مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره شانزدهم، شمارهٔ ۱، دی ۱۳۹۲، صفحه ۳۰-۲۲

برهم کنش گیرنده های موسکارینی کولینرژیک و بتا-۱ آدرنرژیک ناحیه CA1 در تشکیل حافظه اجتنابی غیرفعال در موش صحرایی

سارا بمانی لیرگشاسی(MSc)[۱]، لطف اله خواجه پور(PhD)[۱*]، احمدعلی معاضدی(PhD)[۱]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

دریافت: ۹۲/۲/۲، اصلاح: ۹۲/۴/۱۹، پذیرش: ۹۲/۶/۱۳

خلاصه

سابقه و هدف: دخالت سیستم های موسکارینی کولینرژیک و بتا آدرنرژیک در فرآیند شکل گیری حافظه به خوبی مشخص شده است. در حالیکه تداخل عمل این دو سیستم در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی، در تشکیل حافظه تاکنون بررسی نشده است. این مطالعه به منظور بررسی برهمکنش گیرنده های کولینرژیکی موسکارینی و بتا-۱ آدرنرژیک ناحیه CA1 در فراخوانی حافظه انجام شد.

مواد و روشها: در این تحقیق تجربی از ۷۷ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار (۲۰۰-۲۵۰گرم)، استفاده شد. حیوانات (در ۱۱ گروه) در ناحیه CA1 با جراحی استرئوتاکسی کانول گذاری شدند و هفت روز بعد در دستگاه استپ ثرو آموزش دیدند: گروه سالین (۱ میکرولیتر/ موش)، گروه های پیلوکارپین (۰/۵، ۱و۲ میکروگرم/موش)، گروه های بتاکسولول (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ میکروگرم/موش). چهار گروه دیگر شامل سالین/سالین، پیلوکارپین ۲/سالین، پیلوکارپین۲/ بتاکسولول ۰/۲۵و پیلوکارپین ۲/ بتاکسولول ۰/۵ بودند. دارو ها بعد از آموزش به درون CA1 تزریق گردید و حافظه ۲۴ساعت بعد مورد آزمون قرار گرفت. مدت زمان تأخیر ورود حیوانات به بخش تاریک دستگاه و مدت زمان سپری شده در این بخش، برای سنجش فراخوانی حافظه، ثبت و بررسی گردید.

یافته ها: تزریق ۲میکروگرم پیلوکارپین، آگونیست گیرنده موسکارینی، مدت زمان تأخیر ورود به بخش تاریک را افزایش (۵/۶±۲۹۱/۴ ثانیه) و مدت زمان سپری شده در این بخش را کاهش (۵/۵±۸/۶ ثانیه) داد (P<۰/۰۵). این اثر توسط مقادیرکم و بی تاثیر بتاکسولول (۰/۲۵، ۰/۵)، آنتاگونیست گیرنده بتا-۱ آدرنرژیک، معکوس گردید (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱) به ترتیب؛ برای زمان تاخیر ورود به خانه تاریک ۴۷/۳±۱۲۲و ۱۰/۶±۶۲ ثانیه و برای زمان سپری شده درخانه تاریک ۳۵/۴±۱۳۴/۶ و ۲۳/۲±۱۹۲ ثانیه بود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد افزایش فراخوانی حافظه اجتنابی غیرفعال، که با فعال سازی سیستم موسکارینی کولینرژیک ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی القاء شده است، ممکن است توسط مکانیسم های وابسته به گیرنده های بتا-۱نورآدرنرژیک میانجیگری شود.

واژه های کلیدی: حافظه، سیستم آدرنرژیک، سیستم کولینرژیک، هیپوکامپ.

مقدمه

یادگیری، تغییرات رفتاری است که در اثر تجربه به دست می آید (۲و۱) و حافظه فرآیندی است که طی آن اطلاعات رمزگردانی و ذخیره می گردند و در زمان نیاز این اطلاعات فراخوانده می شوند (۳). نواحی مختلف مغز از قبیل هیپوکامپ (۶-۴)، قشرپیش پیشانی، آمیگدال، هسته آکومبنس و ناحیه تگمنتال شکمی نواحی مختلف مغزی هستند که در شکل گیری حافظه دخالت دارند (۵). تشکیلات هیپوکامپی از اجزای نیمکره ای سیستم لیمبیک می باشد، که زیر شکنج پاراهیپوکامپی و روی بخش شکمی لوب گیجگاهی قرار گرفته است (۷). هیپوکامپ بخشی از این تشکیلات است که نقش اساسی در پردازش اطلاعات داشته (۸) و محل اصلی شکل گیری تقویت طولانی مدت سیناپسی است (۹). مطالعات بسیاری وجود دارند که اهمیت هیپوکامپ در پردازش انواع مختلف حافظه و یادگیری از قبیل یادگیری وابسته به پاداش (۱۰و۲)، یادگیری اجتنابی غیر فعال (۱۱) و حافظه فضائی (۱۲) را نشان می دهند. حافظه فرآیند پیچیده ای است که به هماهنگی و برهم کنش نوروترانسمیترهای مختلف نیازمند است (۱۳). گلوتامات، گابا، دوپامین، سروتونین (۱۴)، استیل کولین، نور اپی نفرین (۱۵) از مهمترین نوروترانسمیترهای موثر در تشکیل انواع حافظه هستند. سیستم نورآدرنرژیک مرکزی توسط نور اپی نفرین و از طریق دو نوع گیرنده آلفا و بتا در یادگیری و حافظه مداخله می کند (۲۰-۱۶). تزریق نور اپی نفرین بعد از آموزش حافظه را در بعضی از انواع یادگیری افزایش می دهد (۲۱). افزایش آن بعد از

▣ این مقاله حاصل پایان نامه سارا بمانی لیرگشاسی دانشجو کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری و طرح تحقیقاتی به شماره ۶۳۶۴۱ دانشگاه شهید چمران اهواز می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: اهواز، اتوبان گلستان، دانشگاه شهید چمران، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، تلفن: ۳۳۳۱۰۴۵-۰۶۱۱
Email:khajehpour@scu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.3.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.22]

