

نقش سیگنالینگ گابا در تغییرات حافظه فضایی در مدل حیوانی بیماری آلزایمر

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۱/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۵

چکیده

بهاره توکلی فر^۱
مرجان حسینی^۲
هادی گودرزوند^۳
سمیرا چوپانی^۴
مهدی گودرزوند^{۵،*}

۱. دانشیار فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۲. استادیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۳. کارشناسی ارشد شیمی اسانس، سازمان ملی استاندارد، کرج، ایران
۴. کارشناس ارشد فیزیولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران
۵. دانشیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۶. مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی البرز

مقدمه: آلزایمر بیماری‌ای پیشرونده و همراه با از دست دادن خفیف حافظه است که به مرور منجر به از دست دادن توانایی انجام مکالمه و واکنش به محیط می‌شود. علیرغم نقش اثبات شده داروهای مورد استفاده علیه مسببین آشکار بیماری آلزایمر، همچنان دستیابی به درمانی موثر و مانا برای درمان بیماری آلزایمر ناممکن به نظر می‌رسد. بنابراین، بررسی زوایای مختلف سیگنالینگ سیستم گابا می‌تواند به عنوان یک هدف امیدوارکننده برای توسعه داروهای ضد آلزایمر معرفی گردد.

مواد و روش‌ها: برای القای مدل حیوانی آلزایمر، بتا - آمیلوئید به میزان $5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ به صورت دو طرفه در ژيروس دندانهای هیپوکامپ موش‌های نر نژاد ویستار تزریق شد، سپس با تزریق دو طرفه آگونیست (موسیمول) و آنتاگونیست گیرنده گابا-A (بیکوکلین) با دوز $100 \text{ ng}/\mu\text{l}/\text{side}$ به مدت ۴ روز در هر سمت هیپوکامپ درمان شدند. جهت بررسی حافظه فضایی حیوانات از پارامترهایی مانند مسافت طی شده توسط حیوانات، زمان رسیدن به سکوی پنهان و سرعت شنای حیوانات در تست آبی موریس استفاده گردید.

یافته‌ها: میزان مسافت طی شده و مدت زمان رسیدن به سکوی پنهان در تست آبی موریس به دنبال تزریق توکسین بتا آمیلوئید افزایش یافت و موسیمول میزان این اختلال حافظه را تشدید کرد. تزریق بیکوکلین نتوانست به شکل معنی‌داری تغییری در حافظه فضایی حیوانات ایجاد کند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه حاکی از اثر مخرب توکسین بتا آمیلوئید بر حافظه فضایی و همچنین نقش مخرب موسیمول، آگونیست گابا-A، در بازیابی و تثبیت حافظه دارد.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر؛ گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا)؛ حافظه فضایی؛ بتا - آمیلوئید

* نویسنده مسئول:

دانشیار فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی البرز
تلفن: +۹۸۲۶۳۴۱۹۸۳۰۲
+۹۸۹۱۲۵۶۴۴۶۲۰
ایمیل: m.godarzvand@abzums.ac.ir

مقدمه

بیماری آلزایمر بخش‌هایی از مغز را درگیر می‌کند که در ارتباط با تفکر، حافظه و زبان می‌باشند و همین امر می‌تواند به طور جدی بر توانایی فرد در انجام فعالیت‌های روزانه تأثیر بگذارد. در حال حاضر بیش از ۵۵ میلیون نفر در سراسر جهان به بیماری آلزایمر مبتلا هستند و تا سال ۲۰۳۰ این تعداد به بیش از ۷۸ میلیون نفر افزایش خواهد یافت. براساس اعلام انجمن آلزایمر ایران در حال حاضر بیش از یک میلیون نفر در کشور مبتلا به دمانس (انواع مشکلات شناختی و زوال عقل) هستند که ۷۰ درصد آن را آلزایمر (بیماری فراموشی) تشکیل می‌دهد. به گفته رئیس انجمن آلزایمر ایران، هر ۷ دقیقه یک نفر به این بیماری مبتلا می‌شود. بروز آلزایمر در سن بالای ۶۵ سال شایع است و از آنجا که ایران سومین کشور دنیا با افزایش جمعیت سالمندی است، دور از تصور نخواهد بود که تعداد مبتلایان به این بیماری در سال‌های پیش رو به شکل چشمگیری افزایش خواهد یافت.^۱ با توجه به این مسائل، محققان بر مداخلات و اقدامات پیشگیرانه در کاهش روند ابتلا به دمانس و آلزایمر تأکید می‌کنند.^{۲-۵}

اختلال عملکرد سیناپسی می‌تواند به عنوان یک عامل مخرب در روند ایجاد و پیشرفت بیماری آلزایمر در نظر گرفته شود. دو نوع عمده سیناپس در سیستم عصبی مرکزی (CNS) وجود دارد که شامل سیناپس‌های گلوتاماترژیک و گاباژیک بوده و به ترتیب خروجی‌های تحریکی و مهارتی را ارائه می‌دهند. داده‌های فراوانی نشان‌دهنده اختلال در سیستم گلوتاماترژیک در طول پیشرفت بیماری است. با این حال، مطالعات متعددی از این ایده حمایت می‌کنند که شبکه عصبی عمده مختل شده که زمینه‌ساز ایجاد بیماری بوده تغییرات سیستم گاباژیک می‌باشد.^۶ بنابراین انتظار داریم که عملکرد این سیستم در روند ایجاد بیماری آلزایمر یا نقش اصلی را بازی کند یا به عنوان یک پاسخ جبرانی به سمیت تحریک‌پذیری ایجاد شده، به شکل‌گیری و پیشرفت بیماری آلزایمر کمک کند.^۲ اسید گابا آمینو بوتیریک اسید یا به اختصار GABA مهم‌ترین نوروترانسمیتر مهارتی سیستم عصبی مرکزی در بدن محسوب می‌گردد. گابا اثرات خود را از طریق گیرنده‌های مختلفی اعمال می‌کند. گیرنده‌های گابا دو نوع می‌باشند: گیرنده‌های متابوتروپیک و یونوتروپیک. گیرنده‌های متابوتروپیک یا گابا-B از طریق جفت شدن با پروتئین‌های G و کاهش

