

## مقاله پژوهشی

## بررسی نقش گیرنده‌های نیکوتینیک استیل کولین در قشر بینایی اولیه بر حساسیت ادراکی در میمون ماکاک

سمیه خالصی، علی اسداللهی\*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

پذیرش: ۲۵ مرداد ۱۴۰۱

دریافت: ۷ تیر ۱۴۰۱

## چکیده

**زمینه و هدف:** انتقال قشری استیل کولین در عملکردهایی عالی شناختی مغز از جمله توجه نقش دارد و نقص در انتقال کولینرژیک قشری با نقایص شناختی از جمله آلزایمر همراه است. شواهد نوروفیزیولوژیکی، فارماکولوژیکی و آناتومیکی پیشنهاد می‌کنند که یکی از گزینه‌های محتمل برای کنترل پویای ورودی‌های بینایی به قشر، سیناپس تالاموس به قشر در ناحیه بینایی اولیه و با وساطت گیرنده‌های استیل کولین می‌باشد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر آگونیست گیرنده‌های نیکوتینیک استیل کولین بر حساسیت ادراکی به محرک‌های بینایی در قشر بینایی اولیه میمون ماکاک بود.

**روش‌ها:** آزمایشات بر روی یک قلاده میمون نر رزوس (*Macaca mulatta*) با وزن تقریبی ۸-۱۰ کیلوگرم صورت گرفت. ابتدا حیوان پس از گذراندن مراحل جراحی جهت کاشت ایمپلنت‌های تثبیت‌کننده سر و اتاقت تیتانیومی بر روی جمجمه، به مدت سه ماه در تکالیف رفتاری تثبیت چشم و تشخیص محرک‌های بینایی آموزش‌های لازم را دید. پس از پیدا کردن محل دقیق تزریق با توجه به آزمایشات الکتروفیزیولوژیکی، تزریق نیکوتین در قشر بینایی اولیه توسط سیستم تزریق میکرواینجکترود صورت گرفت.

**یافته‌ها:** یافته‌های این بررسی نشان می‌دهد که تزریق نیکوتین بر روی آستانه ادراک محرک‌های بینایی به صورت معنی‌داری  $p < 0.05$  تاثیر گذاشته و آن را افزایش داده است.

**نتیجه‌گیری:** گیرنده‌های نیکوتینیک استیل کولین در قشر بینایی اولیه در کنترل حساسیت ادراکی محرک‌های بینایی نقش دارند و درک نقش عملکردی این گیرنده‌ها در قشر بینایی اولیه که محل ورودی‌های حسی از تالاموس می‌باشد برای درک ادراک حسی در افراد نرمال و البته اختلالات ادراکی از جمله نقص توجه ضروری است.

**واژه‌های کلیدی:** استیل کولین، آستانه ادراک، قشر بینایی، گیرنده‌های نیکوتین، میمون ماکاک

## مقدمه

شده است، تحت تاثیر حالات هوشیاری و توجه<sup>۳</sup> به صورت پویا تغییر می‌کند [۱]. استیل کولین تنظیم‌کننده عصبی<sup>۴</sup> است که می‌تواند با تغییر تحریک‌پذیری و کارایی سیناپسی، مدارات پویای قشری و پردازش‌های حسی را تنظیم کرده و در ادراک حسی و چندین عملکرد شناختی عالی مانند توجه و حالات مغزی نقش کلیدی داشته باشد [۲].

تحت دید طبیعی لازم است به طور پویا جریان اطلاعات

سیستم عصبی همواره با انبوهی از ورودی‌های حسی مواجه است، از این رو به صورت پویا ورود و پردازش اطلاعات حسی به مغز کنترل می‌گردد، اطلاعات مهم از میان انبوهی از ورودی‌های حسی انتخاب شده و اطلاعات کم اهمیت نادیده گرفته می‌شود، قوه‌ای شناختی که توجه نامیده می‌شود. توانایی تشخیص<sup>۱</sup> و تمایز<sup>۲</sup> محرک‌های حسی به‌ویژه هنگامی که محرک حسی ضعیف است و یا در صحنه‌ای مبهم جاسازی

<sup>3</sup> Attention<sup>4</sup> Neuromodulator<sup>1</sup> Detection<sup>2</sup> Discrimination

نورون‌ها به استیمولوس‌های حسی در قشر بینایی اولیه را بهبود می‌بخشد، اما همچنان تاثیر تزریق استیل کولین به قشر بینایی بر ادراک محرک‌های بینایی ناشناخته است. شناخت این مکانیسم‌ها در سطح مدارهای نورونی و سلولی لازمه کشف راهکارهایی جهت طراحی و مداخله دارویی در درمان بیماری‌های شناختی مانند نقص توجه می‌باشد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تزریق آگونیست گیرنده‌های نیکوتینیک استیل کولین بر حساسیت ادراکی به محرک‌های بینایی در قشر بینایی اولیه می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات مورد استفاده

در این مطالعه یک میمون نر رزوس (*Macaca mulatta*) با وزن تقریبی ۱۰-۸ کیلوگرم مورد استفاده قرار گرفت. میمون پس از گذراندن دوران قرنطینه و عادت کردن به شرایط محیط جدید حیوانخانه، نحوه نشستن در صندلی مخصوص را آموزش دید. برای آزمایشات رفتاری، الکتروفیزیولوژیکی و تزریق دارو، یک پایه سرگیر تیتانیومی و همچنین یک محفظه تیتانیومی (قطر ۱۹ میلی‌متر) در سمت چپ لوب پس سری<sup>۱۳</sup>، بالای شیار کالکارین<sup>۱۴</sup> و در ناحیه قشر بینایی اولیه، تحت بیهوشی ایزوفلوران و در شرایط جراحی استریل بر روی جمجمه کاشته شدند. روش جراحی با جزییات بیشتر در مقاله دیده‌ور و اسداللهی [۹] توصیف شده است. محل دقیق ایمپلنت‌ها با تصاویر ام آر آی<sup>۱۵</sup> براساس پرینت سه‌بعدی جمجمه حیوان تعیین شد. تمام مراحل مطابق دستورالعمل‌های مؤسسه بهداشت اروپا برای مراقبت و استفاده از پریمات‌های غیرانسانی و همچنین مطابق با دستورالعمل‌های دانشگاه فردوسی مشهد در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی و با شناسه اخلاق IR.UM.REC.1399.146 انجام شدند.

### آزمایشات رفتاری و نمایش محرک‌ها

همه محرک‌ها در یک پس زمینه خاکستری روی یک مانیتور (۲۷ اینچی ال ای دی، ۲۰۰ هرتز، ۹۰۰ × ۱۶۰۰ پیکسل و به فاصله ۵۰ سانتی‌متر مقابل چشم حیوان) نمایش داده شدند. موقعیت چشم در هر لحظه توسط یک سیستم

فید فوروارد تالاموسی - قشری<sup>۵</sup> و فیدبک قشری - قشری<sup>۶</sup> تنظیم شوند و چنین تغییر پویایی با کنترل درجه تاثیر سیناپس‌های فید فوروارد و فیدبک صورت می‌پذیرد. مطالعات نشان می‌دهند که استیل کولین در این تغییر پویا نقش دارد. منبع اصلی استیل کولین قشر بینایی از کمپلکس بازال فوربرین<sup>۷</sup> (BF) به‌ویژه از نوکلئوس بازالیس<sup>۸</sup> (NB) می‌باشد. بر این اساس، لیهمان<sup>۹</sup> و همکاران (۲۰۰۳) پس از ایجاد ضایعات بازال فوربرین توسط ساپورین در رت، برخی از اختلالات در حافظه و یادگیری را گزارش کرده‌اند [۳]. دیزنی<sup>۱۰</sup> و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که رسپتورهای نیکوتینیک حاوی زیر نوع  $\beta 2$  در ورودی‌های تالاموسی که به نورون‌های هرمی قشر بینایی اولیه خاتمه می‌یابند یافت می‌شوند و فعال‌سازی این رسپتورها پاسخ‌های نورونی به محرک‌های بینایی را افزایش داده و آستانه تحریک نورون‌ها را کاهش می‌دهد. آن‌ها همچنین تاثیر مهارتی نیکوتین بر پاسخ‌های بینایی را در خارج از لایه قشری که ورودی‌های تالاموسی را دریافت می‌کند، مشاهده کردند و نشان دادند این کاهش پاسخ توسط آنتاگونیست‌های کولینرژیک مهار می‌شود [۴]. در پریمات‌ها تزریق موضعی استیل کولین در تعدیل فعالیت نورونی مرتبط با فرایند توجه در قشر بینایی اولیه نقش دارد و آنتاگونیست موسکارینیک استیل-کولین تاثیرات مرتبط با فرایند توجه را کاهش می‌دهد [۵]. سوما<sup>۱۱</sup> و همکاران (۲۰۱۱) در طی فعال‌سازی موسکارینیک رسپتورهای استیل کولین در قشر بینایی اولیه میمون ماکاک افزایش پاسخ به محرک‌های بینایی را در همه لایه‌های قشری مشاهده کردند [۶]. باتاچاریا<sup>۱۲</sup> و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند فعال‌سازی بازال فوربرین حساسیت به پاسخ‌های بینایی را در قشر بینایی اولیه جوندگان کنترل می‌کند [۷].

