

اثر سیستمین بر شکل پذیری سیناپسی ناشی از تحریک تتانیک و زوج پالس در ناحیه CA1 هیپوکمپ موش صحرایی

محمد رستم پور، یعقوب فتح الهی، سعید سمنانیان، سهراب حاجی زاده، سید جواد میرنجفی زاده
دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

اثر سیستمین به عنوان عامل تخلیه کننده سوماتواستاتین بر شکل پذیری سیناپسی ناشی از تحریک تتانیک و زوج پالس در ناحیه CA1 مقاطع زنده هیپوکمپ موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها روی مقاطع هیپوکمپ سه گروه Intact، دریافت کننده سالین (۱ ml/kg, s.c.) و دریافت کننده سیستمین (۲۰۰ mg/kg, s.c.) انجام شد. برای القای LTP، از تحریک تتانیک PBs استفاده شد و پتانسیل‌های میدانی شامل پتانسیل پس سیناپسی تحریکی (excitatory post-synaptic potential, pEPSP) و پتانسیل عمل (population spike, PS) تجمعی در ناحیه CA1 ثبت گردید و برای اعمال زوج پالس از تحریکات با فواصل بین پالسی ۱۰، ۲۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی ثانیه استفاده شد و شاخص تحریک دوپالسی برای EPI EPSP (EPI) و PPI (PPI) population spike در ناحیه CA1 محاسبه گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که در زمان‌های ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تتانیک دامنه PS افزایش یافت و در زمان ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تتانیک، افزایش معنی دار دامنه PS برای همه شدت‌های تحریک و در هر سه گروه مشاهده گردید. اندازه LTP در گروه سیستمین نسبت به گروه‌های Intact و سالین کمتر بود و اندازه LTP در گروه سالین نسبت به گروه‌های Intact و سیستمین بیشتر بود. متوسط EPI در فاصله بین پالسی ۱۰ میلی ثانیه برای گروه Intact، بزرگتر از ۱ و برای گروه‌های سالین و سیستمین، کوچکتر از ۱ بود و متوسط EPI در گروه سیستمین به طور معنی داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. متوسط PPI در فاصله بین پالسی ۱۰ میلی ثانیه در گروه Intact، افت معنی دار PPI را نشان دادند. متوسط PPI در فاصله بین پالسی ۲۰ میلی ثانیه برای گروه‌های Intact و سالین، بزرگتر از ۱ و برای گروه سیستمین، کوچکتر از ۱ بود و سیستمین نسبت به گروه‌های سالین و Intact، افت معنی دار PPI را نشان دادند. در فواصل بین پالسی ۴۸۰-۶۰ میلی ثانیه، متوسط PPI برای هر سه گروه بزرگتر از ۱ بود و اختلاف معنی داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. از این مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که سیستمین، آمادگی ناحیه CA1 هیپوکمپ موش صحرایی را برای شکل پذیری سیناپسی ناشی از تحریک تتانیک و زوج پالس تغییر می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: شکل پذیری سیناپسی، LTP، زوج پالس، ناحیه CA1، سیستمین، سوماتواستاتین.

مقدمه

سوماتواستاتین تترادکاپتیدی حلقوی است که بار اول در هیپوتالاموس گوسفند شناسایی شد، سپس

بخش مهمی از تشکیل حافظه می باشد [۱۸]. تسهیل زوج پالس نیز نوعی شکل پذیری کوتاه مدت در CNS می باشد [۱۵] و در واقع تحریک زوج پالس به عنوان شاخصی از تحریک پذیری عصبی می باشد که در آن تضعیف/تقویت (depression/potentiation) پاسخ ناشی از تحریک دوم نسبت به پاسخ ناشی از تحریک اول به نام مهار یا تسهیل (inhibition/facilitation) موسوم است و شدت آن به فواصل بین پالسی (IPIs) و شدت تحریک بستگی دارد [۹].

با توجه به تأثیر سوماتواستاتین بر یادگیری و حافظه، اثر سیستمین بر مدل های مختلف شکل پذیری سیناپسی یعنی LTP ناشی از تحریک تتانیک و شکل پذیری ناشی از زوج پالس مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

حیوانات - آزمایش ها روی موش صحرایی از نژاد NMRI با وزن ۱۶۰-۱۰۰ گرم انجام شد. موش ها در اتاقی با درجه حرارت ۲۴ درجه سانتیگراد و دوره ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می شدند و آب و غذا بطور آزاد در اختیار آنها قرار داشت. موش ها به سه گروه آزمایشی تقسیم می شدند: گروه اول، که قبل از جداکردن سر تزریقی دریافت نمی کردند و بعد از جداکردن سر مورد بررسی قرار می گرفتند. گروه دوم، که سیستمین (۲۰۰ mg/kg) به صورت زیر جلدی دریافت می کردند و ۱۳ ساعت پس از دریافت دارو، سر حیوان قطع می گردید [۱۹]. سیستمین در سالیین حل می شد [۲۰]. گروه سوم، که سالیین (۱ ml/kg) به صورت زیر جلدی دریافت می کردند و ۱۳ ساعت پس از دریافت سالیین، سر حیوان قطع می گردید [۱۶].

مشخص شد که این پپتید ترشح هورمون رشد را از غده هیپوفیز قدامی مهار می کند [۱۷]. امروزه آشکار شده است که این ماده به عنوان میانجی و تعدیل کننده عصبی در CNS عمل می کند [۱۸، ۱۳، ۱۱، ۳]. سوماتواستاتین بطور گسترده ای در بخش های مختلف مغز و خصوصاً در هیپوکمپ توزیع شده است [۲۵، ۱۹، ۱۲، ۸]. به ویژه اینکه ناحیه CA1 هیپوکمپ غنی از نورون ها و فیبرهای سوماتواستاتین ارژیک می باشد [۵].

