Physiology and Pharmacology, 13 (1), 1 - 9
Spring 2009 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

The role of hippocampal nitric oxide in passive avoidance learning

Hooman Eshagh Harooni [1], Nasser Naghdi [2*], Ali Haeri Rohani [1] , Hoori Sepehri [1]

1. Dept. Animal Physiology, School of Biology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Dept. Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 12 Sep 2008 Revised: 14 Feb 2009 Accepted: 19 Feb 2009

Abstract

Introduction: Nitric oxide (NO) is a retrograde messenger in hippocampal synaptic plasticity which is involved in learning and memory processes. Previous studies revealed that hippocampal pyramidal cells contain NO synthase (NOS) enzyme, which produces NO and could be a promising target to evaluate the role of NO in brain cognitive functions. In this study, we conducted an experiment to assess the role of NO in passive avoidance learning by using a NOS inhibitor (L-NAME).

Methods: Adult male Wistar rats (200-250 gr) were bilaterally implanted into the CA1 region of the hippocampus. Animals were subjected to behavioral tests one week after surgery. Rats received different doses of L-NAME (5, 10 and 15 µg/0.5µl/side) into the CA1 of hippocampus 25 min before training. Retrieval tests were performed in 3 different stages after training including working or immediate (immediately after training), short-term (90 min after training) and long-term (24 h after training) memories.

Results: Our findings showed that pre-training injection of L-NAME 15 µg/0.5µl/side significantly increased the number of step-through into the dark chamber for immediate memory, while decreased step-through latency for short-term memory.

Conclusion: These results suggest that hippocampal NOS inhibition impairs both immediate and short-term memory, but have no significant effect on long-term memory. Thereby hippocampal NO may affect early on learning and memory in passive avoidance task.

Keywords: Hippocampus; Nitric oxide; Passive avoidance; learning; Rat

* Corresponding author e- mail: nnaghdiir@yahoo.com
naghdi@pasteur.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۳ (۱)، ۱ – ۹
بهار ۱۳۸۸

فیزیولوژی و فارماکولوژی

بررسی نقش نیتریک اکساید هیپوکامپی در یادگیری احترازی غیرفعال

هومن اسحق هارونی[۱]، ناصر نقدی[۲*]، علی حائری روحانی[۱]، حوری سپهری[۱]
۱. گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده زیست شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲. بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

دریافت: ۲۱ شهریور ۸۷ بازبینی: ۲۵ بهمن ۸۷ پذیرش: ۳۰ بهمن ۸۷

چکیده

مقدمه: نیتریک اکساید یکی از میانجی‌های عصبی مهم در ناحیه هیپوکامپ است که به صورت یک پیامبر برگشتی در روندهای شکل پذیری سیناپسی و در نتیجه یادگیری و حافظه دخیل می‌باشد. مطالعات گذشته حاکی از ساخته شدن نیتریک اکساید در نورونهای پیرامیدال هیپوکامپی است. آنزیم سازنده نیتریک اکساید (نیتریک اکساید سنتاز) میتواند هدف فارماکولوژیکی مناسبی برای بررسی نقش نیتریک اکساید در روندهای مختلف شناختی در مغز قرار بگیرد. در این تحقیق با استفاده از مهار کننده آنزیم سازنده نیتریک اکساید (L-NAME) نقش نیتریک اکساید در یادگیری احترازی غیرفعال بررسی گردید.

روش‌ها: به این منظور از موش‌های صحرایی نژاد ویستار به وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. بوسیله جراحی استرئوتاکسیک، در ناحیه CA1 هیپوکامپ به صورت دوطرفه کانول گذاری انجام شد. یک هفته پس از جراحی آزمایش‌های رفتاری صورت گرفت. ۲۵ دقیقه قبل از شروع آموزش در دستگاه یادگیری احترازی غیرفعال، L-NAME در دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میکروگرم در نیم میکرو لیتر حلال (سالین) در ناحیه CA1 تزریق شد. تست به یادآوری با سه فاصله زمانی بعد از آموزش انجام گرفت. حافظه جاری (بلافاصله بعد از آموزش)، حافظه کوتاه مدت (۹۰ دقیقه بعد از آموزش) و حافظه بلند مدت (۲۴ ساعت بعد از آموزش) ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تزریق دوز ۱۵ میکروگرم در نیم میکرولیتر L-NAME قبل از آموزش باعث افزایش معنی‌دار تعداد ورود حیوان به اتاق تاریک در بررسی حافظه جاری و کاهش معنی‌دار زمان ورود به اتاق تاریک در آزمایش حافظه کوتاه مدت نسبت به گروه حلال شده‌است.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها بیان می‌دارد که مهار ساخته شدن نیتریک اکساید هیپوکامپی قبل از آموزش باعث تخریب حافظه جاری و کوتاه مدت می‌شود اما اثر معنی‌داری بر حافظه بلند مدت ندارد. لذا پیشنهاد می‌شود که احتمالا نیتریک اکساید به عنوان یک پیامبر برگشتی در مراحل ابتدایی یادگیری و حافظه احترازی غیر فعال دخیل می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: هیپوکامپ، نیتریک اکسید، اجتناب غیرفعال، یادگیری، موش صحرایی

مقدمه

نیتریک اکساید (NO) از ماده اولیه L–آرژینین توسط خانواده‌ای از آنزیم‌های سنتز کننده نیتریک اکساید (NOS) ساخته میشود. سه ایزوفرم از این خانواده شناخته شده است: اندوتلیال (eNOS)، نورونی (nNOS) و القایی (iNOS). دوتای اول به طور پیوسته و به صورت وابسته به کلسیم بیان می‌شوند در حالیکه iNOS غیروابسته به کلسیم است [۲۰].