استرس ملایم (۲۲) و همچنین تزریق آن در هیپوکامپ، قشر انتورینال و آمیگدال عملکرد حافظه را افزایش می دهد. با اینکه مکانیسم های اساسی عملکرد این نوروترانسمیتر در پردازش حافظه کاملا شناخته نشده است اما احتمال دارد که نوراپی نفرین در تعدیل انتقال سیناپسی گلوتامات دخالت داشته باشد (۱۶). گیرنده های بتا-آدرنرژیک نقش مهمی در شکل گیری حافظه دارند (۲۳) و برای تثبیت حافظه هیپوکامپی ضروری هستند (۱۹و۱۶). این گیرنده ها نقش مهمی در تنظیم تقویت طولانی مدت سیناپسی دارند (۲۴و۲۰و۱۹و۱۶). همچنین تزریق پروپرانول، آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده های بتاآدرنرژیک، در ناحیه قاعده ای- جانبی آمیگدال از اثرات این گیرنده ها در فرآیند شکل گیری حافظه پیشگیری می کند (۲۱). این گیرنده ها دارای سه زیر نوع بتا-۱، بتا-۲و بتا-۳ می باشند که همگی در سیستم عصبی به وفور یافت می شوند (۱۹). گیرنده های بتا- ۱ آدرنرژیک توسط نورون های پیرامیدال و سلول های دندانه دار هیپوکامپ پشتی بیان می شوند. این گیرنده ها فرآیند ذخیره سازی حافظه را میانجیگری میکنند (۲۵). سیستم کولینرژیک در بسیاری از عملکرد های پیچیده مغزی از قبیل یادگیری و حافظه دخالت دارد (۱۸و۶). افزایش سطوح استیل کولین در نواحی مختلف مغز شامل هیپوکامپ، کورتکس و آمیگدال تشکیل و تثبیت حافظه را تقویت می کند (۱۰و۶). همچنین گزارش شده است که مسدود کردن فعالیت های کولینرژیکی، حافظه و یادگیری را تخریب می کند (۲۷و۲۶و۱). عصب دهی کولینرژیک از نواحی مختلف مغز شامل بخش قاعده ای مغز پیشین و مغز میانی منشا می گیرند (۱۰). اثرات سیستم کولینرژیک از طریق دو نوع گیرنده نیکوتینی و موسکارینی اعمال می گردد. این گیرنده ها، به ویژه گیرنده های موسکارینی، دارای توزیع گسترده ای در سیستم عصبی مرکزی از جمله هیپوکامپ می باشند (۲۶). استیل کولین به ویژه از طریق گیرنده های موسکارینی یکی از مهمترین تعدیل کننده های فرآیند های شناختی است (۱). تزریق پیش از آزمون آنتاگونیست های موسکارینی عملکرد یادگیری اجتنابی فعال و غیر فعال را تخریب میکند (۲۷و۲۴)، درحالیکه آگونیست های آن حافظه و یادگیری را افزایش می دهند (۲۷و۱). فعال سازی گیرنده های موسکارینی هیپوکامپ موجب بهبود حافظه بلند مدت میگردد (۲۸)، در حالیکه تزریق اسکوپولامین، آنتاگونیست موسکارینی، در هیپوکامپ پشتی موش صحرایی نر موجب تخریب تثبیت حافظه می گردد (۲۹).

با توجه به این که مطالعات نشان می دهند، برهمکنش سیستم های نوروترانسمیتری نقش اساسی در عملکرد مغز دارد، نقش سیستم بتا آدرنرژیک ناحیه هیپوکامپ در فرآیند حافظه به خوبی مشخص شده است و گزارش های زیادی، مبنی بر نقش کلیدی گیرنده های موسکارینی کولینرژیک هیپوکامپی در تشکیل حافظه، وجود دارد. اما نقش برهمکنش این دو سیستم نوروترانسمیتری هیپوکامپی در میانجیگری حافظه تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته بود. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی، تداخل گیرنده های موسکارینی و بتا-۱آدرنرژیکی ناحیه CA1 در حافظه اجتنابی غیر فعال در موش صحرایی، انجام گردید.

مواد و روشها

در این پژوهش آزمایشگاهی، ۷۷ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. این حیوانات در قفس نگهداری و برای عادت کردن به محیط جدید حدود یک هفته قبل از شروع آزمایش، به حیوان خانه منتقل شدند. محل نگهداری حیوانات از لحاظ دوره روشنائی- تاریکی (۱۲ ساعته)، دما (۲±۲۴ درجه سانتی گراد) و آب، غذای کافی و شرایط مناسب داشتند. آزمون های رفتاری در دوره روشنائی و در محدوده ساعت ۱۳-۹ انجام شد و هر حیوان یک بار برای انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام جراحی و کانول گذاری ابتدا حیوانات با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (۱۰۰میلیگرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰میلیگرم/کیلوگرم) بیهوش شده، بعد از تراشیدن موها، حیوان در دستگاه استرئوتاکس (ساخت شرکت استئولتیک آمریکا) قرار گرفت. بعد از ثابت کردن سر حیوان در دستگاه با ایجاد شکافی در پوست سر حیوان، سطح جمجمه تمیز گردید. با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون (۳۰) مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی برای هر حیوان تعیین گردید: ۳/۳میلی متر فاصله قدامی خلفی نسبت به برگما، ۲ میلیمتر فاصله از خط وسط به صورت دوطرفه و ۲/۸ فاصله از سطح جمجمه. سپس به وسیله مته دندانپزشکی، در نقاط تعیین شده، جمجمه سوراخ گردید. کانول های راهنما (به طول ۱۰ میلی متر، تهیه شده از سر سوزن شماره ۲۲) را به صورت دو طرفه در درون جمجمه قرار داده، با سیمان دندانپزشکی تثبیت گردید. پس از یک هفته دوره بهبودی، حیوانات برای تزریق و آزمایش رفتاری به کار گرفته شدند. تزریق درون مغزی دارو ها، با استفاده از سرنگ هامیلتون ۲ میکرولیتری انجام گرفت. یک کانول تزریق (تهیه شده از سر سوزن شماره ۲۷، به طول ۱۵ میلی متر)، که توسط یک لوله پلی اتیلن به سرنگ وصل بود، در درون کانول راهنما قرار گرفت و در مدت ۶۰ ثانیه، مقدار ۰/۵ میکرولیتر محلول تزریقی در هر طرف (۱میکرولیتر در هر حیوان) تزریق گردید. برای انتشار کامل دارو به داخل ناحیه CA1، سوزن تزریق با تاخیر ۶۰ ثانیه ای پس از تزریق خارج شد. در پایان آزمایش برای اطمینان از درستی مختصات محل جراحی و تزریق، مقدار ۱ میکرولیتر از محلول ۱٪ محلول آبی متیل به صورت دو طرفه تزریق شده، سپس مغز حیوان از جمجمه خارج و در محلول فرمالین ۱۰٪ به مدت ۱۰ روز ثابت شد. محل های کانول گذاری (ناحیه CA1)، با تطبیق مقاطع تهیه شده از مغز با اطلس مغز موش تایید گردید. داده های حیواناتی که محل کانول گذاری آن ها خارج از هیپوکامپ پشتی بود از محاسبات حذف شد.