از آنجائیکه فقدان آنتاگونیست های اختصاصی گیرنده سوماتواستاتین، محدودیت مهمی برای مطالعه نقش عملکردی این پپتید در مغز به شمار می رود [۲۹، ۲۵، ۳]، لذا سیستمین به عنوان عامل تخلیه کننده سوماتواستاتین، ابزار مفیدی را جهت متوقف کردن اعمال این پپتید در CNS فراهم ساخته است [۲۵، ۱۳]. سیستمین به صورت وابسته به دوز به القای حافظه در یادگیری احترازی غیر فعال (passive avoidance learning) آسیب می رساند و این نشان دهنده نقش تسهیل کننده سوماتواستاتین درون زاد مغز در فرآیند وابسته به حافظه (mnemonic) یادگیری احترازی غیر فعال می باشد. به علاوه تجویز داخل مغزی سوماتواستاتین به صورت بارزی فراموشی ایجاد شده به وسیله سیستمین را بر می گرداند [۱۸]، در عین حال در اختلالات شناختی و عارضه فراموشی از جمله بیماری آلزایمر کاهش میزان سوماتواستاتین مشاهده شده است [۲۶، ۲۰، ۱۰].

LTP افزایش پایدار در کارایی سیناپسی (synaptic efficacy) است که در اثر تحریک کوتاه مدت با فرکانس بالای یک مسیر آوران ایجاد می شود [۲] و به عنوان اساس سلولی برای بعضی اشکال یادگیری و حافظه مطرح شده است [۱۸، ۱۳] و در واقع نوعی شکل پذیری سیناپسی وابسته به فعالیت (use dependent) است که

تهیه مقاطع زنده هیپوکمپ - حیوانات با استفاده از اتر بیهوش می شدند و سپس سر آنها سریعاً جدا می گردید. پس از باز کردن استخوان جمجمه، مغز به سرعت خارج می شد و در مایع مغزی - نخاعی مصنوعی (ACSF; Artificial cerebrospinal fluid) سرد (۰ تا ۴ درجه سانتیگراد) و اکسیژنه قرار می گرفت. هیپوکمپ پس از خارج شدن روی قطعه آگار قرار داده می شد و سپس این قطعه آگار روی پایه دستگاه Vibroslice نصب می گردید و این پایه درون محفظه ای که حاوی ACSF سرد و اکسیژنه بود، قرار می گرفت. عمل برش گیری عمود بر محور طولی هیپوکمپ انجام می گرفت و مقاطع زنده ای با ضخامت ۴۵۰ میکرون تهیه و به محفظه بافتی منتقل می گردیدند. در محفظه بافتی این برش های زنده روی توری نایلونی و در فصل مشترک مایع مغزی - نخاعی گرم و اکسیژنه و گاز مرطوب قرار می گرفت. جریان ACSF توسط یمپ پرستالتیک به میزان ۲ میلی لیتر در دقیقه برقرار بود. سپس دمای محفظه به صورت تدریجی افزایش می یافت و توسط دستگاه کنترل کننده درجه حرارت، دمای آن در محدوده 32 ± 2 درجه سانتیگراد حفظ می گردید. بعد از حدود ۲ ساعت، الکترودهای تحریکی و ثبات در محل مورد نظر قرار می گرفت و پس از گذشت ۲۰ دقیقه، کار ثبت پاسخ ها آغاز می گردید.

الکتروفیزیولوژی - به منظور ثبت خارج سلولی، الکتروده شیشه ای پر از سالین که دارای مقاومت ظاهری ۲ تا ۱۰ مگا اهم بود در لایه پیرامیدال ناحیه CA1 قرار می گرفت تا پتانسیل میدانی ثبت گردد. از طرفی دیگر، یک الکتروده تحریکی دو قطبی در ناحیه Schaffer collateral قرار می گرفت. به منظور تحریک الکتریکی از پالس های مربعی به پهنای ۲۰۰ میکروثانیه با جریان ثابت ۲۵ تا ۲۰۰

میکروآمپر (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروآمپر) و فرکانس ۰/۱ هرتز استفاده می شد و جهت تحریک کزازی فرکانس پالس ها به ۱۰۰ هرتز تغییر می یافت. تعدادی تحریک بر روی برش زنده اعمال می شد تا پاسخ ها پایدار گردند. در صورتی که در یک برش زنده، پاسخ پایدار وجود نداشت، از مجموعه داده ها حذف می گردید. سپس پاسخ های مربوطه دریافت، تقویت و پالایش (۱ تا ۱۰ کیلوهرتز) می گردید. شکل نهایی پاسخ با استفاده از جدول سیگنال های آنالوگ به دیجیتال (Analogue to Digital) می گردید. به صورت رقمی تبدیل می شد و با آهنگ ۱۰ کیلوهرتز نمونه برداری می شد و در حافظه کامپیوتر ذخیره می گردید. برای القای LTP از Primed bursts (PBs) استفاده شده است. این نوع از تحریک متشکل از هشت PBs است که هر PB شامل پالس اولیه ای می باشد که ۱۷۰ میلی ثانیه بعد با قطاری از ۱۰ پالس با تواتر ۱۰۰ هرتز دنبال می شود و در مجموع ۸۸ پالس به بافت اعمال می گردد.

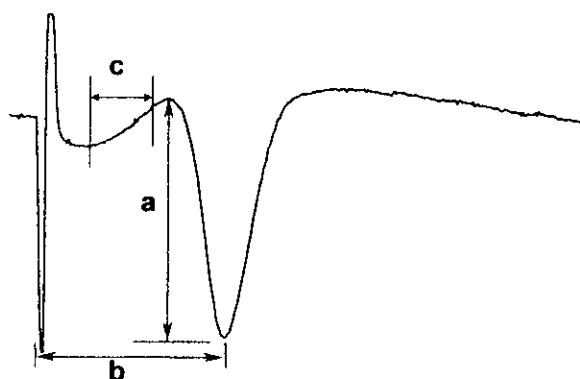
تحریکات زوج پالس هم در فواصل بین پالسی ۱۰، ۲۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی ثانیه و با فرکانس ۰/۱ هرتز اعمال می گردید. پتانسیل های میدانی ناشی از پالس اول و پالس دوم به ترتیب به نام Conditioning response و Test response در نظر گرفته می شد.

