

بررسی اثرات گلوکوکورتیکوئیدها بر به‌خاطر آوری و بازتثبیت حافظه‌های نزدیک و دور در موش سفید آزمایشگاهی کوچک

منصوره نجار^۱ (M.Sc.)، غلامحسین واعظی^۱ (Ph.D.)، علی رشیدی پور^۲ (Ph.D.)، عباس علی وفاپی^{۲*} (Ph.D.)

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان

۲- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی، آزمایشگاه یادگیری و حافظه

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات قبلی نشان داده است که تزریق سیستمیک کورتیکوسترون به‌خاطر آوری و بازتثبیت حافظه‌ی ترس در انسان و حیوانات آزمایشگاهی را مختل می‌کند ولی اثرات آن بر حافظه با سن‌های مختلف روشن نیست. هدف این مطالعه تعیین تاثیر سیستمیک کورتیکوسترون بر به‌خاطر آوری و بازتثبیت حافظه نزدیک و دور در مدل احترازی غیر فعال در موش سفید کوچک آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌ها در مدل احترازی غیر فعال پس از سازگاری، آموزش داده شدند (شدت شوک ۱ میلی‌آمپر و به مدت ۳ ثانیه). کورتیکوسترون با دوزهای ۱، ۳ و ۱۰ میلی‌گرم به‌ازاء هر کیلوگرم وزن، ۳۰ دقیقه قبل از تست به‌خاطر آوری حافظه نزدیک (۴۸ ساعت بعد از آموزش) یا حافظه دور (۳۶ روز بعد از آموزش) به موش‌ها تزریق شد. میزان به‌خاطر آوری آن‌ها در یک تست ده دقیقه‌ای ارزیابی شد. همچنین کورتیکوسترون با دوزهای فوق بلافاصله بعد از فعال‌سازی حافظه نزدیک (۴۸ ساعت بعد از آموزش) و حافظه دور (۳۶ روز بعد از آموزش) به موش‌ها تزریق شد. سپس دو، پنج، هفت و نه روز بعد از فعال‌سازی حافظه، حافظه موش‌ها به مدت ده دقیقه اندازه‌گیری و ثبت شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که کورتیکوسترون به‌خاطر آوری و بازتثبیت هر دو حافظه‌های نزدیک و دور را تضعیف نمود، به طوری که مدت زمان سپری شده قبل از ورود به ناحیه تاریک در گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون به‌طور معنی‌داری از گروه دریافت‌کننده حامل کم‌تر بود. همچنین، اثرات کورتیکوسترون بر به‌خاطر آوری و بازتثبیت حافظه دور به دوز بالاتری نیازمند بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های فوق نشان می‌دهد که کورتیکوسترون به‌خاطر آوری و بازتثبیت هر دو حافظه ترس دور و نزدیک را مختل می‌کند. همچنین، اثرات آن بر به‌خاطر آوری و بازتثبیت حافظه دور، به مقدار بیش‌تری از کورتیکوسترون نیازمند است.

واژه‌های کلیدی: کورتیکوسترون، به‌خاطر آوری و بازتثبیت حافظه، سن حافظه، حافظه ترس

صحرائی کورتیکوسترون) نقش مهمی در تنظیم فرایندهای

شناختی بازی می‌کنند. گلوکوکورتیکوئیدها اعمال خود را با

مقدمه

گلوکوکورتیکوئیدها (در انسان کورتیزول و در موش‌های

این یافته با تراکم بالای گیرنده‌های GR در هیپوکمپ و همچنین نقش هیپوکمپ در بازتثبیت حافظه هم‌خوانی دارد [۱۱،۱۰،۹]. یافته‌های ما با مطالعات قبلی در این زمینه هم‌خوانی دارد. مطالعات قبلی در حیوانات آزمایشگاهی نشان داده است که بلوک گیرنده‌های GR با تزریق محیطی و داخل آمیگدالی RU38486 منجر به اختلال بازتثبیت حافظه می‌شود [۱۱،۱۰]. بنابراین می‌توان تصور کرد که آنتاگونیست‌های گیرنده گلوکوکورتیکوئید چنان‌چه بعد از فعال‌سازی حافظه تروماتیک تزریق شوند می‌توانند داروهای بالقوه برای درمان بیماری‌های ناشی از حافظه‌های پاتوژنیک مثل PTSD و فوبیا شوند. در همین زمینه مطالعاتی که اخیراً در روی بیماران مبتلا به PTSD و فوبیا انجام شده است حاکی از این است که تزریق RU38486 قادر است به خاطر آوری بعدی حافظه‌های نامطلوب را در این بیماران به میزان قابل توجهی کاهش دهد [۱۲].

مطالعات قبلی نشان داده است که با افزایش سن حافظه و یا قدرت حافظه میزان تاثیرپذیری آن‌ها از عوامل آسیب‌رسان حافظه مانند مهارگرهای تولید پروتئین کاهش می‌باید [۱۵،۱۴،۱۳]. برای مثال، با افزایش سن و یا قدرت حافظه، میزان مقاومت آن‌ها در برابر اثرات مخرب آنیزومايسين (یک مهارگر تولید پروتئین) زیاد می‌شود [۱۸،۱۷،۱۶]. این یافته‌ها نشان می‌دهد که همه حافظه‌ها (قوی یا ضعیف، جوان یا پیر و...) به یک نسبت از عوامل محیطی و فارماکولوژیک متاثر نمی‌شوند. هر چند مطالعات قبلی نشان می‌دهند که گلوکوکورتیکوئیدها اثرات منفی بر به خاطر آوری و بازتثبیت حافظه دارند ولی تعامل آن‌ها با سن حافظه روشن نیست. از این‌رو، هدف این مطالعه اثرات گلوکوکورتیکوئیدها بر به خاطر آوری و بازتثبیت حافظه نزدیک (یعنی حافظه‌ای که ظرف مدت ۴۸ ساعت شکل گرفته است) و حافظه دور (یعنی حافظه‌ای که مدت طولانی از تشکیل آن می‌گذرد) است.

