دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هفدهم، شماره ۴، صفحه ۵۷۰ – ۵۶۰ (مهر و آبان ۱۳۹۳)

ISMJ 2014; 17(4): 560-570

بررسی استریولوژیک هیپوکامپ و نقش گیرنده‌های دوپامین در یادگیری و حافظه

صدف عصایی[۱]، اسما سبزواری‌فرد[۱]، سهیلا منصورپور[۱]، ذبیح‌اله عزیزی[۱]،
غلامحسین رنجبرعمرانی[۱*]

[۱] مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

(دریافت مقاله: ۸۹/۱۱/۲۷- پذیرش مقاله: ۹۰/۹/۶)

چکیده

زمینه: علیرغم گزارش‌های موجود درباره‌ی ارتباط حافظه و یادگیری وابسته به هیپوکامپ در پی مصرف بروموکریپتین به‌عنوان آگونیست و هالوپیریدول به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده D2، مطالعه‌ای درباره اثر مصرف این دو دارو بر اندازه هیپوکامپ و تعداد سلول‌های استروسیت صورت نگرفته است. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر احتمالی مصرف داروی بروموکریپتین و هالوپیریدول روی یادگیری و اندازه هیپوکامپ موش صحرایی نر انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها: ۴۵ موش صحرایی نر از نژاد Sprague – Dawley با وزن ۲۰±۲۲۰ به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۹ تایی تقسیم شدند. گروه‌های مورد آزمایش به‌مدت یکماه داروهای بروموکریپتین با دوزهای ۱۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز و هالوپیریدول با دوزهای ۲۵/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز را به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت می‌کردند. بعد از پایان این مدت حافظه فضایی گروه‌های مختلف در ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار گرفت. سپس از هیپوکامپ برش‌های سریالی به ضخامت ۷ میکرون تهیه گردید. از هر ۱۰۰ برش، به‌صورت تصادفی سیستماتیک ۱۰ نمونه انتخاب گردید و مورد بررسی قرار گرفت. تخمین حجم با استفاده از اصل کاوالیه انجام شد.

یافته‌ها: گروه‌های دریافت‌کننده حداکثر دوز هالوپیریدول و بروموکریپتین در زمان و مسافت بیشتری سکوی ماز آبی موریس را پیدا کردند که حاکی از یادگیری ضعیف این دو گروه بود، همچنین این دو گروه در مقایسه با گروه کنترل، هیپوکامپ سمت راست کوچکتری داشتند. در حالی‌که گروه‌های دریافت‌کننده بروموکریپتین و هالوپیریدول با حداقل دوز در زمان و مسافت کمتری سکوی پلاکسی گلاس را پیدا کردند که حاکی از یادگیری قوی‌تر این دو گروه بود و افزایش حجم هیپوکامپ در گروه‌های دریافت‌کننده بروموکریپتین و هالوپیریدول با حداقل دوز نسبت به‌گروه کنترل مشاهده گردید. همچنین نتایج نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین تعداد آستروسیت‌های هیپوکامپ در گروه‌های دریافت‌کننده حداکثر دوز بروموکریپتین و هالوپیریدول با گروه کنترل و همچنین تفاوت آماری معنی‌داری بین تعداد آستروسیت‌های هیپوکامپ در گروه‌های دریافت‌کننده حداقل و حداکثر دوز بروموکریپتین و هالوپیریدول با گروه کنترل وجود دارد که این تفاوت به‌ترتیب شامل افزایش و کاهش تعداد سلول‌های استروسیت می‌باشد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داده شده که مصرف داروی هالوپیریدول و بروموکریپتین با دوز پایین نه تنها در بهبود یادگیری بلکه در افزایش حجم هیپوکامپ و تعداد سلول‌های آستروسیت مؤثر است.

واژگان کلیدی: استریولوژی، بروموکریپتین، هالوپیریدول، هیپوکامپ، یادگیری

* شیراز، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

Email :hormone@sums.ac.ir

مقدمه

هیپوکامپ قسمتی از سیستم لیمبیک می‌باشد که در لوب تمپورال قرار دارد و شامل سابیکولوم، شکنج دندانه‌ای و ناحیه CA1[1]، CA2 و CA3 می‌باشد (۱). بسیاری از روان‌شناسان و نورولوژیست‌ها عقیده دارند که هیپوکامپ نقش مهمی در شکل‌گیری حافظه جدید در مورد رویدادهای مشاهده شده دارد (۲) و این ناحیه از مغز غنی از گیرنده‌های دوپامینی (۳) سلول‌های گلیال و به‌ویژه آستروسیت‌ها می‌باشد (۴). آزمایشات انجام شده برروی مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد که افزایش دوپامین در یادگیری نقش دارد که به موجب آن افزایش تقویت طولانی مدت (LTP[2])را در پی دارد (۵).

همان‌طور که سیستم دوپامین در یادگیری رفتار نقش دارد، در فعالیت‌های وابسته به شکل‌پذیری سیناپسی نیز نقش دارد. ورودی‌های دوپامینرژیک لازمه تغییرات طولانی مدت در اثرات سیناپسی نواحی مختلف یادگیری و حافظه می‌باشند، زیرا اختلالات دوپامینرژیک در کورتکس پری‌فرونتال یا هیپوکامپ در اختلالات یادگیری رفتار وابسته به هدف، حافظه کوتاه مدت و بلند مدت در خزندگان و پریمات‌های غیر انسان نقش دارد (۶).

