فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۵۲، جلد ۱۴ شماره ۱، زمستان ۹۹، صفحه ۵۵ تا ۷۲
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵

طراحی و ساخت دستگاه تجمیع ارزیابی انواع حافظه و یادگیری به همراه جهت یابی اگوسنتریک و آلوسنتریک برای موش

DOR: 20.1001.1.17359880.1399.14.1.5.8

ملیکا نادری[۱]، محمدرضا بیگدلی[۲]
۱- دبیرستان فرزانگان یک تهران (دوره دوم)، تهران.ایران.**mlk_ndr@yahoo.com**
۲-دانشیار گروه فیزیولوژی پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی،تهران.ایران.

تاریخ دریافت: ۹۹/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: سال های متمادی است که کارهای پژوهشی رفتاری که برگرفته از شبکه های عصبی می باشد همواره جایگاه ویژه‌ای داشته است. چرا که ارزیابی شناختی و رفتاری مبنای کلیه مطالعه الکتروفیزیولوژی و مولکولی است و باید به نحوی به مطالعات رفتاری باید ارتباط داده شود. هدف از این طراحی و ساخت، تجمیع و ارزیابی همزمان رفتارهای مدل حیوانی در یک دستگاه است. بر مطالعه بر روی مدل های حیوانی کمک شایانی به کسب اطلاعات درباره ساختار و عملکرد اعصاب کرده است.

روش کار: مدل طراحی شده در این پژوهش، یک ماز چند مسیره در محیط آبی می باشد و در هر مسیر، عوامل مختلفی تحت بررسی قرار می گیرد. به گونه ای که سه سکو تعبیه شده است. با وارد شدن موش به دو مسیر که یکی پوشیده از آیینه و دیگری دارای توپ است؛ سکوهای متحرک فعّال می گردند و سکوی آخر پس از طی چند مسیر، با به صدا در آمدن صدای بیپ در دسترس قرار می گیرد. به هنگام بالا آمدن سکوها، چراغ کم نوری، روشن می شود. بعد از قرارگرفتن موش به مدت چند ثانیه، سکو از حالت افقی خارج می‌شود. هنگام ورود موش به مسیر فرعی ماز، با فلش نوری مواجه می شود تا از ورود به آن جا منع شود. جهت یابی خودمدار، حافظه غریزی و یادگیری نقش پذیری در طول تست با ارزیابی عملکرد موش ها ارزیابی می شوند.

یافته ها: عادت کردن به فلش چراغ قرمز، حساس شدن به صدای قبل از بالا آمدن سکوی سه، شرطی سازی عامل و کلاسیک با کمک محرک ها، حافظه اجرایی و یادگیری جانشینی با اختصاصی کردن تست، یادگیری نهفته و حافظه لحظه ای با بررسی عملکردی، حافظه غیر ارتباطی و شروع کننده با توپ و حافظه ارتباطی با شناختن نحوه کار لیزرها و میزان اجتماعی بودن موش با اندازه گیری مدت زمان حضور در مسیر آیینه ای؛ در این دستگاه بررسی می شوند.

نتیجه گیری: در این دستگاه امکان سنجش فاکتورهای ذکر شده به صورت هم زمان، وجود دارد.

واژه های کلیدی: حافظه و یادگیری، ماز آبی، جهت یابی، سکوی متحرک.

مقدمه

کاربرد مدل های رفتاری در تشخیص بیماری ها یا اختلالات است و در تست های مختلفی بر روی حیوانات متعدد انجام می شود. در این نوع تست ها، از جعبه هایی استفاده می گردد که می توان با به کارگیری آن ها به موش محرک هایی را شناساند و یا نحوه ی کار با دکمه‌ها یا اهرم ها یا تماس با سنسور را آموزش داد؛ شرطی سازی انجام داد و حافظه ی بلند مدت و کوتاه مدت و بینایی و شنوایی و موارد مشابه را سنجید. این که موش با قرار گرفتن در این جعبه و تکرار چندباره ی تست می تواند کار های خواسته شده را انجام دهد یا چقدر نسبت به محرکی شرطی می شود، در روند کسب اطلاعات برای پروژه های مختلف در مورد حافظه و یادگیری کارآمد است(۱۹). در مدل ماز آبی سینسیناتی(Cincinnati water maze) موش در مسیر های T شکل به نقطه ی تصمیم گیری می رسد و هر بار به جای دنبال کردن راهنماهای بینایی؛ مجبور به تکیه بر حافظه ی خود و

تصمیم گیری بر اساس جهت هایی است که در مرحله ی آموزش تا حدودی فراگرفته است. در ماز آبی سینسیناتی، بر خلاف ماز آبی موریس(Morris water maze) که دارای راهنماهای بینایی است تصمیم گیری کاملاً به خود موش وابسته است. به طور کلی تست های جهت یابی در یکی از دو مجموعه خود مدار(Egocentric) و یا دیگر مدار(Allocentric) قرار می گیرند. در جهت یابی خودمدار؛ موش بر اساس ویژگی های سیستمی خود، مسیر درست را می‌یابد. این راهنماهای داخلی شامل بازخورد هایی از اندام ها و سایر گیرنده های حسی هستند که می‌توانند به عنوان مثال سبب ایجاد سرعت در حرکت شوند اما در جهت یابی دیگرمدار، موش با استفاده از ویژگی ها و راهنماهای خارجی به هدف می رسد. این دو دسته هر یک کاربرد های مخصوصی دارند و می توانند عوامل متعددی را تحت شرایطی بسنجد به عنوان مثال روش آلوسنتریک ارتباط تنگاتنگی با بخش هیپوکمپ مغز دارد؛ بنابراین، هرگونه اختلال در این ناحیه مانع از دستیابی به نتایج مورد نظر می شود. در جهت یابی اگوسنتریک، بخش بالایی استریاتوم(Dorsal striatum) و ساختار های وابسته به آن مورد استفاده قرار می گیرند؛ در انسان ها نیز مسیرها و راه های یک پارچه را کد گذاری می کند(۱۸، ۹، ۶). دستگاه ارائه شده مدلی ابداعی به منظور بررسی تجمیعی انواع حافظه و یادگیری است که امکان شرطی سازی حیوان و بررسی شرطی سازی عملکردی را نیز دارد. تا پیش از این دستگاه، برای انجام پروژه هایی که به بررسی چندین عامل احتیاج داشت، باید دستگاه های مجزایی خریداری می شد که قابلیت سنجش حداکثر دو فاکتور را داشت. این موضوع فرصت رشد را از بسیاری از پروژه ها می گرفت؛ چون هم نیاز به صرف هزینه داشت و هم انرژی و زمان. علاوه بر این ها، امکان بررسی چند عامل به طور همزمان وجود نداشت، چون هرکدام از آنها در دستگاه های جداگانه ای بررسی می شد که نتیجه گیری ترکیبی از آن ها کارامد نبود. این دستگاه قابلیت سنجش همزمان فاکتور های مختلفی را داراست و می تواند به محققین کمک کند. این عوامل انواع حافظه مثل حافظه ی لحظه ای، حافظه ی معنایی، حافظه ی اجرایی، حافظه ی شروع کننده و دیگر انواع حافظه را در بر می گیرد. انواع یادگیری ها مثل حساس شدن، عادت کردن، شرطی شدن کلاسیک و شرطی شدن عامل، یادگیری نهفته، یادگیری جانشینی و یادگیری فضایی در این دستگاه بررسی می شود. جهت یابی دیگرمدار با استفاده از راهنماهای هندسی و جهت یابی خودمدار هنگام پیدا کردن مسیرهای بدون راهنما صورت می گیرد. تست های ترکیبی می توانند سطح بالاتری از حافظه ی موش را درگیر کنند و این تست با وجود مسیرهای پیچیده، جذابیت های مختلف، محرک های متفاوت و راهنماهای هندسی، در عین جالب بودن، سطح بالاتری از مغز موش را درگیر می کند. در بسیاری از طرح ها پیش از شروع آزمایش موش ها باید آموزش ببینند و معمولاً وقت زیادی صرف این کار می شود، اما در این طرح از ویژگی های طبیعی خود موش، که به علت ساختار بدنی و حافظه غریزی شناگران خوبی هستند، استفاده شده است. شرطی سازی در آب صورت می گیرد؛ به طور کلی بر اساس بررسی های انجام شده، طرح هایی که از پاداش برای شرطی سازی استفاده می کنند به تدریج، برای جونده خسته کننده می شود و انگیزه اش را از دست می‌دهد اما استفاده از آب، موش را وادار می کند که برای نجات به دنبال هدفش بگردد. سکوهای متحرک در هیچ یک از تست هایی که بررسی شده وجود ندارند. در صورتی که با این ویژگی می توان حافظه کوتاه مدت، بلندمدت و حافظه ی کاری موش را به چالش کشید. هم چنین برای کاهش استرس موش از روش تهاجمی و آسیب زننده مثل شوک و یا محرومیت از غذا استفاده نشده است.

