Physiology and Pharmacology, 16 (3), 319-327
Autumn 2012 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Can ovariectomy and learning affect prefrontal cortex $GABA_{A\alpha1}$ receptor distribution in passive avoidance model in rats?

Asiyeh Shojaee, Mahnaz Taherianfard*, Maryam Sharifi

Dept. of Physiology, School of Veterinary. Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 3 Apr 2012 **Accepted: 14 Jul 2012**

Abstract

Introduction: The interaction between steroid hormones and neurotransmitters such as GABA has been proved. The regulation of muscimol binding to high-affinity $GABA_A$ receptors by estradiol and progesterone has been studied within distinct brain regions using *in vitro* quantitative autoradiography. There are few studies about the mechanism of the effect of steroid hormones on behaviors such as learning and memory and also distribution of $GABA_{A\alpha1}$ receptor in prefrontal cortex. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of ovariectomy and passive avoidance learning on distribution of $GABA_{A\alpha1}$ receptor in prefrontal cortex of rat.

Methods: Twenty Sprague-Dawley adult rats were randomly divided into four equal groups: intact without learning; intact with learning; ovariectomy without learning and ovariectomy with learning. The shuttle box was used for induction of passive avoidance learning. Immunohistochemical procedure was used for determination of $GABA_{A\alpha1}$ receptor distribution. Image Analyzer software was used for determination of color intensity.

Results: The data showed that ovariectomy lead to a significant ($p<0.05$) reduction in $GABA_{A\alpha1}$ receptor distribution in cg_1 (cingulate cortex area1), M_1 (primary motor cortex) and M_2 (secondary motor cortex). While learning in the presence of ovarian hormones induced a significant decrease ($p<0.05$) in $GABA_{A\alpha1}$ receptor distribution in Cg_1, M_1 and M_2 of prefrontal cortex of rats, it significantly increased ($p<0.05$) receptor distribution in the same regions in the absence of ovarian hormones.

Conclusion: According to these results ovariectomy and passive avoidance learning change the distribution of $GABA_{A\alpha1}$ receptor in Cg_1, M_1 and M_2 regions of prefrontal cortex of rat.

Key words: Ovariectomy, Passive avoidance learning, Prefrontal cortex, $GABA_{A\alpha1}$ receptor

* Corresponding author e-mail: taherian@shirazu.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۶ (۳)، ۳۱۹ – ۳۲۷
پاییز ۱۳۹۱

فیزیولوژی و فارماکولوژی

آیا اواریکتومی و یادگیری احترازی می تواند تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در قشر پری فرونتال موش صحرایی در مدل یادگیری احترازی غیرفعال را تحت تاثیر قرار دهد؟

آسیه شجاعی، مهناز طاهریان فرد*، مریم شریفی
گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

دریافت: ۱۵ فروردین ۱۳۹۱ پذیرش: ۲۴ تیر ۱۳۹۱

چکیده

مقدمه: ارتباط متقابل بین هورمون‌های استروئیدی و نوروترانسمیترهایی نظیر گابا به اثبات رسیده است. در حالی که مکانیسم اثر اینها بر رفتارهایی مانند یادگیری و حافظه و تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در قشر پری فرونتال هنوز کاملا شناخته نشده است. بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی اثر اواریکتومی و یادگیری احترازی غیر فعال بر تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در قشر پری فرونتال موش صحرایی بود.

روش‌ها: در این مطالعه بیست موش صحرایی ماده بالغ نژاد Sprague-Dawley به طور تصادفی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند: سالم بدون یادگیری، سالم تحت یادگیری، اواریکتومی بدون انجام تست یادگیری و اواریکتومی تحت یادگیری. به منظور القاء یادگیری احترازی غیر فعال از دستگاه شاتل باکس، برای تعیین توزیع گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ از روش ایمنوهیستوشیمی و برای تعیین شدت رنگ به منظور رنگ سنجی از برنامه نرم افزاری پردازشگر تصویر استفاده شد.

یافته‌ها: داده‌ها نشان داد اواریکتومی باعث کاهش معنی دار توزیع گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در نواحی (Cg_1 (cingulate cortex area، M_1 (primary motor cortex) و M_2 (secondary motor cortex) قشر پری فرونتال شد و اثر یادگیری در حضور و غیاب هورمون‌های تخمدانی به ترتیب کاهش و افزایش معنی داری را بر تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در نواحی M_1،Cg_1 و M_2 قشر پری فرونتال نشان داد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این تحقیق اواریکتومی و یادگیری احترازی غیر فعال باعث تغییر گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در ناحیه M_1،Cg_1 و M_2 قشر پری فرونتال موش صحرایی شد.