دستگاه سنجش حافظه استپ ثرو (step-Through) از جنس پلکسی گلاس و از دو بخش تاریک (سیاه) و روشن(سفید) هر کدام به ابعاد ۲۰×۲۰×۳۰ سانتی متر تشکیل شده است. این دو بخش توسط یک دریچه با یکدیگر ارتباط دارند، که در مواقع لزوم برای عبور حیوان از یک بخش به بخش دیگر باز می شود. در کف بخش تاریک، نیز میله های فولادی (به قطر ۲/۵ میلی متر و با فواصل ۱ سانتی متر) تعبیه شده است، که توسط یک کابل ارتباطی به استیمولاتور متصل است. این دستگاه یک جریان الکتریکی (به مدت ۳ ثانیه و شدت ۱ میلی آمپر) را در این میله ها ایجاد می کند، که موجب وارد شدن شوک الکتریکی به دست و پای حیوان می گردد. در این تحقیق بررسی حافظه اجتنابی غیر فعال (مهاری) در دو روز پشت سر هم انجام گرفت: روز اول (آموزش) و روز دوم (آزمون). در روز آموزش، برای آشنائی، هر حیوان در درون بخش روشن دستگاه قرار داده شد و پس از ۱۰ ثانیه دریچه باز شد. مدت زمان درنگ حیوان برای ورود به بخش تاریک دستگاه، ثبت گردید. با توجه به تمایل ذاتی موش ها برای ورود به بخش تاریک، معمولا بعد از مدت زمان کوتاهی، حیوان وارد بخش تاریک دستگاه می شد. حیواناتی که بیش از ۱۰۰ ثانیه از ورود به بخش تاریک، خودداری

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.3.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.22]

می کردند، از آزمایش ها حذف گردیدند. بعد از ورود حیوان به بخش تاریک دریچه بسته شد و پس ازچند ثانیه حیوان از بخش تاریک خارج و به قفس خود برگردانده شد.

بعد از گذشت۳۰ دقیقه مجددا حیوان درون بخش روشن قرار داده شد و بعد از۱۰ ثانیه دریچه باز شد و بلافاصله پس از ورود کامل حیوان به بخش تاریک، دریچه بسته شد و یک شوک الکتریکی به مدت ۳ ثانیه به پاهای حیوان وارد گردید. بعد از دریافت شوک، حیوان به قفس خود منتقل گردید. دو دقیقه بعد حیوان در بخش روشن قرار داده شد. اگر ۱۲۰ ثانیه بعد از باز شدن دریچه حیوان از ورود به بخش تاریک اجتناب می کرد، نشان دهنده شکل گیری یادگیری اجتنابی غیر فعال در موش بود و بلافاصله حیوان از دستگاه خارج و تزریق های پس از آموزش را دریافت می کرد.

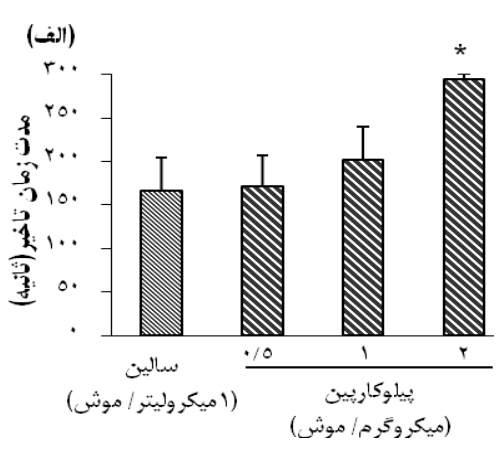
آزمون فراخوانی حافظه اجتنابی غیر فعال۲۴ ساعت بعد از جلسه آموزش انجام گرفت. به این ترتیب که هر موش به صورت جداگانه در بخش روشن دستگاه قرار داده شد و بعد از گذشت ۱۵ ثانیه دریچه دستگاه باز شد. در این مرحله هیچ گونه شوک الکتریکی به حیوان وارد نشد. مدت زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک و مدت زمان توقف حیوان در این بخش ثبت گردید. افزایش زمان تاخیر در ورود حیوان به بخش تاریک و کاهش مدت زمان سپری شده در این بخش نشان دهنده بهبودی حافظه اجتنابی غیر فعال در حیوان است. داروهای بیهوشی کتامین هیدروکلراید و زایلازین (شرکت آلفاسان هلند) به صورت درون صفاقی استعمال گردید. بتاکسولول، آنتاگونیست گیرنده بتا-۱ ادرنژیک، و پیلوکارپین، آگونیست گیرنده های موسکارینی، (تهیه شده از شرکت سینا دارو ایران) در سالین (۰/۹ درصد) حل شده و در حجم نهائی یک میکرولیتر به ازای هر موش تزریق گردید.