واسطه اتصال به دو نوع گیرنده سیتوپلاسمی انجام می‌دهند. در مغز جوندگان گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی به صورت گسترده‌ای پراکنده شده‌اند و به‌ویژه در هیپوکمپ و هسته پارانتریکلر هیپوتالاموس تراکم بیش‌تری دارند. برعکس، گیرنده‌های مینرالوکورتیکوئیدی (MR) با تمایل بالایی به کورتیزول، کورتیکوسترون و آلدوسترون متصل می‌شوند و بیش‌تر در هیپوکمپ و سیتوم لوکالیزه شده‌اند. گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی (GR) فقط در طی استرس و در پیک ریتم شبانه‌روزی، وقتی سطوح گلوکوکورتیکوئیدها بالاست اشغال می‌شوند. بنابراین اثرات گلوکوکورتیکوئید بر تثبیت حافظه عمدتاً ناشی از فعال شدن گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی است [۱].

مطالعات گذشته به خوبی اثبات کرده است که تجویز حاد گلوکوکورتیکوئیدها به صورت وابسته به دوز منجر به افزایش تثبیت حافظه بلندمدت می‌شود به گونه‌ای که اثرات آن همانند یک U وارونه است [۴،۳،۲]. مطالعات دیگر نشان داده است که گلوکوکورتیکوئیدها نه تنها بر اکتساب و تثبیت حافظه بلکه بر به خاطر آوری حافظه بلندمدت نیز اثر می‌گذارند [۵]. تزریق سیستمیک کورتیکوسترون با دوزهای شرایط استرس به موش‌ها قبل از تست به خاطر آوری سبب اختلال به یادآوری اطلاعات فضایی و غیر فضایی می‌شود [۶] به‌علاوه تزریق گلوکوکورتیکوئیدها به میزانی که در هنگام استرس دیده می‌شود در انسان نیز سبب اختلال به خاطر آوری اطلاعات وابسته به هیپوکمپ می‌شود [۷].

مطالعات جدید نشان می‌دهند که استرس و سیستم گلوکوکورتیکوئید نقش مهمی در بازتثبیت حافظه بعد از فعال‌سازی آن بازی می‌کند. در مطالعات قبلی ما مشاهده کردیم که تزریق محیطی و داخل هیپوکمپی مهارگر گیرنده GR منجر به اختلال بازتثبیت حافظه شد [۸]. این یافته‌ها نشان می‌دهد که گیرنده‌های GR نقش مهمی در بازتثبیت حافظه بازی می‌کنند و حداقل بخشی از این گیرنده‌ها در داخل هیپوکمپ قرار دارند به گونه‌ای که بلوک گیرنده GR در هیپوکمپ سبب مهار وابسته به دوز بازتثبیت حافظه می‌شود.

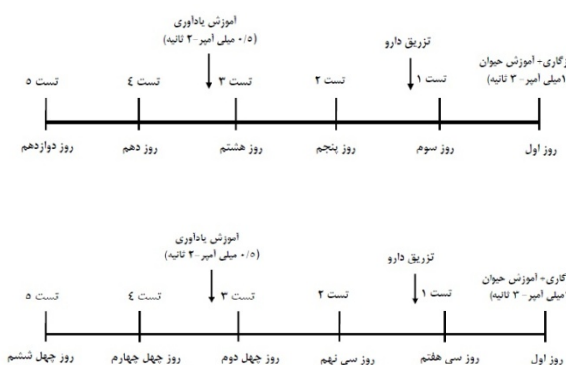
مواد و روش‌ها

شد. وقتی که حیوان به سمت در چرخید (۷ ثانیه بعد از زدن پدال دست‌گاه) درب باز شده و به موش اجازه داده شد که تا وارد قسمت تاریک شود. سپس درب بسته شده و پس از سپری شدن چند ثانیه حیوان به قفس بازگردانده شد.

۲- آموزش. ۳۰ دقیقه پس از سازش یافتن، آموزش آغاز شد. هنگامی که موش وارد قسمت تاریک شد و درب بسته شد و شوک الکتریکی با شدت ۱ میلی‌آمپر و به مدت ۳ ثانیه به حیوان اعمال شد.

۳- تست به خاطر آوری. ۲ روز (حافظه نزدیک) و ۳۶ (حافظه دور) بررسی شد. موش در قسمت روشن پشت به درب قرار گرفت و مدت زمانی که طول کشید تا حیوان به قسمت تاریک وارد شود توسط دست‌گاه ثبت شد.

۴- تست بازتثبیت. در ابتدا حیوان طبق روش بالا به دست‌گاه سازگاری پیدا کرد و ۳۰ دقیقه بعد آموزش داده شد (۱ میلی‌آمپر، ۳ ثانیه). دو روز (حافظه نزدیک) یا ۳۶ روز (حافظه دور) بعد از آموزش، فعال‌سازی حافظه (تست ۱) انجام شد. بدین شکل که حیوان در محفظه روشن قرار داده شد و مدت زمانی که طول کشید تا حیوان به قسمت تاریک وارد شود توسط دست‌گاه ثبت شد. سپس حامل یا دارو تزریق شد و تست‌های بعدی طبق شکل ۱ انجام شد.



