Archive of SID

Original Article

The Role of 5HT$_3$ Receptor Antagonist of the Lateral Hippocampus on Amnesia Induce by Morphine in Mice

Hanieh Sadat Lavasani[1], Bahareh Pakpour[1*], Majid Navaeian[2]

[1]Department of Biology, Faculty of Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[2]Department of Biology, Faculty of Sciences, Yadegar-e-Imam Khomeini RAH, Shahr-e-Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[*]Corresponding Author:
Bahareh Pakpour;
Department of Biology, Faculty of Sciences Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Email:
b_pakpour@yahoo.com

Received: 27 May, 2017

Accept: 1 Aug, 2017

Abstract

Background and Objectives: Learning and memory processes occur as a result of interaction of neurotransmitter systems in various brain regions, such as hippocampus. The evidences indicated that serotonergic and opioidergic systems involve in behavioral, learning, and memory results. In the present study, we investigated the effect of the serotonergic system (5-HT) of the lateral hippocampus (CA_1) on morphine-induced amnesia.

Methods: In this experimental study, the animals were bilaterally implanted with cannulas in the CA1 region of the lateral hippocampus. Morphine was injected intraperitoneally and 5-HT_3 receptor antagonist (Y-25130) was injected into the CA1 region. The memory was assessed by a single-trial step-down passive avoidance task and tested after training. The step-down latency was used for the assessment of memory retention in adult male NMRI mice. One-way analysis of variance, followed by Tukey test, were used for the analysis of data.

Results: In this study, pre-test injection of morphine (dose, 5mg/kg) and Y-25130 (dose, 1ng/mouse) decreased memory acquisition process in the adult mice. In addition, ineffective dose of Y-25130 (0.01ng/mouse) along with ineffective dose of morphine (5mg/kg) induced amnesia in mice.

Conclusion: The results of this study showed that there is a synergistic effect between 5-HT_3 receptor antagonists of hippocampal CA_1 region and morphine.

Keywords: Memory; Serotonin; Morphine; Mice; Passive avoidance.

www.SID.ir

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره دوازدهم، شماره پنجم، مرداد ۹۷
صفحه ٦ الی ١٥
Archive of SID

مقاله پژوهشی
(Original Article)

نقش آنتاگونیست گیرنده $5\text{-}HT_3$ هیپوکامپ جانبی بر فراموشی ناشی از مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی

هانیه سادات لواسانی[۱]، بهاره پاکپور[۱*]، مجید نوائیان[۲]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[۲]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
بهاره پاکپور؛ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
b_pakpour@yahoo.com

تاریخ دریافت:۹۶/۳/۶

تاریخ پذیرش:۹۶/۵/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: فرآیندهای یادگیری و حافظه در نتیجه تأثیر متقابل سیستم‌های نوروترنسمیتری است که در مناطق مختلف مغزی همچون هیپوکامپ به‌وجود می‌آید. نتایج نشان داده‌اند سیستم‌های سروتونرژیک و اپیوئیدرژیک در نتایج رفتاری، یادگیری و حافظه دخالت دارند. در این مطالعه تأثیر سیستم سروتونرژیک (5-HT) هیپوکامپ جانبی (CA_1) بر فراموشی ناشی از مورفین بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، حیوانات به‌صورت دوطرفه و متقارن در ناحیه CA_1 هیپوکامپ جانبی، کانول‌گذاری شدند. مورفین به‌صورت درون‌صفاقی و آنتاگونیست گیرنده $5\text{-}HT_3$ (Y-25130) در ناحیه CA_1 تزریق شد. حافظه با استفاده از یک دستگاه اجتنابی مهاری یک‌طرفه اندازه‌گیری و بعد از آموزش، تست گرفته شد. میزان تأخیر در پایین آمدن از سکو به‌عنوان مبنایی برای سنجش حافظه در موش‌های بالغ نژاد NMRI در نظر گرفته شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی تحلیل شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، تزریق پیش از آموزش مورفین (دوز ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) و Y-25130 (به میزان ۱ نانوگرم بر موش)، فرآیند اکتسابی حافظه را در موش بالغ کاهش داد. همچنین دوز غیرمؤثر Y-2513025 (به میزان ۰/۰۱ نانوگرم بر موش) همراه با دوز غیرمؤثر مورفین (دوز ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) منجر به القای فراموشی موش‌ها شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد اثر تقویت‌کننده‌ای بین آنتاگونیست گیرنده $5\text{-}HT_3$ CA_1 با مورفین وجود دارد.

کلید واژه‌ها: حافظه؛ سرتونین؛ مورفین؛ موش‌ها؛ اجتنابی مهاری.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Lavasani HS, Pakpour B, Navaeian M. The role of $5HT_3$ receptor antagonist of the lateral hippocampus on amnesia induce by morphine in mice. Qom Univ Med Sci J 2018;12(5):6-15. [Full Text in Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

حافظه و یادگیری، ارتباطی تنگاتنگ با هم دارند. یادگیری را تغییرات سازشی در رفتار می‌دانند که در اثر کسب دانش از محیط اطراف به دست می‌آید و حافظه، توانایی ذخیره و جمع‌آوری اطلاعات تعریف شده است (۱) کشف ورودی‌های حسی و ارتباطی از قشر مخ به بخش هیپوکامپ و پاراهیپوکامپ سیستم لیمبیک در زمینه حافظه و یادگیری اهمیت زیادی دارد (۲،۱).

