

(S)- 3,5-Dihydroxyphenylglycine, an agonist for group I metabotropic glutamate receptors, induces synaptic potentiation at the excitatory synapses of the fast spiking GABAergic cells in the visual cortex

Abdolrahman Sarihi^{1,2*}, Alireza Komaki², Tadaharu Tsumoto¹

1. Brain Science Institute RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako 351-0198, Japan

2. Dept. Physiology, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Received: 21 Jan 2008

Revised: 23 Apr 2008

Accepted: 5 May 2008

Abstract

Introduction: (S)- 3,5-Dihydroxyphenylglycine (DHPG) is an agonist for group I metabotropic glutamate receptors. DHPG-induced synaptic depression of excitatory synapses of the hippocampal pyramidal neurons is a well known model for synaptic plasticity studies. The aim of the present study was to examine the effects of DHPG superfusion on the excitatory synapses of the pyramidal and fast-spiking GABAergic cells (FS-GABA) of layer II/III of mice visual cortex.

Methods: Effects of DHPG was examined in visual cortical slices of GAD67-GFP knock-in mice using whole-cell recordings of excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) in layer II/III cells evoked by layer IV stimulation. Experiments also included long term potentiation (LTP) induction by theta burst stimulation (TBS) paired with postsynaptic depolarization.

Results: DHPG induced potentiation of EPSPs of the FS-GABA neurons in dose- and use-dependent manners but it had no effect on the pyramidal cell excitatory synapses. An antagonist for type 5 metabotropic glutamate receptors (mGluR5) blocked DHPG-induced LTP, while an antagonist for mGluR1 was not effective. This potentiation and TBS-induced LTP blocked each other.

Conclusion: Since FS-GABA cells have an important role in the cortical neuronal circuits, mGluR5-dependent LTP may play a role in the enhancement or maintenance of synchronized activity of cortical pyramidal neurons.

Keywords: LTP, GABAergic neuron, Fast-spiking neuron, Metabotropic glutamate receptor, Visual cortex, Transgenic mouse.

* Corresponding author e- mail: asarihi@yahoo.com
Available online @: www.phypha.ir/ppj

تقویت سیناپسی القایی توسط 3,5-Dihydroxyphenylglycine (S)-

(آگونیست گیرنده‌های گروه I متابوتروپیک) در سیناپس‌های تحریکی نرون‌های

گابائرتریک تخلیه سریع در قشر بینایی

عبدالرحمن صریحی^{۱،۲*}، علیرضا کمکی^۲، تاداهارو تسوموتو^۱

۱. استیتو علوم اعصاب، ریکن، ۲-۱ هیروساوا، واکو ۳۵۱-۱۹۸، ژاپن

۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان

دریافت: بهمن ۸۶ بازبینی: اردیبهشت ۸۷ پذیرش: اردیبهشت ۸۷

چکیده

مقدمه: 3,5-Dihydroxyphenylglycine (DHPG) (S)- آگونیست گیرنده‌های متابوتروپیک گروه ۱ می‌باشد. مهار سیناپسی القایی توسط DHPG در سیناپس‌های تحریکی روی سلول‌های هرمی هیپوکامپ مدل شناخته شده‌ای جهت مطالعات شکل‌پذیری سیناپسی می‌باشد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر کاربرد DHPG در محلول پرفیوژنی بر سیناپس‌های تحریکی روی سلول‌های هرمی و تخلیه سریع گابائرتریک (FS- GABA) لایه II / III قشر بینایی موش می‌باشد.

روش‌ها: با استفاده از برشهای قشر بینایی موش‌های ترانس ژنیک GAD67-GFP و کاربرد روش Whole - Cell و ثبت پتانسیل‌های پس سیناپسی تحریکی (EPSPs) در سلول‌های لایه II/ III از طریق تحریک لایه IV، اثر DHPG مورد مطالعه قرار گرفت. در بخشی از این مطالعه جهت ایجاد تقویت طولانی مدت (LTP) از تحریکات تتانیک همراه با دپلاریزاسیون سلول پس سیناپسی استفاده شد.

یافته‌ها: DHPG سبب تقویت پاسخ سیناپس‌های تحریکی بر روی سلول‌های FS-GABA بصورت وابسته به دوز و وابسته به فعالیت شد، اما اثری بر EPSP سلول‌های هرمی نداشت. کاربرد مهارگر گیرنده‌های mGluR5 سبب بلوک اثر DHPG شد، در حالیکه مهارگر گیرنده‌های mGluR1 اثری نداشت. تقویت القایی توسط DHPG و LTP ناشی از تحریکات تتانیک اثر یکدیگر را مسدود کردند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نقش مهم سلول‌های FS-GABA در مدارهایی نورونی قشری از جمله همزمانی تخلیه دستجات نورونی، LTP وابسته به گیرنده‌های mGluR5 ممکن است در افزایش و یا حفظ فعالیت هماهنگ نرون‌های هرمی قشر ایفای نقش نمایند.

واژه‌های کلیدی: تقویت طولانی مدت (LTP)، نرون‌های گابائرتریک، نرون‌های Fast-spiking، گیرنده‌های گلوتاماتی متابوتروپیک، قشر بینایی، موش‌های ترانسژنیک

مقدمه

mGluRs) می‌باشد. اخیراً مطالعات متعددی در هیپوکامپ، مهار سیناپس‌های تحریکی روی سلول‌های هرمی هیپوکامپ توسط DHPG را نشان داده‌اند [۲۹، ۲۵، ۲۲، ۱۸] و از این مدل بعنوان الگویی جهت انجام مطالعات شکل‌پذیری سیناپسی و بررسی مکانیسم‌های درگیر در آن و همچنین نقش تغییرات رشد و نمو در شکل‌پذیری سیناپسی استفاده می‌نمایند.

