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک دستگاه شود. آنالیز واریانس یک‌طرفه زمان ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی آموزش حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها ($F_{3, 48}$=۰/۴۵ ،p=۰/۷۱) بود (نمودار ۱- الف). این یافته نشان‌دهنده همگون بودن گروه‌ها بود. آنالیز واریانس یک‌طرفه بر روی زمان ورود به قسمت تاریک حاکی از تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون و دریافت‌کننده حامل دارو بود ($F_{3, 48}$=۳/۳۲ ،p<۰/۰۲). آنالیز بعدی با تست Tukey نشان داد که زمان تاخیر در ورود به ناحیه تاریک دستگاه در گروه ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل می‌باشد (p<۰/۰۲) (نمودار ۱- ب). لذا در ادامهٔ آزمایش‌ها، تعامل این دوز با وراپامیل (بلوکر کانال‌های کلسیمی) و MK-801 (آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA) بررسی شد.

بررسی اثر تزریق وراپامیل بر اثرات تثبیت حافظه کورتیکوسترون: نمودار ۲ تعامل وراپامیل و کورتیکوسترون را بر تثبیت حافظه نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک‌طرفه حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین زمان ورود به محفظه تاریک در طی آموزش در گروه‌های مختلف بود. ($F_{7, 101}$=۱/۱۶ ،p=۰/۳۲) (نمودار ۲- الف). این یافته حاکی از همگون بودن گروه‌ها در زمان آموزش است. آنالیز واریانس دوطرفه بر روی میزان زمان تاخیر در ورود به بخش تاریک حاکی از اثر معنی‌دار کورتیکوسترون بین گروه‌ها ($F_{1, 101}$=۱۲/۸۴ ،p<۰/۰۰۰۵)، فقدان اثر معنی‌دار وراپامیل‌ها ($F_{3, 101}$=۲/۰۷ ،p=۰/۱) و تعامل معنی‌دار بین این دو عامل ($F_{3, 101}$=۲/۹۱ ،p<۰/۰۳) است. آنالیز بعدی نشان داد که وراپامیل در دوزهای ۲/۵ و پنج میلی‌گرم اثرات تقویتی کورتیکوسترون را بر تثبیت حافظه تضعیف نموده است. به‌گونه‌ای که تفاوت بین گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون- وراپامیل با گروه سالین- کورتیکوسترون معنی‌دار است (p<۰/۰۱) (نمودار ۲- ب).

بررسی اثر MK 801 بر اثرات کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه: شکل ۳ اثرات‌متقابل MK 801 و کورتیکوسترون‌را بر تثبیت‌حافظه نشان‌می‌دهد. آنالیز واریانس یک‌طرفه حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین زمان ورود به محفظه تاریک در طی آموزش در گروه‌های مختلف بود (p=۰/۷۸، $F_{3, 48}$=۰/۳۶) (نمودار ۳- الف). این یافته حاکی از همگون بودن گروه‌ها در زمان آموزش است. آنالیز واریانس دوطرفه بر روی میزان زمان‌تاخیر در ورود به‌بخش تاریک حاکی‌از اثر معنی‌دار کورتیکوستر- ون بین گروه‌ها ($F_{1, 55}$=۱۰/۶۹ ،p=۰/۰۰۱)، فقدان اثر معنی‌دار MK 801 (p=۰/۱، $F_{1, 55}$=۲/۲) و تعامل معنی‌دار بین این دو عامل (p<۰/۰۳، $F_{1, 55}$=۴/۶۱) است. آنالیز بعدی با تست Tukey نشان داد که MK 801 به‌تنهایی اثر معنی‌داری بر تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک ندارد ولی وقتی همراه با کورتیکوسترون تزریق می‌شود اثرات تقویتی کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه را تضعیف می‌کند (نمودار ۳- ب).