خانواده پپتید اپیوئیدی یک گروه بزرگ نوروپپتیدی با چندین عضو است که با G - پروتئین‌هایشان به گیرنده‌های اپیوئیدی (شامل:دلتا، کاپا، مو، نوسیسپتین، سیگما و زتا) متصل می‌شوند (۳)، از خصوصیات آن‌ها نیز می‌توان به ضددرد بودن و لذت‌بخش بودن اشاره کرد که پاسخ‌های ایمنی در بدن را کنترل کرده و در حافظه و یادگیری نقش دارند (۴).

مطالعات فیزیولوژیک نشان می‌دهند نوع تجویز مورفین و مدت استفاده از آن بر عملکرد هیپوکامپ تأثیر داشته و روش‌های مختلف تجویز تزریقی مورفین به‌صورت زیرجلدی، وریدی و درون صفاقی نیز باعث نارسایی در حافظه و یادگیری می‌شود. همچنین شواهد الکتروفیزیولوژی نشان داده است تزریق مورفین، فعالیت الکتریکی و القای LTP در نواحی CA_1، CA_3 و شکنج دندانه‌ای را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (۵). برخی مطالعات نشان می‌دهند آگونیست‌های اپیوئیدی نظیر مورفین، تمایل زیادی به گیرنده‌های Mu دارند که مورفین از طریق سیستم کولینرژیک بر روی حافظه و یادگیری عمل می‌کند (۶).

یکی از مهم‌ترین نوروترنسمیترها در سیستم عصبی مرکزی، سروتونین (5-hydroxy tryptamin/5-HT) است که از تریپتوفان مشتق شده و در دستگاه گوارش، پلاکت‌ها و در سیستم اعصاب مرکزی یافت می‌شود (۷). این میانجی به هورمون شادی معروف است و شامل چندین رفتار شناختی و غیرشناختی همچون حوصله و خُلق (۸)، سکس (۹)، اشتها و خواب (۱۰)، حافظه (۱۱) (۱۲)، احساس و اضطراب (۱۳)، دمای بدن (۱۴)، حرکت (۱۶،۱۵)، رفتار انقباضی عضلانی، عملکرد سیستم قلبی - عروقی و غدد درون‌ریز (۱۷) و جذب آب (۱۸) می‌باشد. تقریباً ۸۰٪ سروتونین کل بدن انسان، در سلول‌های انتروکرومافین روده وجود دارد (۱۷)، و مابقی در نورون‌های سروتونرژیک در CNS ساخته می‌شود (۱۷،۷). جسم‌های سلولی 5-HT به‌طور اساسی در هسته رافه قرار گرفته‌اند و آکسون آن‌ها در اغلب اعصابی‌که بیشتر در مناطق مختلف مغزی همچون هیپوکامپ، آمیگدال و هیپوتالاموس که در میان سیستم لیمبیک قرار دارند، مشخص شده است (۱۹). تمام خانواده‌های لیگاند 5-HT، بیان قابل‌توجهی در هیپوکامپ دارند (۱۹). گیرنده‌های سروتونینی به هفت خانواده طبقه‌بندی می‌شوند ($5\text{-HT}_{1\text{-}7}$) (۲۱،۲۰). در میان این گیرنده‌ها، 5-HT_3 تنها گیرنده متصل به کانال یونی از نوع لیگاند - دریچه‌ای است که فعال شدن آن منجر به نفوذ کلسیم و سدیم می‌گردد (۲۲،۲۱). 5-HT به‌عنوان یک عامل مؤثر، از طریق مسیرهای کولینرژیک در انتقال اطلاعات نقش دارد (۲۴،۲۳)، و تحریک آگونیست گیرنده 5-HT_3 نیز موجب تخریب در حافظه می‌شود. در برخی تحقیقات تقویت حافظه به‌وسیله آنتاگونیست 5-HT_3 (۲۲) و در بعضی دیگر بی‌اثری بر حافظه توسط آنتاگونیست 5-HT_3 نشان داده شده است (۲۶،۲۵). در مطالعات انجام‌شده اثر سروتونین بر حافظه به‌خوبی مشخص نشده و نتایج متناقضی به دست آمده است که این تناقضات به‌علت عوامل مختلفی؛ ازجمله گونه مورد آزمایش، نوع تست رفتاری، نواحی مختلف مغز، زمان آموزش و نوع دارو و غیره می‌باشد (۲۸،۲۷). همچنین مورفین (۶) و 5-HT (۲۴،۲۳) هر دو از طریق سیستم کولینرژیک در انتقال اطلاعات در حافظه و یادگیری نقش دارند.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۲۲-۳۰ گرم) تهیه‌شده از انستیتوپاستور ایران استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوانخانه تحقیقاتی منتقل و در هر قفس ۵ سر موش قرار گرفت. در طول آزمایش آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار داده شد و هر ۳ روز یک‌بار قفس موش‌ها تمیز می‌شد. دما در حیوانخانه بین ۳±۲۲ درجه سانتیگراد متغیر بود و به مدت یک‌هفته به موش‌ها اجازه داده شد خود را با شرایط محیط قبل از جراحی وفق دهند. در طول یک‌هفته هر روز حیوان‌ها لمس می‌شدند تا در موقع آزمایش استرس ناشی از گرفتن و کار با آنها وجود نداشته باشد. قابل‌ذکر است که از هر حیوان فقط یک‌بار استفاده می‌شد.

www.SID.ir

Archive of SID

در این مطالعه، حیوانات به ۹ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. تمام آزمایش‌ها در زمان معینی از روز (ساعت ۱۴-۸) انجام گرفت.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیرفعال)

[Inhibitory (Passive) Avoidance Apparatuse]: یک جعبه چوبی به ابعاد ۴۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر است که در کف دستگاه، ۲۹ میله فولادی به قطر ۰/۳ سانتی‌متر و به فاصله ۱ سانتی‌متر از یکدیگر قرار دارند. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد ۴×۴×۴ سانتی‌متر نیز در قسمت میانی کف دستگاه (روی میله‌های فلزی) قرار گرفته است، این میله‌ها به دستگاه تحریک‌کننده متصل و شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می‌شود.