اگرچه به‌نظر می‌رسد گیرنده D1 دوپامین، تعدیل کننده روندهای حافظه‌ای در میمون‌ها می‌باشد، اما چندین تحقیق بیان می‌کند که گیرنده‌های D2 دوپامین نیز در اعمال شناختی نقش دارند (۷). چندین مقاله بیان می‌کند که تسهیل حافظه کاری در طی مصرف آگونیست‌های گیرنده D2 از جمله بروموکریپتین صورت می‌گیرد، از طرفی آسیب حافظه کاری بعد از مصرف آنتاگونیست‌های D2 نیز مشاهده می‌گردد. علاوه‌بر آن، این امکان وجود دارد که تحریک گیرنده‌های D1 و D2 باعث بهبود حافظه کاری گردد که به‌علت فعالیت مشترک این دو گیرنده بر روی مولکول‌ها به‌صورت Downstream است (۸ و ۴۰).

علاوه‌بر دوپامین نوروترانسمیترهای مختلفی در هیپوکامپ موجود می‌باشند. استیل کولین یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای آزاد شده از هیپوکامپ است که توسط جسم سلولی کولینرژیک در ناحیه medial septal آزاد می‌گردد. مشاهدات بیان می‌کند که مصرف آگونیست‌های اوپوئیدی بر روی جسم سلولی کولینرژیک در ناحیه سپتال اثر گذاشته و فعالیت‌آوران‌های کولینرژیک را در هیپوکامپ تعدیل می‌کند (۹). گیرنده‌های سروتونین در سلول‌های پیرامیدال در هیپوکامپ و کورتکس موجود می‌باشند. مطالعات انجام شده بر روی حیوانات نشان می‌دهد که با وجود ارتباط وسیع و یکپارچه سیستم کولینرژیک و سروتونرژیک گهگاهی دارای عملکرد آنتاگونیستی می‌باشند. اختلال در حافظه کاری به‌دلیل بلوکه شدن کولینرژیک می‌باشد که از طریق تقویت نوروترانسمیتر سروتونین بهبود می‌یابد (۱۰).

از طرفی مهم‌ترین عملکرد استروسیت‌ها تنظیم عملکرد سیناپس‌ها، میزان ترانسمیترها و متابولیسم نورونی است. استروسیت‌ها غنی از گلوکز بوده و انرژی آزاد شده توسط فرایند گلیکولیز را برای تبدیل گلوتامات به گلوتامین به‌کار می‌برد. آستروسیت‌ها در محیط *in vitro* تقویت‌کننده شکل‌پذیری سیناپسی بوده، همچنین آستروسیت‌ها در حذف و یا تکامل ارتباط سیناپسی از اهمیت به‌سزایی برخوردار هستند. آستروسیت‌ها آزادکننده انواع مختلفی از نوروتروفین از

[1] cornu Ammon
[2] long-term potentiation

جمله(BDNF)[3] فاکتورهای نوروتروفیک مشتق شده از مغز و فاکتورهای نوروتروفیک مشتق شده از سلولهای گلیال (GDNF)[4] فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF-2) و نوروتروفین ۳ (NT-3) و نوروتروفین ۴/۵ (NT–۴/۵) می‌باشد (۱۱).

در واقع آستروسیت‌ها تبادل‌کننده مواد غذایی و متابولیک بین مویرگ‌های خونی و نورون‌های فعال هستند، این سلول‌ها در انواع مختلف گیرنده‌ها و سیستم انتقال پیام بیان می‌شوند. این گیرنده‌ها و پیام‌های ثانویه آن‌ها نقش خاصی را در انتقال پیام بین آستروسیت‌ها و حتی یک آستروسیت ایفا می‌کنند (۱۲). علی‌رغم این واقعیت، مطالعه تجربی که تأثیر مصرف داروی هالوپیریدول و بروموکریپتین را بر اندازه هیپوکامپ و تعداد سلول‌های استروسیت سنجیده باشد در جستجوی ما یافت نشد. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر مصرف داروی هالوپیریدول و بروموکریپتین بر یادگیری فضایی و اندازه هیپوکامپ و تعداد سلول‌های استروسیت در موش صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۸ در مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد. موش‌های صحرایی نر از نژاد Sprague – Dawley و در محدوده وزنی ۲۰±۲۲۰ گرم که در شرایط مناسب آب (لوله‌کشی شهر) و غذا (خوراک دام پارس)، به دور از سر و صدا و در دمای اتاق ۲۵–۲۰ درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی، تاریکی ۱۲ ساعته (روشنی از ساعت ۶ صبح تا ۶ بعدازظهر) پرورش یافته بودند مورد بررسی قرار گرفته و به‌طور تصادفی در ۵ گروه ۹ تایی جایگزین شدند.

– **گروه شاهد**: هیچ‌گونه تیمار دارویی در مورد آن‌ها انجام نگرفت، ولی تمام شرایط نگهداری و تغذیه آن‌ها مشابه سایر گروه‌ها بوده و حافظه فضایی آن‌ها در جعبه ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار گرفت.

– **گروه تجربی I**: حداکثر داروی بروموکریپتین روزانه ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و حافظه فضایی آن‌ها در جعبه ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار گرفت (۱۳).

