*Medical Journal*
*of*
*Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*

## Original Article

# Determining the 5-ht1receptor agonist (cp94253hydrochloride) of dorsal hippocampus (ca1) on harmaline–induced amnesia in male mice

**Mahdi Jamshidi Mehr[1*], Shahr Banoo Oryan[1], Mohammad Reza Zarrindast[2], Mohammad Nasehi[3]**

[1]Department of Animal Physiology, School of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[2]Department of Biology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Garmsar, Iran
[3]Department of Neuroscience, School of Advanced Medical Technology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
*Corresponding author; E-mail: mehdijam94@yahoo.com

Received: 17 June 2014 Accepted: 31 August 2014 First Published online: 10 April 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 June;39(2): 33-39

## Abstract

**Background:** β-Carbolines are found in cigarette smoke and cooked protein-rich foods such as meat and fish products, reflecting its formation from tryptophan by pyrolysis. β -Carbolines such as harmaline(HA) has been shown to exert multiple pharmacologic actions, including monoamine oxidase inhibition, convulsive or anticonvulsive action, and anxiolytic effects.. Harmaline has also been shown to act on a variety of receptor systems in the mammalian brain, including those for serotonin, dopamine and benzodiazepines. In animals, it has been reported to affect short and long term memory. In the present study, effects of the dorsal hippocampus 5-HT1receptor agonist (CP94253hydrochloride) on the harmaline (HA)-induced amnesia was examined in mice.

**Methods:** In 1 experiment five groups of animals received saline (10 ml/ kg) and different doses of HA (0.625, 0.75,2 and 4 mg/kg) 15 min before testing training, In 2 experiment groups of animals received saline (10/kg, i.p.) and CP94253hydrochloride (0.0005, 0.005,0.01 and0.25 ng/mouse) 15 min before training and In 3 experiment five groups of animals received HA (0.625, .75,2 and 4 mg/kg) and CP94253hydrochloride (.25 ng/mouse) 15 min before training.

**Results:** Male NMRI mice weighing 20-25g were used in this study. Pre-training (0.75 mg/kg) intraperitoneal (i.p.) administration of Harmalie reduced memory formation, while harmaline .625 mg/kg and 2,4 mg/kg injected intraperitoneally and pre-training did not significantly influenced on memory behavior. 5HT1B/1D agonist CP94253 hydrochloride, (.25 ng/mouse) administration had no effect on memory formation.

**Conclusions:** The present findings suggest the involvement of agonist 5-HT1in Harmaline- induced impairment of memory formation.

**Keywords:** Harmaline, Agonist, CA1, Memory, Mice

**How to cite this article**: Jamshidi Mehr M, Oryan Sh, Zarrindast M, Nasehi M. [Determining the 5-ht1receptor agonist (cp94253hydrochloride) of dorsal hippocampus (ca1) on harmaline–induced amnesia in male mice]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 June;39(2): 33-39. Persian.

© 2017 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**مقاله پژوهشی**

# اثر (CP94253hydrochloride) آگونیست انتخابی گیرنده ۵-HT1 هیپوکامپ پشتی ناحیه (CA1) در فراموشی ناشی از هارمالین در موش سوری نر

**مهدی جمشیدی مهر[۱*]، شهربانو عریان[۱]، محمد رضا زرین دست[۲]، محمد ناصحی[۳]**

[۱]گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده ی علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
[۲]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران
[۳]گروه علوم اعصاب، دانشکده فن آوری‌های پیشرفته پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[*] نویسنده رابط؛ ایمیل: mehdijam94@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۳/۳/۲۷ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۹ انتشار برخط: ۱۳۹۶/۱/۲۱
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. خرداد و تیر ۱۳۹۶؛ ۳۹(۲): ۳۳-۳۹

## چکیده

**زمینه**: بتا کربولین‌ها در دود سیگار و غذاهای غنی از پروتئین، مانند ماهی وجود دارند که تشکیل آنها را از تریپتوفان، به واسطه‌ی پیرولاز نشان می‌دهد. بتاکربولین‌هایی مانند هارمالین، اعمال فارماکولوژیکی گسترده‌ای شامل مهار مونوآمینواکسیداز، اثر تشنجی، ضد تشنجی و لرزش‌آور دارند. هارمالین بر روی انواع سیستم‌های گیرنده در مغز پستانداران، از جمله سروتونین، دوپامین و بنزودیازپین‌ها عمل می‌کند. در این مطالعه، اثرات آگونیست گیرنده‌ی 5-HT1 (CP94253hydrochloride) هیپوکامپ پشتی (ناحیه‌ی CA1) در فراموشی ناشی از هارمالین مورد بررسی قرار گرفت.

