مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

دانشگاه تربیت معلم
دانشکدهٔ علوم ـ گروه زیست‌شناسی

۲۸ /۱۲/ ۱۳۸۰

پایان نامه:
برای دریافت درجهٔ کارشناسی ارشد ـ شاخهٔ علوم جانوری ـ گرایش فیزیولوژی

موضوع:

اثر تزریق درون صفاقی آنالوگ گیرنده‌های اپیوئیدی و آنتاگونیست گیرندهٔ موسکارینی بر فعالیت محور *HPA* و حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال در موش صحرائی نر نژاد ویستار

استاد راهنما:
سرکار خانم دکتر شهربانو عریان

استاد مشاور:
جناب آقای دکتر محمدرضا زرین دست

نگارش
حیدر آقابابا

۴۰۸۰۹۵۲

« شهریور ۱۳۸۰ »

تقدیم به :

پدر فداکار و زحمتکشم که همیشه خواهان پیشرفت و سعادت فرزندانش بوده است،

مادر مهربان و دلسوزم که لحظه ای مرا فراموش نکرده و نخواهد کرد،

و همسر عزیزم که پس از پدر و مادرم هر آنچه دارم از او و برای اوست.

۴۰۲۹۰

فهرست مطالب

عنوان صفحه

خلاصه ۳
دیباچه ۵

بخش اول مقدمه ۷

۱ـ۱ـ حافظه و یادگیری ۱
۱ـ۱ـ۱ـ دسته‌بندی حافظه و یادگیری ۱
۱ـ۱ـ۲ ـ مکانیسم‌های مولکولی ایجاد حافظهٔ طولانی مدت ۲
۱ـ۲ ـ هیپوکامپ ۴
۱ـ۲ـ۱ ـ نورو آناتومی هیپوکامپ ۴
۱ـ۲ـ۲ ـ ارتباطات و نحوهٔ تولید پتانسیل محیطی در هیپوکامپ ۵
۱ـ۳ـ۳ ـ تداخل هیپوکامپ در حافظه و یادگیری ۶
۱ـ۲ـ۴ ـ فرضیه‌های نحوهٔ عملکرد هیپوکامپ ۷
۱ـ۳ ـ سیستم کولینرژیک *(Cholinergic System)* ۷
۱ـ۳ـ۱ ـ پراکنش سیستم کولینرژیک ۸
۱ـ۳ـ۲ ـ گیرنده‌های موسکارینی ۸
۱ـ۳ـ۳ ـ هدایت پیام در گیرنده‌های موسکارینی ۹
۱ـ۳ـ۴ ـ مکانیسم هدایت پیام در انواع گیرنده‌های موسکارینی ۱۰
۱ـ۳ـ۵ ـ اثرات گیرنده‌های موسکارینی بر روی میزان نوکلئوتیدهای حلقوی داخل سلولی ۱۱
۱ـ۳ـ۶ ـ نوروسایکو فارماکولوژی گیرنده‌های موسکارینی ۱۱
۱ـ۴ ـ اپیوئیدها ۱۲
۱ـ۴ـ۱ ـ جذب و انتشار اپیوئیدها ۱۲
۱ـ۴ـ۲ ـ عبور از سدخونی ـ مغزی ۱۳

۱ـ۴ـ۳ ـ متابولیسم اپیوئیدها ۱۳
۱ـ۴ـ۴ ـ گیرنده‌های اپیوئیدی ۱۳
۱ـ۴ـ۵ ـ هدایت سیگنال در سیستم اپیوئیدرژیک ۱۴
۱ـ۵ ـ سیستم نوروآندوکرینی و حافظه و یادگیری ۱۵
۱ـ۵ـ۱ ـ تعدیل کننده‌های ذخیره سازی حافظه ۱۷
۱ـ۵ـ۲ ـ هورمونهای استرس‌زا، تعدیل کننده‌های درون‌زای حافظه ۱۸
۱ـ۵ـ۳ ـ سایر هورمونهای تعدیلی حافظه ۱۹
۱ـ۶ ـ داروها ۱۹
۱ـ۶ـ۱ ـ آتروپین ۱۹
۱ـ۶ـ۲ ـ نالوکسان ۲۰
۱ـ۶ـ۳ ـ مورفین ۲۲

