Archive of SID

مجـلهی علمی، پژوهشی دانشگاه علـوم پزشکی زنجـان
دورهی ۱۸، شمارهی ۷۲، پاییز ۱۳۸۹، صفحات ۱ تا ۱۲

نقش گیرندههای D1/D2 دوپامینی در فراموشی القا شده با ۱ـ متیل ـ بتا ـ کربولین (هارمان) بر روی حافظهی اجتنابی مهاری با استفاده از مدل Step-Down

دکتر محمد ناصحی[۱]، دکتر مرتضی پیری[۲]، مریم السادات شاهین[۳]، دکتر محمدرضا زرین‌دست[۴]

نویسندهی مسئول: گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار mo58na@yahoo.com

دریافت: ۸۸/۶/۱۱ پذیرش: ۸۹/۱/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اینکه انواع مختلف بتا ـ کربولین‌ها در رژیم غذایی به مقدار بسیار زیاد وجود دارد، در این مطالعه اثر سیستم دوپامینی بر روی فراموشی القا شده با هارمان که نوعی بتا ـ کربولین است، مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: *روش اجتنابی مهاری (غیر فعال) با مدل Step-Down برای بررسی حافظه در موش‌های کوچک آزمایشگاهی به‌کار گرفته شد.*

یافته‌ها: *تزریق درون صفاقی هارمان (۵ و ۱۰میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) بلافاصله بعد از آموزش به صورت وابسته به دوز، تثبیت حافظه‌ی اجتنابی مهاری را در حیوان کاهش داد. به‌کار بردن آپومرفین (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) قبل از آزمون به تنهایی اثر بر روی فراخوانی حافظه‌ی اجتنابی مهاری نداشته، ولی منجر به بازگشت حافظه‌ی تخریب شده ناشی از تزریق بعد از آموزش هارمان گردید. به‌علاوه به‌کار بردن SCH23390 (۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) یا سولپیراید (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) به تنهایی تأثیری بر روی یادآوری حافظه نداشت، در حالی‌که در حیواناتی که تثبیت حافظه در آن‌ها تحت تأثیر تزریق بعد از آموزش داروی هارمان تخریب شده بود، تزریق SCH23390 (۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) و یا سولپیراید (۲۵ و۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) فراموشی القا شده با هارمان را کاهش داد.*

نتیجه‌گیری: *یافته‌ها نشان داد که احتمالاً سیستم دوپامینرژیک در فراموشی القا شده توسط هارمان نقش دارد و ممکن است اثرات آن‌ها از طرق مختلف باشد.*

واژگان کلیدی: هارمان، آپومرفین، SCH23390 ، سولپیراید، یادگیری اجتنابی مهاری، مدل Step-Down، موش کوچک آزمایشگاهی

مقدمه

تعدای از آلکالوئیدهای بتاـ کربولین، نظیر ۱ـ متیل ـ بتـا ـ کربولین (هارمان) و ۱ـ متیل ـ۷ـ متوکسی ـ۳و۴ـ دی هیدروـ بتاـ کربولین (هارمالین) به طور طبیعی در غذای انسان وجـود دارند. این ترکیبات در غذاهای گیـاهی معمـولی نظیـر گنـدم، برنج، ذرت، جو، چاودار، انگور، سرکه و قارچ و همچنـین در ترکیبات استنشاقی مشتق از گیاهان نظیر تنباکو یافت می‌شـوند (۱). این ترکیبات همچنین در پلاسمای خون، قلب، کبد، کلیه و بافت‌های مغزی وجود دارند (۴-۲). مقدار این ترکیبـات در

۱- دکترای فیزیولوژی جانوری، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار
۲- دکترای فیزیولوژی جانوری، مربی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل
۳- کارشناس زیست شناسی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، شاخه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری
۴- دکترای فارماکولوژی، استاد دانشکده پزشکی دانشگاه تهران

