

The effect of bilateral intrahippocampal injection of all-trans retinoic acid on spatial learning in adult male rats.

Mahmoud Aminizadeh¹, Mehdi Abbasnejad^{2*}, Ahmad Ali Moazedi¹, Ahmad Ali Papahn³

1. Dept. Biology, Shaheed Chamran University, Ahvaz, Iran

2. Dept. Biology, Shaheed Bahonar University, Kerman, Iran

3. School of Veterinary, Shaheed Chamran University, Ahvaz, Iran

Received: 22 Jan 2006

Revised: 3 March 2007

Accepted: 21 Apr 2007

Abstract

Introduction: Previous studies have shown that vitamin A and its derivatives such as retinoid and all-trans retinoic acid have a crucial role in memory, learning and synaptic plasticity. The receptors of vitamin A are seen in different parts of the brain such as hippocampus, where vitamin A has an important role in learning. In this study, the effect of intrahippocampal (CA1) injection of all – trans retinoic acid on spatial learning was investigated in adult male rats.

Methods: 49 adult male rats divided in 7 groups were used. Test groups (1 – 4) received 1µl of all – trans retinoic acid dissolved in DMSO at concentrations of 1, 2, 4 and 8 µg/µl, for 4 consecutive days, 90 minutes before training. Group 5 received DMSO and 6th and 7th groups were designated as sham operation and control (intact) group, respectively. After each injection, Morris Water Maze (MWM) was used as a method to measure learning task.

Results: This study showed that all – trans retinoic acid at the concentration of 1 µg/µl improved spatial learning in Morris Water Maze ($p < 0.05$).

Conclusion: Our findings show that all – trans retinoic acid improves spatial learning in rats via enhancing the expression of learning related proteins.

Key Words: All – tran's retinoic acid; Spatial learning; Morris Water Maze; Hippocampus

* Corresponding Author Email: mabbas@mail.uk.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

اثر تزریق دو طرفه داخل هیپوکامپی آل - ترانس رتینوئیک اسید بر یادگیری فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ

محمود امینی زاده^۱، مهدی عباس نژاد^{۲*}، احمد علی معاضدی^۱، احمد علی پاپهن^۳

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

۳. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

دریافت: بهمن ۸۴ بازبینی: اسفند ۸۵ پذیرش: اردیبهشت ۸۶

چکیده

مقدمه: مطالعات نشان داده است که ویتامین A و مشتقات آن از جمله آل - ترانس رتینوئیک اسید (RA) در انعطاف پذیری سیناپسی و روند حافظه و یادگیری تأثیر دارند و گیرنده‌های این ترکیب در نواحی زیادی از مغز از جمله هیپوکامپ که نقش بسزایی در یادگیری دارد پراکنده هستند. در این تحقیق اثر تزریق دو طرفه داخل هیپوکامپی (CA1)، آل - ترانس رتینوئیک اسید بر یادگیری فضایی موش‌های صحرایی بررسی و مطالعه شد.

روش‌ها: در این پژوهش ۴۹ سر حیوان در ۷ گروه به شرح زیر مورد استفاده قرار گرفتند. گروه اول تا چهارم RA در مقادیر ۱، ۲، ۴ و ۸ میکروگرم در یک میکرولیتر DMSO (حلال رتینوئیک اسید) با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه به مدت ۴ روز و هر روز به مدت ۹۰ دقیقه قبل از آموزش به صورت دو طرفه در ناحیه (CA1) هیپوکامپ تزریق می‌شد. گروه پنجم به عنوان شاهد آل - ترانس رتینوئیک اسید، مشابه گروه‌های آزمایش، با همان حجم، (DMSO) دریافت می‌کردند. گروه ششم و هفتم به عنوان گروه شاهد جراحی و گروه کنترل (دست نخورده) در نظر گرفته شدند. در همه موارد تزریقات به مدت ۴ روز صورت گرفت و ۹۰ دقیقه بعد از تزریق، یادگیری فضایی حیوانات توسط ماز آبی موریس مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که آل - ترانس رتینوئیک اسید در مقدار (۱ $\mu\text{g} / \mu\text{l}$)، یادگیری فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ را به طور معنی داری (۰/۰۵ < P) در ماز آبی موریس بهبود می‌بخشد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های فوق موید نقش گیرنده‌های RA موجود در CA1 مبنی بر دخالت در یادگیری فضایی می‌باشد. احتمالاً RA تزریقی از طریق افزایش بیان پروتئین‌های دخیل در یادگیری، یادگیری فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ را بهبود می‌بخشد.

واژه‌های کلیدی: آل - ترانس رتینوئیک اسید، یادگیری فضایی، ماز آبی موریس، هیپوکامپ

مقدمه

خوبی شناخته نشده است اما مشخص شده که رتینوئیدها در تنظیم فعالیت‌های مغز بالغ اثر دارند [۱۹]. رتینوئیدها نقش مهمی در عملکرد مغز بالغ در بخش‌هایی نظیر آمیگدال، هیپوتالاموس، هیپوکامپ و جسم مخطط ایفا می‌کنند [۱۶]. همچنین تحقیقات انجام شده با استفاده از آگونیست‌های گیرنده‌های رتینوئیدی

اصولاً عملکرد رتینوئیک اسید در دستگاه عصبی مرکزی به

mabbas@mail.uk.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

هیپوکامپی متابولیت فعال ویتامین A، آل - ترانس رتینوئیک اسید (RA) بر یادگیری فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۴۹ سر موش صحرایی نر از نژاد NMRI با میانگین وزنی 25 ± 25 گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای 1 ± 24 درجه سانتیگراد نگهداری می‌شدند. کلیه آزمایش‌ها بین ساعت ۱۲ ظهر تا ۶ بعد از ظهر در ماز آبی موریس انجام شد.