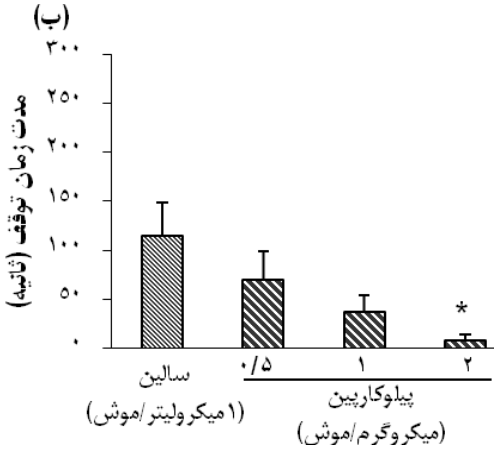
در تحقیق حاضر، حیوانات در ۱۱ گروه (هر گروه متشکل از هفت سر حیوان) آزمایشی قرار گرفتند و سالین یا دارو را بلافاصله بعد از آموزش به صورت درون ناحیه CA1 دریافت کردند: گروه ۱، سالین (۱میکرولیتر/موش) و گروههای ۲ ،۳و۴ پیلوکارپین (۰/۵، ۱ و۲ میکروگرم/موش) دریافت کردند. گروه های ۵، ۶ و ۷ بتاکسولول (۰/۲۵، ۰/۵و ۱میکروگرم/موش) دریافت کردند. گروه ۸ یا گروه سالین/سالین، دو تزریق سالین (۱میکرولیتر/موش) بافاصله ۵ دقیقه دریافت کردند. گروه ۹ یا پیلوکارپن/سالین، ابتدا سالین (۱میکرولیتر/موش) و ۵ دقیقه بعد پیلوکارپین (۲ میکروگرم/موش) دریافت نمودند. گروه های ۱۰و۱۱ ابتدا مقادیر کم بتاکسولول (۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم/موش) و ۵ دقیقه بعد مقدار ۲ میکروگرم پیلوکارپین را به ازای هر موش دریافت کردند. همه حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آموزش، بدون دریافت دارو و شوک، مورد آزمون حافظه قرار گرفتند. مدت زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک و مدت زمان توقف حیوان در این بخش در مدت ۳۰۰ ثانیه به عنوان داده های این تحقیق ثبت گردید. محاسبات آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و روش های آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی توکی انجام گردید و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج نشان داد که بین گروه های دریافت کننده پیلوکارپین و سالین (گروههای ۱، ۲،۳ و۴) در زمان تاخیر ورود حیوان به خانه تاریک و زمان سپری شده در این خانه تفاوت معنی داری وجود دارد ($P<0/05$). به عبارت دیگر پیلوکارپین فراخوانی حافظه اجتنابی غیرفعال را تقویت نموده است (نمودار ۱). همچنین بین گروه های دریافت کننده بتاکسولول و سالین (گروه های ۱، ۵،۶ و۷) در زمان تاخیر ورود حیوان به خانه تاریک و زمان سپری شده در این خانه تفاوت معنی داری وجود داشت ($P<0/05$). به عبارت دیگر بتاکسولول فراخوانی حافظه اجتنابی غیرفعال را کاهش داده است (نمودار ۲).

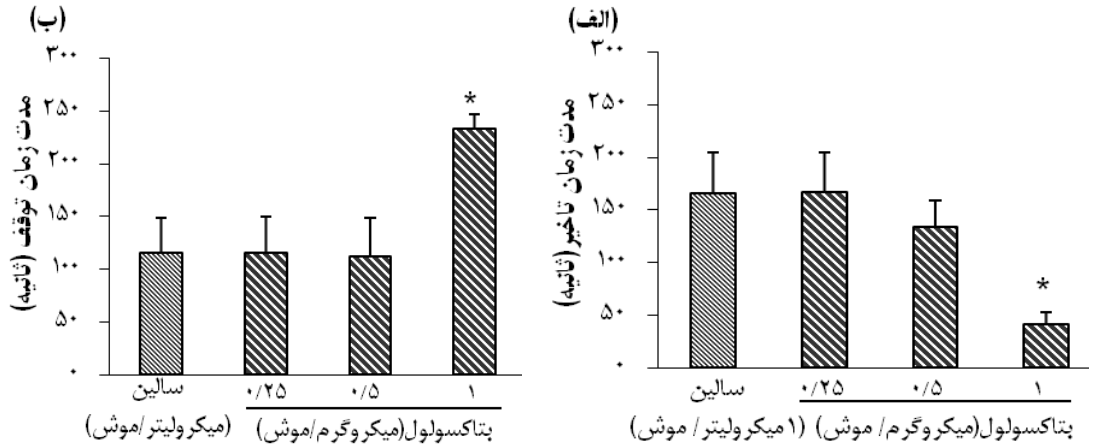
بین گروه های ۸، ۹، ۱۰و۱۱، در زمان تاخیر ورود حیوان به خانه تاریک و زمان سپری شده در این خانه تفاوت معنی داری وجود داشت ($P<0/001$). به عبارت دیگر مقادیری از بتاکسولول (۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم/موش) که به تنهایی اثری در حافظه نداشتند، مانع از بهبود حافظه توسط پیلوکارپین (۲میکروگرم / موش) شده است (نمودار ۳).