www.SID.ir

Archive of SID

پلاسمای خون افراد سیگاری، الکلی، افراد معتاد به هروئین، در بیماران با لرزش ذاتی و بیماران پارکینسونی زیاد می‌باشد (۵). به نظر می‌رسد این ترکیبات نقش اساسی در پاتوفیزیولوژی اختلالات مختلف سیستم عصبی مرکزی دارند. مدارک همچنین نشان می‌دهند که تولید بتا ـ کربولین به روش آنزیمی صورت می‌گیرد و اگر پیش‌ساز آن‌ها در محیط فاقد آنزیم قرار گیرد، به هیچ عنوان این ترکیبات تولید نمی‌شوند (۶). بتاـ کربولین‌ها فارماکولوژی پیچیده‌ای دارند و هر کدام از ترکیبات متعلق به این گروه می‌توانند به پروتئین‌های مختلفی نظیر مونوآمین اکسیداز A و B، گیرنده‌های بنزودیازپینی، ایمیدازولین، دوپامین و گیرنده‌ی ۵ــ هیدروکسی تریپتامین وصل شوند و عملکرد آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهند (۹-۷). مطالعات نشان می‌دهد که آلکالوئیدهای بتا ـ کربولین از طریق مهار برداشت مونوآمین‌ها باعث افزایش سطح نوراپی‌نفرین، دوپامین و سروتونین در فضای خارج سلولی برخی از نواحی مغز می‌شوند. این ترکیبات همچنین از طریق مهار مونوآمین اکسید از A و B نیز می‌توانند باعث افزایش مونوآمین‌ها شوند (۱۰). دوپامین اثرات خود را از طریق اثر بر روی گیرنده‌های ویژه غشایی اعمال می‌نماید (۱۱). گیرنده‌های دوپامینی بر اساس شباهت ساختاری و فارماکولوژیکی به دو گروه گیرنده‌های مشابه D1 و گیرنده‌های مشابه D2 تقسیم‌بندی می‌شوند (۱۲). استفاده از مدل‌های مختلف یادگیری نشان می‌دهد که گیرنده‌های دوپامینی نقش اساسی در تعدیل فعالیت نورون‌های دخیل در انواع مختلف حافظه و یادگیری دارند. گزارشات نشان می‌دهد که گیرنده‌های دوپامینی می‌توانند توانایی یادگیری و ذخیره اطلاعات را تغییر دهند (۱۳). اندازه‌گیری مدت زمان تأخیر حیوان بر روی سکو، قبل از پایین آمدن از آن، نوعی سنجش حافظه‌ی اجتنابی مهاری می‌باشد، که برای مطالعه‌ی حافظه و یادگیری در موش‌های کوچک آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه بتاـ کربولین در زنجیره‌ی غذایی ما حضور دارد و این آلکالوئید اثرات فارماکولوژیکی زیادی، نظیر اثرات تشنج‌زایی و ضد تشنجی، ایجاد لرزش، اثرات آنتی اکسیدانی و تعدیل عملکرد سیستم ایمنی دارد و با در نظر داشتن این موضوع که تا کنون اثرات هارمان بر روی حافظه و یادگیری مورد بررسی قرار نگرفته است، در بخش اول این تحقیق برای اولین بار اثر هارمان را بر روی حافظه‌ی اجتنابی مهاری، و در مرحله‌ی بعد نقش گیرنده‌های D1/D2 دوپامینی را بر روی فراموشی القا شده با هارمان در موش‌های کوچک آزمایشگاهی با استفاده از مدل Step-Down حافظه‌ی اجتنابی مورد بررسی قرار دادیم.

روش و بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی از موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۲۲تا ۳۰ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شد، استفاده گردید. حیوان ها به حیوانخانه‌ی تحقیقاتی منتقل شده، در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیار آنان قرار گرفت. دمای حیوانخانه بین ۳ ± ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد متغیر بود. قبل از جراحی به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. موش‌ها در گروه‌های ده تایی قرار داده شدند. همه آزمایش‌ها در طول روز انجام شد. دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیر فعال)، مدل Step-Down، جعبه‌ی چوبی به ابعاد (۴۰×۳۰× ۳۰ سانتی‌متر مکعب) بود. کف دستگاه با ۲۹ میله‌ی فولادی به قطر ۰/۳ سانتی‌متر و به فاصله‌ی ۱ سانتی‌متر از یکدیگر مشخص شده بود. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد (۴× ۴×۴ سانتی‌متر مکعب) در قسمت میانی کف دستگاه (روی میله‌های فلزی) قرار گرفته بود، این میله‌ها به دستگاه تحریک کننده متصل شده، شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می‌شد. آزمایش‌ها در اتاق نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا انجام گردید. در این تحقیق داروهای هارمان (سیگما، آمریکا)،

www.SID.ir

Archive of SID

آپومرفین (آگونیست گیرنده‌های D1 و D2 دوپامینی)، SCH23390 (آنتاگونیست گیرنده D1) و سولپیراید (آنتاگونیست گیرنده D2) (سیگما، آمریکا) مورد استفاده قرار گرفت. هارمان در سرم فیزیولوژی حل شد و محلول به مدت یک ساعت به منظور حل شدن کامل تکان داده شد، آپومرفین و SCH23390 بلافاصله قبل از آزمایش در سرم فیزیولوژی حل شدند. سولپیراید در یک قطره از اسید استیک گلاسیال حل شد و با سرم فیزیولوژی به حجم پنج میلی‌لیتر رسید. گروه‌های کنترل، سالین یا حامل را دریافت کردند. تمامی داروها به صورت درون صفاقی تزریق شد. روش اجتنابی مهاری برای بررسی حافظه در موش‌های کوچک آزمایشگاهی در دو روز متوالی انجام شد. روز اول یا روز آموزش شامل آموزش دادن حیوان‌ها در دستگاه بوده، در روز دوم یا روز آزمون میزان حافظه‌ی حیوان‌های آموزش دیده بررسی شد. در روش اجتنابی مهاری مدل Step-Down، هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار گرفت و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت گردید. در صورتی که هر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو می‌ماند، آن موش حذف می‌شد. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای موش بر روی میله‌های فولادی به مدت ۱۵ ثانیه، شوک الکتریکی (۱هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ ولت مستقیم) دریافت می‌شد. شوک توسط یک محرک (گرس S44، وست وارینک، RI، آمریکایی) به میله های فولادی انتقال داده می‌شد (۱۴). مراحل آموزش در بین ساعت ۸ صبح الی ۲ بعدازظهر انجام گرفت. جلسه‌ی آزمون ۲۴ساعت بعد از آموزش با پروسه‌های مشابه آموزش انجام می‌شد به جز اینکه شوکی در این روز دریافت نمی‌گردید. مدت زمان توقف موش بر روی سکو به عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری می‌شد. حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان سقف Cut-Off) برابر با ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد (۱۵). ده حیوان در هر گروه مورد استفاده قرار گرفت. در آزمایشاتی که حیوانات دو تزریق دریافت می‌کردند، گروه کنترل نیز دو تزریق سالین یا حامل را دریافت می‌کرد.