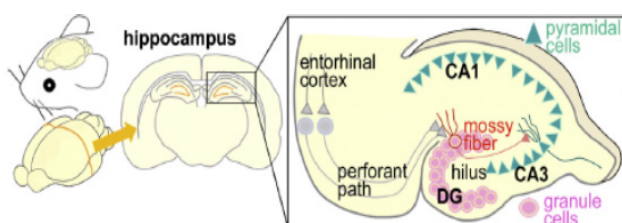
ورود یون کلسیم، افزایش خروج یون پتاسیم و یا کاهش سطح آدنوزین منوفسفات حلقوی از سلول اعمال اثر می‌کنند. گیرنده‌های یونوتروپیک یا گابا-A در واقع کانال‌های یونی وابسته به لیگاند می‌باشند.^۷ در کنار سیستم گاباژیک، به اثبات رسیده است که فعالیت نورون‌های ترشح‌کننده استیل کولین (یا در اصطلاح سیستم کولینرژیک مرکزی) نقش مهمی در ایجاد و در مرحله بعد پردازش یادگیری و حافظه دارند. از طرفی، سیستم کولینرژیک در آمیگدال و هیپوکامپ به عنوان اصلی‌ترین مراکز شکل‌گیری و پردازش حافظه و یادگیری، به عنوان یکی از عمده‌ترین مراکز افکتور برای تخلیه نورون‌های گاباژیک محسوب می‌شوند که نشان‌دهنده نقش تعدیلی سیستم گاباژیک در فرایند یادگیری و حافظه می‌باشند. وجود نورون‌های گاباژیک و اعمال مهار آن بر نورون‌های کولینرژیک که به صورت پیش‌سیناپسی روی غشای این نورون‌ها قرار دارند، می‌تواند با کاهش رهایش استیل کولین فرایندهای منتهی به تبدیل حافظه کوتاه مدت به بلند مدت را به شدت تضعیف کند.^۸ از طرف دیگر مطالعات دیگری معتقدند در نتیجه نقص سیگنالینگ گابا و وجود تحریک بیش از حد توسط سیستم گلوتامینرژیک، تخریب عصبی و اختلال در عملکردهای سطح بالاتر از عوارض نبود و نقص سیستم تعدیلی گاباژیک می‌باشد که یکی از نتایج آن اختلالات شناختی و عملکردی در آلزایمر است.^۹ در این مطالعه به منظور بررسی نوع مشارکت سیستم گاباژیک در روند بیماری آلزایمر به ترتیب از آگونیست و آنتاگونیست رسپتور گابا-A یعنی موسیمول و بیکوکولین استفاده نمودیم و با توجه به متناقض بودن نتایج حاصل از مطالعات گذشته و در دسترس، در این مطالعه برآن شدیم تا با استفاده از آگونیست و آنتاگونیست اختصاصی رسپتورهای گابا خود به بررسی تحریک و مهار سیستم گاباژیک در روند بیماری آلزایمر بپردازیم

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی بر روی موش‌های صحرایی بالغ نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم (خریداری شده از انستیتو پاستور) انجام شد. حیوانات پیش از شروع آزمایش به مدت دو هفته برای سازگاری با محیط در حیوانخانه دانشگاه نگهداری شدند و در طول این مدت و همچنین در طول آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. همه مراحل تحقیق مبتنی بر دستورالعمل رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب

الکل ۷۰٪ تمیز و سپس یک برش طولی ۱/۵ سانتیمتری در پوست جمجمه (از حد فاصل دو چشم تا برآمدگی استخوان پس سری) با استفاده از تیغ بیستوری ایجاد گردید. عضلات و بافت‌های روی جمجمه کاملاً برداشته و سطح استخوان تمیز و خشک تا محل درزها (برگما، لامبدا و ساجیتال) نمایان گردد. مختصات ژيروس دنداندار بر اساس نقشه توپوگرافی اطلس پاکسینوس و واتسون نسبت به برگما تعیین و علامت‌گذاری شد. سپس سوراخی به قطر ۱/۵mm توسط مته دندانپزشکی در آن نقطه ایجاد گردید، پرده سخت شامه با نوک سوزن برداشته و آنگاه با تزریق مستقیم ۵ میکروگرم (۳ میکرولیتر) بتا آمیلوئید (۲۵-۳۵ Fragment) در سالی ۹/۰ درصد در ژيروس دنداندار هیپوکامپ در هر طرف راست و چپ موش صحرایی، با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه، القا شد (شکل ۱-۲). جهت اطمینان از فراهم نمودن زمان لازم برای انتشار بتا آمیلوئید سوزن تزریق برای مدت حدود ۵-۴ دقیقه دیگر در محل نگه داشته شد. پس از جراحی هر موش بطور انفرادی در قفس نگهداری شد. در این پژوهش از پروتکل ۵ روزه تزریق بتا آمیلوئید و ارزیابی حافظه استفاده شد.