یک هفته قبل از آغاز آزمایش‌های رفتاری، حیوانات تحت بیهوشی با مخلوط داروی کتامین (75 mg/kg) گزیلازین (5 mg/kg) به طریق داخل صفاقی قرار می‌گرفتند. سپس کانول‌ها (سر سوزن شماره ۲۱) به صورت دو طرفه در ناحیه CA1 با مشخصات ($AP = -3/8$, $ML = 2/2$, $DV = -3/2$) کاشته شدند [۱۷]. برای درپوش کانول‌ها از سر سوزن شماره ۲۵ و برای تزریق از سر سوزن شماره ۲۷ استفاده گردید.

موش‌های صحرایی به هفت گروه هفت تایی تقسیم گردیدند و سرعت تزریق یک میکرولیتر در دقیقه بود [۱۷]:

- گروه‌های تزریق آل - ترانس رتینوئیک اسید (گروه‌های اول تا چهارم): موشهای این گروه‌ها پس از کانول گذاری به صورت دو طرفه در ناحیه CA1، ۹۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش، لازم به تذکر است که انتخاب این زمان بعلاوه این است که مسیر سیگنالینگ لیگاند کامل گردد (۱۹ و ۱۵ و ۷) به مدت چهار روز مقادیر ۱، ۲، ۴ و ۸ میکروگرم آل - ترانس رتینوئیک اسید (حل شده در یک میکرولیتر DMSO) دریافت می‌کردند.

- گروه پنجم گروه تزریق حلال آل - ترانس رتینوئیک اسید (DMSO): موشهای این گروه پس از کانول گذاری دو طرفه در ناحیه CA1، ۹۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش به مدت چهار روز میزان یک میکرولیتر (DMSO) دریافت می‌کردند.

- گروه ششم (شاهد جراحی): موشهای این گروه جراحی شده و کانول‌هایی به صورت دو طرفه در ناحیه CA1 (هیپوکامپ آنها قرار داده می‌شد ولی هیچ گونه تزریقی دریافت نمی‌کردند و تنها برای تاثیر کانول گذاری بر یادگیری فضایی مورد استفاده قرار می‌گرفتند).

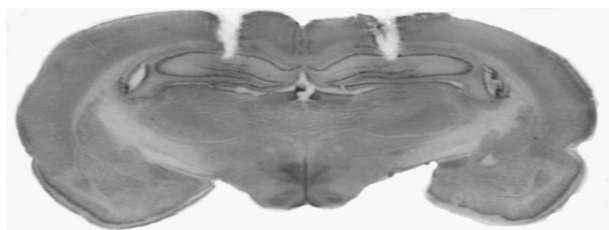
- گروه هفتم (گروه کنترل): موشهای سالم و بدون هیچ

نشان می‌دهد که رتینوئیدها در نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ فعال هستند [۱۹].

اثر رتینوئیدها از طریق گیرنده‌های هسته‌ای متعلق به خانواده هورمون‌های استروئیدی، تیروئیدی و ویتامین D انجام می‌شود. این گروه از گیرنده‌ها، گیرنده‌های وابسته به لیگاندی هستند که با اتصال به عناصر پاسخی رتینوئیدها، به وسیله راه اندازی ژنهای هدف، عمل خود را انجام می‌دهند [۷، ۱۵، ۲۱، ۲۳]. دوزهای گیرنده هسته‌ای برای رتینوئیدها شناسایی شده است که شامل RAR و RXR می‌باشند. هر یک از این گیرنده‌ها ۳ شکل ایزومری α ، β و γ دارند [۲۱، ۱۵، ۷]. گزارشات متناقضی در مورد اثر ویتامین A بر یادگیری موجود است. در این رابطه، نولون و همکاران (۱۹۸۶) گزارش دادند که تزریق محیطی ویتامین A در مقادیر (6 mg/kg ، ۵، ۴) به مدت یک تا دو هفته و نیز مقدار $2/5 \text{ mg/Kg}$ به مدت دو هفته سبب کاهش یادگیری در دستگاه ماز M - شکل می‌شود [۱]. کیهارا و همکارانش (۱۹۹۵) به این نتیجه رسیدند که تزریق ویتامین A به میزان 8000 IU/Kg ، در پنج روز اول بعد از تولد به موشهای صحرایی سبب کاهش یادگیری همین موشها در زمان بلوغ (۴۰ هفته‌گی) می‌شود [۶]. البته اثر ترکیبات مختلف بر انواع یادگیری بستگی به روش کار، میزان تزریق، ناحیه تزریق و نحوه تجویز دارد [۲].

شواهدی نیز حاکی از آن هستند که ویتامین A یادگیری را افزایش می‌دهد. در این رابطه تاکاهارا و همکارانش گزارش دادند که تزریق ویتامین A می‌تواند یادگیری فضایی را بهبود بخشد [۱]. آفرینش و همکارانش نشان دادند که تجویز خوراکی ویتامین A با گاوچ، در مقادیر 12000 IU/kg ، 8000 IU/kg یادگیری فضایی موشهای صحرایی نر بالغ را در ماز T - شکل افزایش می‌دهد [۲].