– **گروه تجربی II**: حداقل داروی بروموکریپتین (روزانه ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و حافظه فضایی آن‌ها در جعبه ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار گرفت (۱۴).

– **گروه تجربی III**: حداکثر داروی هالوپیریدول (روزانه ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و حافظه فضایی آن‌ها در جعبه ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار گرفت (۱۵).

– **گروه تجربی IV**: حداقل داروی هالوپیریدول (روزانه ۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و حافظه فضایی آن‌ها در جعبه ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار گرفت (۱۶).

آموزش در ماز آبی موریس شامل ۵ مرحله بود:

در روز یادگیری: در مرحله اول حیوان از نقطه شروع ۶۰ ثانیه بدون هدایت برای آشنایی با محیط در مخزن شنا کرده سپس در پایان ۶۰ ثانیه حیوان ازجعبه ماز خارج گردیده و به‌مدت ۳۰ ثانیه در قفس استراحت می‌کند، در مرحله دوم حیوان برای قرار گرفتن برروی سکو از نقطه شروع توسط دم به‌سمت سکو هدایت شده و به‌مدت ۳۰ ثانیه برای آشنایی با صفحه پلاکسی‌گلاس برروی آن باقی می‌ماند و سپس از جعبه ماز خارج گردیده و به-

[3].Brain – derived neurotrophic factor
[4].Glial cell line – drived neurotrophic factor

مدت ۳۰ ثانیه در قفس استراحت می‌کند. در مرحله سوم حیوان بدون محدودیت زمانی از نقطه شروع به جستجوی سکو می‌پردازد و بعد از پیدا کردن سکو از جعبه ماز خارج گردیده و به‌مدت ۳۰ ثانیه در قفس استراحت می‌کند، و در مرحله چهارم حیوان بدون محدودیت زمانی از نقطه جدیدی به‌غیر از نقطه شروع به جستجوی سکو می‌پردازد و بعد از یافتن سکو از جعبه ماز خارج گردیده و به‌مدت ۳۰ ثانیه در قفس استراحت می‌کند.

در مرحله پنجم مجدداً از نقطه اولیه و بدون محدودیت زمانی به جستجو می‌پردازد (۱۷).

آماده‌سازی بافت

پس از پایان آموزش در ماز آبی موریس موش‌های صحرایی بیهوش و قفسه سینه آنها باز شد و از راه بطن چپ، ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول بافر شده فرمالدئید (۴ درصد) در مدت ۱۰ دقیقه با فشار ۱۲۰ میلی‌متر جیوه، به دستگاه گردش خون جانور وارد شد. برای خروج خون و محلول، دهلیز راست پاره گردید، پس از ثبوت کامل بافت، مغز حیوانات خارج و به‌روش نمونه‌برداری تصادفی منظم برش خورده، ۱۰ قطعه از هر نمونه انتخاب و به‌روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی گردید (۱۸ و ۱۹). این روش رنگ‌آمیزی می‌تواند، دیواره سلول و هسته‌ها را نمایان سازد.

بررسی استریولوژیک

برای محاسبه اندازه هیپوکامپ و تعداد سلول‌های استروسیت از یکی از روش‌های استریولوژی که تکنیک unbiased و مؤثر برای سنجش سه بعدی از برش‌های دو بعدی می‌باشد، استفاده گردید. به این منظور برای اندازه‌گیری حجم به‌کمک میکروسکوپ Microprojection تصویر برش بافتی را به روی سطح سفیدی انداخته و صفحه‌ای شطرنجی Graid حاوی نقاط با فواصل معین از هم دیگر بر روی تصویر منطبق گردید و تعداد نقاط برخورد کرده با هیپوکامپ ∑p شمرده شد و با در نظر گرفتن مساحت اطراف هر نقطه AP، سطح مقاطع محاسبه شده و با ضرب کردن آن در فاصله بین برش‌های انتخابی که ثابت بود (µmv)، حجم با استفاده از فرمول ارائه شده بر طبق اصل کاوالیه به‌دست آمد (۱۷).

$$V=\Sigma P.a(p).t$$

همچنین برای شمارش تعداد سلول‌ها تصویر برش بافتی را به‌روی سطح سفیدی انداخته و Frameهای با فواصل معین از همدیگر بر روی تصویر منطبق گردید، روش Unbiased Counting Frame شامل Rejection line (اضلاع پایین و چپ) و Acceptance lines (اضلاع بالا و راست) است، تنها اجزایی شمارش می‌شوند که کاملاً درون Counting Frame و یا روی Acceptance line و Rejection line قرار گرفته باشند. سپس تعداد سلول‌های به‌دست آمده در فرمول زیر قرار داده شد (۲۰).

$$Nv=\frac{\Sigma Q}{A\,frame\times h\times \Sigma p}$$

$$N=Nv\times V$$

با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۱۶ (SPSS Inc، Chicago، Il، USA)، میانگین اندازه هیپوکامپ با مقادیر انحراف معیار توسط آزمون T و میانگین تعداد سلول‌های آستروسیت با مقادیر انحراف معیار توسط آزمون Mannen Withney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نتایج با $P<۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر احتمالی مصرف داروی بروموکریپتین و هالوپیریدول برروی یادگیری

اندازه هیپوکامپ و تعداد سلول‌های آستروسیت موش صحرایی انجام گرفته است.

