Physiology and Pharmacology, 11(4), 244 - 251
Winter 2008 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Effect of norepinephrine depletion on induction of experience dependent plasticity in male rats barrel cortex

Vahid Sheibani[1*], Somaye Arabzadeh[1], Mohammad Reza Afarinesh-khaki[1], Ali Shamsi zade[1], Hosein Aminzade[2], Saeed Azizolahi[1]

1. Kerman Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Neuroscience Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 16 Aug 2007 **Revised:** 18 Nov 2007 **Accepted:** 16 Jan 2008

Abstract

Introduction: Barrel cortex of rats is a part of somatosensory cortex, which receives information from facial whiskers. Vibrisectomy by sensory deprivation leads to changes in the barrel cortex, which is known as experience dependent plasticity. On the other hand, Norepinephrine (NE) and locus coeruleus as the main source of NE, modulate response properties of cortical barrel neurons. In this study, the effect of NE depleted and sensory deprivation on induction of experience dependent plasticity was investigated.

Methods: In this study sixty Wistar rats (250±25g) were used. Rats were divided into four groups: 1.Control group 2. NE depleted group (Norepinephrine was selectively depleted by IP injection of DSP4). 3. Sensory deprivation group (all whiskers except the whisker D2 on the left side were trimmed every other day). 4. NE depleted + sensory deprivation group. Excitatory (magnitude and latency) and inhibitatory (Conditioning Test Ratio, CTR index) receptive fields of barrel cortical neurons were assessed Using extracellular single unit recordings.

Results: Sensory deprivation led to an increase both in the magnitude of response to principle whisker deflection (spared whisker) and in the CTR. In NE depleted + sensory deprivation group, the response magnitude and CTR index were the same as control group.

Conclusion: The result showed that experience dependent plasticity has a facilitating effect on excitatory receptive field while decreasing the inhibitory circuits in the brain. When NE content of the brain was depleted before sensory deprivation, these changes were not seen. We conclude that NE depletion inhibits the plastic changes in the response properties of neurons following sensory deprivation.

Keywords: Barrel Cortex, Norepinephrine, Rat, Sensory Deprivation.

* Coresponding Author Email: v_sheibani@yahoo.com & vsheibani2@yahoo.com
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۱ (۴)، ۲۴۴ – ۲۵۱
زمستان ۱۳۸۶

فیزیولوژی و فارماکولوژی

اثر حذف نوراپی نفرین بر القاء پلاستیسیته وابسته به تجربه در قشر بارل موش صحرایی نر

وحید شیبانی[۱*]، سمیه عرب‌زاده[۱]، محمدرضا آفرینش‌خاکی[۱]، علی شمسی‌زاده[۲]، حسین امینی‌زاده[۳]، سعید عزیزالهی[۱]
۱. مرکز تحقیقات علوم اعصاب و گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۲. دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، رفسنجان
۳. مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

دریافت: مرداد ۸۶ بازبینی: آبان ۸۶ پذیرش: دی ۸۶

چکیده

مقدمه: بارل کورتکس در جوندگان بخشی از قشر سوماتوسنسوری اولیه است که اطلاعات را از سبیل های (whiskers) صورت دریافت می‌کند. به دنبال برداشتن یا حذف سبیل‌ها و در نتیجه حذف بعضی اطلاعات حسی الگوی پاسخ بارل‌ها دچار تغییر خواهد شد. این پدیده پلاستیسیته وابسته به تجربه نام دارد. از طرف دیگر نوراپی‌نفرین و هسته لوکوس سرولئوس (به عنوان اصلی ترین منبع نوراپی‌نفرین قشر مغز) ویژگی‌های پاسخی نورون‌های قشر بارل را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در این مطالعه اثر حذف نوراپی‌نفرین ومحرومیت حسی در القاء پلاستیسیته وابسته به تجربه مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه از ۶۰سر موش صحرایی نژاد ویستار با میانگین وزنی (۲۵±۲۵۰) گرم استفاده شد. موش‌ها در چهار گروه مورد بررسی قرار گرفتند. ۱. موش‌های دست نخورده (گروه کنترل). ۲. گروه حذف نوراپی نفرین که از تزریق داخل صفاقی نوروتوکسین DSP4 جهت حذف نوراپی نفرین استفاده شد. ۳. گروه محرومیت حسی که در این گروه به صورت یک روز در میان تمامی سبیل‌های سمت چپ صورت به جز D2 با استفاده از یک قیچی از نزدیکی پوست قطع می‌شد. ۴. گروه محرومیت حسی به علاوه حذف نوراپی نفرین. با استفاده از تکنیک ثبت تک واحدی خارج سلولی میدان‌های تحریکی (اندازه بزرگی و زمان شروع پاسخ نورون) و مهاری (شاخص Condition Test Ratio) نورونهای قشربارل مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در گروه محرومیت حسی بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل اصلی (سبیل باقیمانده) و روند تغییرات CTR (بعنوان شاخصی از مهار جانبی نورونها) نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. در گروه محرومیت حسی+حذف نوراپی نفرین اختلاف معنی داری از نظر بزرگی پاسخ نورونها با گروه کنترل مشاهده نشد. همچنین روند تغییرات CTR در این گروه مشابه گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد پس از القاء پلاستیسیته مدارهای تحریکی تسهیل و مدارهای مهاری تضعیف شدند. اما در هنگامی که نوراپی نفرین مغز قبل از ایجاد محرومیت حسی حذف می‌شد، تغییری در پاسخ نورونها به تغییر اطلاعات حسی ایجاد نشد. نتیجه‌گیری می‌شود که حذف نوراپی نفرین بدنبال محرومیت حسی مانع از ایجاد تغییرات پلاستیک در ویژگی‌های پاسخی نورون‌های قشر بارل می‌شود.