تحقیقات قبلی نشان داده که تزریق محیطی ویتامین A یادگیری را بهبود می‌بخشد و از آنجایی که ناحیه CA1 (هیپوکامپ در یادگیری اثر داشته و واجد گیرنده‌های رتینوئیدی می‌باشد رتینوئیدها در تنظیم فعالیت نوروترانسمیترهای مؤثر در حافظه بخصوص استیل کولین اهمیت دارند [۸ و ۴] بعلاوه مشخص شده که رتینوئیدها در رشد متابولیسم و تمایز سلول‌های عصبی اهمیت دارند [۸ و ۵]. گیرنده‌های رتینوئیدی در LTP (۱۲) انعطاف پذیری سیناپس‌ها [۲] و نیز در تنظیم خیلی از ژنهایی که در عملکرد طبیعی مغز نقش دارند [۲۲ و ۱۴] واجد اهمیت هستند. هدف این مطالعه بررسی نقش تزریق داخل



شکل ۱- محل کانول گذاری در بطن های جانبی

نظیر مسافت و زمان طی شده در ربعی که قبلاً سکو در آن قرار داشته و نیز سرعت شنا کردن استخراج شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار می گیرند.

بعد از اتمام آزمایش ها، سر حیوانات جدا شده و از مغز موشها پس از خروج از جمجمه و فیکس کردن در محلول فرمالین ۱۰٪، برشهایی در حد ۲۰۰ میکرومتر به وسیله دستگاه ویبرواسلایس تهیه شد. به منظور رنگ آمیزی مقاطع از رنگ آمیزی نیسل استفاده شد تا موقعیت کانول در ناحیه (CA1) تایید شود (شکل ۱). نتایج به دست آمده از هر حیوان تنها در صورتی جهت تجزیه و تحلیل آماری پذیرفته می شد که محل تزریق در هر دو طرف در ناحیه (CA1) قرار داشت.

نتایج چهار روز اول آزمایش با آنالیز واریانس دو طرفه و نتایج روز پنجم با آنالیز واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفت و در مواردی که اختلاف معنی دار بود از آزمون Tukey به عنوان برای مقایسه های Post hoc استفاده شد. همچنین $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد (۱۷).

یافته ها

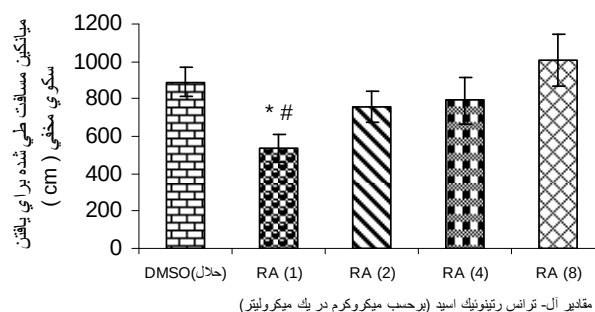
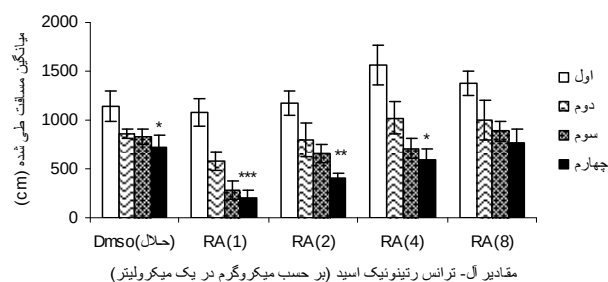
نتایج حاصل از آنالیز واریانس دو طرفه در چهار روز آزمایش، میان گروه تزریق حلال رتینوئیک اسید (DMSO) و گروه های کنترل و شاهد جراحی، تفاوت معنی داری را در هیچ یک از پارامترهای اندازه گیری شده نشان نداد.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس دو طرفه بین گروه تزریق (DMSO) و گروه های تزریق رتینوئیک اسید در مقادیر $1, 2, 4, 8 \mu\text{g} / \mu\text{l}$ حاکی از آن بود که میانگین مسافت و میانگین زمان طی شده برای یافتن سکوی مخفی در چهار روز اول آزمایش، در گروه تزریق رتینوئیک اسید با مقدار $1 \mu\text{g} / \mu\text{l}$ ، به طور معنی داری کمتر از گروه تزریق (DMSO) بود ($P < 0.05$) (نمودارهای ۱ و ۴). میانگین مسافت و میانگین زمان

گونه عمل جراحی، در مدت چهار روز در ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار می گرفتند.

