

Original Paper

Modified sensory processing in the barrel cortex of the Rat model of Alzheimer's disease

Goshadrou F (PhD)

Assistant Professor, Department of Physiology, Paramedical Sciences Faculty, Neuroscience Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Alzheimer's disease is characterized by brain degenerative alterations with subsequent learning and memory loss. Learning and memory is closely associated with brain cholinergic system. Cholinergic fibers originate from the basal nucleus which is extended to cortex and hippocampus. This study was conducted to investigate sensory processing in the barrel cortex neurons of Rat model of Alzheimer's disease.

Materials and Methods: In this experimental study, 14 male Wistar Rats weighing 250-350g randomly divided into control and experimental groups. Alzheimer's disease in Rats induced, by infusion of ibotenic acid (5 µg/µl in each site) into nucleus basalis of Meynert (NBM) using Hamilton syringe and stereotaxic apparatus. The control group was non-lesion Rats with vehicle treatment. Two weeks after NBM-lesion, each animal was tested by passive avoidance learning (PAL), then neural response assessed by extracellular recording.

Results: In cases, ibotenic acid infusion into NBM, significantly reduced memory ($P < 0.05$). The results evoked by multiple whisker stimulation in extracellular single unit recording showed that in Alzheimer's disease model of animals excitatory receptive field (RF) of neurons were extended but inhibitory RF was decreased ($P < 0.05$). In addition the magnitude of neural response following principal whisker deflection decreased in cases ($P < 0.05$).

Conclusion: This study indicated that in animal model of Alzheimer's disease possibly reduce sensory processing and contact discrimination.

Keywords: Alzheimer's disease, Sensory processing, Barrel cortex, Ibotenic acid, Rat

* **Corresponding Author:** Goshadrou F (PhD), E-mail: fgoshadrou@yahoo.com

Received 12 September 2010

Revised 14 March 2011

Accepted 17 April 2011

تحقیقی

تغییر پردازش اطلاعات حسی در قشر بارل موش صحرایی مدل بیماری آلزایمر

دکتر فاطمه گشادرو

استادیار گروه علوم پایه ، دانشکده پیراپزشکی ، مرکز تحقیقات علوم اعصاب ، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

چکیده

زمینه و هدف: آلزایمر به وسیله تغییرات دژنراتیو مغز مشخص می شود و در اثر آن یادگیری و حافظه معیوب می گردد. یادگیری و حافظه ارتباط نزدیکی با فعالیت سیستم کولینرژیک مغز دارد و هسته قاعده‌ای ماینرت منبع اصلی فیبرهای کولینرژیک است که به قشر و هیپوکامپ می روند. این مطالعه به منظور بررسی تغییر پردازش اطلاعات حسی نورون‌های قشر بارل موش صحرایی مدل بیماری آلزایمر انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۱۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۵۰ گرم به طور تصادفی به دو گروه کنترل ($n=6$) و تجربی ($n=8$) تقسیم شدند. برای ایجاد مدل بیماری آلزایمر، $5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ اسیدایبوتونیک به طور دوطرفه با استفاده از سرنگ هامیلتون و دستگاه استریوتاکس به هسته قاعده‌ای ماینرت (Nucleus Basalis of Meynert: NBM) تزریق گردید. گروه کنترل موش‌هایی بودند که هسته قاعده‌ای ماینرت آنها آسیبی ندید و فقط حلال دارو دریافت نمودند. دو هفته بعد از آسیب هسته قاعده‌ای ماینرت هر حیوان ابتدا از نظر یادگیری احترازی غیرفعال (PAL) مورد بررسی قرار گرفت. سپس با استفاده از روش ثبت خارج سلولی پاسخ نورون‌های قشر بارل ثبت گردید.

یافته‌ها: تزریق اسیدایبوتونیک به هسته قاعده‌ای ماینرت به طور معنی داری حافظه را کاهش داد ($P<0/05$). پاسخ‌هایی که از تحریکات ترکیبی ویسکرها در آزمایشات ثبت الکتروفیزیولوژیک به دست آمد؛ نشان داد که میدان دریافتی تحریکی نورون‌ها در گروه مدل آلزایمری نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش و میدان دریافتی مهارت می یابد ($P<0/05$). همچنین بزرگی پاسخ نورون‌ها به جابجایی ویسکر اصلی در گروه مدل آلزایمری نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که پردازش اطلاعات حسی در گروه مدل بیماری آلزایمری نسبت به گروه کنترل تغییر یافته است. به طوری که پاسخ نورون‌ها به تحریکات کاهش یافته؛ میدان دریافتی تحریکی افزایش و میدان دریافتی مهارت می یابد. این تغییرات احتمالاً می تواند منجر به کاهش ادراک حسی و تشخیص دقیق خصوصیات محرک و محل دقیق آنها در حیوانات مدل آلزایمری گردد.

کلید واژه‌ها: آلزایمر ، پردازش اطلاعات حسی ، اسیدایبوتونیک ، هسته قاعده‌ای ماینرت ، قشر بارل ، موش صحرایی

* نویسنده مسؤل : دکتر فاطمه گشادرو ، پست الکترونیکی fgoshadrou@yahoo.com

نشانی : تهران ، میدان تجریش ، اول خیابان دربند ، دانشکده پیراپزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ، گروه علوم پایه ، بخش فیزیولوژی و بیولوژی ، تلفن ۰۲۱-۲۲۷۱۸۵۳۰ ، نمابر ۲۲۷۲۱۱۵۰

وصول مقاله : ۸۹/۶/۲۱ ، اصلاح نهایی : ۸۹/۱۲/۲۳ ، پذیرش مقاله : ۹۰/۱/۲۸

مقدمه

استفاده قرار می‌گیرد؛ اسید ایبوتونیک (IBO) است (۱۳ و ۱۴). در سیستم حسی پیکری جوندگان ویسکرها‌ی روی صورت نقش مهمی در جمع‌آوری اطلاعات تماسی دقیق بازی می‌کنند (۱۵). این حیوانات با استفاده از ویسکرها‌یشان تفاوت‌های کوچک در بافت اشیاء را تشخیص دهند. کاری که در انسان‌ها و پریمات‌ها با استفاده از نوک انگشتان صورت می‌گیرد (۱۸-۱۶). اطلاعات حسی از طریق ویسکرها‌ی متعدد جمع‌آوری شده و از طریق مسیر ویسکر - بارل به کورتکس حسی اولیه منتقل می‌گردد تا پس از جمع‌بندی و پردازش‌های حسی تشخیص دقیق صورت گیرد (۱۹).