در مغز هر سه ایزوفرم NOS وجود دارند. nNOS در نواحی مختلف شامل استریاتوم، بصل النخاع، نئوکورتکس و هیپوکامپ بیان می‌شود [۱۳]. iNOS به طور عمده در آستروسیت‌ها و

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: nnaghdiir@yahoo.com
naghdi@pasteur.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

میکروگلیاها یافت می‌شود و eNOS نه تنها در سلول‌های اندوتلیال بلکه در نورون‌ها بیان میگردد. NO علاوه بر اثرهای عروقی دارای نقش‌های متنوع فیزیولوژیک دیگر نیز می‌باشد [30]. NO در شکل پذیری سیناپسی[1] در نواحی مخچه و استریاتوم در تولید LTD[2] و در ناحیه هیپوکامپ در القای LTP[3] عمل می‌کند. NO در فاصله کمتر از ۱۵ دقیقه بعد از تحریک تتانی سناپس هیپوکامپی برای القای LTP لازم است. به طوریکه در شرطی شدن احترازی در رات‌ها که در آن از تزریق درون هیپوکامپی مهار کننده سنتز NO استفاده شده است، هنگامی که بلافاصله پس از آموزش تزریق شده ایجاد فراموشی کرده است ولی تزریق آن ۶۰ دقیقه پس از یادگیری فراموشی ایجاد نکرده‌است [۱۷].

بر آنزیم گوانیلیل سیکلاز[4] عمل میکند و به صورت پیش سیناپسی باعث افزایشcGMP در سلول هدف میگردد و آزاد شدن گلوتامات پیش سیناپسی را تداوم می‌بخشد [۱۹، ۲۵]. طبق فرضیه پیام بر برگشتی[5]، NO اختصاصا بر روی پایانه‌های سیناپسی عمل میکند که به تازگی فعال بوده اند [۱۴]. در کنار نقش قوی در یادگیری و حافظه،NO در شکل‌گیری آکسون‌ها در طی تکوین هم شرکت دارد [۲۶].

در مطالعه‌های دیگری مهار تولید NO نورونی بوسیله[6] L-NAME باعث تخریب روند حافظه حیوان‌ها شده است و با توجه به کاهش تولید آن به موازات افزایش سن پیشنهاد شده است که داروهایی که اثر NO را تقلید کنند احتمالا می‌توانند اثرات درمانی در بیماری آلزایمر داشته باشند [۳۴]. از طرفی گزارش‌های دیگر نتوانسته که از این موضوع حمایت کند. البته این اختلافات به نوع آزمایش مربوط می‌باشد. مثلا L-NAME یادگیری فضایی را دچار اختلال کرده در حالیکه تشخیص غیرفضایی_بینایی را در ماز آبی تحت تاثیر قرار نداده‌است. بعلاوه تزریق مرکزی L-NAME حافظه جاری[7] را مختل کرده و به حافظه مرجع آسیبی نرسانده‌است [۳۳،۲۸].

