

اثر سیستم دوپامینرژیک بر یادگیری فضایی و امواج آهسته هیپوکامپ

محمد حسین اسماعیلی* دکتر فرشته معتمدی** دکتر غلامرضا حسن زاده***

The effect of dopamin system on the spatial learning and rhythmic slow activity of hippocampus

MH. Smaeili F. Motamedi GH. Hassanzadeh

Abstract

Background : There are several lines of evidence which indicates the involvement of Hippocampus and dopaminergic system in different types of learning and memory.

Objective : To determine the effect of Dopamin system on spatial learning and rhythmic slow activity (RSA) of the hip.

Methods : In one group of rats VTA was lesioned bilaterally by ICV injection of 6-OHDA. In two other groups , SCH (0.05 mg/kg,IP) and sulpirid (50 mg/kg,IP) was injected. A pair of electrode was implanted in dorsal hip of the rat.

Findings : In the control group , the rats reached the learning criteria at the 14th session and frequency and duration of RSA to non-RSA increased as learning session progressed. Dopaminergic chemical lesioning of VTA with 6-OHDA impaired spatial learning but had no significant effect on RSA. Injection of Dopamin antagonist impaired acquisition and also decreased the frequency of RSA and ratio of RSA to non RSA on the injection day.

Conclusion : The dopaminergic system has a modulatory effect on RSA of hip and spatial learning.

Keywords : Spatial Learning , Hippocampus

چکیده

زمینه : تحقیقات زیادی نشان داده اند که هیپوکامپ و سیستم دوپامینرژیک در یادگیری و حافظه دخالت دارند.
هدف : این مطالعه به منظور تعیین اثر سیستم دوپامینرژیک بر یادگیری فضایی و امواج آهسته هیپوکامپ انجام شد.
مواد و روش ها : در یک گروه از موش های سفید صحرایی ناحیه دوپامینرژیک تگمنتال شکمی به طور دوطرفه به وسیله تزریق 6-OHDA تخریب شد. در گروه دیگر 0.05 mg/kg SCH ماده و در گروه سوم 50 mg/kg سولپیراید به صورت داخل صفاقی تزریق و اثر آن بر یادگیری فضایی و امواج هیپوکامپ مطالعه شد. در طول آموزش از هیپوکامپ تمام گروه ها به وسیله یک جفت الکترود ثبت به عمل آمد. ضمناً برای هر گروه یک گروه شاهد نیز منظور شد.
یافته ها : به موازات افزایش یادگیری در گروه کنترل ، فرکانس و مدت زمان ظهور امواج آهسته هیپوکامپ افزایش یافت. تخریب ناحیه تگمنتال شکمی باعث کاهش یادگیری فضایی شد ولی بر روی امواج آهسته هیپوکامپ اثری نداشت. البته در روزهای آخر یادگیری ، فرکانس و مدت زمان ظهور امواج آهسته هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل کمتر بود. تزریق آنتاگونیست های دوپامینرژیک فقط در روزهای تزریق باعث کاهش یادگیری و کاهش فرکانس امواج آهسته هیپوکامپ و مدت زمان ظهور آنها شد.

نتیجه گیری : بین یادگیری فضایی و امواج آهسته هیپوکامپ رابطه تنگاتنگی وجود دارد. سیستم دوپامینرژیک در امر یادگیری فضایی دخالت مستقیم دارد اما در تولید امواج آهسته هیپوکامپ دخالت مستقیمی ندارد ، البته ممکن است در تعدیل آن نقش داشته باشد.

کلید واژه ها : یادگیری فضایی - هیپوکامپ

* مربی و عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

** استاد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

*** دانشیار دانشگاه علوم پزشکی قزوین

(این مقاله در چهارمین کنگره جهانی مغز در ژاپن و سی و سومین کنگره جهانی فیزیولوژی در سن پترزبورگ شوروی ارائه شده است)

□ مقدمه :

تحقیقات زیادی نشان داده است که تخریب هیپوکامپ موجب اختلال عمیق در حافظه فعال و یادگیری فضایی می‌شود. (۱۱) از طرفی مشخص شده است که وقتی به حیوان تحریک حسی وارد می‌شود، در امواج مغزی (*Electro Encephalo Graphy, EEG*) هیپوکامپ حیوان امواج شبه سینوسی با فرکانس بین ۴Hz تا ۱۰ ظاهر می‌شود که به آن امواج آهسته منظم (*Rhythmic Slow Activity, RSA*) می‌گویند.