واژه‌های کلیدی: اواریکتومی، یادگیری احترازی غیرفعال، قشر پری فرونتال، گیرنده $GABA_{A\alpha1}$

مقدمه

یکی از بحث برانگیزترین مباحث در زمینه نوروفیزیولوژی، حافظه و یادگیری و مکانیسم‌های آن است. شکل پذیری سیناپسی به عنوان مکانیسم درگیر در یادگیری و حافظه شناخته شده است. قشر پری فرونتال یکی از نواحی مغزی مطالعه شده در خارج از هیپوکامپ است که پس از بررسی‌ها مشخص گردیده، قابلیت پذیرش LTP را داراست [۶]. اگر چه تفاوت واضح و روشن در سازمان آناتومیکی و همچنین وسعت پری فرونتال در جوندگان و پریماتها وجود دارد، اما یک همگرایی از شواهد رفتاری نشان می‌دهد که پری‌فرونتال موش به عنوان مدلی مناسب برای مطالعه سازمان بندی و شکل پذیری در پستانداران در نظر گرفته می‌شود [۱۵]. مطابق با

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: taherian@shirazu.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

اطلس مغز موش Paxinos & Watson قشر پری فرونتال موش را می‌توان به ۴ قسمت اینفرالیمبیک، پری‌لیمبیک، سینگولیت قدامی شکمی و پشتی، پری‌سنترال میانی تقسیم کرد [۱۰]. این ناحیه در سازگاری‌های رفتاری، یادگیری، توجه و شخصیت، و همچنین در ارتباط با رفتارهای اجتماعی و اهمیت دادن به دیگران و در یادگیری‌های مختلف و شناخت تئوری‌های کاربردی، در اعمال اجرایی و رفتارهای ارادی نقش دارد [۱۲].

گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا)، یکی از مهمترین نوروترانسمیترهای سیستم عصبی مرکزی می‌باشد و مشخص شده که گابا در تعدیل حافظه نقش دارد و اثرات خود را از طریق سه گیرنده $GABA_A$، $GABA_B$، $GABA_C$ اعمال می‌کند. گیرنده‌های $GABA_A$، گلیکوپروتئین هتروپنتامری می‌باشند که شباهت ساختمانی و عملی ویژه‌ای با سایر اعضای خانواده کانال‌های یونی دریچه‌دار دارند [۸]. با استفاده از روش ایمنولوژی و نوروآناتومی و کشف آنتی‌بادی ضد گابا و GAD مشخص شده نورونهای ناحیه تگمنتال شکمی که به پری-فرونتال می‌روند، حاوی گابا و دوپامین هستند؛ همچنین یافته-های مشابه حاکی از آن است که انشعابات قاعده مغز قدامی به پری‌فرونتال حاوی استیل کولین و گابا و انشعابات هسته‌های رافه به پری‌فرونتال نیز حاوی سروتونین و گابا هستند [۵]. کاهش عملکرد گابا در قشر پری فرونتال یک عامل کلیدی در نقص رفتارهای شناختی است. در اسکیزوفرنی کاهش سطح بیان زیر واحد α1 گیرنده $GABA_A$ در پری فرونتال پشتی جانبی، گزارش شده است [۴].

استفاده از آگونیست ها و آنتاگونیست های گیرنده های مختلف درگیر در پروسه‌ی یادگیری در فواصل زمانی متناوب در تحقیقات نشان می‌دهد که سیستم گلوتاماترژیک، گاباارژیک و دوپامینرژیک در قسمت میانی قشر پری فرونتال در ناحیه پیش مرکزی میانی (FR2) به طور مستقیم به عنوان بخشی از سیستم تعدیلی در تثبیت یادگیری اجتنابی مهاری نقش دارند. به نظر می‌رسد که طی یادگیری و ایجاد حافظه تولید گلوتامات افزایش یافته و سپس در مراحل بازیابی و تثبیت حافظه مسیر به سمت شانت گابا یعنی افزایش تولید گابا و افزایش فعالیت گیرنده‌ی گابا پیش می‌رود [۹]. اثر هورمون‌های تخمدانی بر تراکم گیرنده $GABA_A$ پیچیده است. اثر پروژسترون بر روی گیرنده $GABA_A$، به آنزیم متابولیزه کننده آن وابسته است. متابولیت های پروژسترون هم عمل آگونیستی و آنتاگونیستی نشان می‌دهند. پرگنانولون سولفات در غلظت‌های نانومولار و میلی مولار به ترتیب عمل آگونیست و آنتاگونیستی نشان می‌دهند [۱۴]. با توجه به ارتباط پیچیده بین گابا و هورمون‌های استروئیدی هدف مطالعه حاضر بررسی اثر حذف هورمون‌های تخمدانی و یادگیری احترازی غیر فعال بر تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در نواحی cingulate cortex area1 (Cg_1)، primary motor cortex (M_1) و secondary motor cortex (M_2) قشر پری فرونتال موش صحرایی بود.