تجزیه و تحلیل اطلاعات - متوسط پاسخ های ثبت شده پس از هر هم نهادن ۱۰ پاسخ متوالی تعیین و از روی امواج متوسط شاخص های زیر اندازه گیری می شد:

دامنه PS که اختلاف بین ارتفاع قله اولین موج مثبت و قعر موج منفی متعاقب آن می باشد به صورت درصد تسهیل پاسخ مورد محاسبه قرار گرفت:

$$100 \times \frac{\text{دامنه PS قبل از تحریک تنانیک} - \text{دامنه PS بعد از تحریک تنانیک}}{\text{دامنه PS قبل از تحریک تنانیک}} = \text{درصد تقویت پاسخ}$$

پیرامیدال ناحیه CA1 می‌شد که به طریقه خارج سلولی اندازه‌گیری می‌گردید (شکل ۱). تقویت وابسته به فرکانس در فرکانس تحریک ۰/۱ هرتز وجود نداشت. دامنه PS در هر شدت اندازه‌گیری شد و منحنی‌های input-output مقاطع هر سه گروه بدست آمد. در همه گروه‌ها، دامنه PS وابسته به شدت تحریک بود.



شکل ۱- نمونه پاسخ لایه پیرامیدال ناحیه CA1 که اندازه‌گیری تأخیر (از شروع stimulus artifact تا قله موج منفی، b)، دامنه PS (از قله موج مثبت تا قله موج منفی متعاقب آن، a) و شیب pEPSP (۱۰ تا ۹۰ درصد شیب فاز صعودی pEPSP، c) را نشان می‌دهد.

القای LTP - پس از پایداری پاسخ‌های پایه، جهت القای LTP، تحریک تتانیک PBs مورد استفاده قرار گرفت. ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تتانیک دامنه PS افزایش یافت. ۶۰ دقیقه بعد از اعمال PBs، افزایش معنی‌دار دامنه PS برای همه شدت‌های تحریک و در هر سه گروه Intact [$F(1, 20) = 50.75, P < 0.0001$]، سالیین [$F(1, 16) = 37.47, P < 0.0001$] و سیستمین [$F(1, 28) = 131.26, P < 0.0001$] مشاهده گردید. افزایش معنی‌دار دامنه PS، ۶۰ دقیقه بعد از اعمال PBs نسبت به ثبت پایه برای همه شدت‌های تحریک و در همه

در رابطه با زوج پالس نیز نسبت PS مربوط به تحریک دوم به PS مربوط به تحریک اول (Spike ratio) طبق فرمول زیر اندازه‌گیری شد و این متغیر در واقع ایندکسی از زوج پالس بوده و به نام PPI موسوم است:

$$PPI = \frac{\text{Test PS Amplitude (mV)}}{\text{Conditioning PS Amplitude (mV)}}$$

همچنین نسبت شیب pEPSP دوم به pEPSP اول (EPSP slope ratio) طبق فرمول زیر اندازه‌گیری شد که بنام EPI موسوم است:

$$EPI = \frac{\text{Test pEPSP slope (mV/ms)}}{\text{Conditioning pEPSP slope (mV/ms)}}$$

قدرت سیناپسی از طریق اندازه‌گیری شاخص‌های pEPSP (شاخصی از سطح فعالیت سیناپسی) و اندازه دامنه PS (شاخصی از فعالیت پس سیناپسی و تخلیه سلولی) تعیین می‌گردد. PPI و EPI به عنوان نمادی از تسهیل یا مهار در نظر گرفته می‌شوند. PPI و EPI مساوی یک به معنی عدم تغییر مهار یا تسهیل است و PPI و EPI کوچکتر از یک نشانه افزایش مهار می‌باشد و PPI و EPI بزرگتر از یک نشانه تسهیل یا کاهش مهار است. تمام داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان گردیدند و برای آنالیز آماری از آنالیز واریانس دو طرفه و به دنبال آن برای مقایسه بین گروه‌ها از آزمون توکی استفاده شد. اختلاف در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی گردید.