آزمایش اول، بررسی اثر هارمان بعد از آموزش بر روی حافظه‌ی اجتنابی مهاری: چهار گروه حیوان در این آزمایش به کار رفت. گروه اول بلافاصله پس از آموزش و ۳۰ دقیقه قبل از آزمون، سالین را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. سه گروه دیگر دوزهای مختلف هارمان (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را بلافاصله پس از آموزش و سالین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را ۳۰ دقیقه قبل از آزمون دریافت کردند.

آزمایش دوم، بررسی تأثیر تزریق آپومرفین بر حافظه‌ی اجتنابی تخریب شده ناشی از هارمان: در آزمایش دوم هشت گروه حیوان به کار رفت. چهار گروه اول سالین را بلافاصله پس از آموزش دریافت کردند و در روز آزمون، ۱۵ دقیقه قبل از آزمون، سالین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) یا دوزهای مختلف آپومرفین (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را دریافت داشتند. چهار گروه باقی مانده بلافاصله بعد از آموزش، هارمان (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) و ۱۵ دقیقه قبل از آزمون، سالین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) یا دوزهای مختلف آپومرفین (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را دریافت کردند.

آزمایش سوم، بررسی اثر تزریق SCH23390، بر حافظه‌ی اجتنابی تخریب شده ناشی از هارمان: در آزمایش سوم هشت گروه حیوان به کار رفت. چهار گروه اول سالین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را بلافاصله بعد از آموزش دریافت کردند و در روز آزمون ، ۱۵ دقیقه قبل از آزمون، سالین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) یا دوزهای مختلف SCH23390 (۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را دریافت داشتند. چهار گروه باقی مانده هارمان (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را بلافاصله بعد از آموزش

www.SID.ir

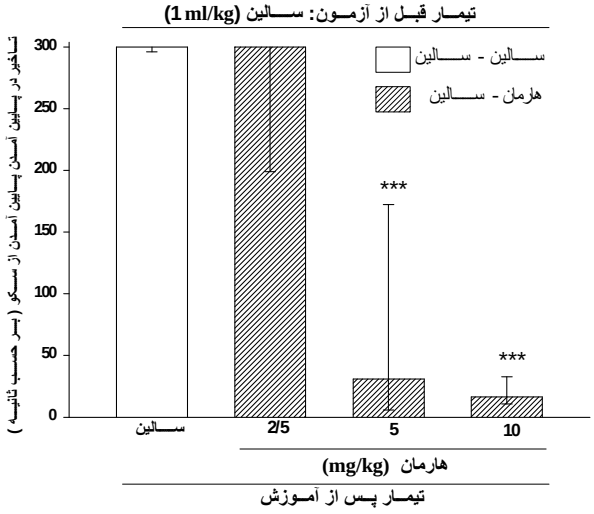
Archive of SID

دریافت کردند و در روز آزمون، ۱۵ دقیقه قبل از آزمون سالین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) یا دوزهای مختلف SCH23390 (۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را دریافت کردند.

آزمایش چهارم، بررسی اثر تزریق سولپیراید بر حافظه‌ی اجتنابی تخریب شده ناشی از هارمان: در آزمایش چهارم هشت گروه حیوان به کار رفت. چهار گروه اول سالین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را بلافاصله پس از آموزش دریافت کردند و در روز آزمون، ۱۵ دقیقه قبل از آزمون، حامل (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) یا دوزهای مختلف سولپیراید (۱۲/۵، ۲۵و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را دریافت داشتند. چهار گروه باقی‌مانده هارمان (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) را بلافاصله بعد از آموزش دریافت کردند و در روز آزمون، ۳۰ دقیقه قبل از آزمون، حامل (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) یا دوزهای مختلف سولپیراید (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) را دریافت کردند. در همه آزمایش‌ها، زمان توقف حیوان روی سکو به صورت میانه (Median) و چارک ثبت گردید. به علت تفاوت‌های خاص زیادی که در پاسخ‌های یادگیری حیوانات و همچنین ظرفیت یادگیری هر حیوان وجود داشت، داده‌ها توسط واریانس یکطرفه (ANOVA) آنالیز شد و برای داده‌های غیر پارامتریک از Kruskal- Wallis و به دنبال آن برای بررسی جفت گروه‌ها از روش U-test و Mann- Whitncy استفاده گردید. در تمام ارزیابی‌های آماری، حداقل P<۰/۰۵ معیار معنی‌دار بودن مقایسه‌ی بین گروه‌ها بود.

یافته‌ها

یافته‌های آزمایش اول: آزمون آماری کروسکال- والیس و آزمون مکمل من- ویتنی نشان داد که تزریق هارمان (۵ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) پس از آموزش به صورت معنی‌دار باعث تخریب حافظه‌ی اجتنابی مهاری و القای فراموشی می‌شود (ANOVA ،H (۴) = ۲۶/۴۹ ،P < ۰/۰۰۱).