مواد و روش ها

طرح به گونه ای سازمان یافته است که یک هشت ضلعی در وسط کار قرار دارد و از چهار ضلع آن چهار راه تعبیه شده است. از هر یک از این راه ها ورودی ها و خروجی هایی در نظر گرفته شده است که موش می تواند با استفاده از راه ها به هشت ضلعی و یا مسیرهای دیگر دسترسی پیدا کند. مدل طراحی شده در این پژوهش، یک ماز چند مسیره در محیط آبی است و در هر مسیر، عوامل مختلفی تحت بررسی قرار می گیرد. به گونه ای که سه سکو تعبیه شده است. یکی از سکوها در انتهای مسیری است که توپی در ابتدای آن قرار دارد و سکوی دیگر در مسیریL شکل قرار دارد که دو دیواره ی آن پوشیده از آینه ی سراسری است و در انتهای مسیر آینه ای قرار دارد که در کنار آن سکو تعبیه شده است. سکوی آخر پس از قرارگیری روی دو سکوی قبلی، با صدایی به حالت افقی می آید. وقتی موش مسیر مورد نظر را رد کرد سنسور فعال می شود و به هنگام بالا آمدن سکوها، چراغ سبز کم نوری، روشن می شود. بعد از قرارگرفتن موش به مدت پنج ثانیه، سکوهای اول و دوم از حالت افقی خارج می-شوند. لازم به ذکر است که سکوها در یک سانتی متری پایین آب قرار دارد و سنسور ها نیز در یک سانتی متری زیر سطح آب طراحی شده اند. چرخی با کارکرد خاص برای تست حافظه اجرایی تعبیه شده است که می توان با قراردادن آن در هشت ضلعی وسط تست؛ به ارزیابی عملکرد موش پرداخت. هنگام ورود موش به مسیر فرعی ماز که به شکل L می باشد، با فلش نوری مواجه می شود. اگر موش از هر یک از بازو های این مسیر وارد شود، نور قرمز فلش می زند و در هنگام خارج شدن با فلش نوری مواجه نیست. در طول تست، راهنماهای هندسی قرار گرفته اند تا به جهت یابی دیگر مدار و همین طور یادگیری فضایی موش کمک کنند. این راهنماها، اَشکالی هندسی دایره، مربع و مثلث هستند و مکان قرارگیری هر شکل قابل تغییر است. چون تست در محیط آبی انجام می شود؛ موش با استفاده از غریزه به شنا کردن و پیدا کردن سکوها برای نجات خود ادامه می دهد.دستگاه به مدت ۸ روز بر روی دو گروه موش های نر و ماده تست شد. تعداد موش های نر ۳ و تعداد موش های ماده ۵ سر بود و وزن موش ها بین ۲۶-۲۲ گرم بود. دمای آب ۲۷-۲۳ درجه و این دما کنترل می شد و در پایان تست هر یک از موش ها، دما چک می‌گردید و تغییرات لازمه صورت می گرفت. مکان سکوها در یک سانتی متری زیر آب قرار دارد و مکان سنسورها در یک سانتی متری پایین سطح آب تعبیه شده اند. ارتفاع آب ۱۵ سانتی متر است و ارتفاع دیواره ها ۳۰ سانتی متر است. توپ روی سطح آب، شناور است. سنسورها با توجه به سرعت حرکت موش فعال می شوند. ترتیب حرکت موش در هر یک از مسیرها در ثبت نتایج تفاوتی ایجاد نمی کند و عملکرد موش با توجه به اهداف تست، مورد ارزیابی قرار می گیرد.بالای دستگاه دوربینی نصب شد که درمدت زمان تست، عملکرد موشها را ضبط کرد. بدین ترتیب، پس از پایان هر تست، فاکتورهای مختلف مورد نظر، بررسی و داده ها در جداول اکسل جمع آوری شد. به منظور ارزیابی انواع حافظه ی صریح و مفهومی، مدت زمان رسیدن به سکوها تحت بررسی قرار گرفت. فاصله زمانی قطع کردن لیزر و رسیدن به سکو، اندازه گیری شد. مدت زمان حضور در مسیر آینه ای و تعداد دفعات مراجعه به توپ و راهنماهای هندسی نیز سنجیده شد. داده های این ۸ روز توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰۲۴ بر اساس فرضیات پژوهش، آنالیز شد. برای تحلیل داده ها، روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) به کار برده شد.

نتایج

فرضیه ۱: حساس شدن موش نسبت به صدای قبل از بالا آمدن سکوی آخر، در این دستگاه مورد بررسی قرار می گیرد. مدت زمان رسیدن به هر سکو طی ۵ روز اندازه گیری شد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که بین میانگین

زمان رسیدن موش به سکوهای بدون صدا و با صدا، طی ۵ روز تفاوت معنی داری وجود دارد. موش ها نسبت به صدای قبل از بالا آمدن سکوی سه، طی روز های متوالی حساس شدند و مدت زمان رسیدن به این سکو کاهش یافت(نمودار۱).

فرضیه ۲: کارکرد اجرایی موش با استفاده از ترتیب قرارگیری روی سکوها در این دستگاه بررسی می شود. مدت زمان کل تست برای هر موش طی ۳ روز اندازه گیری شد. بنابر نتایج، بین میانگین زمان رسیدن موش به سکوها، طی ۳ روز تفاوت معنی داری وجود دارد. پس مدت زمان رسیدن به سکوی هدف، طی روزهای متوالی برابر نبوده و از روی نمودار کاهش آن قابل ملاحظه است. بدین ترتیب کارکرد اجرایی موش قابل اندازه گیری بوده است(نمودار۲).

فرضیه ۳: عادت کردن به فلش چراغ قرمز با تکرار ورود به مسیر مربوطه، در این مدل ارزیابی می شود. بنابراین می توان نتیجه گرفت که بین میانگین تعداد واکنش موشها به فلش قرمز طی ۵ روز تفاوت معنی داری وجود دارد. پس با توجه به نمودار موش ها به فلش نور قرمز عادت می کنند(نمودار۳).

فرضیه ٤: آزمون شرطی سازی عامل با یادگیری ارتباط لیزرها و سکوها در این دستگاه بررسی می شود.برای موش‌هایی که بلافاصله پس از قطع کردن لیزر، سکوی مربوطه را پیدا کردند عدد ۱ لحاظ شده است و برای موش‌هایی که بلافاصله پس از قطع کردن لیزر روی سکوی مربوطه قرار نگرفتند، عدد ۰ در نظر گرفته شده است. به منظور آشنایی بیشتر با محیط و فضای دستگاه، سه روز اول تست از نمودار ها حذف شده است و در روزهای بعدی آزمون شرطی سازی عامل بررسی شده اند(نمودار۴).علت کندتر بودن روند موفقیت برای سکوی دوم این است که این سکو پس از قطع شدن دو سنسور به توالی؛ فعّال می شود؛ به جهت یابی خودمدار نیاز داشته و پیچیده تر از سکوی یک است. در طی این ۵ روز تعداد موش هایی که پس از قطع کردن لیزر، سکو را پیدا کرده اند؛ بیشتر شده است و این نشان می دهد که موش ها نسبت به لیزر و سکو، شرطی شده اند(نمودار ۵).

فرضیه ٥: آزمون شرطی سازی کلاسیک با شناختن ارتباط صدا با سکوی آخر بررسی می شود. با توجه به نتایج میتوان گفت که بین میانگین زمان رسیدن به سکوی سه ، طی ۵ روز تفاوت معنی داری وجود دارد. در حالی که برای میانگین زمان رسیدن به سکو های یک و دو، این تفاوت معنادار نیست. عامل صدا در آزمون شرطی سازی کلاسیک؛ تاثیرگذار بوده است(نمودار ۶).

فرضیه ٦: قابلیت یادگیری فضایی با استفاده از راهنماهای هندسی در این تست وجود دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بین تعداد دفعات مراجعه به راهنمای هندسی دایره؛ قبل از شنیده شدن صدا و فعّال شدن سکوی سوم، طی ۸ روز تفاوت معنی داری وجود دارد. پس موش‌ها دایره را تشخیص داده و با اطمینان به آن؛ به سمت سکوی سه رفتند و یادگیری فضایی برایشان اتفاق افتاده است(نمودار ۷).

فرضیه ۷: در این دستگاه امکان بررسی حافظه لحظه ای و یادگیری نهفته با ارزیابی عملکرد موش نسبت به موش‌های تست نشده، وجود دارد.بنابراین می توان نتیجه گرفت که با توجه به نمودار گروهی که قبلاً با محیط تست آشنا شده بودند؛ عملکرد بهتری نسبت به گروهی داشته اند که برای بار اول با فضای تست روبه رو می شدند. پس یادگیری نهفته اتفاق افتاده است. از طرفی چون عملکرد موش های آشنا بهتر بوده است پس تا حدودی مسیرها را شناخته بودند و از حافظه لحظه ای برای پیدا کردن مکان سکوها کمک گرفته اند(نمودار ۸).

فرضیه ۸: جهت یابی خودمدار با یافتن مسیرها و مکان سکوها بدون دریافت راهنما از بیرون، در این دستگاه بررسی می شود.برای موش هایی که پس از قطع کردن

لیزرها مستقیماً به روی سکو رفته اند؛ عدد ۱ در نظر گرفته شده است و برای موش هایی که بلافاصله پس از قطع کردن لیزرها روی سکو نرفته اند؛ عدد ۰ لحاظ شده است. به منظور آشنایی بیشتر با محیط و فضای دستگاه، سه روز اول تست از نمودار ها حذف شده است و جهت یابی خودمدار در روز های چهارم تا هشتم تحت بررسی قرار گرفته است. با توجه به جدول و نمودار تعداد موش هایی که عدد یک به آن ها اختصاص یافته است؛ بیشتر شده اند و این نشان می دهد که چون راهنمایی در کار نبوده است، با جهت یابی خودمدار سکوی دو را پیدا کرده اند(نمودار ۹).

