

ارزیابی اثرات استرس حاد و کورتیکوسترون بر فرآیند یادگیری و حافظه هیجانی در موش صحرایی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۱۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۰۲/۲۷

چکیده

عباسعلی وفایی*

علی رشیدی پور

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

زمینه و هدف: مطالعات قبلی نشان داده‌اند که وقایع استرس‌زا که با ترشح هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی از قشر غدد فوق کلیه همراهند و همچنین تزریق آگونیست گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی احتمالاً با اثر بر فرآیند یادگیری و حافظه هیجانی، موجب تعدیل آن می‌شوند. هدف این تحقیق تعیین اثرات استرس حاد و تزریق سیستمیک کورتیکوسترون به عنوان آگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی بر فاز اکتساب، تثبیت و به‌خاطرآوری اطلاعات در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی (صحرایی) در مدل یادگیری احترازی غیرفعال بود. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی از ۱۸۰ سر موش نر نژاد ویستار (۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم) استفاده شد. ابتدا موش‌ها در دستگاه احترازی غیرفعال آموزش داده شدند و ۴۸ ساعت بعد از آن ارزیابی به‌خاطرآوری انجام شد که در طی آن مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان برای اولین بار وارد محفظه تاریک دستگاه شود و کل مدت زمانی که در محفظه روشن و تاریک در طی ۱۰ دقیقه ارزیابی سپری می‌نمود به عنوان معیار میزان حافظه در نظر گرفته شد و ثبت گردید. برای ارزیابی اکتساب، تثبیت و به‌خاطرآوری حافظه ۳۰ دقیقه قبل و بلافاصله بعد از آموزش و ۳۰ دقیقه قبل از تست به‌خاطرآوری کورتیکوسترون با دوزهای ۰/۵، یک و سه میلی‌گرم به ازاء هر کیلو وزن و به صورت داخل صفاقی تزریق شد. همچنین از استرس محدودکننده به مدت ۱۰ دقیقه در زمان‌های مشابه در فازهای مختلف حافظه استفاده گردید و در انتها فعالیت حرکتی حیوانات مورد ارزیابی قرار گرفت. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد که تزریق کورتیکوسترون ۳۰ دقیقه قبل از آموزش با دوز یک میلی‌گرم اکتساب و تزریق آن با دوز یک و سه میلی‌گرم تثبیت را به‌طور معنی‌داری تقویت نمود ($p < 0/05$) و با همین دوزها به‌خاطرآوری را به‌طور معنی‌داری مختل نمود ($p < 0/05$). استرس حاد همه فازها را دچار اختلال نمود. ضمناً تزریق کورتیکوسترون و استرس حاد تاثیر معنی‌داری بر فعالیت حرکتی حیوانات ندارد. **نتیجه‌گیری:** که گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی بسته به میزان فعال شدن نقش مهمی در تعدیل فازهای مختلف یادگیری (اکتساب، تثبیت و به‌خاطرآوری اطلاعات تازه آموخته شده) مربوط به حوادث هیجانی دارند و این اثرات در فازهای مختلف یادگیری متفاوت است.

کلمات کلیدی: استرس حاد، کورتیکوسترون، حافظه هیجانی، موش صحرایی

*نویسنده مسئول، سمنان، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، گروه و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، آزمایشگاه یادگیری و حافظه
تلفن: ۰۲۳۱-۳۳۵۴۱۷۰
email: aavaf43@yahoo.com

مقدمه

شناختی تاثیر می‌گذارند و پیشنهاد شده که فازهای مختلف فرایند یادگیری و حافظه هیجانی می‌تواند تحت تاثیر هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی قرار گیرد.^۱ مطالعات فیزیولوژیک نشان داده که در شرایط پایه ترشح گلوکوکورتیکوئیدها به صورت پالسی و وابسته به سیکل شبانه‌روزی می‌باشد. اما در شرایط استرس این الگو تغییر نموده و ترشح این هورمون‌ها افزایش می‌یابد.^۲ همچنین علاوه بر اثراتی چون تنظیم قند خون، فشار خون و پاسخ‌های ایمنی، این

شواهد نشان می‌دهد، یکی از عواملی که بر یادگیری (Learning) و حافظه (Memory) اثر می‌گذارد استرس و وقایع هیجانی هستند که اثرات آنها به خوبی حفظ می‌شوند.^۳ از طرفی مطالعات چند دهه گذشته نشان داده است که هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی (کورتیکوسترون در موش‌ها و کورتیزول در انسان‌ها) که در طی استرس یا تجربیات هیجانی آزاد می‌شوند بر بسیاری از اعمال

امتحان یا مصاحبه شغلی تجربه کرده‌اند و نشان داده شد که استرس ناشی از شوک دادن به موش‌ها ۳۰ دقیقه قبل از تست به خاطر آوری عملکرد موش‌ها را در مازآبی موریس مختل می‌کند^۳ این یافته‌ها نشان می‌دهد که وقتی حافظه‌ها تثبیت شدند. کارآیی یا درستی اطلاعاتی که به‌خاطر آورده می‌شود نسبت به غلظت گلوکوکورتیکوئیدها آسیب‌پذیر است.^۹ از آنجا که در نتایج مطالعات قبلی در خصوص اثر استرس و گلوکوکورتیکوئیدی بر فرایند یادگیری و حافظه در برخی موارد تناقض وجود دارد و ضمناً بیشتر از دگرامتازون استفاده شده است.^{۱۱} هدف این مطالعه تعیین اثر استرس حاد و تزریق سیستمیک کورتیکوسترون در دوزهای مختلف بر فازهای اکتساب، تثبیت و به‌خاطر آوری اطلاعات هیجانی در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی در مدل احترازی غیرفعال بود.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی بوده و در طی آن از ۱۸۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. این موش‌ها به طور اولیه از انستیتو پاستور تهران تهیه شده و در حیوان خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سمنان در یک اتاق کنترل شده از نظر حرارت (۲۲-۲۴ درجه) و رطوبت در یک سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفته، آب و غذا آزادانه و به مقدار کافی در اختیار آنها قرار داشت و تحت شرایط یکسان نگهداری می‌شدند.