شکل ۱. شمای طرح آزمایش بازتثبیت. الف- بازتثبیت حافظه نزدیک و ب- بازتثبیت حافظه دور

حیوانات آزمایشگاهی. موش‌های سوری نر بالغ از نژاد آلبینو به تعداد ۱۶۰ سر و به وزن تقریبی ۲۵ تا ۳۰ گرم که همگی در حیوان‌خانه مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان پرورش داده شده بودند و به صورت تصادفی - انتخابی در گروه‌های مورد نظر قرار گرفتند. تعداد حیوان‌ها در هر گروه ۱۰ سر بودند که در طول آزمایش‌ها به صورت گروهی در قفس‌های پلی‌اتیلنی جداگانه و در یک چرخه شبانه‌روزی دوازده ساعت روشنایی و دوازده ساعت تاریکی با دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند و آب و غذا در دسترس آن‌ها قرار داشت.

داروها. کورتیکوسترون (تهیه شده از شرکت سیگما) با دوزهای ۱، ۳ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان که در ترکیب آلی پروپیل گلیکول به عنوان حلال حل شد. ابزار جمع‌آوری داده‌ها: مدت زمانی که طول می‌کشد تا حیوان برای اولین بار وارد محفظه تاریک دست‌گاه احترازی غیر فعال شود، توسط دست‌گاه اندازه‌گیری و در برگه جمع‌آوری داده‌ها ثبت شد.

دست‌گاه احترازی غیر فعال (شاتل‌باکس). این دست‌گاه یک محفظه پلکسی‌گلاس مکعب مستطیل با طول ۴۰ سانتی‌متر و عرض ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر می‌باشد. دست‌گاه توسط یک درب به شکل گیوتین به دو قسمت تاریک و روشن که طول قسمت تاریک بیش‌تر است تقسیم می‌شود. در کف هر دو بخش میله‌های ضد زنگ به فاصله نیم سانتی‌متر از هم قرار دارند و کف قسمت تاریک به یک مدار الکتریکی وصل است که جریان الکتریکی با شدت و مدت معین از کف آن عبور می‌کند. دست‌گاه در مکانی قرار دارد که بدون سر و صدا و رفت و آمد است و لازم به ذکر است که باز شدن درب گیوتینی و سنجش زمان‌های حضور حیوان در قسمت تاریک و روشن به صورت تعریف شده و اتوماتیک انجام می‌شود.

آموزش یادگیری در دست‌گاه احترازی غیر فعال

۱- سازش یافتن. هر موش ابتدا در قسمت روشن دست‌گاه پشت به درب قرار گرفت و پدال دست‌گاه زده

آزمایش‌ها

آزمایش ۱. هدف از این آزمایش بررسی اثرات کورتیکوسترون بر به خاطر آوری حافظه نزدیک (۲ روز بعد از آموزش) است. ۴۰ سر موش به چهار گروه تقسیم می‌شوند. گروه ۱ (کنترل) که ۳۰ دقیقه قبل از تست به خاطر آوری حامل دارو (پروپیل گلیکول) دریافت می‌کنند. گروه‌های کورتیکوسترون که دوز ۱، ۳ و ۱۰ میلی‌گرم کورتیکوسترون را ۳۰ دقیقه قبل از تست به خاطر آوری دریافت می‌کنند.

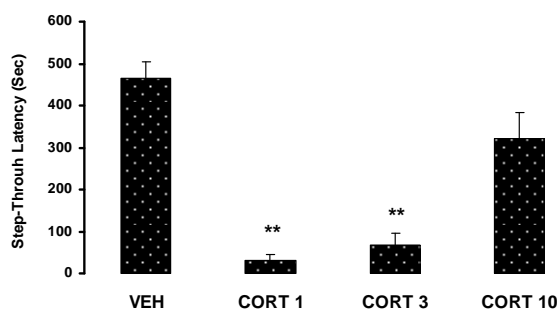
آزمایش ۲. هدف این آزمایش بررسی اثرات کورتیکوسترون بر به خاطر آوری حافظه دور (۳۶ روز بعد از آموزش) می‌باشد. ۴۰ سر موش به چهار گروه تقسیم می‌شوند. گروه ۱ (کنترل) ۳۰ دقیقه قبل از تست به خاطر آوری (۳۶ روز بعد از آموزش) حامل دارو دریافت می‌کنند. گروه‌های کورتیکوسترون که دوز ۱، ۳ و ۱۰ میلی‌گرم کورتیکوسترون را ۳۰ دقیقه قبل از تست به خاطر آوری دریافت می‌کنند.

آزمایش ۳. هدف این آزمایش بررسی اثرات کورتیکوسترون بر بازتثبیت حافظه نزدیک است. ۴۰ سر موش به چهار گروه تقسیم می‌شوند. گروه ۱ (کنترل) بلافاصله بعد از فعال‌سازی حافظه (تست ۱) طبق پروتوکل آمده در قسمت آموزش حامل دارو دریافت می‌کنند. گروه‌های کورتیکوسترون که دوز ۱، ۳ و ۱۰ میلی‌گرم کورتیکوسترون را بلافاصله بعد از تست ۱ دریافت می‌کنند.