فرضیه ۹: جهت یابی دیگرمدار با یافتن مسیرها و مکان سکوها با کمک راهنماهای هندسی؛ در این دستگاه ارزیابی می شود. برای موش هایی که پس از قطع کردن لیزرها مستقیماً به روی سکو رفته اند؛ عدد ۱ در نظر گرفته شده است و برای موش هایی که بلافاصله پس از قطع کردن لیزرها روی سکو نرفته اند؛ عدد ۰ لحاظ شده است. به منظور آشنایی بیشتر با محیط و فضای دستگاه، سه روز اول تست از نمودار ها حذف شده است و جهت یابی دیگرمدار در روز های چهارم تا هشتم تحت بررسی قرار گرفته است. با توجه به جدول و نمودار تعداد موش هایی که عدد یک به آن ها اختصاص یافته است؛ بیشتر شده است و این نشان می دهد که با استفاده از تشخیص راهنمای هندسی مثلث؛ مسیر مربوطه را یافته و سکوی یک را پیدا کرده اند. بدین ترتیب، جهت یابی دیگرمدار برایشان اتفاق افتاده است(نمودار ۹).

فرضیه ۱۰: حافظه ی غریزی موش و یادگیری نقش پذیری با شناکردن، در این دستگاه ارزیابی می شود. با توجه به مشاهدات صورت گرفته در طی ۸ روز تست؛ موش ها با سرعت های متفاوت و مهارت های مختلف شنا می کردند. با توجه به فرض ۵، زمان رسیدن به سکوها برای هر موش متفاوت از دیگری بود. نحوه ی مسیریاب (با توجه به فرض ۸ و ۹)، رفتار با توپ(با توجه به نتایج فرض ۱۳) و حرکت در مسیر آینه(با توجه به فرضیه ۱۶) ؛ برای هر یک به گونه‌ای بود که نشان می داد، حافظه ی غریزی و یادگیری نقش پذیری موش ها در نحوه عملکردشان موثر بوده است.

فرضیه ۱۱: حافظه ی معنایی با شناسایی راهنماهای هندسی، در این دستگاه آزموده می شود. با توجه به عملکرد موش ها در یافتن سکوها؛ تشخیص راهنماهای هندسی در آن ها وجود داشته است. بر اساس نتایج فرضیات ۶ و ۹ شناسایی راهنماهای هندسی اتفاق افتاده است. با توجه به آنالیز های موجود در فرض ۵، مدت زمان یافتن سکوی سه کاهش یافته است. پس موش ها علاوه بر شرطی شدن نسبت به صدا، با کمک راهنمای هندسی دایره؛ توانستند معنای پاداش و سکوی هدف را بفهمند. در نتیجه از حافظه معنایی خود کمک گرفته اند.

فرضیه ۱۲: در این دستگاه حافظه ی اجرایی موش هنگام انجام دادن کاری خاص با چرخ، قابل ارزیابی است. در این بخش؛ موش ها را در محیط آبی دستگاه قرار می-گیرد. برای این تست و فرضیه ۱۷؛ چرخی طراحی شده است که برای ثابت نگه داشتن آن در آب؛ موش باید مهارتی را بیاموزد. با توجه به این که برای آموزش و ارزیابی عملکرد موش در این بخش؛ سکوها خوابیده است؛ تنها راه خروج از آب، استفاده از چرخ است. موش-ها بعد از شنا، خود را به چرخ می رسانند و یاد می گیرند که با حرکت دادن خاص چرخ؛ می توانند آن را ثابت کنند و روی آن بایستند. با مقایسه ی حافظه ی اجرایی موش های مختلف طی روزهای معین، می توان حافظه ی اجرایی آن ها را ارزیابی نمود.

فرضیه ۱۳: حافظه ی شروع کننده با شناخت توپ به عنوان محرک جدید، مورد آزمون قرار می گیرد. تعداد دفعات مراجعه به توپ به عنوان محرک جدید، طی ۸ روز اندازه گیری شد. داده های ۵ روز اول و ۳ روز آخر به

طور جداگانه؛ دسته بندی شدند. با بررسی نتایج، بین میانگین تعداد دفعات مراجعه به توپ، طی ۸ روز تفاوت معنی داری وجود دارد. با توجه به آنالیزها؛ تفاوت معنادار بین این دو گروه نشان می دهد که حافظه ی شروع کننده در شناسایی توپ به عنوان محرک جدید، نقش داشته است.

فرضیه ١٤: حافظه ی ارتباطی با یافتن ارتباط ورود به مسیر با روشن شدن چراغ سبز و بالا آمدن سکو، در این دستگاه سنجیده می شود. برای موش هایی که پس از قطع کردن لیزرها مستقیماً به روی سکو رفته اند؛ عدد ۱ در نظر گرفته شده است و برای موش هایی که بلافاصله پس از قطع کردن لیزرها روی سکو نرفته اند؛ عدد ۰ لحاظ شده است.سه روز اول به دلیل آشنایی موش با محیط تست؛ در آنالیزها وارد نشده است. با توجه به نتایج، بین میانگین تعداد دفعات پیدا کردن سکو بلافاصله پس از قطع کردن لیزرها، طی ۵ روز تفاوت معنی داری وجود دارد. پس می توان گفت که حافظه ارتباطی موش ها؛ در تشخیص چراغ سبز و رابطه ی آن با لیزر و بالا آمدن سکو؛ نقش داشته است.

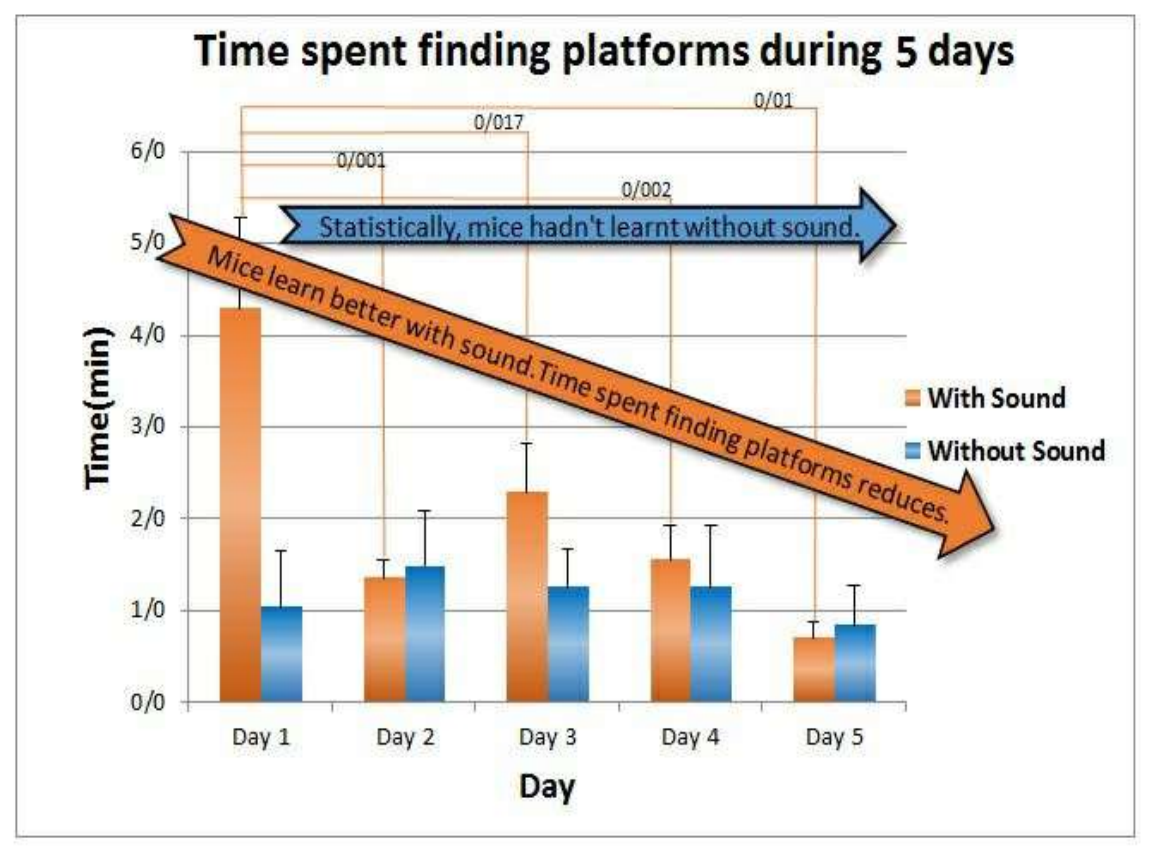
فرضیه ١٥: حافظه غیر ارتباطی با ارزیابی واکنش موش به فلش چراغ قرمز و تعداد دفعات مراجعه به توپ، در این دستگاه بررسی می شود.پاسخ موش به محرک های فلش چراغ قرمز و توپ طی روزهای متوالی، بررسی شد. با توجه به نتایج فرضیه ۳، موش ها به فلش چراغ قرمز عادت کرده اند و عملکرد آن را به صورت جداگانه شناخته اند به این گونه که میزان پاسخ موش ها به این محرک کاهش یافته است پس حافظه ی غیر ارتباطی بررسی شده است. از طرفی با توجه به نتایج فرضیه ۱۳، تعداد دفعات مراجعه به توپ در چند روز اول تست نشان از جذابیت توپ است که در روزهای آخر، این میزان جذابیت نادیده گرفته می-شود. پس پاسخ موش ها به این محرک کاهش یافته است و از طرفی عملکرد این محرک را شناخته اند پس حافظه ی غیر ارتباطی در این دستگاه ارزیابی شده است.