مواد و روش ها

بیست عدد موش صحرایی ماده نژاد Sprague-Dawley با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و در شرایط استاندارد ۱۲ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتیگراد در اتاق حیوانات دانشکده دامپزشکی شیراز نگهداری شدند. در همه گروه ها غذا و آب آزادانه در دسترس بود. حیوانات بطور تصادفی در چهار گروه پنج تایی شامل گروه سالم بدون یادگیری، سالم تحت یادگیری، اواریکتومی بدون یادگیری و اواریکتومی تحت یادگیری قرار گرفتند.

برای برداشتن تخمدان‌ها ابتدا موش‌ها را وزن کرده و بر اساس وزن موش داروی بیهوشی ترکیبی (زایلازین ۵ mg/kg و کتامین ۸۰mg/kg) به صورت درون صفاقی تزریق شد.

۲۰ روز بعد از اواریکتومی برای انجام یادگیری از دستگاه شاتل باکس ساخت شرکت آریوآزما در ایران استفاده شد. القاء یادگیری احترازی غیر فعال در موش‌های صحرایی شامل ۵ روز و در هر روز یک جلسه بود. روز اول جهت آشنایی با دستگاه، روز دوم جهت تعیین تأخیر اولیه و روز سوم جهت یادگیری و روز چهارم جهت تثبیت حافظه و روز پنجم به عنوان بقا حافظه در نظر گرفته شد. در روز نخست، گروه های تحت یادگیری حیوانات به طور جداگانه و به مدت ۲ دقیقه جهت سازش پذیری و آشنایی با دستگاه شاتل باکس در آن قرار داده شدند. در این حالت دریچه‌ی بین دو محفظه‌ی تاریک و روشن باز بوده و حیوانات می‌توانستند آزادانه و بدون آنکه شوکی به پای

آن‌ها وارد شود، بین دو محفظه رفت و آمد کنند. این سازش پذیری ۳۰ دقیقه‌ی بعد هم تکرار شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت آزمایش شروع گردید. شناسه‌گر دستگاه، بر اساس شدت شوک ۰/۶ میلی آمپر، زمان تأخیر در شوک دهی ۱ ثانیه و زمان شوک دهی نیز ۱ ثانیه تنظیم شد. سپس حیوانات به طور جداگانه و به آرامی در انتهای ناحیه‌ی روشن و در سمت مخالف دریچه قرار داده شدند. زمانی که حیوان طوری به ناحیهٔ تاریک وارد می‌شد که هر ۴ پای آن روی میله های فلزی قرار می‌گرفت، درب کشوئی بسته شده و با بسته شدن درب کلیدی که در گوشه‌ی پایین سمت راست ناحیه‌ی روشن دریچه تعبیه شده بود فعال شده و شوک الکتریکی در یک ثانیه به کف پای حیوان وارد می‌شد و توسط دستگاه مدت زمان حضور موش در ناحیه روشن ثبت می‌گردید. پس از پایان شوک دهی، حیوانات بلافاصله از دستگاه خارج شده و در قفس‌های خود قرار می‌گرفتند در این جلسه از یادگیری در صورتی که حیوان برای ورود به ناحیه‌ی تاریک بیش از ۶۰ ثانیه تأخیر می‌کرد، از آزمایش حذف می‌شد. سومین روز مشابه روز دوم انجام گرفت. در روز چهارم به منظور تثبیت حافظه مانند روز دوم اما به موش شوک وارد نشد و فقط مدت زمان حضور موش در ناحیه روشن را ثبت گردید. در آزمایش بقای حافظه در صورتی که حیوان بیش از ۱۲۰ ثانیه از ورود به ناحیه‌ی تاریک احتراز می‌کرد، به عنوان معیار انجام کامل یادگیری و احتراز کامل در نظر گرفته می‌شد. در نهایت روز پنجم مشابه روز چهارم انجام شد و به عنوان بقای حافظه در نظر گرفته شد. در این نوع یادگیری با توجه به اینکه در محفظه تاریک امکان وارد کردن شوک الکتریکی وجود دارد، حیوانات یاد می‌گیرند که در محفظه روشن باقی بمانند؛ علی رغم اینکه اصولاً جوندگان به تاریکی علاقه بیشتری دارند. لذا معیار بررسی تست‌های آماری و اعدادی که تست آماری روی آن‌ها انجام شد، مدت زمان ماندن در محفظه روشن بود. لازم به ذکر است که تمامی جلسات القاء یادگیری احترازی غیر فعال در گروه های تحت یادگیری از ساعت ۸:۳۰ الی ۹:۳۰ صبح انجام گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت از آزمایش‌های رفتاری، موشها با داروی تیوپنتال سدیم (دوز ۱۲۰mg/kg) کشته شدند. بلافاصله پس از بیهوش شدن از طریق قلب با بافر فرمالین ۱۰٪ پرفیوژ شدند. سپس با شکافتن جمجمه، مغز را به طور کامل خارج کرده و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد و به مدت ۵ روز در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. برای اینکه تثبیت بافت مغز به خوبی انجام شود به فرمالین ۴٪ منتقل شد. بافت مغز مربوط به پری فرونتال جدا شده و برای فرایند آماده سازی بافتی (آبگیری و شفاف سازی و پارافین دهی) درون دستگاه پردازشگر خودکار قرار داده شد. بلوک‌های پارافینی برای برش گیری تهیه و برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون توسط دستگاه میکروتوم گرفته شد.

