مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۳، شماره ۱، بهار۹۲، صفحات ۱۴ تا ۲۰

Original Article

میان‌کنش بین ویتامین A و پیلوکارپین بر فرایند به‌یادآوری حافظه در موش‌های صحرایی نر بالغ

اکرم عیدی[۱]، مهسا جولائیان[۲]، علی حائری روحانی[۳]، طاهره اشراقی[۲]

[۱] دانشیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات
[۲] کارشناسی ارشد فیزیولوژی،گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه،دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات
[۳] استاد، دکترای فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات

چکیده

سابقه و هدف: *تحقیقات متعددی نشان داده مصرف اسید رتینوئیک و یا رژیم غذایی غنی از ویتامین A موجب بهبود حافظه کاهش یافته در دوران پیری می‌شود. کمبود ویتامین A موجب کاهش یادگیری و میزان LTP هیپوکامپی در موش می‌شود. در تحقیق حاضر، میان‌کنش بین ویتامین A و پیلوکارپین (آگونیست گیرنده موسکارینی) بر میزان به‌یادآوری حافظه در موش‌های صحرایی نر بالغ بررسی شد.*

روش بررسی: *تزریقات درون بطنی پس از جلسه آموزش در تمامی حیوانات انجام گردید. میزان به‌یادآوری حافظه با استفاده از روش یادگیری احترازی غیرفعال در موش‌های تر بالغ ارزیابی شد.*

یافته‌ها: *ویتامین A (دوز ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ IU/rat) و پیلوکارپین (دوز ۱ μg/rat) به یادآوری حافظه را افزایش دادند. پیلوکارپین پاسخ‌دهی به ویتامین A را افزایش داد. پاسخ‌دهی به ویتامین A توسط پیلوکارپین تقویت شد.*

نتیجه‌گیری: *بر اساس نتایج تحقیق حاضر احتمالا میان‌کنشی بین ویتامین A و سیستم کولینرژیک در فرایند به‌یادآوری حافظه وجود دارد.*

واژگان کلیدی: *ویتامین A، پیلوکارپین، یادگیری احترازی غیرفعال، موش صحرایی.*

مقدمه

ویتامین A گروه فرعی از ترکیبات محلول در چربی است که ترجیحا به عنوان اسید رتینوئیک (Retinoic acid, RA) معرفی می‌گردد. ترکیب اصلی این ویتامین رتینول با فرمول عمومی $C_{20}H_{30}O$ و وزن مولکولی ۲۸۶/۴۴ است (۱). ویتامین A در فرم اصلی فقط در منابع حیوانی مانند شیر، تخم مرغ و جگر یافت می‌شود. پیش‌سازهای این ویتامین به میزان زیاد در سبزیجات با برگ‌های سبز رنگ و میوه‌های به رنگ نارنجی مانند هویج و پرتقال دیده می‌شوند. در اغلب سبزیجات و در ترکیب بسیاری از میوه‌ها، β- کاروتن فراوان‌ترین پرووویتامین A فعال است. β- کریپتوگزانتین کاروتنوئید پرووویتامین A نیز به وفور در آب میوه‌ها وجود دارد (۲). لوتئین، مشخص‌ترین کاروتنوئید در سبزیجات است. لیکوپن در گوجه‌فرنگی یافت می‌شود. کاروتنوئیدهای غیرفعال دیگری در سبزیجات یافت می‌شوند که شامل ویولاگزانتین، زنتاکاروتن است. فرآورده‌های شیری، زرده تخم‌مرغ و پوست ماهی محتوی کاروتنوئیدهایی است که در مواد غذایی وجود دارند (۲). ویتامین A در کبد به صورت استرهای رتینول ذخیره شده و در هنگام نیاز به داخل خون می‌ریزد و به وسیله پروتئین‌های متصل شونده به رتینول از خون به سایر بافت‌ها حمل می‌شود (۳). ویتامین A دارای اثرات فیزیولوژیک بر سیستم بینایی (۴)، سیستم ایمنی (۵)،

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات ، دکتر اکرم عیدی
(**email**: eidi@srbiau.ac.ir)
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۶/۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۱/۱۱/۲۳

