برهم‌کنش بین هارمان و نیکوتین در زمینه حافظه اجتنابی مهاری

مرتضی پیری [*]
محمد ناصحی [**]
مریم السادات شاهین [***]
محمدرضا زرین دست [****]

[*] دکترای فیزیولوژی جانوری، مربی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل ، دانشکده علوم ، گروه زیست شناسی
[**] دکترای فیزیولوژی جانوری ، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار دانشکده علوم ، گروه زیست شناسی
[***] کارشناس زیست شناسی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان شاخه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی
[****] دکترای داروسازی ، استاد گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران ، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی

تاریخ وصول: ۱۳۸۹/۶/۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۸/۱۵

مؤلف مسئول: مرتضی پیری
پست الکترونیک: biopiri@iauardabil.ac.ir

چکیده:

مقدمه و هدف: تعدادی از آلکالوئیدهای β-کربولین نظیر هارمان به طور طبیعی در زنجیره غذایی انسان حضور دارند. به علاوه برخی از گیاهان محتوی β ــ کربولین، دارای اثرات رفتاری نظیر اثر توهم‌زا می‌باشند. در این مطالعه اثر تزریق آگونیست گیرنده نیکوتینی بر روی تخریب حافظه القاء شده با هارمان در موش سوری بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه شهید بهشتی تهران انجام شد، تعداد ۲۴۰ سر موش سوری انتخاب شده و به طور تصادفی به ۲۱ گروه تقسیم شدند. موش‌های سوری با تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید و گزیلازین بی‌هوش شدند، سپس در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. دو کانول در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی قرار داده شد. به تمامی حیوانات قبل از شروع آزمون رفتاری برای بهبود یک هفته فرصت داده شد وسپس حیوانات در دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال مدل پایین آمدن از سکو آموزش دیدند. حیوانات ۲۴ ساعت بعد از آموزش تست شدند و میزان تأخیر حیوان در پایین آمدن از سکو به عنوان معیار حافظه اندازه‌گیری شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و من ویتنی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تزریق درون صفاقی هارمان پیش از آموزش و پس از آموزش حافظه اجتنابی مهاری را تخریب می‌کند، اما تزریق پیش از آزمون هارمان، به یادآوری حافظه را تغییر نمی‌دهد. به کار بردن قبل از آزمون دوزهای بالای نیکوتین (۰/۵ میکروگرم بر موش) به یادآوری حافظه را کاهش می‌دهد. از طرف دیگر تزریق قبل از آزمون دوزهای غیر مؤثر نیکوتین به طور کامل حافظه تخریب شده با هارمان را برمی‌گرداند.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که برهمکنش پیچیده‌ای بین گیرنده‌های نیکوتینی هیپوکامپ پشتی و حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده با هارمان وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: هارمان، گیرنده نیکوتینی، حافظه، موش سوری

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

آلکالوئید β- کربولین محتوی یک هسته ایندول و یک حلقه پیریدینی می‌باشد(۱). مشخص شده است که گیاهان محتوی برخی از β- کربولین‌ها نظیر هارمالا، دارای اثرات توهم‌زا می‌باشند(۲). هارمان یک β- کربولین می‌باشد که به طور طبیعی در غذاهای گیاهی مانند؛ گندم، برنج، ذرت، جو، انگور، قارچ ، سرکه و تنباکو وجود دارد(۴ و۳). این ترکیبات به طور طبیعی در بدن انسان وجود دارند، اما به مقدار خیلی بیشتر در بدن افراد سیگاری، الکلی، افراد معتاد به هروئین و بیماران مبتلا به لرزش مانند بیماری پارکینسون وجود دارند (۵).

β- کربولین ها به گیرنده های سروتونینی و گیرنده‌های ایمیدازولینی[1] در سیستم عصبی مرکزی متصل می‌شوند(۷ و۶). این آلکالوئیدها آنزیم‌هایی نظیر مونوآمین اکسیداز A و B را مهار می‌نمایند و از این طریق نورترانسمیترهایی نظیر دوپامین را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۸). این آلکالوئیدها هم‌چنین با گیرنده‌های گلوتاماتی ان ـ متیل دی آسپارتات برهمکنش نشان می‌دهند(۶). مشخص شده است که تغییرات کوچک در ساختارβ- کربولین‌ها می‌تواند باعث تغییرات بزرگ در تمایل آنها برای اتصال به گیرنده‌ها شود. بررسی‌ها نشان داده‌اند که تتراهیدرونوروهارمان تمایل زیادی به گیرنده‌های سروتونینی دارد و می‌تواند اثرات محرک‌های گیرنده‌های دوپامینی را بلوک نماید(۹)، در حالی که هارمان، هارمین و هارمالین تمایل زیادی به گیرنده‌های کولینرژیک و گیرنده‌های اپیوئیدی دارند(۶).