برش های ۵ میکرونی بصورت coronal از مغز موش صحرایی بر روی لام آغشته به چسب پلی الایزین (برای جلوگیری از کنده شدن بافت طی مراحل بعدی) قرار داده شد. نمونه‌ها در آون با حرارت ۵۵ به مدت ۲۵ دقیقه گذاشته شده و پس از خارج کردن از آون، این نمونه‌ها برای روش ایمونوهیستوشیمی آماده بود.

برای انجام روش ایمنوهیستوشیمی ابتدا در اسلایدها پارافین زدایی و آبگیری انجام شد. برای نشان گذاری گیرنده $GABA_A$ $GABA_{A\alpha1}$ آنتی بادی اختصاصی بخش $\alpha1$ گیرنده به‌عنوان آنتی بادی اولیه (شرکت Abcam، انگلستان) به رقت ۱/۱۰۰۰ استفاده شد. بر روی نمونه‌ها آنتی بادی ثانویه (انویژن، ساخت شرکت داکو دانمارک) اضافه شد. برای تشکیل رنگ قهوه ای گیرنده به اسلایدها مایع Dab (ساخت شرکت داکو دانمارک) اضافه شد. و سپس نمونه‌ها در هماتوکسیلین برای رنگ آمیزی هسته‌ها قرار داده شد. پس از آن بر روی نمونه‌ها چسب انتالن اضافه شده و بر روی آنها لامل گذاشته شد. برای تشخیص صحت آزمون ایمونوهیستوشیمی در بعضی از نمونه‌ها به‌عنوان کنترل منفی کلیه‌ی مراحل مربوط به ایمونوهیستوشیمی جز اضافه کردن آنتی بادی اولیه انجام شد (شکل ۱).

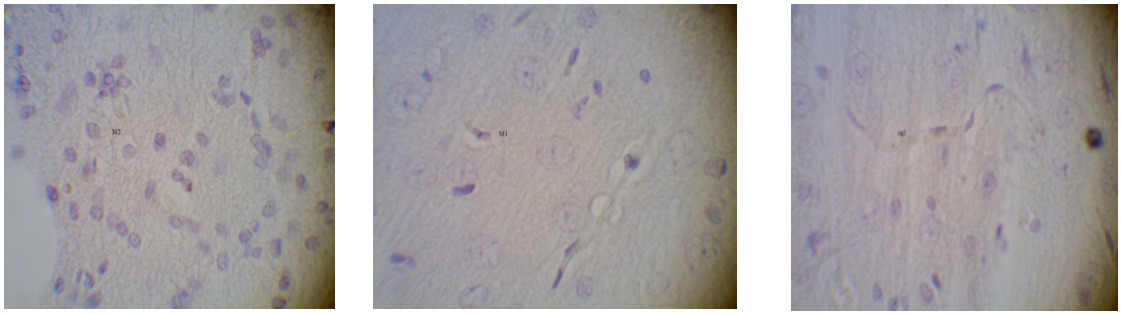
پس از تهیه اسلایدها از تمام نمونه‌ها تصویر تهیه شد. تصاویر تهیه شده به برنامه نرم افزاری پرداشگر تصویر ویژه بررسی آزمون ایمنوهیستوشیمی منتقل شدند. در این برنامه گیرنده‌ها از سه دیدگاه رنگ، شدت و اشباع پذیری مورد بررسی قرار می‌گیرند؛ هر چه توزیع گیرنده بیشتر باشد توزیع رنگی از سه دیدگاه ذکر شده فوق عدد کمتری را نشان می‌دهد. به این معنی که بین میزان توزیع گیرنده و عدد بدست آمده در این برنامه نسبت عکس وجود دارد.