واژه‌های کلیدی: قشر بارل، نوراپی نفرین، موش صحرایی، محرومیت حسی

مقدمه

کورتکس مغز مسئول پردازش جنبه‌های مختلف اطلاعات در مغز است و بسیاری از توانایی‌های منحصر به فرد انسان ناشی از عمل کورتکس است. یکی از مهمترین خواص کورتکس شکل پذیری وابسته به تجربه نام دارد که نه تنها در طول تکامل مغز بلکه در تمام دوران زندگی در کورتکس دیده می‌شود این خاصیت به ما اجازه می‌دهد که رفتارهای جدید را یاد بگیریم

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: v_sheibani@yahoo.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

و براساس تجربیات جدید رفتارمان را تصحیح کنیم [۸]. بارل کورتکس بخشی از کورتکس سوماتوسنسوری اولیه است که پردازش اطلاعات حسی مربوط به سبیل‌های صورت را درموش صحرائی و سایر جوندگان انجام می‌دهد [۸]. در جوندگان همچون انسان [۱۰] پردازش اطلاعات حسی از طریق لمس فعالانه اشیا حاصل می‌شود [۳]. این حیوانات اطلاعات حسی را از طریق حرکت دادن فعالانه سبیل‌های خود بر سطح اشیا دریافت می‌کنند [۳]. مطالعات هیستوشیمیایی نشان داده‌اند که بارل‌های قشری به صورت مجموعه‌های نورونی مجزا در ردیف‌های مطابق با ردیف سبیل‌ها در قشر حسی اولیه ردیف شده‌اند [۱]. به دلیل وجود یک نقشه دقیق سوماتوتوپیکی از سبیل‌ها در بارل‌ها و ارتباط یک به یک بین بارل‌ها و سبیل‌ها [۱۲] بخش مذکور به عنوان یک مدل بسیار خوب جهت مطالعه پدیده پلاستیسیته وابسته به تجربه به کار می‌رود.

پلاستیسیته در دوره نوجوانی شامل دو فرایند است: الف) Potentiation: تقویت پاسخ به سبیل‌های Spare شده (باقی مانده روی صورت). ب) Depression: تضعیف و کاهش پاسخ به سبیل‌ها deprive شده (کنده شده از روی صورت). تضعیف پاسخ به سبیل‌های deprive شده در طول دو ماه اول زندگی دیده می‌شود و پس از آن معمولاً مشاهده نمی‌شود [۲۵]. تقویت پاسخ ۳ هفته پس از کندن مداوم سبیل‌ها و نبود اطلاعات حسی آنها ایجاد خواهد شد [۱۳].

به دلیل اهمیت این پدیده، مطالعات زیادی برای فهمیدن مکانیسم عمل و عوامل مؤثر براین پدیده انجام شده است.

سیستم‌های نورومدولاتوری در مغز در تنظیم عملکرد نورونها و تعدیل پاسخ آنها به محرک‌های مختلف نقش دارند [۱۷]. یکی از سوالاتی که امروز مطرح است این است که سیستم‌های نورومدولاتوری چه نقشی در پدیده شکل پذیری وابسته به تجربه در کورتکس دارند. نوراپی‌نفرین یکی از نوروترانسمیترهایی است که در مغز نقش تعدیلی دارد [۱۷]. هسته لوکوس سرولئوس (Locus Coeruleus, LC)، به عنوان مهمترین منبع نوراپی‌نفرین با مناطق وسیعی از سیستم عصبی از جمله نئوکورتکس، هیپوکامپ و تالاموس ارتباط دارد [۷]. نقش LC در پلاستیسیته در مطالعات مختلفی مورد ارزیابی قرار گرفته است. در بررسی که توسط لوین و همکاران انجام شده است موشهای صحرایی مورد آزمایش تحت ویبریزکتومی (Vibrisectomy) قرار گرفتند و تغییرات اندازه بارل‌ها براساس مصرف گلوکز با 2-DG اندازه‌گیری شده است. در حالت عادی پس از القاء پلاستیسیته، منطقه‌ی بارل مربوطه افزایش مصرف گلوکز را نشان می‌داد. در حالی که پس از تخریب LC این افزایش اندازه مشهود نبوده است [۱۵]. در مطالعه مشابهی دیگری بر روی GAP.43(Growth-associated protein43)، به عنوان مارکر تغییرات سیناپسی، مشخص شدکه میزان این پروتئین بعد از محرومیت حسی و ایجاد پلاستیسیته افزایش داشته است اما در گروهی که با تخریب LC، مقدار نوراپی‌نفرین در مغز کاهش پیدا کرده بود میزان این پروتئین ثابت بود [۱۶]. در مطالعات قبلی تغییرات ایجاد شده در بارل‌ها متعاقب القا پلاستیسیته و حذف نوراپی نفرین بر اساس میزان مصرف گلوکز یا میزان تغییر یکی ا ز پروتئین‌های معرف تغییرات سیناپسی اندازه‌گیری شده است ازانجایی که در حین القاء پلاستیسیته تعداد سیناپس‌ها و نوع ارتباط آنها با یکدیگر تغییر میکند [۶, ۲۲] و احتمالاً این تغییرات منجر به تغییر پاسخ نورونها خواهد شد در مطالعه حاضر برای اولین بار تغییرات پاسخ نورونهای قشر بارل متعاقب القا پلاستیسیته در موشهایی که نوراپی نفرین آنها حذف شده است با تکنیک ثبت خارج سلولی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۶۰ سر موش صحرایی ویستار با میانگین وزنی (۲۵±۲۵۰) گرم استفاده شد. موش‌ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۱ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند و محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا وجود نداشت.