در بیشتر مطالعاتی که روی بیماری آلزایمر صورت گرفته است؛ نواقص شناختی و حافظه‌ای مورد توجه بوده است و اختلالات حسی این بیماران کمتر بررسی شده است. در این مطالعه از مسیر ویسکر - بارل برای بررسی پردازش اطلاعات حسی استفاده شد و با ایجاد یک مدل حیوانی آلزایمری پردازش اطلاعات حسی آنها (اندازه میدان دریافتی، بزرگی و زمان پاسخ‌دهی نورون‌ها) بررسی گردید.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از ۱۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۳۵۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در شرایط ۱۲ ساعت دوره تاریکی - روشنایی و درجه حرارت 22 ± 4 سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات بدون محدودیت به آب و غذای فشرده دسترسی داشتند. موش‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه تجربی (گروه اول) و کنترل (گروه دوم) تقسیم شدند.

در این مطالعه برای تخریب NBM از سم عصبی IBO استفاده گردید. اسیدایبوتونیک مشابه گلوتامات بوده و جسم سلولی نورون‌ها را در محل تزریق از بین می‌برد (۲۰).

موش‌ها دو هفته قبل از آزمایشات یادگیری و حافظه (PAL) و ثبت خارج سلولی، جراحی شدند. بدین ترتیب که در گروه مدل حیوانی آلزایمر ($n=8$) اسیدایبوتونیک و در گروه کنترل ($n=6$) به‌جای اسیدایبوتونیک حلال آن یعنی سالین بافر فسفات (PBS) به داخل NBM تزریق گردید.

تخریب NBM

حیوانات با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین (100 mg/kg) و گزیلازین (4 mg/kg) بیهوش شدند. سپس

آلزایمر رایج‌ترین شکل زوال عقل است که شیوع آن با افزایش سن افزایش می‌یابد. یکی از ویژگی‌های مهم نوروپاتولوژیک بیماری آلزایمر، تخریب نورون‌های بزرگ کولینرژیک هسته قاعده‌ای ماینرت (Nucleus Basalis of Meynert: NBM) است که مسؤول بسیاری از نواقص شناختی و حافظه‌ای این بیماری می‌باشد (۱). هسته قاعده‌ای ماینرت (NBM) یکی از هسته‌های مغز جلویی (Basal Forebrain:BF) است که در طول حاشیه طرفی و قدامی کپسول داخلی و حاشیه میانی گلوبوس پالیدوس قرار گرفته است. ۹۰ درصد نورون‌های این هسته کولینرژیک هستند و فیبرهای خود را به تمام قشر و آمیگدال گسیل می‌دارند (۲). به‌طوری که ۷۰ تا ۸۰ درصد اعصاب کولینرژیک قشر مغز از NBM منشأ گرفته‌اند (۳ و ۴). در بیماران مبتلا به آلزایمر ۵۰ تا ۸۸ درصد این نورون‌های کولینرژیک از بین می‌روند (۵).

بیماری آلزایمر به‌وسیله تغییرات دژنراتیو مغز مشخص می‌شود و در اثر آن یادگیری و حافظه معیوب می‌گردد (۶ و ۷). یادگیری و حافظه ارتباط نزدیکی با فعالیت سیستم کولینرژیک مغز دارد و NBM منبع اصلی فیبرهای کولینرژیک است که به قشر و هیپوکامپ می‌روند (۷). در بیماری آلزایمر نورون‌های کولینرژیک NBM به‌طور قابل ملاحظه‌ای از بین می‌روند (۶). از آنجایی که NBM موش صحرایی معادل NBM انسان است؛ از موش‌های NBM-Lesioned می‌توان به‌عنوان مدل حیوانی آلزایمر استفاده کرد (۸). مطالعات نشان داده‌اند که در موش‌های NBM-Lesioned مارکرها‌ی کولینرژیک مغز مثل آزاد شدن استیل کولین (۹)، فعالیت کولین استیل ترانسفراز (ChAT) کاهش می‌یابد (۱۰) و یادگیری و حافظه معیوب می‌گردد (۱۱). به‌هر حال شواهد قابل ملاحظه‌ای در مورد تغییر پردازش حسی آنها گزارش نشده است.

یکی از روش‌های ایجاد مدل حیوانی آلزایمر، تخریب نورون‌های NBM است (۱۲). برای تخریب جسم سلولی نورون‌ها از سمومی که مشابه میانجی عصبی گلوتامات استفاده می‌شود. از جمله این سموم که معمولاً برای این کار مورد

از محفظه تاریک خارج و به قفس منتقل گردید. این مرحله بعد از نیم ساعت دوباره تکرار شد. نیم ساعت بعد از دفعه دوم آشناسدن اکتساب انجام گردید. در این مرحله بلافاصله بعد از ورود موش به قسمت تاریک درب میان قسمت تاریک و روشن بسته و شوک الکتریکی با فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۱/۲ میلی آمپر و به مدت ۱/۵ ثانیه به حیوان داده شد. بعد از ۲۰ ثانیه موش را از قسمت تاریک برداشتیم و به طور موقت به قفس منتقل نمودیم. دو دقیقه بعد همین آزمایش تکرار گردید. عدم ورود به قسمت تاریک به مدت ۱۲۰ ثانیه به عنوان اکتساب موفقیت آمیز PAL در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت بعد از آموزش، موش در قسمت روشن قرار داده شد. ۵ ثانیه بعد درب میان قسمت تاریک و روشن باز گردید. مدت زمانی که طول کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک شود؛ Step-Through Latency (STL) بعد از آموزش و همچنین مدت زمانی که حیوان در محفظه تاریک باقی ماند؛ Time in Dark Chamber (TDC) و تعداد دفعات رفت و برگشت حیوان به اتاق تاریک و روشن را به مدت ۶۰۰ ثانیه (۱۰ دقیقه) ثبت گردید (۲۲).