پس از تزریق، محل را با بتادین شستشو داده و پس از بخیه کردن، حیوان را در قفسی تمیز و از قبل ضد عفونی شده با الکل قرار دادیم تا دوران بهبودی پس از جراحی را طی کند. در گروه کنترل به جای بتا آمیلوئید (جهت مقایسه و تأیید ایجاد آلزایمر) حجم برابری از آب مقطر تزریق شد.



شکل ۱: محل تزریق بتا- آمیلوئید در ژيروس دنداندار هیپوکامپ با فلش نشان داده شده است.

جهت تأیید القای آلزایمر، بعد از هفت روز ریکاوری مطالعه رفتاری (تست موریس واتر میز) برای تأیید مدل‌سازی انجام شد. بعد از این زمان موش‌ها از دو جهت ارزیابی شدند:

۱. گروه کنترل (DDW): گروه دریافت‌کننده آب مقطر به میزان ۱ μl به عنوان حلال داروی بتا آمیلوئید.
۲. گروه دریافت‌کننده محلول بتا آمیلوئید با غلظت ۱۰ μg (۵ μg/μl) جهت القای مدل حیوانی بیماری آلزایمر.
۳. گروه دریافت‌کننده DMSO ۴ درصد به میزان ۱ μl به عنوان حلال آگونیست و آنتاگونیست گابا-A.
۴. گروه دریافت‌کننده بیکوکولین + DMSO (آنتاگونیست گابا-A) با دوز ۱۰۰ ng/μl/side^۸.
۵. گروه دریافت‌کننده موسیمول + DMSO (آگونیست گابا-A) با دوز ۱۰۰ ng/μl/side^۹.

بتا آمیلوئید (۲۵-۳۵ Fragment) و داروهای بیکوکولین به عنوان آنتاگونیست و موسیمول به عنوان آگونیست گیرنده گابا-A همگی از شرکت سیگما خریداری شدند. به منظور القای آلزایمر، بتا آمیلوئید به صورت دو طرفه در ناحیه ژيروس دنداندار هیپوکامپ تزریق شد (به مدت ۵ روز) و بعد از اطمینان از ابتلای حیوانات به آلزایمر، درمان دارویی با آگونیست و آنتاگونیست گابا به مدت ۴ روز همراه با دوره Training موریس به صورت تزریق داخل هیپوکامپ و در همان محل تزریق بتا- آمیلوئید انجام گرفت.

القای آلزایمر توسط بتا آمیلوئید

در این تحقیق جهت القای مدل آلزایمر از فراگمان ۲۵-۳۵ بتا آمیلوئید استفاده شد. بعد از حل کردن در سالی، برای تشکیل فیبریل‌های بتا آمیلوئید که سمیت نورونی دارند محلول به دست آمده به مدت سه روز در ۳۷ درجه انکوبه شد.

حیوانات پس از توزین و آماده کردن وسایل جراحی توسط تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات (۸۰mg/kg) بیهوش شدند. موش‌ها پس از وزن‌کشی با تزریق داخل صفاقی (Intraperitoneal) کلرال هیدرات ۸۰mg/kg بیهوش شدند. سپس محورهای دستگاه استریوتاکسی در سه جهت فضایی تنظیم و حیوان در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفت. موهای پشت سر حیوان با یک قیچی، کوتاه و پوست ناحیه توسط پنبه آغشته به

آزمایش، که سکوی آشکار (Visible Platform) نامیده می‌شود، اگر حیوان قادر به یافتن سکو باشد سلامت سیستم بینایی-حرکتی حیوان تایید می‌گردد. هر روز پس از اتمام آزمایشات، حیوانات خشک و به قفس منتقل می‌شوند. پارامترهای مسافت طی شده توسط حیوان برای رسیدن به سکو و تاخیر زمانی در رسیدن به سکو شاخص‌هایی از یادگیری و حافظه فضایی محسوب می‌شوند. همچنین سرعت شنای حیوان نیز شاخصی از سلامتی سیستم حسی-حرکتی حیوان می‌باشد.

روش‌های آماری

پس از بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها، از نرم‌افزار Prism ۸ جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد. از آزمون ANOVA یک طرفه با تست تعقیبی Tukey برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها استفاده شد. P value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

آزمون سنجش یادگیری-حافظه (Morris water maze) به دنبال تزریق آنتاگونیست گابا-A (بیکوکولین)

با کمک دستگاه ماز آبی موریس (Morris water maze) نشان داده شد که مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان توسط موش‌های دریافت‌کننده بتا آمیلوئید در مقایسه با گروه کنترل دریافت‌کننده آب مقطر به طور معنی‌داری افزایش یافته است که نشانه القای مدل آلزایمر در حیوانات می‌باشد. هرچند این شاخص در گروه‌های دریافت‌کننده آنتاگونیست افزایش معنی‌داری نشان نداد (نمودار ۱).

از سوی دیگر مشاهده کردیم که زمان رسیدن به سکوی پنهان در گروه‌های دریافت‌کننده آنتاگونیست گابا، در مقایسه با گروه آلزایمری و کنترل نیز افزایش معنی‌داری ندارد. (نمودار ۲). شاخص دیگری که در این آزمون مورد ارزیابی قرار گرفت، سرعت شنای حیوانات بود. در این بررسی مشخص شد که سرعت شنای حیوان برای رسیدن به سکو تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نشان نمی‌دهد (نمودار ۳).