**روش کار**: در این مطالعه، موش‌های سوری نر با وزن ۲۵-۲۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. در آزمایش اول پنج گروه از حیوانات سالین (۱۰ میلی‌لیتر/ کیلوگرم) و دوزهای مختلف هارمالین (۰.۶۲۵، ۲،۷۵ و ۴ میلی‌گرم/ کیلوگرم) را ۱۵ دقیقه قبل از آموزش دریافت کردند. در آزمایش دوم پنج گروه از حیوانات، سالین (۱۰ میلی‌لیتر/ کیلوگرم) و CP94253hydrochloride (۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۲۵ نانوگرم/ موش) ۱۵ دقیقه قبل از آموزش دریافت کردند و در آزمایش سوم پنج گروه از حیوانات دوزهای (۶۲۵/، ۲،۷۵/ و ۴ میلی‌گرم/ کیلوگرم) هارمالین و دوز (۲۵/ نانوگرم/ موش) از CP94253hydrochloride ۱۵ دقیقه قبل از آموزش دریافت کردند.

**یافته‌ها**: در این تجارب تزریق پیش از آموزش هارمالین ۷۵/ میلی‌گرم/ کیلوگرم تشکیل حافظه را کاهش می‌دهد، در حالی که تزریق دوزهای (۰.۶۲۵،۲ و ۴ میلی‌گرم/ کیلوگرم) از هارمالین به صورت معناداری حافظه را تغییر نمی‌دهد. تزریق دوز ۰/۵ نانوگرم/ موش از CP94253 hydrochloride، به صورت درون مغزی، بر تشکیل حافظه، بی اثر است.

**نتیجه‌گیری**: با توجه به یافته‌های فوق می‌توان نتیجه گرفت که آگونیست گیرنده 5-HT1 در تشکیل حافظه با هارمالین برهم کنش می‌دهد.

**کلید واژه‌ها**: آگونیست، حافظه، موش سوری، هارمالین، هیپوکامپ

**نحوه استناد به این مقاله**: جمشیدی مهر م، عریان ش، زرین دست م، ناصحی م. اثر (CP94253hydrochloride) آگونیست انتخابی گیرنده۵-HT1 هیپوکامپ پشتی ناحیه (CA1) در فراموشی ناشی از هارمالین در موش سوری نر. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۲): ۳۳-۳۹

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

## مقدمه

یادگیری و حافظه، سازش مادام‌العمر مدارهای نورونی مغز با محیط است که جانوران را قادر به پاسخگویی به محرکهایی که از پیش تجربه شده‌اند، می‌سازد (۱). مناطق مغزی متعددی مانند هیپوکامپ، آمیگدال، مخچه، قشر جلو پیشانی: قشر انتورینال، تالاموس، بخش‌های میانی لوب گیجگاهی، استریاتوم، کورتکس مغزی و نئوکورتکس در فرآیند حافظه دخالت دارند هیپوکامپ یک بخش خیلی مهم در مغز است که نقش مهمی در یادگیری، حافظه کوتاه مدت و فعالیت حرکتی، و تشکیل خاطرات جدید دارد. این منطقه از مغز به سن خیلی حساس است (۳و۲). گیرنده‌های زیادی در هیپوکامپ وجود دارند، یکی از این گیرنده‌ها، گیرنده‌ی سروتونین می‌باشد. سروتونین به عنوان یک نوروترانسمیتر از طریق رسپتورهای غشایی در سیستم عصبی مرکزی (CNS) و سیستم عصبی محیطی (PNS) و همین طور در بافت‌های غیرعصبی نظیر خون، لوله گوارش، سیستم قلبی–عروقی و حسی عمل می‌کند. سروتونین اولین نوروترانسمیتر در طول تکامل بوده و رسپتورهای سروتونینی در گونه‌های مختلف از پلاناریا گرفته تا انسان وجود دارند (۲). شواهد حاکی از دخالت سروتونین در یادگیری و تشکیل حافظه از طریق خانواده‌های گیرنده‌های 5-HT1و5-HT2 است (۴). سروتونین نمو اندام‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این نوروترانسمیتر با اثر بر روی ترشح انسولین، اندازه‌ی بدن را در بزرگسالان تنظیم می‌کند (۷–۵). تمام خانواده گیرنده‌های سروتونین به طور قابل ملاحظه‌ای در هیپوکامپ، که بخشی از سیستم لیمبیک است، بیان می‌شوند (۳). مواد بسیاری می‌توانند به گیرنده‌های سروتونین متصل شوند، بتا کربولین‌ها ازجمله‌ی این مواد هستند. بتاکربولین‌ها در مواد غذایی مانند (گندم، برنج، ذرت، جو، سویا، انگور، قارچ و سرکه) همچنین در مشروبات مانند شراب، آبجو و ...) و در مواد استنشاقی مثل تنباکو نیز وجود دارند. همچنین بتا کربولین‌هایی مانند هارمان، نورهارمان و هارمالین در پلاسمای خون، بافت قلب، کلیه، کبد و همچنین مغز به صورت درون‌زا حضور دارند (۸). بتا کربولین‌ها فارماکولوژی پیچیده‌ای دارند و به هدف‌های مختلفی می‌توانند متصل شوند (یک ماده می‌تواند به چندین هدف متصل شود) که شامل رسپتورهای مونوآمین اکسیداز A,B، رسپتورهای بنزودیازپین، ایمیدیازول، دوپامین، سروتونین و گلوتامات هستند. شواهد فراوانی نشان می‌دهد که هارمالین اثرات روان‌گردان خود را از طریق مکانیسم‌های سروتونرژیک انجام می‌دهد (۹). هدف از این مطالعه بررسی اثرات آگونیست انتخابی گیرنده‌ی 5-HT1 (CP94253hydrochloride) بر روی حافظه‌ی تأثیر یافته از هارمالین در موش‌های سوری نر می‌باشد.