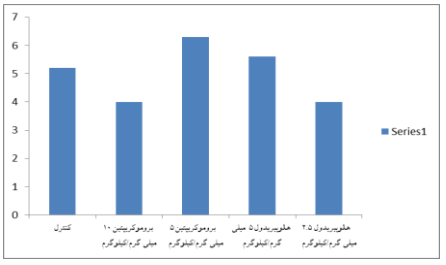
یافته‌های این مطالعه نشان داد که موش‌های صحرایی دریافت کننده بروموکریپتین و هالوپیریدول با حداکثر دوز به‌ترتیب با میانگین تأخیر زمانی ۱۳/۹±۵۷/۳۸ (P≤۰/۰۰۵) و ۱۰/۲±۴۹/۴۸ (P≤۰/۰۳۵) ثانیه و گروه‌های دریافت کننده بروموکریپتین و هالوپیریدول با حداقل دوز به‌ترتیب با میانگین بهبود زمانی ۱۵/۲۷ ±۱۴,۰۳ (P≤۰/۰۶۴) و ۴/۰۵±۱۸/۷۵ (P≤۰/۰۲۰) ثانیه سکوی ماز آبی را یافتند.

نمودار ۱ تأثیر معنی‌دار مصرف داروی بروموکریپتین و هالوپیریدول با حداکثر دوز را بر کاهش اندازه پارامتر حجم هیپوکامپ سمت راست نشان می‌دهد. همچنین نمودار ۲ نشان می‌دهد که حجم هیپوکامپ سمت چپ در طی مصرف داروی بروموکریپتین با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم افزایش می‌یابد.

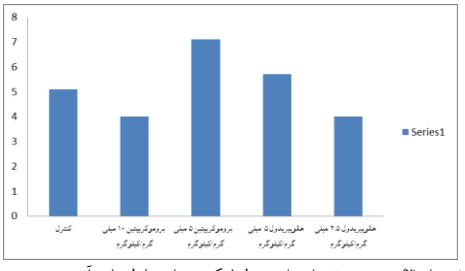
نمودار ۳ نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار داروی بروموکریپتین و هالوپیریدول با حداکثر دوز بر کاهش تعداد سلول‌های هیپوکامپ و همچنین افزایش تعداد سلول‌های هیپوکامپ در گروه‌های دریافت‌کننده حداقل دوز داروی بروموکریپتین و هالوپیریدول می‌باشد.



نمودار ۱) بررسی تغییرات استریولوژیک هیپوکامپ راست در گروه‌های مختلف
نمودار براساس میانگین ±خطای معیار (X±SEM) هر گروه ترسیم شده است.
کاهش معنی‌دار حداکثر دوز هالوپیریدول و بروموکریپتین با گروه کنترل است (p≤۰/۰۵) افزایش معنی‌دار حداقل دوز بروموکریپتین با گروه کنترل است (p≤۰/۰۰۱)



نمودار ۲) بررسی تغییرات استریولوژیک هیپوکامپ چپ در گروه‌های مختلف
نمودار بر اساس میانگین±خطای معیار (X±SEM) هر گروه ترسیم شده است
اختلاف معنی‌دار حداقل دوز بروموکریپتین با گروه کنترل است (p≤۰/۰۵)



نمودار ۳) بررسی تغییرات استریولوژیک تعداد سلول‌های آستروسیت در گروه‌های مختلف
● نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (p≤۰/۰۵)
●● نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (p≤۰/۰۵)

بحث

این مطالعه نشان داد که مصرف داروی بروموکریپتین و هالوپیریدول به‌مدت یک‌ماه با دوزهای متفاوت و همچنین آموزش یادگیری فضایی، اثرات متفاوتی را برروی حجم هیپوکامپ، یادگیری و تعداد سلول‌های استروسیت اعمال می‌کند.

در توضیح علل این عوامل چنین می‌توان گفت که بررسی‌های قبلی نشان داده است که هیپوکامپ سمت راست نقش مهمی در پیدا کردن مسیر و همچنین جهت‌یابی دارد (۲۱).

در مدل‌های حیوانی، کاهش حجم و تعداد آستروگلیا موجب کاهش حجم هیپوکامپ می‌گردد (آستروگلیا به‌وسیله GH بیان می‌گردد). این امکان وجود دارد که حجم هیپوکامپ در ارتباط با تراکم و پراکندگی

گیرنده‌ها باشد (۲۲).

علاوه‌بر این، کاهش نوروتروفین‌ها نیز از علل آتروفی سلول‌های عصبی می‌باشد (۲۳). مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که در بیماری پارکینسون،فاکتور رشد عصبی (NGF)[5] و فاکتورهای نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF)[6] کاهش می‌یابد. اگرچه NGFها بر روی بقا نورون‌های حرکتی و نورون‌های دوپامینرژیک اثر کمی دارد، GDNF می‌تواند این نورون‌ها را تقویت کند. BDNF مانع از دژنره شدن نورون‌ها شده در حالی‌که افزایش فعالیت عملکردی نورون‌های دوپامینرژیک را در پی دارد. بروموکریپتین به‌عنوان آگونیست D2 منجر به سنتز و ترشح NGF، GDNF و BDNF می‌گردد. مطالعه انجام شده توسط اوهاتا (Ohta) نشان می‌دهد که آگونیست دوپامین تحریک سنتز فاکتور نوروتروفین در استروسیت‌ها را بر عهده دارد. آگونیست‌های دوپامین مانند بروموکریپتین، پرگولید، کابرگولین و SKF 38393 در بیماران پارکینسونی باعث افزایش سنتز GDNF و NGF در استروسیت‌ها می‌گردد. به‌طور کلی آگونیست دوپامین القاکننده افزایش در NGF و GDNF به‌دلیل تحریک بیان ژن می‌باشد. در واقع این آگونیست‌ها برروی سنتز RNA مؤثر هستند و هیچ تأثیری برروی مورفولوژی استروسیت‌ها به‌دلیل خاصیت توکسیک ندارند (۲۴).

