

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

مریم واشقانی (M.D Student)، عباسعلی وفایی* (Ph.D)، علی رشیدی پور (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 می‌تواند 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 خاطر آوری 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 خاطر آوری، (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)، 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 خاطر آوری و تسهیل خاموشی حافظه می‌شود. تزریق هر دو آگونیست و آنتاگونیست گیرنده سروتونرژیک $5HT_6$ اثرات کورتیکوسترون و استرس حاد را بر به خاطر آوری و خاموشی حافظه مهار نمود.

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

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

مقدمه

مراحل یادگیری و حافظه شامل اکتساب، تثبیت، به خاطر آوری 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 باز تثبیت صرف نظر از تفاوت‌های بیوشیمیایی در مدت زمان و مکان‌های مغزی

گیرنده‌های (5HT) متفاوت تنظیم می‌شود. سروتونین اعمال حافظه‌ای خود را توسط رسپتورهای اختصاصی مستقر در مناطق مختلف مغزی از جمله مناطقی مثل کمپلکس سیتوهیپوکامپال 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 به دلیل 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 5HT₆)، استرس حاد و گلوکوکورتیکوئیدها اثرات متقابل وجود دارد. بیان mRNA رسپتور 5HT در هیپوکمپ به طور بارزی در وضعیت کاهش گلوکوکورتیکوئیدها (مثل آدرنالکتومی) زیاد می‌شود. اختلالات شناختی مرتبط با اختلال محور HPA به طور کامل به وسیله تجویز SB271046 آنتاگونیست انتخابی رسپتور 5HT₆ قابل برگشت است [۱۰]. این یافته‌ها حاکی از تعامل گلوکوکورتیکوئیدها با سیستم سروتونرژیک روی فعالیت‌های شناختی است.

در این مطالعه، تعامل استرس حاد و گلوکوکورتیکوئیدها با گیرنده‌های سروتونرژیک (نوع 5HT₆) 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

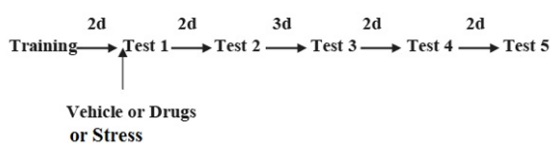
دخیل در این فرایند است. یعنی در صورت طولانی بودن مدت فعال‌سازی حافظه فرایند خاموشی غالب است ولی اگر کوتاه باشد بازتثبیت غالب است. برای بازتثبیت وجود آمیگدال و هیپوکمپ ضروری است ولی فرایند خاموشی وابسته به قشر میانی پرفرونتال است [۱].

گلوکوکورتیکوئیدها 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 گلوکوکورتیکوئیدها 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 گلوکوکورتیکوئیدها 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 گلوکوکورتیکوئیدی تسهیل می‌شود [۶]. در حالی که تزریق متی‌راپون به عنوان مهارکننده سنتز گلوکوکورتیکوئیدها موجب مهار خاموشی حافظه می‌شود [۷،۶]. 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 گلوکوکورتیکوئیدی موجب مهار اثرات تسهیلی دگزامتازون بر خاموشی حافظه در مدل ترس شرطی می‌گردد [۶].

سروتونین (۵ هیدروکسی تریپتامین) یک آمین بیورژنیک 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

ج- تست به خاطر آوری: ۴۸ ساعت بعد از آموزش تست به خاطر آوری 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 پلکسی گلاس محدودکننده قرار می‌گیرند. آزمایش‌ها و گروه‌های مختلف آزمایشی:

آزمایش ۱: هدف این آزمایش تعیین تعامل SC203575 و SB271046 (به عنوان آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های سروتونرژیک $5HT_6$) و کورتیکوسترون بر به خاطر آوری و خاموشی حافظه ترس است ($n=60$ در ۶ گروه). در بررسی به خاطر آوری و خاموشی ۶۰ دقیقه قبل از به خاطر آوری و فعال‌سازی حافظه SC203575 یا SB271046 و ۳۰ دقیقه بعد از آن کورتیکوسترون را دریافت نمودند.