در این مطالعه آزمایش‌ها در اتاق نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا انجام شد.

از هر دو داروی Y-25130 (ساخت شرکت Tocris انگلیس) به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده 5-HT_3 و مورفین سولفات (ساخت شرکت داروپخش ایران) استفاده گردید که بلافاصله قبل از انجام آزمایش‌ها، در محلول کلرید سدیم (۰/۹٪) استریل حل شدند.

موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (دوز ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و گزایلازین (دوز ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) بیهوش شدند. سپس حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند و دو کانول راهنما (اندازه ۲۲ گیج) یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، براساس اطلس پاکسینوس (۲۰۱۳) قرار داده شد (۲۹).

مختصات ناحیه CA_1 هیپوکامپ جانبی عبارت بودند از:

.AP=-۲ML±۱/۶ V=-۱/۵

بعد از قرار دادن کانول راهنما در مختصات مورد نظر، با استفاده از سیمان دندانپزشکی، کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو به داخل کانول‌ها، به حیوان به مدت ۷-۵ روز استراحت داده شد تا استرس و تخریب بافتی احتمالی که توسط جراحی صورت گرفته از بین برود و حیوان به حالت عادی خود برگردد (۳۱،۳۰).

{یادگیری احترازی غیرفعال (مدل Step-down)}: روشی موردقبول برای بررسی حافظه درازمدت در موش‌های کوچک آزمایشگاهی است.

در این روش، بررسی حافظه در ۲ روز متوالی و بین ساعت ۸ صبح تا ۲ بعدازظهر انجام می‌شود. روز اول یا روز آموزش، حیوان‌ها در دستگاه آموزش داده می‌شوند و در روز دوم یا روز آزمون، میزان حافظه حیوان‌های آموزش‌دیده بررسی می‌گردد.

در روز آموزش، هرحیوان به‌آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار گرفت و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت گردید. درصورتی‌که هر موش بیشتر از ۲۰ ثانیه روی سکو می‌ماند، از مطالعه حذف می‌شد. بلافاصله پس از پایین‌آمدن موش از مکعب چوبی و قرارگرفتن ۴ پای مؤثر بر روی میله‌های فولادی، شوک الکتریکی به مدت ۱۵ ثانیه (یک هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ ولت مستقیم) به حیوان داده می‌شد. {لازم به‌ذکر است در یادگیری اجتنابی مهاری (مدل Step-down)، حیوان در روز آموزش فقط یک‌بار در داخل دستگاه یادگیری اجتنابی قرار می‌گیرد و یک مرحله آموزش را دریافت می‌کند.}

جلسه آزمون، ۲۴ ساعت بعد از آموزش با روندی مشابه آموزش انجام شد؛ با این تفاوت که حیوان مورد آزمایش در روز آزمون شوک دریافت نکرد. مدت زمان توقف موش روی سکو در روز آزمون به‌عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری شد. حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان سقف) برابر ۳۰۰ ثانیه بود که به‌عنوان حافظه کامل در نظر گرفته شد (۳۳،۳۲).

برای تزریق دارو، پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن با اندازه ۲۷G که ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت‌دان تیوب نوزاد شماره ۴ متصل بود، در داخل کانول راهنما قرار داده شد و در هر کانول، ۰/۵ میکرولیتر دارو با استفاده از سرنگ همیلتون ۱ میکرولیتری (به مدت ۹۰-۶۰ ثانیه) تزریق شد. در حین تزریق به حیوان اجازه داده شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

در ادامه، پس از کشتن حیوانات با کلروفرم (۰/۵ میکرولیتر)، رنگ متیلن‌بلو ۱٪ به داخل هر کانول تزریق شد، سپس مغز از درون جمجمه خارج و در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. پس از یک‌هفته با ایجاد برش‌هایی در محل کانول به درون مغز، محل ورود کانول به مغز به‌وسیله میکروسکوپ لوپ مورد بررسی قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه‌شده، از اطلس پاکسینوس استفاده گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

موش‌ها در چهار گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه اول: (گروه شم) جراحی‌شده که ۵ دقیقه قبل از آموزش، سالین را (به میزان ۱ نانوگرم برموش) به‌صورت درون هیپوکامپی دریافت کردند.

گروه دوم، سوم و چهارم: گروه‌های شم جراحی‌شده‌ای بودند که ۵ دقیقه قبل از آموزش، Y-25130 را (با مقادیر ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ نانوگرم برموش) به‌صورت درون‌هیپوکامپی دریافت کردند.

در آزمایش تأثیر تزریق قبل از آموزش مورفین بر روی حافظه اجتنابی مهاری؛

گروه اول: گروه شم جراحی‌شده (۳۰ دقیقه قبل از آموزش)، سالین را (به میزان ۱ میکرولیتر بر موش) به‌صورت درون‌صفاقی دریافت کردند.

