Physiology and Pharmacology, 18 (3), 327-336

Autumn 2014 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Effect of intrahippocampal L-NAME injection on passive avoidance memory in adult male rats exposed to restraint stress

Zahra Moayedfard[*1], Hooman Eshagh Harooni[1], Ahmad Ali Moazedi[1], Gholam Ali Parham[2], Somaye Niknejad[1]

1. Dept. of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahwaz, Ahwaz, Iran.
2. Dept. of Statistic, Faculty of Mathematics, Shahid Chamran University of Ahwaz, Iran.

Received: 23 Dec 2013 **Accepted: 24 Jul 2014**

Abstract

Introduction: Nitric oxide is an important messenger in hippocampal region which is affected in learning and memory processes and hippocampal responses to stress. In this study, we investigated the effect of L-NAME on passive avoidance memory in adult male rats exposed to restraint-stress.

Methods: For this purpose, male Wistar rats were bilaterally implanted with cannulas aimed at the CA1 region of the hippocampus. Thirty min after intrahippocampl injections of saline (alone) or L-NAME (20, 40 and 80µg/0.5µl/side) animals were immobilized in restrainer for 2 h/day for 7 days (7 days after surgery), and then were tested for step-through latency and the time-spent in dark chamber in inhibitory avoidance task.

Results: Our findings showed that intrahippocampal injection of L-NAME (80 µg/0.5 µl/side) significantly increased the step-through latency and decreased the time spent in the dark chamber in comparison with the control group.

Conclusion: Since the inhibition of NO synthesis resulted in memory and learning improvements in rats exposed to restraint-stress, NO might be involved in stress related learning and memory deficits.

Key words: Nitric oxide, Passive avoidance, Stress

[*] Corresponding author e-mail: zmoayedfard@yahoo.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۸ (۳)، ۳۲۷ - ۳۳۶
پاییز ۱۳۹۳

فیزیولوژی و فارماکولوژی

اثر تزریق درون هیپوکامپی L-NAME بر حافظه احترازی غیرفعال در موشهای نر بالغ در مواجهه با استرس محدود کننده

زهرا موید فرد[1*]، هومن اسحق هارونی[1]، احمدعلی معاضدی[1]، غلامعلی پرهام[2]، سمیه نیک نژاد[1]
۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز
۲. گروه آمار، دانشکده علوم ریاضی و کامپیوتر، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

دریافت: ۲ دی ۹۲ پذیرش: ۲ مرداد ۹۳

چکیده

مقدمه: نیتریک اکساید یکی از میانجی‌های عصبی در ناحیه هیپوکامپ است که در فرآیندهای یادگیری، حافظه و پاسخ هیپوکامپ به استرس درگیر می‌باشد. به همین منظور در این مطالعه، اثر L-NAME بر حافظه احترازی غیر فعال در موشهای استرس دیده مورد بررسی قرار گرفت.

روش ها: در این مطالعه، ناحیهCA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی (۲۵۰-۲۰۰گرم) به صورت دو طرفه کانول گذاری شد. ۷ روز بعد از جراحی، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق درون هیپوکامپی سالین (گروه کنترل) و L-NAME (۸۰،۴۰،۲۰ میکروگرم) در حجم نیم میکرولیتر در هر طرف، به مدت ۷ روز (هر روز بمدت ۲ ساعت) در معرض استرس محدودکننده قرار گرفتند. روز بعد از پایان دوره استرس در دستگاه احترازی غیر فعال حافظه جاری (بلافاصله بعد از آموزش)، حافظه کوتاه مدت (۹۰ دقیقه بعد از آموزش) و حافظه بلند مدت (۲۴ساعت بعد از آموزش) ارزیابی شد.

یافته ها: نتایج تحقیق نشان داد تزریق دوز ۸۰ میکروگرم در نیم میکرولیتر حلال L-NAME قبل از اعمال استرس باعث کاهش معنی دار زمان سپری شده در اتاق تاریک و افزایش معنی دار تأخیر زمانی ورود به اتاق تاریک می شود. در حالی که اثر معنی داری بر حافظه جاری و حافظه کوتاه مدت ندارد.

نتیجه گیری: از آنجایی که مهار ساخته شدن نیتریک اکساید منجر به بهبود حافظه در موش‌های استرس دیده شده است، پس احتمالاً نیتریک اکساید در نقص‌های یادگیری و حافظه وابسته به استرس دخیل می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: نیتریک اکساید، احترازی غیرفعال، استرس

مقدمه

استرس به عنوان هر وضعیتی که تعادل فیزیولوژیکی و روانشناسی را بر هم می زند، توصیف می شود. شرایط نامطلوب بسیاری از جنبه های زندگی روزانه ما را تحت تاثیر قرار می‌دهد. اگر چه پاسخ به استرس مکانیسمی لازم برای بقا می‌باشد، استرس طولانی مدت می‌تواند چندین پیامد از جمله اختلال در یادگیری و حافظه تا مرگ سلولی پیشرفته را بدنبال داشته باشد [۳۲]. نواحی متعددی در سیستم عصبی مرکزی وجود دارند که در یادگیری و حافظه درگیرند. در میان این نواحی هیپوکامپ نقش اساسی را در تشکیل و ذخیره سازی حافظه‌ی فضایی دارد [۱۸]. ناحیه هیپوکامپ، به ویژه نواحی CA1 و CA3 هدف هورمون‌های استرس قرار گرفته و پاسخ‌های استرس را میانجیگری می‌کنند [۲۷].

