

The Role of NMDA Receptor on Spatial Learning and Memory Consolidation Rat Following Intra-Hippocampal Injection of Aqueous Extract of Leaves of *Origanum (Origanum Vulgare L. ssp. viridis)*

Haghpanah T^{1,2}, Sheibani V², Afarinesh M.R^{*3,2}, Esmail Pour Bezenjani K², Hajzadeh M Al R⁴, Pahlavan Y^{2,5}

¹ Department of Anatomy and Reproductive biology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Kerman Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

³ Department of Physiology and Student's Research Committee, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Mashhad Cognitive Neuroscience Research Center and Department of Physiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

⁵ Deputy of Research, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

* Corresponding author. Tel: +983412264821 Fax: +983413224615 E-mail: reza.afarinesh@gmail.com

Received: 296 December 2011 Accepted: 30 October 2012

ABSTRACT

Background & Objectives: Intra-hippocampal administration of *origanum* (ORG) improves spatial learning of rats. The aim of the present study was to investigate the possible mechanism for origanum extract on spatial learning and memory in the hippocampus.

Methods: In this study 42 adult male Wistar rats were used. Animals were cannulated bilaterally in the posterior lateral of hippocampus. After the recovery period, the spatial learning and memory were assessed using Morris Water Maze (MWM). Saline, ORG (0.03µg/site) glutamate receptor antagonist MK801 (0.08, 0.2 and 0.4 µmol/site) and co-injected of MK + ORG was injected into the posterior lateral of hippocampus 20 minutes before the training and retrieval sessions (for 5 consecutive days) (n=7).

Results: The results showed that the intra-hippocampal injection of MK 801 significantly blocked the decreased distance and time of reaching (due to ORG injection) to find hidden platform of MWM ($p<0.05$). On the retrieval tests, the average of time spent in the target area is reduced in the co-injected of MK801 + ORG group.

Conclusion: The intra-hippocampal injection of aqueous extract of origanum may improve working memory in rats through glutamate-dependent NMDA receptors.

Key words: NMDA Receptors; *Origanum*; Hippocampus; Learning

نقش گیرنده NMDA در یادگیری و تثبیت حافظه فضایی موش صحرایی متعاقب تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی برگ گیاه مرزنجوش (*Origanum Vulgare L. ssp. viridis*)

طاهره حق پناه^۱، دکتر وحید شببانی^۲، محمدرضا آفرینش خاکی^۳، موسی الرضا حاج زاده^۴، خدیجه
اسماعیل پور بزنجانی^۵، یاسمین پهلوان^۵

^۱ گروه آناتومی و بیولوژی تولید مثل، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران ^۲ مرکز تحقیقات علوم اعصاب
کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران ^۳ گروه فیزیولوژی و کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی
شهید بهشتی، تهران، ایران ^۴ مرکز تحقیقات علوم شناختی و گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران ^۵ معاونت
پژوهشی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۳۴۱ ۲۲۶۴۸۲۱ فاکس: ۰۳۴۱۳۲۲۴۶۱۵ E-mail: reza.afarinesh@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: تزریق داخل هیپوکامپی مرزنجوش (ORG) یادگیری فضایی موشهای صحرایی را بهبود می‌دهد. هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی مکانیسم احتمالی اثر عصاره آبی مرزنجوش بر یادگیری و حافظه فضایی در هیپوکامپ می‌باشد. **روش کار:** در این مطالعه از ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات به صورت دوطرفه در نواحی خلفی جانبی هیپوکامپ کانول گذاری شدند و پس از بهبودی یادگیری و حافظه فضایی با استفاده از ماز آبی موریس مورد ارزیابی قرار گرفت. بیست دقیقه قبل از مرحله آموزش و آزمون حافظه (به مدت ۵ روز متوالی)، سالین، عصاره آبی مرزنجوش (۰/۰۳ μg/site)، آنتاگونیست گیرنده گلوتاماتی MK801 با دوزهای (۰/۰۸، ۰/۲، و ۰/۴ میکرو مول)، تزریق توام MK+ORG در هر طرف به نواحی CA1 هیپوکامپ دریافت کردند.

یافته ها: تحقیق حاضر نشان داد که تزریق داخل هیپوکامپی MK801 می‌تواند مسافت کل پیموده شده و زمان سپری شده تا یافتن محل سکوی مخفی در ماز آبی موریس در طی روزهای آموزش کاهش یافته توسط عصاره آبی مرزنجوش را مهار کند ($p < 0/05$). در روز آزمون حافظه، میانگین زمان سپری شده در ناحیه هدف در حیوانات با تزریق توام MK801+ORG کاهش یافت.

نتیجه گیری: تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش احتمالاً حافظه کاری موش‌های صحرایی را از طریق گیرنده‌های گلوتاماتی وابسته NMDA بهبود می‌دهد.