استخوان‌سازی (۶)، رشد و نمو (۷)، ترشحات طبیعی بدن (۴)، انسجام بافت اپی‌تلیالی (۸) و تولید مثل است. مدارک زیادی نشان دهنده نقش سیستم کولینرژیک مرکزی در فرایند یادگیری و حافظه است (۹). مطالعات زیادی که بر روی این سیستم توسط محققان سلولی انجام گرفته، نشان می‌دهند که آگونیست‌های کولینرژیک فعالیت‌های شناختی را ارتقا می‌بخشد، درحالی که آنتاگونیست‌های کولینرژیک ایجاد اختلال در این فرایند می‌نمایند (۱۰). حافظه ارتباط نزدیکی با یادگیری دارد و عبارت از ذخیره‌سازی و به یادآوری تجربیات قبلی است. تمامی یادگیری‌ها نشانی از تجربه دارند و با فراموش شدن تمامی تجربه‌های قبلی یادگیری صورت نمی‌گیرد (۱۱). حافظه ویژگی از مغز است که نواحی مختلفی مانند کورتکس مغزی و چندین بخش از سیستم لیمبیک در آن دخالت دارند (۱۲). لوب گیجگاهی و تشکیلات هیپوکامپی جهت انتقال حافظه‌های کوتاه مدت به دراز مدت درگیر می‌باشند (۱۲). نئوکورتکس و بخش‌های مختلفی از سیستم لیمبیک در ذخیره‌نمودن حافظه دراز مدت دخالت دارند. کورتکس پاراهیپوکامپ با نواحی ارتباطی حسی از یک طرف و هیپوکامپ از طرف دیگر در ارتباط است (۱۳). این ارتباطات احتمالا کورتکس پاراهیپوکامپ را مناسب برای تثبیت حافظه می‌نماید (۱۴). اکثر عملکردهای رتینوئیدی از طریق کنترل فرایند رونویسی در RA و فعال سازی گیرنده‌های خاص RA صورت می‌پذیرد (۱۵). رتینول موجود در پلاسما به سلول وارد می‌شود و برای اولین بار اکسید و به رتینالدهید تبدیل می‌شود و این کار به کمک رتینول دهیدروژناز صورت می‌گیرد و به کمک رتینالدهید دهیدروژناز به RA اکسید می‌شود (۱۶). سپس RA وارد هسته شده و به گیرنده‌های RA متصل می‌شود، تا باعث فعال شدن فرایند رونویسی ژن شود (۱۷). گیرنده‌های RA (RARs) بخشی از گیرنده‌های هسته، که شامل گیرنده‌هایی برای استروژن، آندروژن، مینرالوکورتیکوئید، گلوکوکورتیکوئید و هورمون تیروئید هستند. تمامی این گیرنده‌ها به یک روش عمل می‌کنند. گیرنده‌های موجود در هسته یا آنهایی که از سیتوپلاسم به هسته منتقل می‌شوند به یک عامل واکنشی متصل می‌شوند و باعث پیش‌روی ژن‌های واکنشی می‌شوند. در حضور لیگاند، گیرنده تغییر ساختار می‌دهد و به هم پیوستگی کروماتین از بین می‌رود و رونویسی به صورت خودکار صورت می‌گیرد و این عمل همچنان ادامه می‌یابد (۱۸). ویتامین A و مشتقات آن از جمله اسید رتینوئیک از طریق دو دسته گیرنده RAR (گیرنده اسید رتینوئیک) و RXR (گیرنده X رتینوئیدی) اثرات خود را در سلول‌های بدن القاء می‌کنند. هر کدام از این گیرنده‌ها سه زیر گونه α، β و γ دارند. این گیرنده‌ها در قسمت‌های مختلفی از جمله مغز و نخاع بیان می‌شوند (۱۹). در هسته سلول گیرنده اسید رتینوئیک پس از الحاق به عناصر پاسخی اسید رتینوئیک (ATRA response elements, RAREs)، اثرات خود را بر بیان ژن القاء می‌کند. اسید رتینوئیک هم چنین سبب افزایش فسفوریلاسیون آنزیم‌های کینازی نظیر extracellular-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) می‌شود (۲۰). گیرنده‌های رتینوئیدی در اعمال مغز در موش‌ها و همچنین اعمال سیستم عصبی مرکزی در انسان نقش دارند (۲۱). بخش‌هایی از مغز که در اثر کاربرد اسید رتینوئیک، علائم سیگنال‌دهی را از خود بروز می‌دهند، سیستم لیمبیک به خصوص هیپوکامپ و بخش‌های تالاموس و هیپوتالاموس می‌باشند (۲۲). نواحی مختلف مغزی که در سیگنال‌دهی اسید رتینوئیک نقش دارند، دارای قابلیت انعطاف‌پذیری عصبی بالایی هستند (۲۴،۲۳). انعطاف‌پذیری یکی از توانایی‌های مغز است که الگوی اتصالات عصبی را مجددا تنظیم نموده و برای حافظه و یادگیری ضروری است. برای این منظور لازم است تغییراتی در مقاومت سیناپتیک ایجاد شود که توسط تقویت دراز مدت (Long-term potentiation, LTP) و تضعیف دراز مدت (Long-term depression, LTD) قابل اندازه‌گیری هستند. چنین فرایندهای پویایی باعث شکل‌گیری مغز در جنین می‌شوند. برخی از این فرایندها مانند LTD ، LTP و رشد زوائد نورونی (۲۶،۲۵) یا نوروژنز (۲۷) توسط اسید رتینوئیک تنظیم می‌شوند.