در گزارشاتی که وجود دارد استرس موجب جلوگیری از نورون زایی و باعث مرگ نورونی در این ناحیه می شود [۴۰]. گزارشاتی نیز وجود دارد که استرس مزمن در انسان به آتروفی

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

هیپوکامپ منتهی می شود [۲۱]. همچنین پیشنهاد شده است که استرس مزمن موجب اختلال در تقویت طولانی مدت در ناحیهCA1 هیپوکمپ می شود [۴۱]. یافته ها نشان می‌دهند که تحریکات پر از استرس منجر به افزایش رادیکالهای آزاد و در نتیجه صدمات جبران ناپذیری به نواحی مختلف مغزی می شود [۳۱]. رادیکالهای آزاد از جمله آنیونهای هیدروکسیل، سوپراکسید و نیتریک اکساید در فرآیند های پاتولوژیک و فیزیولوژیک نقش مهمی را بازی می‌کنند [۳۰]. در تحقیقات اخیر آمده است که استرس اکسیداتیو عامل مهمی در پاتوژنز چندین بیماری از قبیل سکته‌های مغزی، تشنج و بیماریهای مزمن تخریب کننده اعصاب از قبیل پارکینسون و آلزایمر است [۳۸]. افزایش استرس اکسیداتیو نقش مهمی در نقصهای شناختی ایجاد شده بوسیله بیماریهای تخریب کننده اعصاب دارد. بطوریکه تزریق عوامل آنتی اکسیدانی این چنین نقص‌هایی را بهبود می‌بخشند [۳۷]. در حالیکه نقش مضر رادیکالهای آزاد به هنگام ایجاد استرس اکسیداتیو بر روی حافظه و یادگیری مشخص شده است، در مورد نقش نیتریک اکساید به شکل دیگری است. نیتریک اکساید ضمن اینکه می‌تواند در اعمال شناختی از جمله حافظه و یادگیری نقش مهمی ایفا کند، از طرف دیگر گزارش شده افزایش نیتریک اکساید در اثر استرس می‌تواند باعث نقص حافظه و یادگیری گردد [۲]. نیتریک اکساید از ماده اولیه ال-آرژنین توسط خانواده ای از آنزیم‌های سازنده نیتریک اکساید ساخته می شود [۸]. سه ایزوفرم از این خانواده شناخته شده است: اندوتلیالی (eNOS)، نورونی (nNOS)، القایی (iNOS) [۹].

iNOS در سلول‌های میکروگلیا و آستروسیت ها یافت می شود و eNOS در نورون ها و سلول‌های اندوتلیال بیان می‌گردد [۳۲]. nNOS در نواحی مختلف مغزی شامل استریاتوم، بصل النخاع، نئوکورتکس و هیپوکامپ بیان می شود [۶]. مطالعات اخیر وجود آنزیم NOS را در مناطق درگیر در یادگیری مانند هیپوکامپ نشان داده است. نیتریک اکساید در بسیاری از فرآیند های فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی مغزی مانند پاسخ هیپوکامپ به استرس درگیر است [۳۲].

از طرف دیگر شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد نیتریک اکساید بر اعمال شناختی اثر دارد و مطرح کننده‌ی ارتباط و درگیری سیستم نیتریک اکساید در تقویت طولانی مدت هیپوکامپی، تغییر شکل سیناپسی و متعاقب آن یادگیری و حافظه است [۱۱].

در آزمایشی که با استفاده از ماز شعاعی هشت بازویی انجام شد، مشاهده کردند استفاده از مهارگر NOS قادر به مهار LTP[1] هیپوکامپ است و یادگیری فضایی را کم می‌کند [۴]. در تحقیقی دیگر تجویز محیطی و مرکزی ال-آرژنین باعث بهبود حافظه و یادگیری در آزمایش اجتنابی غیرفعال شده است [۳۵].

همچنین گزارش شده است که تجویز مواد تحریک‌کننده تولید نیتریک اکساید از قبیل YC-1 (۳،۵ هیدروکسی متیل ۲ فوریل ۱ بنزیل ایندازول) سبب بهبود حافظه و یادگیری در ماز آبی موریس، یادگیری احترازی فعال و غیر فعال در جوندگان می شود [۷]. همچنین شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد 7-NI (Nitroindazole) مهارکننده انتخابی آنزیم nNOS نیز منجر به تخریب یادگیری فضایی و روند تشکیل حافظه می‌شود [۱۵]. در گزارشی آمده که فعال شدن مسیر پیامبری داخل سلولی نیتریک اکساید در سلولهای پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکامپ در تقویت یادگیری و حافظه فضایی در حیوانات وابسته به مرفین اثر دارد [۳۵].

با توجه به مطالعات قبلی که بیان داشته اند تولید NO در شرایط استرس افزایش می‌یابد و ممکن است این افزایش با نقص فرآیند های شناختی مانند حافظه مرتبط باشد، در این تحقیق بر آن شدیم تا با استفاده از مهارکننده تولید نیتریک اکساید قبل از اعمال استرس، تأثیر آن را در حافظه احترازی غیرفعال در موش‌هایی که در معرض استرس محدود کننده مزمن قرار گرفته‌اند مورد مطالعه قرار دهیم.

مواد و روش ها

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر بالغ (۳ ماهه) به وزن ۲۲۰ گرم نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات به طور تصادفی به گروه های مختلف تقسیم شدند. تعداد موش‌ها در هر گروه ۷ عدد می‌باشد که تعداد ۳ یا ۴ سر موش در هر قفس و در شرایط استاندارد از نظر دما و رطوبت و سیکل

1. Long Term Potentiation

تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته (روشنایی از ساعت ۷صبح) نگهداری شدند. غذا و آب به مقدار نیاز و آزادانه در اختیار حیوانات قرار داشت. گروه های مورد مطالعه شامل گروه کنترل (سالین بدون استرس)، گروه شاهد (سالین +استرس)، گروه های دریافت کننده L-NAME[1] ۲۰، ۴۰ و۸۰ میکروگرم در نیم میکرولیتر بودند. از استرئوتاکس برای جراحی کانول گذاری دو طرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ استفاده شد. ابتدا با استفاده از اطلس پاکسینوس، (Pakinson and Watson) مختصات مورد نظر برای دستیابی به محل CA1 (قدامی-خلفی: ۳/۸- از برگما: میانی-طرفی: ۲/۲± از خط میانی جمجمه; پشتی-شکمی: ۲/۷-از سطح جمجمه) استخراج گردید [۳۴]. حیوان‌ها حداقل یک هفته به عنوان دوره نقاهت بعد از عمل جراحی کانول گذاری نگهداری شده و بعد از آن مورد آزمایش‌های رفتاری قرار گرفتند.