جهت حذف نوراپی نفرین، در موش های۵۰ روزه DSP4 (نوع هیدروکلراید محلول در سالین) با دوز۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم به روش داخل صفاقی (ip) تزریق شد [۱۱].

جهت القاء محرومیت حسی، موش‌های ۶۰ روزه به مدت ۲۰ روز به صورت یک روز در میان تمام سبیل‌های پوزه سمت چپ آنها به جز سبیلD2 با استفاده از یک قیچی از نزدیکی پوست قطع می‌شد [۱۴]. ثبت خارج سلولی در تمامی گروه‌ها در

سن۹۰روزگی موش‌ها و از ناحیه بارل کورتکس سمت راست انجام شد.

موش‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه تقسیم‌بندی شدند. در گروه حذف نوراپی نفرین، داروی DSP4 تزریق شد (n=۱۲). در گروه محرومیت حسی جهت القاء محرومیت حسی تمام سبیل‌ها (به استثنای سبیل D2) قطع می‌شد (n=۱۶). در گروه حذف نوراپی نفرین+ محرومیت حسی، حذف نوراپی نفرین همراه با محرومیت حسی انجام شد (n=۸). موش‌های دست نخورده سه ماهه (Intact) بعنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند (n=۱۴).

جهت انجام ثبت خارج سلولی، حیوانات با داروی یورتان (۱/۲ گرم بر کیلوگرم) بیهوش و در دستگاه استریوتاکس (Stoelting U.S.A) قرار می‌گرفتند. سپس استخوان روی سطح قشر بارل برداشته می‌شد (۴-۱ میلیمتر پشت برگما و ۷-۴ میلی متر در جانب خط وسط). در طول آزمایش سطح قشر با محلول آگار ۳٪ در سالین پوشیده می‌شد و دمای بدن حیوان با استفاده از پتوی حرارتی (Harvard apparatus England) در ۳۷ درجه ثابت می‌شد [۲۴]. با ارزیابی رفلکس‌های دم و پای عقب سطح هوشیاری مورد ارزیابی قرار می‌گرفت و در صورت سبک شدن بیهوشی، ده درصد دوز اولیه ماده بیهوشی تزریق می‌شد. برای ثبت خارج سلولی از یک میکروالکترود فلزی استفاده شد. محل قرارگیری میکروالکترود با استفاده از نقشه سوماتوتوپیکی سبیل‌ها و با استفاده از به کار بردن یک محرک مکانیکی به سبیل‌های سمت مقابل روی بارل D2قرار می‌گرفت [۵, ۱۸, ۲۱]. پس از قرار گرفتن میکروالکترود فلزی (از جنس تنگستن با مقاومت۴-۲ مگا اهم FHC, U.S.A) توسط یک میکرومانیپولاتور در کورتکس حسی مربوط به سبیل D2 اسپایک‌های برداشته شده توسط میکروالکترود پس از ده هزار بار تقویت و پالایش (بین ۳۰۰Hz-۱۰KHz) توسط آمپلی‌فایر (DAM80 ساخت شرکت WPI آمریکا) به ورودی دستگاه موج‌بیز (Window-discriminator) منتقل می‌شد و همزمان از طریق یک رابط به دستگاه مدار تأخیری (Delay line) با زمان تأخیر ۵ ms /۲، به اسیلوسکوپ حافظه‌دار منتقل می‌گردید. اسپایک‌های نورونی که پس از مدت زمان حدودی ۱۵-۱۰ دقیقهً پایدار بودند توسط دستگاه موج‌بیز با تعریف یک پنجره ولتاژی از بقیه نورونها جدا می‌شد. دستگاه موج‌بیز به ازاء هر اسپایکی که در محدوده بین پنجره ولتاژی قرار بگیرد یک پالس مربعی تولید می‌کند که به وسیله یک دستگاه شمارشگر اسپایک به کامپیوتر برای ثبت و آنالیز منتقل می‌شود. از طرف دیگر همین پالس Trigger خارجی اسیلوسکوپ حافظه‌دار را فعال می‌کند بدین ترتیب دستگاه مدار تأخیری و اسیلوسکوپ حافظه‌دار امکان مشاهده اسپایک ایزوله شده را فراهم می‌سازد [۵, ۱۸, ۲۱]. با استفاده از نرم افزار مربوطه، پاسخ نورونها به خم شدن مکانیکی کنترل شده سبیل ها، بصورت هیستوگرامهای زمانی بعد از تحریک (PSTH، Post stimulus time histogram) ثبت می‌شد.

برای خم نمودن مکانیکی کنترل شده سبیل‌ها از دو بلندگو استفاده می‌شد. یک لوله شیشه‌ای نازک با قطر داخلی ۰/۶۹mm، به مرکز هر بلندگو وصل شده و با اعمال ولتاژ مناسب به بلندگوها جا به جایی با مشخصات ذیل در آنها ایجاد می‌شد: زمان بالا رفتن سبیل ms ۵، مدت زمان خم شدن ms ۲۰۰، میزان خم کردنμm ۵۰۰، دفعات خم کردن۵۰ مرتبه با فرکانس یک هرتز. سپس سبیل اصلی (D_2) و سبیل کناری که در سمت خلفی سبیل اصلی قرار گرفته به اندازه ۱۰ میلی‌متر از سطح صورت کوتاه شده و هر کدام درون لوله‌های شیشه‌ای متصل به بلندگوها قرار داده می‌شد [۵, ۱۸, ۲۱].