3,5-Dihydroxyphenylglycine (DHPG) (S) -

آگونیست اختصاصی گیرنده‌های گروه I متابوتروپیک

asarihi@yahoo.com

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

هیپوکامپ LTD توسط DHPG القا نمی شود، بلکه DHPG سبب ایجاد LTP در سیناپس های مذکور می گردد که بر خلاف نورون های واسطه مهاری هیپوکامپ تنها وابسته به گیرنده های نوع ۵ متابوتروپیک می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه موشهای GAD67-GFP در سنین P16-P19 (Postnatal, P) روزه مورد استفاده قرار گرفتند. موشها توسط ایزوفلوران (Abbott, Abbott park, IL) بیهوش شدند و سپس سر موش جدا شده و مغز با سرعت از جمجمه خارج و داخل مایع مغزی نخاعی (ACSF) سرد و اکسیژنه قرار داده شد. برش های کرونال مغز به ضخامت $300 \mu\text{m}$ با استفاده از دستگاه برش بافتی (Vibratome 3000, The Vibratome Co., St. Louis, Mo) تهیه شد. تمام مراحل این مطالعه مورد تأیید کمیته حیوانات آزمایشگاهی انستیتو علوم اعصاب RIKEN قرار گرفته است. برشها در محفظه انکوباسیون حاوی ACSF اکسیژنه با دمای 31°C به مدت حداقل ۱ ساعت قرار داده شدند و سپس به محفظه ثبت الکتروفیزیولوژی منتقل شدند که دمای آن در محدوده $29-31^\circ\text{C}$ کنترل می شد و ACSF اکسیژنه با سرعت 2.5 ml/min از آن عبور داده می شد. ترکیب ACSF بر حسب میلی مول (mM) عبارت بود از: NaCl, 124; KCl, 3.0; CaCl_2 , 2.0; MgCl_2 , 1.0; NaH_2PO_4 , 1.25; NaHCO_3 , 26.0; در pH 7.4.

ثبت الکتروفیزیولوژی به روش Whole cell patch از سلول های FS-GABA و نیز سلول های هرمی (در بخشی از مطالعه) لایه II / III قشر بینایی با استفاده از سیستم اپتیک Infrared differential interference contrast انجام شد. سلول های GABA با استفاده از میکروسکوپ اپی فلورسنت (BX51WI, Olympus, Tokyo, Japan) مشخص و جهت ثبت مورد استفاده قرار گرفتند. سلول های FS با استفاده از تزریق جریان دپلاریزاسیونی $400-500 \text{ pA}$ برای 500 میلی ثانیه همانگونه که در بخش نتایج آمده است شناسایی شدند. پتانسیل های پس سیناپسی تحریکی (EPSP) با استفاده از تحریک الکتریکی لایه IV با فرکانس 0.05 HZ در وضعیت Current- Clamp از سلولها ثبت شدند. ثبت EPSPها با

تغییرات عملکردی در قشر بینایی بر اساس ترکیبی از شکل پذیری در مدارهای تحریکی و مهاری قشر انجام می گیرد. تقویت طولانی مدت (Long-term Potentiation, LTP)، نوعی از شکل پذیری سیناپسی است که ممکن است در این تغییرات عملکردی مدارهای قشری دخالت داشته باشد [۳۲، ۷، ۲]. اکثر مطالعات قبلی در زمینه LTP بر روی سیناپس های تحریکی روی سلول های هرمی لایه های II / III و یا V قشر انجام شده است. اخیراً LTP سیناپس های مهاری گابائریک بر روی سلول های هرمی نیز مورد توجه قرار گرفته است [۲۱، ۱۷، ۸]. اما در مدارهای مهاری قشری جایگاه دیگری برای شکل پذیری وجود دارد و آن سیناپس های تحریکی بر روی نورون های واسطه مهاری می باشد که در مطالعات موجود توجه کافی به آن صورت نگرفته است.

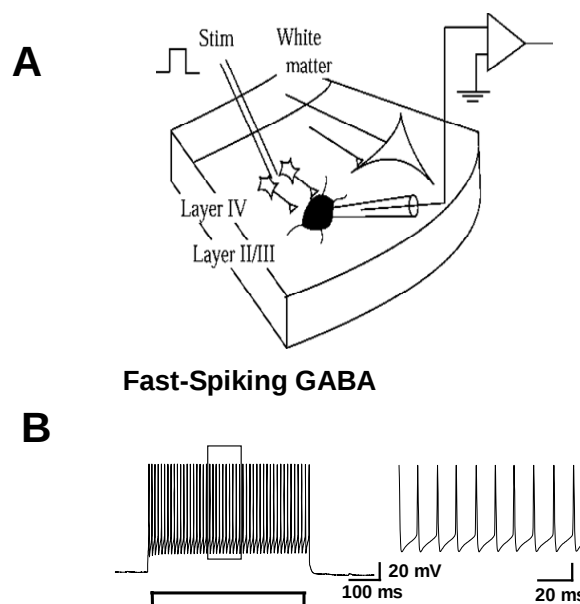
ثبت داخل سلولی به روش Patch clamp از نورون های واسطه مهاری در قشر به لحاظ عملی مشکل می باشد زیرا این نورونها ۲۵-۱۵٪ نورون های قشری را شامل می شوند و اندازه آنها نیز نسبت به سلول های تحریکی کوچکتر است [۲۶، ۲۴، ۱۲]. در این مطالعه با استفاده از موشهای ترانس ژنیک که در آن بیان پروتئین سبز فلورسنت (Green Florescent Protein, GFP) بوسیله پروموتور گلوتامات دکربوکسیلاز ۶۷ (GAD67 Glutamate Decarboxylase 67) کنترل می شود، مشکل فوق بر طرف گردیده است [۳۱]. در برشهای تهیه شده از مغز این نوع موش و با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت، سلول های مهاری گابا به راحتی قابل تشخیص هستند. نورون های واسطه مهاری قشر که گروه عمده آنها سلول های گابائریک هستند شامل دو زیر گروه تخلیه سریع (Fast-Spiking, FS) و تخلیه غیر سریع (Non-Fast Spiking, non-FS) می باشند که می توان آنها را بر اساس مرفولوژی به سلول های سبدي و غیر سبدي تقسیم کرده و از لحاظ نوروشیمی می توان بصورت پاروالبومین مثبت و پاروالبومین منفی در نظر گرفت [۲۳، ۱۲].