داروی L-NAME در غلظت‌های ۲۰،۴۰ و۸۰ میکروگرم در نیم میکرولیتر حلال (سالین) تهیه و نیم ساعت قبل از شروع استرس در ناحیه CA1 هیپوکامپ تزریق شد [۱۲]. این تزریق فقط در روز اول انجام می‌شد. تزریق دارو به وسیله سرنگ ده میکرولیتری هامیلتون، رابط پلی اتیلنی و سرسوزن دندانپزشکی صورت گرفت. حجم هر تزریق نیم میکرولیتر و زمان هر تزریق ۱دقیقه بود. پس از اتمام تزریق، سوزن تزریق به مدت یک دقیقه در محل باقی نگه داشته می‌شد تا دارو از نوک آن منتشر شده و از برگشت آن به کانول هنگام عقب کشیدن سوزن جلوگیری گردد. بعد از تزریق دارو، بلافاصله سرنگ از لحاظ گرفتگی امتحان می‌شد تا مشخص شود تزریق دارو به درستی صورت گرفته است یا خیر.

۳۰ دقیقه بعد از تزریق دارو موش‌ها ۷روز و هر روز به مدت ۲ساعت درون جعبه های محدودکننده در معرض استرس محدودکننده قرار می‌گرفتند [۲۶]. در روز هشتم موش‌ها در دستگاه شاتل باکس آموزش داده شدند و در روز نهم حافظه طولانی مدت آنها سنجیده شد. ضمناً حافظه جاری آنها بلافاصله بعد از آموزش و حافظه کوتاه مدت ۹۰ دقیقه بعد از آموزش مورد مطالعه قرار گرفت. نیم ساعت قبل از شروع آموزش مرحله آشنایی موش‌ها با دستگاه انجام شد. به طوریکه هر موش به طور جداگانه در دستگاه قرار می‌گرفت و به مدت یک دقیقه در اتاق روشن و تاریک آزادانه گردش می‌کرد. نیم ساعت بعد از مرحله آشنایی همه موش‌ها مرحله آموزش آغاز می‌شد. در این مرحله ابتدا به مدت ده ثانیه موش در اتاق روشن قرار می‌گرفت و سپس در گیوتینی باز می‌شد. با توجه به تمایل ذاتی موش‌های صحرایی به ورود به اتاق تاریک، با وارد شدن آنها به این بخش در گیوتینی بلافاصله بسته شده و شوک (شدت جریان یک میلی آمپر و به مدت زمان ۵ ثانیه) دریافت می‌کردند. پس از اعمال شوک در گیوتینی باز می‌شد و موش اجازه خارج شدن از اتاق تاریک را پیدا می‌کرد پس از خارج شدن از اتاق تاریک، به حیوان اجازه می‌دادیم که ۱۲۰ ثانیه در اتاقک روشن بماند. در این مدت تأخیر زمانی ورود به اتاق تاریک به عنوان معیاری برای ارزیابی حافظه جاری استفاده گردید. در صورتی که موش در این زمان وارد اتاق تاریک می‌شد، مجدداً شوک (با در باز) دریافت می‌کرد و هنگامیکه موش ۱۲۰ ثانیه متوالی وارد اتاق تاریک نمی‌شد، آموزش پایان یافته و به قفس بازگردانده 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 به یادآوری در اتاقک روشن قرار گرفته و تأخیر زمان ورود به اتاق تاریک[2] و مدت زمان حضور در اتاق تاریک[3] تا سقف ۳۰۰ ثانیه اندازه گیری و به عنوان معیاری از حافظه استفاده شد [۱۱].

بعد از پایان آزمایش‌های رفتاری، موش‌ها توسط اتر کشته شده و مغز آنها خارج و در فرمالین ده درصد نگهداری گردید. به منظور تعیین محل کانول گذاری و محل تزریق برش‌هایی از همان محل تهیه کرده و در زیر لوپ مورد بررسی قرار گرفت. داده های حیواناتی که محل کانول گذاری و محل تزریق منطبق با محل مورد نظر نبود، حذف می‌شدند.

یافته ها

در ابتدا حافظه جاری بلافاصله بعد از آموزش ارزیابی شد.