از طرف دیگر به خوبی مشخص شده است که سیستم کولینرژیک نقش مهمی در تعدیل فعالیت نورونی دارد و انواع مختلف حافظه و یادگیری را تحت تأثیر قرار می‌دهد(۱۱و۱۰). هیپوکامپ نورون‌های کولینرژیک خود را از بخش میانی سپتوم و بازوی عمودی بخش مورب بروکا دریافت می‌کند و این نورون‌های کولینرژیک هیپوکامپ نقش مهمی در اعمال شناختی بازی می‌کنند(۱۳و۱۲).

با توجه به این که هارمان در جیره غذایی انسان وجود دارد و می‌تواند گیرنده‌های استیل کولینی را تحت تأثیر قرار دهد، برای به دست آوردن یک دیدگاه عمیق در مورد ماهیت فراموشی القاء شده با هارمان، اثر تزریق نیکوتین (آگونیست گیرنده نیکوتینی استیل کولین) به هیپوکامپ پشتی بر روی فراموشی القاء شده با هارمان برای اولین بار در این مطالعه بررسی شد. هدف از این مطالعه علاوه بر مشخص نمودن اثر هارمان و نیکوتین به تنهایی بر روی حافظه اجتنابی مهاری بررسی، اثر تزریق هم‌زمان دو دارو نیز بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۸۸ در پژوهشکده علوم شناختی دانشگاه شهید بهشتی انجام

1-Imidazoline

Archive of SID

www.SID.ir

شد، از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI با وزن تقریبی ۳۰–۲۲ گرم، که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند، استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوان‌خانه تحقیقاتی منتقل شده و در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار گرفت. دمای حیوان‌خانه بین ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. قبل از جراحی به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوان‌خانه تطبیق دهند. پس از سازش موش‌ها با شرایط آزمایشگاه، موش‌هایی که از لحاظ وزنی و سنی در شرایط تقریباً یکسان قرار داشتند، به صورت تصادفی در گروه‌های ده‌تایی قرار داده شدند. در این مطالعه ۲۱ گروه حیوان مورد استفاده قرار گرفت که هر کدام از گروه‌ها ۱۰ تایی بودند. با توجه به این که بعضی از موش‌ها به دلیل خطا در جراحی، افتادن کانول‌ها و یا موارد دیگر از مطالعه حذف گردیدند و به جای موش‌های حذف شده موش‌های دیگر جایگزین گردیدند ، تعداد کلی موش‌های مورد استفاده در این تحقیق ۲۴۰ سر موش بود.

در آزمایش بررسی اثر هارمان بر روی مراحل مختلف شکل‌گیری و به یادآوری حافظه اجتنابی مهاری ۱۲ گروه حیوان به کار رفت که در ۳ دسته ٤ گروهی سازمان‌دهی شدند، ٤ گروه اول برای بررسی اثر تزریق هارمان قبل از آموزش، ٤ گروه بعدی برای بررسی اثر هارمان بعد از آموزش و ٤ گروه آخر برای بررسی اثر هارمان قبل از آزمون مورد استفاده قرار گرفتند. ٤ گروه اول ۱۵ دقیقه قبل از آموزش سرم فیزیولوژی (۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) یا مقادیر مختلف هارمان(۵ ، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم) بر کیلوگرم را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. ٤ گروه بعدی بلافاصله بعد از آموزش سرم فیزیولوژی (۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) یا مقادیر مختلف هارمان (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند و ٤ گروه آخر ۱۵ دقیقه قبل از آزمون سرم فیزیولوژی(۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) یا مقادیر مختلف هارمان (۵ ، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

در آزمایش بررسی اثر نیکوتین بر روی یادآوری حافظه اجتنابی مهاری ٤ گروه حیوان به کار رفت. گروه اول ۱۵ دقیقه قبل از آزمون سرم فیزیولوژی به میزان ۰/۵ میکرولیتر در هر طرف و ۳ گروه باقیمانده مقادیر مختلف نیکوتین به میزان ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر موش را به صورت درون مغزی داخل ناحیه هیپوکامپ پشتی دریافت داشتند.