کلمات کلیدی: گیرنده های NMDA، مرزنجوش، هیپوکامپ، یادگیری

دریافت: ۹۰/۱۰/۶ پذیرش: ۹۱/۸/۹

مقدمه

دارد. این گیاه در مناطق شمال و شمال غرب ایران پراکندگی بیشتری دارد و در مناطق گرم جنوبی یافت نمی‌شود [۱]. در طب سنتی بر ضد بیماری‌های تنفسی، برطرف نمودن زکام [۲]، درمان بیماری‌هایی همچون دیابت شیرین [۳] و لوسمی مورد استفاده قرار گرفته

گیاه مرزنجوش با اسم علمی *Origanum Vulgare ssp. viridie* از تیره نعنائیان^۱ پراکنش وسیع جهانی

^۱ Lamiaceae (Labiatae)

است [۴]. عصاره آبی گیاه خاصیت آنتی اکسیدانی دارد [۵] و از مهمترین ترکیباتی که در عصاره آبی این گیاه وجود دارد، می‌توان به رزمارینیک اسید، اریوسیتین، آپی ژنین گلیکوزید، اوریکانول و اورسالیک اسید اشاره کرد [۶،۷].

بطور کلی جایگاه اصلی یادگیری و حافظه فضایی در هیپوکامپ بوده و یکی از راههای اکتساب یادگیری، افزایش کارایی پایدار در انتقال سیناپسی و استفاده مکرر از سیناپس می‌باشد [۸]. گلوتامات به عنوان مهمترین نوروترانسمیتر تحریکی تشکیلات هیپوکامپی و CNS محسوب می‌شود و گیرنده های گلوتاماتی^۱ NMDA و non-NMDA توسط این میانجی فعال می‌شوند. به طور کلی این گیرنده ها در فرایند القاء تقویت طولانی مدت نقش اصلی را برعهده دارند [۹]. از انواع مهم گیرنده های NMDA می‌توان به گیرنده های NR1 و NR2A و NR2B اشاره کرد که نقش مهمی در یادگیری فضایی دارد. مشخص شده MK801 که یک آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده های NMDA است سبب بلوکه شدن این گیرنده ها و در نتیجه کاهش یادگیری می‌شود [۱۰]. هم‌چنین مشخص شده است تجویز داخل صفاقی عصاره آبی مرزنجوش یادگیری تمایزی موش های صحرایی در ماز T شکل را بهبود می‌بخشد [۱۱]. علاوه بر آن تزریق داخل صفاقی این عصاره می‌تواند سبب تقویت القاء LTP^۲ در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی گردد [۱۲]. با توجه به اینکه تعداد و تراکم گیرنده های گلوتاماتی در ناحیه هیپوکامپ زیاد می‌باشد و نیز گیرنده های مختلفی در فرایند سلولی LTP نقش دارند، و همچنین با توجه به اینکه تجویز موضعی و مستقیم این عصاره به داخل هیپوکامپ تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است، در این پژوهش ابتدا اثر تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش در دستگاه ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت،

سپس با تزریق آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده های گلوتاماتی، اثر تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش بر فرایند یادگیری و حافظه فضایی موش صحرایی نر مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش کار

حیوانات

در این مطالعه تجربی از ۴۲ سر موش صحرایی نر دو ماهه نژاد ویستار با میانگین وزنی (275 ± 25) گرم که در خانه حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان نگهداری می‌شدند استفاده گردید. حیوانات در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای (23 ± 2) درجه سانتی‌گراد قرار داشتند. همه حیوانات آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. غذای حیوان‌ها از کارخانه خوارک دام و طیور پارس تهران تهیه شده و به‌صورت پلیت‌های فشرده در اختیار موش‌ها قرار داده می‌شد. تمامی روش‌های آزمایشگاهی از جمله کار با حیوانات و نگهداری آنها، نحوه بیهوشی، جراحی بدون درد و غیره این پژوهش براساس پروتکل تنظیم شده اخلاقی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان (EC/KNRC/87-30) صورت گرفته است.