## روش کار

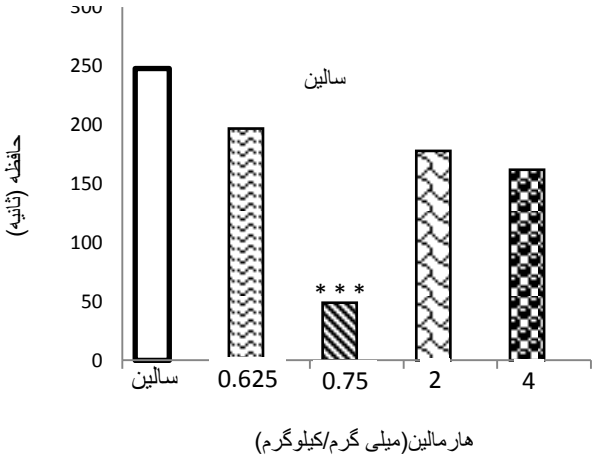
در این تحقیق از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر، نژاد NMRI (وزن تقریبی ۲۵-۲۲) استفاده شد. حیوانات در حیوان‌خانه تحقیقاتی دانشگاه تهران تکثیر و تا رسیدن به وزن مناسب نگهداری می‌شدند. در طول نگهداری، آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت، در محیطی با دمای ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و با دوره‌ی تاریکی–روشنایی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی ۸ صبح) نگهداری می‌شدند. هر حیوان فقط یک‌بار آزمایش شد. آزمایشات در زمان معینی از روز انجام می‌گرفت. جهت آشنایی حیوان با محیط و کاهش استرس ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش، قفس‌های مربوطه به محل مورد نظر، جهت آزمایش منتقل می‌شد. در هر گروه آزمایشی ده حیوان مورد استفاده قرار گرفت. تمامی آزمایش-ها طبق موازین اخلاقی کار با حیوانات و بر طبق دستورالعمل‌های نگهداری و استفاده از حیوانات انجام گرفت. علت انتخاب موش-های نر به دلیل ساده‌تر بودن سیستم هورمونی و نیز تداخل کمتر هورمون‌های جنسی با داروها بود. وسایل مورد نیاز عبارت بودند از: دستگاه استریوتاکس مدل kopf جهت توأم مغز حیوان و گذاشتن کانول در ناحیه‌ی CA1، دستگاه step-down جهت بررسی حافظه، –هارمالین (۷ متوکسی۳،۴ دی هیدروبتا کربولین) محصول شرکت سیگما، CP94253 hydrochloride آگونیست قوی انتخابی گیرنده $5HT_{1B/1D}$، محصول شرکت bioscince TOCRIS ایالات متحده آمریکا، کتامین هیدروکلراید و زایلزین به عنوان داروهای بیهوشی برای تزریق درون صفاقی. روش توأم با دستگاه استرئوتاکس به این صورت بود: در این روش، ابتدا جانور را وزن کرده، داروی بیهوشی که از ترکیب کتامین هیدروکلراید، زایلازین و سالین تهیه شده بود، مطابق با وزن جانور به صورت درون صفاقی تزریق گردید. پس از بیهوشی کامل سر جانور در دستگاه استریوتاکس ثابت می‌شود. این دستگاه حرکت می‌کند. میله‌های تثبیت‌کننده دستگاه سر جانور را در حین بیهوشی ثابت نگه می‌دارد. برای تثبیت حیوان در دستگاه استرئوتاکس، میله‌های گوشی در فرو رفتگی گوش خارجی و پوزه‌ی حیوان در میله دندانی جا می‌گرفت. بعد از تنظیم میله‌های گوش و میله‌ی دندانی سر حیوان کاملا در سطح افقی قرار می‌گرفت. بعد از قرارگیری سر حیوان در دستگاه و ثابت شدن سر، به وسیله‌ی قیچی پوست سر حیوان از ناحیه‌ی بالای چشم تا انتهای استخوان پس‌سری برداشته می‌شد و با پنبه و الکل سطح جمجمه به خوبی تمیز و خشک می‌گردید تا محل نقاط برگما و لامبدا مشخص گردد. برگما محل تقاطع درز تاجی و درز سهمی است. درز تاجی محل اتصال استخوان‌های پیشانی و آهیانه و درز سهمی شکاف بین استخوان‌های آهیانه است. مطابق اطلس پارکینسون و واتسون مختصات محل کانول‌گذاری برای ناحیه‌ی هیپوکامپ پشتی به قرار زیر است: از برگما ۲/۳-: قدامی–خلفی (AP)، ازخط وسط۲±: میانی–خلفی (ML)، از سطح جمجمه ۰/۹-: شکمی–پشتی(DV). **دارو** به ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ پشتی تزریق شد. دوزهای مختلف آگونیست انتخابی، جهت تزریق در سالین حل شدند. برای تهیه