آزمایش ۴. هدف این آزمایش بررسی اثرات کورتیکوسترون بر بازتثبیت حافظه دور (۳۶ روز) است. ۴۰ سر موش به چهار گروه تقسیم می‌شوند. گروه ۱ (کنترل) بلافاصله بعد از فعال‌سازی حافظه (تست ۱ و ۳۶ روز بعد از آموزش) طبق پروتوکل آمده در قسمت آموزش حامل دارو دریافت می‌کنند. گروه‌های کورتیکوسترون (که دوز ۱، ۳ و ۱۰ میلی‌گرم کورتیکوسترون را بلافاصله بعد از تست ۱ دریافت می‌کنند).

نتایج

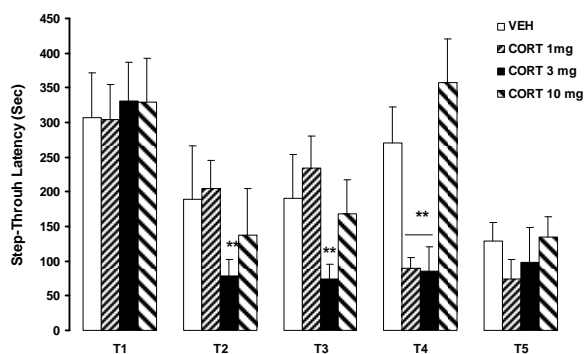
اثرات تزریق کورتیکوسترون قبل از تست به خاطر آوری بر به خاطر آوری حافظه نزدیک. شکل ۲ اثرات تزریق کورتیکوسترون را بر به خاطر آوری حافظه نزدیک نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک‌طرفه حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین زمان ورود به محفظه تاریک در طی آموزش در گروه‌های مختلف بود ($P=0/6$ و $F_{3,36}=0/55$). این یافته حاکی از هم‌گون بودن گروه‌ها در زمان آموزش است (داده‌ها نمایش داده نشده است). همچنین آنالیز واریانس یک‌طرفه بر روی زمان ورود به قسمت تاریک در ارزیابی به خاطر آوری حافظه نزدیک حاکی از تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون و دریافت‌کننده حامل دارو بود ($P=0/0001$ و $F_{3,36}=27/22$). آنالیز بعدی با کمک تست توکی نشان داد که کورتیکوسترون در دوز ۱ و ۳ میلی‌گرم به خاطر آوری حافظه نزدیک را تضعیف نموده است. به گونه‌ای که تفاوت بین گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون با گروه دریافت‌کننده حامل دارو معنی‌دار است ($P<0/01$). (شکل ۲).



شکل ۲. اثر تزریق کورتیکوسترون بر بخاطر آوری حافظه نزدیک مدل احترازی غیر فعال. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد STL در طی تست به خاطر آوری را نشان می‌دهد. $P < 0.01$ * در مقایسه با گروه کنترل.

اثرات تزریق کورتیکوسترون قبل از تست به خاطر آوری بر به خاطر آوری حافظه دور. شکل ۳ اثرات تزریق کورتیکوسترون را بر به خاطر آوری حافظه دور نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک‌طرفه حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین زمان ورود به محفظه تاریک در طی آموزش در گروه‌های مختلف بود ($P=0/8$ و $F_{3,36}=0/28$). این یافته حاکی از

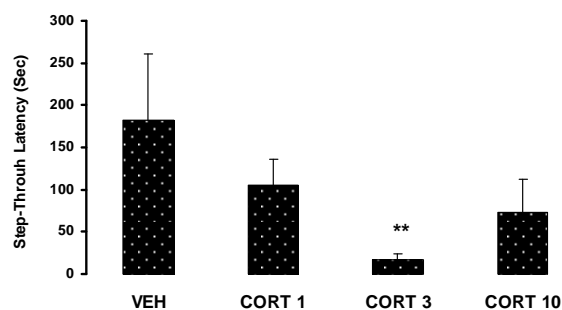
گروه‌ها ($F_{3,144}=3/55$ و $P<0/01$) اثر معنی‌دار روزهای تست ($F_{4,144}=12/77$ و $P<0/0001$) و تعامل معنی‌دار بین دو متغیر فوق است ($F_{12,144}=2/35$ و $P<0/008$) آنالیز بعدی نشان داد که کورتیکوسترون (دوز ۳ میلی‌گرم بهترین دوز) موجب اختلال در بازتثبیت حافظه نزدیک شده است. به گونه‌ای که تفاوت بین گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون با گروه دریافت‌کننده وهیکل معنی‌دار است ($P<0/01$). ضمناً بعد از T3 به موش‌ها شوک یادآوری اعمال شده است. همان‌گونه که در تست ۴ ملاحظه می‌شود در گروه کورتیکوسترون این شوک اثری نداشته است ولی در گروه وهیکل این شوک حافظه را برگردانده است.



شکل ۴. اثرات تزریق محیطی کورتیکوسترون یا وهیکل بر بازتثبیت حافظه نزدیک در مدل احترازی غیر فعال. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در طی تست فعال سازی و در طی تست های ارزیابی باز تثبیت (T2-T5) را نشان می‌دهد. $P<0.01$ ** در مقایسه با گروه وهیکل $P<0.05$ * در مقایسه با گروه وهیکل

اثرات تزریق کورتیکوسترون بعد از تست فعال‌سازی بر بازتثبیت حافظه دور. شکل ۵ اثرات تزریق محیطی کورتیکوسترون به عنوان آگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوئید یا وهیکل را بر بازتثبیت حافظه دور در طی دوره آموزش نشان می‌دهد. ملاک ارزیابی حافظه زمانی بود که طول می‌کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک دست‌گاه شود. آنالیز واریانس یک‌طرفه زمان ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی آموزش حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها ($F_{3,36}=0/276$ و $P=0/839$) بود (داده‌ها نمایش داده نشده است).