در این تحقیق با استفاده از برنامه SPSS (version18)

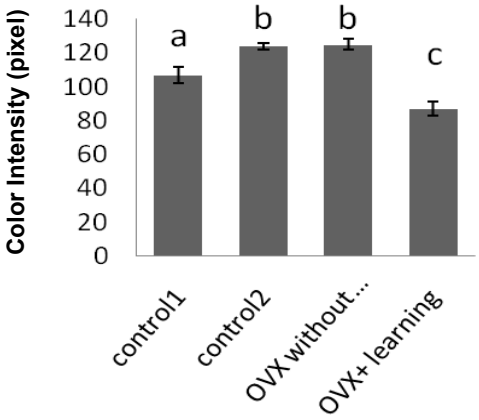
داده‌های آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه پس از مشخص شدن نرمالیتی داده‌ها، از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تکمیلی توکی استفاده گردید. داده‌ها در بخش نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار نشان داده شد. سطح معنی داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

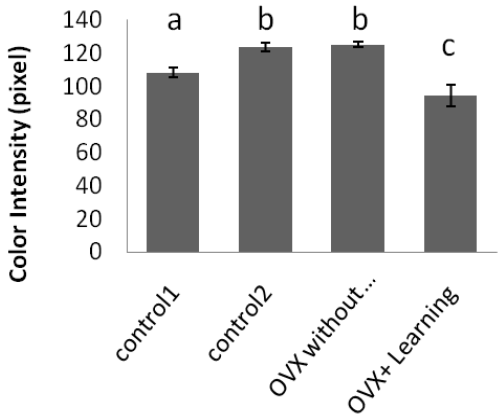
مقایسه تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در نواحی Cg_1 (cingulate cortex area1)، M_1 (primary motor cortex) و M_2 (secondary motor cortex) قشر پری فرونتال موش صحرایی بیانگر این است که گروه کنترل تحت یادگیری در مقایسه با کنترل بدون یادگیری کاهش معنی داری (P <۰/۰۵) در تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ نشان دادند (شکل‌های ۲-۴). که این امر با کاهش شدت رنگ در شکل‌های ۵-۷ مشاهده می‌شود. مقایسه تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در نواحی Cg_1، M_1 و M_2 قشر پری فرونتال موش صحرایی بیانگر این است که گروه اواریکتومی بدون یادگیری در مقایسه با کنترل بدون یادگیری کاهش معنی داری (P<۰/۰۵) در تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ نشان دادند (شکل‌های ۲-۴). که این امر با کاهش شدت رنگ در شکل ۵-۷ مشاهده می‌شود. مقایسه تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در نواحی Cg_1، M_1 و M_2 قشر پری فرونتال موش صحرایی بیانگر این است که گروه اواریکتومی تحت یادگیری در مقایسه با اواریکتومی بدون یادگیری افزایش معنی داری (P<۰/۰۵) در تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ نشان دادند (شکل‌های ۲-۴). که این امر با افزایش شدت رنگ در شکل‌های ۵-۷ مشاهده می‌شود.



شکل ۱- فتومیکروگراف از قشر پری فرونتال مغز موش صحرایی نشان دهنده‌ی نواحی Cg_1، M_1 و M_2 در کنترل منفی (بزرگنمایی ۴۰۰×)
Cg_1= cingulate cortex area 1؛ M_1= primary motor cortex؛ secondary motor cortex

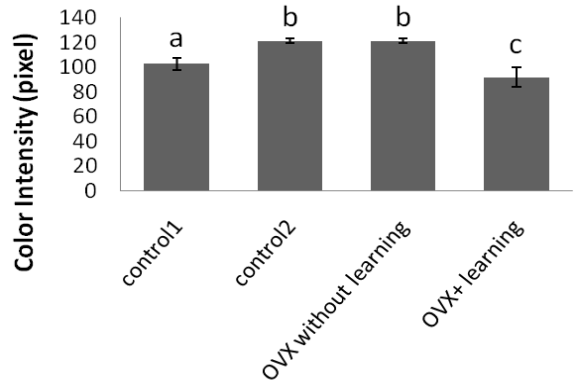


شکل۲- مقایسه تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در ناحیه Cg_1 قشر پری فرونتال مغز موش صحرایی ماده. در نمودار OVX مخفف اواریکتومی می‌باشد. حروف متفاوت نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار نسبت به هم است (P<۰/۰۵).