ثبت الکتروفیزیولوژیک

از روش ثبت تک واحدی خارج سلولی برای بررسی خصوصیات پاسخدهی نورون‌ها به تحریکات حسی استفاده شد. به همین دلیل پس از آزمایش PAL حیوان با تزریق داخل صفاقی پورتان (۱/۵ g/kg) بیهوش شد و داخل استریوتاگس قرار گرفت. درجه حرارت بدن توسط دستگاه تنظیم کننده حرارت در حد ۳۷/۵ - ۳۷ درجه سانتی گراد ثابت نگه داشته شد. سطح هوشیاری حیوان در تمام مدت آزمایش با ارزیابی رفلکس‌های دم و پای عقب و همچنین پلک زدن و شمارش تعداد تنفس کنترل شد. در صورت سبک شدن بیهوشی، ۱۰ درصد مقدار اولیه ماده بیهوشی تزریق گردید.

برای دسترسی به قشر بارل استخوان جمجمه با مختصات ۴ تا ۴ میلی متر عقب برگما و ۴ تا ۷ میلی متر سمت راست خط میانی برداشته شد. از میکروالکتروود شیشه‌ای با نوک ۲-۵ میکرون که به وسیله دستگاه کشنده میکروالکتروود کشیده شد و با کلرید سدیم (NaCl) ۳ مولار پر گردید؛ برای ثبت از قشر بارل استفاده شد. میکروالکتروود شیشه‌ای از طریق

موهای سر تراشیده شد و در دستگاه استریوتاگس قرار گرفتند. با توجه به مختصات NBM در اطلس پاکسینوز و واتسون (۲۱) ۱/۳ و ۱/۴ AP از برگما، $\pm 2/4$ و $\pm 2/6$ L از خط میانی، ۷/۵ و ۷/۶ P از سطح جمجمه، سوراخی در جمجمه با مته برقی ایجاد گردید. از سرنگ پنج میکرولیتری برای تزریق استفاده گردید.

سرنگ هامیلتون از طریق یک لوله رابط پلی اتیلنی به سوزن شماره ۲۷ متصل شده بود. اسیدایبوتونیک (IBO) به میزان ۵ میکروگرم در میکرولیتر سالیین بافر فسفات (PBS، pH=۷/۴) حل شد و با سرعت ۱ میکرولیتر در دقیقه به هر دو نیمکره تزریق گردید. پنج دقیقه بعد از اتمام تزریق، سوزن از بافت مغزی بیرون آورده شد. گروه کنترل به جای اسیدایبوتونیک فقط PBS به میزان یک میکرولیتر در NBM دریافت کردند. بعد از تزریق پوست سر حیوان بخیه زده شد و حیوان به قفس تمیز منتقل گردید تا دو هفته بعد مورد آزمایش‌های اندازه‌گیری یادگیری و حافظه (PAL) و ثبت الکتروفیزیولوژیک قرار گیرد.

آزمایشات PAL

دو هفته بعد از جراحی یک موش به طور تصادفی انتخاب و مورد بررسی آزمایشات یادگیری احترازی غیرفعال (Passive Avoidance Learning) یا PAL قرار گرفت. دستگاه PAL یک جعبه پلکسی گلاس دو قسمتی است که یک بخش آن روشن و بخش دیگر آن تاریک است. ابعاد دو قسمت آن برابر است (۲۰×۴۰×۲۰ سانتی متر) و یک درب ۸×۸ سانتی متر به هم دارند. در کف هر دو بخش میله‌های ضدزنگ به فاصله یک سانتی متر قرار دارد. یک لامپ ۱۰۰ وات ۴۰ سانتی متر بالای قسمت روشن دستگاه قرار دارد. کف قسمت تاریک دستگاه یک مدار الکتریکی وصل است که با روشن شدن کلید مدار جریان الکتریکی با مدت، شدت و فرکانس معین از کف آن عبور می‌کند.

این آزمایش شامل سه مرحله است که به ترتیب انجام گردید. ابتدا همه گروه‌های آزمایشی به دستگاه عادت داده شدند. ۵ ثانیه بعد از قرار گرفتن حیوان در قسمت روشن، درب میان قسمت تاریک و روشن باز شد و به محض ورود حیوان به محفظه تاریک دریچه بسته و پس از ۲۰ ثانیه حیوان

لایه V صورت گرفت.

تحریکات حسی

برای اعمال تحریکات حسی از دو بلندگو استفاده شد تا جابجایی ویسکرها به طور کنترل شده انجام گیرد. انتهای لوله شیشه‌ای نازکی (قطر داخلی ۰/۶۵ میلی‌متر و قطر خارجی ۱/۲ میلی‌متر) به مرکز بلندگو چسبانده شده بود. ولتاژی از طریق بورد BCS 102 به بلندگو اعمال شد تا جابجایی به میزان ۷۰۰ میکرومتر با سرعت ۱۰۰ میلی‌متر بر ثانیه و مدت ۲۰۰ هزارم ثانیه در نوک لوله شیشه‌ای ایجاد کند. میزان جابجایی زیر میکروسکوپ مدرج کالیبره شد. جهت جابجایی از بالا به پایین بود. ویسکری که به محرک مکانیکی بیشترین پاسخ را با کمترین تأخیر داد؛ به عنوان ویسکر اصلی (PW) و ویسکری که در همان ردیف و عقب‌تر قرار داشت؛ به عنوان ویسکر مجاور (AW) در نظر گرفته شد (۲۳).

هر پروتکل ثبت از هشت نوع تحریک مکانیکی مختلف تشکیل می‌شد که هر کدام به طور تصادفی و ۴۰ مرتبه با فرکانس یک هرتز انجام می‌گرفت. پاسخ‌های به‌دست آمده در فایل‌های جداگانه ذخیره شدند. در هر فایل تحریک ویسکر اصلی و مجاور به تنهایی و به‌طور همزمان (صفر) و همچنین در فواصل ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ هزارم ثانیه ویسکر مجاور قبل از ویسکر اصلی منحرف گردید (۲۳).