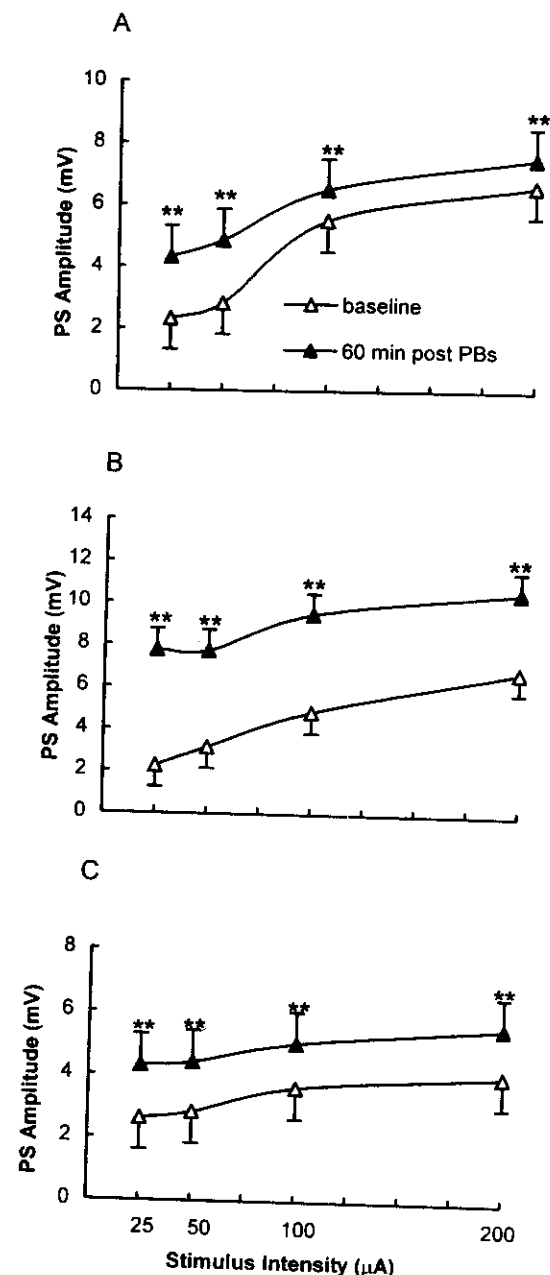
نتایج

ثبت پاسخ پایه - تحریک الکتریکی فیبرهای آوران Striatum radiatum، باعث تخلیه همزمان سلول‌های

گروه‌ها با $P < 0.01$ کاملاً محرز بود (شکل ۲). اختلاف معنی‌دار درصد افزایش دامنه PS، ۶۰ دقیقه بعد از اعمال PBs نسبت به پاسخ پایه، در شدت جریان ۲۵ میکروآمپر سه گروه سالمین نسبت به گروه Intact افزایش معنی‌داری را در مقدار LTP با $P < 0.01$ نشان داد در حالیکه گروه سیستمین کاهش معنی‌دار مقدار LTP را با $P < 0.01$ نسبت به گروه سالمین و $P < 0.05$ نسبت به گروه Intact آشکار ساخت. در شدت جریان ۵۰ میکروآمپر سه گروه سالمین نسبت به گروه Intact افزایش معنی‌دار مقدار LTP را با $P < 0.05$ نشان داد در حالیکه گروه سیستمین نسبت به گروه سالمین کاهش معنی‌دار مقدار LTP را با $P < 0.01$ نشان داد و در شدت تحریک ۱۰۰ میکروآمپر سه گروه سالمین نسبت به گروه سالمین کاهش معنی‌دار مقدار LTP را با $P < 0.05$ آشکار ساخت.

ثابت پاسخ‌های زوج پالس - ثابت پاسخ‌های زوج پالس
از ناحیه CA1 مقاطع سه گروه Intact، سالمین و سیستمین در فواصل بین پالسی ۱۰، ۲۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۶۰ و ۴۸۰ میلی ثانیه انجام گرفت و EPI و PPI آنها محاسبه شد که در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است و نمایی از زوج پالس ثبت شده در فواصل بین پالسی ۱۰ و ۲۰ میلی ثانیه برای سه گروه مذکور در شکل شماره ۴ آمده است. همانطوریکه در جدول شماره ۱ آمده است EPI متوسط در فواصل بین پالسی ۱۰ میلی ثانیه برای گروه Intact، بزرگتر از ۱ و برای گروه‌های سالمین و سیستمین کوچکتر از ۱ بود و گروه سیستمین نسبت به گروه Intact، افت معنی‌دار EPI را با $P < 0.05$ نشان داد. در فاصله بین پالسی ۲۰-۴۸۰ میلی ثانیه، EPI متوسط برای هر سه گروه بزرگتر یا مساوی ۱ بود و اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نمی‌شد. در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود که PPI متوسط در فاصله بین پالسی ۱۰ میلی ثانیه در گروه Intact، بزرگتر از ۱ و در گروه‌های سالمین و سیستمین کوچکتر از ۱ می‌باشد و گروه‌های

گروه‌ها با $P < 0.01$ کاملاً محرز بود (شکل ۲). اختلاف معنی‌دار درصد افزایش دامنه PS، ۶۰ دقیقه بعد از اعمال PBs نسبت به پاسخ پایه، در شدت جریان ۲۵



شکل ۲- منحنی‌های input/output متوسط دامنه PS پاسخ‌های پایه و ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تثانیک در گروه‌های Intact ($n=6$)، سالمین ($n=5$) و سیستمین ($n=8$) (C) هر نقطه معرف میانگین $\pm$ خطای معیار می‌باشد.

گروه	فاصله بین پالسی (میلی ثانیه)					
	۱۰	۲۰	۶۰	۱۲۰	۲۴۰	۳۶۰
Intact	۱/۱۲±۰/۰۸	۱/۲±۰/۱۱	۱/۳۴±۰/۱	۱/۲۴±۰/۰۶	۱/۰۸±۰/۰۴	۱/۰۶±۰/۰۲
سالین	۰/۹۳±۰/۰۶	۱/۳۶±۰/۱۴	۱/۴۱±۰/۱۱	۱/۳۲±۰/۰۹	۱/۱۶±۰/۰۷	۱/۰۸±۰/۱۱
سیستامین	۰/۸±۰/۰۸†	۱/۳۴±۰/۱۹	۱/۵۱±۰/۰۹	۱/۰۷±۰/۰۸	۱/۱۸±۰/۰۸	۱/۰۴±۰/۰۳

۰/۰۵ < P † در مقایسه با گروه Intact می باشد.

جدول ۲- متوسط PPI در گروه های Intact (n=۹)، سالین (n=۸) و سیستامین (n=۸) در فواصل بین پالسی ۱۰-۴۸۰ میلی ثانیه

گروه	فاصله بین پالسی (میلی ثانیه)					
	۱۰	۲۰	۶۰	۱۲۰	۲۴۰	۳۶۰
Intact	۱/۰۲±۰/۱۵	۱/۱۸±۰/۰۶	۱/۱۸±۰/۰۵	۱/۱۴±۰/۰۳	۱/۰۶±۰/۰۲	۱/۰۲±۰/۰۲
سالین	۰/۶۸±۰/۰۹**	۱/۲۲±۰/۰۷††	۱/۲۴±۰/۰۷	۱/۱۳±۰/۰۳	۱/۰۰±۰/۰۷	۱/۰۵±۰/۰۲
سیستامین	۰/۶۵±۰/۱۸††	۰/۹۶±۰/۱۹†	۱/۱۳±۰/۱۴	۱/۱۱±۰/۰۳	۱/۰۴±۰/۰۲	۱/۰۴±۰/۰۳

۰/۰۱ < P ** در مقایسه با گروه Intact می باشد.