فرضیه ١٦: میزان اجتماعی بودن موش با سنجیدن مدت زمان قرارگیری در مسیر پوشیده از آیینه، در این دستگاه سنجیده می شود. مدت زمان قرارگیری در مسیر آیینه ای برای هر موش، اندازه گیری شد.با توجه به نتایج بدست آمده بین میانگین زمان قرارگیری در مسیر آیینه ای، طی ۸ روز تفاوت معنی داری وجود دارد. آنالیز ها و نمودار نشان می دهد که رفتار موش ها در مسیر آیینه ای با یکدیگر متفاوت بوده و میزان اجتماعی بودن آن ها در مدت زمان تست؛ قابل بررسی می باشد.

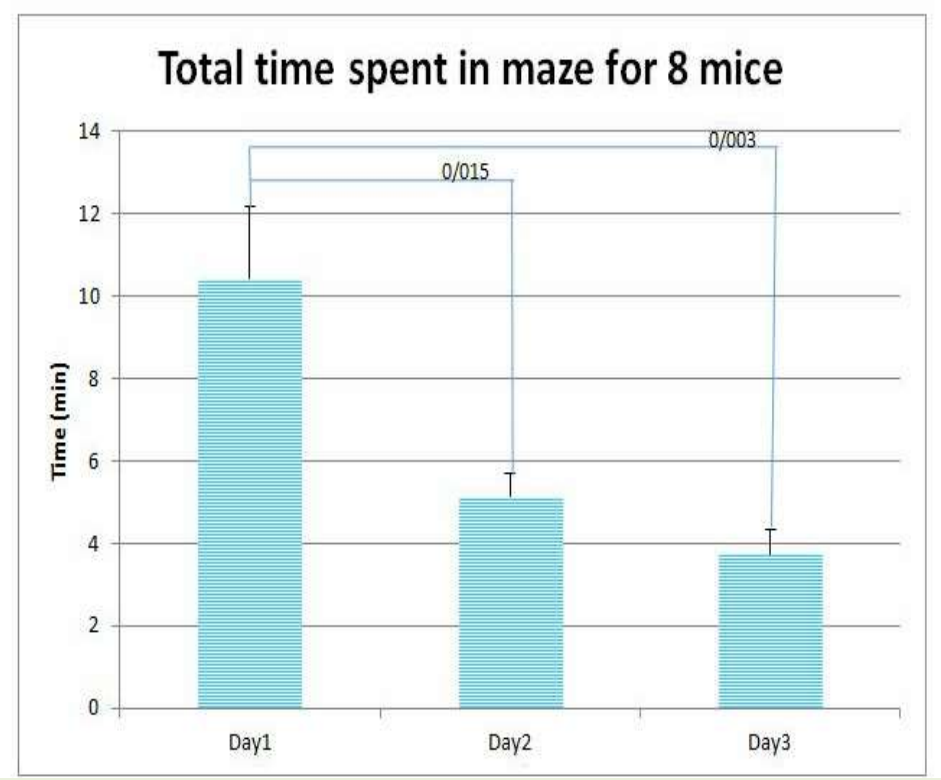
فرضیه ١٧: قابلیت یادگیری جانشینی برای موشی که یک بار آزمایش موش دیگری را دیده است، در این تست وجود دارد. ارزیابی نورون های آینه ای در بخش حرکتی، بخشی از حافظه ی جانشینی را تشکیل می دهد. در ارزیابی حافظه ی جانشینی؛ گروه اول را طوری مسلّط بر فضای دستگاه قرار می دهیم که فرآیند یادگیری موش های تحت آزمایش در دستگاه را ببینند. سپس موش های بیننده را در محیط آبی دستگاه قرار داده و میزان یادگیری مهارت چرخ داخل آب را بررسی و با گروه قبل مقایسه گردید.

فرضیه ١٨: حافظه ی کوتاه مدت و بلند مدت و حافظه‌ی کاری و حافظه مرجع در این دستگاه بررسی می-شود. با توجه به این که حداکثر زمان قرار گیری موش در دستگاه ۱۵ دقیقه است، حافظه ی کاری در روند تست تحت بررسی قرار می گیرد. عملکرد موش نسبت به سکوها طی روز های متوالی با توجه به فرضیه ۴؛ نشان می-دهد که تعداد موش های بیشتری بلافاصله پس از قطع کردن لیزر روی سکوی مربوطه قرار گرفته اند. پس می توان نتیجه گرفت که حافظه ی کاری موشها در مدت زمان قرارگیری در محیط تست بر تصمیم گیری و عملکردشان تاثیر گذار بوده و این موضوع تحت بررسی

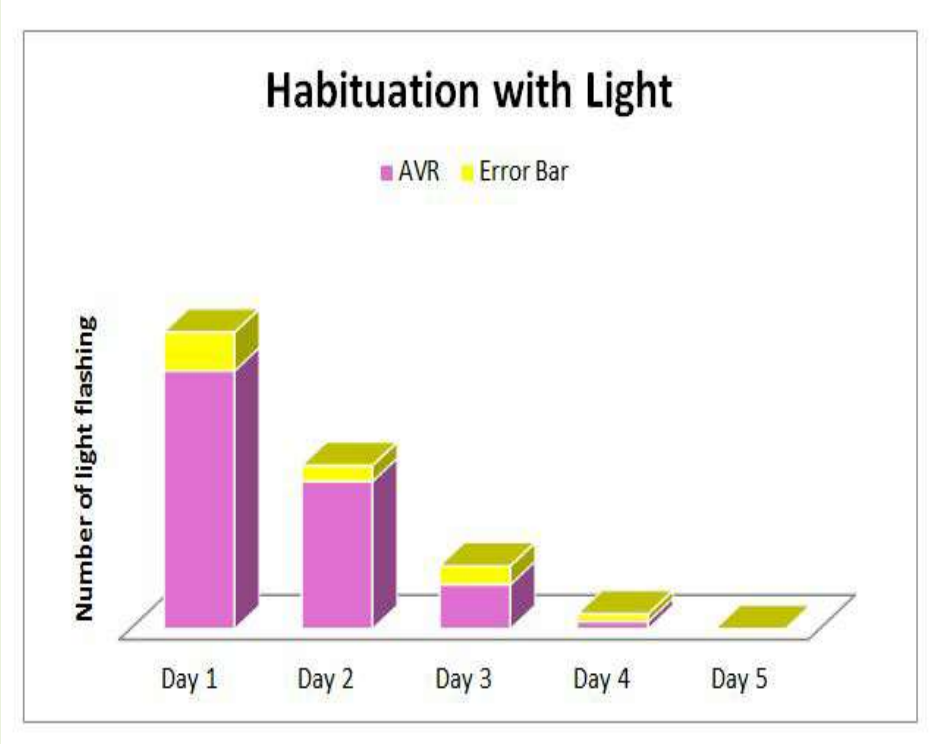
قرار گرفته است. حافظه ی کوتاه مدت هنگام ذخیره سازی اطلاعات در فضای دستگاه در مدت زمان تست؛ به جهت یابی و شناسایی محرک ها کمک می کند. با توجه به فرضیه های ۸ و ۹، مدت زمان جهت یابی خودمدار و دیگرمدار موش ها در پیدا کردن سکوهای مربوطه، کاهش یافته است پس اطلاعات حافظه ی کوتاه مدت در انتخاب مسیرهای مناسب تاثیر مستقیم داشته است. با توجه به این که تست ۸ روز به طول انجامیده است؛ حافظه ی بلند مدت در به یاد آوردن مکان سکوها طی روزهای متوالی، به موش ها کمک کرده است. نتایج فرضیه ۲؛ نیز نشان می دهد که مدت زمان تست کاهش یافته است پس از طرفی حافظه ی بلندمدت در این دستگاه بررسی شده است و از طرفی دیگر حافظه مرجع در به یاد آوردن اطلاعات مربوط به مدت زمان تست در روزهای مختلف، نقش مهمی داشته است. برای مقایسه ی حافظه ی بلندمدت و کوتاه مدت؛ مطابق روش حافظه ی جانشینی، با بررسی موش هایی که مهارت چرخ را مشاهده کرده اند؛ اگر در همان روز بعد از چند دقیقه بررسی شود، حافظه ی کوتاه مدت را نشان می دهد و اگر گروهی روز بعد سنجیده شود، حافظه ی بلندمدت اندازه گیری شده است. به منظور جمع بندی موارد فوق؛ مقایسه ی این دستگاه با دیگر دستگاه ها در جدول ۱ آمده است.