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از هیستوگرام‌های زمانی پس از تحریک (PSTH) استفاده شد. زمانی پس از تحریک (با اندازه Bin یک هزارم ثانیه) که میزان پاسخ از میانگین فعالیت خودبه‌خودی به اندازه دو انحراف معیار بزرگ‌تر بود؛ به عنوان زمان شروع پاسخ یا تأخیر پاسخ در نظر گرفته شد. بزرگی پاسخ به وسیله شمارش تعداد اسپایک‌ها به ازاء هر تحریک (Spike per Stimulus) در طول ده هزارم ثانیه پس از شروع پاسخ مورد محاسبه قرار گرفت. از آنجا که شروع و انتهای تحریک ویسکرها دو پاسخ ایجاد می‌کرد؛ پاسخ اول پاسخ ON و پاسخ بعدی پاسخ OFF در نظر گرفته شد. فعالیت خودبه‌خودی در مدت ۱۰۰ هزارم ثانیه قبل از پاسخ ON اندازه‌گیری گردید.

ارزیابی میدان دریافتی نورون‌ها

در این مطالعه از اندازه میدان دریافتی نورون‌ها به‌عنوان

نگهدارنده میکروالکتروود (Microelectrode Holder) به پروب دستگاه تقویت کننده (Differential Amplifier) متصل شد. این پروب سیگنال‌های ثبت شده را بدون افت ولتاژ به دستگاه تقویت کننده منتقل نمود. الکتروود دیگر به پوست سر متصل شد.

پتانسیل‌های الکتریکی ثبت شده توسط میکروالکتروود شیشه‌ای بعد از ورود به دستگاه تقویت کننده ده‌هزار برابر تقویت و با باند فرکانسی ۱۰ KHz - ۳۰۰ Hz پالایش شدند. خروجی دستگاه تقویت کننده به ورودی دستگاه موج ییز و به طور هم‌زمان به دستگاه مدار تأخیری متصل شد. خروجی دستگاه مدار تأخیری سیگنال ورودی را با تأخیر ۲/۵ هزارم ثانیه به ورودی اسیلوسکوپ حافظه‌دار منتقل نمود. خروجی Multiplex شده موج ییز به اسیلوسکوپ دوم ارسال شد تا با مشاهده سیگنال‌های اصلی سطوح بالایی و پایینی موج ییز کنترل و تنظیم گردد. دستگاه موج ییز به ازاء هر سیگنال ورودی که در پنجره آن قرار می‌گرفت؛ یک موج مربعی (TTL Pulse) تولید می‌کرد که از یک طرف به ورودی بورد BCS 102 و از آنجا به کامپیوتر برای ثبت و آنالیز منتقل می‌شد. از طرف دیگر Trigger خارجی اسیلوسکوپ حافظه‌دار را فعال می‌کرد. بدین ترتیب امکان مشاهده سیگنال ایزوله شده (Single Unit) در اسیلوسکوپ حافظه‌دار فراهم شد.

ابتدا میکروالکتروود شیشه‌ای در مرکز بارل قرار گرفت و به آهستگی پایین برده شد. بعد از ظاهر شدن فعالیت چند واحدی (Multiunit) روی اسیلوسکوپ، با حرکت دادن ویسکرهای طرف مقابل ثبت، به وسیله یک چوب نازک و گوش کردن به صدای فعالیت نورون‌ها، ویسکری که بیشترین فعالیت تحریکی را برانگیخت؛ به عنوان ویسکر اصلی در نظر گرفته شد. پس از مشخص شدن ویسکر اصلی سطح قشر به وسیله آگار گرم (۳-۴ درصد) که در سالیین حل شده بود؛ پوشانده شد تا از تبخیر آب از سطح قشر مغز جلوگیری نماید. لازم به یادآوری است که در تمام مدت آزمایش درجه حرارت بدن حیوان و همچنین سطح هوشیاری آن کنترل و تنظیم گردید.

الکتروود ثبات به آرامی تا لایه V قشر (عمق ۱۲۰۰-۸۰۰ میکرون) پایین برده شد. ثبت در همه حیوانات از نورون‌های

در این معادله O_i فعالیت مشاهده شده به وسیله ترکیب تحریک دو ویسکر است و P_i فعالیت مورد انتظاری است که از جمع پاسخ هریک از ویسکرها به دست می آید. اگر معیار خطی بودن برابر با صفر شود؛ نشان دهنده جمع شدن خطی پاسخها است و اگر بزرگتر از صفر شود؛ نشان دهنده جمع شدن فوق خطی (Supralinearity) است و اگر کوچکتر از صفر گردد؛ نشان دهنده جمع شدن زیر خطی (Sublinearity) پاسخها است (۲۶).

نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار (SEM) ارائه گردید. برای مقایسه دادهها از آزمون آماری Student's t-test استفاده شد. از آزمون ANOVA و متعاقب آن Tukey's test برای مقایسه یافتههای چند گروه استفاده شد. اختلاف در سطح کمتر از ۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید.

یافتهها

نتایج حاصل از آزمایشات PAL نشان داد زمان تأخیر ورود حیوان (STL) به محفظه تاریک، در آزمون به خاطر آوری که ۲۴ ساعت بعد از آموزش یا اکتساب PAL صورت گرفت؛ در گروه مدل آلزایمری نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0/05$). کاهش STL نشان دهنده کاهش حافظه در گروه مدل آلزایمری بود (شکل یک).

یافتههای ثبت الکتروفیزیولوژیک نشان داد کلیه نورونهای ایزوله شده دارای فعالیت خودبه خودی بودند و به جابجایی ویسکر اصلی پاسخ دادند. جدول یک خصوصیات پاسخدهی نورونها را به تحریک ویسکر اصلی و مجاور در گروه کنترل و مدل آلزایمری نشان می دهد. این نتایج نشان می دهند که فعالیت خودبه خودی نورونها و همچنین زمان تأخیر پاسخ نورونها به جابجایی ویسکر اصلی و مجاور آن در گروه کنترل و آلزایمری تفاوت آماری معنی داری نداشتند. در حالی که بزرگی پاسخ نورونها به تحریک ویسکر اصلی در گروه

شاخصی از پردازش اطلاعات حسی استفاده شد. میدان دریافتی (RF) از خصوصیات پایدار نورونهای قشر محسوب می گردد. میدان دریافتی نورونهای قشر بارل همانند سیستم بینایی دارای سازمان بندی مرکز-محیط هستند. میدان دریافتی مرکزی کوچک، متمرکز روی ویسکر اصلی و تحریکی است. در حالی که میدان دریافتی محیطی مهاری می باشد (۲۴).