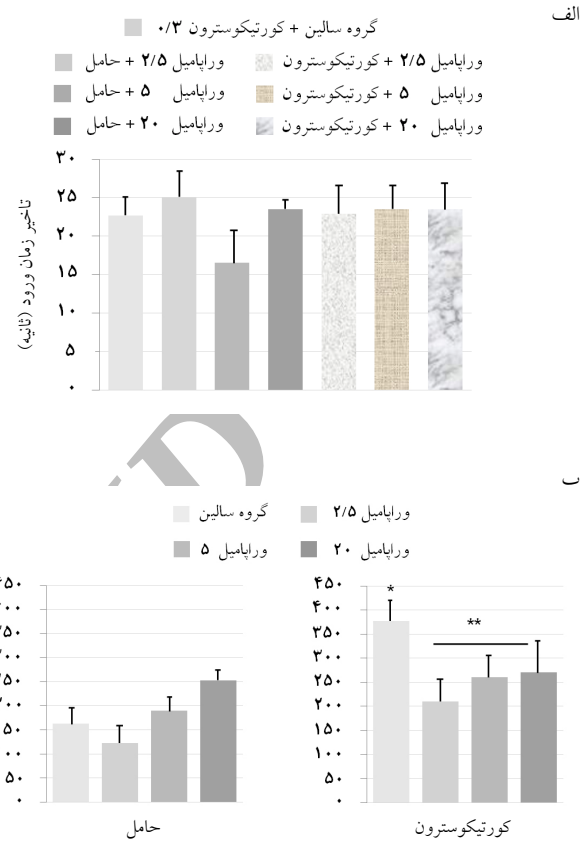


محور عمودی میانگین ± خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک را در طی آموزش (الف) و در طی تست به‌خاطرآوری (ب) نشان می‌دهد.

* p<۰/۰۱ تزریق کورتیکوسترون در مقایسه با گروه کنترل

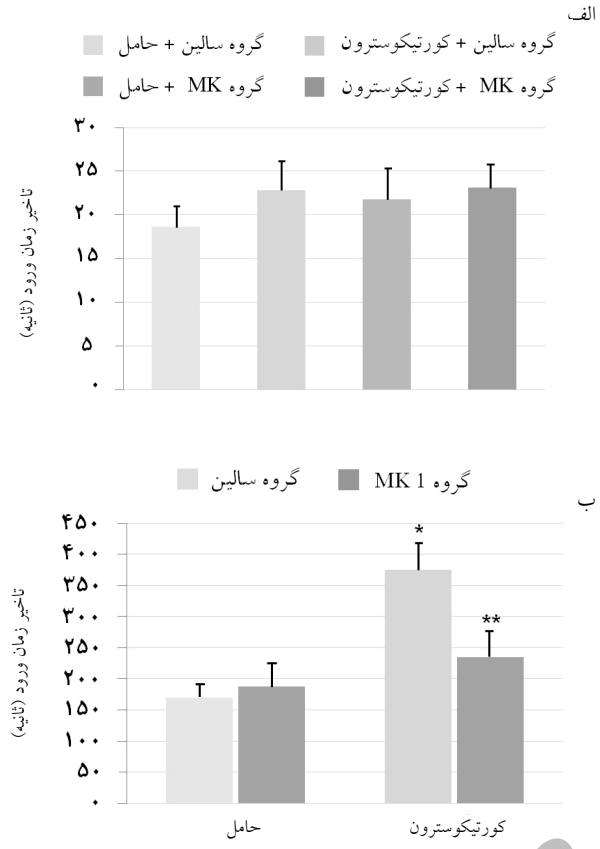
نمودار-۱: اثر کورتیکوسترون (دوز متفاوت) بر تثبیت‌حافظه (مدل احترازی غیرفعال)

Archive of SID
www.SID.ir



محور عمودی میانگین ± خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک را در طی آموزش (الف) و در طی تست به‌خاطرآوری (ب) نشان می‌دهد. * p<۰/۰۱ گروه دریافت‌کننده کورتیکوسترون + سالین در مقایسه با گروه حامل + سالین، ** p<۰/۰۱ گروه دریافت‌کننده کورتیکوسترون + وراپامیل در مقایسه با گروه کورتیکوسترون + سالین

نمودار-۲: اثر وراپامیل بر تثبیت حافظه با کورتیکوسترون (مدل احترازی غیرفعال)