گروه دوم، سوم و چهارم نیز گروه‌های شم جراحی‌شده‌ای بودند که ۳۰ دقیقه قبل از آموزش، مورفین را در مقادیر مختلف (۱/۲۵، ۲/۵، ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) به‌صورت درون‌صفاقی دریافت کردند.

در آزمایش تأثیر تزریق درون صفاقی قبل از آموزش، دوز مؤثر مورفین و تزریق درون‌هیپوکامپی قبل از آموزش دوزهای مختلف Y-25130 بر روی حافظه اجتنابی مهاری؛

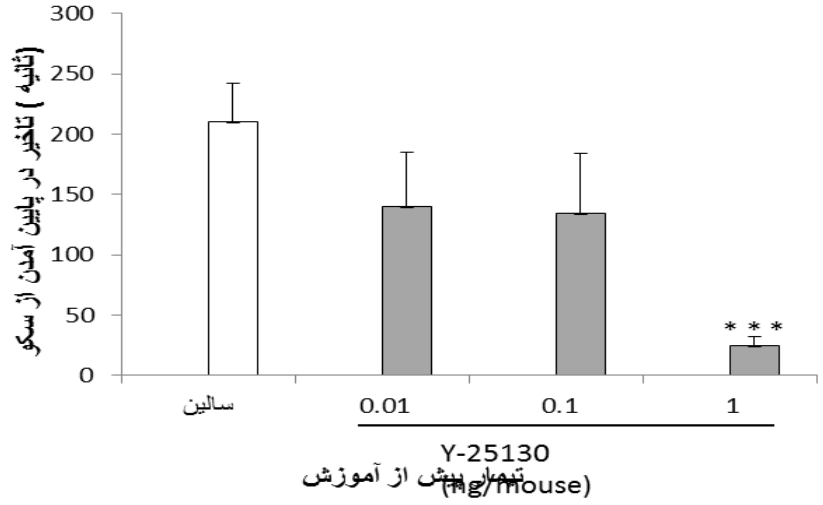
گروه اول: گروه تجربی جراحی‌شده (۳۰ دقیقه قبل از آموزش)، مورفین را (به میزان ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) به‌صورت درون‌صفاقی دریافت کردند و ۵ دقیقه قبل از آموزش، سالین را (به میزان ۱ میکرولیتر بر موش) دریافت کردند.

گروه دوم، سوم و چهارم: گروه تجربی جراحی‌شده‌ای بودند که ۳۰ دقیقه قبل از آموزش، مورفین را (به میزان ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) به‌صورت درون‌صفاقی دریافت کردند و ۵ دقیقه قبل از آموزش Y-25130 را در مقادیر مختلف (مقادیر ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ نانوگرم بر موش) دریافت کردند.

در همه آزمایش‌ها، زمان توقف حیوان روی سکو، به‌صورت میانه و چارک ثبت گردید. به‌علت تفاوت‌های خاص زیادی که در پاسخ‌های یادگیری حیوانات وجود داشت، داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS، آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی تحلیل شدند. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. سطح معنی‌داری، $p<۰/۰۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، تزریق درون‌هیپوکامپی قبل از آموزش دوزهای متفاوت آنتاگونیست $5\text{-}HT_3$ (Y-25130) روی حافظه اجتنابی مهاری در موش‌های کوچک آزمایشگاهی، براساس آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد تزریق قبل از آموزش Y-25130، حافظه اجتنابی مهاری را تغییر داده است [$F(۳/۲۸)=۴/۲۷$، $^{***}p<۰/۰۰۵$]. براساس آزمون مکمل توکی، تزریق قبل از آموزش و درون‌هیپوکامپی Y-25130 (۱ نانوگرم برموش)، تأخیر در پایین‌آمدن از سکو، اصطلاحاً میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش داد (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: اثرات تزریق قبل از آموزش Y-25130 بر روی حافظه اجتنابی مهاری.

چهار گروه از حیوانات تزریق درون‌هیپوکامپی دوزهای مختلفی از Y-25130 (۰/۰۱، ۰/۱، ۱ نانو گرم بر موش) را ۵ دقیقه قبل از آموزش دریافت کرده‌اند.

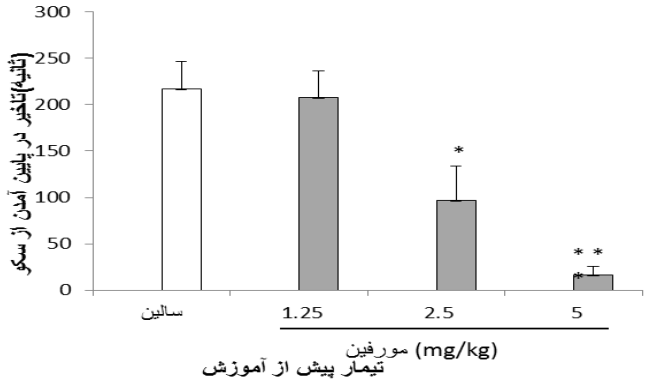
هر ستون نمایانگر میانگین ± انحراف معیار مربوط به ۸ موش در هرگروه است $p<۰/۰۰۱$ *در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.**

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج تزریق قبل از آموزش دوزهای متفاوت مورفین (۱/۵۲، ۲/۵، ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) به‌صورت درون‌صفاقی روی حافظه اجتنابی مهاری در موش‌های کوچک آزمایشگاهی براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد تزریق قبل از آموزش مورفین، حافظه اجتنابی مهاری را تغییر داده است [$F_{(3,28)}=9/538$، $p<0/001$].