ارزیابی میدان دریافتی تحریکی به صورت اندازه گیری پاسخ ON ویسکر مجاور (AW) نسبت به پاسخ ON ویسکر اصلی (PW) مشخص گشت. اگر عدد به دست آمده صفر بود؛ نشان دهنده متمرکز شدن میدان دریافتی تحریکی روی ویسکر اصلی (PW) بود. در حالی که اگر عدد به دست آمده یک بود؛ نشان دهنده آن بود که میدان دریافتی بزرگ شده و ویسکر مجاور نیز به همان خوبی ویسکر اصلی پاسخ ایجاد می کند (۲۵).

برای ارزیابی میدان دریافتی مهاری از نسبت Condition Test Ratio (CTR) استفاده شد. نسبت CT حاصل تقسیم بزرگی پاسخ مشاهده شده (بزرگی پاسخ نورونها به تحریک ویسکر اصلی) به بزرگی پاسخ مورد انتظار (بزرگی پاسخ نورونها به انحراف ویسکر اصلی به علاوه بزرگی پاسخ نورونها به انحراف ویسکر مجاور در همان زمان) است. در صورتی که رقم به دست آمده، صفر باشد؛ مهار پاسخها به طور کامل صورت گرفته است و اگر رقم حاصله یک باشد؛ هیچ مهاری صورت نگرفته است. این نسبت اندازه گیری معکوسی از شدت مهار محیطی است (۲۵). برای ارزیابی جمع بندی نورونی در پاسخ به آورانهای چندویسکر، از معیار خطی بودن پاسخها (Linearity Index) استفاده شد. معیار خطی بودن به صورت زیر تعریف می شود:

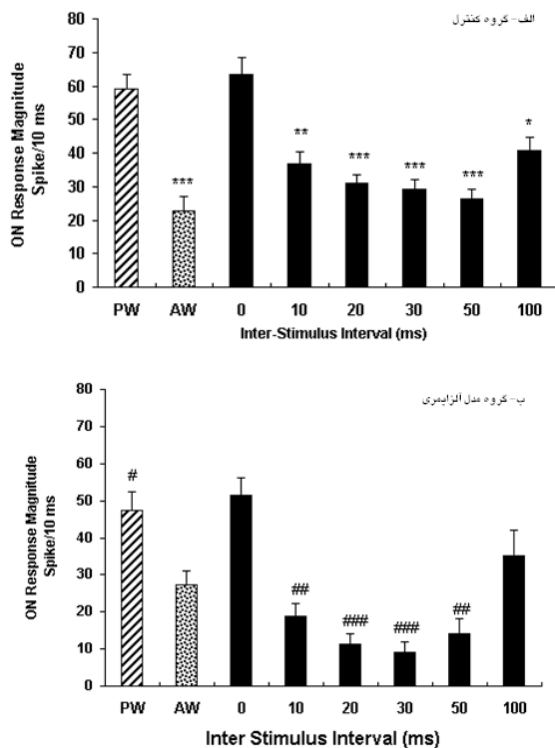
$$\sum O_i - \sum P_i / \sum O_i + \sum P_i$$

جدول ۱: پاسخ نورونها به تحریک ویسکر اصلی و مجاور در گروه کنترل و مدل آلزایمری

نسبت	مدت پاسخ (ms)		بزرگی پاسخ (spike/stimulus)		زمان تأخیر (ms)		فعالیت خودبه خودی (spike/stimulus)	گروه
	off	on	off	on	off	on		
۰/۶۲±۰/۰۵	۶/۱۷±۰/۶۴	۶/۷۴±۰/۳۵	۰/۹۷±۰/۰۹	۱/۴۸±۰/۱۱	۱۹/۱۷±۰/۵۶	۸/۹۵±۱/۰۸	۰/۵۶±۰/۰۸	کنترل ویسکر اصلی (PW)
۰/۸۱±۰/۰۶	۶/۸۱±۰/۴۵	۵/۸۱±۰/۳۴	۰/۸۸±۰/۰۹	۱/۱۸±۰/۱۳	۱۸/۷۶±۰/۸۰	۸/۴۳±۰/۴۸	۰/۵۷±۰/۰۷	مدل آلزایمری
۰/۷±۰/۱۶	۶±۰/۸۱	۵/۵±۰/۷۷	۰/۶۸±۰/۱۳	۰/۵۸±۰/۱	۲۲/۱۵±۱/۸۲	۱۴/۸۷±۱/۸۷	-	کنترل ویسکر مجاور (AW)
۰/۸۷±۰/۰۹	۴/۵۳±۱/۰۴	۵/۰۶±۰/۶۸	۰/۶۷±۰/۰۷	۰/۶۸±۰/۱	۲۳/۱۲±۱/۶۱	۱۱/۶۸±۱/۰۱	-	مدل آلزایمری