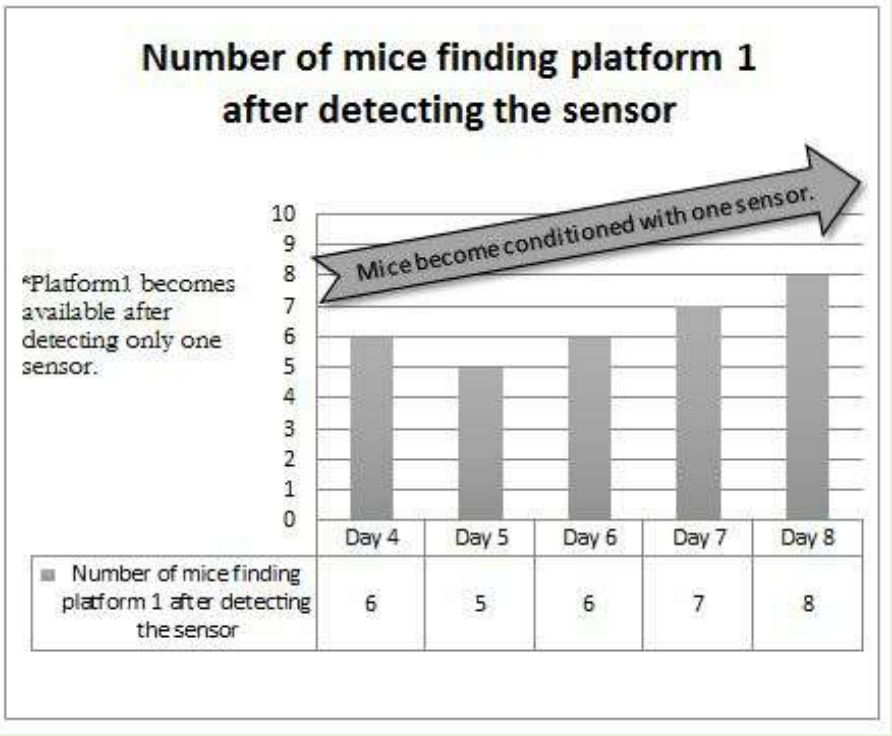
نمودار ۱ - فرضیه ۱: مدت زمان سپری شده برای پیدا کردن سکوها طی ۵ روز



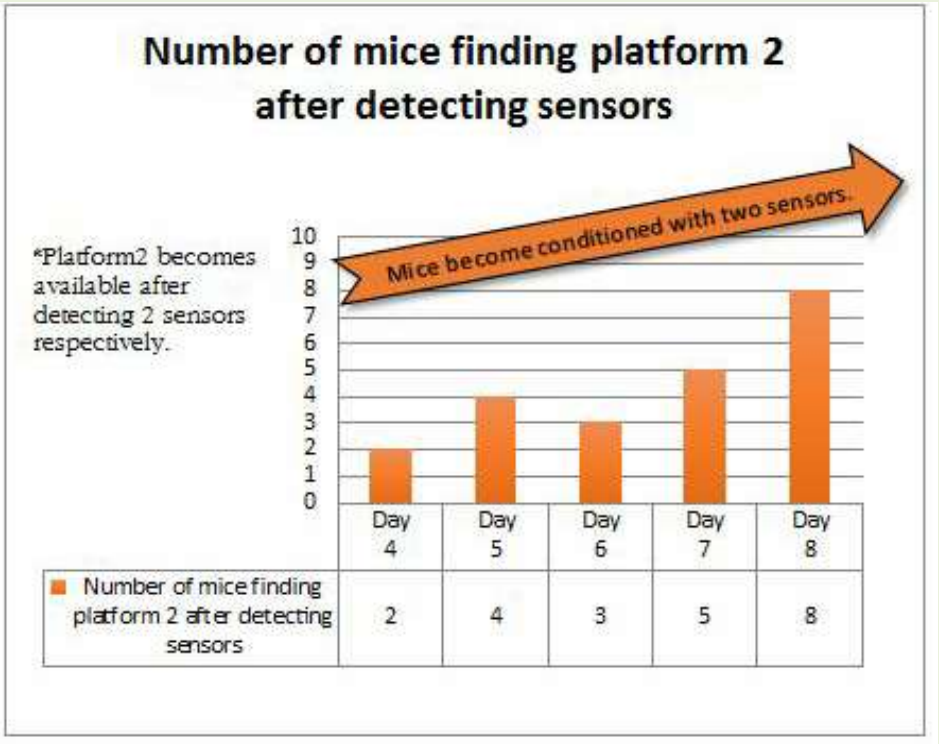
نمودار ۲ - فرضیه ۲: مدت زمان کل تست در ۳ روز



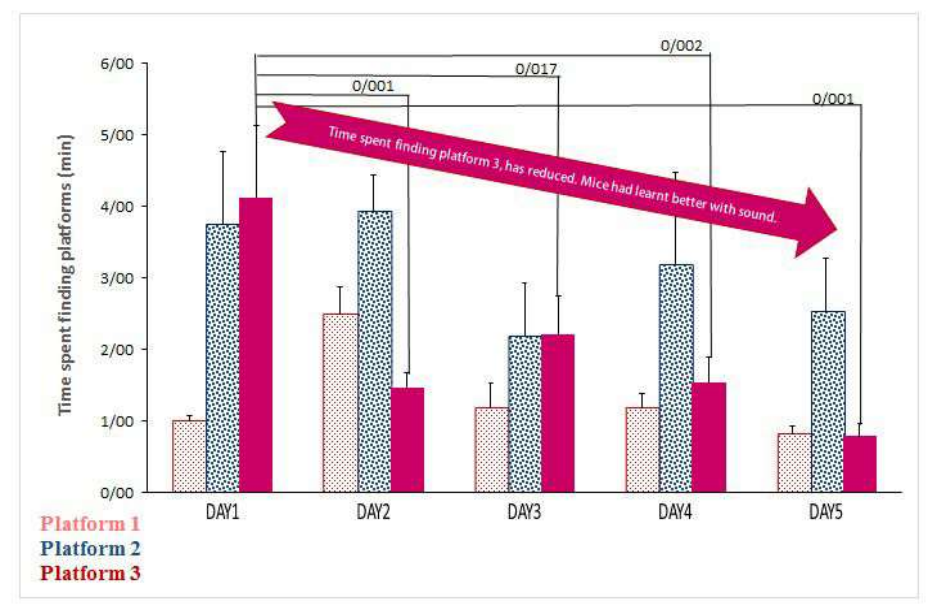
نمودار ۳- فرضیه ۳: تعداد دفعات فلش چراغ قرمز و عادت کردن موش ها



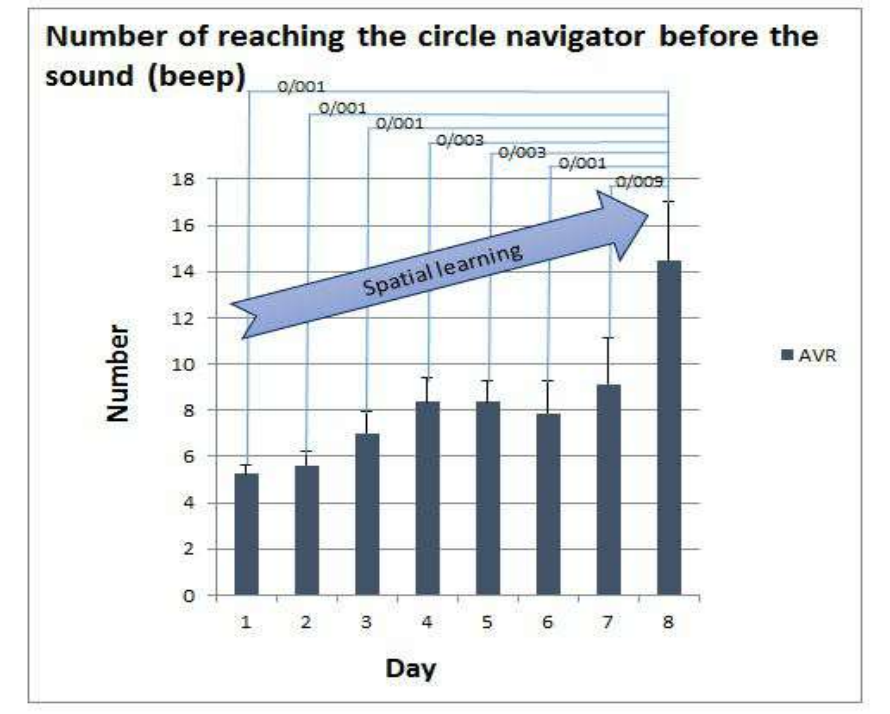
نمودار ٤- فرضیه ٤: پیدا کردن سکوی ۱ بعد از قطع کرد



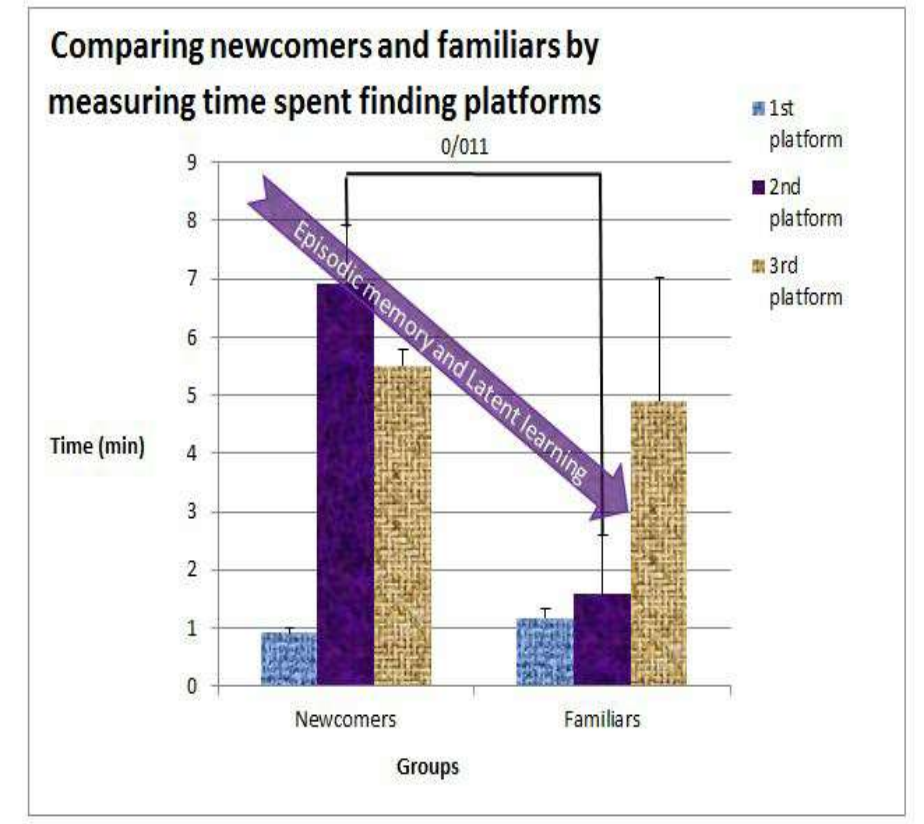
نموداره- فرضیه ٤: پیدا کردن سکوی۲ بعد از قطع کردن لیزر