آزمایشهای رفتاری با ماز آبی موریس انجام شد، این ماز از یک حوضچه ی استوانه ای شکل با قطر ۱۳۶ سانتی متر و ارتفاع ۶۰ سانتی متر تشکیل شده که تا ارتفاع ۲۵ سانتی متری با آب $20 \pm 1^\circ \text{C}$ پر می شود. یک سکوی سیاه رنگی از جنس پلکسی گلاس با قطر ۱۰ سانتی متر درون حوضچه، ۱/۵ سانتی متری زیر سطح آب در مرکز یکی از چهار ربع حوضچه استوانه ای شکل به گونه ای قرار می گیرد که فاصله ی مرکز سکو از دیواره حوضچه و مرکز دایره به یک اندازه باشد و موقعیت سکو در طول آزمایشات ثابت باقی می ماند. آزمایش رفتاری در هر روز به صورت یک بلوک مرکب از ۴ کارآزمایی انجام می شود. در هر کارآزمایی حیوان به گونه ای رها می شود که صورتش به طرف دیواره حوضچه باشد. چهار کارآزمایی هرروز از چهار جهت شمال، جنوب، شرق و غرب به طور تصادفی بوسیله نرم افزار ردیاب انتخاب می شود به طوریکه از هر یک از این چهار نقطه شروع در هر روز یک بار استفاده می شود. برای شروع آزمایش حیوان از یکی از نقاط شروع درون حوضچه رها می شود و ۹۰ ثانیه به آن فرصت داده می شود سکوی مخفی را در زیر آب بیابد. چنانچه توانست در این مدت سکو را پیدا کند به آن اجازه داده می شود به مدت ۲۰ ثانیه روی سکو بماند. چنانچه در مدت ۹۰ ثانیه حیوان نتوانست موقعیت سکو را پیدا نماید توسط آزمایشگر از درون آب خارج شده و به روی سکو منتقل می شود. پس از اتمام ۲۰ ثانیه روی سکو، موش از درون حوضچه خارج شده و سپس از نقطه شروع دوم رها می شود، این عمل تا پایان کارآزمایی چهارم انجام می گردد. پس از اتمام کارآزمایی چهارم موشها به آرامی با حوله خشک شده، مدتی گرم نگاه داشته شده و سپس به قفس خود باز گردانده می شوند. در هر کارآزمایی، نمایش حرکت موش بوسیله یک دوربین که در بالای حوضچه نصب شده فیلم برداری شده و توسط نرم افزار ردیاب ابتدا پردازش شده و سپس اطلاعاتی نظیر میانگین سرعت شنا کردن، میانگین زمان کل سپری شده برای یافتن سکو، میانگین مسافت کل طی شده برای یافتن سکو و میانگین درصد زمان و مسافت طی شده در ربع هدف (ربعی که سکو در آن قرار داشته) استخراج می شود (۱۷).

در روز پنجم موش در حوضچه بدون سکو رها می شود، مسیر حرکت حیوان به مدت ۳۰ ثانیه ثبت شده و اطلاعات لازم

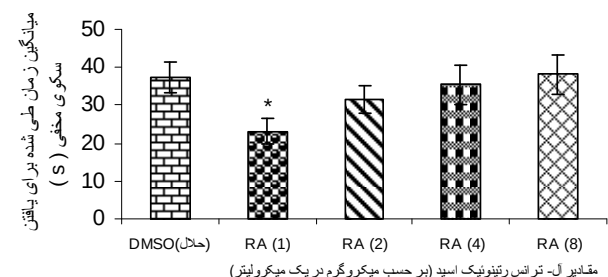


نمودار ۳- میانگین مسافت طی شده در ماز آبی مورب در گروههای تزریق DMSO (یک میکرو لیتر) و مقادیر مختلف آل- ترانس رتینوئیک اسید (بر حسب میکرو گرم در یک میکرو لیتر) در چهار روز اول آزمایش (به تفکیک روز و گروه).
 $p < 0.05$ *, $p < 0.01$ **, $p < 0.001$ *** در مقایسه با روز اول می باشد (n = 7).

نمودار ۱- میانگین مسافت طی شده در ماز آبی مورب در گروههای تزریق DMSO (یک میکرو لیتر) و مقادیر مختلف آل- ترانس رتینوئیک اسید (RA) در چهار روز اول آزمایش. $p < 0.05$ *, در مقایسه با گروه تزریق DMSO و $p < 0.01$ #, در مقایسه با گروه تزریق آل- ترانس رتینوئیک اسید در مقدار $8 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ می باشد (n = 7).

در مقدار 1 میکرو گرم می تواند یادگیری فضایی موش های صحرایی را در ماز آبی مورب بهبود ببخشد. از آنجا که مطالعات قبلی نشان داده اند گیرنده های RA در منطقه ی مورد مطالعه وجود دارند و نیز مطالعات مربوط به نقش تزریق محیطی ویتامین A، اثر این ترکیب را در بهبود یادگیری تاکید می کنند لذا می توان نتیجه گرفت که حداقل بخشی از تاثیر ذکر شده توسط محققین قبلی از طریق گیرنده های متابولیت فعال ویتامین A یعنی آل- ترانس رتینوئیک اسید در CA1 میانجی گری می شود. در این رابطه مشخص شده است که، گیرنده های رتینوئیدی در نواحی زیادی از هیپوکامپ توزیع شده اند، به عنوان مثال، RAR α در CA1، CA2، CA3 و شکنج دندانه ای هیپوکامپ وجود دارد [۸، ۲۳] و نیز گیرنده $\text{RXR} \beta$ در تمامی نواحی هیپوکامپ بیان می شود [۲۳].

در خصوص مکانیسم اثر RA بر فعالیت های نورونی ایده های متفاوتی گزارش شده از جمله مشخص شده رتینوئیک

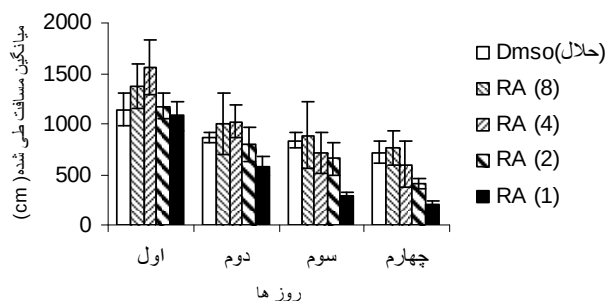


طی شده برای یافتن سکوی مخفی در روز اول، دوم، سوم و چهارم (به طور مجزا) بین هیچ یک از گروه ها کاهش معنی داری را نشان نداد (نمودارهای ۲ و ۳ و ۴). میانگین سرعت شنا کردن بین گروه ها نیز در چهار روز آزمایش اختلاف معنی داری را نشان نداد (نمودار ۷).