گروه ۱: حامل + حامل ($n=10$)

گروه ۲: حامل + کورتیکوسترون ($n=10$)

گروه ۳: SC203575 + حامل ($n=10$)

گروه ۴: SC203575 + کورتیکوسترون ($n=10$)

گروه ۵: SB271046 + حامل ($n=10$)

گروه ۶: SB271046 + کورتیکوسترون ($n=10$)

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

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 HT_{65} ، ۱ ساعت قبل از ارزیابی به خاطر آوری یا تست فعال‌سازی تزریق شدند [۱۱].

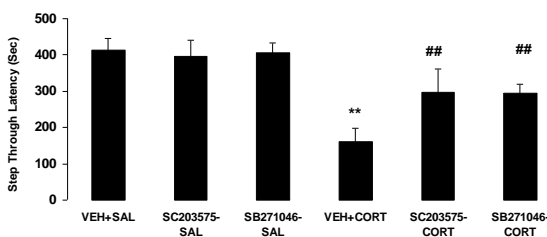
دستگاه احترازی غیر فعال. دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال یک محفظه پلکسی‌گلاس مکعب مستطیل با طول ۴۰ سانتی‌متر، عرض ۱۰ سانتی‌متر در قسمت بالا و کف و ۱۶ سانتی‌متر ارتفاع می‌باشد. دستگاه توسط یک درب گیوتینی به دو قسمت روشن به طول ۱۹ سانتی‌متر و تاریک ۲۱ سانتی‌متر تقسیم می‌شود. در کف هر دو بخش میله‌های ضد 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- سازش یافتن: 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 سازش یافتن، 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.

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 $[P < 0.0001, F_{1,42} = 22/1]$ ، عدم اثر معنی‌دار مداخله $[P = 0.2, F_{2,42} = 1/63]$ و عدم تعامل معنی‌دار بین دو متغیر فوق است $[P = 0.14, F_{2,42} = 1/99]$. آنالیز بعدی نشان داد که کورتیکوسترون موجب اختلال در به‌خاطرآوری 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 به‌خاطرآوری اطلاعات شده است.



شکل ۲. اثرات متقابل تزریق SC203575 و SB271046 و تزریق محیطی کورتیکوسترون را بر به‌خاطرآوری حافظه در مدل احترازی غیر فعال می‌باشد، محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در ارزیابی به‌خاطرآوری حافظه را نشان می‌دهد. $P < 0.01$ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده حامل+سالین و $P < 0.01$ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده 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 \times مداخله \times گروه] با اندازه‌گیری تکراری حاکی از اثر معنی‌دار

5HT₆ و استرس حاد بر به‌خاطرآوری و خاموشی حافظه ترس بود (n=۶۰ در ۶ گروه). در بررسی به‌خاطرآوری 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.

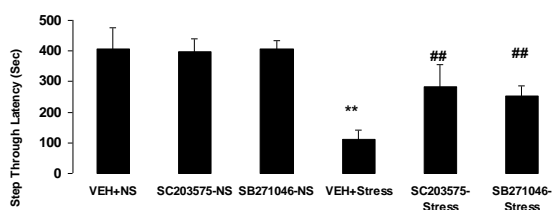
نتایج

آزمایش ۱: ارزیابی اثرات متقابل تزریق SC203575 و SB271046 و کورتیکوسترون بر به‌خاطرآوری 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 $[P = 0.78, F_{5,42} = 0.48]$ بود. این یافته نشان‌دهنده همگون بودن گروه‌ها است شکل نشان داده نشده است.

از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها [$F = 0/43$],
 [P=0/82, $F_{4,42}$] بود. این یافته نشان‌دهنده همگون بودن گروه‌ها
 است (شکل آن نمایش داده نشده است).