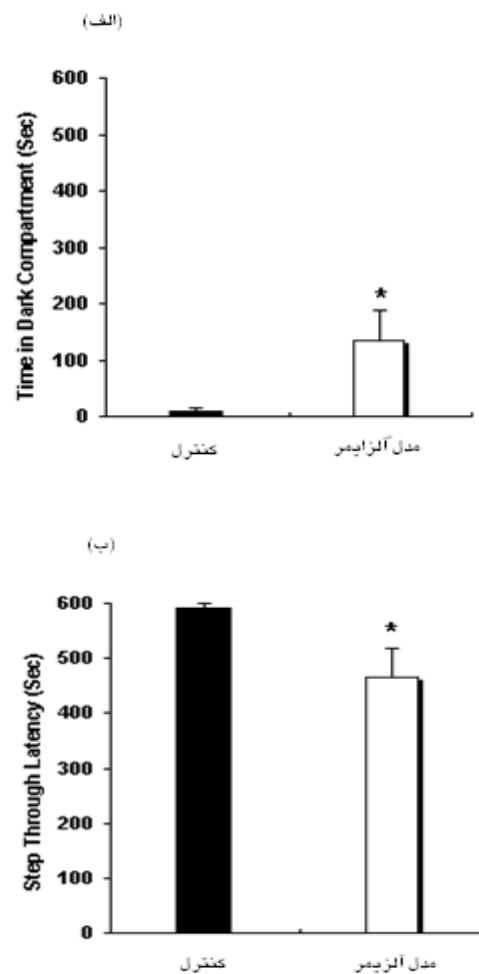
اصلی می‌گردد. همچنین تحریک ویسکر مجاور قبل از ویسکر اصلی در گروه مدل آلزایمری هم به‌طور معنی‌داری از بزرگی پاسخ نورون به ویسکر اصلی کاهش داد ($P < 0.0001$ ، $F(7, 152) = 13.9$).

از طرف دیگر، اختلاف آماری معنی‌داری میان بزرگی پاسخ نورون‌ها در گروه مدل آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت. به‌جز بزرگی پاسخ نورون‌ها به ویسکر مجاور که در گروه مدل آلزایمری بیشتر از گروه کنترل بود؛ در بقیه موارد بزرگی پاسخ نورون‌ها در گروه مدل آلزایمری به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (شکل ۲). به‌عبارت دیگر، تحریک ویسکر مجاور قبل از ویسکر اصلی موجب مهار پاسخ نورون‌ها به ویسکر اصلی گردید. مهار پاسخ ایجاد شده وابسته به زمان بود و حداکثر کاهش در فاصله زمانی ۲۰ و ۳۰ هزارم ثانیه ایجاد شده است.



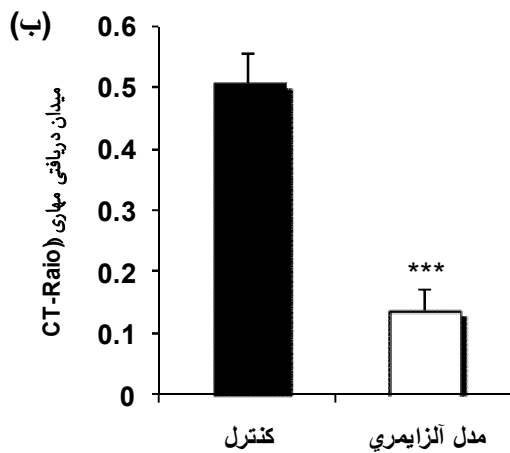
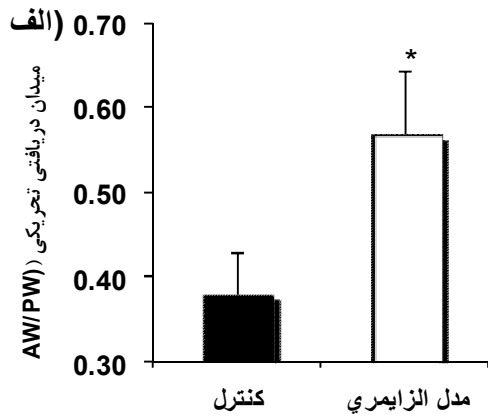
شکل ۲: بزرگی پاسخ نورون‌ها به تحریک ویسکر اصلی (PW)، ویسکر مجاور (AW) و تحریک ترکیبی ویسکرها با فواصل زمانی مختلف در گروه‌های کنترل و مدل آلزایمری
 $P < 0.05$ *، $P < 0.01$ **، $P < 0.001$ *** در مقایسه با گروه PW
 $P < 0.05$ #، $P < 0.01$ ##، $P < 0.001$ ### در مقایسه با همان فاصله زمانی در گروه کنترل

آلزایمری به‌طور معنی‌داری از گروه کنترل کمتر بود ($P < 0.05$).



شکل ۳: اثر تخریب NBM توسط اسیدایبوتونیک روی مرحله به‌خاطرآوری PAL. الف) زمان صرف شده در اتاق تاریک، ب) زمان تأخیر ورود به اتاق تاریک طی مرحله به‌خاطرآوری ۲۴ ساعت بعد از اکتساب PAL، * $P < 0.05$

از تحریکات جفتی ویسکرها، برای مطالعه جمع‌بندی پاسخ‌ها و میدان دریافتی آنها به عنوان شاخص‌هایی از پردازش حسی استفاده شد. در این آزمایشات ویسکر مجاور قبل از ویسکر اصلی جابجا شد. تفاوت معنی‌داری میان بزرگی پاسخ نورون‌ها به تحریک ویسکر اصلی و تحریک ویسکر مجاور در زمان‌های مختلف پس از ویسکر مجاور وجود داشت ($F(7, 144) = 15.55$ ، $P < 0.0001$). به‌طوری‌که جابجایی ویسکر مجاور در زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ هزارم ثانیه قبل از ویسکر اصلی موجب افت پاسخ نورون‌ها به ویسکر



شکل ۴: مقایسه میانگین در یافتنی تحریکی و مهاري گروه‌های مدل آلزایمری و کنترل
 $P < 0.001$ ***، $P < 0.05$ *

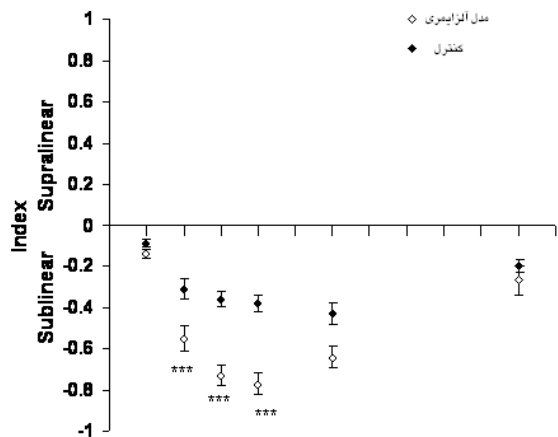
بحث

نتایج این مطالعه نشان داد یادگیری و حافظه در گروه حیوانات مدل آلزایمر کاهش یافته است. نتایج آزمایشات الکتروفیزیولوژیک هم نشان داد که در گروه مدل آلزایمر پاسخ نورون‌های قشر بارل به تحریکات ویسکر اصلی به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. از آنجایی که ACh تعدیل‌کننده نورونی مهم قشر بوده و نقش مهمی در بزرگی پاسخ نورون‌ها دارد؛ کاهش پاسخ نورون‌ها در گروه مدل آلزایمری به کمبود ACh مغز نسبت داده می‌شود (۲۷).