دو پروتوکل جداگانه برای بررسی اثر حذف نوراپی نفرین بر ویژگیهای پاسخ نورونهای قشر بارل بکار گرفته شد. در پروتکل اول آزمایش سبیل اصلی و سبیل کناری هر کدام به تنهایی جابجا می‌شدند. در پروتکل دوم، سبیل اصلی در فواصل زمانی ۱۰۰،۵۰،۳۰،۲۵،۲۰،۱۵،۱۰،۰ میلی‌ثانیه پس از جابه‌جایی سبیل کناری به صورت تصادفی جابجا می‌شدند. پاسخ‌های هر پروتکل بطور جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از اتمام آزمایش برای اطمینان از محل قرارگیری الکترودها در قشر بارل به وسیله جریان الکتریکی (۳۰میکرو آمپر ۱۰ثانیه) تخریب ایجاد می‌شد. سپس مغز حیوان خارج شده نیمکره راست در محلول فرمالین ۱۰درصد قرار می‌گیرد بعد از تثبیت بافت برشهای ۸۰ میکرونی از مغز تهیه شده و با روش نیسل رنگ آمیزی می‌شدند (شکل ۱) [۲۱]. در صورت نبود الکترود در بارل مورد نظر داده‌ها از بخش آنالیز آماری حذف می‌شدند.

جهت ارزیابی مقدار نوراپی نفرین ناحیه بارل کورتکس بخش فرونتال کورتکس سمت چپ جدا می‌شد و پس از فریز در

نیتروژن مایع نمونه‌ها در یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مقدار نوراپی‌نفرین با روش HPLC-EC [۱۹] ارزیابی شد. در صورتی که غلظت نوراپی‌نفرین در نمونه هایی که تحت تزریق DSP4 قرار گرفتند حداقل ۵۰٪ از گروه کنترل کمتر باشد حذف نوراپی نفرین تائید می‌شد [۱۶]. در این مطالعه نمونه هایی که کاهش نوراپی نفرین در آنها بیش از ٪۵۰ میزان کنترل بود به عنوان کاهش موثر نوراپی نفرین در نظر گرفته شد (n=۲۰) بقیه نمونه‌ها از آنالیز آماری حذف شدند (n=۱۰).

با استفاده از PSTH، ابتدا بزرگی پاسخ به جابجایی سبیل به وسیله شمارش تعداد اسپایکها به ازاء هر تحریک (Spike/Stimulus) ۵۰ میلی ثانیه بعد از شروع جابجایی سبیل‌ها مورد محاسبه قرار گرفت. در این مطالعه فقط پاسخ On نورون ها، یعنی زمانی که لوله شیشه‌ای سبیل را به سمت پایین خم می‌شد مورد ارزیابی قرار گرفت. برای محاسبه زمان شروع پاسخ، از هیستوگرام تأخیری (Latency histogram) استفاده شد. بدین ترتیب که زمانی بعد از تحریک (اندازه bin برابر با یک میلی ثانیه) که بزرگی پاسخ از میانگین فعالیت خودبخودی به اندازه دو انحراف معیار (standard deviation) بزرگتر بود به عنوان زمان شروع پاسخ در نظر گرفته شد [۲۱]. برای محاسبه اثر تسهیلی یا مهاری سبیل‌های اصلی و کناری بر یکدیگر از Condition test ratio (CTR) استفاده شد که بصورت زیر محاسبه می‌شد [۲۴]. لازم به ذکر است که فواصل زمانی بین جابه جایی دو سبیل ,Inter-stimulus interval (ISI)، فواصل زمانی ۱۰۰،۵۰،۳۰،۲۵،۲۰،۱۵،۱۰،۰ میلی ثانیه در نظر گرفته شد. جهت محاسبه CTR از فرمول زیر استفاده شد. به طور مثال ISI=۲۰ms بدین گونه محاسبه شد:

CTR=PC/(Aa+Pa)

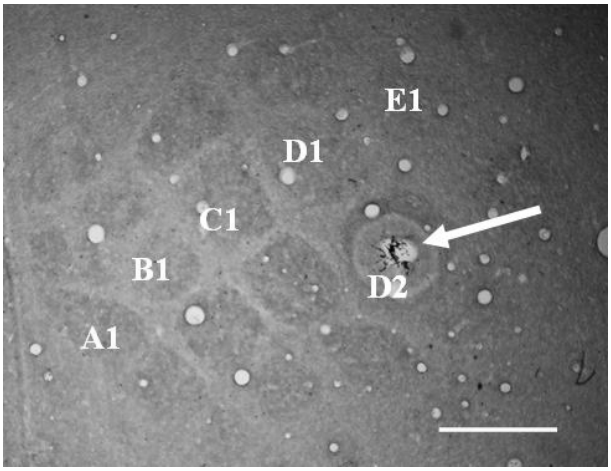
PC = بزرگی پاسخ سبیل اصلی در حالت جفتی در ۵۵-۵ میلی‌ثانیه بعد از جابجایی .Pa = بزرگی پاسخ سبیل اصلی به تنهایی در ۵۵-۵ میلی‌ثانیه بعد از جابه‌جایی. Aa= بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل کناری به تنهایی در ۵۵-۵ میلی ثانیه بعد از جابجایی در صورتی که مقدارCTR از یک کمتر باشد بعنوان اثر مهاری و اگر از یک بیشتر باشد بعنوان تسهیل در پاسخ نورون در نظر گرفته می‌شد [۲۴].