مطالعات زیادی بر روی تاثیر ویتامین A و سیستم کولینرژیک صورت گرفته است که تمامی آنها بر اثر تقویتی ویتامین A و سیستم کولینرژیک بر روند حافظه تاکید دارند. این نکته مشخص نمی‌باشد که آیا ویتامین A با تاثیر بر سایر سیستم‌های نوروترانسمیتری بر روند حافظه تاثیر می گذارد. لذا در تحقیق حاضر ابتدا تزریق درون بطنی ویتامین A و پیلوکارپین (به عنوان آگونیست گیرنده موسکارینی) بر فرایند به‌یادآوری حافظه در موش‌های صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرار گرفته و سپس به منظور ارزیابی نحوه عملکرد ویتامین A، میانکنش آن با داروی پیلوکارپین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

حیوانات

در تحقیق حاضر از موش‌های نر نژاد ویستار، با وزن اولیه ۲۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در هر قفس در گروه‌های پنج‌تایی با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می‌شدند. موش‌ها در اتاق حیوانات با دمای ۲±۳۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. همه آزمون‌های رفتاری در فاصله زمانی بین ساعت ۰۸:۰۰ و ۱۳:۰۰ انجام گردید. هر حیوان فقط یک‌بار استفاده شد. در هر گروه ۷ سر حیوان وجود داشت.

داروها

ویتامین A (شرکت داروسازی اسوه)، پیلوکارپین (شرکت سینا دارو) و روغن کنجد (Henrylamot Germany) خریداری گردیدند. تمامی داروها بلافاصله بعد از دوره آموزش در حجم ۱ µl/rat تزریق شدند.

جراحی به منظور کاشت کانولا راهنما

یک کانولای استیل ضد زنگ با ضخامت Gauge ۲۱ در بطن جانبی راست تمامی حیوانات کاشته شد (وسایل David Kopf، آمریکا). حیوانات با هیدروکسی کتامین (۴۰ mg/kg) و زایلزین (۸۰ mg/kg) بی‌هوش شدند. جهت تزریق درون بطن جانبی یک عدد کانولا با استفاده از دستگاه استریوتاکسی در مختصات ۰/۸ میلی‌متر خلفی، ۱/۶ میلی‌متر جانبی و ۳/۴ میلی‌متر شکمی نسبت به نقطه برگما بر اساس اطلس پاکسینوس قرار داده شد که با استفاده از پیچ‌های مینیاتوری و اکریل دندانپزشکی کانولا در موقعیت خود تثبیت گردید.