در این مطالعه ما قصد داشتیم اثر کاربرد DHPG را بر روی سیناپس های تحریکی روی سلول های FS-GABA لایه II / III که به روش Whole cell patch از آنها ثبت گرفتیم بررسی نماییم. نتایج ما نشان داد نه تنها در این سیناپسها بر خلاف سیناپس های تحریکی بر روی سلول های هرمی

(Input resistance) سلولها به طور مداوم در طول ثبت بوسیله تزریق جریان هیپرپلاریزاسیونی (20 pA برای ۱۰۰ میلی ثانیه) اندازه گیری می شد. مقدار اندازه گیری شده در محدوده 120-180 MΩ بود و معمولاً در طول ثبت ثابت بود. در صورتیکه مقدار آن بیشتر از 20% تغییر نشان می داد ثبت متوقف می شد و نتایج مربوطه در تجزیه و تحلیل آماری وارد نمی شد.

EPSPهای سلول های FS-GABA و هرمی لایه II / III قشر بینایی بوسیله تحریک با فرکانس 0.05 Hz توسط الکترود تحریکی دوقطبی کانسنتریک (Concentric Biopolar) (125 μm diameter, FHC, Bowdin, ME) که در لایه IV قشر قرار داده می شد القاء می شدند. شدت تحریک حدود 50% حداکثر پاسخ (30-80 μA) برای 0.1 میلی ثانیه (Theta) تنظیم می شد. در بخشی از این مطالعه TBS (burst stimulation)، همراه با دپلاریزاسیون سلول پس سیناپسی در 0mV برای 30 s اعمال شد (در وضعیت Voltage clamp). TBS شامل سه قطار تحریکی با فرکانس 0.1 Hz و هر قطار شامل 10 Burst با فرکانس 5 Hz و هر Burst شامل ۴ پالس با فرکانس 100 Hz بود. شدت و دوره تحریک برای هر پالس مشابه پالس های اعمال شده در وضعیت پایه بود. در این آزمایشات پاسخ به تحریک پایه در فرکانس 0.05 Hz مجدداً پس از TBS برای حداقل ۳۰ دقیقه ثبت شد.

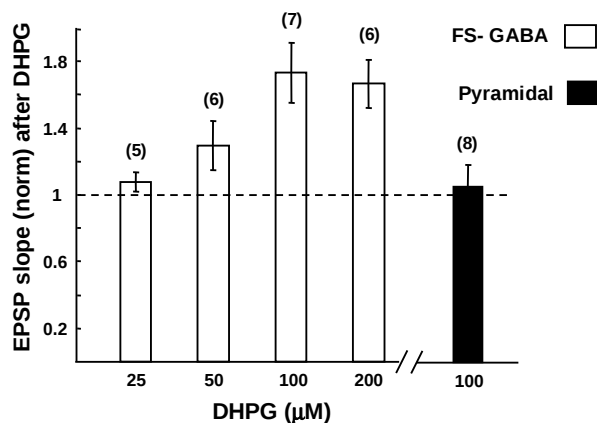
در گروههای آزمون داروها از طریق اضافه نمودن به محلول پرفیوژن مورد استفاده قرار گرفتند. ثبت های گروه کنترل بصورت یک در میان (Interleaved) با استفاده از برش های تهیه شده از حیوان یکسان با گروه آزمون اما با محلول پرفیوژن نرمال انجام شدند. ما داروهای زیر را مورد استفاده قرار دادیم: (S)-3,5-dihydroxyphenylglycine, (Tocris DHPG Bioscience) در دوزهای مختلف 200-25 μM بعنوان آگونیست گروه I گیرنده های متابوتروپیک، LY367385 [(s)-(+)-α-amino-4-carboxy-2-methylbenzeneacetic acid, Tocris Bioscience, Bristol, UK] 100 μM، 2-methyl-6-(phenylethynyl) pyridine MPEP hydrochloride, (Tocris Bioscience) با دوز 10 μM بترتیب بعنوان آنتاگونیست گیرنده های mGluR5 و mGluR1 در این مطالعه نتایج بصورت میانگین ± اشتباه معیار آورده شده است. برای تجزیه و تحلیل نتایج مقادیر مربوط به سلول



شکل ۱- A: تصویر شماتیک قشر بینایی و تحریک لایه IV قشر و ثبت به روش Whole-cell از سلول های FS-GABA و هرمی لایه II / III
B: نمونه قطار پتانسیل عمل های منظم یک سلول FS-GABA که بوسیله تزریق جریان دپلاریزاسیونی به میزان 200 pA برای ۵۰۰ میلی ثانیه القاء شده است. ناحیه چهار ضلعی با واحد زمانی گسترده در سمت راست نشان داده شده است. هیپرپلاریزاسیون متعاقب که از خصوصیات سلول های گابائریژیک می باشد به وضوح مشخص است.