روش عصاره گیری و تعیین میزان رطوبت

اجزاء مورد نظر گیاه شامل گل، برگ و سر شاخه‌های جوان از منطقه یزد (ایران) جمع آوری و توسط کارشناسان گروه گیاه شناسی و هرباریوم گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر مورد شناسایی قرار گرفتند. برگ گیاه نمونه به صورت پودر درآمده و به نسبت وزنی-حجمی ۱/۱۰۰ با آب گرم (زیر نقطه جوش) مخلوط شده و در حمام آب گرم ۴۵ درجه به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه خیسانده شد. پس از صاف کردن محلول، مجدداً در حمام آب گرم زیر نقطه جوش قرار گرفت. برای تعیین میزان رطوبت مقدار مشخصی از عصاره با ترازو توزین شد و در اتوکلاو ۳۸ درجه سانتی‌گراد

^۱ N-Methyl-D-Aspartate

^۲ Long Term Potentiation

شد. تمامی تزریق‌ها در حجم ۰/۵ میکرو لیتر و در مدت زمان ۵ دقیقه بین ساعت ۹-۱۱ صبح انجام شد. تزریق عصاره، آنتاگونیست و یا سالین در گروه‌های مورد نظر هر روز ۳۰ دقیقه قبل از هر بار مرحله آموزش^۱ و مرحله ارزیابی^۲ (جمعا به مدت ۵ روز) در دستگاه ماز آبی موریس انجام شد.

آزمون رفتاری

به منظور ارزیابی یادگیری فضایی از دستگاه ماز آبی موریس استفاده شد. این دستگاه از یک حوضچه با قطر ۱۵۰ و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر ساخته شده است که تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر با آب 1 ± 21 درجه سانتی‌گراد پر می‌شود. یک سکو با قطر ۱۰ سانتی‌متر در مرکز ربع دایره در جنوب غربی قرار گرفت. از طریق یک دوربین مدار بسته حرکات موش به کامپیوتر و نرم افزار مربوطه^۳ انتقال یافت و پارامترهای مختلف از جمله مسافت طی شده و مدت زمان سپری شده در ماز زیر ثبت شد. در مرحله سازش با محیط^۴ هر موش ۲۴ ساعت قبل از آموزش به مدت ۳ دقیقه در ماز بدون سکو قرار داده شد. در مرحله آموزش هر موش به مدت ۴ روز و هر روز ۴ بار در ماز قرار داده شد و مسیر حرکات حیوان به مدت ۹۰ ثانیه ثبت شد. در این مرحله پارامترهای ذکر شده مربوط به کل مسافت طی شده و مدت زمان سپری شده تا یافتن سکوی مخفی در ماز ثبت شد. در مرحله ارزیابی ۲۴ ساعت پس از آخرین روز مرحله آموزش، حافظه فضایی موش‌ها در ماز فاقد سکو مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مرحله یک آزمون ۶۰ ثانیه‌ای از هر حیوان ثبت شد و در طی این مدت، مدت زمان حضور موش در محوطه‌ای که قبلا سکو وجود داشته به عنوان شاخص و ملاک حافظه ثبت و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت [۱۵].

بافت شناسی

قرار گرفت. پس از اینکه عصاره آب خود را از دست داد و کاملا خشک شد، دوباره وزن شده و با توجه به اختلاف وزن مشاهده شده درصد رطوبت نسبت به وزن اولیه (۱۶/۸٪) به دست آمد، سپس غلظت‌های مورد نظر تهیه گردید [۱۱، ۱۲].

جراحی و گروه‌ها

جهت انجام تزریقات داخل هیپوکامپی، ابتدا هر موش با استفاده از داروهای بی‌هوشی کتامین هیدروکلراید (ساخت کارخانه آلفاسان هلند) با دوز (۸۰ mg/kg/ip) و زایلازین هیدروکلراید (ساخت کارخانه آلفاسان هلند) با دوز (۵ mg/kg) بی‌هوش شده و سپس در دستگاه استریوتاگس قرار داده شد. پس از ایجاد یک برش در سطح جمجمه مطابق با اطلس پاكسينوس و واتسون دو عدد کانول راهنما (۲۳ G) در مختصات نواحی خلفی جانبی CA1 هیپوکامپ ($D=3/2$ mm, قرار داده شد [۱۳]. پس از طی زمان بی‌هوشی (یک هفته پس از جراحی)، حیوانات در ۶ گروه آزمایش به طور تصادفی تقسیم شدند. این گروه‌ها عبارتند از:

- ۱- گروه (۱): گروه شاهد با تزریق داخل هیپوکامپی سالین در حجم $0.5 \mu\text{lit}/\text{site}$.
- ۲- گروه‌های (۲-۴): گروه‌های تزریق داخل هیپوکامپی آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA (MK801) با دوزهای 0.2 ، 0.4 ، $0.8 \mu\text{mol}/\text{site}$ به منظور یافتن دوز موثر.
- ۳- گروه (۵): گروه تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش با دوز $0.3 \mu\text{gr}/\text{site}$ بر اساس مطالعات قبلی [۱۴].
- ۴- گروه (۶): گروه تزریق توام (MK+ORG)، آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA (MK801) با دوز $0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$ و عصاره آبی مرزنجوش با دوز $0.3 \mu\text{gr}/\text{site}$ به ترتیب، با فاصله زمانی ۱۰ دقیقه.