در آزمایش بررسی اثر نیکوتین بر روی حافظه تخریب شده با هارمان ۵ گروه حیوان به کار رفت که هر کدام از آنها دو تزریق دریافت داشتند. تزریق اول به صورت درون صفاقی در روز آموزش و تزریق دوم در روز آزمون و به داخل ناحیه هیپوکامپ پشتی انجام گرفت. در تزریق اول گروه اول سرم فیزیولوژی به میزان ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم و ٤ گروه باقیمانده دوز مؤثر هارمان به میزان ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را ۱۵ دقیقه قبل از آموزش دریافت کردند. در روز آزمون گروه اول و دوم سرم

Archive of SID

www.SID.ir

فیزیولوژی و ۳ گروه باقیمانده مقادیر مختلف نیکوتین به میزان ۰/۱ ، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر موش را به صورت درون مغزی داخل هیپوکامپ پشتی ۵ دقیقه قبل از تست دریافت نمودند.

این کار زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد و در تمام مراحل انجام کار، اصول اخلاقی نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی مراعات شد.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری، که وسیله‌ای مناسب برای سنجش حافظه درازمدت در جوندگان می‌باشد برای تست حافظه انتخاب شد (۱۴)، این دستگاه جعبه چوبی به ابعاد ۴۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر می‌باشد. کف دستگاه دارای ۲۹ میله فولادی با قطر ۰/۳سانتی‌متر و به فاصله ۱ سانتی‌متر از یکدیگر می‌باشد. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد ٤× ٤×٤ سانتی‌متر در قسمت میانی کف دستگاه، روی میله‌های فلزی قرار گرفته است، این میله ها به دستگاه تحریک کننده متصل شده و شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می‌شود. آزمایش ها در اتاق نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا انجام می‌شود .

در این تحقیق داروهای نیکوتین و هارمان ساخت کمپانی سیگمای آمریکا مورد استفاده قرار گرفت. هارمان و نیکوتین در سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹ درصد حل شد وpH نیکوتین بعد از حل شدن در سرم فیزیولوژی با اضافه نمودن سود ۰/۱ درصد به محدوده خنثی رسید.

موش‌های کوچک آزمایشگاهی به وسیله تزریق ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین هیدروکلرید به علاوه ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزیلازین بی‌هوش شدند. بعد از بی هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. دوکانول راهنما (G ۲۲) به صورت دو طرفه یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس(۲۰۰۱) قرار داده شدند. مختصات ناحیه CA۱ هیپوکامپ پشتی عبارت از؛ AP= -۲ ، ML= ±۱/٦ ، V= -۱/٥ بود. بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده می‌شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبود پس از جراحی را به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی به وسیله جراحی سپری کرده و به حالت عادی خود برگردد.

روش اجتنابی مهاری برای بررسی حافظه در موش‌های کوچک آزمایشگاهی در دو روز متوالی انجام شد. روز اول یا روز آموزش[1] شامل آموزش دادن حیوان‌ها در دستگاه بود و در روز دوم یا روز آزمون[2] میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بررسی شد.

در روش اجتنابی مهاری مدل پایین آمدن از سکو ، هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گیرد و مدت زمان

1- Training Day
2- Testing Day

Archive of SID

www.SID.ir

توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شود. در صورتی که هر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو بماند آن موش حذف می‌شود. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای مؤثر بر روی میله‌های فولادی به مدت ۱۵ ثانیه شوک الکتریکی (۱هرتز، ۰/۵ ثانیه و ٤٥ ولت مستقیم) دریافت می‌شود. شوک به وسیله یک محرک به میله‌های فولادی انتقال داده می‌شود. مراحل آموزش در بین ساعت ۸ صبح الی ۲ بعد ازظهر انجام گرفت.

جلسه آزمون ٢٤ ساعت بعد از آموزش با پروسه‌های مشابه آموزش انجام شد، به جز این که شوکی در این روز دریافت نمی‌گردد. مدت زمان توقف موش بر روی سکو به عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری شد که حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو یا زمان سقف[۱] برابر با ۳۰۰ ثانیه می‌باشد.

برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷G دندانپزشکی که ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت‌دان تیوب[۲] نوزاد (شماره ٤) متصل بود، در داخل کانول راهنما ۲۲G قرار داده و در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-٦۰ ثانیه تزریق می‌شد. مجموع حجم تزریق درون مغزی به هر موش ۱ میکرولیتر بود. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

پس از کشتن حیوان‌ها به وسیله کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو ۱ درصد (۰/۵ میکرولیتر) به داخل هر کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شد و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شد و محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده شد. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی مورد نظر اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

در همه آزمایش‌ها، زمان توقف حیوان روی سکو به صورت میانه[۳] و چارک ثبت گردید. به علت تفاوت‌های خاص زیادی که در پاسخ‌های یادگیری حیوانات و همچنین ظرفیت یادگیری هر حیوان وجود دارد، داده‌ها به وسیله آنالیز واریانس یک طرفه[٤] ویژه داده‌های غیر پارامتریک یعنی آزمون کروسکال ـ والیس[٥] و به دنبال آن برای بررسی جفت گروه‌ها از آزمون من ـ ویتنی[٦] استفاده گردید. برای انجام محاسبات آماری از نرم‌افزارSPSS[۷] و برای رسم نمودارها از نرم افزار سیگما پلات [۸] استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که تزریق هارمان، قبل از آموزش یا بعد از آموزش حافظه را تغییر داد که این تفاوت معنی‌دار بود($p<0/001$) . تزریق هارمان(۱۰ و ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم) قبل یا بعد از آموزش تأخیر

1-Cut-Off
2-Cat Down Tube
3- Median
4-One way ANOVA
5-Kruskal-Wallis
6- Mann-Whitney U Test
7- Statistical Package for Social Sciences
8-Sigma Plot

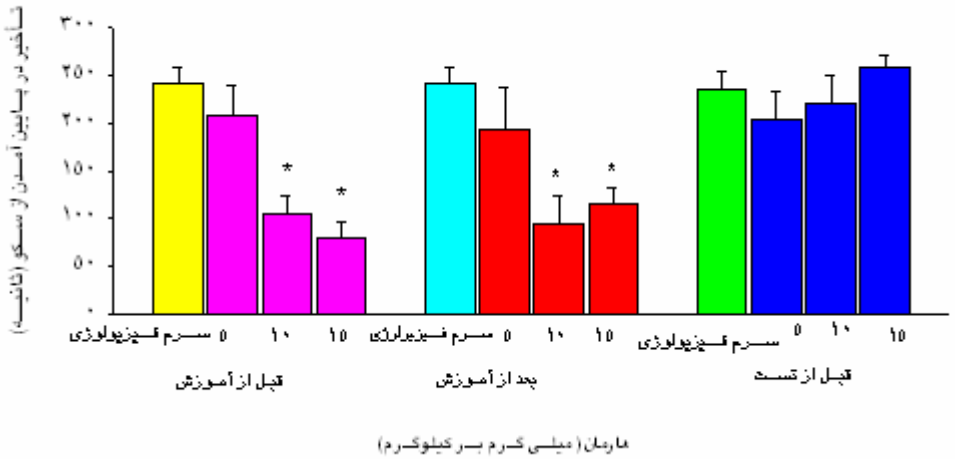
www.SID.ir

Archive of SID

در پایین رفتن از سکو، یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش داد. هم‌چنین مشخص شد که تزریق هارمان قبل از تست، اثری بر روی یادآوری حافظه اجتنابی مهاری ندارد(نمودار۱).

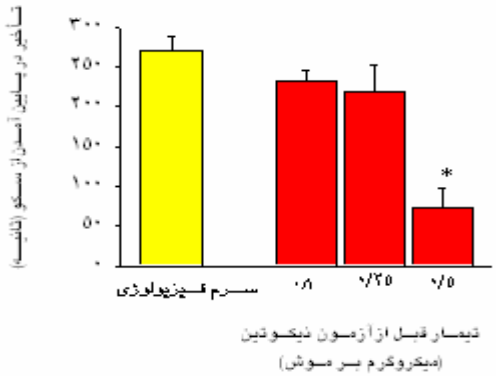
نتایج نشان داد که تزریق قبل از آزمون نیکوتین حافظه اجتنابی مهاری را به صورت معنی‌داری تغییر داد($p<0/001$). تزریق قبل از آزمون دوز بالای نیکوتین (۰/۵ میکرو گرم بر موش) تأخیر در پایین رفتن از سکو، یا به اصطلاح میزان حافظه را کاهش داد(نمودار۲).