داده‌های بدست آمده با استفاده از آزمون آماری One way ANOVA دنبال شده با پس آزمون LSD و نیز آزمون آماری Repeated Measure ANOVA (RMA) دنبال شده با پس آزمونLSD ارزیابی شدند. در تمام موارد سطح معنی داری آلفا P <۰/۰۵ در نظر گرفته شد. همچنین داده‌ها به صورت Mean ±SEM نشان داده شده اند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از آنالیز آماری به روش ANOVA نشان داد که یک ماه پس از قطع سبیل‌ها و محرومیت حسی اندازه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل اصلی در گروه محرومیت حسی نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد (P=۰/۰۰۱). در این گروه اندازه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل کناری نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری نشان نداد (شکل ۲). همچنین فعالیت خود به خودی نورونها و زمان تأخیر پاسخ نورونها به جابجایی سبیل اصلی و کناری در گروه محرومیت حسی نسبت به گروه کنترل تغییر نشان نداد (جدول ۱).

CTR شاخصی از مهار جانبی است که بیانگر ویژگی‌های پاسخ نورونها به جابجایی سبیل اصلی (در شرایطی که سبیل کناری قبل از سبیل اصلی تحریک می‌شود) می‌باشد. این شاخص برای فواصل زمانی مختلف بین جابجایی دو سبیل (ISI) اندازه‌گیری شد. در گروه محرومیت حسی روند تغییرات



شکل ۱- مقطع مماسی tangential از ناحیه قشر بارل که از رنگ آمیزی سیتوکروم اکسیداز استفاده شده است. نوک فلش محل الکترود در بارل D2 را نشان می‌دهد. مقیاس برابر ۵۰۰ میکرو متر می‌باشد.

جدول ۱- مقایسه فعالیت خودبخودی و تأخیر پاسخ های On نورون های لایه IV قشر بارل به خم نمودن کنترل شده سبیل های اصلی و کناری در گروههای آزمایش

گروه های آزمایش	فعالیت خودبخودی (Hz)	زمان تأخیر شروع پاسخ(ms)	
		پاسخ سبیل اصلی	پاسخ سبیل کناری
کنترل	۰/۳۵±۰/۰۹	۷/۸±۰/۲۱	۱۲/۵±۱/۳۴
حذف نوراپی نفرین	۰/۳۶±۰/۱۳	۷/۴±۰/۲۸	۱۳/۳±۲/۹۶
محرومیت حسی	۱/۰۱±۰/۳۹	۸/۱±۰/۱۹	۱۴/۱۳±۱/۰۳
حذف نوراپی نفرین+ محرومیت حسی	۰/۱۹±۰/۰۸	۷/۸±۰/۳۱	۱۲/۰۸±۰/۶۰

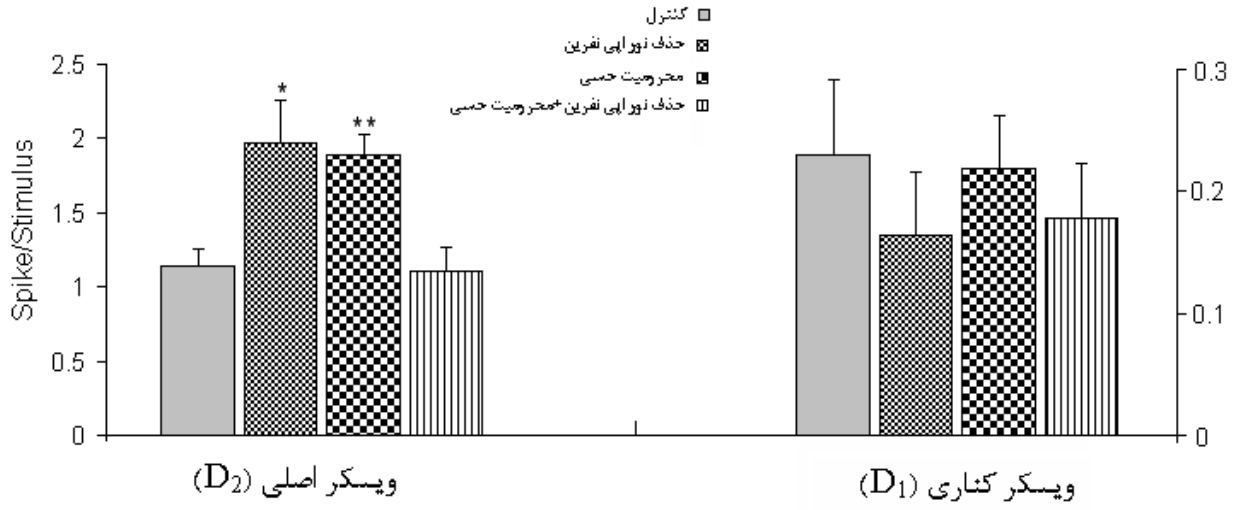
داده ها بر اساس میانگین ± خطای معیار می باشد.