بخش دوم مواد و روشها ۲۳

۲ـ۱ ـ مواد و وسایل ۲۵
۲ـ۱ـ۱ ـ دستگاه شاتل باکس (Shuttle box)
۲ـ۱ـ۲ ـ مواد و وسایل مورد نیاز جهت تزریق
مواد و وسایل زیر استفاده شد: ۲۶
۲ـ۱ـ۳ ـ مواد و وسایل مورد نیاز جهت خونگیری
۲ـ۲ ـ روشها ۲۸
۲ـ۲ـ۱ ـ تزریق درون صفاقی: ۲۸
۲ـ۲ـ۲ ـ خونگیری و تست هورمونی: ۲۸
۲ـ۲ـ۳ ـ روش یادگیری احترازی غیر فعال (Passive avoidance learning): ۳۰

بخش سوم نتایج ۳۲

۳-۱ - بررسی نتایج اثر تزریق دوزهای مختلف آتروپین بر STL ۳۳

۳-۲ - بررسی نتایج اثرات تزریق دوزهای مختلف مورفین بر STL ۳۵

۳-۳ - بررسی نتایج اثرات تزریق دوزهای مختلف نالوکسان بر STL ۳۷

۳-۴ - بررسی نتایج اثرات تزریق توأم دوزهای مؤثر آتروپین و نالوکسان بر STL ۳۹

۳-۵ - بررسی نتایج اثرات تزریق توأم دوزهای مؤثر مورفین و نالوکسان بر STL ۴۱

۳-۶- بررسی نتایج اثرات تزریق توأم دوزهای مؤثر آتروپین و مورفین ۴۳

۳-۷ - بررسی نتایج اثرات تزریق دوزهای مختلف آتروپین بر سطح پلاسمایی کورتیزول ۴۵

۳-۸ - بررسی نتایج اثرات تزریق دوزهای مختلف مورفین بر سطح پلاسمایی کورتیزول ۴۷

۳-۹ - بررسی نتایج اثرات تزریق دوزهای مختلف نالوکسان بر سطح پلاسمائی کورتیزول ۴۹

۳-۱۰ - بررسی نتایج اثرات تزریق دوزهای مؤثر آتروپین ونالوکسان برسطح پلاسمائی کورتیزول ۵۱

۳-۱۱ - بررسی نتایج تزریق توأم دوزهای مؤثر آتروپین و مورفین برسطح پلاسمائی کورتیزول ... ۵۳

۳-۱۲ - بررسی نتایج اثرات تزریق توأم دوزهای مؤثر مورفین و نالوکسان بر سطح پلاسمائی ۵۵

۳-۱۳ - بررسی نتایج اثرات تزریق دوزهای مختلف آتروپین بر سطح پلاسمائی ACTH (pg.ml-1) ۵۷

۳-۱۴ - بررسی اثرات تزریق دوزهای مختلف مورفین بر سطح پلاسمائی ACTH ۵۹

۳-۱۵ - بررسی نتایج اثرات تزریق دوزهای مختلف نالوکسان بر سطح پلاسمائی ACTH ۶۱

۳-۱۶ - بررسی نتاسج اثرات تزریق توأم دوزهای آتروپین و نالوکسان برسطح پلاسمائی ۶۳

۳-۱۸ - بررسی نتایج اثرات دوزهای مؤثر مورفین و نالوکسان بر سطح پلاسمائی ACTH ۶۷

بخش چهارم بحث ۶۹

بحث ۷۰

پیشنهادات ۷۸

بسم الله الرحمن الرحیم

الحمدلله عَلی ما عرَّفَنا مِنْ نَفْسِه و أَلهَمنَا من شُکره و فتح لنامن أَبوابِ العلمِ بر بوبیّةِ و دَلنَّا علیهِ مِنَ الأخلاصِ لَهُ فی توحیده وجنَّبنا مِنَ الأَلحادِ وَ الشَّکَّ فی أمِره و الحمدلله الذی مَنَّ علینا بِمحمدٍ نبیّه ـ صلی الله علیه و آله ـ

برخورد فرض می‌دانم تا از سرکار خانم دکتر شهربانو عریان که در درجهٔ اول بعنوان مادری مهربان و دلسوز و در درجهٔ دوم بعنوان استادی گرانقدر که در تمام مدت این دو سال، درس علم و معرفت را به من آموختند تشکر و قدردانی کنم.