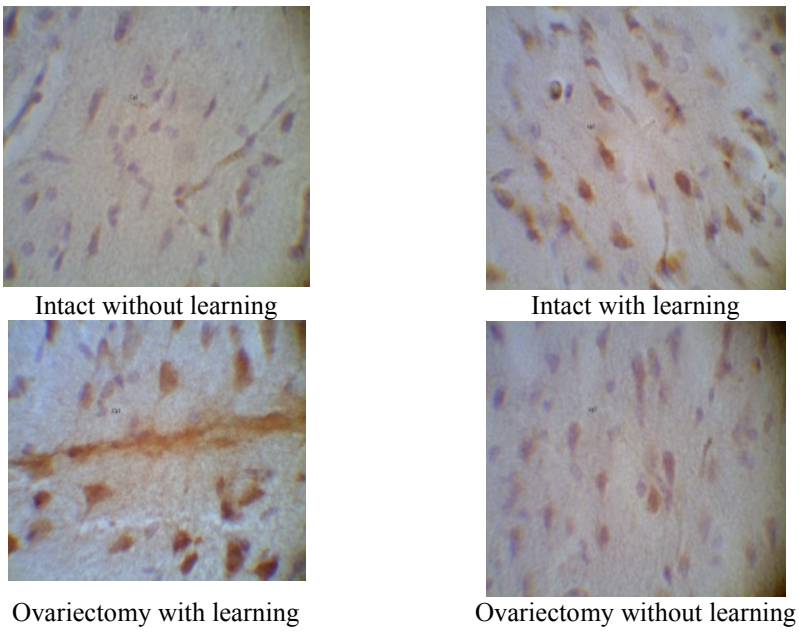


شکل۳- مقایسه تراکم گیرنده GABAAα1 در ناحیهM1 قشر پری فرونتال مغز موش صحرایی ماده. در نمودار OVX مخفف اواریکتومی می‌باشد. حروف متفاوت نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار نسبت به هم است (P<۰/۰۵)

Cg1= cingulated cortex area 1؛ M1= primary motor cortex؛ secondary motor cortex



شکل ٤- مقایسه تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در ناحیه قشر M_2 موش صحرایی ماده. در نمودار OVX مخفف اواریکتومی می‌باشد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار نسبت به هم است ($P<$ ۰/۰۵). Cg1= cingulate cortex area 1؛ M1= primary motor cortex؛ secondary motor cortex



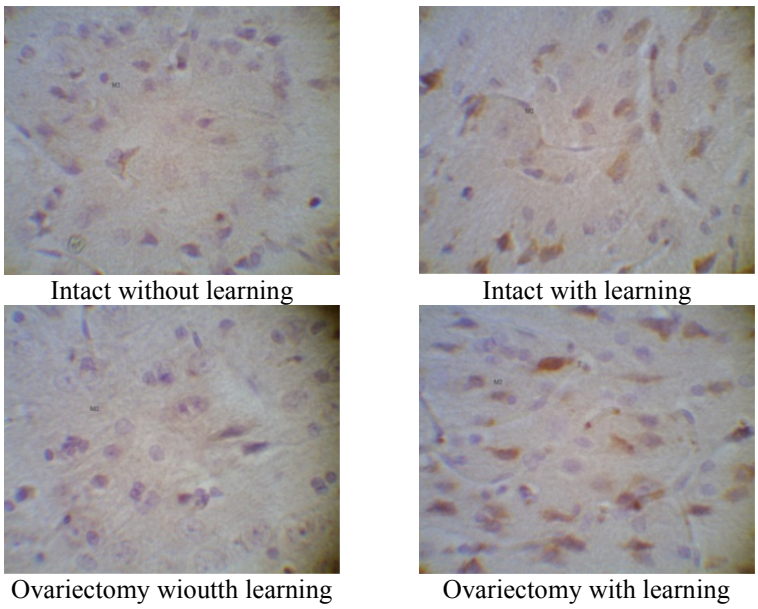
شکل ٥- فتومیکروگراف از قشر پری فرونتال موش صحرایی نشان دهنده‌ی تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در ناحیه Cg_1 (بزرگنمایی ۴۰۰ ×)، Cg1= cingulate cortex area 1؛ M1= primary motor cortex؛ secondary motor cortex

موش صحرایی بیانگر این است که گروه اواریکتومی تحت یادگیری در مقایسه با کنترل تحت یادگیری افزایش معنی داری ($P<$۰/۰۵) در تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ نشان دادند (شکل‌های ۲-۴). که این امر با افزایش شدت رنگ در شکل ۵-۷ مشاهده می‌شود.

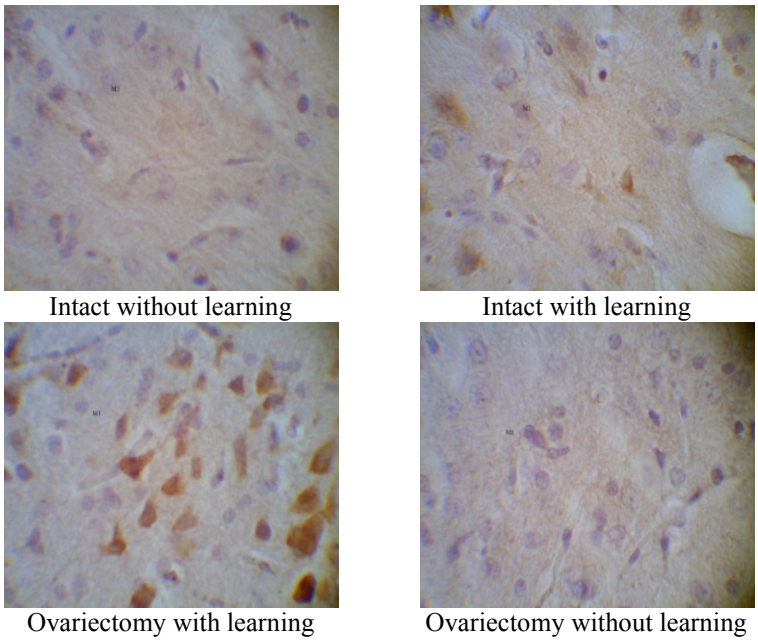
مقایسه تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در نواحی Cg_1، M_1 و M_2 قشر پری فرونتال موش صحرایی بیانگر این است که گروه کنترل تحت یادگیری فقط موش‌های ماده سالم تحت یادگیری و اواریکتومی شده بدون انجام تست یادگیری کاهش معنی داری ($P<$۰/۰۵) را در میزان تراکم این گیرنده در مقایسه با گروه کنترل ماده نشان می‌دهد (شکل۴). که این امر با کاهش شدت رنگ در شکل ۳ مشاهده می‌شود.