باوجود این که استیل کولین در فرایند توجه نقش دارد [۸] و قادر به افزایش حساسیت نورون‌ها به استیمولوس‌های حسی شود و همچنین با بهبود سیگنال‌های تالاموسی-قشری پاسخ

<sup>5</sup> Feed-forward/thalamocortical

<sup>6</sup> Feed-back/cortico-cortical

<sup>7</sup> Basal forebrain (BF)

<sup>8</sup> Nucleus basalis (NB)

<sup>9</sup> Lehman

<sup>10</sup> Desney

<sup>11</sup> Soma

<sup>12</sup> Bhattacharyya

<sup>13</sup> Occipital

<sup>14</sup> Calcarine

<sup>15</sup> Magnetic resonance imaging (MRI)

هدف و در صورت نبود محرک هدف به سمت جعبه (۹۰ درجه) حرکت می‌داد و آن را برای حداقل (۱۰۰ میلی ثانیه) نگه می‌داشت. توالی و زمان دقیق این تکلیف در شکل ۱ نشان داده شده است.

### آزمایشات الکتروفیزیولوژی سیستم ثبت و اجزای وابسته

پتانسیل عمل نورون‌ها در قشر بینایی اولیه با استفاده از میکروالکترودهای تنگستن به صورت خارج سلولی ثبت گردید. الکتروود تنگستن (کمپانی اف اچ سی، آمریکا) (مقاومت ۱-۲/۰ مگا اهم و قطر ۲۰۰ میکرون) با استفاده از یک ماکرودرایو<sup>۲۱</sup> الکتریکی (شرکت زیست کنکاش توس، مشهد، ایران) در قشر مغز قرار گرفت. سیگنال عصبی ۱۰۰۰-۵۰۰ برابر تقویت شد، باند ۲۰۰ هرتز تا ۵ کیلو هرتز فیلتر شد و توسط سیستم ثبت (شرکت زیست کنکاش توس، مشهد، ایران) روی یک سیستم کامپیوتری ثبت گردید. پس از جداسازی تک نورون‌ها، محل میدان گیرنده<sup>۲۲</sup> و جهت ترجیحی آن‌ها با استفاده از محرک‌های بینایی مورد آزمایش قرار گرفت. مکان و جهت ترجیحی نورون ثبت شده برای بهینه‌سازی مکان و جهت‌گیری محرک‌های هدف در تکلیف رفتاری تشخیص مورد استفاده قرار گرفت.

### آزمایشات تعیین میدان گیرنده و جهت ترجیحی نورون‌ها

در این آزمایشات پس از پیدا کردن و جدا کردن یک نورون با پاسخ بینایی، درحالی که میمون به یک نقطه دایره‌ای حدوداً (۰/۳ درجه‌ای) که در مرکز صفحه نمایش خیره شده بود، یک محرک بینایی مربعی شکل کوچک در نیمه راست میدان بینایی<sup>۲۳</sup> (ثبت در نیمکره چپ مغز انجام می‌شد) و در مکان‌های مختلف صفحه نمایش داده می‌شدند. همزمان با نمایش محرک‌ها ثبت نورونی نیز گرفته می‌شد. سپس باتوجه به میزان برانگیختگی<sup>۲۴</sup> و پاسخ‌دهی نورون‌ها در هر مکان، ناحیه میدان گیرنده برای نورون‌ها مشخص می‌گردید سپس یک محرک بینایی گبور (متشکل از خطوط موازی و در کنار هم) با جهات

دوربین رهگیر چشمی مبتنی بر مادون قرمز (EyeLink1000plus, Canada) با نرخ نمونه‌برداری ۱۰۰۰ هرتز ثبت شد. نرم‌افزار مانکی لاجیک (MonkeyLogic, NIMH, Maryland, USA) که به واسطه نرم‌افزار متلب اجرا می‌شد، داده‌های چشمی را دریافت کرده و با آنالیز محل خیره‌شدن حیوان، نمایش محرک بینایی را کنترل می‌کرد و در صورت درست بودن پاسخ، با فعال کردن یک پمپ سرنگی به حیوان پاداش می‌داد.

### تکلیف رفتاری تثبیت چشم

در این آزمایش یک نقطه تثبیت دایره‌ای<sup>۱۶</sup> (۰/۳ درجه‌ای) با پنجره تثبیت<sup>۱۷</sup> چشم (۲ درجه) در مرکز صفحه مانیتور نمایش داده شد و حیوانات باید پس از آموزش چشم خود را به مدت زمان مشخصی (۲ ثانیه) در داخل پنجره ثابت نگه می‌داشتند و در صورت موفقیت در انجام آزمایش یک قطره آمیوه توسط سیستم پاداش دریافت می‌کردند. به این ترتیب به تدریج حیوانات با نحوه انجام آزمایش آشنا می‌شدند.

### تکلیف رفتاری تشخیص

در تکلیف تشخیص، آزمایش با ارائه یک نقطه تثبیت دایره‌ای (۰/۳ درجه) در مرکز صفحه به همراه سه جعبه خالی مربع شکل (۳ درجه) در (۳۰- درجه، ۹۰ درجه و ۲۱۰ درجه با شعاع ۴ درجه) و ۴ محرک غیر هدف<sup>۱۸</sup> (گبور با کنتراست ۵۰ درصد) آغاز گردید. پس از این که حیوانات چشم خود را به مدت (۳۰۰ میلی ثانیه) در یک پنجره تثبیت (۲ درجه) ثابت می‌کردند، یک محرک هدف، که یک گبور<sup>۱۹</sup> با ۵ کنتراست<sup>۲۰</sup> متغیر (بین صفر تا ۴ درصد) بود، در داخل یکی از دو مربع که در دو نیمه بینایی بطور قرینه قرار داشتند به مدت (۲۰۰ میلی ثانیه) ظاهر می‌شد. سپس محرک هدف و محرک‌های غیر هدف خاموش می‌شدند، و میمون باید چشم خود را در پنجره تثبیت به مدت (۲۰۰ میلی ثانیه) حفظ می‌کرد تا زمانی که نقطه تثبیت خاموش می‌شد. با خاموش شدن نقطه تثبیت حیوان باید چشم خود را به سمت محل حضور محرک