تاکنون دو نوع *RSA* شناسایی شده است. *RSA* نوع یک که در رفتارهای ارادی همچون حرکت‌های کاوشگرانه، راه رفتن، دویدن و شنا کردن ظاهر می‌شود، فرکانس آن بین ۶Hz تا ۱۲ می‌باشد و نسبت به آتروپین مقاوم است.

RSA نوع دوم، در حیوان بیهوش شده با یورتان ظاهر می‌شود و فرکانس آن بین ۴Hz تا ۷ می‌باشد و نسبت به آتروپین حساس است. منشاء *RSA* اخیر نورون‌های کولینرژیک سیتوهیپوکامپ است. منشاء و سیستم‌های نوروترنسمیتری مسئول تولید *RSA* مقاوم به آتروپین تاکنون مشخص نشده است و سیستم‌های نوروترنسمیتری که تاکنون برای این امر کاندید شده‌اند عبارتند از: سیستم دوپامینرژیک، سروتونرژیک و آدرنرژیک. (۱۸)

از آنجایی که تخریب هسته لکوس سرلئوس و یا تحریک الکتریکی این ناحیه آدرنرژیک تأثیری بر امواج ندارد، دو سیستم دیگر اهمیت بیشتری پیدا کرده‌اند. به دلیل این که ناحیه دوپامینرژیک تگمنتال شکمی (*Ventral Tegmental Area, VTA*) به نواحی وسیعی از مغز از جمله هیپوکامپ پروجکشن دارد و

تخلیه کامل دوپامین مغز علائم بیماری پارکینسون را ایجاد و انجام رفتارهای ارادی حیوان را که با ظهور *RSA* همراه است مشکل می‌کند و از طرفی فعالیت طبیعی سیستم دوپامینرژیک برای رفتارهای یادگیری و حافظه و حرکت‌های کاوشگرانه که *RSA* هیپوکامپ با آن‌ها در ارتباط می‌باشد، ضروری است. (۷ و ۲) لذا در این مطالعه سعی شد تا اثرات سیستم دوپامینرژیک بر یادگیری فضایی و امواج *RSA* هیپوکامپ از طریق تخریب ناحیه تگمنتال شکمی و تزریق آنتاگونیست‌های دوپامینرژیک مورد ارزیابی قرار گیرد.

□ مواد و روش‌ها :

در این تحقیق از موش سفید صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۲۸۰ گرم که از مؤسسه رازی کرج تهیه شده بودند، استفاده شد. در طی مراحل مختلف آموزش رژیم غذایی آن‌ها طبیعی بود و فقط حیوانات تحت تجربه به مدت ۲۳ ساعت از آب محروم و تشنه نگه داشته شدند. تعداد نمونه‌ها برای هر گروه ۶ رأس بود و جهت انجام آزمون رفتاری حیوانات از ماز شعاعی هشت پر استفاده شد. قبل از شروع آموزش یک جفت الکتروود ثبات به کمک دستگاه استریوتاکسی ($AP = -3/6$ و $L = +2/5$ و $DV = -2/7$ از سطح سخت شاخه) در لایه *CAI* هیپوکامپ کار گذاشتیم و به کمک سیمان دندان پزشکی الکتروودها را روی سر فیکس کردیم. (۸ و ۹ و ۱۶) در یک گروه از موش‌ها هم‌زمان با کار گذاشتن الکتروود به کمک سرنگ هامیلتون و دستگاه استریوتاکسی ($AP = -4/8$ و $L = +1/1$ و $DV = -7/8$) یک

فقط سرم فیزیولوژی تزریق کردیم. (۳ و ۶) لازم به توضیح است که در این حیوانات قبلاً الکتروگذاری در هیپوکامپ انجام شده بود. برای مقایسه گروه‌های تحت تجربه با گروه کنترل از آزمون من ویتنی استفاده شد.

