

اثر غیرفعال سازی موقتی دو طرفه هسته قاعده‌ای جانی آمیگدال

بر ذخیره حافظه موش

عباسعلی وفایی^{*} دکتر علی رشیدی‌پور^{**} دکتر محمد رضا شریفی^{***} دکتر حجت‌الله علابی^{****} میلر نوبیار^{*****} محمدحسین اسماعیلی^{*****}

Effects of reversible inactivation of bilateral basolateral Amygdala area on memory storage in rat

A. Vafaei A. Rashidi MR. Shrifí H. Allaei M. Nobahar MH. Smaeili

Abstract

Background : Basolateral amygdala area has a major role in the retention of passive avoidance learning.

Objective : To determine the effects of reversible inactivation of bilateral basolateral Amygdala area on memory storage in rat.

Methods : Male wistar rats were surgically implanted bilaterally with cannulae at the BLA. One week later they received one trial PAL (1 mA 1.5 S) and immediately on 60, 90 and 120 min after posttraining, lidocaine was infused into the BLA. Retention was tested two days after training.

Findings : Findings indicated a significant impaired retention performance 60 and 90 minutes after posttraining infusion of lidocaine into the BLA. Infusion administered 120 minutes after training had no effect.

Conclusion : The time-dependent retrograde impairment of memory produced by posttraining reversible inactivation of the BLA suggests that this region of the amygdala is involved in the consolidation and storage of memory for PAL.

Keywords : Basolateral Amygdala Area (BLA), Passive Avoidance Learning (PAL), Reversible Inactivation, Memory

چکیده

زمینه : آمیگدال نقش اساسی در اکتساب یادگیری‌های هیجانی دارد، ولی مشخص نیست که فعالیت این هسته تا چه زمانی بعد از آموزش برای ثبیت اطلاعات تازه آموخته شده ضروری است.

هدف : مطالعه حاضر به متوجه بررسی نقش آمیگدال در یادگیری و حافظه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها : در این مطالعه از موش‌های نر با وزن ۲۰-۲۵ گرم استفاده شد. ابتدا به صورت دو طرفه روی هسته قاعده‌ای جانی آمیگدال کانول راهنمایی گذاشتند و یک دقیقه بعد، موش در دستگاه اخترازی غیرفعال آموزش داده شد (۱ میلی‌آمپر شوک DC برای مدت ۱/۵ ثانیه). بلافضله، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از آموزش، لیدوکائین ۲٪ (۵/۵٪) میکرولیتر به ازای هر هسته به عنوان یک عامل غیرفعال کننده برگشت پذیر به صورت دو طرفه داخل هسته فوق تزریق شد. ۴۸ ساعت بعد تست به خاطرآوری انجام شد که در طی آن، مدت زمانی که طول می‌کشد تا حیوان به محفظه تاریک دستگاه وارد شود و مدت زمانی که در محفظه تاریک باقی می‌ماند در طی ۱۰ دقیقه تست یادداشت و به عنوان معیار میزان حافظه در نظر گرفته شد.

یافته‌ها : تزریق لیدوکائین در بلافضله، ۶۰ و ۹۰ دقیقه پس از اکتساب به طور معنی‌داری به خاطرآوری اطلاعات را در طی تست مختل نمود، ولی این اثر در زمان ۱۲۰ دقیقه دیده نشد.

نتیجه‌گیری : یافته‌های نشان داد که آمیگدال نقش مهمی در تعدیل، ثبیت و اکتساب اطلاعات تازه آموخته شده مربوط به حوادث هیجانی تا حداقل ۹۰ دقیقه بعد از رخداد حادثه دارد.

کلید واژه‌ها : هسته قاعده‌ای جانی آمیگدال - غیرفعال کردن برگشت پذیر - یادگیری اخترازی غیرفعال - حافظه

* مریض دانشگاه علوم پزشکی سمنان
** دانشیار دانشگاه علوم پزشکی سمنان
*** استادیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
**** دانشیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
***** مریض دانشگاه علوم پزشکی قزوین

□ مقدمه :

مشخص می شود. این حالت می تواند نه تنها به علت تخریب انگرام حافظه یا روش های دسترسی به آن باشد بلکه می تواند ناشی از آسیب ورودی های حسی یا خروجی های حرکتی، عدم حالت هیجانی کافی و هوشیاری پایین نیز باشد.