بر اساس نتایج به دست آمده تزریق قبل از آزمون نیکوتین به حیواناتی که قبل از آموزش تحت تیمار با دوز مؤثر هارمان (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بودند، به صورت معنی‌داری حافظه تخریب شده با هارمان را اصلاح نمود($p<0/001$). هم‌چنین نتایج نشان داد که این اثر اصلاحی نیکوتین در تمامی دوزهای به کار رفته نیکوتین(۰/۱ ، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر موش) از نظر آماری معنی‌دار بود($p<0/001$)(نمودار۳).



نمودار ۱: مقایسه اثر تزریق پیش از آموزش ، پس از آموزش و پیش از آزمون هارمان بر حافظه اجتنابی مهاری در گروه‌های مورد مطالعه

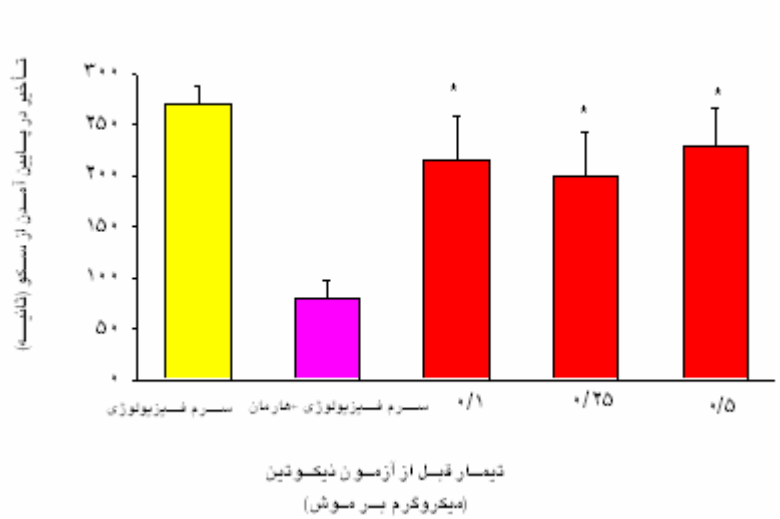
* اختلاف معنی‌دار با گروه سرم فیزیولوژی($p<0/001$)



نمودار ۲: مقایسه اثر تزریق پیش از آزمون نیکوتین بر حافظه اجتنابی مهاری در گروه‌های مورد مطالعه

* اختلاف معنی‌دار با گروه سرم فیزیولوژی($p<0/001$)

www.SID.ir



نمودار۳: اثر تزریق پیش از آزمون نیکوتین بر روی حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده با هارمان در گروه‌های مورد مطالعه

* اختلاف معنی‌دار با گروم سرم فیزیولوژی($p<۰/۰۰۱$)

بحث و نتیجه‌گیری

تعدادی از آلکالوئیدهای β- کربولین نظیر هارمان به طور طبیعی در زنجیره غذایی انسان حضور دارند. در مورد هارمان و سایر β- کربولین‌ها اثرات رفتاری مختلفی نظیر اثرات توهم زا گزارش شده است(۴-۲). با توجه به این که طیف وسیعی از سیستم‌های نورترانسمیتری از جمله سیستم کولینرژیک را تحت تأثیر قرار می‌دهند، در این مطالعه برهمکنش بین هارمان و نیکوتین در زمینه حافظه اجتنابی مهاری در هیپوکامپ پشتی مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق سیستمیک هارمان قبل از آموزش به یادآوری حافظه را ۲۴ ساعت بعد از آموزش کاهش می‌دهد. با توجه به این که تزریق هارمان قبل از آموزش صورت گرفته است، اکتساب و مراحل اولیه تثبیت حافظه تحت تأثیر هارمان قرار گرفته‌اند.

هم‌چنین نتایج آزمایش‌ها مشخص نمود که تزریق پس از آموزش هارمان نیز باعث تخریب حافظه می‌شود که در این حالت با توجه به تزریق پس از آموزش دارو، مرحله تثبیت حافظه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. از طرف دیگر مشخص شد که تزریق قبل از آزمون هارمان در دوزهای استفاده شده در این مطالعه اثری بر روی به یادآوری حافظه ندارد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که هارمان مراحل شکل‌گیری حافظه یعنی مرحله اکتساب و تثبیت حافظه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نشان داده شده است که هارمان اثرات متنوعی مانند سرکوب فعالیت حرکتی و آتاکسی را در موش‌های صحرایی ایجاد می‌کند(۱۵).