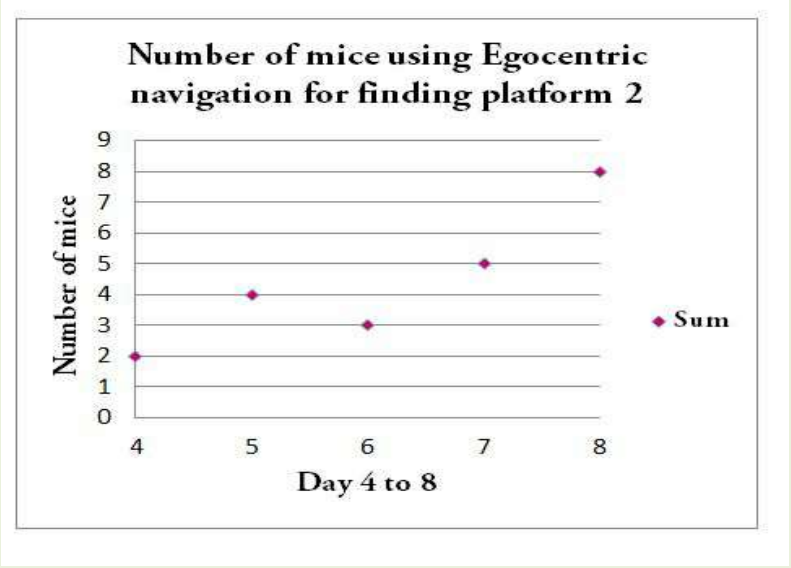
نمودار٦- فرضیه ٥:مدت زمان رسیدن به سکوها به تفکیک روز



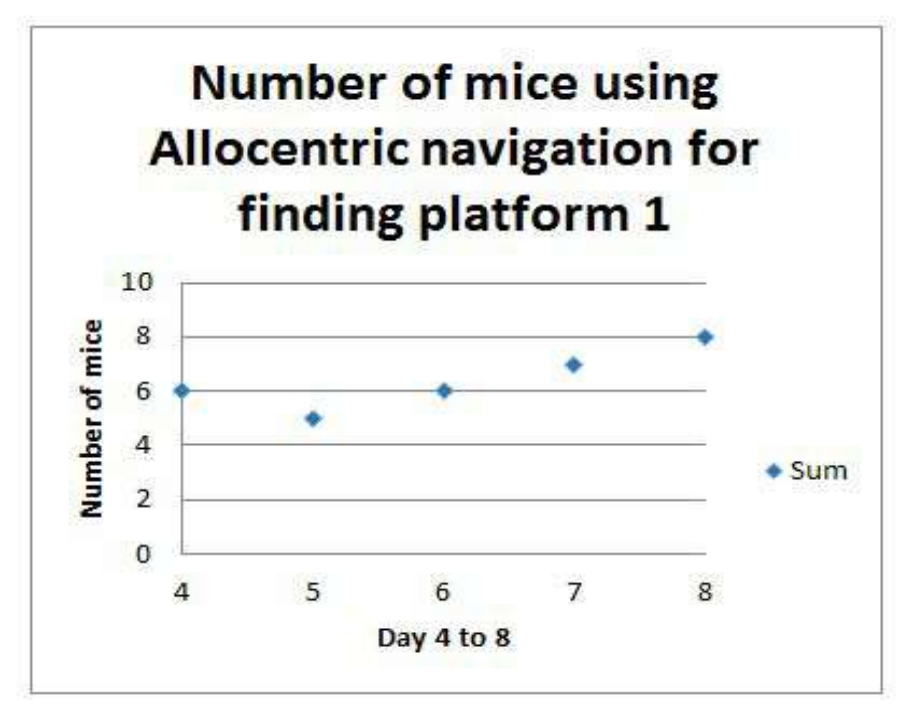
نمودار ۷-فرضیه ٦: تعداد مراجعه به راهنماهای هندسی دایره



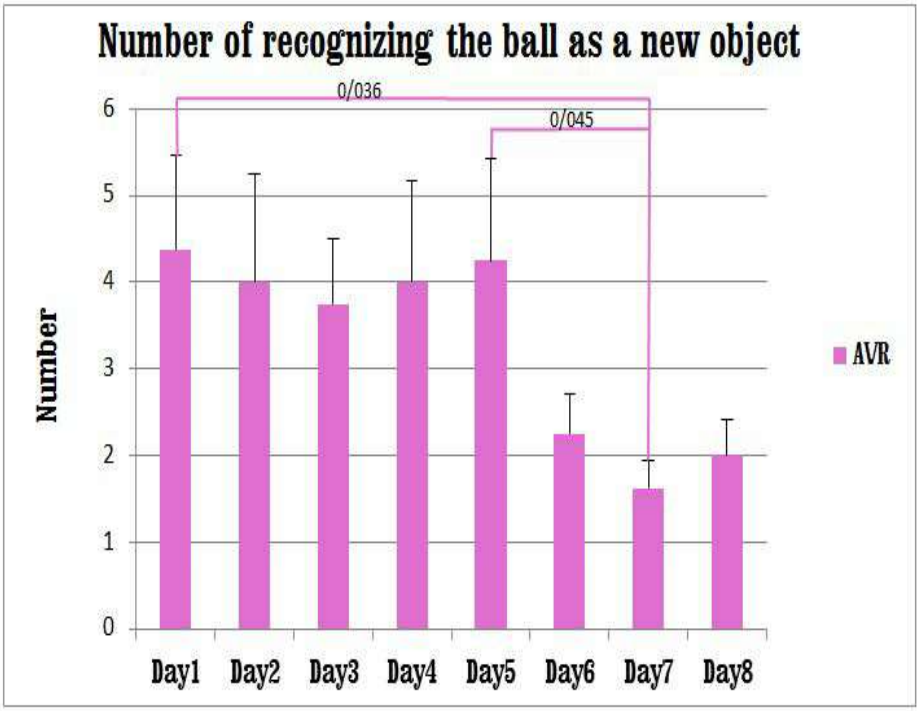
نمودار ۸-فرضیه ۷:مقایسه ی آشنایان و ناآشنایان با محیط تست