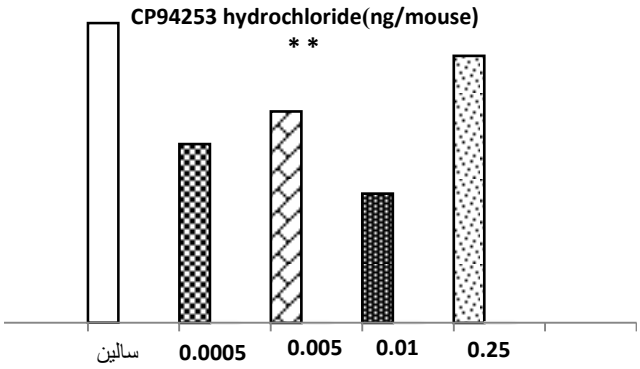
کانول تزریق، سر سرنگ دندان پزشکی که یک میلی‌متر بالاتر از کانول راهنما بریده شده، با چسب قطره‌ای به رابط پلی‌اتیلنی متصل گردید. جهت تزریق دارو، به گونه‌ای که هیچ استرسی به حیوان وارد نشود، به آرامی از ناحیه پشتی گرفته شد. پس از اطمینان از باز بودن کانول، با استفاده از سر سوزن دندان‌پزشکی که هم اندازه با کانول راهنما بریده شده،کانول به آرامی وارد کانول راهنما گردید. سپس به مدت ۶۰ ثانیه ۵/. میکرولیتر دارو به ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی تزریق شد که عمل تزریق در هر دو کانول انجام شد. به عبارتی یک میکرو لیتر دارو به مغز حیوان تزریق شد. در هنگام تزریق حیوان باید آزادانه حرکت کند و نباید با دست مهار شود. جهت تایید درستی جایگاه تزریق، حیوانات با کلروفرم‌کشته شده و سپس رنگ متیلن بلو با استفاده از سرنگ هامیلتون، از طریق کانول راهنما به داخل مغز تزریق شد. سپس مغزها خارج شده و به منظور فیکس نمودن به مدت یک هفته در فرمالین ۱۰-درصد قرار داده شدند. در مرحله‌ی بعد با انجام پروسه‌های بافتی صحت عمل کانول‌گذاری با استفاده ار اطلس پاکسینوس–واتسون تایید گردید. برای سنجش میزان حافظه از دستگاه step-down استفاده شد. این دستگاه جعبه‌ای به ابعاد۴۰×۳۰×۳۰ می‌باشد. کف دستگاه پوشیده از میله‌های موازی با قطر ۳/. و به فاصله مساوی ۱ cm از هم است. هم‌چنین یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد ۴×۴×۴cm در قسمت میانی کف دستگاه روی میله‌های فلزی قرار دارد. هنگامی که دستگاه روشن می‌شود یک جریان الکتریکی با مشخصات ۱ هرتز و ۳۵ میلی‌ولت، ۱۵ ثانیه در میله‌های فلزی برقرار می‌گردد. هر موش با احتیاط کامل روی سکو دستگاه step-down قرار می‌گیرد. به محض اینکه حیوان از مکعب چوبی پایین آمد و چهار پای حیوان روی میله‌های فولادی قرار گرفت، به مدت ۱۵ ثانیه به پاهای حیوان شوک وارد می‌شود، سپس موش را از دستگاه خارج می‌کنیم. مراحل آموزش بین ۸ صبح تا ۲ بعد از ظهر انجام می‌گرفت. برای ارزیابی و اندازه‌گیری اثر داروها، جلسه تست ۲۴ ساعت بعد از آموزش و از نظر روش مشابه جلسه آزمون بود با این تفاوت که حیوان شوک نمی‌گرفت. به محض اینکه چهار پای حیوان از سکو جدا شد و موش پائین می‌آمد، زمان ثبت می‌شد. مدت زمانی که طول می‌کشد تا حیوان به زور کامل از سکو پائین بیاید، به عنوان تاخیر در پائین آمدن از سکو ثبت می‌شد. حداکثر زمان آزمون۳۰۰ ثانیه بود و در صورتی که حیوان در طول این مدت از سکو پائین نمی‌آمد، از دستگاه خارج و زمان تاخیر برای حیوان۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شد. گروه‌های آزمایش، گروه‌هایی (ده تایی) که هارمالین دریافت کردند: گروه اول به‌عنوان گروه کنترل، سالین و چهار گروه دیگر به ترتیب دوزهای مختلف هارمالین (۶۲۵ /۰،۷۵/، ۲و۴ میلی‌گرم/ کیلوگرم) را ۱۵ دقیقه قبل از مرحله آموزش به صورت درون صفاقی دریافت کرده و ۲۴ ساعت بعد مورد آزمون قرار گرفتند. گروه‌هایی که آگونیست انتخابی CP94253 hydrocholride را دریافت می‌کنند: شامل پنج گروه می‌باشند که گروه اول به عنوان گروه کنترل، ابتدا سالین را به صورت درون صفاقی دریافت کرده، ۵ دقیقه بعد دوباره سالین را در ناحیهCA1 هیپوکامپ دریافت کردند، بعد از ۱۰ دقیقه شوک داده و۲۴ ساعت بعد موردآزمون قرار می‌گیرند. چهار گروه دیگر نیز ابتدا سالین را به صورت درون صفاقی دریافت نموده ۵ دقیقه بعد دوزهای مختلف CP94253 (۲۵/و۰۱/و۰۰۵/و۰۰۰۵/ نانوگرم / موش) را در ناحیه‌ی CA1 دریافت می‌نمایند. بعد از ۱۰دقیقه آموزش و ۲۴ ساعت بعد مورد آزمون قرار می‌گیرند. ۳) گروه‌هایی که آگونیست انتخابی ۵-HT1B و هارمالین دریافت می‌کنند: شامل پنج گروه می‌باشند، گروه اول ابتدا سالین را به صورت درون صفاقی دریافت کرده، ۵ دقیقه بعد سالین را در ناحیهCA1 هیپوکامپ دریافت و بعد از ۱۰ دقیقه آموزش داده و ۲۴ ساعت بعد مورد آزمون قرار می‌گیرد. چهار گروه دیگر نیز ابتدا دوزهای مختلف هارمالین (۶۲۵/،۷۵/،۲،۰و۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت نموده و ۱۰دقیقه بعد دوز بی‌اثر آگونیست (۰/۲۵ نانوگرم/ موش) را در ناحیه CA1 دریافت می‌نمایند. بعد از ۱۰ دقیقه آموزش داده و ۲۴ ساعت بعد مورد آزمون قرار می‌گیرند. تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی توکی با استفاده از نرم افزار spss نسخه ۱۷ استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین‌ها (SEM) در سطح p کمتر از ۰/۰۰۱ گزارش شد. با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk- یا آزمون کولموگروف–اسمیرنوف مشخص شد که داده‌ها توزیع نرمالی ندارند.