جهت تزریق داخل هیپوکامپی عصاره یا سالین از سرنگ هامپلتون ۲۵ میکرولیتری و لوله پلی اتیلن ۱۰ استفاده

¹ Training trial

² Probe

³ Noldus, Netherlands; Version: 6 XT

⁴ Habituation

شد. داده‌های آماری به صورت میانگین±خطای استاندارد گزارش شده‌اند.

یافته‌ها

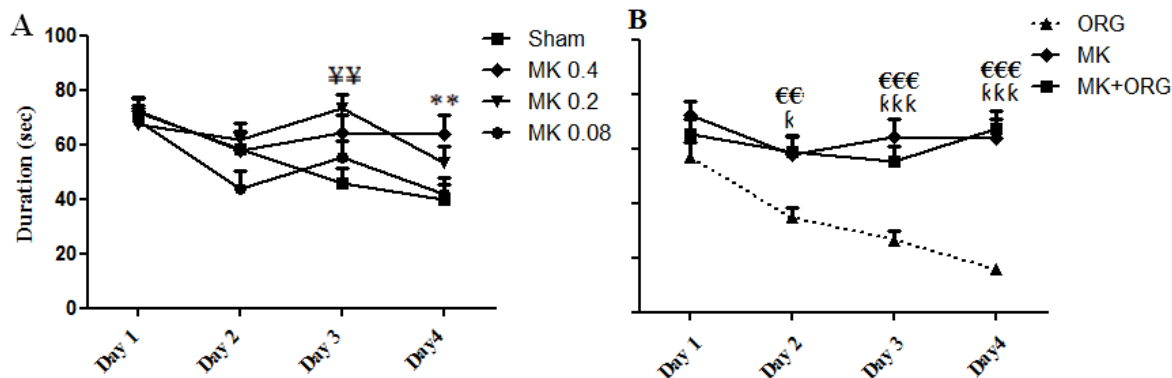
یافته‌های روزهای یادگیری

زمان شنا کردن: تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد تزریق داخل هیپوکامپی آنتاگونیست MK801 با دوز $0.2 \mu\text{mol}/\text{site}$ در روز سوم ($p < 0.01$) و دوز $0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$ در روز چهارم ($p < 0.01$) به صورت معنی‌داری سبب افزایش در میانگین زمان شنا کردن موش‌ها تا رسیدن به سکو در مقایسه با گروه شاهد شد ($F_{3, 16} = 8.27, p < 0.01$). اما این اختلاف بین گروه MK801 با دوز $(0.8 \mu\text{mol}/\text{site})$ و گروه شاهد معنی‌دار نبود. در ضمن تعامل بین دو متغیر روز و دارو معنی‌دار نمی‌باشد ($F_{9, 16} = 1.62, p = 0.1$) (شکل شماره A-۱).

در پایان آزمایش موش‌ها با گاز دی اکسید کربن بیهوش شدند. سپس مغز حیوان از جمجمه خارج شد و پس از ثابت کردن مغز در فرمالین ۱۰ درصد برش‌های ۸۰ میکرونی از آن تهیه شده و با رنگ آمیزی نیسل محل فرار گرفتن کانول زیر میکروسکپ نوری بررسی شد. در صورت صحیح نبودن محل کانول داده‌های آن موش در تحلیل آماری حذف گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از نرم افزار آماری Prism، متغیر کمی زمان شنا کردن حیوان در ماز تا رسیدن به سکو طی روزهای یادگیری به روش آزمون Repeated measures ANOVA تجزیه و تحلیل شد. همچنین داده‌های روز به خاطر آوری (آزمون probe) توسط آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شده و از پس آزمون Bonferroni برای یافتن جایگاه معنی‌داری استفاده شد. سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته



شکل ۱. مقایسه میانگین مدت زمان شنا کردن موشها جهت یافتن سکوی مخفی در ماز آبی مورس در طی روزهای یادگیری. اثر تجویزهای داخل هیپوکامپی آنتاگونیست MK801 با دوز $(0.8, 0.2, 0.4 \mu\text{mol}/\text{site})$ در مقایسه با گروه شاهد (A) و مقایسه اثر تجویز داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش (ORG) با دوز $0.3 \mu\text{gr}/\text{site}$ با گروه تجویز داخل هیپوکامپی آنتاگونیست MK801 با دوز $(0.4 \mu\text{mol}/\text{site})$ و گروه تزریق توام آنها (B). داده‌ها به صورت میانگین±خطای استاندارد می‌باشند ($N=7$).