دستگاه و روش آموزش: دستگاه یادگیری احترازی غیرفعال یک محفظه پلکسی گلاس مکعب مستطیل با طول ۹۱ سانتی‌متر، عرض ۲۰ سانتی‌متر در قسمت بالا و ۶/۴ سانتی‌متر در قسمت کف و ۲۰ سانتی‌متر ارتفاع بود. دستگاه مذکور توسط یک درب گیوتینی به دو قسمت روشن به طول ۳۱ سانتی‌متر و تاریک ۶۰ سانتی‌متر تقسیم شده بود. در کف هر دو بخش میله‌های ضد زنگ به فاصله یک سانتی‌متر از هم قرار داشتند و کف قسمت تاریک دستگاه به یک مدار الکتریکی وصل بود که با روشن شدن کلید مدار، جریان الکتریکی با مدت، شدت و فرکانس مشخص از کف آن عبور می‌کرد. دستگاه در یک محل بدون صدا و رفت و آمد قرار گرفته بود.

سازش یافتن: ابتدا قبل از آموزش همه گروه‌های آزمایشی به دستگاه عادت داده شدند. به طوری که هر موش ابتدا در قسمت

هورمون‌ها به دلیل لیپوفیل بودن، قادرند که از سد خونی- مغزی عبور نموده و بر عملکردهای عصبی و رفتاری از جمله حافظه از طریق اثر بر دو نوع گیرنده داخل سلولی به نام‌های گیرنده مینرالوکورتیکوئیدی (MR) و گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی (GR) و همچنین واسطه‌گری ساختارهای سیستم لیمبیک تاثیر بگذارند.^۵ از آنجایی که تمایل MR برای اتصال به هورمون ۱۰ برابر تمایل GR می‌باشد در شرایط پایه بیشتر گیرنده‌های MR توسط هورمون اشغال می‌شوند. اما در شرایط استرس، که غلظت گلوکوکورتیکوئیدها افزایش می‌یابد، گیرنده‌های GR بیش از گیرنده‌های MR اشغال می‌گردند و ایده این‌که این هورمون‌ها قادر به تاثیر در فرایند حافظه می‌باشند از آنجا پایه گرفت که مشاهده شد، تجربیاتی که احساسات را تحریک می‌کند و هیجانی هستند نسبت به وقایع معمولی بهتر در ذهن باقی می‌مانند.^۴ بر این اساس پیشنهاد شده که استرس و هورمون‌های ترشح شده ناشی از آن می‌تواند بر هر سه فاز حافظه (اکتساب، تثبیت و به‌خاطر آوری) اثر بگذارد.^۵ از طرفی نتایج برخی از مطالعات نشان داده که اگر موجود زنده قبل از اکتساب یادگیری تحت استرس شدید قرار گیرد یاد گرفته‌ها دچار اختلال می‌شود در حالی که استرس ملایم موجب تسهیل یاد گرفته‌ها می‌شود.^۶ همچنین مطالعات قبلی نشان داده که تزریق سیستمیک گلوکوکورتیکوئیدی بلافاصله پس از آموزش در یادگیری احترازی غیر فعال در موش سوری می‌تواند فراموشی ناشی از مهارگر سنتز پروتئین را مهار کند^۷ و تزریق دگرامتازون بلافاصله پس از آموزش در یادگیری احترازی غیرفعال منجر به افزایش تثبیت حافظه می‌شود.^۸ همچنین دیده شده که برداشتن گلوکوکورتیکوئیدهای آندوژن با آدرنالکتومی سبب اختلال حافظه می‌شود و این اختلال با تجویز دگرامتازون با دوزهای مناسب برطرف می‌شود^۵ این یافته‌ها نشان می‌دهد که فقدان گلوکوکورتیکوئید سبب اختلال حافظه می‌شود و فرایندهای تثبیت حافظه بستگی به فعال شدن مسیرهای حساس به گلوکوکورتیکوئیدی دارد^۹ از طرفی نتایج مطالعاتی نشان داد که تجویز داخل مغزی (داخل بطن) آنتاگونیست گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی، قبل از آموزش سبب اختلال حافظه جوجه‌های یک روزه در یادگیری احترازی غیرفعال می‌شود.^{۱۰} همچنین شواهد پیشنهاد نموده‌اند که گلوکوکورتیکوئیدها احتمالاً یک اثر تعیین کننده بر به‌خاطر آوری حافظه هیجانی دارند. بیشتر مردم مشکلات به‌خاطر آوری اطلاعات را در هنگام استرس مثلاً در شرایط