در این مطالعه میدان دریافتی تحریکی در گروه مدل آلزایمری افزایش یافت. یعنی تمرکز میدان دریافتی که در گروه کنترل روی ویسکر اصلی است؛ تغییر کرده و نورون‌ها به ویسکر مجاور پاسخ‌های بزرگ‌تری داده‌اند. از طرف دیگر میدان دریافتی مهاري در گروه مدل آلزایمری کاهش یافته

برای بررسی چگونگی جمع‌بندی پاسخ‌ها از معیار خطی (Linear Index) استفاده شد. نتایج نشان داد معیار خطی بودن پاسخ‌ها در گروه کنترل کمتر از یک و در نتیجه جمع شدن پاسخ‌ها به صورت زیر خطی (Sublinear) بوده است. آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد اختلاف معنی‌داری در زمان‌های مختلف بین تحریک دو ویسکر در جمع‌بندی زیرخطی پاسخ‌ها وجود داشته است ($F(5, 108) = 10.23, P < 0.001$). همچنین جمع‌بندی پاسخ‌ها در گروه مدل آلزایمری نیز به صورت زیرخطی بود. اختلاف آماری معنی‌داری در زمان‌های مختلف بین دو ویسکر در جمع‌بندی زیرخطی پاسخ‌ها در گروه مدل آلزایمری وجود داشت ($P < 0.001$). جمع‌بندی زیرخطی پاسخ‌ها در زمان‌های مشابه میان دو گروه کنترل و مدل آلزایمری اختلاف معنی‌داری داشت. (شکل ۳).

ارزیابی میدان دریافتی تحریکی نشان داد میدان دریافتی تحریکی در گروه مدل آلزایمری به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.05$). به عبارت دیگر پاسخ نورون‌ها در گروه مدل آلزایمری به تحریک ویسکر اصلی کاهش و به تحریک ویسکر مجاور افزایش یافته است و برعکس میدان دریافتی مهاري در گروه مدل آلزایمری نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده است. کاهش CT-Ratio حاکی از افزایش شدت مهار محیطی در گروه مدل آلزایمری بود (شکل ۴).



شکل ۳: جمع‌بندی پاسخ‌های ترکیبی در فواصل زمانی مختلف میان تحریک ویسکر مجاور قبل از ویسکر اصلی در گروه‌های کنترل و مدل آلزایمری، $P < 0.001$ ***

باشد؛ آنها در تشخیص محل دقیق و تشخیص جزئیات ظریف فضایی نقش مؤثرتری دارند. در حالی که نورون‌هایی با میدان دریافتی بزرگ‌تر، خصوصیات کلی‌تر اشیاء را حس می‌کنند و جابجایی را در سطح وسیعی از پوست شناسایی می‌کنند. اندازه و موقعیت میدان دریافتی ثابت نیست و می‌تواند در اثر تجربه یا آسیب‌های نورونی تغییر کند (۲۹).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که پردازش اطلاعات حسی در گروه مدل بیماری آلزایمری نسبت به گروه کنترل تغییر یافته است. به طوری که پاسخ نورون‌ها به تحریکات کاهش یافته؛ میدان دریافتی تحریکی افزایش و میدان دریافتی مهارتی کاهش می‌یابد. این تغییرات احتمالاً می‌تواند منجر به کاهش ادراک حسی و تشخیص دقیق خصوصیات محرک و محل دقیق آنها در حیوانات مدل آلزایمری گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۱۰۲۹/ع/الف) مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی بود.

بدین وسیله از خانم دکتر فرشته معتمدی ریاست محترم مرکز و سایر مسئولین و کارکنان سپاسگزاری می‌گردد. همچنین از جناب آقای دکتر حسین استکی به خاطر راهنمایی‌های ارزشمندشان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science*. 1982 Mar; 215(4537):1237-9.
- Lehmann J, Nagy JI, Atmadia S, Fibiger HC. The nucleus basalis magnocellularis: the origin of a cholinergic projection to the neocortex of the rat. *Neuroscience*. 1980;5(7):1161-74.
- Eckenstein FP, Baughman RW, Quinn J. An anatomical study of cholinergic innervation in rat cerebral cortex. *Neuroscience*. 1988 May; 25(2):457-74.
- Houser CR, Crawford GD, Salvaterra PM, Vaughn JE. Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase in rat cerebral cortex: a study of cholinergic neurons and synapses. *J Comp Neurol*. 1985 Apr; 234(1):17-34.
- Mesulam MM, Geula C. Nucleus basalis (Ch4) and cortical cholinergic innervation in the human brain: observations based on

است. اگر افزایش میدان دریافتی تحریکی در گروه مدل آلزایمری ناشی از کاهش مهار داخل قشری باشد؛ کاهش میدان دریافتی مهارتی نشانه افزایش شدت مهار محیطی است. درک این موضوع قدری مشکل است که در گروه مدل آلزایمری مهار قشری تحت تأثیر کمبود ACh کاهش یافته و یا افزایش یافته است. لازم به ذکر است که ACh روی تحریک‌پذیری نورون‌های مهارتی مختلف لایه V قشر اثرات متفاوت دارد. سلول‌های مهارتی LTS را با واسطه گیرنده نیکوتینی تحریک و سلول‌های مهارتی FS را با واسطه گیرنده‌های موسکارینی مهار می‌کند. از آنجایی که آکسون نورون‌های LTS به‌طور عمودی در لایه‌های بالاتر همان بارل توزیع می‌شوند؛ تحریک این نورون‌ها توسط ACh منجر به افزایش مهار داخل ستونی می‌گردد. در حالی که انشعابات نورون‌های FS در لایه V محدود شده؛ ولی به بارل‌های مجاور کشیده می‌شوند. پس مهار آنها توسط ACh منجر به کاهش مهار داخل لایه‌ای و کاهش مهار محیطی می‌گردد (۲۸). لذا می‌توان نتیجه گرفت که کمبود ACh مهار داخل ستونی را کاهش و میدان دریافتی تحریکی را افزایش می‌دهد. در حالی که کمبود ACh مهار داخل لایه‌ای را تشدید و شدت مهار محیطی را افزایش می‌دهد که این امر میدان دریافتی مهارتی را می‌کاهد.