آگونیست‌های دوپامین اولین درمان برای بیماران پارکینسون می‌باشد. اثرات درمانی این داروها مشتق شده از اتصالات آگونیست دوپامین به گیرنده‌های پس سیناپسی دوپامین و کاهش بازجذب دوپامین توسط نورون‌های پیش سیناپسی دوپامین می‌باشد. استفاده از آگونیست دوپامین مانند PPX باعث تحریک تکثیر به‌خصوص در ناحیه زیر بطنی SVZ[7] در حیواناتی که میزان دوپامین کمی دارند، شده است. درمان با این داروها نه تنها باعث افزایش تکثیر سلولی شده، بلکه افزایش کل سلول‌ها را در لایه گرانولی و افزایش تمایز نورونی در لایه دانه‌دار را نیز بر عهده دارد (۲۵). مصرف هالوپیریدول منجر به افزایش فعالیت محورهیپوتالاموس- هیپوفز. آدرنال HPA و در نتیجه بالا رفتن سطح کورتیکواستروئیدها به‌خصوص گلوکوکورتیکوئید می‌گردد، این در حالی است که کاهش هورمون رشد و شکل‌دهی استخوان نیز در پی مصرف این دارو ایجاد می‌گردد (۲۶) و مقادیر بالای این هورمون‌ها اثرات سویی بر مغز و علی‌الخصوص هیپوکامپ می‌گذارد. معلوم شده است که هیپوکامپ بیشترین گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی را در مقایسه با سایر بخش‌های مغز داشته (۲۳) و به اثر این هورمون‌ها حساس‌تر می‌باشد. به‌طوری‌که افزایش گلوکوکورتیکوئید موجب بروز آتروفی و تغییرات دژنراتیو نورون‌های هیپوکامپی و کاهش یادگیری و حافظه می‌شود که این موضوع در مطالعات انسانی و حیوانی مکرراً گزارش شده است (۲۷).

مطالعات انجام شده برروی بیماران اسکیزوفرنی کاهش ۴ درصد حجم دو طرفه هیپوکامپ را نشان می‌دهد. همواره کاهش حجم هیپوکامپ به‌دلیل تغییرات خاص در این ساختار نیست، بلکه ممکن است به‌دلیل تغییرات عمومی و کاهش ماده خاکستری هیپوکامپ باشد (۲۸).

از طرفی نوروتروفین‌ها نقش مهمی را در توسعه سیستم عصبی، تمایز، بقای سلولی و حتی مرگ سلول‌ها بازی می‌کنند. BDNF یکی از رایج‌ترین نوروتروفین‌ها در مغز می‌باشد و تنظیم کننده بقای

[5].Nerve Growth Factor
[6]. Brain – derived neurotrophic factor
[7] subventricular zone

سلولی، تمایز، قدرت سیناپسی و مورفولوژی بوده و در چندین اختلال سایکوتیک نقش دارد (۲۹). این دو فاکتور در شرایط نرمال و بیماری به بقا و شکل‌پذیری نورون‌های بالغ کمک می‌کنند. نوروتروفین‌ها نقش مهمی را در بقا و شکل‌پذیری نورون‌های کولینرژیک درگیر در روندهای شناختی در طی کاهش حافظه در بیماران آلزایمری و اسکیزوفرنی بازی می‌کند.

بسیاری از گزارشات بیان می‌کند که بعد از مصرف هالوپیریدول و درمان با الکتروشوک در بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی میزان NGF کاهش و اتو آنتی‌بادی NGF نیز مشاهده می‌گردد. این مطالعات نشان می‌دهند که مصرف حاد و مزمن داروهای آنتی‌سایکوتیک مانند کلوزاپین و هالوپیریدول که به‌طور گسترده در بیماری‌های سایکوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرد، میزان BDNF و NGF را در خون و مناطقی از مغز تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۰).

مطالعه انجام شده توسط فیور (Fiore) نشان می‌دهد که میزان NGF و BDNF در هیپوکامپ بعد از مصرف هالوپیریدول به‌طور خودبخود افزایش می‌یابد، این نوروتروفین‌ها به‌طور مشخص در تقویت و حفظ شکل‌پذیری سیناپسی بعد از مصرف هالوپیریدول و کلوزاپین مؤثر هستند و اثرات تعدیل‌کنندگی بر سنتز و آزادسازی NGF/BDNF دارند (۳۱).

مصرف طولانی مدت آنتاگونیست‌های دوپامین باعث تغییر در حساسیت گیرنده‌های دوپامین شده است.