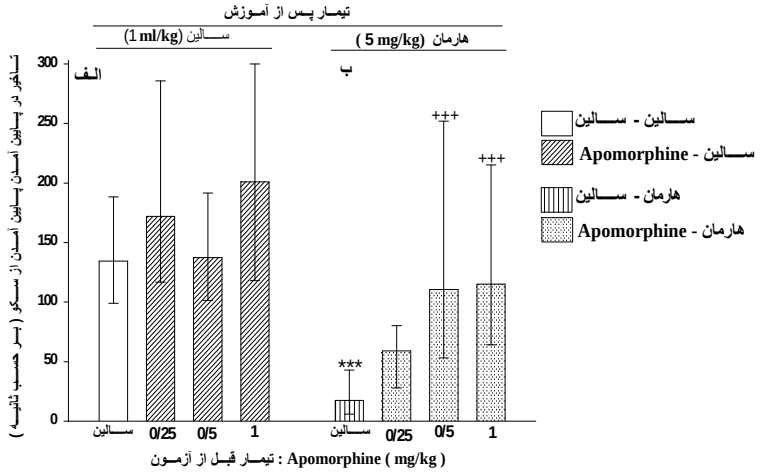


شکل ۱: آثار تزریق هارمان بعد از آموزش برحافظه‌ی اجتنابی مهاری. ۰/۰۰۱ >P در مقایسه با گروه سالین/ سالین***

یافته‌های آزمایش دوم: آزمون آماری کروسکال- والیس نشان داد که به‌کار بردن دوزهای مختلف آپومرفین (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) ۱۵ دقیقه قبل از آزمون تأثیری بر روی حافظه‌ی اجتنابی مهاری ندارد (ANOVA ،H (۳) = ۲/۵۳ ،P > ۰/۰۵)، (شکل ۲- الف). به‌علاوه آزمون کروسکال- والیس و آزمون مکمل من- ویتنی

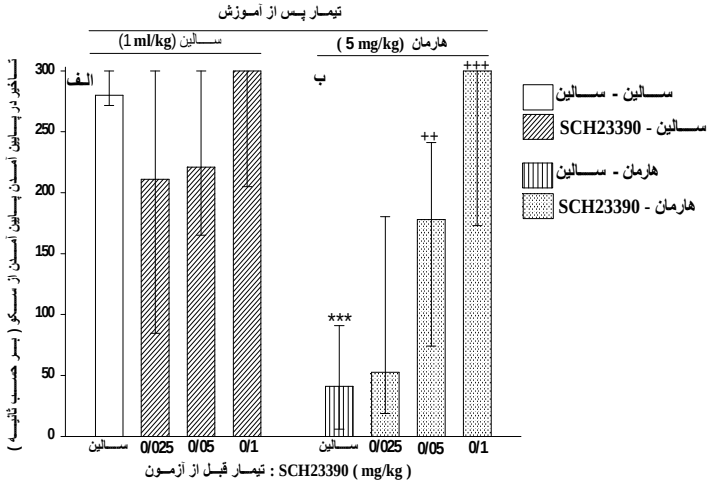
www.SID.ir

مشخص نمود که به‌کار بردن آپومرفین (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) قبل از آزمون می‌تواند حافظه‌ی تخریب شده توسط تزریق بعد از آموزش هارمان را بهبود بخشد (P < ۰/۰۰۱، H (۳) = ۲۰/۸۹، ANOVA)، (شکل ۲-ب).



*شکل ۲: اثر آپومرفین بر حافظه‌ی اجتنابی مهاری (الف) و بر حافظه‌ی اجتنابی تخریب شده با هارمان (ب). P*** < ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/ سالین و P+++ < ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/ هارمان*

یافته‌های آزمایش سوم: آزمون آماری کروسکال- والیس نشان داد که به‌کار بردن مقادیر مختلف SCH23390 (۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم I.P) به تنهایی و ۱۵ دقیقه قبل از آزمون تأثیری بر روی حافظه اجتنابی مهاری ندارد (P>۰/۰۵، H (۳) = ۳/۲۸، ANOVA)، (شکل ۳- الف). به‌علاوه آزمون کروسکال- والیس و آزمون مکمل من- ویتنی مشخص نمود که به‌کار بردن SCH23390 (۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) قبل از آزمون می‌تواند حافظه‌ی تخریب شده توسط تزریق بعد از آموزش هارمان را تغییر دهد (P < ۰/۰۰۱، H (۳) = ۱۸/۱۳، ANOVA)، (شکل ۳- ب).