Archive of SID

www.SID.ir

گزارش‌های کمی در مورد اثرات هارمان بر روی حافظه وجود دارد، هرچند گزارش شده است که به کار بردن آن ممکن است باعث ایجاد توهم، سرخوشی و هیجان شود(۱۶). پیشنهاد شده است که هارمان شکل‌گیری حافظه کوتاه و بلندمدت را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد، هر چند ممکن است اثراتی را بر روی حافظه غیر فضایی و غیر اجتنابی بگذارد. از طرف دیگر گزارش‌هایی وجود دارد که هارمالین (یک آلکالوئید هارمالا) یادگیری حرکتی و حافظه اخباری را تخریب می‌نماید(۱۷). مطالعه‌های الکتروفیزیولوژیکی هم‌چنین نشان می‌دهد که این آلکالوئیدها با فعال نمودن هسته‌های زیتونی تحتانی و مخچه باعث ایجاد لرزش می‌شوند(۱۸). اگرچه تا کنون نقش هسته‌های زیتونی در حافظه و یادگیری مشخص نشده است و باید مورد بررسی قرار گیرد(۱۹).

یافته‌های مطالعه حاضر مشخص نمود که تزریق دوزهای بالای نیکوتین قبل از آزمون به داخل هیپوکامپ پشتی باعث کاهش به یادآوری حافظه در موش کوچک آزمایشگاهی می‌شود. نیکوتین آلکالوئیدی می‌باشد که در تنباکو وجود دارد و نقش مهمی در تغییرات فیزیولوژیکی و نورونی که منجر به وابستگی دارویی و اعتیاد می‌شوند بازی می‌کند(۲۰). نیکوتین بیشتر اثرات خود را با بر هم‌کنش با گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین در مغز القاء می‌کند(۲۱). این ماده بر روی طیف وسیعی از اعمال فیزیولوژیکی مانند حافظه و یادگیری و اضطراب اثر می‌گذارد(۲۲).

به علاوه یافته‌های اخیر نشان داد که فراموشی القاء شده با تزریق پیش از آموزش هارمان به وسیله تزریق پیش از آزمون نیکوتین اصلاح می‌گردد. مطالعه‌های قبلی مشخص نمودند که نیکوتین می‌تواند حافظه تخریب شده با مورفین و هیستامین را اصلاح نماید (۲۴ و۲۳). به علاوه گزارش شده است که به یادآوری حافظه فعال[1] به وسیله تزریق حاد و مزمن نیکوتین تسهیل می‌گردد(۲۵) و این اثر تسهیلی نیکوتین بر روی حافظه فعال به وسیله مکامیلامین، آنتاگونیست گیرنده‌های نیکوتینی مهار می‌گردد(۲۵).

برخی از مطالعه‌ها نشان می‌دهند که نیکوتین اثرات شناختی خود را از طریق رهایش چندین میانجی عصبی از جمله استیل کولین، دوپامین، گلوتامات و برهم‌کنش با این نورترانسمیترها اعمال می‌نماید(۲۶). مدارک زیادی وجود دارند که نشان می‌دهند گلوتامات انتقال پیام‌های گلوتاماتی را تسهیل می‌نماید. گیرنده‌های ان ــ متیل دی آسپارتات که گروهی از گیرنده‌های گلوتاماتی می‌باشند، نقش اساسی در القاء تقویت دراز مدت سیناپسی و تغییر شکل سیناپسی دارند که اینها پدیده‌هایی می‌باشند که شکل‌گیری حافظه در هیپوکامپ را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۲۷). مشخص شده است که گیرنده‌های پیش سیناپسی نیکوتین رهایش چندین نورترانسمیتر را در مغز کنترل می‌نمایند. تغییر در رهایش نورترانسمیترهایی نظیر نوراپی نفرین، استیل کولین، دوپامین و گابا می‌تواند

1-Working Memory

Archive of SID

www.SID.ir

نقش مهمی‌در اثرات نیکوتین بر روی رفتار اضطرابی داشته باشد(۲۸). با توجه به اهمیت این نورترانسمیترها در یادگیری و حافظه این احتمال وجود دارد که نیکوتین به واسطه این نورترانسمیتر ها یادگیری و حافظه را تحت تأثیر قرار دهد.