مطالعات انجام شده در محیط *in vitro* بیان می‌کند که هالوپیریدول می‌تواند دارای اثرات سمی باشد، این درحالی است که در محیط *in vitro* نیز دارای اثرات سمی است. مصرف هالوپیریدول باعث افزایش میزان OX42 و همچنین مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌گردد. طی روند مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی تعداد سلول‌ها به‌سرعت کاهش یافته و به‌طور مشخص ویژگی سلول‌ها تغییر می‌یابد (۳۲).

عقیده بر این است که مکانیزم‌های حافظه در سطح ارتباطات سیناپسی انجام می‌شود، اما تشخیص قطعی مدارهای مغزی وابسته به یادگیری و حافظه هنوز به‌درستی مشخص نشده است.

مطالعات زیادی بر روی حیوانات آزمایشگاهی و به‌خصوص موش‌ها صورت گرفته تا ارتباط سیناپس‌ها و یادگیری در آن‌ها ثابت شود. مطالعات اخیر توانسته است ارتباط بین یادگیری در محیط‌های پیچیده فضایی برروی موش‌ها را با تراکم خارهای دندریتی نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در محیط ماز آبی نشان دهند. این نتایج نشان داد که تعداد سیناپس‌ها بر حسب نورون‌ها در این آزمایش‌ها افزایش می‌یابد (۳۳).

بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که احتمالاً ساختار دوپامینرژیک مزولیمبیک در انسان در طول تشخیص و کد کردن تحریکات جدید فعال می‌باشد. افزایش انشعابات دوپامینرژیک به هیپوکامپ موجب بهبود انعطاف‌پذیری سیناپسی برای کد کردن تحریکات جدید در سیناپس‌های CA3–CA1 شده و مانع از تداخل دیگر اطلاعات ورودی می‌گردد. از طرفی سیستم دوپامین همان‌طور که در یادگیری رفتار نقش دارد، در فعالیت‌های وابسته به شکل‌پذیری سیناپسی نیز نقش دارد (۳۴).

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که درمان مزمن و طولانی مدت با بروموکریپتین که آگونیست گیرنده D2 است، باعث دقیق شدن حافظه کاری و بهبود حافظه فضایی از طریق افزایش سیناپس‌ها می‌گردد (۳۵). به‌طوری‌که کاهش میزان دوپامین تغییر در عملکردهای شناختی را در پی دارد (۳۶).

مطالعات گذشته، استروسیت‌ها را به‌عنوان

حمایت‌کننده نورون‌ها در دستگاه عصبی مرکزی بیان می‌داشتند (۳۷). اما در سال‌های اخیر کشف شده است که آستروسیت‌ها در شکل‌پذیری سیناپسی و مسیرهای حافظه از اهمیت بالایی برخوردار هستند (۳۸ و ۱۲).

این در حالی است که مصرف مزمن داروی هالوپیریدول و کلوزاپین مانع از انعطاف‌پذیری سیناپسی و نوروژنز در هیپوکامپ می‌گردد، از طرفی استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ نیز منجر به مهار انعطاف‌پذیری نورونی و نوروژنز و همچنین نقص‌های رفتاری القا شده به‌وسیله داروهای آنتی‌سایکوتیک می‌گردد (۳۹).

با توجه به‌نتایج به‌دست آمده از نمودار ۱ مصرف داروی بروموکریپتین به‌مدت ۳۰ روز (روزانه به‌مقدار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر روز) باعث کاهش یادگیری و حجم هیپوکامپ راست موش‌ها می‌شود. همچنین داده‌های این مطالعه که با استفاده از روش‌های دقیق و unbiased استریولوژی به‌دست آمده، نشان داده که حجم هیپوکامپ راست متعاقب مصرف داروی بروموکریپتین با دوز ۱۰ میلی‌گرم کاهش یافته است. در حالی‌که مصرف روزانه این دارو با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز باعث افزایش یادگیری و همچنین افزایش حجم هیپوکامپ سمت راست و چپ گردیده است.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از نمودار ۲ مصرف داروی هالوپیریدول به‌مدت ۳۰ روز (روزانه به‌مقدار ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در روز) باعث کاهش یادگیری و حجم هیپوکامپ موش‌ها می‌شود. همچنین داده‌های این مطالعه که با استفاده از روش‌های دقیق و unbiased استریولوژی به‌دست آمده، نشان داده که حجم هیپوکامپ راست و چپ متعاقب مصرف داروی هالوپیریدول با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در روز کاهش یافته است. در حالی‌که مصرف روزانه این دارو با دوز ۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در روز باعث افزایش یادگیری گردیده و بر حجم هیپوکامپ بی‌تأثیر می‌باشد.

با توجه به‌نتایج به‌دست آمده از نمودار ۳ تفاوت آماری معنی داری بین تعداد سلول‌های استروسیت هیپوکامپ در گروه‌های دریافت کننده حداکثر دوز بروموکریپتین و هالوپیریدول با گروه شاهد و همچنین تفاوت آماری معنی‌داری بین تعداد استروسیت‌های هیپوکامپ در گروه‌های دریافت کننده حداقل دوز بروموکریپتین و هالوپیریدول با گروه شاهد وجود دارد که این تفاوت به‌ترتیب شامل کاهش و افزایش تعداد سلول‌های استروسیت می‌باشد.

در این مطالعه نشان داده شده که مصرف داروی هالوپیریدول و بروموکریپتین با دوز پایین نه تنها در بهبود یادگیری بلکه در افزایش حجم هیپوکامپ و تعداد سلول‌های استروسیت مؤثر است.