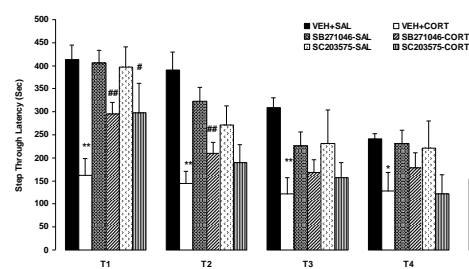
شکل ۴ اثرات متقابل تزریق SC203575 به عنوان
 آگونیست و SB271046 به عنوان آنتاگونیست گیرنده
 سروتونرژیک و اعمال استرس حاد را بر به‌خاطرآوری حافظه
 نشان می‌دهد. آزمون آنالیز واریانس دو طرفه بر روی زمان
 ورود به قسمت تاریک در تک تک گروه‌ها حاکی از اثر
 معنی‌دار گروه‌ها [$P < 0/0001$, $F_{1,42} = 21/6$] عدم اثر
 معنی‌دار مداخله [$P = 0/23$, $F_{2,42} = 1/51$] و عدم تعامل
 معنی‌دار بین دو متغیر فوق است [$P = 0/12$, $F_{2,42} = 2/18$].
 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 به‌خاطرآوری اطلاعات شده است.



شکل ۴. اثرات متقابل تزریق SC203575 و SB271046 و استرس حاد
 را بر به‌خاطرآوری حافظه در مدل احترازی غیر فعال می‌باشد، محور
 عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان
 ورود به قسمت تاریک در ارزیابی به‌خاطرآوری حافظه را نشان می
 دهد. $P < 0/01$ ** در مقایسه با گروه دریافت‌کننده حامل + بدون استرس
 $P < 0/01$ ## در مقایسه با گروه دریافت‌کننده 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 \times مداخله \times
 گروه] با اندازه‌گیری تکراری حاکی از اثر معنی‌دار گروه‌ها
 [عدم اثر معنی‌دار مداخله [$P < 0/0001$, $F_{1,41} = 26/81$]

گروه‌ها [$P < 0/0001$, $F_{1,42} = 19/35$], عدم اثر معنی‌دار
 مداخله [$P = 0/73$, $F_{2,42} = 0/3$], اثر معنی‌دار تست‌ها
 [عدم تعامل معنی‌دار بین
 گروه و مداخله [$P = 0/8$, $F_{2,42} = 2/39$]] هم‌چنین تعامل
 معنی‌دار بین گروه و تست‌ها [$P = 0/0001$, $F_{4,168} = 7/51$] و
 عدم تعامل معنی‌دار بین مداخله و تست‌ها [$F_{8,168} = 1/17$],
 [عدم تعامل معنی‌دار بین سه متغیر فوق است
 [P=0/31, $F_{8,168} = 0/7$]]. 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 $P < 0/05$ [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 \pm خطای استاندارد از میانگین را در مورد
 تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در طی تست فعال سازی و در طی
 تست‌های ارزیابی خاموشی [T1-T5] را نشان می‌دهد. $P < 0/01$ * در
 مقایسه با گروه دریافت‌کننده حامل + سالین و $P < 0/01$ ** در مقایسه با
 گروه دریافت‌کننده حامل + سالین و $P < 0/01$ ## در مقایسه با گروه
 دریافت‌کننده حامل + کورتیکوسترون و $P < 0/05$ # در مقایسه با گروه
 دریافت‌کننده حامل + کورتیکوسترون

آزمایش ۲- ارزیابی اثرات متقابل تزریق SC203575 و
 SB271046 و استرس حاد بر به‌خاطرآوری و خاموشی
 حافظه. در ابتدا زمان قبل از اولین ورود به ناحیه تاریک در
 طی دوره آموزش بررسی شد. آنالیز واریانس یک طرفه زمان
 ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی آموزش حاکی

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.