بحث

در این مطالعه اثر اواریکتومی و یادگیری احترازی غیر فعال بر تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در ناحیه Cg_1، M_1 و M_2 قشر میانی پری فرونتال موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. تحقیق حاضر نشان می‌دهد که اواریکتومی باعث کاهش تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در Cg_1، M_1 و M_2 شده است. یک فرضیه‌ی محتمل برای چنین کاهشی را می‌توان کاهش بیان پروتئین زیر واحد α_1 گیرنده $GABA_A$ در Cg_1، M_1 و M_2 در



شکل ٦- فتومیکروگراف از قشر پری فرونتال موش صحرایی ماده نشان دهنده‌ی تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در ناحیه M_1 (بزرگنمایی ۴۰۰ ×)،
secondary motor cortex
M1 =primary motor cortex
Cg1 =cingulate cortex area 1



شکل ۷- فتومیکروگراف از قشر پری فرونتال مغز موش صحرایی ماده نشان دهنده‌ی تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در ناحیه M_2 (بزرگنمایی ۴۰۰ ×)

secondary motor cortex
M1 =primary motor cortex
Cg1 =cingulate cortex area 1

نظر گرفت. از آنجا که نشان داده شده که هورمون‌های استروئیدی رونویسی و به خصوص الگوی بیان زیر واحدهای $GABA_A$ را تغییر می‌دهند [۱۱].

مطالعات نشان داده‌اند که استروژن اثرات تحریکی و مهاری در هسته های مغزی القا می‌کند، اثر مهاری آن وابسته به گیرنده‌های $GABA_A$ است. نشان داده شده که اثر هورمون استرادیول بر تعدیل گیرنده $GABA_A$ باعث افزایش و کاهش اتصال موسیمول در مغز موش می‌شود. این اثرات ضد و نقیض ممکن است ناشی از متدهای بکار گرفته شده باشد [۶، ۷، ۱۳، ۱۶]. همچنین گزارش شده استروژن فعالیت GAD را در نورونها تقویت می‌کند. تجویز استروژن به موش ماده اواریکتومی شده، سطح گابا و اتصال آگونیست $GABA_A$ را در قشر و استریاتوم افزایش می‌دهد [۲].

نتایج تحقیق حاضر نیز با این یافته ها مطابقت دارد و بنابراین احتمال دیگر برای توجیه کاهش تراکم گیرنده در ناحیه Cg_1، M_1 و M_2 در موش‌های تخمدان حذف شده از طریق کاهش فعالیت GAD می‌باشد. از طرفی Akinici و همکاران در تحقیقی نشان دادند که گنادکتومی در موش ماده تغییر قابل

توجهی را نشان نمی‌دهد که مغایر با نتایج تحقیق حاضر است [۱]. در تحقیق حاضر یادگیری باعث کاهش تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ در قشر Cg_1، M_1 و M_2 شد. یک فرضیه محتمل برای چنین کاهشی را می‌توان به تغییرات در pH نسبت داد، به علت اینکه pH بهینه برای آنزیم GAD چیزی حدود ۵/۵ می‌باشد هر گونه کاهش در pH سبب افزایش فعالیت GAD و افزایش غلظت گابا می‌شود. Bown و Shelp (۱۹۹۷) گزارش کردند که در اثر استرس سیتوزول دچار اسیدوز می‌گردد و شرایط مطلوب برای فعالیت آنزیم GAD و تجمع گابا فراهم می‌شود [۳]. این امکان وجود دارد که در حالت یادگیری نیز مشابه استرس فعالیت آنزیم GAD و تجمع گابا وجود داشته و در نتیجه افزایش گابا down regulation گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ اتفاق افتاده باشد. همچنین یادگیری همراه با اواریکتومی باعث افزایش قابل توجهی در تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ می‌شود. موافق با نتایج ما که اثر یادگیری در غیاب هورمون تخمدانی باعث افزایش تراکم این گیرنده می‌شود گزارشات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهند که استروئیدها، گیرنده گابا/بنزودیازپین ها را به دنبال استرس و اواریکتومی تغییر می‌دهند [۱۷] Wilson و Biscardy در ۱۹۹۴ افزایش قابل توجهی در سطح کورتیکواسترون و اتصال جایگاه های گیرنده گابا/بنزودیازپین ها به دنبال استرس شنا سرما (به مدت ۱۰ دقیقه، ۱۸درجه سانتیگراد) در موشهای ماده سالم یا اواریکتومی نشان دادند [۱۷]. از آنجا که متابولیت های قشر فوق کلیه پاسخ به استرس را وساطت می‌کنند و استرس با تغییر یادگیری و حافظه در ارتباط است و باعث تغییر در گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ و تون مهاری آن می‌شود که این تغییرات به نوع الگوی استرس، ناحیه مغز و جنس بستگی دارد.