(n=۱۰). ۲- گروه‌های ۴-۲: این گروه‌ها کورتیکوسترون (۰/۵)، یک و سه میلی‌گرم به ازاء هر کیلو وزن) ۳۰ دقیقه قبل از آموزش به صورت داخل صفاقی دریافت کردند (n=۳۰). ۳- گروه ۵: این گروه هیچ دارو یا استرس دریافت نکردند (n=۱۰). ۴- گروه ۶: این گروه ۳۰ دقیقه قبل از آموزش به مدت ۱۰ دقیقه تحت استرس قرار گرفتند (n=۱۰). آزمایش (۲): هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر استرس حاد و تزریق سیستمیک دوزهای مختلف کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه در مدل احترازی غیرفعال بود. بر این اساس ۶۰ موش (۱۰ موش برای هر گروه) انتخاب و به طور تصادفی به شش گروه تقسیم شدند: ۱- گروه ۱: این گروه بلافاصله بعد از آموزش به صورت داخل صفاقی حامل داروی کورتیکوسترون دریافت کردند (n=۱۰).

۲- گروه‌های ۴-۲: این گروه‌ها کورتیکوسترون (۰/۵)، یک و سه میلی‌گرم به ازاء هر کیلو وزن) بلافاصله بعد از آموزش به صورت داخل صفاقی دریافت کردند (n=۳۰). ۳- گروه ۵: این گروه حیوانات هیچ دارو یا استرس دریافت نکردند (n=۱۰). ۴- گروه ۶: این گروه حیوانات بلافاصله بعد از آموزش به مدت ۱۰ دقیقه تحت استرس قرار گرفتند (n=۱۰). آزمایش (۳): هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر استرس حاد و تزریق سیستمیک دوزهای مختلف کورتیکوسترون بر به خاطرآوری حافظه در مدل احترازی غیرفعال بود. بر این اساس ۶۰ موش (۱۰ موش برای هر گروه) انتخاب و به طور تصادفی به شش گروه زیر تقسیم شدند:

۱- گروه ۱: این گروه حامل داروی کورتیکوسترون را ۳۰ دقیقه قبل از به خاطرآوری به صورت داخل صفاقی دریافت کردند (n=۱۰). ۲- گروه‌های ۴-۲: این گروه‌ها کورتیکوسترون (۰/۵)، یک و سه میلی‌گرم به ازاء هر کیلو وزن) ۳۰ دقیقه قبل از به خاطرآوری به صورت داخل صفاقی دریافت کردند (n=۳۰).

۳- گروه ۵: این گروه حیوانات هیچ دارو یا استرس دریافت نکردند (n=۱۰).

۴- گروه ۶: این گروه حیوانات ۳۰ دقیقه قبل از تست به خاطرآوری به مدت ۱۰ دقیقه تحت استرس قرار گرفتند (n=۱۰).

ضمناً در همه حیوانات پس از انجام آزمایشات (۱-۳) فعالیت حرکتی ارزیابی شد. اطلاعات در مورد اثر کورتیکوسترون با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و در مورد اثر استرس حاد با کمک t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از

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. بلافاصله درب بسته می‌شد و حیوان از قسمت تاریک گرفته و به قفس بازگردانیده شد. این روش برای دو بار دیگر در فواصل ۳۰ دقیقه‌ای تکرار گردید.

برای آموزش (اکتساب): ۳۰ دقیقه بعد از بار سوم سازش یافتن، اکتساب یادگیری انجام شد. به دنبال وارد شدن موش به قسمت تاریک درب بسته شده و شوک الکتریکی با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر و به مدت ۱/۵ ثانیه (برای ارزیابی فرایند اکتساب و تثبیت) یا سه ثانیه (برای ارزیابی به خاطرآوری) از طریق سیم‌های استیل تعبیه شده در کف قسمت تاریک به حیوان اعمال شد. به منظور تست به خاطرآوری، ۴۸ ساعت بعد از آموزش موش در قسمت روشن قرار داده می‌شد و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان برای اولین بار وارد قسمت تاریک شود (Step Through Latency (STL) و مجموع مدت زمانی که حیوان در قسمت روشن دستگاه صرف می‌نمود Total Time in Light Chamber (TLC) در طی ۶۰۰ ثانیه اندازه‌گیری می‌شد. به منظور ایجاد استرس حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه در جعبه پلکسی گلاس محدودکننده (Restrainer) قرار گرفتند. در طی مطالعات قبلی در آزمایشگاه ما نشان داده شد که این میزان استرس موجب افزایش سطح کورتیکوسترون می‌شود. فعالیت حرکتی موش‌ها با استفاده از سیستم کنترل فعالیت (TSE infraMot, TSE, Bad Homburg, Germany) اندازه‌گیری شد این سیستم از سنسورهای مادون قرمز تشکیل شده که به صورت نامحسوس عمل می‌کند. این سنسورها بر روی قفس حیوان تعبیه شده و فعالیت حیوان را به صورت انفرادی و با استفاده از تصویربرداری از سر و بدن، به مدت ۱۰ دقیقه (پنج مرحله دو دقیقه‌ای) ثبت و اندازه‌گیری می‌کند.

آزمایش‌ها و گروه‌های مختلف آزمایشی: آزمایش (۱): هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر استرس حاد و تزریق سیستمیک دوزهای مختلف کورتیکوسترون (سیگما-آلمان) بر اکتساب حافظه در مدل احترازی غیرفعال بود. بر این اساس ۶۰ موش (۱۰ موش برای هر گروه) انتخاب و به طور تصادفی به شش گروه زیر تقسیم شدند. ضمناً دوز داروها بر مبنای مطالعات قبلی انتخاب شدند. ۱^۱، ۲^۱، ۳^۱، ۱- گروه ۱: این گروه ۳۰ دقیقه قبل از آموزش به صورت داخل صفاقی حامل داروی کورتیکوسترون دریافت کردند

مدت را تقویت کرده است اما دوز ۰/۵ میلی گرم اثر معنی داری نداشت ضمناً استرس موجب اختلال در روند تثبیت یادگیری شده بود ($p < 0/05$) (شکل ۲).