با توجه به اینکه تزریق قبل و بعد از آموزش هارمان باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود، اما تزریق قبل از تست آن بر روی حافظه اجتنابی مهاری اثری ندارد، می‌توان بیان داشت که هارمان مراحل اکتساب و ثبیت حافظه اجتنابی مهاری را تحت تأثیر قرار می‌دهد، اما بر روی به یادآوری حافظه اجتنابی مهاری اثری نمی‌گذارد. از طرف دیگر یافته‌های این مطالعه نشان داد که تزریق قبل از آزمون نیکوتین به هیپوکامپ پشتی تخریب القاء شده با هارمان روز آموزش را اصلاح می‌نماید، این یافته ها علاوه بر اینکه نشان دهنده برهمکنش هارمان و نیکوتین در زمینه حافظه اجتنابی مهاری در هیپوکامپ پشتی می‌باشند، بیانگر این موضوع نیز می‌باشند که هارمان بخشی از اثرات تخریبی خود بر حافظه اجتنابی مهاری را از طریق سیستم کولینرژیک و گیرنده‌های نیکوتینی هیپوکامپ پشتی اعمال می‌نماید.

البته برای اظهار نظر قطعی‌تر در این مورد لازم است اثر هارمان به صورت درون مغزی در ناحیه هیپوکامپ پشتی بررسی گردد. بنابراین در ادامه این مطالعه پیشنهاد می‌گردد که اثر هارمان به صورت درون مغزی بررسی گردد و همزمان با هارمان علاوه بر نیکوتین از آنتاگونیست گیرنده‌های نیکوتینی و مکامیلامین استفاده گردد تا مشخص شود که آیا مقادیر غیر موثر هارمان و مکامیلامین همراه با هم قادر به تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌باشند. مشخص شدن این موضوع می‌تواند باعث اظهار نظر قطعی در مورد برهمکنش هارمان با سیستم نیکوتینی گردد و مکانیسم تخریب حافظه اجتنابی مهاری به وسیله هارمان را مشخص تر نماید.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از زحمات پرسنل پژوهشکده علوم شناختی دانشگاه شهید بهشتی که ما را انجام این پژوهش یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

Interaction between Harmane and Nicotinic in the Passive Avoidance Test

Piri M [*],
Nasehi M [**],
Shahin MS [***],
Zarrindast MR [****].

[*]Instructor of Animal Physiology, Department of biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Ardabil branch, Ardabil, Iran
[**]Assistant Professor of Animal Physiology, Department of biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Garmsar branch, Garmesar, Iran
[***] BSc in biology, Young Researchers Cloob , Islamic Azad University-Shahr-e-rey branch , Tehran, Iran
[****]Professor of pharmacology, Department of Pharmacology, School of Medicine,Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received:30/08/2010
Accepted:06/11/2010

Corresponding Author: Piri M
Email: biopiri@iauardabil.ac.ir

ABESTRACT:

Introduction & Objective: A number of β-carboline alkaloids such as harmane are naturally present in the human food chain. Furthermore, some plants which contain β-carboline have behavioral effects such as hallucination. In the present study, the effect of intra-dorsal hippocampus injection of nicotinic receptor agonist on memory impairment induced by harmane was examined in mice.

Materials & Methods: This study was conducted at Shahid Beheshti University in 2009. Two hundred and forty mice were anesthetized with intra-peritoneal injection of ketamine hydrochloride, plus xylazine which afterwards were placed in a stereotaxic apparatus. Two cannuale were placed in the CA1 regions of the dorsal hippocampus. All animals were allowed to recover for a total week before beginning of the behavioral testing. After that, the animals were trained in a step-down type inhibitory avoidance task and tested 24 hours after training to measure step-down latency as a scale of memory.

Results: Pre-training and post-training, intra-peritoneal injection of harmane impairs inhibitory avoidance memory, but pre-testing injection of harmane did not alter memory retrieval. Pre-testing administration of high dose of nicotine (0.5 µg/mice, intra-CA1) decreased memory retrieval. On the other hand, pre-test intra-CA1 injection of ineffective doses of nicotine (0.1 and 2.5 µg/mice) fully reversed harmane induced impairment of memory.

Conclusion: The present results indicated that complex interaction exists between nicotinic receptor of dorsal hippocampus and the impairment of inhibitory avoidance memory induced by harmane.