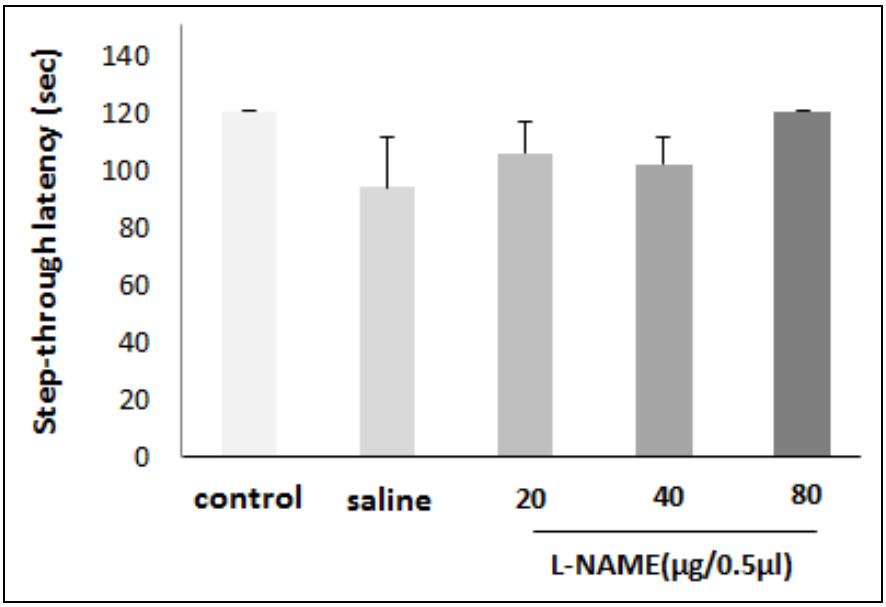
1. L-NG-Nitro arginine methyl ester

2. Step-through latency
3. Time spent in dark chamber

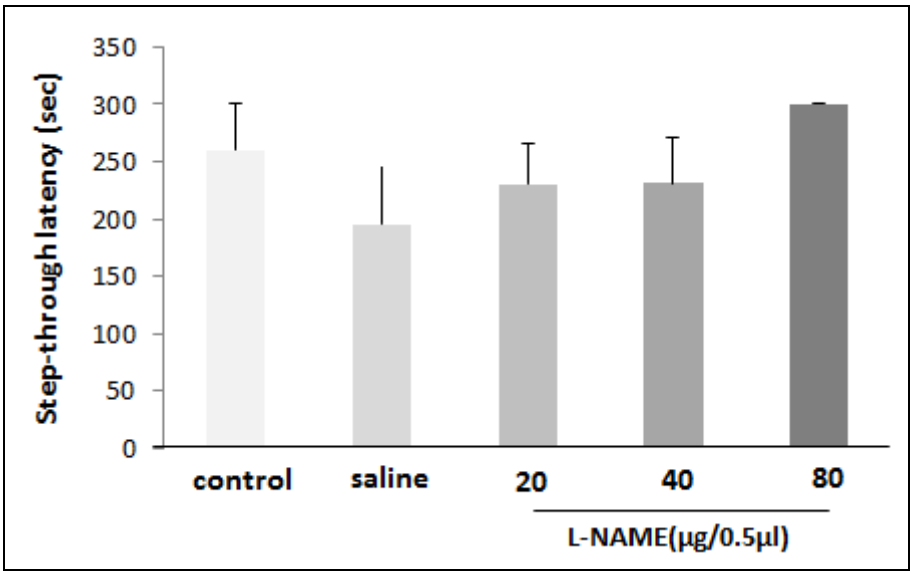
تحلیل داده های آماری نشان داد که اختلاف معنی داری بین گروه های دریافت کننده دارو، کنترل و گروه شاهد (سالین) وجود ندارد (شکل ۱).

سپس حافظه کوتاه مدت ۹۰ دقیقه بعد از آموزش ارزیابی شد. تحلیل داده های آماری اختلاف معنی داری را بین گروه های دریافت کننده دارو، کنترل و گروه شاهد (سالین) نشان نداد (شکل ۲).

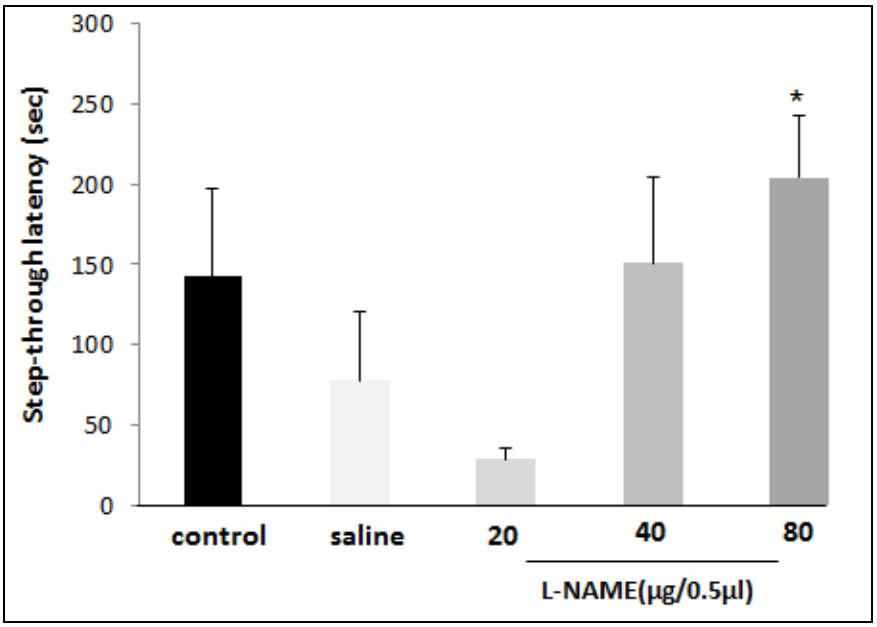
در مرحله بعد حافظه بلند مدت ۲۴ساعت بعد از آموزش مورد ارزیابی قرار گرفت. تحلیل آماری افزایش معنی داری (P<۰/۰۵) در تأخیر زمانی ورود به اتاق تاریک (شکل ۳) و کاهش معنی داری مدت زمان حضور در اتاق تاریک (شکل ۴) در گروه دریافت کننده L-NAME80 نسبت به گروه شاهد