طبق آنالیز مکمل توکی، تزریق درون‌صفاقی مورفین، (قبل از آموزش) همراه با تأخیر در پایین‌آمدن از سکو، اصطلاحاً میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش داد (نمودار شماره ۲).

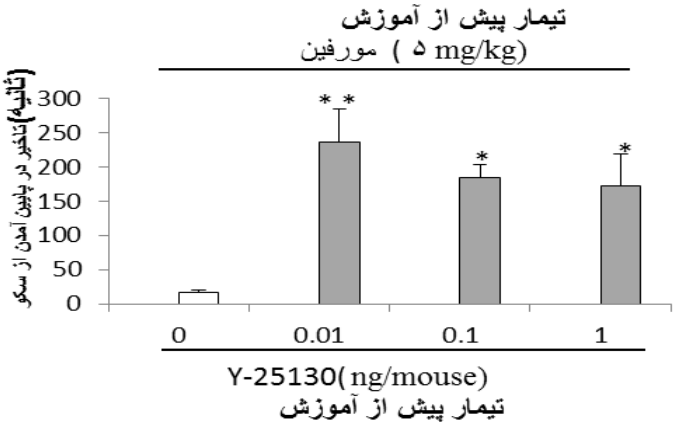


نمودارشماره ۲: اثرات تزریق قبل از آموزش مورفین بر روی حافظه اجتنابی مهاری.
یک گروه، تزریق درون‌صفاقی از سالین (یک میکرولیتر برموش) را ۳۰ دقیقه قبل از آموزش دریافت کرده‌اند.
چهار گروه از حیوانات تزریق درون‌صفاقی دوزهای مختلفی از مورفین (۱/۲۵، ۲/۵، ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) را ۳۰ دقیقه قبل از آموزش دریافت کرده‌اند. هر ستون نمایانگر میانگین ± انحراف معیار مربوط به ۸ موش در هرگروه است.
$p<0/001$*و $p<0/05$*در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.**

نتایج تزریق درون هیپوکامپی همزمان دوز مؤثر مورفین (۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) به‌صورت درون‌صفاقی (قبل از آموزش) و تزریق Y-25130 در مقادیرمختلف (۰/۰۱، ۰/۱، ۱ نانوگرم برموش) قبل از آموزش به‌صورت درون‌هیپوکامپی روی حافظه اجتنابی مهاری در موش‌های کوچک آزمایشگاهی، براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد تزریق درون‌صفاقی همزمان دوز مؤثر مورفین (دوز ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) و Y-25130 در مقادیر مختلف (۰/۰۰۱، ۰/۱، ۱ نانوگرم بر موش) قبل از آموزش باعث بازگشت حافظه اجتنابی مهاری در روز آزمون شده است.

[$F_{(3/28)}=3/78$ $^{**}p<0/01$ ، $^{*}p<0/1$]

طبق آنالیز مکمل توکی، تزریق مقادیر مختلف Y-25130 (۰/۰۰۱، ۰/۱، ۱ نانوگرم برموش) منجر به بازگشت حافظه اجتنابی تخریب‌شده به‌وسیله مورفین در روز آزمون شد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: تأثیر تزریق درون‌هیپوکامپی دوزهای مختلف 25130-بر حافظه تخریب‌شده ناشی از مورفین بر روی حافظه اجتنابی مهاری.
هر چهار گروه تزریق درون‌صفاقی مورفین (۵ نانوگرم برموش) را ۳۰ دقیقه قبل از آموزش دریافت کرده‌اند. این چهار گروه از حیوانات تزریق درون هیپوکامپی مقادیر مختلفی از Y-25130 (۰/۰۱، ۰/۱، ۱ نانوگرم بر موش) را ۵ دقیقه قبل از آموزش دریافت کرده‌اند.
هر ستون نمایانگر میانگین± انحراف معیار مربوط به ۸ موش در هر گروه است. $p<0/01$و $p<0/05$***