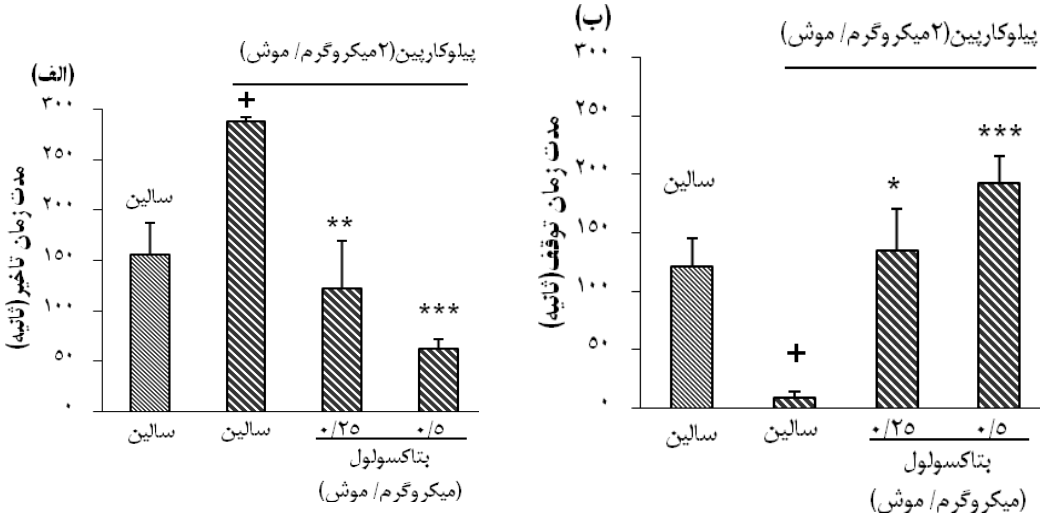


شکل ۱. اثر تزریق بعد از آموزش پیلوکارپین دردرون ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی بر مدت زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک (الف)و مدت زمان توقف حیوان در بخش تاریک(ب). حافظه اجتنابی غیرفعال همه حیوانات ۲۴ساعت بعداز آموزش ارزیابی گردید. هر ستون معرف میانگین ± انحراف معیار برای هر گروه (n=۷) است. *: $P<0/05$ در مقایسه با گروه شاهد (سالین) می‌باشد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.3.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.22]



شکل ۲. اثر تزریق بعد از آموزش بتاکسولول دردرون ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی بر مدت زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک(الف)و مدت زمان توقف حیوان در بخش تاریک(ب). حافظه اجتنابی غیرفعال همه حیوانات ۲۴ساعت بعداز آموزش ارزیابی گردید. هر ستون معرف میانگین ± انحراف معیار برای هر گروه (n=۷) است. ⁎: P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه شاهد (سالین) می‌باشد.



شکل ۳. اثر تزریق بعد از آموزش پیلوکارپین توام با بتاکسولول در درون ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی بر مدت زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک و مدت زمان توقف حیوان در بخش تاریک. همه حیوانات ۲۴ساعت بعداز آموزش مورد آزمون حافظه اجتنابی غیر فعال قرار گرفتند. هر ستون معرف میانگین ± انحراف معیار برای هر گروه (n=۷) است. P<۰/۰۵ :+ نسبت به گروه سالین/سالین. P<۰/۰۵ : ⁎، P<۰/۰۱ :⁎⁎ و P<۰/۰۰۱ :⁎⁎⁎ نسبت به گروه پیلوکارپین/سالین.

بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر تزریق پس از آموزش پیلوکارپین، در درون CA1 هیپوکامپ پشتی، حافظه را در یادگیری اجتنابی غیرفعال افزایش داده است. آزمون های مختلف یادگیری موجب تغییراتی در انتقال سیناپسی می گردند، که منجر به تشکیل و ذخیره طولانی مدت حافظه های جدید می شود. حافظه ای که در حال شکل گیری است می تواند پس از یادگیری و در حین تثبیت، توسط سیستم های نوروترانسمیتری مختلف؛ مانند سیستم آدرنرژیک، کولینرژیک، دوپامینرژیک و گلوتامینرژیک دست خوش تغییر شود (۳۱). حافظه اجتنابی غیرفعال به طور وسیع در مطالعات فارماکولوژیکی برای ارزیابی مراحل مختلف فرآیند حافظه در جوندگان به کار می رود (۱۰). مطالعات گذشته نشان می دهد که، هیپوکامپ و به ویژه ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی در شکل گیری حافظه اهمیت زیادی دارد. این ناحیه فرآیند های نورونی درگیر در اکتساب، ذخیره و فراخوانی حافظه در هیپوکامپ را واسطه گری می کند (۳۲و۶). مکانیسم های کولینرژیکی، فرآیندهای شناختی و تثبیت حافظه های جدید را تحت تاثیر قرار می دهند (۳۳) به طوری که مسدود کردن این مکانیسم ها حافظه را تخریب و تقویت آن ها باعث بهبود حافظه می شود (۳۴). گزارش های مختلف نشان داده اند که تزریق سیستمیک یا درون مغزی داروهای کولینرژیک پس از مرحله آموزش، حافظه را افزایش می دهد. این گزارش ها همچنین پیشنهاد می کنند که آزاد سازی استیل کولین، بلافاصله پس از تجربه یادگیری در نواحی از مغز که در تثبیت حافظه درگیر می باشند، افزایش می یابد (۳۵و۳۳). همچنین تزریق درون آمیگدالی یا سیستمیک اکسوترمورین، آگونیست گیرنده های موسکارینی کولینرزیک، تثبیت حافظه را

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.3.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.22]

افزایش می دهد (۳۶). در حالیکه تزریق آنتاگونیست های این گیرنده ها مانند اسکوپولامین و آتروپین، مانع از تشکیل حافظه فضائی می گردند (۳۷و۲۶و۶). تزریق محیطی پیلوکارپین، آگونیست موسکارینی، حافظه را درماز آبی موریس افزایش داده است (۳۸). حافظه هیپوکامپی به پیام رسانی کولینرژیک از طریق مکانیسم های سیناپسی موسکارینی و نیکوتینی وابسته است (۴۰و۳۹). فعالیت گیرنده های موسکارینی در هیپوکامپ موجب القاء و افزایش انعطاف پذیری درازمدت (LTP)، که اساس نورونی تشکیل حافظه است، می گردد (۳۵). در تحقیق حاضر، همچنین تزریق پس از آموزش بتاکسولول، آنتاگونیست گیرنده های بتا-۱ آدرنرژیک، در درون ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی مانع از تشکیل حافظه اجتنابی غیرفعال شده است. این نتایج گزارشات پیشین مبنی بر دخالت سیستم بتا-آدرنرژیک ناحیه CA1 در حافظه هیپوکامپی را تائید می کند (۴۱). استفاده از آگونیست ها و آنتاگونیستهای گیرنده های آدرنرژیک، شواهد زیادی را در تائید دخالت سیستم آدرنرژیک در شکل گیری حافظه فراهم کرده است. فعال سازی و مهار گیرنده های بتا- آدرنرژیک، با استفاده از آگونیست ها و آنتاگونیست ها، به ترتیب نگهداری حافظه را در ماز آبی افزایش و مهار می کند. تزریق پیش از آموزش پروپرانولول، آنتاگونیست گیرنده های بتا-آدرنرژیک، حافظه را تخریب می کند، که میزان این تخریب به مقدار دارو بستگی دارد (۴۲). همچنین پروپرانولول تسهیل فراخوانی حافظه ناشی از تحریک سیستم آدرنرژیک را مهار و مانع از القاء حافظه می شود (۲۰).