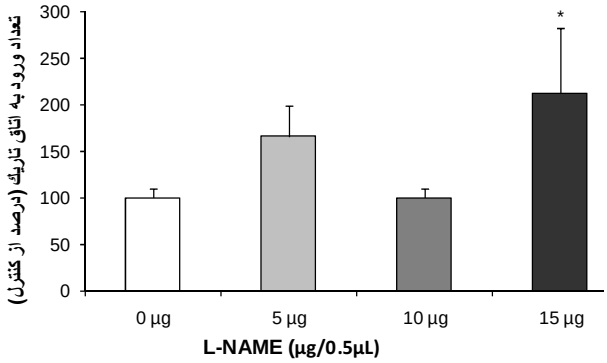
یکی از موضوع‌های حائز اهمیت این نکته است که در بررسی‌هایی که از تزریق سیستمیک مهارکننده‌های سنتز نیتریک اکساید استفاده شده‌است، عوارض ناخواسته‌ای مثل افزایش فشار خون با سیستم رفتاری حیوان تداخل ایجاد می‌کند و تزریق درون هسته‌های مشخص مغز بصورت موضعی عوارض ناخواسته را به حداقل می‌رساند. با توجه به مطالب ذکر شده، در مطالعه حاضر از تزریق درون هیپوکامپی L-NAME برای بررسی اثرات مهار نیتریک اکساید در یادگیری احترازی غیرفعال استفاده شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از موش صحرائی نر بالغ (۳ماهه) به وزن ۳۰±۲۲۰ گرم (۳ماهه) نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات به طور تصادفی به گروه‌های مختلف تقسیم شدند. تعداد موش‌ها در هر گروه۱۰ عدد می‌باشد که تعداد ۴ تا ۵ سر موش در هر قفس و در شرایط استاندارد از نظر دما و رطوبت و سیکل تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته (روشنایی از ساعت ۷ صبح) نگهداری شدند. غذا و آب به مقدار نیاز و آزادانه در اختیار حیوان‌ها قرار داشت. از دستگاهی به نام استرئوتاکس برای جراحی کانول گذاری دوطرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ استفاده شد. در این دستگاه با مراجعه به اطلس مغز موش صحرایی (Paxinos and Watson) [۲۷] مختصات مورد نظر برای دستیابی به محلCA1 (قدامی-خلفی: ۳.۸- از برگما؛ میانی-طرفی: ۲.۲± از خط میانی جمجمه؛ پشتی-شکمی: ۲.۷- از سطح جمجمه) استخراج گردید. حیوان‌ها حداقل یک هفته به عنوان دوره Recovery بعد از عمل جراحی کانول گذاری نگهداری شده و بعد از آن مورد آزمایش‌های رفتاری قرار گرفتند.

داروی L-NAME در غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میکروگرم در نیم میکرولیتر حلال (سالین) تهیه و ۲۵ دقیقه قبل از آموزش در ناحیه CA1 هیپوکامپ تزریق شد. تزریق دارو به وسیله سرنگ ده میکرولیتری هامیلتون، رابط پلی اتیلنی و سر سوزن دندانپزشکی صورت گرفت. حجم هر تزریق نیم

1. Synaptic Plasticity
2. Long term depression
3. Long term potentiation
4. Guanilate cyclase [GC]
5. Retrograde Messenger
6. L-ω-Nitro-Arginine Methyl Ester
7. Working Memory



شکل۱- اثر تزریق قبل از آموزش L-NAME بر روی حافظه جاری در دستگاه احترازی غیرفعال. ستون‌ها نشاندهنده میانگین تعداد ورود به داخل اتاقک تاریک ± میانگین خطای استاندارد (درصد از کنترل) و تعداد موش‌های هر گروه ۱۰ عدد می‌باشد. تست بیادآوری بلافاصله بعد از آموزش انجام شده است. *P<0.05 نشاندهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (سالین) است.

میکرولیتر بوده و از دستگاه پمپ تزریق استفاده گردید. سرعت تزریق در این دستگاه ۰.۲۵ میکرولیتر در دقیقه تنظیم شد. پس از اتمام تزریق، سوزن تزریق به مدت یک دقیقه در محل باقی نگهداشته می‌شد تا دارو از نوک آن منتشر شده و از برگشت آن به کانول هنگام عقب کشیدن سوزن جلوگیری گردد.

برای بررسی روند یادگیری، تشکیل و به خاطرآوری حافظه از دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال استفاده شد. این دستگاه از یک اتاقک روشن و یک اتاقک تاریک (هر یک به ابعاد ۲۰×۲۰×۳۰ سانتیمتر) ساخته شده است که توسط یک در گیوتینی به یکدیگر مربوط میباشند. کف هر دو اتاقک از میله‌های استیل به قطر ۲mm و فاصله ۱cm ساخته شده است. یک منبع تولید کننده جریان الکتریکی به میله‌های کف اتاقک‌ها مرتبط است که در موقع لزوم جریان الکتریکی [شوک] اعمال می‌نماید. با توجه به تمایل موش‌های صحرایی به ورود به اتاقک تاریک، در مرحله آموزش، در این بخش از دستگاه یک شوک الکتریکی دریافت می‌کنند. شدت جریان شوک یک میلی‌آمپر (1mA) و زمان آن ۵ ثانیه بود. پس از خارج شدن از اتاق تاریک، به حیوان اجازه می‌دادیم که۱۲۰ ثانیه در اتاقک روشن بماند. در این مدت تعداد ورود به اتاقک تاریک به عنوان معیاری برای ارزیابی حافظه جاری استفاده گردید. در صورتی که موش در این زمان وارد اتاق تاریک می‌شد، مجددا شوک [با در باز] دریافت می‌کرد و هنگامیکه موش۱۲۰ ثانیه متوالی وارد اتاق تاریک نمی‌شد، آموزش پایان یافته و به قفس باز گردانده می‌شد. ابتدا ۹۰ دقیقه و بار دیگر ۲۴ ساعت بعد از آموزش به ترتیب تست حافظه کوتاه مدت و بلند مدت به عمل می‌آمد. حیوان‌ها برای تست بیادآوری در اتاقک روشن قرار گرفته و مدت زمان لازم برای ورود آنها به درون اتاقک تاریک[1] تا سقف ۶۰۰ ثانیه اندازه‌گیری و به عنوان معیاری از یادگیری استفاده شد.