با توجه به نتایج به دست آمده و نیز مباحث ارائه شده می‌توان چنین نتیجه گرفت که هورمون‌های تخمدانی سبب بهبود یادگیری احترازی غیر فعال در موش صحرایی شده و احتمال می‌رود این اثر مربوط به کاهش تراکم گیرنده $GABA_{A\alpha1}$ باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله، بدین وسیله تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز که تحقیق حاضر را از جهت مالی حمایت کرده است، ابراز می‌دارند.

References

[1] Akinci MK, Johnston GA, Sex differences in the effects of gonadectomy and acute swim stress on GABAA receptor binding in mouse forebrain membranes. ***Neurochem Int*** 31 (1997) 1-10.

[2] Andréen L, Nyberg S, Turkmen S, Wingen GV, Fernández G, Bäckström T, Sex steroid induced negative mood may be explained by the paradoxical effect mediated by GABAA modulators. ***Psychoneuroendocrinology*** 34 (2009) 1121-1132.

[3] Bown AW, Shelp BJ, The Metabolism and Functions of [gamma]-Aminobutyric Acid. ***Plant Physiol*** 115 (1997) 1-5.

[4] Cahill L, McGaugh JL, Weinberger NM, The neurobiology of learning and memory: some reminder to remember. ***Trends Neurosci*** 24 (2001) 578-581.

[5] Fuster JM, The prefrontal cortex--an update: time is of the essence. ***Neuron*** 30 (2001) 319-33.

[6] Laroche S, Davis S, Jay TM, Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses: dual roles in working memory and consolidation. ***Hippocampus*** 10 (2000) 438-446.

[7] Lasaga M, Duvilanski BH, Seilicovich A, Afione S, Debeljuk L, Effect of sex steroids on GABA receptors in the rat hypothalamus and anterior pituitary gland. ***Eur J Pharmacol*** 155 (1988) 163-166.

[8] Makkar SR, Zhang SQ, Behavioral and Neural Analysis of GABA in the Acquisition, Consolidation, Reconsolidation, and Extinction of Fear Memory. ***Neuropsychopharmacol*** 35 (2010) 1625-1652.

[9] Mello EST, Vianna MR, Rodrigues C, Quevedo J, Moleta BA, Izquierdo I, Involvement of the medial precentral prefrontal cortex in memory consolidation for inhibitory avoidance learning in rats. ***Pharmacol Biochem Behav*** 66 (2000) 615-622.

[10] Paxinos G, Watson C, ***The rat brain***, vol. 1, Fifth edn. Sydney: Paul Halasz & Lewis Tsalis, 2004.

[11] Pierson RC, Lyons AM, Greenfield LJJr, Gonadal steroids regulate $GABA_A$ receptor subunit mRNA expression in NT2-N neurons. ***Brain Res Mol Brain Res*** 138 (2005) 105-115.

[12] Ridderinkhof KR, Nieuwenhuis S, Braver TS, Medial frontal cortex function: an introduction and overview. ***Cogn Affect Behav Neurosci*** 7 (2007) 261-265.

[13] Schumacher M, Coirini H, McEwen BS, Regulation of high-affinity $GABA_A$ receptors in specific brain regions by ovarian hormones. ***Neuroendocrinology*** 50 (1989) 315-320.

[14] Skilbeck KJ, Johnston GA, Hinton T, Stress and GABA receptors. ***J Neurochem*** 112 (2010) 1115-1130.

[15] Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B, Do rats have a prefrontal cortex? ***Behav Brain Res*** 146 (2003) 3-17.

[16] Westerling P, Lindgren S, Meyerson B, Functional changes in GABAA receptor stimulation during the oestrous cycle of the rat. ***Br J Pharmacol*** 103 (1991) 1580–1584.

[17] Wilson MA, Biscardi R, Sex differences in GABA/benzodiazepine receptor changes and corticosterone release after acute stress in rats. ***Exp Brain Res*** 101 (1994) 297-306.