

The Role of 5HT₃ Receptor Antagonist of the Lateral Hippocampus on Amnesia Induce by Morphine in Mice

Hanieh Sadat Lavasani¹, Bahareh Pakpour^{1*}, Majid Navaeian²

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

²Department 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 (CA₁) 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-HT₃ 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-HT₃ receptor antagonists of hippocampal CA₁ region and morphine.

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

نقش آنتاگونیست گیرنده 5-HT₃ هیپوکامپ جانبی بر فراموشی ناشی از مورفین در موش های کوچک آزمایشگاهی

هانیه سادات لواسانی^۱، بهاره پاکپور^{۲*}، مجید نوابیان^۲

چکیده

زمینه و هدف: فرآیندهای یادگیری و حافظه در نتیجه تأثیر متقابل سیستم های نوروترنسمیتری است که در مناطق مختلف مغزی همچون هیپوکامپ به وجود می آید. نتایج نشان داده اند سیستم های سروتونرژیک و اپیوئیدرژیک در نتایج رفتاری، یادگیری و حافظه دخالت دارند. در این مطالعه تأثیر سیستم سروتونرژیک (5-HT) هیپوکامپ جانبی (CA₁) بر فراموشی ناشی از مورفین بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، حیوانات به صورت دوطرفه و متقارن در ناحیه CA₁ هیپوکامپ جانبی، کانول گذاری شدند. مورفین به صورت درون صفاقی و آنتاگونیست گیرنده 5-HT₃ (Y-25130) در ناحیه CA₁ تزریق شد. حافظه با استفاده از یک دستگاه اجتنابی مهارتی یک طرفه اندازه گیری و بعد از آموزش، تست گرفته شد. میزان تأخیر در پایین آمدن از سکو به عنوان مبنایی برای سنجش حافظه در موش های بالغ نژاد NMRI در نظر گرفته شد. داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تحلیل شدند.

یافته ها: در این مطالعه، تزریق پیش از آموزش مورفین (دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و Y-25130 (به میزان ۱ نانوگرم بر موش)، فرآیند اکتسابی حافظه را در موش بالغ کاهش داد. همچنین دوز غیر مؤثر Y-2513025 (به میزان ۰/۰۱ نانوگرم بر موش) همراه با دوز غیر مؤثر مورفین (دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) منجر به القای فراموشی موش ها شد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد اثر تقویت کننده ای بین آنتاگونیست گیرنده 5-HT₃ CA₁ با مورفین وجود دارد.

کلید واژه ها: حافظه؛ سروتونین؛ مورفین؛ موش ها؛ اجتنابی مهارتی.

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

^۲گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

بهاره پاکپور؛ گروه زیست شناسی، 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

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Lavasani HS, Pakpour B, Navaeian M. The role of 5HT₃ 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]

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 به صورت 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 CA₁، CA₃ و شکنج دندان‌های را به طور 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 خلق (۸)، سکس (۹)، اشتها و خواب (۱۰)، حافظه (۱۱) (۱۲)، احساس و اضطراب (۱۳)، دمای بدن (۱۴)، حرکت (۱۵، ۱۶)، 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 به طور اساسی در هسته رافه قرار گرفته‌اند و آکسون آن‌ها در اغلب اعصابی که 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 قابل توجهی در هیپوکامپ دارند (۱۹). گیرنده‌های سروتونینی به هفت خانواده طبقه‌بندی می‌شوند (5-HT₁₋₇) (۲۰، ۲۱). در میان این گیرنده‌ها، 5-HT₃ تنها گیرنده متصل به کانال یونی از نوع لیگاند - دریچه‌ای است که فعال شدن آن منجر به نفوذ کلسیم و سدیم می‌گردد (۲۱، ۲۲). 5-HT به عنوان یک عامل مؤثر، از طریق مسیرهای کولینرژیک در انتقال اطلاعات نقش دارد (۲۳، ۲۴)، و تحریک آگونیست گیرنده 5-HT₃ نیز موجب تخریب در حافظه می‌شود. در برخی تحقیقات تقویت حافظه به وسیله آنتاگونیست 5-HT₃ (۲۲) و در بعضی دیگر بی‌اثری بر حافظه توسط آنتاگونیست 5-HT₃ نشان داده شده است (۲۵، ۲۶). در مطالعات انجام شده اثر سروتونین بر حافظه به خوبی مشخص نشده و نتایج متناقضی به دست آمده است که این تناقضات به علت عوامل مختلفی؛ از جمله گونه مورد آزمایش، نوع تست رفتاری، نواحی مختلف مغز، زمان آموزش و نوع دارو و غیره می‌باشد (۲۷، ۲۸). همچنین مورفین (۶) و 5-HT (۲۳، ۲۴) 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) تهیه شده از انستیتو پاستور 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 ۲۲±۳ درجه سانتیگراد متغیر بود و به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد خود را با شرایط محیط قبل از جراحی وفق دهند. در طول یک هفته هر روز حیوان‌ها لمس می‌شدند تا در موقع آزمایش استرس ناشی از گرفتن و کار با آنها وجود نداشته باشد. قابل ذکر است که از هر حیوان فقط یکبار استفاده می‌شد.