اخیراً در تعدادی از مطالعات رفتاری از تکنیک حذف برگشت پذیر استفاده شده که مشکلات تخریب دائمی را ندارد. (۲۳ و ۲۴) با کمک این تکنیک می توان فعالیت یک ساختمان مغزی را در خلال یک مرحله و قدم خاصی از یادگیری، برای مثال اکتساب، متوقف کرد. این در حالی است که سایر مراحل یادگیری مانند به خاطرآوری اطلاعات، همچنان فعال است. به این ترتیب می توان پیامد حذف ساختار را در آن مرحله ویژه یادگیری ارزیابی کرد. (۱۷) مطالعات اخیر نشان می دهد که غیرفعال سازی برگشت پذیر آمیگdal توسط لیدوکائین یا تترودوتوكسین سبب اختلال ذخیره اطلاعات حافظه می شود. (۱) در این مطالعات به طور دقیق مشخص نشده است که تا چه مدت بعد از آموزش، حضور آمیگdal فعال برای ذخیره اطلاعات حافظه ضروری است. از این رو در زمان های مختلف بعد از آموزش، آمیگdal توسط لیدوکائین غیرفعال شد و اثر آن بررسی گردید.

□ مواد و روش ها :

در این مطالعه از موش های نر نژاد ویستار با وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. موش ها در قفس های مخصوص و در یک اطاق با درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی گراد، ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی

تنظیم و کنترل هر فرآیندی از ساده تا پیچیده به اطلاعاتی نیازمند است که باید به گونه ای ذخیره شود. این ذخیره سازی، براساس مکانیسم های یادگیری و حافظه صورت می گیرد که ناشی از تغییر ارتباط های بین سلول های عصبی است. (۲۱) یکی از عواملی که بر یادگیری و حافظه اثر می گذارد و قایع هیجانی هستند که اثرات آنها به خوبی حفظ می شود. (۹ و ۲۷)

آمیگdal یک ساختار مهم مغزی است که در ذخیره اطلاعات (حافظه) مربوط به رویدادهای هیجانی نقش مهمی بازی می کند. (۱۶ و ۱۴ و ۲۷) آمیگdal از مناطق مختلفی تشکیل شده است و هسته قاعده ای جانی آن نقش مهمی در تعديل ذخیره اطلاعات دارد. (۱۶ و ۷ و ۵)

یافته های قبلی نشان می دهد که تخریب و تحریک های الکتریکی و شیمیایی هسته قاعده ای جانی آمیگdal سبب اختلال در حافظه و یادگیری احترازی غیرفعال می شود. (۱۸ و ۱۶ و ۱۰) از طرف دیگر، نشان داده شده است که تخریب دائمی آمیگdal یک هفته تا یک ماه بعد از آموزش، اختلالی در حافظه و به خاطرآوری اطلاعات ایجاد نمی کند. از این رو به نظر می رسد آمیگdal در اکتساب یادگیری شرکت دارد ولی مکان ذخیره اطلاعات حافظه نیست، بلکه ذخیره اطلاعات حافظه را در دیگر ساختمان های مغزی از جمله هیپوکمپ و هسته دم دار تعديل می کند. (۱۸ و ۱۰ و ۵)

بیشتر مطالعات بررسی نقش آمیگdal در یادگیری و حافظه به روش تخریب دائمی از طریق تحریک الکتریکی یا تزریق مواد شیمیایی انجام شده است. فراموشی ایجاد شده به وسیله تخریب، معمولاً با ناتوانی حیوان برای به خاطرآوری اطلاعات کسب شده

دستگاه یادگیری ۱ آند فیدر فعال سازی موقتی دو طرفه ...