هم‌گون بودن گروه‌ها در زمان آموزش است (داده‌ها نمایش داده نشده است). همچنین آنالیز واریانس یک‌طرفه بر روی زمان ورود به قسمت تاریک در ارزیابی به‌خاطر آوری حافظه دور حاکی از تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون و دریافت‌کننده حامل دارو بود ($P=0/05$ و $F_{3,36}=2/25$). آنالیز بعدی با کمک تست توکی نشان داد که کورتیکوسترون در دوز ۱ و ۳ میلی‌گرم به‌خاطر آوری حافظه دور را تضعیف نموده است. به گونه‌ای که تفاوت بین گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون با گروه دریافت‌کننده حامل دارو معنی‌دار است ($P<0/01$). (شکل ۳).



شکل ۳. اثر تزریق کورتیکوسترون بر به‌خاطر آوری حافظه دور مدل احترازی غیر فعال. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد در طی تست به‌خاطر آوری را نشان می‌دهد. $P<0.01$ * در مقایسه با گروه کنترل.

اثرات تزریق کورتیکوسترون بعد از تست فعال‌سازی بر بازتثبیت حافظه نزدیک. شکل ۴ اثرات تزریق محیطی کورتیکوسترون به عنوان آگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوئید یا وهیکل را بر بازتثبیت حافظه نزدیک در طی دوره آموزش نشان می‌دهد. ملاک ارزیابی حافظه زمانی بود که طول می‌کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک دست‌گاه شود. آنالیز واریانس یک‌طرفه زمان ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در طی آموزش حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها ($F_{3,36}=0/276$ و $P=0/839$) بود (داده‌ها نمایش داده نشده است). این یافته نشان‌دهنده هم‌گون بودن گروه‌ها است. اثرات تزریق محیطی کورتیکوسترون یا وهیکل را بر بازتثبیت حافظه نزدیک نشان می‌دهد. آنالیز واریانس دوطرفه (تست‌ها \times گروه) با اندازه‌گیری تکراری حاکی از اثر معنی‌دار

۲- کورتیکوسترون بازتثبیت حافظه‌های دور و نزدیک را دچار اختلال می‌کند.

۳- اثر مختل‌کنندگی حافظه دور به دوز بالاتر کورتیکوسترون نیازمند است.

کورتیکوسترون به خاطرآوری حافظه‌های دور و نزدیک را مختل می‌کند.

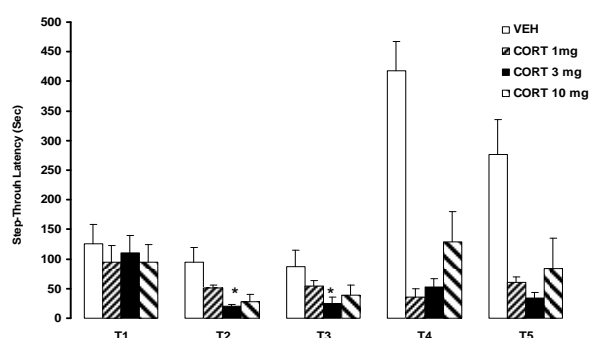
نتایج ما نشان داد که کورتیکوسترون می‌تواند سبب اختلال به خاطرآوری حافظه‌های نزدیک و دور شود. این یافته با مطالعات قبلی در این زمینه سازوکار است [۱۹]. از طرف دیگر، مطالعه ما نشان داد که این اثرات کورتیکوسترون روی حافظه نزدیک و دور مشابه است. به عبارت دیگر، اثرات مخرب کورتیکوسترون بر به خاطرآوری حافظه به سن حافظه بستگی ندارد.

با توجه به تزریق محیطی کورتیکوسترون، تعیین مکانیسم و محل اثر آن مقدور نیست. به نظر می‌رسد گلوکوکورتیکوئیدها با عبور از سد خونی- مغزی و اتصال به گیرنده خود (مینرالوکورتیکوئید و گلوکوکورتیکوئید) و فعال کردن مسیرهای بعدی باعث بروز اختلال در به خاطرآوری حافظه می‌شوند [۲۰، ۲۱]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدها در آمیگدال و هیپوکمپ و همچنین سیستم بتا‌آدرنرژیک آمیگدال نقش مهمی در اثرات سیستم گلوکوکورتیکوئیدها بر به خاطرآوری حافظه دارند [۲۲]. از طرفی روشن است که اثر گلوکوکورتیکوئیدها بر به خاطرآوری خیلی سریع بروز می‌کند (۳۰ دقیقه بعد از تجویز دارو به صورت داخل صفاقی) و این اثر نمی‌تواند از طریق ژنومیک اعمال شود و احتمالاً یک اثر غیر ژنومیک است. در اثرات سریع کورتیکوسترون بر به خاطرآوری ممکن است نوروترانسمیترهای مغز از جمله اوبیوئید [۲۳] و نورآدرنرژیک در هیپوکمپ و BLA [۲۴] دخالت دارند.

کورتیکوسترون بازتثبیت حافظه‌های دور و نزدیک را مختل می‌کند.