<sup>16</sup> Fixation point

<sup>17</sup> Fixation window

<sup>18</sup> Distractor

<sup>19</sup> Gabor

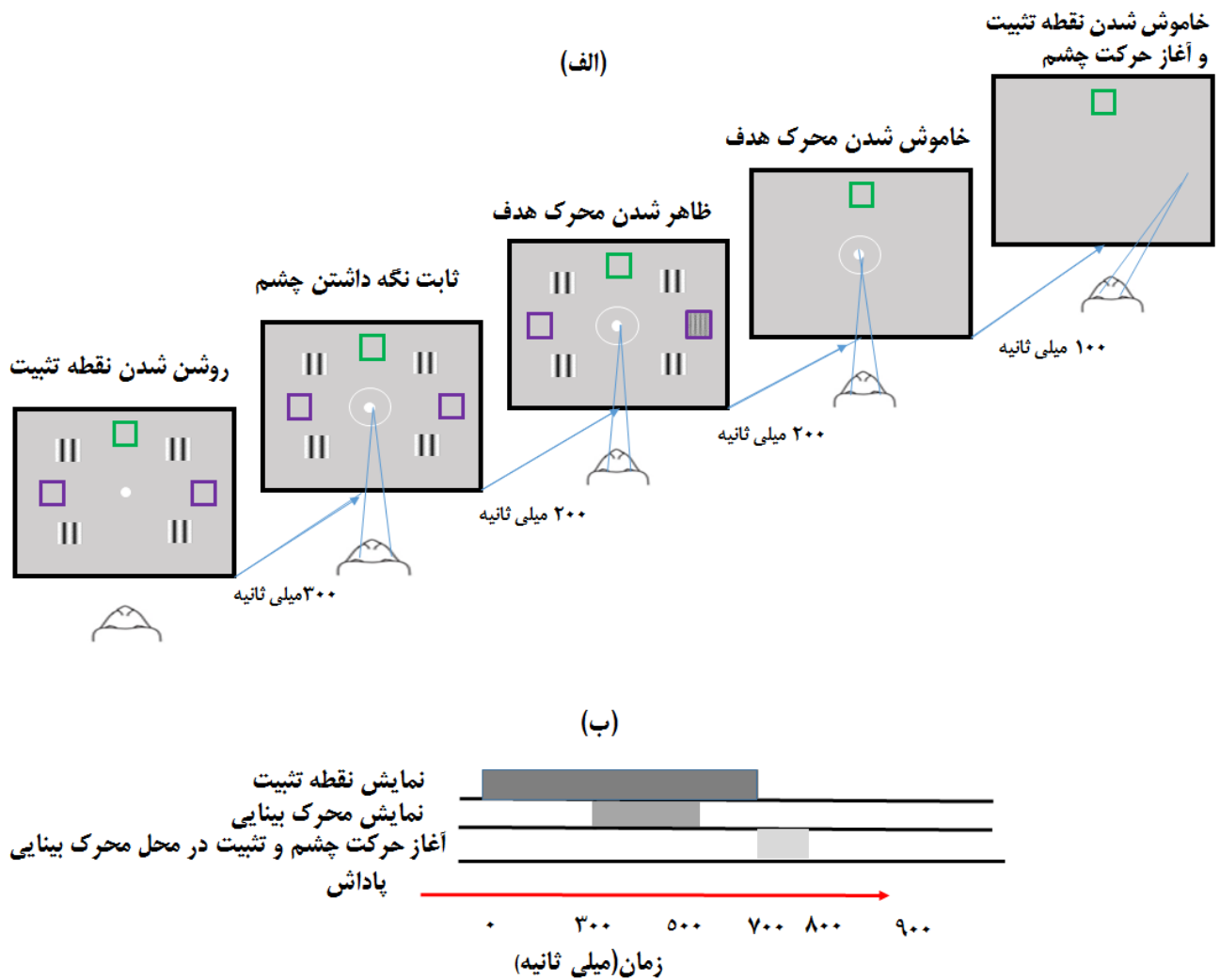
<sup>20</sup> Contrast

<sup>21</sup> Macrodrive

<sup>22</sup> Receptive field

<sup>23</sup> Visual field

<sup>24</sup> Firing rate



**شکل ۱-** توالی و زمان بندی شماتیک از تکلیف رفتاری تشخیص محرک بینایی. (الف) توالی شماتیک از تکلیف رفتاری تشخیص برای محرک بینایی که در سمت راست نمایش داده شده بود. (ب) زمان بندی تکلیف رفتاری تشخیص محرک بینایی. پس از این که حیوانات چشم خود را به مدت ۳۰۰ میلی ثانیه ثابت می کردند، محرک هدف، به مدت ۲۰۰ میلی ثانیه ظاهر می شد. سپس محرک هدف خاموش می شد، و حیوانات باید چشم خود را در پنجره تثبیت به مدت ۲۰۰ میلی ثانیه حفظ می کردند تا زمانی که نقطه تثبیت خاموش می شد. با خاموش شدن نقطه تثبیت حیوانات باید چشم خود را به سمت محل حضور محرک هدف حرکت می دادند و آن را برای حداقل ۱۰۰ میلی ثانیه نگه می داشتند و در صورت انجام درست مراحل آزمایش مطابق با زمان بندی پاداش دریافت می کردند.

مختلف در داخل میدان بینایی نورون نمایش داده می شدند و با توجه به نرخ برانگیختگی نورون ها جهت ترجیحی نورون ها مشخص می گردید. توالی و زمان بندی شماتیک از آزمایش تعیین میدان گیرنده نورون در شکل ۲الف و ترسیم هیستوگرام و نقشه رنگی حاصل از آزمایشات الکتروفیزیولوژیک برای تعیین میدان گیرنده در شکل ۲ب و ۲ج و جهت ترجیحی نورون ها در شکل ۲د آمده است. در آزمایش تزریق دارو (که در پایین توضیح داده شده است) یک محرک هدف با جهت ترجیحی نورون و در داخل میدان بینایی نورون مورد مطالعه

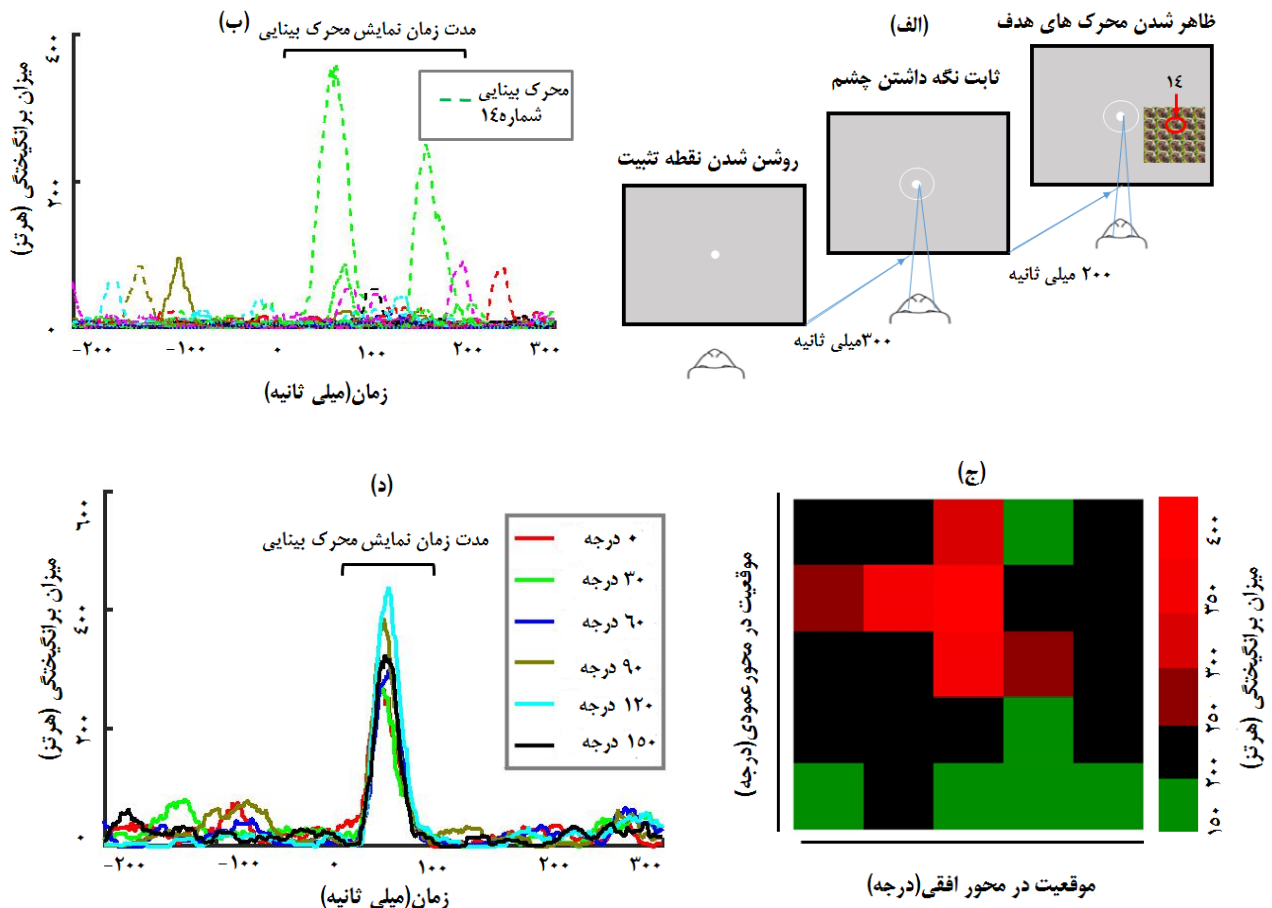
نمایش داده می شد و محرک دیگر بطور قرینه و در نیمه چپ میدان بینایی نمایش داده می شد.