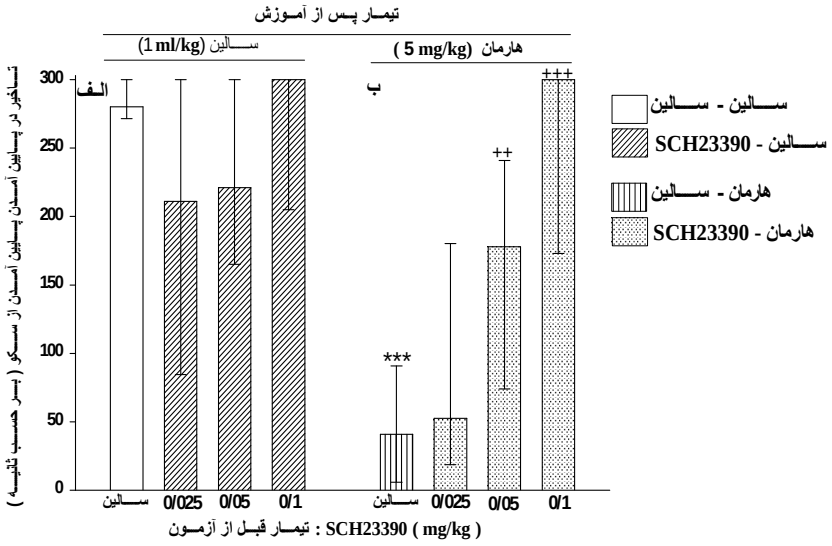


*شکل ۳: اثر SCH23390 بر حافظه‌ی اجتنابی مهاری (الف) و بر حافظه‌ی اجتنابی تخریب شده با هارمان (ب). P*** < ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/ سالین و P+++ < ۰/۰۰۱، P++ < ۰/۰۱ در مقایسه با گروه سالین/ هارمان*

www.SID.ir

Archive of SID

یافته‌های آزمایش چهارم: آزمون آماری کروسکال- والیس نشان داد که به‌کار بردن مقادیر مختلف سولپیراید (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به تنهایی قبل از آزمون تأثیری بر روی حافظه‌ی اجتنابی مهاری ندارد (P> ۰/۰۵، ۱/۷۳= (۳) H، ANOVA)، (شکل ۴-الف). به‌علاوه آزمون واریانس یک طرفه‌ی کروسکال- والیس و آزمون مکمل من- ویتنی مشخص نمود که به‌کار بردن سولپیراید (۲۵، ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) قبل از آزمون می‌تواند حافظه‌ی تخریب شده توسط تزریق هارمان بعد از آموزش را تغییر دهد (P<۰/۰۰۱، ۲۳/۳۷ = (۳) H، ANOVA)، (شکل ۴- ب).



شکل ۴: اثر سولپیراید بر حافظه‌ی اجتنابی مهاری (الف) و بر حافظه‌ی اجتنابی تخریب شده با هارمان (ب). P < ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/ سالین و P++ < ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/ هارمان***

بحث

نتایج ما نشان داد که تزریق درون صفاقی هارمان بعد از آموزش به صورت وابسته به دوز باعث تخریب تثبیت حافظه و القای فراموشی می‌شود. مطالعات گذشته تعدادی از اثرات متعدد رفتاری هارمان نظیر سرکوب فعالیت حرکتی، آتاکسی، کاتاتونی، تشنج زایی و تقویت اثرات مصرف الکل در موش‌های صحرایی را نشان داده است (۱۹-۱۶). اگر چه مطالعات آزمایشگاهی چندانی در مورد اثرات هارمان برروی حافظه صورت نگرفته است، اما گزارشاتی در مورد اثرات مصرف تصادفی آلکالوئید هارمان وجود دارد. این گزارشات نشان می‌دهند که هارمان باعث ایجاد توهم، برانگیختگی، احساس سرخوشی و شنگولی می‌شود (۱۶). بعضی از تحقیقات نشان می‌دهند که هارمان اثری برروی تشکیل حافظه‌ی کوتاه مدت و بلند مدت ندارد، هرچند که هارمالین برروی حافظه‌ی غیر فضایی اثر داشته، منجر به افزایش حافظه می‌شود. مطالعات الکتروفیزیولوژی نشان می‌دهند که هارمالین ممکن است به واسطه‌ی اثر بر روی هسته‌ی زیتونی تحتانی و مخچه و ایجاد لرزش، این اثرات را بر حافظه داشته باشد (۲۲-۲۰). از طرفی بعضی از مطالعات حاکی از اثر مخرب هارمالین بر روی یادگیری حرکتی و مسایل مربوط به آن است (۲۴، ۲۳). اینکه نقش هسته‌ی زیتونی تحتانی در یادگیری و حافظه چگونه است، هنوز ناشناخته بوده، مطالعات بیشتری لازم دارد (۲۵). اگر چه واکنش تراکمی تریپتامین با استالدئید یا پیرویک اسید در مغز ایجاد می‌شوند و بتا- کربولین‌های

www.SID.ir

Archive of SID

مختلف نظیر هارمان، نورهارمان و هارمالین در مغز حضور دارند (۲۶)، اما این ترکیبات زمانی که به‌صورت اگزوژن به‌کار برده می‌شوند، از نظر ویژگی‌های عملکردی، پاسخ‌های فارماکولوژیکی پیچیده‌ای را ایجاد می‌نمایند. مطالعات نوروشیمیایی و رفتاری نشان می‌دهند که بخشی از اثرات این ترکیبات از طریق گیرنده‌های بنزودیازپینی و گیرنده‌های ایمیدازولی صورت می‌گیرد، سایر اثرات شناخته شده‌ی بتا-کربولین در سطح سلولی صورت می‌گیرد. اثرات سلولی بتا-کربولین شامل اختلال در آنتی پورت سدیم با هیدروژن (۲۷ و۹)، تقویت مسیر مونوآمینرژیک از طریق مهار مونوآمین اکسیداز A و B (۲۹و ۲۸)، مهار برداشت مجدد مونوآمین‌ها از فضای سیناپسی و فعال نمودن مستقیم رسپتورهای مونوآمین می‌باشد (۳۰).