پلکسی گلاس مکعب عرض ۲۰ سانتی متر د، عضلانی تزریق شد ، موش ها تا قسمت کف و ارتفاع یک درب گیوتینی به درجه حرارت کنترل شده قرار سانتی متر و تاریک به بود. در کف هر دو بخش مستطیل با طول ۹۱ سانتی متر، یک سانتی متر از هم قسمت بالا و ۶/۴ سانتی متر در دستگاه به یک مدار شدن کلید مدار ، جر ۲ سانتی متر بود. دستگاه توسط فرکانس مشخص از طول ۶ سانتی متر تقسیم شده یک محل بدون صدا میله های ضد زنگ به فاصله رار داشتند و کف قسمت تاریک کتریکی وصل بود که با روشن ان الکتریکی با مدت ، شدت و کف آن عبور می کرد. دستگاه در ورفت و آمد قرار گرفته بود.

(لکه های توپر مکان سر سوزن را در چ ۱ میلی گرم به

به ازای هر شدن. سپس

ه. و دو کانول

۱ و طول ۱۵

نی آمیگدال

$DV = 7 M1$

کل شماره ۱)

ک و اکریل

شدن. برای

یم ظریف از

بود در داخل

نگهداری شدن. آب و غذا آزادانه در اختراحی برای داده شد.

۲۲

موش ها با ترکیب دارویی کتابخانه (۰۰

ازای هر کیلوگرم) و رمپوان (۱۴ میلی گرم

کیلوگرم) با تزریق داخل عضلانی بیهوده

جمجمه موش در استریوتاکسی فیکس شا

فلزی از جنس ضد زنگ (شماره ۲۲

میلی متر) درست بالای هسته قاعده ای جا

در هر طرف $-2/9 mm = AP = \pm 4/9$

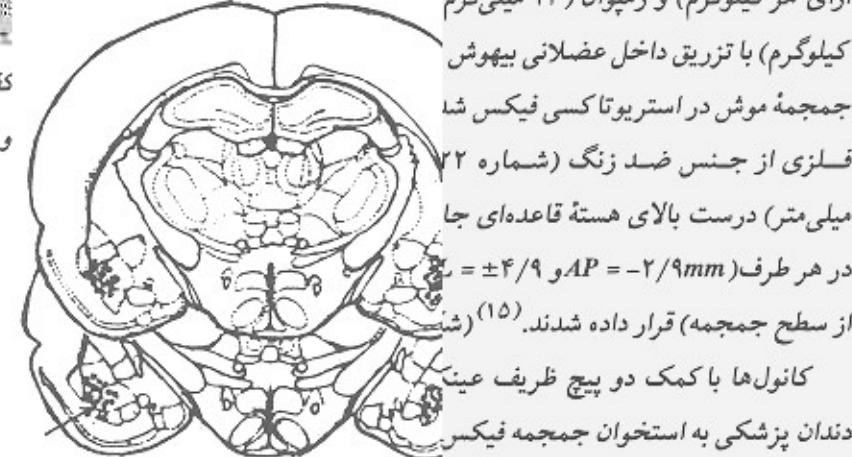
از سطح جمجمه) قرار داده شدند. (۱۵) (شناخت

کانول ها با کمک دو پیچ ظریف عین

دندان پزشکی به استخوان جمجمه فیکس

جلوگیری از بسته شدن کانول ها ، یک س

جنس مس که به روغن معدنی آغشته شده



از میان مکان تزریق با اقتباس از اطلسous

لانول قرار داده شد. بلا فاصله پس از جم

دین مورد آزمایشی نشان می دهد که جایگاه آ

جلوگیری از عفونت به میزان ۱۵۰۰ تا ۰

(۱۵) Watson و Paxir

نهایا صحیح ارزیابی شده است)



تاریک به سر می‌برد یادداشت شد.

برای پی بردن به محل قرار گرفتن کانول، بعد از کامل شدن آزمون‌های رفتاری، موش‌ها با دوز بالایی از اورتان (۱/۵ گرم به ازای کیلوگرم) بیهوده شدند و مغز آنها خارج و برای ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. سپس مقاطع ۴۰ میکرومتری تهیه و با کریستال و یولت رنگ آمیزی و در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شد. داده‌های حیوان‌هایی که در آنها کانول در هسته مورد نظر قرار نگرفته بود از بررسی آماری حذف گردید.