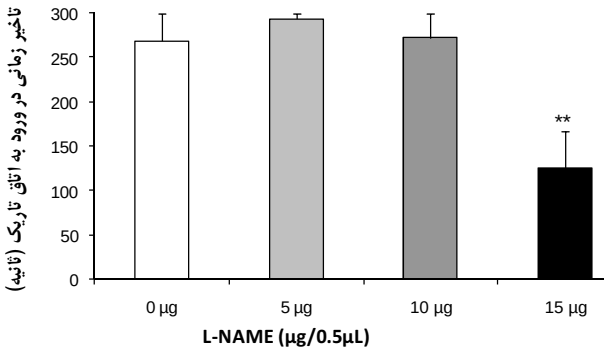
بعد از پایان آزمایش‌های رفتاری، موش‌ها توسط اتر کشته شده و مغز آنها خارج و در محلول فرمالین ده درصد نگهداری گردید. به منظور تعیین محل کانول گذاری و تزریق، برش‌های۱۰۰ میکرومتری از مغزها گرفته و با کرزیل ویولت رنگ‌آمیزی شد. سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری برش‌ها مورد بررسی قرار گرفته و در مواردی که محل کانول گذاری یا رد تزریق دقیقا در ناحیه CA1 نبود، داده‌ها از جامعه آماری حذف گردید.

تحلیل آماری داده‌های بدست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه صورت گرفت و در مواردی که اختلاف بین گروه‌ها معنی دار بود از تست مقایسه بین گروه‌ها (Tukey- Kramer multiple comparisons test) استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین بعلاوه و منهای میانگین خطای استاندارد و در صورت لزوم (درصد از کنترل) بیان گردیده و در تمام مقایسات سطح معنی دار بودن اختلاف P<0.05 در نظر گرفته شد. در انجام این تحقیق تمامی قوانین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، مصوب انستیتو پاستور ایران رعایت گردیده است.

یافته‌ها

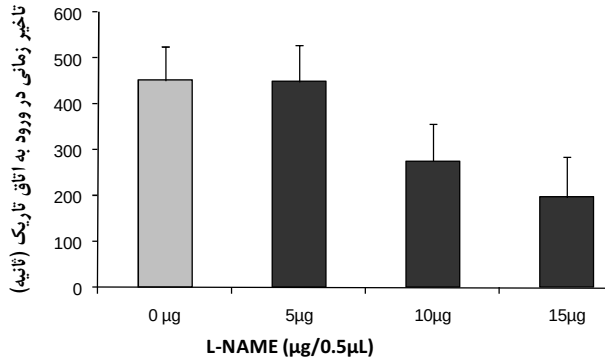
در آزمایش اول حافظه جاری مورد سنجش قرار گرفت. در این آزمایش اثر تزریق (۲۵ دقیقه قبل از آموزش) درون هیپوکامپی L-NAME بر حافظه جاری، بلافاصله بعد از آموزش ارزیابی شد. تحلیل آماری داده‌ها نشان میدهد که

1. Step-through latency

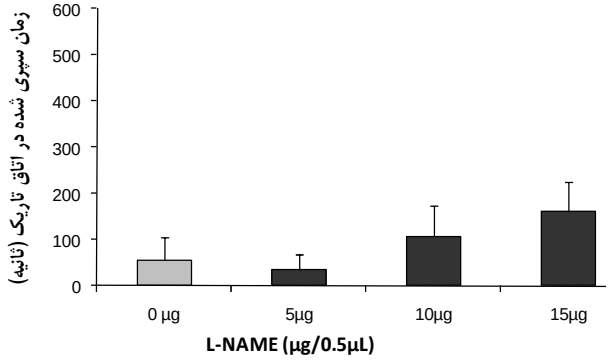


شکل۲- اثر تزریق قبل از آموزش L-NAME بر روی حافظه کوتاه مدت در دستگاه احترازی غیرفعال. ستون‌ها نشاندهنده میانگین تاخیر زمان ورود به داخل اتاقک تاریک ± میانگین خطای استاندارد و تعداد موش‌های هر گروه ۱۰ عدد می‌باشد. تست بیادآوری ۹۰ دقیقه بعد از آموزش انجام شده است. P<0.01 ** نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل (سالین) است.

دوز ۱۵ میکروگرم در هر ۰/۵ میکرولیتر باعث افزایش معنی‌دار تعداد ورود به اتاقک تاریک نسبت به گروه کنترول شده است[F(3,35)=3.55; P=0.024]. این نتایج نشان می‌دهد که مهار سنتز نیتریک اکساید قبل از آموزش باعث نقص درحافظه جاری در دستگاه یادگیری احترازی غیرفعال می‌شود (شکل ۱). در آزمایش دوم حافظه کوتاه مدت مورد بررسی قرارگرفت. در این آزمایش اثر تزریق (۲۵ دقیقه قبل از آموزش) درون هیپوکامپی L-NAME بر حافظه کوتاه مدت،۹۰ دقیقه بعد از آموزش ارزیابی شد. تحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد که دوز ۱۵ میکروگرم در هر ۰/۵



شکل۳- اثر تزریق قبل از آموزش L-NAME بر روی حافظه بلند مدت در دستگاه احترازی غیر فعال. ستون‌ها نشاندهنده میانگین تاخیر زمان ورود به داخل اتاق تاریک ± میانگین خطای استاندارد و تعداد موش‌های هر گروه ۱۰ عدد می‌باشد. تست بیادآوری ۲۴ ساعت بعد از آموزش انجام شده است. اختلاف معنی داری بین گروه‌های دریافت کننده دارو با گروه کنترل (سالین) وجود ندارد.