Key words: Harmane, Nicotinic receptor, memory, Mice

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES:

1.Pfau W, Skog K. Exposure to beta-carbolines norharman and harman. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2004; 802:115-26.
2.Freedland CS, Mansbach RS. Behavioral profile of constituents in ayahuasca, an Amazonian psychoactive plant mixture. Drug Alcohol Depend 1999; 54:183-94.
3.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.
4.Hudson AL, Gough R, Tyacke R, Lione L, Lalies M, Lewis J, 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.Glennon RA, Dukat M, Grella B, Hong S, Costantino L, Teitler M, et al. Binding of beta-carbolines and related agents at serotonin (5-HT(2) and 5-HT(1A)), dopamine (D(2)) and benzodiazepine receptors. Drug Alcohol Depend 2000; 60: 121-32.
7.Squires PE, Hills CE, Rogers GJ, Garland P, Farley SR, Morgan NG. The putative imidazoline receptor agonist, harmane, promotes intracellular calcium mobilisation in pancreatic beta-cells. Eur J Pharmacol 2004; 501: 31-9.
8.Herraiz T, Chaparro C. Human monoamine oxidase is inhibited by tobacco smoke: beta-carboline alkaloids act as potent and reversible inhibitors. Biochem Biophys Res Commun 2005 14; 326: 378-86.
9.Davis PA, Baird-Lambert J, Taylor KM, Maclaren JA. Serotonergic activity of a novel tetrahydro-beta-carboline. Biochem Pharmacol 1979; 28: 1803-6.
10.Degroot A, Parent MB. Infusions of physostigmine into the hippocampus or the entorhinal cortex attenuate avoidance retention deficits produced by intra-septal infusions of the GABA agonist muscimol. Brain Res 2001; 920: 10-8.
11.Zarrindast MR, Bakhsha A, Rostami P, Shafaghi B. Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. J Psychopharmacol 2002; 16: 313-9.
12.Gaykema RP, Luiten PG, Nyakas C, Traber J. Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. J Comp Neurol 1990; 293:103-24.
13.Boyd TE, Trepel C, Racine RJ. Cholinergic modulation of neocortical long-term potentiation in the awake, freely moving rat. Brain Res 2000; 881: 28-36.
14.Kameyama T, Nabeshima T, Kozawa T. Step-down-type passive avoidance- and escape-learning method. Suitability for experimental amnesia models. J Pharmacol Methods 1986; 16: 39-52.
15.El Bahri L, Chemli R. Peganum harmala L: a poisonous plant of North Africa. Vet Hum Toxicol 1991; 33: 276-7.
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. Eur J Pharmacol 1981; 70: 409-16.
17.Welsh JP. Systemic harmaline blocks associative and motor learning by the actions of the inferior olive. Eur J Neurosci 1998; 10: 3307-20.
18.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 17; 145: 31-6.
19.Welsh JP, Harvey JA. Acute inactivation of the inferior olive blocks associative learning. Eur J Neurosci 1998; 10: 3321-32.
20.Le Foll B, Goldberg SR. Effects of nicotine in experimental animals and humans: an update on addictive properties. Handb Exp Pharmacol 2009; 192:335-67.
21.Poorthuis RB, Goriounova NA, Couey JJ, Mansvelder HD. Nicotinic actions on neuronal networks for cognition: general principles and long-term consequences. Biochem Pharmacol 2009; 78: 668-76.
22.Janhunen S, Ahtee L. Differential nicotinic regulation of the nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic pathways: implications for drug development. Neurosci Biobehav Rev 2007; 31: 287-314.

Archive of SID

www.SID.ir

23.Ahmadi S, Zarrindast MR, Haeri-Rohani A, Rezayof A, Nouri M. Nicotine improves morphine-induced impairment of memory: possible involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in the nucleus accumbens. Dev Neurobiol 2007; 67: 1118-27.
24.Eidi M, Zarrindast MR, Eidi A, Oryan S, Parivar K. Effects of histamine and cholinergic systems on memory retention of passive avoidance learning in rats. Eur J Pharmacol 2003; 465: 91-6.
25.Brown RW, Gonzalez CL, Whishaw IQ, Kolb B. Nicotine improvement of Morris water task performance after fimbria-fornix lesion is blocked by mecamylamine. Behav Brain Res 2001; 119: 185-92.
26.Picciotto MR. Common aspects of the action of nicotine and other drugs of abuse. Drug Alcohol Depend 1998; 51: 165-72.
27.Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF. Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. Science 2006; 313: 1093-7.
28.O'Neill AB, Brioni JD. Benzodiazepine receptor mediation of the anxiolytic-like effect of (-)-nicotine in mice. Pharmacol Biochem Behav 1994; 49: 755-7.

Archive of SID

www.SID.ir