## یافته‌ها

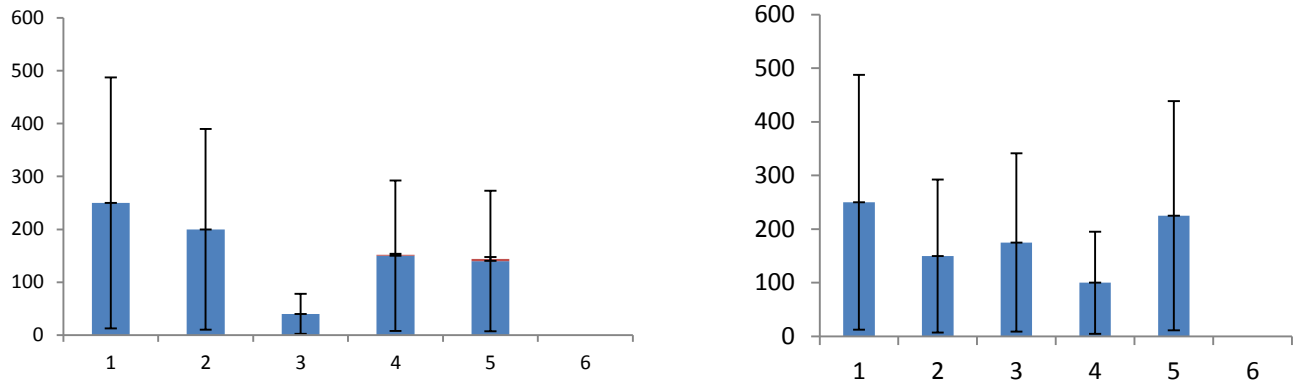
نمودار۱: (سمت چپ): نمایش دهنده‌ی تزریق دوزهای مختلف هارمالین پیش از آموزش در موش‌های سوری نر می‌باشد. گروه سالین یا به عبارتی گروه کنترل، سالین را به صورت درون صفاقی و درون مغزی دریافت نمود. گروه‌های دیگر دوزهای مختلف هارمالین را به صورت درون صفاقی و سالین را به صورت درون مغزی دریافت کردند. نمودار تاخیر در پایین آمدن از سکو را نشان می‌دهد، ***P<۰/۰۰۱. در مقایسه با گروه سالین/سالین می‌باشد. نمودار۱–( سمت راست) اثرات تجویز پیش از آموزشCP94253 hydrochloride. نمودار تاخیر در پایین آمدن از سکو را نشان می‌دهد. نمودار اول (سمت چپ)، نشان می‌دهد که تجویز مقادیر مختلف هارمالین (۶۲۵ /۰،۷۵/، ۲و۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت درون صفاقی، ۱۵ دقیقه قبل از آموزش و تزریق سالین ۱۰ دقیقه قبل از آموزش به صورت درون مغزی، تأخیر در به خاطرآوری حافظه را نشان می‌دهد. آزمون آماری kluskal wallis نشان می‌دهد که بیمار با مقادیر مختلف هارمالین، تأخیر در پایین آمدن از سکو را به طور معناداری کاهش می‌دهد (P<۰/۰۰۱ و H(۳)=۱۹/۲۸۴). که به معنی تخریب حافظه است و