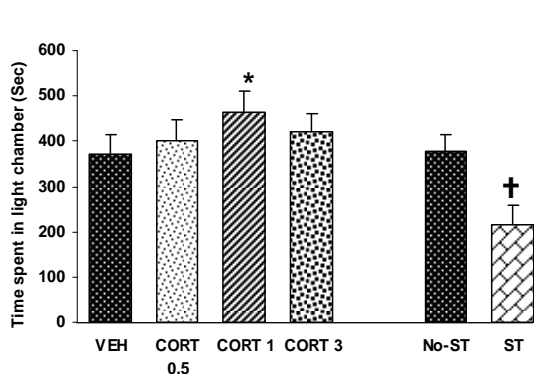
نتایج آزمایش ۳: در این آزمایش اثر استرس و دوزهای مختلف کورتیکوسترون بر به خاطرآوری حافظه بلندمدت بررسی شد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از تفاوت معنی دار بین گروهها بود. ارزیابی تست توکی نشان داد که STL و TLC در موش های دریافت کننده کورتیکوسترون با دوز یک و سه میلی گرم به طور معنی داری از گروه کنترل کمتر بود ($p < 0/05$). این یافته ها نشان می دهد که کورتیکوسترون در دوزهای یک و سه میلی گرم به خاطرآوری حافظه بلندمدت را دچار اختلال نموده است اما دوز ۰/۵ میلی گرم اثر معنی داری نداشت. ضمناً استرس موجب اختلال در به خاطرآوری حافظه شده بود ($p < 0/05$) (شکل ۳).

نتایج آزمایش ۴: هدف از این آزمایش بررسی اثر کورتیکوسترون و استرس بر فعالیت حرکتی بود. بنابراین اثرات کورتیکوسترون بر فعالیت حرکتی آزمایش گردید. نتایج فعالیت حرکتی در شکل ۴ نشان داده شده است. هیچ تفاوت معنی داری بین گروهها در فعالیت ثبت شده در طی ۱۰ دقیقه وجود نداشت و نتایج حاکی از عدم اثر معنی دار کورتیکوسترون و یا استرس بر فعالیت حرکتی بود. این نتایج نشان می دهد که اثرات کورتیکوسترون یا استرس ناشی از اثر خالص آنها بوده و ناشی از اثر بر فعالیت حرکتی نیست.

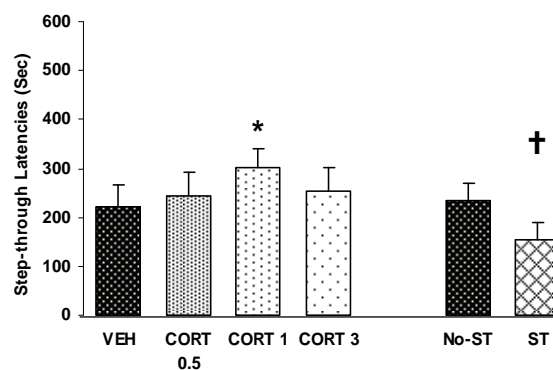
تست توکی استفاده شد. $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد و داده های حاصل به صورت میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین گزارش شد.

یافته ها

نتایج آزمایش ۱: در این آزمایش اثر استرس و دوزهای مختلف کورتیکوسترون بر اکتساب حافظه بلندمدت بررسی شد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از تفاوت معنی دار بین گروهها بود. ارزیابی تست توکی نشان داد که STL و TLC در موش های دریافت کننده کورتیکوسترون با دوز یک میلی گرم به طور معنی داری بیشتر بود ($p < 0/05$). این یافته ها نشان می دهد که کورتیکوسترون در دوز یک میلی گرم اکتساب حافظه بلند مدت را تقویت کرده است اما در دوز ۰/۵ و سه میلی گرم اثر معنی داری نداشت. در حالی که استرس موجب اختلال در اکتساب یادگیری شده بود ($p < 0/05$) (شکل ۱).
نتایج آزمایش ۲: در این آزمایش اثر استرس و دوزهای مختلف کورتیکوسترون بر تثبیت حافظه بلندمدت بررسی شد. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از تفاوت معنی دار بین گروهها بود. ارزیابی تست توکی نشان داد که STL و TLC در موش های دریافت کننده کورتیکوسترون با دوز یک و سه میلی گرم به طور معنی داری از گروه کنترل بیشتر بود ($p < 0/05$). این یافته ها نشان می دهد که کورتیکوسترون در دوزهای یک و سه میلی گرم تثبیت حافظه بلند