گزارشاتی وجود دارند که نشان می‌دهند، بتا- کربولین از نورون‌ها در مقابل اثرات سمی دوپامین و گلوتامات محافظت می‌نماید (۳۱). اثرات محافظتی بتا-کربولین با بررسی پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون پیشنهاد شد. مدارک زیادی در ارتباط با اثرات محافظتی بتا- کربولین آندوژن در مقابل آسیب نورون‌ها در مقابل فشارهای اکسیداتیو وجود دارد. برای مثال بتا- کربولین اختلال عملکرد القا شده با دوپامین و یا ۶- هیدروکسی دوپامین در مغز را با حذف رادیکال‌های آزاد سرکوب می‌نماید (۳۲). به‌نظر می‌رسد که تفاوت‌های بسیار کم در ساختار بتا ـ کربولین ها منجر به تفاوت تمایل شدید آن‌ها برروی گیرنده‌های مختلف می‌شود، به عنوان مثال مطالعات نشان می‌دهند نوروهارمان تمایل شدیدی را به گیرنده‌های سروتونرژیک نشان داده، منجر به متوقف کردن نورون‌های دوپامینی می‌شود در حالی‌که هارمان و هارمالین تمایل شدیدی را به نورون‌های کولینرژیک و اپیوئیدی نشان می‌دهند (۳۳). در مجموع می‌توان گفت، تمایل بتا- کربولین‌ها به شدت به ساختار آن‌ها وابسته است. از طرف دیگر دوپامین نقش مهمی در تعدیل عملکرد نورون‌هایی که در حافظه و یادگیری نقش دارند، دارا می‌باشد (۱۳). بنابراین برای به‌دست آوردن یک دیدگاه مناسب در مورد طبیعت فراموشی القا شده با هارمان، ما نیازمند مطالعه‌ی نقش گیرنده‌های دوپامینی D1/D2 بر روی تخریب حافظه‌ی القا شده با هارمان می‌باشیم. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که تزریق پیش از آزمون SCH23390 (آنتاگونیست گیرنده‌های D1)، سولپیراید (آنتاگونیست گیرنده‌ی D2) یا آپومرفین (آگونیست گیرنده‌ی D1 و D2) به تنهایی اثری بر روی حافظه‌ی اجتنابی مهاری ندارند، این نتایج همسو با گزارشاتی می‌باشند که نشان می‌دهند، این داروها اثری بر روی حافظه‌ی اجتنابی مهاری در مدل Step-Down ندارند (۳۴). هر چند گزارشاتی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد، حافظه‌ی اجتنابی مهاری در اثر تزریق این داروها به‌صورت درون مغزی (۳۵) یا محیطی (۳۷و ۳۶) تخریب می‌شود. در ادامه‌ی کار اثر داروهای دوپامینرژیک بر روی حافظه‌ی تخریب شده با هارمان مورد بررسی قرار گرفت، نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که در موش‌های کوچک آزمایشگاهی که در روز آموزش تحت تأثیر هارمان بوده‌اند، تزریق پیش از آزمون SCH23390، سولپیراید یا آپومرفین به صورت معنی‌دار یادآوری حافظه را در روز آزمون تسهیل می‌نماید. با توجه به اینکه هارمان باعث مهار آنزیم مونو آمینواکسیداز و افزایش دوپامین در پایانه‌ی سیناپسی می‌شود، این احتمال وجود دارد که هارمان از طریق اثر برگیرنده‌های دوپامینی منجر به خرابی حافظه شده باشد. این دیدگاه تا حدود زیادی توسط مطالعاتی که نشان می‌دهند SCH23390 (۳۸) و دوز بالای سولپیراید (۳۹) منجر به بهبود حافظه‌ی خراب شده با آپومرفین می‌شود، مورد تایید قرار می‌گیرد. مطالعات قبلی همچنین نشان می‌دهد که تحریک گیرنده‌ی پیش‌سیناپسی دوپامین منجر به بهبود حافظه شده، ولی تحریک پس‌سیناپسی منجر به خرابی حافظه می‌گردد. نکته مورد توجه در این مطالعه اثر مشابه آگونیست و آنتاگونیست دوپامینی می‌باشد که احتمالاً به علت

www.SID.ir

Archive of SID

مکانسیم‌های مختلف این داروها می‌باشد. این احتمال وجود دارد که آپومرفین بدون اثر بر سیستم درگیر در تخریب حافظه توسط هارمان با اثر بر روی نوروتراسمیترهای دیگر منجر به بهبود حافظه شده باشد. به‌طوری‌که بیان می‌شود آپومرفین هر نوع حافظه خراب را بر می‌گرداند (اثر خود آپومرفین) ولی آنتاگونیست‌ها به‌طور قطع از طریق سیستم القا شده توسط هارمان اثر خود را نشان می‌دهند (۴۱ و ۴۰).

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که گیرنده‌های دوپامینی D1 و D2 نقش مهمی در فراموشی القا شده با هارمان دارند، اما مشخص شدن مکانیسم القای فراموشی توسط هارمان و مکانیسم اثر گیرنده‌های D1 و D2 بر روی فراموشی القای شده با هارمان نیازمند مطالعات بیشتری می‌باشد.

Refrences

1- Adachi J, Mizoi Y, Naito T, Yamamoto K, Fujiwara S, Ninomiya I. Determination of beta-carbolines in foodstuffs by high-performance liquid chromatography and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr*. 1991; 538: 331-9.