### تزریق دارو

#### سیستم میکرواینجکتور

تزریق موضعی دارو توسط سیستم میکرواینجکتور<sup>۲۵</sup> (آزمایشگاه سیستم های بینایی حرکتی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران) صورت گرفت [۱۰]. مدار میکرواینجکتور شامل یک

<sup>25</sup> Microinjector



**شکل ۲-** توالی و زمان بندی شماتیک از آزمایش تعیین میدان گیرنده نورون و تعیین میدان گیرنده توسط آزمایشات الکتروفیزیولوژیک. الف) در این آزمایش درحالی که حیوان بر روی یک نقطه تثبیت که در مرکز صفحه نمایش داده می‌شد چشم خود را ثابت کرده بود، یک محرک بینایی در یکی از ۲۵ مکان مشخص شده در نیمه راست و سمت پایینی میدان بینایی نمایش داده می‌شدند. ب) پاسخ نورون به محرک بینایی در مکان‌های مختلف نشان داده شده است. بیشترین میزان پاسخ نورونی هنگامی که محرک بینایی در مکان شماره ۱۴ (در داخل میدان گیرنده) قرار گرفت، مشاهده شد. ج) نقشه رنگی از میدان گیرنده نورون. در این نقشه با توجه به میزان برانگیختگی و پاسخ دهی نورون‌ها در هر مکان، ناحیه حدودی میدان گیرنده برای نورون‌ها براساس نقشه رنگی مشخص گردید. در این نقشه ناحیه میدان گیرنده در مکانی مشخص گردید که دارای رنگ قرمز روشن بود. د) پاسخ نورون به محرک‌های بینایی با جهت مختلف برای تعیین جهت ترجیحی نورون. بیشترین میزان برانگیختگی و پاسخ نورونی هنگامی که جهت‌گیری اجزای میله‌ای شکل محرک شبکه‌مانند دارای زاویه ۱۲۰ درجه بود مشاهده شد.

ماکرودرایو الکتریکی (شرکت زیست کنکاش توس، ایران) نصب شده بود متصل بود.

### آماده‌سازی و استعمال دارو

آگونیست نیکوتینیک مورد استفاده در این پژوهش نیکوتین هیدروژن تارترات سالت<sup>۲۶</sup> (کمپانی سیگما آلدریج، آمریکا) بود که با (مولاریتته ۱۰ میلی مولار و پی‌اچ ۷) تهیه شده بود [۱۱].

تزریق‌ها با لوله شیشه‌ای پوشش داده شده با پلی آمید (کمپانی پلی میکرو، آمریکا) انجام می‌شد که از طریق یک شیر دریچه‌دار (کمپانی لب اسمیت، آمریکا) به یک میکروسرنج (کمپانی همیلتون، سوئیس) متصل بود. حرکت دارو در داخل تیوب با یک مارکر اندازه‌گیری می‌شد و باتوجه به قطر لوله (۱۵۰ میکرومتر) هر یک سانتی‌متر حرکت مارکر حدوداً برابر با (۱۷۰ نانولیتتر) حرکت دارو به خارج از کانول بود. سمت دیگر لاین تزریق توسط یک محل اتصال تی‌شکل (کمپانی لب اسمیت، آمریکا) به کانول استیل (سایز ۳۲) که روی یک

<sup>26</sup> Nicotine hydrogen tartrate salt

برای مقایسه گروه‌ها از آزمون تی تست در سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) استفاده شد.

### یافته‌ها

در این مطالعه اثر تزریق نیکوتین به‌داخل قشر بینایی اولیه بر حساسیت ادراکی میمون به محرک‌های بینایی دایره‌ای شکل و موج (گبور با کانترست متغیر) بررسی شد. ابتدا میدان گیرنده نورون‌های محل تزریق و سپس با اندازه‌گیری پاسخ نورون‌ها به محرک‌های بینایی با جهت‌های مختلف، جهت مطلوب برای نورون‌های محل تزریق مشخص شد. همانطور که در بالا توضیح داده شد، پس از خیره‌شدن حیوان به وسط مانیتور، یک محرک در داخل میدان گیرنده و یا به‌طور قرینه در نیمه مقابل میدان بینایی نمایش داده می‌شد و حیوان باید با حرکات چشمی وجود محرک‌های بینایی را گزارش می‌کرد تا پاداش دریافت کند. در صورتی که هیچ محرکی نمایش داده نمی‌شد حیوان باید به یک مربع توخالی کمرنگ در بالای مانیتور خیره می‌شد تا پاداش دریافت کند.

حیوان تقریباً حضور همه محرک‌ها با کنتراست بالا را گزارش می‌کرد، درحالی‌که درصد اندکی از محرک‌های با کنتراست پایین توسط حیوان گزارش می‌شد. در هر جلسه، انجام آزمایش ابتدا حساسیت ادراکی قبل از تزریق نیکوتین اندازه‌گیری می‌شد (داده‌ها و منحنی خط توپر نمودار الف و ب) و مجدد پس از تزریق نیکوتین آزمایش تکرار می‌شد. نمودار الف منحنی سایکومتریک برای تشخیص محرک‌های بینایی نمایش داده شده در نیمه راست میدان بینایی را قبل و بعد از تزریق نشان می‌دهد (تزریق به نیمکره چپ مغز انجام شده است). همانطور که واضح است، تزریق نیکوتین برخلاف انتظار منحنی سایکومتریک را به سمت راست و لذا آستانه ادراکی میمون را افزایش می‌دهد (قبل از تزریق:  $2/22$ ؛ بعد از تزریق:  $3/07$ )، بدون این‌که بر شیب منحنی سایکومتریک (شیب قبل از تزریق:  $3/13$ ؛ بعد از تزریق:  $3/65$ ) و حد پایینی (قبل از تزریق:  $17/47$ ؛ بعد از تزریق:  $13/31$ ) و حد بالایی (قبل از تزریق:  $100$ ؛ بعد از تزریق:  $97/91$ ) آن اثر معنی‌داری داشته باشد. یکی از دلایل افزایش آستانه ادراکی می‌تواند اختلال در عملکرد قشر به‌دلیل تزریق یک مایع خارجی به‌داخل مغز باشد. برای کنترل کردن این اثر در تعدادی از جلسات آزمایش سرم فیزیولوژیک به‌داخل قشر بینایی اولیه

پس از کانول گذاری و گذشت مدت زمان ۳۰ دقیقه، حیوانات آزمایش رفتاری تشخیص محرک بینایی را انجام می‌دادند و پس از موفقیت حیوانات در انجام ۲۵۰ تریال صحیح و دریافت پاداش (این تعداد در آنالیز آماری به‌عنوان داده‌های کنترل)، درحالی‌که حیوانات مشغول انجام آزمایشات رفتاری بودند، اولین تزریق به‌مدت زمان (۱۰ دقیقه) و حجم (۲ میکرولیتر) انجام می‌گرفت. پس از گذشت مدت زمان ۴۵ دقیقه از انجام تزریق اول، تزریق دوم مشابه تزریق اول صورت می‌گرفت و پس از گذشت مدت زمان ۴۵ دقیقه از تزریق دوم آزمایش رفتاری پایان می‌یافت. در بین روزهای انجام آزمایش تزریق دارو، تزریق حلال دارو (سدیم کلراید ۰/۹ درصد) نیز انجام می‌شد. داده‌ها قبل از تزریق دارو یا سالین با داده‌های بعد از تزریق دارو یا سالین آنالیز و مقایسه می‌شدند.