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در این مطالعه تأثیر تزریق دوطرفه آنتاگونیست گیرنده 5-HT_3 بر هیپوکامپ جانبی CA_1 و تأثیر آن بر فراموشی القاشده به‌وسیله مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی بررسی گردید. مطالعات نشان داده‌اند مورفین باعث نقص‌های شناختی شده و استفاده از اپیوئیدها به‌ویژه مورفین، حافظه و یادگیری را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد که می‌تواند نورون‌زایی را در هیپوکامپ مهار کند (۳۳). همچنین مشخص شده است تجویز زیرپوستی مورفین به‌صورت حاد، اکتساب حافظه را در مسیرهای مختلفی مثل Y - ماز و آزمایش‌های اجتنابی فعال و غیرفعال مهار می‌کند (۳۴). Li و همکاران گزارش کردند تجویز زیرپوستی مورفین در موش‌های سوری به‌علت مهار سیستم کولینرژیکی، منجر به اختلال حافظه در آزمایش ماز آبی موریس می‌گردد (۳۵). معتمدی و همکاران نیز اعلام کردند مورفین خوراکی به‌صورت حاد باعث ایجاد نقص در یادگیری فضایی در آزمایش ماز آبی موریس می‌شود (۳۶). در یک آزمایش اجتنابی غیرفعال که توسط زرین‌دست بر روی موش‌های سوری انجام شد، مشاهده گردید تزریق زیرپوستی مورفین به‌صورت حاد، بازیابی حافظه را مختل می‌کند (۳۷). در تحقیق دیگری نیز زرین‌دست و همکاران نشان دادند تزریق مورفین در ناحیه تگمنتال شکمی به‌صورت حاد در موش‌های سوری در آزمایش اجتنابی غیرفعال باعث تخریب بازیابی حافظه می‌گردد (۳۴). Ragozzino نیز گزارش کرد تزریق مورفین به‌صورت حاد در ناحیه صفاقی در موش‌های صحرایی باعث تخریب حافظه می‌شود (۴۲). همچنین Rezayof در آزمایش اجتنابی غیرفعال روی موش‌های سوری نشان داد تجویز زیرپوستی مورفین به‌شکل حاد، یادگیری را مختل می‌کند (۳۹). یکی از عوامل توجیه‌کننده تخریب روندهای حافظه و یادگیری در اثر تجویز حاد مورفین، وابستگی سیستم اوپیوئیدی با سیستم کولینرژیکی است (۴۳-۴۰).آگونیست‌های اوپیوئیدی مثل مورفین، تمایل زیادی به گیرنده‌های مو - اوپیوئیدی دارند و با اتصالشان به این گیرنده‌ها باعث مهار فعالیت کولینرژیک در هیپوکامپ و کاهش رهایی استیل‌کولین در بسیاری از نواحی مغز می‌شوند (۴۴،۳۵). از آنجایی که استیل‌کولین یکی از میانجی‌های مؤثر در بهبود یادگیری و حافظه است؛ در نتیجه مهار رهایی آن به‌وسیله اوپیوئیدها اثر منفی روی حافظه و یادگیری دارد (۳۵). در مطالعه حاضر مشاهده گردید تزریق قبل از آموزش دوزهای مختلف مورفین باعث تغییر حافظه اجتنابی مهاری و تخریب آن می‌شود. ناصحی و همکاران نشان دادند تزریق درون هیپوکامپی آگونیست رسپتور 5-HT_3 ,MCHL، آنتاگونیست 5-HT3 (Y-25130)، آگونیست 5-HT_4 (RS67333) و آنتاگونیست 5-HT_4 (RS23597)، منجر به تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌گردد (۴۵). همچنین نتایج سایر مطالعات نشان می‌دهد کاهش سروتونین مغز منجر به تخریب حافظه شکل‌گرفته‌شده می‌شود (۲۵). در مقابل، در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد افزایش سروتونین مغز باعث بهبود حافظه می‌گردد (۲۶،۲۵). این نتایج، بیانگر نقش بسیار متفاوت 5-HT روی حافظه بوده (۲۵)، و این نقش‌های متفاوت سروتونین به‌علت وجود گیرنده‌های پیش یا پس‌سیناپسی آن است (۴۶،۳۸)، که به‌همین دلیل بر روی حافظه تأثیرات متفاوتی خواهد گذاشت (۲۱). گیرنده‌های 5-HT_3 در مغز هم روی نواحی پیش‌سیناپسی و هم پس‌سیناپسی قرار دارند (۲۱). در مطالعه حاضر، تزریق درون‌هیپوکامپی Y-25130 (قبل از آموزش) باعث تغییر حافظه اجتنابی مهاری و تخریب آن شد. همچنین تزریق درون‌صفاقی دوز مؤثر مورفین (قبل از آموزش) و تزریق همزمان و درون‌هیپوکامپی Y-25130 در مقادیر مختلف (قبل از آموزش) بر روی حافظه اجتنابی مهاری مورد آزمایش قرار گرفت که در آن تزریق دوزهای مختلف سروتونین همراه با دوز مؤثر مورفین منجر به بازگشت حافظه تخریب‌شده به‌وسیله مورفین شد و این بازگشت حافظه، به‌خصوص در دوز غیرمؤثر سروتونین (۰/۰۱ نانوگرم برموش) بیشتر مشاهده گردید؛ این نتیجه، نشان‌دهنده برهمکنش مؤثر بین سیستم‌های سروتونینی و اوپیوئیدی است. از آنجایی‌که هسته رافه (منبع تولید سروتونین) خروجی‌هایی را به سمت نخاع و دیگر قسمت‌ها دارد (۴۷)، و این خروجی‌ها منجر به تولید مورفین و اثرات ضددردی آن می‌شود (۳۴)؛ لذا این احتمال وجود دارد که تزریق درون مغزی سروتونین منجر به آزادسازی مقادیر اضافی مورفین در بدن شده که این مقدار اضافی با مقدار تزریق‌شده به‌صورت غیرمؤثر عمل می‌کند و باعث بازگشت حافظه یا به عبارت دیگر، بی‌اثر بودن آن بر حافظه می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

از طرف دیگر، با توجه به اینکه هر دو سیستم سروتونرژیک و اوپیوئیدرژیک از طریق مسیرهای کولینرژیک و گلوتاماترژیک عمل کرده و هر دو سیستم از طریق مهار کولینرژیکی اثرگذار هستند؛ به‌نظر می‌رسد دوز مؤثر هر دو باهم به‌صورت دوز غیرمؤثر عمل می‌کنند که منجر به تخریب حافظه نمی‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد برهمکنش مؤثری بین سیستم‌های سروتونرژیک و اوپیوئیدرژیک وجود دارد. در گزارش‌های مختلف، اثر سروتونین بر حافظه به‌خوبی مشخص نشده و نتایج متناقضی را نشان داده است که این تناقضات به‌علت عوامل مختلفی؛ ازجمله گونه مورد آزمایش، نوع تست رفتاری، نواحی متفاوت مغز، زمان آموزش، نوع دارو و غیره می‌باشد. همچنین در ناحیه CA_1 هیپوکامپ، گیرنده‌های سروتونین و اوپیوئیدی موجود می‌توانند اثر یکدیگر را تقویت کرده و با هم اثر سینرژستیک داشته باشند.