استفاده از آمپلی فایر Multi Clamp (700B-Molecular Devices, Palo Alto, CA) ثبت و سپس با 2-5 KHz فیلتر شده و در 10 KHz دیجیتایز شدند و توسط دیجیتایزر متصل به کامپیوتر پنتیوم (PCI-MIO-16E-4, National Instrument, Austin, TX) از نرم افزار Igor 4.01 تجزیه و تحلیل شدند.

الکترودهای ثبات با استفاده از میکروتیوب های شیشه ای بروسیلالات (قطر خارجی 1.5 mm و قطر داخلی 0.86 mm) بوسیله میکروپولر حرارتی (P-97, Sutter Instrument Co, US) تهیه شدند. مقاومت این الکترودها همراه با محلول داخل سلولی حدود 5-7 MΩ بود. ترکیب محلول داخل سلولی (Internal Solution) بر حسب میلی مول (mM) عبارت بود از: K-gluconate, 130; KCl, 10; HEPES, 10; EGTA, 0.2; MgATP, 4; Na₃GTP, 0.5; and Na-phosphocreatine, 10, pH محلول با استفاده از KOH در حدود 7.2 و اسمولاریته آن حدود 275-290 mOsm تنظیم شد. مقاومت ورودی



شکل ۳- نمودار دوز - پاسخ DHPG بر روی سیناپس های تحریکی سلول های FS-GABA لایه II / III قشر بینایی (ستونهای توخالی). DHPG اثری بر روی سلول های هر می قشر ندارد (منحنی سیاه رنگ). دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ با یکدیگر تفاوت معنی داری را نشان نمی داد ولی با دوزهای ۲۵ و ۵۰ دارای تفاوت معنی دار $p < 0.001$ و $p < 0.05$ بودند.

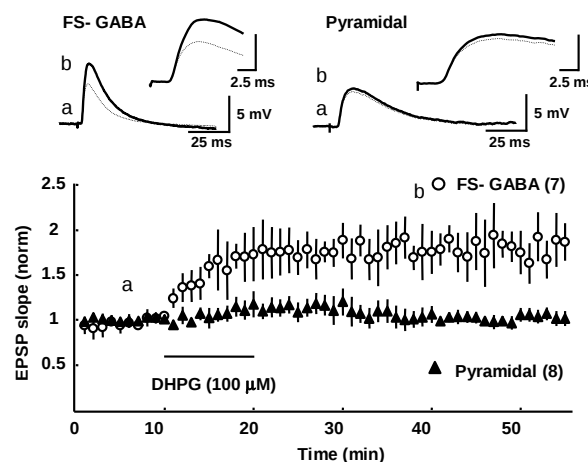
آزمایش چهارم: آزمون انسداد اثر DHPG توسط TBS
این آزمایش در دو قسمت انجام شد، در قسمت اول هر گروه از سلولها ده دقیقه پس از ثبت پایه DHPG را دریافت داشتند اما در یک گروه بیست دقیقه پس از شستشوی DHPG، تحریک TBS دریافت کردند و نتایج دو گروه با یکدیگر مقایسه شد.

در قسمت دوم هر دو گروه ده دقیقه پس از تحریک پایه TBS دریافت داشتند اما یک گروه ۲۰ دقیقه پس از TBS داروی DHPG دریافت کردند و نتایج با یکدیگر مقایسه شد.

آزمایش پنجم: بررسی نقش هر یک از گیرنده های mGluR5 و mGluR1 بر اثر تقویتی DHPG بر EPSP های سلول های FS-GABA لایه II / III قشر بینایی
در این آزمایش سه گروه سلول در نظر گرفته شد. یک گروه DHPG + LY367385 و یک گروه تنها DHPG و گروه سوم DHPG + MPEP دریافت کردند و نتایج با یکدیگر مقایسه شد.

یافته‌ها

همانگونه که در شکل ۲ مشاهده می شود، کاربرد ۱۰۰ μM از ترکیب DHPG به مدت ۱۰ دقیقه سبب تقویت



شکل ۲- دوره تغییرات شیب EPSP ۷ سلول FS-GABA و ۸ سلول هر می پس از کاربرد DHPG از طریق مایع پرفیوژن. در بالا نمونه میانگین ۱۵ EPSP ثبت شده (سمت راست FS-GABA و سمت چپ سلول هر می) را قبل و ۲۵-۲۰ دقیقه پس از شستشوی DHPG نشان می دهد. بخش اولیه EPSP جهت وضوح تفاوت بین وضعیت های قبل و بعد از دارو بصورت گسترش یافته نشان داده شده است.