دستگاه شاتل‌باکس

آموزش در یک محفظه شرطی‌سازی با دو فضای روشن و تاریک با اندازه یکسان (۳۰×۲۰×۲۰cm) انجام گردید که یک در گیوتینی در فاصله بین دو فضا قرار داشته که می‌تواند توسط ناظر باز یا بسته شود. شبکه‌های فلزی ضدزنگ (با ضخامت ۲/۵ میلی‌متر) در فاصله‌های ۱ سانتی‌متری (فاصله بین شبکه‌ها) روی کف فضای تاریک برای ایجاد شوک پایی قرار داده شد. یک شبکه شوک‌دهنده پا (با شدت ۲ mA و مدت زمان ۱/۵ s و فرکانس ۵۰ Hz) به میله‌های فلزی فضای تاریک ارتباط داده شد.

آزمون رفتاری یادگیری احترازی غیرفعال

به تمامی حیوانات اجازه داده شد تا یک ساعت قبل از آزمایش در دستگاه شاتل‌باکس قرار گرفته و آزادانه در هر دو محفظه حرکت نمایند. جلسات آموزش و آزمایش‌ها بین ساعت ۰۸:۰۰ و ۱۳:۰۰ انجام گرفت. پس از گذراندن جلسه عادت، حیوان به آرامی در فضای روشن برای ۵ ثانیه قرار گرفته، سپس در گیوتینی بسته شدند و زمان تاخیر برای عبور حیوان به فضای تاریک ثبت شد. حیواناتی که بیشتر از ۱۰۰ ثانیه برای عبور به طرف دیگر تعلل می‌کردند، از آزمایش حذف شدند. به محض ورود حیوان با چهار پنجه به اتاق تاریک، در بسته می‌شد و موش از فضای تاریک خارج می‌شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، حیوان در اتاق روشن قرار گرفته و به محض ورود به اتاق تاریک شوک پایی (۱/۵ s, ۵۰ Hz, ۲ mA) دریافت می‌کرد. بعد از ۲۰ ثانیه، موش از دستگاه برداشته می‌شد و موقتا در قفس گذاشته می‌شد. دو دقیقه بعد، موش به همان روش قبلی دوباره آزمایش می‌گردید. اگر موش در طول ۱۲۰ ثانیه وارد فضای تاریک نمی‌شد، فراگیری موفقی از پاسخ احترازی غیرفعال ثبت می‌شد.

تزریق درون بطن مغزی (i.c.v.)

حیوان تزریق درون بطن مغزی را فورا پس از دوره فراگیری از طریق کانولا دریافت کرد. موش‌ها به آرامی توسط دست نگه داشته شده و تزریق با سوزنی به ضخامت Guage ۲۷ صورت گرفت. تزریق از طریق یک لوله پلی‌اتیلنی متصل به سرنگ هامیلتون انجام شد. حجم تمامی تزریقات ۱ میکرولیتر بود. جهت اطمینان از تزریق دارو، ۳۰ ثانیه پس از تزریق، سوزن تزریق در موقعیت کانولا نگه‌داشته می‌شد.

اندازه‌گیری میزان به‌یادآوری حافظه

۲۴ ساعت بعد از آموزش، آزمایش تعیین میزان به‌یادآوری حافظه انجام گرفت. حیوان در محفظه روشن گذاشته شده و مدت زمان تاخیر ورود به محفظه تاریک (Step through latency, STL) اندازه‌گیری شد. در تمامی مراحل آزمایش در باز بود. آزمایش وقتی تمام می‌شد که حیوان وارد محفظه تاریک می‌شد و یا برای ۳۰۰ ثانیه در فضای روشن باقی می‌ماند. در طول این دوره هیچ شوک الکتریکی اعمال نشد.

گروه‌ها

حیوانات به ۱۴ گروه تقسیم شدند:

گروه ۱ (یا گروه کنترل): حیوانات این گروه دست نخورده و بدون تیمار بودند.

گروه ۲ و ۳ (یا گروه‌های Sham): حیوانات این گروه جراحی شده و سرم فیزیولوژیک یا روغن کنجد را دریافت نمودند.

گروه‌های ۷-۴ (یا گروه‌های دریافت کننده ویتامین A): حیوانات این گروه‌ها ویتامین A را در دوزهای IU/rat ۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۷۵۰ ، ۵۰۰ دریافت نمودند.

گروه‌های ۱۱-۸ (یا گروه‌های دریافت کننده پیلوکارپین): حیوانات این گروه‌ها پیلوکارپین را در دوزهای ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۱ میکروگرم بر رت دریافت نمودند.