نتایج این مطالعه نشان داد که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی نقش مهمی در بازتثبیت حافظه ترس بعد

(است). این یافته نشان‌دهنده هم‌گون بودن گروه‌ها است. از طرفی اثرات تزریق محیطی کورتیکوسترون یا وهیکل را بر بازتثبیت حافظه دور نشان می‌دهد. آنالیز واریانس دو طرفه (تست‌ها × گروه) با اندازه‌گیری تکراری حاکی از اثر معنی‌دار گروه‌ها ($P < 0.0001$ و $F_{3,144} = 11/82$)، اثر معنی‌دار روزهای تست ($P < 0.0001$ و $F_{4,144} = 13/4$) و تعامل معنی‌دار بین دو متغیر فوق است ($P < 0.0001$ و $F_{12,144} = 8/02$). آنالیز بعدی نشان داد که کورتیکوسترون (دوز ۳ میلی‌گرم بهترین دوز) موجب اختلال در بازتثبیت حافظه دور شده است. به گونه‌ای که تفاوت بین گروه‌های دریافت‌کننده کورتیکوسترون با گروه دریافت‌کننده وهیکل معنی‌دار است ($P < 0.01$). (شکل ۵). ضمناً بعد از T3 به موش‌ها شوک یادآوری اعمال شده است. همان‌گونه که در تست ۴ ملاحظه می‌شود در گروه کورتیکوسترون این شوک اثری نداشته است ولی در گروه وهیکل این شوک حافظه را برگردانده است.



شکل ۵. اثرات تزریق محیطی کورتیکوسترون یا وهیکل بر بازتثبیت حافظه دور در مدل احترازی غیر فعال. محور عمودی میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین را در مورد تاخیر زمان ورود به قسمت تاریک در طی تست فعال سازی و در طی تست‌های ارزیابی بازتثبیت (T2-T5) را نشان می‌دهد. $P < 0.01$ در مقایسه با گروه وهیکل، $P < 0.05$ در مقایسه با گروه وهیکل

بحث و نتیجه‌گیری

مهم‌ترین یافته‌های این مطالعه عبارتند از:

۱- کورتیکوسترون به خاطرآوری حافظه‌های دور و نزدیک احترازی غیر فعال را مختل می‌کند.

نتایج به دست آمده حاکی از این است که این اختلال در هر دو حافظه دور و نزدیک نیز به خوبی مشاهده می‌شود. علاوه بر این، نکته قابل توجه در این تحقیق این است که هر چه که به سمت حافظه دور پیش می‌رویم، با گذشت زمان ایجاد اختلال در به‌خاطر‌آوری و بازتثبیت حافظه سخت‌تر صورت می‌گیرد که این یافته نشان‌گر آن است که با گذشت زمان حافظه در نواحی مختلف و پراکنده‌ای از مغز ذخیره می‌شود و برای این‌که بتوان فرایند حافظه را تحت تاثیر قرار داد باید از دوزهای بالاتری از داروها استفاده نمود. در این خصوص نتایج تحقیق حاضر نشان داد که کورتیکوسترون در دوز بالاتر توانسته اختلال به‌خاطر‌آوری و تثبیت مجدد حافظه دور گردد. البته برای پی بردن به مکانیسم‌های مداخله‌کننده نیاز به مطالعات بیش‌تری احساس می‌گردد.

با توجه به تزریق محیطی کورتیکوسترون، نمی‌توان محل دقیق چگونگی تاثیر آن را بر روی مراکز مشخصی از مغز که در بازتثبیت حافظه نزدیک و دور دخیل هستند بیان کرد ولی همان‌طور که گفته شد کورتیکوسترون یک ترکیب محلول در چربی است، به راحتی از سد خونی مغزی عبور می‌کند و بر روی ساختارهای مختلف مغز در مراحل مختلف حافظه تاثیر می‌گذارد. از آن‌جا که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی به صورت گسترده در هیپوکمپ و هسته پاراوانتریولار هیپوتالاموس پراکنده شده‌اند می‌توانند تحت تاثیر کورتیکوسترون قرار گیرند. چون گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی فقط در طی استرس و در پیک ریتم شبانه‌روزی که گلوکوکورتیکوئید در بالاترین سطح روزانه است اشغال می‌شود. پس می‌توان گفت که احتمالاً اثر گلوکوکورتیکوئیدها بر فرایند حافظه ناشی از فعال شدن گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی است [۲۹].

مطالعات قبلی نشان داده که حداقل بخشی از اثرات اختلالی کورتیکوسترون بر بازتثبیت حافظه می‌تواند از طریق تعدیل سیستم‌های مختلف میانجی عصبی اعمال گردد. در این خصوص نتایج مطالعه‌ای نشان داد که فعال شدن گیرنده‌های موسکارتینی استیل‌کولینی سیستم کولی‌نرژیک نقش مهمی در

از فعال‌سازی حافظه در خصوص حافظه نزدیک و دور بازی می‌کنند. این یافته‌ها با نتایج مطالعات قبلی در این زمینه هم‌خوانی دارد. مطالعات قبلی در حیوانات آزمایش‌گاهی نشان داد که فعال نمودن یا بلوک گیرنده‌های GR با تزریق محیطی و داخل آمیگدالی RU38486 به عنوان آنتاگونیست این گیرنده‌ها منجر به اختلال بازتثبیت حافظه می‌شود [۲۵]. بنابراین، می‌توان تصور کرد که آگونیست‌ها یا آنتاگونیست‌های گیرنده گلوکوکورتیکوئید چنان‌چه بعد از فعال‌سازی حافظه تروماتیک تزریق شوند می‌توانند داروهای بالقوه برای درمان بیماری‌های ناشی از حافظه‌های پاتوژنیک مثل PTSD و فوبیا باشند. در همین زمینه مطالعاتی که اخیراً در روی بیماران مبتلا به PTSD و فوبیا انجام شده است حاکی از این است که تزریق RU38486 به عنوان آنتاگونیست قادر است به‌خاطر‌آوری بعدی حافظه‌های نامطلوب را در این بیماران به میزان قابل توجهی کاهش دهد [۲۶].