** $p < 0.01$, MK801 $0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$ vs Saline; **** $p < 0.0001$, MK801 $0.2 \mu\text{mol}/\text{site}$ vs Saline; ^K $p < 0.05$, ^{kkk} $p < 0.001$ MK801 $0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$ vs ORG $0.03 \mu\text{gr}/\text{site}$, ^{ee} $p < 0.01$ (MK801 $0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$ + ORG $0.03 \mu\text{gr}/\text{site}$) vs ORG $0.03 \mu\text{gr}/\text{site}$ and ^{eee} $p < 0.001$ (MK801 $0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$ + ORG $0.03 \mu\text{gr}/\text{site}$) vs ORG $0.03 \mu\text{gr}/\text{site}$.

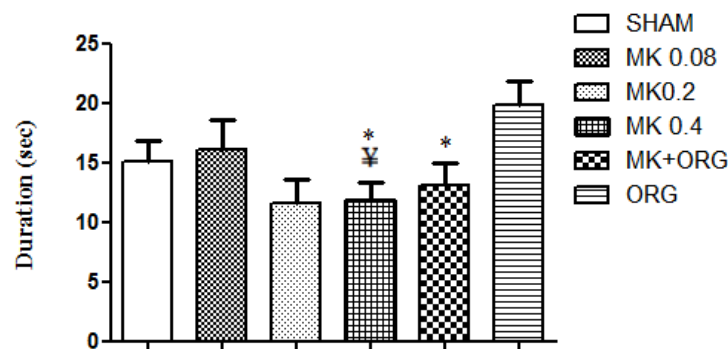
بدین صورت که تزریق داخل هیپوکامپی MK بصورت معنی‌داری سبب افزایش در میانگین زمان شنا کردن موش‌ها تا رسیدن به سکو در روزهای سوم و چهارم در مقایسه با گروه مرزنجوش شد. در

طی روزهای مختلف یادگیری زمان شنا کردن تا یافتن سکو در گروه دوز موثر MK و گروه تجویز توام MK+ORG به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه مرزنجوش افزایش می‌یابد ($F_{3, 328} = 7.85, p < 0.0001$).

آنالیز داده‌ها در روز به‌خاطر آوری نشان داد زمان شنا کردن حیوانات در ناحیه هدف در گروه تزریق داخل هیپوکامپی آنتاگونیست MK801 با دوز ($0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$) در مقایسه با گروه شاهد کاهش می‌یابد ($p < 0.05$). زمان شنا کردن حیوانات در ناحیه هدف در گروه تزریق داخل هیپوکامپی آنتاگونیست MK801 با دوز ($0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$) و گروه تجویز توام MK+ORG در مقایسه با گروه تزریق داخل هیپوکامپی مرزنجوش کاهش معنی داری نشان داد ($p < 0.05$) (شکل ۲).

گروه تجویز توام، تزریق آنتاگونیست MK قبل از تزریق عصاره، زمان شنا کردن موش‌ها تا رسیدن به سکو در روزهای دوم، سوم و چهارم را به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه تجویز عصاره مرزنجوش (به ترتیب $p < 0.001$, $p < 0.05$, $p < 0.05$) افزایش داد. در ضمن تعامل بین دو متغیر ذکر شده روز و دارو معنی‌دار می‌باشد ($p = 0.0001$, $F_{9, 228} = 5.18$) (شکل شماره ۱-B).

آزمون روز به‌خاطر آوری



شکل ۲. اثر تجویز داخل هیپوکامپی آنتاگونیست MK801 با دوز ($0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$ ، $0.2 \mu\text{mol}/\text{site}$ ، $0.08 \mu\text{mol}/\text{site}$) و دوز $0.3 \mu\text{gr}/\text{site}$ ORG با دوز ($0.4 \mu\text{mol}/\text{site}$ MK + ORG) بر زمان شنا کردن موش‌ها در ناحیه هدف در ماز آبی مورس در طی روز آزمون به‌خاطر آوری. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد می‌باشند ($N=7$). * $p < 0.05$ test vs ORG $0.03 \mu\text{gr}/\text{site}$. † $p < 0.05$, test vs Saline.

بحث

ساختاری و زیر واحدهای تشکیل دهنده، نفوذپذیری به کاتیون‌ها، کنتیک باز و بسته شدن دریچه کانال و فارماکولوژی با یکدیگر تفاوت دارند [۱۷، ۱۸]. گیرنده‌های NMDA به کاتیون‌های دو ظرفیتی از جمله کلسیم (به جز منیزیم) نفوذ پذیر است در حالیکه رسپتورهای AMPA تنها به کاتیون‌های تک ظرفیتی نفوذپذیر می‌باشد. البته از این دسته، زیر گروهی وجود دارد که فاقد زیر واحد GluR2 می‌باشد و به کلسیم نفوذپذیر می‌باشد [۱۷، ۱۸]. گلوتامات اعمال بیشماری در مغز بر عهده دارد که از این میان می‌توان به نقش بحرانی آن در پلاستیسیته سیناپسی سلولی و تشکیل و تداوم یادگیری و حافظه وابسته به تغییرات سیناپسی اشاره نمود [۱۹]. فعالیت گیرنده‌های NMDA سبب افزایش سطح داخل