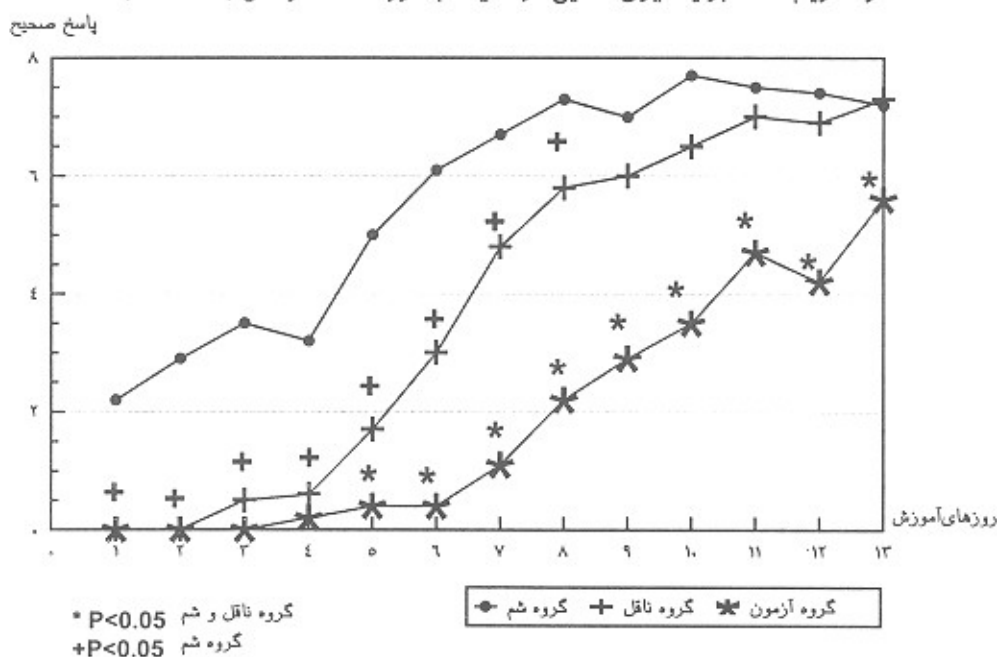
یافته‌ها:

یافته‌های رفتاری نشان داد که موش‌ها در تریال ۱۴ (روز هفتم) به حد استاندارد یادگیری رسیدند. جراحی به منظور الکتروگذاری یا تزریق به درون ناحیه تگمنتال شکمی اثری بر روی میزان یادگیری نداشت. تخریب ناحیه دوپامینرژیک تگمنتال شکمی به وسیله 6-OHDA به شدت یادگیری فضایی را مختل کرد. البته تزریق ناقل 6-OHDA یعنی اسید اسکوربیک نیز یادگیری را کاهش داد اما نه به اندازه 6-OHDA (نمودار شماره ۱).

میکرولیتزر محلول 6-OHDA را در مدت ۶ دقیقه به درون هر کدام از ناحیه تگمنتال شکمی سمت راست و چپ تزریق نمودیم. برای گروه ناقل (Vehicle) نیز همین عملیات را انجام دادیم با این تفاوت که از محلول اسید اسکوربیک ۰/۱ mg/ml استفاده شد. برای گروه Sham فقط سر سوزن هامیلتون را بدون تزریق هیچ ماده‌ای تا ناحیه تگمنتال شکمی فرو بردیم. بعد از اتمام جراحی استریوتاکسی دو هفته به حیوان فرصت بهبودی دادیم و سپس هم‌زمان با ثبت هیپوکامپ، آموزش حیوانات را شروع کردیم. (۴) در دو گروه دیگر از موش‌ها آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینرژیک DI و D2 یعنی ۵۰ mg/kg / ۰/۰ ماده SCH و ۵۰ mg/kg سولپیراید به صورت داخل صفاقی در روزهای اول، چهارم، هفتم و دهم دوران آموزش حیوانات به ترتیب ۳۰ و ۶۰ دقیقه قبل از آموزش تزریق نمودیم. برای گروه ناقل (Vehicle) نیز