به نظر می‌رسد که اثرات تزریق کورتیکوسترون بعد از فعال‌سازی ناشی از اختلال بازتثبیت حافظه باشد. به‌طور کلی، بعد از فعال‌سازی حافظه دو فعالیت در مغز شروع می‌شوند که عبارتند از بازتثبیت و خاموشی [۲۷]. برای تعیین اثر اختصاصی یک دارو بر بازتثبیت، ۲ شرط لازم است: الف) اثر دارو مداوم باشد ب) این اثر به‌صورت خودبه‌خودی یا توسط شوک به‌خاطر‌آورنده بازگشت ننماید [۲۸]. در این مطالعه ما مشاهده کردیم که اثرات کورتیکوسترون پایدار است (حداقل در مدت ۲ هفته آزمایش) و این اثر مختل‌کنندگی با شوک به‌خاطر‌آورنده وارونه نگردید در حالی که در گروه کنترل که از دست رفتن تدریجی و خودبه‌خودی حافظه (خاموشی) در طی تست‌های متوالی مشاهده شد، اعمال شوک به‌خاطر‌آورنده منجر به بازگشت قابل توجه حافظه اولیه گردید. از طرفی یافته‌های مطالعات قبلی ما نشان می‌دهد که اثرات بلوک گیرنده گلوکوکورتیکوئید بر بازتثبیت حافظه، نیازمند فعال‌سازی حافظه است زیرا در فقدان فعال‌سازی حافظه هیچ‌گونه اثری از کورتیکوسترون بر بازتثبیت حافظه مشاهده نمی‌شود [۸].

[5] Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Taherian AA, Miladi-Gorji H, Sadeghi H, Fathollahi Y, Bandegi AR. Verapamil enhances acute stress or glucocorticoid-induced deficits in retrieval of long-term memory in rats. *Behav Brain Res* 2009; 203: 76-80.

[6] de Quervain DJ, Roozendaal B, McGaugh JL. Stress and glucocorticoids impair retrieval of long term spatial memory. *Nature* 1998; 394: 787-790.

[7] de Quervain DJ, Roozendaal B, Nitsch RM, McGaugh JL, Hock C. Acute cortisone administration impairs retrieval of long term declarative memory in humans. *Nat Neurosci* 2000; 3: 313-314.

[8] Nikzad S, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Haghghi S. Systemic and intrahippocampal administrations of the glucocorticoid receptor antagonist RU38486 impairs fear memory reconsolidation in rats. *Stress* 2011; 14: 459-464.

[9] Roozendaal B. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinol* 2000; 25: 213-238.

[10] Donley MP, Schulkin J, Rosen JB. Glucocorticoid receptor antagonism in the basolateral amygdala and ventral hippocampus interferes with long-term memory of contextual fear. *Behav Brain Res* 2005; 164: 197-205.

[11] Yang YL, Chao PK, Lu KT. Systemic and intra-amygdala administration of glucocorticoid agonist and antagonist modulate extinction of conditioned fear. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31: 912-924.

[12] Tronel S, Alberini CM. Persistent disruption of a traumatic memory by post-retrieval inactivation of glucocorticoid receptors in the amygdala. *Biol Psychiatry* 2007; 62: 33-39.

[13] Biedenkapp JC, Rudy JW. Context memories and reactivation: constraints on the reconsolidation hypothesis. *Behav Neurosci* 2004; 118: 956-964.

[14] Pedreira ME, Perez-Cuesta LM, Maldonado H. Mismatch between what is expected and what actually occurs triggers memory reconsolidation or extinction. *Learn Mem* 2004; 11: 579-585.

[15] Cammarota M, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I. Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem* 2004; 11: 572-578.

[16] Boccia MM, Blake MG, Acosta GB, Baratti CM. Post-retrieval effects of icv infusions of hemicholinium in mice are dependent on the age of the original memory. *Learn Mem* 2006; 13: 376-381.

[17] Eisenberg M, Dudai Y. Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in Medaka: old fears don't die. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 3397-3403.

[18] Milekic MH, Alberini CM. Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* 2002; 36: 521-525.

[19] Khaksari M, Rashidy-Pour A, Vafaei AA. Central mineralocorticoid receptors are indispensable for corticosterone-induced impairment of memory retrieval in rats. *Neuroscience* 2007; 149: 729-738.

[20] Roozendaal B, McReynolds JR, McGaugh JL. The basolateral amygdala interacts with the medial prefrontal cortex in regulating glucocorticoid effects on working memory impairment. *J Neurosci* 2004; 24: 1385-1392.

[21] Roozendaal B, Griffith QK, Buranday J, De Quervain DJ, McGaugh JL. The hippocampus mediates glucocorticoid-induced impairment of spatial memory retrieval: Dependence on the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 1328-1333.

[22] Roozendaal B, de Quervain DJ, Schelling G, McGaugh JL. A systemically administered β -adrenoceptor antagonist blocks corticosterone-induced impairment of contextual memory retrieval in rats. *Neurobiol Learn Mem* 2004; 81: 150-154.

[23] Rashidy-Pour A, Sadeghi H, Taherian AA, Vafaei AA, Fathollahi Y. The effects of acute restraint stress and dexamethasone on retrieval of long-term memory in rats: an interaction with opiate system. *Behav Brain Res* 2004; 154: 193-198.