### تحلیل آماری

تحلیل‌های آماری توسط نرم‌افزار برنامه‌نویسی متلب<sup>۲۷</sup> (MatlabR2015a) صورت گرفت. در هر روز انجام موفقیت‌آمیز آزمایش تزریق ۵ محرک‌های بینایی با ۵ کنتراست متفاوت تست شدند. درصد پاسخ صحیح برای هر کنتراست براس سمت راست و چپ جداگانه محاسبه شدند. سپس به داده‌های قبل از تزریق و بعد از تزریق برای سمت راست و چپ بطور جداگانه یک منحنی سیگموئید<sup>۲۸</sup> ( $y=1+\exp(-1*B*(x-a))$ ) برازش شد. در این منحنی،  $a$  به‌عنوان آستانه<sup>۲۹</sup> ادراک،  $B$  مقدار ارزش محرکی که ۷۳ درصد پاسخ صحیح را به‌همراه دارد و  $B$  به‌عنوان شیب<sup>۳۰</sup> منحنی برازش شده در نظر گرفته شد و به‌عنوان دو معیار در انجام آنالیزهای آماری استفاده شدند. علاوه‌براین، از دو معیار نرخ حدس<sup>۳۱</sup>، مقدار پاسخ صحیحی که توسط ضعیف‌ترین محرک بینایی که توسط مکانیسم حسی تشخیص داده نمی‌شود، حاصل می‌گردد (کانترست ۰ درصد) و نرخ خطا<sup>۳۲</sup>، مقدار پاسخ ناصحیحی که توسط قوی‌ترین محرک بینایی حاصل می‌گردد (کانترست ۴ درصد) در انجام آنالیزهای آماری استفاده شد.

<sup>27</sup> Matlab

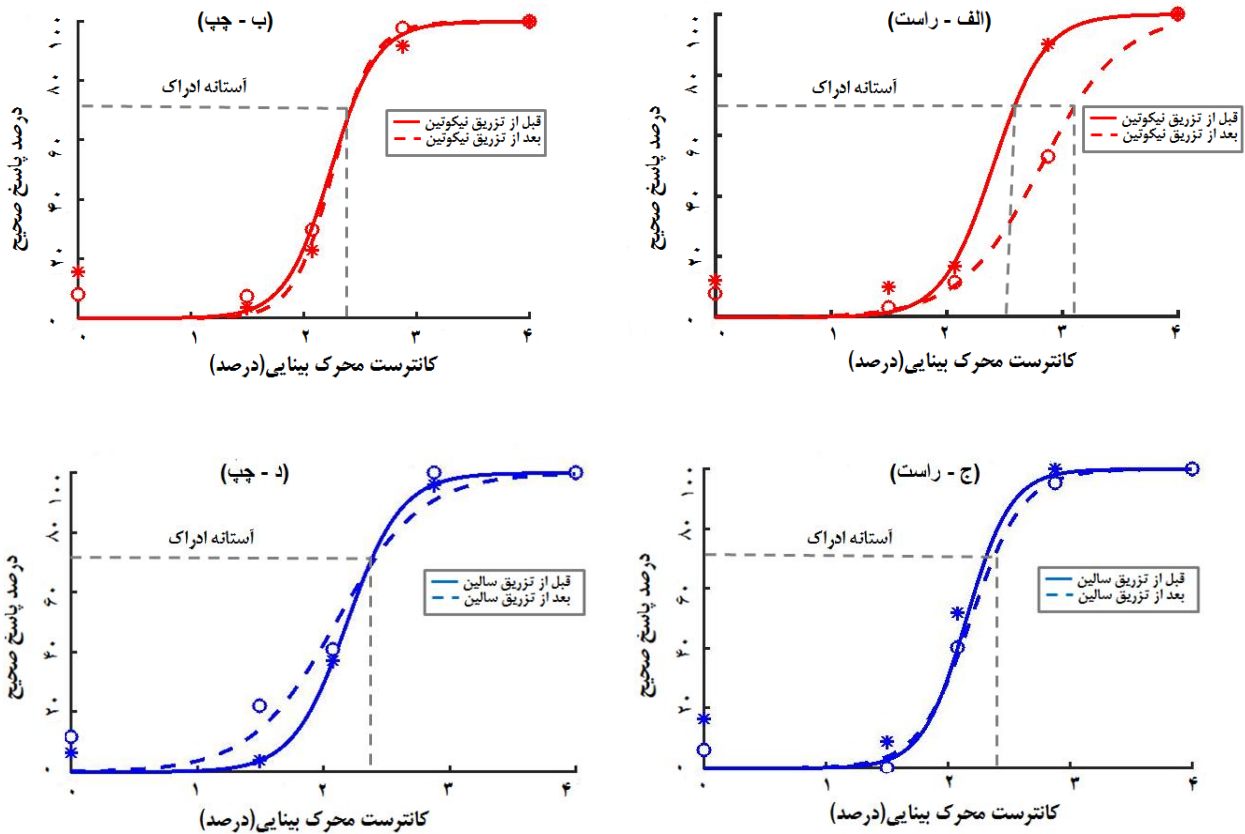
<sup>29</sup> Sigmoide

<sup>30</sup> Threshold

<sup>31</sup> Slope

<sup>32</sup> Guss rate

<sup>33</sup> Lapse rate



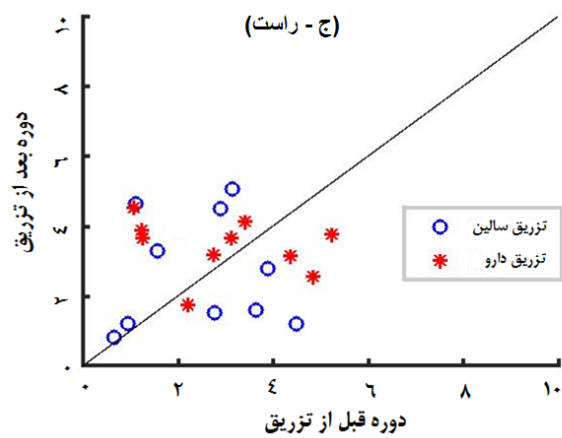
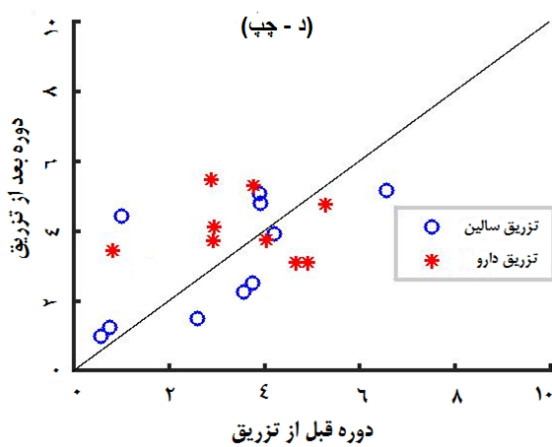
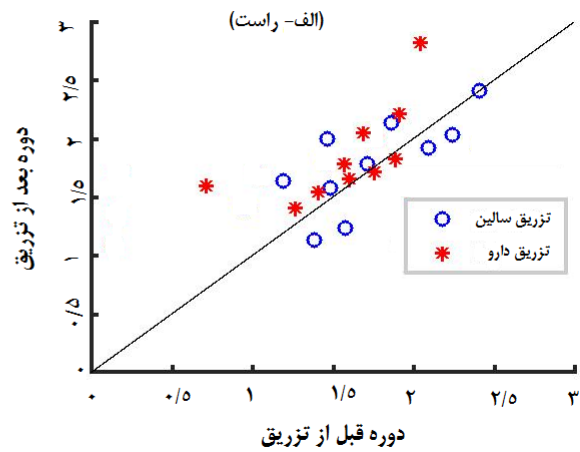
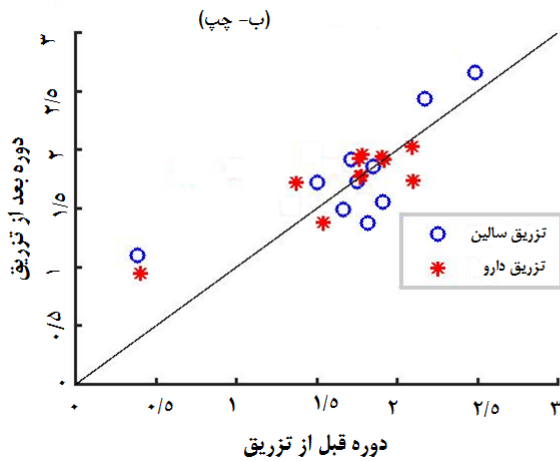
**نمودار ۱-** منحنی سایکومتریک و نمایش آستانه ادراک (خط چین خاکستری). الف) منحنی سایکومتریک برای محرک‌های بینایی (کانترست ۰ تا ۴) نمایش داده شده در سمت راست، در انجام آزمایش یک جلسه تزریق نیکوتین برای دوره قبل (خطوط قرمز ممتد) و بعد از تزریق (خطوط قرمز خط چین) و نمایش آستانه ادراک که پس از تزریق جابجایی نمودار به سمت راست را نشان می‌دهد. ب) منحنی سایکومتریک برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در سمت چپ و نمایش آستانه ادراک که پس از تزریق تغییری در جابجایی نمودار سایکومتریک مشاهده نمی‌شود. ج و د) منحنی سایکومتریک در انجام یک جلسه آزمایش تزریق سالین برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در سمت راست و چپ، که پس از تزریق تغییری در جابجایی نمودار مشاهده نمی‌شود.