نتایج با آزمون آماری غیر پارامتریک من ویتنی آنالیز شدند. اختلاف $P < 0.05$ بین گروه‌های مورد آزمایش از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

■ یافته‌ها:

آنالیز *STL* گروه‌های مختلف حاکی از این بود که تزریق لیدوکائین در بلافصله، ۶۰ و ۹۰ دقیقه پس از آموزش به داخل کمپلکس قاعده‌ای جانبی آمیگدال در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری به خاطرآوری اطلاعات را مختل کرد ($P < 0.01$)، ولی تفاوت بعد از ۱۲۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (نمودار شماره ۱).

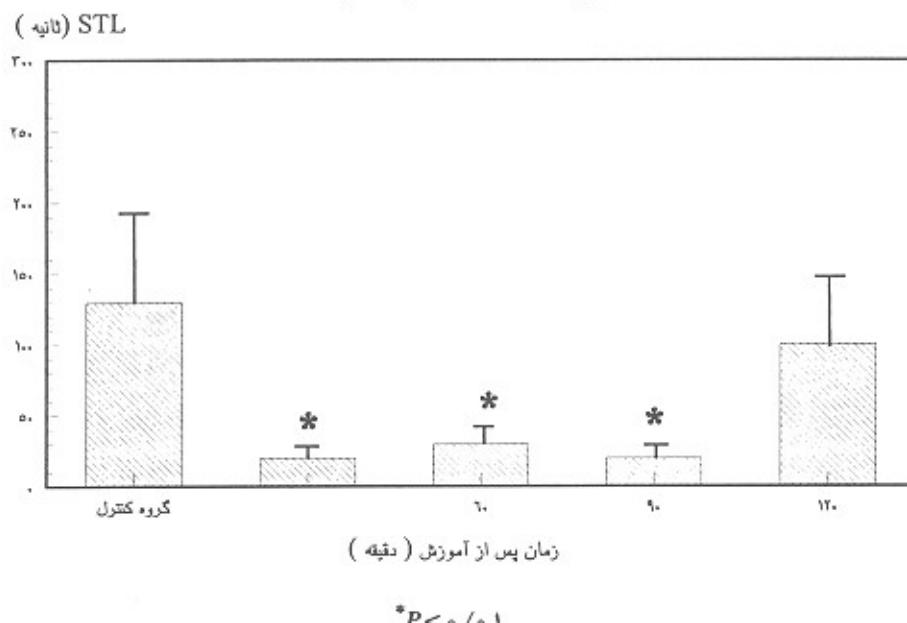
آنالیز داده‌ها در رابطه با زمان گذرانده شده در محفظه تاریک، مشابه نتایج آنالیز *STL* بود. تزریق لیدوکائین به داخل کمپلکس قاعده‌ای جانبی آمیگدال در بلافصله، ۶۰ و ۹۰ دقیقه پس از آموزش در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری به خاطرآوری اطلاعات را مختل کرد ($P < 0.01$)، ولی تفاوت بعد از ۱۲۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (نمودار شماره ۲).

یک هفته پس از جراحی، همه گروه‌های آموزشی به دستگاه عادت داده شدند. هر موش ابتدا در قسمت روشن دستگاه پشت به درب قرار داده شد و وقتی که موش به طرف درب می‌چرخید درب باز می‌شد و اجازه داده می‌شد حیوان وارد قسمت تاریک شود. بلافصله درب بسته می‌شد و حیوان از قسمت تاریک گرفته و به قفس بازگردانیده می‌شد. این روش دو بار دیگر در فواصل ۳۰ دقیقه‌ای تکرار گردید.