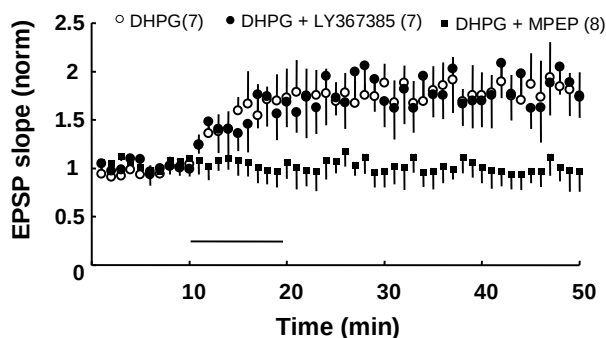
های یک گروه قبل و بعد از دارو یا TBS با استفاده از آزمون Paired- T test و نتایج مربوط به گروههای آزمون و کنترل با استفاده از آزمون غیر زوج T-test مقایسه شدند.

آزمایش اول: بررسی اثر DHPG بر EPSP های سلول های هر می و FS-GABA لایه II / III قشر بینایی
با استفاده از اضافه نمودن DHPG با دوز ۱۰۰ μM به محلول پرفیوژن اثر آن بر EPSP های سلول های هر می و FS-GABA با یکدیگر مقایسه شد.

آزمایش دوم: تعیین منحنی دوز-پاسخ DHPG بر روی سلول های FS-GABA
در این آزمایش دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ μM داروی DHPG بر روی سلول های FS-GABA و اثر آن بر روی EPSP های این سلولها در لایه II / III قشر بینایی مورد مطالعه قرار گرفت.

آزمایش سوم: آزمون وابستگی اثر DHPG به تحریک سلول های FS-GABA

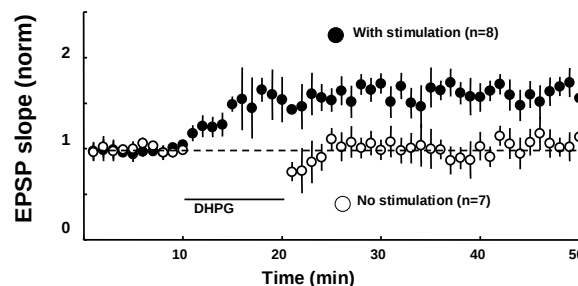
در این آزمون دو گروه از سلول های FS-GABA هر دو DHPG را از طریق محلول پرفیوژن دریافت داشتند، در یک گروه ضمن اضافه نمودن DHPG تحریک پایه اعمال شد و در گروه دیگر تحریک پایه در هنگام اضافه نمودن DHPG قطع شد و نتایج دو گروه با یکدیگر مقایسه شد.



شکل ۶- اثر تقویتی DHPG بر روی سیناپس‌های تحریکی روی نورون‌های FS-GABA لایه II / III قشر بینایی تنها از طریق تحریک گیرنده‌های mGluR5 انجام می‌شود بطوریکه بلوکر این گیرنده‌ها (MPEP) سبب حذف کامل اثر DHPG می‌شود اما بلوکر گیرنده‌های mGluR1 (LY367385) اثری ندارد.

۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و $200 \mu\text{M}$ به ترتیب عبارت بودند از 1.08 ± 0.06 ($n=6$)، 1.25 ± 0.15 ($n=6$)، 1.73 ± 0.18 ($n=7$) و 1.66 ± 0.14 ($n=6$) بود. دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ با یکدیگر تفاوت معنی داری را نشان نمی‌داد ولی با دوزهای ۲۵ و ۵۰ دارای تفاوت معنی دار $p < 0.001$ و $p < 0.05$ بودند. اثر تقویتی سیناپس‌های تحریکی روی سلول‌های FS-GABA وابسته به دوز می‌باشد. نمودار شکل ۴ نتایج آزمایش سوم را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد گروهی که در هنگام کاربرد DHPG تحریک پایه دریافت نکردند اثر تقویتی DHPG بر EPSP‌های سلول‌های FS-GABA در آنها مشاهده نشد. میانگین شیب نسبی EPSP‌های ۲۵-۲۰ دقیقه پس از کاربرد DHPG در گروهی که تحریک دریافت کردند، 1.60 ± 0.14 ($n=8$) بود در حالیکه بدون تحریک 1.03 ± 0.15 ($n=7$) بود و نتایج این دو تفاوت معنی دار آماری با $p < 0.01$ نشان داد. اثر تقویتی DHPG بر EPSP‌های سلول‌های FS-GABA وابسته به تحریک می‌باشد (Activity dependent).

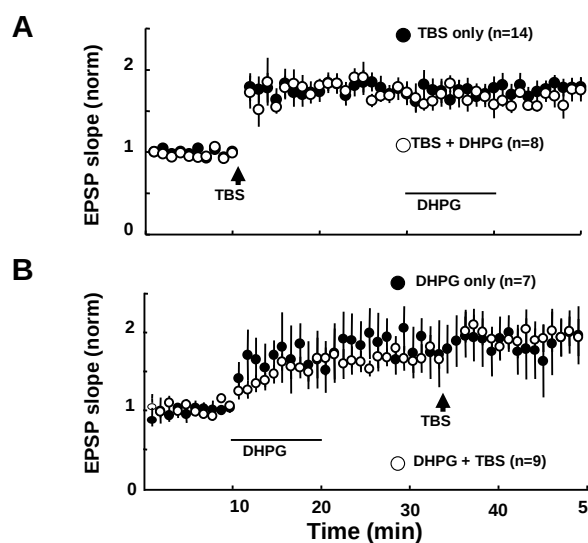
نمودار شکل A و B و ۵ نتایج آزمایش چهارم را نشان می‌دهد. همان گونه که در قسمت A نشان داده شده، نتایج کاربرد TBS به تنهایی و سپس DHPG تفاوت معنی داری را نشان نمی‌دهد. میانگین شیب نسبی EPSP‌ها ۲۵-۲۰ دقیقه پس از TBS در گروهی که DHPG را ۲۰ دقیقه پس از TBS دریافت کردند 1.65 ± 0.14 ($n=8$) و در گروهی که فقط TBS دریافت کردند 1.75 ± 0.11 ($n=14$) بود. همچنین همانطور که در شکل B ۵ نشان داده شده بین دو گروه DHPG به تنهایی $[1.70 \pm 0.24$ ($n=7$)] و DHPG سپس TBS $[1.77 \pm 0.24$ ($n=7$)]