بدون تاثیر بر دیگر پارامترهای ادراکی شده است.

اثر تزریق نیکوتین به قشر بینایی بر حساسیت ادراکی میمون در ۱۰ جلسه آزمایش و اثر تزریق سالین در ۱۰ جلسه آزمایش تکرار شد. سپس منحنی‌های سایکومتریک به داده‌ها برازش شد و آستانه ادراکی، شیب، حد بالایی و حد پایینی استخراج گردید. تزریق نیکوتین آستانه ادراک میمون برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در نیمه راست میدان بینایی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (قبل از تزریق:  $1/12 \pm 0/149$ ؛ بعد از تزریق:  $2/16 \pm 0/07$ ،  $n = 10$ ،  $p < 0/05$  نمودار ۲ الف، داده‌های قرمز رنگ) در حالی که اثر معنی‌داری بر آستانه ادراکی میمون از محرک‌های نمایش داده شده در سمت چپ نداشت (قبل از تزریق:  $1/52 \pm 0/112$ ؛ بعد از تزریق:  $1/61 \pm 0/03$ ،  $n = 10$ ،  $p > 0/05$ ، نمودار ۲ ب، داده‌های قرمز رنگ). تزریق سالین اثری بر آستانه ادراکی

تزریق شد و همانطور که در نمودار ۱ ج و ۱ د مشخص است، تزریق سرم فیزیولوژیک اثری بر عملکرد ادراکی میمون نداشته است. علاوه بر این، ترسیم منحنی سایکومتریک و آنالیزهای آماری برای مقادیر آستانه ادراک برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در نیمه چپ میدان بینایی نیز انجام گرفت و همانطور که در شکل نمودار ۱ ب مشخص است، تزریق نیکوتین (که به‌داخل نیمه سمت چپ انجام شده است) تاثیری بر روی آستانه ادراکی میمون (قبل از تزریق:  $2/29$ ؛ بعد از تزریق:  $2/33$ )، یا شیب منحنی (قبل از تزریق:  $2/9$ ؛ بعد از تزریق:  $3/5$ )، یا حد پایینی (قبل از تزریق:  $18/38$ ؛ بعد از تزریق:  $12/94$ ) و یا حد بالایی منحنی (قبل از تزریق:  $100$ ؛ بعد از تزریق:  $100$ ) در محرک نمایش داده شده در سمت چپ نداشته است. این مشاهدات حاکی از این است که در این جلسه آزمایش تزریق نیکوتین به مغز باعث افزایش آستانه ادراکی





**نمودار ۲-** اثر تزریق نیکوتین بر آستانه ادراک محرک‌های بینایی و شیب منحنی سایکومتریک در آزمایش تزریق نیکوتین (۱۰ روز) و سالین (۱۰ روز). (الف) برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در سمت راست اختلاف معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بین دوره قبل و پس از تزریق برای آستانه ادراک مشاهده می‌شود. (ب) برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در سمت چپ اختلاف معنی‌داری ( $p > 0.05$ ) مشاهده نمی‌شود. (ج و د) برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در سمت راست و چپ اختلاف معنی‌داری ( $p > 0.05$ ) را بین دوره قبل و پس از تزریق برای شیب منحنی مشاهده نمی‌دهد.

نیکوتین اثر معنی‌داری بر شیب منحنی برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در نیمه راست میدان بینایی (قبل از تزریق:  $2/95 \pm 0/48$ ؛ بعد از تزریق:  $3/43 \pm 0/25$ ؛  $n = 10$ ،  $p > 0.05$ ) نمودار ۲ ج، داده‌های قرمز رنگ) یا برای محرک‌های نمایش داده شده در سمت چپ میدان بینایی (قبل از تزریق:  $3/19 \pm 0/32$ ؛ بعد از تزریق:  $3/73 \pm 0/40$ ؛  $n = 10$ ،  $p > 0.05$ ) نمودار ۲ د، داده‌های قرمز رنگ). تزریق سالین نیز اثر معنی‌داری بر شیب منحنی برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در نیمه راست میدان بینایی (قبل از تزریق:  $2/72 \pm 0/37$ ؛ بعد از تزریق:  $3/19 \pm 0/53$ ؛  $n = 10$ ،  $p > 0.05$ ) نمودار ۲ ج، داده‌های آبی رنگ) یا برای محرک‌های نمایش داده شده در سمت چپ میدان

میمون از محرک نمایش داده شده در سمت راست (قبل از تزریق:  $1/01 \pm 0/56$ ؛ بعد از تزریق:  $1/28 \pm 0/50$ ؛  $n = 10$ ،  $p > 0.05$ ) نمودار ۲ الف، داده‌های آبی رنگ) یا چپ (قبل از تزریق:  $1/06 \pm 0/59$ ؛ بعد از تزریق:  $1/41 \pm 0/44$ ؛  $n = 10$ ،  $p > 0.05$ ) نمودار ۲ ب، داده‌های آبی رنگ) نداشت. این آنالیز نشان می‌دهد فعال کردن گیرنده‌های نیکوتینی در قشر اولیه حساسیت ادراکی میمون را کاهش داده است در حالی که تزریق سالین اثری بر آستانه ادراکی نداشته است.

اثر تزریق نیکوتین و سالین بر شیب منحنی سایکومتریک را نیز تحلیل کردیم. شیب منحنی سایکومتریک شاخص قدرت تشخیص تغییر در شدت محرک توسط آزمودنی می‌باشد و شیب بیشتر بیانگر قدرت تمیز تغییرات کوچکتر می‌باشد. تزریق



جدول ۱- داده‌های آماری برای معیار حد پایینی و حد بالایی

n	p	میانگین و انحراف معیار		معیار	
		بعد تزریق	قبل تزریق		
۱۰	>۰/۰۵	۱۳/۰۱ ± ۱/۶	۱۴/۵۱ ± ۴	راست	نیکوتین
۱۰	>۰/۰۵	۱۱/۸۴ ± ۱/۴	۱۵/۲۵ ± ۴/۰۵	چپ	
۱۰	>۰/۰۵	۲۵/۱۶ ± ۸/۷۷	۱۸/۷۳ ± ۸/۶۳	راست	سالمین
۱۰	>۰/۰۵	۲۰/۹۵ ± ۸/۷۲	۲۲/۶۲ ± ۸/۱۱	چپ	
۱۰	>۰/۰۵	۹۹/۰۵ ± ۰/۴۰	۹۹/۴۱ ± ۰/۵۸	راست	نیکوتین
۱۰	-	۱۰۰ ± ۰	۱۰۰ ± ۰	چپ	
۱۰	>۰/۰۵	۹۹/۵۱ ± ۰/۴۸	۹۸/۳۳ ± ۱/۱۷	راست	سالمین
۱۰	>۰/۰۵	۹۹/۵۵ ± ۰/۴۴	۱۰۰ ± ۰	چپ	