محور عمودی میانگین ± خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک را در طی آموزش (الف) و تست به‌خاطرآوری (ب) نشان می‌دهد. * p<۰/۰۵ گروه دریافت‌کننده کورتیکوسترون + سالین در مقایسه با گروه حامل + سالین. ** p<۰/۰۱ گروه دریافت‌کننده کورتیکوسترون + MK 801 در مقایسه با گروه کورتیکوسترون + سالین

نمودار-۳: اثر MK 801 بر تثبیت حافظه با کورتیکوسترون (مدل احترازی غیرفعال)

به طوری‌که زمان ورود به بخش تاریک در گروه دریافت‌کننده MK 801 و کورتیکوسترون به‌میزان معنی‌داری از گروه کورتیکوسترون و سالین کمتر است (p<۰/۰۱). نتایج بالا نشان می‌دهد که احتمالاً اثرات تقویتی کورتیکوسترون بر حافظه از طریق تاثیر بر گیرنده‌های NMDA اعمال می‌شود به گونه‌ای که مهار این گیرنده‌ها به‌دنبال تزریق MK 801 این اثر را تضعیف می‌کند.

بحث

۱- کورتیکوسترون در دوز ۰/۳ میلی‌گرم بیشترین اثر را بر تثبیت حافظه دارد. ۲- وراپامیل به‌تنهایی اثری بر تثبیت حافظه اثر ندارد ولی در دوزهای پایین قادر است اثر کورتیکوسترون را بلوک کند. ۳- MK 801 به تنهایی اثری بر تثبیت حافظه ندارد ولی اثر کورتیکوسترون را بلوک می‌کند. مطالعات گذشته به‌خوبی نشان داده است که تزریق کورتیکوسترون بعد از آموزش منجر به افزایش تثبیت حافظه در انواع مختلف مدل‌های بررسی حافظه و یادگیری می‌شود.[۱۴-۱۷] بر این اساس یافته‌های این مطالعه نتایج مطالعات گذشته را تایید می‌کند. به‌نظر می‌رسد که اثر کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه یک اثر انتخابی و اختصاصی باشد و نمی‌تواند به‌علت اثرات غیر اختصاصی باشد. با توجه به اینکه تست حافظه ۴۸ ساعت بعد از تزریق کورتیکوسترون انجام شد و با توجه به نیمه عمر آن، یقیناً در زمان انجام تست کورتیکوسترون تزریق شده از خون پاک شده است و اثرات مشاهده شده ناشی از اثر ماندگار آن بر سیستم‌های دخیل در حافظه است. کورتیکوسترون یک ترکیب محلول در چربی است و به‌راحتی از سد خونی- مغزی عبور می‌کند و بر روی ساختارهای متعددی از مغز از

Archive of SID
www.SID.ir

جمله آمیگدال، هیپوکامپ و سایر ساختارهای لیمبیک و از این طریق بر روی مراحل مختلف حافظه اثر می‌گذارد. گلوکورتیکوئیدها اعمال خود را با واسطه اتصال به دو نوع گیرنده سیتوپلاسمی انجام می‌دهند.[۷] در مغز جوندگان گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی به‌صورت گسترده‌ای پراکنده شده‌اند و به‌ویژه در هیپوکامپ و هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس تراکم بیشتری دارند. برعکس، گیرنده‌های مینرالوکورتیکوئیدی ۱ با تمایل بالایی به کورتیزول، کورتیکوسترون و آلدوسترون متصل می‌شوند و بیشتر در هیپوکامپ و سپتوم لوکالیزه شده‌اند. گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی ۲ فقط در طی استرس و در پیک ریتم شبانه‌روزی، وقتی سطوح گلوکوکورتیکوییدها بالاست اشغال می‌شوند.[۱۷] تمایل این دو نوع گیرنده از نظر میل ترکیبی به کورتیکوسترون و لیگاندی‌های سنتتیک با هم فرق می‌کنند. MR تمایل بالایی به کورتیکوسترون طبیعی دارد و با غلظت‌های پایین کورتیکوسترون و در شرایط پایه اشباع می‌شود. GR میل ترکیبی کمتری دارد (ده برابر کمتر از MR) و تنها در غلظت‌های بالای کورتیکوسترون یعنی در اوج سیکل شبانه‌روزی کورتیکوسترون و یا در هنگام استرس که ترشح کورتیکوسترون افزایش یافته است، اشباع می‌گردد.[۱۸و۱۴و۵] بنابراین، اثرات کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه ناشی از فعال شدن گیرنده GR است.[۱۷]