از جناب آقای دکتر محمد رضا زرین دست که مشاورت این پروژه را بعهده گرفته وکمال همکاری را با اینجانب بعمل آوردند نیز سپاسگزاری می‌کنم.

از جناب آقای دکتر پریور که با در اختیار قرارگذاشتن آزمایشگاه تحقیقاتی تکوینی و اتاق حیوانات برای تکمیل این تحقیق و قبول زحمت قرائت پایان نامهٔ اینجانب نهایت لطف و محبت خود را ابراز کردند قدردانی نمایم.

از جناب آقای دکتر روحانی که قرائت پایان نامهٔ اینجانب را قبول کردند نیز قدردانی می‌نمایم.

از سرکار خانم دکتر پروین رستمی که در طول مدت تحصیل از شاگردی و راهنمایی‌های ایشان نهایت استفاده را بر دم نیز سپاسگزارم.

از خانم‌ها دکتر اکرم عیدی و دکتر مریم عیدی بخاطر تمام راهنمایی‌هایشان تشکر می‌نمایم.

از تمامی اساتید بزرگواری که در طول مدت تلمذ، درس علم و اخلاق را به بنده آموختند سپاسگزاری و قدردانی می‌نمایم.

از همسر عزیزم حمیده افتخاری که عاشقانه در تمامی مراحل تحقیق همراهی‌ام نمود، سپاسگزارم.

ناگفته نماند که طی طریق در این مسیر، بدون کمک و یاری دوستانم آقایان؛ فدائی، زارعی، عباسپور، محسنی و نقی‌لو و از خانم‌ها امینی، سپهرآرا، هاشمی و بایرام زاده امری محال بود. مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را از این رفقای شفیق ابزار می‌دارم.

خلاصه

کورتیزول و ACTH با اثر بر روی سیستم نورواندوکراین و مناطق خاصی از مغز از جمله برجستگی میانی (median eminance) اندام زیر فورنیکس و نهایتاً هیپوتالاموس، فعالیت محور HPA را تحت تأثیر قرار می‌دهند. همانطورکه می‌دانیم محور HPA بر حافظه و یادگیری تأثیر مستقیم دارد و با تغییر در میزان فعالیت این محور میزان حافظه و یادگیری را دچار تغییر می‌کند. دو سیستم نورروترانسمیتری مهم در زمینه حافظه و یادگیری، سیستم کولینرژیکی موسکارینی و سیستم اپیوئیدرژیکی می‌باشند. آتروپین بعنوان آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی، مورفین بعنوان آنتاگونیست و نالوکسان بعنوان آگونیست گیرندهٔ اپیوئیدی در این تحقیق بکار گرفته شدند.

دوزهای مختلف آتروپین (۰/۵، ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) باعث کاهش مدت زمان احتراز از ورود به اتاقک تاریک (STL)، بصورت وابسته‌بدوز شدند. دوز ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم بیشترین اثر را داشت بعنوان دوز مؤثر انتخاب شد. دوزهای مختلف آتروپین باعث کاهش در میزان ACTH و کورتیزول نیز گردیدند که این کاهش نیز وابسته به دوز صورت گرفت. دوزهای مختلف مورفین (۱/۵، ۳ و ۶ میلی گرم برکیلوگرم) نیز باعث کاهش میزان STL، کورتیزول و ACTH گردیدند ولی این کاهش وابسته به دوز بروز نکرد و دوز مؤثر، دوز ۳ میلی‌گرم برکیلوگرم انتخاب شد. نالوکسان نیز بعنوان یک آگونیست اپیوئیدی در دوز پایین (۰/۲ میلی گرم برکیلوگرم) باعث افزایش در زمان STL و سطح پلاسمایی کورتیزول و ACTH گردید ولی در دوزهای بالاتر (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم برکیلوگرم) باعث کاهش در میزان این سه فاکتور گردید.

میانکنش بین این داروها نیز بصورت میانکنش دوزهای مؤثر مورد تحقیق و آزمایش قرار گرفت. میانکنش آنتاگونیست‌های دو سیستم اپیوئیدرژیکی و موسکارنیرژیکی (نالوکسان بادوز ۰/۲ و آتروپین و بادوز ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) باعث ایجاد اثر سینرژیستی درکاهش میزان STL، کورتیزول و ACTH گردید. میانکنش بین آنالوگهای سیستم اپیوئیدرژیکی باعث افزایش در میزان STL و ایجاد یک اثر تعدیلی در میزان پلاسمایی ACTH و کورتیزول گردید.