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 مهار (غیرفعال)

[Inhibitory (Passive) Avoidance Apparatus]: یک جعبه چوبی به ابعاد ۳۰×۳۰×۴۰ 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) به عنوان آنتاگونیست گیرنده 5-HT₃ 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 بر کیلوگرم) و گزایلازین (دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) 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 CA₁ هیپوکامپ جانبی عبارت بودند از:

$$AP = -2ML \pm 1/6 V = -1/5$$

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 مورد قبول 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، 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 بیشتر از ۲۰ ثانیه روی سکو می‌ماند، از مطالعه حذف می‌شد. بلافاصله پس از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن 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 به ذکر است در یادگیری اجتنابی مهار (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 به عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری شد. حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان سقف) برابر ۳۰۰ ثانیه بود که به عنوان 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 مجسمه خارج و در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت. پس از یک هفته با ایجاد برش‌هایی در محل کانول به درون مغز، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد بررسی قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه‌شده، از اطلس پاکسینوس استفاده گردید.

موش‌ها در چهار گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه اول: (گروه شم) جراحی شده که ۵ دقیقه قبل از آموزش، سالین را (به میزان ۱ نانوگرم بر موش) به صورت درون هیپوکامپی دریافت کردند.

گروه دوم، سوم و چهارم: گروه‌های شم جراحی شده‌ای بودند که ۵ دقیقه قبل از آموزش، Y-25130 را (با مقادیر ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ نانوگرم بر موش) به صورت درون هیپوکامپی دریافت کردند.

در همه آزمایش‌ها، زمان توقف حیوان روی سکو، به صورت میانه و چارک ثبت گردید. به علت 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، $p < 0.005$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، تزریق درون هیپوکامپی قبل از آموزش دوزهای متفاوت آنتاگونیست (Y-25130 5-HT₃) روی حافظه اجتنابی مهارتی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی، براساس آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد تزریق قبل از آموزش Y-25130، حافظه اجتنابی مهارتی را تغییر داده است [$F(3/28)=4.27$ ، $p < 0.005$]. براساس آزمون مکمل توکی، تزریق قبل از آموزش و درون هیپوکامپی Y-25130 (۱ نانوگرم بر موش)، تأخیر در پایین آمدن از سکو، اصطلاحاً میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش داد (نمودار شماره ۱).

گروه اول: (گروه شم) جراحی شده که ۵ دقیقه قبل از آموزش، سالین را (به میزان ۱ نانوگرم بر موش) به صورت درون هیپوکامپی دریافت کردند.

گروه دوم، سوم و چهارم: گروه‌های شم جراحی شده‌ای بودند که ۵ دقیقه قبل از آموزش، Y-25130 را (با مقادیر ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ نانوگرم بر موش) به صورت درون هیپوکامپی دریافت کردند.

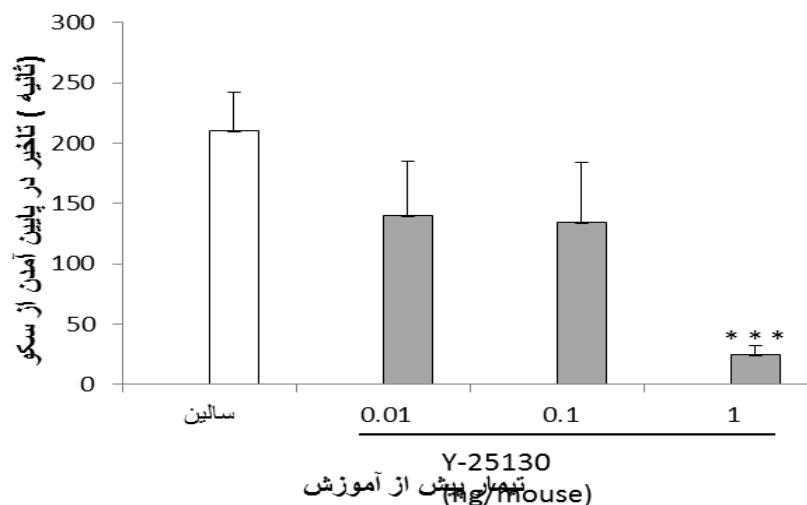
در آزمایش تأثیر تزریق قبل از آموزش مورفین بر روی حافظه اجتنابی مهارتی؛

گروه اول: گروه شم جراحی شده (۳۰ دقیقه قبل از آموزش)، سالین را (به میزان ۱ میکرولیتر بر موش) به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

گروه دوم، سوم و چهارم نیز گروه‌های شم جراحی شده‌ای بودند که ۳۰ دقیقه قبل از آموزش، مورفین را در مقادیر مختلف (۱/۲۵، ۲/۵، ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی دریافت کردند.

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

گروه اول: گروه تجربی جراحی شده (۳۰ دقیقه قبل از آموزش)، مورفین را (به میزان ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی دریافت کردند و ۵ دقیقه قبل از آموزش، سالین را (به میزان ۱ میکرولیتر بر موش) دریافت کردند.

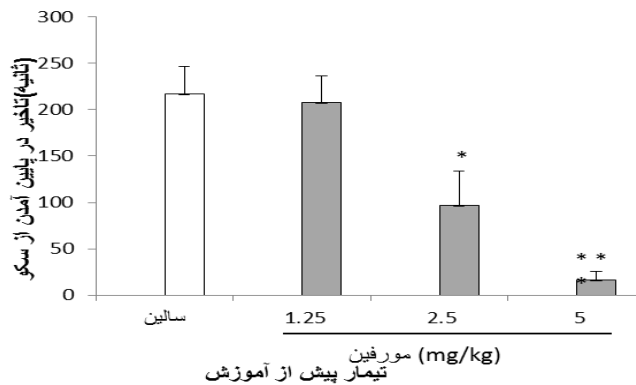


نمودار شماره ۱: اثرات تزریق قبل از آموزش Y-25130 بر روی حافظه اجتنابی مهارتی.

چهار گروه از حیوانات تزریق درون هیپوکامپی دوزهای 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 $p < 0.001$ *** در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.

آموزش مورفین، حافظه اجتنابی مهارى را تغییر داده است
[F(۳,۲۸)=۹/۵۳۸, p<۰/۰۰۱].

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



نمودار شماره ۲: اثرات تزریق قبل از آموزش مورفین بر روی حافظه اجتنابی مهارى.

یک گروه، تزریق درون صفاقی از سالین (یک میکرولیتر برموش) را ۳۰ دقیقه قبل از آموزش دریافت کرده‌اند. چهار گروه از حیوانات تزریق درون صفاقی دوزهای مختلفی از مورفین (۲/۵، ۱/۲۵، ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) را ۳۰ دقیقه قبل از آموزش دریافت کرده‌اند. هر ستون نمایانگر میانگین $\pm$ انحراف معیار مربوط به ۸ موش در هر گروه است.
p<۰/۰۰۱ و p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.

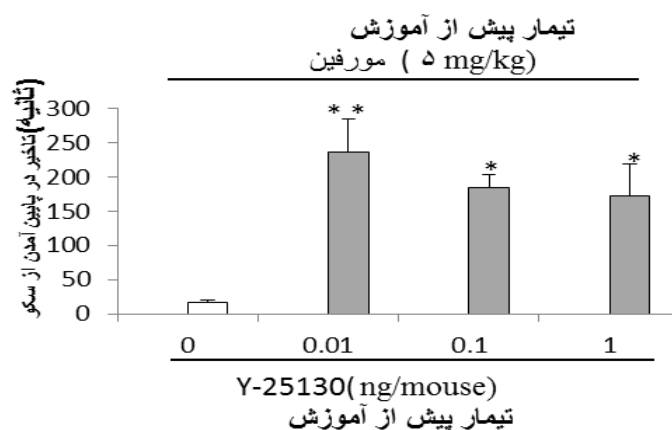
بر کیلوگرم) و Y-25130 در مقادیر مختلف (۰/۰۰۱، ۰/۱، ۱ نانوگرم بر موش) قبل از آموزش باعث بازگشت حافظه اجتنابی مهارى در روز آزمون شده است.

[F(۳/۲۸)=۳/۷۸ **p<۰/۰۱, *p<۰/۱]

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

نتایج تزریق قبل از آموزش دوزهای متفاوت مورفین (۲/۵، ۱/۲۵، ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی روی حافظه اجتنابی مهارى در موش‌های کوچک آزمایشگاهی براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد تزریق قبل از

نتایج تزریق درون هیپوکامپی همزمان دوز مؤثر مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی (قبل از آموزش) و تزریق Y-25130 در مقادیر مختلف (۰/۰۰۱، ۰/۱، ۱ نانوگرم بر موش) قبل از آموزش به صورت درون هیپوکامپی روی حافظه اجتنابی مهارى در موش‌های کوچک آزمایشگاهی، براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد تزریق درون صفاقی همزمان دوز مؤثر مورفین (دوز ۵ میلی گرم



نمودار شماره ۳: تأثیر تزریق درون هیپوکامپی دوزهای مختلف Y-25130 بر حافظه تخریب شده ناشی از مورفین بر روی حافظه اجتنابی مهارى.

هر چهار گروه تزریق درون صفاقی مورفین (۵ نانوگرم بر موش) را ۳۰ دقیقه قبل از آموزش دریافت کرده‌اند. این چهار گروه از حیوانات تزریق درون هیپوکامپی مقادیر مختلفی از Y-25130 (۰/۰۰۱، ۰/۱، ۱ نانوگرم بر موش) را ۵ دقیقه قبل از آموزش دریافت کرده‌اند. هر ستون نمایانگر میانگین $\pm$ انحراف معیار مربوط به ۸ موش در هر گروه است.
p<۰/۰۵ و p<۰/۰۱

بحث

در این مطالعه تأثیر تزریق دوطرفه آنتاگونیست گیرنده 5-HT₃ بر هیپوکامپ جانبی CA₁ و تأثیر آن بر فراموشی القاشده به وسیله مورفین در موش های کوچک آزمایشگاهی بررسی گردید. مطالعات نشان داده اند مورفین باعث نقص های شناختی شده و استفاده از اپیوئیدها به ویژه مورفین، حافظه و یادگیری را تحت تأثیر قرار می دهد که می تواند نورون زایی را در هیپوکامپ مهار کند (۳۳). همچنین مشخص شده است تجویز زیرپوستی مورفین به صورت حاد، اکتساب حافظه را در مسیرهای مختلفی مثل Y - ماز و آزمایش های اجتنابی فعال و غیرفعال مهار می کند (۳۴). Li و همکاران گزارش کردند تجویز زیرپوستی مورفین در موش های سوری به علت مهار سیستم کولینرژیک، منجر به اختلال حافظه در آزمایش ماز آبی موریس می گردد (۳۵). معتمدی و همکاران نیز اعلام کردند مورفین خوراکی به صورت حاد باعث ایجاد نقص در یادگیری فضایی در آزمایش ماز آبی موریس می شود (۳۶). در یک آزمایش اجتنابی غیرفعال که توسط زرین دست بر روی موش های سوری انجام شد، مشاهده گردید تزریق زیرپوستی مورفین به صورت حاد، بازیابی حافظه را مختل می کند (۳۷). در تحقیق دیگری نیز زرین دست و همکاران نشان دادند تزریق مورفین در ناحیه تگمنتال شکمی به صورت حاد در موش های سوری در آزمایش اجتنابی غیرفعال باعث تخریب بازیابی حافظه می گردد (۳۴). Ragozzino نیز گزارش کرد تزریق مورفین به صورت حاد در ناحیه صفاقی در موش های صحرایی باعث تخریب حافظه می شود (۴۲). همچنین Rezayof در آزمایش اجتنابی غیرفعال روی موش های سوری نشان داد تجویز زیرپوستی مورفین به شکل حاد، یادگیری را مختل می کند (۳۹). یکی از عوامل توجه کننده تخریب روندهای حافظه و یادگیری در اثر تجویز حاد مورفین، وابستگی سیستم اپیوئیدی با سیستم کولینرژیک است (۴۳-۴۰). آگونیست های اپیوئیدی مثل مورفین، تمایل زیادی به گیرنده های مو - اپیوئیدی دارند و با اتصالشان به این گیرنده ها باعث مهار فعالیت کولینرژیک در هیپوکامپ و کاهش رهایی استیل کولین در بسیاری از نواحی مغز می شوند (۳۵، ۴۴). از آنجایی که استیل کولین یکی از میانجی های مؤثر در بهبود یادگیری و حافظه است؛ در نتیجه مهار رهایی آن

به وسیله اپیوئیدها اثر منفی روی حافظه و یادگیری دارد (۳۵). در مطالعه حاضر مشاهده گردید تزریق قبل از آموزش دوزهای مختلف مورفین باعث تغییر حافظه اجتنابی مهار و تخریب آن می شود. ناصحی و همکاران نشان دادند تزریق درون هیپوکامپی آگونیست رسپتور 5-HT₃, MCHL, آنتاگونیست 5-HT₃ (Y-25130)، آگونیست 5-HT₄ (RS67333) و آنتاگونیست 5-HT₄ (RS23597)، منجر به تخریب حافظه اجتنابی مهار می گردد (۴۵). همچنین نتایج سایر مطالعات نشان می دهد کاهش سروتونین مغز منجر به تخریب حافظه شکل گرفته شده می شود (۲۵). در مقابل، در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد افزایش سروتونین مغز باعث بهبود حافظه می گردد (۲۶، ۲۵). این نتایج، بیانگر نقش بسیار متفاوت 5-HT روی حافظه بوده (۲۵)، و این نقش های متفاوت سروتونین به علت وجود گیرنده های پیش یا پس سیناپسی آن است (۴۶، ۳۸)، که به همین دلیل بر روی حافظه تأثیرات متفاوتی خواهد گذاشت (۲۱). گیرنده های 5-HT₃ در مغز هم روی نواحی پیش سیناپسی و هم پس سیناپسی قرار دارند (۲۱). در مطالعه حاضر، تزریق درون هیپوکامپی Y-25130 (قبل از آموزش) باعث تغییر حافظه اجتنابی مهار و تخریب آن شد. همچنین تزریق درون صفاقی دوز مؤثر مورفین (قبل از آموزش) و تزریق همزمان و درون هیپوکامپی Y-25130 در مقادیر مختلف (قبل از آموزش) بر روی حافظه اجتنابی مهار مورد آزمایش قرار گرفت که در آن تزریق دوزهای مختلف سروتونین همراه با دوز مؤثر مورفین منجر به بازگشت حافظه تخریب شده به وسیله مورفین شد و این بازگشت حافظه، به خصوص در دوز غیر مؤثر سروتونین (۰/۰۱ نانوگرم برموش) بیشتر مشاهده گردید؛ این نتیجه، نشان دهنده برهمکنش مؤثر بین سیستم های سروتونینی و اپیوئیدی است. از آنجایی که هسته رافه (منبع تولید سروتونین) خروجی هایی را به سمت نخاع و دیگر قسمت ها دارد (۴۷)، و این خروجی ها منجر به تولید مورفین و اثرات ضد درد آن می شود (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 تزریق شده به صورت غیر مؤثر عمل می کند و باعث بازگشت حافظه یا به عبارت دیگر، بی اثر بودن آن بر حافظه می شود.

نتیجه گیری

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 CA₁ هیپوکامپ، گیرنده‌های سروتونین و اوپیوئیدی موجود می‌توانند اثر یکدیگر را تقویت کرده و با هم اثر سینرژستیک داشته باشند.

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.

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, Skrebuhova T, Allikmets L, Matto V. Modulatory role of 5-HT₃ 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

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-HT₃ 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-HT₃ 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-HT₄ 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-HT₃ 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. Fakhfour G, Rahimian R, Ghia J-E, Khan WI, Dehpour AR. Impact of 5-HT₃ 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 Serotonergic 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-HT₃ and 5-HT₄ 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-HT₄ 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

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-HT_{1A} 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, Khalilzadeh 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 learning 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