شکل۴- اثر تزریق قبل از آموزش L-NAME بر روی حافظه بلند مدت در دستگاه احترازی غیرفعال. ستون‌ها نشاندهنده میانگین زمان سپری شده در داخل اتاق تاریک ± میانگین خطای استاندارد و تعداد موش‌های هر گروه ۱۰ عدد می‌باشد. تست بیادآوری ۲۴ ساعت بعد از آموزش انجام شده است. اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت کننده دارو با گروه کنترل (سالین) وجود ندارد.

میکرولیتر باعث کاهش معنی‌دار تاخیر زمانی ورود به اتاقک تاریک نسبت به گروه کنترول شده است [F(3,35)=7.24; P=0.000]. این نتایج نشان می‌دهد که مهار سنتز نیتریک اکساید قبل از آموزش باعث نقص درحافظه کوتاه مدت در دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال می‌شود (شکل ۲).

در آزمایش سوم حافظه بلند مدت مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش اثر تزریق (۲۵ دقیقه قبل از آموزش) درون هیپوکامپی L-NAME بر حافظه بلند مدت، ۲۴ ساعت بعد از آموزش ارزیابی شد. تحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در تاخیر زمانی ورود به اتاقک تاریک [F(3,35)=2.50; P=0.074] (شکل ۳) و زمان ماندن در اتاق تاریک [F(3,35)=1.12; P=0.353] (شکل ۴) نسبت به گروه کنترل وجود ندارد. این نتایج نشان می‌دهد که مهار سنتز نیتریک اکساید قبل از آموزش باعث مهار حافظه بلند مدت در دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال نمی‌شود اما آن را کاهش داده است.

بحث

در تحقیق حاضر نقش نیتریک اکساید هیپوکامپی در مراحل مختلف حافظه شرطی احترازی غیرفعال مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاکی از تخریب حافظه جاری و کوتاه مدت وابسته به دوز در اثر مهار ساخته شدنNO در ناحیه CA1 هیپوکامپ

است. این درحالیست که مهار ساخته شدنNO اثر معنی‌داری بر حافظه بلند مدت نداشته اما آن را کاهش داده است. در گذشته مطالعات دیگری نیز نقش با اهمیت نیتریک اکساید در فرایندهای شناختی بخصوص یادگیری و حافظه را نشان داده اند. برای مثال مشخص شده که مهار ساخته شدن نیتریک اکساید باعث نقص در یادگیریهای مختلف از جمله یادگیری فضایی [۴،۵]، یادگیری احترازی [۹]، و آزمایش تشخیص اشیاء شده [۱۵] است. در چنین آزمایشاتی مهار تولید NO توسط مهار کننده‌های سنتز نیتریک اکساید باعث ایجاد اختلال در روندهای حافظه گردیده است. با این وجود گزارشهای متفاوت و حتی متناقض دیگری نیز وجود دارد که نتوانسته از چنین اثراتی حمایت کند [۲]. دلایل متعددی در توضیح اثر NO در روندهای یادگیری و حافظه مطرح می‌باشد که در ادامه به شرح آن‌ها می‌پردازیم.