[24] Roozendaal B, de Quervain DJ, Schelling G, McGaugh JL. A systemically administered β -adrenoceptor antagonist blocks corticosterone-induced impairment of contextual memory retrieval in rats. *Neurobiol Learn Mem* 2004; 81: 150-154.

تعدیل اثرات کورتیکوسترون بر بازتثبیت حافظه دارد [۳۰]. همین‌طور در تحقیق دیگر نشان داده شد که تسهیل حافظه وابسته به قراین می‌تواند به اختلالات هیجانی مرتبط بوده و اثر گلوکوکورتیکوئیدها روی به‌خاطر آوری بعدی مخالف اثر آن روی تثبیت حافظه است. چنین اثری می‌تواند به عنوان مهار بازتثبیت یا تقویت خاموشی تفسیر شود. تثبیت و فعال‌سازی مجدد حافظه می‌تواند توسط مکانیزم‌هایی از جمله فعال شدن رسپتور بتا آدرنرژیک، فعال شدن پروتئین باند شونده با cAMP و فعال شدن رسپتور NMDA ایجاد شوند [۳۱].

به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که فعال نمودن گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی توسط تزریق کورتیکوسترون قبل تست به‌خاطر آوری و بلافاصله بعد از فعال‌سازی حافظه، همه در حافظه نزدیک و هم دور سبب اختلال حافظه ناشی از ترس شده و این اثر به فعال‌سازی حافظه وابسته بوده ولی به مدت آن ارتباطی ندارد. البته برای شناسایی مکانیسم‌های دقیق مداخله‌کننده، نیاز به مطالعات بیشتر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه منصوره نجار که در جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد فیزیولوژی طراحی شده بود استخراج شده است و بدین‌وسیله از همه هم‌کاران مرکز تحقیقات فیزیولوژی سمنان به‌ویژه آقایان صادقی و وفایی‌نژاد که در تمامی مراحل اجرای آزمایشات هم‌یار ما بودند صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

[1] De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 1998; 19: 269-301.

[2] Beylin AV, Shors TJ. Glucocorticoids are necessary for enhancing the acquisition of associative memories after acute stressful experience. *Horm Behav* 2003; 43: 124-131.

[3] Lupien SJ, McEwen BS. The acute effects of corticosteroids on cognition: Integration of animal and human model studies. *Brain Res Brain Res Rev* 1997; 24: 1-27.

[4] Roozendaal B. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology* 2000; 25: 213-238.

- [28] Bouton ME. Context and behavioral processes in extinction. *Learn Mem* 2004; 11: 485-494.
- [29] Roozendaal B. Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 2002; 78: 578-595.
- [30] Evans SJ, Searcy BT, Moore FL. Subset of kappa opioid ligands bind to the membrane glucocorticoid receptor in an amphibian brain. *Endocrinology* 2000; 141: 2294-2300.
- [31] Richter-Levin G. The amygdala, the hippocampus, and emotional modulation of memory. *Neuroscientist* 2004; 10: 31-39.

- [25] Yang YL, Chao PK, Lu KT. Systemic and intra-amygdala administration of glucocorticoid against and antagonist modulate extinction of conditioned fear. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31: 912-924.
- [26] Tronel S, Alberini CM. Persistent disruption of a traumatic memory by post-retrieval inactivation of glucocorticoid receptors in the amygdala. *Biol Psychiatry* 2007; 62: 33-39.
- [27] Lee JL, Milton AL, Everitt BJ. Reconsolidation and extinction of conditioned fear: inhibition and potentiation. *J Neurosci* 2006; 26: 10051-10056.

Effects of glucocorticoids on memory retrieval and reconsolidation of recent and remote memories in mice

Mansoreh Najjar (M.Sc)¹, Gholam Hassan Vaezi (Ph.D)¹, Ali Rashidy-Pour (Ph.D)², Abbas Ali Vafaei(Ph.D) *²

1 - Islamic Azad University, Semnan Branch, Semnan, Iran

2- Laboratory of Learning and Memory, Research Center and department of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 25 Sep 2012; Accepted: 15 Mar 2013)

Introduction: Previous studies demonstrated that the systemic injection of corticosterone impairs both retrieval and reconsolidation of fear memory in experimental animals. Here, we investigated whether these disrupting effects of corticosterone depend on the age (recent or remote) of the memory in mice.

Materials and Methods: Mice were trained and tested in an inhibitory avoidance task (50 Hz, 1mA for 3 S). Corticosterone (1, 3 and 10mg/kg) injected 30 min before of retrieval test of either a two-day recent or 36-day remote memory. Memory retrieval tested during 10 min. For memory reconsolidation experiments immediately after memory reactivation of two-day recent or 36-day remote memories, mice received corticosterone (1, 3 and 10mg/kg) or vehicle. Two, five, seven and nine days after memory reactivation, mice were returned to the context for 10 min, and step-through latency was recorded.

Results: For memory retrieval, corticosterone impaired subsequent expression of both recent and remote memories. Similar effect was found on the reconsolidation of both memories. Additionally, a higher dose of corticosterone was needed to impair retrieval and reconsolidation of remote memory. No significant differences were found on the amount of memory deficit induced by corticosterone among memories with different age.

Conclusion: Our data indicate that the efficacy of corticosterone in impairing retrieval and reconsolidation of fear memory is not limited to the age of memory.

Keywords: Corticosterone, Memory retrieval and reconsolidation, Memory age, Fear memory

* Corresponding author: Fax: +98 231 3354186; Tel: +98 231 3354186

aavaf43@gmail.com