این یافته‌ها مشخص کردند که تزریق درون صفاتی آتروپین و مورفین باعث کاهش در میزان حافظه و یادگیری می‌شوند. تزریق درون صفاقی نالوکسان نیز در دوز پایین باعث افزایش و در دوزهای بالا باعث کاهش سطح حافظه و یادگیری در موش صحرایی می‌شوند. میانکنش بین آنتاگونیست‌های هر دو سیستم و نیز میانکنش بین آتروپین و مورفین نیز باعث القای سینرژیستی بر حافظه و یادگیری می‌گردد، ولی در مورد میانکنش بین آنالوگهای سیستم اپیوئید رژیکی یکنوع اثر تعدیلی مشاهده می‌شود.

دیباچه

یادگیری، فراگیری اطلاعات جدید دربارهٔ محیط اطراف و تغییر در فیزیولوژی بدن می‌باشد. حافظه نیز ذخیرهٔ این اطلاعات فراگرفته شده می‌باشد که در موقع لزوم بصورت خود آگاه و یا ناخودآگاه این آموخته‌ها را در دسترس قرار می‌دهد (Hergenhahn,et al, 1993).

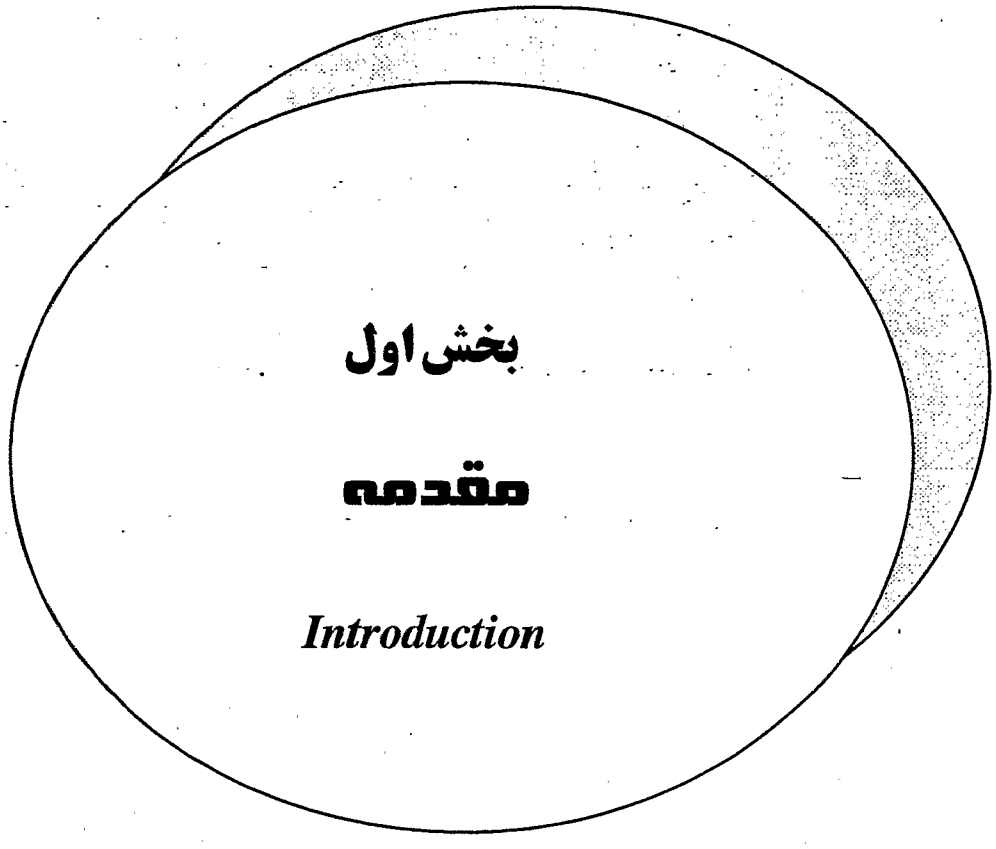
همه رفتارها حاصل یادگیری نیستند و اکثر رفتارهای ساده، رفتارهای انعکاسی می‌باشند و در اصل یک ویژگی ژنتیکی بحساب می‌آیند که در اثر تجزیه و یادگیری بدست نمی‌آیند. اعمال حافظه و یادگیری در مغز پستانداران، یکسری واکنشهای شیمیایی و ارتباط عصبی است که مدارهای عظیم و پیچیده‌ای در آن دخالت می‌کنند. در این زمینه بخشهای وسیعی از مغز از جمله نئوکورتکس و هیپوکامپ دخالت می‌کنند.