۰/۰۱ < P †† در مقایسه با گروه Intact می باشد.

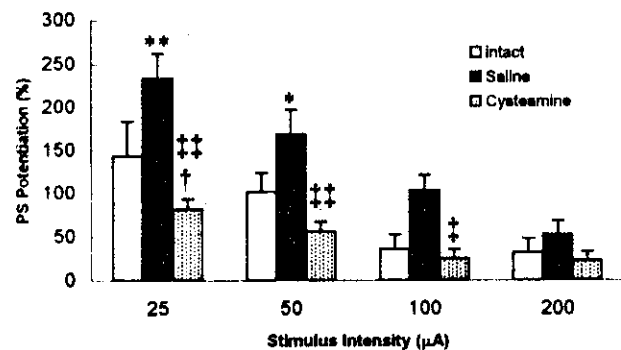
۰/۰۱ < P †† در مقایسه با گروه سیستامین می باشد.

۰/۰۵ < P † در مقایسه با گروه Intact می باشد.

سالین و سیستامین نسبت به گروه Intact، افت معنی دار PPI را با $P < 0.01$ نشان دادند. متوسط در فاصله بین پالسی ۲۰ میلی ثانیه برای گروه های Intact و سالین، بزرگتر از ۱ و برای گروه سیستامین، کوچکتر از ۱ بود و سیستامین نسبت به گروه سالین، افت معنی دار PPI را با $P < 0.01$ نشان داد و در عین حال گروه سیستامین نسبت به گروه Intact نیز موجب افت معنی دار PPI با $P < 0.05$ شده است و در فواصل بین پالسی ۶۰-۴۸۰ میلی ثانیه، متوسط برای هر سه گروه بزرگتر از ۱ بود و اختلاف معنی داری بین گروه ها مشاهده نمی شد.

بحث

تحریک تتانیک PBs برای القای LTP استفاده می شود [۱۴]. به نظر می رسد که این نوع تحریک مشابه با



شکل ۳- LTP در مقاطع گروه های Intact (n=۶)، سالین (n=۵) و سیستامین (n=۸). ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تتانیک. هر ستون معرف میانگین ± خطای معیار می باشد.

($P < 0.05$ و $P < 0.01$ ** مقایسه بین گروه های سالین و Intact)

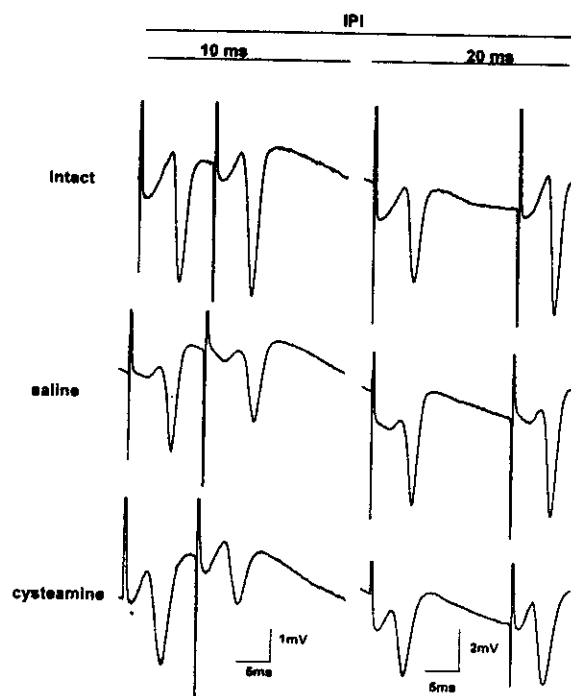
($P < 0.05$ † مقایسه بین گروه های سیستامین و Intact)

($P < 0.05$ † و $P < 0.01$ †† مقایسه بین گروه های سیستامین و

سالین)

PBs به Schaffer collaterals در شرایط *In vitro* LTP ایجاد می‌شود. همانطوریکه قبلاً به وسیله Leung و Ambrose [۱۴] گزارش شده بود و همانطوریکه در منحنی‌های Input/output (شکل ۲) مشاهده می‌شود، مقدار LTP بدست آمده ۶۰ دقیقه بعد از اعمال PBs نسبت به baseline در همه شدت‌های تحریک و در هر سه گروه Intact، سالین و سیستامین بطور معنی‌داری متفاوت است و بیشترین افزایش دامنه PS در همه گروه‌ها در شدت تحریک پایین دیده می‌شود اما همانطور که در شکل ۳ دیده می‌شود، درصد افزایش دامنه PS، ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تتانیک، در مقاطع مربوط به گروه سیستامین کمتر از مقاطع مربوط به گروه‌های Intact و سالین، در همه شدت‌های تحریک اعمال شده بود و این تفاوت در شدت‌های تحریک ۲۵ و ۵۰ میکروآمپر نسبت به هر دو گروه Intact و سالین معنی‌دار است و در شدت تحریک ۱۰۰ میکروآمپر فقط نسبت به گروه سالین معنی‌دار می‌باشد.