شکل ۴- DHPG در غیاب تحریک الکتریکی لایه IV قشر اثری بر سیناپس‌های تحریکی روی نورون‌های FS-GABA لایه II / III قشر بینایی ندارد.

EPSP‌های مربوط به سلول‌های FS-GABA می‌شود و این اثر حتی ۳۰ دقیقه پس از شستشوی DHPG نیز باقی می‌ماند. در حالیکه اثری بر روی EPSP‌های سلول‌های هرمی قشر بینایی ندارد. میانگین شیب نسبی EPSP‌های سلول‌های FS-GABA تقریباً ۲۵-۲۰ دقیقه پس از کاربرد DHPG 1.73 ± 0.16 ($n=7$) بود در حالیکه در سلول‌های هرمی 1.02 ± 0.18 ($n=8$) و اختلاف بین این دو با $P < 0.001$ معنی‌دار بود.

نمودار شکل ۳ نتایج دوز پاسخ DHPG را بر EPSP‌های سلول‌های FS-GABA نشان می‌دهد. همانگونه که در شکل مشاهده می‌شود اثر تقویتی DHPG در دوز $25 \mu\text{M}$ مشاهده نمی‌شود، در دوز $50 \mu\text{M}$ اثر ضعیف و در دوز $100 \mu\text{M}$ اثر کامل مشاهده می‌شود بطوریکه در دوز $200 \mu\text{M}$ افزایش معنی داری در اثر DHPG دیده نمی‌شود. میانگین شیب نسبی EPSP‌های ۲۵-۲۰ دقیقه پس از کاربرد DHPG با دوزهای



شکل ۵- تقویت طولانی مدت ناشی از اثر DHPG و LTP القاء شده توسط TBS اثر یکدیگر را مسدود می‌کنند

یعنی هیپوکامپ و قشر بینایی و فراوانی زیر گونه های مختلف گیرنده های گلوتاماترژیک در این نواحی باشد. در خصوص بی اثر بودن DHPG بر سیناپس های تحریکی روی سلول های هرمی قشر بینایی، مطالعات متعددی نشان داده اند که LTP در سیناپس های مذکور عمدتاً وابسته به گیرنده های NMDA می باشند [۱۵، ۱۴، ۳، ۱] هر چند مواردی نیز گزارش شده که LTP در سیناپس های مذکور وابسته به کانالهای ولتاژی کلسیم [۲۰، ۱۶، ۶] و یا گیرنده های متابوتروپیک می باشد [۳۳، ۹].

یافته های این مقاله در خصوص سلول های هرمی قشر با یافته های مقالات گروه اول و دوم همخوانی دارد. در مورد نورون های واسطه مهاری اخیراً در هیپوکامپ گزارش مشابهی از تقویت پاسخ سیناپس های تحریکی بر روی نورون های واسطه هیپوکامپ حکایت دارد [۱۹]. البته همانطور که در مقدمه مقاله اشاره شد نورون های واسطه مهاری دارای زیرگونه های مختلفی می باشد که در مقاله اخیر زیر گونه های آن مشخص نشده است ولی در مقاله حاضر بطور اختصاصی سلول های FS-GABA مورد مطالعه قرار گرفته است. با توجه به نقش اساسی این سلولها در قشر بینایی و دوره بحرانی رشد و نمو آن [۷] مطالعه حاضر از اهمیت بسزایی برخوردار می باشد.

نتایج آزمایش انسدادی (Occlusion Test)، نشان داد که مکانیسم LTP ناشی از TBS و تقویت القایی توسط DHPG یکسان می باشد که این یافته با گزارش اخیر ما در خصوص مکانیسم LTP در سلول های FS-GABA لایه II/III قشر بینایی همخوانی دارد [۲۸].

نتایج مطالعه حاضر در خصوص وابسته به تحریک بودن اثر تقویتی DHPG بر سیناپس های تحریکی نرونهای FS-GABA نرونهای قشر بینایی، با توجه به گزارش های مربوط به نقش نرونهای واسطه قشری در شکل پذیری سیناپسی وابسته به تجربه حسی [۱۰، ۷] در موشهایی که در شرایط تاریکی نگهداری شده اند، مطابق می باشد. هر چند انجام بررسی های دقیق تر در این زمینه لازم است.

در مطالعه حاضر از طریق تحریک ورودی های لایه IV اثر تقویتی DHPG مشاهده شد و لازم است بررسی مشابهی در مورد ورودی های نورون های واسطه از لایه II/III صورت گرفته و در مورد تفاوت بین زیر گروههای اصلی نورون های واسطه یعنی FS و non-FS مطالعات بیشتری انجام گیرد. نتایج

[n=9) 0.08 تفاوت معنی دار آماری در شیب نسبی EPSPها مشاهده نمی شود. این نتایج نشان می دهد تقویت ناشی از DHPG و نیز LTP حاصل از TBS در سیناپس های تحریکی روی سلول های FS-GABA لایه II/III قشر بینایی دارای مکانیسم واحدی می باشند.