در روز پنجم که حوضچه فاقد سکو بود میانگین درصد مسافت طی شده و نیز میانگین درصد زمان طی شده در ربع هدف در گروه تزریق رتینوئیک اسید با مقدار $1 \mu\text{g} / \mu\text{l}$ به طور معنی داری بیشتر از گروه تزریق (DMSO) بود ($P < 0.05$) (نمودارهای ۸ و ۹).

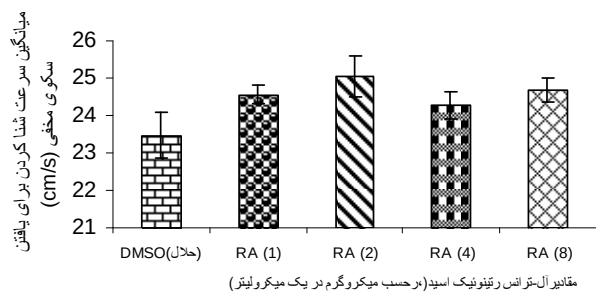
بحث

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که تزریق متوالی داخل هیپوکامپی آل- ترانس رتینوئیک اسید به مدت چهار روز،



نمودار ۴- میانگین زمان طی شده در ماز آبی مورب در گروههای تزریق DMSO (یک میکرو لیتر) و مقادیر مختلف آل- ترانس رتینوئیک اسید در چهار روز اول آزمایش. $p < 0.05$ *, در مقایسه با گروه تزریق DMSO و گروه تزریق آل- ترانس رتینوئیک اسید در مقدار $8 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ می باشد (n = 7).

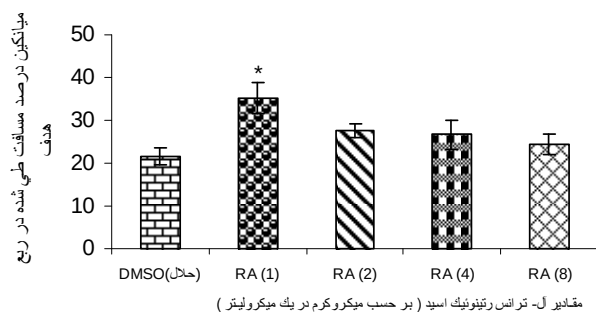
نمودار ۲- میانگین مسافت طی شده در ماز آبی مورب در گروههای تزریق DMSO (یک میکرو لیتر) و مقادیر مختلف آل- ترانس رتینوئیک اسید (بر حسب میکرو گرم در یک میکرو لیتر) در چهار روز اول آزمایش (به تفکیک روزها).



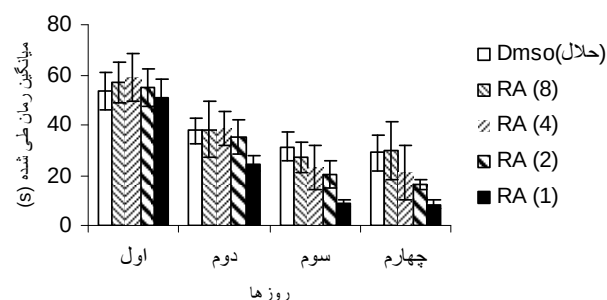
نمودار ۷- میانگین سرعت شنا کردن برای یافتن سکوی مخفی در ماز آبی موریس در گروه‌های تزریق DMSO (یک میکرو لیتر) و مقادیر مختلف آل-ترانس رتینوئیک اسید در چهار روز اول آزمایش ($n = 7$).

حذف می‌گردد. در این موشها انعطاف پذیری سیناپسی تضعیف شده و حافظه و یادگیری فضایی با نواقصی همراه می‌شود [۳، ۷، ۸، ۱۴].

تا به امروز مشخص شده رتینوئیک اسید بیان بالغ بر ۵۳۲ ژن را میانجی گری می‌کند [۱۵، ۱۲] که خیلی از محصولات این ژن‌ها به طور مستقیم و یا غیر مستقیم در یادگیری نقش دارند. از جمله هدفهای رتینوئیک اسید ژنهای کد کننده، نوروگرائین (RC3) به عنوان یک ترکیب مداخله کننده در یادگیری می‌باشد [۱۴، ۱۱]. مشخص شده است که تزریق رتینوئیک اسید سبب افزایش بیان (RC3) می‌شود [۹، ۱۰]. موشهای فاقد (RC3) اختلالاتی در یادگیری فضایی و انعطاف پذیری سیناپسی دارند [۲۰، ۱۴، ۱۱]. کاهش (RC3) با کاهش تراکم خارهای دندریتی نیز توأم می‌شود. هم چنین در پیری بیان (RC3) در نواحی از مغز از جمله هیپوکامپ کاهش می‌یابد که این کاهش در خصوص هیپوکامپ مشخص تر است [۱۰، ۹] بنابراین شاید RA تزریقی به داخل CA1 توانسته از طریق افزایش بیان ژن کد کننده RC3 یادگیری را بهبود ببخشد. از