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق داخل هیپوکامپی داروی MK801 که یک آنتاگونیست غیرانتخابی گیرنده‌های NMDA است، سبب کاهش یادگیری در طی روزهای آموزش و در نتیجه حافظه کاری می‌شود و استفاده از این دارو از اثر بهبود دهنده مرزنجوش بر یادگیری و تثبیت حافظه جلوگیری می‌نماید. به طور کلی رسپتورهای گلوتامات شامل گیرنده متابوتروپیک^۱ و آیونوتروپیک گلوتامات^۲ بوده و گلوتامات از این طریق عمل می‌نماید [۱۶]. خانواده گیرنده آیونوتروپیک شامل رسپتورهای NMDA و کاینات/AMPA می‌باشد که از نظر

^۱ mGluRs

^۲ iGluRs

سلولی کلسیم می‌شود که به نوبه خود سبب برآه افتادن آبتشاری از Signaling داخل سلولی شده فعالیت سیناپسی در هیپوکامپ را افزایش می‌دهد و منجر به ایجاد فرایند تقویت طولانی مدت می‌شود. LTP یکی از مهمترین مدل‌های شکل‌پذیری سیناپسی است و تصور می‌شود در رابطه با تثبیت حافظه باشد. این فرایند در هیپوکامپ به‌خوبی به‌وسیله اعمال تحریکات با فرکانس بالا قابل‌القاء و بررسی می‌باشد [۸]. به علاوه مشخص شده که کاهش نوروترانسمیتر گلوتامات ارژیک در هیپوکامپ بیماران آلزایمری منجر به نقص‌های شناختی و کاهش حافظه می‌شود [۲۰]. مطالعات قبلی نشان داد که آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA، MK801، به صورت وابسته به دوز منجر به کاهش یادگیری و حافظه می‌شود [۲۱، ۲۲]. مطالعه حاضر نیز نشان داد که تزریق داخل هیپوکامپی MK801 زمان یادگیری فضایی موش‌ها را در ماز آبی موریس افزایش می‌دهد.

از سوی دیگر در مطالعات گذشته، مشخص شده بود که تزریق داخل صفاقی عصاره آبی مرزنجوش، علاوه بر بهبود یادگیری تمایزی موش‌های صحرایی در ماز T-شکل، سبب افزایش‌القاء و تداوم (LTP) در آنها می‌شود [۱۲]. در مطالعه حاضر نشان داده شد که تزریق داخل هیپوکامپی MK801 اثرات بهبوددهندگی عصاره آبی مرزنجوش بر یادگیری فضایی موش‌های صحرایی را در ماز آبی موریس کاهش می‌دهد. بنابراین احتمال دارد این عصاره، بخشی از اثراتش را از طریق رسپتورهای گلوتاماتی اعمال نموده باشد.

مکانیسم احتمالی دیگر در بهبود یادگیری ممکن است مربوط به افزایش سطح استیل‌کولین هیپوکامپ در نتیجه تزریق موضعی عصاره مرزنجوش باشد. مهارکننده‌های استیل‌کولین استراز به‌طور طبیعی در بسیاری از علف‌های طبی از جمله مرزنجوش وجود دارند. مشخص شده اسید اورسالیک موجود در مرزنجوش دارای خاصیت مهارکنندگی فعالیت آنزیم

استیل‌کولین استراز بوده و از این طریق ممکن است سطح استیل‌کولین مغز را افزایش دهد [۲۳، ۲۴]. مطالعات مختلف در زمینه یادگیری مشخص نموده‌اند که افزایش سطح استیل‌کولین در مغز و ناحیه هیپوکامپ می‌تواند سبب بهبود یادگیری و حافظه فضایی موش‌ها شود [۲۵، ۲۶]. علاوه بر آن بیان شده است که در نواحی هیپوکامپ و استریاتوم موش‌های صحرایی که در ماز صلیبی آموزش داده می‌شوند شرح استیل‌کولین افزایش می‌یابد [۲۵]. از طرفی مشخص شده که تداخل اثر مستقیم و غیر مستقیمی بین سیستم گیرنده NMDA و سیستم مرکزی کولینرژیک وجود دارد که در فرایند یادگیری و حافظه درگیر می‌باشد [۲۷]. تجویز استیل‌کولین سبب افزایش پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی از طریق فعالیت گیرنده‌های NMDA می‌شود که القاء LTP را تقویت می‌کند [۲۸، ۲۹]. به علاوه سطح استیل‌کولین از طریق تزریق داخل مغزی آگونیست‌های انتخابی گیرنده NMDA افزایش می‌یابد [۳۰]. بنابراین ممکن است عصاره مرزنجوش از طریق مسیرهای مختلفی بر یادگیری تأثیر گذار باشد.