اکتساب یادگیری ۳۰ دقیقه بعد از بار سوم سازش یافتن، انجام شد. به دنبال وارد شدن موش به قسمت تاریک درب بسته شد و شوک الکتریکی با شدت ۱ میلی آمپر و به مدت ۱/۵ ثانیه از طریق سیم‌های استیل تعییه شده در کف قسمت تاریک به حیوان اعمال شد. بعد از آموزش، بلافصله موش از دستگاه خارج شد و لیدوکائین ۲ درصد به میزان ۵/۰ میکرولیتر به ازاء هر طرف همزمان تزریق شد. برای تزریق از سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری و لوله پلی اتیلن استفاده شد. در یک سر لوله پلی اتیلن یک سوزن تزریق (شماره ۲۷ با طول ۱۶/۵ میلی‌متر) قرار داده شد که وارد کانول می‌شد و در سر دیگر سرنگ هامیلتون قرار می‌گرفت. تزریق با سرعت ۰/۵ میکرولیتر در مدت ۴۵ ثانیه با کمک پمپ اتوماتیک صورت گرفت و سوزن تزریق برای ۲ دقیقه برای جلوگیری از پس زدن مایع در داخل کانول باقی ماند. ۴۸ ساعت بعد از آموزش، آزمون به خاطرآوری انجام شد. حیوان در قسمت روشن پشت به درب قرار داده شد و پس از چرخیدن موش به طرف درب، درب باز شد. زمانی که طول می‌کشید (*Step-Through Latency, STL*) تا حیوان وارد قسمت تاریک شود و کل مدت زمانی که حیوان در مدت ۱۰ دقیقه آزمون در قسمت روشن و

نمودار ۱:

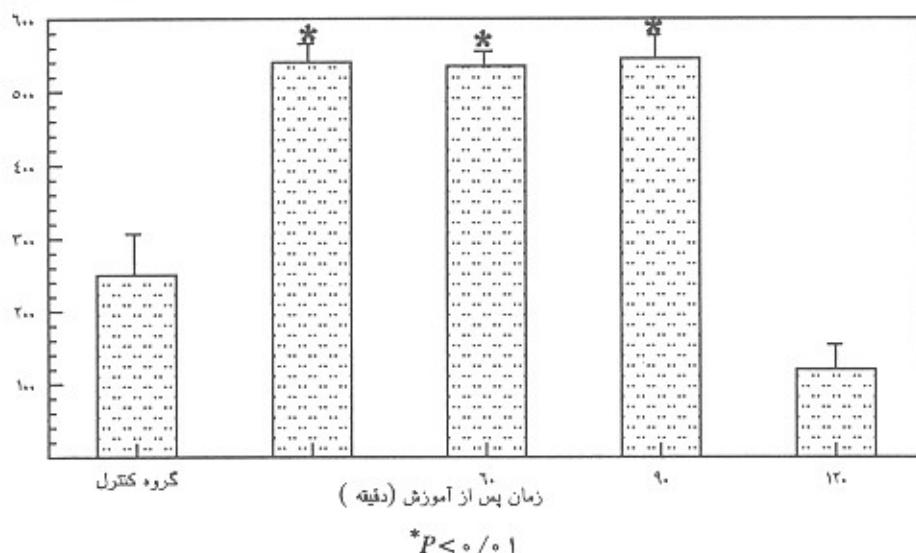
اثر غیرفعال سازی موقتی هسته قاعده‌های جانبی آمیگدال بر زمانی که طول می‌کشید
تا حیوان وارد محفظة تاریک شود (STL)



نمودار ۲:

اثر غیرفعال سازی موقتی هسته قاعده‌های جانبی آمیگدال بر زمان طی شده در محفظه تاریک

زمان طی شده در محفظه تاریک (ثانیه)



$*P < 0.01$

■ بحث و نتیجه‌گیری:

مرکزی آمیگdal اثری بر ذخیره اطلاعات ندارد^(۱۶)، یافته‌های بررسی کنونی و مطالعه بوچرلی و همکاران نشان می‌دهند که هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal نقش اختصاصی در اکتساب اطلاعات مربوط به یادگیری هیجانی دارد.^(۱) ضمناً یافته‌های ما این نکته را تأیید می‌کند که دخالت کمپلکس قاعده‌ای جانبی در ایجاد یادگیری در زمان‌های نسبتاً محدود است. مشخص نیست که احتلال یادگیری به دنبال غیرفعال کردن برگشت پذیر هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal بعد از آموزش با لیدوکائین، ناشی از غیرفعال شدن نورون‌های هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal دخیل در یادگیری است یا به علت غیرفعال شدن فیبرهای عبوری از میان هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal است.^(۱۶ و ۱۷) تخریب هسته فوق قبل از آموزش، که بر فیبرهای عبوری نیز اثر می‌کند، سبب احتلال یادگیری احترازی می‌شود.^(۱۶)