بررسی یادگیری و حافظه فضایی در ماز آبی موریس (Morris water maze)

اساس این روش بر این پایه استوار است که حیوانات استراتژی مناسبی را برای جستجوی محیط خود و فرار از خطر (در این مورد آب) پیدا کرده که طی آن با حداقل تلاش به نتیجه مطلوب برسند. زمان سپری شده و مسافت طی شده جهت یافتن سکوی مخفی توسط حیوان بررسی می‌شود.^{۱۰}

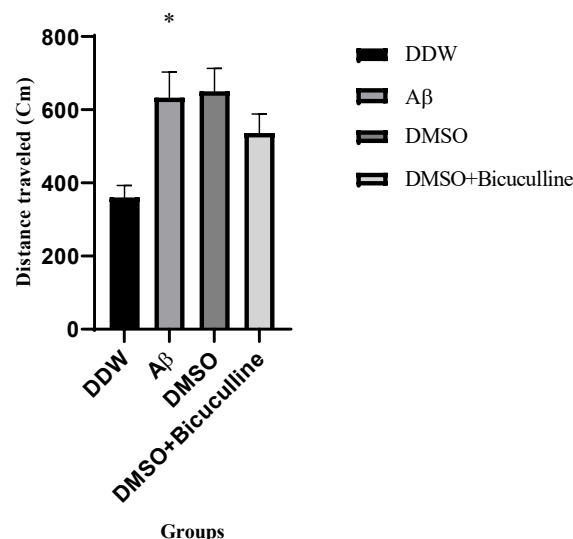
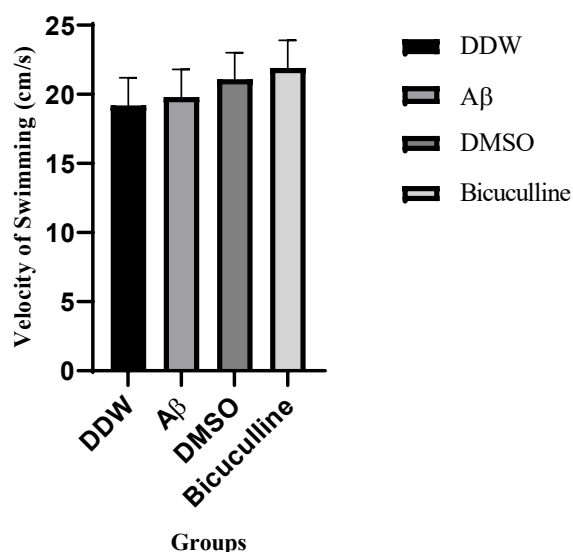
ماز آبی موریس حوضچه‌ای گرد و سیاه با قطر ۱۳۶ cm و ارتفاع ۶۰ cm بود که تا ارتفاع ۲۵ cm با آب $20 \pm 1^\circ C$ پر می‌شد. ماز در اتاقی قرار دارد که در اطراف آن علائم و نشانه‌های خارج مازی (مثل ساعت، پنجره، پوستر، قفسه و چراغ) وجود دارد و از نظر جغرافیایی بطور فرضی به چهار ربع دایره با فواصل برابر از هم تقسیم می‌شود. یک سکوی گرد از جنس پلکسی گلاس به قطر ۱۰ cm در مرکز یکی از ربع‌ها دایره و یک سانتیمتر زیر سطح آب قرار می‌گیرد. یک دیود ساطع‌کننده نور مادون قرمز که توسط یک نوار کشی به پشت حیوان وصل می‌شود و یک دوربین ویدیویی که در بالای حوضچه نصب شده نور مادون قرمز را ردیابی می‌کند. در نهایت، سیگنال‌ها به کامپیوتر منتقل و توسط سیستم نرم‌افزاری تحلیل می‌گردد.

آموزش حیوانات

در آزمایش‌های سکوی پنهان (Hidden Platform) هر موش به مدت چهار روز و در هر روز یک بلوک و در هر بلوک چهار بار تحت آموزش قرار می‌گیرد. در هر بلوک حیوان چهار بار و فقط یکبار، از هریک از جهات (شمال، جنوب، شرق و غرب) که بطور تصادفی توسط کامپیوتر تعیین می‌گردد، رها می‌شود. در هر بار ۹۰ ثانیه به موش فرصت داده می‌شود تا محل سکو را پیدا کند، در غیر این صورت به روی سکو راهنمایی می‌گردد و در هر صورت ۳۰ ثانیه به حیوان فرصت داده می‌شود تا بر روی سکو بماند و محیط اطراف را بررسی نماید.

بررسی سلامت سیستم حسی-حرکتی

در روز پنجم آزمایش سکو با کاغذ آلومینیومی پوشانده و تقریباً یک سانتیمتر بالاتر از سطح آب قرار می‌گیرد تا کاملاً قابل رؤیت باشد. بوسیله این



نمودار ۳: تاثیر بیکوکولین در غلظت $100\text{ ng}/\mu\text{l}$ بر سرعت شنای حیوان برای رسیدن به سکو (cm/s) که اختلاف معنی داری را نشان نداد.

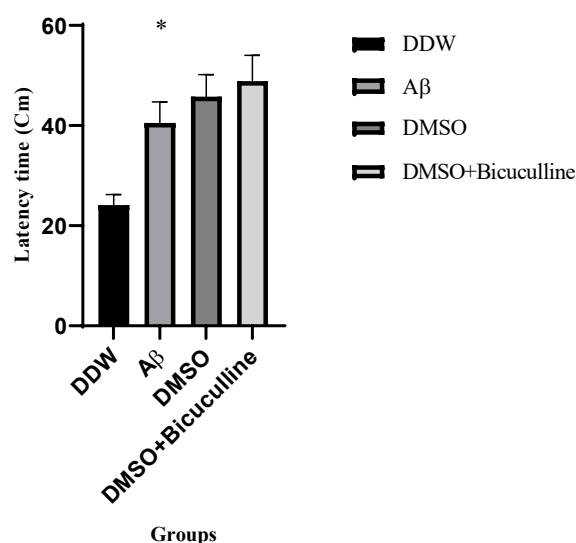
نمودار ۱: تاثیر بیکوکولین در غلظت $100\text{ ng}/\mu\text{l}$ بر مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان بر حسب سانتی متر که اختلاف معنی داری را نشان نداد. $P < 0.05$: * نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه دریافت کننده Aβ با گروه DDW (کنترل) که نشانه القای مدل آلزایمر در حیوانات می باشد.