نقش اساسی نورونهای کولینرژیکی در مکانیسم یادگیری و حافظه به اثبات رسیده است. مطالعات در مورد سیستم کولینرژیک به دو دسته مطالعه برروی گیرنده‌های نیکوتینی و مطالعه بر روی گیرنده‌های موسکارینی تقسیم گردیده است. درگیرنده‌های موسکارینی که حداقل دارای ۵ زیرگروه می‌باشد، آتروپین (Atropine) از معروفترین آنتاگونیست‌ها می‌باشد که با بلوکه کردن گیرندهٔ M_1 باعث اختلال در سیستم کولینرژیکی می‌گردد. پر واضح است، این سیستم با سیستم‌های دیگر موجود در مغز میانکنش دارد و در اثر این میانکنش‌ها عملکرد حافظه و یادگیری چه در جهت بهبود و تقویت حافظه و چه در جهت تضعیف و تخریب حافظه دچار تغیراتی می‌گردد.

از جمله سیستم‌هایی که با سیستم کولینرژیک میانکنش دارد، سیستم اپیوئیدی می‌باشد. در این زمینه مورفین (Morphine) بعنوان یک آگونیست گیرندهٔ اپیوئیدی از طریق اثر برگیرنده‌های m_1 و m_2 و ایجاد بی‌دردی و توقف تنفسی (Respiratory Depression) اثرات محیطی خود را القا می‌کند، ولی در مورد اثرات مورفین بر حافظه و یادگیری گزارشهای متناقضی ارائه شده است که این تناقضات عملاً ناشی از تفاوت در نحوهٔ بکارگیری دوز بکارگرفته شده می‌باشد. بعنوان مثال Introini و همکارانش در سال 1985 اعلام کردند که تیمار محیطی یا تزریق درون بطنی مورفین موجب آسیب به حافظه می‌گردد،

ولی در سال 1990 Nishimura و همکارانش نتیجه گرفتند که بکارگیری دوزهای پایین، بطریقه پیش‌آموزشی (Pretraining) باعث بهبود حافظه می‌گردد. نالوکسان (Naloxone)، بعنوان آنتاگونیست گیرندهٔ اپیوئیدی اغلب باعث افزایش میزان بیادآوری در تیمارهای پس‌آموزشی (Posttraining) می‌گردد.

در اکثر موارد توجیهات نتایج حاصله خالی از بحث‌های هورمونی نبوده و نقش نورو اندوکرینولوژیکی انواع هورمونها مد نظر بوده است. از جمله هورمونهای اصلی که در مورد حافظه و یادگیری دخالت بسزایی دارند، هورمونهای محور HPA یعنی ACTH و کورتیزول می‌باشند که کاملاً تحت تأثیر هر دو سیستم کولینرژیکی و اپیوئیدرژیکی می‌باشند. مطالعه بر روی میانکنش این دو سیستم، نتایج قابل توجه و مهمی را به دنبال داشته است و اهمیت این سری مطالعات، ما را بر آن داشت تا با بکارگیری آتروپین بعنوان آنتاگونیست گیرندهٔ موسکارینی و مورفین و نالوکسان بعنوان آنالوگهای سیستم اپیوئیدرژیک، گامی هر چند کوچک در تعیین اثر هر سیستم به تنهایی و نیز میانکنش آنها بر روی هورمونهای کورتیزول و ACTH و نتیجتاً بر روی حافظه و یادگیری از طریق یادگیری احترازی غیر فعال (Passive Avoidance Learning) و با تزریق پس‌آموزشی، برداریم.