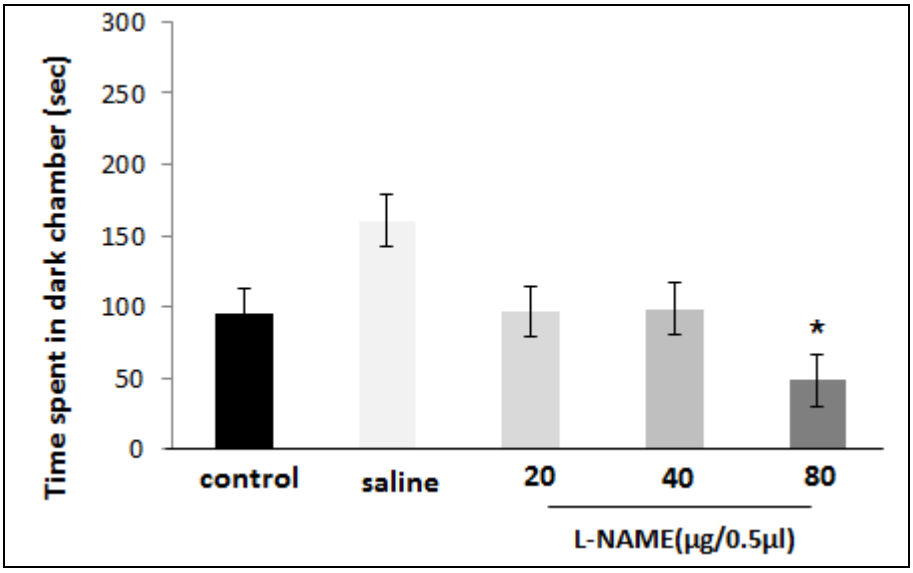
شکل ۱- اثر تزریق L-NAME ۳۰ دقیقه قبل از استرس بر روی حافظه جاری در موش‌های استرس دیده. ستون‌ها نشان دهنده میانگین تأخیر زمانی ورود به اتاق تاریک ± میانگین خطای استاندارد می‌باشد. تست بیادآوری بلافاصله بعد از آموزش انجام شده است. اختلاف معنی داری بین گروه های دریافت کننده دارو، کنترل با گروه شاهد (سالین) وجود ندارد.



شکل ۲- اثر تزریق L-NAME ۳۰ دقیقه قبل از استرس بر روی حافظه کوتاه مدت در موش های استرس دیده. ستون‌ها نشان دهنده میانگین تأخیر زمانی ورود به اتاق تاریک ± میانگین خطای استاندارد می‌باشد. تست بیادآوری ۹۰ دقیقه بعد از آموزش انجام شده است. اختلاف معنی داری بین گروه های دریافت کننده دارو با گروه شاهد (سالین) وجود ندارد.



شکل۳- اثر تزریق L-NAME ۳۰ دقیقه قبل از استرس بر روی حافظه بلند مدت در موش های استرس دیده. ستون ها نشان دهنده میانگین تأخیر زمانی ورود به اتاق تاریک±میانگین خطای استاندارد می باشد. تست بیادآوری ۲۴ساعت بعد از آموزش انجام شده است. *P<۰/۰۵ نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه شاهد است.



شکل٤- اثر تزریق L-NAME ۳۰ دقیقه قبل از استرس بر روی حافظه بلند مدت در موش های استرس دیده. ستون ها نشان دهنده میانگین زمان سپری شده در اتاق تاریک ± میانگین خطای استاندارد می باشد. تست بیادآوری ۲۴ساعت بعد از آموزش انجام شده است. *P<۰/۰۵ نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه شاهد است.

(سالین) نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد که مهار سنتز نیتریک اکساید قبل از شروع استرس باعث بهبود حافظه در موش‌های استرس دیده گردیده است.

بحث

یافته ها در این مطالعه نشان دادند که استرس محدود کننده مزمن اثر معناداری بر یادگیری و حافظه جاری، کوتاه مدت و درازمدت نداشته است. اما تا حدودی آن را کاهش داده است. همچنین نتایج حاکی از بهبود حافظه بلند مدت در اثر مهار تولید نیتریک اکساید در ناحیه CA1 هیپوکامپ است. این در حالی است که مهار ساخته شدن نیتریک اکساید اثر معنی داری بر حافظه جاری و حافظه کوتاه مدت نداشته است.

تولید NO در شرایط فیزیولوژیک یکی از میانجیگرهایی

است که برای یادگیری نرمال لازم است. تا به امروز مطالعات رفتاری و نوروشیمیایی بسیاری جهت روشن شدن اثر NO در دستگاههای یادگیری مختلف انجام گردیده و یک همگرایی کلی درباره دخالت مؤثر NO در زمان یادگیری وجود دارد [۲۴]. هولسچر (۱۹۹۲) برای اولین بار، لزوم سنتز نیتریک اکساید در یک فاز اولیه جهت شکل گیری حافظه برای پاسخ آزمون احترازی را بیان کرد، که فراموشی ایجاد شده با مهار سنتز NO بوسیله همراهی با ال-آرژنین برگشت می‌کند [۱۷] و در سال بعد دریافت تزریق درون هیپوکامپی L-NAME یادگیری احترازی غیر فعال را در جوجه مختل می‌کند [۱۶].

همچنین مشاهده شده تزریق داخل مغزی سدیم نیترو پروساید (دهنده NO) بعد از یک هفته آموزش، شکل گیری حافظه‌ی بلند مدت را در جوجه های یک روزه تسهیل می‌کند [۳].

اهنو (۱۹۹۳) نشان داد تزریق درون هیپوکامپی L-NAME تعداد اشتباهات را در حافظه‌ی جاری افزایش داده در صورتی که ال-آرژنین این تعداد خطاها را به حداقل رسانده است، از این رو، اهنو پیشنهاد داد فرآیندهایی که بوسیله سنتز NO در هیپوکامپ میانجیگری می‌شوند، در حافظه‌ی جاری مؤثرند، اما در حافظه‌ی مرجع اثری ندارند [۳۰].