CTR بر حسب ISI مشابه گروه کنترل بود. به طوریکه با افزایش ISI ابتدا CTR کاهش یافت و در ISI ۳۰-۲۰ کمترین مقدار CTR مشاهده شد و پس از آن با بالا رفتن ISI، CTR افزایش یافت. آنالیز آماری به روش RMA دنبال شده با پس آزمون LSD نشان داد بین گروه محرومیت حسی و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود دارد ($P<10^{-3}$) (شکل ۳). این افزایش به معنی کاهش اثر مهاری سبیل کناری بر پاسخ نورونها به سبیل اصلی پس از القاء پلاستیسیته می‌باشد.

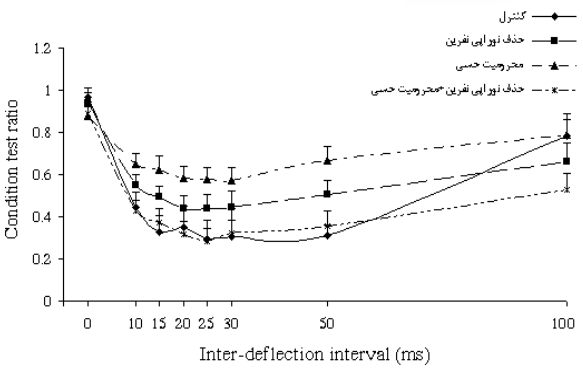
پس از اتمام آزمایشات الکتروفیزیولوژیک مقدار نوراپی نفرین در کورتکس به روش HPLC-E اندازه‌گیری شد. تزریق DSP4 در موشهای مختلف منجر به کاهش نوراپی نفرین در کورتکس با مقادیر متفاوتی شد. بافتهایی که کاهش نوراپی نفرین در آنها بیش از ۵۰٪ میزان کنترل بود به عنوان کاهش موثر نوراپی نفرین در نظر گرفته شد.

مشخص شد اندازه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل اصلی در گروه حذف نوراپی نفرین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری می‌یابد (P=۰/۰۰۲). اما اندازه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل کناری در این گروه نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری نشان نداد (شکل ۲). فعالیت خود به خودی نورونها همینطور زمان تأخیر شروع پاسخ نورونها نسبت به جابجایی سبیل اصلی و کناری پس از کاهش نوراپی نفرین کورتکس اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان نداد (جدول۱).

همچنین روند تغییرات CTR بر حسب ISI گروه حذف نوراپی نفرین مشابه گروه کنترل بودبه طوری که کمترین مقدار CTR در ISI ۳۰-۲۰ میلی ثانیه مشاهده شد. CTR در این



شکل ۲- بزرگی پاسخ نورونها در بارل به جابجایی سبیل اصلی (D_2) و کناری (D_1). آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد که بین بزرگی پاسخ نورونها به سبیل اصلی در بین گروههای مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد ($P<10^{-3}$). آزمون LSD نشان داد که میانگین اندازه بزرگی پاسخ نورونها در گروه حذف نوراپی نفرین (n=۲۹) و گروه محرومیت حسی (n=۲۷) نسبت به گروه کنترل (n=۲۱) افزایش معنی داری می‌یابد (به ترتیب P<۰/۰۰۲ و P<۰/۰۰۱). این آنالیز نشان داد که بین گروه حذف نوراپی نفرین+محرومیت حسی (n=۱۹) با گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود ندارد. بین اندازه بزرگی پاسخ نورونها به سبیل کناری در بین گروههای مختلف اختلاف معنی داری وجود ندارد. داده‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار می‌باشد (P<۰/۰۱* و P<۰/۰۰۱**) (تعداد نورون‌های ثبت شده در هر گروه =n).



شکل ۳- مقایسه شاخص CTR برحسب ISI درگروههای مختلف. شاخص CTR در گروه محرومیت حسی (n=۲۷) و گروه حذف نوراپی نفرین (n=۲۹) نسبت به گروه کنترل (n=۲۱) افزایش نشان می‌دهد (به ترتیب $P<10^{-3}$ و $P<0/05$) اما بین گروه حذف نوراپی نفرین+محرومیت حسی (n=۱۹) با گروه کنترل تفاوت معنی داری مشاهده نمی‌شود. داده‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار می‌باشد (تعداد نورون‌های ثبت شده در هر گروه=n).

گروه نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. آنالیز آماری به روش RMA دنبال شده با پس آزمون LSD نشان داد بین گروه حذف نوراپی نفرین و گروه کنترل تفاوت معنی داری وجود دارد (شکل ۳) ($P<0/05$).

آنالیز نتایج به روش ANOVA با پس آزمون LSD نشان داد در گروه حذف نوراپی نفرین+محرومیت حسی که پس از حذف نوراپی نفرین اقدام به قطع سبیل‌های موش شده بود تغییری در اندازه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل اصلی و کناری مشاهده نشد و اندازه بزرگی پاسخ نورونها با گروه کنترل تفاوت معنی دار نداشت (شکل ۲). در این گروه فعالیت خود به خودی نورونها و زمان شروع پاسخ نورونها به جابجایی سبیل اصلی و کناری با گروه کنترل متفاوت نبود (جدول ۱). روند تغییر CTR نیز در این گروه مشابه گروه کنترل بود و کمترین CTR در ISI ۳۰-۲۰ میلی‌ثانیه دیده شد. CTR نیز در این گروه به گروه کنترل نزدیک شده بود و تفاوت معنی داری با گروه کنترل نشان نداد (RMA دنبال شده با پس آزمون LSD، $P=0/75$) (شکل ۳).