**آنالیز با** Mann-whitney نشان می‌دهد که تزریق دوز ۰/۷۵ میلی-گرم/کیلوگرم) هارمالین ۱۵ دقیقه قبل از آموزش به طور معناداری در قیاس با گروه کنترل، حافظه را تخریب می‌کند و تأخیر در پایین آمدن از سکو را کاهش می‌دهد (P<۰/۰۰۱) نمودار اول (سمت راست)، نشان می‌دهد که تجویز مقادیر مختلف CP94253 hydrochloride با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۰۱ و۰/۰۰۵ و۰/۰۰۰۵ نانوگرم/موش) به صورت درون صفاقی، ۱۵ دقیقه قبل از آموزش و تزریق سالین ۱۰ دقیقه قبل از آموزش به صورت درون مغزی، بر روی حافظه بی اثر است. آزمون آماری kluskal wallis نشان می‌دهد که تیمار با مقادیر مختلف hydrochloride CP94253 تأخیر در پایین آمدن از سکو را به طور معناداری کاهش می‌دهد. (P<۰/۰۵) و H(۳)=۱۵/۵۹۰ که به معنی تخریب حافظه است و آنالیز با Mann-whitney نشان می‌دهد که تزریق دوز ۰/۰۵ نانوگرم/ موش از hydrochloride CP94253 ۱۵ دقیقه قبل از آموزش به طور معناداری در قیاس با گروه کنترل،حافظه را تخریب میکند و تأخیر در پایین آمدن از سکو را کاهش می‌دهد (P<۰/۰۱). نمودار۲: اثر تزریق هارمالین با دوزهای مختلف و تزریق توام هارمالین با دوزهای مختلف و CP 94253 hydrochloride با دوز ۰/۲۵ نانوگرم/ موش را نمایش می‌دهد. نمودار دوم (سمت چپ) تزریق هارمالین به صورت درون صفاقی و سالین به صورت درون مغزی را نشان می‌دهد. نمودار (سمت راست) تزریق CP hydrochloride 94253 در ناحیه CA1 و تزریق دوزهای مختلف هارمالین به صورت درون صفاقی را نشان می‌دهد. در آزمایشات بررسی برهمکنش، ابتدا هارمالین تزریق شد و سپس حیوانات CP 94253 hydrochloride دریافت کردند. آنالیز آماری ANOVA غیر پارامتری Kruskal-walise نمایانگر آن است که تزریق هارمالین با دوز ۷۵ / میلی‌گرم/ کیلوگرم و CP hydrochloride 94253 با دوز ۰/۲۵ نانوگرم/ موش تاخیر در پائین آمدن از سکو را به طور معنی‌داری تغییر می‌دهد. H(۳)=۱۹/۹۰۱، (P<۰/۰۰۱) و آنالیز با آزمون آماری Mann-Whitney حاکی از کاهش معنی‌دار این زمان نسبت به گروه کنترل، در حیواناتی است که CP 94253 hydrochloride را همراه با هارمالین با دوزهای ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم دریافت کرده‌اند (P<۰/۰۱). دریافت CP 94253 hydrochloride به همراه دوز ۰/۶۲۵ و ۴ میلی-گرم/کیلوگرم هارمالین، به طور معنادار حافظه را تغییر نمی‌دهد.