احتلال ایجاد شده توسط لیدوکائین در مطالعه حاضر می‌تواند به علت غیرفعال شدن فیبرهای عبوری باشد. برای رد این احتمال، نیاز است که غیرفعال سازی برگشت پذیر هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal با ماده‌ای که فیبرهای عبوری را غیرفعال نسازد مثل آگونیست گابا (موسیمول) انجام شود.^(۲۳ و ۲۴) نکته قابل بحث دیگر این است که هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal زمان نسبتاً محدودی در تشییت اطلاعات آموخته شده درگیر است. از این رو، آمیگdal نمی‌تواند مکان ذخیره اطلاعات باشد و عقیده بر این است که آمیگdal ذخیره و اکتساب اطلاعات را در دیگر نقاط مغز تنظیم می‌کند.^(۱۱ و ۱۰)

یافته‌های این مطالعه نشان داد که حذف برگشت پذیر هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal سبب اختلال در تشییت اطلاعات تازه آموخته شده (حافظه) در مدل یادگیری احترازی غیرفعال می‌شود. این اثر وابسته به زمان است، به طوری که حداقل تا ۹۰ دقیقه بعد از آموزش، غیرفعال سازی آمیگdal سبب اختلال تشییت حافظه می‌شود.

لیدوکائین یک بی‌حس کننده موضعی است که با کاهش دادن نفوذ پذیری یون‌های سدیم در غشاء پلاسمایی، حذف برگشت پذیر و موقتی ایجاد می‌کند. نیم میکرو لیتر لیدوکائین ۴ درصد، مساحتی به قطر ۲ میلی‌متر را غیرفعال می‌سازد که تقریباً معادل قطر هسته قاعده‌های جانبی آمیگdal است. اثر مسدودکننده‌گی لیدوکائین برای مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه دوام دارد و فعالیت هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal در کمتر از یک ساعت کاملاً به حالت طبیعی بر می‌گردد.

نتایج این مطالعه مؤید یافته‌های بوچرلی و همکاران است که معتقدند غیرفعال سازی برگشت پذیر هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal با تترودو توکسین سبب اختلال وابسته به زمان ذخیره حافظه می‌شود. به این معنی که تزریق تترودو توکسین به داخل آمیگdal تا ۹۰ دقیقه بعد از آموزش، ذخیره حافظه را مختل می‌کند ولی تزریق آن ۶ ساعت و یا ۱۴ ساعت بعد از آموزش این اثر را ندارد.^(۱)

آزمایش حاضر با نشان دادن این که تزریق لیدوکائین به داخل هسته قاعده‌ای جانبی آمیگdal بعد از آموزش نیز سبب آسیب حافظه می‌شود این یافته‌ها را تأیید می‌کند. با توجه به این که غیرفعال سازی هسته

- behavioral and physiological stress responses.*
Prog Brain Res 1987 ; 17 : 57-70
3. Cahill L , Prins B b.*Adernergic activation and memory for emotional event.* *Nature 1994 , 371 : 702-4*
 4. Cahill L , McGough JL. *Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory.* *Trends nerurosci 1998 ; 21 : 294-9*
 5. Cahill L etal. *Amygdala complex lesion differentiatly affect retention of tasks using appetitive and aversive reinforcement.* *Behav Neurosci 1994 ; 104 (4) : 532-43*
 6. Colemen-Meschies K etal. *Unilateral amygdala inactivation after training attenuates momory for reduced reward.* *Behav Brain Res 1996 ; 77: 175-80*
 7. Ishikawa K , McGough JL , Sakata H. *Brain processes and memory proceeding of the 16th nihon international symposium on Brain processes and memory , Tokyo Japan. 1995 ; 29: 39-54*
 8. Izquierdo I etal. *Neurotransmitter receptors involved in posttraining memory processing by the amygdala medial septum and hippocampus of the rat.* *Behav Neural Biol. 1992 ; 58 : 16-26*
 9. Ledoux JE. *Emotion memory and the Brain.* *Sci Am ; 1994 : 32-9*
 10. McGaugh JL etal. *Involvement of the amygdala in neuromodulatory influences on*