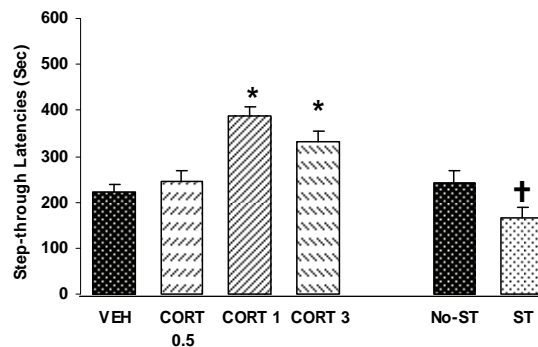
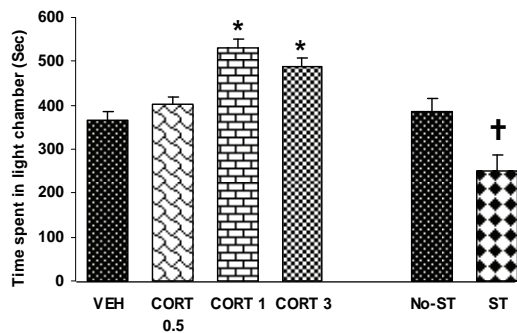


ب



الف

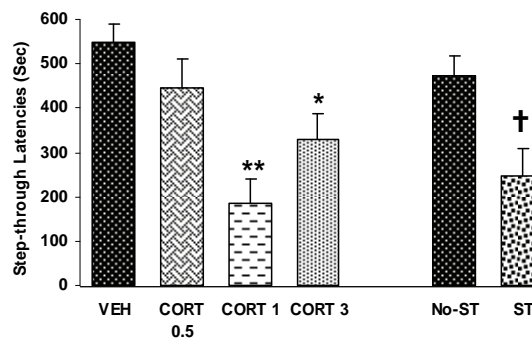
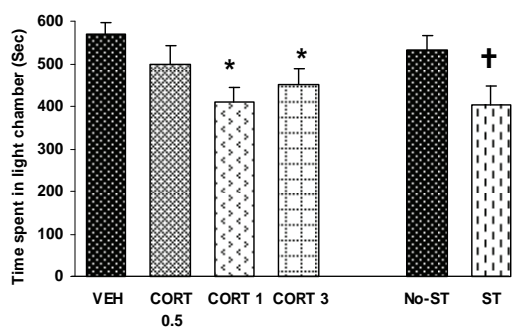
شکل ۱- اثرات استرس حاد و کورتیکوسترون بر اکتساب حافظه بلندمدت، در مدل یادگیری احترازی غیرفعال. الف: STL و ب: TLC محور عمودی: (میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین). $p < 0/05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0/05$ † در مقایسه با گروهی که استرس نگرفته اند. (استرس=ST، کورتیکوسترون=CORT، حامل دارو=VEH)



ب

الف

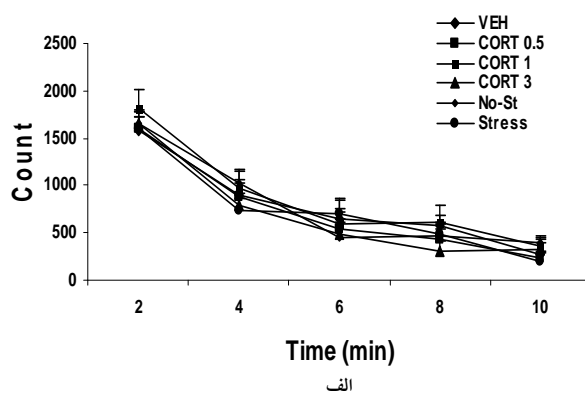
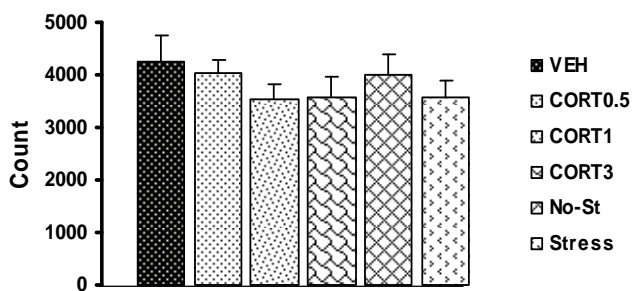
شکل - ۲: اثرات استرس حاد و کورتیکوسترون را بر تثبیت حافظه بلندمدت، در مدل یادگیری احترازی غیرفعال نشان می‌دهد. الف: STL و ب: TLC محور عمودی: (میانگین ± خطای استاندارد از میانگین). $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.05$ † در مقایسه با گروهی که استرس نگرفته است.



ب

الف

شکل - ۳: اثرات استرس حاد و کورتیکوسترون را بر به‌خاطر‌آوری حافظه بلندمدت، در مدل یادگیری احترازی غیرفعال نشان می‌دهد. الف: STL و ب: TLC محور عمودی: (میانگین ± خطای استاندارد از میانگین). $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.05$ † در مقایسه با گروهی که استرس نگرفته است.



ب

الف

شکل - ۴: اثر استرس حاد و کورتیکوسترون بر فعالیت حرکتی حیوان. (محور عمودی میانگین ± خطای استاندارد). الف: میانگین فعالیت (هر دو دقیقه) ب: میانگین فعالیت (۱۰ دقیقه)