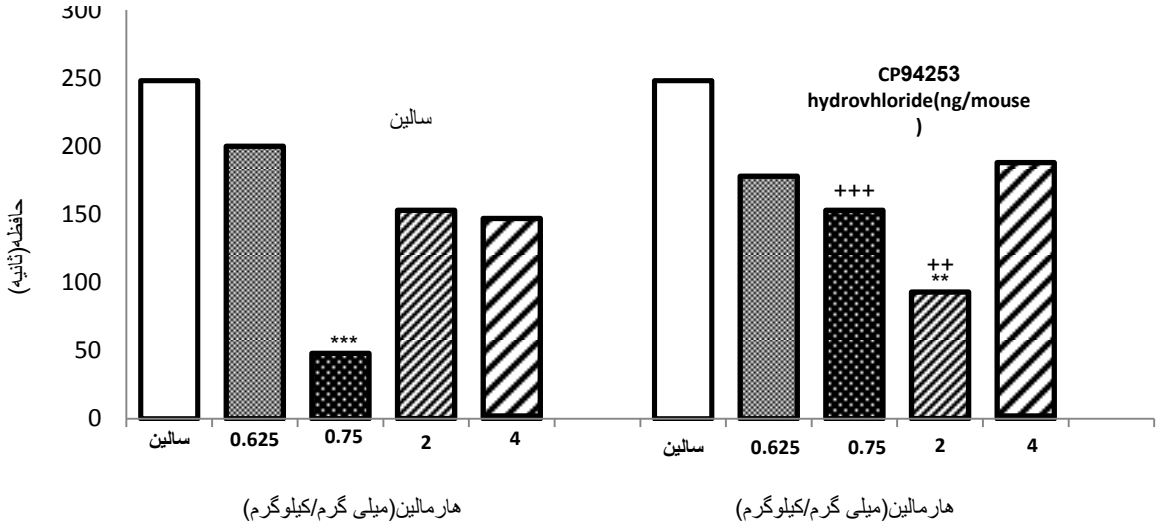




نمودار۱: اثر تزریق دوزهای مختلف هارمالین و CP94253 hydrochloride بر حافظه

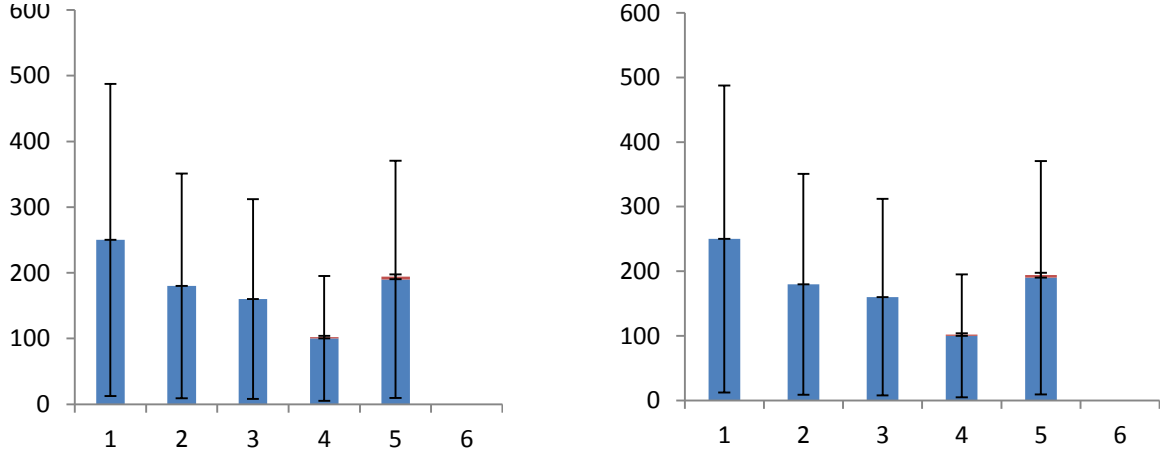


نمودار Error Bar برای نمودار ۱ (۹۵/)

تفاوت معنادار P<۰/۰۱ ** در مقایسه با گروه کنترل که سالین را درون مغزی و درون صفاقی دریافت نموده‌اند، می‌باشد.




**نمودار ۲:** اثر تزریق دوزهای مختلف CP 94253 hydrochloride بر حافظه‌ی تخریب شده توسط هارمالین و بررسی تداخل این دو در ایجاد حافظه




نمودار Error Bar برای نمودار ۲ (۹۵٪)

تفاوت‌های معنادار:*** معنادار P<۰/۰۰۱ و** معنادار P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین، ++ معنادار P <۰/۰۱ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین/ هارمالین با دوز ۷۵ / میلی‌گرم/کیلوگرم می‌باشد.

## بحث

داده‌های حاضر نشان می‌دهد که تزریق پیش از آموزش هارمالین، به خاطر آوری را در موش کوچک آزمایشگاهی کاهش می‌دهد. از این رو تزریق هارمالین در دوز ۰/۷۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم پیش از آموزش منجر به کاهش درحافظه‌شد، به این معنی که فرآیند حافظه و تثبیت تحت تاثیر قرار گرفت. موافق با این داده‌ها، در سال ۲۰۰۵ اعلام گردید که هارمالین بتا کربولینی است که موجب اختلالات شناختی مانند اختلالات حرکتی و یادگیری فضایی می‌شود (۱۰). آلکالوئید β کربولین مقدار نوراپی نفرین خارج سلولی را افزایش می‌دهد و همچنین مقادیر دوپامین و سروتونین را در بعضی از نواحی مغزی از طریق سیستم بازجذب مونوآمین افزایش می‌دهد (۸). اثر بتا کربولین‌ها بر روی سیستم های سروتونرژیک مورد بررسی قرار گرفته است و نظر می‌رسد تعامل آنها با گیرنده‌های ۵-HT به شیوه‌ای رقابتی باشد. این ترکیبات مهار کننده‌های مونوآمینواکسیداز، و نیز مشتقات توهم‌زا هستند. سروتونین درون‌زا در پردازش اطلاعات، تعدیل حافظه کوتاه و بلند (احتمالا) از طریق گیرنده‌های سروتونین مرتبط با انتقال سیگنال‌های مختلف نقش دارد، که در نهایت می‌تواند منجر به تغییرات مورفولوژیک شود (۱۱). در پستانداران، مسیرهای سروتونین از هسته رافه‌ای در مغز میانی و پشتی منشا می‌گیرد. فیبرهای ۵-HT به مناطق مغزی (به عنوان مثال، قشر، هیپوکامپ، آمیگدال، سپتوم) رفته و در یادگیری و حافظه درگیر هستند که به عنوان واسطه حافظه نرمال و ناکارآمد قرار می‌گیرد (۱۲). مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که تزریق پیش از آموزش آگونیست انتخابی گیرنده‌ی 5-HT1B (CP94253hydrochloride) با دوز ۰/۰۱