فین (۱۹۹۵) دریافت تزریق درون هیپوکامپی NO-Arg به صورت دوطرفه قبل از آموزش، اکتساب را در دستگاه احترازی غیرفعال مختل می‌کند. همچنین آن‌ها NO-Arg بلافاصله بعد از آموزش به درون هیپوکامپ تزریق کردند که هیچ اختلال قابل توجهی را در یادگیری احترازی غیر فعال مشاهده نکردند [۱۲].

اینگرم (۱۹۹۶) مشاهده کرد، تزریق درون صفاقی NO-Arg ۳۰ دقیقه قبل از آموزش در ماز T ۱۴ واحدی، یادگیری را مختل می‌کند در حالی که درمان با دهنده NO، سدیم نیترو پروساید منجر به بهبود این تخریب می شود [۱۹].

در گزارشی آمده است، تزریق درون بطنی ال-آرژنین قبل از آموزش یادگیری احترازی غیر فعال را به صورت وابسته به مقدار افزایش می‌دهد [۳۶]. پورمعتمد (۲۰۰۸) نشان داد مهار آنزیم NOS در ناحیه CA1 هیپوکامپ، یادگیری و حافظه‌ی فضایی را در موش‌های صحرایی نر وابسته به مورفین، در مدل آبی موریس سرکوب می‌کند [۳۵]. مجموع این مطالعات نشان می‌دهد که NO در زمان یادگیری نقش مثبتی دارد و مهار سنتز آن منجر به نقص در یادگیری و حافظه می شود.

در حالیکه NO به صورت نرمال به عنوان پیامبر عصبی فیزیولوژیکی عمل می‌کند. تولید اضافی NO آسیب مغزی را به دنبال دارد، نیتریک اکساید به عنوان یک رادیکال آزاد به شدت واکنش پذیر است و حالت سمی را به وسیله آسیب زدن به آنزیم‌های متابولیکی مهم سبب می شود و همچنین از طریق تولید Peroxynitrate موجب اختلال در عملکرد NGF[1] می شود، هرگونه اختلال در مسیر عملکردی NGF، با با بیماریهای شناختی و آسیب غشاهای نورونی همراه است [۲]. از طرفی پیشنهاد شده است که NO تولید شده توسط nNOS در دژنره شدن نورونها نقش کلیدی داشته است [۲۳]. استرس تولید نیتریک اکساید را در نواحی مختلف مغزی تغییر می‌دهد. در مطالعه ای (۲۰۰۹) آمده است که استرس مزمن باعث افزایش بیان آنزیم‌های nNOS و iNOS در نئوکورتکس و هیپوکامپ و به دنبال آن اختلال عصبی در حیوانات می شود [۲۰]. سیستم NO در بعضی اثرات استرس بر رفتار نقش واسطه ای دارد. در تایید این گفته گزارشی آمده است که CMS[2] منجر به تغییر میزان نیتریک اکساید در موش‌های BALB/c شده است که به دنبال آن پاسخ‌های رفتاری متفاوت در حیوان مشاهده شده است [۳۴]. همچنین گزارش کرده‌اند که فعال شدن گیرنده های گلوتامات منجر به فعال شدن NOS و تولید NO و فعال شدن پروتئینهای هدف می‌گردد که هم LTP و هم روندهای یادگیری و حافظه را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۱۴]. از طرفی نیز مشخص شده، L-NAME اثرات سودمند Pioglitazone در اکتساب حافظه فضایی موش‌های آلزایمری را بر می‌گرداند. [۱]. همچنین گزارش شده است که نیتریک اکساید می‌تواند در روند پیر شدن طبیعی و روندهای تحلیل عصبی دخالت داشته باشد. به همین دلیل بسیاری از محققین از وجود ارتباط میان سطح تولید NO در مغز و برخی اختلالات شناختی مثل بیماری آلزایمر خبر می‌دهند [۱۳]. در تأیید این تحقیقات گزارشات دیگری وجود دارد به طوریکه در سال (۱۹۹۶) بیان شده است

1. Nerve Growth Factor
2. Chronic Mild Stress

که تولید بالای NO در بیماران ۴۷ تا ۸۷ ساله در پاتوژنز بیماری آلزایمر شرکت می‌کند [۳۹]. همچنین در مطالعه ای دیگر آمده است که بیان همزمان NOS و p12ras در نورون های هرمی مسئول دژنره شدن رشته های عصبی در بیماری آلزایمر است [۲۲]. برادلی نیز دریافت که نورون های تولید کننده NO در بیماران آلزایمری بر نواحی مختلف مغزی به ویژه تشکیلات هیپوکامپ اثر می‌گذارند [۵].

میراندا (۲۰۰۰) پیشنهاد کرد که NO به طور مستقیم به عنوان آنتی اکسیدان عمل می‌کند. بنابراین در سلول‌های پستانداران از آسیب سلولی ایجاد شده به وسیله‌ی رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. با این حال، اثر محافظتی NO در محدوده‌ی مقادیر کم آن میانجیگری می شود [۲۵].

بنابراین در مطالعه حاضر احتمالاً استرس محدود کننده منجر به افزایش NO در هیپوکامپ شده است. در این راستا الیونزا و همکارانش نشان دادند که اثرات تخریبی استرس محدود کننده مزمن، از طریق افزایش میزان NO در قشر مغز میانجیگری می شود و همچنین یافته ها حمایت کننده نقش مهارکننده های آنزیم NOS در حفاظت عصبی در موقعیت‌های استرس زا می‌باشند [۲۹]. همچنین در گزارش دیگری آمده است که میزان بالایNO در بیماری هانتینگتون، مسئول تخریب عصبی در این بیماری است، پس می‌توان این احتمال را داد که نیتریک اکساید نقش مهمی در نقص‌های شناختی مربوط به استرس داشته باشد [۲]. در همین راستا مطالعات نشان می‌دهد که تولید بالای نیتریک اکساید در هیپوکامپ حیوانات در معرض استرس مزمن منجر به توقف نورون زایی می شود، در حالیکه در موش‌های فاقد ژن nNOS و تحت درمان با مهارکننده تولید نیتریک اکساید این اثر بر می‌گردد [۴۲]. در حمایت از این یافته ها پیشنهاد کرده‌اند که استرس محدود کننده تکراری باعث افزایش بیان نورون های nNOS در نواحی CA1,CA3 و EC[1] می شود و این نتایج نشاندهنده این است که هیپوکامپ پشتی در تعدیل اثرات استرس شرکت می‌کند [۱۰].