References:

1. Balfour DJ, Wright AE, Benwell ME, Birrell CE. The putative role of extra-synaptic mesolimbic dopamine in the neurobiology of nicotine dependence. Behav Brain Res 2000;113(1-2):73-83. PubMed
2. Ameri A. The effects of cannabinoids on the brain. Prog Neurobiol 1999;58(4):315-48. PubMed
3. Cai Z, Ratka A. Opioid system and Alzheimer's disease. Neuromolecular Med 2012;14(2):91-111. PubMed
4. Akil H, Watson SJ, Young E, Lewis ME, Khachaturian H, Walker JM. Endogenous opioids: Biology and function. Annu Rev Neurosci 1984;7:223-55. PubMed
5. Allouche S, Roussel M, Marie N, Jauzac P. Differential desensitization of human δ-opioid receptors by peptide and alkaloid agonists. Eur J Pharmacol 1999;371(2-3):235-40. PubMed
6. Nielson KA, Lorber W. Enhanced post-learning memory consolidation is influenced by arousal predisposition and emotion regulation but not by stimulus valence or arousal. Neurobiol Learn Mem 2009;92(1):70-9. PubMed
7. Roth BL. The serotonin receptors: From molecular pharmacology to human therapeutics: Philadelphia: Humana Press; 2008.
8. Meeter M, Talamini L, Schmitt JA, Riedel WJ. Effects of 5-HT on memory and the hippocampus: model and data. Neuropsychopharmacology 2006;31(4):712-20. PubMed
9. Rudissaar R, Pruus K, Skrebuhhova T, Allikmets L, Matto V. Modulatory role of 5-HT 3 receptors in mediation of apomorphine-induced aggressive behaviour in male rats. Behav Brain Res 1999;106(1-2):91-6. PubMed
10. Senthilvelan M, Ravindran R, Samson J, Devi RS. Serotonin turnover in different duration of sleep recovery in discrete regions of young rat brain after 24h REM sleep deprivation. Brain Dev 2006;28(8):526-8. PubMed
11. Egashira N, Yano A, Ishigami N, Mishima K, Iwasaki K, Fujioka M, et al. Investigation of mechanisms mediating 8-OH-DPAT-induced impairment of spatial memory: Involvement of 5-HT 1A receptors in the dorsal hippocampus in rats. Brain Res 2006;1069(1):54-62. PubMed
12. Gonzalez R, Chávez-Pascacio K, Meneses A. Role of 5-HT 5A receptors in the consolidation of memory. Behav Brain Res 2013;252:246-51. PubMed

www.SID.ir

Archive of SID

13. Chegini H-R, Nasehi M, Zarrindast M-R. Differential role of the basolateral amygdala 5-HT3 and 5-HT4 serotonin receptors upon ACPA-induced anxiolytic-like behaviors and emotional memory deficit in mice. Behav Brain Res 2014;261:114-26. PubMed

14. Naumenko VS, Kondaurova EM, Popova NK. Central 5-HT 3 receptor-induced hypothermia in mice: Interstrain differences and comparison with hypothermia mediated via 5-HT 1A receptor. Neurosci Lett 2009;465(1):50-4. PubMed

15. Charnay Y, Léger L. Brain serotonergic circuitries. Dialogues Clin Neurosci 2010;12(4):471-87. PubMed

16. van Hooft JA, Yakel JL. 5-HT 3 receptors in the CNS: 3B or not 3B? Trends Pharmacol Sci 2003;24(4):160-57. Link

17. Hannon J, Hoyer D. Molecular biology of 5-HT receptors. Behav Brain Res 2008;195(1):198-213. PubMed

18. Castro L, De Castro-e-Silva E, Lima A, Souza F, Maldonado I, Macedo D, et al. Central 5-HT 4 receptors and drinking behavior. Pharmacol Biochem Behav 2000;66(2):443-8. PubMed

19. Berumen LC, Rodríguez A, Miledi R, García-Alcocer G. Serotonin receptors in hippocampus. ScientificWorldJournal 2012;2012:823493. PubMed

20. Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane E, et al. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). Pharmacol Rev 1994;46(2):157-203. PubMed

21. Faerber L, Drechsler S, Ladenburger S, Gschaidmeier H, Fischer W. The neuronal 5-HT 3 receptor network after 20 years of research—evolving concepts in management of pain and inflammation. Eur J Pharmacol 2007;560(1):1-8. PubMed

22. Fakhfouri G, Rahimian R, Ghia J-E, Khan WI, Dehpour AR. Impact of 5-HT 3 receptor antagonists on peripheral and central diseases. Drug Discov Today 2012;17(13-14):741-7. PubMed

23. Buhot MC, Segu WL. S. 15.03 Serotoninergic receptor subtypes in cognition. Eur Neuropsychopharm 2003;13(4):S135-S6. Link

24. Cassel JC. 9-Experimental Studies on the Role (s (of Serotonin in Learning and Memory Functions. Handbook of Behavioral Neuroscience. Elsevier; 2010. p. 429-47.