بحث

در این مطالعه تأثیر حذف نوراپی نفرین بر ویژگی‌های پاسخ نورونها پس از محرومیت حسی وابسته به تجربه مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی پس از القاء محرومیت حسی اندازه بزرگی پاسخ نورونها به سبیل D2، spare شده افزایش یافت. همینطور CTR نیز در این گروه و پس از القاء پلاستیسیته افزایش نشان داد. حذف نوراپی نفرین نیز منجر به افزایش پاسخ نورونها به سبیل اصلی شده بود. همراه کردن این دو حالت با یکدیگر یعنی القاء محرومیت حسی در موش فاقد نوراپی نفرین، منجر به عدم تغییر در بزرگی پاسخ نورونها به سبیل اصلی spare شده (D2) و یا تغییر در CTR می‌شود. این یافته‌ها دلالت بر نقش نوراپی نفرین در القاء پلاستیسیته وابسته به تجربه در کورتکس دارد.

گزارش شده پس از القا پلاستیسیته در مدل باقی گذاشتن یک سبیل در موشهای بالغ میزان گلوکز مصرف شده در بارل به عنوان شاخصی از میزان مصرف متابولیت نورونها افزایش می‌یابد [۱۵]. همچنین Baskervil و همکاران نشان دادند که در الگوی باقی گذاشتن دو سبیل متعاقب محرومیت حسی در موشهای بالغ پاسخ نورونها به جابجایی سبیل اصلی پس از القاء پلاستیسیته وابسته به تجربه ۲۴٪ افزایش می‌یابد [۲]. Fox و همکاران مشخص کردند که باقی گذاشتن یک سبیل متعاقب محرومیت حسی، تقویت پاسخ به سبیل اصلی در لایه IV محدود به روزهای اول عمر می‌باشد [۹]. در مطالعه حاضر مشخص شد که پس از قطع سبیل‌ها و ایجاد محرومیت حسی بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل spare شده افزایش می‌یابد. پس از القاء محرومیت حسی اندازه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل کناری (سبیل deprive شده) تغییری نیافت. مطالعات گذشته نیز نشان دادند که تضعیف پاسخ به سبیل deprive شده در موشهای بالغ دیده نمی‌شو د [۱۳, ۲۵].

شاخص دیگری که در این مطالعه بررسی شد CTR بود که معیاری از اثر مدارهای مهاری کورتکس می‌باشد. CTR پس از القاء پلاستیسیته در کورتکس گروه محرومیت حسی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد. این افزایش به معنی کاهش اثر مهاری جابجایی سبیل کناری بر پاسخ سلولها به جابجایی سبیل اصلی (D2) می‌باشد. ما در مطالعات قبلی همچنین افزایش CTR را پس از القاء پلاستیسیته مشاهده نمودیم [۲۰].

مطالعه حاضر همچنین نشان می‌دهد که پس از تزریق نوروتوکسین DSP4 و در نتیجه کاهش نوراپی نفرین کورتکس اندازه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل اصلی افزایش

می‌یابد. لوین و همکاران نیز مشخص نمودند که پس از حذف نوراپی نفرین با جابجایی سبیل اصلی میزان برداشت گلوکز در بارل مربوطه افزایش می‌یابد [۱۵]. این یافته می‌تواند مربوط به وجود سیناپس‌های غیرفعال در بین نورونهای بارل کورتکس باشد [۲۳]. احتمالاً این سیناپس‌ها پس از حذف نوراپی نفرین و در نتیجه حذف اثر مهاری آن فعال می‌شوند و باعث افزایش فعالیت نورونها در بارل کورتکس می‌شوند. همچنین در بعضی مطالعات نقش مهاری برای نوراپی نفرین در تنظیم فعالیت متابولیک در بارل کورتکس مطرح شده است [۴].

در این مطالعه تغییرات ایجاد شده در اندازه بزرگی پاسخ نورونها به جابجایی سبیل D2، همینطور تغییرات در مقدار CTR در گروه محرومیت حسی تحت تزریق DSP4 حذف نوراپی نفرین+محرومیت حسی مشاهده نشد. یافته‌ها تائید کننده نقش نوراپی نفرین در القاء پلاستیسیته وابسته به تجربه در کورتکس می‌باشد. لوین و همکاران در دو بررسی مقدار GAP43 به عنوان مارکر تغییرات سیناپسی [۱۶] و میزان مصرف گلوکز در بارل [۱۵] را پس از القاء پلاستیسیته با محرومیت حسی و همچنین پس از حذف نوراپی نفرین همراه با محرومیت حسی بررسی کردند. آنها نشان دادند که افزایش GAP43 و نیز افزایش در میزان مصرف گلوکز پس از القاء پلاستیسیته، در صورت حذف نوراپی نفرین در کورتکس مشاهده نمی‌شود [۱۵, ۱۶]. همچنین مشخص شد تغییرات ایجاد شده در قشر حسی به دنبال تخریب کورتکس سمت مقابل نیز وابسته به نوراپی نفرین می‌باشد و در عدم حضور این ماده تغییری در پاسخ سلولها ایجاد نمی‌شود [۲۶]. بنابراین بر پایه این مطالعه حاضر و مطالعات قبلی می‌توان چنین گفت که وجود نوراپی نفرین در هنگام القاء پلاستیستیته در کورتکس علاوه بر افزایش فعالیت متابولیکی نورونها جهت ایجاد تغییرات در پاسخ دهی تک تک نورونها لازم و ضروری می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نتایج این مقاله منتج از طرح پژوهشی مشترک بین مراکز تحقیقاتی علوم اعصاب کرمان و شهید بهشتی می‌باشد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی از مراکز فوق را اعلام می‌دارند.