از آنجاییکه تولید نیتریک اکساید در زمان یادگیری به یادآوری حافظه ضروری می‌باشد، مهار تولید آن می‌تواند باعث نقص در این روندها گردد [۱۱]. اما با توجه به اینکه مهار تولید NO در زمان قبل از اعمال استرس و با فاصله زمانی نسبت به مرحله یادگیری به یادآوری حافظه بوده است، احتمالاً با اثر بر مدارهای مرتبط با یادگیری و حافظه تداخل ایجاد ننموده و با اثر بر نواحی که اثرات استرس را میانجیگری می‌کنند توانسته است این اثرات را تعدیل نموده و در نهایت باعث افزایش حافظه گردد. بدین ترتیب مشخص می‌گردد که نقش NO در حافظه می‌تواند با توجه به شرایط استرس یا بدون استرس متفاوت باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان مراتب تقدیر را از بخش زیست شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز که امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند، ابراز می‌دارند.

1. Entorhinal Cortex

References

[1] Allami N, Javadi-Paydar M, Rayatnia F, Sehhat K, Rahimian R, Norouzi A, Dehpour AR, Suppression of nitric oxide synthesis by L-NAME reverse the beneficial effects of pioglitazone-induced memory impairment in mice. ***Eur J Pharmacol*** 650 (2011) 240-248.

[2] Bashkatova V, Alam M, Vanin A, Schmidt WJ, Chronic administration of rotenone increases levels of nitric oxide and lipid peroxidation products in rat brain. ***Exp Neurol*** 186 (2004) 235-241.

[3] Bimonte-Nelson HA, Singleton RS, Nelson ME, Eckman CB, Barber J, Scott TY, Granholm AC, Testosterone but not nonaromatizable dihydrotestosterone, improves working memory and alters nerve growth factor levels in aged male rats. ***Exp Neurol*** 181 (2003) 301-312.

[4] 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 Synthaseinhibitor-treated rats. ***Proc Natl Acad Science USA*** 90 (1993) 9191-9194.

[5] Bradley T, Marzloff K, Wenniger JJ, Dawson JT, Bredt DS, Snyder SH, Hyman BT, Marzloff K, Wenniger JJ, Dawson TM, Bredt DS, Snyder, SH Relative sparing of nitric oxide synthase–containing neurons in the hippocampal formation in Alzheimer's disease. ***Ann Neurol*** 32 (1992) 818-820.

[6] Cha CI, Uhm MR, Shin DH, Chung YH, Baik SH, Immunocytochemical study on the distribution of NOS-immunoreactive neurons in the cerebral cortex of aged rats. ***Neuroreport*** 9 (1998) 2171-2174.

[7] 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.

[8] Cummings JA, Nicola SM, Malenka RC, Induction in the rat hippocampus of long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) in the presence of a nitric oxide synthase inhibitor. ***Neurosci Lett*** 176 (1994) 110-114.

[9] Dawson TM, Snyder SH, Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. ***J Neurosci*** 14 (1994) 5147-5159.

[10] Echeverry MB, Guimaraes FS, Del Bel EA, Acute and delayed restraint stress-induced changes in nitric oxide producing neurons in limbic regions. ***Neuroscience*** 125 (2004) 981-993.

[11] Eshagh-harooni H, Naghdi N,Rohani AH, Sepehri H,The role of hippocampal nitric oxide in passive avoidance learning***. Physiol Pharmacol*** 13 (2009) 1–9.

[12] Fin C, Cunha C, Brombery E, Schmitz PK, Baanchin M, Medina JH, Izquierdo I, Experiments suggesting a role for nitric oxide in the hippocampus in memory processes. ***Neurobiol learn Mem*** 63 (1995) 113-115.

[13] Galea LAM, McEwen BS, Tanapat P, Deak T, Spencer RL, Dhabhar FS, Sex differences in dendritic atrophy of CA3 pyramidal neurons in response to chronic restraint stress. ***Neuroscience*** 81 (1997) 689-697.

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

[15] Holscher C, Rose SP, Inhibiting synthesis of the putative retrograde messenger nitric oxide results in amnesia in a passive avoidance task in the chick. ***Brain Res*** 619 (1993) 189-194.

[16] Holscher C, McGlinchey, Anwyl R, 7-Nitro Indazole, a selective neuronal synthase inhibitor in vivo, impairs spatial learning in the rat. ***Learn Mem*** 2 (1996) 267-278.

[17] Holscher C, Rose SPR, An inhibitor of nitric oxide synthesis prevents memory formation in the chick. ***Neurosci Lett*** 145 (1992) 165-167.

[18] Hoseinzadeh M, Pouraboli I, Abbasnejad M, Pouraboli B, Effect of co-administeration of nitric oxide and morphine into CA3 region of hippocampus on learning and spatial memory in morphine dependent male rats. ***Physiol Pharmacol*** 11 (2008) 293–299.

[19] Ingram DK, Shimada A, Spangler EL, Ikari H, Hengemihle J, Kuo H, Greig N, Cognitive enhancement: New strategies for stimulating cholinergic, glutamatergic, and nitric oxide systems. ***Ann NY Acad Sci*** 786 (1996) 348–361.