تعامل گلوکوکورتیکوئیدها و کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ روی تثبیت حافظه: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که وراپامیل به‌عنوان آنتاگونیست کانال‌های کلسیمی نوع L قادر است اثرات کورتیکوسترون را بر تثبیت حافظه مهار کند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که کورتیکوسترون با فعال کردن کانال‌های کلسیمی در ساختارهای عصبی هدف و از این رو افزایش یون کلسیم در سلول‌ها منجر به افزایش تثبیت حافظه می‌شود. این یافته‌ها با نقش کلسیم به‌عنوان یک پیامبر داخل سلولی مهم در افزایش حافظه انطباق دارد.[۲۰و۱۹] از طرف دیگر مکانیسم اثر کورتیکوسترون بر کانال‌های کلسیمی مشخص نیست ولی مطالعات گذشته نشان می‌دهد که فعالیت کانال‌های کلسیمی و بیان ژن این کانال‌ها توسط استرس و گلوکوکورتیکوییدها تنظیم می‌شود. این اثر تنظیمی گلوکوکورتیکوییدها در دو ساختار مهم مغزی درگیر در حافظه و یادگیری یعنی هیپوکامپ و آمیگدال نشان داده شده‌اند.[۱۲و۱۱] با توجه به اینکه عمده اثرات گلوکوکورتیکوییدها بر تثبیت حافظه از طریق هیپوکامپ و آمیگدال انجام می‌شود[۵] و چون گلوکوکورتیکوییدها فعالیت کانال‌های کلسیمی را در این ساختارها افزایش می‌دهند[۱۲و۱۱] به احتمال قوی گلوکوکورتیکوییدها از طریق فعال کردن کانال‌های کلسیمی این نواحی منجر به تثبیت حافظه می‌شوند. ارزیابی دقیق این موضوع نیازمند مطالعات آینده است.

تعامل گلوکوکورتیکوئیدها و گیرنده‌های NMDA روی تثبیت حافظه: گیرنده‌های NMDA نقش مهمی در تثبیت اطلاعات دارند.[۲۱] در این مطالعه مشاهده گردید که بلوک گیرنده‌های NMDA اثرات کورتیکوسترون را بر تثبیت حافظه مهار می‌کند. این مطالعه با یافته‌های قبلی تا اندازه‌ای مطابقت دارد. برای مثال در یک مطالعه اخیر در جوجه نشان داده شد که تزریق آنتاگونیست گیرنده NMDA قبل از آموزش اثر مهاری کورتیکوسترون را بلوک می‌کند.[۴] همچنین در یک مطالعه اخیر نشان داده شد که گیرنده‌های NMDA آمیگدال نقش مهمی در اثرات تعدیلی گلوکوکورتیکوییدها بر فرایند خاموشی ترس شرطی شده در موش‌ها بازی می‌کنند.[۲۲] این یافته‌ها بیانگر تعامل گلوکوکورتیکوییدها و گیرنده‌های NMDA در فرایندهای یادگیری و حافظه است. بنابراین می‌توان فرض کرد که تزریق محیطی کورتیکوسترون با فعال کردن گیرنده‌های NMDA در ساختارهای هدف از قبیل آمیگدال و هیپوکامپ منجر به افزایش تثبیت حافظه می‌شود به گونه‌ای که بلوک گیرنده‌های NMDA این اثر تسهیلی را مهار می‌کند. در همین راستا مطالعات قبلی نشان داده است گلوکوکورتیکوئیدها فعالیت گیرنده‌های NMDA را تعدیل می‌کنند.[۲۳] به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که هم بلوک گیرنده‌های NMDA و هم بلوک کانال‌های کلسیمی اثرات کورتیکوسترون را بر تثبیت حافظه مهار می‌کند.