نمودار ۱:

اثر تخریب VTA بر یادگیری فضایی در مقایسه با گروه Sham و ناقل (تعداد = ۶)



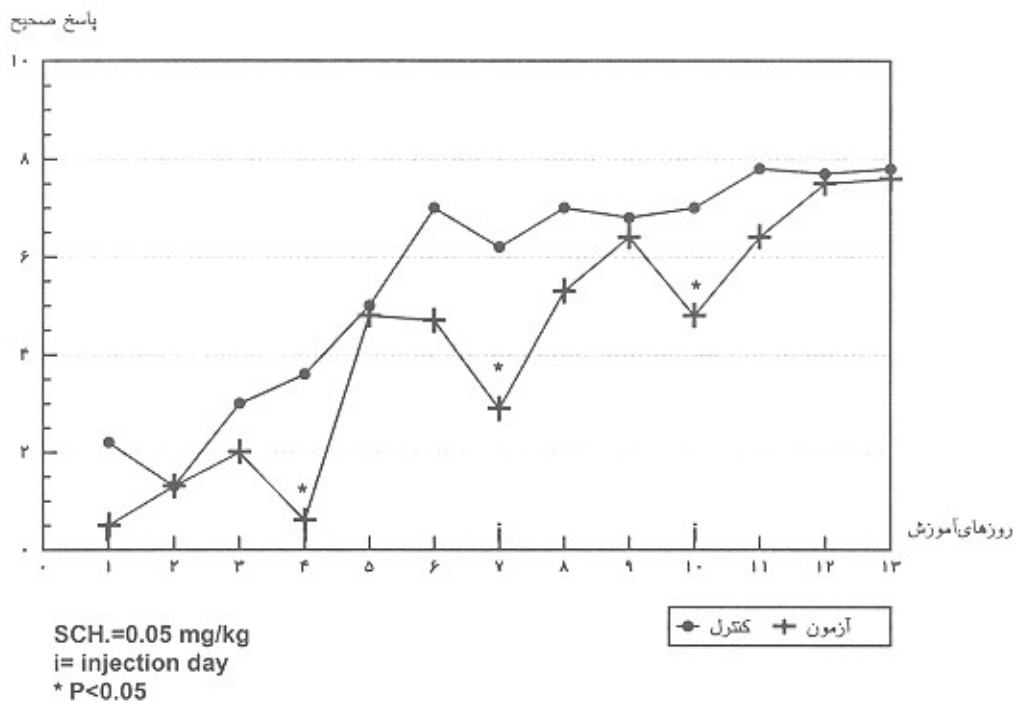
در روزهای آخر یادگیری، فرکانس امواج *RSA* و مدت زمان ظهور این امواج در مقایسه با سایر امواج هیپوکامپ در این گروه نسبت به گروه کنترل کمتر بود و اختلاف معنی دار شد (نمودار شماره ۴).

تزریق آنتاگونیست‌های دوپامینرژیک فقط در روز تزریق توانست نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری ایجاد کند. در این گروه‌ها نسبت به گروه کنترل در روزهای تزریق فرکانس و مدت زمان ظهور امواج *RSA* نسبت به سایر امواج هیپوکامپ کمتر بود (نمودارهای شماره ۵ و ۶)

تزریق آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینرژیک (*SCH* و سولپیراید) فقط در روزهای تزریقی باعث کاهش یادگیری شد (نمودارهای شماره ۲ و ۳).
نتایج الکتروفیزیولوژی نشان داد که به موازات افزایش یادگیری حیوان، فرکانس امواج *RSA* هیپوکامپ و نیز مدت زمان ظهور این امواج نسبت به سایر امواج هیپوکامپ افزایش یافت و تقریباً در تمام ۱۳ روز آموزش روند صعودی داشت، ولی بین یادگیری فضایی حیوان با دامنه امواج *RSA* رابطه‌ای مشاهده نشد. تخریب نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتال شکمی اثر قابل ملاحظه‌ای بر امواج *RSA* نداشت. البته