آزمون سنجش یادگیری - حافظه (Morris water maze) به دنبال

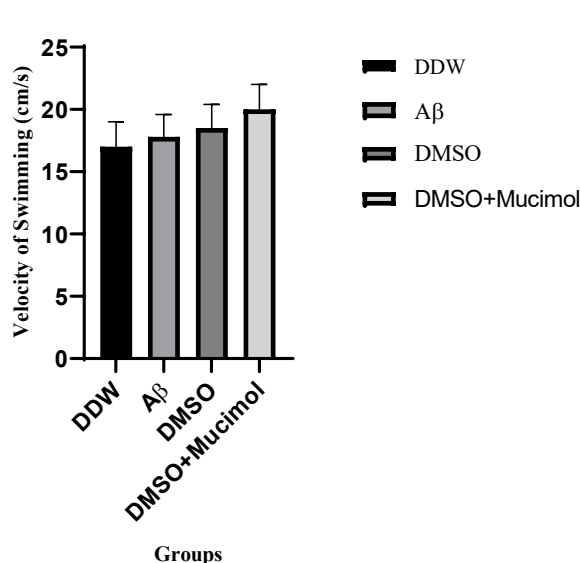
تزریق آگونیست گابا-A (موسیمول)

با استفاده از دستگاه ماز آبی موریس (Morris water maze) نشان داده شد که مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان توسط موش های دریافت کننده بتا آمیلوئید در مقایسه با گروه کنترل دریافت کننده آب مقطر به طور معنی داری افزایش یافته است. این شاخص در گروه های دریافت کننده آگونیست گابا به طور معنی داری افزایش یافت (نمودار ۴).

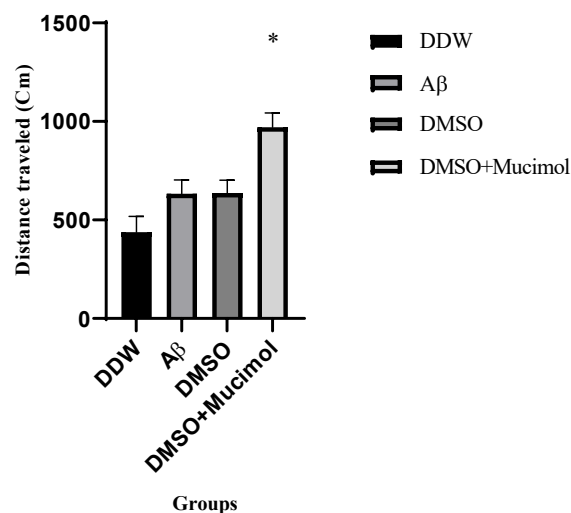
در این مطالعه مشاهده کردیم که که زمان رسیدن به سکوی پنهان در گروه های دریافت کننده آگونیست گابا، در مقایسه با گروه آلزایمری و کنترل به صورت معنی دار افزایش یافت (نمودار ۵). شاخص دیگری که در این آزمون مورد ارزیابی قرار گرفت، سرعت شنای حیوانات بود. در این بررسی مشخص شد که سرعت شنای حیوان برای رسیدن به سکو تفاوت معنی داری بین گروه ها نشان نمی دهد (نمودار ۶).



نمودار ۲: تاثیر بیکوکولین در غلظت $100\text{ ng}/\mu\text{l}$ بر زمان رسیدن به سکوی پنهان بر حسب ثانیه که اختلاف معنی داری را نشان نداد. $P < 0.05$: * نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه دریافت کننده Aβ با گروه DDW (کنترل) که نشانه القای مدل آلزایمر در حیوانات می باشد.



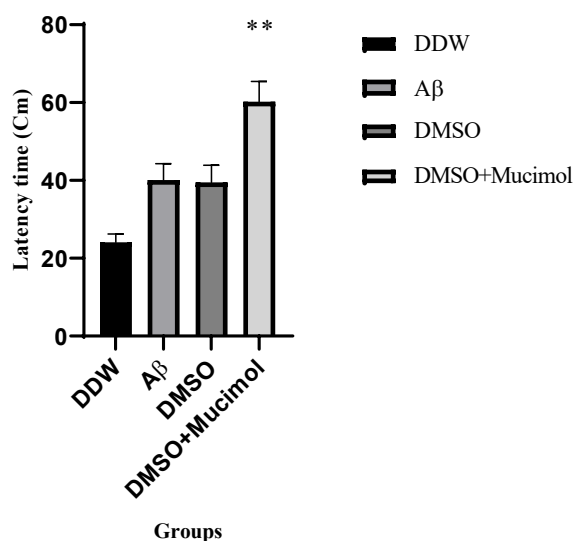
نمودار ۶: تاثیر موسیمول در غلظت $100\text{ ng}/\mu\text{l}$ بر سرعت شنای حیوان برای رسیدن به سکو (cm/s) که اختلاف معنی داری مشاهده نشد.