نوراپی نفرین نقش مهمی در ذخیره سازی حافظه، از طریق مکانیسم های گیرنده ای بتا-آدرنرژیک، ایفا می کند (۴۳). گیرنده های بتا-آدرنرژیک ناحیه CA1 فرآیند LTP و در نتیجه تشکیل حافظه را میانجیگری می کنند (۴۳و۴۲)، به طوری که مهار گیرنده های بتا در ناحیه CA1 فراخوانی حافظه اجتنابی غیرفعال را در مدل استپ-دان step-down تخریب می کند (۱۹). مطالعات نشان می دهد که پیام رسانی گیرنده های بتا-۱ در هیپوکامپ پشتی برای راه اندازی فرآیند های حافظه ضروری هستند (۲۵). گزارش شده است که نور اپی نفرین از طریق گیرنده های بتا-۱ آدرنرژیک در هیپوکامپ، اطلاعات را برای دخیره (۱۲) و فراخوانی حافظه تغییر می دهد (۴۱).

در این تحقیق، بر این اساس تزریق مقادیر بی تاثیر بتاکسولول پیش از پیلوکارپین، مانع از اثر آن در افزایش فراخوانی حافظه گردید. بر همکنش های متعددی بین استیل کولین و نوراپی نفرین در مطالعات الکتروفیزیولوژیکی و بیوشیمیائی، در ساختار های مغز که در یادگیری و حافظه دخالت دارند، نشان داده شده است (۴۴). عملکرد این دو سیستم در هیپوکامپ برای حافظه و یادگیری ضروری هستند و می توانند برای القاء انعطاف پذیری سیناپسی طولانی مدت هماهنگ با هم عمل کنند (۴۵). نشان داده شده است که سیستم کولینرژیک در آمیگدال، از طریق فعال کردن گیرنده های بتا-آدرنرژیک، تثبیت و ذخیره حافظه را تحت تاثیر قرار می دهد (۴۶). استیل کولین و نوراپی نفرین می توانند رها سازی یکدیگر را از طریق فعالیت گیرنده های کولینرژیک پیش سیناپسی واقع شده بر پایانه های آدرنرژیک و گیرنده های آدرنرژیک حاضر بر پایانه های کولینرژیک، تعدیل کنند (۴۵). نور اپی نفرین رها سازی استیل کولین از پایانه های کولینرژیک در کورتکس را کاهش می دهد، این اثر نور اپی نفرین ظاهرا مستقیما از طریق گیرنده های آلفا واقع بر پایانه های کولینرژیک و غیر مستقیم از طریق اثر تعدیل کنندگی نور اپی نفرین بر رها سازی نوروترانسمیتر گابا، واسطه گری می شود. در مقابل، رها سازی نور اپی نفرین در سپتال میانی بازجذب استیل کولین در هیپوکامپ را افزایش می دهد. این اثر ممکن است به تغییرات ایجاد شده در هیپوکامپ به وسیله تجویز نور اپی نفرین درون سپتوم، وابسته باشد (۴۴). دخالت برهمکنش سیستم های کولینرژیک و بتا-آدرنرژیک در یادگیری و حافظه گزارش شده است. تزریق سیستمیک ترکیبی از دوز های بی اثر اسکوپولامین و پروپرانولول حافظه اجتنابی مهاری استپ ثرو و یادگیری فضائی در ماز آبی را تخریب می کند از طرف دیگر افزایش حافظه ناشی از اپی نفرین به وسیله آتروپین و دارو های مقلد کولینرژیک، به ترتیب مهار و تسهیل گردیده است. همچنین بهبود عملکرد نور اپی نفرین توسط سیستم کولینرژیک نیز نشان داده شده است (۴۷و۴۴).

براساس یافته های این تحقیق و مطالعات دیگران، به نظر میرسد که برهمکنش سیستم های موسکارینی کولینرژیک و بتا-۱آدرنرژیک ناحیه CA1 برای القاء حافظه اجتنابی غیرفعال، ضروری باشد. این بر همکنش ممکن است به صورت اثرمستقیم این دو سیستم بر همدیگر و با رهاسازی استیل کولین و نوراپی نفرین باشد. همچنین این برهمکنش می تواند از طریق غیر مستقیم و با واسطه سیستم های نوروترانسمیتری دیگر، از قبیل گاباارژیگ، باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز به دلیل حمایت مالی از تحقیق تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.3.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.22]

The Interaction of Cholinergic Muscarinic and Beta-1 Adrenergic Receptors of the CA1 Region in Passive Avoidance Memory Formation in Rat

S. Bemani-Lirgeshasi (MSc) [1], L. Khajehpour (PhD) [1*], A.A. Moazedi (PhD) [1]

1. Department of Biology, College of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(1); Jan 2014; pp: 22-30

Received: Apr 22nd 2013, Revised: Jul 10th 2013 , Accepted: Sep 4th 2013.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: It is well known that involvement of muscarinic cholinergic and beta noradrenergic systems in process of the memory formation. But, up to now interaction of these systems in the CA1 region of hippocampus is not studied in memory formation. The aim of this study was to investigate the interaction of muscarinic and β1-adrenergic receptors in the CA1 on memory retrieval.