گروه‌های ۱۴-۱۲ (یا گروه‌های دریافت کننده توام ویتامین A و پیلوکارپین): حیوانات این گروه‌ها به صورت توام دوزهای مختلف ویتامین A و پیلوکارپین (دوز ۰/۵ میکروگرم بر رت) را دریافت نمودند.

بافت‌شناسی

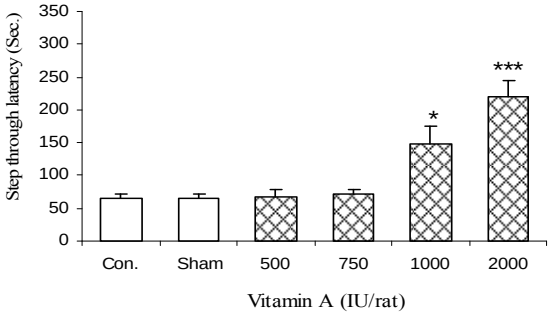
در خاتمه آزمایش، تمامی موش‌ها ۲ میکرولیتر متیلن بلو را در بطن جانبی دریافت نمودند، سپس با اتر بی‌هوش شده و به طور transcardial بافر محلول نمک‌دار فسفاتی را دریافت نمودند (pH=۷/۴) و فرمالدئید (۱۰٪) تزریق گردید. سر تمامی موش‌ها قطع شده و مغزشان در فرمالدئید (۴٪) قرار گرفت. بعد از گذشت سه روز، مغزها با ضخامت ۶۰ میکرومتری برش داده شدند. داده‌های رفتاری موش‌هایی که مکان کانولا صحیح نبود، بررسی نشد.

آنالیز آماری

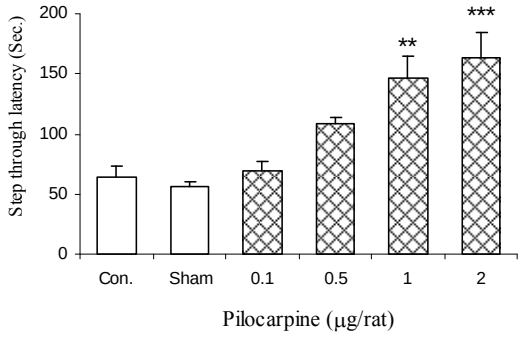
تمامی داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده و با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه تحلیل شدند. P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

حیوانات گروه‌های Sham تغییر معنی‌داری بر میزان STL در مقایسه با گروه کنترل نشان ندادند، یعنی عمل جراحی کاشت کانولا و تزریق سرم فیزیولوژیک یا روغن کنجد تاثیر معنی‌داری بر سطح یادگیری ایجاد نمی‌کند. ویتامین A در دوزهای IU/rat ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ موجب افزایش معنی‌داری بر میزان STL در مقایسه با گروه شاهد شد (نمودار ۱). همچنین پیلوکارپین در دوزهای ۲ و ۱ میکروگرم بر رت موجب افزایش معنی‌داری بر میزان STL در مقایسه با گروه شاهد گردید (نمودار ۲). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پیلوکارپین در دوز ۰/۵ میکروگرم بر رت موجب افزایش معنی‌داری بر پاسخ القا شده توسط ویتامین A در دوزهای IU/rat ۲۰۰۰ و ۱۰۰۰ می‌گردد (نمودار ۳).



نمودار ۱- اثر تزریق درون بطنی ویتامین A با دوزهای IU/rat ۲۰۰۰ ،۱۰۰۰، ۷۵۰ و۵۰۰ بر میزان STL در موش صحرایی نر بالغ. تزریقات فورا پس از دریافت شوک در جلسه آموزش صورت گرفت. حیوانات کنترل هیچگونه تیماری دریافت نکردند. حیوانات گروه Sham، روغن کنجد را به عنوان حلال دریافت نموده‌اند. نتایج بر اساس میانگین و انحراف معیار هر گروه تنظیم شده است. تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر بود. P<۰/۰۰۱ *** و P<۰/۰۵ * اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد.