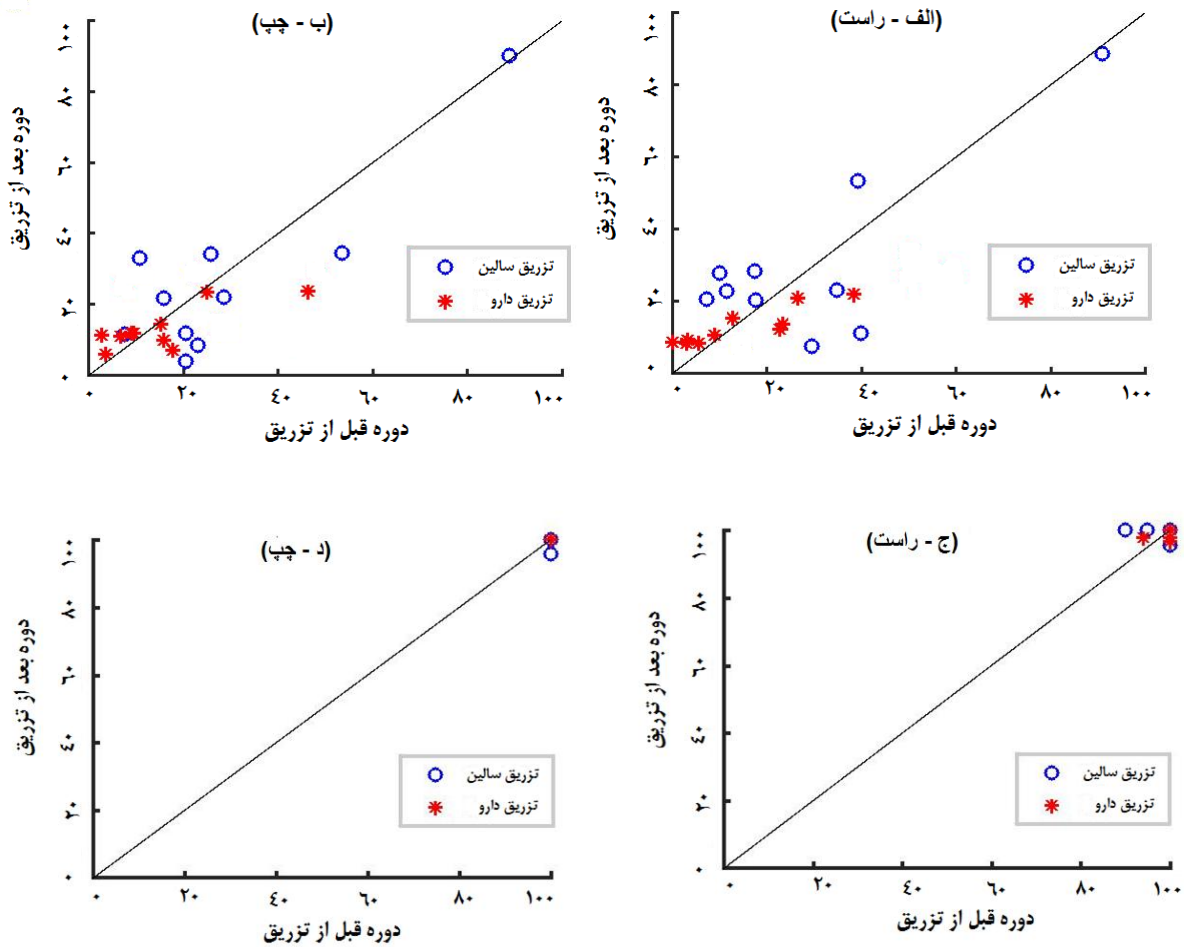
نیکوتینی باعث تضعیف فعالیت نورونی در اکثر نورون‌ها می‌شود. همچنین خاموش کردن سیستم کولینرژیک در قاعده مغز پیشین باعث تضعیف پاسخ نورون‌ها در قشر می‌شود. غیرفعال کردن نورون‌های کولینرژیک در مغز میانی نیز باعث کاهش پاسخ در برجستگی‌های فوقانی می‌شود. در این مطالعه، برای اولین بار به ارزیابی اثر تزریق آگونیست نیکوتینیک استیل کولین (نیکوتین) به قشر بینایی بر حساسیت ادراکی به محرک‌های بینایی در سطح رفتاری پرداختیم. ولی برخلاف انتظار تزریق نیکوتین باعث افزایش آستانه ادراکی شد. چند سناریو می‌تواند این مشاهده را توضیح دهد: نخست، به دلیل توزیع متفاوت رسپتورهای کولینرژیک در ۶ لایه قشری تحریک رسپتورهای نیکوتینیک و موسکارینیک امکان تفکیک اثرات متفاوت مرتبط با انتقال کولینرژیک را فراهم می‌آورد [۱۳-۱۷]. دیزنی و همکاران (۲۰۰۷) پس از رنگ‌آمیزی رسپتورهای استیل کولین و کاربرد یونتوفرتیک آن در قشر بینایی اولیه پرمات‌ها نشان دادند که نیکوتین با فعال کردن گیرنده‌های نیکوتینیک حاوی زیر نوع  $\alpha 4\beta 2$  بر روی سیناپس‌های فید فوروارد تالاموسی-قشری در لایه ۴ قشری رهایش گلوتامات را تشدید کرده و کارایی ورودی‌های تالاموسی-قشری را بالا می‌برد [۴]. علاوه بر این، در خارج از این لایه، نورون‌های واسطه گابا آرژیک حاوی سوماتوستاتین/کالبدین، گیرنده‌های نیکوتینیک حاوی زیر نوع  $\beta 2$  را بیان می‌کنند [۱۸]. این نورون‌ها دندریت سلول‌های هرمی را هدف قرار می‌دهند و منجر به کاهش

بینایی نداشت (قبل از تزریق:  $0.48 \pm 0.11$ ؛ بعد از تزریق:  $0.50 \pm 0.14$ ؛  $n = 10$ ،  $p > 0.05$ ، نمودار ۲ ج، داده‌های آبی‌رنگ). بنابراین می‌توانیم نتیجه بگیریم نیکوتین بر قدرت تمیز کنتراست محرک بینایی اثری نداشته است.

معیار حد پایینی (نرخ حدس)، که مقدار پاسخ صحیحی می‌باشد که با ضعیف‌ترین محرک بینایی که توسط آزمودنی تشخیص داده نمی‌شود، حاصل می‌گردد (گور با کانتراست ۰ درصد) و معیار حد بالایی (نرخ خطا)، که مقدار پاسخ ناصحیحی می‌باشد که با قوی‌ترین محرک بینایی حاصل می‌گردد (گور با کانتراست ۴ درصد) از منحنی‌های سایکومتریک استخراج و تحلیل شدند. تزریق نیکوتین و یا سالمین هیچکدام اثر معنی‌داری بر این دو معیار برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در نیمه راست و یا چپ میدان بینایی نداشتند. خلاصه داده‌ها و آنالیز آماری برای این دو معیار در جدول ۱ و نمودار ۳ آمده است.

## بحث

بر اساس شواهد نوروفیزیولوژیکی [۱۲]، فارماکولوژیکی [۴] و آناتومیکی [۴] یکی از گزینه‌های محتمل برای کنترل پویای ورودی‌های بینایی به قشر، سیناپس تالاموس به قشر در ناحیه بینایی اولیه و با وساطت گیرنده‌های استیل کولین می‌باشد. در مطالعات مذکور، فعال کردن گیرنده‌های نیکوتینی باعث تقویت پاسخ نورونی در اکثر نورون‌ها و مهار گیرنده‌های



**نمودار ۳-** اثر تزریق نیکوتین بر میزان نرخ حدس و نرخ خطا در آزمایش تزریق نیکوتین (۱۰ روز) و سالین (۱۰ روز). الف و ب) بررسی اثر تزریق نیکوتین بر میزان نرخ حدس برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در سمت راست و چپ که اختلاف معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) را بین دوره قبل و پس از تزریق نشان نمی‌دهد. ج و د) بررسی اثر تزریق نیکوتین بر میزان نرخ خطا برای محرک‌های بینایی نمایش داده شده در سمت راست و چپ که اختلاف معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) را بین دوره قبل و پس از تزریق نشان نمی‌دهد.

آگونیست‌های مختلف کولینرژیک، احتمالاً یک دوز بهینه باعث افزایش حساسیت در سطح رفتاری می‌شود که در این مطالعه احتمالاً دوز استفاده شده خارج از محدوده بهینه بوده است آورد [۴، ۱]. همچنین تزریق انجام شده به صورت تزریق حجمی و در بازه زمانی نسبتاً طولانی انجام شده است و احتمالاً باعث غیرفعال شدن گیرنده‌های نیکوتینی شده و اثر معکوس مشاهده شده است [۲۲]. باتوجه به این مشاهدات، برای درک نقش گیرنده‌های کولینرژیک در سیناپس تالاموسی-قشری استفاده از چندین دوز و چندین آگونیست و آنتاگونیست مختلف و همچنین در بازه‌های زمانی مختلف ضروری به نظر می‌رسد.