۱- علاوه بر مطالعات رفتاری گسترده‌ای که نقش NO در حافظه را پیشنهاد می‌دهند، تحقیقات الکتروفیزیولوژیک و ژنتیک متعددی برای روشنتر شدن مکانیزم عمل آن صورت گرفته است. بدنبال کشف NO در بافت مغزی، این پیشنهاد بسرعت مطرح شد که بعنوان پیامبر برگشتی، نقل و انتقال سیناپسی را تحت تاثیر قرار می‌دهد، و در شکل پذیری سیناپسی دخیل است [۲]. تقویت طولانی مدت نوعی از شکل پذیری سیناپسی است و بسیاری بر این عقیده‌اند که اساس مولکولی روندهای یادگیری و حافظه را تشکیل می‌دهد [۸]. شواهدی که از نقش LTP در یادگیری حمایت می‌کنند، برخاسته از اثرات مشابه برخی داروها بر هر دو روند می‌باشد [۹]. فعال شدن گیرنده‌های گلوتامات منجر به فعال شدن NOS و تولید NO و باعث فعال شدن پروتئین‌های هدف متعدد می‌گردد که هم LTP و هم روندهای یادگیری و حافظه را تحت تاثیر قرار می‌دهند [۱۹]. از طرفی شواهد زیادی حاکی از مداخله مسیر NO/GC در LTP هیپوکامپی است[۱،۱۱]. در همین راستا مطالعات نشان می‌دهد که با استفاده از مهار کننده‌های NOS، LTP هیپوکامپی کاملا متوقف شده است[۱۰]. با اینحال و با توجه به مدارک بسیاری که موافق نقش NO در LTP هستند، مهار کردن LTP توسط مهار کننده‌های NOS نتایج متناقضی داشته است [۲۴]. همچنین باید یادآور شد که در یک مطالعه با استفاده از موش‌های جهش یافته فاقد ژن کد کننده nNOS یا eNOS، LTP بطور طبیعی بیان گردید. بهمین دلیل پیشنهاد گردید که NO اساسا در تولیدLTP شرکت دارد، ولی احتمالا شکل‌های مختلف آنزیم‌های سازنده NO فقدان دیگری را جبران می‌کنند [۳۲]. از آنجائیکه یادگیری احترازی غیر فعال بسیار وابسته به عملکرد هیپوکامپ است به نظر می‌رسد که مکانیزم شناخته شدهٔ مهار القاء LTP و متعاقب آن کاهش شکل پذیری سیناپسی در هیپوکامپ طی یادگیری و بیادآوری حافظه، یکی از دلایل احتمالی برای تخریب حافظه ناشی از L-NAME باشد.

۲- شواهد قبلی حاکی از وجود پیامبرهای ثانویه درون سلولی است که از اهمیت بالقوه برای میانجی گری اثرات NO بر سلول هدف برخوردار می‌باشند. تعدادی از مطالعات رفتاری به اتفاق، NO و GC را در پردازش حافظه دخیل دانسته‌اند. برای مثال، Bernabeu (۹۷-۱۹۹۵) و Izquierdo (۲۰۰۰) نشان داند که مهار NOS توسط نیترو آرژینین و مهار GC بطور موثری بیادآوری در دستگاه احترازی غیر فعال از نوع step-down را تخریب می‌کند [۲۱,۷,۶,۵]. در مطالعه دیگر، تزریق درون صفاقی آگونیست GC باعث بهبود یادگیری و حافظه در ماز آبی موریس و احترازی فعال و غیر فعال گردیده است [۱۵]. همچنین گزارش کرده‌اند که غلظت cGMP در هیپوکامپ، قشر و مخچه بدنبال تجویز L-NAME و 7-NI (۷-نیتروایندازول) بطور معنی داری کاهش یافته است [۳۵]. از آنجائیکه مهار سنتز NO منجر به کاهش سطح cGMP در هیپوکامپ می‌گردد، احتمال دارد که کاهش cGMP در هیپوکامپ مسئول تخریب یادگیری و حافظه ناشی از مهار سنتز NO درآزمایشات ما باشد. پروتئین درون سلولی دیگری که هم توسط NO فعال می‌شود و هم در روند حافظه شرکت دارد، منو-ADP-ریبوزیل ترانسفراز است[۱۸]. این پروتئین در غلظت‌های بالا در اکثر بافت‌های پستانداران از جمله مغز یافت می‌شود. مدارکی وجود دارد که پیشنهاد می‌دهد این روند، یک مکانیزم مهم دیگر است که NO از طریق آن بر روی LTP هیپوکامپی اثر می‌گذارد. در حمایت از این یافته ها، مشاهده شده که ناحیه CA1 هیپوکامپ دارای فعالیت ADP-ریبوزیل ترانسفراز است که با تولید NO افزایش می‌یابد[31]. از طرفی Edward و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که مهار ADP-ریبوزیل ترانسفراز باعث تخریب حافظه از ۱۲۰

دقیقه بعد از آموزش می‌شود. این احتمالا نشان می‌دهد که NO دارای یک عملکرد تاخیری است که شامل فعال شدن ADP-ریبوزیل ترانسفراز است [۱۸]. در مجموع این نتایج نشان می‌دهد که NO می‌تواند LTP و حافظه را از طرق مختلف تحت تاثیر قرار دهد که کارایی هر یک در مراحل مختلف حافظه و یادگیری متفاوت است.

۳- علاوه بر روندهای سلولی که بطور مستقیم تحت تاثیر NO در حافظه دخیل می‌باشند، مطالعات حاکی از اثر غیرمستقیم NO بر روند حافظه از طریق تعدیل میانجی‌ها و پپتیدهای عصبی است، که در حافظه و یادگیری شرکت دارند [۹]. استیل کولین یکی از ناقل‌های عصبی موثر در یادگیری و حافظه است که مشخص شده اثرات NO را در نواحی مختلف مغز از جمله قشر مخ و هیپوکامپ میانجی می‌کند. Kopf و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند تخریب بیادآوری احترازی غیر فعال که در اثر مهار سنتز NO ایجاد می‌گردد، قابل برگشت با فیزوستیگمین و اکسوترمورین است [۲۲]. این یافته مداخله یک مکانیزم کولینرژیک را پیشنهاد می‌دهد. در تائید یافته قبلی Kopf و همکاران (۲۰۰۱) گزارش دادند که مهار سنتز NO هم باعث نقص بیادآوری حافظه احترازی غیر فعال و هم کاهش آزاد سازی استیل کولین قشری گردید که احتمالا این دو با یکدیگر مرتبط باشند [۲۳]. قابل ذکر است که با مهار کردن گیرنده‌های گلوتامات آزاد شدن استیل کولین در اثر NO متوقف می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد که گلوتامات نقش مهمی در آزاد سازی استیل کولین ناشی از NO، ایفا می‌کند [۲۹]. در نتیجه این احتمال می‌رود که کاهش فعالیت گلوتامات و استیل کولین مسئول (حداقل بخشی از) تخریب حافظه ناشی از تزریق درون هیپوکامپی L-NAME باشد.