References:

1.Shahrivar T, Moazedi AA, Rasekh AR, et al. The effects of intrahippocampus injection of progesterone on passive avoidance learning and memory in adult male rats. ISMJ. In press 2012.
2.Chang BS, Lowenstein DH. Epilepsy. N Engl J Med 2003; 25: 1257-66.
3.Missale C, Nash S, Robinson SW, et al. Dopamine receptors from structure to funection. Physl rev 1998; 78: 189-225.
4.Jahanshahi M, Sadeghi Y, Hosseini A, et al. Working memory, learninig method and astrocytes number in different subfields of Rat's hippocampus. AJAVS 2008; 3: 28-31.
5.lisman JE, Grance AA. The Hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information in the long-term memory. Neuron 2005; 46: 703-13.

6.Huang YY, Kanddel ER. D1/D5 receptors agonist induce a protein synthesis-dependent late potentiation in the CA1 region of the Hippoampus. Proc Natl Acad Sci U S A 1995; 92: 2446-50.
7.Floresco SB, Magyar O, Ghods-Sharifi S, et al. Multiple Dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the Rat regulate set-shifting. Neuropsychopharmacology 2006; 31: 297-309.
8.Liggins JTP. The roles of Dopamine D1 and D2 receptors in working memory function. MSURJ 2009; 4: 39-44.
9-Favaroni Mendes LA, Menescal-de-Oliveira L. Role of cholinergic opiodergic and GABAergic neurotransmission of the dorsal hippocampus in the modulation of nociception in guinea pigs. Life Sci 2008; 83: 644-50.
10-Severino M, Pedersen AF, Trajkovska V, et al. Selective immunolesion of cholinergic neurons, leads to long-term changes in 5-HT2A receptor levels in hippocampus and frontal cortex. neurosci lett 2007; 428: 47-51.
11-Shen L. The effects of fluoxetine and quetiapine on the proliferation and differentiation of, and GDNF release from. C6 cell [dissertation]. Canada: saskatchewan univ., 2006.
12-Hansson E, Ronnback L. Astrocytic receptors and second messenger systems. Adv Mol Cell Biol 2004; 31: 475-501.
13.Davis LM, Michaelides M, Cheskin LJ, et al. Bromocriptine Administration reduces hyperphagia and adiposity and differentially affects Dopamine D2 receptor and Transporter binding in leptin-receptor-deficient Zuvker Rats and Rats with diet-induced obesity. Neuroendocrinology 2009; 89: 152-62
14.Marighetto A, Valerio S, Philippin JN, et al. Comparative effects of the dopaminergic agonists piribedil and bromocriptine in three different memory paradigms in rodents. J Psychopharmacol 2008; 22: 511-21.
15.Green MF, Marder SR, Glynn SM, et al. The neurocognitive effects of low-dose haloperidol: a two-year comparison with risperidone. Biol Psychiatry 2002; 51: 972-8.
16.kirk SL, Cahir M, Reynolds GP. clozapine but not haloperidol, increase neuropeptide Y neuronal expression in the Rat hypothalamus. J Psychopharmacol 2006; 20: 577-9.
17.Tan SE. Activation of hippocampal nitric oxide and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in response to morris water maze learning in rats. Pharmacol Biochem Behav 2009; 92: 260-6.
18.Noorafshan A, Poorasghar B, Esmaelzade B, et al. A Stereological Study on the Liver in the Early Stages ofStreptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rats. JMR 2004; 2: 10-9.
19.Kurtulus A, Acar K, Adiguzel E, et al. Hippocampal neuron loss due to electric injury in rats: A stereological study. Leg Med (Tokyo) 2009; 11: 59-63.
20-Keuker JI, de Biurrun G, Luiten PG, et al. Preservation of hippocampal neuron numbers and hippocampal subfield volume in behaviorally characterized aged tree shrew. J Comp Neurol 2004; 468: 509-17.
21.Maguire EA, Burgess N, Donnett JG, et al. Knowing where and getting there: A Humans navigation network. Science 1998; 280: 921-4
22.Sabahi A, Hosseini sharif abad M. Effect of noise pollution on passive avoidance learning and size of hippocampus in Rat. J Esfahan Med Sci 2006; 24: 44-8.
23.Smith MA, Makino S, Kventansry R, et al. Stress and glucocorticods affects the expression of brain neurotrophic factor and neurotrophine-3 mRNA in the Hippocampus. J Neurosci 1995; 15: 1768-77.
24.Ohta K, Kuno S, Mizuta I, et al. Effects of dopamine agonist bromocriptine, pergolid, cabergoline and SKF-38393 on GDNF, NGF and BDNF synthesis in cultured mouse astrocytes. Life Sci 2003; 73: 617-26.
25.Winner B, Sesplats P, Hagl C, et al. Dopamine receptor activation promotes adult neurogensis in an acute Parkinson model. Exp Neurol 2009; 219: 543-52.
26.Zearak GM, Sadrkhanlou R. The effect of haloperidol on the weight loss and development of limb buds in mouse embryo. Med J Tabriz 2004; 60: 20-3.
27.McEwen BS, Magarinos AM. Stress and hippocampal plasticity: implications for the pathophysiology of affective disorders. Hum Psychopharmacol 2001; 16: S7-S19.
28.Copolov D, Velakoulis D, McGorry P, et al. Neurobiological finding in early phase schizophrenia. Brain Res Brain Res Rev 2000; 31: 157-65.
29.Peng CH, Chiou SH, Chen SJ, et al. Neuroprotection by imipramine against lipopolysaccharide-induced apoptosis in hippocampus-derived neural stem cell mediated by activation of BDNF and MAPK