بحث

گلوکوکورتیکوئیدی بلافاصله پس از آموزش در یادگیری احترازی غیرفعال در موش سوری می‌تواند فراموشی ناشی از مهارگر سنتز پروتئین را مهار کند^۷ مطالعات بعدی نشان داد که تزریق دوز متوسطی از دگزامتازون بلافاصله پس از آموزش در یادگیری احترازی غیرفعال منجر به افزایش تثبیت حافظه می‌شود^{۱۱} منحنی دوز- پاسخ اثرات گلوکوکورتیکوئیدی بر تثبیت حافظه در یادگیری احترازی غیرفعال به صورت یک U وارونه می‌باشد که این اثر در سایر مدل‌های یادگیری نیز به اثبات رسیده است و تجویز هورمون‌های قشر فوق کلیه بلافاصله پس از آموزش سبب افزایش حافظه می‌شود^۵ این نشان می‌دهد ترشح این هورمون‌ها پس از یک حادثه استرس‌زای حاد می‌تواند حافظه مربوط به آن حادثه را متاثر کنند. همچنین برداشتن گلوکوکورتیکوئیدی آندوژن با آدرنالکتومی سبب اختلال حافظه درماز آبی می‌شود که این اختلال با تجویز دگزامتازون با دوزهای مناسب برطرف می‌شود^۹ این یافته‌ها نشان می‌دهد که فقدان گلوکوکورتیکوئیدی سبب اختلال حافظه می‌شود و فرایندهای تثبیت حافظه بستگی به فعال شدن مسیرهای حساس به گلوکوکورتیکوئیدی دارد.^{۱۱} از طرفی نتایج مطالعه ما نشان داد که کورتیکوسترون وابسته به دوز به خاطر آوری حافظه را در یادگیری احترازی غیرفعال مختل می‌کند که با نتایج برخی از مطالعات قبلی همخوانی دارد. مطالعات قبلی نشان دادند که گلوکوکورتیکوئیدی بر فرایند به خاطر آوری نیز تاثیر می‌گذارند و هم کاربرد استرس حاد (شوک) و هم تزریق دگزامتازون مدت کوتاهی قبل از تست به خاطر آوری، به خاطر آوری حافظه را هم در یادگیری احترازی غیرفعال و هم در ماز آبی موریس در موش‌ها مختل می‌کند^{۱۲} به‌علاوه تزریق آگونیست گلوکوکورتیکوئیدی به هیپوکمپ،^{۱۵} یا کورتیکوسترون به BLA^{۱۶} مشابه با تزریق سیستمیک سبب اختلال به خاطر آوری می‌شود. همچنین، تجویز حاد کورتیزون به خاطر آوری آزاد لغات یاد گرفته شده وابسته به هیپوکمپ را در انسان‌ها مختل می‌کند^{۱۷} بر این اساس نتایج مطالعه حاضر هم شواهدی فراهم می‌کند که نشان‌دهنده وجود یک تعامل بین گلوکوکورتیکوئیدی و به خاطر آوری حافظه بلندمدت می‌باشد. همچنین نتایج مطالعه ما نشان داد که استرس ناشی از محدودیت موجب اختلال در همه فازهای یادگیری و حافظه می‌شود که با نتایج برخی از مطالعات همخوانی دارد. در مطالعه‌ای در مدل ترس شرطی، هنگامی که موش‌های مورد آزمایش شدت‌های مختلفی

در این تحقیق مشاهده شد: تزریق کورتیکوسترون اکتساب و تثبیت یادگیری را تقویت و به خاطر آوری حافظه را مختل نموده است. در حالی که استفاده از استرس حاد موجب اختلال در همه فازهای یادگیری و حافظه می‌شود. این یافته‌ها با نتایج یک‌سری از مطالعات قبلی که نشان دادند تزریق دگزامتازون در طی فازهای مختلف یادگیری موجب اثرات متفاوت می‌شود همخوانی دارد^{۱۳} مطالعات اخیر نشان می‌دهد تجویز کورتیکوسترون قبل از آموزش اکتساب یا به خاطر آوری فوری را در مدل یادگیری ماز آبی موریس مختل نمی‌کند^۶ بر این اساس احتمالاً تزریق کورتیکوسترون هم در مدل‌های مختلف یادگیری، دارای اثرات متفاوت است. همچنین مطالعات قبلی نشان داده‌اند که استرس ملایم موجب تسهیل و یا تقویت اکتساب یادگیری می‌شود. در مطالعه‌ای این اثر با استفاده از روش ماز آبی موریس و اثر دو دمای مختلف آب بر روی فاز اکتساب بررسی شد و غلظت کورتیکوسترون خون موش‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که موش‌هایی که در آب ۱۹ درجه سانتی‌گراد آموزش دیده‌اند نسبت به موش‌های آموزش دیده در آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد به خاطر آوری بهتری از محل سکو در فاز ارزیابی از خود نشان می‌دهند به علاوه غلظت کورتیکوسترون خون موش‌های آموزش دیده در آب ۱۹ درجه از گروه دیگر بیشتر بود.^{۱۴} این یافته نشان می‌دهد که گلوکوکورتیکوئیدها باعث بهبود فاز اکتساب می‌شوند. از طرفی نتایج برخی از مطالعات نشان داده که استرس شدید که همراه با افزایش بیشتر سطح کورتیکوسترون می‌باشد موجب اختلال در اکتساب یادگیری می‌شود.^۶ بر این اساس از آنجا که در مطالعه ما کورتیکوسترون با دوز خیلی پائین و بالا اثر معنی‌داری نداشته و در دوز متوسط موجب تقویت اکتساب شده است، این نکته را مورد تایید قرار می‌دهد که اثر کورتیکوسترون از یک رابطه دوز- پاسخ به شکل U معکوس پیروی می‌نماید بدین معنا که غلظت‌های خیلی بالا و خیلی پایین بی‌اثر و غلظت‌های متوسط اثر بهبود دهنده دارد مطالعات قبلی نشان داده که این اثر به میزان اشباع گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی توسط کورتیکوسترون دارد. همچنین یافته‌ها در خصوص روند تثبیت با نتایج برخی از مطالعات دیگران همخوانی دارد. مطالعات قبلی نشان داده است که تزریق سیستمیک