از مهمترین ترکیباتی که در عصاره آبی این گیاه وجود دارد، می‌توان به رزمارینیک اسید، اورسالیک اسید، اریوسیتین، آپی‌ژنین، گلیکوزید و اوریگانول A و B اشاره کرد [۶، ۷، ۳۱]. رزمارینیک اسید نه تنها از تشکیل فیبرهای بتا آمیلوئید جلوگیری می‌کند، بلکه در محیط برون‌تنی سبب ناپایداری فیبرهای بتا آمیلوئید تشکیل یافته می‌شود [۳۲]. اگرچه مشخص شده که تزریق حاد رزمارینیک اسید اثری بر رفتارهای شناختی ندارد [۳۳] اما اخیراً در یک مطالعه نشان داده شده که این ترکیب دارای اثرات تقویتی در یادگیری می‌باشد [۳۴]. بنابراین ترکیبات مختلفی در عصاره آبی مرزنجوش وجود دارد که بالقوه دارای اثرات تقویتی در رفتارهای شناختی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

این پژوهش با حمایت مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان (طرح مصوب ع/۲۴-۸۷) صورت پذیرفته است. نویسندگان این مقاله بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین مرکز مذکور اعلام می‌دارند.

مطالعه حاضر نشان داد که تجویز عصاره آبی برگ گیاه مرزنجوش یادگیری فضایی را احتمالاً از طریق گیرنده های NMDA تقویت می کند.

تشکر و قدردانی

References

- 1- Rechinger KH, Druk A. Flora iranica, Labiatae. Akademische Druck Verlagsantalt. Graze. 1982; 150-151.
- 2- Van Den Broucke CO, Lemli JA. Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. Part 2: Antagonistic effect of thymol and carvacrol. *Planta Med*. 1982 Jul;45(3):188-90.
- 3- Lemhadri A, Zeggwagh N A, Maghrani M, Jouad H, Eddouks M. Anti-hyperglycaemic activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafilalet region. *J Ethnopharmacol*. 2004 Jun;92(2-3):251-6.
- 4- Goun E, Cunningham G, Solodnikov S, Krasnykch O, Miles H. Antithrombin activity of some constituents from *Origanum vulgare*. *Fitoterapia*. 2002 Dec;73(7-8):692-4.
- 5- Kintzios S, Papageorgiou K, Yiakoumettis I, Baricevic D, Kusar A. Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. *J Pharm Biomed Anal*. 2010 Nov;53(3):773-6.
- 6- Kulisic T, Krisko A, Dragovic-Uzelac V, Milos M, Pifat G. The effects of essential oils and aqueous tea infusions of oregano (*Origanum vulgare L. spp. hirtum*), thyme (*Thymus vulgaris L.*) and wild thyme (*Thymus serpyllum L.*) on the copper-induced oxidation of human low-density lipoproteins. *Int J Food Sci Nutr* 2007. Mar; 58(2):87-93.
- 7- Matsuura H, Chiji H, Asakawa C, Amano M, Yoshihara T, Mizutani J. DPPH radical scavengers from dried leaves of oregano (*Origanum vulgare*). *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003 Nov; 67(11): 2311-6.
- 8- Lynch M A. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev*. 2004 Jan; 84(1): 87-136.
- 9- Grover L M, Yan C. Evidence for involvement of group II/III metabotropic glutamate receptors in NMDA receptor-independent long-term potentiation in area CA1 of rat hippocampus. *J Neurophysiol*. 1999 Dec; 82(6): 2956-69.
- 10- Butelman E R. A novel NMDA antagonist, MK-801, impairs performance in a hippocampal-dependent spatial learning task. *Pharmacol Biochem Behav*. 1989 Sep; 34(1): 13-6.
- 11- Abbasnejad M, Abbasnejad A, Afarinesh M, Hassibi N. Evaluation of *origanum* leaves extract on spatial learning in male rats. *Physiology and Pharmacology* 2006; 10(2): 143-150 [article in Persian].
- 12- Sheibani V, Afarinesh M, Hajjalizadeh Z, Abbasnejad M, Haghpanah T, Arabnezhad R, et al. Evaluation of *Origanum Vulgare L. ssp. Viridis*. leaves extract effect on discrimination learning and LTP Induction in the CA1 region of the rat hippocampus. *Iranian J Basic Med Sci*. 2010 Mar-Apr; 14(1): 161-169.
- 13- Paxinos G, Watson C, The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed. Academic Press. San Diego, CA, USA. 1986:88-93.
- 14- Haghpanah T, Esmailpour B K, Afarinesh K M, Sheibani V, Abbasnejad M, Masoomi a Y. Effect of intra-hippocampal injection of *Origanum vulgare L. ssp. viridis* leaf extract on spatial learning and memory consolidation. *Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences* 2011; 14(4): 380-387. (Full text in Persian)
- 15- Majlessi N, Kadkhodae M, Parviz M, Naghdi N. Serotonin depletion in rat hippocampus attenuates L-NAME-induced spatial learning deficits. *Brain Res* 2003 Feb; 963(1-2): 244-51.
- 16- Watkins JC, Jane DE. The glutamate story. *Br J Pharmacol* 2006; 147 Suppl 1: S100-8.