نانوگرم/ موش عملکرد حافظه را تخریب می‌کند که می‌تواند به دلیل مهار آدنیلات سیکلاز و کاهش تولید CAMP توسط خانواده‌ی HT1-۵ باشد و یا می‌تواند به علت وجود اتورسپتورهای سروتونین باشد که مانع آزاد شدن سروتونین در هیپوکامپ می‌شود. گزارش شده که OH-DPAT-۸ آگونیست گیرنده HT1A-۵ بر روی یادگیری جوندگان بی‌اثر است. OH-DPAT–۸ آگونیست گیرنده HT1A-۵، یادگیری در رت را تخریب می‌کند (۱۱و۳). در مقابل آگونیست DOI، تثبیت یادگیری را افزایش می‌دهد (۱۲). در تحقیق حاضر، مشخص شد که تزریق توأم دوزی از هارمالین که اثر تخریبی بر روی حافظه دارد با دوز بی‌اثر آگونیست CP94253hydrochloride به صورت معناداری. تخریب حافظه ناشی از تزریق دوز (mg/Kg) ۰/۷۵ هارمالین را برطرف می‌کند، تزریق توأم هارمالین با دوز (۲ میلی‌گرم/ کیلوگرم) به همراه CP94253hydrochloride با دوز ۰/۲۵ نانوگرم/ موش به صورت معناداری حافظه را تخریب می‌کند. ممکن است علت احتمالی نتایج فوق، تاثیر هارمالین روی گیرنده‌های سروتونینی و اثرگذاری روی حافظه باشد.

## نتیجه‌گیری

این نتایج نشان می‌دهد که آگونیست گیرنده یک سروتونین، بر روی اثر تخریبی هارمالین در تشکیل حافظه تاثیر می‌گذارد و با این گیرنده برهم کنش دارد و اثر فراموشی ناشی از داروی هارمالین روی حافظه توسط این آگونیست برطرف می‌گردد.

## تقدیر و تشکر

بدین وسیله از کلیه همکاران و اساتید محترم که ما را در انجام این پژوهش راهنمایی نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

## References


1. Meneses A, Hong E. Role of 5-HT1B, 5-HT2A and 5-HT2C receptors in learning. *Behave Brain Res* 1997; **87**: 105-110. doi: 10.1016/S0166-4328(96)02266-8
2. Buhot M, Martin S, Segu L. Role of serotonin in memory Impairment. *Ann Med* 2000; **32**: 210-221. doi: 10.3109/07853890008998828
3. Stark CE, Squire LR. FMRI activity in the medial temporal lobe during recognition memory as a function of study-test interval. *Hippocampus* 2000; **10**(3): 329-337. doi: 10.1002/1098-1063
4. Á Nic Dhonnchadha B, A Cunningham K. Serotonergic mechanisms in addiction-related memories. *Behavioral Brain Research* 2008; **195**: 39-53. doi: 10.1016/j.bbr.2008.06.026
5. Hales SE, Hales, CN. "Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice". *Nature* 2004; **427**(6973): 411-412. doi: 10.1038/427411b
6. Kaplan DD, Zimmermann G, Suyama K, Meyer T, Scott MP. A nucleostemin family GTPase, NS3, acts in serotonergic neurons to regulate insulin signaling and control body size". *Genes* 2008; **22**(14): 1877-1893. doi: 10.1101/gad.1670508
7. Ruaud AF, Thummel CS. Serotonin and insulin signaling team up to control growth in Drosophila. *Genes Dev* 2008; **22**(14): 1851-1855.
8. Nasehi M, Piri M, Nouri M, Farzin D, Nayer-Nouri T, Zarrindast MR. Involvement of dopamine D1/D2 receptors on harmane-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. *Eur J Pharmacol* 2010; **634**(1-3): 77-83. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.02.027
9. Anderson N, Tyacke R, Husbands S, Nutt D. Vivo distribution of [3H] harmane, an endogenous β-carboline, in rat brain. *Neuropharmacology* 2006; **50**(3): 269-276. doi: 10.1016/j.neuropharm.2005.08.022
10. Hilber P, Chapillon P. Effects of harmaline on anxiety-related behavior in mice". Physiology & Behavior 2005; **86**(1-2): 164-167. doi: 10.1016/j.physbeh.2005.07.006
11. Meneses A, Hong, E. Mechanism of action of 8-OH-DPAT on learning and memory. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; **49**(4): 1083-1086.
12. Meneses A, Hong E. Role of 5-HT1B, 5-HT2A and 5-HT2C receptors in learning. *Behave Brain Res* 1997; **87**: 105-110.