نتیجه دیگری که از یافته‌های این تحقیق بدست می‌آید اینست که مهار سنتز NO، حافظه احترازی غیرفعال کوتاه مدت و بلند مدت را بطور متفاوت تحت تاثیر قرار می‌دهد. این نشان می‌دهد که حافظه‌های کوتاه مدت و بلند مدت از طریق مکانیزم‌های مولکولی نسبتا مستقل در هیپوکامپ شکل می‌گیرند. این یافته توسط تحقیقات دیگران نیز تائید می‌شود، که در آنها هم چنین گزارش شده که روندهای مولکولی متفاوتی در حافظه کوتاه مدت و بلند مدت دخیل می‌باشند [۱۲].

سپاسگزاری

با تشکر و قدردانی از صندوق حمایت از پژوهشگران کشور برای تامین هزینه‌های انجام این طرح و با سپاس فراوان از خانم سیده میترا حسینی زاده بخاطر همکاری صمیمانه ایشان در ویراستاری و مشاوره در امور رایانه.

References

[1] Arancio O, Kiebler M, Lee CJ, Lev-Ram V, Tsien RY, Kandel ER, Hawkins RD, Nitric oxide acts directly in the presynaptic neuron to produce long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. ***Cell*** 87 (1996) 1025-1035.

[2] Arancio O, Kandel ER, Hawkins RD, Activity-dependent long-term enhancement of transmitter release by presynaptic 3',5'-cyclic GMP in cultured hippocampal neurons. ***Nature*** 376 (1995) 74-80.

[3] Bannerman DM, Chapman PF, Kelly PA, Butcher SP, and Morris,RG, Inhibition of nitric oxide synthase does not impair spatial learning. ***J Neurosci*** 14 (1994) 7404-7414.

[4] Baratti CM, Boccia MM, Effects of sildenafil on long-term retention of an inhibitory avoidance response in mice. ***Behav Pharmacol*** 10 (1999) 731-737.

[5] Bernabeu R, de Stein ML, Fin C, Izquierdo I, Medina JH, Role of hippocampal NO in the acquisition and consolidation of inhibitory avoidance learning. ***Neuroreport*** 6 (1995) 1498-1500.

[6] Bernabeu R, Schmitz P, Faillace MP, Izquierdo I, Medina JH, Hippocampal cGMP and cAMP are differentially involved in memory processing of inhibitory avoidance learning. ***Neuroreport*** 7 (1996) 585-588.

[7] Bernabeu R, Schroder N, Quevedo J, Cammarota M, Izquierdo I, Medina JH, Further evidence for the involvement of a hippocampal cGMP/cGMP-dependent protein kinase cascade in memory consolidation. ***Neuroreport*** 8 (1997) 2221-2224.

[8] Bliss TV, Collingridge GL, A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. ***Nature*** 361 (1993) 31-39.

[9] Bohme GA, Bon C, Lemaire M, Reibaud M, Piot O, Stutzmann JM, Doble A, Blanchard JC, Altered synaptic plasticity and memory formation in nitric oxide synthase inhibitor-treated rats. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 90 (1993) 9191-9194.

[10] Bohme GA, Bon C, Stutzmann JM, Doble A, Blanchard JC, Possible involvement of nitric oxide in long-term potentiation. ***Eur J Pharmacol*** 199 (1991) 379-381.

[11] Bon CL, Garthwaite J, On the role of nitric oxide in hippocampal long-term potentiation. ***J Neurosci*** 23 (2003)1941–1948.

[12] Cammarota M, Bevilaqua LR, Rossato JI, Ramirez M, Medina JH, Izquierdo I, Relationship between short- and long-term memory and short- and long-term extinction. ***Neurobiol Learn Mem*** 84 (2005) 25-32.

[13] Cha CI, Kim JM, Shin DH, Kim YS, Kim J, Gurney ME, Lee KW, Immunocytochemical study on the distribution of NOS-immunoreactive neurons in the cerebral cortex of aged rats. ***Neuroreport*** 9 (1998) 2171-4.

[14] Chalimoniuk M, Strosznajder JB, Aging modulates nitric oxide synthesis and cGMP levels in hippocampus and cerebellum Effects of amyloid beta peptide. ***Mol Chem Neuropathol*** 35 (1998) 77-95.