با توجه به اینکه فعال شدن هر دو مورد نهایتاً منجر به افزایش غلظت کلسیم درون سلولی می‌شود، به‌نظر می‌رسد که کورتیکوسترون با افزایش کلسیم درون سلولی در ساختارهای هدف منجر به افزایش تثبیت حافظه می‌شود و این اثرات کورتیکوسترون بر گیرنده‌های NMDA و کانال‌های کلسیمی می‌تواند هم از طریق مسیرهای غیر ژنی و هم از طریق مسیرهای ژنی صورت گیرد.[۲۴] *سپاسگزاری:* این مقاله از پایان‌نامه مریم ابوطالبی چالشتری که جهت اخذ دکتری حرفه‌ای پزشکی طراحی شده بود، استخراج شده است. از کلیه اساتید و همکاران بخش فیزیولوژی به‌خصوص آقای صادقی و محمدی تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Belanoff JK, Gross K, Yagar A, Schatzberg AF. Corticosteroids and cognition. *J Psychiatr Res* 2001;35(3):127-45.
2. Beylin AV, Shors TJ. Glucocorticoids are necessary for enhancing the acquisition of associative memories after acute stressful experience. *Horm Behav* 2003;43(1):124-31.
3. Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Taherian AA. Peripheral injection of corticosterone has different effects on consolidation and retrieval spatial memory. Tabriz Pharmaciutical Sci 2009:14(4):237-45. [Persian]
4. Rashidy-Pour A, Sadeghi H, Taherain 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(1):193-8.
5. Roozendaal B. Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 2002;78(3):578-95.
6. de Quervain DJ, Roozendaal B, Nitsch RM, McGaugh JL, Hock C. Acute cortisone administration impairs retrieval of long-term declarative memory in humans. *Nat Neurosci* 2000;3(4):313-4.
7. Fuxe K, Wikström AC, Okret S, Agnati LF, Härfstrand A, Yu ZY, et al. Mapping of glucocorticoid receptor immunoreactive neurons in the rat tel- and diencephalon using a monoclonal antibody against rat liver glucocorticoid receptor. *Endocrinology* 1985;117(5):1803-12.
8. Khaksari M, Rashidy-Pour A, Vafaei AA. Central mineralocorticoid receptors are indispensable for corticosterone-induced impairment of memory retrieval in rats. *Neuroscience* 2007;149(4):729-38.
9. Venero C, Borrell J. Rapid glucocorticoid effects on excitability amino acid levels in the hippocampus: a microdialysis study in freely moving rats. *Eur J Neurosci* 1999;11:2465-73.
10. Pláteník J, Kuramoto N, Yoneda Y. Molecular mechanisms associated with long-term consolidation of the NMDA signals. *Life Sci* 2000;67(4):335-64.
11. Chameau P, Qin Y, Spijker S, Smit G, Joëls M. Glucocorticoids specifically enhance L-type calcium current amplitude and affect calcium channel subunit expression in the mouse hippocampus. *J Neurophysiol* 2007;97(1):5-14.
12. Karst H, Nair S, Velzing E, Rumpff-van Essen L, Slagter E, Shinnick-Gallagher P, et al. Glucocorticoids alter calcium conductances and calcium channel subunit expression in basolateral amygdala neurons. *Eur J Neurosci* 2002;16(6):1083-9.
13. Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Taherian AA, Miladi-Gorji H, Sadeghi H, Fathollahi Y, et al. Verapamil enhances acute stress or glucocorticoid-induced deficits in retrieval of long-term memory in rats. *Behav Brain Res* 2009;203(1):76-80.
14. Roozendaal B. Stress activated hormonal systems and the regulation of memory storing: Post Traumatic Stress Disorder. *Psychobiology* 1996;821:247-58.
15. Takahashi T, Kimoto T, Tanabe N, Hattori TA, Yasumatsu N, Kawato S. Corticosterone acutely prolonged N-methyl-d-aspartate receptor-mediated Ca2+ elevation in cultured rat hippocampal neurons. *J Neurochem* 2002;83(6):1441-51.
16. Duvarci S, Nader K. Characterization of fear memory reconsolidation. *J Neurosci* 2004;24(42):9269-75.
17. Maren S, Baudry M. Properties and mechanisms of long-term synaptic plasticity in the mammalian brain: relationships to learning and memory. *Neurobiol Learn Mem* 1995;63(1):1-18.
18. Reul JM, de Kloet ER. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 1985;117(6):2505-11.
19. Bean BP. Classes of calcium channels in vertebrate cells. *Annu Rev Physiol* 1989;51:367-84.
20. Miller RJ. Multiple calcium channels and neuronal function. *Science* 1987;235(4784):46-52.
21. Woodside BL, Borroni AM, Hammonds MD, Teyler TJ. NMDA receptors and voltage-dependent calcium channels mediate different aspects of acquisition and retention of a spatial memory task. *Neurobiol Learn Mem* 2004;81(2):105-14.
22. Yang YL, Chao PK, Ro LS, Wo YY, Lu KT. Glutamate NMDA receptors within the amygdala participate in the modulatory effect of glucocorticoids on extinction of conditioned fear in rats. *Neuropsychopharmacology* 2007;32(5):1042-51.
23. Mulholland PJ, Self RL, Hensley AK, Little HJ, Littleton JM, Prendergast MA. A 24 h corticosterone exposure exacerbates excitotoxic insult in rat hippocampal slice cultures independently of glucocorticoid receptor activation or protein synthesis. *Brain Res* 2006;1082(1):165-72.
24. Makara GB, Haller J. Non-genomic effects of glucocorticoids in the neural system. Evidence, mechanisms and implication. *Prog Neurobiol* 2001;65:367-90.