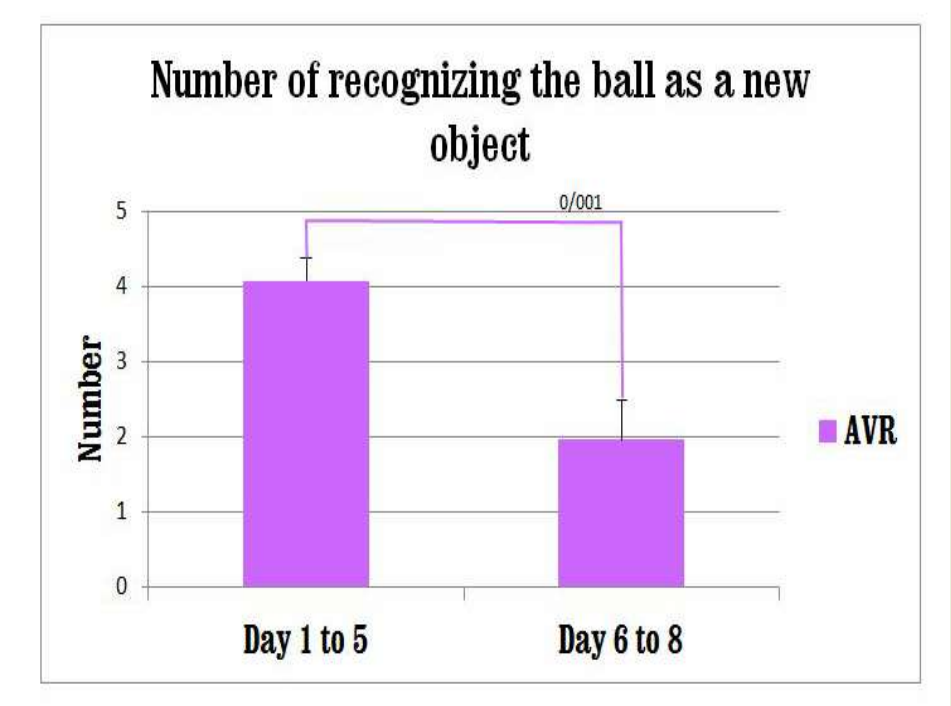
نمودار ۹- فرضیه ۸: جهت یابی خود مدار



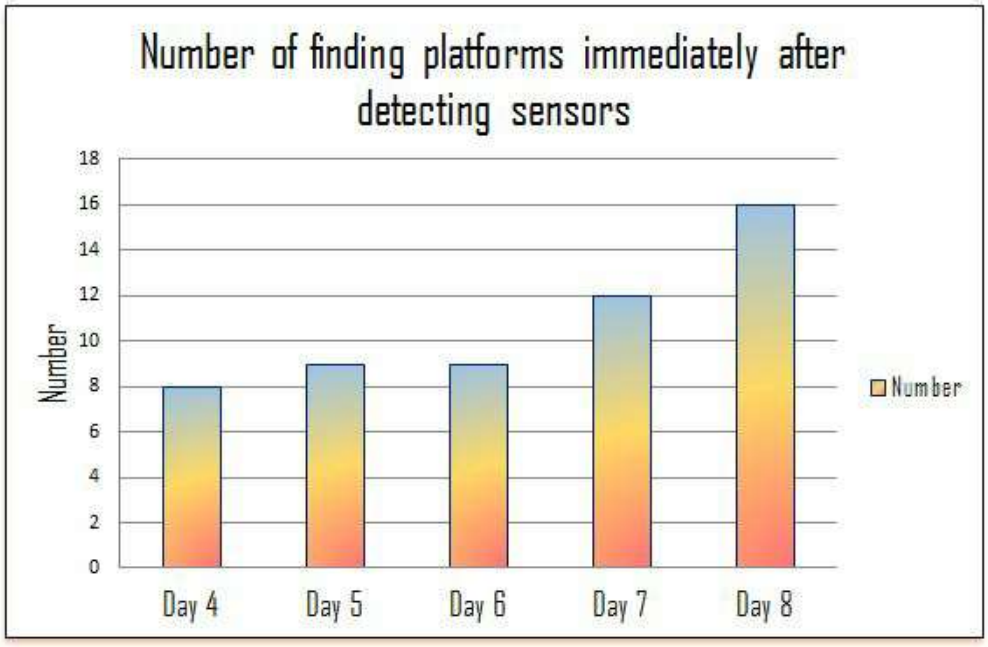
نمودار10- فرضیه 9- جهت یابی دیگرمدار



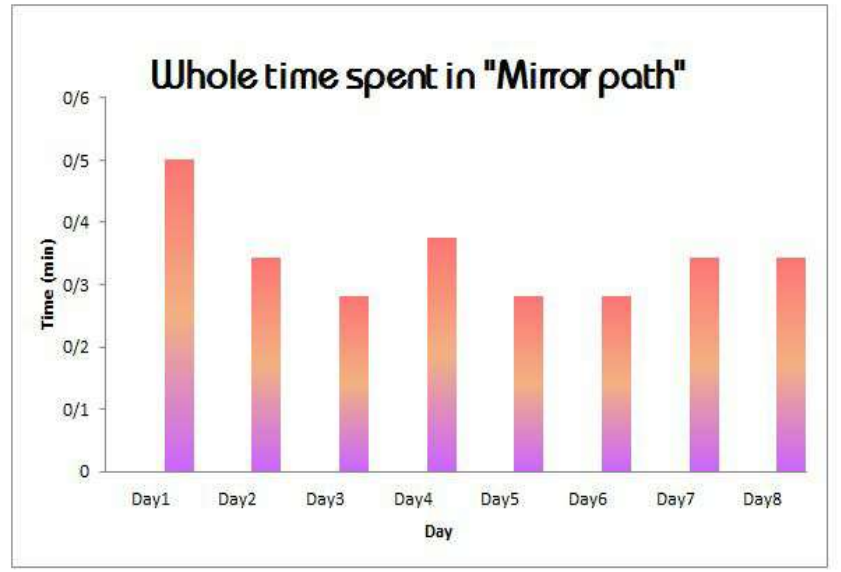
نمودار 11- فرضیه 13- تعداد دفعات مراجعه به توپ



نمودار 12- فرضیه 13- داده های 5 روز اول و 3 روز آخر نمودار 5-11 به طور جداگانه؛ دسته بندی شدند.



نمودار ۱۳- فرضیه ١٤- پیدا کردن سکو بلا فاصله پس از قطع کردن لیزر مربوطه



نمودار 14- فرضیه 16- مدت زمان حضور در مسیر آینه ای به تفکیک روز

بحث و نتیجه گیری

تاکنون پژوهش ها نشان می دهد که تقریباً تمام بررسی‌های فیزیولوپاتولوژی و فارماکولوژی معطوف به آنالیزهای رفتاری بوده است. بنابراین پرداختن به این موضوع مهم از دیرباز کانون علاقه محققان بوده است. از این جهت مقایسه کلیه کارهای انجام شده در زمینه عملکردهای شناختی و رفتاری در یک بحث کوتاه امکان پذیر نیست. لذا، قصد بوده که به شکل خلاصه اما کامل به برخی از کارهای مهم در این زمینه پرداخته شود. پس با بررسی مقالات متعدد، وجوه تمایز این دستگاه نسبت به تست های رفتاری دیگر در ادامه خواهد آمد.آزمون معمای T شکل (T-Maze): این تست به منظور سنجش حافظه موش صورت می‌گیرد که با وارد شدن به یکی از بازوهای تست پاداش دریافت می کند(۴). این دستگاه بر خلاف از پاداش استفاده نکرده و در نتیجه برای جونده خسته کننده نمی شود. در آزمون معمای T فقط یک نوع شرطی سازی نسبت به انتخاب مسیر صورت گرفته است ولی در این دستگاه انواع شرطی سازی بررسی می شود.

آزمون آشکارسازی سیگنال بینایی عامل(Operant visual-signal-detection) در این تست موش باید هنگام روشن شدن چراغ دکمه ی اول را فشار دهد تا پاداش بگیرد و هنگام خاموش بودن چراغ، دکمه دوم را فشار دهد تا پاداش بگیرد(۲). موش برای شرطی شدن ملزم به فشار دادن دکمه است در صورتی که در دستگاه حاضر فقط با رد شدن از محدوده ی سنسور شرطی سازی انجام می شود.

آزمون پرهیز پاسیو (Passive avoidance task) :

در این آزمون موش می تواند بین دو جعبه که یکی تاریک و دیگری روشن است رفت و آمد کند. بعد از گذشت مدت زمانی معین به هنگامی که موش وارد بخش تاریک شود پاداش دریافت می کند ولی در قسمت روشن اتفاقی برایش نمی افتد(۱۵). در تست Passive avoidance task تمایل موش به محیط روشن و تاریک سنجیده می شود در صورتیکه این دستگاه در محیط نیمه تاریک که تمایل غریزی موش است، فاکتورهای مشخصی را می سنجد. با

جدول ۱- مقایسه روش های مختلف در دستگاه ها

متغیر	در دستگاه های دیگر	اطلاعات دستگاه های دیگر	بررسی های این دستگاه
سکو	Morris Water Maze (MWM) Cincinnati Water Maze (CWM)	حافظه و جهت یابی فضایی یک سکوی ثابت	جهت یابی + شرطی سازی حافظه لحظه ای (وجود سه سکو) حافظه معنایی (مفهوم راهنماهای هندسی) عملکرد اجرایی (آشنایی با نحوه کار سنسور ها و ترتیب سکوها)
نور (چراغ/ فلش)	Operant visual-signal detection Multiple-choice serial-reaction test	آزمون شرطی سازی عامل توجه	عادت کردن حافظه لحظه ای (تکرار روبه رو شدن با محرک ها) حافظه ارتباطی (رابطه چراغ سبز با هر سکو) شرطی شدن عامل + کلاسیک
صدا	Shuttle Avoidance Passive Avoidance Fear Conditioning	آزمون شرطی سازی عامل ترس	حساس شدن به صدا و کمک به یافتن سکو شرطی شدن عامل + کلاسیک عدم ایجاد ترس حافظه ارتباطی (پروسه فعّال شدن سکوی آخر پس از صدا)
راهنمای هندسی	Visual acuity test MWM	تصمیم گیری + انتخاب استفاده از خطوط جهت یابی خودمدار با استفاده از راهنماهای خارجی	یادگیری فضایی + تصمیم گیری در مورد مسیر سکوها راهنماهای هندسی برای تسهیل جهت یابی فضایی جهت یابی خودمدار و دیگرمدار با کمک یادگیری مکان سکوها به صورت مجزا
مسیر T/L شکل	T-Maze CWM	تصمیم گیری پاداش انتهای مسیر درست بن بست منجر به نا امیدی می شود	مسیرهای پیچیده تر و پرچالش درگیر بودن سطح بالاتری از مغز مسیر با محرک های متنوع

توجه به اهمیت حافظه ی غریزی که مد نظر این دستگاه می باشد، موش در محیط آب به شناکردن می-پردازد. در آزمون تکرار برای گرفتن پاداش(The repeated acquisition: RA) موش با فشار دادن دکمه ای خاص می تواند پاداش بگیرد(۵). اما در این دستگاه علاوه بر انتخاب مسیر خاص، نحوه ی عبور کردن از آن مسیر هم مهم است. به گونه ای که ترتیب فعال شدن سنسور ها در هنگام عبور اهمیت بالایی دارد. آزمون جعبه شاتل یا فعال پرهیز دو طرفه (Two-Way Active Avoidanc) از روش های تهاجمی استفاده می کند و برای شرطی ساختن موش به آن شوک می دهد(۳). ولی در این دستگاه هیچ گونه روش تهاجمی روی موش اعمال نمی-