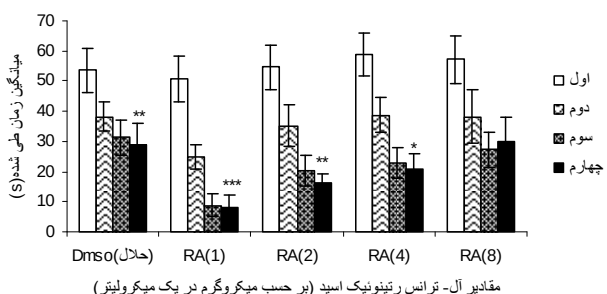


نمودار ۸- میانگین درصد مسافت طی شده در ربع هدف در ماز آبی موریس در گروه‌های تزریق DMSO (یک میکرو لیتر) و مقادیر مختلف آل-ترانس رتینوئیک اسید در روز پنجم آزمایش، $p < 0.05$ ، *، در مقایسه با گروه تزریق DMSO نشان داده شده است ($n = 7$).



نمودار ۵- میانگین زمان طی شده در ماز آبی موریس در گروه‌های تزریق DMSO (یک میکرو لیتر) و مقادیر مختلف آل-ترانس رتینوئیک اسید (بر حسب میکروگرم در یک میکرولیتر) در چهار روز اول آزمایش (به تفکیک روزها).

اسید در انعطاف پذیری سیناپسی طولانی مدت در مغز بالغ موثر بوده [۱۸] و انعطاف پذیری سیناپسی در هیپوکامپ را نیز تعدیل می‌کند [۱۲] به طوری که تنظیم بیان ژنهای وابسته به رتینوئیدها، در عملکرد طبیعی مغز ضروری بوده [۱۴] و تغییر در مسیر انتقال پیام ناشی از رتینوئیک اسید منجر به آسیب هایی در حافظه و یادگیری موشهای بالغ می‌شود [۳]. بیان شده که تقویت طولانی مدت (LTP) در حیواناتی که گیرنده‌های رتینوئیک اسید آنها به طور ژنتیکی حذف شده اند، کاهش چشمگیری نشان می‌دهد و این حیوانات در ماز آبی موریس اجرای خوبی ندارند [۱۲]. بنابراین RA تزریق شده در منطقه CA1 می‌تواند از طریق اعمال تغییرات اشاره شده، از جمله تغییر در انعطاف پذیری سیناپسی در CA1 و یا تغییر در بیان ژنهای دخیل در پدیده‌های یادگیری و حافظه مربوط به هیپوکامپ اثر خود را به جای بگذارد. فقدان یکی از گیرنده‌های رتینوئیدی یا هر دوی آنها باعث اختلال در یادگیری موش‌های صحرایی می‌شود [۲]. LTP در موشهای جهش یافته، فاقد $RAR\beta$ و جهش یافته‌های فاقد $RAR\beta / RXR\gamma$ ، در نواحی CA1

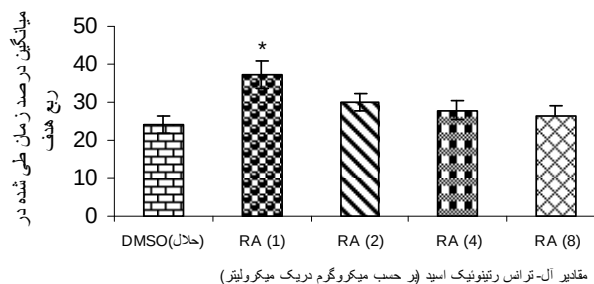


نمودار ۶- میانگین زمان طی شده در ماز آبی موریس در گروه‌های تزریق DMSO (یک میکرو لیتر) و مقادیر مختلف آل-ترانس رتینوئیک اسید (بر حسب میکروگرم در یک میکرولیتر) در چهار روز اول آزمایش (به تفکیک روزه و گروه). $p < 0.05$ ، *، $p < 0.01$ ، **، $p < 0.001$ ، *** در مقایسه با روز اول می‌باشد ($n = 7$).

یافته‌های اخیر می‌توان اینطور نتیجه گرفت که RA تزریقی به داخل CA1 می‌توانسته از طریق فراهمی دوپامین اثرات خود را در روند یادگیری اعمال کرده باشد.

علت اینکه در دوزهای ۴ و ۸ و تا حدودی ۲ یادگیری بهتر نشده و حتی میانگین مسافت طی شده در مورد دوز ۸ با دوز یک تفاوت معنی داری نشان می‌دهد که دال بر کاهش یادگیری با افزایش دوز است، شاید اثرات معکوس ویتامین بعلت عملکردهای توکسیکی در دوزهای بالا باشد، که البته در تزریق‌های محیطی همیشه به اثرات سمی این ترکیب در دوزهای بالا اشاره می‌شود [۱۵]. توجیه دیگر برای اختلافات مشاهده شده در بین دوزهای مورد استفاده جمعیت و نوع گیرنده‌هایی که فعال می‌شوند می‌باشد بنابراین، این احتمال وجود دارد که نسبت گیرنده‌های RXR به RAR و حتی زیر مجموعه‌های این گیرنده‌ها که در غلظت‌های متفاوت RA تحریک می‌گردند، تغییر کرده و از آنجا که نقش هر کدام از این گیرنده‌ها در یادگیری بسته به ناحیه مورد مطالعه سیستم عصبی متفاوت می‌باشد بنابراین با توجه به تراکم بیشتر RXR در اکثر نواحی هیپوکامپ [۲۳] تأثیر RA در یادگیری در دوزهای متفاوت و رو به افزایش در جهت‌های معکوس دیده می‌شود در همین خصوص گفته شده که فقط حیواناتی که فقط فاقد نوع خاصی از گیرنده‌های رتینوئیدی در CA1 هستند ضعف در حافظه را نشان می‌دهند [۳].