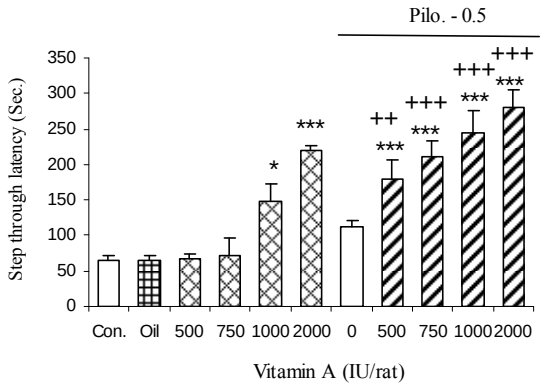


نمودار ۲- اثر تزریق درون بطنی پیلوکارپین با دوزهای ۲، ۱، ۰/۵ و ۰/۱ میکروگرم بر رت بر میزان STL در موش صحرایی نر بالغ. تزریقات فورا پس از دریافت شوک در جلسه آموزش صورت گرفت. حیوانات کنترل هیچگونه تیماری دریافت نکردند. حیوانات گروه Sham، سرم فیزیولوژیک را به عنوان حلال دریافت نموده‌اند. نتایج بر اساس میانگین و انحراف معیار هر گروه تنظیم شده است. تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر بود. P<۰/۰۰۱ ***، P<۰/۰۱ ** اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد.

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ویتامین A موجب افزایش معنی‌داری بر میزان تثبیت و به‌یادآوری حافظه می‌گردد. در

سال‌های اخیر مطالعه بر اثرات ویتامین A بسیار افزایش یافته است. اسید رتینوئیک تنها رتینوئیدی است که در مغز موش بالغ یافت شده و گیرنده‌های اسید رتینوئیک را فعال می‌کند (۲۸). گیرنده‌های اسید رتینوئیک بطور وسیعی در مغز موش بالغ گسترش یافته‌اند (۲۹)، بنابراین اسید رتینوئیک برای انجام عملکرد مغزی لازم است (۳۰).



نمودار ۳- اثر تزریق درون بطنی ویتامین A با دوزهای IU/rat ۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۷۵۰ و ۵۰۰ در حضور یا عدم حضور پیلوکارپین با دوز ۰/۵ میکروگرم بر رت بر میزان STL در موش صحرایی نر بالغ. تزریقات فورا پس از دریافت شوک در جلسه آموزش صورت گرفت. حیوانات کنترل هیچگونه تیماری دریافت نکردند. حیوانات گروه Sham، روغن کنجد را به عنوان حلال دریافت نمودند. نتایج بر اساس میانگین و انحراف معیار هر گروه تنظیم شده است. تعداد حیوانات در هر گروه ۷ سر بود. $P<۰/۰۰۱$ *** و $P<۰/۰۵$ * اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد. $P<۰/۰۰۱$ +++ و $P<۰/۰۱$ ++ اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد

نواحی نورونی سیگنال‌دهی اسید رتینوئیک انعطاف پذیری بالایی دارند (۲۴،۲۳). انعطاف پذیری مغزی برای بازآرایی الگوهای ارتباطات عصبی، یادگیری و حافظه و همچنین ترمیم آسیب مغزی ضروری است. رتینول و احتمالا اسید رتینوئیک بر LTP و LTD اثر می گذارند. کاهش میزان ویتامین A در موش‌های مورد آزمایش موجب از دست رفتن انعطاف پذیری سیناپسی دراز مدت می‌شود (۲۲). همچنین کاهش بیان رتینول منجر به نقص عملکرد در یادگیری فضایی و عملکرد حافظه می‌گردد (۳۱). تیمار اسید رتینوئیک به برگرداندن کاهش LTP هیپوکامپی در موش مسن کمک می‌کند (۳۲). اسید رتینوئیک موجود در هیپوکامپ، نورون‌زایی هیپوکامپ را تنظیم می‌کند (۳۰). اسید رتینوئیک اضافی در موش احتمالا با سیستم سیگنال‌دهی اندوژن مداخله کرده و منجر به کاهش در نوروژنز می‌شود (۲۷). کمبود رتینول منجر به کاهش یادگیری و حافظه می‌گردد (۳۲،۳۱). ویتامین A در تغییرات میزان LTP و LTD در هیپوکامپ لازم می‌باشد (۳۳).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پیلوکارپین به عنوان آگونیست گیرنده موسکارینی به صورت وابسته به دوز باعث افزایش تثبیت حافظه می‌گردد. در همین راستا مطالعات بسیاری انجام گرفته که نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌کند (۳۴). در مطالعات انجام شده توسط Patel و همکارانش در سال ۱۹۹۴ مشخص شد که پیلوکارپین باعث افزایش هیدرولیز اینوزیتول فسفات بعنوان پیامبر ثانویه در نورون‌های کولینرژیک مغز موش می‌گردد و از این طریق آبشاری از وقایع داخل سلولی را به راه می‌اندازد که در نهایت موجب افزایش حافظه می‌گردد (۳۵). همچنین Bymaster در سال ۲۰۰۳ نشان داد که پیلوکارپین اثر تقویتی خود را از طریق افزایش هیدرولیز اینوزیتول فسفات به انجام می‌رساند (۳۶). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میانکنش معنی‌داری بین تزریق توام ویتامین A و پیلوکارپین بر میزان تثبیت و به‌یادآوری حافظه وجود دارد. پیلوکارپین اثر تقویتی ویتامین A را بر روند به‌یادآوری حافظه افزایش معنی‌داری می‌دهد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی به دلیل حمایت مالی و ارائه امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی جهت انجام این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد سپاسگزاری می‌گردد.

REFERENCES

1. Heirs GH, Weiser H. The vitamin A activity of carotenoid. Int J Vitam Nutr Res 1967; 55: 5-13.

2. Olson U, Isler O. Vitamins A and carotene. In: Sebrell WH, Harris RS, Editors. The vitamins chemistry, Physiology, Pathology, Methods. 2nd ed. New York: Academic Press; 1996. p.5-99.

3. Sebrell WH, Harris RS, Editors. The vitamins chemistry, Physiology, Pathology, Methods. 2nd ed. New York: Academic Press; 1967. p.158.

4. Jacobson SG, Cideciyan AV, Regunath G. Night blindess insorsby's fundus dystrophy by vitamin A. Nature Gen 1995;11: 27-35.

5. Semba RD. The role of vitamin A and related retinoid in immune function. Nutr Rev1998; 56: S 38-42.

6. De Klerk NH. Vitamin A and cancer prevention II: comparison of the effects of retinol and beta-carotene. Int J Cancer 1998; 75: 362-367.

7. Wolf G. A history of vitamin A and retinoids. FASEBJ 1996; 10: 1102-07.

8. Acott TS, Weleber RG. Vitamin A mega therapy for retinal abnormalities. Nature Med 1995; 1: 884-85.

9. Gold PE. Acetylecholine modulation of neural systems involved in learning and memory. Neural learn Mem 2003; 80: 194-210.

10. Fornari RV, Moreira KM, Oliveira MG. Effects of the selective M1 muscarinic receptor antagonist dicyclomine on emotional memory. Learning and Memory 2000; 7: 287-92.

11. Wang JH, Gladys YPK, Kelly T. Cellular and molecular base of memory: Synaptic and neural plasticity. J Clin Neurophysiol 1997; 14: 264-93.

12. Desimone R. The physiology of memory: recording of things past. Science 1992; 258: 242-46.

13. Zola-Morgan S, Squire LR, Clower RP, Rempel NL. Damage to the perirhinal cortex exacerbates memory impairment following lesions to hippocampal formation. Neurosci 1993; 13: 251-265.

14. Klinberg T, Roland PE, Kawashima R. The human entorhinal cortex participation in associative memory. Neuro Report 1994; 6: 57-60.

15. Duester G. Families of retinoid dehydrogenases regulating vitamin A function: production of visual pigment and retinoic acid. Eur J Biochem 2000; 267: 4315-4324.

16. Idres N, Marill J, Flexor MA, Chabot GG. Activation of retinoic acid receptor-dependent transcription by all-trans-retinoic acid metabolites and isomers. J Biol Chem 2002; 277: 31491-98.

17. Bastien J, Rochette-Egly C. Nuclear retinoid receptors and the transcription of retinoid-target genes. Gene 2004; 328: 1-16.