منابع

[1] Armstrong-James M, Callahan CA, Friedman MA, Thalamo-cortical processing of vibrissal information in the rat. I. Intracortical origins of surround but not centre-receptive fields of layer IV neurones in the rat S1 barrel field cortex. ***J Comp Neurol*** 303 (1991) 193-210.

[2] Baskerville KA, Schweitzer JB, Herron P, Effects of cholinergic depletion on experience-dependent plasticity in the cortex of the rat. ***Neuroscience*** 80 (1997) 1159-69.

[3] Carvell GE, Simons DJ, Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. ***J Neurosci*** 10 (1990) 2638-48.

[4] Craik RL, Hand PJ, Levin BE, Locus coeruleus input affects glucose metabolism in activated rat barrel cortex. ***Brain Res Bull*** 19 (1987) 495-9.

[5] Farazifard R, Kiani R, Esteky H, Effects of GABAA receptor inhibition on response properties of barrel cortical neurons in C-fiber-depleted rats. ***Brain Res*** 1050 (2005) 27-32.

[6] Foeller E, Feldman DE, Synaptic basis for developmental plasticity in somatosensory cortex. ***Curr Opin Neurobiol*** 14 (2004) 89-95.

[7] Foote SL, Bloom FE, Aston-Jones G, Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. ***Physiol Rev*** 63 (1983) 844-914.

[8] Fox K, Anatomical pathways and molecular mechanisms for plasticity in the barrel cortex. ***Neuroscience*** 111 (2002) 799-814.

[9] Fox K, A critical period for experience-dependent synaptic plasticity in rat barrel cortex. ***J Neurosci*** 12 (1992) 1826-38.

[10] Gamzu E, Ahissar E, Importance of temporal cues for tactile spatial-frequency discrimination. ***J Neurosci*** 21 (2001) 7416-27.

[11] Giorgi FS, Ferrucci M, Lazzeri G, Pizzanelli C, Lenzi P, Alessandrl MG, Murri L, Fornai F, A damage to locus coeruleus neurons converts sporadic seizures into self-sustaining limbic status epilepticus. ***Eur J Neurosci*** 17 (2003) 2593-601.

[12] Glazewski S, Experience-dependent changes in vibrissae evoked responses in the rodent barrel cortex. ***Acta Neurobiol Exp*** 58 (1998) 309-20.

[13] Glazewski S, Fox K, Time course of experience-dependent synaptic potentiation and depression in barrel

21.

[20] Shamsizadeh A, Sheibani V, Arabzadeh S, Afarinesh MR, Farazifard R, Noorbakhsh SM, Fathollahi Y, Single whisker experience started on postnatal days 0, 5 or 8 changes temporal characteristics of response integration in layers IV and V of rat barrel cortex neurons. ***Brain Res Bull*** 74(2007)29-36.

[21] Sheibani V, Farazifard R, Dorsal raphe nucleus stimulation modulates the response of layers IV and V barrel cortical neurons in rat. ***Brain Res Bull*** 68 (2006) 430-5.

[22] Shepherd GM, Pologruto TA, Svoboda K, Circuit analysis of experience-dependent plasticity in the developing rat barrel cortex. ***Neuron*** 38 (2003) 277-89.

[23] Simons DJ, Multi-whisker stimulation and its effects on vibrissa units in rat SmI barrel cortex. ***Brain Res*** 276 (1983) 178-82.

[24] Simons DJ, Carvell GE, Thalamocortical response transformation in the rat vibrissa/barrel system. ***J Neurophysiol*** 61 (1989) 311-30.

[25] Skibinska A, Glazewski S, Fox K, Kossut M, Age-dependent response of the mouse barrel cortex to sensory deprivation: a 2-deoxyglucose study. ***Exp Brain Res*** 132 (2000) 134-8.

[26] Zarei M, Stephenson JD, Transhemispheric cortical reorganization in rat SmI and involvement of central noradrenergic system. ***Brain Res*** 870 (2000) 142-9.

cortex of adolescent rats. ***J Neurophysiol*** 75 (1996) 1714-29.

[14] Harwell C, Burbach B, Svoboda K, Nedivi E, Regulation of cpg15 expression during single whisker experience in the barrel cortex of adult mice. ***J Neurobiol*** 65 (2005) 85-96.

[15] Levin BE, Craik RL, Hand PJ, The role of norepinephrine in adult rat somatosensory (SmI) cortical metabolism and plasticity. ***Brain Res*** 443 (1988) 261-71.

[16] Levin BE, Dunn-Meynell A, Regulation of growth-associated protein 43 (GAP-43) messenger RNA associated with plastic change in the adult rat barrel receptor complex. ***Brain Res Mol Brain Res*** 18 (1993) 59-70.

[17] Lidov HG, Rice FL, Molliver ME, The organization of the catecholamine innervation of somatosensory cortex: the barrel field of the mouse. ***Brain Res*** 153 (1978) 577-84.

[18] Motaghi S, Sheibani V, Farazifard R, Joneidi H, Electrical stimulation of locus coeruleus strengthens the surround inhibition in layer V barrel cortex in rat. ***Neurosci Lett*** 401 (2006) 280-4.

[19] Neophytou SI, Aspley S, Butler S, Beckett S, Marsden CA, Effects of lesioning noradrenergic neurones in the locus coeruleus on conditioned and unconditioned aversive behaviour in the rat. ***Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*** 25 (2001) 1307-