درجه تاثیر سیناپس‌های فیدبک قشری-قشری می‌شوند [۱۹]. برهمن اساس، نشان داده شده است که فعال‌سازی آپتوژنتیکی نورون‌های واسطه گابا آرژیک حاوی سوماتوستاتین/کالبدین<sup>۳۳</sup> در قشر بینایی اولیه حساسیت به محرک‌های بینایی را کاهش می‌دهد [۲۰]. سوما و همکاران (۲۰۱۱) در طی فعال‌سازی موسکارینیکی رسپتورهای استیل کولین در قشر بینایی اولیه پریمات‌ها افزایش پاسخ به محرک‌های بینایی را در همه لایه‌های قشری مشاهده کردند [۶]. باتوجه به وجود گیرنده‌های کولینرژیک بر روی چندین نوع نورون تحریکی و مهارتی در قشر و همچنین وجود چندین تیپ گیرنده کولینرژیک با افینیتیه مختلف برای

<sup>32</sup> Somatostatin/Calbindin

## نتیجه‌گیری

گیرنده‌های استیل‌کولین قشری در تنظیم حساسیت ادراکی محرک‌های بینایی نقش دارد ولی جهت درک دقیق‌تر اثر آن بررسی اثر آگونیست‌ها و انتاگونیست‌های مختلف کولینرژیک و با دوزهای مختلف پیشنهاد می‌شود.

## ملاحظات مالی

نویسندگان برای این مقاله از هیچ موسسه‌ای کمک مالی دریافت نکرده‌اند.

## تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

## نقش نویسندگان

س.خ: طراحی آزمایشات، جمع‌آوری و آنالیز داده‌ها و نگارش مقاله؛ ع.ا: طراحی آزمایشات، طراحی و آنالیز داده‌ها و نگارش مقاله.

## سپاسگزاری

نویسندگان سپاسگزار معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی به خاطر حمایتشان از این تحقیق می‌باشند.

## فهرست منابع

- [1] Goldberg ME, Wurtz RH, Activity of superior colliculus in behaving monkey. II. Effect of attention on neuronal responses. *J Neurophysiol* 35(1972) 560–574.
- [2] Picciotto MR, Higley MJ, Mineur YS, Acetylcholine as a neuromodulator: Cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron* 76 (2012) 116–129.
- [3] Lehmann O, Grottick A J, Cassel J C, Higgins GA, A double dissociation between serial reaction time and radial maze performance in rats subjected to 192 IgG-saporin lesions of the nucleus basalis and/or the septal region. *Eur J Neurosci* 18 (2003) 651–666.
- [4] Disney AA, Aoki C, Hawken MJ, Gain modulation by nicotine in macaque V1. *Neuron* 56 (2007) 701–713.
- [5] Herrero JL, Roberts MJ, Delicato LS, Gieselmann MA, Dayan P, Thiele A, Acetylcholine contributes through muscarinic receptors to attentional modulation in V1. *Nature* 454 (2008) 1110–1114.
- [6] Soma S, Shimegi S, Osaki H, Sato H, Cholinergic modulation of response gain in the primary visual cortex of the macaque. *J Neurophysiol* 107 (2011) 283–291.
- [7] Bhattacharyya A, Veit J, K Robert, B Igor, Rainer G, Basal forebrain activation controls contrast sensitivity in primary visual cortex. *BMC Neurosci* (2013) 14–55.
- [8] Harati H, Barbelivien A, Cosquer B, Majchrzak M, Cassel J C, Selective cholinergic lesions in the rat nucleus basalis magnocellularis with limited damage in the medial septum specifically alter attention performance in the five-choice serial reaction time task. *J Neurosci* 153 (2008) 72–83.
- [9] Didehvar F, Asadollahi A, Investigating the effect of reward on saccadic eye movement parameters in macaque monkeys. *Iran J Physiol Pharmacol* 6 (2022) 61–72 [in Persian].
- [10] Noudoost B, Moore T, A reliable microinjector system for use in behaving monkeys. *J Neurosci Methods* 194 (2011) 218–223.
- [11] Matta SG, Balfour DJ, Guidelines on nicotine dose selection for in vivo research. *Psychopharmacol* 190 (2007) 269–319.
- [12] Kang JI, Vaucher E, Cholinergic pairing with visual activation results in long term enhancement of visual evoked potentials. *PLoS One* 4 (2009) 59–95.
- [13] Sillito AM, Kemp JA, Cholinergic modulation of the functional organization of the cat visual cortex. *Brain Res* 289 (1983) 143–155.
- [14] Sato H, Hata Y, Masui H, Tsumoto TA, Functional role of cholinergic innervation to neurons in the cat visual cortex. *J Neurophysiol* 58 (1987) 765–780.
- [15] Murphy PC, Sillito AM, Cholinergic enhancement of direction selectivity in the visual cortex of the cat. *J Neurosci* 40 (1991) 13–20.
- [16] Zinke W, Roberts MJ, Guo K, McDonald JS, Robertson R, Thiele A, Cholinergic modulation of response properties and orientation tuning of neurons in primary visual cortex of anaesthetized Marmoset monkeys. *Eur Neurosci* 24 (2006) 314–328.
- [17] Roberts MJ, Thiele A, Spatial integration and its moderation by attention and acetylcholine. *Front Biosci* 13 (2008) 3742–3759.
- [18] Freund TF, Gulyas AI, GABAergic interneurons containing calbindin D28K or somatostatin are major targets of GABAergic basal forebrain afferents in the rat neocortex. *Comp Neurol* 314 (1991) 187–199.
- [19] Atallah BV, Bruns W, Carandini M, Scanziani M, Parvalbumin-expressing interneurons linearly transform cortical responses to visual stimuli. *Neuron* 73 (2012) 159–170.
- [20] Wilson NR, Runyan CA, Wang FL, Sur M, Division and subtraction by distinct cortical inhibitory networks in vivo. *Nature* 488 (2012) 343–348.
- [21] Herrero JL, Roberts MJ, Delicato LS, Gieselmann MA, Dayan P, Thiele A, Acetylcholine contributes through muscarinic receptors to attentional modulation in V1. *Nature* 454 (2008) 1110–1114.
- [22] Sarter M, Parikh V, Howe WM, Phasic acetylcholine release and the volume transmission hypothesis: time to move on. *Nature Rev Neurosci* 10 (2009) 383–390.

## Research paper

## Roles of Nicotinic Acetylcholine receptors in primary visual cortex on perceptual sensitivity in macaque monkeys

Somayeh Khalessi, Ali Asadollahi\*

*Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran*

Received: 28 June 2022

Accepted: 16 August 2022

## Abstract

**Background and Aim:** Cortical cholinergic transmission is crucial for higher cognitive functions like attention, and cognitive impairments like Alzheimer' disease coincides by abnormal cholinergic system. Physiological and pharmacological observations suggest that acetylcholine at the thalami-cortical synapse mediates dynamic control of visual input to the cortex. In this study we investigated roles of nicotinic acetylcholine agonists on perceptual sensitivity in primary visual cortex in macaque monkeys.

**Methods:** Experiments performed on a male rhesus macaque (weighing 8-10 kg). After implanting a titanium head-holder, the animal trained in a detection task. First, we determined receptive location of the injection site by electrophysiological recordings. Then we injected nicotine using a microinjector system.

**Results:** Nicotinic acetylcholine agonist, Nicotine, significantly increased detection threshold of visual stimuli.

**Conclusion:** Primary cortical nicotinic acetylcholine receptors are involved in modulating perceptual sensitivity in a detection task. Understanding roles of thalamocortical acetylcholine receptors is fundamental to understanding sensory perception in normal and cognition-impaired people.

**Keywords:** Acetylcholine, Perceptual threshold, Visual cortex, Nicotinic receptors, Macaque monkey

Please cite this article as follows:

Khalessi S, Asadollahi A, Roles of Nicotinic Acetylcholine receptors in primary visual cortex on perceptual sensitivity in macaque monkeys. *Iran J Physiol Pharmacol* 6 (2022) 140-151.

\*Corresponding author: asadollahia@um.ac.ir (ORCID: 0000-0002-7915-6846)