2- Rommelspacher H, Nanz C, Borbe HO, Fehske KJ, Muller WE, Wollert U. 1-Methyl-beta-carboline (harmane), a potent endogenous inhibitor of benzodiazepine receptor binding. *Naunyn-Schmiedeberg's archives pharmacol.* 1980; 314: 97-100.

3- May T, Greube A, Strauss S, Heineke D, Lehmann J, Rommelspacher H. Comparison of the in vitro binding characteristics of the beta-carbolines harman and norharman in rat brain and liver and in bovine adrenal medulla. *Naunyn-Schmiedeberg's archives pharmacol.* 1994; 349: 308-17.

4- Hudson AL, Gough R, Tyacke R, et al. Novel selective compounds for the investigation of imidazoline receptors. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1999; 881: 81-91.

5- Spijkerman R, van den Eijnden R, van de Mheen D, Bongers I, Fekkes D. The impact of smoking and drinking on plasma levels of norharman. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2002; 12: 61-71.

6- Rommelspacher H, May T, Susilo R. Beta-carbolines and tetrahydroisoquinolines: detection and function in mammals. *Planta medica.* 1991; 57: S85-92.

7- Taylor DL, Silverman PB, Ho BT. Effects of 6-methoxytetrahydro-beta-carboline on 5-hydroxytryptamine binding in rat brain. *J pharm pharmacol.* 1984; 36: 125-7.

8- Pahkla R, Rago L, Callaway JJ, Airaksinen MM. Binding of pinoline on the 5-hydroxytryptamine transporter: competitive interaction with [3H] citalopram. *Pharmacol toxicol.* 1997; 80: 122-6.

9- Glennon RA, Dukat M, Grella B, et al. Binding of beta-carbolines and related agents at serotonin (5-HT(2) and 5-HT(1A)), dopamine (D(2)) and

www.SID.ir

benzodiazepine receptors. *Drug and alcohol dependence*. 2000; 60: 121-32.

10- Adell A, Biggs TA, Myers RD. Action of harman (1-methyl-beta-carboline) on the brain: body temperature and in vivo efflux of 5-HT from hippocampus of the rat. *Neuropharmacol*. 1996; 35: 1101-7.

11- Gingrich JA, Caron MG. Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu Rev Neurosci*. 1993; 16: 299-321.

12- Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*. 1998; 78: 189-225.

13- Adriani W, Felici A, Sargolini F, Roullet P, Usiello A, Oliverio A, et al. N-methyl-D-aspartate and dopamine receptor involvement in the modulation of locomotor activity and memory processes. *Exp Brain Res.* 1998; 123: 52-9.

14- Hiramatsu M, Sasaki M, Kameyama T. Effects of dynorphin A-(1–13) on carbon monoxide-induced delayed amnesia in mice studied in a stepdown type passive avoidance task. *Euro J pharmacol.* 1995; 282: 185-91.

15- Homayoun H, Khavandgar S, Zarrindast, MR. Morphine statedependent learning: interactions with ά2-adrenoceptors and acute stress. *Behavioural pharmacol*. 2003; 14: 41-8.

16- Rommelspacher H, Nanz C, Borbe HO, Fehske KJ, Muller WE, Wollert U. Benzodiazepine antagonism by harmane and other beta-carbolines in vitro and in vivo. *Euro J pharmacol.* 1981; 70: 409-16.

17- Airaksinen MM, Lecklin A, Saano V, Tuomisto L, Gynther J. Tremorigenic effect and inhibition of tryptamine and serotonin receptor binding by beta-carbolines. *Pharmacol toxicol.* 1987; 60: 5-8.

18- Pranzatelli MR, Snodgrass SR. Harmala alkaloids and related beta-carbolines: a myoclonic model and antimyoclonic drugs. *Exp Neurol.* 1987; 96: 703-19.

19- el Bahri L, Chemli R. Peganum harmala L: a poisonous plant of North Africa. *Vet Hum Toxicol.* 1991; 33: 276-7.

20- Lamarre Y, Mercier LA. Neurophysiological studies of harmaline-induced tremor in the cat. *Can J Physiol Pharmacol.* 1971; 49: 1049-58.

21- de Montigny C, Lamarre Y. Rhythmic activity induced by harmaline in the olivo-cerebello-bulbar system of the cat. *Brain Res.* 1973; 53: 81-95.

22- Mehta H, Saravanan KS, Mohanakumar KP. Serotonin synthesis inhibition in olivo-cerebellar system attenuates harmaline-induced tremor in Swiss albino mice. *Behav Brain Res.* 2003; 145: 31-6.

23- Du W, Harvey JA. Harmaline-induced tremor and impairment of learning are both blocked by dizocilpine in the rabbit. *Brain Res.* 1997; 745: 183-8.

24- Welsh JP. Systemic harmaline blocks associative and motor learning by the actions of the inferior olive. *Eur J Neurosci.* 1998; 10: 3307-20.

www.SID.ir

Archive of SID

25- Welsh JP, Harvey JA. Acute inactivation of the inferior olive blocks associative learning. *Eur J Neurosci*. 1998; 10: 3321-32.

26- Moncrieff J. Determination of pharmacological levels of harmane, harmine and harmaline in mammalian brain tissue, cerebrospinal fluid and plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J Chromatogr*. 1989; 496: 269-78.