25. Meneses A. Stimulation of 5-HT 1A, 5-HT 1B, 5-HT 2A/2C, 5-HT 3 and 5-HT 4 receptors or 5-HT uptake inhibition: short-and long-term memory. Behav Brain Res 2007;184(1):81-90. PubMed

26. Meneses A. Do serotonin 1–7 receptors modulate short and long-term memory? Neurobiol Learn Mem 2007;87(4):561-72. PubMed

27. Manuel-Apolinar L, Rocha L, Pascoe D, Castillo E, Castillo C, Meneses A. Modifications of 5-HT 4 receptor expression in rat brain during memory consolidation. Brain Res 2005;1042(1):73-81. PubMed

28. Petkov VD, Belcheva S, Konstantinova E, Kehayov R. Participation of different 5-HT receptors in the memory process in rats and its modulation by the serotonin depletor p-chlorophenylalanine. Acta Neurobiol Exp (Wars) 1995;55(4):243-52. PubMed

29. Paxinos G, Franklin K. Paxinos and Franklin's the mouse brain in stereotaxic coordinates. 4th ed. Imprint: Academic Press; 2013. Elsevier

30. Nasehi M, Piri M, Jamali-Raeufy N, Zarrindast MR. Influence of intracerebral administration of NO agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. Physiol Behav 2010;100(4):297-304. PubMed

31. Yousefi B, Farjad M, Nasehi M, Zarrindast MR. Involvement of the CA1 GABA a receptors in ACPA-induced impairment of spatial and non-spatial novelty detection in mice. Neurobiol Learn Mem 2013;100:32-40. PubMed

www.SID.ir

Archive of SID

32. Nasehi M, Yavari SA, Zarrindast MR. Synergistic effects between CA1 mu opioid and dopamine D1-like receptors in impaired passive avoidance performance induced by hepatic encephalopathy in mice. Psychopharmacology (Berl) 2013;227(3):553-66. PubMed

33. Eisch AJ, Barrot M, Schad CA, Self DW, Nestler EJ. Opiates inhibit neurogenesis in the adult rat hippocampus. Proc Natl Acad Sci U S A 2000;97(13):7579-84. PubMed

34. Zarrindast M-R, Farajzadeh Z, Rostami P, Rezayof A, Nourjah P. Involvement of the ventral tegmental area (VTA) in morphine-induced memory retention in morphine-sensitized rats. Behav Brain Res 2005;163(1):100-6. PubMed

35. Li Z, Wu C, Pei G, Xu N. Reversal of morphine-induced memory impairment in mice by withdrawal in Morris water maze: Possible involvement of cholinergic system. Pharmacol Biochem Behav 2001;68(3):507-13. PubMed

36. Motamedi F, Ghasemi M, Davoodi F, Naghdi N. Comparison of learning and memory in morphine dependent rats using different behavioral models. Iranian J Pharm Res 2003;2(4):225-30. Link

37. Khalilzadeh A ,Zarrindast M-R, Djahanguiri B. Effects of intracerebroventricular administration of ultra low doses of histaminergic drugs on morphine state-dependent memory of passive avoidance in mice. Behav Brain Res 2006;166(1):184-7. PubMed

38. Haider S, Khaliq S, Tabassum S, Haleem DJ. Role of Somatodendritic and postsynaptic 5-HT1A receptors on learning and memory functions in rats. Neurochem Res 2012;37(10):2161-6. PubMed

39. Rezayof A, Amini R, Rassouli Y, Zarrindast M-R. Influence of nitric oxide on morphine-induced amnesia and interactions with dopaminergic receptor agents. Physiol Behav 2006;88(1-2):124-31. PubMed

40. Zarrindast M-R, Nouraei N, Khallilzadeh A, Askari E. Influence of acute and sub-chronic nicotine pretreatment on morphine state-dependent learning. Behav Brain Res 2006;173(2):268-73. Link

41. Ukai M, Lin HP. Involvement of μ 1-opioid receptors and cholinergic neurotransmission in the endomorphins-induced impairment of passive avoidance learning in mice. Behav Brain Res 2002;129(1-2):197-201. Link

42. Ragozzino ME, Gold PE. Task-dependent effects of intra-amygdala morphine injections: attenuation by intra-amygdala glucose injections. J Neurosci 1994;14(12):7478-85. Link

43. Introini IB, Baratti CM. The impairment of retention induced by β-endorphin in mice may be mediated by a reduction of central cholinergic activity. Behav Neural Biol 1984;41(2):152-63.

44. Decker MW, McGaugh JL. The role of interactions between the cholinergic system and other neuromodulatory systems in learing and memory. Synapse 1991;7(2):151-68. PubMed

45. Nasehi M, Kafi F, Khakpai F, Zarrindast M-R. Involvement of the serotonergic system of the ventral hippocampus (CA3) on amnesia induced by ACPA in mice. Behav Brain Res 2015;286:356-63. PubMed

46. Perez-Garcia G, Meneses A. Memory formation, amnesia, improved memory and reversed amnesia: 5-HT role. Behav Brain Res 2008;195(1):17-29. PubMed

47. Perez-Garcia G, Meneses A. Ex vivo study of 5-HT 1A and 5-HT 7 receptor agonists and antagonists on cAMP accumulation during memory formation and amnesia. Behav Brain Res 2008;195(1):139-46. PubMed

www.SID.ir