نمودار ۷: تاثیر موسیمول در غلظت $100\text{ ng}/\mu\text{l}$ بر مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان بر حسب سانتی متر. $P < 0.05$: * نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه دریافت کننده موسیمول با گروه Aβ.

بحث و نتیجه گیری

بیماری آلزایمر شایع ترین شکل زوال عقل می باشد. آلزایمر یک بیماری پیشرونده است که با از دست دادن خفیف حافظه شروع شده و به مرور زمان منجر به از دست دادن توانایی انجام مکالمه و حتی واکنش به محیط می شود. افزایش بیان پروتئین های تائو (از جمله عوامل تثبیت کننده میکروتوبول ها در سلول) در داخل نورون ها و همینطور تشکیل پلاک های آمیلوئیدی در خارج از نورون شرایط را برای بروز و پیشرفت بیماری های مرتبط به زوال عقل مانند آلزایمر و پارکینسون محیا خواهد کرد. پیشرفت بیماری آلزایمر همراه با اختلالات رفتاری و شناختی، از جمله از دست رفتن تدریجی حافظه به خصوص حافظه فضایی و عدم توانایی در جهت یابی می باشد^{۱۱،۱۳}. درگیری سیستم های سیناپسی و نوروترانسمیترهای متعددی از جمله گابا، گلوتامات و استیل کولین در ایجاد و پیشبرد روند بیماری آلزایمر محرز شده است. با این حال به دلیل پراکنش بسیار زیاد در مناطق مختلف مغزی و نخاعی و از همه مهمتر، جایگیری رسپتورهای متعدد این میانجی ها در موقعیت های متفاوت (پیش و پس سیناپسی)، نتیجه گیری واحد و مشخصی را در مورد نوع مشارکت آن ها در پاتولوژی آلزایمر بسیار دشوار کرده است^{۱۴}. در مطالعه ای که توسط این تیم به موازات بررسی حاضر انجام گرفت، به بررسی اثر آنتاگونیست گیرنده کانابینوئید-۱ بر میزان بیان ژن TAU و حافظه فضایی در مدل حیوانی بیماری آلزایمر



نمودار ۵: تاثیر موسیمول در غلظت $100\text{ ng}/\mu\text{l}$ بر تاخیر زمان رسیدن به سکوی پنهان بر حسب ثانیه. $P < 0.01$: ** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه دریافت کننده موسیمول با گروه Aβ.

پرداخته شد. اگرچه بسیاری از آگونیست‌های درون‌زاد برای گیرنده‌های کانابینوئید (اندوکانابینوئیدها) توصیف شده‌اند، عملکرد شناخته شده‌ای برای این مولکول‌ها (که مشتق شده از چربی هستند) به عنوان لیگاند درون‌زاد گیرنده‌های کانابینوئید وجود ندارد. گیرنده‌های کانابینوئید در موقعیت‌های فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک مختلفی در بدن به ایفای نقش می‌پردازند، از جمله تنظیم خلق و خو، اشتها، احساس درد، تون پایه ماهیچه صاف عروقی و غیر عروقی و عملکرد سیستم ایمنی. التهاب عصبی، که ابتدا به صورت فعال شدن بیش از حد میکروگلیاها آشکار می‌شود، همین موضوع یک ویژگی برجسته در بیماری آلزایمر محسوب می‌گردد که به آسیب سلولی منجر خواهد شد. در این مطالعه در نهایت مشخص شد که تجویز آنتاگونیست کانابینوئید سبب تخریب حافظه فضائی و افزایش بیان ژن تائو می‌گردد. هر چند که تحقیقات بیشتری در این زمینه خصوصاً با حضور آگونیست کانابینوئیدها (در این مطالعه مشکل در تهیه آن وجود داشت) توصیه می‌گردد.

اما، در این مطالعه به بررسی نقش رسپتور گابا-A در روند بیماری آلزایمر پرداختیم. ما در این مطالعه مشاهده کردیم که تزریق آگونیست رسپتورهای گابا-A با دوز $100 \text{ ng}/\mu\text{l}$ به صورت دوطرفه در ناحیه ژيروس دندانهای هیپوکامپ موش‌های مبتلا به آلزایمر منجر به تشدید روند بیماری خواهد شد. این در حالی است که آنتاگونیست گابا در بررسی ما نتوانست تاثیر معنی‌داری در روند بیماری آلزایمر برجای گذارد.

گابا انتقال دهنده عصبی بازدارنده اصلی در مغز انسان است و در تعدیل فعالیت‌های کولینرژیک و گلوتاماترژیک در نئوکورتکس و هیپوکامپ (مناطق که به شدت در بیماری آلزایمر تحت تاثیر قرار می‌گیرند) حضور فعال دارد^{۱۵}. گابا در تمایز و بلوغ سلول‌های عصبی در طی تکامل و همین‌طور فرایند نوروزن در هیپوکامپ بالغ، که در فرایندهایی مانند شکل‌گیری حافظه و یادگیری دخیل هستند، نقش کلیدی ایفا می‌کند. از طرف دیگر می‌دانیم که هر دو نوع رسپتورهای گابا (A و B)، توزیع گسترده‌ای در سراسر سیستم عصبی مرکزی دارند، این شکل توزیع پراکنده و همین‌طور ناهمگنی ساختار مولکولی گیرنده‌های گابا فرصت‌های زیادی را برای این سیستم نوروترانسمیتری به منظور دستکاری همه جانبه فعالیت‌های شبکه‌های کولینرژیک و گلوتاماترژیک در مغز (به ویژه در طی آلزایمر) فراهم می‌کند. به عنوان مثال برخی مطالعات نشان داده‌اند استفاده از آنتاگونیست‌های غیر اختصاصی گابا در نهایت منجر به کاهش

از دست دادن نورونی و پیشگیری از اختلال فرایندهای شناختی موش‌های مسن می‌گردد^{۱۶}.