سیستم بتا آدرنرژیک آمیگدال نقش مهمی در ذخیره اطلاعات (حافظه) بازی می کند. مشاهده شده است که تزریق آنتاگونیست بتا آدرنرژیک به داخل هسته قاعده ای جانبی آمیگدال ، افزایش حافظه ناشی از اثر سیستمیک یا داخل آمیگدال گلوکوکورتیکونید را بلوك می کند. (۳ و ۱۲ و ۲۱) این یافته نشان می دهد که سیستم بتا آدرنرژیک آمیگدال نقش مهمی در وساطت اثر گلوکوکورتیکونیدها دارد. (۳)
 به طور کلی مطالعه ما نشان می دهد که هسته قاعده ای جانبی آمیگدال نقش مهمی در تثبیت اطلاعات بازی می کند و اثر آن وابسته به زمان است و فعالیت آن حداقل تا ۹۰ دقیقه بعد از آموزش برای تثبیت اطلاعات ضروری است. برای تعیین سیستم های نروترانسمیتری درگیر مطالعات بیشتری لازم است.

■ سپاسگزاری :

بدین وسیله از آقایان دکتر رفعتی ، دکتر شاه نظری ، دکتراحمدی و همکاران بخش فیزیولوژی دانشگاه های علوم پزشکی اصفهان و سمنان تشکر و قدردانی می شود.

■ مراجع :

1. Bucherelli C , Giovanna T , Bures J. *Time-dependent disruption of passive avoidance acquisition by post-training intra-amygadala injection of tetrodotoxin in rats.* *Neurosci lett 1992 ; 140 : 231-4*
2. Bohus B etal. *Neuroendocrine states and*

- memory storage. The amygdala* 1992 ; 431-51
11. McGaugh JL etal. Involvement of the amygdala in memory storage interaction with other brain systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 13508-14
12. McGaugh JL etal. Memory enhancing effects of posttraining naloxone : involvement of B-noradrenergic influences in the amygdala complex. *Brain Res* 1988 ; 446 : 37-49
13. McGaugh JL etal. Neuromodulatory system and memory storage role of amygdala. *Brain RES* 1993 ; 58: 81-90
14. McGaugh JL. Dissociating learning and performance drug and hormone enhancement of memory storage. *Brain Res Bull* 1989; 23 (4-5): 339-45
15. Paxinos G , Watson C. *the Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* , 2nd ed , Orlando , Academic Press , 1986
16. Parent MB , McGaugh JL. Posttraining infusion in to the amygdala basolateral complex impairs retention of inhibitory avoidance training. *Brain Res* 1994 ; 106 : 97-103
17. Rashidy-Pour A. Effect of functional ablation of medial septal area on learning and memory : Electrophysiological and behavioural studies. *Tesis of PhD degree , Tarbiat Modarres Univ of IRAN. Winter , 1995*
18. Roozendaal B , McGaugh JL. Basolateral amygdala lesions block the memory enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats. *Eur J Neurosci* 1997 ; 9 (1) : 76-83
19. Roozendaal B , Koolhaas JM Bohus B. Central amygdala involvement in neuroendocrine correlates of conditioned stress responses. *J Neuroendocrin* 1992 ; 4 : 483-9
20. Roozendaal B , McGaugh JL. Amygdala nuclei lesions differentially affect glucocorticoid-induced momory enhancement in an inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem* 1996 ; 65: 1-8
21. Roozendaal B , McGaugh JL. Basolateral amygdala block glucocorticoid induced modulation of memory for spatial learning. *Psychobiol posttraumatic stress disorder* 1996 ; 110 : 1074-83
22. Roozendaal B etal. Stress Activated hormonal systems and the regulation of memory storage. *Psychobiol posttraumatic stress disorder* 1996 ; 821 : 247-58
23. Williams CL , McGaugh JL. Reversible inactivation of the nucleus of the salitary tract impairs retention performance in an inhibitory avoidance task. *Behav Neural Biol* 1992 ; 58 : 204-10