شکل ۶ نتایج آزمایش چهارم را نشان می دهد شیب نسبی EPSPها در گروه DHPG و LY367385 + DHPG بترتیب 1.73 ± 0.15 (n=7) و 1.72 ± 0.7 (n=7) می باشد که با یکدیگر تفاوت معنی داری نشان نمی دهند در حالیکه نتایج مربوط به گروه DHPG + MPEP، 1.01 ± 0.22 (n=8) که نشان دهنده بلوک کامل اثر تقویتی DHPG توسط MPEP می باشد و با نتایج دو گروه فوق دارای تفاوت معنی دار آماری می باشد $P < 0.001$. اثر تقویتی DHPG بر سیناپس های تحریکی روی سلول های FS-GABA تنها وابسته به گیرنده های mGluR5 می باشد.

بحث

یافته های این مقاله نشان می دهد که DHPG سبب تقویت وابسته به دوز پاسخ سیناپس های تحریکی روی سلول های FS-GABA لایه II/III قشر بینایی می شود، در حالیکه اثری بر سیناپس های تحریکی سلول های هرمی ندارد. اثر تقویتی DHPG در سیناپس های مذکور وابسته به تحریک می باشد و این اثر با LTP ناشی از تحریک TBS سیناپس های تحریکی روی سلول های FS-GABA مکانیسم مشترک دارند. اثر تحریکی DHPG بر سیناپس های تحریکی روی سلول های FS-GABA تماماً از طریق گیرنده های mGluR5 انجام می شود و مهار گیرنده های mGluR1 اثری بر آن ندارد.

همانگونه که در مقدمه این مقاله ذکر شد مدل مهار طولانی مدت القایی توسط (DHPG induced LTD DHPG) بر روی سلول های هرمی هیپوکامپ مدل شناخته شده ای می باشد [۲۹، ۲۵، ۲۲، ۱۸]. در این مقاله برای اولین بار نشان داده شده است که DHPG فاقد هر گونه اثر تقویتی یا مهاری بر روی سلول های هرمی لایه II/III قشر بینایی می باشد و این اختلاف ممکن است بدلیل تفاوت نواحی مغزی مورد مطالعه

- [3] Bear MF, Press WA, Connors BW, Long-term potentiation in slices of kitten visual cortex and the effects of NMDA receptor blockade. *J Neurophysiol* 67 (1992) 841-851.
- [4] Cobb SR, Buhl EH, Halasy K, Paulsen O, Somogyi P, Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons. *Nature* 378 (1995) 75-8.
- [5] Freund TF, Interneuron diversity series: Rhythm and mood in perisomatic inhibition. *Trends Neurosci* 26 (2003) 489-95.
- [6] Grover LM, Teyler TJ, Two components of long-term potentiation induced by different patterns of afferent activation. *Nature* 347 (1990) 477-479.
- [7] Hensch TK, Critical period plasticity in local cortical circuits. *Nature Rev Neurosci* 6 (2005) 877-888.
- [8] Holmgren CD, Zilberter Y, Coincident spiking activity induces long-term changes in inhibition of neocortical pyramidal cells. *J Neurosci* 21 (2001) 8270-8277.
- [9] Huemmel M, Eysel UT, Mittmann T, Metabotropic glutamate receptors mediate expression of LTP in slices of rat visual cortex. *Eur J Neurosci* 15 (2002) 1641-1645.
- [10] Jiang B, Trevino M, Kirkwood A, Sequential development of long-term potentiation and depression in different layers of the mouse visual cortex. *J Neurosci* 27 (2007) 9648-9652.
- [11] Kawaguchi Y, Kubota Y, GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cereb Cortex* 7 (1997) 476-86.
- [12] Kerner JA, Standaert DG, Penney JR JB, Young AB, Landwehrmeyer GB, Expression of group one metabotropic glutamate receptor subunit mRNAs in neurochemically identified neurons in the rat neostriatum, neocortex, and hippocampus. *Mol Brain Res* 48 (1997) 259-269.
- [13] Kimura F, Nishigori A, Shirokawa T, Tsumoto T, Long-term potentiation and N-methyl-D-aspartate receptors in the visual cortex of young rats. *J Physiol* 414 (1989) 125-44.
- [14] Kirkwood A, Dudek SM, Gold JT, Aizenman CD, Bear MF, Common forms of synaptic plasticity in the hippocampus and neocortex in vitro. *Science* 260 (1993) 1518-21.
- [15] Komatsu Y, Iwakiri C, Low-threshold Ca^{2+} channels mediate induction of long-term potentiation in kitten

این مطالعه پیشنهاد می کند که اثر تقویتی DHPG بر سیناپس های تحریکی نرونهای FS-GABA و لایه II / III نرونهای قشری تماماً از طریق گیرنده های mGluR5 انجام می شود و نه از طریق mGluR1. این یافته با گزارش اخیر [۱۹] که در آن نقش مساوی برای mGluR1 و mGluR5 در نوروون های واسطه مهاری هیپوکامپ گزارش شده است همخوانی ندارد که احتمالاً بدلیل اختلاف در نواحی مغزی می باشد. اما با نتایج مطالعات ایمنوهِیستوشیمی بر روی نواحی تالانسفال [۳۰، ۲۷] در خصوص پراکندگی گیرنده های متابوتروپیک همخوانی دارد.