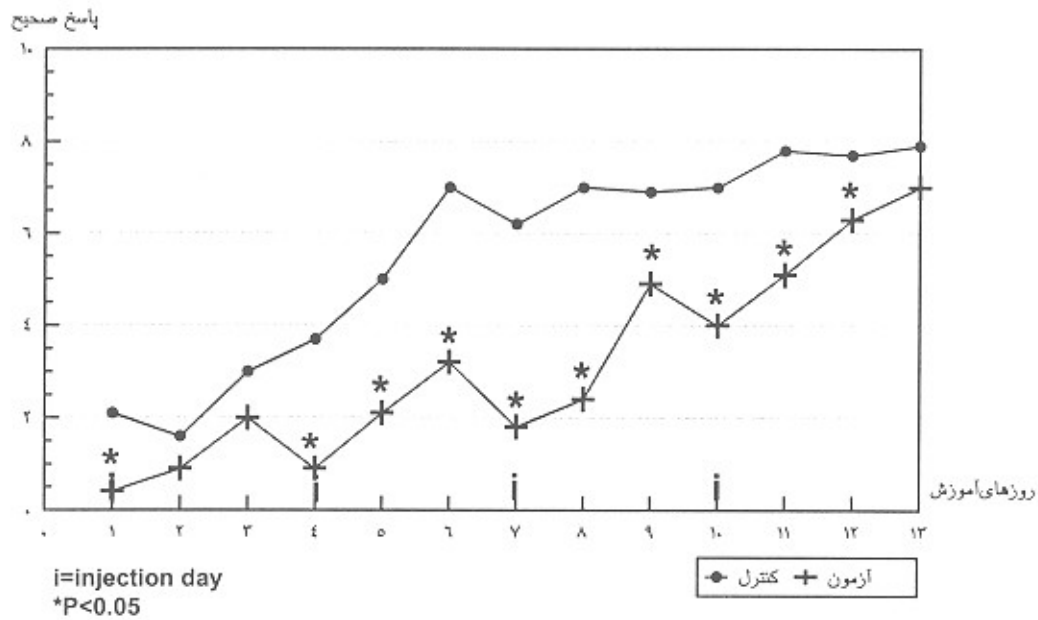
نمودار ۲:

اثر *SCH* بر یادگیری فضایی (تعداد = ۶)



نمودار ۳:

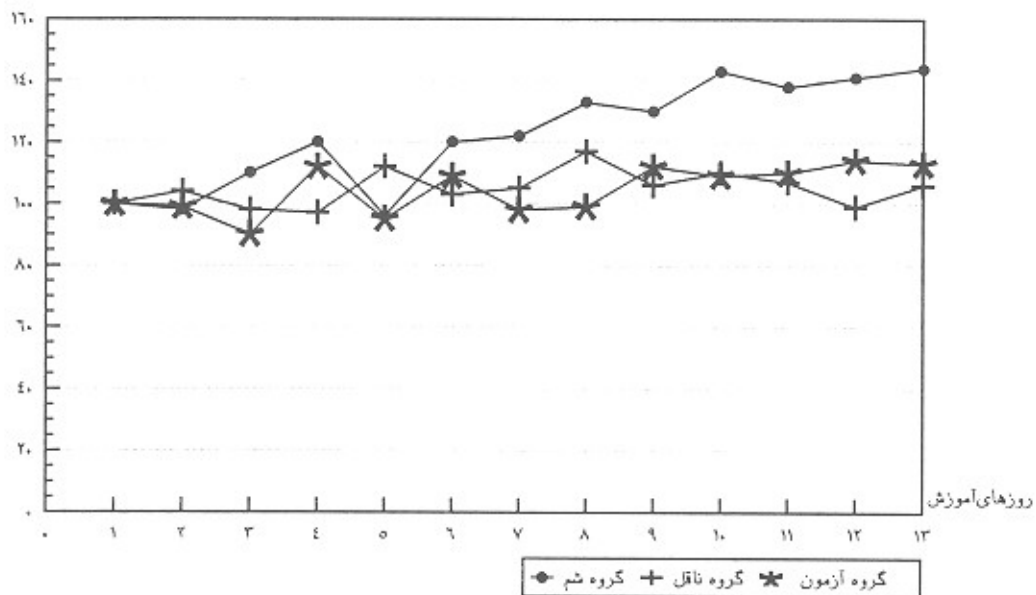
اثر سولپیراید (۵۰mg/kg) بر یادگیری فضایی (تعداد = ۶)