شود. این تست یک نوع شرطی شدن عامل را در موش می‌سنجد اما در دستگاه مورد بحث چند نوع شرطی شدن آزموده می شود.آزمون پرهیز مهاری(Inhibitory avoidance) با شوک الکتریکی موش را از حافظه ی غریزی خود منع می کند(۱). اما در این دستگاه منعی برای استفاده از حافظه ی غریزی صورت نمی گیرد.در آزمونهای چند انتخابی واکنش های پیاپی(-Multiple Choice Serial-Reaction test) و آزمون واکنش حیوان به علایم (Cueing animal to a particular position) برای سنجش توجه موش، چراغی روشن و خاموش می‌شود و اگر موش به سمت چراغ روشن برود پاداش دریافت می کند(۱۳). اما در دستگاه موردنظر وابستگی به پاداش و در نتیجه عادی شدن آن، صورت نمی گیرد و نجات جانش مهم است.در آزمون اجرایی پیوسته (Continuous performance tes) از توپ های متفاوتی استفاده می شود(۱۶). که خود زمانبر است در صورتیکه در دستگاه موردنظر فقط از یک توپ استفاده شده و شناختن توپ به عنوان محرک جدید، به پیدا کردن مکان سکو (نوعی پاداش) می انجامد. در آزمون شرطی سازی ترسی (Fear conditioning) شرطی سازی کلاسیک با صدا و شوک همراه است و نوعی ترس را بوجود می آورد(۷). در صورتی که در این دستگاه شرطی سازی کلاسیک را با یافتن رابطه ی صدا و پاداش نهایی(سکوی ثابت آخر) مورد سنجش قرار می گیرد و هیچ گونه ترسی ایجاد نمی شود.تست آزمون حدت بینای(Visual acuity test) به موش فقط یک حق انتخاب می دهد و شناسایی مکان درست از طریق خطوط صورت می گیرد(۱۴). در صورتیکه در این دستگاه از اشکال هندسی در مکان های مختلف استفاده شده است؛ بدین ترتیب جهت یابی فضایی بهتر صورت می گیرد.آزمون شنای با نیرو(Forced swimming test) موش در ظرفی استوانه ای شکل قرار می گیرد و رفتار آن طی گذشت ۱۵ دقیقه توسط دوربین‌ها ضبط می شود. به طور قراردادی قطع حرکات دست و پای موش و شناور شدن آن را به عنوان بی حرکت و مدت آن را به عنوان زمان بی حرکتی در نظر می گیرند. هر چه زمان بی حرکتی بیشتر باشد یعنی موش افسردگی بیشتری دارد(۱۲). آزمون شنای با نیر (Forced swimming test) با ضعف توجه به جنسیت مواجه شده است چرا که در اکثر قریب به اتفاق مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته، تمرکز بر روی مدل های جانوری نر بوده است و این در حالی است که شیوع افسردگی در زنان دو برابر مردان می-باشد(۸). در صورتی که در دستگاه موردنظر، آزمایش بر روی هر دو گروه نر و ماده به طور مجزا صورت می-گیرد.آزمون معمای آبی موریس(Morris Water Maze) فقط یک سکو دارد؛ در صورتی که در این دستگاه از چند سکو استفاده شده است و برای یافتن سکوها، موش باید از جهت یابی فضایی بیشتری استفاده کند. سکوی تست موریس واتر میز، ثابت است اما در این دستگاه از دو سکوی متحرک و یک سکو که در آخر ثابت خواهد بود، استفاده شده است در نتیجه پیچیدگی بیشتری را به همراه داشته و سطح بالاتری از یادگیری را می طلبد(۱۱، ۱۰). در آزمون آبی سینسیناتی (Cincinnati water maze) عدم موفقیت موش باعث رسیدن به بن بست و خطا می شود که نا امیدی موش را به همراه دارد اما در دستگاه موردنظر چندین راه برای رسیدن به سکوها وجود دارد و ضمنا هر راه ویژگی خاص خود را دارد(۲۰). همانند آزمون معمای دو اچ (Double H Maze) در دستگاه مورد بحث نیز می توان از هر دو شیوه ی آلوسنتریک و اگوسنتریک پیش رفت. از طریق شیوه ی آلوسنتریک می توان به موش آموزش داد که خود را به محل شروع وفق دهد و بر اساس آن مکان سکوها را شناسایی کند. هم چنین، می توان یادگیری اگوسنتریک را نیز در این مازها پیاده کرد با این تفاوت که هر بار موش را از یک محل ثابت رها کرد تا زمانی که موضع دقیق اهداف را پیدا کند. تفاوت این

دستگاه با آزمون معمای دو اچ این است که از چندین سکو استفاده شده است و جذابیت های این دستگاه به مراتب بیشتر است. از طرفی این دستگاه مسیرهای پیچیده تری دارد و انواع حافظه را نیز در برمی گیرد(۱۷).

منابع

1.Alberini, M. C., Travaglia, A. (2017). Inhibitory avoidance. Neuroscience Journal,

2.Bushnell, P.J., Levin, E.D., Overstreet, D.H. (1995). Spatial working and reference memory in rats bred for autonomic sensitivity to cholinergic stimulation: acquisition, accuracy, speed, and effects of cholinergic drugs. Neurobiol. Learn. Mem., 63;116–132.

3.Chen, T.H., Wang, M.F., Liang, Y.F., Komatsu, T., Chan, Y.C., Chung, S.Y. (2000). A nucleoside-nucleotide mixture may reduce memory deterioration in old senescence-accelerated mice. J. Nutr., 130; 3085.

4.Clarke, P.B., Fibiger, H.C. (1990). Reinforced alternation performance is impaired by muscarinic but not by nicotinic receptor blockade in rats. Behav. Brain Res., 36; 203–207.

5.Cohn, J., Paule, M.G. (1995). Repeated acquisition: the analysis of behavior in transition. Neurosci. Biobehav. Rev., 19; 397.

6.Edward, D. ,Levin, J. (2006). Buccafusco. Animal Models of Cognitive Impairment, 254-255

7.Edward, D. Levin, J. (2006). Buccafusco. Animal Models of Cognitive Impairment, 265.

8.Hua-cheng, Y., Cao, X., Das, M. (2010). Behavioral animal models of de-pression. Neurosci Bull, 26(4); 327-37.

9.https://mazeengineers.com,2017.

10. Jett, D.A., Kuhlmann, A.C., Farmer, S.J., Gilarte, T.R. (1997). Age-dependent effects of developmental lead exposure on performance in the Morris water maze, Pharmacol. Biochem. Behav., 57; 271.

11. Kuhlmann, A.C., McGlothan, J.L, Guilarte, T.R. (1997). Developmental lead exposure causes spatial learning deficits in adult rats. Neurosci. Lett., 233;101.

12. Petit-Demouliere, B., Chenu, F., Bourin, M. (2005). Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. Psychopharmacology (Berl), 177(3); 245-55

13. Posner, M.I. (1995). Attention in cognitive neuroscience, in the cognitive neurosciences, Gazzaniga, M.S., Ed., MIT Press, Cambridge, 615.

14. Prusky, GT. (200). Vision Res.

15. Riekkinen, P., Sirvio, Jr., Aaltonen , J., Riekkinen, P. (1990). Effects of concurrent manipulations of nicotinic and muscarinic receptors on spatial and passive avoidance learning. Pharmacol. Biochem. Behav., 37; 405–410.

16. Rosvold, H.E., Mirsky, A., Sarason, I., Bransome, E.D., Beck, L.H. (1956). A continuous performance test of brain damage. J. Consult. Psychol., 20; 343.

17. Robert, D., Kirch, R., Pinnell, C., Ulrich, G., Hofmann , J. (2015). The double-h maze: a robust behavioral test for learning and memory in rodents.

18. Shrager, Y., Kirwan, CB, Squire, LR. (2008). Neural basis of the cognitive. Map.

19. Vorhees, CV., Williams, MT. (2014). Value of water mazes for assessing spatial and egocentric learning and memory in rodent basic research and regulatory studies.

20. Vorhe, ES. (2016). Neurotoxical Teratol.

Design and Construction of a Device for Integrating the Evaluation of Different Types of Memory and Learning Egocentric and Allocentric Orientation for Mice

M.Naderi[1], MR. Bigdeli[2]

1. Farzanegan One High School, Tehran (second year), Tehran, Iran. **mlk_ndr@yahoo.com**

2. Associate Professor, Department of Medical Physiology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Received:2020. 16. 9 **Accepted: 2020.20.12**

Abstract

Inroduction & Objective: For many years, behavioral research derived from neural networks has always had a special place. Because cognitive and behavioral assessment is the basis of all electrophysiological and molecular studies and should be somehow related to behavioral studies. The purpose of this design and construction is to simultaneously integrate and evaluate animal model behaviors in one device.

Material and Methods: Studying animal models has been crucial for gaining insight about the structure and function of the nervous system. For investigating behavioral tasks, scientists need to design or choose a box containing each stimulus they want to check. The advantage of this experiment as opposed to most others is the use of different types of memory and learning in addition to Egocentric and Allocentric navigation. The experiment is a multi-path water maze wherein through each path different factors are examined. Three platforms are situated in the maze. Upon the mouse entering the two paths, one covered with mirrors the other containing a ball, moving platforms are activated and the final platform becomes accessible with a sound effect after the paths have been traversed. When the platforms are elevated, a dim light is turned on. After the mouse has stood on a platform for a few seconds the platform moves and drops the mouse back in the water. When the mouse tries to enter the secondary path, a flashing light appears to prevent it from doing so. Through the experiment, spatial cues have been placed to differentiate directions.

Results: Instinctive memory and latent learning of the mouse are evaluated in the watery environment, its semantic memory through the identification of moving platforms, and procedural and associative memory through finding the link between maze sensors and conditioning on the lights. The multifunctional nature and unique complexities of the proposed experiment, will allow the researcher to evaluate the aforementioned factors.

Keywords: Learning and Memory, Water Maze, Navigation, Moving Platforms.

.