[20] Khovriakov AV, Podrezova EP, Krugliakov PP, Shikhanov NP, Balykova MN, Semibratova NV, Sosunov AA, McKhann II G, Aĭrapetiants MG, Participation of NO-synthase system in the stress-mediated reactions of the brain. ***Morfologiia*** 135 (2009) 7-11.

[21] Leza JC, Salas E, Sawicki G, Russel JC, The effect of

stress on homeostasis in JCR-LA-CP rats:The role of nitric oxide. ***J Pharmacol Exp Ther***286 (1998) 1397-1403.

[22] Luth HJ, Holzer M, Gertz HJ, Arendt TH, Aberrant expression of nNOS in pyramidal neurons in Alzheimer's disease is highly co-localized with $p21^{ras}$ and $p16^{INK4a}$. ***Brain Res*** 852 (2000) 45–55.

[23] Matsumoto K, Yobimoto K, Huong NT, Abdel-Fattah M, Vanhien T, Watanabe H, Psychological stress-induced enhancement of brain lipid peroxidation via nitric oxide system and its modulation by anoxiolytic and anoxiogenic drugs in mice. ***Brain Res*** 839 (1991) 74-84.

[24] Medina JH, Izquierdo I, Retrograde messengers, long-term potentiation and memory. ***Brain Res Brain Res Rev*** 21 (1995) 185-194.

[25] Miranda KM, Espey MG, Wink DA, A discussion of the chemistry of oxidative and nitrosative stress in cytotoxicity. ***J Inorg Biochem*** 79 (2000) 237–240.

[26] Moosavi M, Naghdi N, Maghsoudi N, Zahedi ASl S, Insulin protects against stress-induced impairements in water maze performance. ***Behav Brain Res*** 176 (2007) 230-236.

[27] Ninkovic MB, Malicevic ZM, Jelenkovic A, Dukić MM, Jovanović MD, Stevanović ID, Nitric oxide synthase inhibitors partially inhibit oxidative stress development in the rat brain during sepsis provoked by cecal ligation and puncture. ***Gen Physio Biophys*** 28 (2009) 243-250.

[28] Ohno M, Yamamoto T, Watanabe S, Deicits in working memory following inhibition of hippocampal nitric oxide synthesis in rat. ***Brain Res*** 632 (1993) 36-40.

[29] Olivenza R, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, Fernandez AP, Rodrigo J, Boscá L, Leza JC, Chronic stress induces the expression of inducible nitric oxide synthase in rat brain cortex. ***J Neurochem*** 74 (2000) 785-791.

[30] Pal R, Gulati k, Chakraborti A, Banerjee B, Ray A, Role of free radicals in stress-induced neurobehavioral changes in rats. ***Indian J Exp Biol*** 44 (2006) 816-820.

[31] Palizvan MR, Khademi Sh, Ghazavini A, Mosayebi Gh, Correlation of two way active avoidance learning with Nitric Oxide and Ferric reduction/antioxidant power in rats. ***J Arak Uni Med Sci*** 4 (2008) 1-8.

[32] Palumbo ML, Sebastian FN, Rios H, Zorrilla Zubilete MA, Guelman LR, Cremaschi GA, Genaro AM, Loss of hippocampal neuronal nitric oxide synthase contributes to the stress-related deficit in learning and memory. ***J Neurochem*** 102 (2007) 261-274.

[33] Palumbo ML, Zorrilla Zubilete MA, Cremaschi GA, Genaro AM, Different effect of chronic stress on learning and memory in BALB/c and C57BL/6 inbred mice: Involvement of hippocampal NO production and PKC activity. ***Stress*** 12 (2009) 350-361.

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

[35] Pourmotabbed A, Yaghmaei P, Imani P, Nedaei SA, Touhidi A,Assessment of the effect of nitric oxide within hippocampal CA1 area on spatial learning and memory in morphine dependent rats. ***Physiol Pharmacol*** 11 (2008) 252–260.

[36] Schafe GE, Memory consolidation of Pavlovian fear conditioning requires nitric oxide signaling in the lateral amygdale. ***Eur J Neurosci*** 22 (2005) 201-211.

[37] Silva RH, Abilio VC, Takatsu AL, Kameda SR, Grassl C, Chehin AB, Medrano WA, Calzavara MB, Registro S, Andersen ML, Machado RB, Carvalho RC, Ribeiro Rde A, Tufik S, Frussa-Filho R, Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice. ***Neuropharmacology*** 46 (2004) 895-903.

[38] Simonian NA, Coyle JT, Oxidative stress in neurodegenerative diseases. ***Annu Rev Pharmacol Toxicol*** 36 (1996) 83-106.

[39] Vodovotz Y, Lucia MS, Flanders KC, Chesler L, Xie QW, Smith TW, Weidner J, Mumford R, Webber R, Nathan C, Roberts AB, Lippa CF, Sporn MB, Inducible nitric oxide synthase in tangle-bearing neurons of patients with Alzheimer's disease. ***JEM*** 184 (1996) 1425-1433.

[40] Wolf OT, Stress and memory in humans: Twelve years of progress. ***Brain Res*** 1293 (2009) 142-154.

[41] Zheng H, Yang Q, Xu CT, Effect of chronic stress and Phenytoin on the Long-Term Potentiation in rat hippocampal region. ***Acta Biochim Biophys Sin*** 36 (2004) 375-378.

[42] Zhou QG, Hu Y, Hua Y, Hu M, Luo CX, Han X, Zhu XJ, Wang B, Xu JS, Zhu DY, Neuronal nitric oxide synthase contributes to chronic stress-induced depression by suppressing hippocampal neurogenesis. ***J Neurochem*** 103 (2007) 1843-1854.