چنانچه قبلاً توسط WQ و همکارانش [۳۰] گزارش شده بود، تزریق داخل هیپوکمپ سوماتواستاتین موجب افزایش معنی‌دار مقدار LTP نسبت به گروه کنترل می‌گردد و از طرفی دیگر GABA، مقدار LTP افزایش یافته به وسیله سوماتواستاتین را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. در عین حال، مطالعه انجام شده به وسیله Scharfman و همکارانش [۲۴] نشان داده است که سوماتواستاتین باعث کاهش انتخابی IPSPs ناشی از GABA در ناحیه CA1 مقاطع هیپوکمپ خرگوش می‌گردد. همچنین McCormick و Prince [۲۱] گزارش کرده‌اند که تزریق Ach به طریقه Iontophoresis در نزدیکی اجسام سلولی پیرامیدال نئوکورتکس، موجب پیدایش هیپرپولاریزاسیونی می‌گردد



شکل ۴- نمونه پاسخ (زوج - پالس در گروه‌های Intact، سالین و سیستامین در فواصل بین پالسی ۱۰ و ۲۰ میلی ثانیه که با شدت بالا تحریک ایجاد شده است.

الگوی طبیعی تخلیه نورون‌ها در بعضی از رفتارهایی است که با امواج تتای هیپوکمپ همراه می‌باشد [۲۳]. برای مطالعه LTP می‌توان از ثبت پاسخ‌های تجمعی خارج سلولی استفاده نمود. بزرگی پتانسیل تجمعی نشان‌دهنده میزان تسهیل می‌باشد و این امر منعکس کننده تعداد نورون‌های تخلیه شده و همزمانی این تخلیه می‌باشد [۲۲]. اگر افزایش پاسخ به مدت بیش از ۳۰ دقیقه بعد از اعمال تحریک تتانیک پایدار ماند به عنوان LTP موسوم است [۱۴] و لذا در مطالعه ما، مقدار LTP، ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تتانیک به عنوان تقویت واقعی در نظر گرفته شده است. در این مطالعه نشان داده شده است که با اعمال

که به وسیله دپولاریزاسیون دنبال می‌شود. این هیپولاریزاسیون به وسیله نورون‌های واسطه‌ای ایجاد می‌شود که سیناپس‌های گابا ارژیک با سلول‌های پیرامیدال برقرار ساخته‌اند (در حالیکه دپولاریزاسیون ناشی از اثر مستقیم Ach بر سلول‌های پیرامیدال می‌باشد). پاسخ مشابهی از سلول‌های پیرامیدال CA1، در اثر کاربرد Ach نزدیک به جسم سلولی پیرامیدال CA1، به دست می‌آید. وقتی که سوماتواستاتین همزمان با Ach، اعمال گردد، هیپرپولاریزاسیون اولیه از بین می‌رود. در حالیکه دپولاریزاسیون بعدی بدون تغییر باقی می‌ماند. لذا مشخص می‌شود که سوماتواستاتین موجب سرکوب هیپرپولاریزاسیون ناشی از CABA شده است.

در مطالعه حاضر نقش عملکردی سوماتواستاتین درون زاد در گسترش پدیده LTP، در ناحیه CA1 هیپوکمپ موش صحرایی در شرایط In vitro مورد بررسی قرار گرفت. یافته عمده مطالعه حاضر این است که تجویز سیستمین به موش صحرایی موجب کاهش معنی‌دار مقدار LTP پتانسیل عمل تجمعی در سیناپس‌های Schaffer collateral-CA1 مقاطع هیپوکمپ موش صحرایی می‌شود که این به موازات تخلیه سوماتواستاتین در هیپوکمپ می‌باشد. به نظر می‌آید که سیستمین با تخلیه سوماتواستاتین و با خارج ساختن سیستم گابا ارژیک از مهار سوماتواستاتین، موجب کاهش LTP شده است. در عین حال، همانطور که در شکل شماره ۳ دیده می‌شود، درصد افزایش دامنه PS، ۶۰ دقیقه بعد از تحریک تتانیک در مقاطع مربوط به گروه سالین بیشتر از مقاطع مربوط به گروه‌های Intact و سیستمین در همه شدت‌های تحریکی بود و این تفاوت در شدت‌های ۲۵ و ۵۰ میکروآمپر نسبت به هر دو گروه Intact و سیستمین معنی‌دار است و در شدت جریان

۱۰۰ میکروآمپر فقط نسبت به گروه سیستمین معنی‌دار می‌باشد. به نظر می‌آید که بزرگتر بودن مقدار LTP در گروه سالین نسبت به دو گروه دیگر، مربوط به تجربه استرس‌زای تزریق زیر جلدی روز قبل حیوان باشد [۱۶]. شواهدی وجود دارد که شرایط استرس‌زا موجب افزایش رهایش سوماتواستاتین می‌گردد. گزارش‌های ضد و نقیضی در باره اثرات استرس بر شکل پذیری سیناپسی وجود دارد. Akirav و Richter-Levin [۱] متذکر می‌شوند که فعالیت هسته قاعده‌ای جانبی آمیگدال (در اثر استرس هیجانی و یا با تحریک الکتریکی مستقیم) دارای اثر دو مرحله‌ای بر شکل‌پذیری هیپوکمپ می‌باشد. اثر تحریکی که بلافاصله بروز می‌کند و اثر مهاری که طولانی مدت است. Shors و همکارانش [۲۷] گزارش کرده‌اند که عوامل استرس‌زا بطور پایدار موجب افزایش پاسخ سیناپسی به الگوی تحریک تتانیک ریتیم تتا می‌شود و توقف استرس بطور موقتی باعث کاهش کارایی سیناپسی می‌گردد. Diamond و همکارانش [۶] معتقدند که ارتباط U شکل معکوسی بین میزان کورتیکوسترون محیطی و میزان تقویت ناشی از Primed burst هیپوکمپ وجود دارد. آنها گزارش کرده‌اند که در آزمایش اول ارتباط منفی خطی معنی‌داری بین افزایش میزان سرمی کورتیکوسترون (بیشتر از ۲۰ میکروگرم بر دسی‌لیتر) و تقویت ناشی از Primed burst وجود دارد ولی در آزمایش دوم رابطه عمل کورتیکوسترون - تقویت ناشی از Primed burst در غلظت‌های کم و متوسط کورتیکوسترون رابطه مثبتی با تقویت ناشی از Primed burst دارد ولی در غلظت بالای کورتیکوسترون این رابطه بصورت منفی در می‌آید و لذا کورتیکوسترون دارای اثر دو مرحله‌ای (U شکل) وابسته به غلظت بر بروز شکل‌پذیری هیپوکمپ می‌باشد. همچنین Diamond و