در مطالعه انجام شده توسط Kerner و همکارانش [۱۳] با استفاده از روش In situ hybridization گزارش شده است که گیرنده های mGluR5 بطور متراکمی برروی سلول های GABA نئوکورتکس و از جمله سلول های پاروالبومین مثبت که عمدتاً سلول های FS-GABA قشر را تشکیل می دهند قرار دارند.

گزارش شده است که سلول های واسطه مهاری FS بدلیل عصب دهی اختصاصی برروی جسم سلولی سلول های هرمی در قشر بینایی مسئول کنترل خروجی های هماهنگ نوروون های اصلی قشری هستند [۱۲، ۴]. بنابراین تقویت سیناپس های تحریکی برروی این سلولها و متعاقب آن تقویت فعالیت این نوروون های واسطه، ممکن است نقشی در افزایش فعالیت هماهنگ نوروون های هرمی قشری ایفا نماید [۱۱، ۵]، هرچند سیناپس های مهاری بین سلول های گابائرتریک نیز ممکن است در این روند نقش داشته باشند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از RIKEN Brain Science (Japan) Institute که پشتیبان مالی این تحقیق بود قدردانی می نمایند.

منابع

- [1] Artola A, Singer W, Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visual cortex. *Nature* 330 (1987) 649-652.
- [2] Bear MF, Bidirectional synaptic plasticity: from theory to reality. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358 (2003) 649-655.

- DHPG-induced LTD. *Neuropharmacology* 43 (2002) 175-80.
- [25] Ren JQ, Aika Y, Heizmann CW, Kosaka T, Quantitative analysis of neurons and glial cells in the rat somatosensory cortex, with special reference to GABAergic neurons and parvalbumin-containing neurons. *Exp Brain Res* 92 (1992) 1-14.
- [26] Romano C, Sesma MA, McDonald CT, O'Malley K, van den Pol AN, Olney JW, Distribution of metabotropic glutamate receptor mGluR5 immunoreactivity in the rat brain. *J Comp Neurol* 355 (1995) 455-469.
- [27] Sarihi A, Jiang B, Komaki A, Sohya K, Yanagawa Y, Tsumoto T, Metabotropic glutamate receptor type-5 dependent long-term potentiation of excitatory synapses on fast-spiking GABAergic neurons in mouse visual cortex. *J Neurosci* 28(2008) 1224-1235.
- [28] Schnabel R, Kilpatrick IC, Collingridge GL, An investigation into signal transduction mechanisms involved in DHPG-induced LTD in the CA1 region of the hippocampus. *Neuropharmacology* 38 (1999) 1585-96.
- [29] Shigemoto R, Nomura S, Ohishi H, Sugihara H, Nakanishi S, Mizuno N, Immunohistochemical localization of a metabotropic glutamate receptor, mGluR5, in the rat brain. *Neurosci Lett* 163 (1993) 53-57.
- [30] Tamamaki N, Yanagawa Y, Tomioka R, Miyazaki J, Obata K, Kaneko T, Green fluorescent protein expression and colocalization with calretinin, parvalbumin, and somatostatin in the GAD67-GFP knock-in mouse. *J Comp Neurol* 467 (2003) 60-79.
- [31] Tsumoto T, Long-term potentiation and long-term depression in the neocortex. *Prog Neurobiol* 39 (1992) 209-228.
- [32] Wang XF, Daw NW, Long term potentiation varies with layer in rat visual cortex. *Brain Res* 989 (2003) 26-34.
- visual cortex. *J Neurophysiol* 67 (1992) 401-410.
- [16] Komatsu Y, Iwakiri C, Long term modification of inhibitory synaptic transmission in developing visual cortex. *Neuroreport* 4 (1993) 907-910.
- [17] Kumar A, Foster TC, Shift in induction mechanisms underlies an age-dependent increase in DHPG-induced synaptic depression at CA3 CA1 synapses. *J Neurophysiol* 98 (2007) 2729-36.
- [18] Le Vasseur M, Ran I, Lacaille JC, Selective induction of metabotropic glutamate receptor 1- and metabotropic glutamate receptor 5-dependent chemical long-term potentiation at oriens/alveus interneuron synapses of mouse hippocampus. *Neuroscience* 151 (2007) 42.
- [19] Liu HN, Kurotani T, Ren M, Yamada K, Yoshimura Y, Komatsu Y, Presynaptic activity and Ca^{2+} entry are required for the maintenance of NMDA receptor-independent LTP at visual cortical excitatory synapses. *J Neurophysiol* 92 (2004) 1077-87.
- [20] Maffei A, Nataraj K, Nelson SB, Turrigiano GG, Potentiation of cortical inhibition by visual deprivation. *Nature* 443 (2006) 81-84.
- [21] Mannaioni G, Attucci S, Missanelli A, Pellicciari R, Corradetti R, Moroni F, Biochemical and electrophysiological studies on (S)-(+)-2-(3'-carboxybicyclo(1.1.1)pentyl)-glycine (CBPG), a novel mGlu5 receptor agonist endowed with mGlu1 receptor antagonist activity. *Neuropharmacology* 38 (1999) 917-26.
- [22] Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G, Wu C, Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature Rev Neurosci* 5 (2004) 793-807.
- [23] Meinecke DL, Peters A, GABA immunoreactive neurons in rat visual cortex. *J Comp Neurol* 261(1987) 388-404.
- [24] Moulton PR, Schnabel R, Kilpatrick IC, Bashir ZI, Collingridge GL, Tyrosine dephosphorylation underlies