بخش اول

مقدمه

Introduction

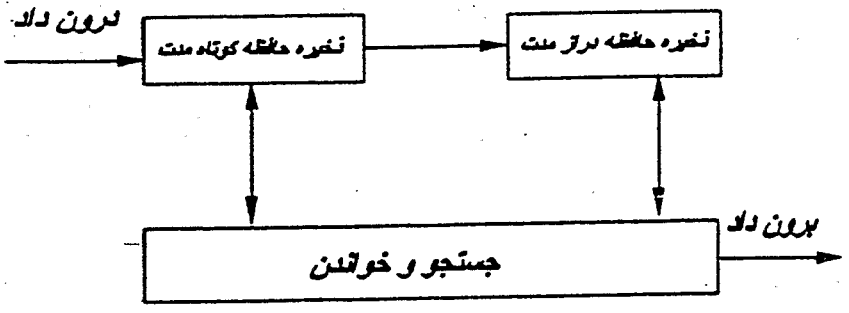
۱ـ۱ـ حافظه و یادگیری

۱ـ۱ـ۱ـ دسته‌بندی حافظه و یادگیری

خاطره‌ها از نظر فیزیولوژیکی، بواسطهٔ تغییراتی در قابلیت هدایت سیناپسی از نورونی به نورون بعد و بر اثر فعالیت عصبی پیشین ایجاد می‌شوند. این تغیرات به نوبهٔ خود باعث پیدایش مسیرهای تازه یا مسیرهای تسهیلی برای هدایت پیامها در مدارهای عصبی مغزی می‌گردند که به آنها رد حافظه (Memory traces) می‌گوئیم. اگر چه ما اغلب حافظه را خاطرات مثبت افکار یا تجارب گذشته می‌پنداریم، اما احتمالاً بخش اعظم حافظهٔ ما را خاطرات منفی تشکیل می‌دهند، به عبارت دیگر مغز ما انباشته از اطلاعات حسی بوجود آمده از کلیهٔ حواس ماست. مغز قابلیت خاصی در نادیده انگاشتن اطلاعات بی‌حاصل داردکه می‌تواندناشی‌از مهارسیناپسی مربوط‌به‌این‌نوع اطلاعات است که اثر حاصل را عادت کردن می‌گویند که به عبارتی خود نوعی حافظهٔ منفی است. از طرف دیگر در مورد اطلاعات مهمی چون درد، مغز قابلیت خودکاری در تقویت و ذخیره‌سازی حافظه داردکه اصطلاحاً به آن تسهیل سیناپسی یا حساس شدن حافظه (Memory sensitization) می‌گویند. (Guyton & Hall, 1996).

حافظه به سه دسته اصلی تقسیم‌بندی می‌شود: حافظه حسی، حافظه کوتاه مدت و حافظه طولانی مدت. حافظهٔ حسی شامل اثرات حسی سریع و کوتاه مدت می‌باشد که تا زمان ناپدید شدن محرک باقی می‌ماند. این نوع حافظه، ناخودآگاه می‌باشد. حافظهٔ کوتاه مدت ظرفیت کمی دارد و چند دقیقه الی چند ساعت دوام دارد. ذخیره‌سازی اطلاعات بصورتی است که ویژهٔ یک مرحلهٔ زمانی محدودی می‌باشد و فقط مسئول دادن پاسخی صحیح تا مرحلهٔ زمانی بعدی می‌باشد. این نوع حافظه با منحرف شدن توجه فرد از بین می‌رود ولی با تمرین و تکرار برای مدت بیشتری دوام می‌آورد. حافظهٔ طولانی مدت که حافظهٔ ثانویه نیز نامیده می‌شود مرز مشخصی با حافظهٔ کوتاه مدت ندارد ولی دوام آن از چند روز تا چند سال می‌باشد (Ghoneim M.M. 1990)، تثبیت (Consolidation) که همان تغییر شکل حافظه از حالت ناپایدار به حالت پایدار است، فوراً پس از اکتساب (Acquisition) حاصل می‌شود (Medina, J. H., et, 1995).

یادگیری به سه دستهٔ مهم تقسیم‌بندی می‌شود: الف) یادگیری ساده (Simple learning) که شامل عادت (Habitution) و حساس شدگی (Sensitization) می‌باشد. ب) یادگیری ارتباطی (Associative learning) که شامل شرطی شدن غیر فعال یا کلاسیک (Passive or classical conditioning) و شرطی شدن عامل (Operant conditiong) که نقش‌پذیری (Imprinting)، یادگیری نهفته (Latent learning) و یادگیری مشاهده‌ای (Vicarious learning) را شامل می‌شود.