همکارانش [۷] در گزارش دیگری نشان داده‌اند که استرس به *working memory* وابسته به هیپوکمپ آسیب می‌رساند. در عین حال Bramham و همکارانش [۴] متذکر می‌شوند که ایجاد استرس ناشی از سرما که با افزایش کورتیکوسترون همراه است نه باعث القای شبه LTP در کارایی سیناپسی می‌گردد و نه به LTP ناشی از تتانوس در ژيروس دندانهای موش‌های بهوش، آسیب می‌رساند، لذا آسیب به *working memory* در طول استرس سرما، از عدم توانایی سیناپس‌های *Perforant path* برای بروز LTP، ناشی نمی‌شود.

در مطالعه حاضر، تجویز سیستمین موجب کاهش EPI ناحیه CA1 در فاصله بین پالسی ۱۰ میلی ثانیه شد که نسبت به گروه *Intact* معنی‌دار می‌باشد. در عین حال سیستمین موجب کاهش معنی‌دار PPI ناحیه CA1 در فواصل بین پالسی ۱۰ و ۲۰ میلی ثانیه نسبت به گروه‌های *Intact* و سالین می‌شود که این کاهش PPI در فاصله بین پالسی ۱۰ میلی ثانیه نسبت به گروه *Intact* معنی‌دار است و در فاصله بین پالسی ۲۰ میلی ثانیه نسبت به گروه‌های *Intact* و سالین معنی‌دار است.

همانطور که می‌دانیم مهار راجعه در فواصل بین پالسی ۱۰ و ۲۰ میلی ثانیه رخ می‌دهد [۲۸] و در مطالعه حاضر، سیستمین با کاهش EPI و PPI موجب تقویت مهار راجعه شده است، اما EPI را فقط در فاصله بین پالسی ۱۰ میلی ثانیه کاهش می‌دهد و PPI را در فواصل بین پالسی ۱۰ و ۲۰ میلی ثانیه کاهش می‌دهد و PPI حساسیت بیشتری نسبت به سیستمین نشان می‌دهد.

و این یافته با گزارش Zhao [۳۱] انطباق دارد که نشان داده است PPI نسبت به EPI در رابطه با تغییرات مهار حساس‌تر است و این حساسیت به ارتباط غیر خطی PS نسبت به EPSP مربوط است. در این مطالعه، به نظر می‌رسد که سیستمین با تخلیه سوماتواستاتین موجب برداشته شدن مهار سیستم سوماتواستاتین ارژیک از سیستم گابا ارژیک شده باشد و بدین وسیله تقویت مدار مهاری راجعه موجب کاهش EPI و PPI شده است. این اثر کاهشی سیستمین بر EPI و PPI با اثر کاهشی آن بر LTP، هم‌خوانی دارد.

لذا بررسی حاضر آشکار می‌سازد که سیستمین به صورت معنی‌داری موجب کاهش LTP ناشی از تحریک تتانیک و شکل‌پذیری سیناپسی ناشی از زوج پالس در ناحیه CA1 هیپوکمپ می‌گردد و احتمالاً با این عمل به فرآیند حافظه آسیب می‌رساند و این به موازات تخلیه سوماتواستاتین درون‌زاد می‌باشد. از آنجائیکه LTP هیپوکمپ فرآیند اساسی یادگیری و حافظه می‌باشد [۱۳] و تسهیل زوج پالس نیز نوعی از شکل‌پذیری کوتاه مدت در CNS می‌باشد [۱۵]؛ بنابراین سوماتواستاتین درون‌زاد ممکن است فعالیت شناختی را با تعدیل فعالیت عصبی هیپوکمپ تنظیم کند. در مجموع، نتایج حاضر، پیشنهاد می‌کنند که سوماتواستاتین درون‌زاد دارای نقش تسهیلی در شکل‌پذیری سیناپسی ناشی از تحریک تتانیک و زوج پالس مسیر Schaffer collateral-CA1 هیپوکمپ می‌باشد.

منابع

- [1] Akirav, I. And Richter-Levin, G., Biphasic modulation of hippocampal plasticity by behavioral stress and basolateral amygdala stimulation in the rat, *J. Neurosci.*, 19 (1991) 10530-10535.
- [2] Bliss, T.V.P. and Collingridge, G.L., A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus, *Nature*, 361 (1993) 31-38.