مسئول تاثیر سریع کورتیکوسترون بر رفتارهای تولید مثلی و فعالیت عصبی حیوان می‌باشد.^{۲۱} از طرفی احتمالاً در اثرات کورتیکوسترون بر اکتساب و تثبیت حافظه و اثر سریع آن بر به خاطرآوری حافظه ممکن است یک تعامل بین گلوکوکورتیکویدی با سیستم‌های نروترانسمیتری مغز از جمله اوپیوئید^{۲۲} و نورآدرنژیک در هیپوکمپ و هسته قاعده‌ای جانبی آمیگدال^{۲۳} وجود داشته باشد. یافته‌های مطالعات قبلی نشان داده است که سیستم بتاآدرنژیک هیپوکمپ و آمیگدال نقش مهمی در وساطت اثر گلوکوکورتیکوئید بر ذخیره حافظه دارند. تزریق آنتاگونیست بتاآدرنژیک به داخل ناحیه پستی هیپوکمپ افزایش حافظه ناشی از اثر سیستمیک یا داخل هیپوکمپ گلوکوکورتیکوئید (دگزامتازون) را بلوک می‌کند.^۵ بر این اساس پیشنهاد می‌شود که اثرات مشاهده شده گلوکوکورتیکوئیدها بر ذخیره حافظه در مطالعه حاضر می‌تواند از طریق فعال شدن سیستم بتاآدرنژیک و یا دیگر سیستم‌های نروترانسمیتری و واسطه‌گری این نواحی اعمال شود. به طور کلی یافته‌های ما نشان می‌دهد که استرس حاد و گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی بسته به میزان فعال شدن نقش مهمی در تعدیل فازهای یادگیری (اکتساب، تثبیت و به‌خاطرآوری) اطلاعات تازه آموخته شده مربوط به حوادث هیجانی دارند و این اثرات در فازهای مختلف یادگیری متفاوت است. ضمناً استرس شدید موجب اختلال در همه فازهای حافظه می‌شود.

سپاسگزاری: هزینه این پژوهش توسط مرکز تحقیقات فیزیولوژی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان تامین شده است. بدینوسیله از کلیه مسئولین پژوهشی، همکاران مرکز تحقیقات فیزیولوژی به‌ویژه آقایان حسن صادقی و علی محمدی که در انجام کارهای عملی همیار ما بودند صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

از شوک دریافت نمودند هر چه میزان شدت شوک در زمان آموزش بالاتر بود میزان freezing و همچنین غلظت کورتیکوسترون خون در روز آزمایش بالاتر بود. این اثر در مدل احترازی غیرفعال نیز مشاهده گشت^{۱۸} و از سوی دیگر گزارش شد که شدت‌های خیلی بالای شوک به جای تقویت تثبیت اطلاعات جدید اثری معکوس اعمال می‌نمایند.^{۱۹} شواهد فوق نشان می‌دهند که در غلظت‌های خیلی پایین کورتیکوسترون، همانند غلظت‌هایی که در موش‌های آدرنالکتومی شده دیده می‌شود و یا غلظت‌های خیلی بالا، همانند غلظت‌هایی که در طی استرس شدید دیده می‌شود، تثبیت اطلاعات جدید را دچار اختلال می‌نماید. اما در شرایطی که غلظت کورتیکوسترون متوسط باشد، مثلاً در طی استرس خفیف، تثبیت اطلاعات جدید تسهیل می‌گردد و نشان داده شده که چنین رابطه دوز- پاسخی، مابین غلظت‌های مختلف کورتیکوسترون و تقویت طولانی مدت هم نیز وجود دارد.^{۲۰} ضمناً شواهد قبلی نشان داده که اثر گلوکوکورتیکوئیدی به‌طور کلاسیک به دنبال وارد شدن به داخل سلول و فرایند ژنومیک صورت می‌گیرد که نیاز به زمان دارد^{۲۱} اما روشن است که اثر گلوکوکورتیکوئیدی بر به خاطرآوری در مطالعه حاضر خیلی سریع بروز نموده است (۳۰ دقیقه بعد از تجویز دارو به صورت داخل صفاقی) که این مدت زمان برای فعال شدن ژن‌ها و سنتز پروتئین زمان کمی می‌باشد که احتمالاً نمی‌تواند از طریق ژنومیک اعمال شود و اثرات سریع کورتیکوسترون به دنبال تزریق آن نشان‌دهنده این است که احتمالاً از مسیر گیرنده‌های غشایی عمل نموده است^{۱۳} در تایید این امر باید گفت که یک گیرنده غشایی برای گلوکوکورتیکوئیدها در مغز یک نوع سمندر (*Taricha granulosa*) شناسایی گشته است که یک نوع گیرنده متصل به پروتئین G بوده و