نمودار ۴:

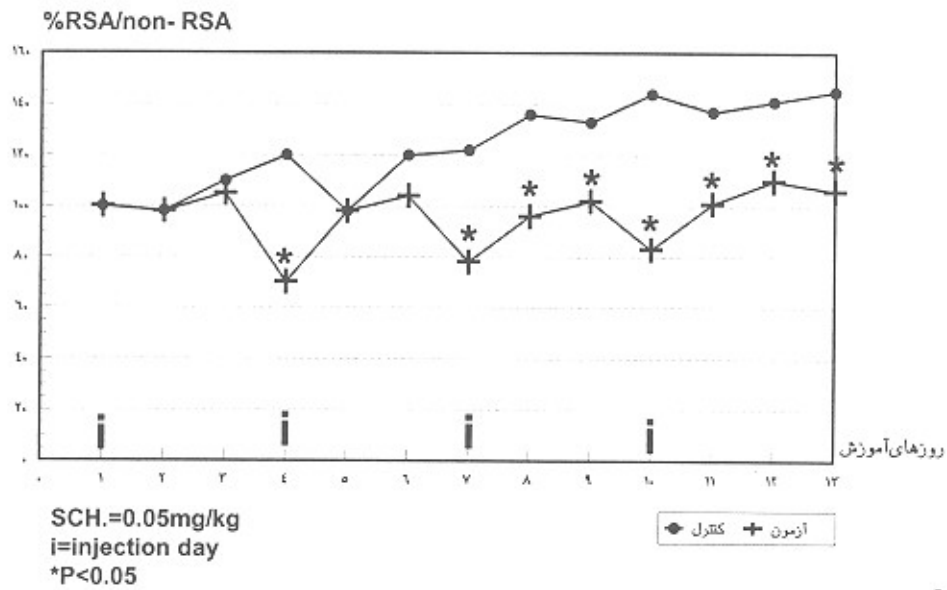
اثر تخریب VTA بر نسبت مدت امواج RSA/non-RSA در طول آزمون (*P < ۰/۰۵)

%RSA/non- RSA



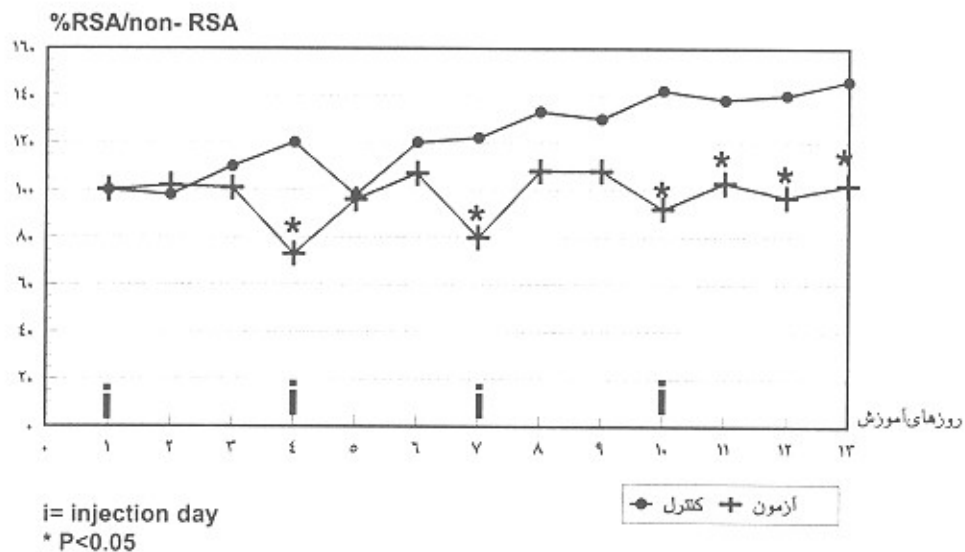
نمودار ۵:

اثر SCH بر نسبت مدت امواج RSA/non-RSA در طول آزمون (تعداد = ۶)



نمودار ۶:

اثر سولپیراید (۵۰ mg/kg) بر نسبت مدت امواج RSA/non-RSA در طول آزمون (تعداد = ۶)



بحث و نتیجه گیری:

مطالعات زیادی نشان می‌دهد که روند یادگیری و حافظه نسبت به تغییرات فعالیت سیستم دوپامینرژیک و داروهایی که بر روی این سیستم اثر می‌گذارند،

حساس است. (۱۶)

امروز مشخص شده است که بین امواج RSA هیپوکامپ، یادگیری و حافظه رابطه تنگاتنگی وجود

درون ناحیه تگمنتال شکمی باعث به تأخیر انداختن یادگیری فضایی شد. این مشاهده با نتایج کالی و سیمون مغایر است. ایشان نشان داده بودند تزریق اسید اسکوربیک به درون ناحیه تگمنتال شکمی اثری بر یادگیری ندارد. (۱۲ و ۲) ولی با نتایج محققینی که نشان داده بودند در پاره‌ای از رفتارها اسید اسکوربیک اثرات ضد دوپامینی از خود نشان می‌دهد موافق است. (۱۵ و ۱۰)

بلوک کردن گیرنده D_1 دوپامینی موجب کاهش یادگیری فضایی در روزهای تزریق شد. همچنین دو پارامتر فرکانس و مدت زمان ظهور امواج RSA نیز در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. این نتایج، یافته‌های ایشی‌هارا و همکاران را که نشان داده بودند $SCH\ 23\ 390$ می‌تواند یادگیری را مختل کند، تأیید می‌کند. (۷) از آنجایی که هم زمان با کاهش یادگیری فضایی، فرکانس RSA و مدت زمان ظهور آن کاهش یافت، می‌توان نتیجه گرفت رفتارهایی همچون یادگیری فضایی با ظهور امواج RSA در هیپوکامپ در ارتباط است.

از طرف دیگر بلوک کردن گیرنده D_2 دوپامینی نیز توانست یادگیری فضایی را مختل کند و هم زمان فرکانس و مدت زمان ظهور امواج RSA را به ویژه در روزهای تزریق کاهش دهد. این تأیید می‌کند که بین ظهور امواج RSA و رفتارهای همچون یادگیری فضایی ارتباط تنگاتنگی وجود دارد. (۱ و ۱۵ و ۱۷)

از این نظر یافته‌های ما با نتایج ایشی‌هارا که نشان داده بود بلوک گیرنده D_2 اثری بر یادگیری ندارد مغایر است. (۷) ولی با نتایج کستلانو و همکارانش که نشان داده بودند تحریک گیرنده D_2 موجب بهبود یادگیری می‌شود موافق است. (۳)

دارد. زیرا دست‌کاری‌هایی که منجر به کاهش یا حذف امواج RSA بشود مشابه با تخریب خود هیپوکامپ موجب اختلال شدید در یادگیری و حافظه می‌شود. (۱۶ و ۱۴) محققین نشان داده‌اند که بعد از یک آزمون یادگیری کامل فرکانس امواج RSA به مراتب بالاتر از فرکانس این امواج در مراحل ابتدایی یادگیری است. (۱۷ و ۱۶) نتایج ما نشان داد که اولاً تخریب نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتال شکمی موجب کاهش شدید یادگیری فضایی می‌شود که از این نظر مشابه یافته‌های کالی و همکاران و سیمون و همکاران است. (۱۲ و ۲) ولی با نتایج هاوول و همکاران که نشان داده بودند تخریب نورون‌های دوپامینرژیک سپتوم موجب بهبود یادگیری و حافظه می‌شود مغایر است. (۶)

بنابر این به نظر می‌رسد که اختلال ایجاد شده در یادگیری به خاطر تخریب ناحیه تگمنتال شکمی از طریق محور تگمنتال شکمی به سپتوم - هیپوکامپ نیست.