سیگنال‌دهی گابا/رژیک مغز در طی بیماری آلزایمر به شدت تغییر می‌کند. علاوه بر این، دامنه جریان گابا با پیری طبیعی به شکل خود به خود و فیزیولوژیک کاهش می‌یابد و بنابراین کاهش جریان گابا در مغز طی بیماری آلزایمر وابسته به سن است. این مطلب با یافته‌های گذشته که عنوان می‌کردند سیگنالینگ گابا همزمان با افزایش سن تغییر بارزی ندارند، در تضاد است. در مورد بیماری آلزایمر، در حقیقت کاهش جریان گابا در تمام سنین رخ خواهد داد. با این وجود، کاهش اعمال اثر گابا در بیماران جوانتر نسبت به گروه کنترل به شکل قابل ملاحظه‌ای بارزتر می‌باشد که این نتیجه با آتروفی بیشتر قشر مغز و اختلال بیشتر در عملکردهای شناختی و حافظه در بیمارانی که در سنین پایتتر به آلزایمر مبتلا می‌شوند در مقایسه با بیماران مسن‌تر، مطابقت دارد^{۱۷}.

طبق نتایج حاصل از این مطالعات فعالیت سیستم گابا/رژیک می‌تواند موجب سرکوب و مهار رهائش استیل کولین از نورون‌های کولینرژیک گردد، با بررسی دقیق‌تر در مورد نورون‌های کولینرژیک نواحی درگیر در حافظه و یادگیری مشخص شد که گیرنده‌های گابا در غشای جسم سلولی نورون‌های کولینرژیک حضور دارند و از طریق کاهش رهائش استیل کولین (میانجی مسئول اعمال شناختی) اعمال اثر می‌کنند. این تحقیقات مدعی هستند که گابا با افزایش هدایت کانال‌های پتاسیمی و نیز از طریق کاهش ساخت cAMP در نهایت هم رهائش و هم سنتز استیل کولین را تحت تاثیر قرار می‌دهند و بنابراین با مهار مسیرهای داخل سلولی منتج به رهائش استیل کولین، فرایندهای منتهی به ایجاد حافظه بلند مدت را تحت تاثیر قرار داده و تضعیف کنند^{۱۸}. این نتیجه در راستای مطالعه ما می‌باشد. در یک مطالعه آمده است که بهبود حافظه ناشی از فیزوستیگمین (مهار کننده استیل کولین استراز) می‌تواند توسط موسیمول مختل شود^{۱۸}. آگونیست گیرنده گابا-B، باکلوفن، نیز با روشی مشابه بهبود حافظه ناشی از فیزوستیگمین را کاهش داد. داده‌های ارائه شده توسط دیگران نشان می‌دهد که باکلوفن می‌تواند آزادسازی استیل کولین را در مغز موش‌ها مهار کند یا ریتم تتا هیپوکامپ را مختل کند^{۱۹}.

از سوی دیگر در مطالعات دیگری این نتیجه حاصل شده است که فعالیت سیستم گابا/رژیک لزوماً به معنی سرکوب محتوای کولینرژیک نمی‌باشد. برای نمونه در مطالعه‌ای این‌طور آمده است که گیرنده‌های گابا

تقدیر و تشکر

کلیه نویسندگان از معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی البرز جهت حمایت مالی در انجام این تحقیق، تشکر و قدردانی می نمایند.

تعارض منافع

کلیه نویسندگان متعهد می شوند که هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

حمایت مالی

این تحقیق با حمایت مالی (با شماره P/92/115) معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی البرز انجام شد.

مشارکت نویسندگان

طراحی تحقیق: مهدی گودرزوند و بهاره توکلی فر. جمع آوری داده ها: هادی گودرزوند و سمیرا چوپانی. تحلیل و تفسیر داده ها: مرجان حسینی و مهدی گودرزوند. مدیریت تحقیق: مهدی گودرزوند.

علاوه بر نورون های کولینرژیک می توانند در موقعیت پیش سیناپسی در نورون های سیستم گلوتامینرژیک (به ویژه در آمیگدال) قرار بگیرند و با کاهش رهایش گلوتامات، میزان آزادسازی استیل کولین تحت تاثیر قرار خواهد گرفت^{۱۴،۱۹}.

نتیجه گیری:

میانجی مهای اولیه موجود در بسیاری از نورون ها و فیبرهای آوران در هیپوکامپ گابا است. در مطالعه حاضر، آگونیست و آنتاگونیست گیرنده گابا-A در ناحیه ژيروس دندانه هیپوکامپ به منظور بررسی نقش گیرنده گابا-A در فرایند حافظه و یادگیری تزریق شد و مشاهده کردیم تزریق آگونیست گابا-A، موسیمول، موجب پیشبرد نقص حافظه و یادگیری طی بیماری آلزایمر خواهد شد.

با توجه به متناقض بودن یافته های موجود در مورد شکل اثر سیستم گابارژیک، این موضوع کاملاً مشخص است که به منظور دستیابی به نتیجه ای قابل قبول و قابل استناد در مورد نوع شرکت این سیستم در بیماری آلزایمر، نیاز به بررسی های دقیق مولکولی و رفتاری بیشتر و متنوع تری می باشد.