تفاوت در اندازه میدان دریافتی نورون‌ها نقش مهمی در عملکرد آنها دارد. هر قدر میدان دریافتی نورون‌ها کوچک‌تر

the distribution of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase. *J Comp Neurol*. 1988 Sep;275(2):216-40.

6. Etienne P, Robitaille Y, Wood P, Gauthier S, Nair NP, Quirion R. Nucleus basalis neuronal loss, neuritic plaques and choline acetyltransferase activity in advanced Alzheimer's disease. *Neuroscience*. 1986 Dec;19(4):1279-91.

7. Miranda MI, Ferreira G, Ramirez-Lugo L, Bermúdez-Rattoni F. Role of cholinergic system on the construction of memories: taste memory encoding. *Neurobiol Learn Mem*. 2003 Nov;80(3):211-22.

8. Wu CK, Thal L, Pizzo D, Hansen L, Masliah E, Geula C. Apoptotic signals within the basal forebrain cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Exp Neurol*. 2005 Oct;195(2):484-96.

9. Meyer EM, Arendash GW, Judkins JH, Ying L, Wade C, Kem WR. Effects of nucleus basalis lesions on the muscarinic and nicotinic modulation of [3H]acetylcholine release in the rat cerebral cortex. *J Neurochem*. 1987 Dec;49(6):1758-62.

10. Arendash GW, Millard WJ, Dunn AJ, Meyer EM. Long-term neuropathological and neurochemical effects of nucleus basalis lesions in the Rat. *Science*. 1987 Nov 13;238(4829):952-6.
11. Salamone JD, Beart PM, Alpert JE, Iversen SD. Impairment in T-maze reinforced alternation performance following nucleus basalis magnocellularis lesions in rats. *Behav Brain Res*. 1984 Jul;13(1):63-70.
12. Wenk GL. Animal models of Alzheimer's disease. In: Boulton AA, Baker GB, Butterworth RF (eds). *Neuromethods 21: Animal Models of Neurological Diseases, Part 1-Neurodegenerative Diseases*. Clifton, NJ: Humana Press. 1992; pp:29-63.
13. Kudo Y, Shiosaka S, Matsuda M, Tohyama M. An attempt to cause the selective loss of the cholinergic neurons in the basal forebrain of the rat: a new animal model of Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 1989 Jul;102(2-3):125-30.
14. Wenk GL, Olton DS. Recovery of neocortical choline acetyltransferase activity following ibotenic acid injection into the nucleus basalis of Meynert in rats. *Brain Res*. 1984 Feb; 293(1):184-6.
15. Stüttgen MC, Schwarz C. Integration of vibrotactile signals for whisker-related perception in rats is governed by short time constants: comparison of neurometric and psychometric detection performance. *J Neurosci*. 2010 Feb;30(6):2060-9.
16. Prigg T, Goldreich D, Carvell GE, Simons DJ. Texture discrimination and unit recordings in the rat whisker/barrel system. *Physiol Behav*. 2002 Dec;77(4-5):671-5.
17. Carvell GE, Simons DJ. Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. *J Neurosci*. 1990 Aug;10(8):2638-48.
18. Guić-Robles E, Valdivieso C, Guajardo G. Rats can learn a roughness discrimination using only their vibrissal system. *Behav Brain Res*. 1989 Jan 1;31(3):285-9.
19. Brumberg JC, Pinto DJ, Simons DJ. Cortical columnar processing in the rat whisker-to-barrel system. *J Neurophysiol*. 1999 Oct;82(4):1808-17.
20. Rahim F, Keikhaei B, Sarkaki A, Doulah AH. Ibotenic acid-induced hematological disorders in rat model of Alzheimer's disease. *Asian J of Animal and Veterinary Advances*. 2010; 5(1):13-23.
21. Paxinos G, Watson Ch. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 4th. New York: Academic Press. 1998.
22. Akbari E, Motamedi F, Naghdi N, Noorbakhshnia M. The effect of antagonization of orexin 1 receptors in CA1 and dentate gyrus regions on memory processing in passive avoidance task. *Behav Brain Res*. 2008 Feb;187(1):172-7.
23. Farazifard R, Kiani R, Noorbakhsh M, Esteky H. Effects of neonatal C-fiber depletion on the integration of paired-whisker inputs in rat barrel cortex. *Exp Brain Res*. 2005 Mar; 162(1):115-21.
24. Wright N, Fox K. Origins of cortical layer V surround receptive fields in the rat barrel cortex. *J Neurophysiol*. 2010 Feb; 103(2):709-24.
25. Kyriazi H, Carvell GE, Brumberg JC, Simons DJ. Laminar differences in bicuculline methiodide's effects on cortical neurons in the rat whisker/barrel system. *Somatosens Mot Res*. 1998; 15(2):146-56.
26. Mirabella G, Battiston S, Diamond ME. Integration of multiple-whisker inputs in rat somatosensory cortex. *Cereb Cortex*. 2001 Feb;11(2):164-70.
27. Rasmusson DD, Dykes RW. Long-term enhancement of evoked potentials in cat somatosensory cortex produced by co-activation of the basal forebrain and cutaneous receptors. *Exp Brain Res*. 1988;70(2):276-86.
28. Xiang Z, Huguenard JR, Prince DA. Synaptic inhibition of pyramidal cells evoked by different interneuronal subtypes in layer v of rat visual cortex. *J Neurophysiol*. 2002 Aug;88(2):740-50.
29. Kandel E, Schwartz J, Jessell T. *Principles of Neural Science*. 4th. New York: McGraw-Hill. 2000; pp: 451-71.