شکل ۱ـ۱ـ طرح کلی سیستم ذخیره کنندهٔ حافظه (Kupferman, 1991)

برای یادگیری سه مرحله طی می‌شود: ۱) اکتساب (Acqusition) ۲) ذخیره سازی (Storage) و ۳) بازیابی (Retrival). فراگیری شامل ادراک، دقت و به رمز در آوردن اطلاعات به منظور ثبت در حافظه است. ذخیره، نگهداری اطلاعات در حافظه می‌باشد، بطوریکه به آن اجازهٔ تحلیل، جایگزینی و یا انهدام داده نشود. بازیابی نیز برای خارج کردن اطلاعات از ذخیره، لازم و ضروری بنظر می‌رسد. (Ghoniem, M.M., et al. 1990).

۱ـ۱ـ۲ـ مکانیسم‌های مولکولی ایجاد حافظهٔ طولانی مدت

مکانیسم تشکیل حافظهٔ طولانی مدت طی یکسری وقایع پشت سر هم در کورتکس مغز و هیپوکامپ صورت می‌گیرد که به طور خلاصه به آنها اشاره می‌گردد:

۱) افزایش فعالیت الکتریکی: با افزایش دپلاریزاسیون، آبشار تشکیل حافظه آغاز می‌گردد. تقویت دراز مدت (LTP, Long term potentiation)، پاسخ افزایش تحریکی در پس سیناپس است که به عنوان مکانیسم حافظه پیشنهاد گردیده است. القای LTP توسط عمل گلوتامات بر روی گیرنده‌های گلوتاماتی AMPA و سپس گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA صورت می‌گیرد.

(Malenka,R.C., etal, 1993). (شکل ۱ـ۲)

۲) القای نوروتروفین‌ها: نوروتروفین‌ها میانجی‌هایی برای عملکرد نورونی و نیز تغییرات مورفولوژیکی بحساب می‌آیند. مشاهده شده که LTP در حیوانات آموزش یافته، باعث افزایش در میزان BDNF(Brain derive neurotrophin factor)، NT-3(نورتروفین 3) NGF (Neuroblast، growth factor) هیپوکامپی (که با ایجاد حافظه در ارتباط است) می‌گردند. مکانیسم عمل نوروتروفین‌ها از طریق فعال کردن فاکتورهای نسخه‌برداری در سنتز پروتئین می‌باشد.

۳) تغییر در پایانه‌های کولینرژیکی: نوروتروفین‌ها از طریق مکانیسم مذکور باعث افزایش تولید آنزیمهای استیل کولین استراز و آنزیم‌های حامل و زیکولهای استیل کولینی می‌گردند.

۴) افزایش فعالیت گیرندهٔ موسکارینی: افزایش سنتزاستیل کولین استراز باعث تنظیم کاهشی یا تنظیم افزایشی گیرنده‌های موسکارینی می‌گردد. بعنوان مثال، گیرنده‌های موسکارینی پس از یادگیری اجتنابی مهاری افزایش می‌یابند.

۵) فعالیت آنزیم‌های پروتئین کیناز و فسفریله شدن پروتئین MAP-2: گیرنده‌های موسکارینی با فعال کردن G پروتئین‌ها باعث فعال شدن بسیاری از فسفولیپازها و پروتئین کینازها می‌گردد که عبارتند از: پروتئین کیناز C(PKC)، Ca^{++}/کالمودولین کیناز II و MAP کینازکه تمامی اینها جهت فسفریله نمودن (Microtubule associated MAP-2 protein - 2) فعال می‌شوند.

۶) افزایش میزان یون کلسیم درون سلولی و آنزیم پروتئولیز MAP - 2: فعال شدن G ـ پروتئین توسط گیرنده‌های موسکارینی باعث افزایش یون کلسیم درون سلولی و فعالیت PLC و ایجاد IP_3 و نهایتاً آزادسازی یون کلسیم از ذخایر درون سلولی می‌گردد. یون کلسیم با فعال نمودن تعدادی از پروتئین‌های تنظیم کننده یون کلسیم، موجب شکل‌پذیری و رشد نورونی می‌گردد.