از طرف دیگر علی‌رغم این که تخریب ناحیه تگمنتال شکمی یادگیری فضایی را کاهش داد، به جز در روزهای آخر اثری بر روی امواج RSA هیپوکامپ نداشت. این یافته با نتایج ویشا و واندرولف که نشان داده بودند تخلیه کل سیستم دوپامینرژیک مغز اثری بر RSA ندارد هم‌خوانی داشت. (۱۶ و ۱۸) قسمت آخر آزمایش نشان داد که در چند روز آخر، فرکانس و نسبت امواج RSA به سایر امواج در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کمتر بوده است. این یافته با فرضیه ویشا موافق است که اعلام نموده بود شاید سیستم دوپامینرژیک بتواند از طریق تغییر رفتار یادگیری حیوان بر روی امواج RSA اثر بگذارد. (۱۸)

تزریق ناقل $6-OHDA$ (یعنی اسید اسکوربیک) به

9. Paxinos G. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 2nd ed, USA, Academic press, 1986
10. Rebec G. A vitamine as neuromodulator. *Prog Neurobiol* 1994; 43 : 537-65
11. Scoville WB. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesion. *J Neurobiol Neurosurg Psychiatry* 1957; 20 : 11-2
12. Simon H. Dopaminergic A1. Neurons area involved in cognitive function. *Nature* 1980; 286 : 150-1
13. Smith ML. The role of the right hippocampus in the recall of spatial location. *Neuropsychologia* 1981; 781 : 781-93
14. Stewart M. Do septal neurons pace the hippocampal thetarhythm. *Tins*, 1990 : 163-8
15. Tolbert LC. Ascorbic acid modulates D1 and D2 antagonist binding in vitro, *Society for Neuroscience Abstract*, 1994, 20 : 521
16. Vanderwolf CH. Neocortical and hippocampal activation in relation to behavior. *J Comp Physiol Psychology* 1975; 88 : 300-23
17. Whishaw IQ. Hippocampal EEG and Behavior. *Behav Biol* 1973; 8 : 461-84
18. Whishaw IQ. Electrical activity of the hippocampus and neocortex in rats depleted of brain dopamine and norepinephrine. *Exp Neurol* 1978; 62 : 748-67

با توجه به مطالب فوق به نظر می‌رسد سیستم دوپامینرژیک به طور مستقیم در تولید امواج RSA نقش ندارد و احتمالاً از طریق اثر بر یادگیری حیوان میزان ظهور آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

□ مراجع :

1. Adey WR. Hippocampal state and functional reaction with cortico-subcortical system in learning. *Prog Brain Res* 1987; 27 : 228-45
2. Caley D. Alternation behavior spatial discrimination after electro coagulation of the VTA *Behav Neural Biol* 1979; 27 : 81-8
3. Castellano co. Post training dopamine receptor agonists and antagonists effect memory storage *Behav Neural Biol* 1991; 51 : 283-91
4. Ehler CL. Long latency event-related potential: effect of dopamine and serotonergic depletions. *Pharmacol Biochem Behav* 1991; 38: 789-93
5. Green J. Hippocampal electrical activity in arousal. *J Neurophysiol* 1994; 17 : 532-57
6. Hawel LE. Facilitated reversal learning by septal injection of 6-OHDA. *Exp Neurol* 1984; 85 : 69-77
7. Ichihara K. Effects of Haloperidol, Sulpiride, SCH on passive avoidance learning. *Eur J Pharmacol* 1998; 151 : 435-42
8. Olton DS. Spatial memory in rat. *J Exp Psychol* 1976; 2 : 97-115