Archive of SID

www.SID.ir

Tehran University Medical Journal; Vol. 67, No. 7, Oct 2009: 457-463

Assessment of the role of NMDA receptors and calcium channels in glucocorticoid-induced enhancement of memory consolidation in mice

Abotalebi-Chaleshtary M.
Rashidy-Pour A.*
Vafaei AA.

Department of Physiology and Research Center of Physiology, Laboratory of Learning and Memory

Semnan University of Medical Sciences

Received: May 25, 2009 Accepted: June 27, 2009

Abstract

Background: Ample evidence indicated that glucocorticoids, when administered after training, enhance memory consolidation in a variety of tasks. The mechanisms underlying the enhancing effects of glucocorticoids on memory consolidation are not well known. The aim of this study was to determine the role of NMDA receptors and calcium channels in glucocorticoid-induced enhancement of avoidance memory consolidation in mice.

Methods: Experiments were performed on 166 male albino mice (about 30gr). The animals were trained in an inhibitory avoidance (IA) task (0.5mA shock for 3 seconds). In Experiment 1, dose- response effects of corticosterone on memory consolidation were determined. Immediately after training in IA task, the animals were received different doses of corticosterone (0.3, 1 or 3mg/kg). In Experiments 2 and 3, effects of corticosterone on memory consolidation were examined in the presence or absence of verapamil, a calcium channel blocker, (2.5, 5 or 20mg/kg) or MK-801, an antagonist of NMDA receptor (0.1mg/kg), respectively. In all experiments, retention test was done two days later.

Results: Results from first experiment revealed that corticosterone at dose of 0.3mg/kg significantly improved consolidation of avoidance. Data from experiments 2 and 3 showed that both verapamil, in doses of 2.5 and 5mg/kg, and MK801 significantly blocked corticosterone-induced enhancement of memory consolidation.

Conclusion: Finding of this study clearly demonstrated that the memory enhancing effects of corticosterone, at least in part; mediate via calcium channels and NMDA receptors.

Keywords: NMDA receptors, calcium channels, glucocorticoids, consolidation, memory consolidation, mice.

* Corresponding author: Dept. of Physiology and Research Center of Physiology, Laboratory of Learning and Memory, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, IRAN
Tel: +98-231-3354170
email: rashidy-pour@sem-ums.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir