Original Article

The Role of Serotonergic Antagonists on Learning and Orientation Memory in Stressed Rats

Raziye Bayramlou[1], Mahdi Mohammadzadeh[1], Farrin Babaei Balderlou[1]*

[1]*Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.*

[*]***Corresponding Author:*** **Razieh Bayramlou**, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

Email: rbayramloo@yahoo.com

Received: 27 Aug, 2016

Accepted: 24 Oct, 2016

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018

Abstract

***Background and Objectives*:** Hippocampus is full of corticosteroid and serotonergic receptors, and have an important role in memory and spatial perception. In this study, the effects of fluoxetine and cyproheptadine, were investigated on learning and orientation memory in rats.

Methods: In this study, 30 male adult rats, were divided into 5 groups, including control, under immobilization stress, treatment with fluoxetine, treatment with cyproheptadine and treatment with fluoxetine+cyproheptadine. Immobilization stress was applied by limiting polyethylene. Fluoxetine 20 and cyproheptadine (4 mg/kg bw, were injected intraperitoneally for 2 weeks. At the end of the tretment period, learning and orientation memory, were evaluated using radial arm maze and cross-maze tests. After finishing behavioral tests, serum levels of corticosterone and malondialdehyde (MDA), were measured in hippocampus tissue.

Results: In this study, immobilization stress increased the time to find food and decreased frequency percentage compared to the control group. Administration of fluoxetine significantly increased the time to find food and significantly reduced frequency percentage compared to control and patient groups. Co-administration of cyproheptadine and fluoxetine prevented the effects of this drug. Also, in the stressed animals, MDA level increased compared to the control group, but corticosterone level decreased. While, administration of fluoxetine or cyproheptadine increased corticosterone level and decreased MDA level compared to the patient group.

Conclusion: The results of this study showed that immobilization stress resulted in impaired learning and orientation memory, decreased corticosterone, and increased MDA. Considering the inhibitory effects of cyproheptadine on the function of fluoxetine in impairment of learning and orientation memory, this drug probably exerts its effects through the serotonergic system.

Keywords: Fluoxetine; Cyproheptadine; Learning; Memory; Serotonin receptor agonists.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره یازدهم، شماره دهم، دی ۹۶
صفحه ۱ الی ۱۲

مقاله پژوهشی
(Original Article)

نقش آنتاگونیست‌های سروتونرژیک بر یادگیری و حافظه جهت‌یابی در موش‌های صحرایی نر مبتلا به استرس

راضیه بایراملو[1*]، مهدی محمدزاده[1]، فرین بابائی بالدرلو[1]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018

چکیده

زمینه و هدف: هیپوکامپ غنی از گیرنده‌های کورتیکوستروئیدی و سروتونرژیک است و نقش مهمی در حافظه و درک فضایی دارد. در این مطالعه به بررسی اثرات فلوکستین و سیپروهپتادین بر یادگیری و حافظه جهت‌یابی موش‌های صحرایی پرداخته شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۰ رأس موش صحرایی نر به ۵ گروه شامل: کنترل، تحت استرس بی‌حرکتی، تیمار فلوکستین، تیمار سیپروهپتادین و فلوکستین+ سیپروهپتادین تقسیم شدند. اعمال استرس بی‌حرکتی به‌وسیله محدودکننده پلی‌اتیلنی انجام شد. فلوکستین ۲۰ و سیپروهپتادین (دوز ۴ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل‌صفاقی به مدت ۲ هفته تزریق شد. در پایان دوره تیمار، یادگیری و حافظه جهت‌یابی حیوانات، با استفاده از آزمون‌های ماز شعاعی و صلیبی ارزیابی گردید. پس از اتمام آزمون‌های رفتاری، سطح سرمی کورتیکوسترون و مالون‌دی‌آلدئید بافت هیپوکامپ اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، استرس بی‌حرکتی سبب افزایش زمان یافتن غذا و کاهش درصد تناوب در مقایسه با گروه کنترل گردید. تجویز فلوکستین منجر به افزایش معنی‌دار زمان یافتن غذا و کاهش معنی‌دار درصد تناوب در مقایسه با گروه کنترل و بیمار شد. تجویز همزمان سیپروهپتادین با فلوکستین از اثرات این دارو جلوگیری کرد. در حیوانات تحت استرس نیز در مقایسه با کنترل، میزان MDA افزایش، اما غلظت کورتیکوسترون کاهش یافت؛ درحالی‌که تجویز فلوکستین یا سیپروهپتادین در مقایسه با گروه بیمار، کورتیکوسترون را افزایش و میزان MDA را کاهش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد استرس بی‌حرکتی منجر به تخریب یادگیری و حافظه جهت‌یابی، کاهش کورتیکوسترون و افزایش MDA می‌شود. با توجه به اثرات بازدارنده سیپروهپتادین بر عملکرد فلوکستین در تخریب یادگیری و حافظه جهت‌یابی، احتمالاً داروی اخیر به‌واسطه سیستم سروتونرژیک این اثرات خود را اعمال می‌کند.

کلید واژه‌ها: فلوکستین؛ سیپروهپتادین؛ یادگیری؛ حافظه؛ آنتاگونیست‌های گیرنده سروتونرژیک.

[1]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
راضیه بایراملو، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
rbayramloo@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۵

تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۲

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Bayramlou R, Mohammadzadeh M, Babaei Balderlou F. The role of serotonergic antagonists on learning and orientation memory in stressed rats. Qom Univ Med Sci J 2018;11(10): 1-12. [Full Text in Persian]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018

مقدمه

استرس توسط Hans selye به‌صورت پاسخ‌های غیراختصاصی که تحت تأثیر محرک‌های گوناگون در ارگانیسم ایجاد می‌شوند، تعریف شده است (۱). استرس می‌تواند بر میزان هوشیاری، اعمال مغزی و فعالیت‌های نورواندوکرین مؤثر باشد (۲). همچنین استرس، اثرات پیچیده‌ای بر یادگیری و حافظه دارد؛ به‌طوری‌که می‌تواند حافظه و یادگیری را بهبود بخشد، تخریب کند یا هیچ تأثیری بر آن نداشته باشد (۳). این نتایج متناقض را می‌توان به بسیاری از متغیرها ازجمله ماهیت و طول مدت استرسور، میزان آزارنده بودن آن، سن و جنس نسبت داد (۴). تحقیقات نشان داده‌اند استرس از نوع محدودیت حرکتی می‌تواند سبب اختلال یادگیری و حافظه شود که این روند تحت تأثیر عوامل مختلفی چون مدت، شدت و سن قرار می‌گیرد (۵). نشان داده شده است استرس مزمن، با تغییر نوروترانسمیترها همچون سروتونین سبب پیدایش اختلالات بسیاری ازجمله افسردگی، تغییر حافظه و اضطراب می‌شود. اطلاعاتی که درباره اثرات سروتونین بر حافظه و یادگیری وجود دارد متناقض است. به‌عنوان مثال گزارش شده، استفاده از روش‌هایی که غلظت سروتونین را در شکاف سیناپسی بالا می‌برند، موجب افزایش حافظه یا کاهش فراموشی ناشی از عوامل دیگر می‌شود (۶). البته باید این واقعیت را در نظر داشت که توزیع زیرگروه‌های گیرنده سروتونین و تراکم هر زیرگروه در قسمت‌های مختلف به‌طور قابل‌توجهی متنوع بوده و هر زیرگروه گیرنده در نواحی مختلف مغز ممکن است از نظر عملکردی متفاوت باشد (۷). هیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک است که نقش بسیار مهمی در حافظه دارد و در دوره افسردگی دچار اختلال می‌شود. شواهد زیادی حاکی از تراکم بالای گیرنده‌های سروتونرژیک در این ناحیه از مغز وجود دارد (۸). مطالعات تجربی روی حیوانات نشان داده است کاهش فعالیت کولینرژیک و سروتونرژیک موجب کاهش هماهنگی یادگیری در اختلالات درک فضایی می‌شود (۹).

در بیماران مبتلا به اختلالات درک فضایی مانند آلزایمر، هیپوکامپ یکی از اولین بخش‌هایی است که آسیب می‌بیند. این بیماران به‌طور معمول علائمی از کاهش حافظه و عدم آگاهی به زمان و مکان را دارند.

این یافته‌ها نشان می‌دهد هیپوکامپ نه فقط در حافظه، بلکه نقش مهمی در درک فضایی نیز دارد (۱۰). انواع متفاوتی از استرس‌های فیزیولوژیکی و روان‌شناختی بر محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز ـ قشرفوق‌کلیوی (HPA)، محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز ـ گنادی (HPG)، سیستم سمپاتیک آدرنومدولاری و سیستم عصبی سمپاتیک اثر کرده و منجر به تغییراتی در اندام‌ها می‌شوند (۱۱). همچنین استرس با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و القای استرس اکسیداتیو منجر به آسیب بیومولکول‌ها در نورون‌ها و اعمال اثرات منفی بر قسمت‌های مختلف سیستم عصبی می‌گردد (۱۲). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند استرس بی‌حرکتی باعث افزایش ترشح کورتیکوسترون نیز می‌شود (۱۳). هیپوکامپ غنی از گیرنده‌های کورتیکوستروئیدی است و در خاتمه یافتن پاسخ استرس از طریق فیدبک منفی گلوکوکورتیکوئیدها بر محور HPA شرکت می‌کند. نشان داده شده است در هیپوکامپ موش صحرایی، کورتیکوسترون‌ها عملکردهای متابولیک، فیزیولوژیک و ژنومیک نورون‌ها را تنظیم می‌کنند (۱۴). طبق مطالعات انسانی و حیوانی، استرس حاد و گلوکوکورتیکوئیدها اثرات متناقضی بر مراحل مختلف حافظه می‌گذارند؛ به‌طوری‌که فراگیری و تثبیت حافظه را تقویت کرده، اما بازیابی حافظه فضایی را تخریب می‌کنند (۱۵). گزارش‌های موجود در زمینه اثر مهارکننده‌های اختصاصی بازجذب سروتونین (SSRIs) بر روند یادگیری و حافظه نیز متفاوت است. یافته‌ها حاکی از آن است که SSRIs بر عملکرد یادگیری در حیوانات و انسان‌ها اثر بهبودبخشی دارند. تعدادی از تحقیقات نشان می‌دهند تجویز فلوکستین، روند به‌خاطرآوری و تثبیت را در آزمایش احترازی بهبود می‌بخشد و از نقص حافظه ایجادشده به‌وسیله هیپوکسی ممانعت می‌کند (۶). Saleem و همکاران نشان دادند تجویز فلوکستین به مدت ۲ هفته موجب بهبود عملکرد حافظه موش‌های صحرایی در ماز آبی شده است (۱۶). از طرف دیگر بنابر یک تجربه بالینی، فلوکستین می‌تواند باعث نقص هوشیاری و کاهش حافظه شود (۱۷)، و در مطالعه‌ای دیگر گزارش گردید فلوکستین بر روند حافظه فضایی کوتاه‌مدت، اثرات بهبودبخش ندارد (۱۸). همچنین گزارش کرده‌اند فلوکستین منجر به یک اختلال شناختی قابل‌برگشت در افرادی با اختلال افسردگی ماژور می‌شود و بعد از قطع

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018

مصرف دارو، عملکردهای شناختی، به‌طور قابل‌توجهی بهبود می‌یابند (۱۸). از این‌رو با توجه به شیوع افسردگی و گرایش به استفاده از داروهای ضدافسردگی، در این مطالعه با کمک تست‌های رفتاری ماز شعاعی و صلیبی، تأثیر داروهای فلوکستین و سیپروهپتادین بر سیستم سروتونرژیک مغز، متعاقب آن بر روند یادگیری و حافظه جهت‌یابی موش‌های صحرایی نر بررسی گردید.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در خانه حیوانات آزمایشگاهی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه در مدت زمان حدود ۱۲ ماه روی ۳۰ رأس موش صحرایی نر نژاد ویستار (در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۰۰ گرم) انجام شد. حیوانات به‌طور تصادفی گروه‌بندی شده و به تعداد ۶ رأس در هر قفس قرار گرفتند و در شرایط استاندارد (چرخه نور - تاریکی ۱۲ ساعته و درجه حرارت کنترل‌شده محیط ۲±۲۵ سانتیگراد)، بدون هرگونه سر و صدا و آلودگی صوتی نگهداری شدند. هیچ‌کدام از حیوانات هنگام آزمایش، واجد بیماری یا شواهد مبنی بر بیماری نبودند. موش‌ها حداقل ۲ هفته قبل از شروع آزمایش نسبت به شرایط محیط آزمایشگاه سازگاری پیدا کردند. تمامی آزمایش‌ها بین ساعت ۱۴-۸ انجام گرفت و حیوانات دسترسی کافی به آب و غذا داشتند.

گروه‌های مورد آزمایش شامل: ۱- گروه کنترل سالم (موش‌هایی که فقط ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر دریافت کردند.)؛ ۲- گروه کنترل بیمار (موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی که فقط ۰/۲ میلی‌لیتر آب مقطر دریافت کردند.)؛ ۳- گروه بیمار دریافت‌کننده فلوکستین {موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی که ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن فلوکستین به‌صورت داخل صفاقی (ip) به آنها داده شد.}؛ ۴- گروه بیمار دریافت‌کننده سیپروهپتادین (موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی که ۴ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن سیپروهپتادین به‌صورت داخل صفاقی (ip) به آنها داده شد.)؛ ۵- گروه بیمار دریافت‌کننده فلوکستین+ سیپروهپتادین (موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی که به فاصله ۱۵ دقیقه، ابتدا ۴ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن سیپروهپتادین، سپس ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن فلوکستین به‌صورت داخل صفاقی (ip) به آنها داده شد.) دوز مصرفی و نحوه تجویز داروها براساس تحقیقات پیشین انتخاب گردید (۲۰،۱۹).

چهار گروه از موش‌ها به مدت ۱۴ روز، روزانه ۲ ساعت تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند. (استرس از نوع بی‌حرکتی یکی از روش‌های القاکننده افسردگی است.) برای اعمال استرس بی‌حرکتی (Immobilization Stress)، از محدودکننده پلی‌اتیلنی که تحت تأثیر آن موش‌های صحرایی تا حدممکن قابلیت حرکت را از دست بدهند، استفاده شد. تزریق داخل صفاقی داروها ۳۰ دقیقه بعد از اعمال استرس بی‌حرکتی انجام گرفت. پس از سپری‌شدن این دوره، از ماز شعاعی ۸ بازویی (Radial Arm Maze) و صلیبی ۴ بازویی (Cross Maze) برای بررسی حافظه فضایی استفاده گردید.

آزمون‌های تست حافظه فضایی و نحوه انجام تست رفتاری

۱- **ماز شعاعی ۸ بازویی:** دستگاه رفتاری مورد استفاده در کار تحقیقاتی حاضر یک ماز شعاعی ساخته‌شده از چوب بود. این دستگاه دارای ۸ بازوی کاملاً یکسان بوده که به‌صورت شعاعی از یک صفحه مرکزی کوچک دایره‌ای شکل منشعب می‌شود. ارتفاع ماز از زمین حدود ۶۰ سانتی‌متر و قطر محفظه مرکزی، ۲۵ سانتی‌متر است. طول هر بازو ۵۰، عرض آن ۱۰ و ارتفاع دیواره‌ها ۱۳ سانتی‌متر است. این طرح تضمین می‌کند حیوان برای یافتن غذا بعد از اینکه به انتهای یکی از بازوها می‌رود، برای رفتن به یک بازوی دیگر مجبور است به صفحه مرکزی برگردد؛ در نتیجه حیوان همیشه هشت گزینه ممکن را پیش‌رو دارد. یک بازوی ثابت با یک ظرف مخفی، همیشه محتوی غذا بوده، به‌طوری‌که حیوان نتواند آن را از دور ببیند. این وسیله ممکن است از چوب یا پلاستیک ساخته شده باشد. بهتر است رنگ سطوح دستگاه کدر و تیره باشد؛ زیرا جوندگان تا حدی نورگریز هستند و این امر هنگام تصویربرداری و دنبال کردن رد حیوان در مورد موش‌های سفید بسیار سودمند است. ماز شعاعی برای بررسی یادگیری، حافظه فضایی و یا رفتار جستجوگری جوندگان مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد.

رفتار حیوان به‌وسیله یک دوربین دیجیتالی که در بالای ماز روی سقف قرار گرفته است، ضبط می‌شود و پس از اتمام آزمون‌های

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018

رفتاری، مورد بازبینی و تحلیل قرار می‌گیرد. اطلاعات مورد نیاز (شامل زمان یافتن بازوی محتوی غذا) یادداشت می‌شود. در طی انجام آزمون‌های رفتاری در این مطالعه، محیط باید کاملاً ساکت و آرام بوده و حیوان قادر به دیدن آزمایشگر نباشد تا در کمال آرامش و بدون استرس، رفتاری طبیعی از خود بروز دهد. ماز توسط نشانه‌های قابل‌دید شامل اشکال مختلف و اجسامی مانند عروسک، ساعت و غیره در خارج از ماز، که از داخل ماز می‌تواند قابل‌دید باشد، احاطه شده است و این علائم، حیوان را برای یافتن غذا کمک می‌کند. محل نشانه‌ها در کل روزهای تست نبایستی تغییر کند. حیوانات در تمام آزمایش‌ها در یک جهت ثابت (مثلا رو به عروسک) قرار می‌گیرند تا شرایط برای همه حیوانات مساوی باشد.

در این مطالعه ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمون و آموزش، غذا از دسترس موش‌ها خارج شد. این آزمایش به مدت ۲ روز انجام گرفت. روز اول بدون اینکه زمان اندازه‌گیری شود، حیوان در ماز رها شد و به محض یافتن غذا، به آن اجازه داده شد تا مقداری از غذا را بخورد. هدف از این مرحله اولاً آن بود که حیوان یاد بگیرد که در یکی از بازوها غذا وجود دارد و ثانیاً به خاطر بسپارد غذا در کدام بازو قرار دارد (فرآیندهای یادگیری و حافظه). در روز دوم، غذا در همان بازوی مشخص گذاشته شد و موش در مرکز ماز رها گردید و به حیوان اجازه داده شد به مدت ۱۰ دقیقه دنبال غذا بگردد و مدت زمان رسیدن به غذا به‌وسیله کرونومتر اندازه‌گیری شد. اگر موش در مدت ۱۰ دقیقه غذا را پیدا نمی‌کرد، از ماز خارج می‌شد. تمامی این آزمایش‌ها، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی داروها انجام شد.

۲- ماز صلیبی و اندازه‌گیری رفتار تناوبی (Alternative Behavior): این آزمون ۲ روز پیش از تست ماز شعاعی ۸ بازویی انجام گرفت. در این آزمون، "میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری" از طریق مشاهده و اندازه‌گیری رفتار تناوب خودبه‌خودی حیوان در یک جلسه کاری مورد بررسی قرار گرفت. ماز صلیبی از جنس چوب و دارای ۴ بازوی مساوی به ابعاد ۱۰×۵۰×۱۳ سانتی‌متر می‌باشد که در میانه ماز به یک صفحه مرکزی دایره‌ای شکل متصل می‌شود. بازوها با حروف A، B، C و D نام‌گذاری شده‌اند.

جهت انجام آزمون، هر موش صحرایی در محوطه مرکزی ماز قرار داده شد، به‌طوری‌که امکان دسترسی آزاد به تمام نواحی ماز در یک دوره زمانی ۱۰ دقیقه‌ای را داشت. تعداد و توالی ورود حیوان به بازوها به‌صورت یکی از حروف A، B، C و D ثبت گردید. ورود حیوان به داخل یک بازو، زمانی بود که پاهای عقبی حیوان به‌طور کامل در داخل بازو قرار می‌گرفت. رفتار تناوبی به‌عنوان ورودی‌های موفق و پشت سر هم به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های چهارتایی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب درصد تناوب از نسبت تعداد تناوب حقیقی (مشاهده‌شده) به تعداد تناوب ممکن (۳ – تعداد کل ورود به بازوها) × ۱۰۰ محاسبه گردید. پس از اتمام آزمون‌های رفتاری در هرگروه، به‌منظور تعیین میزان کورتیکوسترون سرم و بررسی مؤثر بودن پروتکل استرس، حیوانات بعد از بیهوشی خفیف با اتر، به‌وسیله ترازوی دیجیتال توزین شدند، سپس ۵ میلی‌لیتر خون از قلب حیوان گرفته شد. جهت به دست آوردن سرم، نمونه‌های خونی بدون اضافه کردن ماده ضدانعقاد، به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند. نمونه‌های خونی پس از انعقاد کامل و تشکیل لخته، با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس مایع شفاف رویی به‌عنوان سرم، جدا و تا زمان سنجش کورتیکوسترون در فریز ۲۰-۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. برای اندازه‌گیری کورتیکوسترون از کیت Corticosterone, ELISA, DRG, Marburg, Germany استفاده گردید. به دلیل نوسانات شبانه‌روزی غلظت گلوکوکورتیکوئیدها، همه نمونه‌های خونی به‌هنگام ظهر گرفته شد.

در مطالعه حاضر سطوح پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده از روش استرابوئر و Cheeseman اندازه‌گیری شد (۲۱). طبق این روش، نمونه بافت هیپوکامپ وزن گردید و ۱۰٪ وزن/حجم به آن، بافر فسفات اضافه و در هاون کوبیده شد. سپس هموژنای تهیه‌شده به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفوژ شد. درادامه، ۱۵۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته شد و به لوله آزمایش منتقل گردید. درادامه، ۳۰۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰٪ به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد.

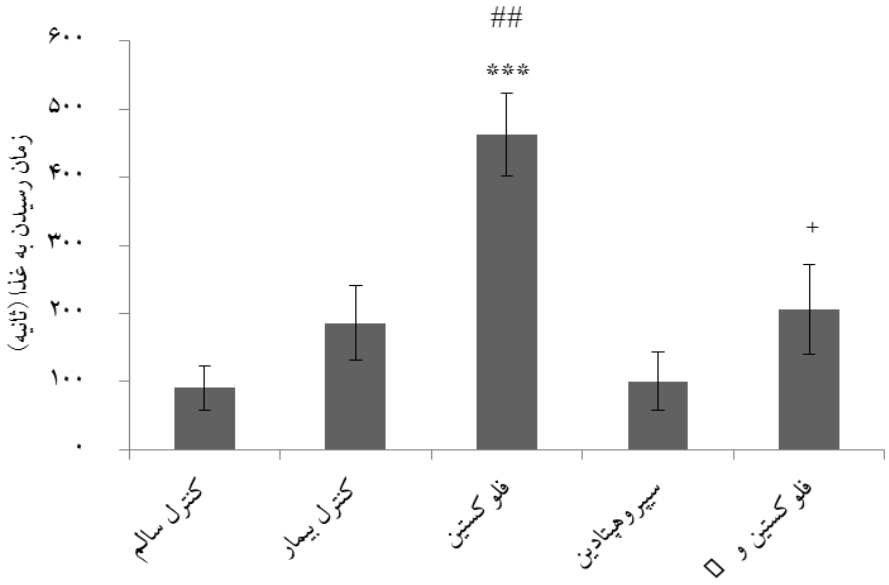
Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018

در مرحله بعد، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رویی به لوله آزمایش منتقل و با ۳۰۰ میکرولیتر از تیوباربیتوریک اسید ۶۷٪ در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه گردید. ۵ دقیقه پس از خنک شدن محلول، رنگ صورتی ناشی از واکنش مالون‌دی‌آلدئید با تیوباربیتوریک اسید ظاهر و با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۵ نانومتر در مقابل بلانک ارزیابی گردید. میزان مالون‌دی‌آلدئید به کمک ضریب جذبی مالون‌دی‌آلدئید محاسبه و به‌صورت نانومول/گرم بافت بیان شد.

نتایج حاصل به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲، آزمون واریانس یک‌طرفه (برای مقایسه گروه‌های مختلف از آزمون) و آزمون توکی تحلیل شدند. سطح‌معنی‌داری، $p \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مطابق نمودار شماره ۱ اعمال استرس بی‌حرکتی، تغییر معنی‌داری در مدت زمان پیدا کردن غذا در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد ($p>۰/۰۵$). نتایج آزمون ماز شعاعی نشان داد تجویز فلوکستین به حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی به‌طور معنی‌دار ($p<۰/۰۵$)، مدت زمان یافتن غذا در ماز شعاعی را در مقایسه با گروه کنترل و بیمار افزایش داده است. با این وجود، تیمار حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی با سیپروهپتادین به تنهایی یا همراه با فلوکستین، تغییر معنی‌داری را در مدت زمان یافتن غذا در مقایسه با گروه کنترل و بیمار ایجاد نکرد. همچنین تجویز همزمان سیپروهپتادین با فلوکستین توانست به‌طور معنی‌دار ($p<۰/۰۵$)، در مقایسه با گروه فلوکستین، مدت زمان پیدا کردن غذا در ماز را کاهش دهد (جدول).

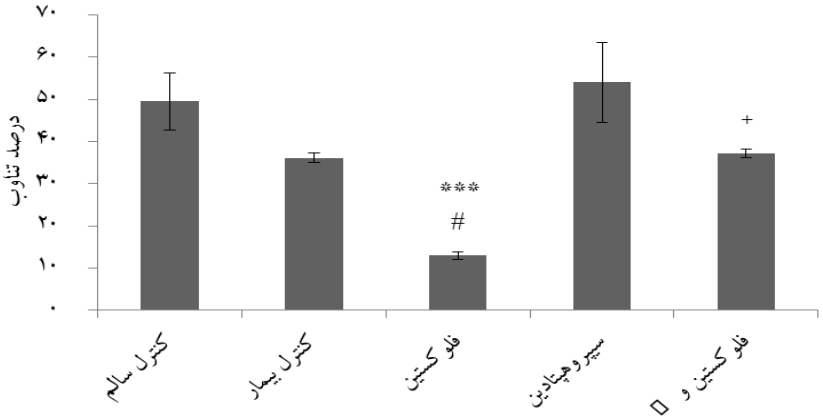


نمودار شماره ۱: مقایسه مدت زمان صرف‌شده توسط حیوان برای یافتن غذا در ماز شعاعی.

در این نمودار ***:$p \leq ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل؛ ##: $p \leq ۰/۰۱$ در مقایسه با گروه بیمار و +: $p<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه تحت تیمار با فلوکستین است.

مطابق نمودار شماره ۲، اعمال استرس بی‌حرکتی به حیوانات تحت آزمون، منجر به کاهش درصد تناوب به‌طور غیرمعنی‌دار ($p>۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل گردید. تیمار حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی با فلوکستین، به‌طور معنی‌دار ($p<۰/۰۵$)، درصد تناوب را در مقایسه با گروه کنترل و بیمار کاهش داد. همچنین تیمار حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی با سیپروهپتادین به تنهایی با گروه کنترل و بیمار ایجاد نکرد؛ اما تجویز سیپروهپتادین به‌تنهایی، درصد تناوب را به حد گروه کنترل رساند. تجویز سیپروهپتادین همزمان با فلوکستین، از اثرات کاهشی فلوکستین بر درصد تناوب جلوگیری نکرد و منجر به افزایش معنی‌دار درصد تناوب در این گروه در مقایسه با گروه فلوکستین گردید ($p<۰/۰۵$) (جدول).

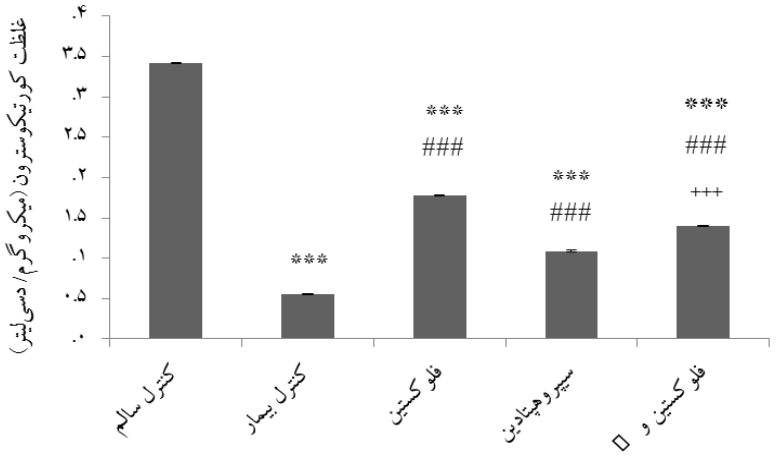
Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018



نمودار شماره ۲: مقایسه درصد تناوب بین گروه‌های مختلف در ماز صلیبی.

در این نمودار ***: p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل؛ #: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه بیمار و +: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه تحت تیمار با فلوکستین می‌باشد.

مطابق نمودار شماره ۳، اعمال استرس بی‌حرکتی سبب کاهش معنی‌دار سطح کورتیکوسترون سرم در مقایسه با گروه کنترل شد (p<۰/۰۵). نتایج سطوح سرمی کورتیکوسترون نشان داد تجویز فلوکستین به حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی به‌طور معنی‌دار (p<۰/۰۵)، سطح کورتیکوسترون سرم را در مقایسه با گروه کنترل کاهش و در مقایسه با گروه بیمار افزایش داده است. همچنین، تیمار حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی با سیپروهپتادین به تنهایی یا همراه با فلوکستین، به‌طور معنی‌دار (p<۰/۰۵)، سطح کورتیکوسترون سرم را در مقایسه با گروه کنترل کاهش و در مقایسه با گروه بیمار افزایش داد. با این وجود، تجویز همزمان سیپروهپتادین با فلوکستین، از اثرات افزایشی فلوکستین بر سطح کورتیکوسترون سرم جلوگیری کرد و منجر به کاهش معنی‌دار سطح کورتیکوسترون سرم در این گروه در مقایسه با گروه فلوکستین گردید (p<۰/۰۵) (جدول).

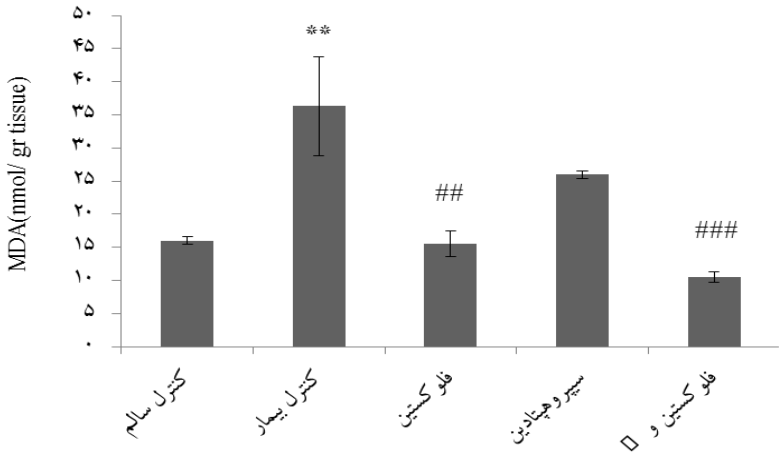


نمودار شماره ۳: مقایسه میانگین سطوح سرمی کورتیکوسترون بین گروه‌های مختلف.

در این نمودار ***: p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل؛ ###: p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه بیمار و +++: p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه تحت تیمار با فلوکستین می‌باشد.

مطابق نمودار شماره ۴، استرس بی‌حرکتی در موش‌های مورد آزمایش سبب افزایش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در مقایسه با گروه کنترل شد (p<۰/۰۵). تجویز فلوکستین، سطح MDA را در هیپوکامپ موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی به‌طور معنی‌دار در مقایسه با گروه بیمار کاهش داد (p<۰/۰۵). همچنین تیمار حیوانات تحت استرس با سیپروهپتادین، مقدار MDA را در مقایسه با گروه بیمار کاهش داد، اما این کاهش معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). با این وجود، شاخص مذکور تحت تیمار همزمان فلوکستین و سیپروهپتادین، اثرات کاهشی معنی‌دارتری را نسبت به تجویز هریک از داروهای فلوکستین و سیپروهپتادین به‌تنهایی در مقایسه با گروه بیمار ایجاد کرد (p<۰/۰۰۱) (جدول).

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018



نمودار شماره ٤: مقایسه میانگین سطوح MDA بافت هیپوکامپ بین گروه‌های مختلف.
در این نمودار **: p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل و ##: p<۰/۰۱، ###: p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه بیمار می‌باشد.

جدول: مقایسه زمان رسیدن به غذا، درصد تناوب، غلظت کورتیکوسترون سرم و میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت هیپوکامپ در گروه‌های آزمایشی

گروه‌ها	زمان رسیدن به غذا (برحسب ثانیه)	درصد تناوب	غلظت کورتیکوسترون	مالون‌دی‌آلدئید بافت هیپوکامپ
کنترل	۹۱ ± ۸۰/۳۰	۴۹/۵۰ ± ۱۶/۴۰	۳/۴۲ ± ۰/۰۱	۱۶ ± ۱/۴۱
بیمار	۱۸۵/۸۳ ± ۱۳۴/۴۰	۳۶/۱۶ ± ۲/۶۳	۰/۵۵ ± ۰/۰۱	۳۶/۳۳ ± ۱۸/۳۷
فلوکستین	۴۶۳/۱۶ ± ۱۴۸/۹۲	۱۳ ± ۲/۱۹	۱/۷۸ ± ۰/۰۱	۱۵/۵۰ ± ۴/۷۶
سیپروهپتادین	۱۰۰/۵۰ ± ۱۰۵/۲۰	۵۴ ± ۲۳/۳۲	۱/۰۹ ± ۰/۰۱	۲۶ ± ۱/۴۱
فلوکستین و سیپروهپتادین	۲۰۶/۳۳ ± ۱۶۱/۱۸	۳۷/۱۶ ± ۲/۴۸	۱/۴۰ ± ۰/۰۲	۱۰/۵۰± ۱/۸۷

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد استرس بی‌حرکتی مزمن، سبب کاهش یادگیری و تخریب حافظه جهت‌یابی به ترتیب در آزمون‌های ماز شعاعی و صلیبی می‌شود. این نتایج به‌وسیله افزایش زمان یافتن غذا، کاهش درصد تناوب و افزایش سطح MDA در گروه بیمار تأیید گردید. در این راستا، تحقیقات مشابه نشان داده‌اند مدل استرس محدودیت حرکتی می‌تواند باعث اختلال یادگیری و حافظه شود، همچنین گزارش شده است یک‌هفته استرس بی‌حرکتی، عملکرد فضایی رت‌ها را در ماز آبی موریس تخریب می‌کند (۵). از سوی دیگر، بی‌حرکتی به‌عنوان یک مدل از استرس ترکیبی حسی و عاطفی می‌تواند استرس اکسیداتیو را افزایش دهد که Zafir و Banu نیز با استفاده از استرس بی‌حرکتی دریافتند سطح پراکسیداسیون لیپیدی نه تنها در مغز، بلکه در کبد جانوران تحت استرس افزایش می‌یابد (۲۲)، که با مطالعه حاضر از نظر افزایش سطح MDA در گروه تحت استرس همخوانی داشت.

بنابراین، استرس خاص بی‌حرکتی از طریق آسیب اکسیداتیو چربی در مغز موش منجر به کاهش یادگیری و تخریب حافظه فضایی می‌شود. همچنین بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند استرس بی‌حرکتی باعث افزایش کورتیکوسترون می‌گردد (۱۳)؛ درحالی‌که یافته‌های این پژوهش از آنالیز سرمی موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی، هم‌راستا با این گزارش‌ها نبود. در این خصوص، در تعدادی از کارهای تحقیقاتی انجام‌شده، دانشمندان متوجه شدند استرس مزمن سبب کاهش غلظت کورتیکوسترون بعد از عمل جراحی شده و محققین نیز به این نتیجه رسیدند که افزایش حساسیت هیپوتالاموس به فیدبک منفی ارائه‌شده به‌وسیله کورتیکوسترون سبب کاهش غلظت کورتیکوسترون می‌شود. در فرضیه جدید، کاهش و افزایش کورتیزول، هر دو می‌تواند پاسخی به استرس باشد (۲۳). فرضیه دیگر برای توضیح کاهش غلظت کورتیکوسترون می‌تواند آسیب به سلول‌های هیپوتالاموس یا هیپوفیز، در نتیجه هیپوپرفیوژن مغزی باشد که در نتیجه آن محور HPA آسیب می‌بیند.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018

بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت در ابتدا غلظت کورتیکوسترون در پاسخ به استرس افزایش یافته است؛ اما به دلیل تداوم استرس، احتمالاً سلول‌های هیپوتالاموس یا هیپوفیز آسیب دیده که در نتیجه، سطوح کورتیکوسترون کاهش یافته است. همچنین از آن‌جایی که هیپوکامپ غنی از گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی بوده و اثرات استرس بر حافظه از طریق فعال شدن این گیرنده‌ها اعمال می‌شود و کورتیکوسترون نیز یک هورمون لیپوفیلیک است که به‌راحتی از سد خونی- مغزی عبور می‌کند (۲۴)؛ بنابراین افزایش اولیه کورتیکوسترون ناشی از استرس، علاوه بر تأثیر غیرمستقیم بر کاهش یادگیری و حافظه، از طریق افزایش سطح MDA و به احتمال زیاد از طریق تأثیر مستقیم بر گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی منجر به تخریب سلول‌های هیپوکامپ و در نهایت، باعث اختلال یادگیری و حافظه جهت‌یابی می‌شود. در این راستا، مطالعات حیوانی نشان داده است افزایش سطح کورتیزول، نورون‌ها را به چندین نوع آسیب مستعدتر می‌کند (۲۵). همچنین به دلیل وجود تعداد قابل‌توجهی از گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی در هیپوکامپ، تصور می‌شود این ناحیه از مغز در مکانیسم فیدبک منفی ترشح گلوکوکورتیکوئید نقش دارد (۲۶). بنابراین، می‌توان این‌گونه تفسیر کرد که افزایش کورتیکوسترون اولیه در پاسخ به استرس با تأثیر بر گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی هیپوکامپ و در نتیجه آسیب به سلول‌های این قسمت از مغز، در نهایت منجر به مکانیسم فیدبک منفی محور HPA شده که در نتیجه آن، کورتیکوسترون کاهش می‌یابد.

در این مطالعه تجویز فلوکستین منجر به کاهش معنی‌دار یادگیری و حافظه جهت‌یابی، افزایش کورتیکوسترون و کاهش سطح MDA در مقایسه با گروه بیمار شد. با توجه به اینکه فلوکستین باعث افزایش غلظت سروتونین خارج سلولی می‌شود و از طرفی، تحقیقات نیز نشان داده‌اند سروتونین در روند یادگیری و حافظه فضایی نقش به‌سزایی دارد (۲۷)، و از سوی دیگر، گزارش‌ها حاکی از آن است که فلوکستین موجب اختلال شناختی قابل‌برگشت در افراد افسرده می‌گردد (۱۸)؛ در نتیجه اختلال مشاهده‌شده در روند یادگیری و حافظه در این پژوهش می‌تواند به‌علت افزایش غلظت سروتونین در ناحیه سیناپسی باشد. این اثر احتمالاً از طریق گیرنده‌های پس‌سیناپسی موجود در هیپوکامپ ($5HT_1$ -$5HT_5$ و $5HT_7$) که در حافظه دخیل هستند، بروز می‌کند (۲۸). دخالت در روند حافظه بیشتر از طریق گیرنده‌های $5HT_{1A}$، $5HT_2$ و $5HT_3$ اعمال می‌شود. از آن‌جایی‌که مهارکننده‌های بازجذب سروتونین ازجمله فلوکستین، مسئول افزایش انتقال سروتونین از طریق تحریک گیرنده‌های $5HT_{1A}$ می‌باشند (۲۹)؛ به احتمال زیاد فلوکستین از طریق این گیرنده‌ها موجب تخریب یادگیری و حافظه فضایی شده است. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت فلوکستین از طریق افزایش میزان سروتونین سیناپسی، علاوه بر اعمال اثرات ضدافسردگی سبب کاهش یادگیری و حافظه جهت‌یابی نیز می‌شود. علی‌رغم وجود گزارش‌هایی در مورد تأثیر سیپروهپتادین بر بهبود علائم افسردگی از طریق گیرنده‌های سروتونرژیک، در مورد اثر مثبت سیپروهپتادین بر روندهای یادگیری و حافظه، گزارش منتشرشده‌ای وجود ندارد؛ اما از آن‌جایی‌که مطالعات نشان داده‌اند گیرنده‌های $5HT_2$ در طی درمان با آنتاگونیست‌ها کاهش یافته، همچنین سیپروهپتادین، آنتاگونیست گیرنده‌های $5HT_{1A}$ نیز می‌باشد (۳۰)؛ بنابراین احتمالاً سیپروهپتادین از طریق تنظیم کاهشی یا آنتاگونیزه کردن این گیرنده‌ها مانع اثر تخریبی فلوکستین بر روند یادگیری و حافظه فضایی شده است. پس می‌توان نتیجه‌گیری کرد سروتونین اثر منفی بر حافظه دارد. یک مکانیسم احتمالی دیگر برای توضیح تخریب یادگیری و حافظه فضایی ناشی از مصرف فلوکستین می‌تواند تخریب سلول‌های هیپوکامپ در نتیجه افزایش کورتیکوسترون ناشی از استرس باشد؛ چراکه حداقل ۳-۲ هفته زمان لازم است تا این داروها اثرات خود را مبنی بر کاهش کورتیکوسترون و کاهش سطح MDA اعمال کنند؛ در نتیجه در طی این مدت زمان، افزایش کورتیکوسترون ناشی از استرس منجر به آسیب اکسیداتیو و تخریب یادگیری و حافظه می‌شود و به احتمال زیاد فلوکستین اثر کاهشی خود بر سطح MDA را ۲ هفته بعد از تجویز اعمال می‌کند. به‌عنوان یک مکانیسم، با توجه به اینکه پراکسیداسیون لیپیدی، سلامت غشا را مختل می‌کند، فعالیت سطوح بالایی از لاکتات دهیدروژناز در حیوانات تحت استرس ممکن است تفسیری برای پیشرفت آسیب سلولی به دلیل موقعیت داخل سلولی آن باشد (۲۲)، و کاهش لاکتات‌دهیدروژناز،

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018

۲ هفته بعد از درمان با فلوکستین ممکن است یک نتیجه از کاهش استرس اکسیداتیو باشد که همزمان از آسیب غشای سلولی پیشگیری می‌کند. همچنین با توجه به اینکه فلوکستین به‌عنوان داروی ضداضطراب مصرف می‌شود؛ احتمالاً کاهش اضطراب سبب کاهش کورتیکوسترون در مقایسه با گروه کنترل نیز می‌شود. در مورد اثر این دارو بر غلظت کورتیزول، گزارش شده مصرف این دارو سبب افزایش کورتیکوتروپین (CRH) می‌گردد (۳۱). افزایش CRH نیز می‌تواند به دلیل کاهش میزان کورتیزول سرم باشد (۳۲). بنابراین، تصور می‌شود فلوکستین می‌تواند باعث افزایش CRH به دلیل کاهش سطوح کورتیکوسترون در اثر تداوم استرس شود که در نتیجه غلظت سرمی کورتیکوسترون در این گروه در مقایسه با گروه بیمار افزایش می‌یابد. مطالعات جانوری و آزمایشگاهی نشان داده‌اند سروتونین، غلظت CRH c را در هیپوتالاموس افزایش داده و باعث افزایش ترشح کورتیزول می‌شود که این اثر می‌تواند به‌وسیله سیپروهپتادین مهار گردد (۳۳). با توجه به اثر افزایشی فلوکستین بر غلظت سروتونین موجود در شکاف سیناپسی، می‌توان نتیجه گرفت این دارو از طریق افزایش سروتونین موجب افزایش کورتیکوسترون در مقایسه با گروه بیمار شده است.

علاوه بر این، گزارش شده سیپروهپتادین به‌عنوان آنتاگونیست غیراختصاصی گیرنده $5HT_2$ از طریق اختلال در ریتم شبانه‌روزی، ترشح ACTH و کورتیزول را کاهش می‌دهد. به‌نظر می‌رسد گیرنده‌های $5HT_{1A}$ و $5\text{-}HT_2/5HT_{1c}$، فعالیت محور HPA را تعدیل می‌کنند. از طرفی نیز عنوان شده است سیپروهپتادین تمایل بالایی برای اتصال به گیرنده‌های $5HT_1$ دارد (۳۳). بنابراین، سیپروهپتادین از طریق آنتاگونیزه کردن گیرنده‌های $5HT_{1A}$، $5HT_1$ و $5HT_{2/}$ منجر به کاهش کورتیکوسترون در مقایسه با گروه کنترل می‌شود و درصورت تجویز همزمان با فلوکستین، از اثر افزایشی فلوکستین بر غلظت سرمی کورتیکوسترون جلوگیری می‌کند؛ احتمالاً سیپروهپتادین با تأثیر بر گیرنده‌های سروتونرژیک و در نتیجه کاهش کورتیکوسترون ناشی از استرس موجب بهبود یادگیری و حافظه جهت‌یابی در حیوانات تحت استرس شده است. در مورد تأثیر سیپروهپتادین بر پراکسیداسیون لیپیدی، گزارشی منتشر نشده است، اما از آن‌جایی‌که در این مطالعه سیپروهپتادین میزان کورتیکوسترون را در مقایسه با گروه کنترل، کاهش و در مقایسه با گروه بیمار افزایش داد؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت سیپروهپتادین تا حدی می‌تواند باعث نرمال‌سازی محور HPA شود و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی را در مقایسه با گروه بیمار کاهش دهد. نتایج این مطالعه نیز تأیید می‌کند سیپروهپتادین برخلاف فلوکستین، بر روندهای مربوط به یادگیری و حافظه جهت‌یابی، اثر بهبودبخش دارد.

نتیجه‌گیری

در جمع‌بندی کلی از یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد استرس بی‌حرکتی مزمن موجب کاهش یادگیری و حافظه جهت‌یابی فضایی می‌شود و تجویز فلوکستین به دلیل اثر منفی سروتونین بر روندهای یادگیری و حافظه، به مراتب باعث تخریب هرچه بیشتر این فرآیندها می‌گردد؛ درحالی‌که سیپروهپتادین با توجه به اثر مهارکنندگی گیرنده‌های سروتونینی و در پی آن تعادل در محور HPA، از اثرات سوء فلوکستین بر روندهای یادگیری و حافظه جهت‌یابی فضایی پیشگیری می‌کند. در نهایت، می‌توان گفت فلوکستین ضمن اثرات ضدافسردگی، موجب بروز اختلالات شناختی نیز می‌شود که یکی از عوارض جانبی این دارو می‌باشد. بنابراین، در استفاده از داروی فلوکستین برای درمان افسردگی و اضطراب، جانب احتیاط باید رعایت شود. پیشنهاد می‌گردد مطالعات بیشتری درخصوص مکانیسم اثر داروی سیپروهپتادین بر گیرنده‌های سروتونرژیک موجود در بافت هیپوکامپ و بهبود فرآیندهای شناختی صورت گیرد.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018

References:

1. Nahavandi A, Bakhtiarzadeh F, Soleimani M. Comparison of neurodegeneration between right and left hippocampus area in rats. Tehran Univ Med J 2015;72(11):742-7. [Full Text in Persian]

2. Yıldız A, Hayirli A, Okumus Z, Kaynar O, Kısa F. Physiological profile of juvenile rats: Effects of cage size and cage density. Lab animal 2007;36(2):28-38.

3. Cazakoff BN, Johnson KJ, Howland JG. Converging effects of acute stress on spatial and recognition memory in rodents: A review of recent behavioural and pharmacological findings. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2010;34(5):733-41.

4. Wolf OT. The influence of stress hormones on emotional memory: Relevance for psychopathology. Acta Psychol (Amst) 2008;127(3):513-31.

5. Moosavi M, Naghdi N, Maghsoudi N, Zahedi AS. Insulin protects against stress-induced impairments in water maze performance. Behav Brain Res 2007;176(2):230-6.

6. Altman HJ, Nordy DA, Ogren SO. Role of serotonin in memory. Facilition by alaproclate and zimelidine. Psychopharmacology 1984;84(4):496-502.

7. Rodriguez JJ, Noristani HN, Verkhratsky A. The serotonergic system in ageing and Alzheimer's disease. Prog Neurobiol 2012;99(1):15-41.

8. Garcia-Alcocer G, Segura LCB, Pena MG, Martinez-Torres A, Miledi R. Ontogenetic distribution of 5-HT2C, 5-HT5A, and 5-HT7 receptors in the rat hippocampus. Gene Expr 2006;13(1):53-7.

9. Deiana S, Platt B, Riedel G. The cholinergic system and spatial learning. Behav Brain Res 2011;221(2):389-411.

10. Zhu F, Yan CX, Zhao YZ, Li PP, Li SB. Effects of pre-training morphine on spatial memory acquisition and retrieval in mice. Physiol Behav 2011;104(5):754-60.

11. Ishida H, Mitsui K, Nukaya H, Matsumoto K, Tsuji K. Study of active substances involved in skin dysfunction induced by crowding stress. I. Effect of crowding and isolation on some physiological variables, skin function and skin blood perfusion in hairless mice. Biol Pharm Bull 2003;26(2):170-81.

12. Pilipovic K, Zupan Z, Dangubic B, Mrsic-Pelcic J, Zupan G. Oxidative stress parameters in different brain structures following lateral fluid percussion injury in the rat. Neurochem Res 2011;36(5):913-21.

13. Srivastava R, Taylor M, Mann D. Effect of immobilization stress on plasma luteinizing hormone, testosterone, and corticosterone concentrations and on 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in the testes of adult rats. Proc Soc Experi Biolo Med 1993;204(2):231-35.

14. Kim JJ, Lee HJ, Han JS, Packard MG. Amygdala is critical for stress-induced modulation of hippocampal long-term potentiation and learning. J Neurosci 2001;21(14):5222-8.

15. Roozendaal B, Okuda S, de Quervain DJ, McGaugh JL. Glucocorticoids interact with emotion-induced noradrenergic activation in influencing different memory functions. Neuroscience 2006;138(3):901-10.

16. Saleem S, Riaz A, Haider S, Khaliq S, Darakhshan J. Comparison of behavioral effects of selective serotonin reuptake inhibitors, fluoxetine and an herbal antidepressant, St. John's Wort on depression. Pak J Biochem Mol Biol 2011;44(3):87-91.

17. Mirow S. Cognitive dysfunction associated with fluoxetine. Am J Psychiatry 1991;148(7):948-9.

18. Naghdi N, Majlessi N. Effects of citalopram on learning and memory in the mouse and rat. Chin J Physiol 2011;54(1):36-46.

19. Enginar N, Yamantürk-Celik P, Nurten A, Guney DB. Learning and memory in the forced swimming test: Effects of antidepressants having varying degrees of anticholinergic activity. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2016;389(7):739-45.

20. Bryce GF, Jacoby JH. Paradoxical short-term effects of cyproheptadine on insulin and glucagon release in the rat. Eur J Pharmacol 1979;54(4):349-57.

21. Esterbauer H, Cheesman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Method Enzymol 1990;186:407-21.

22. Zafir A, Banu N. Antioxidant potential of fluoxetine in comparison to Curcuma longa in restraint-stressed rats. Eur J Pharmacol 2007;572(1):23-31.

23. Heim C, Ehlert UM, Hellhammer DH. The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress related bodily disorders. Sychoneuroendocrinology.2000;25(1):1-35.

24. Krugers HJ, Goltstein PM, Linden S, Joels M. Blockade of glucocorticoid receptors rapidly restores hippocampal CA1 synaptic plasticity after exposure to chronic stress. Eur J Neurosci 2006;23(11):3051-5.

25. Yoshiya M, Komatsuzaki Y, Hojo Y, Ikeda M, Mukai H, Hatanaka Y, et al. Corticosterone rapidly increases thorns of CA3 neurons via synaptic/extra nuclear glucocorticoid receptor in rat hippocampus. Front Neural Circuits 2013;7:191.

26. Umegaki H, Ikari H, Nakahata H, Endo H, Suzuki Y, Ogawa A, et al. Plasma cortisol levels in elderly female subjects with Alzheimer's disease: A cross sectional and longitudinal study. Brain Res 2000;881(2):241-3.

27. Seyedabadi M, Fakhfouri G, Ramezani V, Mehr SE, Rahimian R. The role of serotonin in memory:interactions with neurotransmitters and downstream signaling. Exp Brain Res 2014;232(3):723-38.

28. Freret T, Meneses A. Serotonin, neural markers, and memory. Front Pharmacol 2015;6:143.

29. Sanders J, Mayford M. Chronic fluoxetine dissociates contextual from auditory fear memory. Neurosci Lett 2016;632:152-6.

30. Greenway SE, Allen TP, Frank L, Greenway MD. Treatment of depression with cyproheptadine. Pharmacotherapy 1995;15(3):357-60.

31. Bartolomucci A, Palanza P, Gaspani L, Limiroli E, Panerai AE, Ceresini G, et al. Social status in mice: behavioral, endocrine and immune changes are context dependent. Physiol Behav 2001;73(3):401-10.

32. Hashemi SS, Jelodar GA, Rafati AR. Investigating the effects of fluoxetine on cortisol and thyroid hormone levels in rats. Arak Med Univ J 2014;17(83):82-89. [Full Text in Persian]

33. Schurmeyer TH, Brademann G, Von zur muhlen A. Effect of cyproheptadine on episodic ACTH and cortisol secretion. Eur J Clin Invest 1996;26(5):397-403.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 20:57 IRDT on Friday April 20th 2018