- [3] Boehm, S. and Betz, H., Somatostatin inhibits excitatory transmission at rat hippocampal synapses via presynaptic receptors, *J. Neurosci.*, 17 (1997) 4066-4075.
- [4] Bramham, C. R., Southard, T., Ahlers, S.T. and Sarvey, J.M., Acute cold stress leading to elevated corticosterone neither enhances synaptic efficacy nor impairs LTP in the dentate gyrus of freely moving rats, *Brain Res.*, 789 (1998) 245-255.
- [5] Chan-Palay, V., Somatostatin immunoreactive neurons in the human hippocampus and cortex shown by immunogold/silver intensification on vibratome sections: coexistence with neuropeptide Y neurons, and effects in alzheimer-type dementia, *J. Comp. Neurol.*, 260 (1987) 201-223.
- [6] Diamond, D.M., Bennet, M.C., Fleshner, M.C., Fleshner, M. and Rose, G.M., Inverted-U relationship between the level of peripheral corticosterone and the magnitude of hippocampal primed burst potentiation, *Hippocampus*, 2 (1992) 421-430.
- [7] Diamond, D. M., Fleshner, M., Ingersoll, N. and Rese, G.M., Psychological stress impairs spatial working memory: relevance to electrophysiological studies of hippocampal function, *Behav. Neurosci.*, 110 (1996) 661-672.
- [8] Dodd, J. and Kelly, J.S., Is somatostatin an excitatory transmitter in hippocampus? *Nature*, 273 (1978) 674-675.
- [9] Fueta, Y., Kawano, H., Ono, T., Mita, T., Fukata, K. and Ohno, K., Regional differences in hippocampal excitability manifested by paired-pulse stimulation of genetically epileptic El mice, *Brain Res.*, 779 (1998) 324-328.
- [10] Gillies, G., Somatostatin: the neuroendocrine story, *Tips*, 18 (1997) 87-94.
- [11] Ishibashi, H. and Akaike, N., Somatostatin modulates high-voltage-activated Ca^{2+} channel in freshly dissociated rat hippocampal neurons, *J. Neurophysiol.*, 74 (1995) 1028-1036.
- [12] Iversen, L.L., Iversen, S.D., Bloom, F., Douglas, C., Brown, M. and Vale, W., Calcium-dependent release of somatostatin and neurotensin from rat brain in vitro, *Nature*, 273 (1978) 161-163.
- [13] Kaneke, S., Maeda, T. and Satoh, M., Cognitive enhancers and hippocampal long-term potentiation in vitro, *Behav. Brain Res.*, 83 (1997) 45-49.
- [14] Leung, L.S. and Ambrose, S.A.U., Long-term potentiation as a function of test pulse intensity: a study using input/output profiles, *Brain Res. Bull.*, 33 (1994) 453-460.
- [15] Leung, L.S. and Fu, X-W., Factors affecting paired-pulse facilitation in hippocampal CA1 neurons in vitro, *Brain Res.*, 650 (1994) 75-84.
- [16] Matsuoka, N., Kaneko, S. and Satoh, M., A facilitatory role of endogenous somatostatin in long-term potentiation of the mossy fiber-CA3 system in guinea-pig hippocampus, *Neurosci. Lett.*, 129 (1991) 177-180.
- [17] Matsuoka, N., Kaneko, S. and Satoh, M., Somatostatin augments long-term potentiation of the mossy fiber-CA3 system in guinea-pig hippocampal slices, *Brain Res.*, 553 (1991) 188-194.
- [18] Matsuoka, N., Maeda, N., Yamaguchi, I. And Satoh, M., Possible involvement of brain somatostatin in the memory formation of rats and the cognitive enhancing action of FR12196 in passive avoidance task, *Brain Res.*, 642 (1994) 11-19.
- [19] Matsuoka, N. and Satoh, M., FK960, a novel potential anti-dementia drug, augments long-term potentiation in mossy fiber-CA3 pathway of guinea-pig hippocampal slices, *Brain Res.*, 794 (1998) 248-254.
- [20] Matsuoka, N., Yamaguchi, I. And Satoh, M., Role of somatostatin in the augmentation of hippocampal long-term potentiation by FR12196, a putative cognitive enhancer, *Eur. J. Pharmacol.*, 241 (1993) 27-34.
- [21] McCormick, D.A. and Prince, D.A., Mechanisms of action of acetylcholine in the guinea pig cerebral cortex in vitro, *J. Physiol. (Lond.)*, 375 (1986) 169-194.
- [22] McEchern, J. and Shaw, C.A., An alternative to the LTP orthodoxy: a plasticity-pathology continuum model, *Brain Res. Rev.*, 22 (1996) 51-92.

- [23] Otto, T., Eichenbaum, H., Wiener, S.I. and Wible, C.G., Learning-related patterns of CA1 spike trains parallel stimulation parameters optimal for inducing hippocampal long-term potentiation, *Hippocampus*, 1 (1991) 181-192.
- [24] Scharfman, H.E. and Schwartzkroin, P.A., Selective depression of GABA-mediated IPSPs by somatostatin in area CA1 of rabbit hippocampal slices, *Brain Res.*, 493 (1989) 205-211.
- [25] Schettini, G., Brain somatostatin: receptor-coupled transducing mechanisms and role in cognitive functions, *Pharmacol. Res.*, 23 (1991) 203-215.
- [26] Schweitzer, P., Madamba, S.G. and Siggins, G.R., Somatostatin increases a voltage-insensitive k^+ conductance in rat CA1 hippocampal neurons, *J. Neurophysiol.*, 79 (1998) 1230-1238.
- [27] Shors, T.J., Gallegos, R.A. and Breindl, A., Transient and persistent consequences of acute stress on long-term potentiation (LTP), synaptic efficacy, theta rhythms and bursts in area CA1 of hippocampus, *Synapse*, 26 (1997) 209-217.
- [28] Sloviter, R.S., Feedforward and feedback inhibition of hippocampal principal cell activity evoked by perforant path stimulation: GABA-mediated mechanisms that regulate excitability in vivo, *Hippocampus*, 1 (1991) 31-40.
- [29] Tallent, M.K. and Siggins, G.R., Somatostatin depresses excitatory but not inhibitory neurotransmission in rat CA1 hippocampus, *J. Neurophysiol.*, 78 (1997) 3008-3018.
- [30] WQ, J.I., Zhang, C.C. and Zhang, G.H., Effect of somatostatin and GABA on long-term potentiation in hippocampal CA1 area in rats, *Chung. Kuo. Yao. Li. Hsueh. Pao.*, 16 (1995) 380-382.
- [31] Zhao, D. and Leung, L.S., Effects of hippocampal kindling on paired-pulse response in CA1 in vitro, *Brain Res.*, 564 (1991) 220-229.