نورونهای کولینرژیک مسیر سپتوهیپوکامپ نقش حیاتی را در تغییرات ریخت‌شناسی و رمزگردانی حافظه و هیپوکامپ دارند. یادگیری سبب افزایش ساخت کولین استیل ترانسفراز (ChAT) رهاش استیل کولین می‌شود. غلظت استیل کولین ترانسفراز، نقش کلیدی در تنظیم رهاش استیل کولین ایفا می‌کند. رتینوئیک اسید فعالیت (ChAT) را زیاد کرده [۴، ۸، ۱۳] و پروتئین انتقال دهنده استیل کولین به وزیکولها را افزایش می‌دهد [۸، ۱۳]. همچنین رتینوئیک اسید، رهاش استیل کولین هیپوکامپی را افزایش می‌دهد [۵، ۸]. مطالعاتی نیز نشان می‌دهند که رتینوئیک اسید بر بیان فاکتور رشد عصبی (NGF) اثر می‌گذارد، این عامل در بقای نورونهای کولینرژیک دخالت دارد [۱۱] این یافته‌ها موید نقش سیستم کولینرژیک CA1 در یادگیری می‌باشند بنابراین احتمال دیگر در رابطه با اثر RA در CA1 مداخله‌ی این ترکیب با سیستم کولینرژیک CA1



نمودار ۹- میانگین درصد زمان طی شده در ربع هدف در ماز آبی موريس در گروه‌های تزریق DMSO (یک میکرو لیتر) و مقادیر مختلف آل-ترانس رتینوئیک اسید در روز پنجم آزمایش، * $p < 0.05$ ، در مقایسه با گروه تزریق DMSO نشان داده شده است ($n = 7$).

جمله ژنهای دیگر موثر در یادگیری که بوسیله رتینوئیدها تنظیم می‌شود ژن ترانس گلوتامیناز بافتی (tTG) می‌باشد. مشخص شده است که فعالیت (tTG) در هنگام (LTP) افزایش یافته [۹] و در زمان پیری فعالیت آن کاهش می‌یابد [۹، ۱۰]. (RA)، بیان کالبدین (یک پروتئین تعدیل کننده کلسیم در نورونهای هرمی CA1) را نیز القا می‌کند. در موشهای فاقد کالبدین، (LTP) کاهش می‌یابد [۲۰]. رتینوئیک اسید بیان نورومودولین را نیز افزایش می‌دهد، این پروتئین، پیش ماده‌ای برای پروتئین کیناز C (PKC) پیش سیناپسی است که با سطح سیتوپلاسمی غشاء آکسونی در ارتباط بوده و در اشکال متنوعی از انعطاف پذیری از جمله (LTP) دخالت دارد [۱۴]. با توجه به توضیح فوق باید این احتمال را نیز مد نظر داشت که گیرنده‌های RA در منطقه‌ی مورد نظر از طریق اثر گذاری بر ژن‌های ترانس گلوتامیناز بافتی، کالبدین و نورومودولین بتوانند یادگیری را تعدیل کنند. ژن گیرنده‌های دوپامین و گلوتامات که از اجزای موثر در یادگیری محسوب می‌شوند نیز از اهداف رتینوئیدها می‌باشند [۱۲]. بیان پروتئین‌های اتصال به رتینوئیدها و نیز گیرنده‌های رتینوئیدی در نواحی عصب دهی دوپامینرژیک مشخص شده است [۲۳]. اخیراً گزارش شده است که (RA) از طریق گیرنده‌های RXR، RAR می‌تواند باعث افزایش ترشح دوپامین در نواحی مانند هسته دم دار، راه بویایی، هیپوتالاموس و هیپوکامپ شود. درموش‌هایی که گیرنده‌های RXR، RAR جهش یافته اند، کاهش ترشح دوپامین در هیپوکامپ منجر به اختلال در تضعیف طولانی مدت (LTD) و LTP می‌شود. نقش دوپامین به عنوان تغییر دهنده عصبی در انعطاف پذیری سیناپسی مشخص شده است [۱] از