pathway. Eur Neuropsychopharmacol 2008; 18: 128-40.
30.Kalus P, Slotboom J, Gallinat J, et al. New evidence for involvement pf the entorhinal region in schizophrenia a combined MRI volumetric and DTI study. Neuroimage 2005; 24: 1122-9.
31.Fiore M, Di fausta V, Lannitelli A, et al. clozapine or Haloperidol in Rats prenatally expose to methylazoxymethanol, a compounds inducing entrohinal hippocampal deficits, alter brain and blood neurotrophin's concentration. Ann Ist Super Sanita 2008; 44: 167-77.
32.Mitchell IJ, Cooper AC, Griffiths MR, et al. Acute administration of haloperidol induces apoptosis of Neurones in the striatum and substantia nigra in the rat. Neuroscience 2002; 109: 89-99.
33.Van P, Christic BR, Sejnowski TJ, et al. Runing enhances neurogensis, learning and long term potentiation in mice. Proc Natl Acad Sci U S A 1999; 96: 13427-31.
34- Mueller SG1, Stables L, Du AT,et al. Measurement of hippocampal subfields and age-related changes with high resolution MRI at 4T. Neurobiol Aging. 2007;28(5):719-26.
35.Schott BH, Selluer DB, Lauer CJ, et al. Activation of midbrain Structurses by associative novelty and the formation of explicit memory in humans. Learn Mem 2008; 11: 383-7.
36.line K, Massucci JL, Marion DW, et al. Attenution of working memory and spatial acquisition deficits after a delayed and chronic bromocriptine treatment regiune in rats subjected of traumatic brain injury by controlled cortical impact. J Neurotroma 2002; 19: 415-25.
37.Nieoulloa A, Coquerel A. Dopamine: a key regulatory to adept action, emotion, motivation and cognition. Curr Opin Neurol 2003; 16: S3-9.
38.Naghdi N, Asadollahi A. Genomic and nongenomic effects of intrahippocampal microinjection of testosterone on long-term memory in male adult Rats. Behav Brain Res 2004; 153: 1-6.
39.Kielbinski M, Soltys Z. S100 Protein astrocytes and memory 2006, DOI: 10. 2478/v100052-008-0005.
40.Vafaee AA, Jalal A, Sadeghi H, et L. Effects of bilateral reversible inactivation of Accumbens Nucleus on acquisition and consolidation of memory in rats. ISMJ 2003; 6: 8-13.

ISMJ 2014; 17(4): 560-570

Original Article

Stereological study of Hippocampus & Role of D_2 receptors on learning & memory

S. Asaei [1], A. Sabzevari Fard [1], S. Mansour Pour [1],

Z. Azizi [1], GH. Ranjbar Omrani [1*]

[1]Endocrinology and Metabolism Research Center, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Fars, IRAN

(Received 16 Feb, 2011 Accepted 27 Nov, 2011)

Abstract

Background: Some of the studies showed that related to memory and Hippocampus- dependent learning, relation after take Bromocriptine (as D_2 agonist) and Haloperidol (as D_2 antagonist), there is no investigation concerning the effects of these two drugs on Hippocampus size and number of Asterocyt's cell . The aim of this study is to investigation the probable effects of Bromocriptine and Haloperidol on learning activities and Hippocampal size and number of Asterocyte in male Rats.

Materials and Methods: 45 male Rats of Sprague-Dawley race with the body weight of 220±20 gr have been selected randomly and divided to 5 groups (each one consists of 9 rats). The studied groups have been received 5 and 10 mg/kg/day and 2.5 and 5 mg/kg/day Bromocriptine and Haloperidol respectively and as daily Intra peritunial injections for one month. At the end of this period, spatial memory of different groups has been tested by Morris water maze. Then, the rats were anesthetized, and their brains have been fixed by intra cardiac fixator injection and then the brain was removed. The hippocampus serial sections of 7µm have been prepared. 10 samples have been chosen systematically from 100 and were evaluated. Volume estamination was done by Cavalier principle method.

Results: for the groups which received maximal dose of Haloperidol and Bromocriptine, it took long time and high distances to reach Morris water maze which indicated of week learning ability of these two groups. Furthermore, comparing to control, these two groups had small sized right Hippocampus. It took short time and low distances for the groups which received low dose of Haloperidol and Bromocriptine which indicated bether learning ability of these two groups and comparing to control one, these two groups had large sized Hippocampus. At the other hand, consumption of Haloperidol and Bromocritine with low and high dose in comparison with control group had increase and reduces in asterocytes cell respectivly

Conclusion: This study demonstrated that the low dose consumption of Haloperidol & Bromocriptine not only affects the learning positively, but also increases the Hippocampus volume and the number of asterocytes.

Key words: stereology, bromocriptine, haloperidol, hippocampus, learning

***Address for correspondence*: Endocrinology and Metabolism Research Center, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Fars, IRAN; E-mail: hormone@sums.ac.ir