METHODS: In this experimental research, 77 Wistar adult male rats (200-250 g) were used. Animals (in 11 groups) cannulated for CA1 region with stereotaxic surgery and trained in step-through apparatus: saline group (1µl/rat), pilocarpine groups (0.5, 1, 2 µg/rat), betaxolol groups (0.25, 0.5, 1 µg/rat), other four groups included saline/saline, pilocarpine2/saline, pilocarpine2/ betaxolol 0.25, pilocarpine2/ betaxolol 0.5. Drugs injected as intra-CA1 after training and memory tested after 24 hours. The latencies to enter and times spent in dark compartment of apparatus were recording for the evaluation of memory retrieval.

FINDINGS: Injection of 2 µg/rat of pilocarpine, a muscarinic receptor agonist, increased the latencies to enter dark compartment (291.4±5.6sec) and decreased the times spent in this compartment (8.6±5.5sec, $p<0.05$). This effect was reversed by the ineffective low doses of betaxolol (0.25 and 0.5), a β1-adrenergic receptor antagonist, ($p<0.01$ and $p<0.001$ respectively). The latencies to enter dark compartment was 122±47.3 and 62±10.6 sec. Also, the times spent in this compartment was134.6±35.4 and 192±23.2sec respectively.

CONCLUSION: It is suggested that enhancement of the inhibitory avoidance memory retrieval, induced by activation of muscarinic cholinergic system of the dorsal hippocampal CA1 region, may be mediated via β1-adrenergic receptors related mechanisms.

KEY WORDS: *Memory, Adrenergic system, Cholinergic system, Hippocampus.*

Please cite this article as follows:

Bemani-Lirgeshasi S, Khajehpour L, Moazedi AA. The interaction of cholinergic muscarinic and Beta-1 adrenergic receptors of the CA1 region in passive avoidance memory formation in rat. J Babol Univ Med Sci 2014;16(1): 22-30.

*Corresponding Author; L. Khajehpour (PhD)

Address: Department of Biology, College of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Tel: +98 611 3331045

E-mail: khajehpour@scu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.3.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.22]

References

1.Kandle ER, Schwartz JH, Jessel TM. Principal of neural science. 4th ed. New York: McGraw Hill 2006; pp: 1228-77.

2.Rezayof A, Zatali H, Haeri-Rohani A, Zarrindast MR. Dorsal hippocampal muscarinic and nicotinic receptors are involved in mediating morphine reward. Behav Brain Res 2006;166(2):281-90.

3.Zarrindast MR, Rezayof A. Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. Eur J Pharmacol 2004;497(2):197-204.

4.Kalat JW. Biological psychology. 3rd ed. California: Water ford publishing 1988; pp: 351-82.

5.Nunez-Jaramillo L, Ramírez-Lugo L, Herrera-Morales W, Miranda MI. Taste memory formation: Latest advances and challenges. Behav Brain Res 2010;207(2):232-48.

6.Azami NS, Heidari M, Jahanshahi M. The evaluation of amnesia induced by scopolamine on the astrocytes number in rat dentate gyrus. J Babol Univ Med Sci 2012;14(1):36-41. [in Persian]

7.Decomyn F. Foundation of neurobiology. 1st ed. New York: WH Freeman and Company 1998; pp: 557-98.

8.Farahmandfar M, Karimian SM, Naghdi N, Zarindast MR, Kadivar M. Morphine-induced impairment of spatial memory acquisition reversed by morphine sensitization in rat. Behav Brain Res 2010;211(2):156-63.

9.Szapiro G, Izquierdo LA, Alonso M, et al. Participation of hippocampal metabotropic glutamate receptors, protein kinase A and mitogen activated protein kinases in memory retrieval. Neuroscience 2000;99(1):1-5.

10.Darbandi N, Rezayof A, Zarrindast MR. Modulation of morphine state-dependent learning by muscarinic cholinergic receptors of the ventral tegmental area. Physiol Behav 2008;94(4):604-10.

11.Khajehpour L, Rezayof A, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal nicotinic receptors in the effect of morphin on memory retrival in passive avoidance task. Eur J Pharmacol 2008;584(2-3): 343-51.

12.Zhu F, Yan CX, Zhao YZ , Li PP, Li SB. Effects of pre-training morphine on spatial memory acquisition and retrieval in mice. Physiol Behav 2011;104(5):754-60.

13.Hu Y, Xia Z, Sun Q, Orsi A, Rees D. A new approach to the pharmacological regulation of memory: Sarsasapogenin improves memory by elevating the low muscarinic acetylcholine receptor density in brains of memory-deficit rat models. Brain Res 2005;1060(1-2):26-39.

14.Tellez R, Gomez-Viquez L, Meneses A. GABA, glutamate, dopamine and serotonin transporters expression on memory formation and amnesia. Neurobiol Learn Mem 2012;97(2):189-201.

15.Gibbs ME, Summers RJ. Role of adrenoceptor subtypes in memory consolidation. Prog Neurobiol 2002;67(5): 345-91.

16.Azami NS, Piri M, Oryan S, Jahanshahi M, Babapour V, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal α-adrenergic receptors in the effect of scopolamine on memory retrival in inhibitory avoidance task. Neurobiol Learn Mem 2010;93(4): 455-462.

17.Gazarini L, Stern CA, Carobrez AP, Bertoglio LJ. Enhanced noradrenergic activity potentiates fear memory consolidation and reconsolidation by differentially recruiting α1- and β-adrenergic receptors. Learn Mem 2013; 20(4):210-19.

18.Gibbs ME, Hutchnson DS, Summers RJ. Noradrenaline release in the locus coeruleus modulates memory formation and consolidation: roles for α-and β-adrenergic receptors. Neuroscience 2010;170(4):1209-22.

19.Qi XL, Zhu B, Zhang XH, Li BM. Are beta-adrenergic receptors in the hippocampal CA1 region required for retrieval of contextual fear memory? Biochem Biophys Res Commun 2008;368(2):186-90.

20.Robinson MJF, Franklin KB. Central but not peripheral beta-adrenergic antagonism blocks reconsolidation for a morphine place preference. Behav Brain Res 2007;182(1):129-34.