References

- Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Sharifi MR, Bures J. Glucocorticoids antagonist administration into the basolateral amygdala modulates place avoidance memory in rats. *DARU* 2000; 8: 30-65.
- Rooszendaal B. 1999 Curt P. Richter award. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. *Psychoneuroendocrinology* 2000; 25: 213-38.
- Rooszendaal B. Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 2002; 78: 578-95.
- Rooszendaal B. Systems mediating acute glucocorticoid effects on memory consolidation and retrieval. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27: 1213-23.
- Rooszendaal B, Okuda S, de Quervain DJ, McGaugh JL. Glucocorticoids interact with emotion-induced noradrenergic activation in influencing different memory functions. *Neuroscience* 2006; 138: 901-10.
- Beylin AV, Shors TJ. Glucocorticoids are necessary for enhancing the acquisition of associative memories after acute stressful experience. *Horm Behav* 2003; 43: 124-31.
- Sandi C, Rose SP. Protein synthesis- and fucosylation-dependent mechanisms in corticosterone facilitation of long-term memory in the chick. *Behav Neurosci* 1997; 111: 1098-104.
- Vafaei AA, Rashidy-Pour A. Modulation of the hippocampus Glucocorticoids receptor affects consolidation of spatial memory in rats. *J Endoc and Metab* 2003; 5: 15-21. (Persian)
- Rooszendaal B, Stress and memory: opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 2002; 78: 578-95.
- Sandi C, Rose SP. Corticosterone enhances long-term retention in one-day-old chicks trained in a weak passive avoidance learning paradigm. *Brain Res* 1994; 647: 106-12.

11. Vafaei AA, Rashidy-Pour A. The role of hippocampus and amygdala glucocorticoids receptor in modulation of memory storage in rats. *Koomesh J Semnan Univ Med Sci* 2001; 2: 123-37. (Persian)
12. Akirav I, Kozenicky M, Tal D, Sandi C, Venero C, Richter-Levin G. A facilitative role for corticosterone in the acquisition of a spatial task under moderate stress. *Learn Mem* 2004; 11: 188-95.
13. Rashidy-Pour A, Sadeghi H, Taherain 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: 193-8.
14. de Quervain DJ, Roozendaal B, McGaugh JL. Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature* 1998; 394: 787-90.
15. Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Akhyani E, Taherian AA, Sadeghi H. Evaluation the role of Basolateral Amygdala nucleus in corticosterone effects on memory retrieval in rat. *J Kowsar* 2007; 12: 209-17. (Persian)
16. 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: 313-4.
17. Adamec RE. Stress effects on limbic function and behavior. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27: 1173-5.
18. Elzinga TM, Bakkerb TA, Bremner JD. Stress-induced cortisol elevations are associated with impaired delayed, but not immediate recall. *Psychiatry Res* 2005; 134: 211 – 223.
19. Buchanan TW, Lovallo WR. Enhanced memory for emotional material following stress-level cortisol treatment in humans. *Psychoneuroendocrinology* 2001; 26: 307-17.
20. Tasker JG, Di S, Malcher-Lopes R. Rapid central corticosteroid effects: evidence for membrane glucocorticoid receptors in the brain. *Integr Comp Biol* 2005; 45: 665-71.
21. Khaksari M, Rashidy-Pour A, Vafaei AA. Central mineralocorticoid receptors are indispensable for corticosterone-induced impairment of memory retrieval in rats. *Neuroscience* 2007; 149: 729-38.
22. Vafaei AA, Rashidy-Pour A. Interaction of Intrahippocampal injection of Naltheroxone and corticosterone on consolidation and retrieval memory processes in passive avoidance task in rat. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2008; 7(3): 181-190. (Persian)
23. Vafaei AA, Rashidy-Pour A. The role of basolateral amygdala adrenergic receptors in hippocampus dependent spatial memory in rat. *DARU* 2008; 16: 18-22.

A comparative evaluation of acute stress and corticosterone on the process of learning and emotional memory in rat

Received: February 11, 2009 Accepted: May 17, 2009

Abstract

Vafaei A.A.*
Rashidy-Pour A.

Learning and Memory Lab.
Department and Research Center of
Physiology, Semnan University of
Medical Sciences

Background: Previous studies suggested that stressful events that release Glucocorticoid from adrenal cortex and also injection of agonists of glucocorticoids receptors probably affect emotional learning and memory process and modulate them. The aim of this study was to determine the effects of acute stress and systemic injection of Corticosterone (as agonist of glucocorticoid receptors) on acquisition (ACQ), consolidation (CONS) and retrieval (RET) of emotional memory in rat.

Methods: In this experimental study we used 180 male Wistar rats (220-250). At the first rats was training in one trial inhibitory avoidance task. On the retention test given 48 h after training, the latency to re-enter the dark compartment of the apparatus (Step-through latency, STL) and the time spent in light chamber (TLC) were recorded during 10 min test. Intraperitoneal corticosterone in doses of 0.5, 1 and 3mg/kg injected 30min before, immediately after instruction and 30min before retrieval test. Also some groups received 10min stressful stimulation by restrainer at the same time. At the end locomotor's activity was measured for all animals.

Results: The data indicated that administration of corticosterone 30min before ACQ (1mg/kg), and immediately after CONS (1, 3mg/kg) enhance and 30min before RET (1, 3mg/kg) impair emotional memory ($p<0.05$). Acute stress impaired emotional memory in all phases ($p<0.05$). Also acute stress and injection of Corticosterone have not significantly affect motor activity.

Conclusions: These findings show that Glucocorticoid receptors in activation dependently plays an important role in modulation of emotional spatial memory processes (ACQ, CONS and RET in new information) for emotional events and these effects varies in different phases.

Keywords: Corticosterone, acquisition, consolidation, retrieval, memory, passive avoidance learning

*Corresponding author: Learning and Memory Lab. Department and Research Center of Physiology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran.
Tel: +98-231-3354170
email: aavaf43@yahoo.com