- 17- Cull-Candy S, Brickley S, Farrant M. NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Curr Opin Neurobiol* 2001; 11(3): 327-35.
- 18- Cull-Candy S, Kelly L, Farrant M. Regulation of Ca²⁺-permeable AMPA receptors: synaptic plasticity and beyond. *Curr Opin Neurobiol*.2006 ;(3)16 Jun :288-97.
- 19- Neves G, Cooke S F, Bliss T V. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat Rev Neurosci* 2008 Jun; 9(1): 65-75.
- 20- Greenamyre J T, Penney J B, D'amato C J, Young a B. Dementia of the Alzheimer's type: changes in hippocampal L-[3H] glutamate binding. *J Neurochem* 1987 Feb; 48(2): 543-51.
- 21- Venable N, Kelly P H. Effects of NMDA receptor antagonists on passive avoidance learning and retrieval in rats and mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 1990; 100(2):215-21.
- 22- Mcdonald R J, Hong N S, Craig L A, Holahan M R, Louis M, Muller R U. NMDA-receptor blockade by CPP impairs post-training consolidation of a rapidly acquired spatial representation in rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 2005 Sep; 22(5): 1201-13.
- 23- Chung YK, Heo HJ, Kim EK, Kim HK, Huh TL, Lim Y, et al. Inhibitory effect of ursolic acid purified from *Origanum majorana* L on the acetylcholinesterase. *Mol Cells*. 2001 Apr; 11(2): 137-43.
- 24- Vági E, Rapavi E, Hadolin M, Vásárhelyiné Perédi K, Balázs A, Blázovics A, et al. Phenolic and triterpenoid antioxidants from *Origanum majorana* L. herb and extracts obtained with different solvents. *J Agric Food Chem* 2005 Jun; 53(1): 17-21.
- 25- Chang Q, Gold P E. Switching memory systems during learning: changes in patterns of brain acetylcholine release in the hippocampus and striatum in rats. *J Neurosci* 2003 Apr;(7)23 ; 3001-5.
- 26- Pych J C, Chang Q, Colon-Rivera C, Haag R, Gold P E. Acetylcholine release in the hippocampus and striatum during place and response training. *Learn Mem* 2005 Nov-Dec; 12(6): 564-72.
- 27- Abe H, Ishida Y, Iwasaki T. Perirhinal N-methyl-D-aspartate and muscarinic systems participate in object recognition in rats. *Neurosci Lett* 2004 Feb; 356(3): 191-4.
- 28- Markram H, Segal M. Long-lasting facilitation of excitatory postsynaptic potentials in the rat hippocampus by acetylcholine. *J Physiol* 1990 Aug :427 ; 381-93.
- 29- Calabresi P, Centonze D, Gubellini P, Pisani A, Bernardi G. Endogenous ACh enhances striatal NMDA-responses via M1-like muscarinic receptors and PKC activation. *Eur J Neurosci* 1998 Sep; 10(9): 2887-95.
- 30- Moor E, De Boer P, Beldhuis H J, Westerink B H. A novel approach for studying septo-hippocampal cholinergic neurons in freely moving rats: a microdialysis study with dual-probe design. *Brain Res*. 1994 Sep; 648(1): 32-8.
- 31- Rodríguez-Meizoso I, Marin FR, Herrero M, Señorans FJ, Reglero G, Cifuentes A, et al. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *J Pharm Biomed Anal* 2006 Aug; 41(5): 1560-5.
- 32- Ono K, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M. Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *J Neurosci Res* 2004 Mar; 75(6): 742-50.
- 33- Pereira P, Tysca D, Oliveira P, Da Silva Brum L F, Picada J N, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. *Pharmacol Res* 2005 Sep; 52(3):199-203.
- 34- Park DH, Park SJ, Kim JM, Jung WY, Ryu JH. Subchronic administration of rosmarinic acid, a natural prolyl oligopeptidase inhibitor, enhances cognitive performances. *Fitoterapia* 2010 Mar; 81(6): 644-8.