- [9] Enderlin V, Pallet V, Alfors S, Dargelos E, Jaffard R, Garcin H, Higuieret P, Age-related decreases in mRNA for brain nuclear receptors and target genes are reversed by retinoic acid treatment. *Neurosci Lett* 229 (1997) 125–129.
- [10] Enderlin V, Alfors S, Pallet V, Garcin H, Azais-Braesco V, Jaffard R, Higuieret P, Aging decreases the abundance of retinoic acid (RAR) and triiodothyronine (TR) nuclear receptor mRNA in rat brain : effect of the administration of retinoids . *FEBS Letters* 412 (1997) 629–632.
- [11] Etchamendy N, Enderlin V, Marighetto A, Vouimba RM, Pallet V, Jaffard R, Higuieret P, Alleviation of a selective age-related relational memory deficit in mice by pharmacologically induced normalization of brain retinoid signaling. *J Neurosci* 21 (2001) 6423–6426.
- [12] Farooqui AA, Antony P, Ong WY, Horrocks LA, Freysz L, Retinoic acid-mediated phospholipase A signaling in the nucleus. *Brain Res Rev* 45 (2004) 179-95.
- [13] Handler A, Lobo MDVT, Alonso FJM, Paino CL, Mena MA, Functional implications of the noradrenergic–cholinergic switch induced by retinoic acid in NB69 neuroblastoma cells. *Neuroscience* 60 (2000) 311–320.
- [14] Husson M, Enderlin V, Alfors S, Boucheron C, Pallet V, Higuieret P, Expression of neurogranin and neuromodulin is affected in the striatum of vitamin A-deprived rats. *Mol Brain Res* 123 (2004) 7–17.
- [15] Kurlandsky SB, Gambel MV, Ramakrishnan R, Blaner WS, Plasma delivery of retinoic acid to tissues in the rat. *J BC* 270 (1995) 17850–17857.
- [16] Lane MA, Bailey SJ, Rol of retinoid signaling in the adult brain. *Prog Neurobiol* 75 (2005) 275.
- [17] Majlessi N, Kadkhodae M, Parvis M, Naghdi N, Serotonin depletion in rat hippocampus attenuates L-NAME-induced spatial learning deficits. *Brain Res* 963 (2003) 244–251.
- [18] Mao CT, Li TY, Liu YX, Qu P, Effects of marginal vitamin A deficiency and intervention on learning and memory in young rats. *Zhonghua Er Kr Za Zhi* 43 (2005) 526–30.
- [19] Miano JM, Berk BC, Retinoids: Versatile biological response modifiers of vascular smooth muscle phenotype. *Circ Res* (2000) 87–355.
- [20] Misner D L, Jacobs S, Shimizu Y, De Urquiza M, Solomin L, Perlmann T, De Luca LM, Stevens CF, Evans RM, Vitamin A deprivation results in reversible loss of hippocampal long – term synaptic plasticity.

می‌باشد. بنا براین به طور خلاصه می‌توان گفت، رتینوئیک اسید به روش‌های متفاوت از جمله تغییر در انعطاف پذیری سیناپسی، القای (LTP)، تنظیم رهایش میانجی‌های عصبی موثر در یادگیری از جمله دوپامین، استیل کولین، گلوتامات و نیز تغییر در مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی، یادگیری را افزایش می‌دهد. طبیعی است که شناخت مکانیسم دقیق عملکرد RA در ناحیه CA1 در رابطه با بهبود یادگیری نیازمند تحقیقات گسترده‌تر در این مورد می‌باشد.

منابع

- [۱] آفرینش خاکی محمد رضا ، بررسی اثرات فسفاتیدیل کولین و رتینوئیک اسید بر یادگیری فضایی موش صحرایی نر بالغ . پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری ، اهواز: دانشگاه شهید چمران اهواز ، ۱۳۸۲.
- [۲] عباس نژاد مهدی ، آفرینش محمد رضا ، معاضدی احمد علی ، اثر مقایسه ای تجویز دهانی رتینوئیک اسید بر یادگیری فضایی موش صحرایی نر بالغ . مجله دانشکده پرستاری و مامایی رازی ۲ (۱۳۸۲) ۳۱ تا ۳۷.
- [3] Alfors S, Boucheron C, Pallet V, Higuieret D, Enderlin V, Beracochea D, Jaffard R, Higuieret P, Retinoic acid receptor antagonist suppresses brain retinoic acid receptor over expression and reverses a working memory deficit induced by chronic ethanol consumption in mice. *Alcoholism: Clin Exp Res* 25 (2001) 1506–14.
- [4] Berrard S, Fauson Biguet N, Houhou L, Lamouroux A, Mallet J, Retinoic acid induces cholinergic differentiation of cultured newborn rat sympathetic neurons. *Neurosci Res* 35 (1993) 385 – 389.
- [5] Berse B, Blusztajn JK, Modulation of cholinergic locus expression by glucocorticoids and retinoic acid is cell – type specific. *FEBS Letters* 410 (1997) 175–179.
- [6] Blokland A, Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Res Rev* 21 (1996) 285–300.
- [7] Ching MY, Misner D, Kempermann G, Schikorski T, Schikorski T, Giguère V, Sucov HM, Gage FH, Stevens CF, Evanset RM, An essential role for retinoid receptors RAR β and RXR γ in long- term potentiation and depression. *Neuron* 21 (1998) 1353–1361.
- [8] Cocco S, Diaz G, Stancampiano R, Diana A, Carta M, Curreli R, Sarais L, Fadda F, Vitamin A deficiency produces spatial learning and memory impairment in rats. *Neuroscience* 15 (2002) 475–482.

Phsiol-Endoc M 282 (2002) 672–678.

- [23] Zetterstrom RH, Lindqvist E, Urquiza AMD, Tomac A, Eriksson U, Perlmann T, Olson L, Role of retinoids in the CNS: differential expression of retinoids binding proteins and receptors and evidence for presence of retinoic acid. *Neuroscience* 11 (1999) 407–41.

PNAS 98 (2001) 11714–1719.

- [21] Silveira ER, Moreno FS, Natural retinoids and β -carotene: from food to their actions on gene expression. *Nutr Biochem* 9 (1998) 446–456.
- [22] Werner EA, Delusa HF, Retinoic acid is detected at relatively high levels in the CNS of adult rats. *Am J*