[15] Chien WL, Liang KC, Teng CM, Kuo SC, Lee FY, Fu WM, Enhancement of learning behaviour by a potent nitric oxide-guanylate cyclase activator YC-1. ***Eur J Neurosci*** 21 (2005) 1679-1688.

[16] Cobb BL, Ryan KL, Frei MR, Guel-Gomez V, Mickley GA, Chronic administration of L-NAME in drinking water alters working memory in rats. ***Brain Res Bull*** 38 (1995) 203-207.

[17] Devan BD, Bowker JL, Duffy KB, Bharati IS, Jimenez M, Sierra-Mercado DJ, Nelson CM, Spangler EL, Ingram DK, Phosphodiesterase inhibition by sildenafil citrate attenuates a maze learning impairment in rats induced by nitric oxide synthase inhibition. ***Psychopharmacology*** 183 (2006) 439–445.

[18] Edwards TM, Rickard NS, Inhibition of monoADP-ribosylation prevents long-term memory consolidation of a single-trial passive avoidance task in the day-old chick. ***Neurobiol Learn Mem*** 78 (2002) 192-198.

[19] Garthwaite J, Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. ***Trends Neurosci*** 14 (1991) 60-67.

[20] Inada K, Yokoi I, Kabuto H, Namba Y, Ogawa N, The effects of chronic administration of nimodipine on age-related changes in nitric oxide and its synthase in senescence-accelerated mouse brain. ***Biochem Mol Biol Int*** 41 (1997) 753-65.

[21] Izquierdo LA, Vianna M, Barros DM, Mello ES, Ardenghi P, Sant'Anna MK, Rodrigues C, Medina JH, Izquierdo I, Short- and long-term memory are differentially affected by metabolic inhibitors given into hippocampus and entorhinal cortex. ***Neurobiol Learn Mem*** 73 (2000) 141-149.

[22] Kopf SR, Baratti CM, Enhancement of the post-training

cholinergic tone antagonizes the impairment of retention induced by a nitric oxide synthase inhibitor in mice. ***Neurobiol Learn Mem*** 65 (1996) 207-212.

[23] Kopf SR, Benton RS, Kalfin R, Giovannini MG, Pepeu G, NO synthesis inhibition decreases cortical ACh release and impairs retention of a conditioned response. ***Brain Res*** 894 (2001) 141-144.

[24] Larkman AU, Jack JJ, Synaptic plasticity: hippocampal LTP. ***Curr Opin Neurobiol*** 5 (1995) 324-334.

[25] Matsumoto Y, Unoki S, Aonuma H, Mizunami M, Critical role of nitric oxide-cGMP cascade in the formation of cAMP-dependent long-term memory. ***Learn mem*** 13 (2006) 35-44.

[26] Noda Y, Yamada K, Nabeshima T, Role of nitric oxide in the effect of aging on spatial memory in rats. ***Behav Brain Res*** 83 (1997) 153-8.

[27] Paxinos G, Watson C, The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed. Academic press, Orlando (1986).

[28] Plech A, Klimkiewicz T, Maksym B, Effect of L-arginine on memory in rats. ***Pol J Pharmacol*** 55 (2003) 987–992.

[29] Prast H, Tran MH, Fischer H, Philippu A, Nitric oxide-induced release of acetylcholine in the nucleus accumbens: role of cyclic GMP, glutamate, and GABA. ***J Neurochem*** 71 (1998) 266-273.

[30] Schafe GE, Memory consolidation of Pavlovian fear conditioning requires nitric oxide signaling in the lateral amygdale. ***Eur J Neuroscience*** 22 (2005) 201-11.

[31] Schuman EM, Meffert MK, Schulman H, Madison DV, An ADP-ribosyltransferase as a potential target for nitric oxide action in hippocampal long-term potentiation. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 91 (1994) 11958-11962.

[32] Son H, Hawkins RD, Martin K, Kiebler M, Huang PL, Fishman MC, Kandel ER, Long-term potentiation is reduced in mice that are doubly mutant in endothelial and neuronal nitric oxide synthase. ***Cell*** 87 (1996) 1015-1023.

[33] Szapiro G, Izquierdo LA, Alonso M, Barros D, Paratcha G, Ardenghi P, Pereira P, Medina JH, Izquierdo I, Participation of hippocampal metabotropic glutamate receptors, protein kinase A and mitogen activated protein kinases in memory retrieval. ***Neuroscience*** 99 (2000) 1-5.

[34] Thatcher GR, Bennett BM, Reynolds JN, Nitric oxide mimetic molecules as therapeutic agents in Alzheimer's disease. ***Curr Alzheimer Res*** 2 (2005) 171-82.

[35] Yamada K, Hiramatsu M, Noda Y, Mamiya T, Murai M, Kameyama T, Komori Y, Nikai T, Sugihara H, Nabeshima T, Role of nitric oxide and cyclic GMP in the dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice. ***Neuroscience*** 74 (1996) 365-374.