21.Ebrahimi S, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Akhavan MM. Central β-adrenergic receptors play an important role in the enhancing effect of voluntary exercise on learning and memory in rat. Behav Brain Res 2010;208(1):189-93.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.3.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.22]

22.Parfitt GM, Barbosa ÂK, Campos RC, Koth AP, Barros DM. Moderate stress enhances memory persistence: are adrenergic mechanisms involved? Behav Neurosci 2012;126(5):729-34.

23.Otis JM, Mueller D. Inhibition of *β*-Adrenergic Receptors Induces a Persistent Deficit in Retrieval of a Cocaine-Associated Memory Providing Protection against Reinstatement. Neuropsychopharmacology 2011;36(9):1912-20.

24.Thomas MJ, Moody TD, Makhinson M, O'Dell TJ. Activity-Dependent β -Adrenergic Modulation of Low Frequency Stimulation Induced LTP in the Hippocampal CA1 Region. Neuron 1996;17(3):475-82.

25.Murchison CF, Schutsky K, Jin SH, Thomas SA. Noradrenalin and β1-adrenergic signaling facilitate activation of hippocampal CA1 prymidal neurons during contextual memory retrieval. Neuroscience 2011;181:109-16.

26.Deiana S, Platt B, Riedel G. The cholinergic system and spatial learning. Behav Brain Res 2011;221(2):389-411.

27.Rezayof A, Alijanpour S, Zarrindast MR, Rassouli Y. Ethanol state-dependent memory: Involvement of dorsal hippocampal muscarinic and nicotinic receptors. Neurobiol Learn Mem 2008;89(4):441-7.

28.Soares JC, Oliveira MG, Ferreira TL. Inactivation of muscarinic receptors impairs place and response learning: Implications for multiple memory systems. Neuropharmacology 2013;73:320-326.

29.Hoseini SM, Nobakht M, Mortazavi P, Esmailzade B, Rahbar-Rooshandel N, Omidzahir S. Study of histopathological lesions in CA1 of the hippocampus after injection of beta-amyloid in a rat model of alzheimer's disease. J Babol Univ Med Sci 2012;14(4): 90-6. [In Persian]

30.Paxinos G, Watson C, The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. San Diego: Academic Press CA, 2007; PP: 29-32.

31.Roesler R, Schroder N. Cognitive enhancers: focus on modulatory signaling influencing memory consolidation. Pharmacol Biochem Behav 2011;99(2):155-63.

32.Khakpai F, Nasehi M, Haeri-Rohani A, Eidi A, Zarrindast MR. Scopolamine induced memory impairment; possible involvement of NMDA receptor mechanisms of dorsal hippocampus and/or septum. Behav Brain Res 2012;231(1):1-10.

33.Esmaeili B, Basseda Z, DehpourAR. Antagonism of muscarinic M1 receptors by dicyclomine inhibits the consolidation of morphine-associated contextual memory. Brain Res Bull 2008;76(4):380-7.

34.Jafari MR, Zarrindast MR, Djahanguiri B. Influence of cholinergic system modulators on morphine state-dependent memory of passive avoidance in mice. Physiol Behav 2006;88(1-2):146-51.

35.Power AE, Vazdarjanova A, McGaugh JL. Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. Neurobiol Learn Mem 2003;80(3):178-93.

36.Boccia MM, Blake MG, Baratti CM, McGaugh JL. Involvement of the basolateral amygdala in muscarinic cholinergic modulation of extinction memory consolidation. Neurobiol Learn Mem 2009;91(1):93-7.

37.Robinson L, Platt B, Riedel G. Involvement of the cholinergic system in conditioning and perceptual memory. Behav Brain Res 2011;221(2):443-65.

38.De-mello N, Souza-Junior IQ, Carobrez AP. Pilocarpine prevents age related spatial learning impairments in rats. Behav Brain Res 2005; 158(2): 263-269.

39.Hayes J, Li S, Anwyl R, Rowan MJ. A role for protein kinase A and protein kinase M zeta in muscarinic acetylcholine receptor–initiated persistent synaptic enhancement in rat hippocampus in vivo. Neuroscience 2008;151(2):604-12.

40.Bergado JA, Frey S, Lopez J, Almaguer-Melian W, Frey JU. Cholinergic afferents to the locus coeruleus and noradrenergic afferents to the medial septum mediate LTP-reinforcement in the dentate gyrus by stimulation of the amygdala. Neurobiol Learn Mem 2007;88(3):331-41.

41.Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. Brain Res Brain Res Rev 2003;41(2-3):268-87.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.3.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.22]

42.Sun H, Mao Y, Wang G, Ma Y. Effects of beta-adrenergic antagonist, propranolol on spatial memory and exploratory behavior in mice. Neurosci Lett 2011;498(2):133-7.

43.Ghiasvand M, Rezayof A, Ahmadi S, Zarrindast MR. β1-noradrenergic system of the central amygdala is involved in state-dependent memory induced by a cannabinoid agonist, WIN55,212-2, in rat. Behav Brain Res 2011;225(1):1- 6.

44.Decker MW, Gill TM, McGaugh JL. Concurrent muscarinic and β-adrenergic blockade in rats impairs place-learning in a water maze and retention of inhibitory avoidance. Brain Res 1990;513(1):81-5.

45.Scheiderer CL, Smith CC, McCutchen E, et al. Coactivation of M1 muscarinic and α-1 adrenergic receptors stimulates extracellular signal-regulated protein kinase and induces long-term depression at CA3–CA1 synapses in rat hippocampus. J Neurosci 2008;28(20):5350-8.

46.Chavez CM, McGaugh JL, Weinberger NM. The basolateral amygdala modulates specific sensory memory representations in the cerebral cortex. Neurobiol Learn Mem 2009;91(4):382-92.

47.Ohta H, Matsomoto K, Watanabe H. The interaction between central cholinergic and β- adrenergic systems on radial maze performance in rats. Brain Res 1993;622(1-2):353-6.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.16.1.3.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.1.22]