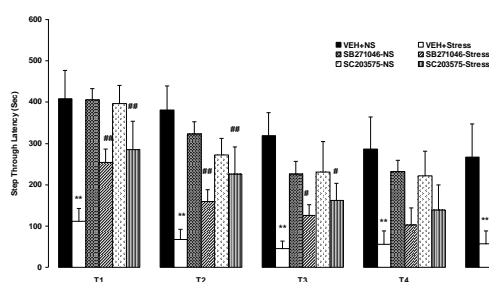
اثرات گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی و استرس حاد بر به خاطرآوری و خاموشی حافظه ترس

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 به‌خاطرآوری 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 [۱۲، ۱۳]. 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 پاتوزنیک 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 مترشح 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.

اثر معنی‌دار تست‌ها $[P=0.078, F_{5,42}=0.48]$ ، $F_{5,42}=0.48$ ، $P=0.00014, 168$ و تعامل معنی‌دار بین گروه و مداخله $[P=0.01, F_{2,42}=5.05]$ هم‌چنین عدم تعامل معنی‌دار بین گروه و تست‌ها $[P=0.06, F_{4,168}=2.25]$ و عدم تعامل معنی‌دار بین مداخله و تست‌ها $[P=0.57, F_{8,168}=0.83]$ و عدم تعامل معنی‌دار بین سه متغیر فوق است $[P=0.26, F_{8,168}=0.97]$ 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 $P<0.05$ [شکل ۵].



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

$P<0.01$ ** در مقایسه با گروه دریافت‌کننده حامل + بدون استرس

$P<0.01$ ## در مقایسه با گروه دریافت‌کننده حامل + استرس حاد

$P<0.05$ # در مقایسه با گروه دریافت‌کننده 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.

اثر به فعال‌سازی حافظه وابسته است و ضمناً با شوک به خاطر آورنده باز نمی‌گردد.

SC203575 و SB271046 اثرات تخریبی کورتیکوسترون و استرس حاد را بر به خاطر آوری 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 خاطر آوری 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 کولی‌نرژیک و هم‌چنین ارتباط بین سیستم کولی‌نرژیک 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 به‌خاطر آوری 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

فیبرهای عصبی که از هسته‌های فوق‌کیاسمایی 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 گلوکوکورتیکوئیدها 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 خاطر آوری موش‌ها مشکلی ایجاد نمی‌کرد اما وقتی که ۳۰ دقیقه قبل استفاده می‌شد در به خاطر آوری 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.

به‌طور کلی استرس از طریق افزایش غلظت گلوکوکورتیکوئیدها، کاتکولامین‌ها و نوروپپتیدهایی نظیر وازوپرسین در خون، باعث تغییر در خصوصیات الکتریکی، شکل و ظرفیت تکثیر 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

منابع

- [1] Bear MF. Synaptic basis of memory storage in the cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93: 13453-13459.
- [2] Adamec R, Creamer K, Bartoszyk 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, Ramirez 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-HT_{1A}, 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.

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 سروتونرژیک 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 خاطر آوری اطلاعات را مختل و خاموشی حافظه ترس را تسهیل می‌کند. ضمناً پیش‌درمانی SC203575 به عنوان آگونیست و SB271046 به عنوان آنتاگونیست گیرنده سروتونرژیک 5HT₆ منجر به مهار اثرات کورتیکوسترون و استرس حاد می‌شود. بر این اساس احتمالاً حداقل بخشی از اثرات استرس حاد و کورتیکوسترون بر به خاطر آوری و خاموشی حافظه از طریق گیرنده‌های سروتونرژیک و به‌ویژه 5HT₆ 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.

An interaction between serotonergic receptors (5HT₆) 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 (5HT₆) 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 5HT₆ receptor agonist or SB271046 as an antagonist of 5HT₆ 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 reactivation impaired memory retrieval and facilitated extinction of memory in subsequent tests. Pre-treatment with serotonergic receptors (5HT₆) 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 5HT₆ receptors.

Keywords: Memory retrieval, Extinction, Glucocorticoids, 5HT₆ receptors, Fear Memory, Passive avoidance task

* Corresponding author. Tel: +98 23 33654186

Aavaf43@gmail.com