18. Krezel W, Kastner P, Chambon P. Differential expression of retinoid receptors in the adult mouse central nervous system. Neuroscience 1999; 89: 1291-300.

19. Aggarwal S, Kim SW, Cheon K, Tabassam F, Joon JH, Koo JS. Nonclassical action of retinoic acid on the activation of the camp response element-binding protein in normal human bronchial epithelial cells. Mol Biol Cell 2006; 17: 566-575.

20. Werner EA, Deluca HF. Retinoic acid is detected at relatively high levels in the CNS of adult rats. Am J Physiol Endocrinol Metab 2002; 282: 672-78.

21. Mc-Caffery PJ, Adams J, Maden M, Rosa-Molinar E. Too much of a good thing: retinoic acid as an endogenous regulator of neural differentiation and exogenous teratogen. Eur J Neuro science 2003;18: 457-72.

22. Misner DL, Jacobs S, Shimizu Y, de Urquiza AM, Solomin L, Perlmann T. Vitamin A deprivation results in reversible loss of hippocampal long-term synaptic plasticity. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 11714-19.

23. Thompson Haskell G, Maynard TM, Shatzmiller RA, Lamantia AS. Retinoic acid signaling at sites of plasticity in the mature central nervous system. J Comp Neurol 2002; 452: 228-41.

24. Mc-Caffery P, Zhang J, Crandall JE. Retinoic acid signaling and function in the adult hippocampus. J Neurobiol 2006; 66: 780-91.

25. Corcoran J, Maden M. Nerve growth factor acts via retinoic acid synthesis to stimulate neurite outgrowth. Nat Neurosci 1999; 2: 307-308.

26. Hunter K, Maden M, Summerbell D, Eriksson U, Holder N. Retinoic acid stimulates neurite outgrowth in the amphibian spinal cord. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 3666-70.

27. Crandall J, Sakai Y, Zhang J, Koul O, Mineur Y, Crusio WE, et al. 13-cis-retinoic acid suppresses hippocampal cell division and hippocampal-dependent learning in mice. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101: 5111-16.

28. Kane MA, Chen N, Sparks S, Napoli JL. Quantification of endogenous retinoic acid in limited biological samples by LC/MS/MS. Biochem J 2005; 388: 363-369.

29. Zetterstrom RH, Simon A, Giacobini MMJ, Ericksson U, Olson L. Localization of cellular retinoid-binding proteins suggests specific roles for retinoids in the adult central nervous system. Neuroscience 1994; 62: 899-18.

30. Mey J, Mc-Caffery P. Retinoic acid signaling in the nervous system of adult vertebrates. Neuroscience 2004; 10: 409-421.

31. Cocco S, Diaz G, Stancampiano R, Diana A, Carta M, Curreli R, et al. Vitamin A deficiency produces spatial learning and memory impairment in rats. Neuroscience 2002; 115: 475-82.

32. Etchamendy N, Enderlin V, Marighetto A, Vouimba RM, Pallet V, Jaffard R, et al. Alleviation of a selective age-related relational memory deficit in mice by pharmacologically induced normalization of brain retinoid signaling. J Neurosci 2001; 21: 6423-29.

33. Chiang MY, Misner D, Kempermann G, Schikorski T, Giguere V, Sucov HM, et al. An essential role for retinoid receptors RAR beta and RXR gamma in long- term potentiation and depression. Neuron 1998; 21: 1353-61.

34. Riekkinen PJ, Jäkälä P, Sirviö J, Riekkinen P. The effects of increased serotonergic and decreased cholinergic activities on spatial navigation performance in rats. Pharmacol Biochem Behav 1991; 39: 25-29.

35. Patel S, Freedman SB. The muscarinic-receptor agonist L-658,903 modulates the in vivo accumulation of inositol monophosphates in mouse brain. Eur J Pharmacol 1994; 267: 329-34.

36. Bymaster FP, Carter PA, Yamada M, Gomeza J, Wess J, Hamilton SE, et al. Role of specific muscarinic receptor subtypes in cholinergic parasympathomimetic responses, in vivo phosphoinositide hydrolysis, and pilocarpine-induced seizure activity. Eur J Neurosci 2003; 17: 1403-10.