27- Anderson NJ, Robinson ES, Husbands SM, Delagrange P, Nutt DJ, Hudson AL. Characterization of [(3)H]harmane binding to rat whole brain membranes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003; 1009: 175-9.

28- Rommelspacher H, Meier-Henco M, Smolka M, Kloft C. The levels of norharman are high enough after smoking to affect monoamineoxidase B in platelets. *Euro J pharmacol*. 2002; 441: 115-25.

29- Fernandez de Arriba A, Lizcano JM, Balsa MD, Unzeta M. Inhibition of monoamine oxidase from bovine retina by beta-carbolines. *J pharmacy pharmacol*. 1994; 46: 809-13.

30- McCormick SJ, Tunnicliff G. Inhibitors of synaptosomal gamma-hydroxybutyrate transport. *Pharmacol*. 1998; 57: 124-31.

31- Maher P, Davis JB. The role of monoamine metabolism in oxidative glutamate toxicity. *J Neurosci*. 1996; 16: 6394-401.

32- Kim DH, Jang YY, Han ES, Lee CS. Protective effect of harmaline and harmalol against dopamine- and 6-hydroxydopamine-induced oxidative damage of brain mitochondria and synaptosomes, and viability loss of PC12 cells. *Eur J Neurosci*. 2001; 13: 1861-72.

33- Airaksinen MM, Ho BT, An R, Taylor D. Major pharmacological effects of 6-methoxytetrahydro-beta-carboline, a drug elevating the tissue 5-hydroxytryptamine level. *Arzneimittelforschung*. 1978; 28: 42-6.

34- Rezayof A, Amini R, Rassouli Y, Zarrindast MR. Influence of nitric oxide on morphine-induced amnesia and interactions with dopaminergic receptor agents. *Physiol Behav*. 2006; 88: 124-31.

35- Rezayof A, Motevasseli T, Rassouli Y, Zarrindast MR. Dorsal hippocampal dopamine receptors are involved in mediating ethanol state-dependent memory. *Life sci*. 2007; 80: 285-92.

36- Adriani W, Sargolini F, Coccurello R, Oliverio A, Mele A. Role of dopaminergic system in reactivity to spatial and non-spatial changes in mice. *Psychopharmacol (Berl)*. 2000; 150: 67-76.

37- Coccurello R, Adriani W, Oliverio A, Mele A. Effect of intra-accumbens dopamine receptor agents on reactivity to spatial and non-spatial changes in mice. *Psychopharmacol* (Berl). 2000; 152: 189-99.

38- Hyttel J. Functional evidence for selective dopamine D-1 receptor blockade by SCH 23390. *Neuropharmacol*. 1984; 23: 1395-401.

39- Stoof JC, Kebabian JW. Two dopamine receptors: biochemistry, physiology and pharmacology. *Life sci*. 1984; 35: 2281-96.

40- Sigala S, Missale C, Spano P. Opposite effects

www.SID.ir

Archive of SID

of dopamine D2 and D3 receptors on learning and memory in the rat. *Eur J Pharmacol.* 1997; 336: 107-12.

41- Nasehi M, Sahebgharani M, Haeri-Rohani A, Zarrindast MR. Effects of cannabinoids infused into the dorsal hippocampus upon memory formation in 3-days apomorphine-treated rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2009; 92: 391-9.

www.SID.ir

Archive of SID

Involvement of D1/D2 Receptors on 1-Methyl-B-Carboline (Harmane) Induced-Amnesia in the Step-Down Passive Avoidance Test

Nasehi M[1], Piri M[2], Shahin M[3], Zarrindast MR[4]

[1]Islamic Azad University, Garmsar Branch, Semnan, Iran

[2]Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, Iran

[3]Islamic Azad University- Shahr-e-rey Branch, Tehran, Iran

[4]Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Nasehi M, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Semnan, Iran

E-mail: mo58na@yahoo.com

Received: 2 Sep 2009 **Accepted:** 12 Apr 2010

Background and Objective: A number of β-carboline alkaloids such as harmane are naturally present in the human food chain. In the present study the involvement of dopaminergic system on harmane induced-amnesia was investigated.

Materials and Methods: One-trial step-down paradigm was used for the assessment of memory retention in adult male NMRI mice.

Results: Intraperitoneal (i.p.) administration of harmane (5 and 10 mg/kg) immediately after training, dose-dependently decreased memory formation. Administration of D1/D2 receptors agonist, apomorphine (0.5 and 1 mg/kg, i.p.) before testing by itself could not alter memory retrieval. On the other hand, in the animals in which memory formation was impaired due to harmane post-training administration, pre-test administration of apomorphine (0.5 and 1 mg/kg, i.p.) 24 hr after training in day's test restored memory. Furthermore, administration of SCH23390 (0.025, 0.05 and 0.1 mg/kg, i.p.) or sulpiride (12.5, 25 and 50 mg/kg, i.p.) before testing by itself could not alter memory retrieval, respectively. On the other hand in the animals in which memory formation was impaired due to harmane post-training injection, pre-test administration of SCH23390 (0.05 and 0.1 mg/kg) or sulpiride (25, 50 mg/kg, i.p.) 24 hr after training in day's test decreased hamane-induced amnesia**.**

Conclusion: These findings indicat the involvement of D1/D2 receptors in harmane induced-amnesia through different mechanism(s).

Keywords: Harmane, Apomorphine, SCH23390, Sulpiride, Step-down passive avoidance task, Mice

www.SID.ir