References

1. Fahanik-Babaei J, Sedighi M, Mehrabi S, et al. Preliminary report of Iranian Registry of Alzheimer's disease in Tehran province: A cross-sectional study in Iran. *Health Science Reports* 2022;5(6): e952.
2. Li Y, Sun H, Chen Z, et al. Implications of GABAergic neurotransmission in Alzheimer's disease. *Frontiers in aging neuroscience* 2016;8: 31.
3. Carello-Collar G, Bellaver B, Ferreira PC, et al. The GABAergic system in Alzheimer's disease: a systematic review with meta-analysis. *Molecular Psychiatry* 2020;3:1-12.
4. Abbas G, Mahmood W, Kabir N. Recent progress on the role of GABAergic neurotransmission in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Reviews in the Neurosciences* 2016;27(4): 449-55.
5. Záborszky L, Cullinan WE, Braun A. Afferents to basal forebrain cholinergic projection neurons: an update. *The basal forebrain: Anatomy to function* 1991: 43-100.
6. Xu Y, Zhao M, Han Y, Zhang H. GABAergic inhibitory interneuron deficits in Alzheimer's disease: implications for treatment. *Frontiers in neuroscience* 2020;14:660.
7. Ghit A, Assal D, Al-Shami AS, Hussein DEE. GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 2021;19(1): 1-15.
8. Frye CA, Qrareya A, Llaneza DC, Paris JJ. Central actions of 3 α , 5 α -THP involving NMDA and GABAA receptors regulate affective and sexual behavior of female rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 2020;14: 11.
9. Ohno M, Yamamoto T, Watanabe S. Intrahippocampal injections of benzodiazepine and muscimol impair working memory but not reference memory of rats in the three-panel runway task. *European journal of pharmacology* 1992;219(2): 245-51.
10. Nunez J. Morris water maze experiment. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)* 2008(19): e897.
11. Kolarova M, García-Sierra F, Bartos A, et al. Structure and pathology of tau protein in Alzheimer disease. *International journal of Alzheimer's disease* 2012;2012.
12. Morishima-Kawashima M, Ihara Y. Alzheimer's disease: β -Amyloid protein and tau. *Journal of neuroscience research* 2002;70(3): 392-401.
13. Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, et al. Alzheimer disease. *Nature reviews Disease primers* 2021;7(1): 33.
14. Czapski GA, Strosznajder JB. Glutamate and GABA in microglia-neuron cross-talk in Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences* 2021;22(21): 11677.
15. Zhang W, Xiong B-R, Zhang L-Q, et al. The role of the GABAergic system in diseases of the central nervous system. *Neuroscience* 2021;470: 88-99.
16. Burjanadze MA, Dashniani MG, Solomon RO, et al. Age-related changes in medial septal cholinergic and GABAergic projection neurons and hippocampal neurotransmitter receptors: relationship with memory impairment. *Experimental Brain Research* 2022;240(5): 1589-604.
17. Marshall GA, Fairbanks LA, Tekin S, et al. Early-onset Alzheimer's disease is associated with greater pathologic burden. *Journal of geriatric psychiatry and neurology* 2007;20(1): 29-33.
18. Allen CN, Crawford IL. GABAergic agents on the medial septal nucleus affect hippocampal theta rhythm and acetylcholine utilization. *Brain research* 1984;322(2): 261-7.
19. Conway ME. Alzheimer's disease: Targeting the glutamatergic system. *Biogerontology* 2020;21(3): 257-74.

GABA Signaling in Spatial Memory changes in Animal Model of Alzheimer's disease

Received: 06 Apr 2024 ; Accepted: 14 May 2024

Bahareh Tavakoli-far¹
Marjan Hosseini²
Hadi Goudarzvand³
Samira Choopani⁴
Mahdi Goudarzvand^{5, 6*}

1. Associate Professor of Pharmacology, Faculty of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
2. Assistance Professor of Physiology, Faculty of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
3. Master of Essential Chemistry, National Standard Organization, of Iran, Karaj, Iran
4. Master of Physiology, Pasteur Institute, Tehran, Iran
5. Associate Professor of Physiology, Faculty of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
6. Non-communicable Diseases Research Centre, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

* Corresponding Author:
Associate Professor of Physiology, Faculty of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
Tel: +989125644620
+982634198302
Email: m.goudarzvand@abzums.ac.ir

Abstract

Introduction: Alzheimer's disease is a progressive disease with mild memory loss that eventually leads to the loss of the ability to conduct conversation and react to the environment. Despite the proven role of the drugs used against the obvious causes of Alzheimer's disease, it still seems impossible to achieve an effective and permanent treatment for the treatment of Alzheimer's disease. So, investigating different angles of GABAergic system signaling can be introduced as a promising target for the development of anti-Alzheimer drugs.

Materials and Methods: To induce Alzheimer's disease, the β -amyloid toxin at a dose of 5 μ g/ μ l was injected bilaterally into the hippocampus of Wistar male rats, and the rats were then treated with bilateral injection of GABA-A receptor agonist (muscimol) and antagonist (bicuculline), at a dose of 100 ng/ μ l/side in the hippocampus for 4 days. To assess the spatial memory of the animals, the parameters of the distance traveled by the animals, latency time to reach the hidden platform, and velocity of the animals were analyzed in Morris water maze test.

Findings: The distance traveled and the latency time to reach the hidden platform increased in the Morris water test following the injection of beta-amyloid, and the muscimol increased the amount of this memory impairment. The injection of bicuculline could not significantly change the spatial memory of the animals.

Conclusion: The results of this study indicate the destructive effect of beta-amyloid toxin on spatial memory, as well as the destructive role of muscimol in memory consolidation and retrieval.

Keywords: Alzheimer's disease; GABA; Spatial memory; Beta-Amyloid